

Nucleosidphosphonat-Prodrugs auf Basis des *cycloSal*-Konzepts



Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Ulf Fabian Görbig

aus

Hamburg

vorgelegt dem Department Chemie der
Universität Hamburg

Hamburg, im Oktober 2007

Meiner Familie

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier in der Zeit von Oktober 2004 bis Oktober 2007 angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier
2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. W. Francke

Tag der Disputation: 25.01.2008

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die interessante Themenstellung, die intensive Betreuung während der Arbeit und für die hervorragenden experimentellen Bedingungen zur Durchführung dieser Arbeit sowie für zahlreiche Diskussionen und Anregungen.

Mein Dank gilt allen Mitarbeitern des Arbeitskreises Meier für die gute Zusammenarbeit, stete Hilfsbereitschaft und das gute Arbeitsklima.

Herrn Dr. V. Sinnwell, Herrn Dr. E. T. K. Haupt und ihren Mitarbeitern danke ich für Messung zahlreicher NMR-Spektren.

Frau A. Meiners und Herrn M. Preuße danke ich für die Messung zahlreicher Massenspektren.

Mein besonderer Dank gilt meinen Laborkollegen aus U-515 Herrn Olaf Ludek, Herrn Jens „Steiner“ Thomann, Herrn Henning Jessen, Frau Svenja Warnecke, Herrn Edwin Rios, Herrn Tilmann Schulz und Frau Victoria Tonn für die schöne gemeinsame Zeit.

Für die tatkräftige Unterstützung im Labor möchte ich den zahlreichen Praktikantinnen und Praktikanten danken, die im Rahmen ihres Studiums experimentelle Arbeiten für mich durchgeführt haben. Besonders hervorzuheben sind hierbei meine beiden ehemaligen Schwerpunktpraktikantinnen Anne Baum und Janne Möbius

Frau Victoria Tonn danke ich für die kritische Durchsicht von Teilen dieser Arbeit.

Für die mentale Unterstützung während meiner Arbeit möchte ich meiner Freundin Jessica danken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern für ihr stetes Interesse an meinem Studium und ihre unermessliche Unterstützung, die mir meinen Werdegang ermöglicht hat.

Abkürzungen und Symbole

3TC	L-3'-Thiacytidin
A	Adenin
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
ABC	Abacavir
Ac	Acetyl
ACV	Acyclovir
Äq.	Äquivalente
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AZT	3'-Azido-2',3'-dideoxythymidin
BChE	Butyrylcholinesterase
BVDU	(<i>E</i>)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin
CC ₅₀	cytotoxische Konzentration
CNI-1493	((<i>N,N'</i> -bis[3,5-bis[1(Aminoiminomethyl)hydrazonoethyl]phenyl]decan- diamid Tetrahydrochlorid
<i>cycloAmb</i>	<i>cyclo</i> Aminobenzyl
<i>cycloSal</i>	<i>cyclo</i> Saligenyl
δ	chemische Verschiebung (NMR)
d	Dublett
d4T	2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett von Dubletts
ddA	2',3'-Dideoxyadenosin
ddC	2',3'-Dideoxycytidin
ddl	2',3'-Dideoxyinosin
DIPEA	Di <i>i</i> sopropylethylamin (Hünig-Base)
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTr	Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonucleinsäure

DP	Diphosphat
EC ₅₀	effektive Konzentration
EE	Ethylacetat
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPMPC	(S)-9-[3-Hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin
<i>i</i> -Bu	<i>iso</i> -Butyryl
IC ₅₀	inhibitorische Konzentration
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante (NMR)
m	Multiplett
M	Molar
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MP	Monophosphat
mRNA	Botenribonucleinsäure (messenger RNA)
Ms	Methylsulfonyl (Mesyl)
MS	Massenspektrometrie
NMP	Nucleosidmonophosphat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NNRTI	Nicht-nucleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
NRTI	Nucleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor
PE	Petrolether
PMEA	9-[2-Phosphonylmethoxyethyl]adenin
PMEAp	PMEA-Phosphat
PMEApp	PMEA-Diphosphat
PMPA	(<i>R</i>)-9-[2-Phosphonylmethoxypropyl]adenin
POC	<i>iso</i> -Propyloxycarbonyloxymethyl
POM	Pivaloyloxymethyl
ppm	parts per million
q	Quartett

R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
RP	reversed phase
R _t	Raumtemperatur
RT	Reverse Transkriptase
s	Singulett
t	Triplett
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyl
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TK	Thymin-Kinase
TP	Triphosphat
t _R	Retentionszeit
UV	Ultraviolett

1	Einleitung	1
2	Kenntnisstand	7
2.1	Wirkungsweise der Nucleosidanaloga	7
2.2	Wirkungsweise der Nucleosidphosphonate	9
2.3	Das Prodrug-Konzept	10
2.4	Das <i>cycloSal</i> -Konzept	14
3	Aufgabenstellung	18
4	Resultate und Diskussion	21
4.1	Die Synthese einiger Edukte	21
4.1.1	Die Synthese von PME A 9	21
4.1.2	Die Synthese von Diethyl- <i>p</i> -toluolsulfonyloxymethanphosphonat 38	23
4.1.3	Die Synthese von PMPA 10	23
4.1.4	Synthese von 9-(2-Phosphoylmethoxyethyl)-2-aminopurin (<i>iso</i> - PME A) 44	26
4.2	Die Synthese und Charakterisierung von PME A-Prodrugs	29
4.2.1	Eine neue Synthese für die Darstellung von <i>cycloAmb</i> -PME A-Prodrugs	29
4.2.2	Die <i>cycloAmb</i> -PME A-Prodrugs der ersten Generation	37
4.2.3	Die Synthese von 3-Methyl- <i>cycloAmb-iso</i> -PME A 58	41
4.2.4	Die <i>cycloAmb</i> -PME A-Prodrugs der zweiten Generation	41
4.2.5	Die <i>cycloAmb</i> -PME A-Prodrugs der dritten Generation	45
4.2.6	Benzylalkylierte <i>cycloSal</i> -PME A-Prodrugs	50
4.2.7	Die Synthese von fluoreszierenden benzylsubstituierten <i>cycloSal-iso</i> -PME A-Verbindungen 75	60
4.2.8	Die Synthese von benzylsubstituierten 3,5-Di- <i>tert</i> -Butyl- <i>cycloSal</i> -PME A-Prodrugs 76	61
4.2.9	<i>N</i> -acylierte PME A-Prodrugs	67
4.2.10	2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PME As	74
4.3	Die Synthese und Charakterisierung von PMPA-Prodrugs	88

4.4	Die Synthese und Charakterisierung von HPMPC-Prodrugs	92
4.4.1	Die Synthese von HPMPC-Diethylester 98	92
4.4.2	Versuch der Synthese von <i>cycloAmb</i> -HPMPC-Prodrugs nach der Müllermethode	97
4.4.3	Versuch der Synthese von <i>cycloAmb</i> -HPMPC-Prodrugs aus O-Trityl-HPMPC 112	100
4.4.4	Versuch der Synthese von 3-Me- <i>cycloAmb</i> -chlormethylphosphonat 114a und von 3-Me- <i>cycloAmb</i> -tosyloxymethylphosphonat 114b	103
4.4.5	Versuch der Synthese von O-Pivaloyl-HPMPC-Diethylester 119a durch Acylierung ohne Verwendung von Schutzgruppen	106
4.4.6	Versuch der Synthese von O-Pivaloyl-HPMPC-Diethylester 120a unter Verwendung der Mitsunobu-Reaktion	108
4.4.7	Die O-Acylierung von HPMPC-Diethylester 98 bei gleichzeitig geschützter NH ₂ -Gruppe	111
4.4.8	Die selektive Phosphonsäureesterspaltung O-acylierter HPMPC-Diethylester 119 mit Bromtrimethylsilan	115
4.4.9	Die Synthese O-acylierter HPMPC-Prodrugs 32	117
4.5	Die Synthese von <i>cycloSal</i> -Nucleotiden mit optimierter Maske	123
4.6	Die Synthese von CNI-1493 (<i>N,N'</i> -bis[3,5-bis[1(Aminoiminomethyl)hydrazonoethyl]phenyl]decandiamid Tetrahydrochlorid) 12	128
5	Zusammenfassung	133
6	Summary	140
7	Ausblick	142
8	Experimenteller Teil	145
8.1	Allgemeines	145
8.1.1	Lösemittel	145
8.1.2	Chromatographie	146
8.1.3	Kernresonanzspektroskopie	147

8.1.4	Massenspektrometrie (MS)	148
8.1.5	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FT-IR)	148
8.1.6	Polarimeter	148
8.1.7	Ultraviolett-spektroskopie	148
8.1.8	Schmelzpunktbestimmungsapparatur	149
8.1.9	Geräte	149
8.2	Analytische Arbeitsvorschriften	150
8.2.1	Chemische Hydrolysekinetiken in Phosphatpuffer bei pH 7.3	150
8.2.2	Hydrolysekinetiken in humanen Zellextrakt und Mauseberextrakten	150
8.2.3	³¹ P-NMR-Hydrolysestudien	151
8.2.4	Cholinesterase-Assay	151
8.3	Präparative Arbeitsvorschriften	152
8.3.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	152
8.4	Die Synthese einiger Edukte und Reagenzien	154
8.4.1	Die Synthese von PMEA 9	154
8.4.2	Die Synthese von Diethyl- <i>p</i> -toluolsulfonyloxymethanphosphonat 38	155
8.4.3	Die Synthese von PMPA 10	156
8.4.4	Die Synthese des fluoreszierenden Phosphonates <i>iso</i> -PMEA (9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)-2-aminopurin 44	158
8.4.5	Die Synthese von HPMPC-Diethylester 98	160
8.5	Die Synthese von 2-Aminobenzylalkoholen, Salicylalkoholen und 2-Hydroxybenzylaminen	165
8.5.1	Die Synthese von 2-Aminobenzylalkoholen	165
8.5.2	Die Synthese von benzylsubstituierten Salicylalkoholen	169
8.5.3	Die Synthese von 2-Hydroxybenzylaminen	177
8.6	Die Synthese von PMEA-Prodrugs	183
8.6.1	PMEA-Prodrugs I: <i>cyclo</i> Amb-PMEA 31a-d	183
8.6.2	Die Synthese von PMEA-Prodrugs II: benzylsubstituierte <i>cyclo</i> Sal-PMEA-Verbindungen 74a-d, 76a-d	190

8.6.3	Die Synthese von PME A-Prodrugs III: <i>N</i> -acylierte <i>cycloSal</i> -PME A-Verbindungen 80a,b	199
8.6.4	Die Synthese von PME A-Prodrugs IV: HbaE-PME A-Prodrugs 88a-d	204
8.7	Die Synthese fluoreszierender <i>iso</i> -PME A-Prodrugs	208
8.8	Die Synthese von PMPA-Prodrugs	210
8.9	Die Synthese von HPMPC-Prodrugs	213
8.10	Synthese von Nucleosidmonophosphat-Prodrugs mit optimierter <i>cycloSal</i> -Maske	221
8.11	Die Synthese von CNI-1493 12	225
9	Gefahrstoffverzeichnis	229
10	Literaturverzeichnis	232

1 Einleitung

Die Immunschwächekrankheit AIDS (**A**cquired **I**mmunodeficiency **S**yndrome) ist eine der bedrohlichsten Infektionskrankheiten. In einigen Ländern der Dritten Welt ist die ökonomische Zukunft durch Infektion großer Teile der Bevölkerung stark gefährdet. So waren im Jahr 2005 in Afrika südlich der Sahara 25.8 Mio. Menschen mit AIDS infiziert, was einem Bevölkerungsanteil von 7.2 % entspricht. In einigen Ländern des südlichen Afrika ist durch diese Epidemie die durchschnittliche Lebenserwartung bereits um 10 Jahre gesunken, und die Zahl der Todesfälle in der Altersgruppe 25 - 44 Jahre hat sich mehr als verdoppelt. In den Industrieländern ist eine Epidemie eines solchen Ausmaßes bisher durch zahlreiche Aufklärungskampagnen verhindert worden, aber es kommt auch hier immer wieder zu Neuinfektionen. In letzter Zeit wurden sogar wieder steigende Zahlen von Neuinfektionen beobachtet, was erstaunlicherweise zum Teil auf Erfolge in der antiviralen Therapie zurückzuführen ist. Die zunehmende Kontrollierbarkeit der Krankheit durch die Medizin führt offensichtlich zu einer erhöhten Risikobereitschaft. Trotz aller medizinischen Fortschritte im Kampf gegen AIDS gibt es jedoch nach wie vor weder einen Impfstoff, der vor einer Infektion schützt, noch ein Medikament, das die virale Replikation im menschlichen Körper vollständig unterbindet und so den infizierten Patienten heilen kann.

Das HI-Virus (**H**uman **I**mmunodeficiency **V**irus), das AIDS auslöst, gehört zur Familie der Retroviren, d.h. die genetische Information des Virus liegt in Form von RNA vor, welche zu Beginn der genetischen Expression mit Hilfe des ebenfalls im Viruspartikel enthaltenen Enzyms Reverse Transkriptase (RT) in komplementäre DNA transkribiert wird. HIV befällt in der Regel Zellen, die den Oberflächenrezeptor CD4 tragen. Zu diesen CD4-positiven Zellen zählen die T-Helferzellen, deren Funktionsfähigkeit entscheidend für ein intaktes menschliches Immunsystem ist. Eine Infektion dieser Zellen mit HIV führt zu einer deutlichen Schädigung des menschlichen Immunsystems.^{1,2} Beim Befall einer Zelle binden die viralen gp120-Glykoproteine zunächst an die CD4-Rezeptoren auf der Zelloberfläche, was eine Verschmelzung des Virus mit der Zelle ermöglicht. Der Kern des Virus wird anschließend direkt in das Cytoplasma der Wirtszelle entlassen. Das freier werdende Genom des Virus wird durch die RT in doppelsträngige komplementäre DNA transkribiert. Nach Eindringen des

Transkripts in den Zellkern wird dieses mit Hilfe der viralen Integrase in das Genom der Wirtszelle integriert.

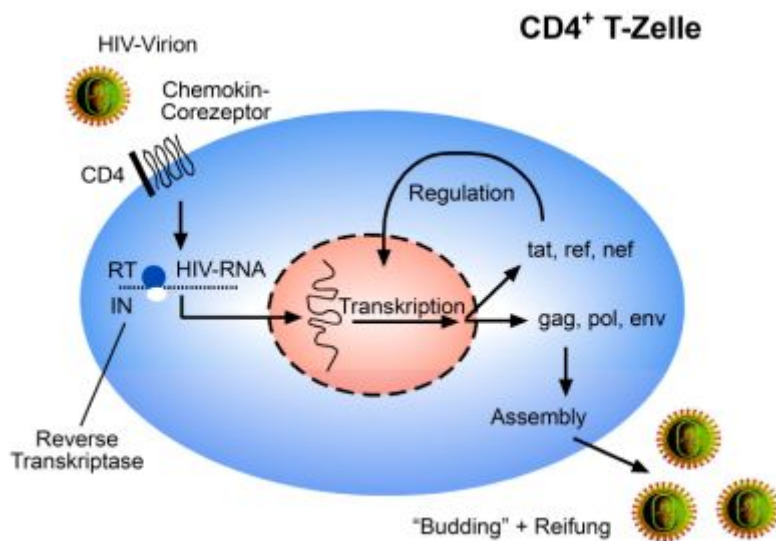


Abb. 1 Der HIV-Replikationszyklus

Die provirale DNA kann nach Aktivierung von der zelleigenen RNA-Polymerase II transkribiert werden. Dieses Transkript wird auf viele unterschiedliche Weisen in über 30 Varianten von mRNAs gespleißt, aus denen wiederum eine Vielzahl verschiedener Proteine durch Translation hervorgehen, unter ihnen regulatorische Proteine, deren Import in den Zellkern eine Amplifikation der Transkription und die Bildung weiterer ungespleißter RNA und einfach gespleißter mRNA bewirkt. mRNA und RNA werden ins Cytosol exportiert. Die dortige Translation der mRNA-Stränge führt daraufhin zur Bildung viraler Strukturproteine, die sich an der Cytoplasmamembran mit der als Virusgenom dienenden einzelsträngigen RNA zusammenlagern. Auf diese Weise kommt es zur Knospung und Freisetzung neuer Viruspartikel von der Zelloberfläche, die dann weitere Zellen infizieren können.^{1,3}

Um in den Replikationszyklus des Virus einzugreifen, stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung.⁴ So könnte beispielsweise versucht werden, das Glycoprotein gp120 der Virushülle oder die virale Protease zu blockieren. Hier soll aber lediglich auf die Inhibierung der RT näher eingegangen werden.

Die RT-Inhibition scheint ein aussichtsreicher Therapieansatz zu sein, da der Vorgang der Transkription für Retroviren spezifisch ist und für die Wirtszelle keinerlei Bedeutung hat. Bei den RT-Inhibitoren handelt es sich in der Regel um Nucleosidanaloga der

natürlichen Nucleoside Adenosin, Thymidin, Guanosin oder Cytidin. Allen nucleosidischen RT-Inhibitoren ist das Fehlen der 3'-Hydroxygruppe gemein. Werden diese Analoga in einen entstehenden DNA-Strang eingebaut, kann keine weitere Elongation mehr in 3'-Richtung erfolgen, so dass die reverse Transkription an dieser Stelle abbricht.⁵ Körpereigene DNA-Polymerasen besitzen im Gegensatz zur Reversen Transkriptase ein „proof-reading“-System, das die in den DNA-Strang eingebauten Nucleosidanaloga erkennt und eliminiert. Deshalb wird der Replikationszyklus der Wirtszelle durch die RT-Inhibitoren erheblich weniger gestört. Es handelt sich demzufolge um weitgehend selektive antiretrovirale Wirkstoffe. Derzeit werden die Nucleosidanaloga 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidin (AZT; Zidovudin, Retrovir[®]) **1**, 2',3'-Dideoxyinosin (ddI; Didanosin, Videx[®]) **2**, 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T; Stavudin, Zerit[®]) **3**, 2',3'-Dideoxycytidin (ddC; Zalcitabin, Hivid[®]) **4**, 2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC; Lamuvidin, Epivir[®]) **5a**, 2',3'-Dideoxy-5-fluor-3'-thiacytidin (FTC; Emtricitabin, Emtriva[®]) **5b** sowie *carba*-2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro-6-cyclopropylaminoguanosin (ABC; Abacavir, Ziagen[®]) **6** (Abb. 2) bereits klinisch gegen HIV eingesetzt.

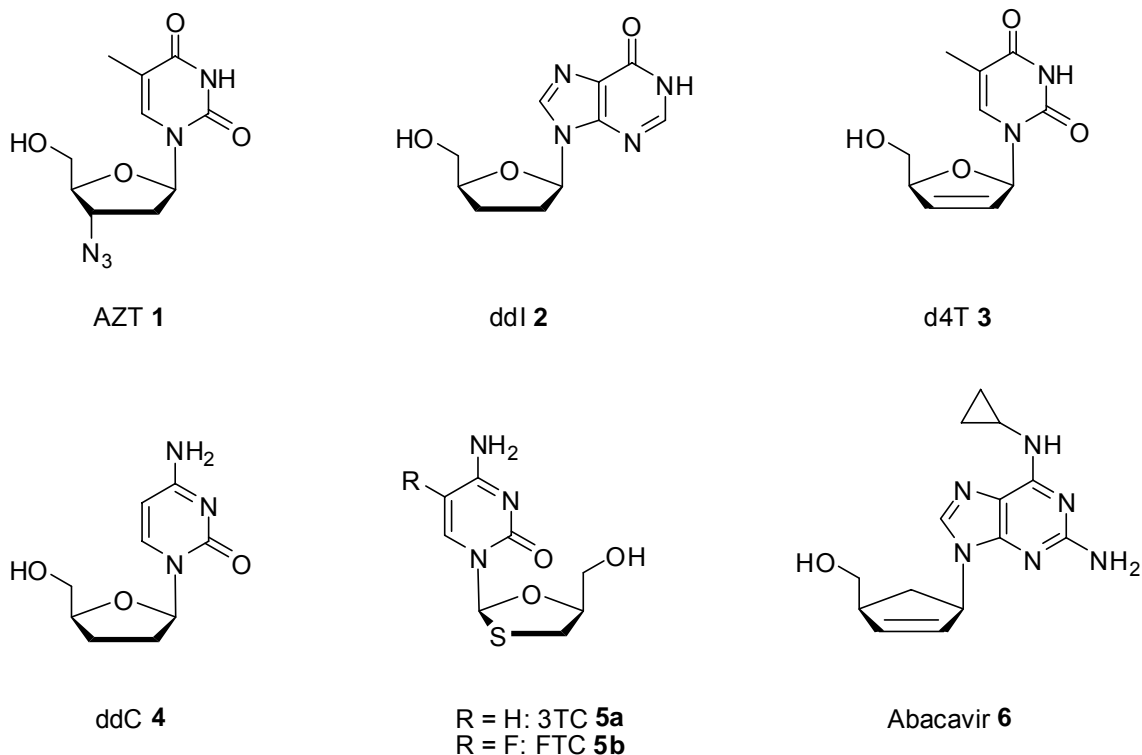


Abb. 2 In der Anti-HIV-Therapie eingesetzte Nucleosidanaloga

DNA-Viren wie Herpes- und Pockenviren benötigen im Gegensatz zu Retroviren keinen reversen Transkriptionsschritt in ihrem Replikationszyklus. Ihr Genom wird durch die virale DNA-Polymerase repliziert. Die Nucleosidanaloga, die bei Infektionen mit Herpes-Viren eingesetzt werden, zielen daher auf die Inhibition der viralen DNA-Polymerase ab. Gegen Herpesviren werden z. B. die Nucleosidanaloga 9-[2-Hydroxyethoxymethyl]guanin (ACV; Acyclovir, Zovirax[®]) **7** und (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin (BVDU; Brivudin, Zostex[®]) **8** (Abb. 3) klinisch eingesetzt.

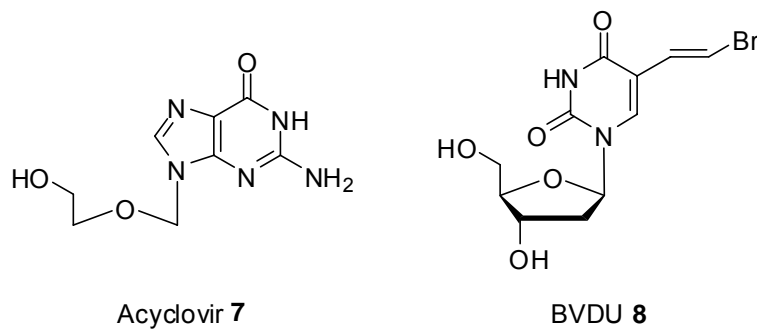


Abb. 3 Anti-Herpesvirus aktive Nucleosidanaloga

Die hervorragenden antiviralen Eigenschaften von BVDU **8** zeigen, dass das Fehlen der 3'-OH-Gruppe bei der Behandlung von DNA-Viren nicht zwangsläufig erforderlich ist. Während der Einbau von Acyclovir **7** in die virale DNA zum Kettenabbruch führt, ist beim Einbau von BVDU **8** eine Kettenfortpflanzung der viralen DNA in 3'-Richtung möglich. Allerdings kann es durch die Bromvinylfunktion zur Ausbildung von „cross links“ zu anderen DNA-Strängen kommen, wodurch die Funktion der synthetisierten viralen DNA behindert ist.

Antivirale Eigenschaften besitzen auch die acyclischen Nucleosid-phosphonate 9-[2-Phosphonylmethoxyethyl]adenin (PMEA; Adefovir) **9**, (*R*)-9-[2-Phosphonylmethoxypropyl]adenin (PMPA; Tenofovir) **10** und (*S*)-9-[3-Hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin (HPMPC; Cidofovir, Vistide[®]) (Abb. 4).⁶

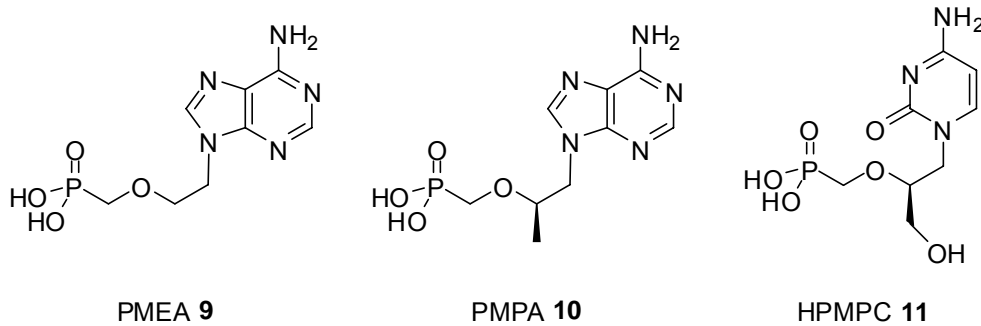


Abb. 4 Antiviral aktive acyclische Nucleosidphosphonate

Bemerkenswert ist das vielseitige antivirale Potential der Nucleosidphosphonate: PMEa **9** zeigt Aktivität gegen Retro-,^{7,8} Herpes-⁹ und Hepadnaviren,¹⁰ PMPa **10** gegen Retro- und Hepadnaviren.¹¹ HPMPc **11** besitzt eine sehr vielseitige Aktivität gegen eine Vielzahl von DNA-Viren.¹² Es ist gegen die gesamte Herpesvirenfamilie, gegen das menschliche Papillomavirus und gegen Pockenviren¹³ aktiv.

Die Entdeckung der nucleosidischen Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI) hat bei der Bekämpfung von AIDS zur Entwicklung der „Highly Active Antiretroviral Therapy“ (HAART) geführt. Hier wird eine Kombination von zwei NRTI und einem Proteasehemmer oder zwei NRTI und einem nichtnucleosidischen RT Inhibitor (NNRTI) eingesetzt. Sie ist sehr effizient, denn die Morbidität und Mortalität HIV-infizierter Patienten wird durch die HAART stark verringert.^{14,15} Allerdings führt die Therapie bei einer zunehmenden Anzahl von Patienten zu starken Nebenwirkungen.¹⁶ Ein zusätzliches Problem ist die starke Wandlungsfähigkeit des HI-Virus. Diese bewirkt zunehmend das Auftreten von Virenstämmen, die gegen die antiretrovirale Therapie resistent sind. Das wurde in den letzten Jahren besonders in Nordamerika beobachtet.¹⁷ Um auch Patienten behandeln zu können, die mit resistenten Virenstämmen infiziert sind, müssen neue Wirkstoffe entwickelt werden. Ein Beispiel für einen solchen Wirkstoff ist das CNI-1493 ((*N,N'*-bis[3,5-bis[1(Aminoiminomethyl)-hydrazonoethyl]phenyl]decandiamid Tetrahydrochlorid **12** (Abb. 5).

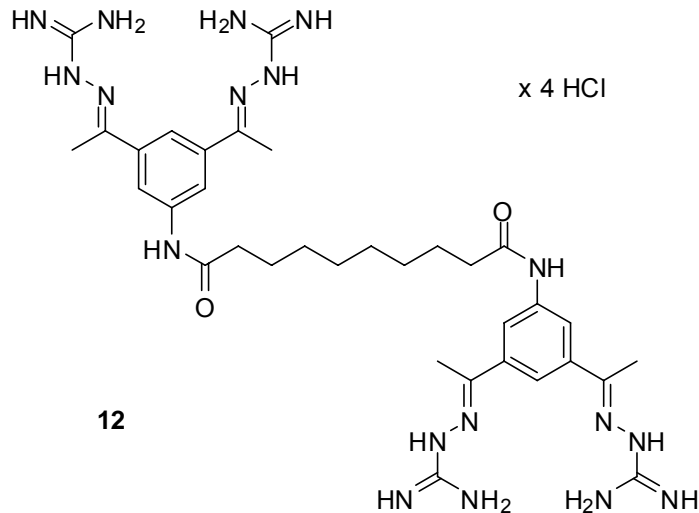


Abb. 5 CNI-1493 **12**

Dieser Wirkstoff inhibiert die zelluläre Deoxyhypusine Synthase (DHS). Dieses Enzym ist für die Bildung des eukaryotic translation Initiation Factor 5A (eIF5A) verantwortlich, einem Kofaktor des HIV Rev Regulatorproteins. CNI-1493 **12** kann somit durch die Unterdrückung der eIF5A-Bildung die Virusreplikation entscheidend hemmen. Dies gilt auch für Virenstämme, die gegen die gängigen RT-Inhibitoren bereits resistent sind.¹⁸ CNI-1493 **12** ist damit eine vielversprechende Alternative zu den herkömmlichen RT-Inhibitoren, allerdings wird die HAART mit dem Einsatz von Nucleosidanaloga für Jahre aus der HIV-Therapie nicht wegzudenken sein.

2 Kenntnisstand

2.1 Wirkungsweise der Nucleosidanaloga

Natürliche Nucleoside und antiviral aktive Nucleosidanaloga müssen in ihre 5'-Triphosphate überführt werden, um in einer Zelle in einen DNA-Strang eingebaut zu werden. In einem ersten Schritt werden die Nucleoside in ihre Monophosphate überführt, was durch Nucleosid-Kinasen katalysiert wird.¹⁹ Durch Nucleotidyl-Kinasen werden die Monophosphate in die Diphosphate, und letztere durch Nucleosid-Diphosphat-Kinasen in die Triphosphate überführt (Abb. 6).

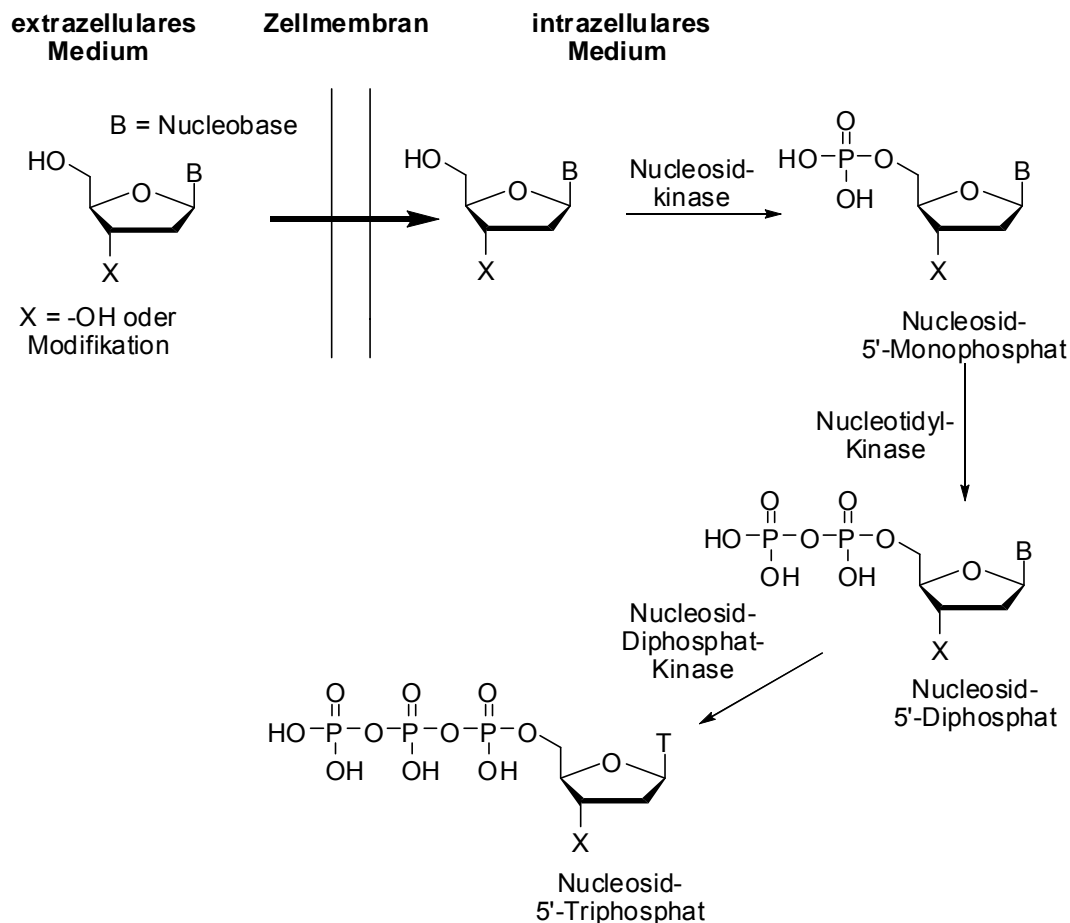


Abb. 6 Metabolismus von Nucleosiden und Nucleosidanaloga

Da die Nucleosidkinasen substratspezifisch sind, können bei der Phosphorylierung von antiviral aktiven Nucleosidanaloga Probleme auftreten, da sie sich an der 3'-Position von den natürlichen Nucleosiden unterscheiden.²⁰ Zum Beispiel ist bei AZT 1 die

Diphosphatsynthese und bei d4T **3** die Bildung des Monophosphates gehemmt, was zu einer starken Verminderung ihrer antiviralen Aktivität führt. Diese Tatsache hat zu der Idee geführt, antiviral aktive Nucleosidanaloga gleich in Form ihrer Monophosphate einzusetzen. In Abb. 7 ist das Prinzip anhand von d4T **3** dargestellt.

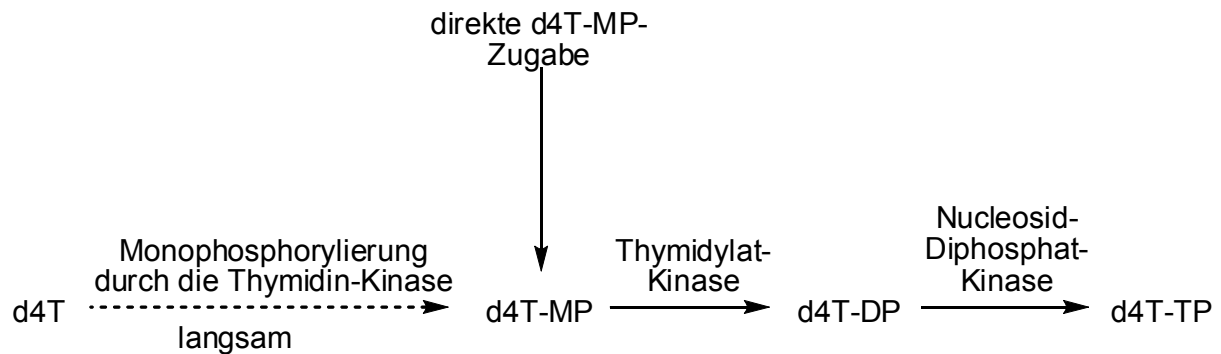


Abb. 7 Der TK-Bypass

In einem ersten, langsamen Schritt wird d4T durch die Thymidin-Kinase (TK) in d4T-Monophosphat umgewandelt. Diese Reaktion ist der limitierende Faktor auf dem Weg zum biologisch aktiven d4T-Triphosphat. Die weiteren Phosphorylierungsschritte sind unproblematischer. Durch eine direkte d4T-Monophosphat-Zugabe würde der erste gehemmte Schritt umgangen, weshalb man vom „TK-Bypass“ spricht.

Bei dieser Vorgehensweise ergeben sich allerdings zwei Probleme: Zum einen sind Phosphate Säuren und liegen im physiologischen pH-Bereich zweifach deprotoniert vor. Solch polare Verbindungen können die lipophile Zellmembran nicht durchdringen, um so zu ihrem Wirkort zu gelangen.²¹ Zum anderen können die Monophosphate in der Blutbahn durch unspezifische Phosphatasen in die ursprünglichen Nucleoside katabolisiert werden.²² Letztgenannter Nachteil liegt beim Einsatz von Nucleosidphosphonaten wie z.B. PME A **9** nicht vor. Sie sind zwar Analoga der Nucleosidmonophosphate und umgehen ebenfalls den Schritt der Monophosphorylierung, aber durch das Strukturelement der P-C-Bindung sind sie gegenüber Phosphatasen stabil.²³ Allerdings liegen auch sie bei physiologischem pH-Wert deprotoniert vor und sind somit in ihrer Membrangängigkeit gegenüber den Nucleosidanaloga stark eingeschränkt.

2.2 Wirkungsweise der Nucleosidphosphonate

Nucleosidphosphonate sind Nucleotidanaloga und müssen deshalb in der Zelle nur zweifach phosphoryliert werden, um in die biologisch aktive triphosphatanaloge Form überführt zu werden. Die Phosphorylierung von PME A 9 verläuft etwas anders als die vom vergleichbaren d4T-Monophosphat (Abb. 7, vorherige S.). Während bei d4TMP zwei separate Phosphorylierungsschritte auf dem Weg zum d4T-TP erforderlich sind, wird PME A 9 direkt zum Triphosphatanalogon (PMEApp) umgewandelt (Abb. 8).

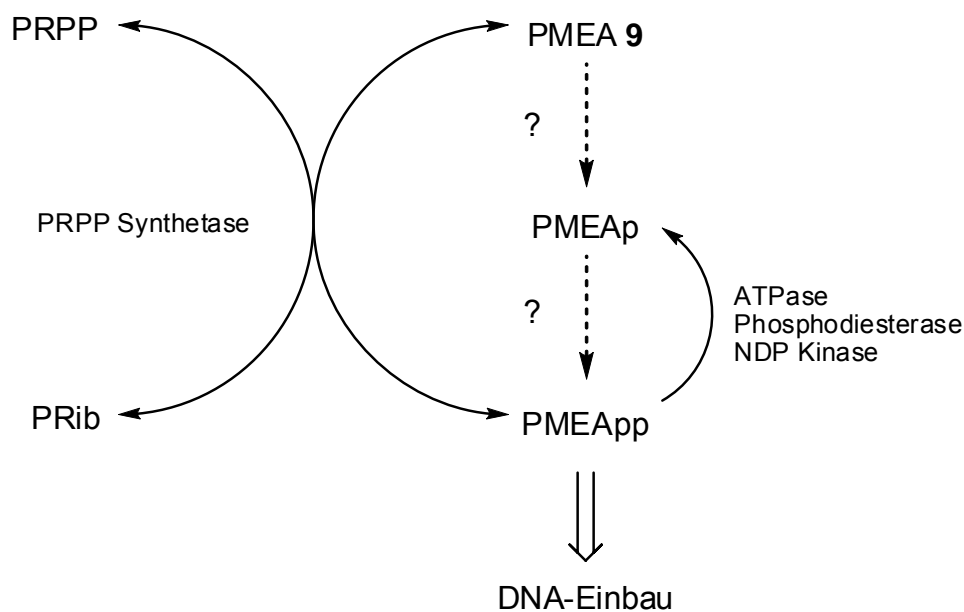


Abb. 8 Intrazelluläre Metabolisierung von PME A 9

Das für die Diphosphorylierung notwendige Pyrophosphat wird von 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP) geliefert, wobei die Übertragung durch die PRPP-Synthase katalysiert wird.²⁴ Die Wirkungsweise des biologisch aktiven PMEApp entspricht dann jener der NTP-Analoga. Die virale RT baut PME A 9 in den wachsenden DNA-Strang ein, und es kommt aufgrund der fehlenden 3'-OH-Gruppe zum Kettenabbruch. Ungeklärt ist noch, ob möglicherweise weitere Prozesse zur PMEApp-Bildung führen können. Nachgewiesen wurde allerdings, dass PMEApp durch verschiedene Enzyme zu PMEAp abgebaut werden kann. Ob dieses dann weiterreagiert, ob es zu PME A 9 de- oder zu PMEApp phosphoryliert werden kann, ist ebenfalls unklar.

Im Gegensatz zu PME A 9 und PMPA 10 besitzt HPMPC 11 eine OH-Gruppe, die nach dem Einbau in DNA eine Kettenfortpflanzung ermöglicht, weshalb dieser Wirkstoff mit

dem Nucleosidanalogen BVDU **8** vergleichbar ist. Die bioaktive Form von HPMPC **11** ist ebenfalls seine diphosphorylierte Form HPMPCpp.²⁵ Wird ein solches Molekül in den wachsenden DNA-Strang eines menschlichen Cytomegalovirus eingebaut, so verringert sich die Geschwindigkeit weiterer Einbauschritte um 31 %. Werden zwei Moleküle direkt hintereinander oder durch ein Nucleotid getrennt eingebaut, so kommt die Kettenfortpflanzung durch die virale DNA-Polymerase fast vollständig zum Erliegen.²⁶ Die orale Verfügbarkeit der Nucleosidphosphonate ist aufgrund ihrer hohen Polarität äußerst gering. Für PME A **9** liegt sie bei Ratten bei maximal 11 %²⁷ und bei Affen bei unter 1 %.²⁸ Wie ein Teil des Wirkstoffs trotz seiner hohen Polarität dennoch in die Zellen gelangt, ist noch unklar. Eine Inhibierung des Nucleosidtransportsystems beeinflusst die Aufnahme von PME A **9** nicht, so dass ein aktiver Transportmechanismus auf diesem Wege nicht in Frage kommt.²⁹ Allerdings haben Cihlar et al. ein Plasmamembranprotein isoliert, das möglicherweise einen aktiven Transportprozeß von PME A **9** ermöglicht.³⁰ Wie auch immer PME A **9** die Membran durchdringt, ob aktiv oder passiv, es geschieht wesentlich ineffektiver verglichen mit den lipophileren Nucleosidanaloga. Das Verhältnis zwischen extrazellulärer Wirkstoffkonzentration und intrazellulärer biologisch aktiver Triphosphatkonzentration ist für sie deutlich günstiger als für PME A **9**. Die Wirksamkeit der Nucleosidphosphonate ist also deutlich eingeschränkt. Hier stellt sich für die Chemie die Frage, ob die Nucleosidphosphonate so modifiziert werden können, dass sie deutlich lipophiler sind, ohne ihre Wirksamkeit zu verlieren.

2.3 Das Prodrug-Konzept

Ein Lösungsansatz für die im vorigen Kapitel beschriebenen Probleme beim Einsatz von antiviral aktiven Nucleotiden und Nucleosidphosphonaten besteht in der Verwendung von lipophilen Masken (Prodrug-Konzept). Dabei werden die negativen Ladungen der Nucleotide bzw. Nucleosidphosphonate mit einer lipophilen Gruppe „maskiert“, es liegt damit ein Prodrug bzw. Pronucleotid vor. Abb. 9 zeigt diesen Lösungsansatz anhand des TK-Bypasses, der in Kapitel 2.1 auf S. 7 für d4T **3** erklärt wurde.

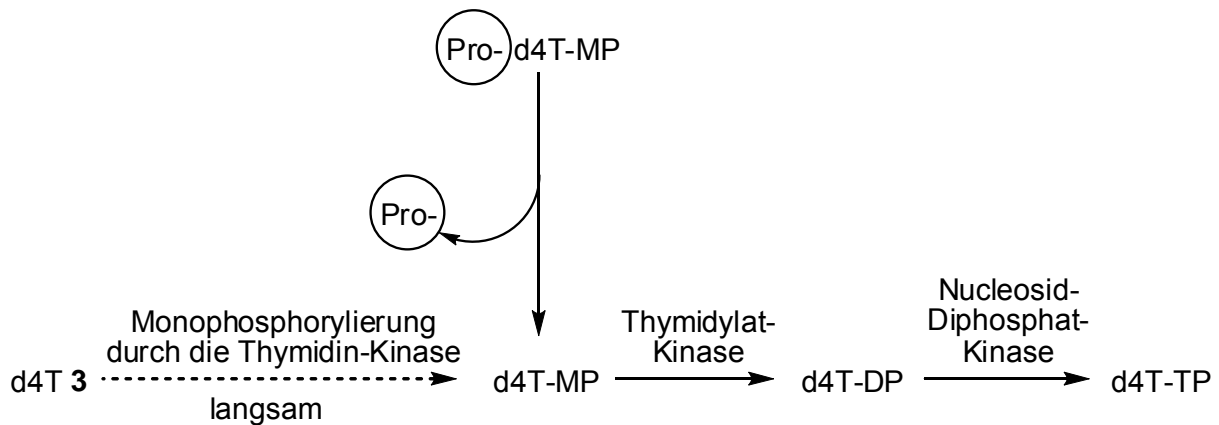


Abb. 9 Der TK-Bypass mit einem Pronucleotid

Das Pronucleotid kann die lipophile Zellmembran besser passieren als das Nucleotid und kann unter Abspaltung der Maske in der Zelle d4T-Monophosphat freisetzen. In Abb. 10 ist das Prinzip des Prodrugs am Beispiel von d4T 3 dargestellt.

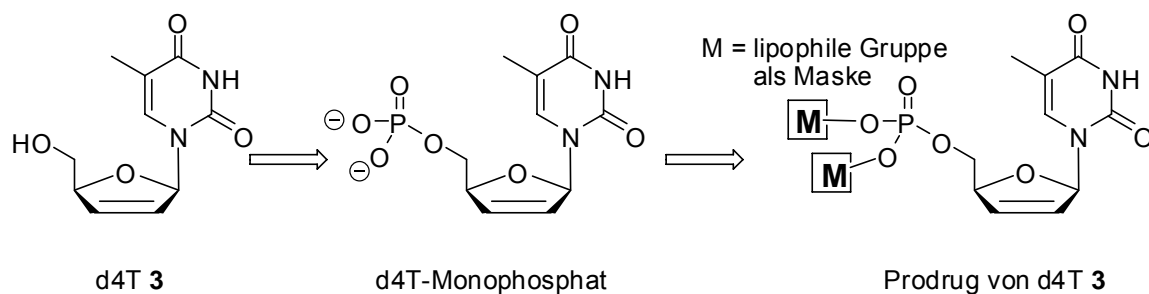


Abb. 10 Vom Nucleosid zum Phosphatprodrug

Die lipophile Maske soll die Membrangängigkeit des Pronucleotids gewährleisten und innerhalb der Zelle vollständig abgespalten werden, um hier die Monophosphate bzw. Phosphonate freizusetzen. Voraussetzung für eine erfolgreiche Anwendung der Prodrugs ist natürlich ein selektiver Freisetzungsmechanismus.

Prodrugs sollen folgende Eigenschaften besitzen:

- ausreichende Lipophilie, um die Zellmembran durchdringen zu können;
- hinreichende hydrolytische Stabilität, um über die Blutbahn zur Zelle zu gelangen;
- ausreichende chemische oder enzymatische Labilität, damit der Wirkstoff in der Zelle freigesetzt werden kann;

- die freigesetzte Maske soll nicht toxisch sein.

Besonders interessant ist der Prodrug-Ansatz für die acyclischen Nucleosidphosphonate, da sie als Monophosphatanaloga vorliegen und es von ihnen keine nucleosidischen Ausgangsverbindungen gibt. Deshalb sind bereits Nucleosidphosphonat-Prodrugs synthetisiert und charakterisiert worden. Einige literaturbekannte Beispiele sind in Abb. 11 gezeigt: bis(*S*-Acyl-2-thioethyl)PMEA (bis(SATE)PMEA) **13**, PMEAs-Phenyl(*D,L*-Alanin)phosphonamidat **14**, bis(Pivaloyloxymethyl)PMEA (bis(POM)PMEA, Adefovir Dipivoxil, Hepsera[®]) **15**³¹ und bis(*iso*Propyloxycarbonyloxymethyl)PMPA (bis(POC)PMPA, Tenofovir Disoproxil Fumarat, Viread[®]) **16**.³² Ein Beleg für die Nützlichkeit des Pronucleotid-Ansatzes dürfte sein, dass gegenwärtig zwei der vorgestellten Substanzen klinisch in der antiviralen Therapie eingesetzt werden. bis(POM)PMEA **15** wurde für die Behandlung von Hepatitis-B-Virus-Infektionen zugelassen und bis(POC)PMPA **16** für die anti-HIV-Therapie.

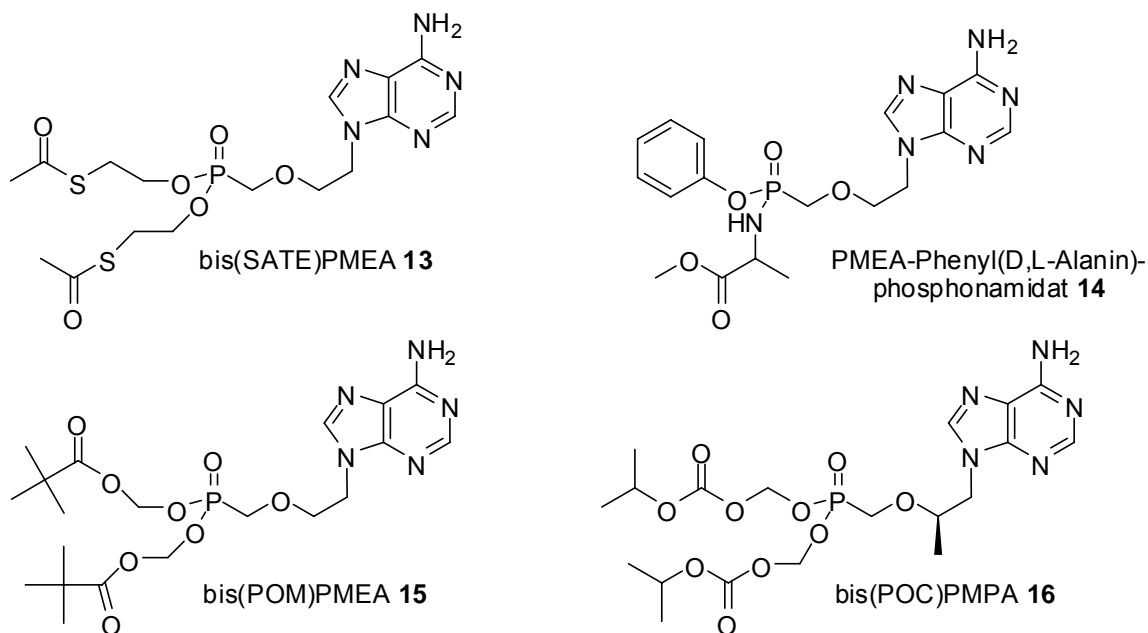


Abb. 11 Prodrugs von PMEAs **9** und PMPA **10**

Alle vorgestellten Prodrugs setzen PMEAs **9** nach dem gleichen Prinzip frei. Die lipophilen Masken besitzen jeweils eine Ester-Substruktur, die durch die im intrazellulären Medium vorhandenen Carboxyesterasen gespalten werden. Dieser enzymatische Initialschritt löst spontane Folgereaktionen aus, die dann zur Freisetzung des Wirkstoffes führen. Einer dieser Freisetzungsmechanismen ist in Abb. 12 (nächste S.)

anhand von bis(POM)PMEA **15** gezeigt. Im ersten Schritt wird eine Pivalinsäureeinheit aus Verbindung **15** zu Pivalinsäure und der Hydroxymethyl-Zwischenstufe **17** hydrolysiert. Diese Hydrolyse wird durch Carboxyesterasen katalysiert. Zwischenstufe **17** ist ein Halbacetal und liefert durch spontane Eliminierung eines Moleküls Formaldehyd den Phosphonatmonoester **18**. Um den Wirkstoff **9** freizusetzen, muss der Phosphonatmonoester **18** den Prozeß der enzymatischen Aktivierung nochmals durchlaufen oder wird alternativ durch Phosphodiesterasen gespalten.

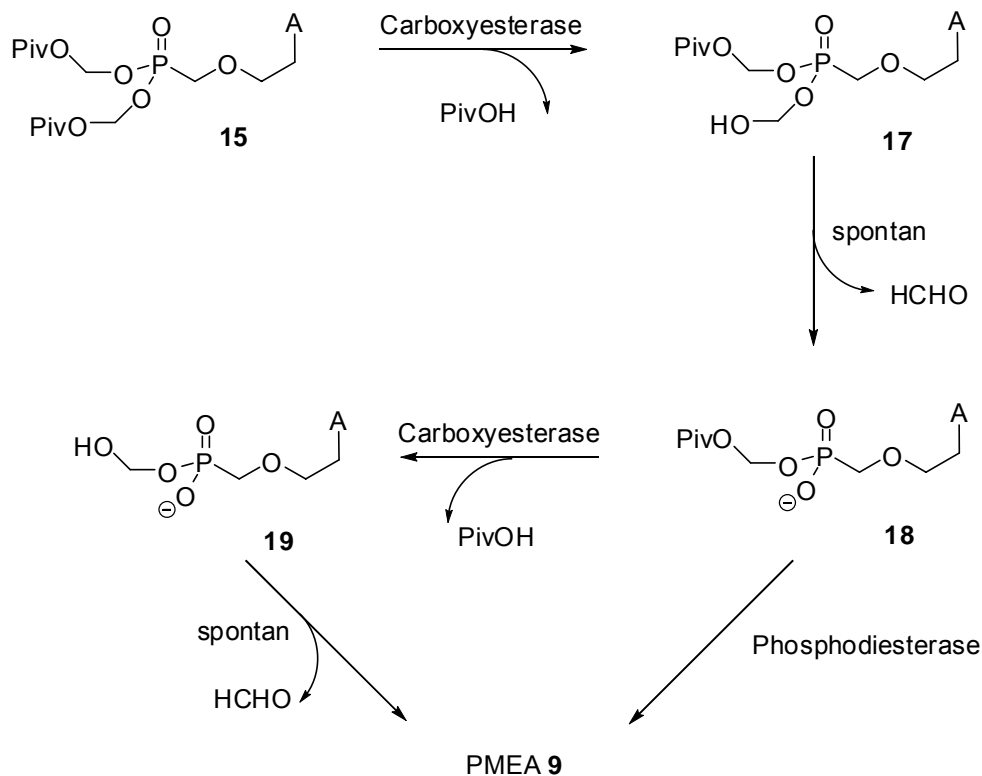


Abb. 12 Hydrolyse von bis(POM)PMEA **15**

Durch seine erhöhte Lipophilie und den wirksamen Abspaltmechanismus der gewählten Maske ist bis(POM)PMEA **15** gegen HIV wesentlich aktiver als PME A **9**.³³ Bei der enzymatischen Abspaltung der Masken innerhalb der Zelle werden neben einem Äquivalent PME A **9** allerdings auch zwei Äquivalente Pivalinsäure und zwei Äquivalente Formaldehyd freigesetzt (Abb. 12), die in der Zelle toxisch wirken können. In klinischen Studien wurden diese toxischen Effekte bestätigt,³⁴ weshalb die weitere Entwicklung von bis(POM)PMEA **15** als anti-HIV-Therapeutikum gestoppt wurde. Zusätzlich wurde festgestellt, dass bis(POM)-PMEA **15** chemisch instabil und anfällig gegen Hydrolyse im Blutserum ist, was zu einer Verminderung der intrazellulären PME A-Freisetzung

führt.^{35,36} Ähnliche Probleme treten bei bis(POC)PMPA **16** auf. Der Spaltungsmechanismus verläuft sehr ähnlich wie der in Abb. 12 (vorherige S.) gezeigte. Es kommt auch hier zur Freisetzung von zwei Äquivalenten Formaldehyd. Trotz der guten antiviralen Eigenschaften sind die POM-Gruppe und die POC-Gruppe also noch keine optimale Lösung für die Maskierung von Nucleosidphosphonaten wie PMEA **9** und Nucleosidmonophosphaten wie d4TMP.

2.4 Das *cycloSal*-Konzept

Das *cycloSal*-Konzept ist ein Pronucleotid-Konzept, das seit 1996 von Meier et al. entwickelt wird und sich von den bisher vorgestellten erheblich unterscheidet.³⁷ Zur lipophilen Maskierung werden Salicylalkohole verwendet, um Nucleosidmonophosphat-Prodrugs, die ***cycloSal*igenyl-Nucleosid-monophosphate** (*cycloSal*-NMPs), zu erzeugen. Ihre allgemeine Struktur ist in Abb. 13 dargestellt.

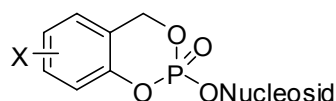


Abb. 13 Allgemeine Struktur der *cycloSal*-Nucleotide **20**

Um das Nucleosid-Monophosphat freizusetzen, wird kein enzymatischer Schritt benötigt. Die Freisetzung beruht allein auf chemischer Hydrolyse, wobei die unterschiedliche Labilität der benzylichen und der phenylischen Phosphatesterbindung ausgenutzt wird. Bei einem Angriff eines Hydroxid-Ions auf das Phosphoratom wird zuerst die phenolische Phosphatesterbindung gespalten, weil die negative Ladung als Phenolat am besten stabilisiert wird (Schritt a, Abb. 14, nächste S.). Durch die Umwandlung von einem sehr schwachen Donor-Substituenten (Phosphat als Donor) in *cycloSal*-NMP **20** in einen sehr starken Donor (Phenol bzw. Phenolat) kann die Benzylesterbindung im Intermediat **21** spontan brechen, und das Nucleosidmonophosphat **22** sowie die nicht toxische Maske **23** werden freigesetzt (Schritt b, Abb. 14).

Dieser Inhibition kann mit sperrigen Substituenten wie z. B. *tert*-Butyl an der *cycloSal*-Maske begegnet werden. Außerdem wurde festgestellt, dass *cycloSal*-Pronucleotide von Nucleosiden mit polaren Gruppen am Glycon (z. B. AZT **1** und BVDU **8**) schwache Inhibitoren der BChE sind.⁴⁰

Mithilfe der Substituenten X können die Eigenschaften der *cycloSal*-Nucleotide gesteuert werden. Sie sollen

- hinreichend stabil sein;
- Nucleosidmonophosphat in Zellen freisetzen;
- selektiv den Diester **21** bilden;
- keine BChE-Inhibitoren sein.

cycloSal-d4T-Monophosphat **27** konnte mit einer *cycloSal*-Maske durch eine geschickte Kombination der Substituenten X so modifiziert werden, dass alle erwünschten Eigenschaften erfüllt werden.⁴¹ Um die BChE-Inhibition zu vermeiden, wurden die 3- und die 5-Position mit *tert*-Butyl-Gruppen substituiert. Das Pronucleotid wird dadurch zu sperrig, um in das aktive Zentrum des Enzyms zu gelangen. 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-d4TMP **28** ist allerdings mit einer Hydrolysehalbwertszeit von 73 h viel zu stabil und liefert zu 34% den unerwünschten Phenylphosphatdiester **24**. Durch die Donoreigenschaften der *tert*-Butyl-Gruppen wird das intermediäre Benzylkation stabilisiert, das zum Diester **24** führt. Um dieser Stabilisierung entgegenzuwirken, wurde die 6-Position mit Fluor substituiert. Aus Vorarbeiten war bekannt, dass Akzeptorsubstituenten in 6-Position die Halbwertszeit senken und selektiv den erwünschten Diester **21** liefern.⁴² 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-*cycloSal*-d4TMP **29** (Abb. 15, nächste S.) hat dank seines Substitutionsmusters nur noch eine Halbwertszeit von 6 h und lieferte selektiv den Diester **21**. Verbindung **29** ist ein äußerst schwacher BChE-Inhibitor, und aus antiviralen Daten ist ersichtlich, dass d4TMP **22a** in mit HIV-Viren infizierten Zellen freigesetzt wird. Der Triester **29** erfüllt damit alle Anforderungen, die an ein *cycloSal*-Pronucleotid gestellt werden.

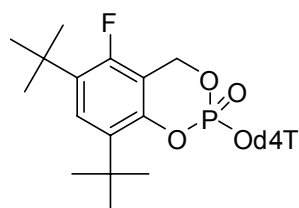


Abb. 15 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-*cycloSal*-d4TMP **29**

Versuche, das für d4T **3** und andere Nucleosidanaloga erfolgreiche *cycloSal*-Konzept auf Nucleosidphosphonate anzuwenden, führten bisher nicht zu zufriedenstellenden Ergebnissen. *CycloSal*-Nucleosidphosphonate sind sehr schwierig zu synthetisieren und zu isolieren, da sie nicht über die in unserem Arbeitskreis etablierte Phosphor(III)-Chemie zugänglich und äußerst hydrolyselabil sind. Sie sind derart hydrolyselabil, dass sie als Prodrugs nicht erfolgreich eingesetzt werden können, was durch das Vorliegen antiviraler Daten belegt ist.^{43,44}

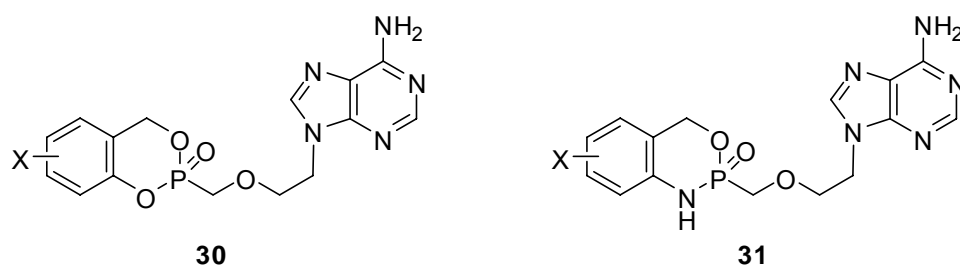


Abb. 16 Grundstruktur von *cycloSal*- **30** und *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen **31**

Wird das phenolische Sauerstoffatom durch eine NH-Funktion ersetzt, können stabilere Prodrugs erzeugt werden. Die Synthese dieser *cycloAminobenzyl(cycloAmb)*-PMEA-Verbindungen **31** ist ebenfalls sehr mühselig und es konnten bisher keine ausreichenden Mengen davon synthetisiert werden, um antivirale Tests durchzuführen.⁴⁵ Da die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs, genau wie ihre entsprechenden *cycloSal*-PMEA-Verbindungen, bei der Hydrolyse selektiv den Wirkstoff PMEAs **9** freisetzen und sie aufgrund ihrer acyclischen Struktur keine BChE-Inhibitoren sind, ist hier ein guter Ansatz für eine Erweiterung des *cycloSal*-Konzepts auf Nucleosidphosphonate gegeben. In der vorliegenden Arbeit wird deshalb die systematische Optimierung des *cycloSal*-Konzepts für Nucleosidphosphonate beschrieben.

3 Aufgabenstellung

Eine systematische Entwicklung geeigneter lipophiler Masken für Nucleosidphosphonate auf Basis des cycloSal-Konzepts

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Synthese und Charakterisierung von Nucleosidphosphonat-Prodrugs auf Basis des *cycloSal*-Konzepts. Zunächst sollte eine verbesserte Synthese für die *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen entwickelt werden, damit ausreichende Substanzmengen zur Verfügung standen, um antivirale anti-HIV-*in vitro*-Tests in Kooperation mit Prof. Dr. Jan Balzarini von der Universität Leuven (Belgien) durchzuführen. Diese Tests sollten Auskunft geben über antivirale Eigenschaften und die Cytotoxizitäten der synthetisierten Prodrugs. Durch Bewertung dieser Daten und die Betrachtung des Hydrolyseverhaltens sollten nachfolgend weitere Verbindungen mit dem Ziel synthetisiert werden, die verwendeten lipophilen Masken schrittweise zu optimieren. Diese Optimierung sollte chemisch durch geeignete Wahl der aromatischen Substituenten (Abb. 17) durchgeführt werden, wie das z. B. für d4T **3** durch Entwicklung des *cycloSal*-Pronucleotids **29** (Abb. 15, vorherige S.) bereits geschehen ist.

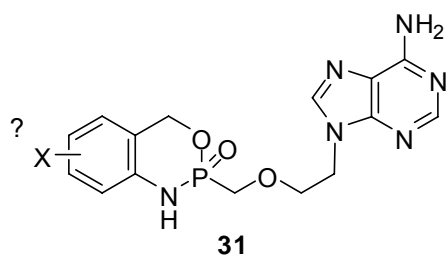


Abb. 17 Die Grundstruktur **31** der zu optimierenden Zielverbindungen

Die Entwicklung neuer Masken sollte zunächst an PMEA **9** als Standardnucleosidphosphonat durchgeführt werden. Das für PMEA **9** erarbeitete Konzept sollte dann auf PMPA **10** und HPMPC **11** übertragen werden. Die Übertragung auf PMPA **10** sollte keine neue Synthesestrategie erfordern, da es strukturell fast identisch mit PMEA **9** ist. HPMPC **11** allerdings besitzt eine freie OH-Gruppe, was möglicherweise die Entwicklung einer umfassenden Schutzgruppenstrategie erforderlich macht. Da die freie OH-Gruppe in der Lage ist, das Phosphoratom nucleophil anzugreifen, sollte sie mit

biologisch spaltbaren Schutzgruppen versehen werden. Dafür boten sich Ester an, die möglicherweise intrazellulär durch Carboxyesterasen abgespalten werden (Abb. 18).

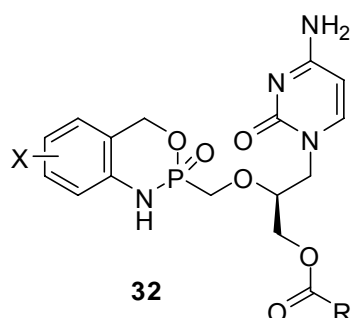


Abb. 18 Die Grundstruktur **32** der HPMPC-Zielverbindungen

Ob es zu den erwünschten enzymatischen Reaktionen kommt, sollte dann in biologischen Medien wie beispielsweise CEM/0-Zellextrakten untersucht werden. Die entsprechenden HPMPC-Zielverbindungen sollten dann auch in *in vitro*-Tests in Kooperation mit Dr. Astrid Meerbach von der Universität Jena auf ihre antiviralen Eigenschaften gegenüber DNA-Viren untersucht werden.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Anwendung der optimierten Maske des *cycloSal*-Pronucleotids **29** auf die Nucleosidanaloga Acyclovir **7**, AZT **1**, 2',3'-Dideoxyadenosin (ddA) **33** und 2',3'-Dideoxy-2'-3'-didehydroadenosin (d4A) **34** (Abb. 19).

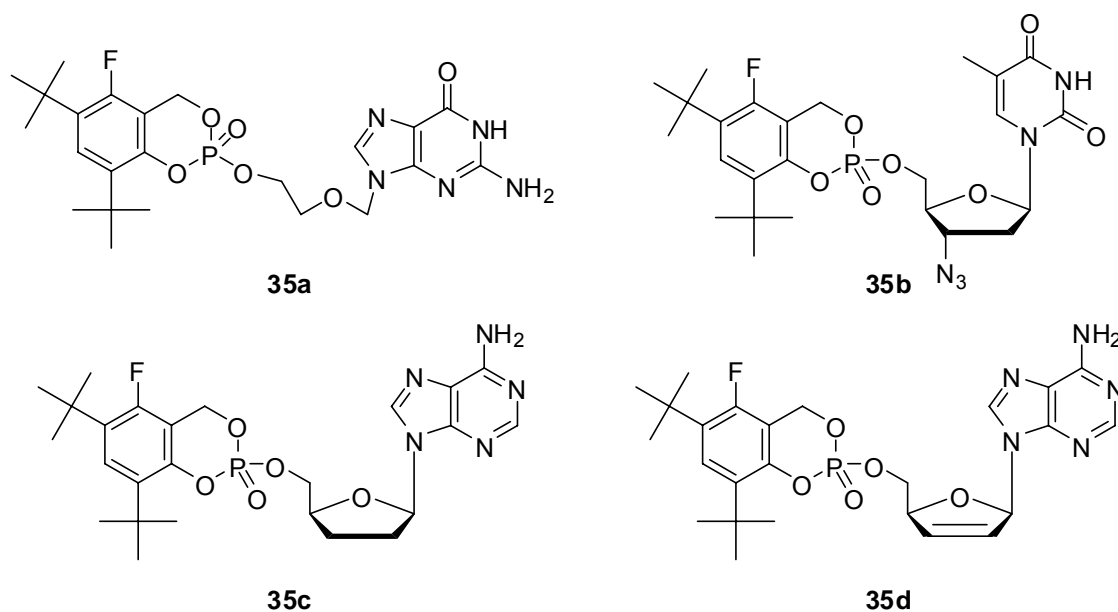


Abb. 19 Die Zielverbindungen **35a-d**

Die Pronucleotide **35a-d** sollen hinsichtlich ihrer Hydrolysestabilität, ihrer antiviralen Eigenschaften und ihrer Inhibitoreigenschaften gegenüber dem Enzym Butyrylcholinesterase untersucht werden.

Des Weiteren sollte eine Synthese für den nichtnucleosidischen anti-HIV-Wirkstoff CNI-1493 (*N,N'*-bis[3,5-bis[1(Aminoiminomethyl)hydrazonoethyl]phenyl]decandiamid Tetrahydrochlorid) **12** (Abb. 5, S. 6) etabliert werden, um einen Zugang zu diesem Arbeitsgebiet zu schaffen. Die aus Literatur und Patenten zusammengesetzte Synthesevorschrift hat sich als problematisch herausgestellt und bedarf einer Überarbeitung.

4 Resultate und Diskussion

4.1 Die Synthese einiger Edukte

Im Rahmen des synthetischen Teils dieser Arbeit mussten zunächst einige literaturbekannte Verbindungen dargestellt werden. Die Vorgehensweisen dabei wird im Folgenden beschrieben.

4.1.1 Die Synthese von PME A 9

PMEA **9** wurde ausgehend von 9-[2-Diethylphosphonylmethoxyethyl]adenin (Diethyl-PMEA) **36** dargestellt. Diese Synthese ist literaturbekannt⁴⁶ und bis zur Stufe des Diethyl-PMEA **36** im Arbeitskreis etabliert.^{44,45} Phosphonsäureester werden grundsätzlich mit Bromtrimethylsilan (TMSBr) gespalten. Die Esterspaltung von Diethyl-PMEA **36** wurde zunächst wie in der Literatur beschrieben durchgeführt. Diethyl-PMEA **36** wurde in trockenem Acetonitril mit 3.6 Äquivalenten Bromtrimethylsilan behandelt (Abb. 20).

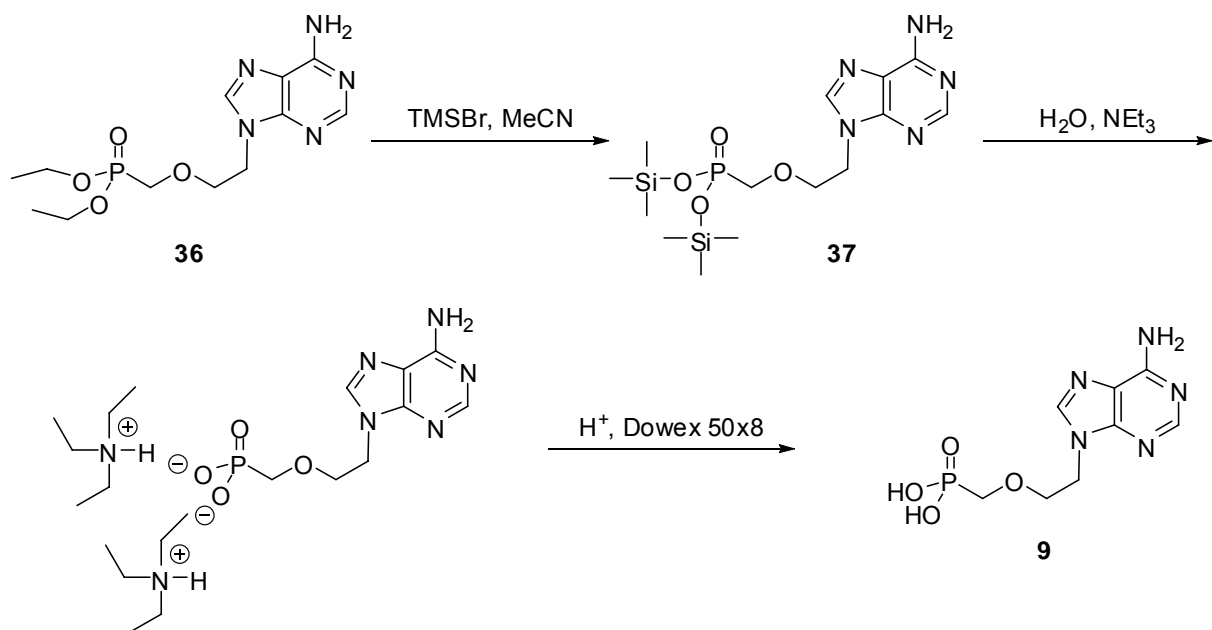


Abb. 20 PME A-Synthese nach Holy

Nach Entfernen des Lösungsmittels und unumgesetzten Bromtrimethylsilan im Vakuum wurde der entstandene PMEAbis(trimethylsilyl)ester **37** mit einer triethylaminhaltigen wässrigen Ammoniumhydrogencarbonatlösung behandelt, um den Trimethylsilylester **37** zu spalten und das Triethylammoniumsalz von PMEAbis(trimethylsilyl)ester **9** zu erhalten, das in einem weiteren Schritt mit Dowex 50x8 (H⁺-Form) protoniert wurde, so dass die freie Phosphorsäure isoliert werden kann. Die erhaltene Lösung wurde eingedampft, um PMEAbis(trimethylsilyl)ester **9** auszufällen. Die NMR-Untersuchung des entstandenen Niederschlags ergab allerdings, dass die isolierte Substanz noch starke Verunreinigungen von Triethylammoniumsalzen aufwies. Da auf diese Weise kein sauberes Produkt erhältlich war und die Aufarbeitung mit Dowex 50x8 sehr aufwendig ist, wurde Alternativen zur Behandlung des Phosphorsäuretrimethylsilylesters gesucht. In einer Publikation der Firma Bristol-Myers ist eine einfachere Aufarbeitung nach einer Phosphorsäureesterspaltung beschrieben.⁴⁷ Hierbei wurde der Trimethylsilylester von HPMPC **11** mit Wasser gespalten und zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wurde in Wasser aufgenommen und durch Acetonzugabe ausgefällt und der Niederschlag dann aus Wasser und Ethanol umkristallisiert. Diese Aufarbeitungsmethode wurde mit Erfolg auf die PMEAsynthese übertragen. Der PMEAbis(trimethylsilyl)ester **37** wurde ebenfalls durch Wasserzugabe gespalten. Nach anschließendem Einengen wurde das Rohprodukt allerdings direkt aus Wasser und Ethanol umkristallisiert, wobei PMEAbis(trimethylsilyl)ester **9** in hoher Reinheit mit einer guten Ausbeute von 82 % isoliert werden konnte (Abb. 21).

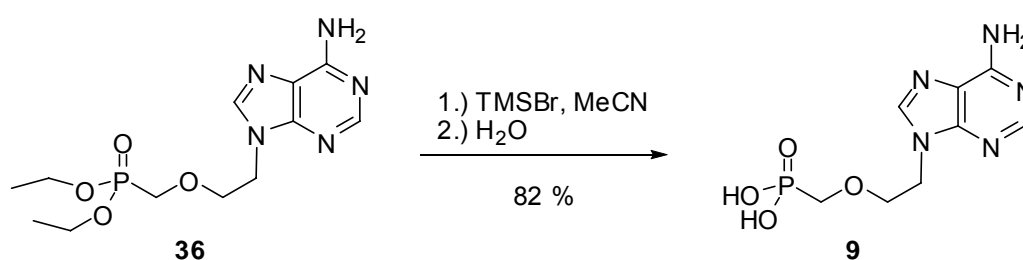


Abb. 21 PMEAsynthese mit einfacherer Reaktionsführung

Aufgrund dieses Erfolges wurde die Aufarbeitung nach Holy mit Dowex-Ionentauscher nicht mehr weiterverfolgt. Bei allen weiteren Phosphorsäuresynthesen wurde das Produkt durch einfaches Um- oder Auskristallisieren isoliert.

4.1.2 Die Synthese von Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38**

Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38** ist eine sehr wichtige Substanz, die bei der Darstellung von Phosphonsäurediethylestern immer wieder zum Einsatz kommt. Die Synthese ist bereits im Arbeitskreis etabliert, allerdings wurde Verbindung **38** nur mit einer Ausbeute von 45 % isoliert. Der Grund für die mäßige Ausbeute kann aber nicht mit der Synthese erklärt werden, sondern mit Fehlern bei der Chromatographie. Verbindung **38** ist nur schwach UV-aktiv und die abzutrennenden Verunreinigungen fallen bei der Betrachtung von Dünnschichtchromatogrammen deutlicher ins Gewicht, obwohl sie quantitativ unbedeutend sind. Deshalb müssen nach der Chromatographie alle Fraktionen eingengt werden, die das Produkt **38** enthalten, auch wenn Verunreinigungen sichtbar sind. Auf diese Weise konnte mehr Produkt isoliert werden (80 % Ausbeute, Abb. 22). Dass das Produkt in ausreichender Reinheit vorlag, konnten in den entsprechenden NMR-Spektren festgestellt werden.

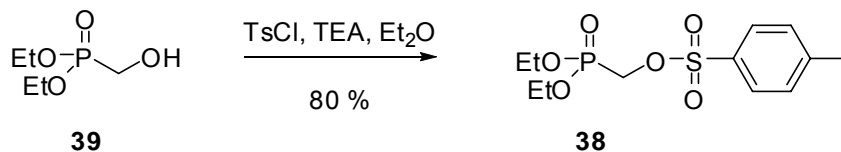


Abb. 22 Die Tosylierung von Diethyl(hydroxymethyl)phosphonat **39**

4.1.3 Die Synthese von (*R*)-9-(2-Phosphonylmethoxypropyl)adenin (PMPA) **10**

Holy et al. haben eine von Milchsäure ausgehende Synthese von PMPA **10** entwickelt, die viele Stufen umfasst und sehr aufwendig ist.⁴⁸ Eine kürzere Synthese wird von Schultze et al. beschrieben (Abb. 23).⁴⁹

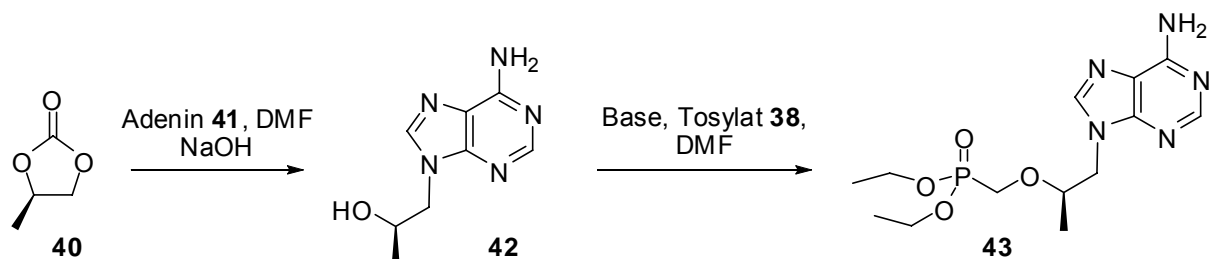


Abb. 23 Eine kurze Synthese von PMPA-Diethylester **43**

Mit dieser Syntheseroute ist die Darstellung von PMPA **10** in 3 Stufen möglich, weshalb sie übernommen werden sollte. Der Artikel beschreibt allerdings eine Synthese im kg-Maßstab, ohne dass experimentelle Daten und genaue Vorschriften vorhanden sind. Zunächst musste also die beschriebene Synthese auf Labormaßstab verkleinert werden. Die Umsetzung von kommerziell relativ günstig verfügbarem (*R*)-Propylencarbonat **40** (1.1 Äquiv.) mit Adenin **41** (1.0 Äquiv.) und katalytischer Menge NaOH in 140 °C heißem DMF zu (*R*)-9-(2-Hydroxypropyl)adenin **42** verlief in sehr guter Ausbeute von 91 %. Ein Angriff des Adenins sowohl auf das methylysubstituierte Kohlenstoffatom des (*R*)-Propylencarbonats **40** als auch eine *N*-7- oder Aminoalkylierung des Adenins wurden nicht beobachtet. Selbst unter diesen harschen Bedingungen verläuft die Reaktion also mit hoher Regioselektivität. Zur weiteren Umsetzung von Verbindung **42** wurde laut Literatur mit 1.1 Äquivalenten Lithium-*tert*-butoxid (2 M in THF) in DMF deprotoniert und mit Tosylat **38** (1.0 Äquiv.) umgesetzt. Hierbei wurden Ausbeuten von 55 - 65 % an PMPA-Diethylester **43** erzielt. Eine Übertragung dieser Äquivalentmengen auf Labormaßstab brachte jedoch nur eine Ausbeute von 27 %. Um höhere Ausbeuten zu erzielen, wurden noch Natrium-*tert*-butoxid und Natriumhydrid als Basen getestet (Tab. 1).

Base	Äqui. Base	Äqui. Tosylat 38	Ausbeute [%]
LiOtBu	1.5	1.1	27
NaOtBu	1.7	1.1	31
NaH	2.0	1.4	26

Tab. 1 Verwendete Basen für die Synthese von PMPA-Diethylester **43**

Dabei wurde keine signifikante Erhöhung der Ausbeute erreicht. Ein erheblicher Verlust durch Alkylierung der Base kann ausgeschlossen werden, da auch Natriumhydrid als Base getestet wurde. Ein Grund für die schlechte Ausbeute mag vielleicht darin bestehen, dass Hydroxypropyladenin **42** in DMF schwer löslich ist und damit eine vollständige Deprotonierung möglicherweise nicht gewährleistet war. Ein weiterer Grund mag sein, dass die Adenin-NH₂-Gruppe während der Reaktion ungeschützt vorlag und vielleicht zum Teil alkyliert wurde. Das hat in der literaturbeschriebenen Synthese offensichtlich weniger Probleme bereitet, da hier mit anderen Konzentrationen in

wesentlich größerem Maßstab gearbeitet wurde. Aus den aufgeführten Gründen sollte nun während der Synthese die NH_2 -Gruppe geschützt werden, einerseits um die Löslichkeit von Verbindung **42** zu erhöhen und andererseits um eine N-Alkylierung zu verhindern. Bronson et al. verwenden bei der Tosylierung eines ähnlichen Moleküls Formamidin-Schutzgruppen für die NH_2 -Gruppe von Cytosin.⁵⁰ Bemerkenswert ist, wie bequem diese Schutzgruppe handhabbar ist. Schützungen, Alkylierung und Entschützung werden als Eintopfsynthese durchgeführt. Zunächst war zu prüfen, ob diese Schutzgruppe auch für die Adenin- NH_2 -Gruppe geeignet ist. Zunächst wurde dazu Verbindung **42** mit 2 Äquivalenten DMF-Dimethylacetal in trockenem DMF umgesetzt. DC-Kontrolle der Reaktion zeigte dabei vollständige Umsetzung des Eduktes. Das entstandene Zwischenprodukt **42a** (Abb. 24) war vollständig in DMF löslich. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde die Alkylierung wie oben beschrieben durchgeführt. Es wurden jetzt aber 1.5 Äquivalente Natriumhydrid und Tosylat **38** verwendet, wie von Bronson et al. beschrieben. Nach wässriger Aufarbeitung und Extraktion von Zwischenprodukt **43a** (Abb. 24) wurde die Entschützung durch Behandlung mit siedendem essigsäurem Ethanol durchgeführt. Nach chromatographischer Reinigung konnte das Produkt in 69 % Ausbeute isoliert werden.

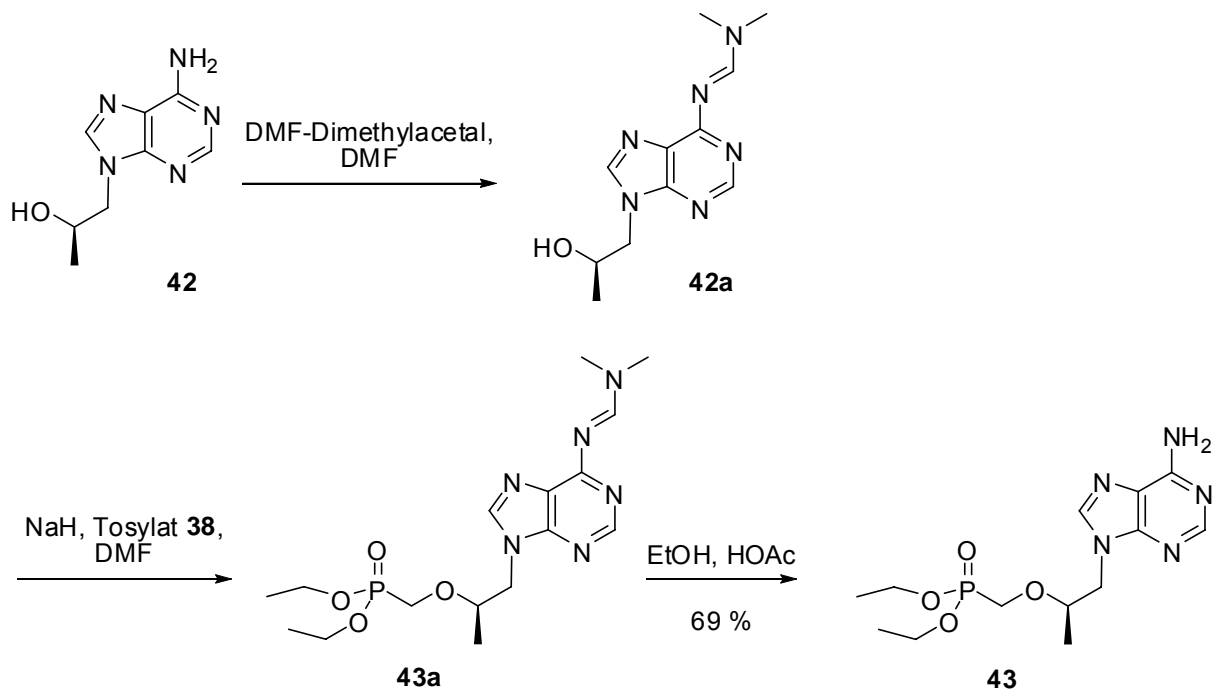


Abb. 24 Die Synthese von PMPA-Diethylester **43** mit intermediärer Schützung

Diese Synthese wurde dann noch mit der milderen Base Natrium-*tert*-butoxid durchgeführt, um die Ausbeute noch weiter zu steigern. Es wurde allerdings nur eine Ausbeute von 41 % erzielt. Möglicherweise ist das darauf zurückzuführen, dass Formamidinschutzgruppen auch durch Nucleophile unter basischen Bedingungen abgespalten werden können.⁵¹ Das mag im Fall von *tert*-Butoxid zum Teil eingetreten sein. Da mit Natriumhydrid als Base eine relativ gute Ausbeute erzielt wurde, wurde auf eine weitere Optimierung verzichtet. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei der Synthese von PMPA-Diethylester **43** die anfänglich unbefriedigenden Ausbeuten durch Einführung der Formamidinschutzgruppe mehr als verdoppelt werden konnten. Damit kann eine Schlüsselsubstanz für die Synthese von PMPA **10** in nur zwei Stufen mit guten Ausbeuten synthetisiert werden. Die Reproduzierbarkeit der Synthese wurde in praktischen Arbeiten von Studierenden überprüft und bestätigt. Die anschließende Umsetzung von PMPA-Diethylester **43** mit TMSBr zu PMPA **10** gelang in einer Ausbeute von 64 % (Abb. 25).

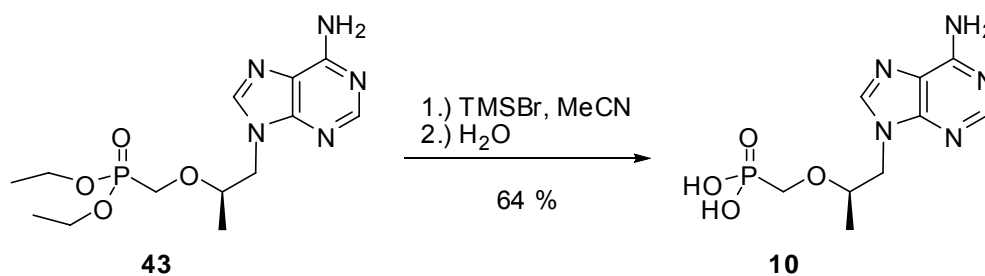


Abb. 25 Synthese von PMPA **10**

Damit konnte eine dreistufige, bequeme Synthese für PMPA **10** mit einer Gesamtausbeute von 40 % etabliert werden, so dass die Substanz bei Bedarf in großen Mengen zur Verfügung steht.

4.1.4 Synthese von 9-(2-Phosphoylethyl)-2-aminopurin (*iso*-PMEA) **44** für die Fluoreszenzanalytik

Es ist von Interesse, fluoreszierende Nucleoside darzustellen, um ihre Eigenschaften besser verstehen zu können. Henning Jessen hat sich mit diesem Forschungsgebiet in seiner Diplomarbeit umfassend beschäftigt und fluoreszierende *cycloSal*-Pronucleotide synthetisiert und charakterisiert.⁵² Durch die Synthese von fluoreszierenden

Nucleosidphosphonaten und deren Prodrugformen sollte dieses Arbeitsgebiet erweitert werden. Als fluoreszierende Gruppe sollte 2-Aminopurin **45** als Nucleobase verwendet werden, da kaum ein struktureller Unterschied zu Adenin **41** besteht. Die Synthese von *iso*-PMEA **44** sollte genauso wie die von PMEAs **9** erfolgen, nur dass statt Adenin **41** 2-Aminopurin **45** eingeführt werden sollte. Die Vorgehensweise ist bereits von Holy et al. publiziert.⁵³

2-Aminopurin **45** ist kommerziell erhältlich. Da es sehr teuer ist, hat Henning Jessen es durch Reduktion von wesentlich billigerem Thioguanin **46** mit Raney-Nickel dargestellt (Abb. 26). Dies gelang ihm in einer guten Ausbeute von 77 %.

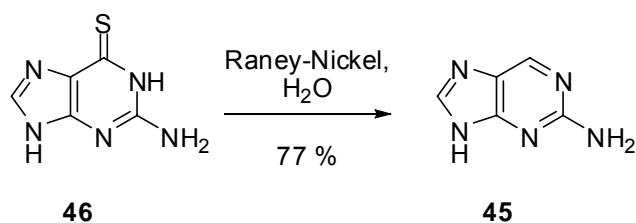


Abb. 26 Die Synthese von 2-Aminopurin **45**

2-Aminopurin **45** sollte dann wie Adenin bei der Synthese von PMEAs-Diethylester **36** mit Diethy-[2-methansulfonyloxyethoxymethyl)phosphonat **47** zum Phosphonsäurediethylester **48** umgesetzt werden (Abb. 27).^{44,45}

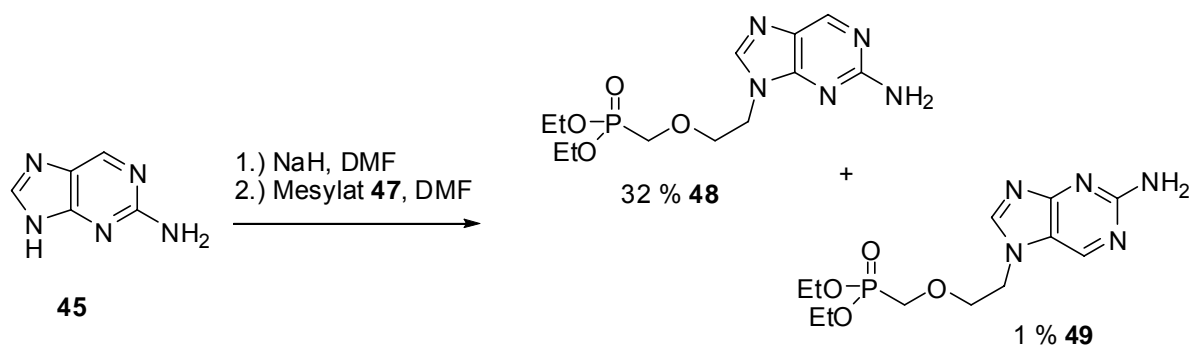


Abb. 27 Die Synthese 9-(2-Diethylphosphonylmethoxyethyl)-2-aminopurin **48**

Die Synthese gelang in moderater Ausbeute von 32 %, was aber für diese Reaktion normal ist, da sie unter sehr harschen Bedingungen in 100 °C heißem DMF verläuft. Es konnte auch das *N*-7-alkylierte Produkt **49** in einer Ausbeute von 1 % isoliert werden. Die Trennung der beiden Isomere konnte ohne Probleme am Chromatotron durch-

geführt werden, da sich ihre R_f -Werte stark unterschieden. Die geringe Ausbeute an *N*-7-Produkt **49** war erfreulich und so nicht zu erwarten, da die Aminogruppe verschoben ist und die eine Seite des Purins freigibt. Offensichtlich sind elektronische Effekte für die Bevorzugung des *N*-9-Produkts **48** verantwortlich.

Die Esterspaltung von *iso*-PMEA-Diethylester **48** erfolgte standardmäßig mit Bromtrimethylsilan in Acetonitril. Die Synthese gelang in 60 % Ausbeute.

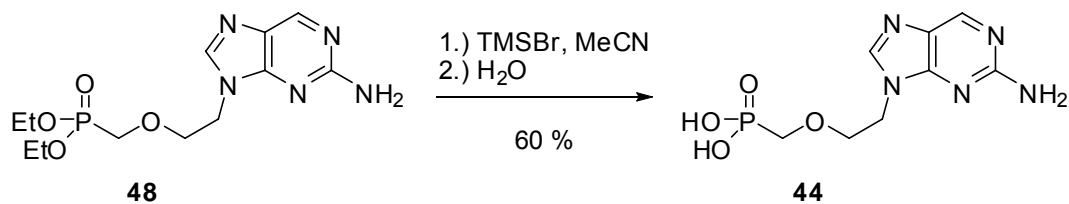


Abb. 28 Die Synthese von *iso*-PMEA **44**

Mit der Synthese von *iso*-PMEA steht nun ein fluoreszierendes Phosponat zur Verfügung aus dem nun beispielsweise *cyclo*Amb- oder *cyclo*Sal-Verbindungen dargestellt werden können, mit denen Fluoreszenzanalytik betrieben werden kann.

4.2 Die Synthese und Charakterisierung von PME-Produkten

4.2.1 Eine neue Synthese für die Darstellung von *cyclo*Amb-PME-Produkten

*cyclo*Amb-PME-Produkte **31** sind bereits synthetisiert und charakterisiert worden. Ihre Synthese war sehr aufwendig und schwierig durchzuführen. Außerdem wurden nur sehr niedrige Ausbeuten von 3 - 7 % isoliert. Bei den durchgeführten Synthesen handelte es sich um Eintopfreaktionen, die sich in mehrere Schritte unterteilen. Zuerst wurde PME-Diethylester **36** mit TMSBr in PME-bis(Trimethylsilyl)ester **37** überführt. Dieser wurde mit Phosphorpentachlorid in PME-Dichlorid **50** überführt, das dann mit vier bis fünffachen Überschuß an entsprechenden 2-Aminobenzylalkoholen und DIPEA umgesetzt wurde. *cyclo*Amb-PME **31a** konnte in einer Ausbeute von 7 % isoliert werden (Abb. 29, nächste S.). Mögliche Gründe für diese niedrige Ausbeute sind vielfältig: Die nucleophile Adenin-NH₂-Gruppe liegt ungeschützt vor, Nebenreaktionen sind nicht auszuschließen; das Phosphorsäuredichlorid **50** ist weder in Dichlormethan noch in Acetonitril gut löslich, es wurde immer mit Suspensionen gearbeitet; durch den großen Überschuß an 2-Aminobenzylalkoholen wird ein Angriff von zwei Molekülen Maske auf ein Molekül **50** gefördert; es musste nach jedem Einzelschritt das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und die Rückstände mit Toluol koevaporiert werden, Verluste durch Siedeverzüge waren unvermeidlich; es trat eine Vielzahl von Nebenprodukten auf, was erheblichen chromatographischen Aufwand bedeutete.

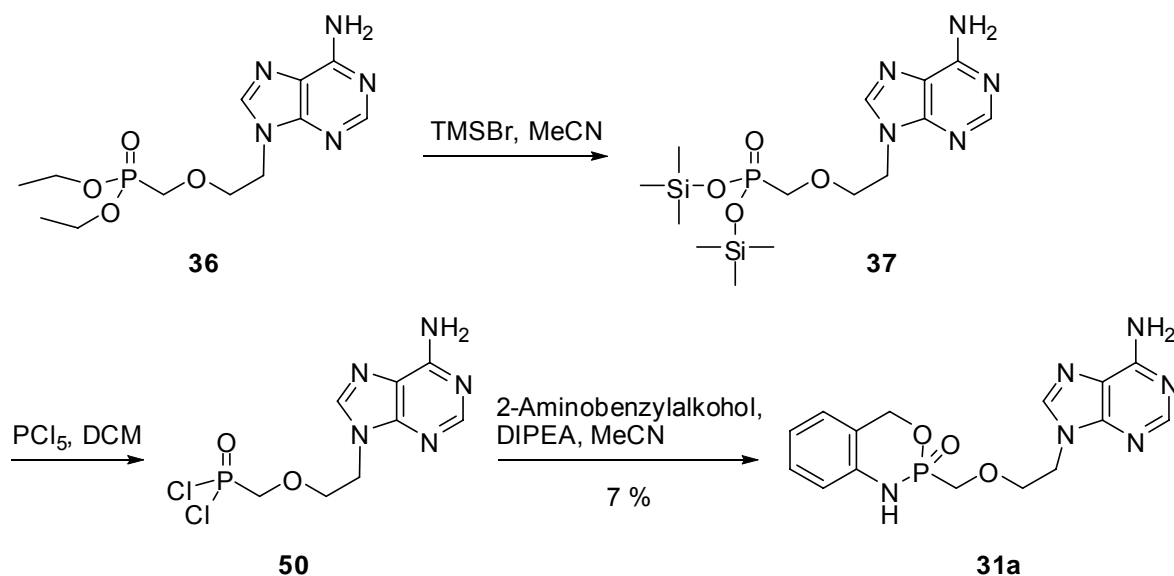


Abb. 29 Synthese von *cyclo*Amb-PME **31a**

Da aufgrund der niedrigen Ausbeuten nicht genügend Substanzmengen für die Durchführung antiviraler Tests zur Verfügung standen, war eine erste Schlüsselaufgabe in dieser Arbeit die Entwicklung einer neuen Synthese für *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs. Die vor den *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen dargestellten *cycloSal*-PMEA-Derivate wurden prinzipiell auf die gleiche Weise synthetisiert, allerdings war hier die Adenin-NH₂-Gruppe MMTr(Monomethoxytrityl)-geschützt, was noch einen Entschützungs-schritt erforderlich machte. Die Gesamtausbeuten waren dadurch mit 21 - 39 % deutlich höher, aber die Reaktionsdurchführung war natürlich genauso aufwendig wie bei der Synthese der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs. Außerdem konnte beobachtet werden, dass Teilentschützung bei der Chlorierung mit PCl₅ auftrat.

Die bisher gemachten Erfahrungen legten also eine neue Synthesemethode für PMEAs-Prodrugs nahe. Es ist bekannt, dass die Synthese von Phosphonat-Prodrugs meist problematisch ist und häufig nur geringe Ausbeuten liefert. Die Synthese von Phosphonamidat **13** ergibt eine Ausbeute von 5 %. bis(POM)PMEA **14** kann immerhin in einer Ausbeute von 32 % dargestellt werden.⁵⁴ Die beste Ausbeute von 53 % wird bei der Synthese von bis(SATE)PMEA **12** erzielt.⁵⁵ Diese Synthesemethode für SATE-Prodrugs wurde schon bei der Darstellung von *cycloSal*-PMPA- und PMEAs-Prodrugs verwendet. Hier wurden Ausbeuten von 23 - 41 % erzielt. Das ist ein gutes Ergebnis, aber ein gravierender Nachteil dieser Synthese besteht darin, dass zur Reaktion der Maske mit der Phosphonsäure der sehr teure Aktivator 1-Mesitylen-2-sulfonyl-3-nitro-1,2,4-triazol eingesetzt wird, was die Anwendbarkeit stark einschränkt. Wenn viele Prodrugs synthetisiert werden müssen oder in großem Maßstab gearbeitet wird, würden erhebliche Kosten entstehen. Deshalb sollte auf diese kostspielige Synthesemethode verzichtet werden. Eine sehr interessante Synthese wurde bei der Darstellung von HepDirect Prodrugs angewendet.⁵⁶ Hier wurde PMEAs **9** in einer Ausbeute von 40 % mit einem bidenten Nucleophil in einer Eintopfreaktion zum PMEAs-Diester **51** umgesetzt (Abb. 30).

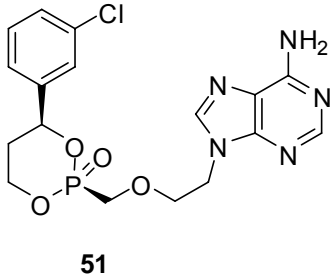


Abb. 30 PMEAs-HepDirect Prodrug **51**

Es handelt sich dabei um eine sehr elegante Synthese, da die Adenin-NH₂-Gruppe während der Synthese ohne größeren Aufwand geschützt wird und die Schutzgruppe am Ende leicht abgespalten werden kann. Die Synthese selbst und ihre Anwendung zur Darstellung von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31** werden im Folgenden detailliert beschrieben.

Im ersten Schritt der Synthese wird PMEAs **9** in sein Phosphonsäurechlorid überführt und gleichzeitig die Adenin-NH₂-Gruppe geschützt. Dazu wird 1 Äquivalent PMEAs **9** in Dichlormethan suspendiert und 1.1 Äquivalente *N,N*-Diethylformamid (DEF) zugegeben. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 3.5 Äquivalenten Oxalylchlorid und anschließendes Refluxieren gestartet. Das Oxalylchlorid bildet zunächst mit dem DEF ein Vilsmeierreagenz. Dieses Vilsmeierreagenz kann eine Phosphonsäure chlorieren, dafür würden aber katalytische Mengen an Oxalylchlorid genügen. Entscheidend ist, dass das Vilsmeierreagenz durch die NH₂-Gruppe nucleophil angegriffen werden kann und diese so geschützt wird. Im Reaktionsverlauf konnten Chlorierung und Schützung von PMEAs **9** zum geschützten Phosphonsäurechlorid **50a** beobachtet werden, weil das Entstehen einer klaren Lösung auftrat. Durch seine deutlich höhere Lipophilie gegenüber PMEAs **9** ist Zwischenprodukt **50a** (Abb. 31, nächste S.) in Dichlormethan sehr gut löslich. Die Färbungen dieser Lösungen reichten von hellgelb über grün bis dunkelbläulich. Die Färbung der Reaktionslösung hatte aber keine Aussagekraft über das Gelingen dieses ersten Reaktionsschrittes. Entscheidender war das Auftreten entsprechend der Reaktionslösung gefärbter Schäume nach Entfernen des Dichlormethans und überschüssigen Oxalylchlorids im Vakuum. Wurden Öle beobachtet, konnten später keine Prodrugs isoliert werden, weshalb dies als deutlicher Hinweis für ein Scheitern der Reaktion im ersten Schritt gewertet wurde.

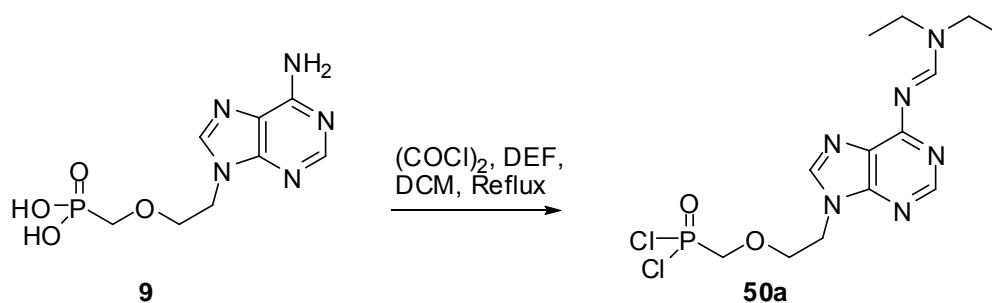


Abb. 31 Syntheseschritt 1: Chlorierung und Schützung

Für den zweiten Reaktionsschritt wurde das Zwischenprodukt **50a** erneut in Dichlormethan aufgenommen. Diese Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und 2 Äquivalente Pyridin als Aktivator zugegeben. Die Aktivierung durch Pyridin wurde in der Synthese von HepDirect Prodrug **51** und bei den meisten Darstellungen von *cyclo*Amb-Nucleosidphosphonat-Prodrugs angewendet. Allerdings konnte bei späteren Experimenten gezeigt werden, dass der Verzicht auf die Aktivierung durch Pyridin keine schlechteren Ausbeuten zur Folge hatte. In allen Fällen blieb aber der nächste Schritt gleich, nämlich die Durchführung der Kupplung. Es wurde eine separate Lösung aus den entsprechenden 2-Aminobenzylalkoholen **52** (1 Äquivalent), Diisopropylethylamin (DIPEA) oder Triethylamin (6.3 Äquivalente) und Dichlormethan angesetzt und auf -80 °C gekühlt (Abb. 32). In dieses Gemisch wurde die Lösung von Zwischenprodukt **50a** getropft.

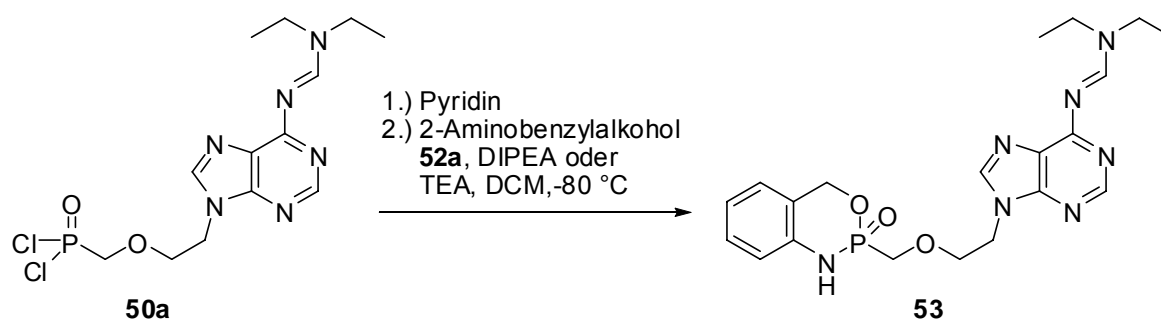


Abb. 32 Syntheseschritt 2: Kupplung

Nach Erwärmen der Reaktionslösung über Nacht auf Raumtemperatur wurden die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Danach erfolgte die Entschützung der Adenin-NH₂-Gruppe im dritten Reaktionsschritt. Das Rohprodukt wurde in Ethanol/Essigsäure (19:1) aufgenommen und refluxiert (Abb. 33).

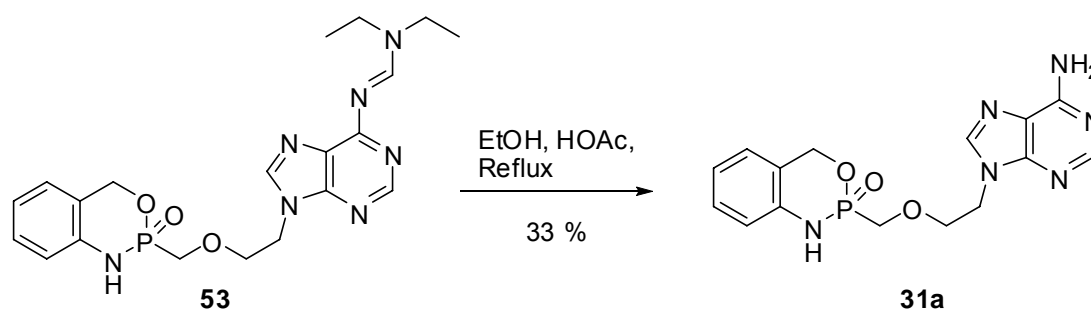


Abb. 33 Syntheseschritt 3: Entschützung

Das Ende der Reaktion wurde durch DC-Kontrolle festgestellt. Danach wurden die flüchtigen Bestandteile erneut im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde danach zunächst zur Vorreinigung an Kieselgel chromatographiert. Danach wurden die Zielverbindungen am Chromatotron gereinigt. Häufig war hier mehrmaliges Chromatographieren nötig, um die Prodrugs in erwünschter Reinheit zu isolieren. Entscheidend war, dass mindestens eine Trennung am Chromatotron mit Ethylacetat/ Methanol durchgeführt wurde, da mit dem Laufmittel Dichlormethan/Methanol die DIPEA- bzw. Triethylammoniumsalze nicht abgetrennt werden konnten. Die Abtrennung UV-aktiver und farbiger Verunreinigungen war unproblematischer und konnte in Dichlormethan/Methanol bequem durchgeführt werden.

Mit der neuen Synthese wurde *cyclo*Amb-PMEA **31a** in einer Ausbeute von 33 % dargestellt, was mit der bis dahin durchgeführten Synthese nur in einer Ausbeute von 7 % gelang. Mit der Einführung der neuen Synthese ergaben sich noch weitere Vorteile. Sie ist zuverlässiger als die alte; Ausbeuten von 0 % traten deutlich seltener auf als vorher. Die Chromatographie war zwar immer noch aufwendig, aber einfacher als bisher, da deutlich weniger Verunreinigungen bei der Reaktion entstanden. Die Reaktionsdurchführung wurde wesentlich erleichtert, Koevaprieren nach den Einzelschritten war nicht mehr erforderlich. Bisher mussten erhebliche Mengen an PMEADiethylester **36** eingesetzt werden, um nur geringe Mengen an *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs darzustellen. Im Vergleich muss nun deutlich weniger PMEADiethylester **9** verwendet werden, um ausreichende Mengen an Zielverbindungen für die Charakterisierung und antivirale Tests zur Verfügung zu haben.

Bei allen Vorteilen, die die neue Synthese mit sich brachte, stellte sich die Frage, warum trotz dieser eleganten Reaktionsführung bei der Literatursynthese von HepDirect Prodrug **51** nur 40 % und bei der neuen Synthese von *cyclo*Amb-PMEA **31a** nur 33 %

Ausbeute erzielt wurden. Im Vergleich mit der Synthese anderer PMEAs sind diese Ausbeuten eigentlich relativ gut. Trotzdem sollte untersucht werden, ob Nebenprodukte identifiziert werden können. Deshalb wurde die Reaktion durch ^{31}P -NMR verfolgt. Es wurde die Synthese von 3-Me-cycloAmb-PMEA **31b** untersucht.

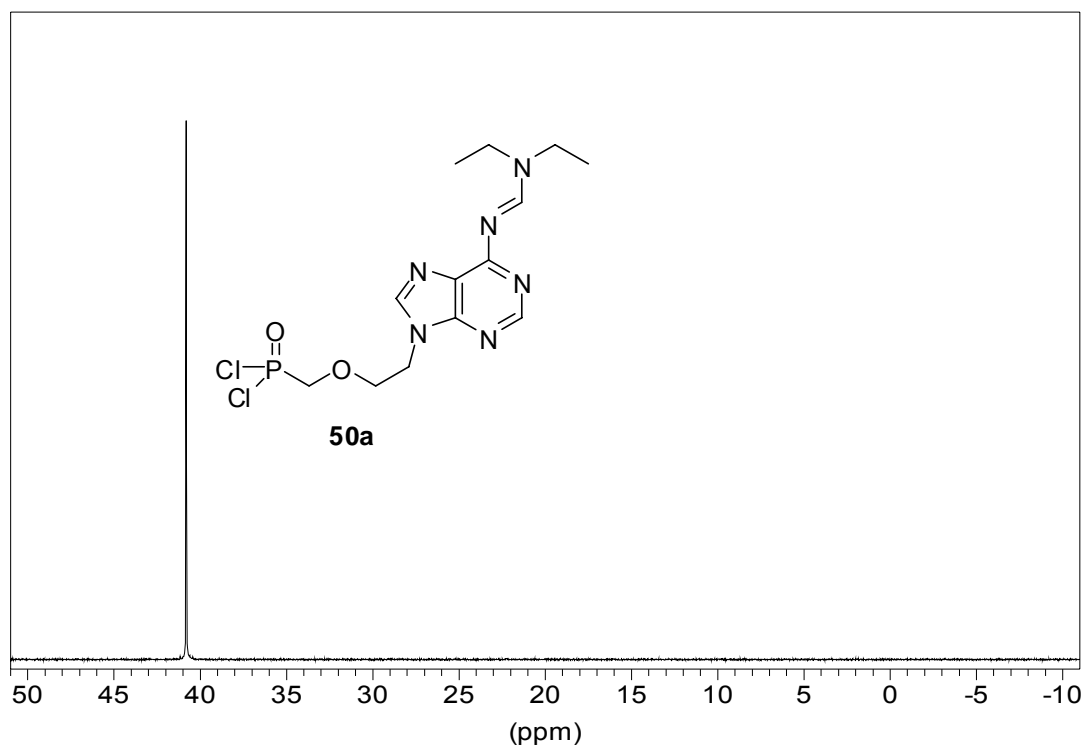


Abb. 34 ^{31}P -NMR-Spektrum von Zwischenprodukt **50a**

Abb. 34 zeigt das ^{31}P -NMR-Spektrum des ersten Syntheseschrittes. Die Probe wurde nach drei Stunden direkt aus der Reaktionslösung entnommen. Das Spektrum zeigt die Bildung eines einzigen Produktes. Das Edukt PMEAs **9** oder phosphorhaltige Verunreinigungen sind nicht zu erkennen. Das bedeutet, dass das Zwischenprodukt **50a** unter den gewählten Reaktionsbedingungen quantitativ gebildet wird, ohne dass bemerkenswerte Nebenreaktionen auftreten. Der erste Syntheseschritt kann demzufolge für die Ausbeuteverluste nicht verantwortlich sein und bedarf deshalb keiner weiteren Untersuchung. Abb. 35 zeigt das ^{31}P -NMR-Spektrum des zweiten Syntheseschrittes.

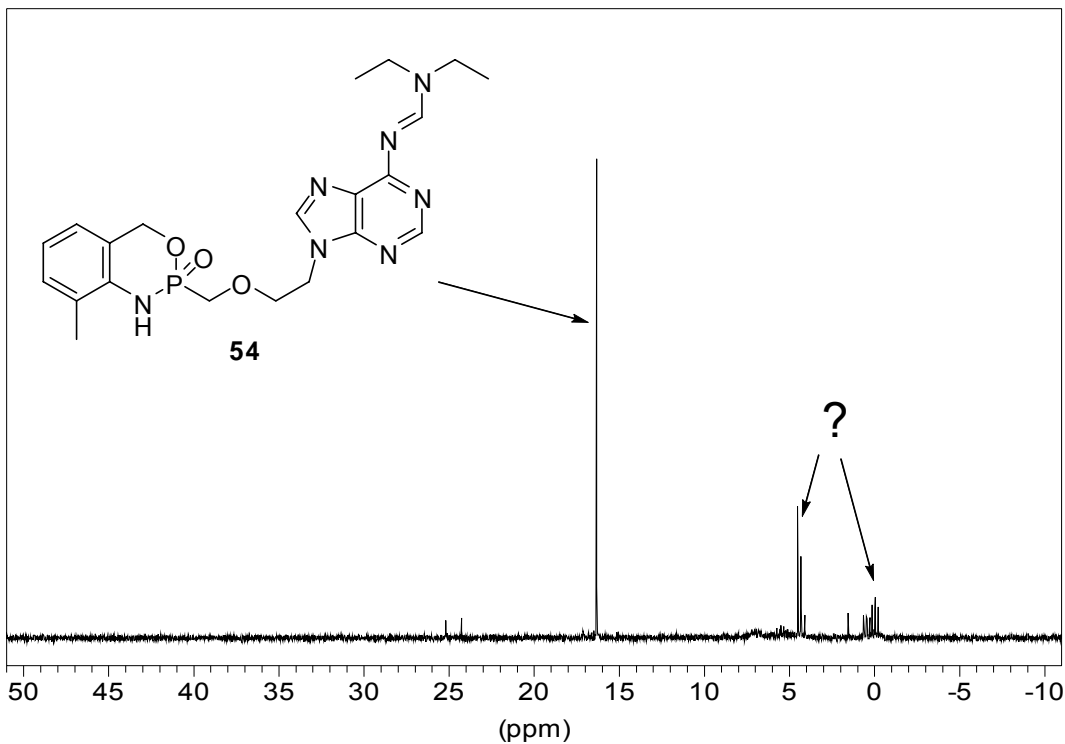


Abb. 35 ^{31}P -NMR-Spektrum des zweiten Syntheseschrittes (Kupplung)

Die Probe wurde der Reaktionslösung entnommen, nachdem der Kupplungsschritt der Reaktion über Nacht von $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf Raumtemperatur erwärmt war. Dabei sind neben Zwischenprodukt **54** eine Vielzahl von Verunreinigungen deutlich zu erkennen, die beim Kupplungsschritt entstanden sein müssen. Bei der Betrachtung der Integrale ist zu erkennen, dass nur noch ungefähr 30 % des gewünschten Produktes vorhanden war. Dabei ist anzumerken, dass es sich bei der Zuordnung in Abb. 35 nur um eine Vermutung handelt, die plausibel ist und auf Erfahrungen beruht. Ein endgültiger Beweis wurde hier nicht geliefert, da die Verbindung **54** als reine Referenzsubstanz für einen Vergleich nicht zur Verfügung stand. Dem NMR-Spektrum kann entnommen werden, dass der Kupplungsschritt ausschlaggebend für die relativ niedrigen Ausbeuten ist. Welche Nebenreaktionen für diesen erheblichen Verlust verantwortlich sind, wurde nicht weiter untersucht, da die Anzahl von Nebenprodukten sehr unübersichtlich war. Auf dieser Stufe der Reaktion wurden auch Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgelfolien angefertigt. Hier konnte nur ein intensiver Spot beobachtet, der einen R_f -Wert im Bereich lipophiler Verbindungen hatte. Vermutlich handelte es sich um das gewünschte Produkt. Der Großteil der Verunreinigungen blieb auf der Grundlinie des

Chromatogrammes liegen, über deren Entstehung nur wage spekuliert werden kann. Abb. 36 zeigt das ^{31}P -NMR-Spektrum, das nach zwei Stunden unter Entschützungsbedingungen aufgenommen wurde.

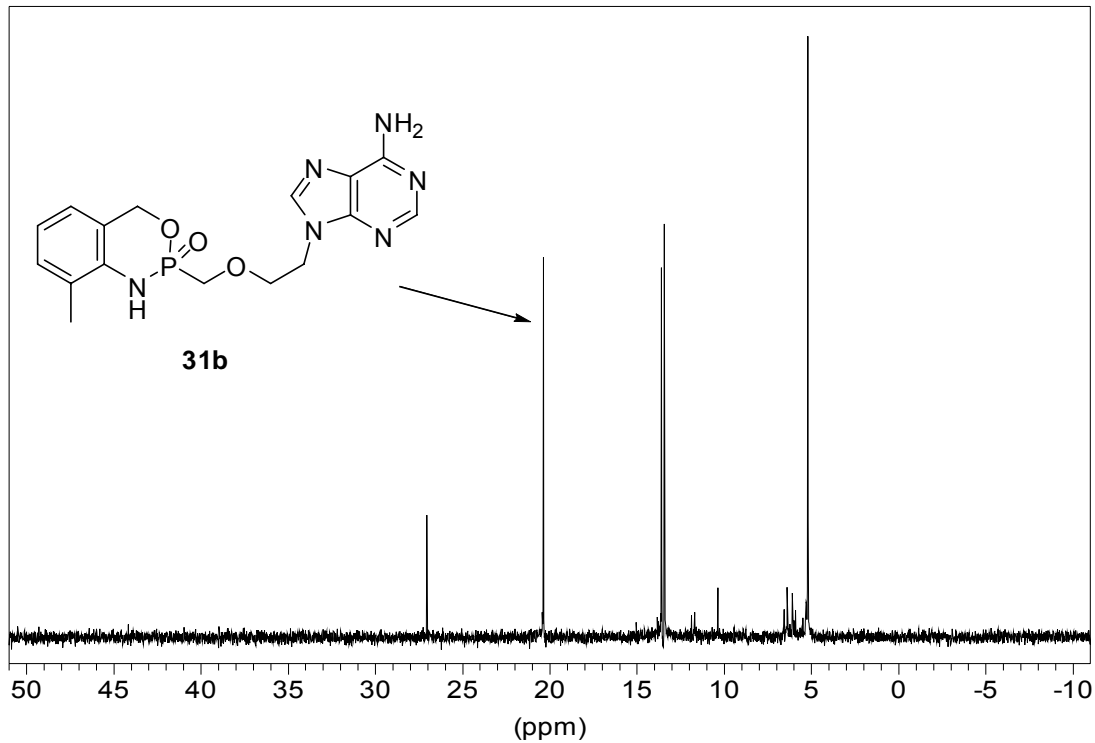


Abb. 36 ^{31}P -NMR-Spektrum des dritten Syntheseschrittes (Entschätzung)

Hier konnte aus der Vielzahl der Produkte das gewünschte Produkt eindeutig identifiziert werden, da Verbindung **31b** als Referenz vorhanden war. Sein Anteil betrug ungefähr 20 - 30 %, vermutlich ist etwas Produkt durch die Entschätzung verlorengegangen, allerdings nicht in dem Ausmaß wie beim Kupplungsschritt. Im Spektrum sind deutlich drei intensive Signale von Verunreinigungen zu erkennen, eines bei ca. 5 ppm und zwei zwischen 13 und 14 ppm. Da die dünnschichtchromatographischen Analysen erneut sehr polare Verunreinigungen zeigten, wurde auf ihre Isolierung verzichtet, da dies erheblichen Aufwand erfordern würde. Schon die Isolierung der lipophileren und damit chromatographierbaren *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs war mit erheblichem Aufwand verbunden.

Mit der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung der neuen Prodrug-Synthese konnte gezeigt werden, dass der Hauptverlust an Produkt beim Umsetzen des Phosphorsäurechlorids mit der lipophilen Maske auftritt. Wie es zu diesem Verlust kommt oder

welche Nebenreaktionen dafür verantwortlich sind, ist unklar. Eine mögliche Erklärung ist, dass durch teilweise Entschützung der Adenin-NH₂-Gruppe Nebenreaktionen auftraten, da Formamidinschutzgruppen unter basischen Bedingungen mit Nucleophilen abgespalten werden können. Auf weitere Untersuchungen oder gar Reaktionsoptimierungen wurde verzichtet, da die Hauptaufgabe dieser Arbeit die Prodrugoptimierung war.

Die Einführung der neuen Synthese für *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs brachte erhebliche Vorteile gegenüber der alten mit sich. Sie ist deutlich zuverlässiger, es werden wesentlich höhere Ausbeuten erzielt, und die Isolierung der Zielverbindungen ist weniger zeitaufwendig, da die Chromatographie etwas angenehmer ist. Diese Synthese ist somit geeignet, die für die Prodrugoptimierung erforderlichen Zielverbindungen in ausreichender Menge zu liefern.

4.2.2 Die *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs der ersten Generation

Mit der neuen Synthese sollten nun zunächst die aus meiner Diplomarbeit bereits bekannten *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31a-c** dargestellt werden (Abb. 37).

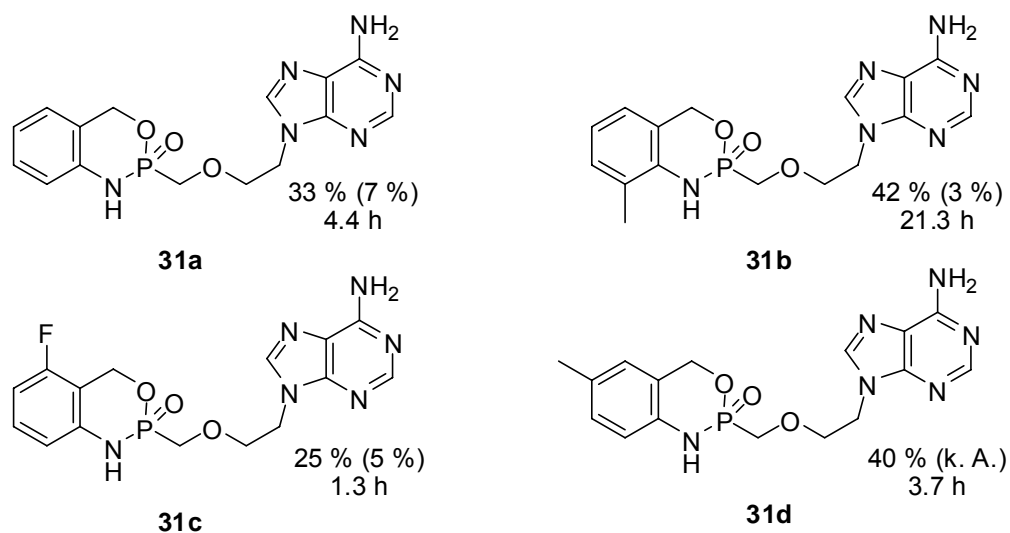


Abb. 37 Die *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs der ersten Generation **31a-d**

In Abb. 37 sind Ausbeuten und Halbwertszeiten (pH 7.3, 50 mM Phosphatpuffer) der *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs abgebildet. In Klammern sind die Ausbeuten der alten Synthese aus meiner Diplomarbeit angegeben. Deutlich ist die Steigerung zu erkennen.

Zusätzlich wurde mit 5-Me-*cycloAmb*-PMEA **31d** eine neue Verbindung dargestellt, um die aromatische Substitution um eine Position zu erweitern. Die Halbwertszeiten der Verbindungen **31a-c** wurden bereits diskutiert und mit den analog substituierten *cycloSal*-d4T-Prodrugs verglichen. Überraschenderweise waren diese bei gleichem Substitutionsmuster fast identisch. Eine Ausnahme macht dabei das neue 5-Me-*cycloAmb*-PMEA **31d**, dessen Halbwertszeit von 3.7 h etwas niedriger ist als die der unsubstituierten Verbindung **31a**. 5-Me-*cycloSal*-d4TMP **55** dagegen hat mit 6.9 h Halbwertszeit eine geringfügig höhere Stabilität als das unsubstituierte *cycloSal*-d4TMP **56** (4.4 h). Dem ist aber keine besondere Bedeutung beizumessen, denn 5-Me-*cycloAmb*-PMEA **31d** liefert wie alle anderen *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs ebenfalls den Wirkstoff PMEa **9** über ein relativ stabiles Intermediat **57**, was durch ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse nachgewiesen werden konnte (Abb. 38). Mögliche Gründe für die Stabilität des Intermediates **57** sind bereits beschrieben worden.

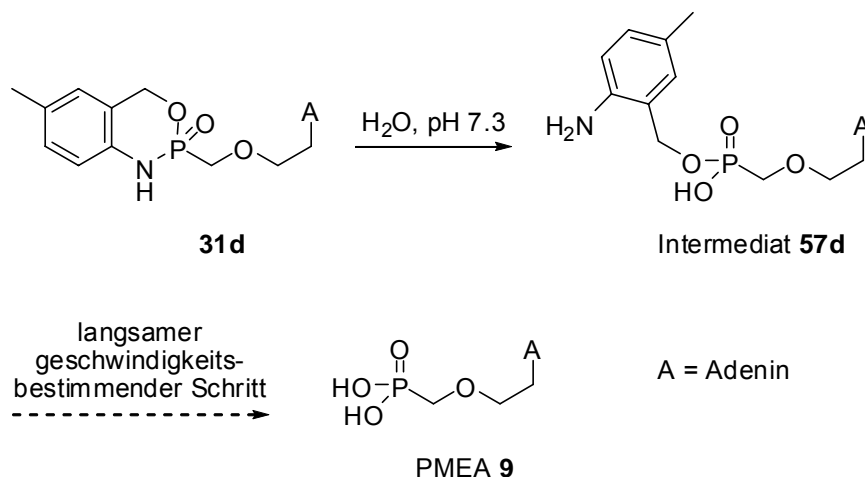


Abb. 38 Hydrolyseweg von Prodrug **31d**

Durch die höheren Ausbeuten standen nun auch genügend Substanzmengen zur Verfügung, um erstmalig anti-HIV-*in vitro*-Tests mit *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31** durchzuführen. Besonders interessant sind die Testergebnisse, weil bisher unklar ist, ob der Hydrolysemechanismus der *cycloAmb*-Verbindungen **31** einen Einfluss auf die antiviralen Eigenschaften hat (Tab. 2).

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
unsubst. 31a	28 ± 0.0	26 ± 2.1	244 ± 8.5	8.7
3-Methyl 31b	20 ± 7.1	21 ± 9.2	183 ± 24.0	9.2
6-Fluor 31c	29 ± 2.9	56 ± 43.4	>250	>8.6
5-Methyl 31d	13 ± 3.5	13 ± 9.9	141 ± 17.0	10.8
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0
bis(POM)PMEA 15	0.18 ± 0.11	0.075 ± 0.0	0.74 ± 0.11	4.1

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 2 Antivirale Daten der *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31a,b** der ersten Generation

Effektive *cyclo*Sal-Prodrugs **20** setzen nämlich das NMP **22a** direkt frei, ohne dass der Diester **21** beobachtet werden kann. Ihre Halbwertszeiten beschreiben die Hydrolyse des Prodrugs und damit die Wirkstofffreisetzung. Die Halbwertszeit der *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31** beschreibt dagegen nur die Bildung des Hydrolyseintermediates **37**, die Wirkstofffreisetzung wird dadurch nicht charakterisiert.

Für die *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs ergeben sich antivirale Aktivitäten, die alle unter der von PMEa **9** liegen. Das ist ein zunächst unerwartetes Ergebnis, wenn man bedenkt, dass die *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs Halbwertszeiten besitzen, die im Bereich von effektiven Prodrugs liegen. Für diese Verschlechterung der antiviralen Eigenschaften gegenüber PMEa **9** ist also höchstwahrscheinlich die langsame Wirkstofffreisetzung aus dem Hydrolyseintermediat verantwortlich (Abb. 38, vorherige S.). Auf jeden Fall wird klar, dass die Bedeutung der Hydrolysehalbwertszeiten der *cyclo*Amb-PMEA-Verbindungen für die antiviralen Eigenschaften nicht erkennbar ist. 6-Fluor-*cyclo*Amb-PMEA **31c** mit $t_{1/2} = 1.3$ h und 3-Methyl-*cyclo*Amb-PMEA **31b** mit $t_{1/2} = 21.3$ h haben fast identische antivirale Aktivität. Deshalb ist offensichtlich die Stabilität des Hydrolyseintermediats **57** für die Aktivität verantwortlich. Betrachtet man nun die Cytotoxizitäten der Verbindungen, so ergibt sich wieder ein unerwartetes Ergebnis. Die Verbindungen sind kaum cytotoxisch, was ihrer Selektivität entnommen werden kann. PMEa **9** ist zwar ungefähr doppelt so aktiv wie *cyclo*Amb-PMEA **31a**, aber dafür im Vergleich viermal so

toxisch. Vergleicht man die Toxizitäten von PMEAs **9** und bis(POM)PMEA **14**, so sind ihre antiviralen Daten um den gleichen Faktor verschieden, weshalb sie annähernd die gleiche Selektivität besitzen. Das erscheint völlig logisch, da bis(POM)PMEA **14** in der Lage ist, eine entsprechend höhere PMEAs-Konzentration in der Zelle zu erzeugen als PMEAs **9** selbst, das nur zu einem kleinen Teil die Zellmembran durchdringt. Warum nun die *cycloAmb*-PMEAs-Prodrugs in ihrer Selektivität besser sind als PMEAs **9** selbst, ist unklar.

Da die antiviralen Daten aus Tab. 2 einige unerwartete Ergebnisse beinhalteten, musste eine weitere Vorgehensweise überlegt werden. Ein Ziel sollte sein, das Hydrolyseintermediat **57** zu destabilisieren. Mit seiner Halbwertszeit von mehreren Wochen oder gar Monaten ist es der entscheidende Engpass bei der PMEAs-Freisetzung. Die Destabilisierung des Intermediates **57** sollte durch eine Erhöhung der Elektronendichte in der Benzylposition bewirkt werden. Dies sollte zunächst durch Elektronendonoren in Aryl-Position 4 bzw. 6 geschehen, was in der *cycloSal*-Chemie bisher völlig unbekannt ist (Abb. 39).

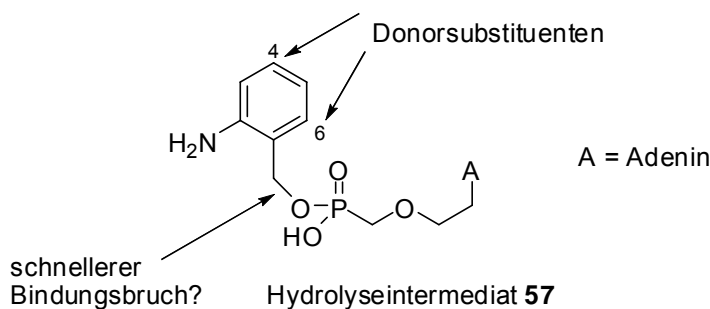


Abb. 39 Eine mögliche Destabilisierung des Intermediates **57**

Auf eine Substitution von Donoren in Position 4 bzw. 6 ist bei der Synthese von *cycloSal*-Prodrugs **20** bewusst verzichtet worden, da durch die *para*- bzw. *ortho*-Stellung zur Benzylposition eine bevorzugte Bildung des unerwünschten Phenylphosphatdiesters **24** befürchtet wurde (Abb. 14, S. 15).

Neben dem Anstreben einer besseren PMEAs-Freisetzung sollte geklärt werden, ob die *cycloAmb*-PMEAs-Prodrugs **31** überhaupt in der Lage sind, lipophile Zellmembranen effektiv zu durchdringen. Darüber kann anhand von Tab. 2 keine Aussage gemacht werden. Deshalb sollte ein fluoreszierendes *cycloAmb*-Nucleosidphosphonat synthetisiert werden, das als Sonde für *in-cell*-Analytik mittels Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden kann.

4.2.3 Die Synthese von 3-Methyl-*cycloAmb-iso*-PMEA **58**, einem fluoreszierenden *cycloAmb*-nucleosidphosphonat

Mit der Synthese eines *cycloAmb-iso*-PMEA-Derivates wurden zwei Ziele verfolgt, zum einen sollten Verbindungen für die Fluoreszenzanalyse zur Verfügung stehen, zum anderen sollte erstmals die neue Synthese für *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen auf ein anderes Nucleosidphosphonat übertragen werden. Die Darstellung sollte genauso wie in Kapitel 4.2.1 beschrieben durchgeführt werden. Als Maske sollte zunächst 2-Amino-3-methylbenzylalkohol verwendet werden. Diese Maske hat bisher die höchste Halbwertszeit bei *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs erzeugt. Eine stabilere Maske ist von Vorteil, weil zunächst die Eigenschaften des Prodrugs und nicht die der Zerfallsprodukte untersucht werden sollen. Die Synthese von 3-Me-*cycloAmb-iso*-PMEA **58** gelang in 35 % Ausbeute (Abb. 40).

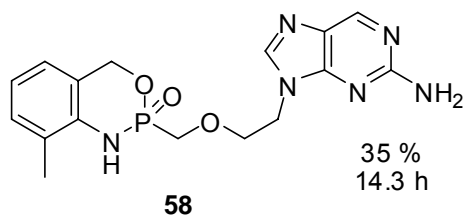


Abb. 40 Ausbeute und Halbwertszeit von 3-Methyl-*cycloAmb-iso*-PMEA **58**

Die Übertragung der neuen Prodrugsynthese auf *iso*-PMEA **44** ist damit hervorragend gelungen und Änderungen sind nicht erforderlich. Nun steht ein fluoreszierendes *cycloAmb*-Nucleosidphosphonat für weitere Analytik zur Verfügung. Seine Halbwertszeit ist mit 14.3 h (Abb. 40) um 7 h niedriger als die von 3-Me-*cycloAmb*-PMEA **31b**. Dieses Ergebnis überrascht etwas, da die beiden Verbindungen fast identische Strukturen besitzen. Es hat aber keine größere Bedeutung, da die Halbwertszeit der neuen Verbindung noch für die analytischen Vorhaben geeignet ist.

4.2.4 Die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs der zweiten Generation

Wie am Ende von Kapitel 4.2.2 erwähnt, sollten nun *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **59** dargestellt werden, die Donorsubstituenten in Aryl-Position 4 bzw. 6 tragen. Als Substituent wurde zunächst die Methylgruppe gewählt. Da die entsprechend substituierten 2-

Aminobenzylalkohole **60** kommerziell nicht zur Verfügung standen, mussten sie aus ihren Säuren durch Reduktion mit LiAlH_4 gewonnen werden (Abb. 41).

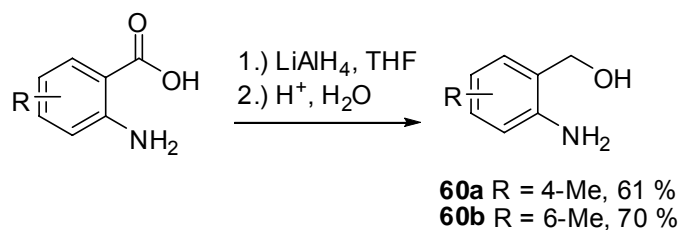


Abb. 41 Die Reduktion von Anthranilsäuren mit LiAlH_4

Die 2-Aminobenzylalkohole **60** konnten in guten Ausbeuten dargestellt werden. Die Synthese von 2-Amino-4-Methylbenzylalkohol **60a** bereitete anfänglich Probleme, da die entsprechende Säure in THF nur sehr schwer löslich ist. Dadurch war das Edukt fast vollständig im Tropftrichter verblieben. Das Problem konnte durch Aufsetzen des Rückflusskühlers auf den Tropftrichter behoben werden, da so das Edukt nach und nach herausgelöst und damit der Reaktionslösung zugeführt wurde. Die synthetisierten 2-Aminobenzylalkohole **59a,b** konnten nun mit PMEAs **9** kondensiert werden (Abb. 42).

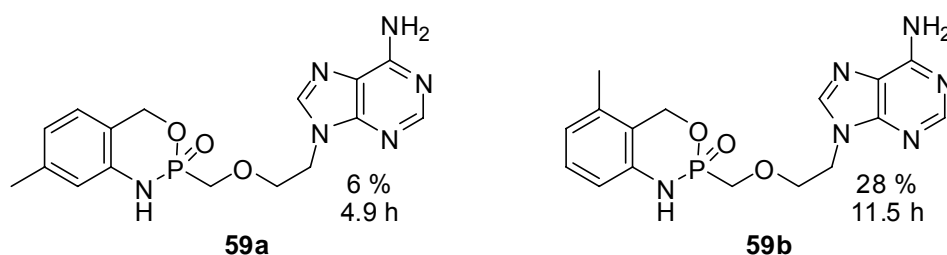


Abb. 42 Die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **59a,b** der zweiten Generation

4-Me-*cycloAmb*-PMEA **59a** wurde in einer Ausbeute von 6 % und 6-Me-*cycloAmb*-PMEA **59b** in einer Ausbeute von 28 % dargestellt. Die niedrige Ausbeute von Prodrug **59a** ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass 2-Amino-4-methylbenzylalkohol **60a** in Dichlormethan nur schlecht löslich ist und mit einer Suspension gearbeitet werden musste. Selbst während der Reaktion über Nacht wurde die Lösung nicht klar, so dass ein vollständiger Umsatz nicht beobachtet werden konnte. Trotz der niedrigen Ausbeute von Verbindung **59a** konnten die Eigenschaften der neuen Prodrugs untersucht werden. Die Hydrolysehalbwertszeiten waren mit 4.9 h für Prodrug **59a** und 11.5 h für **59b** ungewöhnlich stark unterschiedlich. Immerhin stehen beide Methylgruppen zur austretenden

Aminogruppe in *meta*-Stellung. Sie stehen dafür unterschiedlich zum Benzylester-substituenten; das begründet einen derartigen Unterschied nicht ausreichend. Auf dieses zunächst unerklärliche Phänomen wird später im folgenden Kapitel noch eingegangen. Mechanistisch unterschieden die beiden Verbindungen sich bei ihrer Hydrolyse jedenfalls nicht. Ihre Hydrolyse wurde in Phosphatpuffer pH 7.3 ^{31}P -NMR-spektroskopisch verfolgt, um festzustellen, ob die gewünschte Destabilisierung des Hydrolyseintermediates eingetreten ist. Abb. 43 zeigt exemplarisch die ^{31}P -NMR-Spektren der Hydrolyseverfolgung von 6-Me-*cyclo*Amb-PMEA **59b**. Sie ist auch stellvertretend für Prodrug **59a**, denn ihre Hydrolysen ergeben ein identisches Bild.

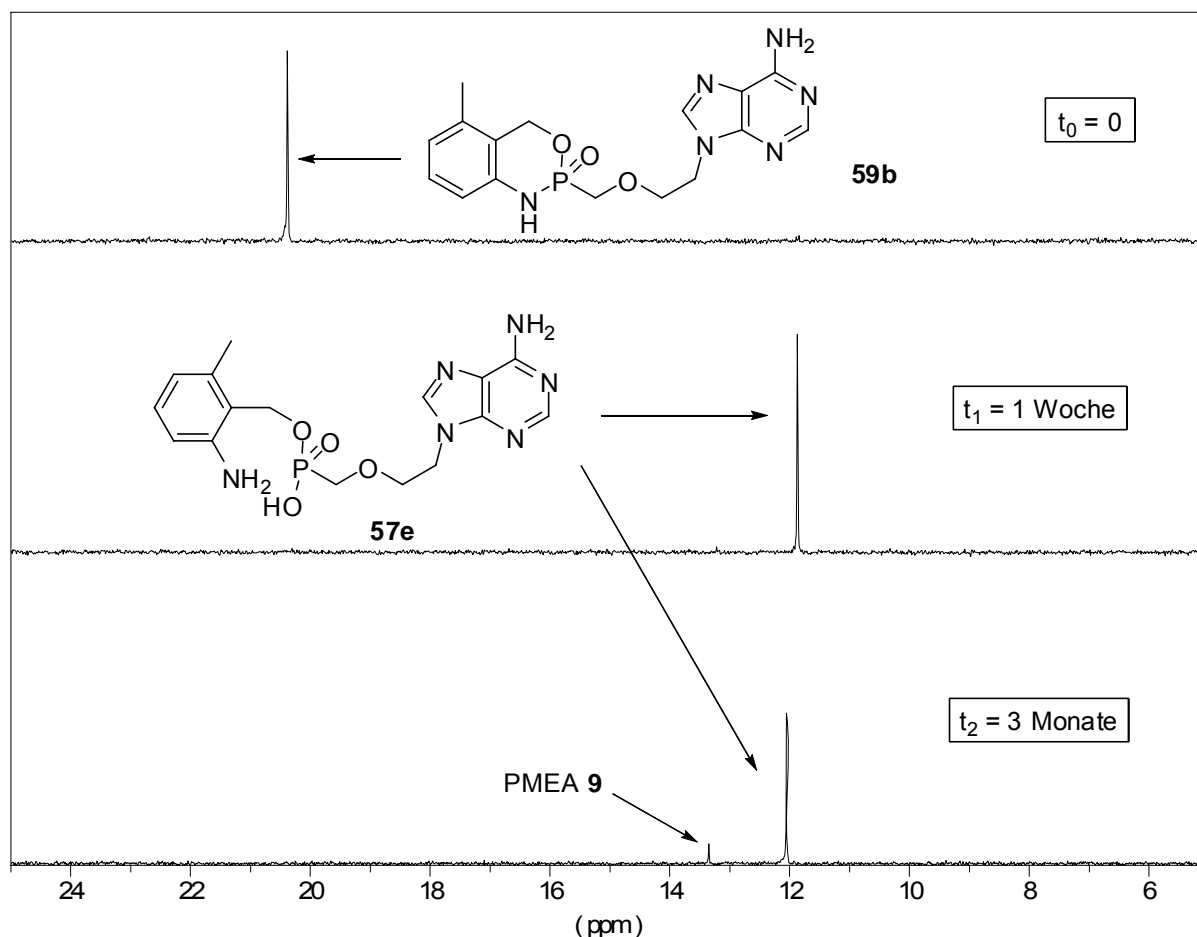


Abb. 43 Die Hydrolyse von 6-Me-*cyclo*Amb-PMEA **59b**

Aus der Hydrolyseverfolgung ist klar zu erkennen, dass die gewünschte Destabilisierung des Hydrolyseintermediates **57** nicht eingetreten ist. Es wird wieder schnell das Intermediat **57e** gebildet, das nur sehr langsam PME A **9** freisetzt. Erst nach 3 Monaten können geringe Mengen an PME A **9** beobachtet werden. Die PME A-Freisetzung ist

damit weiterhin viel zu langsam für eine Anwendung als antiviraler Anwendung. Die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **59** der zweiten Generation unterscheiden sich also nicht wesentlich von denen der ersten Generation. Das wird auch durch die antiviralen Daten bestätigt (Tab. 3).

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
4-Methyl 59a	18 ± 3.5	30 ± 0.0	>250	>13.9
6-Methyl 59b	15 ± 0.0	15 ± 0.0	175 ± 11.3	11.7
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 3 Antivirale Daten der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **59a,b** der zweiten Generation

Die antivirale Aktivität der neuen Verbindungen ist nach wie vor etwas geringer als die von PMEA **9** selbst. Die guten Selektivitäten haben sich gegenüber den Vorgänger-Prodrugs dagegen erhöht. So ist Verbindung **59a** nicht mehr nachweislich cytotoxisch. Das ist natürlich sehr erfreulich, ändert aber nichts daran, dass nach Wegen gesucht werden muss, die antiviralen Daten weiter zu verbessern. Da bei der Hydrolyse der Prodrugs **59** weiterhin ein stabiles Intermediat **57** auftrat, wurde auf weitere Experimente mit Substituenten in der Aryl-Position 4 bzw. 6 verzichtet. Stattdessen sollten jetzt Alkylsubstituenten in die Benzylposition eingeführt werden, was deutlich aussichtsreicher erschien, um ein Benzylkation zu stabilisieren. Wird z. B. bei *cycloSal*-d4TMPs eine Methylgruppe in die Benzylposition eingeführt, so kommt es zu 100 % zur Bildung des Phenylphosphatdiesters **24** (Abb. 14, S. 15). Diese Labilisierung der Benzyl-Phosphatesterbindung sollte genutzt werden, um die Hydrolyseintermediate der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs entscheidend zu destabilisieren.

4.2.5 Die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs der dritten Generation

Zunächst sollten zwei *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **61** mit Benzylsubstitution dargestellt werden, nämlich eine mit einer und eine mit zwei Methylgruppen. Die entsprechenden 2-Aminobenzylalkohole mussten dafür erst dargestellt werden. Racemischer 2-Amino-7-methylbenzylalkohol **62** wurde durch Reduktion von 2-Aminoacetophenon **63** mit Natriumborhydrid synthetisiert. Das Produkt konnte in hervorragender Ausbeute isoliert werden (Abb. 44).

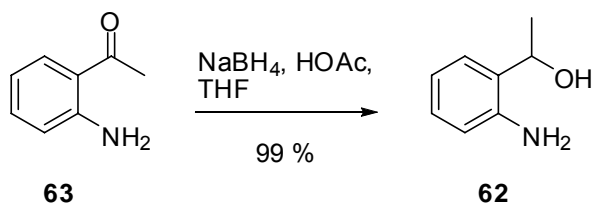


Abb. 44 Die Synthese von 2-Amino-7-methylbenzylalkohol **62**

Die quantitative Ausbeute war allerdings nur durch genaue DC-Kontrolle der Reaktion zu erreichen. Nach der Zugabe von 2-Aminoacetophenon **63** in das Reaktionsgemisch aus Natriumborhydrid, Essigsäure und THF reagierte das Edukt nicht vollständig ab. Längeres Rühren führte nicht zu einer Vervollständigung der Reaktion. Erst mit der Zugabe von weiterem Natriumborhydrid konnte das Edukt **63** komplett umgesetzt werden.

2-Amino-7,7-dimethylbenzylalkohol **64** wurde durch Umsetzung von Anthranilsäuremethylester **65** mit zwei Äquivalenten Methylgrignard dargestellt, was in einer mäßigen Ausbeute von 54 % gelang (Abb. 45).

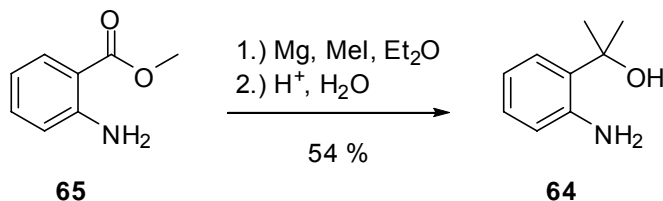


Abb. 45 Die Synthese von 2-Amino-7,7-dimethylbenzylalkohol **65**

Die eher niedrige Ausbeute ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass beim Zutropfen der Grignardverbindung in die Esterlösung ein voluminöser Niederschlag

entstand, durch den das Rühren und damit die Durchmischung der Reaktionslösung stark erschwert wurde. Mit der Verwendung einer größeren Menge Lösungsmittel könnte die Ausbeute vielleicht gesteigert werden.

Mit den beiden Masken **62** und **64** konnten nun die entsprechenden *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs synthetisiert werden (Abb. 46).

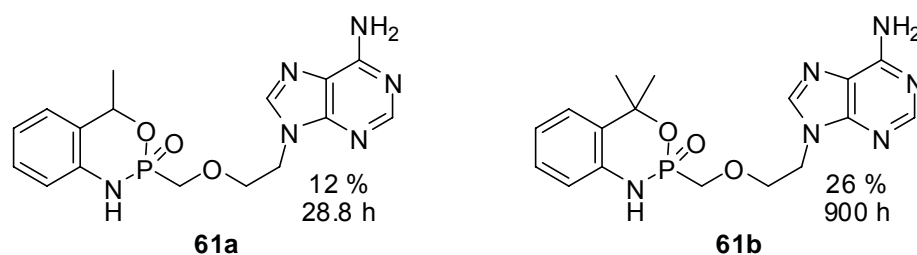


Abb. 46 Die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **61a,b** der dritten Generation

7-Me-*cycloAmb*-PMEA **61a** wurde in einer Ausbeute von 12 % als Diastereomeren-gemisch im Verhältnis 1 : 0.5 isoliert. Dieses Verhältnis wurde dem ^{31}P -NMR-Spektrum der Verbindung **61a** entnommen. Die Diastereomere waren chromatographisch nicht trennbar, selbst in den HPLC-Chromatogrammen traten sie in einem Peak auf. Deshalb wurde bei allen nachfolgenden Untersuchungen das Diastereomeren-gemisch eingesetzt. Die niedrige Ausbeute von 7-Me-*cycloAmb*-PMEA **61a** wurde zunächst damit begründet, dass ein sekundärer Benzylalkohol schlechter das Phosphoratom angreifen kann als ein primärer. Dieses Argument wurde dadurch widerlegt, dass 7,7-Dimethyl-*cycloAmb*-PMEA **61b** in einer relativ guten Ausbeute von 26 % isoliert werden konnte. Über die relativ niedrige Ausbeute von **61a** soll hier nicht weiter spekuliert werden, da die Eigenschaften der Verbindungen im Vordergrund stehen. Es tritt nämlich ein zunächst völlig überraschendes Ergebnis auf, denn die Halbwertszeiten der beiden neuen Verbindungen steigen gegenüber der unsubstituierten *cycloAmb*-PMEA-Verbindung **31a** dramatisch an. Wird eine Methylgruppe in die Benzylposition eingeführt, so versiebenfacht sich die Halbwertszeit; bei zwei Methylgruppen steigt sie ungefähr um den Faktor 200! Aufgrund dieses überraschenden Befundes wurde der Hydrolyseweg untersucht. Bei der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse der Prodrugs **61a,b** konnte festgestellt werden, dass selbst die Methylierung in der Benzylposition keinen Einfluss auf die Stabilität des auftretenden Hydrolyseintermediates hat **57**. Die NMR-Verfolgung verläuft genauso wie die in Abb. 43 im vorherigen Kapitel dargestellte. Das ist ebenfalls ein überraschendes Ergebnis, da z. B. 7-Me-

cycloSal-d4TMP **66** mit der sehr kurzen Halbwertszeit von 15 min zum Phenylphosphatdiester **24** (Abb. 14, S. 15) zerfällt. Warum sich 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **66** und die *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen **61** so unterschiedlich verhalten, ist unklar. Es kann nur eine Erklärung für die hohe Stabilität der benzylmethylierten *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **61** diskutiert werden. Die Hydrolyse aller *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31**, **59** und **61** erfolgt nach dem Mechanismus, der in Abb. 38 in Kapitel 4.2.2 vorgestellt wurde. Um die Hydrolyse einzuleiten, muss der Angriff eines Hydroxidions auf das Phosphorzentrum erfolgen. Offensichtlich verdecken die lipophilen Substituenten in der Benzylposition teilweise den Angriffsweg des lipophoben Nucleophils, was eine Stabilisierung des Prodrugs zur Folge haben muss (Abb. 47).

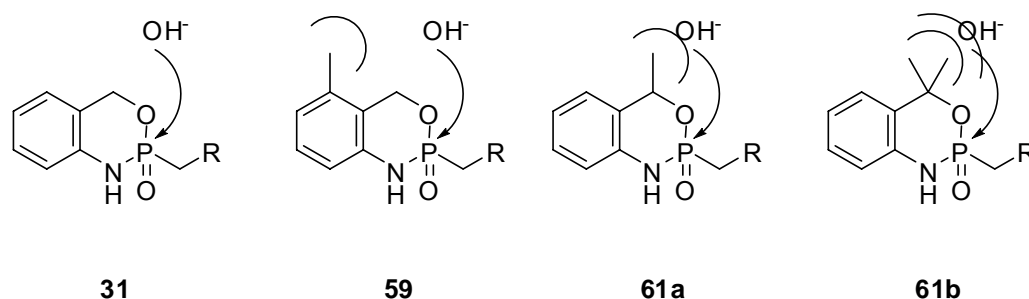


Abb. 47 Die zunehmende Störung des Hydroxidionen-Angriffs

Die Behinderung des Angriffsweges ist auch eine mögliche Erklärung dafür, dass 6-Me-*cycloAmb*-PMEA **59b** eine doppelt so hohe Halbwertszeit hat wie 4-Me-*cycloAmb*-PMEA **59a**.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
7-Methyl 61a	53 ± 5.8	43 ± 20.8	133 ± 104	2.5
7,7-Dimethyl 61b	>250	>250	>250	---
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 4 Antivirale Daten der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **61a,b** der dritten Generation

Für 7-Me-*cycloAmb*-PMEA **61a** und 7,7-Dime-*cycloAmb*-PMEA **61b** sind durch ihre hohen Halbwertszeiten und ihren nach wie vor nicht verbesserten Hydrolysemechanismus keine guten antiviralen Daten zu erwarten, was in Tab. 4 bestätigt wird. 7-Me-*cycloAmb*-PMEA **61a** verliert gegenüber den beiden ersten Prodruggenerationen erheblich an Aktivität und 7,7-Dime-*cycloAmb*-PMEA **61b** ist gegen HIV inaktiv. Da auch die Prodrugs der dritten Generation keine Verbesserungen brachten, sollte nun noch ein letzter Versuch unternommen werden, das Hydrolyseintermediat zu destabilisieren. Das sollte mit einer Phenylgruppe in der Benzylposition geschehen. Der für diese Maskierung benötigte 2-Amino-7-phenylbenzylalkohol **67** wurde durch Reduktion von 2-Aminobenzophenon **68** mit Natriumborhydrid in hervorragender Ausbeute dargestellt (Abb. 48).

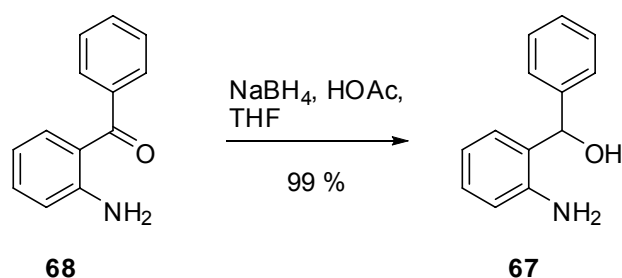


Abb. 48 Die Synthese von 2-Amino-7-phenylbenzylalkohol **67**

Die Synthese wurde genauso durchgeführt wie die Darstellung von 2-Amino-7-methylbenzylalkohol **62**. Erneut war eine sorgfältige DC-Kontrolle erforderlich für die Beurteilung des Reaktionsverlaufs. Mit der neuen Maske wurde daraufhin das entsprechende Prodrug **61c** dargestellt (Abb. 49).

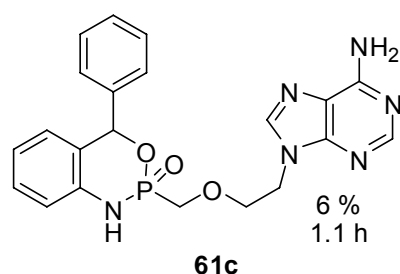


Abb. 49 7-Phenyl-*cycloAmb*-PMEA **61c**

7-Phenyl-*cycloAmb*-PMEA **61c** konnte in einer Ausbeute von 6 % als untrennbares Diastereomergemisch isoliert werden. Das Verhältnis lag wie beim 7-Methyl-

cycloAmb-PMEA **61a** bei 1 : 0.5. Interessanterweise hat diese Verbindung eine Halbwertszeit von 1.1 h, die damit deutlich unter der von unsubstituiertem *cycloAmb*-PMEA **31a** liegt. Hier stellt sich die Frage, ob der Hydrolysemechanismus ein anderer als bei den bisher untersuchten *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs ist. Diese Frage konnte durch die ³¹P-NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse nicht geklärt werden. Den Spektren kann aber eines klar entnommen werden, nämlich dass eine schnelle Freisetzung von PMEAs **9** nicht erfolgt. Die Spektren sehen genauso aus wie die in Abb. 43 in Kapitel 4.2.4. Die antiviralen Daten entsprechen ungefähr denen der Prodrugs der ersten Generation (Tab 5).

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
7-Phenyl 61c	28 ± 18.9	28 ± 20.2	88 ± 33.5	3.1
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 5 Die antivirale Aktivität von 7-Phenyl-*cycloAmb*-PMEA **61c**

Das neue Prodrug **61c** ist erneut nicht so aktiv wie PMEAs **9**. Damit bleibt der Hydrolysemechanismus natürlich weiter unklar. Auf eine genauere Untersuchung wurde hier verzichtet, weil auch bei der zuletzt synthetisierten Verbindung **61c** eines deutlich geworden ist: Das Ziel, *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs zu entwickeln, die schnell PMEAs **9** freisetzen, wurde nicht erreicht. Es wurde allerdings eine entscheidende Erkenntnis gewonnen, die für eine weitere Prodrugentwicklung auf Basis des *cycloSal*-Konzepts genutzt werden konnte. Es ist offensichtlich möglich, die Prodrugs durch Alkylierung der Benzylposition zu stabilisieren. Was liegt nun näher, als klassische Salicylalkohole in der Benzylposition zu alkylieren und zu untersuchen, ob ihre entsprechenden PMEAs-Prodrugs gegenüber den bisher synthetisierten *cycloSal*-PMEA-Verbindungen stabiler sind oder ob sie dann den unerwünschten Phenylphosphatdiester **24** (Abb. 14, S. 15) liefern, wie die entsprechenden *cycloSal*-d4TMP-Verbindungen?

4.2.6 Benzylalkylierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs

Für die Darstellung eines benzylsubstituierten PMEAs wurde für einen ersten Versuch als Maske 7-Methylsalicylalkohol **69** gewählt.⁵⁷ Die Kondensation mit PMEAs **9** wurde genauso durchgeführt wie die Synthese der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs. Das gewünschte PMEAs-Prodrug **70** konnte allerdings nicht isoliert werden (Abb. 50).

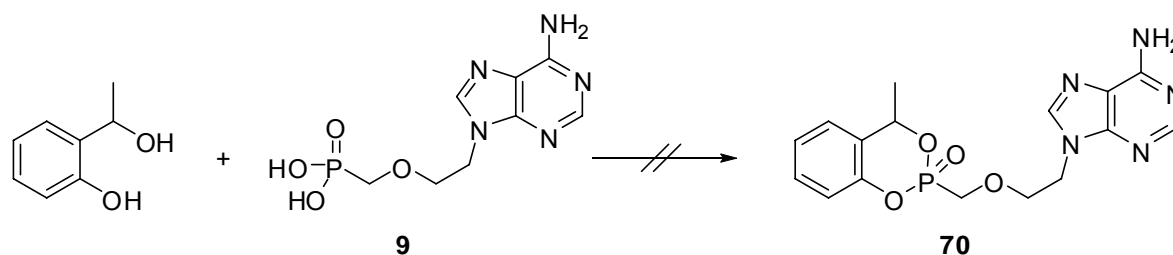


Abb. 50 Der Versuch der Synthese von 7-Me-*cycloSal*-PMEA **70**

Der Misserfolg bei der Darstellung von 7-Me-*cycloSal*-PMEA **70** ist möglicherweise auf die geringe Stabilität des Prodrugs zurückzuführen. Unsubstituiertes *cycloSal*-PMEA **30a** besitzt immerhin eine Halbwertszeit von nur ca. 5 min. Christian Müller konnte diese Verbindung zwar isolieren, er verwendete jedoch eine andere Syntheseroute. Da die für die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31** entwickelte Synthesemethode weiterverwendet werden sollte, wurde darauf verzichtet, die Darstellung von 7-Me-*cycloSal*-PMEA **70** weiter voranzutreiben. Wesentlich vielversprechender erschien die Einführung einer *tert*-Butylgruppe in der Aryl-Position 3, was schon bei den bisher bekannten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **30** zu einer erheblichen Stabilisierung geführt hat. Racemischer 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** konnte in zwei Stufen aus 2-*tert*-Butylphenol **72** synthetisiert werden (Abb. 51).

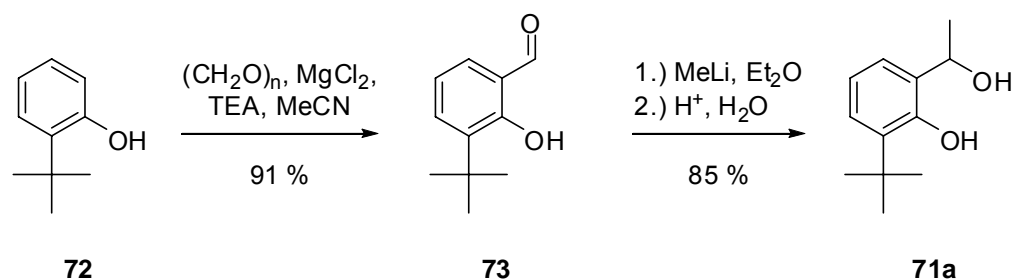


Abb. 51 Die Synthese von 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a**

Die ortho-selektive Formylierung von 2-*tert*-Butylphenol **72** ist literaturbekannt und verlief in der sehr guten Ausbeute von 91 %.⁵⁸ Die anschließend erfolgte Umsetzung von 3-*tert*-Butylsalicylaldehyd **73** mit Methyllithium in Diethylether zu racemischem 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** erfolgte in ebenfalls sehr guter Ausbeute von 85 %. Mit dieser Maske **71a** gelang erstmalig die Synthese eines benzylalkylierten *cyclo*Sal-PMEA-Prodrugs **74**, allerdings in einer mageren Ausbeute von 6 % eines untrennbaren Diastereomergemisches im Verhältnis 1 : 0.3. Mögliche Gründe für die schlechte Ausbeute waren wie bei der Synthese von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31** nur schwierig zu ermitteln, da chromatographisch ebenfalls keine Nebenprodukte isoliert und charakterisiert werden konnten. Trotz der niedrigen Ausbeute konnte mit dem neuen Prodrug 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cyclo*Sal-PMEA **74a** nun der Hydrolysemechanismus untersucht werden.

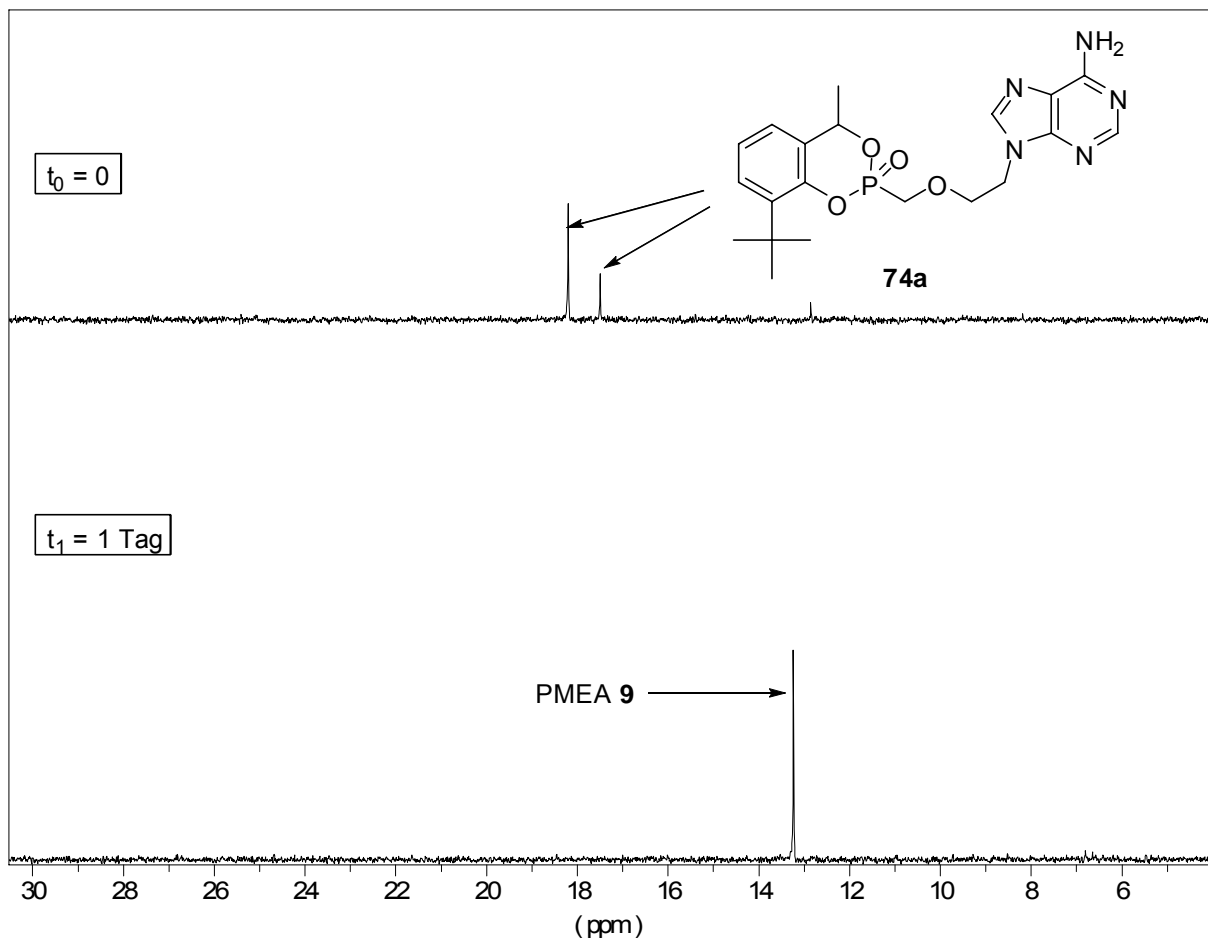


Abb. 52 Die Hydrolyse von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cyclo*Sal-PMEA **74a**

Die zentrale Fragestellung ist dabei, ob überhaupt PMEa **9** freigesetzt wird, oder ob sich eher der unerwünschte Phenylphosphatester **24** (Abb. 14, S. 15) bildet wie bei 7-Methyl-*cycloSal*-d4T **66**. Abb. 52 (vorherige Seite) zeigt die ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse in Phosphatpuffer (pH 7.3). Zu Beginn der Hydrolyse sind die Signale der beiden Diastereomere bei ca. 17 und 18 ppm zu erkennen. Bereits nach einem Tag ist nur noch PMEa **9** vorhanden. Das ist ein sehr überraschendes Ergebnis, denn es konnte ein erheblicher Anteil an unerwünschten Phenylphosphatester **24** (Abb. 14, S. 15) erwartet werden. Dass dieser bei der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Untersuchung überhaupt nicht zu sehen war, hängt offensichtlich mit der Phosphonatstruktur zusammen. Während in Phosphatriestern drei Sauerstoffatome mit ihren freien Elektronenpaaren dem Phosphoratom Elektronendichte liefern können, fehlt bei Phosphonatriestern ein Sauerstoffatom und ist durch eine Methylengruppe ersetzt. Das erklärt die höhere Elektrophilie des Phosphoratoms und damit die niedrigeren Halbwertszeiten der *cycloSal*-PMEa-Diester **30** gegenüber den entsprechend substituierten *cycloSal*-Nucleosid-Triestern **20**, die Christian Müller in seiner Dissertation gefunden hat. Wahrscheinlich führt die höhere Elektrophilie des Phosphoratoms dazu, dass die beiden Diester-Sauerstoffatome der Phosphonate über wesentlich weniger Elektronendichte verfügen als die Sauerstoffatome der Triester. Das bedeutet, dass das phenolische Sauerstoffatom nun auch weniger Elektronendichte in den aromatischen Ring der Maske geben kann. Diese geringere Elektronendichte im aromatischen System scheint dafür verantwortlich zu sein, dass sich keine Benzylkation mehr bilden kann, welches zur Bildung des unerwünschten Phenylphosphatesters **24** (Abb. 14, S. 15) führt. Die vorherigen Ausführungen sind natürlich nur ein Erklärungsversuch für das Verhalten der *cycloSal*-PMEa-Prodrugs, dass eine Methylgruppe in der Benzylposition ihre Hydrolyse mechanistisch nicht beeinflusst. Auch ein Hydrolyseintermediat konnte bei der ^{31}P -NMR-Verfolgung nicht nachgewiesen werden. Damit ist eine vielversprechende Maskierung für PMEa **9** und Nucleosidphosphonate allgemein gefunden worden: 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEa **74a** liefert PMEa **9** selektiv durch Hydrolyse, ohne dass ein sehr stabiles Hydrolyseintermediat auftritt wie bei den *cycloAmb*-PMEa-Verbindungen und die Bildung des unerwünschten Phenylphosphatesters **21** (Abb. 14, S. 15), die zu erheblichen Verlusten bei der Wirkstofffreisetzung führt, wie z. B. bei 7-Methyl-*cycloSal*-d4TMP **66**, findet nicht statt. Diese Ergebnisse wurden von Christian Müller in seiner Dissertation durch Verwendung von „klassischen“ Salicylalkoholen auch schon erreicht, deshalb steht nun die Untersuchung

der Halbwertszeit benzylalkylierter *cycloSal*-PMEA-Prodrugs im Vordergrund. Deshalb sollten zunächst noch größere Substituenten als eine Methylgruppe in die Benzylposition eingeführt werden, da das einen Einfluss auf die Halbwertszeiten haben sollte.

Als Substituenten wurden zusätzlich eine *n*-Butyl-, eine *iso*-Propyl- und eine *tert*-Butyl-Gruppe ausgewählt, um die Auswirkung von Größe und Verzweigung in der Benzylposition untersuchen zu können. Die Synthese sollte analog der Darstellung von 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** erfolgen. 3-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **73** wurde mit den entsprechenden Metallorganyle umgesetzt (Abb. 53).

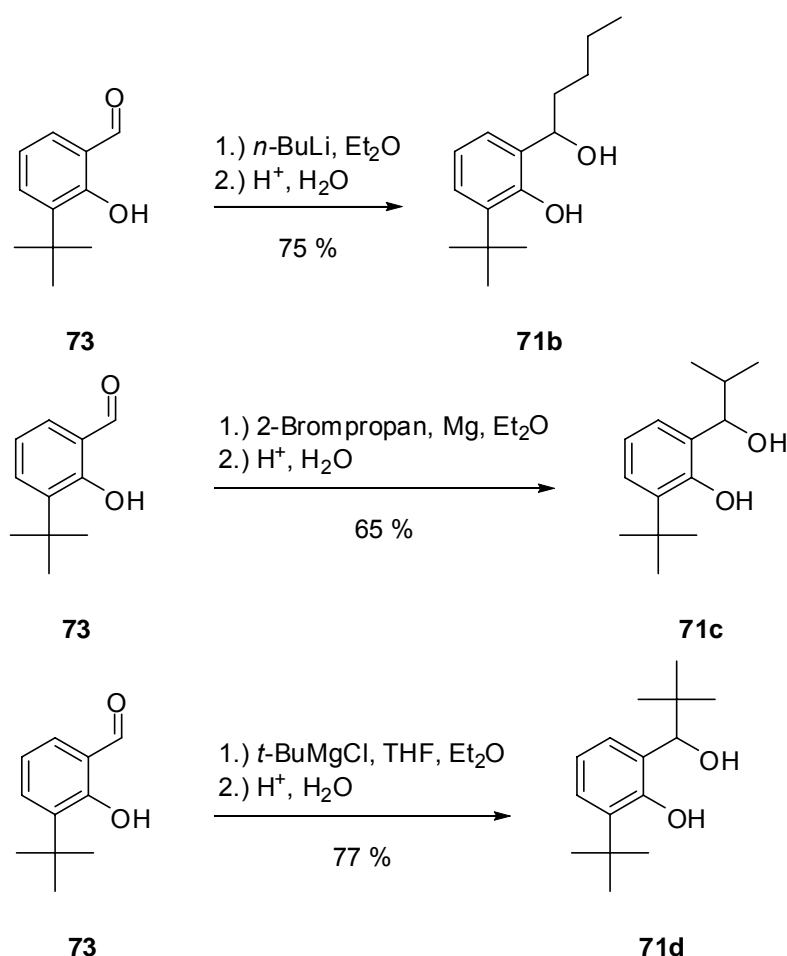


Abb. 53 Die Synthese der 3-*tert*-Butylsalicylalkoholen **71b-d**

Diese Umsetzungen erfolgten alle in ordentlichen Ausbeuten, so dass anschließend die neuen Masken **71b-d** mit PMEAs **9** zu den entsprechenden *cycloSal*-PMEA-Prodrugs kondensiert werden konnten (Abb. 54).

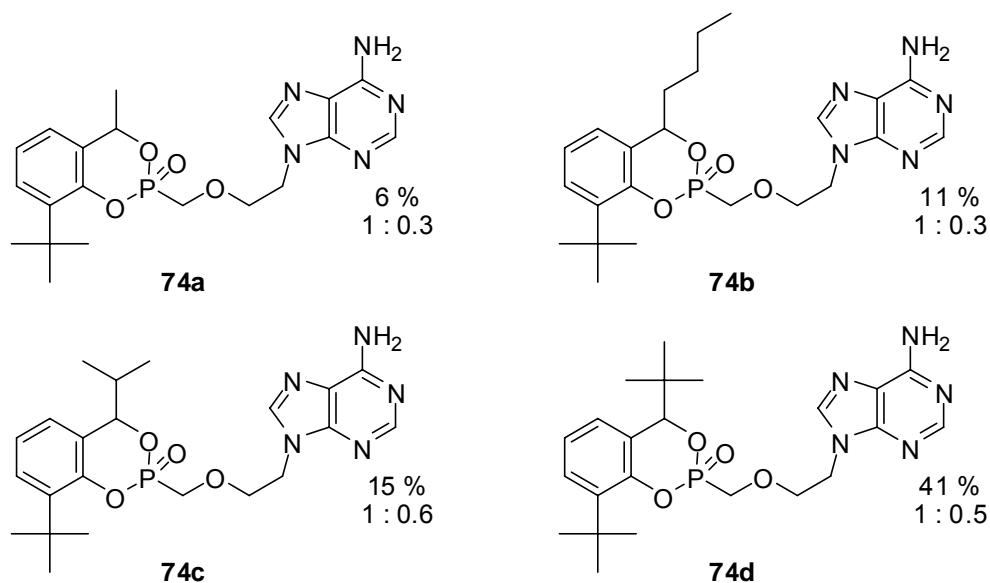


Abb. 54 Benzylsubstituierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**

In Abb. 54 sind Ausbeuten und Diastereomerenverhältnisse der neuen benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs angegeben. Die Ausbeuten befinden sich etwa in dem Bereich, in dem auch die der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs liegen. Das zeigt, dass die für die Darstellung von *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen entwickelte Synthese sehr gut auf die Darstellung von *cycloSal*-PMEA-Prodrugs übertragen werden kann. Bemerkenswert ist, dass die niedrigen Ausbeuten aus Abb. 54 gerade dann aufgetreten sind, wenn die entsprechenden Salicylalkohole als Öle vorlagen, die noch kleinere Verunreinigungen enthielten. Die beste Ausbeute wurde mit 3,7-Di-*tert*-Butylsalicylalkohol **71d** erzielt, der als reiner Feststoff vorlag. Allen Verbindungen ist gemein, dass sich ihre Stereoisomere nicht trennen ließen und dass sie bei der Hydrolyse selektiv PMEAs **9** freisetzen, was ^{31}P -NMR-spektroskopisch nachgewiesen wurde. Damit hat die Größe der Substituenten keinen Einfluss auf den Hydrolysemechanismus. Eine Auswirkung der Substituenten auf die Diastereomerenverhältnisse konnte nicht festgestellt werden. Damit blieb dann noch zu untersuchen, ob die Benzylsubstituenten Einfluss auf die Hydrolysehalbwertszeiten haben (Abb. 55).

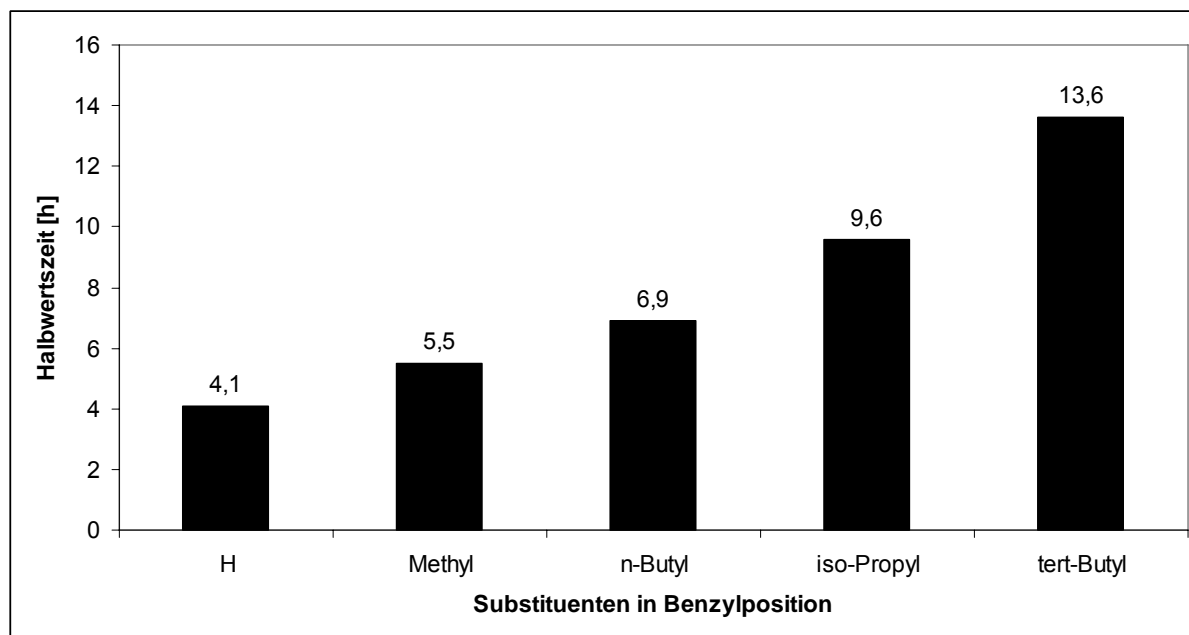


Abb. 55 Die Hydrolysehalbwertszeiten der benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**

Die Hydrolysehalbwertszeiten der neuen benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs zeigen deutlich die Stabilisierung gegenüber dem unsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **30b**. Durch eine Methylgruppe in der Benzylposition steigt die Halbwertszeit von 4.1 h auf 5.5 h an. Wird eine längere Kette (*n*-Butyl) eingeführt, steigt die Halbwertszeit auf 6.9 h. Verzweigt man (*iso*-Propyl), so erhöht sie sich auf 9.6 h, verzweigt man weiter (*t*-Butyl), so erreicht sie 13.6 h. Diese Ergebnisse stützen die These aus Kapitel 4.2.5, dass Substituenten in der Benzylposition das Phosphoratom gegen einen nucleophilen Angriff abschirmen. Mit der Entwicklung der benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs konnten erstmals Hydrolysehalbwertszeiten erreicht werden, die sich dem für *cycloSal*-d4T-Prodrugs **20** optimalen Bereich von 10 - 20 h annähern bzw. im *tert*-Butyl-Fall ihn sogar erreichen. Aufgrund dieser äußerst erfolgreichen Stabilisierung der *cycloSal*-PMEA-Prodrugs ist nun auch eine erhebliche Verbesserung der antiviralen Aktivität gegenüber PMEAs **9** und den *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs zu erwarten. Tab. 6 zeigt die antiviralen Daten der neuen Verbindungen.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
Methyl 74a	2.0 ± 0.0	4.5 ± 0.7	63 ± 0.4	31.5
<i>n</i> -Butyl 74b	4.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	28 ± 3.9	7.0
<i>iso</i> -Propyl 74c	5.0 ± 1.4	4.8 ± 1.8	35 ± 1.6	7.0
<i>tert</i> -Butyl 74d	17.5 ± 3.5	50 ± 0.0	80 ± 12.7	4.6
H 30b	3.0 ± 1.4	4.5 ± 0.7	29 ± 6.5	9.7
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 6 Die antiviralen Daten der benzylsubstituierten 3-*t*-Bu-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**

Die Ergebnisse der antiviralen Tests bestätigen die vermutete Verbesserung der Aktivität der neuen Prodrugs, verglichen mit den *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs und PMEAs **9**. 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** mit einer Halbwertszeit von nur 5.5 h ist das stärkste Prodrug. Je mehr dann die Halbwertszeiten ansteigen, desto mehr verlieren die Prodrugs an Aktivität. Das war angesichts der Erfahrungen mit *cycloSal*-d4TMPs nicht zu erwarten. Offensichtlich sind die optimalen Stabilitätsbereiche für *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** anders als die von vergleichbaren *cycloSal*-d4T-Prodrugs **20**. Eine andere Erklärung für das Absinken der antiviralen Aktivität mit zunehmender Stabilität ist, dass möglicherweise die zunehmende Größe der Substituenten in der Benzylposition die passive Membrangängigkeit immer stärker einschränkt, weil die Prodrugs dadurch auch immer „sperriger“ werden. Das ist natürlich reine Spekulation. Bei der Betrachtung von Tab. 6 fällt auf, dass eine Verbindung sich etwas von den anderen hervorhebt. 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** besitzt nicht nur die beste antivirale Aktivität, sondern auch seine Selektivität ist erheblich besser als die der anderen Verbindungen. Die Verbindung ist deutlich weniger toxisch als die anderen, was angesichts der höheren Aktivität unverständlich ist.

Bei der Betrachtung der neuen *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** ist es unerlässlich, näher auf die Stereochemie einzugehen. Bei der Kondensation eines racemischen benzylsubstituierten Salicylalkohols mit PMEAs **9** entstehen Verbindungen mit jeweils

zwei Stereozentren. Das bedeutet, dass sich zwei Diastereomere bilden, die jeweils aus zwei Enantiomeren bestehen (Abb. 56).

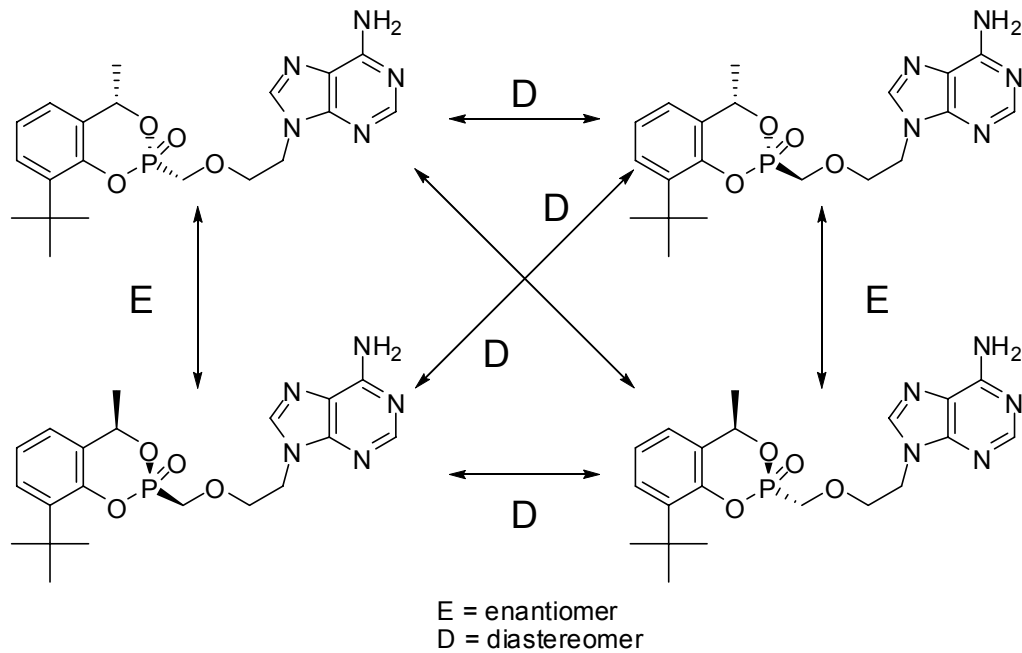


Abb. 56 Die Stereoisomere von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a**

Es entstehen also insgesamt vier Stereoisomere, wobei die Reaktion leicht diastereoselektiv verläuft (Verhältnisse in Abb. 54), wobei unklar ist, welches Diastereomer bevorzugt gebildet wird. Es ist bekannt, dass die getrennten Diastereomere von 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP **26** sich in ihren antiviralen Eigenschaften und Toxizitäten deutlich unterscheiden (Abb. 57).⁵⁹

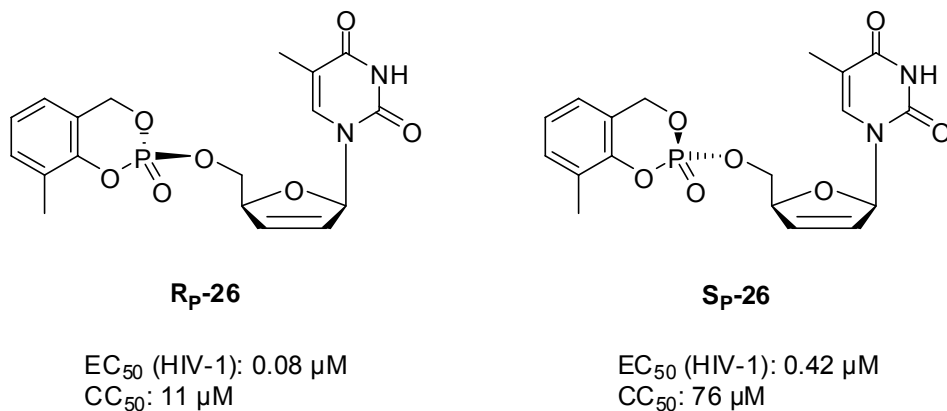


Abb. 57 Aktivität und Toxizität zweier unterschiedlicher Diastereomere

Die unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Diastereomere von 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **26** belegen, dass die Stereochemie bei *cycloSal*-Prodrugs **20** eine entscheidende Rolle spielen kann. Vermutlich ist das auch bei den neuen benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** der Fall. Wie sich hier die Stereochemie auswirkt, lässt sich allerdings nicht sagen, da es nicht gelungen ist, die Diastereomere zu trennen. Möglicherweise haben sogar die Enantiomere unterschiedliche antivirale Eigenschaften, weil in biologischen Testsystemen chirale Biomoleküle wie z. B. Proteine vorhanden sind. Im Fall der benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** wäre es also mit hohem Aufwand verbunden, zu untersuchen, wie Stereochemie und Eigenschaften zusammenhängen, weil jedes einzelne Prodrug aus vier einzelnen Verbindungen besteht, von denen jede unterschiedliche Eigenschaften besitzen kann. Möglicherweise ist das Verhältnis der vier Verbindungen im Falle von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** besonders günstig, so dass hier die besten Daten erzielt werden. Bei 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d** ist dieses Verhältnis vielleicht eher ungünstig, so dass eher magere Ergebnisse erzielt werden. Ein Hinweis auf diese Vermutung ergibt sich aus der Betrachtung der ^{31}P -NMR-Spektren. Die Spektren von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a**, 3-*tert*-Butyl-7-*n*-butyl-*cycloSal*-PMEA **74b** und 3-*tert*-Butyl-7-*iso*-propyl-*cycloSal*-PMEA **74c**, die die besseren antiviralen Eigenschaften besitzen, ähneln sich sehr: Das Hauptdiastereomer hat eine höhere chemische Verschiebung als das Minderdiastereomer. In Abb. 58 ist exemplarisch das ^{31}P -NMR-Spektrum von 3-*tert*-Butyl-7-*iso*-propyl-*cycloSal*-PMEA **74c** gezeigt.

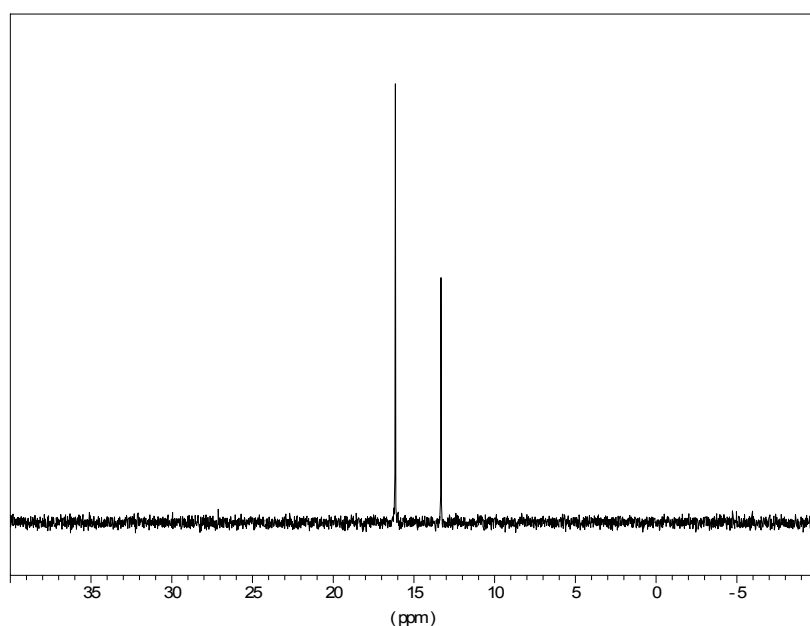


Abb. 58 Das ^{31}P -NMR-Spektrum von 3-*tert*-Butyl-7-*iso*-propyl-*cycloSal*-PMEA **74c**

Beim ^{31}P -NMR-Spektrum von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d** dagegen hat das Hauptdiastereomer die niedrigere chemische Verschiebung (Abb. 59).

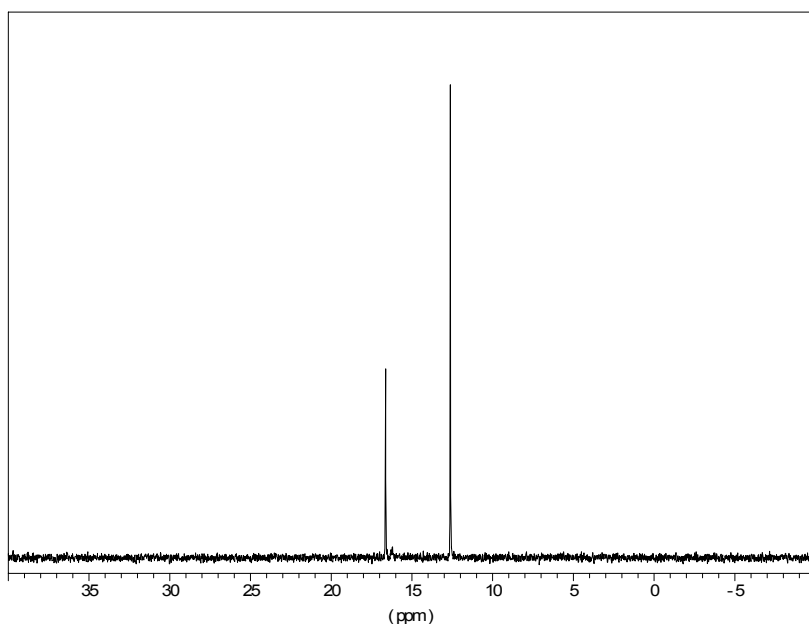


Abb. 59 Das ^{31}P -NMR-Spektrum von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d**

Offensichtlich hat sich bei dem Einführen einer zusätzlichen Methylgruppe die Diastereoselektivität genau umgekehrt, was möglicherweise die schlechten antiviralen Daten von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d** erklärt.

Mit der Untersuchung der neuen benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs konnte gezeigt werden, wie sich Hydrolysehalbwertszeiten über die Größe des Benzylsubstituenten einstellen lassen. Die neuen Prodrugs liefern bei der Hydrolyse immer selektiv und direkt den Wirkstoff PMEAs **9**, ohne dass Nebenprodukte oder nachweisbare Intermediate gebildet werden. Trotz dieser hervorragenden Eigenschaften konnten die antiviralen Daten gegenüber PMEAs **9** nur mäßig verbessert werden (Tab. 6). Die größte Verbesserung der Daten wurde mit 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** bei HIV-1 erzielt, es ist fünfmal aktiver als PMEAs **9**. Das ist ziemlich wenig, wenn man bedenkt, dass es sich bei PMEAs **9** um eine hochpolare Verbindung handelt, während 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** ein lipophiles Prodrug ist. Möglicherweise reicht die erhöhte Lipophilie der Prodrugs immer noch nicht aus, um ihre Membrangängigkeit merklich zu erhöhen. Immerhin ist die Nucleobase Adenin wesentlich polarer als Thymidin, welches die Nucleobase der potenten *cycloSal*-d4TMP-Prodrugs **20** ist. Mögliche Probleme der Sperrigkeit von Benzylsubstituenten für die Membrangängigkeit

wurden bereits weiter oben diskutiert. Zwei Ansätze können nun verfolgt werden, um Untersuchungen und weitere Verbesserungen durchzuführen. Einerseits kann durch Synthese eines fluoreszierenden, benzylsubstituierten Nucleosidphosphonat-Prodrugs in-cell-Analytik betrieben werden, um vielleicht Aussagen über die Membrangängigkeit machen zu können. Andererseits kann versucht werden, noch lipophilere benzylsubstituierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** darzustellen, um die Hydrophilie der Nucleobase Adenin weiter zu kompensieren.

4.2.7 Die Synthese von fluoreszierenden benzylsubstituierten *cycloSal*-*iso*-PMEA-Verbindungen **75**

Die Synthese fluoreszierender benzylsubstituierter *cycloSal*-Nucleosidphosphonate **75** sollte unter Standardbedingungen erfolgen, genau wie beim fluoreszierenden 3-Me-*cycloAmb*-*iso*-PMEA **58** in Kapitel 4.2.3. *iso*-PMEA **44** wurde dabei versucht, mit 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** und 3,7-Di-*tert*-Butylsalicylalkohol **71d** zu kondensieren (Abb. 60).

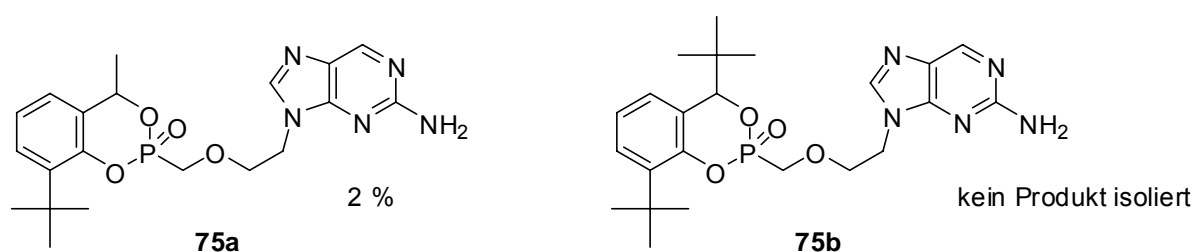


Abb. 60 Fluoreszierende *cycloSal*-Nucleosidphosphonate **75a,b**

Die Synthese von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*iso*-PMEA **75a** gelang dabei nur in einer Ausbeute von 2 %, und 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-*iso*-PMEA **75b** konnte leider überhaupt nicht isoliert werden. Dass die Synthese hier derart problematisch verlief, ist etwas unverständlich, denn die Synthese des fluoreszierenden 3-Me-*cycloAmb*-*iso*-PMEA **58** und die Kondensation von benzylalkylierten Salicylalkoholen **71** mit PMEAs **9** verliefen erfolgreicher. Immerhin stand jetzt mit 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*iso*-PMEA **75a** ein fluoreszierendes benzylsubstituiertes *cycloSal*-*iso*-PMEA-Derivat für die Fluoreszenzanalytik vorhanden. Die geringe Substanzmenge erlaubte leider keine Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeit, sie sollte in der Größenordnung von 3-*tert*-

Butyl-7-methyl-cycloSal-PMEA **74a** liegen, da die Nucleosidphosphonate in ihrer Struktur fast identisch sind und die gleiche Maske verwendet wurde.

4.2.8 Die Synthese von benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-cycloSal-PMEA-Prodrugs **76**

Eine Möglichkeit, lipophilere *cycloSal*-PMEA-Prodrugs darzustellen, ist die Erhöhung der Lipophilie der Maske. Eine sehr einfache Möglichkeit ist die Einführung einer weiteren *tert*-Butyl-Gruppe in Position 5 der benzylalkylierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74**, die in Kapitel 4.2.6 vorgestellt wurden. Es sollten zunächst die entsprechenden Masken mit den gleichen Benzylsubstituenten wie in Kapitel 4.2.6 dargestellt und mit PMEAs **9** kondensiert werden. Der dafür benötigte 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** wurde durch Formylierung von 2,4-Di-*tert*-Butylphenol **78** dargestellt. Dabei konnte nur eine Ausbeute von 55 % erzielt werden (Abb. 61).

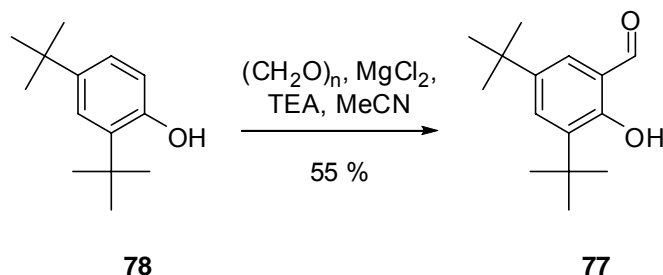


Abb. 61 Die Synthese von 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77**

Die analoge Darstellung von 3-*tert*-Butylsalicylaldehyd **73** aus 2-*tert*-Butylphenol **72** verlief dagegen in 91 % Ausbeute (Abb. 51, S. 50). Ein Grund für die schlechtere Ausbeute ist die unterschiedliche Aufarbeitung. 3-*tert*-Butylsalicylaldehyd **73** wurde chromatographisch gereinigt. Die Abtrennung von Eduktresten verlief sehr gut. Eine Reinigung von 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** auf diese Weise stellte sich als schwieriger heraus. Bei gleicher Reaktionszeit war bei der Darstellung von 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** noch mehr Edukt vorhanden als bei der Synthese von 3-*tert*-Butylsalicylaldehyd **73**. Das konnte bei der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung allerdings nur schwer überprüft werden, da sich die als Edukte benutzten Phenole **72** und **78** als sehr schwach UV-aktiv herausstellten. Bei der chromatographischen Reinigung trat dann noch das Problem auf, dass sich Edukt **78**

und Produkt **77** nicht voneinander trennen ließen. Alternativ wurde deshalb das Rohprodukt bei Raumtemperatur in wenig Ethanol aufgenommen und im Tiefkühler auskristallisiert. Das Produkt **77** konnte so in hinreichender Reinheit isoliert werden, allerdings traten hier wahrscheinlich Verluste auf, da 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** in Ethanol relativ gut löslich ist. Ob die Ausbeute durch andere Reinigungsmethoden oder verlängerte Reaktionszeiten erhöht werden kann, wurde nicht untersucht, da mit 55 % Ausbeute genügend Substanz zur Verfügung stand, um die weiteren Synthesen durchzuführen. Die Alkylsubstituenten wurden dann wie in Kapitel 4.2.6 durch Addition von Metallorganyle an die Carbonylgruppe dargestellt (Abb. 62).

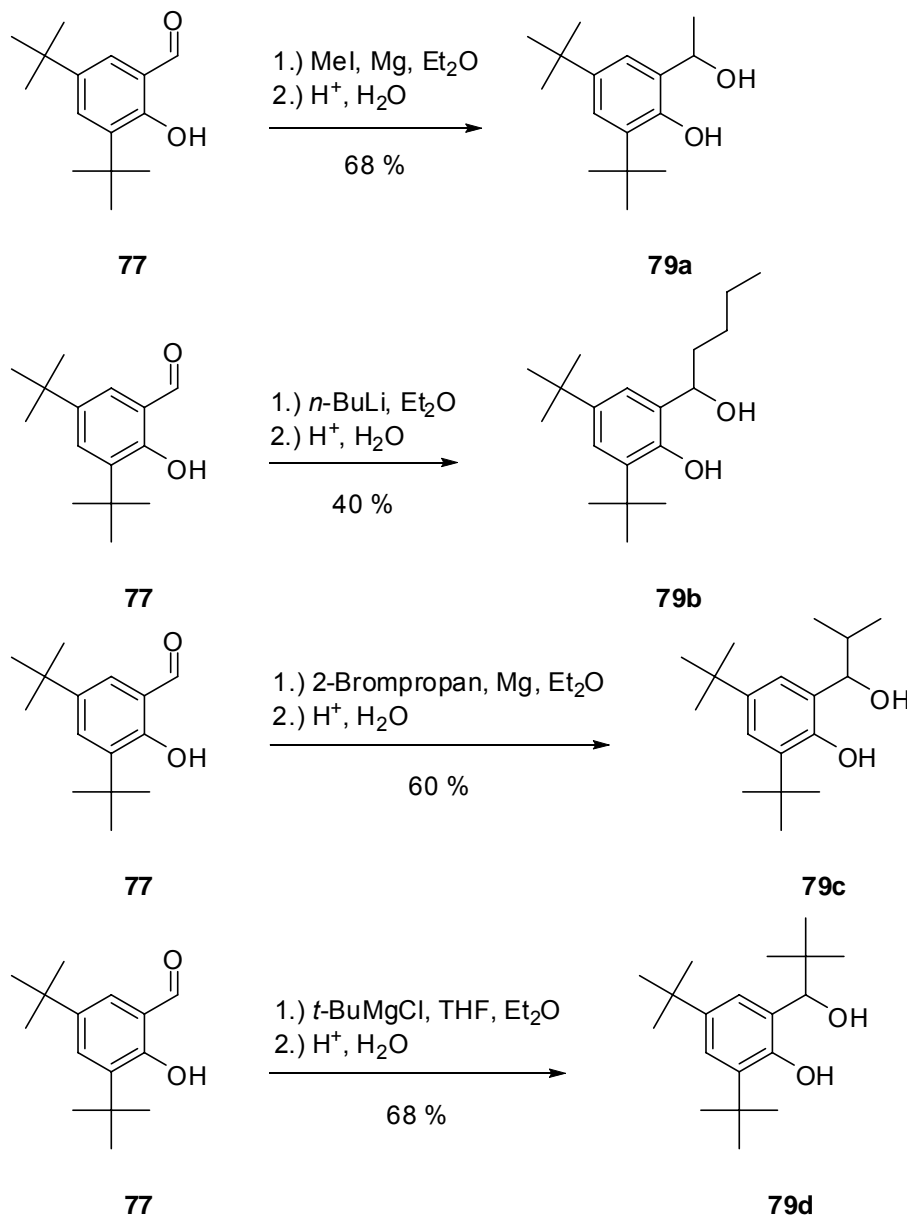


Abb. 62 Die Darstellung der benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylalkoholen **79a-d**

Die Ausbeuten fielen alle etwas geringer aus als bei den vergleichbaren 3-*tert*-Butylsalicylalkoholen **71a-d**. Es standen aber von allen Verbindungen **79a-d** ausreichende Substanzmengen für die weiteren Schritte zu Verfügung. Alle neu synthetisierten Salicylalkohole konnten erfolgreich mit PMEAs **9** kondensiert werden (Abb. 63).

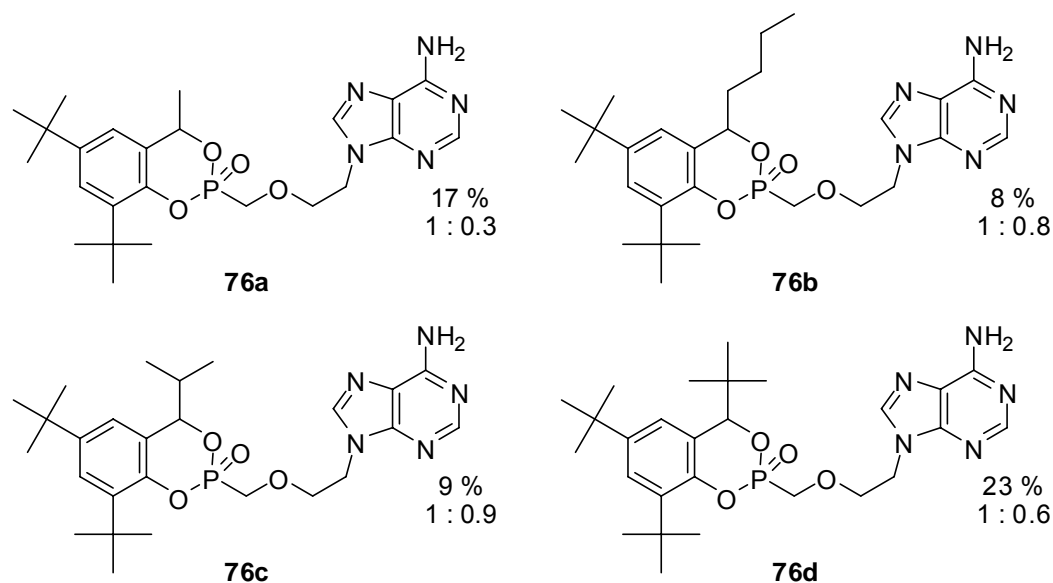


Abb. 63 Benzylsubstituierte 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **76a-d**

Die Ausbeuten bei der Darstellung der neuen Prodrugs lagen alle in einem für die Reaktion gewöhnlichen Bereich. Erwartungsgemäß ließen sich auch hier die Diastereomere nicht trennen. Allen benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-PMEA-Prodrugs ist gemein, dass sie PMEAs **9** selektiv bei der Hydrolyse freisetzen. Die ^{31}P -NMR-Spektren der Hydrolyseverfolgungen im Phosphatpuffer (pH 7.3) zeigten ein identisches Bild verglichen mit den benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d** (Abb. 52, S. 51). Die Hydrolysehalbwertszeiten fielen niedriger aus als bei den vergleichbaren benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d** (Abb. 64).

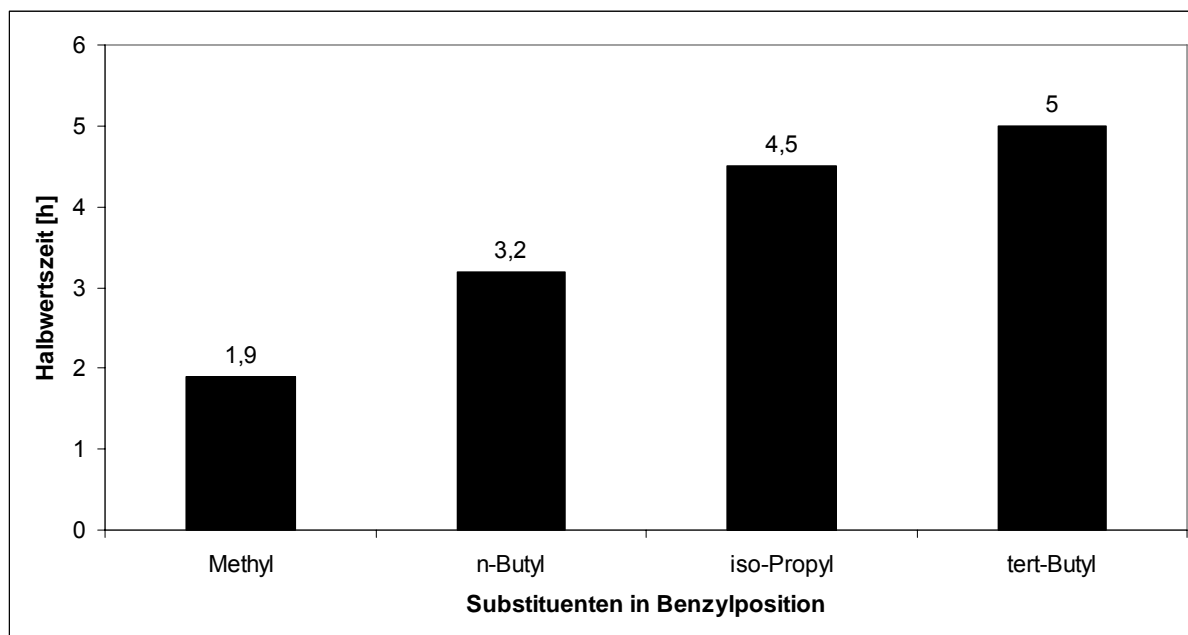


Abb. 64 Halbwertszeiten der benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs

Das ist ein überraschendes Ergebnis, denn ein zusätzlicher Donorsubstituent sollte eigentlich eine Stabilisierung bewirken. Dieses Phänomen tritt auch bei *cycloSal*-d4TMP-Prodrugs **20** auf, wobei eine Erklärung dafür noch nicht gefunden wurde. Bei der Betrachtung der Halbwertszeiten ist wieder deutlich zu erkennen, dass die Halbwertszeiten mit zunehmender Größe der Substituenten ansteigen. Die Faktoren der Stabilisierung fallen etwas anders aus als für die Serie der 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**, was dadurch erklärbar ist, dass jetzt andere Diastereomerenverhältnisse vorliegen (Abb. 63, vorherige Seite). Die unterschiedlichen Diastereomere können unterschiedliche Halbwertszeiten besitzen, was natürlich im Vergleich etwas verzerrend wirkt.

Über HPLC-Retentionszeiten kann die Lipophilie von Prodrugs abgeschätzt werden.^{60,61} Interessant ist in diesem Zusammenhang der Vergleich der Retentionszeiten von benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA- **74a-d** und benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Derivaten **76a-d**. Hat die zusätzliche *tert*-Butylgruppe einen entscheidenden Einfluss auf die Lipophilie? In Abb. 65 sind die entsprechenden Retentionszeiten dargestellt.

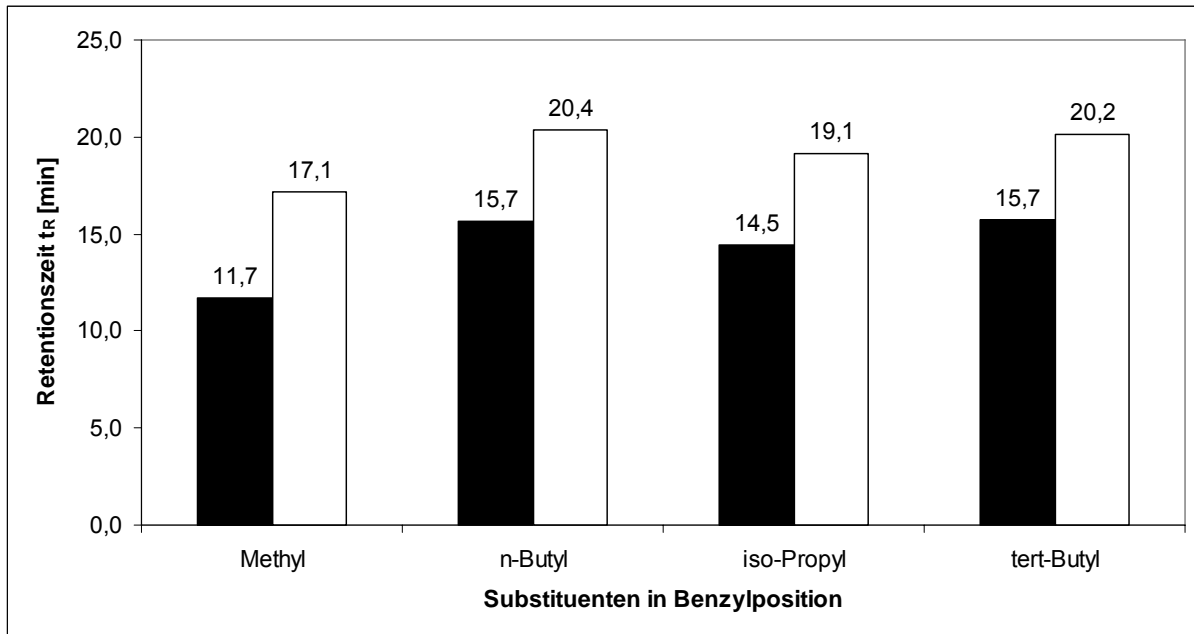


Abb. 65 t_R -Werte der benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl- **74a-d** (schwarz) und 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **76a-d** (weiß)

Es ist zu erkennen, dass sich die Retentionszeiten durch die Einführung einer zusätzlichen *tert*-Butyl-Gruppe deutlich erhöhen. Damit sind die benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs auch deutlich lipophiler als die entsprechenden Prodrugs **74a-d** mit einem Wasserstoffatom in der Aryl-5-Position. Tab. 7 (nächste Seite) zeigt die antiviralen Daten der neuen, lipophileren Prodrugs **76a-d**. Ähnlich wie bei den benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d** gibt es auch hier eine Verbindung, die sich von den anderen hervorhebt. Während dort das Prodrug **74a** mit einer Methylgruppe die potenteste Verbindung ist, so besitzt jetzt das Prodrug **76b** mit der *n*-Butyl-Gruppe die besten Daten. Die Verbindung **76b** ist zehnmals aktiver gegen HIV als PMEA **9** und doppelt so aktiv wie 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a**. Das ist der beste bis jetzt erzielte Wert.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
Methyl 76a	4.4 ± 0.8	3.2 ± 0.3	36 ± 1.9	8.2
<i>n</i> -Butyl 76b	1.0 ± 0.15	1.3 ± 0.07	13 ± 1.4	13.0
<i>iso</i> -Propyl 76c	4.2 ± 0.07	5.0 ± 0.2	20 ± 2.1	4.8
<i>tert</i> -Butyl 76d	>10	>10	23 ± 1.4	>2.3
H 30c	5.5 ± 0.7	>10	17 ± 0.6	3.1
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

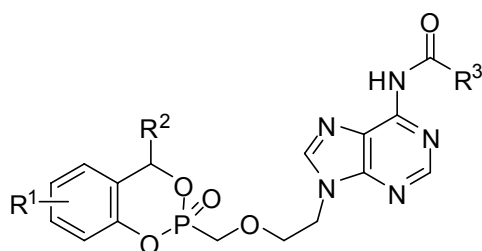
^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 7 Die antiviralen Daten der benzylsubstituierten 3,5-Di-*t*-Bu-*cyclo*Sal-PMEA-Prodrugs **76a-d**

Trotz dieses Ergebnisses kann eine signifikante Erhöhung der antiviralen Aktivität durch die Lipophiliesteigerung nicht festgestellt werden. Die anderen Werte sind denen in Tab 6 (S. 66) sehr ähnlich. Erneut verliert die Verbindung **76d** mit dem *tert*-Butyl-Substituenten in der Benzylposition deutlich an Aktivität, obwohl ihre Hydrolysehalbwertszeit in einem ähnlichen Bereich wie die der potenteren Prodrugs liegt. Möglicherweise ist diese Verschlechterung strukturbedingt, weil voluminöse Prodrugs vielleicht nicht mehr in der Lage sind, Zellmembranen zu durchdringen. Auch Diastereomerenunterschiede können natürlich die Werte beeinflussen. Aufgrund der bisher gewonnenen Ergebnisse wurde nun darauf verzichtet, die Lipophilie der Maskeneinheit weiter zu erhöhen.

4.2.9 N-acylierte PMEAs-Prodrugs

Durch die Einführung einer weiteren *tert*-Butylgruppe in der Maskeneinheit konnte die Lipophilie der PMEAs-Prodrugs gesteigert werden. Allerdings wurde dabei bisher immer nur an einer Seite der Verbindungen Veränderungen betrieben. Diese Lipophilieerhöhungen führten bisher nicht zu einer signifikanten Steigerung der antiviralen Aktivität. Interessant wäre es deshalb auch, die Lipophilie der *cycloSal*-PMEAs-Prodrugs gleichmäßiger im Molekül zu verteilen, denn jede Veränderung an der Maske lässt natürlich die Hydrophilie des Adenins unbeeinflusst. Eine Veränderung der Nucleobase würde allerdings höchstwahrscheinlich den Verlust der antiviralen Aktivität bedeuten. Wünschenswert wäre deshalb eine lipophile Gruppe an der Nucleobase, die intrazellulär abgespalten werden kann. In diesem Zusammenhang sollte deshalb untersucht werden, ob die *N*-Acetylierung von PMEAs-Prodrugs (Abb. 66) zu einer Verbesserung der antiviralen Eigenschaften führt.



80

Abb. 66 *N*-Acylierte *cycloSal*-PMEAs-Prodrugs **80**

Amidbindungen sind möglicherweise gegenüber Amidasen oder Peptidasen instabil, so dass es zu einer Hydrolyse innerhalb der Zelle kommen könnte.

Die Synthese dieser Verbindungen sollte von den *N*-acetylierten Phosphonsäuren **81** ausgehen. Als Reste R^3 (Abb. 66) sollten zunächst Methyl und *tert*-Butyl verwendet werden. Diese Wahl wurde getroffen, da die Pivalinsäureamidbindung den notwendigen Esterspaltungsschritt mit Bromtrimethylsilan auf jeden Fall unbeschadet überstehen sollte, denn selbst die etwas labileren Pivalinsäureester sind gegenüber Bromtrimethylsilan stabil (Kapitel 4.4.8, S. 110). Mit der Verwendung der Pivaloylgruppe sollte die synthetische Machbarkeit bis zur Zielverbindung **80** festgestellt werden. Die Essigsäureamidbindung wurde gewählt, um zu überprüfen, ob auch labilere Amide nicht durch Bromtrimethylsilan gespalten werden.

Zur Darstellung der Phosphonsäuren **81a,b** wurde zunächst PMEA-Diethylester **36** acetyliert. In einem Versuch sollte die Adenin-NH₂-Gruppe mit Pivalinsäurechlorid in Pyridin geschützt werden. Im darauffolgenden Experiment sollte sie mit Essigsäureanhydrid ebenfalls in Pyridin acetyliert werden (Abb. 67).

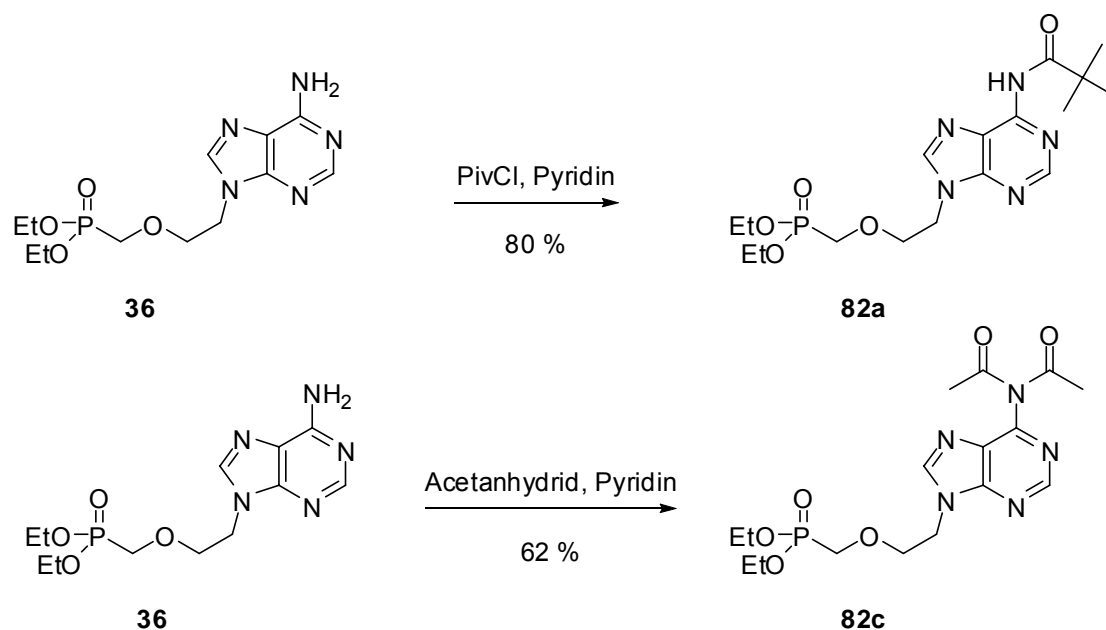


Abb. 67 Die Darstellung *N*-acylierter Phosphonsäurediethylester **82a,c**

Die jeweiligen Produkte **82a,c** konnten in guten Ausbeuten isoliert werden. Bei der Umsetzung von PMEA-Diethylester **36** mit zehn Äquivalenten Essigsäureanhydrid wurde die NH₂-Gruppe doppelt acyliert. Hier sollte nun nicht versucht werden, das monoacylierte Produkt **82b** darzustellen. Denn entweder wird die überschüssige Gruppe im nächsten Schritt abgespalten oder sie wird bis zur Zielverbindung mitgenommen. In der nächsten Stufe wurde die Phosphonsäureesterspaltung mit Bromtrimethylsilan durchgeführt (Abb. 68).

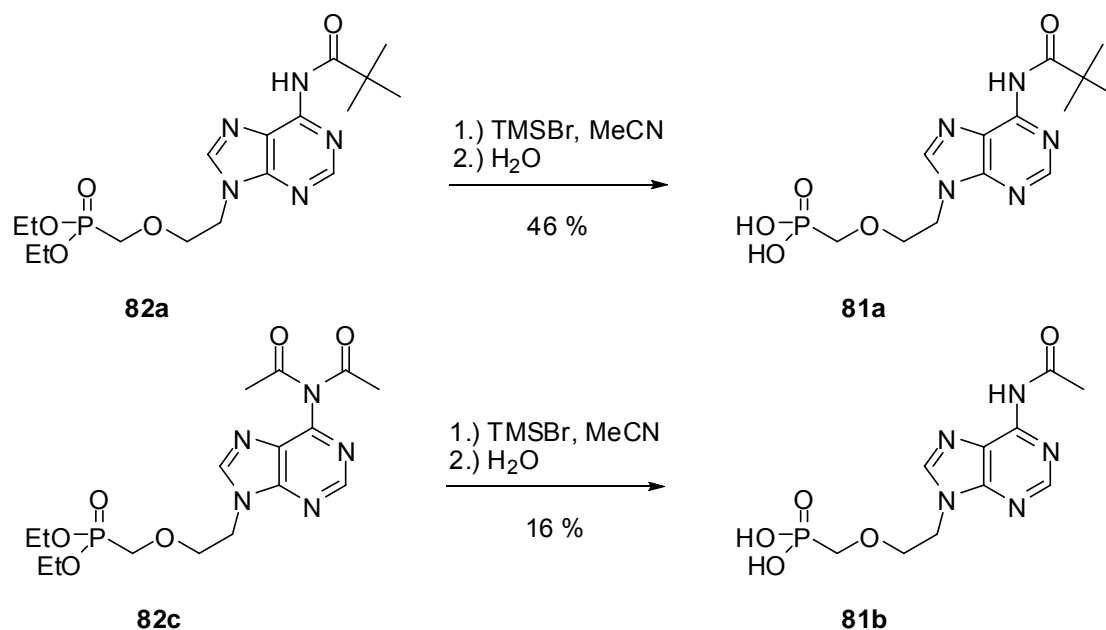


Abb. 68 Die Phosphonsäureesterspaltung der Diester **82a,c**

N-Pivaloyl-PMEA **9** konnte ohne Probleme in einer Ausbeute von 46 % isoliert werden. Eine Amidspaltung durch Bromtrimethylsilan wurde nicht beobachtet. *N*-Acetyl-PMEA **81b** wurde dagegen nur in 16 % Ausbeute isoliert. Eine der beiden Acetylgruppen des Edukts **82c** wurde dabei vollständig abgespalten. Im NMR-Spektrum konnte auch festgestellt werden, dass das *N*-Acetyl-PMEA **81b** mit etwas PMEAs **9** verunreinigt ist. Das bedeutet, dass auch die einfache Acetylamidbindung bereits instabil gegenüber einer Behandlung mit Bromtrimethylsilan ist. Allerdings ist die Phosphonsäureesterbindung immer noch um Größenordnungen labiler, so dass die Amidspaltung kaum ins Gewicht fiel. Die niedrige Ausbeute ist möglicherweise auf unvollständige Kristallisation zurückzuführen, vielleicht eignen sich andere Lösungsmittel für die *N*-acylierten PMEAs-Derivate besser als die bisher für freie Phosphonsäuren verwendeten. Das wurde hier aber nicht überprüft, da zu wenig Substanz für weitere Kristallisationsversuche zur Verfügung stand.

Mit *N*-Pivaloyl-PMEA **9** wurde nun untersucht, ob sich eine Kondensation von Salicylalkoholen mit *N*-acylierten Phosphonsäuren **81a,b** durchführen lässt. Zunächst wurde versucht, *N*-Pivaloyl-PMEA **9** unter Standardbedingungen (Kapitel 4.2.1) ins Phosphonsäuredichlorid **50b** zu überführen und danach die Kupplung anzuschließen, wie es bisher so erfolgreich bei der Synthese von *cycloSal*-PMEA-Prodrugs durchgeführt wurde. Als Maske wurde dabei 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** gewählt, weil mit ihr das bisher potenteste *cycloSal*-PMEA-Prodrug **74a** synthetisiert

wurde (Kapitel 4.2.6, S. 55). Die durchgeführte Synthese führte nicht zum gewünschten Produkt (Abb. 69).

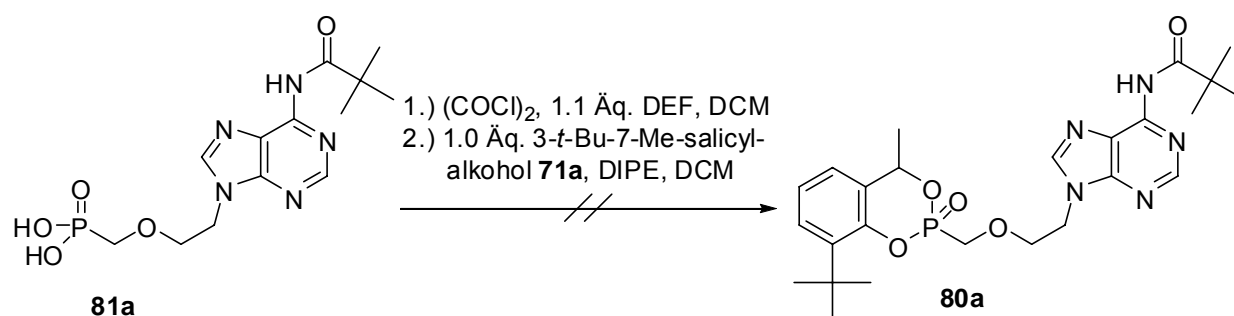


Abb. 69 Syntheseversuch des *N*-acylierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **80a**

Dass überhaupt kein Produkt isoliert werden konnte, ist etwas überraschend. Immerhin sollten diese Bedingungen ohne Probleme zum Phosphonsäuredichlorid **50b** führen. Der einzige Unterschied ist, dass die Adenin- NH_2 -Gruppe schon vor der Reaktion geschützt vorliegt. Deshalb sind eigentlich nur katalytische Mengen an *N,N*-Diethylformamid nötig. Deshalb wurden im nächsten Syntheseversuch davon nur 0.1 Äquivalente und nicht 1.1 eingesetzt. Aber auch die Verringerung der Menge an DEF führte nicht zum gewünschten Produkt **80b**. Auffallend bei der Synthese war, dass *N*-Pivaloyl-PMEA **9** in Dichlormethan hervorragend löslich ist und sich nach der Zugabe von Oxalylchlorid ein gelber Niederschlag bildete, der während der Reaktion nicht wieder in Lösung ging. Bei der bisherigen Standardsynthese bildete PMEAs **9** mit Dichlormethan zuerst eine Suspension, die nach Oxalylchloridzugabe und fortschreitender Reaktion zu einer klaren Lösung wurde. Möglicherweise ist wegen der auftretenden Unlöslichkeit der Reaktionszwischenprodukte das bisherige Standardverfahren für die Synthese *N*-acetylierter *cycloSal*-Prodrugs ungeeignet. Deshalb sollte ein alternativer Syntheseweg ausprobiert werden. Christian Müller synthetisierte *cycloSal*-PMEA-Verbindungen **83** deren NH_2 -Gruppe vorher geschützt wurde (Abb. 70).

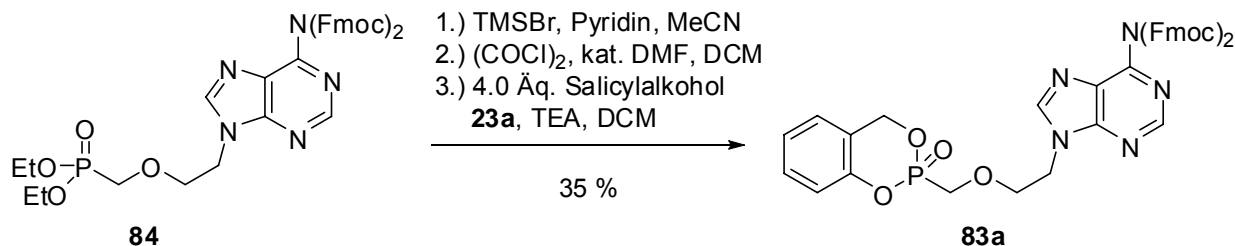


Abb. 70 Die Synthese von Fmoc-geschützten *cycloSal*-PMEA **83a**

Der wesentliche Unterschied zur bisherigen Syntheseroute ist die Verwendung von vier Äquivalenten Salicylalkohol **23a**. Diese Synthese sollte nun auf die Darstellung *N*-acylierter *cycloSal*-PMEA-Prodrugs übertragen werden. Dabei gelang die Synthese von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*N*-Piv-PMEA **80a** (Abb. 71).

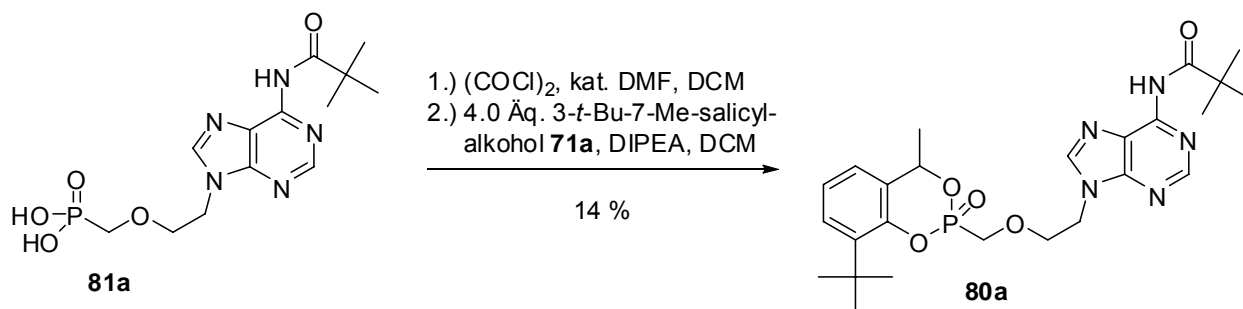


Abb. 71 Die Synthese von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*N*-Piv-PMEA **80a**

Das gewünschte Produkt **80a** konnte in einer Ausbeute von 14 % isoliert werden. Auch bei dieser Synthese wurde beobachtet, dass sich bei der Phosphonsäuredichloridbildung ein gelber Niederschlag gebildet hat. Deshalb wäre vielleicht auch bei den beiden vorangegangenen Experimenten eine erfolgreiche Synthese möglich gewesen. Offensichtlich ist der Erfolg abhängig von einem großen Maskenüberschuss. Das steht natürlich im Widerspruch zur bisher verwendeten Standardsynthese von *cycloSal*-PMEA-Prodrugs, bei der die Maske äquimolar eingesetzt wurde, was von großem Vorteil ist, wenn die Maske aufwendig synthetisiert werden muss. Das Produkt **80a** lag wie alle benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**, **76a-d** als untrennbares Diastereomergemisch vor. Überraschenderweise ist die Reaktion stärker diastereoselektiv als bisher. Das Verhältnis der beiden Diastereomere lag bei 1 : 0.07, was einem Diastereomerenüberschuss von 87 % entspricht. Offensichtlich hat die sperrige Schutzgruppe einen Einfluss auf den Kupplungsschritt, obwohl sie relativ weit

vom Phosphoratom entfernt ist. Ob dennoch sterische Effekte oder etwas anderes hier eine Rolle spielen, bleibt Spekulation.

Mit der neuen Syntheseroute sollte nun auch noch *N*-Acetyl-PMEA **81b** mit 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** maskiert werden. Mit dem Gelingen dieser Synthese konnte die Eignung der von Christian Müller übernommenen Methode gezeigt werden (Abb. 72).

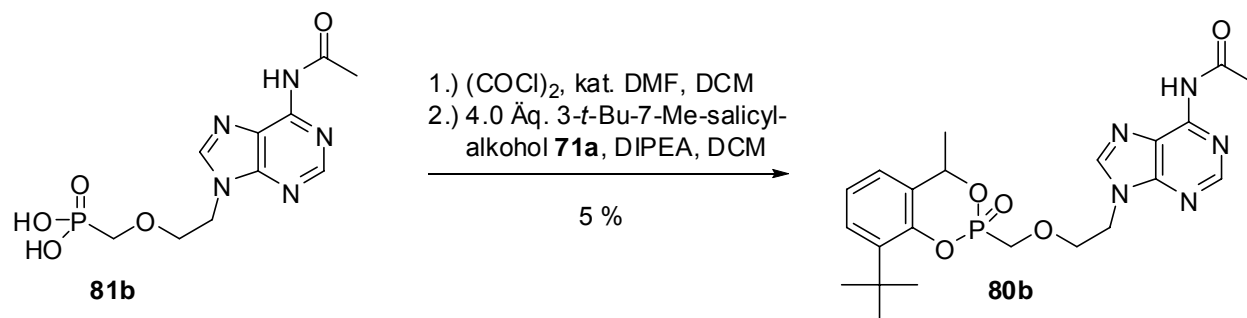


Abb. 72 Die Synthese von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*N*-Ac-PMEA **80b**

Das gewünschte Produkt **80b** konnte zwar nur in 5 % Ausbeute isoliert werden, aber es ist zu bedenken, dass die Acetylamidbindung wesentlich labiler als die Pivaloylamidbindung ist und Oxalylchlorid ein sehr aggressives Reagenz ist. Zusätzlich war das Edukt **81b** mit PMEAs **9** verunreinigt. Erneut lag ein untrennbares Diastereomerenmisch mit hoher Selektivität vor. Das Diastereomerenverhältnis betrug 1 : 0.1, was einem Diastereomerenüberschuss von 82 % entspricht. Obwohl die Acetyl- wesentlich kleiner als die Pivaloylgruppe ist, hat sie fast die gleiche Auswirkung auf die Diastereoselektivität. Das spricht dafür, dass sterische Einflüsse vielleicht gar nicht entscheidend für das Auftreten der hohen Diastereoselektivität sind. Was genau dafür verantwortlich ist, bleibt auch mit der neuen Verbindung **80b** unklar. Die beiden Verbindungen **80a,b** beinhalten eine weitere Überraschung: Ihre Hydrolysehalbwertszeiten (Phosphatpuffer pH 7.3) liegen wesentlich niedriger als die des vergleichbaren 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a**. Sie fällt von 5.5 h auf 1.4 h (3-*tert*-Butyl-7-methyl-*N*-Ac-PMEA **80b**) bzw. 1.1 h (3-*tert*-Butyl-7-methyl-*N*-Piv-PMEA **80a**). Eine mögliche Erklärung für diesen überraschenden Befund besteht in dem hohen Diastereomerenüberschuss. Offensichtlich ist bei der Synthese das labilere Diastereomer bevorzugt gebildet worden, was allerdings anhand der Ergebnislage nicht bewiesen werden kann. Die entscheidende Frage bei der Untersuchung der neuen *N*-

acylierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **80a,b** ist, ob die Schutzgruppen enzymatisch von der Adenin-NH₂-Gruppe abgespalten werden können. Die Verbindungen **80a,b** erwiesen sich in CEM/0-Zellextrakten als stabil: In entsprechenden HPLC-Chromatogrammen konnte keine Reaktion detektiert werden. Das ist ein zunächst enttäuschendes Ergebnis, denn selbst die Acetylgruppen sind in diesem enzymatischen Medium nicht spaltbar. Allerdings handelt es sich natürlich nur um ein Modellmedium. Ob die Verbindungen aufgrund der geringen enzymatischen Labilität keine antivirale Aktivität zeigen, müssen antivirale Tests ergeben.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]
	HIV-1	HIV-2	
<i>N</i> -Piv-PMEA 81a	73 ± 32	-	>250
<i>N</i> -Piv-PMEA-Prodrug 80a	18 ± 2.1	6.8 ± 1.3	38 ± 6.4
<i>N</i> -Ac-PMEA 81b	10 ± 6.5	5.6 ± 0.35	78 ± 7.1
<i>N</i> -Ac-PMEA-Prodrug 80b	13 ± 3.5	7.9 ± 3.0	52 ± 1.5
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration

Tab. 8 Die antiviralen Daten *N*-acylierter PMEAs-Verbindungen **80a,b** und **81a,b**

In Tab. 8 sind die antiviralen Daten der neuen Verbindungen aufgelistet. Es ist zu erkennen, dass sie durch die *N*-Acylierung ihre antivirale Aktivität nicht vollständig verlieren. Bis auf das fast inaktive *N*-Piv-PMEA **81a** zeigen sie alle Aktivität im Bereich von PMEAs **9**. *N*-Ac-PMEA **81b** besitzt etwa die gleiche Aktivität wie PMEAs **9**. Das zeigt, dass die Acetylgruppe wohl in irgendeiner Weise abgespalten werden muss. Allerdings hat das keine wirkliche Prodrugwirkung, denn 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-*N*-Ac-PMEA **80b** verliert dagegen wieder etwas an Aktivität. Während *N*-Piv-PMEA **81a** fast inaktiv ist, gewinnt seine Prodrugform **80a** etwas an Aktivität, die sich der von PMEAs **9** annähert. Ob hier eine Amidspaltung erfolgt ist oder ob für diese Beobachtung andere Gründe verantwortlich sind bleibt offen. Eines zeigen die antiviralen Daten aber sehr eindeutig: Der bisherige Strategie, die Lipophilie in der Maskeneinheit zu erhöhen, um die antivirale Aktivität zu verbessern, war effektiver als die *N*-Acylierung von PMEAs **9** und seiner Prodrugs. Deshalb wurde dieses Gebiet nicht weiter bearbeitet.

4.2.10 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEAs: Die überraschende Entdeckung eines neuen Prodrugkonzepts

cycloSal-PMEA-Prodrugs können durch Austausch des phenolischen Sauerstoffatoms der Maskeneinheit gegen ein anilinisches Stickstoffatom stabilisiert werden. Diese *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs wurden in Kapitel 4.2.2 - 4.2.4 behandelt. Dabei stellte sich die Frage, ob der Austausch des benzylichen Sauerstoffatoms eines *cycloSal*-PMEA-Prodrugs gegen Stickstoff ebenfalls eine Stabilisierung bewirkt (Abb. 73).

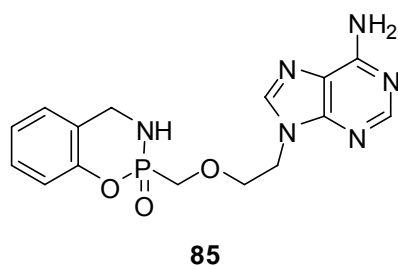


Abb. 73 Das Zielmolekül **85**

Können solche Verbindungen überhaupt synthetisiert werden? Setzen diese Verbindungen bei der Hydrolyse ebenfalls PMEAs frei und geschieht dies effektiver als bei den *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs? Diese Fragen sollen in diesem Kapitel geklärt werden.

Grundsätzlich sollte bei der Darstellung die bisher für *cycloAmb*- und *cycloSal*-PMEA-Prodrugs so erfolgreiche Synthese beibehalten werden, so dass zunächst die Maskensynthese im Vordergrund stand. Für einen ersten Versuch sollten zuerst keine aromatischen Substituenten an der Maske vorhanden sein. Die Synthese des 2-Hydroxybenzylaminhydrochlorids **86a** ist literaturbekannt (Abb. 74).⁶²

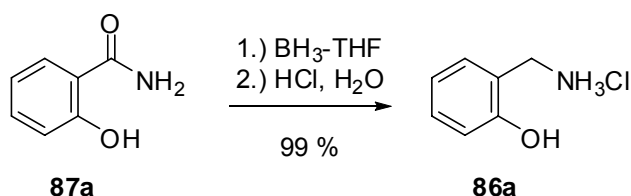


Abb. 74 Die Synthese von 2-Hydroxybenzylaminhydrochlorid **86a**

Die Reduktion von Salicylsäureamid **87a** mit BH_3 -THF-Komplex und die anschließende Isolierung des Hydrochlorids **86a** gelangen in quantitativer Ausbeute. Da das Hydrochlorid **86a** in Dichlormethan nur schwer löslich ist, sollte das freie Amin isoliert werden. Das sollte durch Extrahieren von wässrigen Lösungen von 2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86a** mit Dichlormethan erfolgen. Allerdings konnte weder bei basischen, neutralen oder leicht sauren pH-Werten ein Übergang des Produkts in die organische Phase beobachtet werden. Möglicherweise sind diese Verbindungen so polar, weil es zu einer intramolekularen Salzbildung kommt, ähnlich wie bei den Aminosäuren. Offensichtlich ist die Aminogruppe basisch genug, um die phenolische OH-Gruppe zumindest teilweise zu deprotonieren. Aufgrund dessen sollten die ersten Syntheseveruche mit dem 2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86a** durchgeführt werden.

Während der Synthesedurchführung (Kapitel 4.2.1) war das Hydrochlorid **86a** in Dichlormethan fast gar nicht löslich, allerdings trat eine klare Lösung auf, als das für die Reaktion benötigte DIPEA zugegeben wurde. Diese trübte sich wieder, als auf $-80\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt wurde. Im Kupplungsschritt war das manchmal aber auch bei erfolgreichen Synthesen von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31a-d**, **59a,b** und **61a-c** aufgetreten. Nach der anschließenden Entschützung in essigsauerm Ethanol und chromatographischer Aufarbeitung konnte allerdings nicht das gewünschte Produkt **85** isoliert werden. Unter Aufhebung der cyclischen Struktur ist ein Molekül Ethanol an das Phosphoratom addiert worden, wobei die Phenylesterbindung gebrochen wurde (Abb. 75). Die Struktur des Produkts **88a** wurde NMR-spektroskopisch und massenspektrometrisch aufgeklärt. In Abb. 75 (nächste Seite) ist ein plausibler Mechanismus für die Entstehung von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** gezeigt. Bei der sauren Entschützung (die Formamidin-Schutzgruppe ist in Abb. 75 nicht abgebildet) kommt es offensichtlich zu einer Aktivierung der Maske durch Protonierung des phosphorgebundenen Stickstoffatoms, was zu einer Erhöhung der Elektrophilie des Phosphoratoms führt. Nun ist es anfällig für einen nucleophilen Angriff eines Lösungsmittelmoleküls. Es kommen nun zwei Austrittsgruppen in Frage: Zum einen die Aminogruppe und zum anderen Phenolat.

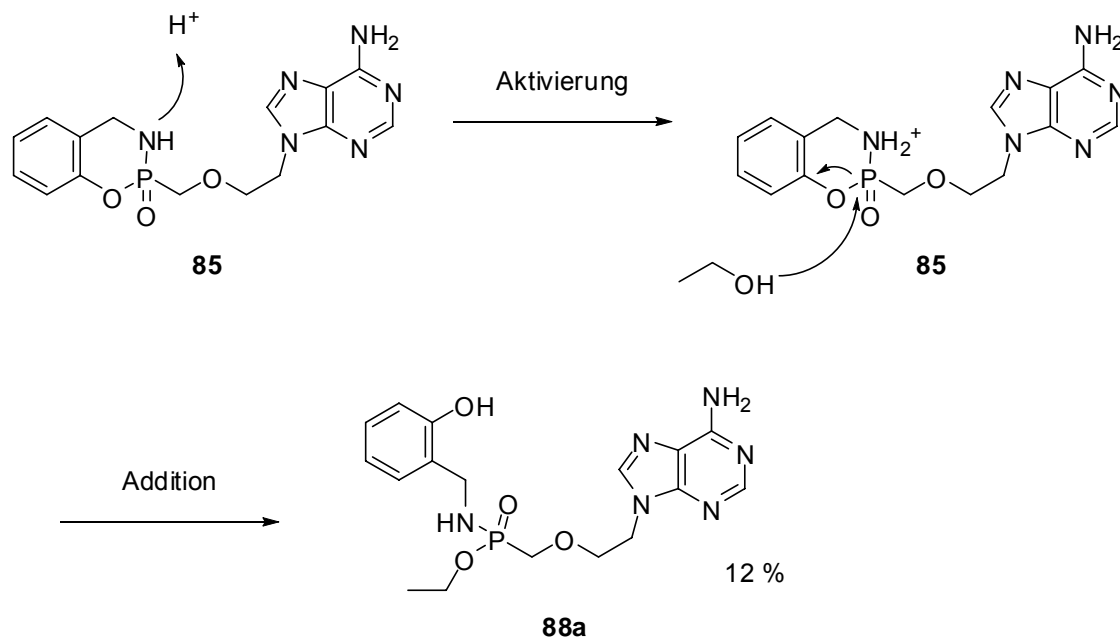


Abb. 75 Die mögliche Entstehung des Additionsprodukts **88a**

Dabei ist offensichtlich das Phenolat die Austrittsgruppe mit der höheren Fugazität, denn es konnte nur das eine Produkt **88a** in 12 % Ausbeute isoliert werden. Die Ausbeute ist im Vergleich mit den bisher durchgeführten Synthesen relativ niedrig, allerdings traten hier auch keine Nebenprodukte auf, die man chromatographisch an Kieselgel hätte isolieren können, so dass auch hier keine Aussage über eventuelle Nebenreaktionen gemacht werden kann.

Ein Mechanismus wie in Abb. 75 ließe sich auch für die *cycloAmb*-PMEA-Prodrug-Synthese formulieren. Hier kommt es aber nicht zum Bindungsbruch. Hier scheint einerseits die Basizität des phosphorgebundenen Stickstoffatoms nicht auszureichen, um protoniert zu werden. Die Elektronendichte am Stickstoffatom ist offensichtlich hier deutlich niedriger, da es direkt an ein aromatisches System gebunden ist. Andererseits wäre die Fugazität der Austrittsgruppe Benzylalkoholat deutlich geringer ausgeprägt als die des Phenolats. Diese Gründe führen offenbar dazu, dass die cyclische Struktur der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d**, **59a,b** und **61a-c** während der Entschützung unangetastet bleibt.

Mit diesem völlig überraschenden Ergebnis ergaben sich nun zwei Möglichkeiten. Es konnte versucht werden, die ursprünglich geplante Struktur **85** durch andere Synthesewege zugänglich zu machen. Dieser Gedanke wurde aber verworfen, da es sich bei der Zielverbindung **85** um eine äußerst labile Verbindung handelt, die immerhin schon in schwach essigsauerm Ethanol instabil ist. Viel interessanter erschien die

Option, die neu synthetisierte Verbindung **88a**, daraufhin zu untersuchen, ob sie als Prodrug genutzt werden kann. Es handelt sich immerhin um eine Verbindung, die deutlich lipophiler als PMEa **9** ist.

Zuerst wurde ^{31}P -NMR-spektroskopisch untersucht, ob 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEa **88a** in Phosphatpuffer (pH 7.3) überhaupt eine Reaktion zeigt. Abb. 76 zeigt den Hydrolyseverlauf.

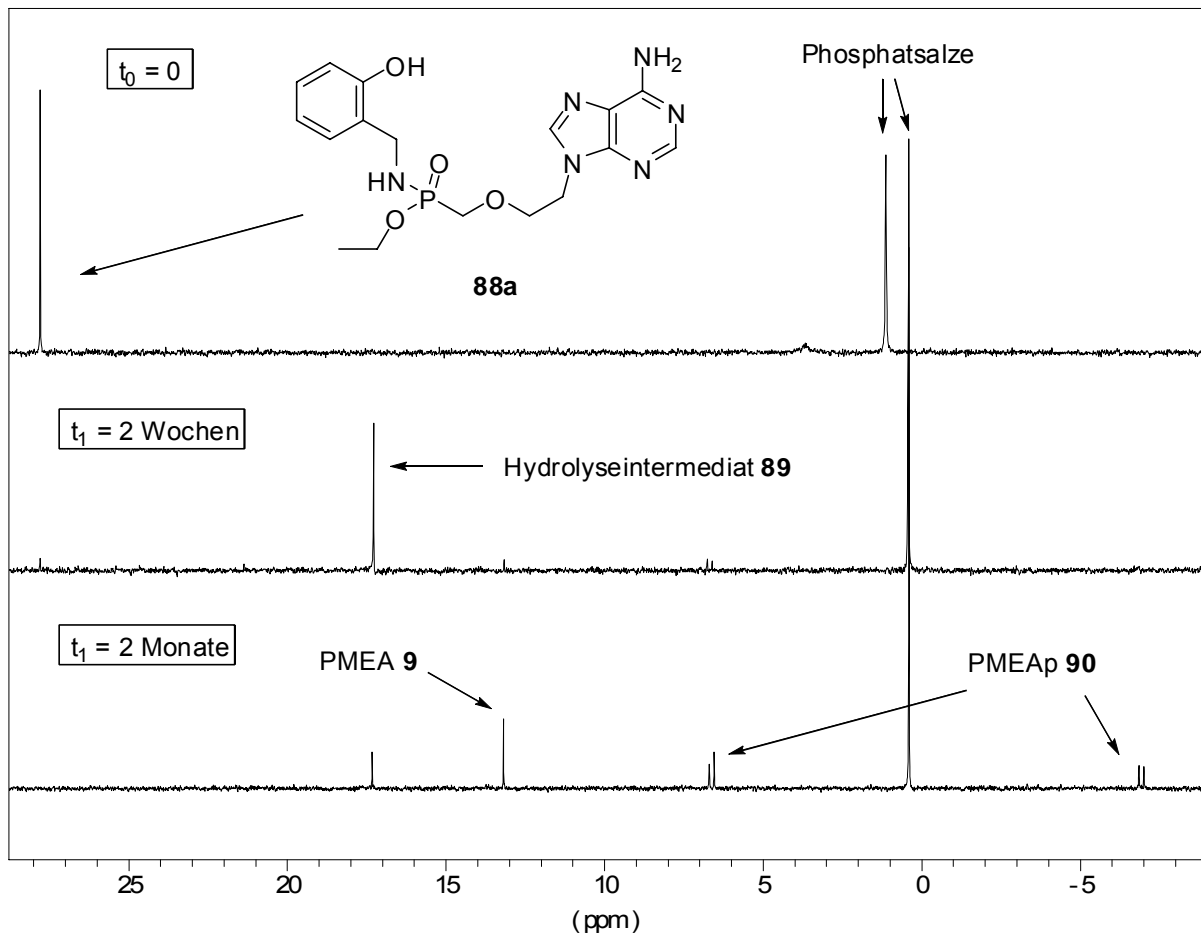


Abb. 76 Die Hydrolyse von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEa **88a**

Bei der Hydrolyseverfolgung ist deutlich zu beobachten, dass eine Reaktion auftritt. Nach zwei Wochen ist das Edukt **88a** vollständig zu einem Hydrolyseintermediat **89** zerfallen, das relativ stabil ist. Dieses ist nach 2 Monaten fast vollständig zu PMEa **9** zerfallen. Als Nebenreaktion war die Entstehung von PMEa-Phosphat (PMEAp) **90** zu beobachten, denn im ^1H -entkoppelten ^{31}P -NMR-Spektrum waren zwei Dubletts aufgetreten, eines bei ca. 7 ppm und eines bei ca. -7 ppm. Das Hydrolyseintermediat **89** ist also in der Lage selektiv PMEa **9** freizusetzen. Die Phosphatbildung ist hierbei

vernachlässigbar, da es sich hierbei um eine Besonderheit des verwendeten Puffersystems handelt. Das Bild der Hydrolyse ähnelt dem der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs: Es entsteht zuerst ein sehr stabiles Hydrolyseintermediat **57**, das langsam und selektiv PMEAs **9** freisetzt. Die Hydrolyse muss aber natürlich wegen der strukturellen Unterschiede nach einem anderen Mechanismus verlaufen. Das Hydrolyseintermediat **89** konnte leider nicht anhand des ^{31}P -NMR-Spektrums identifiziert werden, so dass mehrere Möglichkeiten des Hydrolysemechanismus zu untersuchen sind.

Möglicher Hydrolyseweg 1: Das 2-Hydroxybenzylamin **86a** wird durch Hydrolyse direkt substituiert, und der gebildete PMEAs-Monoethylester **89a** setzt langsam PMEAs **9** frei (Abb. 77).

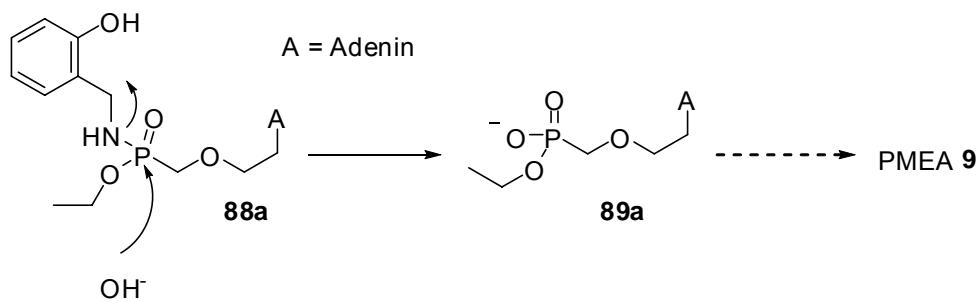


Abb. 77 Möglicher Hydrolyseweg 1

Dieser Hydrolyseweg ist allerdings unwahrscheinlich, da PMEAs-Monoethylester **89a** selbst in 0.5 molarer NaOH bei 80 °C stabil ist. Eine Hydrolyse von PMEAs-Monoethylester **89a** bei einem pH-Wert von 7.3 auch über Monate ist deshalb auszuschließen. Die negative Ladung der Phosphonateinheit erlaubt offensichtlich keinen weiteren nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom.

Möglicher Hydrolyseweg 2: Das Ethanolat wird durch Hydrolyse direkt substituiert, und das intermediäre Phosphonamidat **89b** setzt langsam PMEAs **9** frei (Abb. 78).

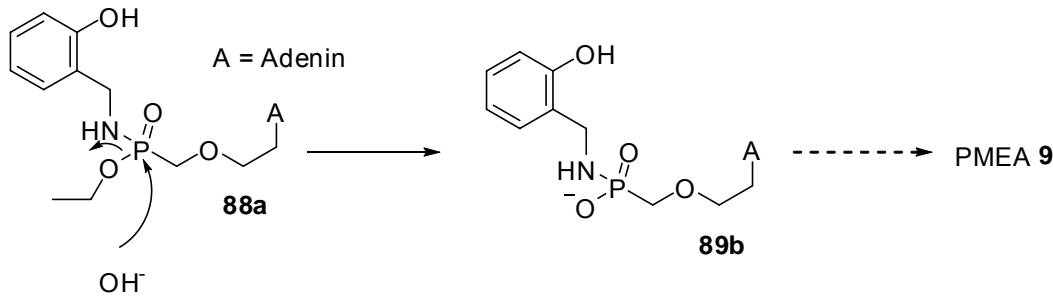


Abb. 78 Möglicher Hydrolyseweg 2

Dieser Hydrolyseweg verläuft ebenfalls über ein Hydrolyseintermediat **89** mit negativer Ladung. Möglicherweise kann hier aber eine weitere Hydrolyse erfolgen, vielleicht durch Protonierung des phosphorgebunden Stickstoffatoms, was eventuell die negative Ladung der Phosphonateinheit kompensieren kann.

Möglicher Hydrolyseweg 3: Die phenolische OH-Gruppe wird deprotoniert, und das Phenolat greift das Phosphoratom intramolekular an, wobei Ethanolat substituiert wird. Danach erfolgt ein Angriff eines Hydroxidions und Phenolat tritt aus (Abb. 79).

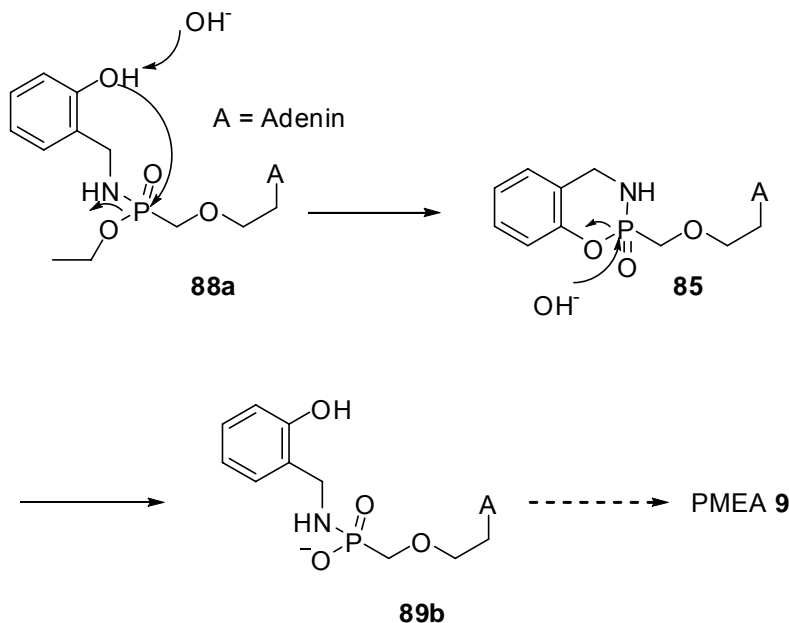


Abb. 79 Möglicher Hydrolyseweg 3

Bei diesem vorgeschlagenen Hydrolysemechanismus muss eines der Intermediate **85** oder **89b** so instabil sein, dass es im NMR-Spektrum nicht sichtbar ist. Das ist wahrscheinlich beim cyclischen Intermediat **85** der Fall, da dieses auch schon bei der

Synthese sehr instabil war. Intermediat **89b** wäre dann wieder sehr stabil und kann PMEa **9** wie beim Hydrolyseweg 2 freisetzen.

Ob nun Hydrolyseweg 2 oder 3 plausibler ist, kann anhand der Ergebnislage nicht beurteilt werden. Deshalb wurde nun zunächst die Eignung als Prodrug für die antivirale Anwendung getestet. Dafür wurde die Halbwertszeit des ersten Hydrolyseschritts von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** bestimmt. Sie liegt bei 83.5 h und ist verglichen mit den *cycloAmb*- **31a-d** und *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **30** sehr hoch. Eine solche Halbwertszeit ist eigentlich zu hoch für eine antivirale Prodrug-Anwendung. Dennoch wurde 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA (HbaE-PMEA) **88a** auf seine antiviralen Eigenschaften gegen HIV getestet (Tab. 9).

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
HbaE-PMEA 88a	8.0 ± 4.2	16.5 ± 6.5	206 ± 46.7	25.8
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

Tab. 9 Die antiviralen Daten von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a**

Das Ergebnis der antiviralen Untersuchung ist ziemlich überraschend. Trotz seiner hohen Halbwertszeit und der Hydrolyse über ein stabiles Hydrolyseintermediat **89** ist 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** etwas aktiver als PMEa **9**. Es ist damit auf Anhieb besser als alle bisher synthetisierten *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d**, **59a,b** und **61a-c**. Bemerkenswert ist, dass 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** eine mit PMEa **9** vergleichbare Aktivität aufweist, aber erheblich weniger cytotoxisch ist. Warum das so ist, bleibt wie bei den *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d**, **59a,b** und **61a-c** unklar. Da 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** über sehr interessante Eigenschaften verfügt, sollte diese Struktur optimiert werden. Dafür ist es unerlässlich, die hohe Halbwertszeit abzusenken. Soll bei einem herkömmlichen *cycloSal*-Prodrug die Halbwertszeit gesenkt werden, so führt man in der aromatischen Maske Akzeptorsubstituenten ein, was die Elektrophilie des Phosphoratoms und gleichzeitig die Fugazität des phenolischen Sauerstoffatoms erhöht. Diese Vorgehensweise kann bei 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** kaum erfolgreich sein, denn das Phosphoratom und der Aromat sind jetzt nicht mehr konjugiert. Trotzdem macht die

Einführung von Akzeptorsubstituenten am Aromaten vielleicht doch Sinn, wenn man den vorgeschlagenen Hydrolysemechanismus 3 (Abb. 79) betrachtet. Akzeptorsubstituenten würden die Azidität der phenolischen OH-Gruppe erhöhen, so dass der erste Hydrolyseschritt erleichtert wäre. Diesem Lösungsansatz sollte auf jeden Fall nachgegangen werden.

Aufgabe war deshalb die Synthese von 2-Hydroxybenzylaminen **86** mit Akzeptorsubstituenten. Kommerziell erhältlich waren 5-Chlor- **87b** und 5-Bromsalicylsäureamid **87c**, die mit BH_3 -THF-Komplex quantitativ zum Amin reduziert und als Hydrochloride isoliert werden konnten (Abb. 80).

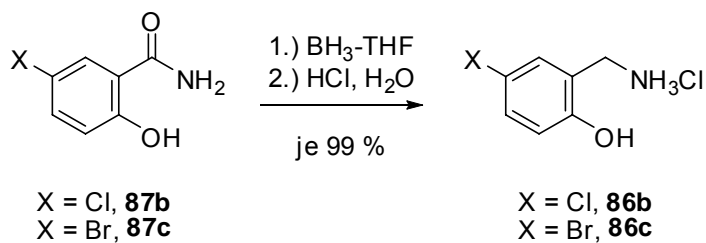


Abb. 80 Die Synthese von 5-Cl- bzw. 5-Br-2-hydroxybenzylaminhydrochloriden **86b,c**

Es sollten auch noch dihalogenierte Hydroxybenzylamine **86** dargestellt werden. Die entsprechenden Salicylsäureamide waren leider nicht kommerziell erhältlich, so dass alternative Synthesewege gefunden werden mussten. Stokker et al. beschreibt die Aminomethylierung von Phenolen.⁶³ Parasubstituierte Phenole können in konzentrierter Schwefelsäure mit 2-Chlor-*N*-(hydroxymethyl)acetamid amidomethyliert werden. Anschließend wird das Amid mit Salzsäure in Ethanol gespalten. Die Synthese gelang für die Darstellung von 3,5-Dichlor- **86d** und 3,5-Dibrom-2-hydroxybenzylaminhydrochlorid **86e** (Abb. 81).

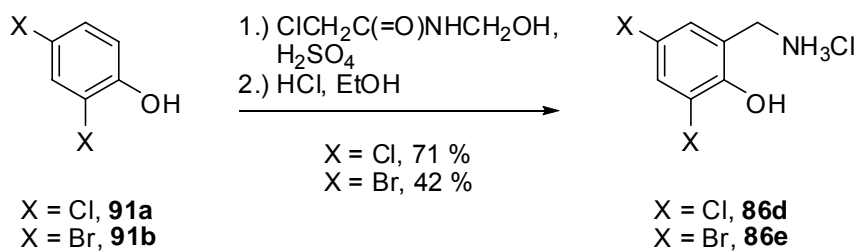


Abb. 81 Die Aminomethylierung der Phenole **91a,b**

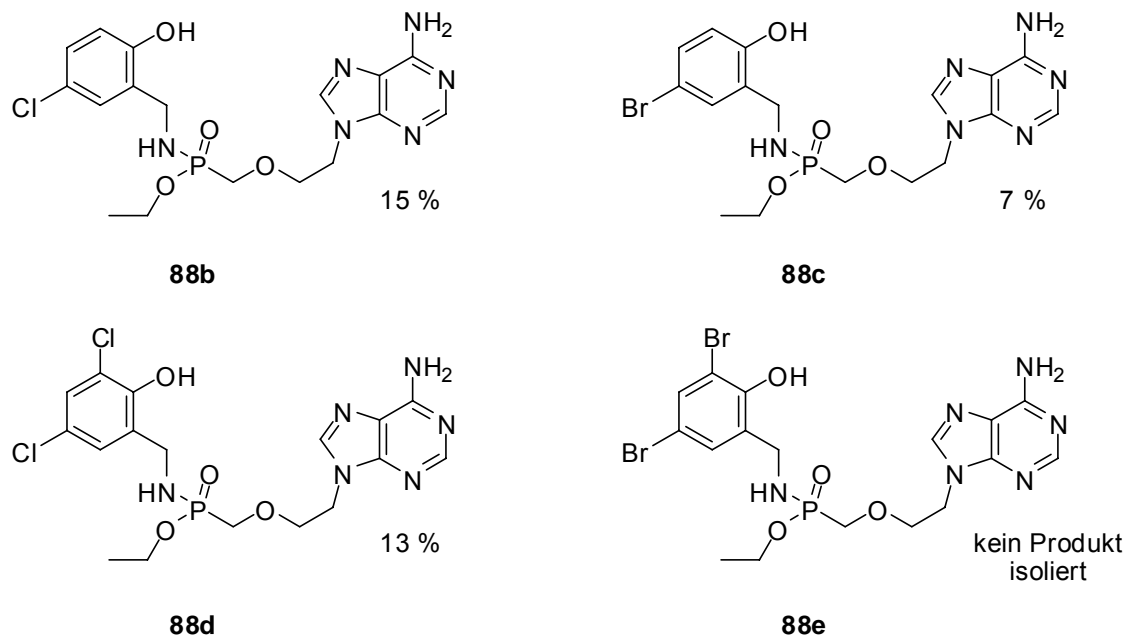


Abb. 83 Halogenierte HbaE-PMEA-Prodrugs **88b-e**

Die Ausbeuten waren ungefähr im Bereich der unsubstituierten Stammverbindung 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** (12 %). Bei den Synthesen machte sich bemerkbar, dass die halogenierten 2-Hydroxybenzylamine **86b-e** in Dichlormethan/DIPEA-Gemisch nur schlecht löslich waren. Am schlechtesten löslich waren die bromierten 2-Hydroxybenzylamine **86c,e**. Hier wurden die schlechtesten Ausbeuten erzielt (7 % für Prodrug **88c**), bzw. konnte eines überhaupt nicht dargestellt werden (Prodrug **88e**). Von den isolierten Prodrugs wurden zunächst die Halbwertszeiten bestimmt und mit der von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** verglichen (Abb. 84).

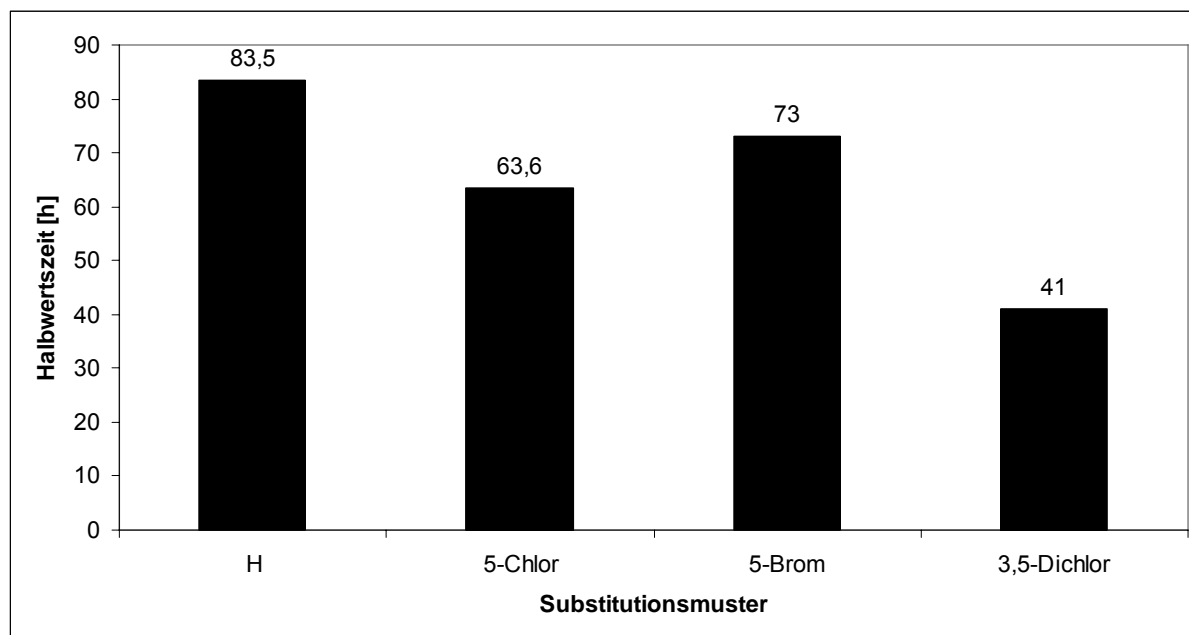


Abb. 84 Die Halbwertszeiten der HbaE-PMEA-Prodrugs **88a-d**

Aus Abb. 84 ist deutlich abzuleiten, dass mit Akzeptorsubstituenten die Halbwertszeit der HbaE-PMEA-Prodrugs **88** signifikant gesenkt werden kann. Das deutet stark darauf hin, dass der Hydrolyseweg 3 (Abb. 79) wahrscheinlich auch dem tatsächlichen Mechanismus entspricht, da hier die Azidität der phenolischen OH-Gruppe entscheidend ist. Ein endgültiger Beweis liegt mit diesem Ergebnis noch nicht vor. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Substituenten am Aromaten einen Einfluss auf die Elektrophilie des Phosphoratoms hat. Eine solche Beeinflussung würde nur über die Benzyl-CH₂-Gruppe erfolgen. Das ist aber unwahrscheinlich, da die chemische Verschiebung der Benzyl-CH₂-Gruppe in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren unabhängig von der aromatischen Substitution sind. Auch im ³¹P-NMR-Spektrum sind kaum Unterschiede zu erkennen. Die Hydrolyse der labileren Prodrugs **88b-d** wurde ebenfalls in Phosphatpuffer (pH 7.3) mit ³¹P-NMR-Spektroskopie verfolgt. Eine Veränderung des Hydrolyseverhaltens konnte durch die geringeren Halbwertszeiten nicht beobachtet werden. Die Spektren entsprechen denen aus Abb. 76 (S. 77). Welchen Einfluss die verringerten Halbwertszeiten nun auf die antiviralen Eigenschaften der Verbindungen haben, zeigt Tab. 10.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]	SI ^c (HIV-1)
	HIV-1	HIV-2		
H 88a	8.0 ± 4.2	16.5 ± 6.5	206 ± 46.7	25.8
5-Chlor 88b	8.3 ± 5.1	13.8 ± 9.5	94 ± 17.7	11.3
5-Brom 88c	9.6 ± 7.0	12.0 ± 2.9	95 ± 2.1	9.9
3,5-Dichlor 88d	3.6 ± 2.0	>10	65.8 ± 36.4	18.3
PMEA 9	10 ± 6.4	10 ± 0.0	50 ± 13	5.0

Tab. 10 Die antiviralen Daten der HbaE-PMEA-Prodrugs **88a-d**

Die Verringerung der Halbwertszeit um 10 - 20 h gegenüber der unsubstituierten Stammverbindung 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** durch Monohalogenierung führt noch nicht zu einer Verbesserung der antiviralen Daten. Lediglich gegenüber HIV-2 ist eine etwas erhöhte Aktivität zu verzeichnen. Die Verwendung von halogenierten Aromaten wirkt sich allerdings erheblich auf die Cytotoxizitäten aus, die sich etwa verdoppeln. Eine signifikante Verbesserung der antiviralen Daten erbrachte erst die Dihalogenierung. 3,5-Dichlor-2-hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88d** ist gegen HIV-1 etwa doppelt so aktiv wie 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA **88a** und PMEa **9**. Die Cytotoxizität steigt aber noch einmal gegenüber den monohalogenierten HbaE-PMEA-Prodrugs **88b,c** an. Diese Ergebnisse legen nahe, die Halbwertszeit weiter zu senken und das am besten ohne die Verwendung von Halogenen, die eine erhebliche Steigerung der Cytotoxizität bewirken. Deshalb sollte erneut die Darstellung der nitrierten 2-Hydroxybenzylamine **86f,g** angestrebt werden, allerdings auf anderem Wege als bisher versucht. Die neue Synthesestrategie ist in Abb. 85 gezeigt.

R = H **88f** oder NO₂ **88g**

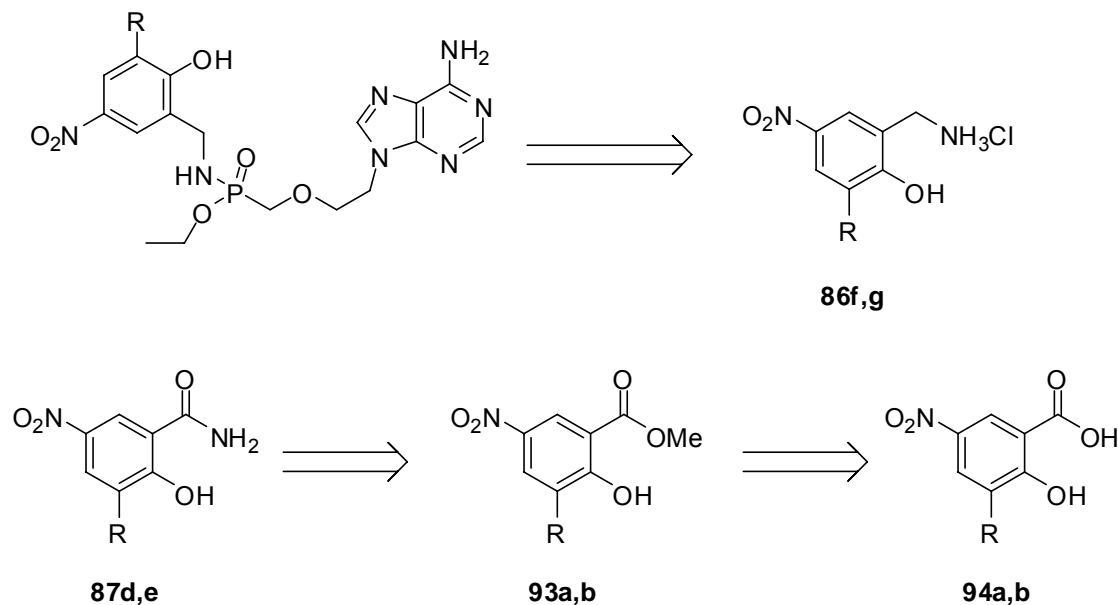


Abb. 85 Synthesestrategie für nitririerte HbaE-PMEA-Prodrugs **88f,g**

Aus 5-Nitrosalicylsäure **94a** und 3,5-Dinitrosalicylsäure **94b** sollten die Methylester **93a,b** dargestellt werden. Diese sollten dann zu den Salicylsäureamiden **87d,e** umgesetzt, danach reduziert und als Hydrochloride **86f,g** isoliert werden.

Die Darstellung der Methylester **93a,b** gelang ohne Probleme in guten Ausbeuten (Abb. 86).

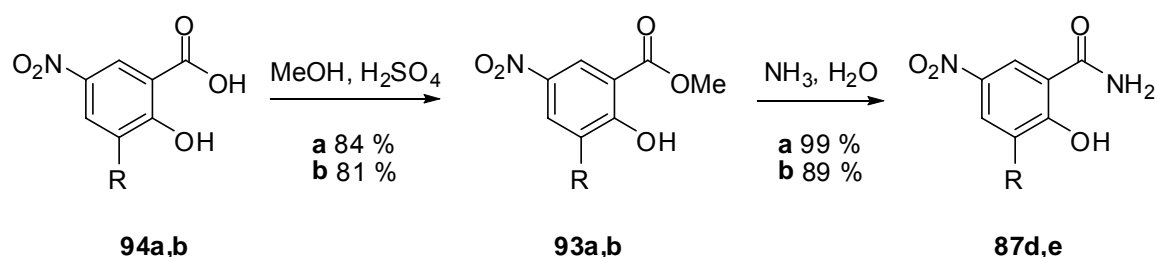


Abb. 86 Die Synthese der nitririerten Salicylsäureamide **87d,e**

Auch die Überführung in die Salicylsäureamide **87d,e** durch Umsetzung der Methylester **93a,b** mit konzentrierter Ammoniaklösung verlief hervorragend. Die Salicylsäureamide **87d,e** sollten dann durch Reduktion mit BH₃-THF-Komplex in die entsprechenden 2-Hydroxybenzylamine **86f,g** überführt werden, was bei den bisher verwendeten Salicylsäureamiden in hohen Ausbeuten verlief. Die analog durchgeführte Synthese führte hier allerdings nicht zum Erfolg (Abb. 87).

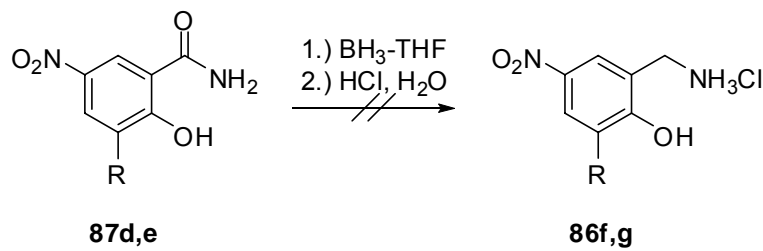


Abb. 87 Versuch der Darstellung der nitrierten Hydroxybenzylamin Hydrochloride **86f,g**

Der Grund für das Scheitern der Synthese besteht ganz offensichtlich darin, dass die Nitrogruppen unter diesen reduktiven Bedingungen Reaktionen eingehen. Massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Befunde deuten auf eine teilweise Reduktion der Nitrogruppen zu Nitrosogruppen hin. Daraufhin wurden Reaktionen mit weniger Äquivalenten BH_3 (2 statt 5 Äquiv.) durchgeführt. Aber auch hier konnten die gewünschten Produkte nicht isoliert werden.

An dieser Stelle wurde nicht weiter versucht, die nitrierten 2-Hydroxybenzylamine **86f,g** darzustellen, weil offensichtlich erheblich aufwendigere Synthesen entwickelt werden mussten. Die Entdeckung eines völlig neuen Prodrugkonzeptes reichte in diesem Kapitel als Ergebnis, da noch weitere Aufgaben bearbeitet werden sollten.

4.3 Die Synthese und Charakterisierung von PMPA-Prodrugs

Die Entwicklung von *cycloAmb*- und *cycloSal*-Nucleosidphosphonatprodrugs wurde bisher nur mit PMEA **9** durchgeführt, weil es bequem zu synthetisieren ist und deshalb in großer Menge vorhanden war. Außerdem ist das Molekül achiral, was für die NMR-Spektroskopie eine Vereinfachung bedeutet, weil die gebildeten Prodrugs als Racemate vorliegen und nicht als Diastereomergemische. So liegen die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs als Racemate und die benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs mit chiraler racemischer Maske als Gemische von Stereoisomeren vor. Wird PMPA **10** maskiert, so ergibt sich mit der Chiralität der Verbindung ein komplizierteres Bild: *cycloAmb*-PMPA-Prodrugs **95** lägen als Gemische von zwei Diastereomeren und benzylsubstituierte *cycloSal*-PMPA-Prodrugs **96** als Gemische von vier Diastereomeren vor. In diesem Kapitel soll untersucht werden, ob sich die für PMEA-Prodrugs entwickelte Synthese auf das strukturell sehr ähnliche PMPA **10** übertragen lässt und welche Eigenschaften die PMPA-Prodrugs besitzen.

Exemplarisch sollten je ein *cycloAmb*- und ein benzylsubstituiertes *cycloSal*-PMPA-Derivat synthetisiert und untersucht werden. Für die *cycloAmb*-Verbindung wurde unsubstituierter 2-Aminobenzylalkohol **52a** gewählt. Für die *cycloSal*-Verbindung wurde 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** verwendet, da diese Maske für das bisher potenteste *cycloSal*-PMEA-Prodrug **74a** verantwortlich ist. Die Synthese beider Verbindungen wurde unter Standardbedingungen durchgeführt, wie sie auch bei den *cycloAmb*- **31a-d**, **59a,b**, **61a-c** und benzylsubstituierten *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d**, **76a-d** erfolgreich genutzt wurden. Beide Zielverbindungen **95**, **96** konnten erfolgreich dargestellt werden (Abb. 88).

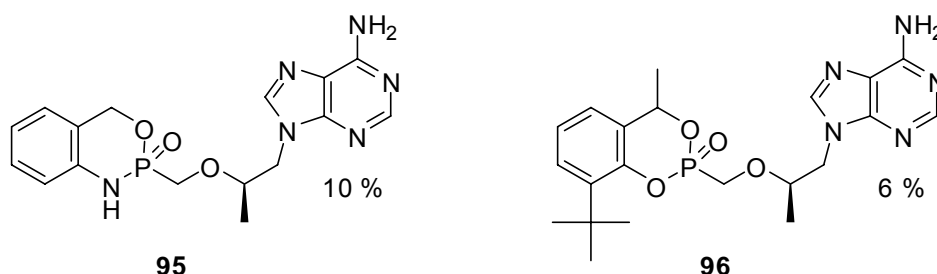


Abb. 88 Die PMPA-Prodrugs **95**, **96**

cycloAmb-PMPA **95** konnte in einer Ausbeute von 10 %, 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96** in 6 % Ausbeute isoliert werden. Diese beiden exemplarischen Ausbeuten liegen im Schnitt unter denen vergleichbarer *cycloAmb*- bzw. *cycloSal*-PMEA-Prodrugs, allerdings wurde gezeigt, dass eine Synthese von *cycloAmb*- **95** bzw. *cycloSal*-PMPA-Prodrugs **96** unter Standardbedingungen generell möglich ist.

cycloAmb-PMPA **95** wurde als untrennbares Diastereomerengemisch im Verhältnis 1 : 1 dargestellt. Die Methylgruppe in 2'-Position der Phosphonateinheit hat unter diesen Reaktionsbedingungen also keine Auswirkung auf das sich formierende Stereozentrum am Phosphoratom. Das war auch schon bei den *cycloSal*-PMPA-Prodrugs **97** aufgetreten, die Christan Müller untersucht hatte. Er synthetisierte 3-*tert*-Butyl- **97a** und 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMPA **97b**, allerdings durch direkte Kondensation mit MSNT (Mesitylensulfonyl-3-nitrotriazol). Beide Verbindungen lagen auch bei der Synthesemethode als Diastereomerengemische im Verhältnis 1 : 1 vor. Die Eigenschaften von *cycloAmb*-PMPA **95** entsprechen denen der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs. Die Hydrolyse verläuft ebenfalls über ein sehr stabiles Hydrolyseintermediat **57** (Abb. 38, S. 38) und es wird nur sehr langsam das Phosphonat **10** freigesetzt. Auch die antiviralen Daten sind schlechter als die von PMPA **10** (Tab. 11).

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		CC ₅₀ ^b [μM]
	HIV-1	HIV-2	
<i>cycloAmb</i> -PMPA 95	15 ± 0.0	10 ± 0.0	>250
3- <i>t</i> -Bu-7-Me- <i>cycloSal</i> -PMPA 96	1.3 ± 0.0	2.7 ± 0.9	62 ± 9.9
PMPA 10	5.0 ± 1.4	2.5 ± 0.7	>250

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation; ^b50 % cytotoxische Konzentration; ^cQuotient aus CC₅₀ und EC₅₀ (HIV-1)

Tab. 11 Die antiviralen Daten von PMPA **10** und *cycloAmb*- **95** und 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96**

Die Eigenschaften von *cycloAmb*-PMPA **95** entsprechen damit denen der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs und auf weitere Synthesen von *cycloAmb*-PMPA-Prodrugs wurde verzichtet. 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96** zeigt ca. fünffach stärkere Aktivität

gegenüber HIV als PMPA **10** selbst. Das ist ein weiterer Beleg für die Eignung der benzylsubstituierten Salicylalkohole **71** als Masken für Nucleosidphosphonate.

Bei der Darstellung von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96** wurde ein Diastereomerenmischungsverhältnis erwartet. Die Methylgruppe in der 2'-Position der Phosphonateinheit zeigte bei den bisherigen Synthesen von *cycloAmb*- **95** und 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96** keinen Einfluss auf die Diastereomerenverhältnisse. Die Methylgruppe in der Benzylposition von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a** bewirkte dagegen ein Diastereomerenverhältnis von 1 : 0.3. Deshalb wurde für 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96** ein Diastereomerenverhältnis von 1 : 1 : 0.3 : 0.3 vorhergesagt. Abb. 89 zeigt das ^1H -entkoppelte ^{31}P -NMR-Spektrum des Diastereomerenmischungsverhältnisses.

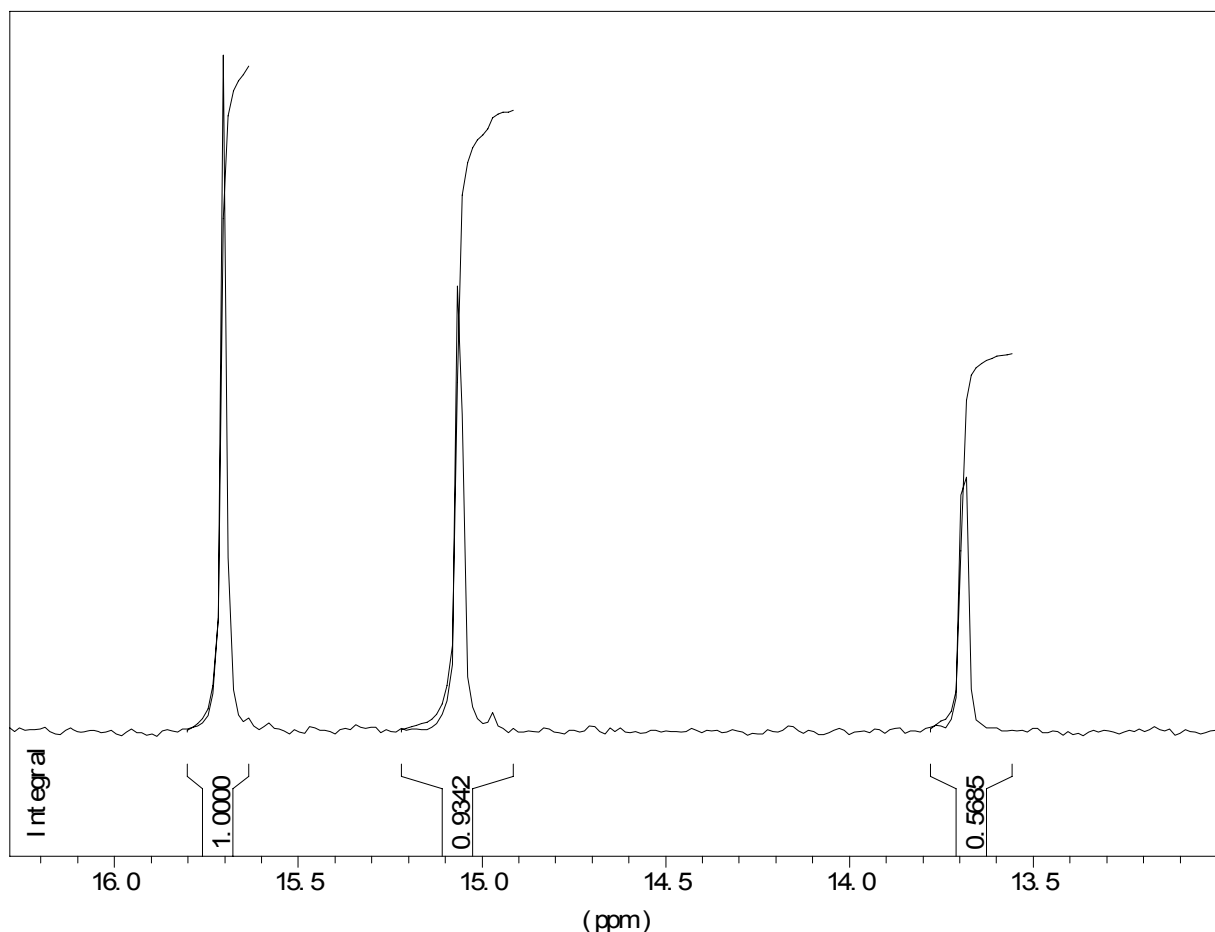


Abb. 89 ^{31}P -NMR-Spektrum von 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMPA **96**

Aus dem NMR-Spektrum ergibt sich ein Diastereomerenverhältnis von 1 : 0.9 : 0.6. Das entspricht zunächst nicht dem erwarteten Ergebnis. Allerdings fällt bei der Betrachtung

des Signals mit dem Integral 0.6 auf, dass es mit zunehmender Höhe breiter ist als die beiden anderen. Deshalb ist zu vermuten, dass zwei Diastereomere in einem Signal zusammengefallen sind. Dann würde die gemessene Diastereomerenverteilung der experimentellen ungefähr entsprechen. Das ^1H -NMR-Spektrum kann leider zu einer Aufklärung der Diastereomerenverhältnisse nicht verwendet werden.

4.4 Die Synthese und Charakterisierung von HPMP-Produkten

4.4.1 Die Synthese von HPMP-Diethylester **98**

Der Diethylester von HPMP **11** ist eine wichtige Verbindung für die Versuche der Prodrugsynthese. Die Synthese ist literaturbekannt. Bronson et al. bauen HPMP-Diethylester **98** in einer aufwendigen fünfstufigen Synthese aus (*S*)-2,3-Isopropylidenglycerol **99** auf. Diese Synthese schien ungeeignet für die Darstellung größerer Mengen an Produkt **98**. Die Firma Bristol-Myers Squibb hat dagegen eine einfachere Synthese von HPMP **11** entwickelt.⁶⁴ Dabei wird die Zielstruktur **11** aus (*R*)-Glycidol **100** aufgebaut. Mit einer Kombination beider Syntheseansätze ist eine dreistufige Synthese von HPMP-Diethylester **98** möglich (Abb. 90).

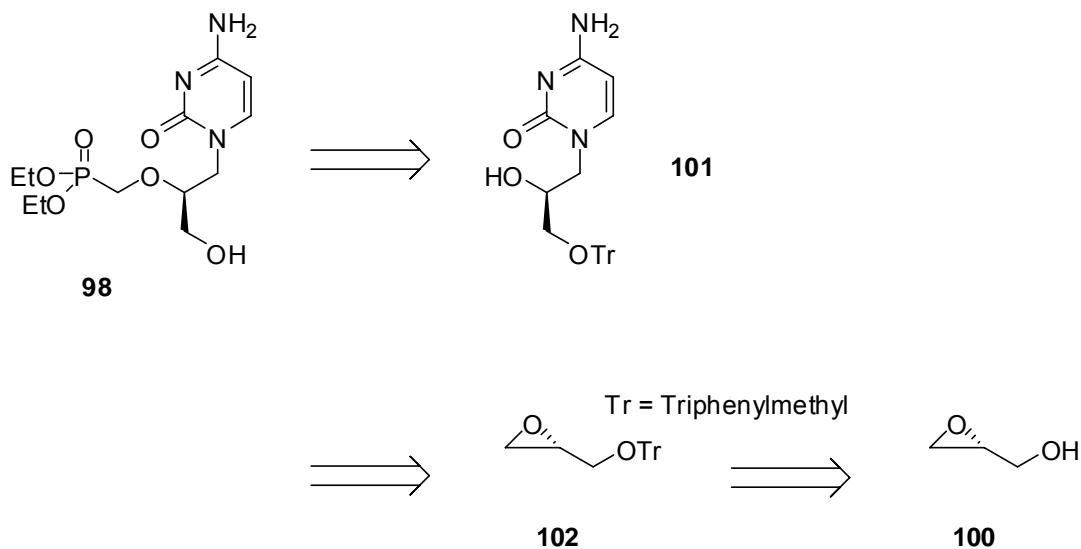


Abb. 90 Retrosynthese für HPMP-Diethylester **98**

Da in der Veröffentlichung der Firma Bristol-Myers Squibb keine experimentellen Daten angegeben sind, mussten wesentliche Syntheseschritte selbst erarbeitet werden. Die Trityl-Schützung von (*R*)-Glycidol **100** gelang in einer Ausbeute von 70 % (Abb. 91).

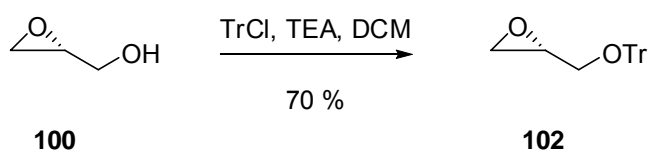


Abb. 91 Die Tritylierung von (*R*)-Glycidol **100**

Für eine Tritylierung ist das eine eher geringe Ausbeute. Eine vergleichbare Literaturausbeute gibt es leider nicht, da die Synthesevorschrift aus einer Veröffentlichung stammt, in der die Tritylierung nur der letzte Teil einer Eintopfsynthese ist.⁶⁵ Da die Ausbeute von 70 % reproduzierbar war, wurden hier keine weiteren Anstrengungen unternommen, sie zu verbessern. Das (*R*)-Tritylgycolid **102** wurde dann mit der Nucleobase Cytosin **103** unter basischen Bedingungen geöffnet. Dabei sollte zunächst eine katalytische Menge Natriumhydrid in DMF verwendet werden.⁶⁶ Auf diese Weise wurde (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** laut Literatur in einer Ausbeute von 82 % dargestellt. In eigenen Versuchen konnte nur eine Ausbeute von 10 - 20 % erreicht werden. Dieses schlechte Ergebnis ist schwierig zu erklären, da experimentelle Daten in der Literatur nicht angegeben sind. Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion wurde immer wieder beobachtet, dass das (*R*)-Tritylgycolid **102** nicht vollständig abreagiert. Deshalb wurden zum Deprotieren des Cytosins **103** 1.1 Äquivalente Natriumhydrid verwendet. Dabei konnte (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** immerhin in einer Ausbeute von 57 % isoliert werden (Abb. 92).

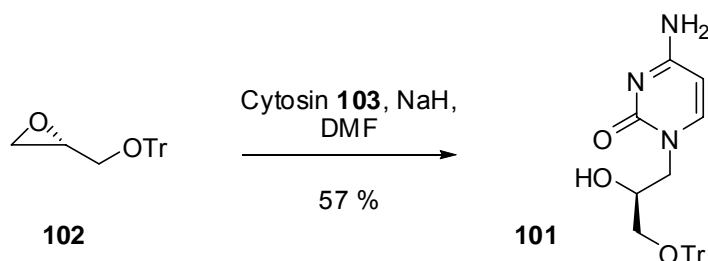


Abb. 92 Die Synthese von (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101**

Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion konnte eine Vielzahl von Nebenprodukten beobachtet werden. Aufgrund der Unübersichtlichkeit wurde keines von ihnen isoliert. Deshalb ist unklar, ob möglicherweise *O*-2- oder *N*-4-Alkylierungen aufgetreten sind. Mit der erfolgreichen Synthese von (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** in zwei Stufen bestand nun die Möglichkeit, HPMPC-Diethylester **98** nach Bronson darzustellen. Die exocyclische NH₂-Gruppe wurde zunächst formamidin-geschützt. Die Schützung wurde mit DMF-Dimethylacetal in DMF durchgeführt (Abb. 93).

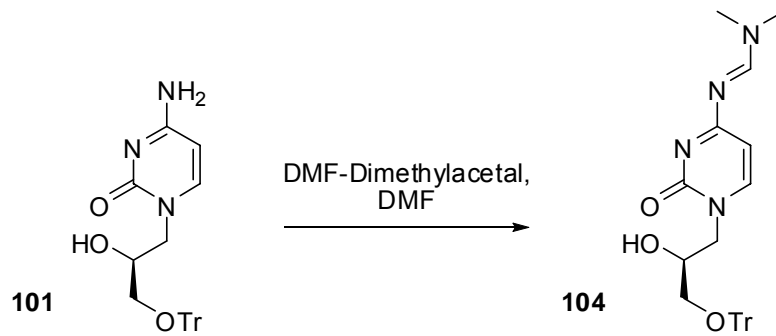


Abb. 93 Formamidinschätzung von Verbindung **101**

Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Bei der Verwendung von 2 Äquivalenten DMF-Dimethylacetal wurde das Edukt stets vollständig umgesetzt, ohne dass die Bildung von Nebenprodukten beobachtet werden konnte. Es handelt sich also um eine sehr elegante und einfache Einführung einer Schutzgruppe. Zur weiteren Verarbeitung des geschützten Zwischenprodukts **104** wurde lediglich das Lösungsmittel und überschüssiges Acetal im Vakuum entfernt.

Der Rückstand wurde erneut in DMF aufgenommen und die Phosphonatübertragung wie bei der Synthese von PMPA **10** durchgeführt (Kapitel 4.1.3, S. 25).

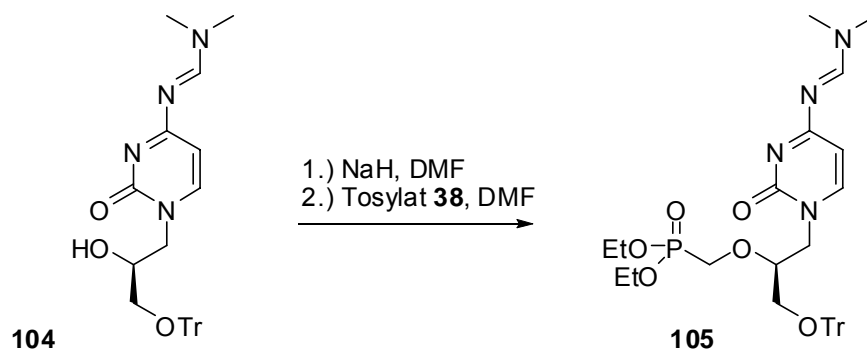


Abb. 94 Die Phosphonatübertragung

Nach wässriger Aufarbeitung erfolgte die Entschätzung von Zwischenverbindung **105**. Laut Literatur wurde 3 h bei 90 °C in 80 %iger Essigsäure entschätzt. Über die drei Schritte Schätzung, Phosphonatübertragung und Entschätzung seien dabei 64 % Ausbeute erzielt worden. Die Entschätzung wurde wie in der Literaturvorschrift durchgeführt, es wurde aber nur eine Ausbeute von 31 % erzielt (Abb. 95).

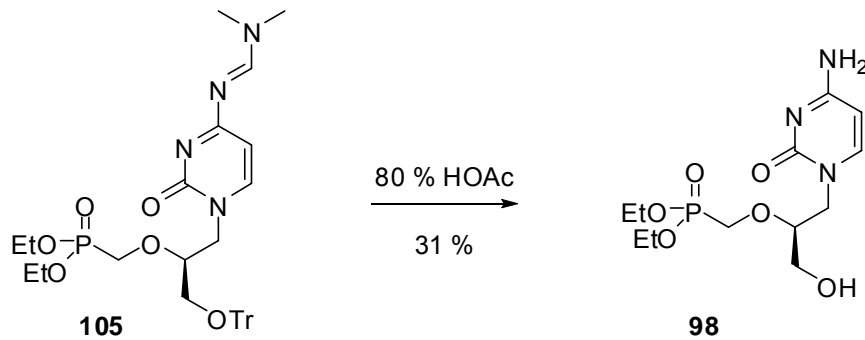


Abb. 95 Die Entschützung von Zwischenverbindung **105**

Die niedrige Ausbeute in der letzten Stufe der Synthese von HPMPC-Diethylester **98** ist natürlich von erheblichem Nachteil. Deshalb sollte überprüft werden, bei welchem Teilschritt der Ausbeuteverlust auftrat. Der erste Schritt der Schützung sollte unproblematisch sein, was die dünnschichtchromatographische Analyse ergeben hatte. Ist also die Phosphonatübertragung problematisch oder sind die Entschützungsbedingungen zu harsch? Um diese Frage zu klären, wäre es nötig, das vollgeschützte Zwischenprodukt **105** zu isolieren, um die Ausbeute ermitteln. Darauf wurde aber verzichtet, weil unklar ist, wie stabil die Formamidinschutzgruppe ist. Tritt während der chromatographischen Reinigung Entschützung auf, würde sich die Isolierung des Produkts erheblich erschweren und ein Produktgemisch hätte wenig Aussagekraft. Deshalb sollte das vollgeschützte Zwischenprodukt **105** teilentschützt werden. Es sollte O-tritylierte HPMPC-Diethylester **106** ohne Schutzgruppe an der Cytosin-NH₂-Gruppe dargestellt werden. Dazu wurde das vollgeschützte Zwischenprodukt mit Ethanol/Essigsäure 19:1 behandelt. Das ist die Standardentschützung für die Formamidinschutzgruppe bei der Standardsynthese der *cyclo*Amb-**31a-d**, **59a,b**, **61a-c** und *cyclo*Sal-PMEA-Prodrugs **74a-d**, **76a-d**. Die säurelabile Tritylschutzgruppe sollte unter diesen milden Bedingungen noch stabil sein. Der O-Trityl-HPMPC-Diethylester **106** konnte auf diese Weise in einer Ausbeute von 76 % isoliert werden (Abb. 96).

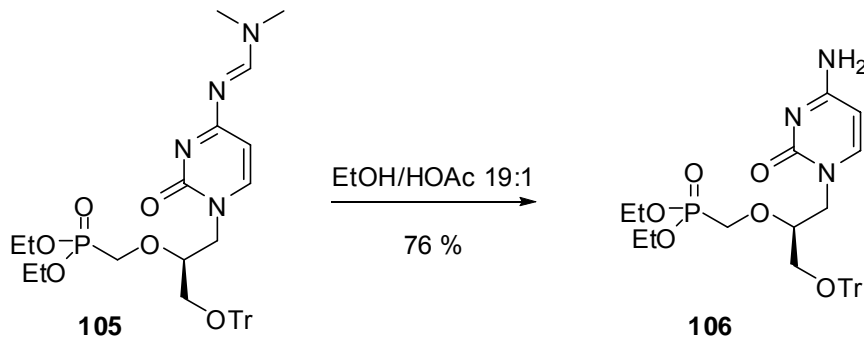


Abb. 96 Die Synthese von O-Trityl-HPMPC-Diethylester **105**

Damit konnte gezeigt werden, dass der Ausbeuteverlust der vorangegangenen Synthese bei der Entschützung auftrat und nicht bei der Phosphonatübertragung. Aus diesem Grund sollten die Entschützungsbedingungen überarbeitet werden. Als Säure sollte nun Trifluoressigsäure verwendet werden. Sie ist wesentlich stärker als Essigsäure und kann so in geringerer Konzentration bei niedrigerer Temperatur eingesetzt werden. Als Lösungsmittel wurde Dichlormethan/Methanol 7:3 verwendet. Es wurden 15 % (Volumen) an Trifluoressigsäure zugesetzt und 2 h zum Sieden erhitzt. Mit dieser veränderten Entschützung konnte HPMPC-Diethylester **98** als Trifluoracetat in 90 % Ausbeute dargestellt werden (Abb. 97).

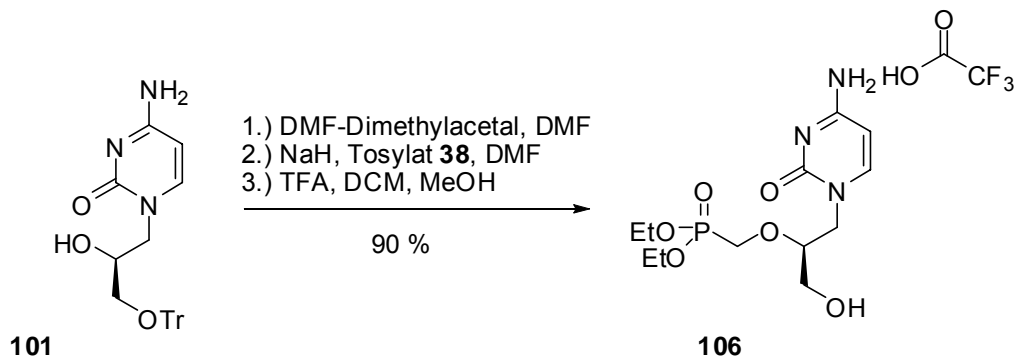


Abb. 97 Synthese von HPMPC-Diethylester **106** mit verbessertem Entschützungsschritt

Mit dieser Synthese konnte HPMPC-Diethylester **98** in nur drei Stufen in 36 % Ausbeute über alle Stufen dargestellt werden. In dieser Syntheseroute sind alle Synthesebausteine vorhanden, mit denen später die Darstellungsversuche von HPMPC-Prodrugs durchgeführt wurden.

4.4.2 Versuch der Synthese von *cyclo*Amb-HPMPC-Prodrugs nach der Müllermethode

Christian Müller synthetisierte in seiner Dissertation erstmals eine *cyclo*Sal-HPMPC-Verbindung **107a** (Abb. 98).

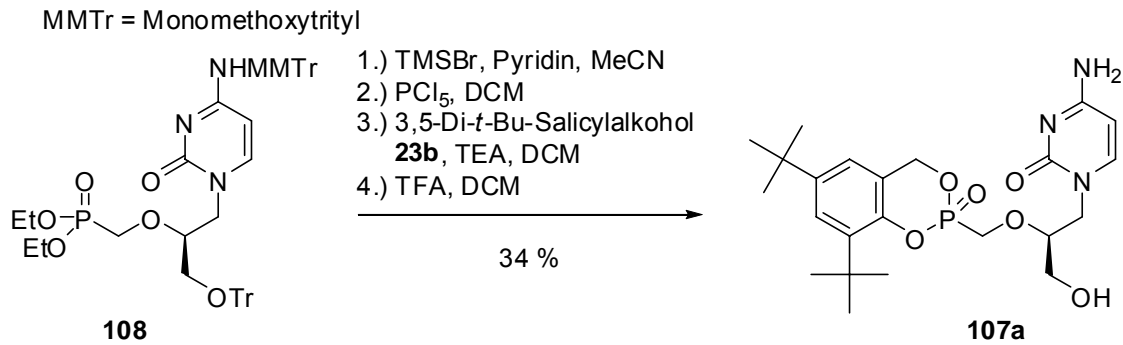


Abb. 98 Die Synthese von 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-HPMPC **107**

Die Verbindung stellte sich als äußerst labil heraus, da die freie Hydroxygruppe dazu neigte, das Phosphoratom nucleophil anzugreifen. Dieser Angriff konnte bereits in deuteriertem DMSO-*d*₆ in einer NMR-Probe beobachtet werden. Dabei wird cyclisches HPMPC (cHPMPC) **109** gebildet (Abb. 99).

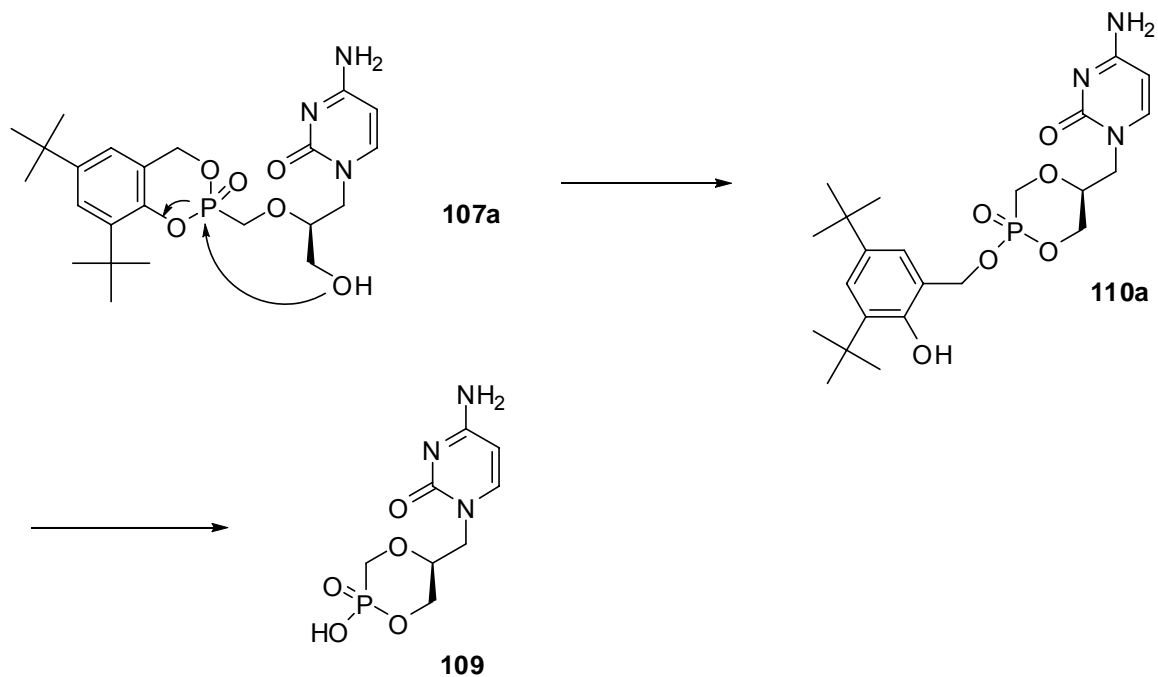


Abb. 99 Der Zerfall von 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-HPMPC **107** zu cHPMPC **109**

cycloSal-HPMPC-Verbindungen **107** mit freier OH-Gruppe sind damit viel zu labil, um als Prodrugs eingesetzt zu werden. Deshalb sollten HPMPC-Prodrugs synthetisiert werden, deren OH-Gruppen durch biologisch abspaltbare Gruppen versehen sind. Hierfür eignen sich Ester, die durch Carboxyesterasen gespalten werden können. Die Konzentration von Carboxyesterasen ist im Zellinneren deutlich höher als im extrazellulären Medium,⁶⁷ wodurch die Möglichkeit besteht, die Prodrugs **32** selektiv an ihrem Wirkort zu aktivieren (Abb. 100).

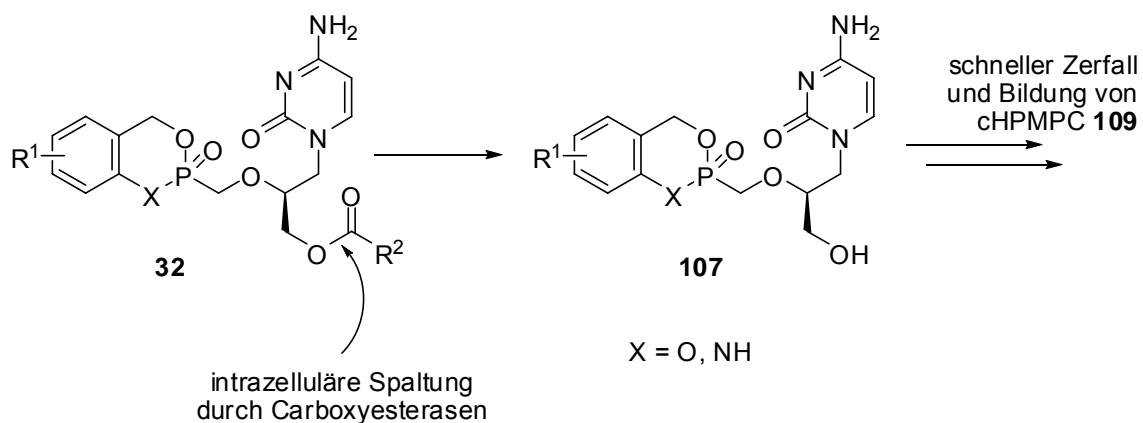


Abb. 100 Die Aktivierung von O-acylierten HPMPC-Prodrugs **32**

Bei der Ausarbeitung einer Synthesestrategie für die O-acylierten HPMPC-Prodrugs ergeben sich mehrere Schwierigkeiten. Wird nach der Müller-Methode vorgegangen, so wird während der Synthese mit einem Zwischenprodukt **107** gearbeitet, dessen OH-Gruppe frei ist. Als Maske sollte deshalb zunächst 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** verwendet werden, da mit diesem das stabilste *cycloAmb*-PMEA-Prodrug **31b** synthetisiert wurde. Soll das Zwischenprodukt **107b** selektiv an der OH-Gruppe acyliert werden, so muss die Cytosin-NH₂-Gruppe geschützt werden, da sie ansonsten ein potentes Konkurrenz-nucleophil darstellt. Als Schutzgruppe sollte erneut Formamidin zum Einsatz kommen, da sie NH₂-selektiv ist und unter milden Bedingungen abspaltbar ist. In Abb. 101 ist die Synthesestrategie dargestellt.

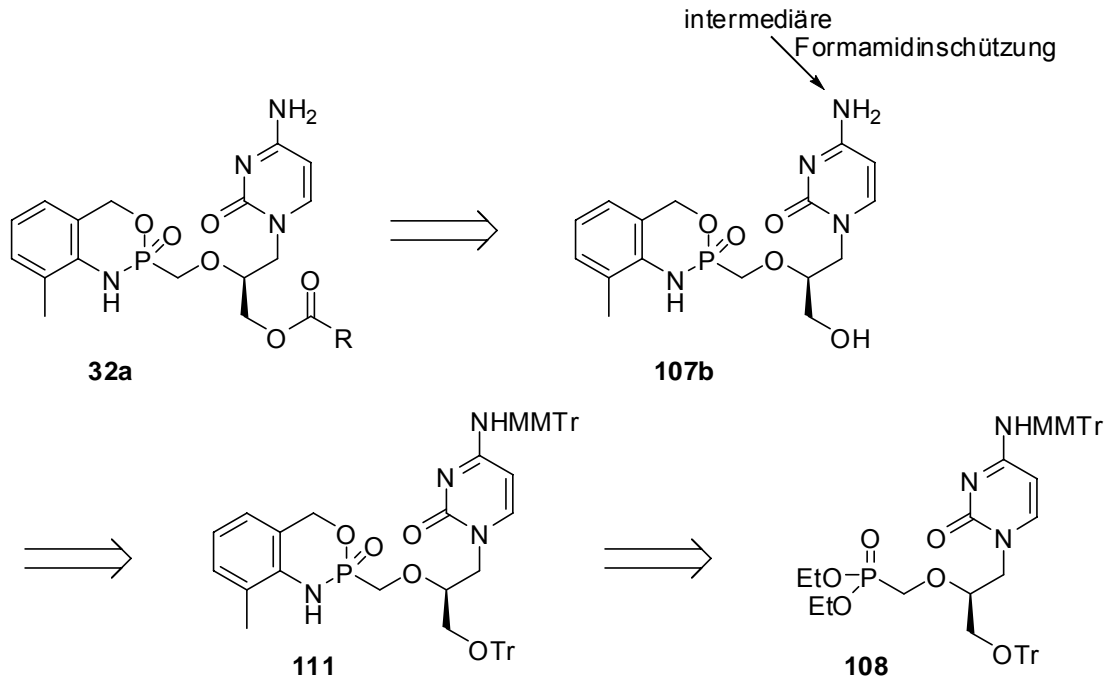


Abb. 101 Die Synthesestrategie für O-acylierte 3-Me-cycloAmb-HPMPC-Prodrugs **32a**

N-MMTr-O-Tr-HPMPC-Diethylester **108** wurde wie in Christian Müllers Dissertation beschrieben aus O-Trityl-HPMC-Diethylester **106** synthetisiert. Mit diesem Edukt **108** wurden die ersten Kupplungsversuche mit 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** durchgeführt. Es wurde dabei genau wie bei der Synthese von 3,5-Di-*tert*-Butyl-cycloSal-HPMPC **107a** vorgegangen. Das gewünschte Produkt **111** konnte dabei allerdings nicht isoliert werden (Abb. 102).



Abb. 102 Versuch der Synthese des geschützten cycloAmb-HPMPC-Prodrugs **111**

Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion konnte ein entscheidender Grund für das Misslingen der Synthese festgestellt werden. Während des zweiten Syntheseschrittes (Chlorierung) konnte die partielle Abspaltung beider Trityl-Schutzgruppen beobachtet werden. Offensichtlich ist das Reagenz PCl₅ zu sauer, als

das die säureempfindlichen Schutzgruppen davon nicht betroffen wären. Der dritte Schritt wurde trotz dieser Beobachtung durchgeführt. Die dünnschichtchromatographische Analyse ergab, dass kein Produkt an Kieselgel isolierbar war. Deshalb konnten auch keine möglichen Nebenprodukte isoliert werden, die darüber Auskunft hätten geben können, ob die Schutzgruppenabspaltung der einzige Grund für die gescheiterte Synthese war. Beim nächsten Syntheseversuch wurde der zweite Schritt deshalb in Gegenwart von 2 Äquivalenten (bezogen auf das Edukt **108**) trockenem Pyridin durchgeführt, um die Azidität des Reagenzes abzupuffern. Das gewünschte Produkt **111** konnte erneut nicht isoliert werden (Abb. 103).

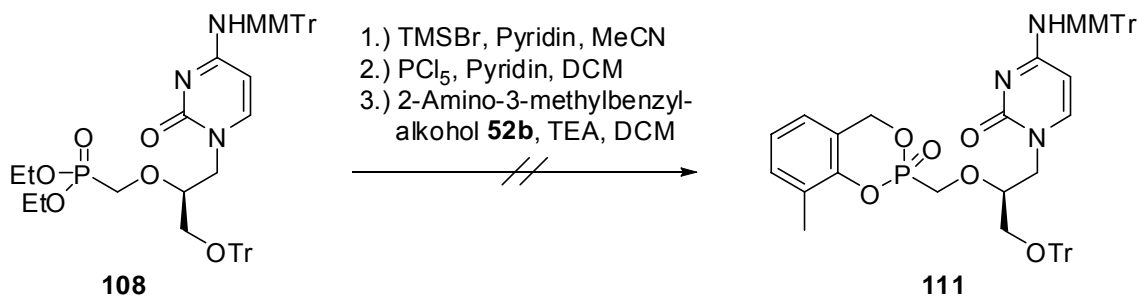


Abb. 103 Weiterer Syntheseversuch von **111** mit Pyridin

Es wurde wieder beobachtet, dass bei der Zugabe von PCl₅ die Schutzgruppen teilweise abgespalten wurden. Auch mit dem Einsatz von 11 Äquivalenten (bezogen auf Edukt **108**) Pyridin konnte das Problem nicht behoben werden. Da mit dieser Methode kein Erfolg erzielt wurde, sollten alternative Synthesemöglichkeiten erarbeitet werden.

4.4.3 Versuch der Synthese von *cyclo*Amb-HPMPC-Prodrugs aus O-Trityl-HPMPC **112**

Für die Darstellung von *cyclo*Amb- bzw. *cyclo*Sal-PMEA-Prodrugs wurde eine effiziente und relativ bequeme Synthese gefunden (Kapitel 4.2.1). Wünschenswert wäre die Übertragung der Synthesemethode auf die Darstellung von *cyclo*Amb-HPMPC-Prodrugs. In der Standardsynthese wird PMEAs **9** als Edukt verwendet. Seine Adenin-NH₂-Gruppe wird intermediär geschützt und stört somit bei der späteren Kupplung der Maske unter basischen Bedingungen nicht. Das könnte man sich auch für die Cytosin-NH₂-Gruppe von HPMPC **11** zunutze machen. Allerdings muss die OH-Gruppe von

HPMPC **11** unbedingt geschützt vorliegen, weil sie intramolekular und intermolekular zu nucleophilen Angriffen befähigt ist. Deshalb sollte versucht werden, *O*-tritylgeschütztes HPMPC **112** darzustellen, und auf diese Verbindung die Standardsynthese anzuwenden (Abb. 104).

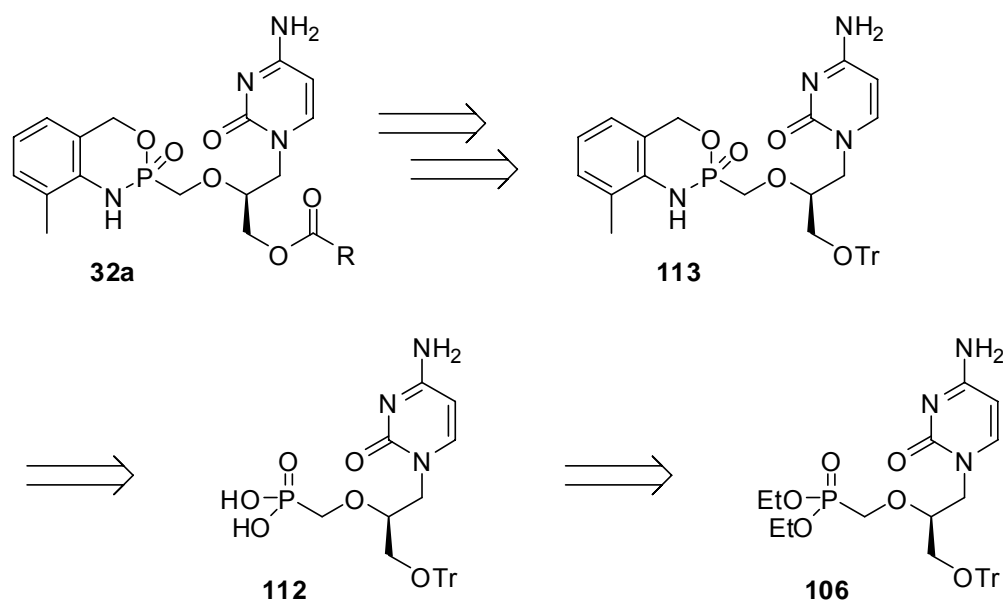


Abb. 104 Die neue Synthesestrategie für die Darstellung von *O*-acylierten HPMPC-Prodrugs **32**

Bei den in Kapitel 4.4.2 beschriebenen Synthesen konnte die Abspaltung der Schutzgruppen bei der Zugabe des sauren Reagenzes Bromtrimethylsilan nicht beobachtet werden. Deshalb sollte die Synthese und Isolierung von *O*-Trityl-HPMPC **112** keine Schwierigkeiten bereiten. Die Phosphonsäureesterspaltung von *O*-Trityl-HPMPC-Diethylester **106** wurde wie bei den Synthesen von PMEA **9** und PMPA **10** durchgeführt (Kapitel 4.1.1 und 4.1.3). Bei der Aufarbeitung wurde allerdings das entschützte HPMPC **11** isoliert (Abb. 105).

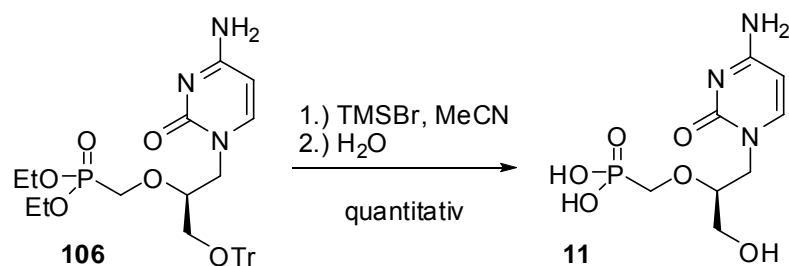


Abb. 105 Die ungewollte Synthese von HPMPC **11**

Während der Reaktion konnte die Abspaltung der Schutzgruppe dünn-schichtchromatographisch nicht beobachtet werden. Bei der wässrigen Aufarbeitung wurden Dünnschichtchromatogramme angefertigt, die mit ethanolischer Schwefelsäure behandelt wurden. Dabei konnte die vollständige Entschützung festgestellt werden, denn die typische Gelbfärbung tritylgeschützter Verbindungen zeigte nur ein sehr unpolarer Spot, bei dem es sich wahrscheinlich um Triphenylmethanol handelte. Die unpolare Verbindung wurde durch Waschen der wässrigen Phase mit Ethylacetat entfernt. Durch das Einengen der wässrigen Phase konnte leicht verunreinigtes HPMPc **11** isoliert werden. Offensichtlich entstand bei der Wasserzugabe nach der Reaktion eine saure Lösung, die die Entschützung verursachte. Die Übertragung der Standardsynthese von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs **31a-d**, **59a,b**, **61a-c** auf die Darstellung von *cyclo*Amb-HPMPc-Prodrugs **32a** durch Verwendung von O-Trityl-HPMPc **112** war damit nicht möglich, da dieses nicht dargestellt werden konnte. Wegen der Labilität der Tritylschutzgruppen sollte nun auf saure Reaktionsbedingungen in ihrer Gegenwart verzichtet werden.

4.4.4 Versuch der Synthese von 3-Me-*cycloAmb*-chlormethylphosphonat **114a** und von 3-Me-*cycloAmb*-tosyloxymethylphosphonat **114b**

Mit den Synthone 3-Me-*cycloAmb*-chlormethylphosphonat **114a** und 3-Me-*cycloAmb*-tosyloxymethylphosphonat **114b** ist es vielleicht möglich, die *cycloAmb*-Phosphonat-einheit mit (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** unter basischen Bedingungen umzusetzen, um zu 3-Me-*cycloAmb*-O-Trityl-HPMPC **113** zu gelangen (Abb. 106).

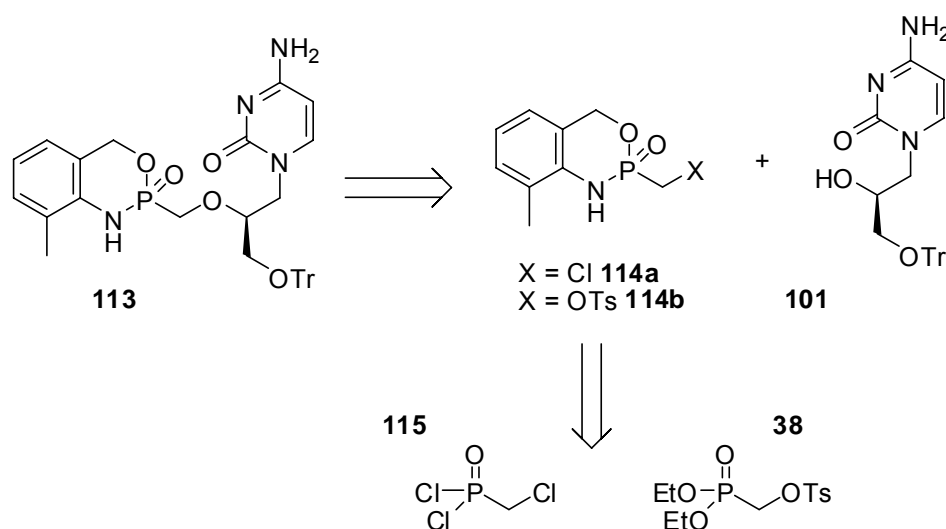


Abb. 106 Neue Synthesestrategie für die Darstellung von OTrityl-3-Me-*cycloAmb*-HPMPC **113**

Voraussetzung für das Gelingen der Synthese ist neben der erfolgreichen Darstellung der Synthone **114a,b** eine ausreichende Selektivität bei der basischen Umsetzung mit (*S*)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101**. Die durch starke Basen deprotonierte sekundäre OH-Gruppe muss in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion die Austrittsgruppen Chlorid bzw. Tosylat substituieren und darf nicht das Phosphoratom angreifen. Die Synthese von 3-Me-*cycloAmb*-chlormethylphosphonat **114a** ist bereits ausprobiert worden, ohne dass das gewünschte Produkt **114a** isoliert werden konnte. Andreas Lomp dagegen gelang die Synthese von *cycloSal*-Chlormethylphosphonat **116**. Die Synthese sollte deshalb wiederholt werden und bei erneutem Misserfolg variiert werden. Chlormethylphosphonsäuredichlorid **115** wurde mit 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** in Dichlormethan in Gegenwart von Triethylamin umgesetzt (Abb. 107).

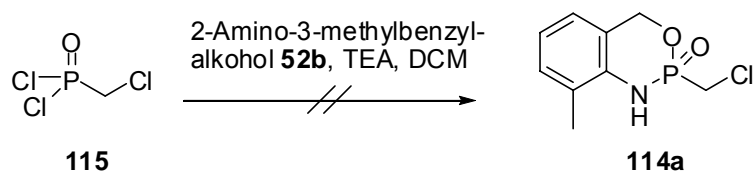


Abb. 107 Der Versuch der Synthese von 3-Me-*cyclo*Amb-chlormethylphosphonat **114a**

Das gewünschte Produkt **114a** konnte nicht isoliert werden. Tab. 12 zeigt die verwendeten Äquivalentmengen.

Äquivalente an 2-Amino-3-methylbenzylalkohol 52b	Äquivalente an Triethylamin	Ausbeute [%]
1.00	5.0	0
1.33	1.67	0
1.33	1.33	0

Tab. 12 Syntheseversuche zur Darstellung von 3-Me-*cyclo*Amb-chlormethylphosphonat **114a**

Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion konnte stets beobachtet werden, dass 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** bei der Reaktion verschwand. Ein neues Produkt konnte aber nicht eindeutig detektiert werden, denn die Dünnschichtchromatogramme waren sehr unübersichtlich. Die Reaktionsprodukte bildeten keine Spots, sondern Schlieren. Es stellte sich als unmöglich heraus, aus diesen Schlieren chromatographisch ein Produkt zu isolieren.

Die Synthese von 3-Me-*cyclo*Amb-tosyloxymethylphosphonat **114b** sollte nach einer abgewandelten Synthese für die Darstellung von Alkoxyalkyl-Tosyloxymethylphosphonaten **117** erfolgen, die in der Arbeitsgruppe von Hostetler zur Darstellung von HPMPA-Alkoxyalkylestern **118** verwendet werden (Abb. 108).⁶⁸

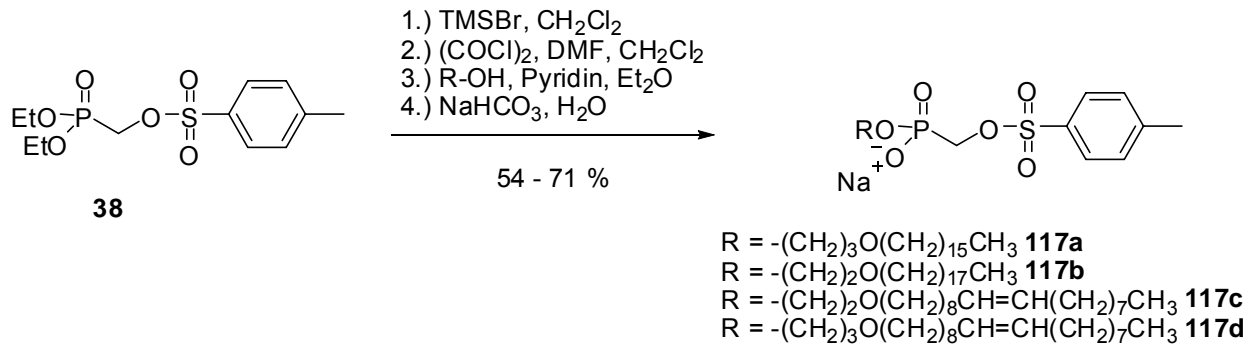


Abb. 108 Synthese von Alkoxyalkyl-Tosyloxymethylphosphonaten **117a-d** nach Hostetler

Die Anwendung dieser Synthese auf die Darstellung von 3-Me-*cyclo*Amb-tosyloxymethylphosphonat **114b** führte nicht zum Erfolg (Abb. 109).

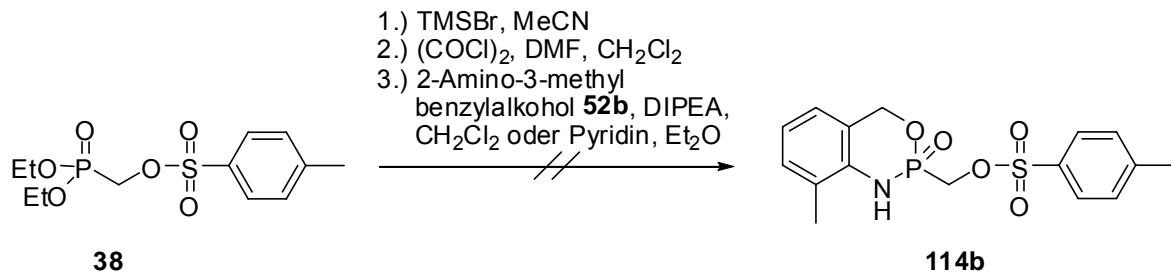


Abb. 109 Versuch der Synthese von 3-Me-*cyclo*Amb-tosyloxymethylphosphonat **114b**

Die Phosphonsäureesterspaltung mit Bromtrimethylsilan und die Umsetzung mit Oxalylchlorid wurden entsprechend der Literaturvorschrift durchgeführt. Die Kupplung mit 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** wurde dann zunächst wie bei der Standardsynthese von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs mit DIPEA in Dichlormethan probiert. Das gewünschte Produkt konnte dabei nicht isoliert werden. Die dünnschichtchromatographische Analyse ergab, dass zwar der 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b** vollständig umgesetzt wurde, aber sich kein Produkt bildete mit einem an Kieselgel brauchbaren R_f-Wert. Als einziger Spot konnten Zersetzungsprodukte beobachtet werden, die derart polar waren, dass sie im Dünnschichtchromatogramm nicht über die Grundlinie hinausliefen. Das gleiche Bild zeigte sich, als die Kupplungsbedingungen durch den Einsatz von Pyridin als Base in Diethylether als Lösungsmittel variiert wurden.

Da die Synthese 3-Me-*cyclo*Amb-chlormethylphosphonat **114a** und 3-Me-*cyclo*Amb-tosyloxymethylphosphonat **114b** nicht dargestellt werden konnten, musste ein alternativer Syntheseweg gefunden werden.

4.4.5 Versuch der Synthese von O-Pivaloyl-HPMPC-Diethylester **119a** durch Acylierung ohne Verwendung von Schutzgruppen

Bisher ist es nicht gelungen, *cyclo*Amb-HPMPC-Prodrugs darzustellen, weshalb eine völlig neue Synthesestrategie erarbeitet werden sollte. In den vorangegangenen Versuchen wurde die Synthese von *cyclo*Amb-HPMPC-Verbindungen **107** angestrebt, deren OH-Gruppe zwischenzeitlich ungeschützt vorliegt. Diese sollte dann später selektiv acyliert werden. Jetzt aber sollte die Acylierung vor der Prodrugsynthese erfolgen. Zunächst stand deshalb die Synthese von O-acylierten HPMPC-Diethylestern **119** im Vordergrund. Diese sollten dann in die freie Phosphonsäuren **120** überführt werden und mit der Standardsynthese für *cyclo*Amb-Nucleosidphosphonat-Prodrugs **31a-d** mit den entsprechenden Masken, wie z.B. 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b**, umgesetzt werden (Abb. 110).

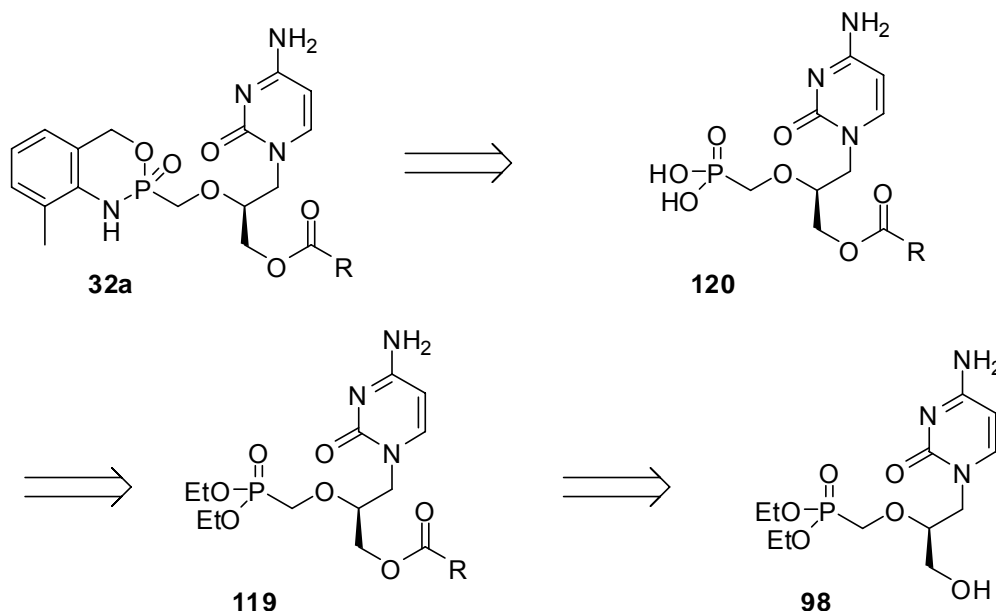


Abb. 110 Neue Synthesestrategie für die Darstellung von O-acylierten 3-Me-*cyclo*Amb-HPMPC-Prodrugs **32a**

Die neue Synthesestrategie hat gegenüber den alten einen gravierenden Nachteil. Bei der alten sollte die Acylierung nach der Phosphonsäureesterspaltung erfolgen. Das bedeutet, dass es keine Selektivitätsprobleme geben kann. Bei der neuen Strategie liegen im Molekül zwei verschiedene Esterbindungen vor. Es wird zu klären sein, ob das Reagenz Bromtrimethylsilan in der Lage ist, den Phosphonsäureester zu spalten, während der Carbonsäureester nicht angegriffen wird. Das Reagenz Iodtrimethylsilan kann selbst die sehr stabilen Pivalinsäureester spalten.⁶⁹ Bromtrimethylsilan ist natürlich weniger reaktiv, reagiert aber dennoch langsam unter Esterspaltung.⁷⁰ Ein Vorteil der neuen Syntheseroute besteht dagegen darin, dass das Auftreten des möglicherweise sehr instabilen 3-Me-*cyclo*Amb-HPMPC **107b** mit freier OH-Gruppe umgangen wird.

Bei der Darstellung der *O*-acylierten HPMPC-Diethylester **119** war zunächst ein Selektivitätsproblem zu betrachten. HPMPC-Diethylester **98** hat zwei nucleophile Gruppen, die acyliert werden können: Die primäre OH-Gruppe und die Cytosin-NH₂-Gruppe. Da es ein Literaturbeispiel gibt, wie eine OH-Gruppe neben einer Aminogruppe ohne Verwendung von Schutzgruppen selektiv pivaloyliert wird, sollte zunächst genauso vorgegangen werden.⁷¹ Grundsätzlich sollte auch erst einmal *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** dargestellt werden, da es sich bei Pivalinsäureestern aufgrund der sterischen Abschirmung durch die *tert*-Butylgruppe um sehr stabile Ester handelt. In der Literatur wird die 5'-OH-Gruppe eines Nucleosids in Gegenwart einer Adenin-NH₂-Gruppe selektiv pivaloyliert (Abb. 111).

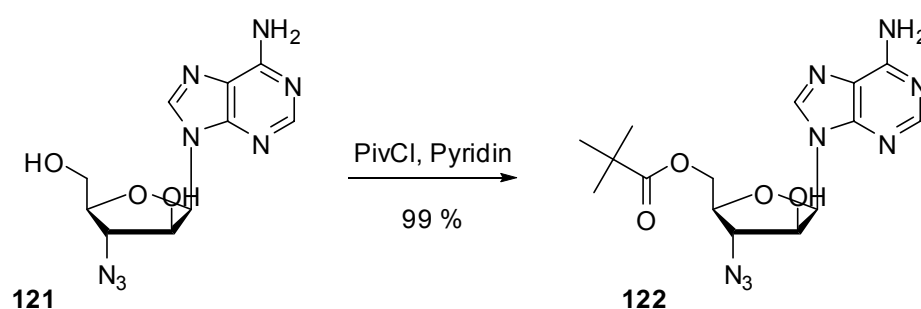


Abb. 111 Selektive Acylierung einer primären OH-Gruppe mit Pivalinsäurechlorid

Trotz des Einsatzes von 1.5 Äquivalenten Pivalinsäurechlorid beobachteten die Autoren keine *N*-Acylierung. Die entsprechende Synthesevorschrift wurde ohne Veränderungen auf die Acylierung von HPMPC-Diethylester **98** angewendet. Das gewünschte Produkt konnte dabei nicht isoliert werden. Stattdessen wurden das doppelt acylierte **123** und das *N*-acylierte Produkt **124** gefunden (Abb. 112).

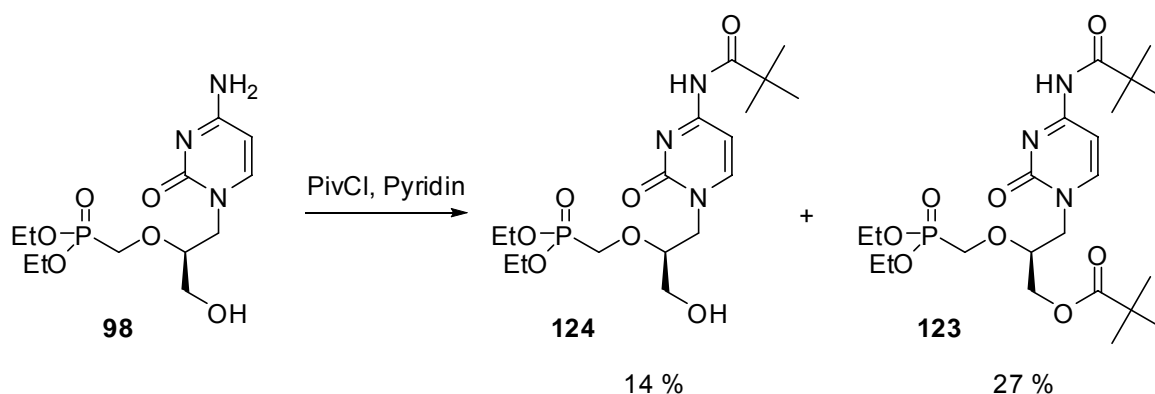


Abb. 112 Die Behandlung von HPMPC-Diethylester **98** mit Pivalinsäurechlorid

Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion konnte die Bildung von zwei Spots beobachtet werden. Bei diesen handelte es sich um die beiden isolierten Produkte **123** und **124**. Das Edukt **98** reagierte nicht vollständig ab. Ein Spot, der auf die Bildung von O-Piv-HPMPC-Diethylester **120a** hindeutete, konnte nicht beobachtet werden. Offensichtlich ist die Cytosin-NH₂-Gruppe wesentlich stärker nucleophil als die Adenin-NH₂-Gruppe, weshalb die Literaturvorschrift für die Darstellung des gewünschten Produkts ungeeignet ist. Ausprobiert wurde noch die Pivaloylierung von HPMPC-Diethylester **98** in Dichlormethan in Gegenwart von Triethylamin, aber auch hier konnte nur die Bildung von doppelt acyliertem **123** und N-acyliertem Produkt **124** beobachtet werden. Wegen des Scheiterns der O-selektiven Acylierung von HPMPC-Diethylester **98** musste erneut eine Alternative gefunden werden.

4.4.6 Versuch der Synthese von O-Pivaloyl-HPMPC-Diethylester **120a** unter Verwendung der Mitsunobu-Reaktion

Mit der Mitsunobu-Reaktion können OH-Gruppen zu Austrittsgruppen aktiviert werden durch Carboxylate substituiert werden.⁷² Das sollte für die Synthese von O-Piv-HPMPC-Diethylester **120a** genutzt werden. HPMPC-Diethylester **98** wurde mit zwei Äquivalenten Triphenylphosphin, zwei Äquivalenten Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) und drei Äquivalenten Pivalinsäure in Dichlormethan umgesetzt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, wobei die Bildung eines Produktes beobachtet werden konnte, das lipophiler als das Edukt **98** war. Das Edukt **98** wurde auch nach

mehreren Tagen Reaktionszeit nicht vollständig umgesetzt. Das lipophilere Produkt wurde isoliert. Dabei wurde überraschenderweise festgestellt, dass es sich nicht um O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** handelte, sondern um doppelt acylierten HPMPC-Diethylester **123** (Abb. 113).

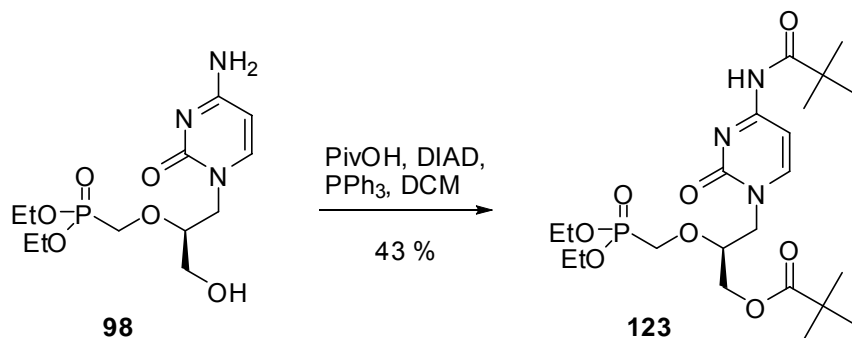


Abb. 113 Der Syntheseversuch von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** unter Mitsunobu-Bedingungen

Normalerweise reagieren Carbonsäuren in Mitsunobu-Reaktionen als Nucleophile. Im oben beschriebenen Fall ist das auch eingetreten, aber zusätzlich hat die Säure auch noch als Elektrophil reagiert. Es muss eine ungewollte Aktivierung eingetreten sein, denn Pivalinsäure ist eigentlich nicht in der Lage, eine Aminogruppe zu acylieren. In Abb. 114 (nächste Seite) ist ein möglicher Aktivierungsmechanismus gezeigt, wie er sich aus den Mitsunobu-Bedingungen ergeben haben könnte. In diesem Mechanismus wird das Auftreten des acylierten Phosphinoxids **C** postuliert. Dieses wäre als aktivierte Carbonsäure elektrophil genug, um eine Aminogruppe zu acylieren. Natürlich tritt auch noch die für die Mitsunobu-Reaktion charakteristische Substitution der OH-Gruppe auf. Aber beide Reaktionen treten offenbar mit gleicher Geschwindigkeit auf, denn auch bei einer Verkürzung der Reaktionszeit wurde stets der doppelt acylierte HPMPC-Diethylester **123** isoliert.

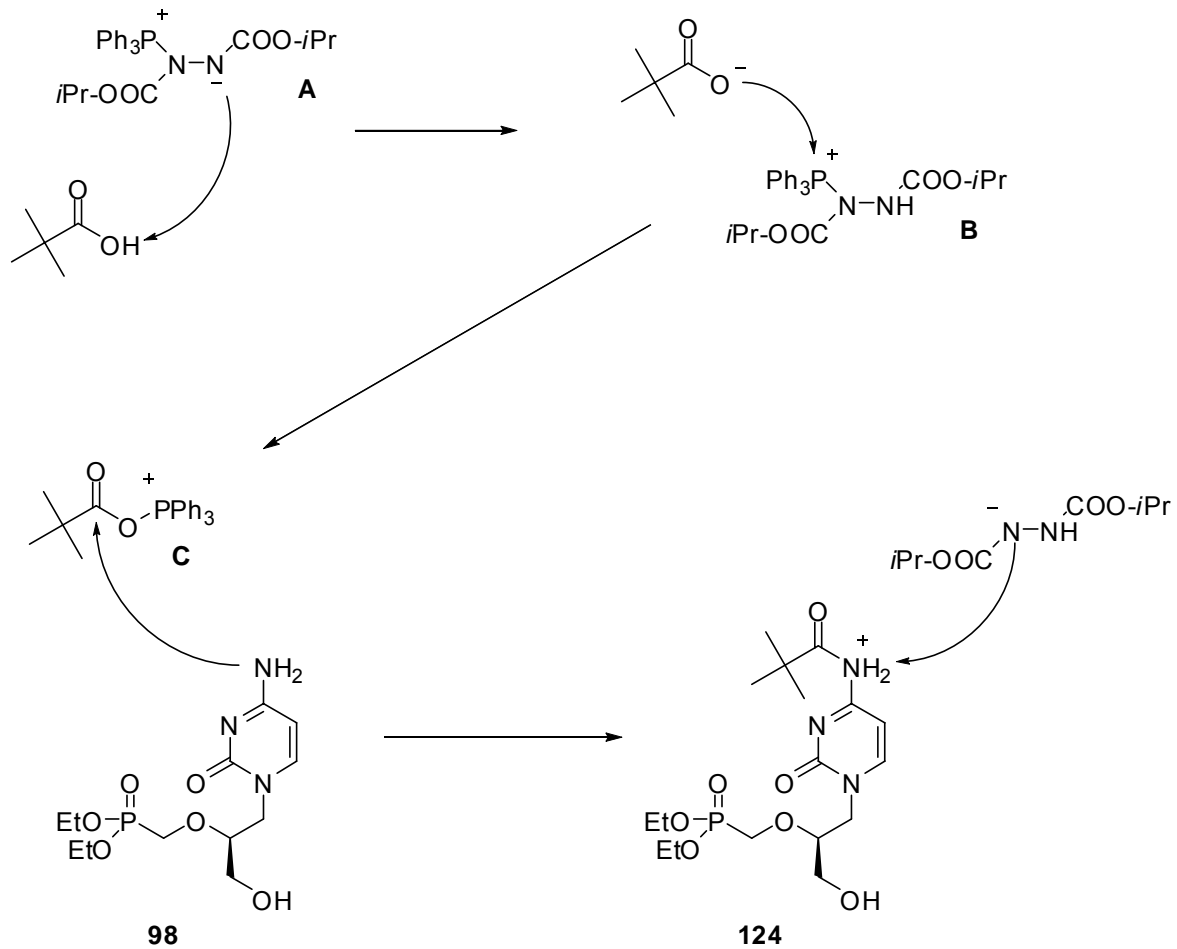


Abb. 114 Mögliche Acylierung einer NH_2 -Gruppe unter Mitsunobu-Bedingungen

Dieses Ergebnis ist völlig überraschend, denn eine solche Nebenreaktion unter Mitsunobu-Bedingungen ist nicht bekannt. OH-Gruppen an stereogenen Zentren werden in hohen Ausbeuten durch nucleophile Substitution invertiert. Von einer Retention des Stereozentrums wird nicht berichtet. Da mit die Darstellung von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** aus HPMPC-Diethylester **98** unter Mitsunobu-Bedingungen nicht gelang, wurden die Versuche endgültig eingestellt, das gewünschte Produkt **119a** ohne Schützung der Cytosin- NH_2 -Gruppe zu synthetisieren.

4.4.7 Die O-Acylierung von HPMPC-Diethylester **98** bei gleichzeitig geschützter NH₂-Gruppe

Alle bisherigen Versuche, O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** darzustellen, scheiterten immer wieder daran, dass die Cytosin-NH₂-Gruppe als potentes Konkurrenz-nucleophil auftritt. Deshalb sollte nun ein Weg gefunden werden, sie während der Synthese selektiv zu schützen. Bisher hat sich die Formamidinschutzgruppe als NH₂-selektive Schutzgruppe bewährt. Sie sollte deshalb auch bei der Synthese von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** verwendet werden. In einem ersten Syntheseversuch wurde HPMPC-Diethylester **98** zunächst mit der Formamidinschutzgruppe versehen und dann in Pyridin mit Pivalinsäurechlorid umgesetzt. Anschließend wurde standardmäßig in essigsäurem Ethanol wieder entschützt. Dabei konnte zum ersten Mal der gewünschte O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** isoliert werden, allerdings nur in einer Ausbeute von 13 % (Abb. 115).

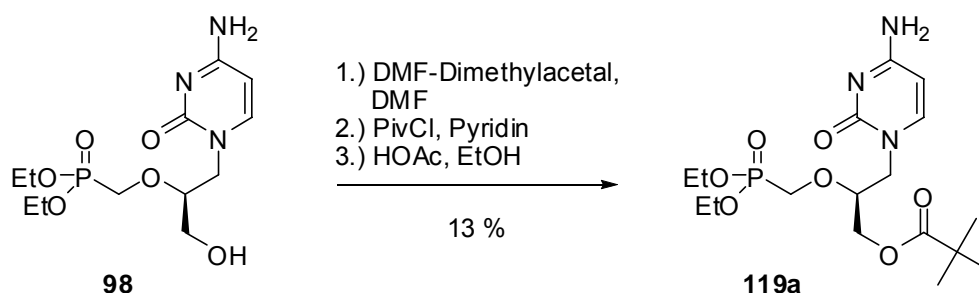


Abb. 115 Die Darstellung von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** mit formamidingeschützter NH₂-Gruppe

Die Ausbeute von 13 % ist natürlich für eine derartige Acylierung viel zu niedrig. Bei der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung wurde überraschenderweise festgestellt, dass sich auch doppelt- und N-acyliertes Produkt **123** und **124** bildete. Das ist ein Hinweis darauf, dass die Formamidinschutzgruppe unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil ist, was auch die niedrige Ausbeute erklärt. Die Reaktion wurde wiederholt, wobei im zweiten Reaktionsschritt statt Pyridin Triethylamin in Dichlormethan als Base verwendet wurde (Abb. 116). Dabei sollte überprüft werden, ob die Formamidinschutzgruppe unter diesen Bedingungen stabiler ist.

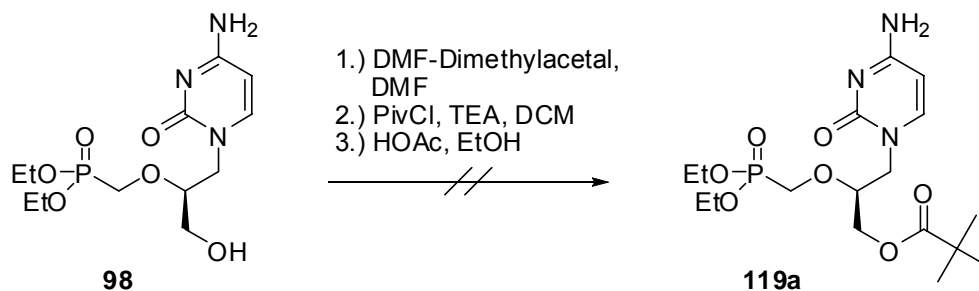


Abb. 116 Der Syntheseversuch von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** mit Triethylamin

Das gewünschte Produkt **119a** konnte bei diesem Syntheseversuch überhaupt nicht isoliert werden. Es wurde erneut doppelt- und *N*-acyliertes Produkt **123** und **124** dünn-schichtchromatographisch detektiert. Damit hat sich herausgestellt, dass die Formamidinschutzgruppe für die Darstellung von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** ungeeignet ist.

In einem neuen Ansatz sollten Tritylschutzgruppen verwendet werden. Natürlich ist es unwahrscheinlich, dass die Tritylierungen *N*-selektiv verlaufen. Aber es kann möglicherweise ausgenutzt werden, dass Tritylether deutlich labiler sind als Tritylamine. Also sollte HPMPC-Diethylester **98** doppelt dimethoxytritylgeschützt und dann versucht werden, *O*-selektiv zu entschützen. Bei diesem Versuch konnte *N*-DMTr-HPMPC-Diethylester **125** mit einer Ausbeute von 78 % dargestellt werden (Abb. 117).

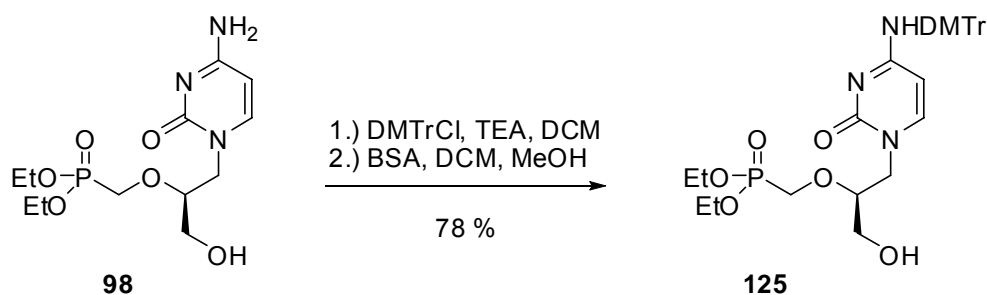


Abb. 117 Die Synthese von *N*-DMTr-HPMPC-Diethylester **125**

Bei der dünn-schichtchromatographischen Reaktionsverfolgung der Schützung konnte das Verschwinden des Eduktes **98** zugunsten eines lipophileren Produktes beobachtet werden. Dieses Produkt wurde chromatographisch gereinigt und ohne Charakterisierung weiter eingesetzt. Es ist durchaus ratsam, das doppelt DMTr-geschützte Zwischenprodukt **126** zu reinigen, denn bei einem weiteren Syntheseversuch ohne Reinigung sank die Gesamtausbeute an *N*-DMTr-HPMPC-Diethylester **125** auf 52 %.

Die saure Entschützung wurde dann dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach wenigen Minuten war das doppelt geschützte Zwischenprodukt **126** verschwunden und die Entstehung von *N*-DMTr-HPMPC-Diethylester **125** konnte detektiert werden. Doppelte Entschützung wurde nicht beobachtet. Durch zügige basische Aufarbeitung wurde die Reaktion dann abgebrochen, damit es nicht doch noch zur *N*-Entschützung kommt. Mit dem *N*-DMTr-geschützten HPMPC-Diethylester konnten nun die Acylierungsversuche durchgeführt werden. Zuerst wurde die Acylierung mit Pivalinsäurechlorid in Dichlormethan und Triethylamin als Base probiert. Es traten unter diesen Bedingungen Teilentschütungen auf und es wurde erneut die Bildung von doppelt acyliertem Produkt **123** beobachtet.

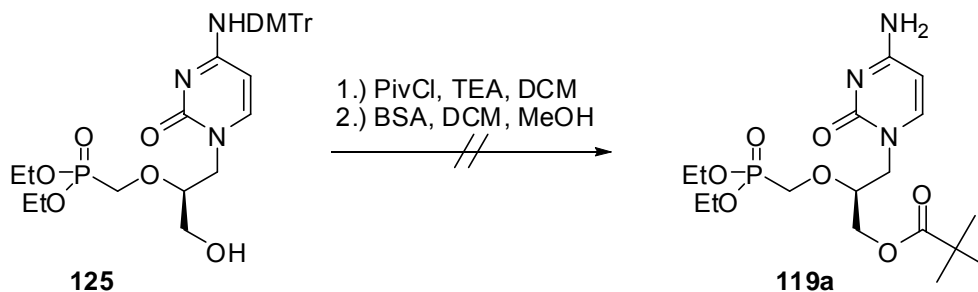


Abb. 118 Versuch der Synthese von *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a**

Aufgrund des erneuten Scheiterns der Darstellung von *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** wurden die Reaktionsbedingungen variiert. Es sollte nun Pivalinsäurechlorid in Pyridin eingesetzt werden. Überraschenderweise erwies sich die DMTr-Schutzgruppe unter diesen Bedingungen als stabil und nach saurer Entschützung konnte das gewünschte Produkt in 74 % Ausbeute isoliert werden (Abb. 119).

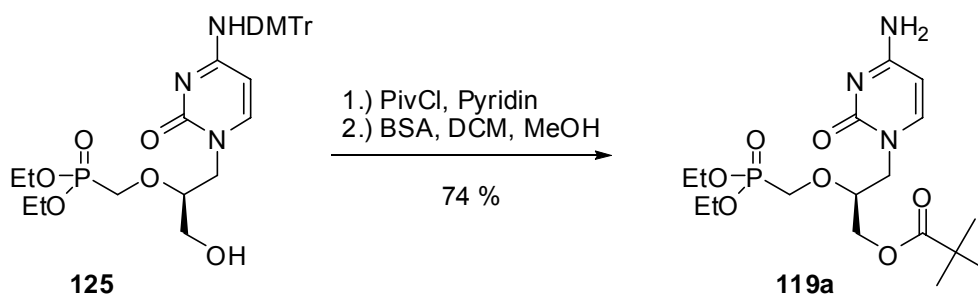


Abb. 119 Die erfolgreiche Darstellung von *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a**

Die Schützung wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt und es wurde die Bildung eines einzigen lipophileren Produktes beobachtet, wobei das Edukt **125** komplett umgesetzt wurde. Der entstandene *O*-Piv-*N*-DMTr-HPMPC-Diethylester **127** erwies sich unter Entschütungsbedingungen als erstaunlich stabil. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wurde unvollständiger Umsatz festgestellt. Deshalb wurde das Reaktionsgemisch zum Sieden erhitzt, was eine Beschleunigung der Reaktion bewirkte. Auf diese Weise konnte über Nacht die DMTr-Schutzgruppe komplett abgespalten werden. Durch die Verschärfung der Reaktionsbedingungen bestand natürlich die Gefahr der Deacylierung. Allerdings sind Pivalinsäureester derart stabil, dass die Säurekonzentration und die Siedehitze kein Problem darstellen sollten. Die hohe Ausbeute bestätigt die Stabilität der Pivalinsäureestereinheit. Mit dem Erfolg der Synthese bestand nun erstmals die Möglichkeit *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** in größeren Mengen darzustellen. Die Synthesemethode sollte dann noch auf die labileren *iso*-Buttersäure- und Essigsäureester ausgeweitet werden. Die Darstellung von *O*-*iso*-Butyryl-HPMPC-Diethylester **119b** gelang dabei in einer Ausbeute von 45 % (Abb. 120).

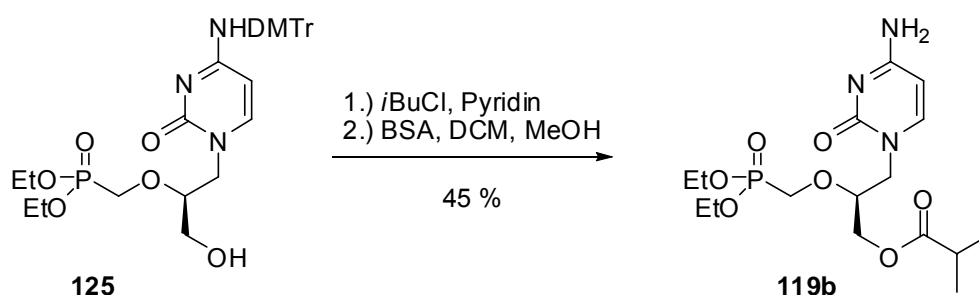


Abb. 120 Die Darstellung von *O*-*iso*-Butyryl-HPMPC-Diethylester **119b**

Die Ausbeute fiel deutlich niedriger aus als bei der Darstellung von *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a**. Bei dieser Stufe wurde bewusst auf das Erhitzen der sauren Entschützungslösung verzichtet, da dünnschichtchromatographisch teilweise Deacylierung festgestellt werden konnte. Allerdings war die Beobachtung schwierig, da HPMPC-Diethylester **98** einen ähnlichen R_f -Wert besitzt wie Benzolsulfonsäure. Es musste also ein Kompromiss zwischen unvollständiger Entschützung und zunehmender Deacylierung gefunden werden. Was nun genau von den beiden Möglichkeiten den Ausbeuteverlust bewirkt hat, blieb unklar. *O*-Acetyl-HPMPC-Diethylester **119c** stellte sich bereits als nicht mehr synthetisierbar heraus, da das DMTr-Amin unter den sauren Entschütungsbedingungen deutlich stabiler als die Essigsäureestereinheit war.

Mit der erstmaligen erfolgreichen Darstellung von *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** und *O*-*iso*-Butyryl-HPMPC-Diethylester **119b** konnte nun die enzymatische Stabilität der Esterbindungen im Zellextraktmedium untersucht werden. Die CEM/0-Zellextrakte enthalten Carboxyesterasen, die in der Lage sind, Ester zu spalten. Die beiden synthetisierten HPMPC-Diethylester **119a,b** stellten sich allerdings als enzymatisch stabil heraus.

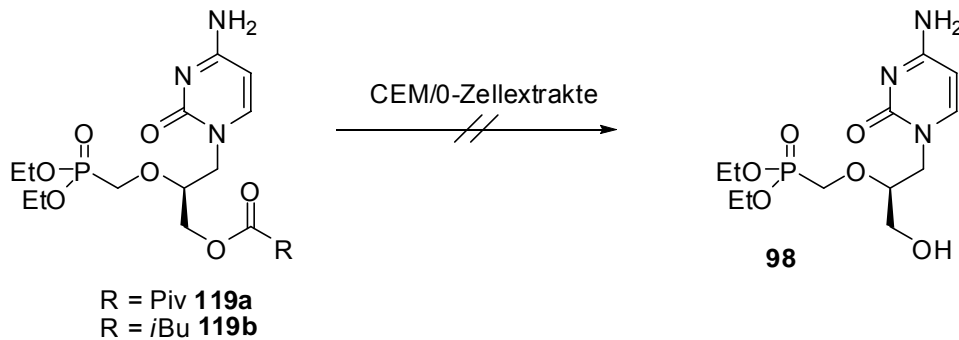


Abb. 121 Untersuchung der enzymatischen Stabilität der Carbonsäureesterbindung

In der HPLC-analytischen Reaktionsverfolgung wurden nur die Eduktester **119a,b** mit gleichbleibendem Integral bei der UV-Detektion beobachtet. Mit diesem Befund hat die Entwicklung enzymatisch aktivierbarer *O*-Acyl-*cyclo*Amb- bzw. -*cyclo*Sal-HPMPC-Prodrugs einen Rückschritt erhalten. Dennoch sollte versucht werden, solche Strukturen darzustellen, um die synthetische Machbarkeit zu untersuchen. Außerdem handelt es sich bei den CEM/0-Zellextrakten um ein Testsystem. Es ist auf jeden Fall von Interesse, neu synthetisierte Verbindungen antiviralen Tests zu unterziehen, weil vielleicht ganz andere Wirkmechanismen zu überraschenden Ergebnissen führen können.

4.4.8 Die selektive Phosphonsäureesterspaltung *O*-acylierter HPMPC-Diethylester 119 mit Bromtrimethylsilan

Aus den neu synthetisierten *O*-acylierten HPMPC-Diethylestern **119a,b** sollten nun die freien Phosphonsäuren dargestellt werden, die dann in der Standardsynthese für *cyclo*Amb- und *cyclo*Sal-Nucleosidphosphonate eingesetzt werden sollten. Es musste zunächst überprüft werden, ob die Phosphonsäureester selektiv durch Brom-

trimethylsilan gespalten werden können, ohne dass die Carbonsäureesterbindung angegriffen wird. Zuerst wurde *O*-Piv-HPMC-Diethylester **119a** mit Bromtrimethylsilan in Acetonitril umgesetzt. *O*-Piv-HPMC **120a** konnte dabei in einer Ausbeute von 71 % isoliert werden (Abb. 122).

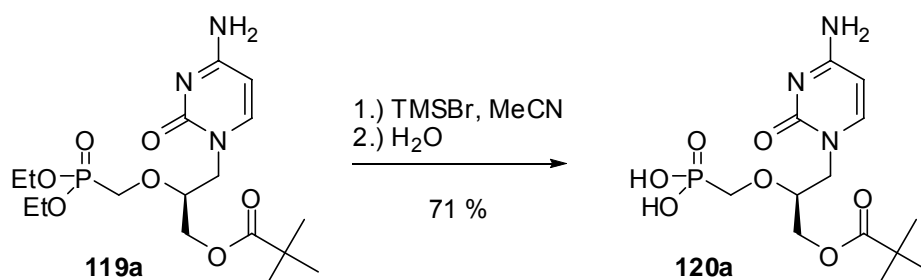


Abb. 122 Die Synthese von *O*-Piv-HPMC **120a**

Das Produkt **120a** konnte in hoher Reinheit durch Auskristallisieren erhalten werden. HPMPC **11** konnte nicht nachgewiesen werden. Es wäre im Fall einer Carbonsäureesterspaltung entstanden. Damit ist die Reaktionsgeschwindigkeit der Phosphonsäureesterspaltung gegenüber der der Pivalinsäureesterspaltung dermaßen höher, dass es für die präparative Anwendung keine Probleme gibt.

Eine andere Situation tritt bei der Darstellung von *O*-*i*-Bu-HPMC **120b** ein. Das gewünschte Produkt **120b** konnte nur mit HPMPC **11** verunreinigt isoliert werden (Abb. 123).

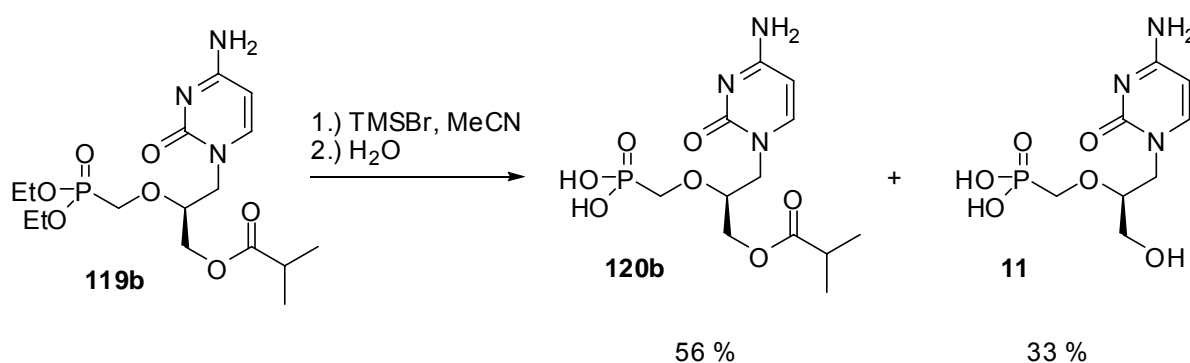


Abb. 123 Die Produktverhältnisse bei der Umsetzung von *O*-*i*-Bu-HPMC **120b** mit TMSBr

Das gewünschte Produkt **120b** und das Nebenprodukt HPMPC **11** standen in einem Verhältnis von ca. 2 : 1. Das Verhältnis wurde aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Produktgemischs abgeleitet, da die einzelnen Verbindungen nicht isoliert werden konnten.

Versuche, *O*-*i*-Bu-HPMPC **120b** von HPMPC **11** an RP-18-Kieselgel zu trennen, scheiterten. Bei der Synthese wurden drei Äquivalente Bromtrimethylsilan verwendet. In einem weiteren Versuch wurde die Menge an Bromtrimethylsilan auf 2.1 Äquivalente reduziert, um die Carbonsäureesterspaltung zu vermeiden. Dabei konnte das gewünschte Produkt **120b** nicht isoliert werden, weil die Phosphonsäureesterspaltung nicht mehr vollständig ablief. Grundsätzlich verlaufen die Phosphonsäureesterspaltungen mit einer langen Reaktionszeit von 16 h. Es wäre deshalb von Interesse, die Reaktionszeiten zu verkürzen und zu überprüfen, ob dadurch die ungewollte Bildung von HPMPC **11** unterdrückt werden kann. Für Versuche, die Reaktionszeiten zu verkürzen, war allerdings nicht mehr genügend *O*-*i*-Bu-HPMPC-Diethylester **119b** vorhanden.

Mit der erfolgreichen Synthese von *O*-Piv-HPMPC **120a** stand nun ein Ausgangsstoff für die Synthese *O*-acylierter *cyclo*Amb- und *cyclo*Sal-HPMPC-Prodrugs **32** zur Verfügung.

4.4.9 Die Synthese *O*-acylierter HPMPC-Prodrugs **32**

O-Piv-HPMPC **120a** sollte nun mit der der Standardsynthese für *cyclo*Amb- bzw. *cyclo*Sal-Nucleosidphosphonat-Prodrugs zu den entsprechenden Zielverbindungen umgesetzt werden. 3-Me-*cyclo*Amb-*O*-piv-HPMPC **32a** konnte auf diese Weise in einer Ausbeute von 21 % dargestellt werden (Abb. 124).

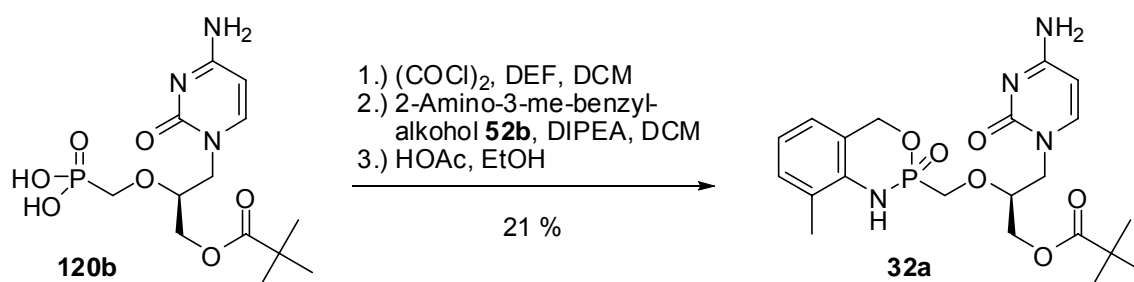


Abb. 124 Die Synthese von *O*-Piv-3-Me-*cyclo*Amb-HPMPC **32a**

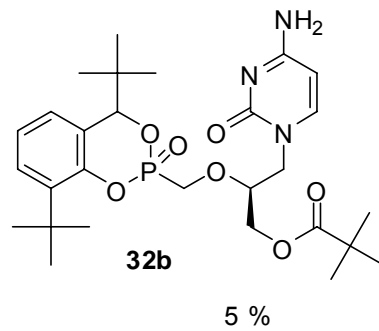
Durch die erfolgreiche Synthese von HPMPC-Prodrug **32a** wurde wieder einmal der große Wert der Standardsynthese gezeigt. Die Ausbeute von 21 % liegt im mittleren Bereich an Ausbeuten, die bei den Synthesen von *cyclo*Amb-PMEA-Prodrugs erzielt werden. Das deutet darauf hin, dass die Esterfunktion weder die Reaktion stört, noch

dass sie selbst unter den Reaktionsbedingungen gespalten wird. 3-Me-*cycloAmb*-O-piv-HPMPC **32a** lag als untrennbares Diastereomerenmisch im Verhältnis 1 : 0.8 vor. Damit hat das Stereozentrum an der 2'-Position wenig Einfluss auf die Bildung des neuen Stereozentrums am Phosphoratom. Das wurde schon bei der Darstellung von 3-Me-*cycloAmb*-PMPA **95** beobachtet (Kapitel 4.3). Die Methylgruppe in 2'-Position hatte hierbei überhaupt keinen Einfluss auf das Diastereomerenverhältnis. Die Diastereomere lagen im Verhältnis 1 : 1 vor.

O-Piv-3-Me-*cycloAmb*-HPMPC **32a** ist das einzige *cycloAmb*-HPMPC-Derivat, das synthetisiert werden sollte. Zu diesem Zeitpunkt war bereits bekannt, dass die Verwendung von Anthranilalkoholen als Masken für Nucleosidphosphonat nicht zu effektiven Prodrugs führen, weil bei der Hydrolyse sehr stabile Intermediate auftraten, was die Wirkstofffreisetzung erheblich verzögerte (Kapitel 4.2.2). O-Piv-3-Me-*cycloAmb*-HPMPC **32a** wurde auf seine antiviralen Eigenschaften hin untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass es im Gegensatz zu HPMPC **11** keine antiviralen Eigenschaften mehr besitzt. Ob der Verlust der antiviralen Aktivität auf die Nachteile der *cycloAmb*-Maske oder auf die fehlende enzymatische Spaltung der Pivalinsäureestereinheit zurückzuführen ist, blieb dabei unklar. Einerseits wird die Maske nur sehr langsam abgespalten, andererseits wird der Pivalinsäureester **119a** in CME/0-Zellextrakten enzymatisch nicht gespalten. Für die Darstellung von HPMPC-Prodrugs **32** sollten deshalb nun künftig nur noch benzylsubstituierte Salicylalkohole verwendet werden, da ihr Freisetzungsmechanismus dem der Anthranilalkohole deutlich überlegen ist (Kapitel 4.2.6).

Wie bei der Maskierung von PMPA **10** mit benzylsubstituierten Salicylalkoholen war bei der Synthese benzylsubstituierter *cycloSal*-HPMPC-Prodrugs die Bildung von vier Diastereomeren zu erwarten. Es sollten insgesamt drei Zielverbindungen dargestellt werden: 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b**, weil mit dieser Maske das bisher stabilste PMEA-Prodrug **71d** dargestellt wurde; 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32c**, weil 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **71a** das *cycloSal*-PMEA-Prodrug mit der besten antiviralen Aktivität ist; und 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32d**, weil ohne einen Substituenten in der Benzylposition ein stereogenes Zentrum wegfällt, was die NMR-Spektren übersichtlicher machen würde, da die Zahl der möglichen Diastereomere von vier auf zwei sinkt. Von den drei Zielverbindungen konnte allerdings nur eine synthetisiert werden (Abb. 125).

Synthese erfolgreich:



Synthese fehlgeschlagen:

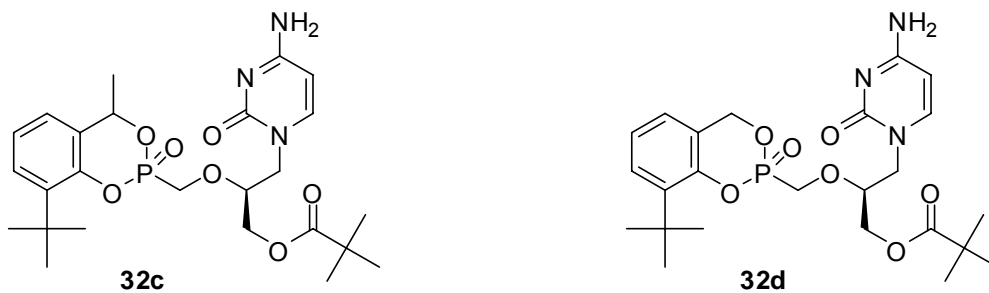


Abb. 125 Die drei *cycloSal*-O-piv-HPMPC-Zielverbindungen **32b-d**

Lediglich 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** wurde mit der niedrigen Ausbeute von 5 % isoliert. Warum die Synthese hier Probleme bereitete, blieb unklar. Die verwendeten Reagenzien wurden durch die Synthese von *cycloSal*-PMEA-Prodrugs, die parallel durchgeführt wurden, überprüft. Die Synthesen der PME-Derivate bereiteten dabei keine Probleme.

Die Reinigung von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** stellte sich als sehr schwierig heraus. Am Chromatotron konnte die Verbindung **32b** nicht vollständig gereinigt werden. Mit dieser Form der Reinigung konnten bisher alle Prodrugs in ausreichender Reinheit isoliert werden. Erst durch Reinigung an einer präparativen HPLC-Säule konnte das Produkt **32b** rein erhalten werden. 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** wurde als Gemisch von nur zwei Diastereomeren isoliert. Die beiden Diastereomere lagen im Verhältnis von 1 : 0.8 vor. Bisher führten ein sperriger Substituent in der Benzylposition oder der Substituent in der 2'-Position nicht dazu, dass hohe Diastereoselektivitäten erzielt wurden. Offensichtlich ist die Kombination aus beidem dafür verantwortlich, dass zwei Diastereomere nicht gebildet werden. Ob dies aus thermodynamischen oder kinetischen Gründen passierte, blieb unklar.

3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** liefert bei der Hydrolyse selektiv O-Piv-HPMPC **120a** und besitzt eine relativ hohe Halbwertszeit von 28.8 h (Phosphatpuffer pH

7.3). Entscheidend bei dieser Prodrugform ist allerdings nicht die chemische Halbwertszeit, sondern die Stabilität in enzymatischen Medien. Die Verbindung **32b** wurde deshalb in CEM/0-Zellextrakten daraufhin untersucht. In diesem Medium erwies sich Prodrug **32b** als stabil. Das war zu erwarten, da die Esterbindung von O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** unter diesen Bedingungen ebenfalls nicht gespalten wurde (Kapitel 4.4.7). Zusätzlich wurde aber nun das Verhalten von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** in Leberextrakten untersucht. Leberextrakte zeichnen sich dadurch aus, dass sie deutlich höhere Enzymkonzentrationen aufweisen. Abb. 126 zeigt die HPLC-Chromatogramme der Reaktionsverfolgung der Leberextrakthydrolysen.

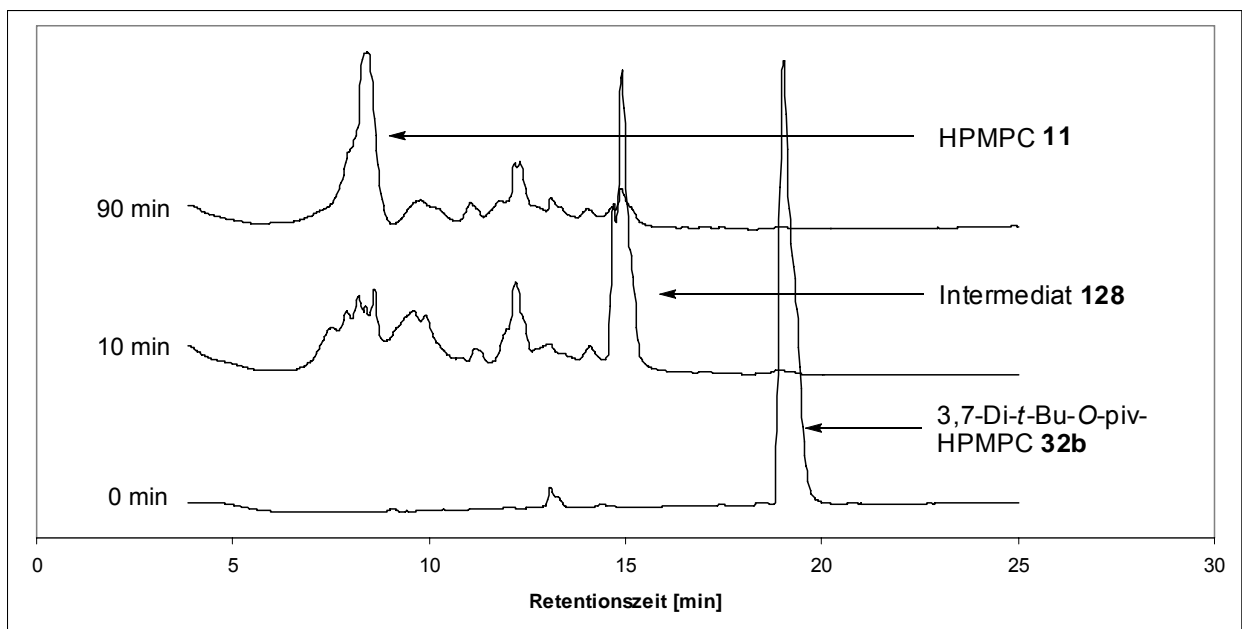


Abb. 126 Der Hydrolyseverlauf von HPMPC-Prodrug **32b** in Leberextrakten

Innerhalb von 10 min war der Peak von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPC **32b** vollständig verschwunden. Es hat sich ein Intermediat **128** mit einer Retentionszeit von ca. 15 min gebildet, das mit einer Halbwertszeit von 23 min zu HPMPC **11** zerfällt (Abb. 127).

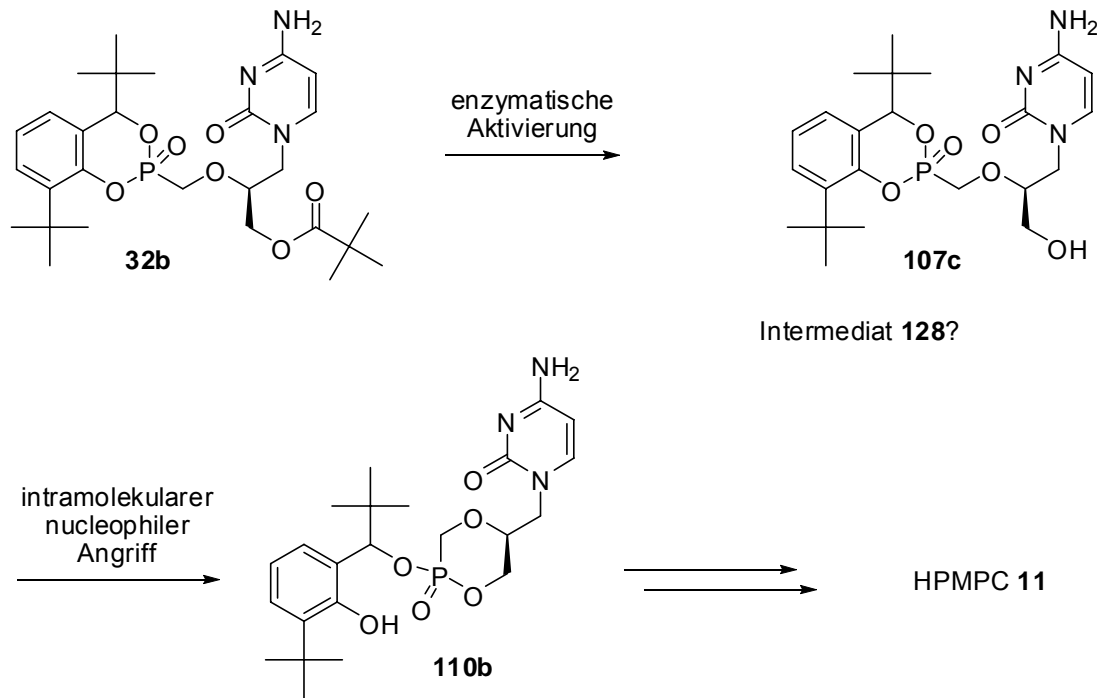


Abb. 127 Wahrscheinlicher Zerfallsmechanismus von HPMPc-Prodrug **32b** in Leberextrakten

Die Bildung von HPMPc **11** konnte dadurch nachgewiesen werden, da die Substanz als Referenz zur Verfügung stand und damit koinjiziert werden konnte. Ob es sich bei dem Intermediat **128** wirklich um 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-HPMPc **107c** handelte, konnte nicht bestätigt werden, da diese Substanz als Referenz nicht vorhanden war. Mit hoher Wahrscheinlichkeit aber ist der Pivalinsäureester enzymatisch gespalten worden, was zur Bildung von Intermediat **128** führte. Diese Vermutung wird dadurch gestützt, dass 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d** in Leberzellextrakten stabil ist, während die Pivalinsäureeinheit von *O*-Piv-HPMPc-Diethylester **119a** dort innerhalb von wenigen Minuten gespalten wird. Mit diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die *cycloSal*-Einheit nicht enzymatisch gespalten wird. Erwartungsgemäß war Verbindung **107c** aufgrund ihrer freien OH-Gruppe sehr labil und es erfolgte ein intramolekularer Angriff auf das Phosphoratom. Dadurch wurde der Benzylphosphonatester **110b** gebildet, der sehr schnell zu cyclischem HPMPc (cHPMPc) **109** zerfiel. Cyclisches HPMPc **109** wird enzymatisch ebenfalls sehr schnell zu HPMPc **11** hydrolysiert. Die effektive enzymatische Freisetzung von HPMPc **11** aus cHPMPc **109** wurde von Bischofberger et al. beschrieben.⁷³

Mit der Synthese und Untersuchung von 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPc **32b** ist erstmals ein *cycloSal*-Prodrug von HPMPc **11** vorhanden, das grundsätzlich für eine antivirale Anwendung geeignet ist. Es ist mit einer Halbwertszeit von 28.8 h (pH 7.3)

chemisch sehr stabil, wobei diese Stabilität die Abspaltung der *cycloSal*-Einheit beschreibt. In Medien mit hohen Enzymkonzentrationen sinkt diese in einen Bereich von wenigen Minuten. Diese Labilität bezieht sich hier aber auf die der Pivalinsäureestereinheit. Die Freisetzung der OH-Gruppe bewirkt dann die schnelle Freisetzung von HPMPc **11**, die Halbwertszeit des Prodrugs **107c** beträgt nach der Esterspaltung nur noch 23 min. Dieses hervorragende Ergebnis konnte allerdings nur in Leberextrakten erzielt werden, die eine deutlich erhöhte Esterasenkonzentration aufweisen. In CEM/O-Zellen ist die Esteraseaktivität zu gering, um die Zerfallskaskade des HPMPc-Prodrugs **32b** einzuleiten. Deshalb ist es vielleicht möglich, mit 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-piv-HPMPc **32b** eine hohe HPMPc-Konzentration in der Leber zu erzeugen, weil nur hier das Prodrug aktiviert werden kann. Das könnte für einige Therapieansätze interessant sein, wenn Viren bekämpft werden sollen, die in der Leber kumuliert sind, wie beispielsweise Hepadnaviren. Welche Möglichkeiten das neue Prodrug **32b** aber letztendlich bietet, werden aber antivirale *in vitro*-Tests ergeben. Zum Abschluss dieser Arbeit lagen allerdings noch keine Testergebnisse vor.

4.5 Die Synthese von *cycloSal*-Nucleotiden mit optimierter Maske

C. Ducho entwickelte in seiner Doktorarbeit einen Salicylalkohol **23c**, mit dem ein *cycloSal*-d4T-Pronucleotid **29** (Abb. 15, S. 17) synthetisiert wurde, das vier positive Prodrug-Eigenschaften erfüllt. Es liefert selektiv d4TMP **22a** bei der Hydrolyse; die chemische Hydrolysestabilität liegt in einem guten Anwendungsbereich; das Prodrug kann effektiv Zellmembranen durchdringen und es inhibiert das Enzym Butyrylcholinesterase (BChE) nur in geringem Maße.⁴¹ Die Entwicklung der Maske 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsalicylalkohol **23c** ist das Ergebnis einer langen Optimierungsarbeit. Mit ihr wurden bisher nur d4T **3** und BVDU **8** in die entsprechenden *cycloSal*-Pronucleotide überführt. Ein Teilprojekt dieser Arbeit ist die Darstellung von Pronucleotiden anderer antiviral aktiver Nucleosidanaloga mit optimierter Maske. Gewählt wurden die Nucleosidanaloga AZT **1**, Acyclovir **7**, 2',3'-Didesoxyadenin (ddA) **33** und 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydroadenin (d4A) **34**. Besonders die Anwendung der optimierten Maske auf ddA **33** und d4A **34** ist von großem Interesse, denn 3-Me-*cycloSal*-ddAMP **129a** und 3-Me-*cycloSal*-d4AMP **129b** sind starke Inhibitoren der BChE.⁷⁴ Es sollte überprüft werden, ob diese Inhibition durch den Einsatz der optimierten Maske vermindert werden kann.

Die Synthese der entsprechenden Pronucleotide sollte über die standardisierte P(III)-Route erfolgen (Abb. 128).^{41,75}

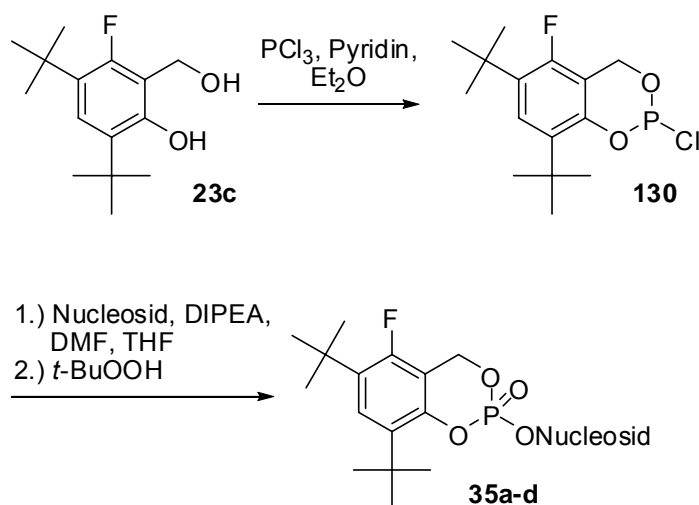


Abb. 128 Die Synthese von 3,5-Di-*t*-Bu-6-F-*cycloSal*-Pronucleotiden **35a-d**

Alle gewünschten Prodrugs **35a-d** mit optimierter Maske **23c** konnten mit dieser Methode dargestellt werden. Bei der Synthese des Acyclovir-Prodrugs wurde N-DMTr-ACV⁷⁶ **131** als geschütztes Nucleosid verwendet, da ungeschütztes ACV **7** in nahezu allen Lösungsmitteln schlecht löslich ist. Die Entschützung erfolgte in Ethanol mit 10 % Trifluoressigsäureanteil.

Triester	Nucleosid	Ausbeute [%]	Diastereomeren- verhältnis	t _{1/2} (pH 7.3) [h]
35a	ACV 7	13	-	3.7
35b	AZT 1	34	1 : 0.9	2.2
35c	ddA 33	18	1 : 0.4	10.3
35d	d4A 34	25	1 : 0.8	4.3

Tab. 13 Daten zu den 3,5-Di-*t*-Bu-6-F-*cycloSal*-Pronucleotiden **35a-d**

In Tab. 13 sind Ausbeuten, Diastereomerenverhältnisse und Halbwertszeiten der Zielverbindungen **35a-d** abgebildet. Die Ausbeuten liegen im unteren Bereich für diese Synthesemethode, aber es stand immer genügend Substanzmenge zur Charakterisierung der Verbindungen zur Verfügung.

Die Hydrolysehalbwertszeiten liegen in einem eher niedrigen Bereich. Bis auf den ddA-Phosphatriester **35c** liegen alle Werte unter dem von 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-Fluor-*cycloSal*-d4TMP **29** (t_{1/2} = 6.2 h). Ob das die antiviralen Eigenschaften beeinträchtigt, werden die antiviralen Testergebnisse zeigen. Auffällig ist bei der Betrachtung der Halbwertszeiten, dass zwei strukturell fast identische Verbindungen sehr unterschiedliche Halbwertszeiten besitzen. 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-Fluor-*cycloSal*-d4AMP **35d** hat eine nicht einmal halb so große Halbwertszeit wie der entsprechende ddA-Phosphatriester **35c**, obwohl die beiden Verbindungen sich nur im Glycon unterscheiden. Ein möglicher Grund sind die unterschiedlichen Diastereomerenverhältnisse die bei beiden Prodrugs **35c,d** aufgetreten sind. Diese Vermutung konnte aber nicht bestätigt werden, da die Diastereomere nicht getrennt werden konnten.

Mit der erfolgreichen Synthese der Zielverbindungen mit optimierter Maske **23c** konnte nun untersucht werden, ob eine Verringerung der BChE-Inhibition beobachtet werden

konnte. Die neuen Prodrugs wurden dabei mit den entsprechenden 3-Me-*cycloSal*-Pronucleotiden **129a-d** verglichen.

Verbindung	IC ₅₀ [μM]
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-f- <i>cycloSal</i> -ACVMP 35a	>50
3-Me- <i>cycloSal</i> -ACVMP 129c	>50
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-f- <i>cycloSal</i> -AZTMP 35b	>50
3-Me- <i>cycloSal</i> -AZTMP 129d	40
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-f- <i>cycloSal</i> -ddAMP 35c	22
3-Me- <i>cycloSal</i> -ddAMP 129a	0.91
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-f- <i>cycloSal</i> -d4AMP 35d	31
3-Me- <i>cycloSal</i> -d4AMP 129b	1.2

Tab. 14 IC₅₀-Wert gegenüber BChE bei 5 min Reaktionszeit

In Tab. 14 ist zu erkennen, dass die Einführung der optimierten Maske einen deutlichen Anstieg der Inhibitorkonzentrationen bewirkt. Besonders 3-Me-*cycloSal*-ddAMP **129a** und -d4AMP **129b** sind sehr starke Inhibitoren der BChE. Ihre entsprechenden 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-Fluor-*cycloSal*-Triester **35c,d** sind dagegen nur noch schwache Inhibitoren. Das Konzept, die BChE-Inhibition durch sterisch anspruchsvolle Substituenten zu reduzieren, ist damit auch für diese Nucleoside erfolgreich. Bei AZT **1** konnte die schon geringe Inhibitoraktivität des 3-Me-*cycloSal*-Triesters **129d** vollständig beseitigt werden. *cycloSal*-Triester von ACV **7** besitzen keine Inhibitoreigenschaften gegenüber der BChE, vermutlich ist dafür ihre acyclische Struktur verantwortlich. Eine Bindung an das Enzym ist entropisch gegenüber den starren cyclischen Nucleosiden ungünstiger, da mehr Freiheitsgrade eingeschränkt werden. Dieses Phänomen wurde schon bei den acyclischen *cycloSal*- **30a,b** und *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **30a-c** beobachtet.⁷⁷ Die neuen Prodrugs **35b-d** weisen erheblich verbesserte Eigenschaften hinsichtlich ihrer BChE-Inhibitoraktivität auf, nun sollten noch ihre antiviralen Eigenschaften untersucht werden.

Verbindung	EC ₅₀ ^a [μM]		
	HIV-1	HIV-2	Vaccinia
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-F-cS-ACVMP 35a	>10	>50	4.8
ACV 7	>250	>250	200
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-F-cS-AZTMP 35b	0.006	0.005	-
AZT 1	0.006	0.005	-
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-F-cS-ddAMP 35c	0.11 ± 0.01	0.19 ± 0.09	-
ddA 33	1.90 ± 0.95	3.67 ± 2.08	-
3,5-Di- <i>t</i> -Bu-6-F-cS-d4AMP 35d	0.15 ± 0.10	0.24 ± 0.02	-
d4A 34	>50	>50	-

^a50 % effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation

Tab. 15 Antivirale Daten von *cycloSal*-Triestern mit optimierter Maske **35a-d**

Die in Tab. 15 angegebenen Daten zeigen deutlich, dass die Pronucleotide **35a-d** erheblich stärkere antivirale Aktivität besitzen als die Ausgangsnucleoside. Eine Ausnahme bildet dabei der AZT-Triester **35b**. Die antivirale Aktivität entspricht genau der von AZT **1**. Wegen der niedrigen Halbwertszeit des Triesters **35b** ist deshalb davon auszugehen, dass das Prodrug **35b** zum AZT-MP **22b** hydrolysiert wird. Dieses wird dann von Phosphatasen dephosphoryliert und es wird AZT **1** gebildet. Dieser Vorgang ist für die identische antivirale Aktivität von Prodrug **35b** und Nucleosid **1** verantwortlich. Das Nucleosidanalogen d4A **34** ist gegen HIV inaktiv. Der erste enzymatische Phosphorylierungsschritt ist derart gehemmt (Abb. 7, S. 8), dass das biologisch aktive Triphosphat erst gar nicht entstehen kann. Beim ddA **33** ist die Situation ähnlich, es zeigt aber immerhin geringe Aktivität gegen HIV.^{78,79} Die entsprechenden *cycloSal*-Triester **35c,d** zeigen dagegen starke Aktivität gegen HIV. Die Aktivität von ddA **33** wird ca. um den Faktor 20 verbessert und das inaktive d4A **34** ist in seiner Pronucleotidform **35d** mit optimierter *cycloSal*-Maske ein Wirkstoff im nanomolaren Konzentrationsbereich. ACV **7** und der ACV-Triester **35a** besitzen erwartungsgemäß keine Aktivität gegen HIV. Allerdings kann auch diese *cycloSal*-Verbindung **35a** überzeugen. ACV **7** ist

gegen das Vaccinia-Virus nahezu inaktiv, während das *cycloSal*-Pronucleotid **35a** erhebliche Aktivität zeigt.

Mit der Synthese der neuen *cycloSal*-Pronucleotide **35a-d** mit optimierter Maske konnten Prodrugs dargestellt werden, die hinsichtlich ihrer Eigenschaften sehr interessant sind: Sie sind schwache BChE-Inhibitoren, wobei sie erhebliches antivirales Potential besitzen. Die gute Eignung von 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsalicylalkohol **23c** für die Maskierung von d4TMP **22a** konnte jetzt auch für andere Nucleosidanaloga bestätigt werden.

4.6 Die Synthese von CNI-1493 (*N,N'*-bis[3,5-bis[1(Aminoimino-methyl)hydrazonoethyl]phenyl]decandiamid Tetrahydrochlorid) **12**

Das Hydrazon CNI-1493 **12** zeigt antivirale Aktivität gegen HIV und ist damit in das Interesse der medizinischen Forschung gerückt. Die Arbeitsgruppe von Joachim Hauber am Heinrich-Pette-Institut des Universitätsklinikum Eppendorf in Hamburg beschäftigt sich mit diesem interessanten Wirkstoff.

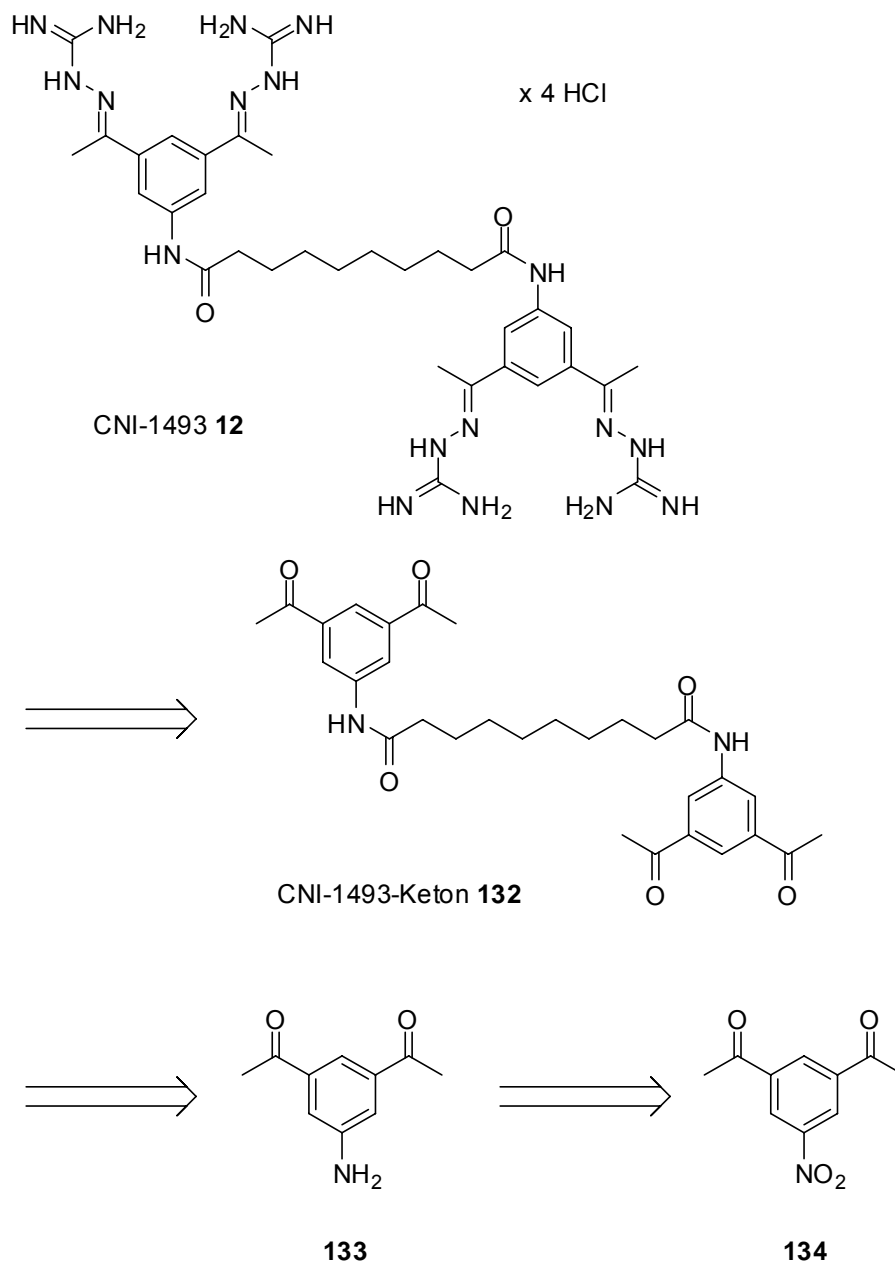


Abb. 129 Die Synthesestrategie für CNI-1493 **12**

Um der Gruppe tiefergehende Forschung zu ermöglichen, sollten ca. 0.5 g der Substanz synthetisiert werden. Eine Synthesevorschrift von CNI-1493 **12** wurde bisher noch nicht publiziert. Es gibt lediglich Patentvorschriften für CNI-1493 **12** und das Keton **132**, aus dem das Zielmolekül **12** dargestellt wird.⁸⁰ Dieses Keton **132** wird wegen der Länge des systematischen Namens im Folgenden als „CNI-1493-Keton“ **132** bezeichnet. In Abb. 129 (vorherige Seite) ist die Synthesestrategie für CNI-1493 **12** abgebildet.

Die ersten beiden Stufen sind die Darstellung von 3,5-Diacetylnitrobenzol **134** und die anschließende Reduktion zum 3,5-Diacetylanilin **133**. Die Synthese ist literaturbekannt.⁸¹ Zur Darstellung von 3,5-Diacetylnitrobenzol **134** wurde Diethylmalonat **135** mit Magnesiummethanolat deprotoniert. Das deprotonierte Malonat wurde dann mit 5-Nitroisophthalsäuredichlorid **136** umgesetzt und durch Behandlung mit Säure decarboxyliert. Im Grundpraktikum in Organischer Chemie der Universität Hamburg wurde versucht, mit Studenten diese recht einfache Versuchsvorschrift zu reproduzieren. Bei der Durchführung der Versuche konnte allerdings nur der 5-Nitroisophthalsäurediethylester **137** isoliert werden (Abb. 130).

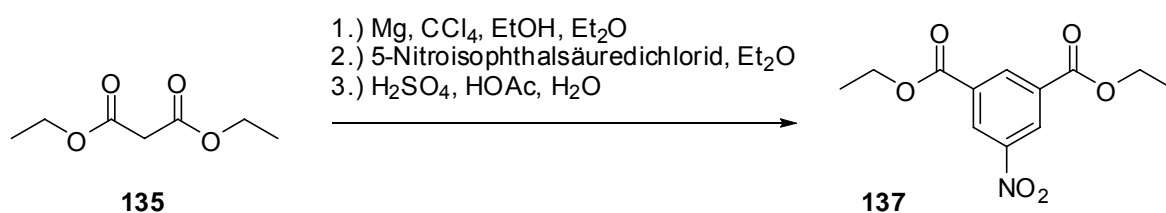


Abb. 130 Die unerwünschte Darstellung von 5-Nitroisophthalsäurediethylester **137**

Hierbei hat offensichtlich nicht das deprotonierte Malonat das Säurechlorid **136** angegriffen, sondern die Base Ethanolat bzw. das Lösungsmittel Ethanol. Aufgrund dieser Erfahrung sollte das Malonatanion auf einem anderen Weg erzeugt werden. Ansonsten sollte die Syntheseroute beibehalten werden. Malonatanionen lassen sich auch mit Natriumhydrid erzeugen,⁸² was hier zum Einsatz kommen sollte.

Das für die Reaktion benötigte 5-Nitroisophthalsäuredichlorid **136** wurde durch Refluxieren von 5-Nitroisophthalsäure **138** in Thionylchlorid frisch hergestellt. Die Deprotonierung des Diethylmalonats **135** mit Natriumhydrid wurde in THF durchgeführt. Nach heftiger Gasentwicklung wurde eine klare Lösung erhalten. In diesen Ansatz wurde eine Lösung aus Säuredichlorid **136** in THF zugetropft. Dabei trat eine Trübung durch Niederschlagsbildung und starke Erwärmung bis zum Sieden auf. Nach an-

schließlichem Refluxieren wurde das gewünschte Produkt **133** nach wässriger Aufarbeitung und Chromatographie in 34 % Ausbeute isoliert (Abb. 131).

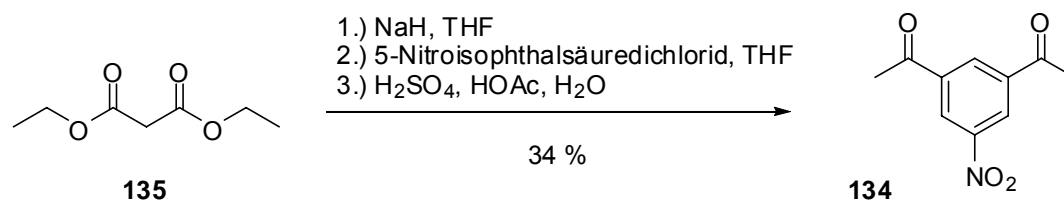


Abb. 131 Die Synthese von 3,5-Diacetylnitrobenzol **133**

Eine mögliche Erklärung für diese niedrige Ausbeute besteht vielleicht darin, dass das Refluxieren bereits nach zwei Stunden beendet wurde, weil das Reaktionsgemisch sehr viskos wurde und ein Rühren nicht mehr möglich war. In der Literatur wurde bei einer vergleichbaren Reaktion 16 Stunden zum Sieden erhitzt. Möglicherweise kann die Ausbeute von 34 % noch deutlich erhöht werden, wenn etwas mehr Lösungsmittel verwendet wird und länger erhitzt wird. Eine Verbesserung der Ausbeute wurde zunächst nicht angestrebt, da genügend Substanz **134** verfügbar war, um die Synthese fortzusetzen. Die Reduktion der Nitrogruppe wurde wie in der Literatur beschrieben durchgeführt. 3,5-Diacetylnitrobenzol **134** wurde in konzentrierter Salzsäure mit Zinn(II)chlorid zum Anilin **133** umgesetzt (Abb. 132).

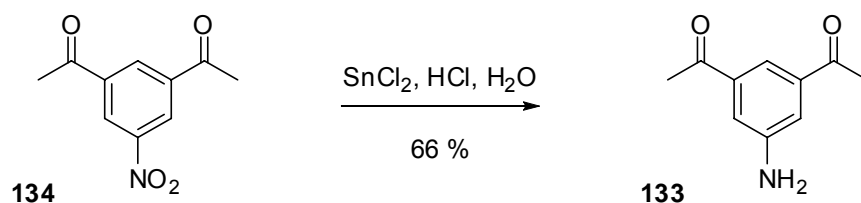


Abb. 132 Die Reduktion von 3,5-Diacetylnitrobenzol **133**

Die Darstellung gelang in 66 % Ausbeute ohne Probleme bei Reaktionsführung und Aufarbeitung. Nun konnte versucht werden, das CNI-1493-Keton **132** darzustellen. Dazu wurde auf Patentvorschriften zurückgegriffen. Zur Bildung der Amidbindung sollte 3,5-Diacetylanilin **133** mit Sebacinsäuredichlorid **139** in Gegenwart von Pyridin in Dichlormethan umgesetzt werden. Die Darstellung von CNI-1493-Keton **132** gelang auf diese Weise in 55 % Ausbeute (Abb. 133).

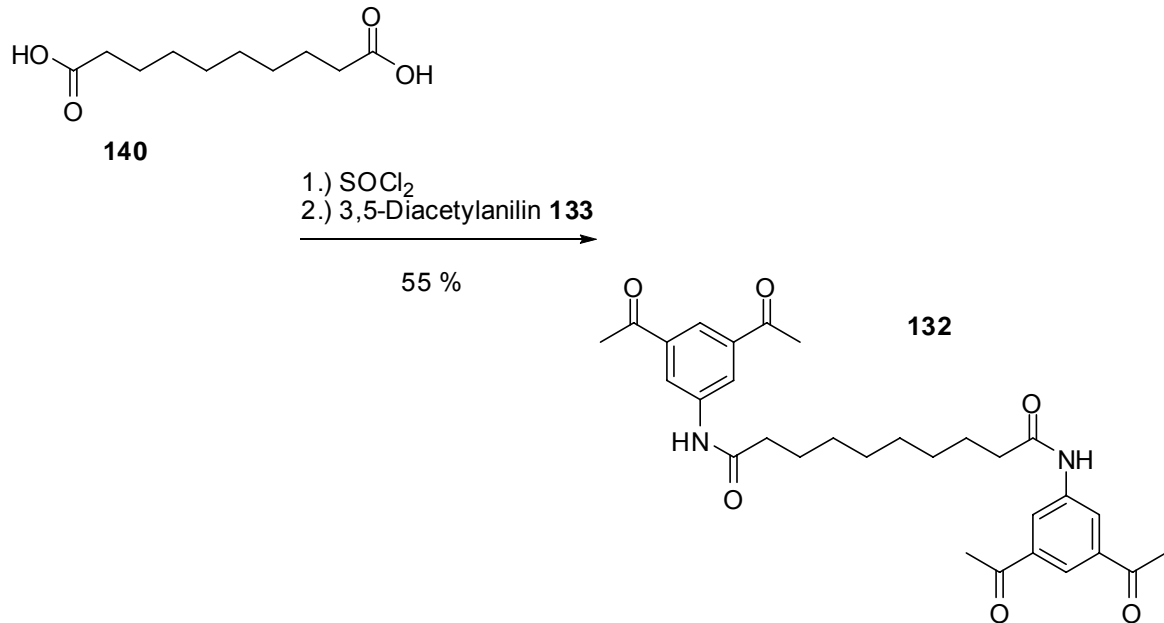


Abb. 133 Die Synthese von CNI-1493-Diketon **132**

Anzumerken ist, dass vor der Synthese das Sebacinsäurechlorid **139** frisch hergestellt wurde. Die Reaktionsaufarbeitung stellte sich als sehr angenehm heraus. CNI-1493-Keton **132** fiel aus der Reaktionslösung aus und konnte durch einfaches Filtrieren und Waschen in hoher Reinheit isoliert werden. Das Zielmolekül CNI-1493 **12** sollte dann durch Umsetzung des CNI-1493-Ketons **132** mit Aminoguanidin **141** dargestellt werden. Die Hydrazonbildung sollte unter Säurekatalyse erfolgen. Dazu wurde das Keton **132** in einem Ethanol/Wasser-Gemisch (9 : 1) aufgenommen und Aminoguanidin **141** Hydrochlorid zugegeben. Da das kommerziell erhältliche Aminoguanidin **141** als Hydrochlorid vorlag, wurde zunächst keine weitere Säure zugegeben. Es wurde danach gerührt und die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Es wurde festgestellt, dass das Edukt **132** nicht abreagierte und kein neues Produkt entstand. Deshalb wurde das Gemisch zum Sieden erhitzt. Jetzt begann zumindest die Bildung eines neuen deutlich polaren Produktes. Allerdings war das Edukt **132** noch deutlich zu detektieren. Erst nach Zugabe eines Tropfens konzentrierter Salzsäure und weiteren Refluxierens konnte die schnelle und vollständige Umsetzung des Eduktes **132** beobachtet werden. CNI-1493 **12** konnte danach in einer Ausbeute von 77 % isoliert werden (Abb. 134).

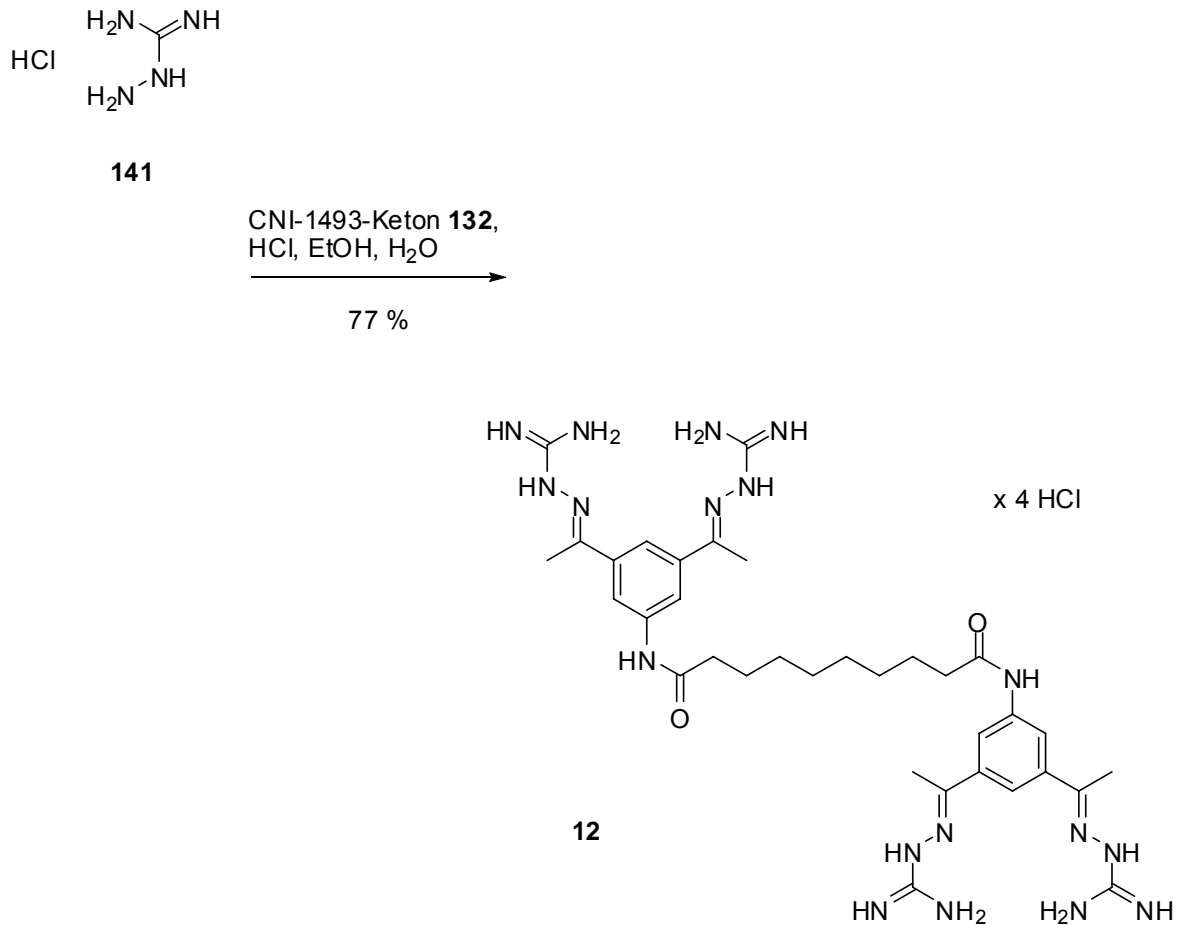


Abb. 134 Die Darstellung von CNI-1493 **12**

Erneut war hier die Aufarbeitung sehr angenehm. Das Produkt **12** konnte bei - 26 °C aus der Reaktionslösung ausgefällt und danach durch Filtrieren und Waschen rein isoliert werden.

Insgesamt wurden 659 mg CNI-1493 **12** hergestellt, die der Arbeitsgruppe von Joachim Hauber zur Verfügung gestellt wurden. Es konnte also eine Synthese etabliert werden, mit der die Darstellung von für Forschungszwecke größeren Mengen CNI-1493 **12** möglich ist. Die Gesamtausbeute über alle Stufen lag allerdings nur bei 10 %. Mit einer Optimierung der ersten Stufe sollte sich dieser Wert aber deutlich steigern lassen.

5 Zusammenfassung

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit beschreibt die Optimierung lipophiler Masken, die auf Basis des *cycloSal*-Konzepts für eine Prodrug-Anwendung auf Nucleosidphosphonate geeignet sein sollen.

Die Optimierung der Masken wurde mit PMEAs **9** durchgeführt, da es in großen Mengen synthetisch verfügbar gemacht werden konnte. Zunächst sollte die Eignung von *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d** für die antivirale Anwendung getestet werden. Vielversprechende Eigenschaften dieser Verbindungen **31a-d** waren bereits bekannt, aber aufgrund von Schwierigkeiten bei der Synthese konnten sie bisher nicht in *in vitro*-Systemen untersucht werden. Als erste Aufgabe dieser Arbeit wurde deshalb eine neue Synthese für die Darstellung von *cycloAmb*-PMEA-Verbindungen **31a-d** entwickelt. Mit dem neuen Syntheseprotokoll wurden Ausbeuten von bis zu 42 % erzielt (Abb. 135).

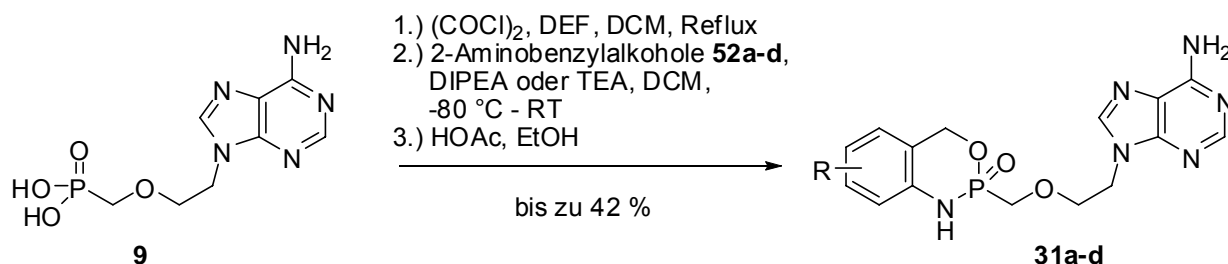


Abb. 135 Die Synthese für *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d**

Es wurden z. T. auch niedrigere Ausbeuten erzielt, aber es konnte stets genügend Substanz von den verschiedenen *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d** dargestellt werden, um antivirale Tests durchzuführen. Bei der Betrachtung der antiviralen Testergebnisse stellte sich heraus, dass die *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d** die antivirale Aktivität gegenüber der Stammverbindung PMEAs **9** nicht verbessern. Verantwortlich dafür ist mit großer Wahrscheinlichkeit die Bildung eines sehr stabilen Intermediates **57**, das nur sehr langsam PMEAs **9** freisetzt (Abb. 38, S. 38). Ziel war deshalb die Destabilisierung des Intermediats **57**, um die PMEAs-Freisetzung zu beschleunigen. Das sollte durch Substitution der aromatischen Maske bewirkt werden (Abb. 136).

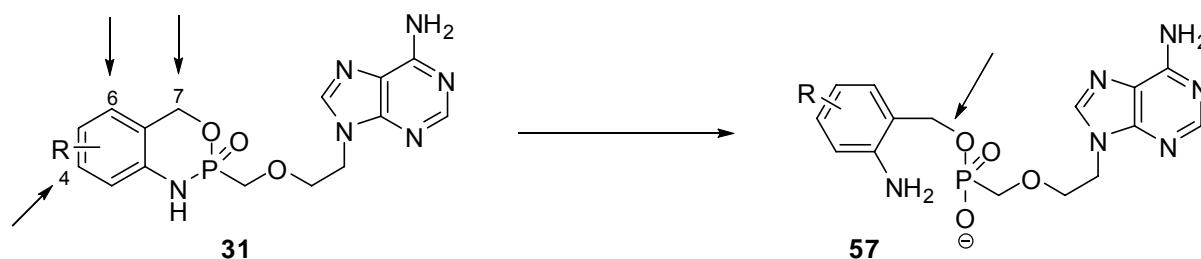


Abb. 136 Die mögliche Destabilisierung des Hydrolyseintermediats **57**

Es wurden zunächst Methylgruppen in den Arylpositionen 4 und 6 eingeführt, die para- bzw. ortho-ständig zur Benzylposition stehen. Damit sollte die Bildung eines Benzylkations gefördert werden, dessen Bildung zur PMEAs-Freisetzung führt. Die neuen Verbindungen **59a,b** zeigten allerdings das gleiche Verhalten wie die bisher untersuchten *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d** (Kapitel 4.2.4, S. 43). Deshalb wurde in der nächsten Stufe die Benzylposition methyliert. Aber selbst die zweifache Methylierung der Benzylposition konnte den Hydrolysemechanismus nicht beeinflussen. Stattdessen wurde der Initialschritt, die Bildung des Hydrolyseintermediats **57**, stark verlangsamt (Kapitel 4.2.5, S. 46). Das wurde mit der zunehmenden sterischen Abschirmung des Phosphoratoms durch die Substituenten in der Benzylposition erklärt. Die Erhöhung der Halbwertszeiten durch lipophile Substituenten in der Benzylposition ist in der *cycloSal*-Chemie unbekannt, da die Methylierung bei *cycloSal*-d4TMP-Prodrugs **20** zum schnellen C-O-Bindungsbruch in der Benzylposition geführt hatte. Diese neue Erkenntnis wurde auf die *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **30** übertragen. Es wurden 3-*tert*-Butyl-Salicylalkohole **71** dargestellt, die in der Benzylposition Alkylsubstituenten verschiedener Größen tragen. Als Substituenten wurden Methyl-, *n*-Butyl-, *iso*-Propyl- und *tert*-Butyl gewählt. Die Kondensation dieser neuen Salicylalkohole **71** mit PMEAs **9** zur Erzeugung der neuen benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d** konnte genauso durchgeführt werden wie die Synthese der *cycloAmb*-PMEA-Prodrugs **31a-d**. Die erzielten Ausbeuten waren in der gleichen Größenordnung wie bei den Kondensationen von PMEAs **9** mit 2-Aminobenzylalkoholen **52** (Kapitel 4.2.6, S. 54). Die neuen PMEAs-Prodrugs **74a-d** wurden zunächst auf ihren Hydrolysemechanismus hin untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Prodrugs **74a-d** bei der Hydrolyse selektiv den Wirkstoff PMEAs **9** freisetzen. Stabilere nachweisbare Intermediate oder gar Nebenprodukte wurden nicht beobachtet (Kapitel 4.2.6, S.51). Neben ihrer selektiven Hydrolyse zeigten die benzylsubstituierten 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74a-d** höhere Halbwertszeiten als das unsubstituierte 3-*tert*-Butyl-*cycloSal*-

PMEA **30b**, das Christian Müller in seiner Dissertation synthetisiert und charakterisiert hatte. Das unsubstituierte Prodrug **30b** hatte eine Halbwertszeit von 4.1 Stunden. Dieser Wert konnte durch die Einführung einer *tert*-Butyl-Gruppe in die Benzylposition auf 13.6 Stunden gesteigert werden (Kapitel 4.2.6, S. 55). Je größer und verzweigter der Alkylsubstituent in der Benzylposition, desto höher ist die Halbwertszeit. Durch die neue Maskierung von PMEA **9** mit benzylsubstituierten Salicylalkoholen **74** konnten auch die antiviralen Daten gegenüber PMEA **9** verbessert werden. Den besten Wert zeigte 3-*tert*-Butyl-7-methyl-*cycloSal*-PMEA **74a**, das in seiner antiviralen Aktivität gegen HIV-1 um den Faktor 5 aktiver ist als PMEA **9**. Erstaunlicherweise war die schwächste antivirale Aktivität bei der stabilsten Verbindung, 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA **74d**, zu finden (Kapitel 4.2.6, S. 56). Offensichtlich sind die optimalen Halbwertszeiten für *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** deutlich niedriger als die der bisher bekannten *cycloSal*-Pronucleotide **20**. Die hervorragenden mechanistischen Eigenschaften der benzylsubstituierten PMEA-Prodrugs **74a-d** schlugen sich mit der lediglich fünffachen Verbesserung noch nicht wie erhofft in den antiviralen Daten nieder. Deshalb sollte untersucht werden, ob durch die Erhöhung der Lipophilie der Prodrugs eine weitere Verbesserung möglich ist. Dazu wurde eine weitere *tert*-Butylgruppe an der aromatischen Maske eingeführt. Als Benzylsubstituenten wurde die vorher eingesetzte Serie verwendet. Von den neuen benzylsubstituierten 3,5-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-PMEA-Prodrugs **76a-d** zeigte 3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*n*-butyl-*cycloSal*-PMEA **76b** die besten antiviralen Daten (Kapitel 4.2.8, S. 66). Mit dieser Verbindung konnte die Aktivität im Vergleich zu PMEA **9** um den Faktor 10 gesteigert werden. Dieses Prodrug **76b** war mit einer Halbwertszeit von 3.2 Stunden ebenfalls relativ labil. Deutlich an Aktivität verloren die etwas stabileren Prodrugs **76c,d** mit größeren und verzweigteren Substituenten in der Benzylposition. Vermutlich bestimmt die Hydrolysehalbwertszeit der Verbindungen nicht allein die antiviralen Eigenschaften. Möglicherweise verlieren größere sperrigere Prodrugs an Membrangängigkeit. Vielleicht sind die antiviralen Daten auch deshalb so schwierig zu interpretieren, weil die benzylsubstituierten PMEA-Verbindungen **74a-d** und **76a-d** immer als Gemische von zwei Diastereomeren vorliegen, die jeweils aus einem Racemat bestehen. Damit liegen die Prodrugs **74a-d** und **76a-d** als Gemisch von vier Verbindungen vor, von denen alle unterschiedliche antivirale Eigenschaften besitzen können. Das machte es natürlich schwierig, die Prodrugs **74a-d** und **76a-d** miteinander zu vergleichen. Trotz dieser Schwierigkeiten gelang es aber, mit der Einführung der benzylsubstituierten Salicylalkohole ein Maskensystem zu entwickeln,

das in der Lage ist, den Wirkstoff PME A **9** effektiv bei der Hydrolyse freizusetzen. Die antiviralen Daten konnten mit dieser neuen Maskierung um einen Faktor von bis zu 10 verbessert werden. Damit besteht nun eine interessante Möglichkeit für die Maskierung von Nucleosidphosphonaten auf Basis des *cycloSal*-Konzepts.

Eine zusätzliche Erweiterung sollte in Anlehnung an die *cycloAmb*-PME A-Prodrugs **31a-d** untersucht werden. Nun sollte das benzyliche Sauerstoffatom durch ein Stickstoffatom in der *cycloSal*-Einheit ersetzt werden, um stabilere Prodrugs zu erzeugen. Bei der Synthese der unsubstituierten Verbindung **85** kam es zu einer überraschenden Entdeckung: Nicht Verbindung **85** wurde isoliert, sondern 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PME A **88a** (Abb. 137).

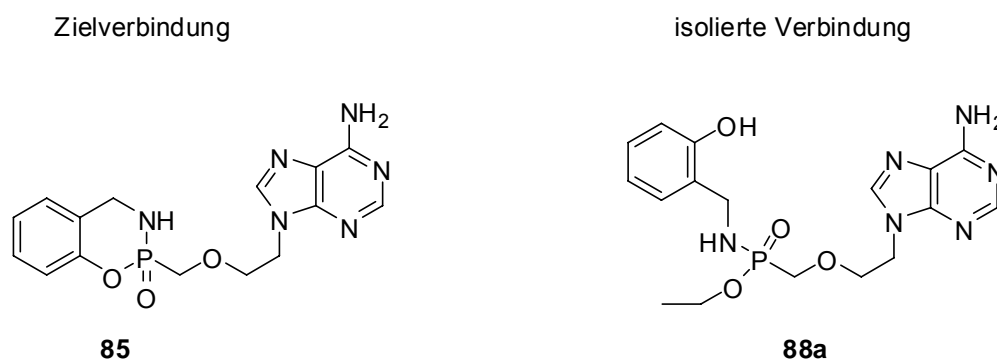


Abb. 137 Die Ersetzung des benzylichen Sauerstoffatoms durch Stickstoff

Bei der Kupplung von 2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86a** mit PME A **9** unter Standardbedingungen wurde nach Entschützung mit Essigsäure/Ethanol das Additionsprodukt des gewünschten Prodrugs **88a** isoliert (Kapitel 4.2.10, S. 76). Offensichtlich war durch Protonierung des benzylichen Stickstoffatoms das Phosphoratom aktiviert, und es erfolgte ein nucleophiler Angriff des Lösungsmittels Ethanol. Es wurde nun nicht versucht, die eigentliche Zielverbindung **85** auf einem anderen Syntheseweg darzustellen. Stattdessen wurde die neue, zunächst unerwünschte Verbindung **88a** auf ihre Prodrugeigenschaften getestet. Es wurde beobachtet, dass 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PME A **88a** in der Lage ist, PME A **9** hydrolytisch freizusetzen. Dies geschieht wie bei den *cycloAmb*-PME A-Prodrugs **31a-d** ebenfalls über ein sehr stabiles Hydrolyseintermediat **89** (Kapitel 4.2.10, S. 78). Die Bildung des Hydrolyseintermediats **89** erfolgte mit einer Halbwertszeit von 84 Stunden. Die antiviralen Daten von 2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PME A **88a** entsprechen ungefähr denen von PME A **9** (Kapitel 4.2.10, S. 80). Das ist völlig überraschend angesichts der Tatsache, dass die

Halbwertszeit sehr hoch ist und die Hydrolyse über ein sehr stabiles Intermediat **89** verläuft. Die Halbwertszeit konnte durch Einführung von Akzeptorsubstituenten verringert werden. Mit zwei Chlorsubstituenten konnte sie auf 40 Stunden gesenkt werden. So konnte die antivirale Aktivität gegenüber PMEA **9** mehr als verdoppelt werden. Eine weitere Senkung der Halbwertszeit durch Einführung von Nitrosubstituenten gelang leider nicht. Warum die Verbindung **88a** durch Einführung von Akzeptorsubstituenten destabilisiert werden konnte, wurde nicht geklärt. Offensichtlich führt aber die Erhöhung der Azidität der phenolischen OH-Gruppe zu einer Beschleunigung der Hydrolyse, denn im Falle der Deprotonierung könnte das Phenolat besser das Phosphoratom intramolekular nucleophil angreifen als Phenol selbst.

Die gewonnenen Erkenntnisse über die Maskierung von Nucleosidphosphonaten wurden auch auf das synthetisch anspruchsvollere HPMPC **11** übertragen. Die Synthese von HPMPC-Prodrugs **32** ist wesentlich schwieriger, da HPMPC **11** über eine zusätzliche OH-Gruppe verfügt.

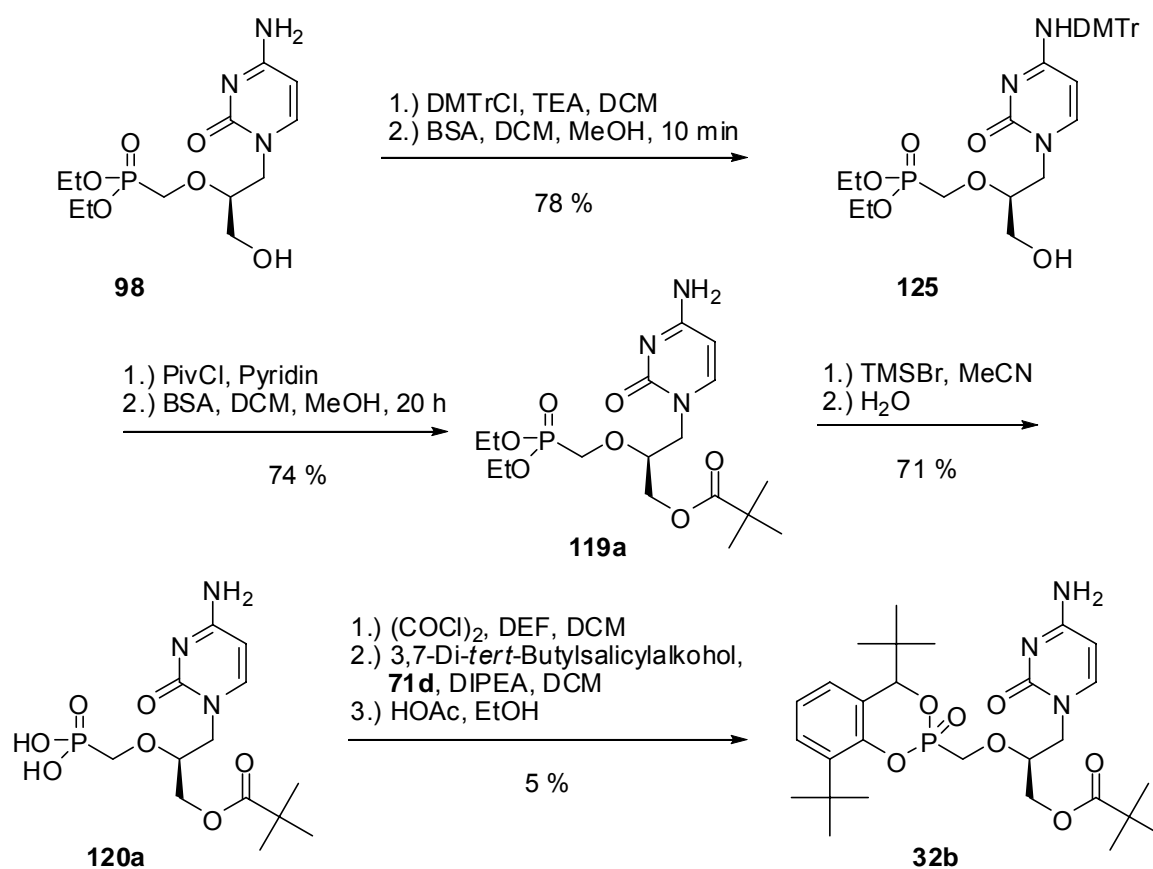


Abb. 138 Die Synthese von 3,7-Di-*tert*-Butyl-cycloSal-O-piv-HPMPC **32b**

Es wurde eine Syntheseroute entwickelt, die die Darstellung von *cycloSal*-HPMPC-Prodrugs **32b** mit pivaloylgeschützter OH-Gruppe ermöglicht (Abb. 138). Die Synthese geht von HPMPC-Diethylester **98** aus. Dieser wurde *N*-DMTr-geschützt, wobei ausgenutzt wurde, dass die DMTr-Schutzgruppe auf einer Aminogruppe deutlich stabiler ist als eine auf einer Hydroxygruppe. Danach wurde die freie Hydroxygruppe mit Pivalinsäurechlorid verestert und die DMTr-Schutzgruppe im Anschluss sauer abgespalten. Mit der Behandlung des resultierenden *O*-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** mit Bromtrimethylsilan konnte *O*-Piv-HPMPC **120a** dargestellt werden. Eine Carbonsäureesterspaltung als Konkurrenzreaktion wurde nicht beobachtet. Das trat bei der etwas labileren *iso*-Butyrylesterbindung auf, weshalb die Anwendung dieser Synthesemethode auf Pivalinsäureester beschränkt blieb. Bei der Kondensation von *O*-Piv-HPMPC **120a** mit Salicylalkoholen **71** konnte nun die Standardsynthese für *cycloSal*-Nucleosidphosphonat-Prodrugs ihre Anwendung finden, da die OH-Gruppe geschützt vorlag. Es wurde mit mehreren Salicylalkoholen **71** gearbeitet, aber nur die Kondensation von 3,7-Di-*tert*-Butylsalicylalkohol **71d** glückte (Kapitel 4.4.9, S. 117). Es wurden lediglich 5 % Ausbeute erzielt und die Substanz konnte nur durch präparative HPLC gereinigt werden. Die Synthese sollte deshalb überarbeitet werden, allerdings stand dafür zu wenig *O*-Piv-HPMPC **120a** zur Verfügung. Erfreulicherweise reichte die geringe Menge an 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-*O*-piv-HPMPC **32b** aus, um die enzymatische Stabilität der Pivalinsäureesterbindung zu untersuchen. Diese stellte sich als stabil heraus, wenn sie mit CEM/0-Zellextrakten behandelt wurde. Erst durch Erhöhung der Esterasenkonzentration wurde der Ester zügig gespalten. In Mausleberextrakten hatte die Esterbindung eine Halbwertszeit von unter fünf Minuten. Mit der Spaltung wurde ein sehr labiles Intermediat **128** gebildet, das mit einer Halbwertszeit von 23 Minuten HPMPC **11** liefert (Kapitel 4.4.9, S. 118). Bei dem Intermediat **128** handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um 3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-HPMPC **107c**. Ob dieser hervorragende Freisetzungsmechanismus wirklich nur auf Systeme mit extrem hoher Enzymkonzentration beschränkt bleibt, werden antivirale Tests ergeben, die zum Ende dieser Arbeit noch nicht vorlagen.

In einem weiteren Projekt dieser Arbeit sollte die Inhibition der BChE durch die *cycloSal*-Pronucleotide von AZT **1**, ddA **33** und d4A **34** unterbunden werden. Dazu sollte ein in seinen Eigenschaften optimierter Salicylalkohol **23c** verwendet werden, den Christian Ducho in seiner Doktorarbeit für die Maskierung von d4TMP **22a** entwickelt hatte. Die Triester mit der Standardmaske 3-Methylsalicylalkohol **23a** sind alle Inhibitoren der

BChE. 3-Me-*cycloSal*-AZTMP **129c** ist ein sehr schwacher Inhibitor, 3-Me-*cycloSal*-ddAMP **129a** und -d4AMP **129b** sind sehr starke. Durch Einführung der optimierten Maske 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsalicylalkohol **23c** konnte die Inhibition durch das AZT-*cycloSal*-Pronucleotid **35b** vollständig unterbunden werden. Das ddA- **35c** und das d4A-*cycloSal*-Pronucleotid **35d** sind nur noch schwache Inhibitoren. Damit konnte die Eignung der für die Anwendung auf d4TMP **22a** optimierten Maske **23c** auch für andere Nucleosidanaloga nachgewiesen werden.

In dieser Arbeit wurde das Gebiet der Nucleosid- bzw. Nucleotidanaloga durch die Synthese des nichtnucleosidischen anti-HIV-Wirkstoffs CNI-1493 **12** ergänzt. Es konnte eine Synthese etabliert werden, mit der die Substanz **12** im Gramm-Maßstab dargestellt werden kann. Damit wurde der Arbeitsgruppe von Joachim Hauber vom Heinrich-Pette-Institut des Universitätsklinikums Eppendorf tiefergehende Forschung mit diesem interessanten Wirkstoff ermöglicht.

6 Summary

This thesis deals with the application of the *cycloSal*-Pronucleotide approach to the nucleoside phosphonates PMEA **9**, PMPA **10** and HPMPC **11**.

Nucleoside phosphonates **9-11** are acids and in biological systems deprotonation occurs. These negative charged and polar compounds show very low membrane transition which leads to a low bioavailability. A prodrug approach can overcome these properties that stand in contrast to a successful antiviral application of compounds **9-11**. First, an effective synthesis method for *cycloAmb*- **31** and *cycloSal*-nucleoside phosphonate prodrugs **30** was developed. Using this new method the target compounds were obtained in yields up to 42 %. Compared to other nucleoside phosphonate prodrug synthesis this is a good value and the new synthesis yields prodrugs **31a-d** in preparative scale.

The properties of the new prodrugs **31a-d** were investigated by ³¹P-NMR-spectroscopy, HPLC-analysis and in anti-HIV-*in vitro*-assays. The hydrolysis of *cycloAmb*-PMEA-prodrugs **31a-d** led to a quite stable hydrolysis intermediate **57** that delivered the drug PMEA **9** very slowly. This unfavourable behaviour caused low antiviral activity against HIV. Attempts failed to destabilize the hydrolysis intermediate **57** to accelerate the delivery of PMEA **9**. This was tried by aromatic or benzylic substitution. It could be seen that substituents in the benzyl position slowed down the formation of hydrolysis intermediate **57**. This interesting result was used for the development of benzyl substituted *cycloSal*-PMEA-prodrugs **74a-d**. These compounds **74a-d** showed longer half lives compared to unsubstituted compound **30b** and delivered PMEA **9** directly without formation of any side products or stable intermediates. Using methyl- or *n*-butyl-substituents in the benzyl position the best antiviral data could be observed. The antiviral activity of parent compound PMEA **9** could be improved by the factor 5 - 10.

The synthesis of *cycloSal*-HPMPC-prodrugs **32** was much more difficult due to the additional OH-group of HPMPC **11**. That was converted to a pivalinic ester with the intent to form a biologically cleavable group. Those esters may be cleaved by esterases. One *cycloSal*-O-piv-HPMPC-prodrug **32b** was synthesized and investigated. In CEM/O cell extracts with low esterase concentration no cleavage of the pivalinic ester was observed. In liver cell extracts with higher enzyme concentrations the prodrug showed ideal behaviour: The ester unit was cleaved within a few minutes and HPMPC **11** was

delivered very quickly. The antiviral potency of compound **32b** is now investigated by the research group of Astrid Meerbach at the University of Jena. Data are not available at the end of this thesis.

An additional project of that thesis deals with the improvement of *cycloSal*-nucleotides with regard to their BChE-inhibition properties. BChE-inhibition causes loss of prodrugs by irreversible binding to the enzyme and causes physiologically adverse effects cannot be excluded. With an optimized *cycloSal*-mask **23c** developed by Christian Ducho during his Ph.D. thesis, the inhibitory behaviour of *cycloSal*-pronucleotides of AZT **1**, ddA **33** and d4A **34** were improved considerably. Especially the strong inhibitors 3-Me-*cycloSal*-ddAMP **129a** and -d4AMP **129b** were improved. The new 3,5-di-*tert*-butyl-6-fluoro-*cycloSal*-ddAMP **35c** and -d4AMP **35d** were only weak inhibitors. Additionally, the new compounds showed strong and interesting antiviral data.

Leaving the field of nucleoside chemistry, in this thesis a synthesis for the non-nucleoside analog CNI-1493 **12** could be established. Due to this strategy compound **12** can be easily synthesized in gram-scale amounts. So we are able to support the research work of Joachim Hauber's research group in the Heinrich-Pette-Institute.

7 Ausblick

In dieser Arbeit konnten *cycloSal*-Prodrugs von PMEAs **9** dargestellt werden, deren Stabilität durch die Größe der Substituenten in der Benzylposition einstellbar ist. Diese neuen *cycloSal*-Prodrugs **74** liefern ohne sichtbare Zwischen- oder Nebenprodukte selektiv den Wirkstoff PMEAs **9**. Damit ist der Weg frei, andere erfolgreiche Anwendungen des *cycloSal*-Konzepts auf die Nucleosidphosphonate zu übertragen. Ein Beispiel dafür ist das „lock-in“-Konzept. Dabei werden enzymatisch spaltbare Ester in die *cycloSal*-Maske eingeführt. Die im Zellinneren enzymatisch freigesetzte Carbonsäure liegt deprotoniert vor und ein Eflux des Prodrugs durch die lipophile Zellmembran ist nicht mehr möglich. Auf diese Weise werden die Prodrugs an ihrem Wirkort, nämlich im Zellinneren, angereichert. Abb. 139 zeigt zwei Beispiele für mögliche „lock-in“-modifizierte benzylsubstituierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **142**, **143**.

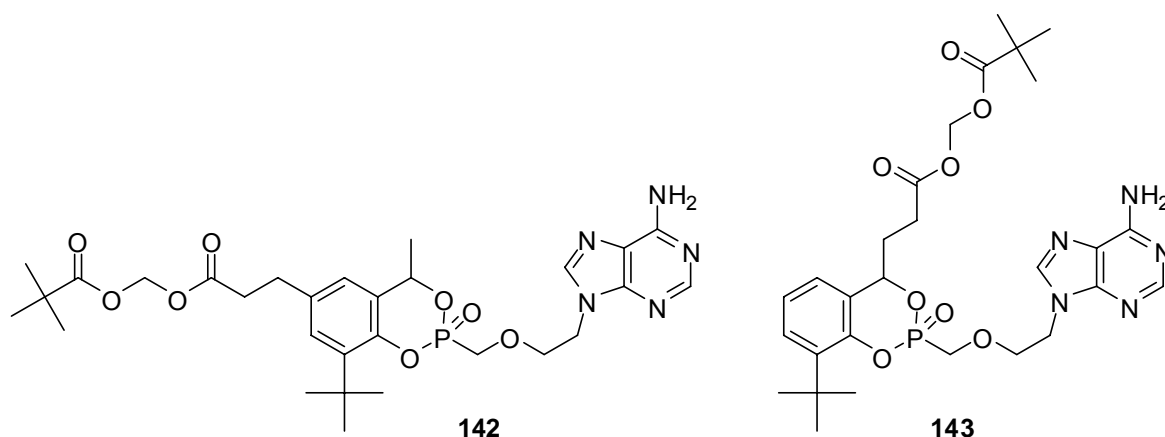


Abb. 139 „lock-in“-modifizierte benzylsubstituierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **142**, **143**

Neben einer Einführung weiterer Anwendungen auf benzylsubstituierte *cycloSal*-PMEA-Prodrugs **74** wäre auch eine Untersuchung der verschiedenen Stereoisomere interessant. Bei der Synthese der Prodrugs **74** fallen immer Diastereomergemische an. Damit besteht ein Prodrug **74** aus vier Stereoisomeren. Eine Möglichkeit, jedes einzelne Stereoisomer untersuchen zu können, besteht darin, die entsprechenden Salicylalkohole **71** enantiomerenrein darzustellen. Diese Salicylalkohole (+/-)-**71** müssten dann mit PMEAs **9** unter Standardbedingungen kondensiert werden. Die

entstandenen Diastereomere könnten dann möglicherweise getrennt werden (Abb. 140).

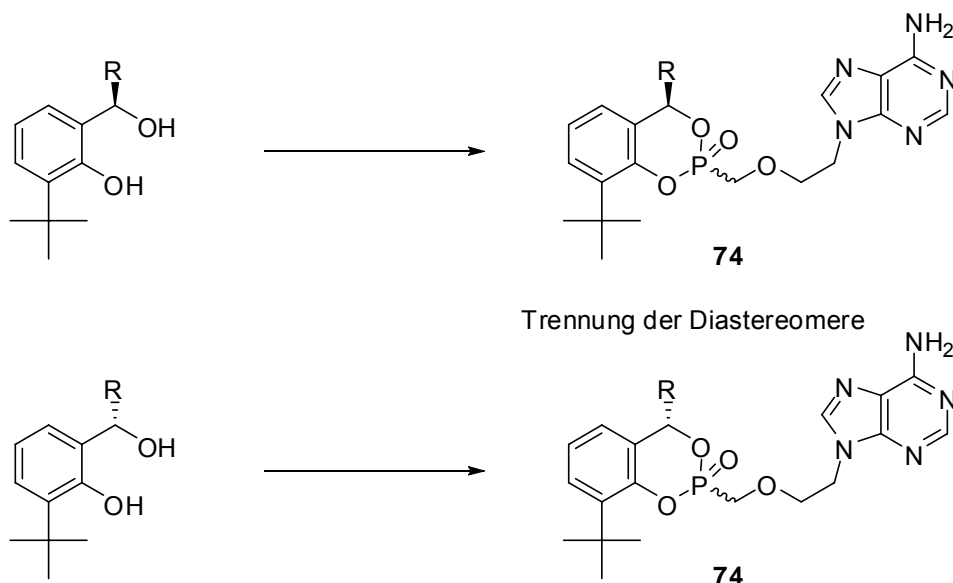


Abb. 140 Strategie zur Isolierung enantiomerenreiner PMEA-Prodrugs **74**

Diastereomerentrennungen von *cycloSal*-PMEA-Prodrugs wurden bisher nicht durchgeführt, weil zunächst der Test möglichst vieler Substituenten im Vordergrund stand und weil häufig nur geringe Substanzmengen zur Verfügung standen. Mit der Konzentration auf die Benzylsubstituenten, die bisher die besten antiviralen Daten gezeigt hatten und mit der Synthese größerer Mengen an Prodrugs sollte eine Diastereomerentrennung an der präparativen HPLC durchführbar sein. Bisher wurde durch Verwendung von benzylsubstituierten Salicylalkoholen **71** für die Maskierung von PMEA **9** eine Verbesserung der antiviralen Daten um den Faktor 5-10 erzielt werden. Bei einer erfolgreichen Synthese und Isolierung der einzelnen Stereoisomere kann der Einfluss jedes einzelnen auf die antivirale Aktivität untersucht werden. Möglicherweise findet sich dabei ein sehr aktives Prodrug und die Aktivität kann um einen größeren Faktor gesteigert werden.

Bei der Untersuchung des *cycloSal*-O-piv-HPMPC-Prodrugs **32b** wurde die prinzipielle enzymatische Spaltbarkeit der pivalinsäureveresterten OH-Gruppe gezeigt. Allerdings verlief die Spaltung nur in Leberzellextrakten, die extrem hohe Enzymkonzentrationen aufwiesen. Wünschenswert wäre auch eine Estergruppe, die schon bei geringerer enzymatischer Aktivität gespalten wird. Dieser Ester muss aber in der Lage sein, die Phosphonsäureesterspaltung mit Bromtrimethylsilan zu überstehen. Eine Estergruppe, die diese Anforderungen möglicherweise erfüllt, könnte die POM-Gruppe sein. Gelänge

die Synthese von O-POM-HPMPC **144**, so wäre es sicherlich möglich, daraus ein *cycloSal*-Prodrug zu synthetisieren (Abb. 141).

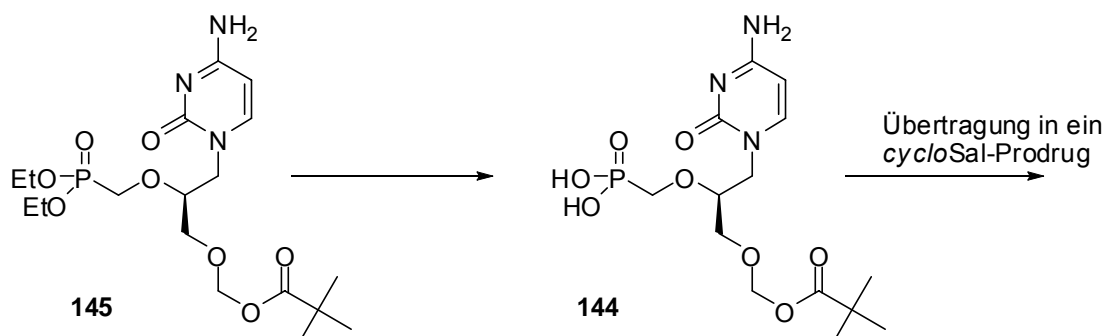


Abb. 141 O-POM-HPMPC **144**

Die POM-Gruppe sollte stabil gegenüber einer Behandlung mit Bromtrimethylsilan, weil Pivalinsäureester nicht angegriffen werden. Seine enzymatische Spaltbarkeit hat die Gruppe schon in mehreren Prodrugsystemen unter Beweis gestellt.

In dieser Arbeit wurde ein völlig neues Prodrugkonzept für Nucleosidphosphonate entdeckt. 2-Hydroxybenzylamino-PMEA-Prodrugs **88** zeigten sehr interessante Eigenschaften. Aus synthetischen Gründen wurden bisher nur Ethoxygruppen an das Phosphoratom gebunden. Werden die Reaktionen in anderen Alkoholen als Lösungsmittel oder in aprotischen Lösungsmitteln mit gelösten Nucleophilen, so könnte die Austrittsgruppe variiert werden (Abb. 142).

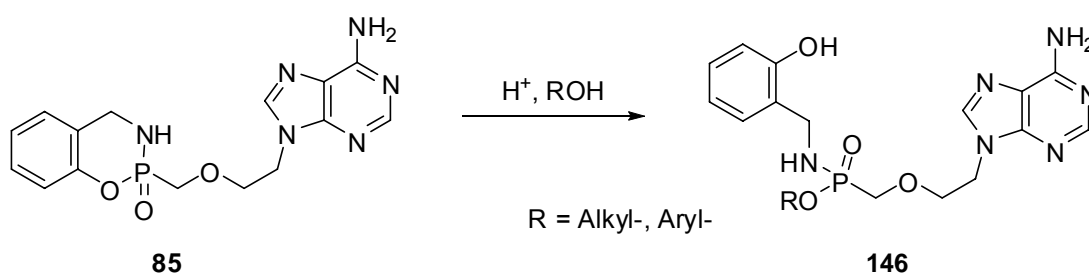


Abb. 142 Neue 2-Hydroxybenzylamino(Alkoxy bzw. Phenoxy)-PMEA-Prodrugs **146**

Mit dem Wechsel der Austrittsgruppen können möglicherweise Lipophilie und beim Halbwertszeiten der neuen Prodrugs beeinflusst werden. Da erst wenige Verbindungen dieser Klasse bekannt sind, ist hier für die Zukunft ein sehr ertragreiches Arbeitsgebiet zu sehen.

8 Experimenteller Teil

8.1 Allgemeines

8.1.1 Lösemittel

Acetonitril:	C_2H_3N ; Sdp.: 81 – 82 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter N_2 -Atmosphäre destilliert.
Dichlormethan:	CH_2Cl_2 ; Sdp.: 40 °C; zur präparativen Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert; zur Synthese über Phosphorpentoxid getrocknet und bei Normaldruck unter N_2 -Atmosphäre destilliert.
Diethylether:	$C_4H_{10}O$; Sdp.: 35 °C; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter N_2 -Atmosphäre destilliert.
Dimethylformamid:	C_3H_7NO ; Sdp.: 153 °C; Fluka Nr. 40248, absolut über Molekularsieb.
Dimethylsulfoxid:	C_2H_6OS ; Sdp.: 189 °C; Fluka Nr. 41648, absolut über Molekularsieb
Ethylacetat:	$C_4H_8O_2$; Sdp.: 77 °C; zur präparativen Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.
Methanol:	CH_4O ; Sdp.: 64 °C; zur präparativen Chromatographie bei Normaldruck destilliert.
Petrolether (50 – 70):	Sdp.: 50 – 70 °C; zur präparativen Chromatographie bei Normaldruck destilliert.
Tetrahydrofuran:	C_4H_8O ; Sdp.: 65 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter N_2 -Atmosphäre destilliert.
Pyridin:	C_5H_5N ; Sdp.: 115 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.
Toluol:	C_7H_8 ; Sdp.: 110 °C; über Natrium getrocknet und bei unter N_2 -Atmosphäre Normaldruck destilliert.

8.1.2 Chromatographie

- Dünnschichtchromatographie

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr. 5554; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Platten wurden auf eine Größe von 2 – 4 x 6.7 cm zugeschnitten; die Laufstrecke betrug 5 – 6 cm. Alle R_f -Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm. Zur Detektion von UV-inaktiven Verbindungen wurde mit 10 %iger Schwefelsäure besprüht und anschließend mit Wärme behandelt oder es wurde eine Iodkammer verwendet.

- Zirkulare, zentrifugale Dünnschichtchromatographie (CCTLC)

Mit einem Chromatotron der Firma Harrison Research, Modell 7924 T, wurden Substanzgemische mit Rohausbeuten von maximal 4 g getrennt. Als Trennmateriale diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF254 (Merck Nr. 7749) in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Durchmesser 20 cm). Die Detektion erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

- Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)

Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (230 – 240 mesh, Korngröße 0.040- 0.063 mm, Merck) nach dem Flash-Verfahren bei einem Überdruck von 0.2 – 0.4 bar durchgeführt. Es wurden stets destillierte Lösungsmittel verwendet.

- Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an einer Merck-Hitachi-Anlage durchgeführt.

Software:	Chromatography Data Station Software HPLC System Manager Version 3.1.1.
Interface:	Model L-7000
Pumpe:	Model L-7100
Automatischer Probenwechsler:	Model L-7200
Dioden Array Detektor:	Model L-7455
Analytische Säule:	LiChroCART 250-3 mit Lichrospher 100-3 RP 18 (5 µm) Füllmaterial

HPLC-Methoden:

Methode I: Von 0 bis 25 min. Wasser mit einem Acetonitril-Gradienten (5-100 %), bis 35 min isokratisch Acetonitril/Wasser 5 : 95 v/v, Flussrate 0.5 mL/min., UV-Detektion (240 – 260 nm).

Methode II: Von 0 bis 22 min. Ionenpuffer mit einem Acetonitril-Gradienten (8 – 92 %), bis 27 min. reines Acetonitril, bis 33 min. isokratisch Acetonitril/Ionenpuffer 8 : 92 v/v, Flussrate 0.6 mL/min., UV-Detektion (240 – 260 nm).

Methode III: Von 0 bis 25 min. Ionenpuffer mit einem Acetonitril-Gradienten (5-100 %), bis 35 min isokratisch Acetonitril/Ionenpuffer 5 : 95 v/v, Flussrate 0.5 mL/min., UV-Detektion (240 – 260 nm).

Lösungsmittel:

Für alle HPLC-Anwendungen wurde Acetonitril und Methanol des Reinheitsgrades „HPLC grade“ von verschiedenen Anbietern sowie Reinstwasser (Milli-Q) verwendet. Ionenpuffer: Stammlösung (9.8 mM TBAH): Es wurden 1000 mL mit 6.6 mL einer Lösung von Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAH) in Wasser (ca. 40 %, 1.5 M) versetzt und mit konzentrierter Phosphorsäure auf pH 3.8 eingestellt. Verwendete Lösung (0.55 mM TBAH): Es wurden 60 mL der 9.8 mM Stammlösung mit 1000 mL Wasser verdünnt.

8.1.3 Kernresonanzspektroskopie

Die NMR-Spektren wurden in den NMR-spektroskopischen Abteilungen der Universität Hamburg aufgenommen. Es standen folgende Geräte zur Verfügung:

- Bruker AMX 400 (^1H mit 400 MHz; ^{13}C mit 101 MHz)
- Bruker DMX 500 (^1H mit 500 MHz; ^{13}C mit 126 MHz; ^{31}P mit 202 MHz)
- Bruker AMX 400 (^{31}P mit 162 MHz)

^1H -NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl_3 ($\delta = 7.26$ ppm), DMSO-d_6 ($\delta = 2.50$ ppm) und D_2O ($\delta = 4.79$ ppm).

^{13}C -NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl_3 ($\delta = 77.16$ ppm) und DMSO-d_6 ($\delta = 39.52$ ppm).

^{31}P -NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard (85 %ige Phosphorsäure).

8.1.4 Massenspektrometrie (MS)

Die EI-Massenspektren wurden an einem VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer (doppelt fokussierend) gemessen.

Die ESI-Massenspektren wurden an einem Finnigan ThermoQuest MAT 95XL-Spektrometer gemessen.

Die FAB-Massenspektren wurden an einem VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer mit einer MCA-Methode und einer Polyethylenglycol-Matrix gemessen.

8.1.5 Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FT-IR)

Die Infrarotspektren wurden an einem Avatar 370 FT-IR der Firma ThermoNicolet aufgenommen.

8.1.6 Polarimeter

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 in 10 cm Küvetten mit einer Natriumlampe bei einer Wellenlänge von 589 nm oder einer Quecksilberlampe bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen.

8.1.7 Ultraviolettspektroskopie

Die UV-Spektren wurden an einem UV-Spektralphotometer (Cary IE) der Firma Varian aufgenommen.

8.1.8 Schmelzpunktbestimmungsapparatur

Schmelzpunkte wurden am Schmelzpunktbestimmer der Firma Apotec gemessen und sind unkorrigiert.

8.1.9 Geräte

- Gefriertrocknung

Wässrige Lösungen wurden an einer Christ ALPHA 2-4-Gefriertrocknungsanlage lyophilisiert.

- Thermomixer

Die Hydrolysestudien wurden bei 37 °C in einem Eppendorf Thermomixer 5436 durchgeführt.

8.2 Analytische Arbeitsvorschriften

8.2.1 Chemische Hydrolysekinetiken in Phosphatpuffer bei pH 7.3

Es wurde eine 50 mM Stammlösung des jeweiligen *cycloSal*- bzw. *cycloAmb*-Phosphonats in DMSO angesetzt. Von dieser Stammlösung wurden 11.4 µL mit 288.6 µL Wasser verdünnt, um so die 1.9 mM Hydrolysestammlösung zu bilden. Bei lipophilen *cycloSal*-Nucleotiden wurde DMSO statt Wasser zur Verdünnung verwendet. Die Hydrolysestammlösung wurde mit 5 µL des internen Standards (AZT-Lösung: 5 mg AZT gelöst in 500 µL Wasser) versetzt und die Hydrolyse anschließend durch Zugabe von 300 µL des zuvor auf 37 °C temperierten 50 mM Phosphatpuffers sowie Durchmischen (Vortex) gestartet. Die endgültigen Konzentrationen betragen somit 0.94 mM an Phosphonat bzw. Nucleotid und 24.8 mM an Puffersalzen. Sofort nach Zugabe der Pufferlösung wurde ein erstes Aliquot entnommen und bei -196 °C (flüssiger Stickstoff) eingefroren. Anschließend wurde die Kinetiklösung bei 37 °C in einem Eppendorf Thermomixer inkubiert. Mit den entnommenen Proben (jeweils 60 µL) wurde analog zu der Nullprobe verfahren. Die einzelnen Proben wurden HPLC-analytisch untersucht (Methode I), wobei jeweils 40 µL injiziert wurden. Zur Auswertung der Kinetiken wurde für jede Probe der Quotient aus Peakflächen des Prodrugs und des internen Standards gebildet (= normierte Integrationseinheit; normierte IE) und gegen die Hydrolysedauer (in Stunden; h) aufgetragen. Durch die experimentell bestimmten Messpunkte wurden mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms exponentielle Ausgleichskurven gelegt, so dass sich Werte für die jeweiligen Geschwindigkeitskonstanten k der Hydrolyse ergaben. Aus den so erhaltenen Werten für k konnten gemäß der Formel $t_{1/2} = \ln 2 / k$ die Hydrolysehalbwertszeiten $t_{1/2}$ errechnet werden.

8.2.2 Hydrolysekinetiken in humanen Zellextrakt und Mausleberextrakten

Durch Verdünnen von 15 µL der 50 mM DMSO-Stammlösung mit 235 µL DMSO wurde eine 3.0 mM DMSO-Lösung des jeweiligen Prodrugs angesetzt. Für die Hydrolyselösungen wurden 100 µL Zellextrakt (CEM/0-Zellextrakte, pH 6.8 oder Mausleberextrakt) mit 20 µL einer 70 mM Magnesiumchlorid-Lösung versetzt. Die Hydrolyse wurde durch anschließende Zugabe von 20 µL der 3.0 mM DMSO-Lösung

und Durchmischen (Vortex) gestartet. Es wurden separate Kinetiklösungen für Proben mit verschiedenen Reaktionszeiten angesetzt, die jeweils bei 37 °C in einem Eppendorf Thermomixer inkubiert wurden. Die Wahl der Reaktionszeiten erfolgte gemäß der zu erwartenden Stabilität des jeweiligen Prodrugs. Zum Abbrechen der Hydrolyse wurde die jeweilige Kinetiklösung mit 300 µL essigsaurem Methanol (20 mL Methanol plus 1 mL konzentrierte Essigsäure) versetzt, 5 min. bei 0 °C aufbewahrt und anschließend 10 min. bei 13000 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Einmal-Filter (Schleicher & Schuell Spartan 13/30, 0.2 µm) filtriert und HPLC-analytisch untersucht (Methode II, 90 µL Injektion). Zur Auswertung wurden die Absolutflächen des jeweiligen Prodrugs gegen die Hydrolysedauer (in Stunden; h) graphisch aufgetragen. Die Ermittlung der mittleren Hydrolyse-Halbwertszeiten $t_{1/2}$ erfolgte analog zu dem in Kapitel 5.2.1 für die chemischen Hydrolysekinetiken beschriebenen Verfahren. Die Zuordnung der Peaks zu den Hydrolyseprodukten erfolgte auf Basis der Retentionszeiten der Reinsubstanzen.

8.2.3 ³¹P-NMR-Hydrolysestudien

Es wurden etwa 7 µmol des jeweiligen Prodrugs in ein Eppendorf-Cap eingewogen und mit 400 µL DMSO-d₆ sowie 400 µL eines 50 mM Phosphatpuffers (pH 7.3) versetzt. Die Kinetiklösungen wurden in NMR-Röhrchen überführt und sofort ³¹P-NMR-spektroskopisch vermessen. Die NMR-Röhrchen wurden bei 37 °C aufbewahrt und in Abständen von Tagen oder Wochen erneut ³¹P-NMR-spektroskopisch untersucht.

8.2.4 Cholinesterase-Assay

Christian Ducho etablierte den Cholinesterase-Assay in der Arbeitsgruppe. Alle Versuche zur BChE-Inhibition wurden nach der von ihm entwickelten Methode durchgeführt.^{74,83}

8.3 Präparative Arbeitsvorschriften

8.3.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

AAV 1: Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von *cycloAmb-* bzw. *cycloSal-Phosphonat-Prodrugs*

PMEA, PMPA oder O-acyliertes HPMPC (1.0 Äquiv.) und 1.1 Äquiv. N,N-Diethylformamid wurden in wasserfreiem Dichlormethan suspendiert. Dazu wurden bei 0 °C 3.5 Äquiv. destilliertes Oxalylchlorid getropft und für 3 h zum Sieden erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in wasserfreiem Dichlormethan aufgenommen und bei 0 °C 2 Äquiv. wasserfreies Pyridin zugetropft. Zeitgleich wurden 1 Äquiv. der jeweiligen Salicylalkohole oder 2-Aminobenzylalkohole oder 2-Hydroxybenzylaminhydrochloride in wasserfreiem Dichlormethan und 6.3 Äquiv. trockenem Diisopropylethylamin oder Triethylamin gelöst und auf – 80 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde die Lösung des Phosphonsäurechlorids innerhalb von 20 min. zugetropft. Die Reaktionslösung ließ man auf Raumtemperatur erwärmen und über Nacht rühren. Erneut wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Danach wurde der Rückstand in Ethanol/Essigsäure (19:1 v/v) aufgenommen und 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Dichlormethan oder Ethylacetat mit Methanolgradienten, angesäuert mit 5 Tropfen Eisessig pro 200 mL Lösungsmittel) und am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanolgradienten, angesäuert mit 5 Tropfen Essigsäure pro 200 mL Lösungsmittel, und Ethylacetat mit Methanolgradienten, ebenfalls mit Essigsäure versetzt) gereinigt. Das jeweilige Produkt wurde zunächst als farbloses Öl isoliert. Anschließende Gefriertrocknung ergab farblose Watten.

Anmerkung: Auf die Verwendung von Pyridin wurde bei den zuletzt durchgeführten Reaktionen verzichtet und z. T. wurden die Reaktionslösungen vor der Chromatographie mit Wasser (pH <7) gewaschen. Die jeweiligen Vorgehensweisen sind bei den entsprechenden Verbindungen zu finden.

AAV 2: Spaltung von Phosphonsäurediethylestern

Der jeweilige Phosphonsäurediethylester (1 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Acetonitril suspendiert und anschließend mit 2.5 – 3.5 Äquiv. Bromtrimethylsilan versetzt. Es wurde über Nacht gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wurde 1 x mit Wasser extrahiert und die vereinigten wässrigen Phasen im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde wahlweise aus Wasser/Ethanol (siedendes Ethanol, Wasserzugabe bis zur Lösung) umkristallisiert oder aus Wasser/Aceton auskristallisiert (Rückstand in möglichst wenig Wasser aufnehmen, Fällung durch Acetonzugabe). Die Fällungen wurden jeweils durch Lagern über Nacht bei – 26 °C vervollständigt. Nach Filtration wurden die Produkte 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet.

AAV 3: Synthese von *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphaten

Das jeweilige Nucleosid-Analogon (1 Äquiv.) und 2 – 4.3 Äquiv. DIPEA wurde in trockenem DMF oder Acetonitril gelöst und auf – 20 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurde das jeweilige Saligenylchlorphosphit, gelöst in trockenem DMF, THF oder Diethylether, getropft. Man ließ auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosidanalogs wurde bei – 20 °C eine Lösung aus *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde erneut auf Raumtemperatur erwärmt und nochmals 1 h gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde zunächst säulenchromatographisch gereinigt. In allen Fällen wurden weitere Reinigungsschritte am Chromatotron durchgeführt. Das jeweilige Produkt wurde zunächst als farbloses Öl isoliert. Anschließende Gefriertrocknung ergab farblose Watten.

Anmerkung: In einigen Fällen wurde die Reaktionslösung nach der Oxidation mit Dichlormethan versetzt und mit Wasser (pH <7) gewaschen.

8.4 Die Synthese einiger Edukte und Reagenzien

8.4.1 Die Synthese von PME A 9

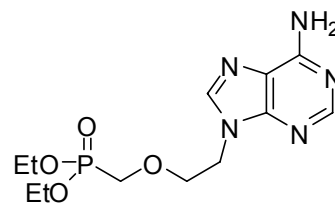
9-[2-Diethylphosphonylmethoxyethyl]adenin (PMEA-Diethylester) 36

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 20.57 g (96.9 mmol) Diethyl-[2-hydroxyethoxymethyl)phosphonat **147** in 200 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurden 9.05 mL (13.3 g, 116 mmol) Methansulfonsäurechlorid unter Rühren zugegeben. Danach wurde innerhalb von 15 min. 20.28 mL (14.7 g, 145 mmol) trockenes Triethylamin zugetropft. Es wurde 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene rohe Diethyl-[2-Methansulfonyloxyethoxymethyl]phosphonat **47** wurde ohne weitere Reinigung für die weitere Umsetzung verwendet.

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurde eine Suspension aus 8.51 g (63.0 mmol) Adenin **41** und 2.77 g Natriumhydrid-Paraffin-Suspension (60 %, 1.66 g, 69.0 mmol NaH) in 200 mL trockenem DMF 1 h auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf 50 °C wurden 18.14 g (70 mmol) Diethyl-[2-methansulfonyloxyethoxymethyl)phosphonat **47**, gelöst in 10 mL trockenem DMF, hinzugegeben. Anschließend wurde 20 h auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde 3 x mit heißem Dichlormethan extrahiert. Es wurde über Celite filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (DCM mit MeOH-Gradient 1 – 10 %) gereinigt und abschließend aus EE/PE 8:2 v/v umkristallisiert.

Ausbeute: 8.30 g (25.2 mmol, 40 %)

farbloser Feststoff



36

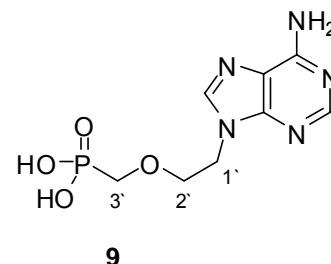
Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.⁴⁶

9-[2-Phosphonylmethoxyethyl]adenin (PMEA) **9**

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 1.00 g (3.04 mmol) 9-[2-Diethylphosphonylmethoxyethyl]adenin **36** und 1.06 mL (1.24 g, 10.9 mmol) Bromtrimethylsilan in 10 mL abs. Acetonitril. Reinigung: Umkristallisation aus EtOH/Wasser.

Ausbeute: 0.69 g (2.5 mmol, 82 %)

farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 3.64 (d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 8.6$ Hz, H3'), 3.99 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, H2'), 4.52 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, H1'), 8.38 und 8.39 (2 x s, 2 x 1H, H2 und H8); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ/ppm : 41.6 (C1'), 64.5 (d, $^1J_{\text{CP}} = 156.8$ Hz, C3'), 68.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.5$ Hz, C2'), 142.5 (C8), 143.5 (C2); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, D_2O), δ/ppm : 15.69

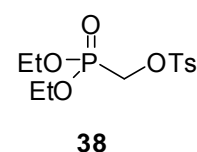
Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

8.4.2 Die Synthese von Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38**

Unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 5.51 g (32.8 mmol) Diethyl(hydroxymethyl)phosphonat **39** in 50 mL trockenem Diethylether unter Rühren mit 5.6 mL (4.1 g, 41 mmol) trockenem Triethylamin versetzt und auf -10 °C gekühlt. Dazu wurde eine Lösung aus 6.96 g (36.5 mmol) Toluol-4-sulfonylchlorid in 50 mL trockenem Diethylether getropft. Danach wurde 3 h bei 0 °C gerührt und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert und mit Diethylether gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit 1.5% MeOH).

Ausbeute: 8.53 g (26.3 mmol, 80%)

gelbliches Öl



Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.^{45,84}

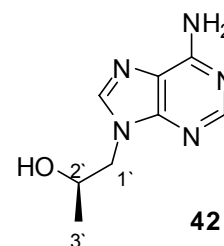
8.4.3 Die Synthese von PMPA 10

(*R*)-9-(2-Hydroxypropyl)adenin **42**

In 70 mL DMF wurden 2.34 g (17.3 mmol) Adenin **41**, 1.67 mL (2.00 g, 19.6 mmol) (*R*)-Propylencarbonat **40** (Aldrich 540013, 98% ee) und ein gemörsertes NaOH-Plätzchens suspendiert und über Nacht auf 140 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 10 – 20%).

Ausbeute: 3.05 g (15.8 mmol, 91 %)

farbloser Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 1.05 (d, 3H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, H3'), 3.95 – 4.13 (m, 3H, H2', H3'), 5.03 (d, 1H, ³J_{HH} = 4.6 Hz, OH), 7.17 (s, 2H, NH₂), 8.03 (s, 1H, H8), 8.12 (s, 1H, H2); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 20.7 (C3'), 50.1 (C2'), 64.6 (C2'), 118.5 (C5), 141.5 (C8), 149.7 (C4), 152.3 (C2), 155.9 (C6); IR (KBr): 3337, 3057, 2927, 1525, 1385, 1278, 1208, 1154, 1074, 1002, 947, 900, 748; UV (MeOH): 219, 259; DC: R_F-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.36

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

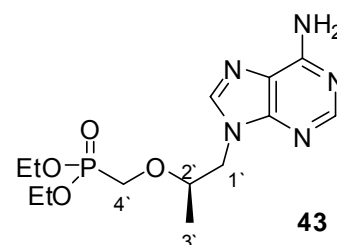
(*R*)-9-[2-Diethylphosphonylmethoxypropyl]adenin (PMPA-Diethylester) **43**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 1.00 g (5.18 mmol) (*R*)-9-(2-Hydroxypropyl)adenin **42** und 1.37 mL (1.24 g, 10.4 mmol) N,N-Dimethylformamidmethylacetal in 15 mL trockenem DMF aufgenommen und unter Rühren 3 h auf 55 °C erwärmt. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Erneut wurden 15 mL trockenes DMF hinzugefügt und portionsweise 186 mg NaH (7.77 mmol, 60 %-

Dispersion in Paraffin) zugegeben. Danach wurden 2.50 g Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38** (7.77 mmol) in 15 mL trockenem DMF gelöst und bei 0 °C zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde noch 0.5 h bei 0 °C und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eingießen in 100 mL Ethylacetat wurde Wasser zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 5 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 35 mL Ethanol und 1.2 mL Essigsäure aufgenommen und 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, das Rohprodukt noch 2 x mit Toluol koevaporiert und danach säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit 10 % MeOH).

Ausbeute: 1.22 g (3.55 mmol, 69 %)

gelbliches Öl



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 1.09 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, H3'), 1.13 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 1.16 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 3.75 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.9$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 9.7$ Hz, 1x H4'), 3.82-4.07 (m, 6H, Ethyl- CH_2 , H2', 1 x H4'), 4.15 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1 x H1'), 4.25 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1 x H1'), 7.19 (s, 2H, NH_2), 8.05 (s, 1H, H8), 8.13 (s, 1H, H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 16.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 16.7 (C3'), 46.7 (C1'), 61.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 61.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 61.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 163.8$ Hz, C4'), 75.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.7$ Hz, C2'), 118.4 (C5), 141.3 (C8), 149.8 (C4), 152.4 (C2), 155.9 (C6); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 21.18; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.59

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.⁸⁵

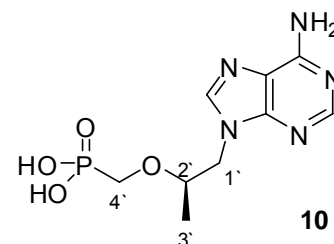
(*R*)-9-[2-Phosphonylmethoxypropyl]adenin (PMPA) **10**

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 1.88 g (*R*)-9-[2-Diethylphosphonylmethoxypropyl]adenin **43** (5.48 mmol) und 2.51 mL (2.93 g, 19.2 mmol)

Bromtrimethylsilan in 15 mL abs. Acetonitril. Reinigung: Umkristallisation aus EtOH/Wasser.

Ausbeute: 1.00 g (3.48 mmol, 64 %)

farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 1.19 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, H3'), 3.49 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 9.7$ Hz, 1 x H4'), 3.69 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 9.2$ Hz, 1 x H4'), 3.96-4.04 (m, 1H, H2'), 4.31 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x H1'), 4.50 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.1$ Hz, 1 x H1'), 8.40 und 8.41 (2 x s, 2 x 1H, H2 und H8); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, D_2O), δ/ppm : 15.71

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.⁴⁸

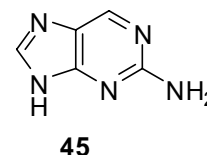
8.4.4 Die Synthese des fluoreszierenden Phosphonates *iso*-PMEA (9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)-2-aminopurin 44

2-Aminopurin 45

In 100 mL Wasser wurden 900 mg (5.38 mmol) Thioguanin **46** aufgenommen und 6 mL Raney-Nickel-Wasser-Suspension (50 %, 3.6 g, 61 mmol Nickel) zugegeben. Das Gemisch wurde 2 min zum Sieden erhitzt und heiß über Celite filtriert. Es wurde mit heißem Wasser gewaschen. Nach Abkühlen wurde die Reaktionsmischung im Vakuum auf 20 mL eingengt und danach über Nacht bei + 8 °C gelagert. Der entstandene Niederschlag wurde filtriert und erneut in Wasser gelöst. Die Lösung wurde 3 x mit Dichlormethan extrahiert. Danach wurde die wässrige Phase eingengt und das Rohprodukt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 560 mg (4.14 mmol, 77 %)

farbloser Feststoff



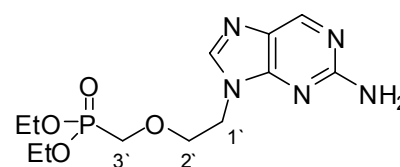
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 5.95 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 7.92 (s, 1H, H8), 8.45 (s, 1H, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 127.1 (C5), 145.3 (C8), 146.3 (C6), 157.7 (C4), 159.7 (C2)

(9-(2-Diethylphosphonylmethoxyethyl)-2-aminopurin (Diethyl-*iso*-PMEA) 48

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurde eine Suspension aus 1.35 mg (10.0 mmol) 2-Aminopurin **45** und 442 mg Natriumhydrid-Paraffin-Suspension (60 %, 265 mg, 11.0 mmol NaH) in 35 mL trockenem DMF 1 h auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches auf 50 °C wurden 2.92 mg (10.1 mmol) Diethyl-[2-methansulfonyloxyethyl)phosphonat **47** (siehe Synthese von PMEAs **9**), gelöst in 4 mL trockenem DMF, hinzugegeben. Anschließend wurde 20 h auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurden 0.5 mL Essigsäure zugegeben und das Reaktionsgemisch mit Wasser und Dichlormethan versetzt und geschüttelt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase noch 5 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, zunächst am Rotationsverdampfer und dann im Ölpumpenvakuum vom Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (DCM mit MeOH-Gradienten 5 – 10 %).

Ausbeute: 1.06 g (3.22 mmol, 32 %)

Farbloses Öl



48

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 1.14 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 3.84 (d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 8.1$ Hz, H3'), 3.86 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H2'), 3.92 (dd, 4H, $^3J_{\text{HP}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 4.23 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H1'), 6.50 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 8.01 (s, 1H, H8), 8.56 (s, 1H, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 41.9 (C1'), 61.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 63.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.3$ Hz, C3'), 70.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, C2'), 126.8 (C5), 142.9 (C8), 148.9 (C6), 153.0 (C4), 160.5 (C2)

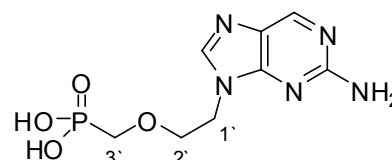
Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)-2-aminopurin (iso-PMEA) 44

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 1.04 g (3.16 mmol) 9-(2-Diethylphosphonylmethoxypropyl)-2-aminopurin **48** und 1.08 mL (1.26 g, 8.23 mmol) Bromtrimethylsilan in 10 mL abs. Acetonitril. Reinigung: Auskristallisieren aus Wasser/Aceton.

Ausbeute: 517 mg (1.89 mmol, 60 %)

Farbloser Feststoff



44

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 3.66 (d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 8.9$ Hz, H3'), 3.96 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H2'), 4.41 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H1'), 8.52 (s, 1H, H6), 8.66 (s, 1H, H8); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ/ppm : 43.5 (C1'), 67.2 (d, $^1J_{\text{CP}} = 157.2$ Hz, C3'), 70.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, C2'), 126.1 (C5), 138.8 (C8), 151.0 (C6), 157.4 (C2); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, D_2O), δ/ppm : 15.49

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

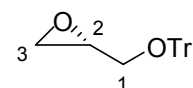
8.4.5 Die Synthese von (S)-[(3-Hydroxy-2-diethylphosphonylmethoxy)propyl]-cytosin (HPMPC-Diethylester) **98**

(R)-Tritylglycidol **102**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 9.00 mL (10.0 g, 135 mmol) (R)-Glycidol **100** (Aldrich 480819, 98 % ee) und 41.5 g (149 mmol) Tritylchlorid bei 0 °C in 200 mL trockenem Dichlormethan unter Rühren vermischt. Dazu wurden 37.4 mL (27.3 g, 270 mmol) trockenes Triethylamin ebenfalls bei 0 °C getropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt und dann mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde 2 x mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/PE 2:1).

Ausbeute: 30.1 g (95.1 mmol, 70 %)

Farbloses Öl



102

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 2.64 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, 1 x H3), 2.79 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, 1 x H3), 3.13 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, 1 x H1), 3.15-3.20 (m, 1H, H2), 3.33 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, 1 x H1), 7.22-7.34 (m, 9H, Trityl-H), 7.45-7.50 (m, 6H, Trityl-H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 46.9 (C3), 51.2 (C2), 64.9 (C1), 86.8 ($\text{C}_q\text{-O-Trityl}$), 127.2, 128.0, 128.8 (Trityl-CH), 143.9 (Trityl- C_q)

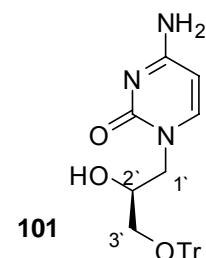
Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.⁸⁶

(S)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101**

In 400 mL trockenem DMF wurden 15.1 g (136 mmol) Cytosin suspendiert und unter Rühren 2.57 g NaH (107 mmol, 60 %-Dispersion in Paraffin) zugegeben. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde eine Lösung aus 28.4 g (*R*)-Tritylglycidol **102** (89.7 mmol) in 150 mL trockenem DMF zugetropft und über Nacht auf 110 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden Wasser und Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 0 – 10 %).

Ausbeute: 22.0 g (51.6 mmol, 57 %)

Farbloser Feststoff



101

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 2.86 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, 1 x H3'), 2.92 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, 1 x H3'), 3.37 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, 1 x H1'), 3.88-3.96 (m, 1H, H2'), 4.01 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 1 x H1'), 5.23 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, -OH), 5.54 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H5), 7.20-7.42

(m, 16H, Trityl-H und H6); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 52.7 (C1'), 65.8 (C3'), 67.5 (C2'), 85.8 (C_q-O-Trityl), 92.6 (C5), 127.0, 127.9, 128.3 (Trityl-CH), 143.8 (Trityl-C_q), 147.2 (C6), 156.1 (C2), 166.0 (C4); IR (KBr): 3336, 3057, 2927, 2871, 1524, 1447, 1385, 1279, 1208, 1154, 1074, 1031, 1002, 985, 947, 900, 787, 648; DC: R_F-Wert (DCM/ MeOH 9 : 1 v/v): 0.35

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

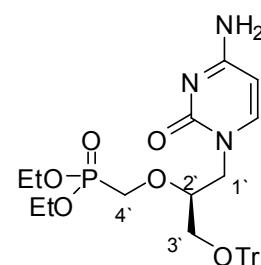
O-Trityl-(S)-9-[3-hydroxy-2-diethylphosphonylmethoxypropyl]cytosin 106

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 2.00 g (4.69 mmol) (S)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** und 1.24 mL (1.12 g, 9.38 mmol) N,N-Dimethylformamid-dimethylacetal in 15 mL trockenem DMF aufgenommen und unter Rühren 3 h auf 55 °C erwärmt. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Erneut wurden 15 mL trockenes DMF hinzugefügt und portionsweise 169 mg NaH (7.04 mmol, 60 %-Dispersion in Paraffin) zugegeben. Danach wurden 2.27 g Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38** (7.04 mmol) in 3 mL trockenem DMF gelöst und bei 0 °C zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde noch 0.5 h bei 0 °C und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eingießen in 50 mL Ethylacetat wurde Wasser zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 2 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 30 mL Ethanol aufgenommen und 1 mL Essigsäure zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde Dichlormethan zugegeben und mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden danach über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 7.5 – 12.5 %).

Ausbeute: 2.06 g (3.57 mmol, 76 %)

Farbloser Feststoff

Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.



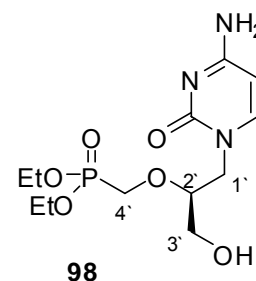
106

(S)-[3-Hydroxy-2-diethylphosphonylmethoxypropyl]cytosin 98 (TFA-Addukt)

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 14.4 g (33.8 mmol) (S)-[(2-Hydroxy-3-triphenylmethoxy)propyl]cytosin **101** und 8.94 mL (8.07 g, 67.6 mmol) *N,N*-Dimethylformamid-di-methylacetal in 100 mL trockenem DMF aufgenommen und unter Rühren 3 h auf 55 °C erwärmt. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Erneut wurden 100 mL trockenes DMF hinzugefügt und portionsweise 1.22 g NaH (50.7 mmol, 60 %-Dispersion in Paraffin) zugegeben. Danach wurden 16.3 g Diethyl-*p*-toluolsulfonyloxymethanphosphonat **38** (50.7 mmol) in 20 mL trockenem DMF gelöst und bei 0 °C zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde noch 0.5 h bei 0 °C und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eingießen in 300 mL Ethylacetat wurde Wasser zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 2 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 200 mL DCM/MeOH 7 : 3 v/v aufgenommen und 30 mL Trifluoressigsäure zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h zum Sieden erhitzt und nach Abkühlen am Rotationsverdampfer eingeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 10 – 20 %).

Ausbeute: 13.7 g (30.4 mmol, 90 %)

Bräunliches Öl



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 1.20 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 1.21 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 3.39 - 3.48 (m, 2H, $\text{H}_{3'}$), 3.54-3.67 (m, 2H, 1 x $\text{H}_{1'}$, $\text{H}_{2'}$), 3.78 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 9.4$ Hz, 1 x $\text{H}_{4'}$), 3.87 - 4.04 (m, 6H, 1 x $\text{H}_{1'}$, 1 x $\text{H}_{4'}$, Ethyl- CH_2), 4.85 (br s, 1H, -OH), 5.62 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H_5), 7.43 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H_6), 8.37 (br s, 2H, - NH_2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 16.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 1.5$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 16.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 1.5$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 49.4 ($\text{C}_{1'}$), 60.2 ($\text{C}_{3'}$), 62.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 163.3$ Hz, $\text{C}_{4'}$), 71.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 71.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 80.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.2$ Hz, $\text{C}_{2'}$), 92.9 (C_5), 147.0 (C_6), 156.2 (C_2), 166.1 (C_4); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 22.44; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.40

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

8.5 Die Synthese von 2-Aminobenzylalkoholen, Salicylalkoholen und 2-Hydroxybenzylaminen

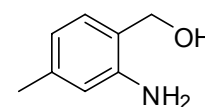
8.5.1 Die Synthese von 2-Aminobenzylalkoholen

2-Amino-4-methylbenzylalkohol 60a

In 60 mL trockenem THF wurden 746 mg (19.7 mmol) LiAlH₄ unter Rühren suspendiert und 990 mg (6.55 mmol) 4-Methylantranilsäure in 30 mL trockenem THF über einen Zeitraum von 0.5 h zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde bei 0 °C, anfangs vorsichtig, Wasser zugegeben und das Gemisch mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert. Nach Zugabe von Ethylacetat wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch 2 x mit Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknen über Natriumsulfat, Filtration und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 4:1).

Ausbeute: 550 mg (4.01 mmol, 61 %)

Bräunlicher kristalliner Feststoff



60a

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 2.14 (s, 3H, -CH₃), 4.33 (s, 2H, Benzyl-CH₂), 6.32 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, H5), 6.42 (s, 1H, H3), 6.90 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, H6); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 21.0 (-CH₃), 61.0 (Benzyl-CH₂), 115.2 (C3), 116.6 (C5), 122.7 (C1), 127.9 (C5), 136.6 (C4), 146.3 (C2); Elementaranalyse: berechnet für C₈H₁₁NO: C 70.04, H 8.08, N 10.21; gefunden: C 70.08, H 8.02, N 10.08; IR (KBr): 3383, 3209, 2899, 2731, 1624, 1585, 1517, 1447, 1344, 1286, 1219, 1002, 816, 781, 702; Schmelzpunkt 140-142 °C; DC: R_F-Wert (EE/PE 3 : 1 v/v): 0.34

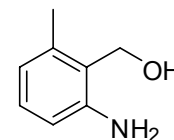
2-Amino-6-methylbenzylalkohol 60b

In 60 mL trockenem THF wurden 678 mg (17.9 mmol) LiAlH₄ unter Rühren suspendiert und 904 mg (5.95 mmol) 6-Methylantranilsäure in 30 mL trockenem THF über einen

Zeitraum von 0.5 h zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde bei 0 °C, anfangs vorsichtig, Wasser zugegeben und das Gemisch mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert. Nach Zugabe von Ethylacetat wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch 2 x mit Ethylacetat extrahiert. Nach Trocknen über Natriumsulfat, Filtration und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 4:1).

Ausbeute: 570 mg (4.16 mmol, 70 %)

Bräunlicher kristalliner Feststoff



60b

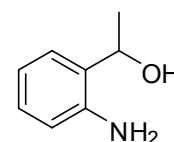
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 2.22 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 4.62 (s, 2H, Benzyl- CH_2), 6.47 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, H3), 6.50 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H5), 6.91 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H4); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 19.7 ($-\text{CH}_3$), 59.1 (Benzyl- CH_2), 114.5 (C3), 120.9 (C5), 123.4 (C1), 128.9 (C4), 136.9 (C6), 146.6 (C2); Elementaranalyse: berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$: C 70.04, H 8.08, N 10.21; gefunden: C 70.05, H 8.07, N 10.17; IR (KBr): 3390, 3161, 1600, 1591, 1468, 1342, 1281, 1228, 997, 874, 782, 744; Schmelzpunkt 83-84 °C; DC: R_f -Wert (EE/PE 4 : 1 v/v): 0.34

2-Amino-7-methylbenzylalkohol 62

In 20 mL THF wurden 0.56 g (15 mmol) NaBH_4 suspendiert und bei 0 °C vorsichtig 1.70 mL (1.78 g, 29.6 mmol) Essigsäure unter Rühren zugetropft. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurden bei Raumtemperatur 1.00 g (7.40 mmol) 2-Aminoacetophenon **63** zugegeben. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 1 h war das Edukt nur teilweise abreagiert und es wurden weitere 0.28 g (7.4 mmol) NaBH_4 vorsichtig zur Reaktionsmischung zugegeben. Nun konnte nach 0.5 h nur noch Produkt nachgewiesen werden. Es wurde Wasser zugegeben und das Gemisch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung leicht basisch gemacht. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase 1 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 3:1).

Ausbeute: 1.00 g (7.30 mmol, 99 %)

Bräunlicher kristalliner Feststoff



62

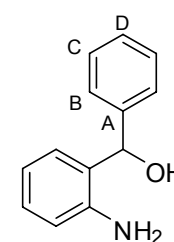
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 1.31 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $-\text{CH}_3$), 4.70-4.79 (m, Benzyl-CH), 4.94 (br s, 2H, $-\text{NH}_2$), 5.08 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, $-\text{OH}$), 6.51 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H5), 6.58 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H3), 6.89 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H4), 7.06 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 22.8 ($-\text{CH}_3$), 66.1 (Benzyl-CH), 115.1 (C3), 115.7 (C5), 125.7 (C6), 127.0 (C4), 129.5 (C1), 145.5 (C2); Elementaranalyse: berechnet für $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$: C 70.04, H 8.08, N 10.21; gefunden: C 70.16, H 8.10, N 10.13; IR (KBr): 3392, 3315, 3220, 2976, 2889, 1608, 1584, 1497, 1451, 1361, 1295, 1254, 1155, 1093, 1081, 1006, 909, 750, 624; Schmelzpunkt 55-56 °C; DC: R_f -Wert (EE/PE 3 : 1 v/v): 0.47

2-Amino-7-phenylbenzylalkohol 67

In 10 mL THF wurden 384 mg (10.1 mmol) NaBH_4 suspendiert und bei 0 °C vorsichtig 0.87 mL (0.91 g, 15 mmol) Essigsäure unter Rühren zugetropft. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurden bei Raumtemperatur 1.00 g (5.07 mmol) 2-Aminobenzophenon **68** zugegeben. Der Verlauf der Reaktion wurde dünschichtchromatographisch verfolgt. Nach 1 h war das Edukt nur teilweise abreagiert und es wurden weitere 192 mg (5.05 mmol) NaBH_4 zugegeben. Nach der vollständigen Umsetzung des Eduktes wurde Wasser zugegeben und das Gemisch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung leicht basisch gemacht. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase 1 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 1:2).

Ausbeute: 1.00 g (5.02 mmol, 99 %)

Bräunlicher kristalliner Feststoff



67

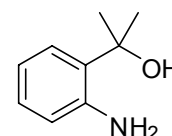
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 5.86 (s, 1H, Benzyl-CH), 6.68 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H3), 6.74 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H5), 7.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, H6), (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, H5), 7.30 (tt, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, H-D), 7.34-7.41 (m, 4H, H-B und H-C); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 75.1 (Benzyl-CH), 117.1 (C3), 118.5 (C5), 126.7 (C-B), 127.7 (C1), 127.8 (C-D), 128.6 (C-D), 128.8 (C6), 129.1 (C5), 142.0 (C-A), 144.9 (C2); Elementaranalyse: berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}$: C 78.36, H 6.58, N 7.03; gefunden: C 78.43, H 6.66, N 7.00; IR (KBr): 3443, 3210, 3023, 2874, 1627, 1493, 1458, 1283, 1239, 1153, 1007, 875, 751, 700, 609; Schmelzpunkt 115-116 °C; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 1 v/v): 0.38

2-Amino-7,7-dimethylbenzylalkohol 64

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 720 mg (29.6 mmol) Magnesium vorgelegt und eine Lösung aus 1.84 mL (4.20 g, 29.6 mmol) Methyljodid in 25 mL trockenem Diethylether so zugetropft, dass gelindes Sieden auftrat. Nach der Zugabe wurde noch 0.5 h zum Sieden erhitzt. Zum Reaktionsgemisch wurde unter Rühren eine Lösung aus 2.24 g (14.8 mmol) Anthranilsäuremethylester **65** in 50 mL trockenem Diethylether getropft. Es wurde erneut für 0.5 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde Wasser zugegeben. Danach wurde solange mit 10 %iger Schwefelsäure versetzt, bis sich der zuvor entstandene Niederschlag vollständig löste. Es wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung neutralisiert, die Phasen getrennt, die wässrige noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 1:1).

Ausbeute: 1.21 g (8.00 mmol, 54 %)

Braunes Öl



64

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 1.67 (s, 6H, $-\text{CH}_3$), 6.63-6.70 (m, 2H, H3, H5), 7.06 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H4), 7.13 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 29.5 ($-\text{CH}_3$), 74.4 (Benzyl-C), 117.6, 117.8 (C3 und C5), 125.8 (C6), 128.4 (C4), 130.7 (C1), 145.8 (C2); IR (Film): 3451, 3366, 2976, 1692, 1614, 1495, 1453, 1379, 1364, 1302, 1249, 1161, 1143, 1102,

947, 867, 750; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 1 v/v): 0.36

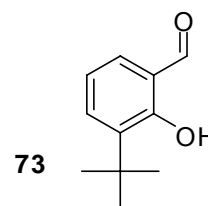
8.5.2 Die Synthese von benzylsubstituierten Salicylalkoholen

3-*tert*-Butylsalicylaldehyd 73

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 6.06 mL (6.00 g, 39.9 mmol) 2-*tert*-Butylphenol **72**, 5.72 g (60.1 mmol) wasserfreies Magnesiumchlorid, 9.10 g (270 mmol) Paraformaldehyd und 20.8 mL (15.2 g, 150 mmol) trockenes Triethylamin wurden in 200 mL trockenem Acetonitril unter Rühren vermischt und 3 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit 5 %iger Salzsäure angesäuert und 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 1:4).

Ausbeute: 6.48 g (36.3 mmol, 91 %)

Gelbliches Öl



^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 1.42 (s, 9 H, *t*-Butyl- CH_3), 6.95 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, H5), 7.40 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, H4), 7.53 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, H6), 9.88 (s, 1 H, CHO), 11.79 (s, 1 H, Phenol-OH); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 29.4 (*t*-Butyl- CH_3), 35.0 (*t*-Butyl- C_q), 119.4 (C5), 120.8 (C1), 132.1 (C4), 134.2 (C6), 138.4 (C3), 161.4 (C2), 197.3 (CHO); MS (FAB, m/z): ber.: 179.1 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 179.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 2959, 1653, 1613, 1433, 1388, 1312, 1197, 1143, 752, 679; UV (Methanol): λ_{max} [nm]: 214, 262, 334. R_f -Wert = 0.67 (DCM)

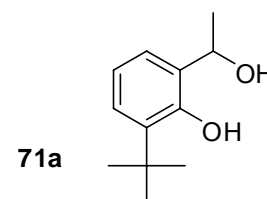
3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylylalkohol 71a

Unter Feuchtigkeitsauschluss wurden 6.15 mL (9.84 mmol MeLi) Methyllithiumlösung (1.6 M in Diethylether) vorgelegt und bei 0 °C eine Lösung aus 0.50 g (2.8 mmol) 3-*tert*-

Butylsalicylaldehyd **73** in 5 mL trockenem Diethylether innerhalb von 15 min zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde noch 0.5 h gerührt und danach bei 0 °C Wasser zugegeben. Das Gemisch wurde mit 1 N Salzsäure neutralisiert und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 1 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 1:4).

Ausbeute: 1.70 g (8.75 mmol, 85 %)

Gelbes Öl



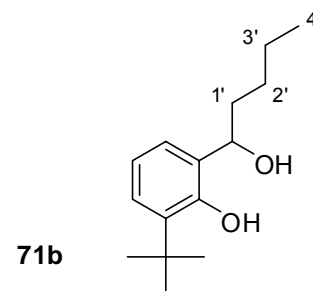
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 1.42 (s, 9H, *t*-Butyl- CH_3), 1.62 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, Benzyl- CH_3), 2.34 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, Benzyl-OH), 5.06-5.11 (m, 1H, Benzyl-CH), 6.77 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H5), 6.86 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H6), 7.21 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H4), 8.33 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 23.1 (Benzyl- CH_3), 29.7 (*t*-Butyl- CH_3), 35.0 (*t*-Butyl- C_q), 72.7 (Benzyl-CH), 119.1 (C5), 124.6 (C6), 126.7 (C4), 128.3 (C1), 137.8 (C3), 155.1 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 194.1 [M], gef.: 194.1 [M]; IR (Film): 3356, 2959, 1709, 1589, 1440, 1391, 1232, 1075, 1011, 912, 863, 749; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 2 v/v): 0.51

3-*tert*-Butyl-7-*n*-Butylsalicylalkohol **71b**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 7.50 mL *n*-BuLi-Lösung (15 % in Hexan, 12.0 mmol) vorgelegt und 0.50 g (2.8 mmol) 3-*tert*-Butyl-Salicylaldehyd **73**, gelöst in 5 mL trockenem Diethylether, innerhalb von 15 min. bei 0 °C zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Wasser zugegeben, mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert und 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 9:1).

Ausbeute: 489 mg (2.11 mmol, 75 %)

Gelbes Öl



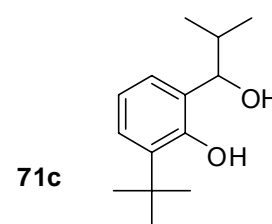
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.83 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}}=7.4$ Hz, H4'), 1.15-1.32 (m, 6H, H1', H2', H3'), 1.34 (s, 9H, *t*-Butyl- CH_3), 4.71 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, Benzyl-CH), 6.67 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, H5), 6.72 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H6), 7.12 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H4), 8.29 (s, 1H, Phenol-OH), $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 14.1 (C4'), 22.6 (C3'), 28.3 (C2'), 29.8 (*t*-Butyl- CH_3), 35.0 (*t*-Butyl- C_q), 36.5 (C1'), 77.3 (Benzyl-CH), 118.9 (C5), 125.4 (C6), 126.4 (C4), 127.6 (C1), 137.8 (C3), 155.2 (C-2); MS (FAB, m/z): ber.: 236.4 [M], gef.: 237.4 [M + H $^+$]; IR (Film): 3356, 2957, 2873, 1606, 1589, 1440, 1391, 1359, 1233, 1183, 1141, 1087, 993, 749; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.55

3-*tert*-Butyl-7-*iso*-Propylsalicylalkohol 71c

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 0.68 g (28.1 mmol) Magnesiumspäne vorgelegt und 2.70 mL (3.54 g, 28.8 mmol) 2-Brompropan in 25 mL trockenem Diethylether zugetropft. Das Gemisch wurde für 0.5 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde eine Lösung aus 1.00 g (5.61 mmol) 3-*tert*-Butyl-Salicylaldehyd **73** in 25 mL trockenem Diethylether zugetropft und für weitere 0.5 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde Wasser zugegeben, mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert und 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 9:1).

Ausbeute: 812 mg (3.65 mmol, 65 %)

Gelbliches Öl



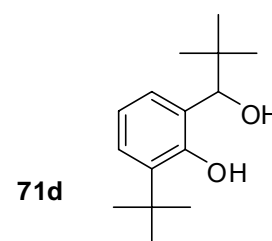
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.83 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1 x *iso*-Propyl- CH_3), 1.10 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 3H, 1 x *iso*-Propyl- CH_3), 1.42 (s, 9H, *t*-Butyl- CH_3), 2.38-2.50 (m, 1H, *iso*-Propyl-CH), 2.58 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, Benzyl-OH), 4.47 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, Benzyl-CH), 6.74 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, H5), 6.77 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H6), 7.20 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, H4), 8.44 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 18.7 (1 x *iso*-Propyl- CH_3), 19.8 (1 x *iso*-Propyl- CH_3), 29.7 (*t*-Butyl- CH_3), 34.0 (*iso*-Propyl-CH), 35.0 (*t*-Butyl- C_q), 83.3 (Benzyl-CH), 118.5 (C5), 126.0 (C1), 126.2 (C4), 126.6 (C6), 137.7 (C3), 155.3 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 222.2 [M], gef.: 222.3 [M]; IR (KBr): 3523, 3354, 2959, 2873, 1588, 1440, 1390, 1360, 1239, 1141, 1005, 850, 749; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.56

3,7-Bis-*tert*-Butylsalicylalkohol 71d

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 9.90 mL *tert*-Butylmagnesiumchloridlösung (1.7 M in THF, 16.8 mmol) vorgelegt und 750 mg (4.21 mmol) 3-*tert*-Butylsalicylaldehyd **73**, gelöst in 7.5 mL Diethylether, innerhalb von 15 min bei 0 °C zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Wasser zugegeben, mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert und 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 9:1).

Ausbeute: 770 mg (3.26 mmol, 77 %)

Gelblicher Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.91 (s, 9H, Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 1.33 (s, 9H, Aryl-*t*-Butyl- CH_3), 2.54 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, Benzyl-OH), 4.48 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, Benzyl-CH), 6.64 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, H5), 6.66 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H6), 7.12 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H4), 8.73 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 26.5 (Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 29.7 (Aryl-*t*-Butyl- CH_3), 34.9 (Aryl-*t*-Butyl- C_q), 37.5 (Benzyl-*t*-Butyl- C_q), 86.3 (Benzyl-CH), 117.8 (C5),

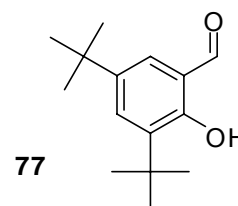
123.4 (C1), 126.1 (C4), 128.1 (C6), 137.7 (C3), 155.8 (C2); Elementaranalyse: berechnet für C₁₅H₂₄O₂: C 76.23, H 10.24; gefunden: C 70.09, H 10.20; IR (KBr): 3429, 2950, 2877, 1611, 1587, 1458, 1438, 1359, 1233, 1143, 1089, 1040, 996, 845, 791, 761; Schmelzpunkt 118-120 °C; DC: R_f-Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.58

3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd 77

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 7.51 g (36.4 mmol) 2,4-Di-*tert*-Butylphenol **78**, 5.22 g (54.8 mmol) wasserfreies Magnesiumchlorid, 7.36 g (245 mmol) Paraformaldehyd und 19.0 mL (13.8 g, 136 mmol) Triethylamin wurden in 200 mL trockenem Acetonitril unter Rühren vermischt und 4 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit 5 %iger Salzsäure angesäuert und 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde in möglichst wenig Ethanol gelöst und bei - 26 °C ausgefällt.

Ausbeute: 4.72 mg (20.1 mmol, 55 %)

Gelblicher Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 1.33 (s, 9H, 3-*t*-Butyl-CH₃), 1.43 (s, 9H, 5-*t*-Butyl-CH₃), 7.35 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, H6), 7.60 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, H4), 9.87 (s, 1H, -CHO), 11.64 (s, 1H, -OH); ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 197.5 (CHO), 159.2 (C2), 141.8 (C3), 137.7 (C5), 132.0 (C4), 128.0 (C6), 120.2 (C1), 35.2 (5-*t*-Butyl-C_q), 32.7 (3-*t*-Butyl-C_q), 31.5 (5-*t*-Butyl-CH₃), 29.41 (3-*t*-Butyl-CH₃); IR (KBr): 2952, 2870, 2835, 1653, 1611, 1465, 1391, 1364, 1326, 1269, 1250, 1200, 881, 770, 749, 737, 712; DC: R_f-Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.65

Die restlichen analytischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.⁸⁷

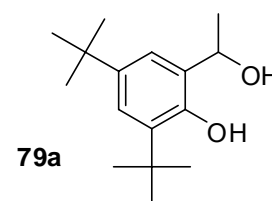
3,5-Di-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol 79a

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 290 mg (12.0 mmol) Magnesium vorgelegt und

eine Lösung aus 0.75 mL (1.70 g, 12.0 mmol) Methyljodid in 10 mL trockenem Diethylether so zugetropft, dass gelindes Sieden auftrat. Nach der Zugabe wurde noch 0.5 h zum Sieden erhitzt. Zum Reaktionsgemisch wurde unter Rühren eine Lösung aus 664 mg (2.83 mmol) 3,5-Bis-*tert*-butylsalicylaldehyd **77** in 10 mL trockenem Diethylether getropft. Es wurde erneut für 0.5 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde Wasser zugegeben. Danach wurde solange mit 10 %iger Schwefelsäure versetzt, bis sich der zuvor entstandene Niederschlag vollständig löste. Es wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisiert, die Phasen getrennt, die wässrige noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/PE 1:9).

Ausbeute: 480 mg (1.92 mmol, 68 %)

Farbloser kristalliner Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 1.29 (s, 9H, 5-*t*-Bu-CH₃), 1.43 (s, 9H, 3-*t*-Bu-CH₃), 1.63 (d, 3H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, Benzyl-CH), 2.36 (d, 1H, ³J_{HH} = 3.0 Hz, Benzyl-OH), 5.03-5.08 (m, 1H, Benzyl-CH), 6.85 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H₆), 7.25 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H₄), 8.15 (s, 1H, Phenol-OH); ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 23.4 (Benzyl-C-CH₃), 30.1 (*t*-Butyl-CH₃), 32.1 (*t*-Butyl-CH₃), 34.6 (*t*-Butyl-C_q), 35.5 (*t*-Butyl-C_q), 73.5 (Benzyl-CH), 121.7 (C₆), 123.9 (C₄), 127.8 (C₁), 137.3 (C₃), 141.6 (C₅), 152.9 (C₂); Elementaranalyse: berechnet für C₁₆H₂₆O₂: C 76.75, H 10.47; gefunden: C 77.49, H 10.63; IR (KBr): 3511, 3277, 2961, 2867, 1481, 1391, 1252, 1202, 1130, 1052, 1010, 882, 859, 723; Schmelzpunkt: 76-78 °C; DC: R_f-Wert (EE/PE 1 : 9 v/v): 0.26

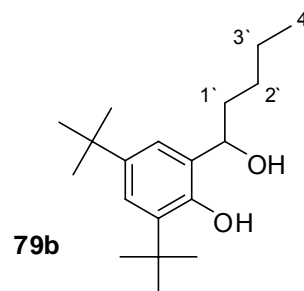
3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*n*-butylsalicylalkohol **79b**

In 15 mL absolutem Diethylether wurden 1.04 g (4.44 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **77** gelöst und bei 0 °C zu 11.5 mL (18.4 mmol *n*-Butyllithium) einer *n*-Butyllithiumlösung (1.6 M in Hexan) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und noch 30 min gerührt. Es wurde Wasser zugegeben und das Gemisch mit 37 %iger Salzsäure neutralisiert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen

wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (PE mit DCM-Gradient 0 – 10 %).

Ausbeute: 532 mg (1.82 mmol, 41 %)

Farbloses Öl



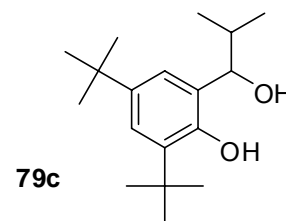
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.92 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H4'), 1.29 (s, 9H, 5-*t*-Butyl- CH_3), 1.42-1.24 (m, 4H, H2', H3'), 1.43 (s, 9H, 3-*t*-Butyl- CH_3), 1.76 - 1.85 (m, 1H, H1'-a), 1.93 - 2.06 (m, 1H, H1'-b), 2.43 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, Benzyl-OH), 4.81-4.78 (m, 1H, Benzyl-CH), 6.80 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H-6), 7.24 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H4), 8.18 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 14.0 (C4'), 22.4 (C3'), 28.2 (C2'), 29.7 (3-*t*-Butyl- CH_3), 31.6 (5-*t*-Butyl- CH_3), 34.2 (3-*t*-Butyl- C_q), 35.1 (5-*t*-Butyl- C_q), 36.3 (C1'), 77.7 (Benzyl-CH), 121.9 (C6), 123.3 (C4), 126.6 (C1), 136.7 (C3), 141.0 (C5), 152.5 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 292.2 [M], gef.: 292.3 [M]; IR (KBr): 3519, 3286, 2958, 2871, 1481, 1458, 1420, 1362, 1253, 1227, 1203, 1163, 1041, 1013, 881, 826, 770, 723, 695; DC: R_f -Wert (DCM/PE 1 : 2 v/v): 0.24

3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*i*-propylsalicylalkohol 79c

Eine Lösung aus 3.0 mL (32 mmol) 2-Brompropan in 20 mL absolutem Diethylether wurde zu 779 mg (32.1 mmol) Magnesiumspäne getropft, so dass der Ether gelinde siedete. Nach beendeter Zugabe wurde noch 30 min zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde eine Lösung aus 1.50 g (6.41 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** in 25 mL absolutem Diethylether zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde weitere 30 min unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf 0 °C wurde Wasser zugegeben und mit 37%iger Salzsäure neutralisiert. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (PE mit DCM-Gradient 0 – 10 %).

Ausbeute: 1.07 mg (3.85 mmol, 60 %)

Farbloser Feststoff



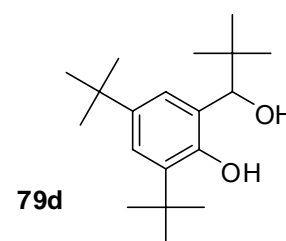
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.82 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, *i*-Propyl- CH_3 -a), 1.08 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, *i*-Propyl- CH_3 -b), 1.28 (s, 9H, 5-*t*-Butyl- CH_3), 1.42 (s, 9H, 3-*t*-Butyl- CH_3), 2.21 - 2.29 (m, 1H, *i*-Propyl-CH), 2.49 (s, 1H, Benzyl-OH), 4.45 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, Benzyl-CH), 6.75 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H6), 7.22 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H4), 8.23 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 18.8 (*i*-Propyl- CH_3 -a), 19.7 (*i*-Propyl- CH_3 -b), 29.9 (3-*t*-Butyl- CH_3), 31.8 (5-*t*-Butyl- CH_3), 34.0 (*i*-Propyl-CH), 34.2 (5-*t*-Butyl- C_q), 35.2 (3-*t*-Butyl- C_q), 83.7 (Benzyl-CH), 123.2, 123.4 (C4, C6), 125.2 (C1), 136.8 (C3), 140.7 (C5), 152.7 (C-2); Elementaranalyse: berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_2$: C 77.65, H 10.86; gefunden: C 77.88, H 10.89; IR (KBr): 3259, 2959, 2869, 1603, 1481, 1459, 1390, 1363, 1333, 1251, 1201, 1162, 1129, 1020, 974, 883, 826, 723, 650; Schmelzpunkt: 63-65 °C; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.53

3,5,7-Tri-*tert*-Butylsalicylalkohol

In 15 mL absolutem Diethylether wurden 0.96 g (4.1 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butylsalicylaldehyd **77** gelöst und bei 0 °C zu 10.1 mL (17.1 mmol *tert*-Butylmagnesiumchlorid) einer *tert*-Butylmagnesiumchlorid-Lösung (1.7 M in THF) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt. Danach wurde auf 0 °C abgekühlt und Wasser zugegeben. Das Gemisch wurde mit 37%iger Salzsäure neutralisiert und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (PE mit DCM-Gradient 0 – 10 %).

Ausbeute: 816 mg (2.79 mmol, 68 %)

Farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 0.72 (s, 9H, Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 1.02 (s, 9H, 5-*t*-Butyl- CH_3), 1.16 (s, 9H, 3-*t*-Butyl- CH_3), 2.29 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, Benzyl-OH), 4.27 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, Benzyl-CH), 6.45 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H6), 6.95 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H4), 8.36 (s, 1H, Phenol-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 26.3 (Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 29.6 (3-*t*-Butyl- CH_3), 31.6 (5-*t*-Butyl- CH_3), 35.0 (5-*t*-Butyl- C_q), 37.3 (Benzyl-*t*-Butyl- C_q), 86.5 (Benzyl-CH), 122.4 (C1), 122.9 (C6), 124.7 (C4), 136.5 (C3), 139.7 (C5), 153.1 (C2); Elementaranalyse: berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$: C 78.03, H 11.03; gefunden: C 78.34, H 11.02; IR (KBr): 3515, 3252, 2963, 2906, 1479, 1426, 1393, 1365, 1250, 1202, 1160, 1051, 1002, 960, 888, 799, 707; Schmelzpunkt: 124-125 °C; DC: R_f -Wert (EE/PE 1 : 4 v/v): 0.55

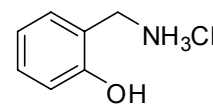
8.5.3 Die Synthese von 2-Hydroxybenzylaminen

2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86a**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 2.68 g (19.5 mmol) Salicylsäureamid **87a** in 100 mL 1 M BH_3 -THF-Komplex-Lösung aufgenommen und 48 h zum Sieden erhitzt. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von 20 mL Methanol bei 0 °C abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand 2 x mit je 20 mL Methanol koevaporiert. Der Rückstand wurde in 15 mL 2 N Salzsäure gelöst und 18 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 3.08 g (19.3 mmol, 99 %)

Farbloser Feststoff



86a

Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

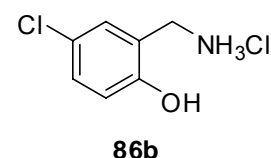
5-Chlor-2-hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86b**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 2.00 g (11.7 mmol) 5-Chlorsalicylsäureamid **87b** in 60 mL 1 M BH_3 -THF-Komplex-Lösung aufgenommen und 48 h zum Sieden erhitzt. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von 20 mL Methanol bei 0 °C abgebrochen.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand 2 x mit je 20 mL Methanol koevaporiert. Der Rückstand wurde in 15 mL 2 N Salzsäure gelöst mit Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wurde 1 x mit 2 N Salzsäure extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden im Vakuum eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.25 g (11.6 mmol, 99 %)

Farbloser Feststoff



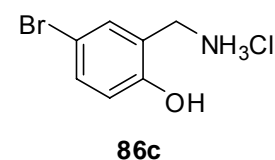
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 4.21 (s, 2H, Benzyl- CH_2), 7.00 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, H3), 7.36 – 7.42 (m, 2H, H4, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ/ppm : 39.5 (Benzyl- CH_2), 117.4 (C3), 121.3 (C1), 124.6 (C5), 130.7, 131.0 (C4 und C6), 154.2 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 158.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 158.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 3096, 2925, 1584, 1476, 1429, 1378, 1334, 1278, 1171, 1136, 1090, 823, 653

5-Brom-2-hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86c**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 2.00 g (9.26 mmol) 5-Bromsalicylsäureamid **87c** in 60 mL 1 M BH_3 -THF-Komplex-Lösung aufgenommen und 48 h zum Sieden erhitzt. Danach wurde die Reaktion durch Zugabe von 20 mL Methanol bei 0 °C abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand 2 x mit je 20 mL Methanol koevaporiert. Der Rückstand wurde in 15 mL 2 N Salzsäure gelöst mit Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wurde 1 x mit 2 N Salzsäure extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden im Vakuum eingengt und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.19 g (9.17 mmol, 99 %)

Farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 4.20 (s, 2H, Benzyl- CH_2), 7.95 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, H3), 7.50 – 7.55 (m, 2H, H4, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ/ppm : 39.5 (Benzyl- CH_2), 111.6 (C5), 117.8 (C3), 121.8 (C1), 133.6, 133.9 (C4 und C6), 154.2 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 202.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 202.0 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 3196, 2926, 1578, 1478, 1423,

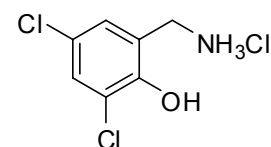
1377, 1330, 1277, 1235, 1168, 1135, 1078, 965, 820, 658

3,5-Dichlor-2-hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86d**

In 10 mL konzentrierter Schwefelsäure wurden 1.22 g 2,4-Dichlorphenol **91a** (6.13 mmol) und 924 mg 2-Chlor-*N*-(hydroxymethyl)acetamid (6.13 mmol) gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Reaktionsmischung auf Eis gegossen und der ausgefallene gummiartige Feststoff gesammelt. Der Feststoff wurde in 50 mL Ethanol/konzentrierte Salzsäure 10:3 aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde noch 2 x mit Wasser extrahiert und die vereinigten wässrigen Phasen im Vakuum eingeeengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 992 mg (4.34 mmol, 71 %)

Farbloser Feststoff



86d

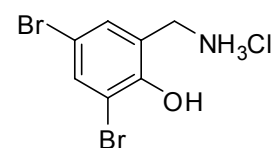
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ/ppm : 4.17 (s, 2H, Benzyl- CH_2), 7.29 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H6), 7.50 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H4); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ/ppm : 39.2 (Benzyl- CH_2), 121.8 (C3), 122.8 (C5), 124.8 (C1), 129.2 (C6), 130.2 (C4), 149.7 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 192.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 192.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 3416, 2926, 1637, 1521, 1453, 1442, 1285, 1167, 1125, 871, 732

3,5-Dibromhydroxybenzylamin Hydrochlorid **86e**

In 10 mL konzentrierter Schwefelsäure wurden 1.75 g 2,4-Dibromphenol **91b** (6.95 mmol) und 1.05 g 2-Chlor-*N*-(hydroxymethyl)acetamid (6.95 mmol) gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Reaktionsmischung auf Eis gegossen und der ausgefallene gummiartige Feststoff gesammelt. Der Feststoff wurde in 50 mL Ethanol/konzentrierte Salzsäure 10:3 aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde noch 2 x mit Wasser extrahiert und die vereinigten wässrigen Phasen im Vakuum eingeeengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 923 g (2.91 mmol, 42 %)

Farbloser Feststoff

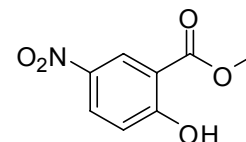


86e

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 4.04 (s, 2H, Benzyl- CH_2), 7.60 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H6), 7.78 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, H4); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 37.6 (Benzyl- CH_2), 111.1 (C3), 112.7 (C5), 125.7 (C1), 132.5 (C6), 134.7 (C4), 151.7 (C2); MS (FAB, m/z): ber.: 279.9 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 279.9 [$\text{M} + \text{H}^+$], IR (KBr): 3073, 2921, 1636, 1587, 1571, 1466, 1455, 1408, 1236, 1217, 1153, 1009, 870, 862, 684

5-Nitrosalicylsäuremethylester **93a**

In 50 mL Methanol wurden 3.01 g (16.4 mmol) 5-Nitrosalicylsäure **94a** gelöst, 10 mL konz. Schwefelsäure zugegeben und über Nacht zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 250 mL Eiswasser gegeben, filtriert und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.



93a

Ausbeute: 2.69 g (13.8 mmol, 84 %)

Farbloser Feststoff

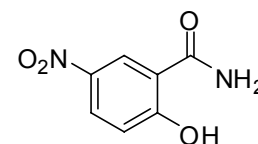
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 4.04 (s, 3 H, $-\text{CH}_3$), 7.09 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, H3), 8.34 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, H4), 8.79 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, H6), 11.43 (s, 1 H, $-\text{OH}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 53.1 ($-\text{CH}_3$), 112.1 (C1), 118.6 (C3), 126.6 (C6), 130.5 (C4), 139.6 (C5), 166.2 (C2), 169.3 (Carbonyl-C); IR (KBr): 3442, 3056, 1679, 1598, 1448, 1353, 1258, 1184, 1091, 709; MS (FAB, m/z): ber.: 198.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 198.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]; Schmelzpunkt 153-154 °C

5-Nitrosalicylsäureamid **87d**

Es wurden 1.62 g (8.22 mmol) 5-Nitrosalicylsäuremethylester **93a** in 25 mL 25 %iger Ammoniaklösung aufgenommen und über Nacht bei 55 °C gerührt. Danach Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt.

Ausbeute: 1.58 g (8.13 mmol, 99 %)

Farbloser Feststoff



87d

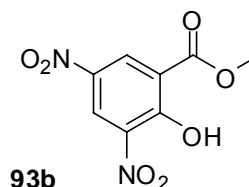
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 6.65 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$ Hz, H3), 7.11 (br s, 2 H, - NH_2), 8.02 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 3.1$ Hz, H4), 8.76 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 3.1$ Hz, H6), 9.57 (br s, 1H, -OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 116.7 (C1), 120.5 (C3), 127.0 (C6), 128.1 (C4), 168.8 (C2), 172.3 (Carbonyl-C); IR: (KBr): 3450, 3184, 3084, 1662, 1559, 1533, 1432, 1401, 1356, 1291, 1163, 802; MS (FAB, m/z): ber.: 183.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 183.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]

3,5-Dinitrosalicylsäuremethylester **93b**

In 50 mL Methanol wurden 5.00 g (21.9 mmol) 3,5-Dinitrosalicylsäure **94b** gelöst, 10 mL konz. Schwefelsäure zugegeben und über Nacht zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 250 mL Eiswasser gegeben, filtriert und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 4.28 g (17.7 mmol, 81 %)

Bräunlicher Feststoff



93b

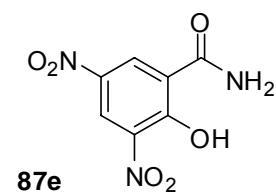
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 4.12 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 9.02 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, H6), 9.03 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1H, H4), 12.67 (s, 1H, OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 54.2 ($-\text{CH}_3$), 115.9 (C1), 126.9 (C4), 130.3 (C6), 159.9 (C2), 168.4 (Carbonyl-C); IR (KBr): 3440, 3080, 1681, 1598, 1448, 1353, 1266, 1181, 1091, 724, 709; Schmelzpunkt 130-131 °C; MS (FAB, m/z): ber.: 243.0 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 243.0 [$\text{M} + \text{H}^+$]

3,5-Dinitrosalicylsäureamid **87e**

Es wurden 4.14 g (17.1 mmol) 3,5-Dinitrosalicylsäuremethylester **93b** in 100 mL 25 %iger Ammoniaklösung aufgenommen und über Nacht bei 55 °C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde filtriert und mit Wasser gewaschen.

Ausbeute: 3.45 g (15.2 mmol, 89 %)

Gelber Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 8.51 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, H6), 8.74 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, H4), 9.80 (s, 1H, -OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 124.1 (C1), 124.5 (C4), 130.0 (C6), 165.8 (C2), 168.9 (Carbonyl-C); IR: (KBr): 3448, 3184, 1662, 1560, 1533, 1432, 1399, 1356, 1327, 1291, 1163, 804; MS (EI-70): ber.: 227.0 [M], gef.: 227.0 [M]

8.6 Die Synthese von PMEAs-Prodruks

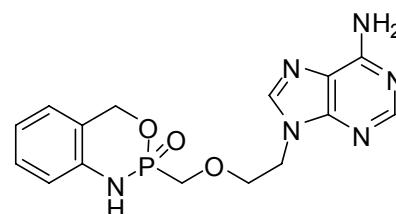
8.6.1 PMEAs-Prodruks I: *cycloAmb*-PMEA 31a-d

cycloAmb-PMEA 31a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μ L (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 90 mg (0.73 mmol) 2-Aminobenzylalkohol **52a**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 86 mg (0.24 mmol, 33 %)

Farblose Warte



31a

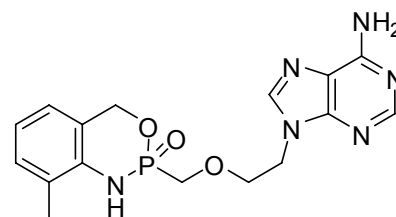
Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

3-Methyl-*cycloAmb*-PMEA 31b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μ L (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 101 mg (0.73 mmol) 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 117 mg (0.313 mmol, 42 %)

Farblose Warte



31b

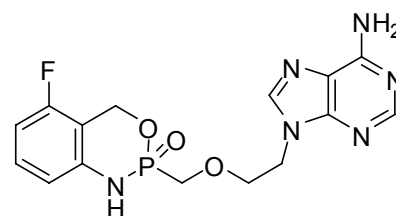
Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

6-Fluor-cycloAmb-PMEA 31c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 103 mg (0.73 mmol) 2-Amino-6-fluorbenzylalkohol **52c**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 68 mg (0.18 mmol, 25 %)

Farblose Watte



31c

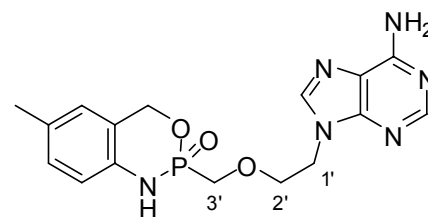
Die analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

5-Methyl-cycloAmb-PMEA 31d

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.4 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 151 mg (1.10 mmol) 2-Amino-5-methylbenzylalkohol **52d**, 0.96 mL (0.70 g, 6.9 mmol) Triethylamin in 6 mL Dichlormethan. 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Wasser (enthält 0.1 % Essigsäure) waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 165 mg (0.441 mmol, 40 %)

Farblose Watte



31d

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 2.20 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 3.76 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz,

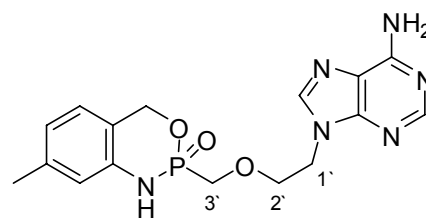
H2'), 3.82 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.2$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 6.8$ Hz, H3'-a), 3.86 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.2$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.1$ Hz, H3'-b), 4.10 – 4.19 (m, 2H, H1'), 5.00 – 5.10 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 6.73 (d, 1H, dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, Aryl-H3), 6.91 (s, 1H, Aryl-H6), 6.98 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, Aryl-H4), 7.17 (s, 2H, -NH₂), 7.79 (s, 1H, H8), 8.09 (s, 1H, H2), 8.37 (d, 1H, $^2J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, P-NH); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 20.2 (-CH₃), 42.3 (C1'), 65.9 (d, $^1J_{\text{CP}} = 151.6$ Hz, C3'), 66.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, Benzyl-CH₂), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 10.7$ Hz, C2'), 116.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Aryl-C3), 118.5 (C5), 122.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Aryl-C1), 125.9 (Aryl-C4), 129.3 (Aryl-C6), 129.4 (Aryl-C5), 137.3 (Aryl-C2), 140.9 (C8), 149.4 (C4), 152.3 (C2), 155.9 (C6); ³¹P-NMR (202 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 17.53; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [M + H⁺], gef.: 375.1359 [M + H⁺]; UV: λ_{max} [nm]: 235, 261; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.42; HPLC: t_R = 12.45 min (Methode I)

4-Methyl-cycloAmb-PMEA 59a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEA **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.4 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 151 mg (1.10 mmol) 2-Amino-4-methylbenzylalkohol **60a**, 0.96 mL (0.70 g, 6.9 mmol) Triethylamin in 6 mL Dichlormethan. 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 27 mg (0.071 mmol, 6 %)

Farblose Watte



59a

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 2.23 (s, 3H, -CH₃), 3.76 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, H2'), 3.78 – 3.89 (m, 2H, H3'), 4.15 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, H1'), 4.99 – 5.11 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 6.65 (s, 1H, Aryl-H3), 6.68 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H5), 6.99 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H6), 7.19 (s, 2H, -NH₂), 7.77 (s, 1H, H8), 8.09 (s, 1H, H2), 8.44 (d, 1H, $^2J_{\text{HP}} = 11.3$ Hz, P-NH); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 20.9 (-CH₃), 42.3 (C1'), 65.9 (d, $^1J_{\text{CP}} = 152.1$ Hz, C3'), 66.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, Benzyl-CH₂), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.2$ Hz, C2'), 117.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Aryl-C3), 118.5 (C5), 119.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Aryl-C1), 121.3 (Aryl-C5), 125.4 (Aryl-C6), 138.4 (Aryl-C2), 139.7 (Aryl-C4), 140.9 (C8), 149.4 (C4),

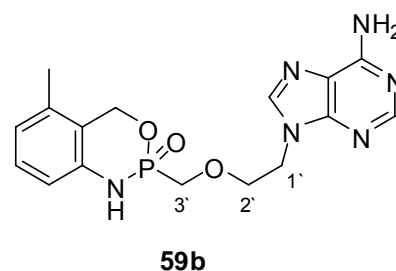
152.2 (C2), 155.8 (C6); ^{31}P -NMR (202 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 16.18; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [M + H $^+$], gef.: 375.1339 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 235, 261; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.50; HPLC: t_{R} = 12.72 min (Methode I)

6-Methyl-cycloAmb-PMEA 59b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEA **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.4 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 151 mg (1.10 mmol) 2-Amino-6-methylbenzylalkohol **60b**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 115 mg (0.307 mmol, 28 %)

Farblose Watte



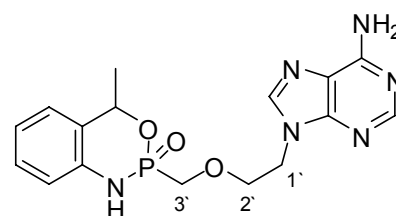
^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 2.17 (s, 3H, -CH $_3$), 3.77 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}}$ = 5.3 Hz, H2'), 3.84 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14.0 Hz, $^2J_{\text{HP}}$ = 6.7 Hz, H3'-a), 3.89 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14.0 Hz, $^2J_{\text{HP}}$ = 6.7 Hz, H3'-b), 4.11 – 4.20 (m, 2H, H1'), 5.04 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14.0 Hz, $^3J_{\text{HP}}$ = 16.0 Hz, Benzyl-CH-a), 5.19 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}}$ = 14.0 Hz, $^3J_{\text{HP}}$ = 12.2 Hz, Benzyl-CH-b), 6.67 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7.9 Hz, Aryl-H3), 6.71 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7.4 Hz, H5), 7.05 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}}$ = 7.9 Hz, $^3J_{\text{HH}}$ = 7.4 Hz, Aryl-H4), 7.18 (s, 2H, -NH $_2$), 7.75 (s, 1H, H8), 8.08 (s, 1H, H2), 8.41 (d, 1H, $^2J_{\text{HP}}$ = 10.9 Hz, P-NH); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 18.1 (-CH $_3$), 42.3 (C1'), 64.3 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 7.6 Hz, Benzyl-CH $_2$), 65.9 (d, $^1J_{\text{CP}}$ = 151.1 Hz, C3'), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 10.7 Hz, C2'), 114.8 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 7.6 Hz, Aryl-C3), 118.5 (C5), 120.4 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 5.6 Hz, Aryl-C1), 122.5 (Aryl-C5), 128.3 (Aryl-C4), 134.1 (Aryl-C6), 139.7 (Aryl-C2), 140.9 (C8), 149.4 (C4), 152.3 (C2), 155.9 (C6); ^{31}P -NMR (202 MHz, DMSO- d_6), δ/ppm : 16.77; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [M + H $^+$], gef.: 375.1342 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 234, 261; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.43; HPLC: t_{R} = 10.99 min (Methode I)

7-Methyl-cycloAmb-PMEA 61a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μ L (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 101 mg (0.73 mmol) 2-Amino-7-methylbenzylalkohol **62**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 32 mg (0.085 mmol, 12 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.5

Farblose Watte



61a

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 1.54 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x -CH $_3$), 1.68 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, 1 x -CH $_3$), 3.66 - 3.74 (m, 1 x 2H, 1 x H $^{2'}$), 3.75 - 3.90 (m, 3 x 2H, 1 x H $^{2'}$, 2 x H $^{3'}$), 4.01 - 4.13 (m, 1 x 2H, 1 x H $^{1'}$), 4.15 - 4.18 (m, 1 x 2H, 1 x H $^{1'}$), 5.28 (dq, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 6.3$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.43 (dq, 1 x H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 6.8$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 6.80 - 6.94 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl-H $_3$, 2 x Aryl-H $_5$), 7.05 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x Aryl-H $_6$), 7.13 - 7.24 (m, 3 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H $_4$, 1 x Aryl-H $_6$, 2 x -NH $_2$), 7.62 (s, 1 x 1H, 1 x H $_8$), 7.78 (s, 1 x 1H, 1 x H $_8$), 8.08 (s, 1 x 1H, 1 x H $_2$), 8.09 (s, 1 x 1H, 1 x H $_2$), 8.38 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 10.5$ Hz, 1 x P-NH), 8.56 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 10.3$ Hz, 1 x P-NH), $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 18.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x -CH $_3$), 22.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, 1 x -CH $_3$), 42.2 (1 x C $^{1'}$), 42.3 (1 x C $^{1'}$), 65.6 (d, $^1J_{\text{CP}} = 151.6$ Hz, 1 x C $^{3'}$), 66.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 152.1$ Hz, 1 x C $^{3'}$), 70.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 10.2$ Hz, 1 x C $^{2'}$), 70.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 10.2$ Hz, 1 x C $^{2'}$), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.2$ Hz, 1 x C $^{2'}$), 71.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 76.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.7$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 116.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, 1 x Aryl-C $_3$), 116.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 1 x Aryl-C $_3$), 118.4 (2 x Aryl-C $_5$), 120.6 (1 x Aryl-C $_5$), 120.7 (1 x Aryl-C $_5$), 124.1 (1 x Aryl-C $_6$), 124.9 (1 x Aryl-C $_6$), 127.1 (1 x Aryl-C $_1$), 127.2 (1 x Aryl-C $_1$), 128.6 (1 x Aryl-C $_4$), 128.8 (1 x Aryl-C $_4$), 138.6 (1 x Aryl-C $_2$), 140.1 (1 x Aryl-C $_2$), 140.8 (2 x C $_8$), 149.3 (2 x C $_4$), 152.3 (2 x C $_2$), 155.9 (2 x C $_6$); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz,

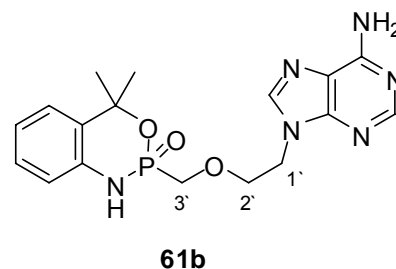
DMSO- d_6 , δ /ppm: 15.95, 14.48; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [M + H⁺], gef.: 375.1337 [M + H⁺]; UV: λ_{\max} [nm]: 231, 261; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.47; HPLC: t_R = 9.44 min (Methode I)

7,7-Dimethyl-cycloAmb-PMEA 61b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEA **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.4 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 166 mg (1.10 mmol) 2-Amino-7,7-dimethylbenzylalkohol **64**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 111 mg (0.286 mmol, 26 %)

Farblose Watte



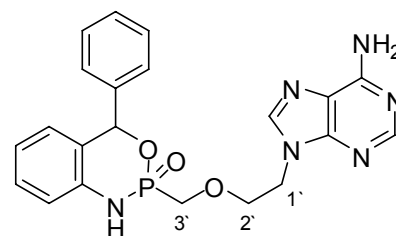
¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 1.62 (s, 3H, -CH₃-a), 1.71 (d, 3H, ⁴J_{HP} = 1.5 Hz, -CH₃-b), 3.68 – 3.74 (m, 3H, H2', H3'-a), 3.79 (dd, 1H, ²J_{HH} = 14.1 Hz, ²J_{HP} = 8.8 Hz, H3'-b), 4.02 – 4.15 (m, 2H, H1'), 6.85 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Aryl-H3), 6.88 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Aryl-H5), 7.13 – 7.20 (m, 4H, Aryl-H4, Aryl-H6, -NH₂), 7.06 (s, 1H, H8), 8.08 (s, 1H, H2), 8.44 (d, 1H, ²J_{HP} = 10.6 Hz, P-NH); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 28.4 (d, ³J_{CP} = 8.1 Hz, -CH₃-b), 29.8 (d, ³J_{CP} = 2.5 Hz, -CH₃-a), 42.2 (C1'), 66.2 (d, ¹J_{CP} = 153.6 Hz, C3'), 70.0 (d, ³J_{CP} = 10.2 Hz, C2'), 83.2 (d, ²J_{CP} = 9.2 Hz, Benzyl-C), 117.3 (d, ³J_{CP} = 8.7 Hz, Aryl-C3), 118.4 (C5), 120.7 (Aryl-C5), 124.1 (Aryl-C4), 128.4 (Aryl-C6), 129.7 (d, ³J_{CP} = 5.6 Hz, Aryl-C1), 138.2 (Aryl-C2), 140.7 (C8), 149.3 (C4), 152.2 (C2), 155.8 (C6); ³¹P-NMR (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 12.34; MS (FAB-HR): ber.: 389.1491 [M + H⁺], gef.: 389.1498 [M + H⁺]; UV: λ_{\max} [nm]: 232, 261; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.39; HPLC: t_R = 9.89 min (Methode I)

7-Phenyl-cycloAmb-PMEA 61c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μ L (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 145 mg (0.73 mmol) 2-Amino-7-phenylbenzylalkohol **67**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 20 mg (0.046 mmol, 6 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.5

Farblose Watte

**61c**

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 3.76 (t, 1 x 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.2$ Hz, 1 x H2'), 3.80 – 3.89 (m, 2 x 2H, 1 x H2', 1 x H3'), 3.91 – 3.98 (m, 1 x 2H, 1 x H3'), 4.09 – 4.21 (m, 2 x 2H, 2 x H1'), 6.25 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HP}} = 7.3$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 6.45 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HP}} = 13.3$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 6.74 – 6.96 (m, 6 x 1H, 6 x Aryl-H), 7.16 – 7.23 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H, 2 x $-\text{NH}_2$), 7.32 – 7.51 (m, 10 x 1H, 10 x Phenyl-H), 7.64 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.80 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.07 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.09 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.52 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 10.3$ Hz, P-NH), 8.78 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 10.6$ Hz, P-NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 42.3 (2 x C1'), 65.5 (d, $^1J_{\text{CP}} = 151.3$ Hz, 2 x C3'), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 10.9$ Hz, 2 x C2'), 77.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 81.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.3$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 116.9 (1 x Aryl-C3), 117.0 (1 x Aryl-C3), 118.5 (1 x C5), 118.5 (1 x C5), 120.5 (1 x Aryl-C5), 120.6 (1 x Aryl-C5), 126.0 (2 x Aryl-C6), 126.6, 127.2, 128.2, 128.4, 128.5, 128.8, 129.1 (8 x Phenyl-CH, 2 x Aryl-C1, 2 x Aryl-C4), 137.1 (2 x Aryl-C2), 140.8 (1 x C8), 140.8 (1 x C8), 149.3 (2 x C4), 152.3 (2 x C2), 155.9 (2 x C6); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 15.58, 14.54; MS (FAB-HR): ber.: 437.1491 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 437.1485 [$\text{M} + \text{H}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 232, 260; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.47; HPLC: $t_R = 10.01$ min (Methode I)

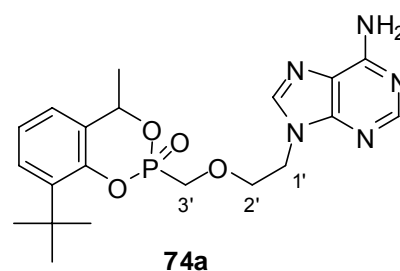
8.6.2 Die Synthese von PMEAs-Produgs II: benzylsubstituierte cycloSal-PMEA-Verbindungen 74a-d, 76a-d

3-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-PMEA 74a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.4 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 214 mg (1.10 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 28 mg (0.063 mmol, 6 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.3

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 1.29 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.30 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.56 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 1.65 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 3.68 – 3.80 (m, 1 x 2H, 1 x H_2'), 3.83 – 3.88 (m, 1 x 2H, 1 x H_2'), 3.98 – 4.19 (m, 3 x 2H, 2 x H_3' , 1 x H_1'), 4.22 (t, 1 x 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.2$ Hz, 1 x H_1'), 5.50 (dq, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 10.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.58 (dq, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 6.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 7.09 – 7.19 (m, 4 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl- H_5 , 2 x Aryl- H_6 , 2 x -NH_2), 7.29 – 7.35 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl- H_4), 7.52 (s, 1 x 1H, 1 x H_8), 7.78 (s, 1 x 1H, 1 x H_8), 8.04 (s, 1 x 1H, 1 x H_2), 8.07 (s, 1 x 1H, 1 x H_2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ/ppm : 19.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, 2 x Benzyl-C- CH_3), 29.6 (2 x *t*-Bu- CH_3), 34.3 (2 x *t*-Bu- C_q), 42.3 (1 x C_1'), 42.4 (1 x C_1'), 63.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 161.7$ Hz, 2 x C_3'), 70.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.7$ Hz, 1 x C_2'), 70.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.4$ Hz, 1 x C_2'), 72.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 2 x Benzyl-CH), 118.5 (2 x C-5), 119.4 (1 x Aryl-C5), 119.7 (1 x Aryl-C5), 123.8 (2 x Aryl-C6), 127.2 (2 x Aryl-C4), 129.7 (2 x Aryl-C1), 138.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, 2 x Aryl-C3), 140.3 (2 x C8), 149.3 (2 x Aryl-C2), 150.4 (2 x C4), 152.3 (2 x C2), 155.8 (1 x C6), 155.9 (1 x

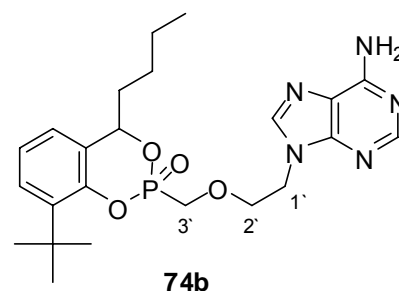
C6); ^{31}P -NMR (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 15.16, 15.31; MS (FAB-HR): ber.: 432.1800 [M + H $^+$], gef.: 432.1836 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.35; HPLC: t $_R$ = 11.71 min (Methode I)

3-*tert*-Butyl-7-*n*-butyl-cycloSal-PMEA 74b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEa **9**, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 5 mL Dichlormethan; 170 mg (0.73 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-*n*-butylsalicylalkohol **71b**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 38 mg (0.080 mmol, 11 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.3

Farblose Watte



^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 0.91 - 0.96 (m, 2 x 3H, 2 x *n*-Bu-CH $_3$), 1.34 - 1.41 (m, 2 x 9H, 4 x 2H, 2 x *t*-Bu-CH $_3$, 2 x -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$), 1.88 - 1.95 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH-CH-a), 2.06 - 2.15 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH-CH-b), 3.79 - 3.91 (m, 2 x 2H, 2 x H $2'$), 4.08 - 4.22 (m, 4 x 2H, 2 x H $1'$, 2 x H $3'$), 5.38 - 5.50 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH), 7.14 - 7.24 (m, 4 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H 5 , 2 x Aryl-H 6 , 2 x -NH $_2$), 7.33 - 7.40 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl-H 4), 7.67 (s, 1 x 1H, 1 x H 8), 7.71 (s, 1 x 1H, 1 x H 8), 8.11 (s, 1 x 1H, 1 x H 2), 8.14 (s, 1 x 1H, 1 x H 2); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 13.9 (2 x *n*-Bu-CH $_3$), 21.7 (2 x -CH $_2$ -CH $_3$), 26.5 (2 x -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$), 29.9 (2 x *t*-Bu-CH $_3$), 34.3 (2 x *t*-Bu-C $_q$), 39.8 (2 x Benzyl-CH-CH $_2$), 42.3 (1 x C $1'$), 42.4 (1 x C $1'$), 63.6 (d, $^1J_{\text{CP}}$ = 162.5 Hz, 2 x C $3'$), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 12.2 Hz, 1 x C $2'$), 70.4 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 12.2 Hz, 1 x C $2'$), 76.6 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 7.6 Hz, 1 x Benzyl-C), 80.0 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 7.6 Hz, 1 x Benzyl-C), 118.6 (2 x C-5), 119.4 (2 x Aryl-C 5), 123.7 (1 x Aryl-C 6), 123.7 (1 x Aryl-C 6), 127.0 (1 x Aryl-C 4), 127.2 (1 x Aryl-C 4), 127.4 (2 x Aryl-C 1), 138.3 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 5.3 Hz, 2 x Aryl-C 3), 140.7 (2 x C 8), 148.5 (2 x

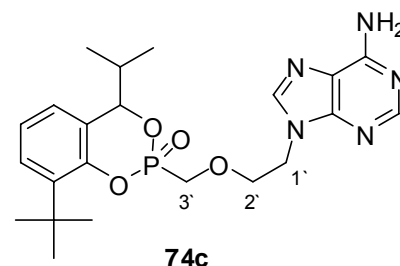
Aryl-C2), 149.7 (2 x C4), 152.6 (2 x C2), 156.3 (2 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 14.49, 15.73; MS (FAB-HR): ber.: 474.2270 [M + H $^+$], gef.: 474.2341 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.38; HPLC: t $_R$ = 15.68 min (Methode I)

3-*tert*-Butyl-7-*iso*-propyl-cycloSal-PMEA 74c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 5 mL Dichlormethan; 160 mg (0.73 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-*i*-propylsalicylalkohol **71c**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EEt/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 49 mg (0.080 mmol, 15 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.6

Farblose Watte



^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 0.81 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x 3H, 1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -a), 0.89 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x 3H, 1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -a), 0.92 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x 3H, 1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -b), 0.95 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x 3H, 1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -b), 1.27 (s, 1 x 9 H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 1.28 (s, 1 x 9 H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 2.12 - 2.03 (m, 1 x 1H, 1 x *i*-Propyl-CH), 2.33 - 2.26 (m, 1 x 1H, 1 x *i*-Propyl-CH), 3.78 - 3.67 (m, 1 x 2H, 1 x H $2'$), 3.89 - 3.80 (m, 1 x 2H, 1 x H $2'$), 4.04 - 3.99 (m, 1 x 2H, 1 x H $3'$), 4.09 - 4.05 (m, 1 x 2H, 1 x H $1'$), 4.14 - 4.11 (m, 1 x 2H, 1 x H $3'$), 4.23 - 4.18 (m, 1 x 2H, 1 x H $1'$), 5.22 - 5.14 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH), 7.15 - 7.04 (m, 4 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H5, 2 x Aryl-H6, 2 x -NH $_2$), 7.33 - 7.27 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl-H4), 7.54 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.75 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.06 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.07 (s, 1 x 1H, 1 x H2); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.3 (1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -a), 17.2 (1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -b), 19.5 (1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -a), 21.4 (1 x *i*-Propyl-CH $_3$ -b), 29.5 (1 x *t*-Bu-CH $_3$), 29.6 (1 x *t*-Bu-CH $_3$), 30.8 (1 x *i*-Propyl-CH), 34.3 (1 x *i*-Propyl-CH), 34.3 (1 x *t*-Bu-C $_q$), 34.3 (1 x *t*-Bu-C $_q$), 42.5 (2 x C $1'$), 63.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 164.0$ Hz, 2 x C $3'$),

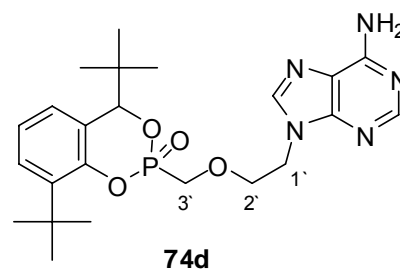
70.7 (d, $^3J_{CP} = 12.2$ Hz, 2 x C2'), 81.9 (d, $^2J_{CP} = 7.6$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 86.0 (d, $^2J_{CP} = 8.4$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 118.6 (1 x C5), 118.6 (1 x C5), 123.5 (1 x Aryl-C5), 123.6 (1 x Aryl-C5), 124.8 (1 x Aryl-C6), 125.1 (1 x Aryl-C6), 126.2 (1 x Aryl-C1), 126.3 (1 x Aryl-C1), 126.9 (1 x Aryl-C4), 127.1 (1 x Aryl-C4), 138.7 (1 x Aryl-C3), 138.7 (1 x Aryl-C3), 140.7 (2 x C8), 147.9 (2 x Aryl-C2), 149.4 (2 x C4), 152.3 (2 x C2), 155.9 (2 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 13.32, 16.14; MS (FAB-HR): ber.: 460.2114 [M + H $^+$], gef.: 460.2151 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 259; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.37; HPLC: t $_R$ = 14.45 min (Methode I)

3,7-Di-*tert*-ButylcycloSal-PMEA 74d

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEA **9**, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 5 mL Dichlormethan; 170 mg (0.73 mmol) 3,7-Di-*tert*-Butylsalicylalkohol **71d**, 0.79 mL (0.60 g, 4.6 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 143 mg (0.302 mmol, 41 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.5

Farblose Watte



^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 0.76 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Bu-CH $_3$), 0.86 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Bu-CH $_3$), 1.20 (s, 1 x 9H, 1 x Aryl-*t*-Bu-CH $_3$), 1.22 (s, 1 x 9H, 1 x Aryl-*t*-Bu-CH $_3$), 3.64 - 3.54 (m, 2 x 1H, 2 x H2'-a), 3.86 (d, $^2J_{HP} = 7.9$ Hz, 1 x 1H, 1 x H3'-a), 3.96 - 3.90 (m, 4 x 1H, 2 x H2'-b, 2 x H1'-a), 4.21 - 4.17 (m, 1 x 2H, 2 x H3'-b), 4.26 - 4.23 (m, 1 x 1H, 1 x H1'-b), 4.29 - 4.27 (m, 1 x 1H, 1 x H1'-b), 5.05 (d, 1 x 1H, $^3J_{HP} = 12.5$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.11 (d, 1 x 1H, $^3J_{HP} = 21.6$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 6.92 (dd, 1 x 1H, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, $^4J_{HH} = 1.4$ Hz, 1 x Aryl-H6), 7.06 - 6.96 (m, 3 x 1H, 2 x Aryl-H5, 1 x Aryl-H6), 7.09 (s, 2 x 2H, 2 x -NH $_2$), 7.22 (d, 1 x 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.26 (dd, 1 x 1H, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^4J_{HH} = 1.4$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.40 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.96 (s, 1

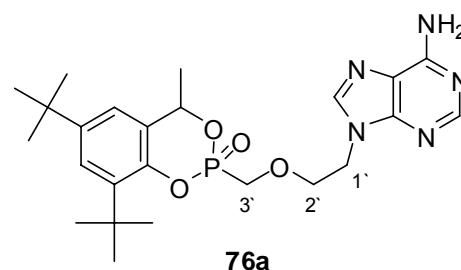
x 1H, 1 x H8), 8.00 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.04 (s, 1 x 1H, 1 x H2); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 25.1 (1 x Benzyl-*t*-Bu-CH $_3$), 25.3 (1 x Benzyl-*t*-Bu-CH $_3$), 29.4 (1 x Aryl-*t*-Bu-CH $_3$), 29.6 (1 x Aryl-*t*-Bu-CH $_3$), 34.2 (2 x Benzyl-*t*-Bu-C $_q$), 37.1 (2 x Aryl-*t*-Bu-CH $_3$), 42.4 (2 x C1'), 64.0 (d, $^1J_{\text{CP}} = 163.3$ Hz, 2 x C3'), 70.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.0$ Hz, 1 x C2'), 70.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.9$ Hz, 1 x C2'), 86.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 90.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 118.6 (2 x C5), 123.0 (2 x Aryl-C5), 123.3 (2 x Aryl-C1), 126.6 (1 x Aryl-C6), 126.8 (1 x Aryl-C6), 127.0 (1 x Aryl-C4), 127.2 (1 x Aryl-C4), 138.4 (2 x Aryl-C3), 140.6 (2 x C8), 148.5 (2 x Aryl-C2), 149.3 (2 x C4), 152.3 (1 x C2), 152.3 (1 x C2), 155.9 (2 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 12.62, 16.62; MS (FAB-HR): ber.: 474.2270 [M + H $^+$], gef.: 474.2258 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.38; HPLC: $t_{\text{R}} = 15.47$ min, 16.00 (Methode I)

3,5-Di-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-PMEA 76a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEA **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 8 mL Dichlormethan; 214 mg (1.10 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **79a**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 91 mg (0.19 mmol, 17 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.3

Farblose Warte



^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.27 (s, 2 x 9H, 2 x 5-*t*-Bu-CH $_3$), 1.30 (s, 1 x 9H, 1 x 3-*t*-Bu-CH $_3$), 1.31 (s, 1 x 9H, 1 x 3-*t*-Bu-CH $_3$), 1.59 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-C-CH $_3$), 1.67 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-C-CH $_3$), 3.69 – 3.87 (m, 2 x 2H, 2 x H2'), 3.97 – 4.20 (m, 2 x 2H, 2 x H1', 2 x H3'), 5.47 – 5.62 (m, 2 x 1H, 2 x

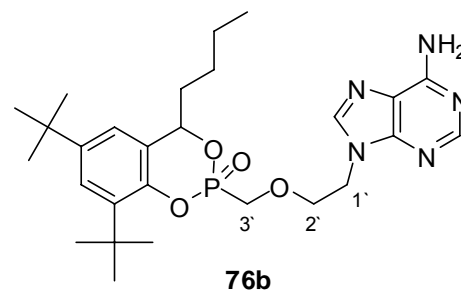
Benzyl-CH), 7.10 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x Aryl-H6), 7.15 – 7.17 (m, 1 x 1H, 2 x 2H, 1 x Aryl-H6, 2 x -NH₂), 7.31 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.34 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.56 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.76 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.05 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.08 (s, 1 x 1H, 1 x H2); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ [ppm]: 21.8 (1 x Benzyl-C-CH₃), 21.9 (1 x Benzyl-C-CH₃), 29.6 (2 x 3-*t*-Bu-CH₃), 31.1 (2 x 5-*t*-Bu-CH₃), 34.4 (2 x *t*-Bu-C_q), 34.4 (2 x *t*-Bu-C_q), 42.3 (1 x C1'), 42.3 (1 x C1'), 63.5 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.1$ Hz, 1 x C3'), 64.0 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.1$ Hz, 1 x C3'), 70.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.5$ Hz, 1 x C2'), 70.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, 1 x C2'), 73.3 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 2 x Benzyl-CH), 76.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.3$ Hz, 1 x C3'), 118.5 (2 x C5), 120.1 (1 x Aryl-C6), 120.3 (1 x Aryl-C6), 123.7 (1 x Aryl-C4), 123.9 (1 x Aryl-C4), 129.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.4$ Hz, 1 x Aryl-C1), 129.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, 1 x Aryl-C1), 137.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 137.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 140.7 (2 x C8), 145.7 (1 x Aryl-C5), 145.8 (1 x Aryl-C5), 146.1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, 1 x Aryl-C2), 149.3 (1 x C4), 149.4 (1 x C4), 152.3 (2 x C2), 155.9 (2 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO-d₆), δ [ppm]: 15.01, 15.25; MS (FAB-HR): ber.: 488.2427 [M + H⁺], gef.: 488.2455 [M + H⁺]; UV: λ_{max} [nm]: 259; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.54; HPLC: t_R = 17.07 min, 17.20 (Methode I)

3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*n*-butyl-cycloSal-PMEA 76b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 8 mL Dichlormethan; 322 mg (1.10 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*n*-butylsalicylalkohol **79b**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 47 mg (0.088 mmol, 8 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.8

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 0.84 – 0.89 (m, 2 x 3H, 2 x *n*-Bu-CH $_3$), 1.11 – 1.48 (m, 4 x 9H, 4 x 2H, 4 x *t*-Bu-CH $_3$, 2 x -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$), 1.79 – 1.91 (m, 3 x 1H, 2 x Benzyl-CH-CH-a, 1 x Benzyl-CH-CH-b), 1.96 – 2.03 (m, 1 x 1H, 1 x Benzyl-CH-CH-b), 3.72 – 3.87 (m, 2 x 2H, 2 x H2'), 3.98 – 4.17 (m, 4 x 2H, 2 x H1', 2 x H3'), 5.35 – 5.43 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH), 7.10 – 7.21 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H6, 2 x -NH $_2$), 7.30 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.32 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.61 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.68 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.05 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.08 (s, 1 x 1H, 1 x H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 13.9 (2 x *n*-Bu-CH $_3$), 21.6 (1 x -CH $_2$ -CH $_3$), 21.6 (1 x -CH $_2$ -CH $_3$), 26.7 (1 x -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$), 26.9 (2 x -CH $_2$ -CH $_2$ -CH $_3$), 29.6 (1 x 3-*t*-Butyl-CH $_3$), 29.7 (1 x 3-*t*-Bu-CH $_3$), 31.2 (2 x 5-*t*-Bu-CH $_3$), 34.5 (1 x Benzyl-CH-CH $_2$), 34.5 (2 x Benzyl-CH-CH $_2$), 36.0 (2 x *t*-Butyl-C $_q$), 36.0 (2 x *t*-Butyl-C $_q$), 42.3 (1 x C1'), 42.4 (1 x C1'), 63.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 163.3$ Hz, 1 x C3'), 64.0 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.5$ Hz, 1 x C3'), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.2$ Hz, 1 x C2'), 70.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.2$ Hz, 1 x C2'), 77.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 80.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 118.6 (2 x C-5), 120.6 (1 x Aryl-C6), 121.0 (1 x Aryl-C6), 123.6 (1 x Aryl-C4), 123.7 (1 x Aryl-C4), 126.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, Aryl-C1), 126.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, Aryl-C1), 137.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, Aryl-C3), 137.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, Aryl-C3), 140.7 (2 x C8), 148.8 (2 x Aryl-C2), 149.4 (2 x Aryl-C5), 149.4 (2 x C4), 152.3 (2 x C-2), 155.9 (1 x C-6), 155.9 (1 x C-6); $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 14.40, 15.76; MS (FAB-HR): ber.: 530.2896 [M + H $^+$], gef.: 530.2912 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 259; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.39; HPLC: t $_R$ = 20.35 min (Methode I)

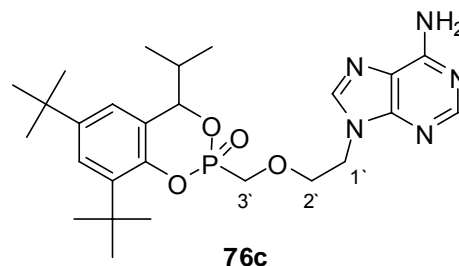
3,5-Di-*tert*-Butyl-7-*iso*-propyl-cycloSal-PMEA 76c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEA **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 8 mL Dichlormethan; 280 mg (1.10 mmol) 3,5-Di-

tert-Butyl-7-*i*-propylsalicylalkohol **79c**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 52 mg (0.10 mmol, 9 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.9

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 0.80 (d, 3H, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x *i*-Pr-CH₃), 0.88 (d, 3H, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x *i*-Pr-CH₃), 0.89 (d, 3H, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, 1 x *i*-Pr-CH₃), 0.97 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.7$ Hz, 1 x *i*-Pr-CH₃), 1.26 (s, 1 x 9H, 1 x 5-*t*-Butyl-CH₃), 1.27 (s, 1 x 9H, 1 x 5-*t*-Butyl-CH₃), 1.29 (s, 2 x 9H, 2 x 3-*t*-Butyl-CH₃), 2.03 – 2.12 (m, 1 x 1H, 1 x *i*-Pr-CH), 2.20 – 2.29 (m, 1 x 1H, 1 x *i*-Pr-CH), 3.67 – 3.77 (m, 1 x 2H, 1 x H₂'), 3.84 – 3.94 (m, 1 x 2H, 1 x H₂'), 3.96 – 4.01 (m, 1 x 2H, 1 x H₃'), 4.02 – 4.05 (m, 1 x 2H, 1 x H₁'), 4.12 (d, 1 x 2H, $^2J_{\text{HP}} = 8.0$ Hz, 1 x H₃'), 4.20 – 4.27 (m, 1 x 2H, 1 x H₁'), 5.12 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 12.0$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.20 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 18.7$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 7.10 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1 x Aryl-H₆), 7.10 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1 x Aryl-H₆), 7.14 (s, 1 x 2H, -NH₂), 7.15 (s, 1 x 2H, -NH₂), 7.29 – 7.32 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl-H₄), 7.51 (s, 1 x 1H, 1 x H₈), 7.82 (s, 1 x 1H, 1 x H₈), 8.06 (s, 1 x 1H, 1 x H₂), 8.08 (s, 1 x 1H, 1 x H₂); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 16.3 (1 x *i*-Propyl-CH₃), 17.1 (1 x *i*-Propyl-CH₃), 18.8 (1 x *i*-Propyl-CH₃), 18.9 (1 x *i*-Propyl-CH₃), 29.5 (1 x 3-*t*-Butyl-CH₃), 29.7 (1 x 3-*t*-Bu-CH₃), 31.1 (1 x *i*-Propyl-CH), 31.1 (2 x 5-*t*-Butyl-CH₃), 34.3 (1 x *i*-Propyl-CH), 34.4 (2 x *t*-Butyl-C_q), 34.5 (2 x *t*-Butyl-C_q), 42.4 (1 x C₁'), 42.4 (1 x C₁'), 63.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 164.8$ Hz, 1 x C₃'), 63.9 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.5$ Hz, 1 x C₃'), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.0$ Hz, 1 x C₂'), 70.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.2$ Hz, 1 x C₂'), 82.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 86.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 118.5 (1 x C₅), 118.6 (1 x C₅), 121.9 (1 x Aryl-C₆), 122.1 (1 x Aryl-C₆), 123.5 (1 x Aryl-C₄), 123.5 (1 x Aryl-C₄), 124.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x Aryl-C₁), 125.8 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x Aryl-C₁), 137.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, 1 x Aryl-C₃), 138.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, 1 x Aryl-C₃), 140.7 (1 x C₈), 140.7 (1 x C₈), 145.1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, 1 x Aryl-C₂), 145.4 (1 x Aryl-C₅),

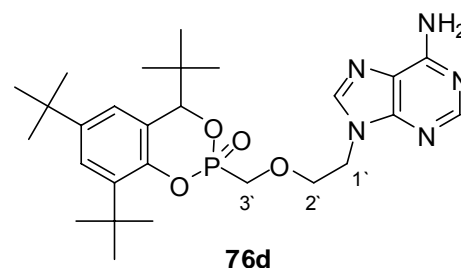
145.4 (1 x Aryl-C5), 145.9 (d, $^2J_{CP} = 7.6$ Hz, 1 x Aryl-C2), 149.3 (1 x C4), 149.4 (1 x C4), 152.3 (1 x C2), 152.3 (1 x C2), 155.9 (1 x C6), 155.9 (1 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.25, 13.28; MS (FAB-HR): ber.: 516.2740 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 516.2738 [$\text{M} + \text{H}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.43; HPLC: $t_R = 18.91$ min, 19.36 min (Methode I)

3,5,7-Tri-*tert*-Butyl-cycloSal-PMEA 76d

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 8 mL Dichlormethan; 322 mg (1.10 mmol) 3,5-Tri-*tert*-Butyl-salicylalkohol **79d**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 135 mg (0.255 mmol, 23 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.6

Farblose Watte



^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 0.82 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 0.94 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 1.25 (s, 1 x 9H, 1 x 3-*t*-Butyl- CH_3), 1.26 (s, 1 x 9H, 1 x 3-*t*-Butyl- CH_3), 1.29 (s, 2 x 9H, 2 x 5-*t*-Butyl- CH_3), 3.61 - 3.69 (m, 1 x 2H, 1 x H2'), 3.86 - 3.98 (m, 2 x 2H, 1 x H1', 1 x H3'), 3.99 - 4.08 (m, 1 x 2H, 1 x H2'), 4.25 (d, 1 x 2H, $^2J_{HP} = 8.0$ Hz, 1x H-3'), 4.36 (t, 1 x 2H, $^3J_{HH} = 5.0$ Hz, 1 x H1'), 5.10 (d, 1 x 1H, $^3J_{HP} = 11.3$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.20 (d, 1 x 1H, $^3J_{HP} = 21.1$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 7.04 (d, 1 x 1H, $^4J_{HH} = 2.2$ Hz, 1 x Aryl-H6), 7.07 (d, 1 x 1H, $^4J_{HH} = 1.7$ Hz, 1 x Aryl-H6), 7.16 (s, 2 x 2H, 2 x - NH_2), 7.29 (d, 1 x 1H, $^4J_{HH} = 2.2$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.33 (d, 1 x 1H, $^4J_{HH} = 1.7$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.41 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.05 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.07 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.12 (s, 1 x 1H, 1 x H8); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 25.4 (1 x Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 25.5 (1 x Benzyl-*t*-Butyl- CH_3), 29.5 (1 x 3-*t*-Butyl- CH_3), 29.7 (1 x 3-*t*-Butyl- CH_3),

31.1 (2 x 5-*t*-Butyl-CH₃), 34.2 (2 x 5-*t*-Butyl-C_q), 34.4 (2 x 3-*t*-Butyl-C_q), 37.0 (1x Benzyl-*t*-Butyl-C_q), 37.1 (1 x Benzyl-*t*-Bu-C_q), 42.4 (2 x C1'), 63.9 (d, ¹J_{CP} = 166.3 Hz, 1 x C3'), 64.0 (d, ¹J_{P,C} = 163.3 Hz, 1 x C3'), 70.1 (d, ³J_{CP} = 12.2 Hz, 1 x C2'), 70.5 (d, ³J_{CP} = 11.4 Hz, 1 x C2'), 87.1 (d, ²J_{CP} = 8.4 Hz, 1 x Benzyl-CH), 90.5 (d, ²J_{CP} = 9.2 Hz, 1 x Benzyl-CH), 118.5 (1 x C5), 118.7 (1 x C5), 137.5 (d, ³J_{CP} = 5.4 Hz, 1 x Aryl-C3), 138.8 (d, ³J_{CP} = 3.1 Hz, 1 x Aryl-C3), 140.7 (1 x C2), 140.8 (1 x C2), 144.8 (1 x Aryl-C5), 145.1(1 x Aryl-C5), 146.4 (d, ²J_{CP} = 7.6 Hz, 1 x Aryl-C2), 149.3 (1 x C4), 149.6 (1 x C4), 152.4 (2 x C8), 155.9 (2 x C6); ³¹P-NMR (162 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 12.63, 16.67; MS (FAB-HR): ber.: 530.2896 [M + H⁺], gef.: 530.2905 [M + H⁺]; UV: λ_{max} [nm]: 259; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.37; HPLC: t_R = 20.16 min (Methode I)

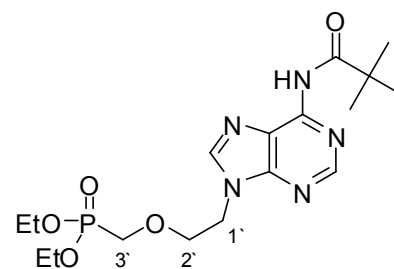
8.6.3 Die Synthese von PMEAs-Prodrugs III: *N*-acylierte *cycloSal*-PMEA-Verbindungen 80a,b

N-Pivaloyl-9-(2-diethylphosphonylmethoxyethyl)adenin (*N*-Piv-diethyl-PMEA) 82a

2.00 g (6.08 mmol) Diethyl-PMEA **36** wurden in 20 mL absolutem Pyridin aufgenommen und bei 0 °C mit 2.24 mL (2.20 g, 18.2 mmol) Pivalinsäurechlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Diese Lösung wurde 5 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 0-5%).

Ausbeute: 2.07 g (5.01 mmol, 80 %)

Farbloses Öl



82a

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 1.13 (t, 6H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, Ethyl-CH₃), 1.28 (s, 9H, *t*-Butyl-CH₃), 3.85 (d, 2H, ²J_{HP} = 8.0 Hz, H3'), 3.95 - 3.87 (m, 6H, H2', Ethyl-CH₂),

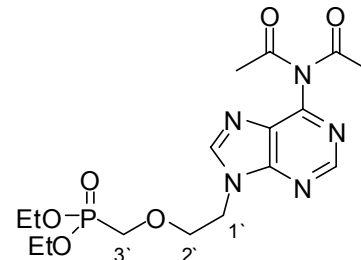
4.45 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H1'), 8.39 (s, 1H, H2), 8.67 (s, 1H, H8), 10.07 (s, 1H, -NH); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, Ethyl- CH_3), 26.9 (*t*-Butyl- CH_3), 42.7 (C-1'), 61.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 63.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 162.5$ Hz, C3'), 70.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.5$ Hz, C2'), 125.3 (C5), 144.7 (C2), 150.1 (C4), 151.2 (C8), 152.2 (C6), 176.2 (Carbonyl-C); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 20.83; MS (FAB-HR): ber.: 414.1906 [M + H^+], gef.: 414.1905 [M + H^+]; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.28

***N,N*-Diacetyl-9-(2-diethylphosphonylmethoxyethyl)adenin (*N,N*-Diac-diethyl-PMEA) 82c**

1.50 g (4.55 mmol) Diethyl-PMEA **36** wurden in 20 mL Pyridin aufgenommen und bei 0°C wurden 4.7 mL (50.0 mmol, 10 eq.) Essigsäureanhydrid zugetropft und 2 h bei 80°C gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in Dichlormezhan/Wasser aufgenommen und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 3 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 1.06 g (2.86 mmol, 62 %)

Farbloses Öl



82c

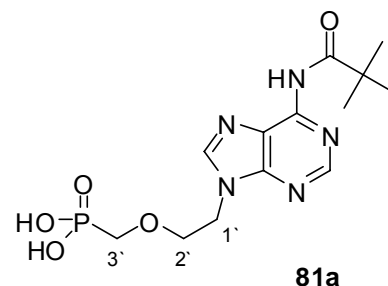
^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.12 (t, 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 2.24 (s, 6H, Acetyl- CH_3), 3.86 – 3.93 (m, 6H, H3', Ethyl- CH_2), 3.98 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H2'), 4.53 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H1'), 8.64 (s, 1H, H2), 8.97 (s, 1H, H8); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, Ethyl- CH_3), 25.8 (Acetyl- CH_3), 43.2 (C-1'), 61.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 63.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 161.9$ Hz, C3'), 69.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.4$ Hz, C2'), 129.4 (C5), 148.2 (C2), 149.4 (C4), 152.0 (C8), 153.8 (C6), 171.7 (Carbonyl-C); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 20.86; MS (FAB): ber.: 414.2 [M + H^+], gef.: 414.2 [M + H^+]; MS (FAB-HR): ber.: 372.1437 [M - Ac + H^+], gef.: 372.1432 [M - Ac + H^+]; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.31

***N*-Pivaloyl-9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenin (*N*-Piv-PMEA) 81a**

Die Durchführung wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 2.00 g (4.67 mmol) *N*-Piv-diethyl-PMEA **82a** und 2.14 mL (2.50 g, 16.3 mmol) Bromtrimethylsilan in 20 mL absolutem Acetonitril. Reinigung: Auskristallisieren aus Wasser/Aceton.

Ausbeute: 0.79 g (2.2 mmol, 46 %)

Farbloser Feststoff



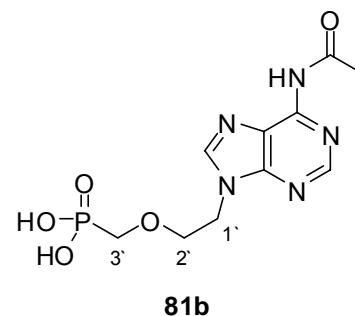
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ [ppm]: 1.36 (*t*-Butyl- CH_3), 3.65 (d, 2H, $^3J_{\text{HP}} = 8.9$ Hz, H3'), 4.01 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H2'), 4.66 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H1'), 8.83 (s, 1H, H2), 9.00 (s, 1H, H8); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ [ppm]: 26.6 (*t*-Butyl- CH_3), 41.0 (*t*-Butyl- C_q), 45.2 (C1'), 67.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 156.7$ Hz, C3'), 70.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.9$ Hz, C2'), 118.8 (C5), 141.5 (C2), 142.6 (C8), 147.1 (C4), 152.3 (C6), 182.5 (Carbonyl-C); $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 15.57; MS (FAB-HR): ber.: 358.1280 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 358.1296 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 3104, 2972, 1701, 1611, 1518, 1482, 1463, 1412, 1351, 1129, 993, 938, 741, 644

***N*-Acetyl-9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenin (*N*-Ac-PMEA) 81b**

Die Durchführung wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 900 mg (2.18 mmol) *N,N*-Di-ac-diethyl-PMEA **82c** und 1.39 mL (1.63 g, 10.6 mmol) Bromtrimethylsilan in 10 mL absolutem Acetonitril. Reinigung: Auskristallisieren aus Wasser/Aceton.

Ausbeute: 0.11 g (0.35 mmol, 16 %)

Farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ [ppm]: 2.41 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 3.67 (d, 2H, $^3J_{\text{HP}} = 8.9$ Hz, H3'), 4.02 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.9$ Hz, H2'), 4.66 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.9$ Hz, H1'), 8.82 (s, 1H, H2),

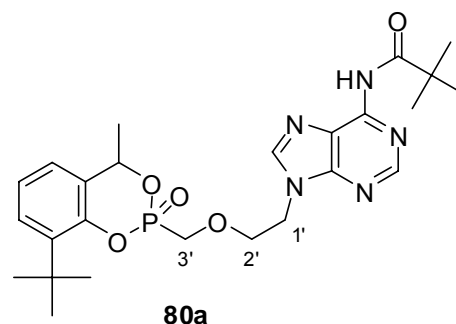
8.97 (s, 1H, H8); ^{13}C -NMR (101 MHz, D_2O), δ [ppm]: 24.0 (Acetyl- CH_3), 44.6 ($\text{C}1'$), 66.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 156.4$ Hz, $\text{C}3'$), 70.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.0$ Hz, $\text{C}2'$), 118.5 ($\text{C}5$), 142.0 ($\text{C}2$), 152.1 ($\text{C}8$), 148.0 ($\text{C}4$), 154.7 ($\text{C}6$), 174.3 (Carbonyl-C); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 16.92; MS (FAB-HR): ber.: 316.0811 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 316.0817 [$\text{M} + \text{H}^+$]; IR (KBr): 3389, 3103, 2974, 2894, 1693, 1596, 1474, 1404, 1331, 1224, 1168, 1121, 1000, 920, 893, 695, 587, 548

3-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-*N*-pivaloyl-PMEA 80a

100 mg (0.270 mmol) *N*-Pivaloyl-PMEA **81a** wurden in 5 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen, 5 Tropfen DMF zugegeben und anschließend bei 0°C 0.14 mL (0.21 g, 1.7 mmol) Oxalylchlorid zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde noch 2 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in 8 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Diese Lösung wurde auf 0°C gekühlt und ein Gemisch aus 210 mg (1.08 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a**, 0.32 mL (1.89 mmol) DIPEA in 5 mL absolutem Dichlormethan innerhalb von 30 min zugetropft und danach über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden Acetatpuffer (1 M, pH 5) und DCM zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 3 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über NaSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde am Chromatotron gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 0-10%).

Ausbeute: 20 mg (0.039 mmol, 14 %), Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.07

Farblose Watte



^1H -NMR (400 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 1.28 (s, 9H, Aryl-*t*-Butyl- CH_3), 1.42 (s, 9H, Piv-*t*-Butyl- CH_3), 1.73 (dd, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 1.0$ Hz, Benzyl-C- CH_3), 3.86 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, $\text{H}2'$), 4.04 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 7.9$ Hz, $\text{H}3'$ -a), 4.15 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.1$ Hz, $\text{H}3'$ -b), 4.29 – 4.33 (m, 2H, $\text{H}1'$), 5.51 – 5.58 (m, 1H,

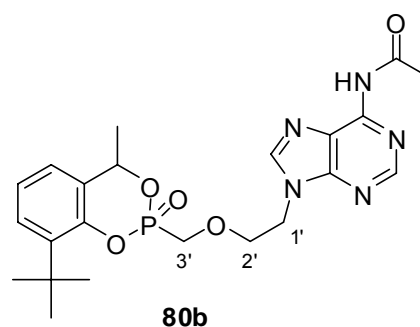
Benzyl-H), 7.01 – 7.17 (m, 1H, Aryl-H6), 7.25 – 7.33 (m, 1H, Aryl-H4), 7.85 (s, 1H, H8), 8.58 (s, 1H, H2); ^{13}C -NMR (101 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 19.8 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, Benzyl-C- CH_3), 27.4 (Piv-*t*-Butyl- CH_3), 30.3 (Aryl-*t*-Butyl- CH_3), 35.6 (Aryl-*t*-Butyl- C_q), 41.5 (Piv-*t*-Butyl- C_q), 44.8 ($\text{C}1'$), 64.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 164.2$ Hz, $\text{C}3'$), 71.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.9$ Hz, $\text{C}2'$), 74.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Benzyl-CH), 123.9 ($\text{C}5$), 124.1 (Aryl- $\text{C}5$), 125.3 (Aryl- $\text{C}4$), 128.8 (Aryl- $\text{C}6$), 129.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Aryl- $\text{C}1$), 139.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Aryl- $\text{C}3$), 145.9 ($\text{C}8$), 150.9 ($\text{C}4$), 152.9 ($\text{C}2$), 153.4 ($\text{C}6$), 176.5 (Carbonyl-C); ^{31}P -NMR (162 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 16.83; MS (FAB-HR): ber.: 516.2376 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 516.2377 [$\text{M} + \text{H}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 273; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.59; HPLC: $t_R = 15.07$ min, 15.15 min (Methode I)

3-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-*N*-acetyl-PMEA 80b

100 mg (0.317 mmol) *N*-Acetyl-PMEA **81b** wurden in 5 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen, 5 Tropfen DMF zugegeben und anschließend bei 0°C 0.16 mL (0.24 g, 1.9 mmol) Oxalylchlorid zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde noch 2 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in 8 mL DCM gelöst. Diese Lösung wurde auf 0°C gekühlt und eine Lösung aus 246 mg (1.27 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a** und 0.38 mL (2.2 mmol) DIPEA in 5 mL absolutem Dichlormethan innerhalb von 30 min zugetropft und danach über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Acetatpuffer (1 M, pH 5) und Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde 3 x mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über NaSO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde zunächst säulenchromatographisch (DCM mit MeOH-Gradient 0 – 10 %) und dann am Chromatotron gereinigt (DCM mit MeOH-Gradient 0 – 10 %).

Ausbeute: 7 mg (0.015 mmol, 5 %), Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.1

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 1.29 (s, 9H, Aryl-*t*-Butyl- CH_3), 1.73 (dd, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 1.2$ Hz, Benzyl-C- CH_3), 2.40 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 3.86 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H2'), 4.02 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.0$ Hz, H3'-a), 4.13 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.0$ Hz, H3'-b), 4.30 (dt, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H1'), 5.52 – 5.60 (m, 1H, Benzyl-H), 7.05 – 7.13 (m, 1H, Aryl-H6), 7.31 – 7.34 (m, 1H, Aryl-H4), 7.79 (s, 1H, H8), 8.56 (s, 1H, H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 19.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.7$ Hz, Benzyl-C- CH_3), 24.6 (Acetyl- CH_3), 30.4 (*t*-Butyl- CH_3), 35.6 (*t*-Butyl- C_q), 44.7 (C1'), 64.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 164.8$ Hz, C3'), 71.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.8$ Hz, C2'), 74.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, Benzyl-CH), 123.4 (C5), 124.2 (Aryl-C5), 125.4 (Aryl-C4), 128.9 (Aryl-C6), 129.4 (Aryl-C1), 139.9 (Aryl-C3), 145.8 (C8), 149.4 (Aryl-C2), 150.3 (C4), 152.9 (C2), 155.4 (C6), 172.4 (Carbonyl-C); $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, Methanol- d_4), δ [ppm]: 16.83; MS (FAB-HR): ber.: 474.1906 [M + H $^+$], gef.: 474.1906 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 272; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.54; HPLC: $t_{\text{R}} = 12.59$ min, 12.80 min (Methode I)

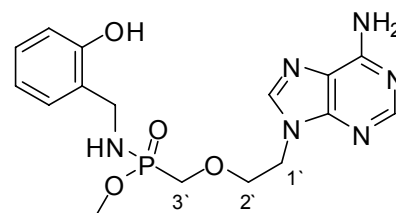
8.6.4 Die Synthese von PMEAs-Prodrugs IV: HbaE-PMEA-Prodrugs 88a-d

2-Hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA 88a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PMEAs **9**, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 116 mg (0.73 mmol) 2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86a**, 0.91 mL (0.69 g, 5.3 mmol) DIPEA in 5 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 35 mg (0.086 mmol, 12 %)

Farblose Watte



88a

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.10 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 3.65 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.3$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 7.9$ Hz, H3'-a), 3.71 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.3$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 7.8$ Hz,

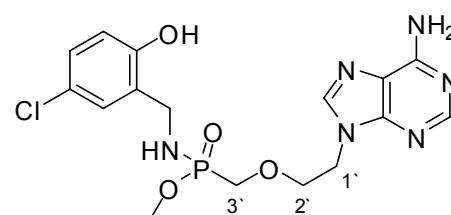
H3'-b), 3.78 – 3.86 (m, 4H, H2', Ethyl-CH₂), 3.92 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, Benzyl-CH-a), 3.95 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, Benzyl-CH-b), 4.26 – 4.31 (m, 2H, H1'), 5.01 (ddd, 1H, ²J_{HP} = 12.0 Hz, ³J_{HH} = 7.4 Hz, ³J_{HH} = 7.4 Hz, P-NH), 6.72 – 6.78 (m, 2H, Aryl-H3, Aryl-H5), 7.03 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, Aryl-H4), 7.18 (s, 2H, -NH₂), 7.23 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, Aryl-H6), 8.08 (s, 1H, H8), 8.12 (s, 1H, H2), 9.46 (br s, 1H, -OH); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 16.2 (d, ³J_{CP} = 6.1 Hz, Ethyl-CH₃), 38.1 (Benzyl-CH₂), 42.4 (C1'), 59.3 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, Ethyl-CH₂), 65.8 (d, ¹J_{CP} = 151.1 Hz, C3'), 70.3 (d, ³J_{CP} = 11.2 Hz, C2'), 114.3 (Aryl-C3), 118.5 (C5), 118.7 (Aryl-C5), 127.0 (d, ³J_{CP} = 4.1 Hz, Aryl-C1), 127.6 (Aryl-C4), 128.1 (Aryl-C6), 141.1 (C8), 149.5 (Aryl-C2), 152.4 (C2), 154.5 (C4), 155.9 (C6); ³¹P-NMR (162 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 27.86; MS (FAB-HR): ber.: 407.1597 [M + H⁺], gef.: 407.1595 [M + H⁺]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R_F-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.54; HPLC: t_R = 12.96 min (Methode I)

5-Chlor-2-hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA 88b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.2 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 213 mg (1.10 mmol) 5-Chlor-2-hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86b**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 74 mg (0.17 mmol, 15 %)

Farblose Watte



88b

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 1.12 (t, 3H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, Ethyl-CH₃), 3.68 (dd, 1H, ²J_{HH} = 13.6 Hz, ²J_{HP} = 8.3 Hz, H3'-a), 3.74 (dd, 1H, ²J_{HH} = 13.6 Hz, ²J_{HP} = 7.9 Hz, H3'-b), 3.79 – 3.87 (m, 4H, H2', Ethyl-CH₂), 3.92 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, Benzyl-CH-a), 3.94 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, Benzyl-CH-b), 4.25 – 4.36 (m, 2H, H1'), 5.18 (ddd, 1H, ²J_{HP} = 11.3 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, P-NH), 6.78 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, Aryl-H3), 7.08 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, Aryl-H4), 7.18 (s, 2H, -NH₂), 7.31 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.0

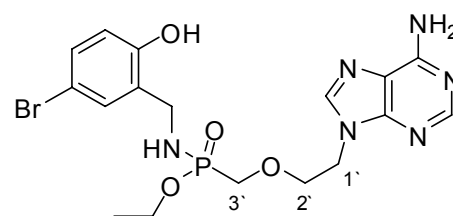
Hz, Aryl-H6), 8.09 (s, 1H, H8), 8.13 (s, 1H, H2), 9.84 (br s, 1H, -OH); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 38.0 (Benzyl- CH_2), 42.3 (C1'), 59.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 65.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 151.1$ Hz, C3'), 70.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.2$ Hz, C2'), 116.2 (Aryl-C3), 118.5 (C5), 122.3 (Aryl-C5), 127.0 (Aryl-C4), 127.5 (Aryl-C6), 129.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.1$ Hz, Aryl-C1), 141.0 (C8), 149.5 (Aryl-C2), 152.3 (C2), 153.2 (C4), 155.9 (C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 25.55; MS (FAB-HR): ber.: 441.1207 [M + H $^+$], gef.: 441.1218 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 228, 260; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.46; HPLC: $t_R = 11.04$ min (Methode I)

5-Brom-2-hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA 88c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.73 mmol) PME A 9, 88 μL (80 mg, 0.79 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.23 mL (0.34 g, 2.7 mmol) Oxalylchlorid in 5.5 mL Dichlormethan; 0.13 mL (0.13 g, 1.6 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 174 mg (0.73 mmol) 2-Hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86c**, 0.91 mL (0.69 g, 5.3 mmol) DIPEA in 5 mL Dichlormethan. 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 26 mg (0.053 mmol, 7 %)

Farblose Watte



88c

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.11 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, Ethyl- CH_3), 3.67 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.3$ Hz, H3'-a), 3.74 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.0$ Hz, H3'-b), 3.80 – 3.87 (m, 4H, H2', Ethyl- CH_2), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 1.5$ Hz, Benzyl-CH-a), 3.95 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 2.0$ Hz, Benzyl-CH-b), 4.25 – 4.36 (m, 2H, H1'), 5.18 (ddd, 1H, $^2J_{\text{HP}} = 11.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, P-NH), 6.73 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, Aryl-H3), 7.18 (s, 2H, - NH_2), 7.20 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, Aryl-H4), 7.43 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, Aryl-H6), 8.09 (s, 1H, H8), 8.13 (s, 1H, H2), 9.82 (br s, 1H, -OH); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 38.1 (Benzyl- CH_2), 42.4 (C1'), 59.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 65.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 150.5$ Hz, C3'), 70.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.2$ Hz, C2'), 110.0 (Aryl-C5), 116.8 (Aryl-C3), 118.5 (C5),

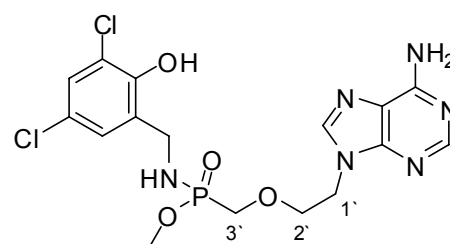
129.9 (Aryl-C4), 130.0 (d, $^3J_{CP} = 3.6$ Hz, Aryl-C1), 130.3 (Aryl-C6), 141.0 (C8), 149.5 (Aryl-C2), 152.3 (C2), 153.7 (C4), 155.9 (C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 25.55; MS (FAB-HR): ber.: 485.0702 [M + H $^+$], gef.: 485.0685 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.68; HPLC: t $_R$ = 11.49 min (Methode I)

3,5-Dichlor-2-hydroxybenzylamino(ethoxy)-PMEA 88d

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 300 mg (1.10 mmol) PMEAs **9**, 0.13 mL (0.12 g, 1.10 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.33 mL (0.49 g, 3.9 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 0.19 mL (0.19 g, 2.2 mmol) Pyridin in 8 mL Dichlormethan; 211 mg (1.10 mmol) 3,5-Dichlor-2-hydroxybenzylamin Hydrochlorid **86d**, 1.19 mL (0.89 g, 6.9 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 68 mg (0.14 mmol, 13 %)

Farblose Watte



88d

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.12 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, Ethyl- CH_3), 3.71 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.3$ Hz, H3'-a), 3.76 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.8$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.3$ Hz, H3'-b), 3.78 – 3.88 (m, 4H, H2', Ethyl- CH_2), 3.98 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, Benzyl- CH -a), 4.01 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, Benzyl- CH -b), 4.25 – 4.36 (m, 2H, H1'), 5.38 (ddd, 1H, $^2J_{\text{HP}} = 12.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, P-NH), 7.17 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 7.29 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, Aryl-H6), 7.38 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, Aryl-H4), 8.09 (s, 1H, H8), 8.13 (s, 1H, H2), 9.87 (br s, 1H, $-\text{OH}$); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_3), 38.9 (Benzyl- CH_2), 42.4 (C1'), 59.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, Ethyl- CH_2), 65.5 (d, $^1J_{\text{CP}} = 151.1$ Hz, C3'), 70.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.4$ Hz, C2'), 118.5 (C5), 121.5 (Aryl-C3), 123.0 (Aryl-C5), 126.9 (Aryl-C6), 127.1 (Aryl-C4), 132.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 3.0$ Hz, Aryl-C1), 141.1 (C8), 149.2 (Aryl-C2), 149.5 (C4), 152.4 (C2), 155.9 (C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 26.56; MS (FAB-HR): ber.: 475.0817 [M + H $^+$], gef.: 475.0813 [M + H $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 260; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.59; HPLC: t $_R$ = 11.82 min (Methode I)

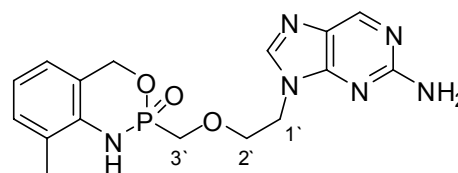
8.7 Die Synthese fluoreszierender *iso*-PMEA-Prodrugs

3-Methyl-cycloAmb-*iso*-PMEA 58

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 100 mg (0.366 mmol) *iso*-PMEA **44**, 44 μ L (40 mg, 0.40 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.11 mL (0.16 g, 1.3 mmol) Oxalylchlorid in 3 mL Dichlormethan; 70 μ L (71 mg, 0.90 mmol) Pyridin in 3 mL Dichlormethan; 51 mg (0.366 mmol) 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b**, 0.39 mL (0.30 g, 2.3 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.2 mL Essigsäure in 4 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 48 mg (0.13 mmol, 36 %)

Farblose Watte



58

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 2.17 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 3.71 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H2'), 3.85 (d, 2H, $^2J_{\text{HP}} = 7.5$ Hz, H3'), 5.04 (s, 1H, Benzyl-CH-a), 5.08 (d, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 3.3$ Hz, Benzyl-CH-b), 6.47 (s, 2H, $-\text{NH}_2$), 6.82 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, Aryl-H5), 7.00 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, Aryl-H6), 7.08 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, Aryl-H4), 7.60 (s, 1H, H8), 7.82 (d, 1H, $^2J_{\text{HP}} = 9.8$ Hz, P-NH), 8.53 (s, 1H, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 17.1 ($-\text{CH}_3$), 41.8 (C1'), 65.9 (d, $^1J_{\text{CP}} = 152.1$ Hz, C3'), 66.1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Benzyl- CH_2), 69.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 10.2$ Hz, C2'), 120.7 (Aryl-C5), 123.4 (Aryl-C6), 123.8 (Aryl-C1), 125.4 (Aryl-C3), 126.6 (C5), 130.3 (Aryl-C4), 138.1 (Aryl-C2), 142.7 (C8), 148.9 (C6), 152.8 (C4), 160.4 (C2); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 18.31; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 375.1310 [$\text{M} + \text{H}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 305; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.44; HPLC: $t_R = 11.28$ min (Methode I)

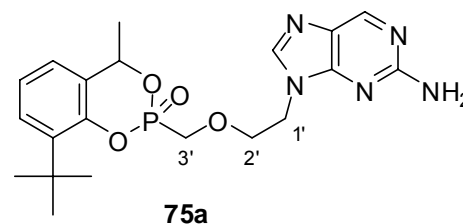
3-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-*iso*-PMEA 75a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 150 mg (0.549 mmol) *iso*-PMEA **9**, 70 μ L (61 mg, 0.60 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.16 mL (0.24 g, 1.9 mmol) Oxalylchlorid in 5 mL Dichlormethan; 5 mL Dichlormethan; 107 mg (0.551 mmol)

3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a**, 0.60 mL (0.47 g, 3.6 mmol) DIPEA in 5 mL Dichlormethan; 0.2 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 5 mg (0.01 mmol, 2 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.3

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4), δ/ppm : 1.29 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.30 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.64 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 1.73 (dd, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 1.3$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 3.78 – 3.83 (m, 1 x 2H, 1 x H2'), 3.84 – 3.88 (m, 1 x 2H, 1 x H2'), 4.05 (dd, 1 x 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.7$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 8.2$ Hz, 1 x H3'-a), 4.12 - 4.18 (m, 1 x 2H, 1 x 1H, 1 x H3', 1 x H3'-b), 4.24 - 4.29 (m, 1 x 2H, 1 x H1'), 4.31 - 4.36 (m, 1 x 2H, 1 x H1'), 5.53 - 5.60 (m, 2 x 1H, 2 x Benzyl-CH), 7.03 – 7.12 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl-H5, 2 x Aryl-H6), 7.30 – 7.33 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl-H4), 7.76 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.93 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.77 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.81 (s, 1 x 1H, 1 x H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, Methanol- d_4), δ/ppm : 19.8 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 2 x Benzyl-C- CH_3), 30.3 (2 x *t*-Bu- CH_3), 35.6 (2 x *t*-Bu- C_q), 43.9 (1 x C1'), 44.3 (1 x C1'), 64.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 164.8$ Hz, 2 x C3'), 69.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.7$ Hz, 1 x C2'), 71.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.0$ Hz, 1 x C2'), 74.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, 2 x Benzyl-CH), 124.2 (2 x Aryl-C5), 125.5 (2 x Aryl-C6), 126.5 (C5), 128.9 (2 x Aryl-C4), 129.4 (2 x Aryl-C1), 137.5 (2 x Aryl-C3), 142.8 (C8), 149.9 (C6), 147.3 (2 x Aryl-C2); 150.8 (C4), 159.4 (C2); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, Methanol- d_4), δ/ppm : 15.83, 16.74; MS (FAB): ber.: 432.2 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 432.1 [$\text{M} + \text{H}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 305; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.54

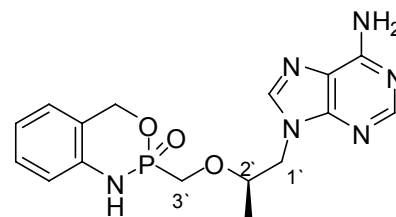
8.8 Die Synthese von PMPA-Prodrugs

cycloAmb-PMPA 95

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 200 mg (0.70 mmol) PMPA **10**, 85 μ L (78 mg, 0.77 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.21 mL (0.31 g, 2.4 mmol) Oxalylchlorid in 5 mL Dichlormethan; 0.12 mL (0.12 g, 1.5 mmol) Pyridin in 5 mL Dichlormethan; 86 mg (0.70 mmol) 2-Aminobenzylalkohol **52a**, 0.76 mL (0.57 g, 4.4 mmol) DIPEA in 4 mL Dichlormethan; 0.3 mL Essigsäure in 5 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 25 mg (0.067 mmol, 10 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 1

Farblose Watte



95

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 0.85 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, 1 x $-\text{CH}_3$), 0.87 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, 1 x $-\text{CH}_3$), 3.78 – 3.91 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x H2', 2 x H3'), 3.97 - 4.10 (m, 2 x 2H, 2 x H1'), 5.04 – 5.19 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl- CH_2), 6.86 – 6.90 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl-H4, 2 x Aryl-H3), 7.11 – 7.15 (m, 2 x 1H, Aryl-H6), 7.16 – 7.23 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H5, 2 x $-\text{NH}_2$), 7.72 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.72 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.10 (s, 2 x 1H, 2 x H2), 8.50 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 11.2$ Hz, 1 x P-NH), 8.51 (d, 1 x 1H, $^2J_{\text{HP}} = 11.2$ Hz, 1 x P-NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 16.6 (1 x $-\text{CH}_3$), 16.7 (1 x $-\text{CH}_3$), 46.4 (1 x C1'), 46.5 (1 x C1'), 63.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 153.1$, 1 x C3'), 64.0 (d, $^1J_{\text{CP}} = 153.6$, 1 x C3'), 66.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, 1 x Benzyl- CH_2), 66.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, 1 x Benzyl- CH_2), 75.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, 1 x C2'), 75.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, 1 x C2'), 116.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 116.8 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 118.2 (1 x C5), 118.2 (1 x C5), 120.5 (1 x Aryl-C5), 122.4 -122.5 (m, 2 x Aryl-C1), 125.6 (1 x Aryl-C6), 125.6 (1 x Aryl-C6), 128.9 (1 x Aryl-C4), 129.0 (1 x Aryl-C4), 140.1 (2 x Aryl-C2), 141.2 (2 x C8), 149.7 (2 x C4), 152.4 (2 x C2), 155.9 (2 x C6); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 17.75, 17.96; MS (FAB-HR): ber.: 375.1335 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 375.1335 [$\text{M} + \text{H}^+$];

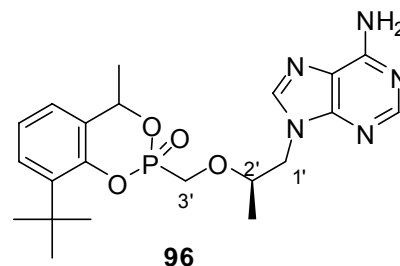
UV: λ_{\max} [nm]: 231, 261; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.59; HPLC: t_R = 12.59 min (Methode I)

3-*tert*-Butyl-7-methyl-cycloSal-PMPA 96

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 250 mg (0.87 mmol) PMPA **10**, 0.10 mL (97 mg, 0.96 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.26 mL (0.39 g, 3.1 mmol) Oxalylchlorid in 8 mL Dichlormethan; 8 mL Dichlormethan; 169 mg (0.87 mmol) 3-*tert*-Butyl-7-methylsalicylalkohol **71a**, 0.93 mL (0.71 g, 5.5 mmol) DIPEA in 6 mL Dichlormethan; 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Reaktionslösung mit Dichlormethan versetzen und mit Acetatpuffer pH5 waschen, wässrige Phase 3 x mit Dichlormethan extrahieren; Säulenchromatographie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 22 mg (0.049 mmol, 6 %), Gemisch von vier Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.9 : 0.6 (2x)

Farblose Watte



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ /ppm: 1.01 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, 1 x C2'- CH_3), 1.11 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, 1 x C2'- CH_3), 1.12 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, 1 x C2'- CH_3), 1.37 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Butyl- CH_3), 1.38 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Butyl- CH_3), 1.41 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Butyl- CH_3), 1.74 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 1.78 (dd, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 1.4$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 1.79 (dd, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 1.3$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 3.69 – 4.19 (m, 9 x 2H, H1', H2', H3'), 5.38 – 5.49 (m, 1 x 1H, 1 x Benzyl-CH), 5.96, 5.98 (2 x s, 3 x 2H, 3 x $-\text{NH}_2$), 6.93 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 7.08 – 7.18 (m, 7 x 1H, 1 x H8, 3 x Aryl-H5, 3 x Aryl-H6), 7.36 – 7.43 (m, 4 x 1H, 1 x H8, 3 x Aryl-H4), 8.24 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.27 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.28 (s, 1 x 1H, 1 x H2); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ /ppm: 15.9 (C2'- CH_3), 16.0 (C2'- CH_3), 16.2 (C2'- CH_3), 19.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.9$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 19.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, 1 x Benzyl-C- CH_3), 21.5 (1 x Benzyl-C- CH_3), 30.0 (1 x *t*-Butyl- CH_3), 30.1 (1 x *t*-Butyl- CH_3), 30.2 (1 x *t*-Butyl- CH_3), 35.0 (1 x *t*-Butyl- C_q), 35.0 (1 x *t*-Butyl- C_q), 35.0 (1 x *t*-Butyl- C_q), 48.1 (1 x C1'), 48.3 (1 x

C1'), 48.3 (1 x C1'), 61.7 (d, $^1J_{CP} = 167.1$ Hz, 1 x C3'), 62.1 (d, $^1J_{CP} = 166.3$ Hz, 1 x C3'), 62.8 (d, $^1J_{CP} = 166.3$ Hz, 1 x C3'), 72.5 (d, $^2J_{CP} = 6.8$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 72.8 (d, $^2J_{CP} = 6.1$ Hz, 1 x Benzyl-CH), 76.1 (d, $^2J_{CP} = 13.7$ Hz, 1 x C2'), 76.3 (d, $^2J_{CP} = 14.5$ Hz, 1 x C2'), 76.4 (d, $^2J_{CP} = 14.5$ Hz, 1 x C2'), 119.1 (1 x C5), 119.1 (1 x C5), 119.1 (1 x C5), 122.9 (1 x Aryl-C5), 123.1 (1 x Aryl-C5), 123.4 (1 x Aryl-C5), 124.0 (1 x Aryl-C6), 124.1 (1 x Aryl-C6), 124.2 (1 x Aryl-C6), 127.7 (1 x Aryl-C4), 128.0 (2 x Aryl-C4), 128.3 (d, $^3J_{CP} = 5.3$ Hz, 1 x Aryl-C1), 128.4 (d, $^3J_{CP} = 6.1$ Hz, 1 x Aryl-C1), 139.1 (d, $^3J_{CP} = 6.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 139.3 (d, $^3J_{CP} = 6.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 139.8 (d, $^3J_{CP} = 8.4$ Hz, 1 x Aryl-C3), 141.6 (1 x C8), 141.7 (1 x C8), 141.7 (1 x C8), 149.6 (d, $^2J_{CP} = 8.4$ Hz, 1 x Aryl-C2), 150.0 (1 x C4), 150.0 (1 x C4), 150.3 (d, $^2J_{CP} = 9.1$ Hz, 1 x Aryl-C2), 152.9 (1 x C2), 152.9 (1 x C2), 153.0 (1 x C2), 155.5 (1 x C6), 155.6 (1 x C6); ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl_3), δ/ppm : 13.68, 15.07, 15.70; MS (FAB-HR): ber.: 446.1957 $[\text{M} + \text{H}^+]$, gef.: 446.1949 $[\text{M} + \text{H}^+]$; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.44

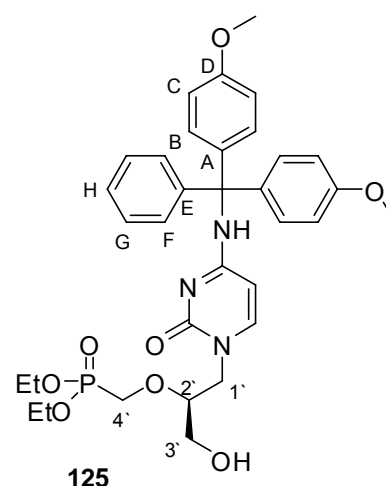
8.9 Die Synthese von HPMP-Produgs

N-DMTr-HPMPC-Diethylester 125

Es wurden 0.50 g (1.49 mmol) Diethyl-HPMPC **98**, 0.04 g 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (0.30 mmol) und 2.53 g Dimethoxytritylchlorid DMTrCl (7.46 mmol) in 10 mL trockenem Dichlormethan gelöst. Anschließend wurden 1.03 mL (755 mg, 7.46 mmol) trockenes Triethylamin zugegeben und das Gemisch über Nacht bei RT gerührt. Zu der Reaktionslösung wurde Wasser hinzugefügt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase 2 x mit DCM extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (DCM mit MeOH-Gradienten 0 - 5 %, 0.1 % Triethylamin). Das so erhaltene Produkt wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt. Das Produkt wurde in 60 mL Dichlormethan/Methanol 7 : 3 aufgenommen und 1.4 g (8.9 mmol) Benzolsulfonsäure zugegeben und gerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 15 min. wurde die Reaktionslösung mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (DCM mit MeOH-Gradienten 0-7 %).

Ausbeute: 742 mg (1.16 mmol, 78 %)

Gelblicher Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 1.27 (t, 3H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 1.28 (t, 3H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 3.54 (d, 2H, ³J_{HH} = 5.3 Hz, H3'), 3.74 – 7.85 (m, 10H, H1'-a, H-2', H4', O-CH₃), 4.04 – 4.12 (m, 5H, H1'-b, Ethyl-CH₂), 5.02 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4

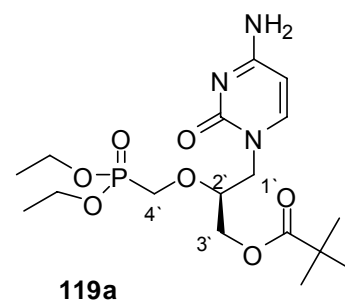
Hz, H5), 6.79 – 6.85 (m, 4H, H-C), 7.10 - 7.13 (m, 5H, H-B, H6), 7.19 - 7.21 (m, 2H, H-G), 7.25 - 7.30 (m, 3H, H-F, H-H); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 16.6 (1 x Ethyl- CH_3), 16.6 (1 x Ethyl- CH_3), 49.5 ($\text{C1}'$), 55.4 (O-CH_3), 59.8 ($\text{C3}'$), 62.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, Ethyl- CH_3), 64.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 167.8$ Hz, $\text{C4}'$), 70.3 ($\text{C}_q\text{-N-DMTr}$), 81.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, $\text{C2}'$), 94.7 (C5), 113.7 (C-C), 127.6 (C-H), 128.4 (C-F), 128.6 (C-G), 130.0 (C-B), 136.4 (C-A), 144.6 (C-B), 146.9 (C6), 157.2 (C2), 158.8 (C-D), 166.0 (C4); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, CDCl_3), δ /ppm: 22.54; MS (FAB-HR): ber.: 628.2631 [$\text{M} + \text{H}^+$], gef.: 628.2641 [$\text{M} + \text{H}^+$]; $[\alpha]_{546}^{20} +3.7^\circ$ ($c = 1.00$, CHCl_3); DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.38

(S)-9-[3-Pivaloyloxy-2-diethylphosphonylmethoxypropyl]cytosin 119a

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 2.90 g (4.55 mmol) *N*-DMTr-diethyl-HPMPC **125** in 30 mL trockenem Pyridin gelöst und bei 0 °C 1.68 mL (1.65 g, 13.7 mmol) Pivalinsäurechlorid zugegeben. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 3 h wurden Wasser und Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das so erhaltene Produkt wurde in 50 mL Dichlormethan/Methanol 7 : 3 aufgenommen und 2.3 g (15 mmol) Benzolsulfonsäure zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Reaktionslösung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die wässrige Phase noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (DCM mit MeOH-Gradienten 0 – 10 %).

Ausbeute: 1.41 g (3.36 mmol, 74 %)

Farbloses Öl



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 1.16 (s, 9H, *t*-Butyl-H), 1.20 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$

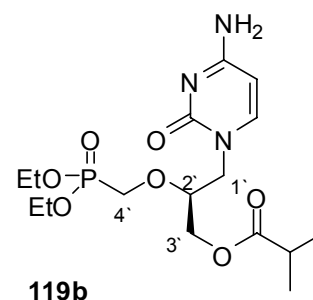
Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 1.21 (t, 3H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 3.58 – 3.65 (m, 1H, H1'-a), 3.81 (dd, 1H, ²J_{HH} = 13.9 Hz, ²J_{HP} = 9.5 Hz, H4'-a), 3.86 – 4.03 (m, 8H, H1'-b, H2', H3'-a, H4'-b, Ethyl-CH₂), 4.22 (dd, 1H, ²J_{HH} = 12.0 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H3'-b), 5.62 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H5), 7.03 (br s, 2H, -NH₂), 7.44 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H6); ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 16.6 (d, ³J_{CP} = 3.8 Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 16.6 (d, ³J_{CP} = 3.8 Hz, 1 x Ethyl-CH₃), 27.3 (t-Butyl-CH₃), 39.0 (t-Butyl-C_q), 51.4 (C1'), 62.4 (d, ²J_{CP} = 6.9 Hz, 1 x Ethyl-CH₂), 62.7 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x Ethyl-CH₂), 63.1 (C3'), 64.5 (d, ¹J_{CP} = 167.8 Hz, C4'), 78.3 (d, ³J_{CP} = 11.4 Hz, C2'), 93.8 (C5), 147.4 (C6), 156.6 (C2), 166.1 (C4), 178.1 (Carbonyl-C); ³¹P-NMR (202 MHz, CDCl₃), δ/ppm: 21.01; MS (FAB-HR): ber.: 420.1900 [M + H⁺], gef.: 420.1905 [M + H⁺]; [α]_D²⁰ -61.5° (c = 1.00, MeOH); DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.63

(S)-9-[3-*iso*-Butyryloxy-2-diethylphosphonylmethoxypropyl]cytosin 119b

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 3.00 g (4.70 mmol) *N*-DMTr-diethyl-HPMPC **125** in 30 mL trockenem Pyridin gelöst und bei 0 °C 1.49 mL (1.50 g, 14.1 mmol) *iso*-Buttersäurechlorid zugetropft. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 1 h wurden Wasser und Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das so erhaltene Produkt wurde in 50 mL Dichlormethan/Methanol 7 : 3 aufgenommen und 4.6 g (30 mmol) Benzolsulfonsäure zugegeben. Nach 3 h Rühren wurde die Reaktionslösung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die wässrige Phase noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (DCM mit MeOH-Gradienten 0 – 15 %).

Ausbeute: 0.85 g (2.1 mmol, 45 %)

Farbloses Öl



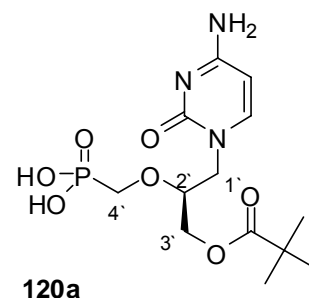
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.10 (d, 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, *i*-Butyl- CH_3), 1.20 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 1.21 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x Ethyl- CH_3), 2.55 (sep, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, *i*-Butyl-CH), 3.65 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 15.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, H1'-a), 3.81 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^2J_{\text{HP}} = 9.3$ Hz, H4'-a), 3.86 – 4.04 (m, 8H, H1'-b, H2', H3'-a, H4'-b, Ethyl- CH_2), 4.22 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, H3'-b), 5.62 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, H5), 7.04 (br s, 2H, $-\text{NH}_2$), 7.45 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 16.1 (1 x Ethyl- CH_3), 16.2 (1 x Ethyl- CH_3), 18.6 (*i*-Butyl- CH_3), 33.1 (*i*-Butyl-CH), 49.4 (C1'), 61.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 61.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.9$ Hz, 1 x Ethyl- CH_2), 62.7 (C3'), 63.0 (d, $^1J_{\text{CP}} = 163.5$ Hz, C4'), 77.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 11.7$ Hz, C2'), 92.9 (C5), 146.7 (C6), 155.7 (C2), 165.9 (C4), 175.7 (Carbonyl-C); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: 20.59; MS (FAB-HR): ber.: 406.1743 [M + H $^+$], gef.: 406.1743 [M + H $^+$]; $[\alpha]_{546}^{20} +13.2^\circ$ ($c = 1.00$, MeOH), DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.21

(S)-9-[3-Pivaloyl-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin 120a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 1.15 g (2.74 mmol) O-Piv-HPMPC-Diethylester **119a** und 0.95 mL (1.1 g, 7.2 mmol) Bromtrmethylsilan in 10 mL Acetonitril. Reinigung: Auskristallisieren aus Wasser/Aceton.

Ausbeute: 740 g (2.04 mmol, 71 %)

Farbloser Feststoff



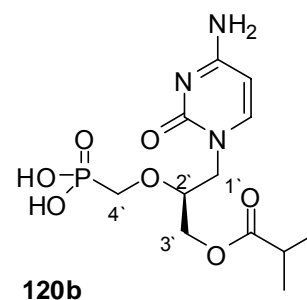
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O), δ [ppm]: 1.21 (s, 9H, *t*-Butyl- CH_3), 3.60 – 3.68 (m, 1H, H4'-a), 3.85 – 3.93 (m, 2H, H1'-a, H4'-b), 4.00 – 4.05 (m, 1H, H2'), 4.17 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, H3'-a), 4.22 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, H1'-b), 4.38 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, H3'-b), 6.16 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H5), 7.87 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O), δ [ppm]: 29.2 (*t*-Butyl- CH_3), 41.6 (*t*-Butyl- C_q), 53.2 (C1'), 65.8 (C3'), 68.6 (d, $^1J_{\text{CP}} = 158.7$, C4'), 79.8 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.7$ Hz, C2'), 97.1 (C5), 152.1 (C2), 153.5 (C6), 162.4 (C4), 184.2 (Carbonyl-C); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, D_2O), δ /ppm: 16.60; MS (ESI-HR): ber.: 386.1093 [M + Na $^+$], gef.: 386.1130 [M + Na $^+$]; $[\alpha]_{546}^{20} + 7.6^\circ$ ($c = 1.00$, H_2O)

(S)-9-[3-*iso*-Butyryl-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin 120b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 2 durchgeführt. Ansatz: 733 mg (1.81 mmol) *O*-*i*Bu-HPMPC und 0.71 mL (0.82 g, 5.4 mmol) Bromtrimethylsilan in 10 mL Acetonitril. Reinigung: Auskristallisieren aus Wasser/Aceton.

Ausbeute: 523 mg eines Gemisches aus (S)-9-[3-*iso*-Butyryl-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin **120b** (356 mg, 1.02 mmol, 56 %) und HPMPC **11** (167 mg, 0.60 mmol, 33 %), Verhältnisbestimmung aus ³¹P-NMR

Farbloser Feststoff



Analytische Daten für (S)-9-[3-*iso*-Butyryl-2-phosphonylmethoxypropyl]cytosin **120b** aus Gemisch.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O), δ[ppm]: 1.15 (d, 6H, ³J_{HH} = 6.9 Hz, *i*-Butyl-CH₃), 2.66 (sep, 1H, ³J_{HH} = 6.9 Hz, *i*-Butyl-CH), 3.61 – 3.70 (m, 1H, H4'-a), 3.79 – 3.96 (m, 2H, H1'-a, H4'-b), 4.00 – 4.06 (m, 1H, H2'), 4.15 – 4.22 (m, 2H, H1'-b, H3'-a), 4.41 (dd, 1H, ²J_{HH} = 12.2 Hz, ³J_{HH} = 4.1 Hz, H3'-b), 6.16 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H5), 7.86 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H6); ¹³C-NMR (101 MHz, D₂O), δ[ppm]: 20.5 (*i*-Butyl-CH₃), 36.2 (*i*-Butyl-CH), 52.6 (C1'), 65.1 (C3'), 67.8 (d, ¹J_{CP} = 158.7 Hz, C4'), 79.2 (d, ³J_{HH} = 10.7 Hz, C2'), 96.5 (C5), 151.5 (C2), 153.0 (C6), 161.9 (C4), 182.2 (Carbonyl-C); ³¹P-NMR (202 MHz, D₂O), δ/ppm: 16.93; MS (FAB-HR): ber.: 350.1117 [M + H⁺], gef.: 350.1131 [M + H⁺]

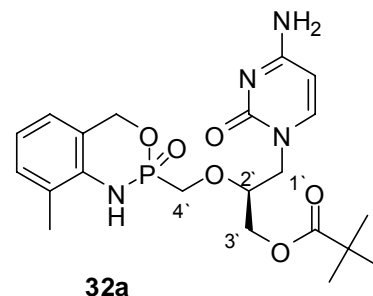
3-Methyl-cycloAmb-O-piv-HPMPC 32a

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 105 mg (0.289 mmol) *O*-Piv-HPMPC **120a**, 35 µL (32 mg, 0.32 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 75 µL (110 mg, 0.87 mmol) Oxalylchlorid in 4 mL Dichlormethan; 50 µL (45 mg, 0.58 mmol) Pyridin in 3 mL Dichlormethan; 40 mg (0.29 mmol) 2-Amino-3-methylbenzylalkohol **52b**, 0.31 mL (0.23 g, 1.8 mmol) DIPEA in 3 mL Dichlormethan. 0.15 mL Essigsäure in 3 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromatographie mit EE/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/

MeOH- und EE/MeOH-Gradient.

Ausbeute: 28 mg (0.60 mmol, 21 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

Farblose Watte



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 1.10 (s, 2 x 9H, *t*-Butyl-CH₃), 2.19 (s, 1 x 3H, Aryl-CH₃), 2.20 (s, 1 x 3H, Aryl-CH₃), 3.38 – 3.44 (m, 2 x 1H, 2 x H1'-a), 3.60 – 3.70 (m, 2 x 1H, 2 x H1'-b), 3.73 – 3.87 (m, 3 x 1H, H2', H3'-a, H4'-a), 3.91 – 4.05 (m, 2 x 1H, H3'-b, H4'-b), 5.02 – 5.17 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl-CH₂), 5.41 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x H5), 5.49 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x H5), 6.80 - 6.87 (m, 3 x 1H, 2 x Aryl-H5, 1 x H6), 6.91 – 7.13 (m, 5 x 1H, 2 x 2H, 2 x Aryl-H4, 2 x Aryl-H6, 1 x H6, 2 x -NH₂), 7.78 (d, 1 x 1H, ²J_{HP} = 9.8 Hz, 1 x P-NH), 7.83 (d, 1 x 1H, ²J_{HP} = 9.8 Hz, 1 x P-NH); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 17.2 (1 x Aryl-CH₃), 17.2 (1 x Aryl-CH₃), 26.8 (2 x *t*-Butyl-CH₃), 38.2 (2 x *t*-Butyl-C_q), 49.3 (1 x C1'), 49.5 (1 x C1'), 65.5 (d, ¹J_{CP} = 159.2 Hz, 1 x C4'), 65.7 (d, ¹J_{CP} = 162.8 Hz, 1 x C4'), 66.2 – 66.5 (m, 2 x Benzyl-CH₂), 77.4 (d, ³J_{CP} = 12.2 Hz, 1 x C2'), 77.5 (d, ³J_{CP} = 11.2 Hz, 1 x C2'), 93.1 (2 x C5), 120.7 (1 x Aryl-C5), 120.8 (1 x Aryl-C5), 123.4 (1 x Aryl-C4), 123.5 (1 x Aryl-C4), 125.5 (1 x Aryl-C1), 125.6 (1 x Aryl-C1), 129.8 (2 x Aryl-C3), 130.3 (1 x Aryl-C6), 130.3 (1 x Aryl-C6), 138.2 (2 x Aryl-C2), 146.3 (2 x C6), 155.8 (2 x C2), 166.0 (2 x C4), 177.1 (Carbonyl-C); ³¹P-NMR (202 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 17.68, 18.06; MS (ESI-HR): ber.: 487.1722 [M + Na⁺], gef.: 487.1712 [M + Na⁺]; UV: λ_{max} [nm]: 273; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.40; HPLC: t_R = 13.01 min, 13.23 min (Methode I)

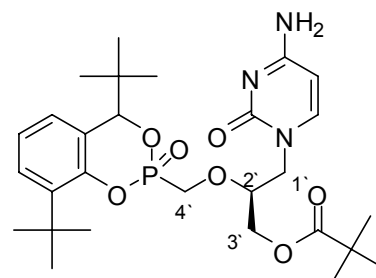
3,7-Di-*tert*-Butyl-*cycloSal*-O-*piv*-HPMPC 32b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 1 durchgeführt. Ansatz: 225 mg (0.619 mmol) O-*Piv*-HPMPC **120a**, 80 µL (73 mg, 0.67 mmol) *N,N*-Diethylformamid und 0.19 mL (0.28 g, 2.2 mmol) Oxalylchlorid in 5 mL Dichlormethan; 5 mL Dichlormethan; 147 mg (0.622 mmol) 3,7-Di-*tert*-Butylsalicylalkohol **71d**, 0.68 mL (0.51 g, 3.9 mmol) DIPEA in 5 mL Dichlormethan. 0.5 mL Essigsäure in 10 mL Ethanol. Reinigung: Säulenchromato-

graphie mit DCM/MeOH-Gradient; Chromatotron mit DCM/MeOH- und EE/MeOH-Gradient, präparative HPLC mit MeCN/H₂O 4:1.

Ausbeute: 18 mg (0.032 mmol, 5 %), Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

Farblose Watte



32b

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 1.00 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Butyl-CH₃), 1.03 (s, 1 x 9H, 1 x Benzyl-*t*-Butyl-CH₃), 1.11 (s, 1 x 9H, 1 x Piv-*t*-Butyl-CH₃), 1.15 (s, 1 x 9H, 1 x Piv-*t*-Butyl-CH₃), 1.38 (s, 1 x 9H, 1 x Aryl-*t*-Butyl-CH₃), 1.39 (s, 1 x 9H, 1 x Aryl-*t*-Butyl-CH₃), 3.37 – 3.45 (m, 2 x 1H, 2 x H1'-a), 3.73 – 4.20 (m, 4 x 1H, 2 x 2H, 2 x H1'-b, 2 x H2', 2 x H3', 2 x H4'), 4.96 (d, 1 x 1H, ³J_{HP} = 21.1 Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.04 (d, 1 x 1H, ³J_{HP} = 21.9 Hz, 1 x Benzyl-CH), 5.64 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x H5), 5.67 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x H5), 6.77 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x H6), 6.90 (dd, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1 x Aryl-H6), 6.93 (dd, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1 x Aryl-H6), 7.03 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x H6), 7.06 (dd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ³J_{HH} = 7.5 Hz, 2 x Aryl-H5), 7.34 (d, 2 x 1H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, 1 x Aryl-H4); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 25.9 (1 x Benzyl-*t*-Butyl-CH₃), 25.9 (1 x Benzyl-*t*-Butyl-CH₃), 27.2 (1 x Piv-*t*-Butyl-CH₃), 27.3 (1 x Piv-*t*-Butyl-CH₃), 30.0 (2 x Aryl-*t*-Butyl-CH₃), 34.9 (2 x Aryl-*t*-Butyl-C_q), 37.8 (1 x Benzyl-*t*-Butyl-C_q), 37.8 (1 x Benzyl-*t*-Butyl-C_q), 38.8 (1 x Piv-*t*-Butyl-C_q), 38.9 (1 x Piv-*t*-Butyl-C_q), 51.0 (1 x C1'), 51.1 (1 x C1'), 63.4 (1 x C3'), 64.1 (1 x C3'), 64.6 (d, ¹J_{CP} = 167.1 Hz, 1 x C4'), 64.7 (d, ¹J_{CP} = 166.9 Hz, 1 x C4'), 91.8 (d, ²J_{CP} = 7.6 Hz, 1 x Benzyl-CH), 91.9 (d, ²J_{CP} = 6.9 Hz, 1 x Benzyl-CH), 94.2 (1 x C5), 94.3 (1 x C5), 123.3 (1 x Aryl-C1), 123.4 (1 x Aryl-C1), 123.4 (1 x Aryl-C5), 123.5 (1 x Aryl-C5), 126.5 (2 x Aryl-C6), 127.5 (1 x Aryl-C4), 127.6 (1 x Aryl-C4), 139.9 (d, ³J_{CP} = 5.3 Hz, 1 x Aryl-C3), 140.1 (d, ³J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x Aryl-C3), 146.7 (1 x C6), 147.0 (1 x C6), 148.6 (d, ²J_{CP} = 7.6 Hz, 1 x Aryl-C2), 149.1 (d, ²J_{CP} = 7.6 Hz, 1 x Aryl-C2), 156.6 (1 x C2), 156.7 (1 x C2), 166.2 (2 x C4), 178.0 (2 x Carbonyl-C); ³¹P-NMR (202 MHz, DMSO-d₆), δ/ppm: 11.30, 11.38; MS (ESI-HR): ber.: 564.2839 [M + H⁺], gef.: 564.2818 [M + H⁺]; UV: λ_{max}

[nm]: 271; DC: R_f-Wert (DCM/MeOH 4 : 1 v/v): 0.43; HPLC: t_R = 19.04 min (Methode I)

8.10 Synthese von Nucleosidmonophosphat-Prodrugs mit optimierter *cycloSal*-Maske

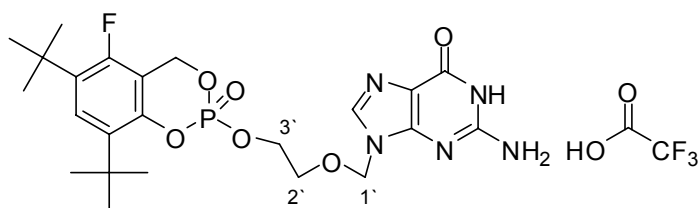
3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-*cycloSal*-ACVMP 35a (TFA-Addukt)

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 3 durchgeführt. Ansatz: 232 mg (0.44 mmol) N-Dimethoxytrityl-Acyclovir **131**, 0.19 mL (0.14 g, 1.1 mmol) DIPEA in 6 mL DMF; 239 mg (0.75 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsaligenylchlorphosphit **130** in 2.0 mL DMF; 0.22 mL (1.1 mmol) 5 M *tert*-Butylhydroperoxidlösung; Reinigung: Abdampfen des Lösungsmittels, Chromatotron (DCM mit MeOH-Gradienten).

Abspaltung der Dimethoxytritylschutzgruppe: Das Produkt wurde in 20 mL Ethanol aufgenommen und 2 mL Trifluoressigsäure zugegeben. Es wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und 2 x mit Toluol koevaporiert. Reinigung: Chromatotron (DCM mit MeOH-Gradienten und EE mit MeOH-Gradienten).

Ausbeute: 29 mg (0.057 mmol, 13 %)

Farblose Watte



35a

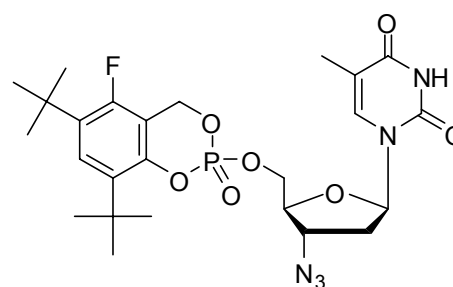
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.32 (s, 18H, 2 x *t*-Bu-CH $_3$), 3.62 – 3.74 (m, 2H, H2'), 3.98 – 4.04 (m, 2 x 1H, 2 x H4'), 4.16 – 4.40 (m, 2H, H3'), 5.29 – 5.39 (m, 2H, H1', Benzyl-CH-a), 5.47 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.8$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 8.7$ Hz, Benzyl-CH-b), 6.54 (s, 2H, -NH $_2$), 7.22 (d, 1H, $^4J_{\text{HF}} = 9.0$ Hz, Aryl-H), 7.76 (s, 1H, H8), 10.68 (s, 1H, -NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 29.4 (3-*t*-Bu-CH $_3$), 29.6 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz, 5-*t*-Bu-CH $_3$), 33.9 (d, $^3J_{\text{CF}} = 2.6$ Hz, 5-*t*-Bu-C $_q$), 34.3 (3-*t*-Bu-C $_q$), 59.7 (C2'), 63.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.2$ Hz, Benzyl-CH $_2$), 67.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.1$ Hz, C3'), 71.7 (C1'), 110.6 (dd, $^2J_{\text{CF}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{CP}} = 4.1$ Hz, Aryl-C1), 116.4 (C5), 124.7 (d, $^3J_{\text{CF}} = 7.1$ Hz, Aryl-C4), 131.1 (d, $^2J_{\text{CF}} = 10.7$ Hz, Aryl-C5), 133.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Aryl-C3), 137.6 (C8), 146.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Aryl-C2), 151.4 (C4), 153.9 (C2), 154.7 (d, $^1J_{\text{CF}} = 247.2$ Hz, Aryl-C6), 157.2 (C6); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: -10.68; $^{19}\text{F-NMR}$ (471 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: -117.25 (Aryl-F), -70.95 (TFA-CF $_3$); MS (FAB-HR): ber.: 524.2074 [M + Na $^+$], gef.: 524.2102 [M + Na $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 252, 270; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.38

3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-cycloSal-AZTMP 35b

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 3 durchgeführt. Ansatz: 50 mg (0.19 mmol) AZT **1**, 0.065 mL (49 mg, 0.38 mmol) DIPEA in 5 mL Acetonitril; 121 mg 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsaligenylchlorphosphit **130** in 1.1 mL DMF; 0.076 mL (0.38 mmol) 5 M *tert*-Butylhydroperoxidlösung; Reinigung: Abkondensieren des Lösungsmittels, Säulenchromatographie (EE/PE 3:1), Chromatotron (DCM mit MeOH-Gradienten).

Ausbeute: 36 mg (0.064 mmol, 34 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.9

Farblose Watte



35b

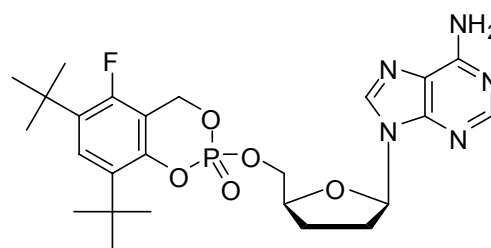
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 1.32 (s, 3 x 9H, 3 x *t*-Bu- CH_3), 1.33 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.69 – 1.72 (m, 2 x 3H, 2 x Thymin- CH_3), 2.30 – 2.44 (m, 2 x 2H, 2 x H_2'), 3.98 – 4.04 (m, 2 x 1H, 2 x H_4'), 4.31 – 4.52 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x H_3' , 2 x H_5'), 5.40 – 5.62 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl- CH_2), 6.09 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x H_1'), 6.13 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x H_1'), 7.23 (d, 2 x 1H, $^4J_{\text{HF}} = 9.0$ Hz, 2 x Aryl-H), 7.43 – 7.48 (m, 2 x 1H, 2 x H_6), 11.35 (s, 2 x 1H, 2 x NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 12.0 (1 x Thymin- CH_3), 12.0 (1 x Thymin- CH_3), 29.5 (2 x 3-*t*-Bu- CH_3), 29.7 (2 x 5-*t*-Bu- CH_3), 34.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz, 2 x 5-*t*-Bu- C_q), 34.4 (2 x 3-*t*-Bu- C_q), 35.6 (1 x C_2'), 35.6 (1 x C_2'), 59.7 (1 x C_3'), 59.8 (1 x C_3'), 63.9 – 64.4 (m, 2 x Benzyl- CH_2), 67.5 (2 x C_5'), 81.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 3.6$ Hz, 1 x C_4'), 81.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, 1 x C_4'), 83.7 (1 x C_1'), 83.8 (1 x C_1'), 109.9 (2 x C_5), 111.6 (2 x Aryl- C_1), 124.8 (d, $^3J_{\text{CF}} = 6.6$ Hz, 2 x Aryl- C_4), 131.2 (d, $^2J_{\text{CF}} = 9.7$ Hz, 2 x Aryl- C_5), 133.6 (2 x Aryl- C_3), 135.9 (2 x C_6), 144.0 (2 x Aryl- C_2), 150.4 (2 x C_2), 156.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 267$ Hz, 2 x Aryl- C_6), 163.7 (2 x C_4); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO-d_6), δ /ppm: -10.60, -10.69; $^{19}\text{F-NMR}$ (471 MHz, DMSO-d_6), δ /ppm: -117.25, -117.30; MS (ESI-HR): ber.: 588.1999 [$\text{M} + \text{Na}^+$], gef.: 588.2005 [$\text{M} + \text{Na}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 265; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.45

3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-cycloSal-ddAMP 35c

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 3 durchgeführt. Ansatz: 55 mg (0.23 mmol) 2',3'-Didesoxyadenosin **33**, 0.12 mL (88 mg, 0.69 mmol) DIPEA in 3 mL DMF; 131 mg (0.41 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsaligenylchlorphosphit **130** in 1.5 mL DMF; 0.14 mL (0.70 mmol) 5 M *tert*-Butylhydroperoxidlösung; Reinigung: Abkondensieren des Lösungsmittels, Chromatotron (DCM mit MeOH-Gradienten).

Ausbeute: 22 mg (0.041 mmol, 18 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.4.

Farblose Watte

**35c**

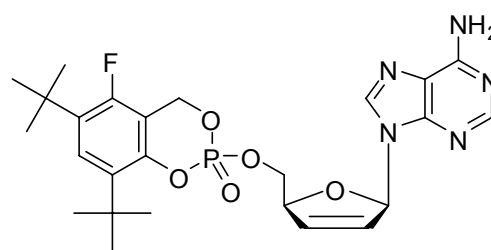
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.26 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 1.29 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 1.30 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 1.33 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu-CH $_3$), 2.10 – 2.17 (m, 2 x 2H, 2 x H3'), 2.39 – 2.56 (m, 2 x 2H, 2 x H2'), 4.28 – 4.33 (m, 2 x 1H, 2 x 2H, 2 x H4', 2 x H5'), 5.25 – 5.50 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl-CH $_2$), 6.23 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, 1 x H1'), 6.28 (dd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1 x H1'), 7.18 – 7.26 (s, 2 x 2H, 2 x 1H, 2 x -NH $_2$, 1 x Aryl-H), 8.10 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.11 (s, 1 x 1H, 1 x H2), 8.23 (s, 1 x 1H, 1 x H8), 8.26 (s, 1 x 1H, 1 x H8); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 25.8 (1 x C3'), 25.9 (1 x C3'), 29.4 (1 x 3-*t*-Bu-CH $_3$), 29.4 (1 x 3-*t*-Bu-CH $_3$), 29.6 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.0$ Hz, 1 x 5-*t*-Bu-CH $_3$), 29.6 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.0$ Hz, 1 x 5-*t*-Bu-CH $_3$), 29.7 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.5$ Hz, 1 x 5-*t*-Bu-CH $_3$), 30.6 (2 x C2'), 33.9 (2 x 5-*t*-Bu-C $_q$), 34.3 (2 x 3-*t*-Bu-C $_q$), 63.7 (1 x Benzyl-CH $_2$), 63.8 (1 x Benzyl-C $_2$), 69.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x C5'), 69.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x C5'), 69.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, 1 x C5'), 78.5 (1 x C4'), 78.6 (1 x C4'), 84.3 (1 x C1'), 84.4 (1 x C1'), 111.8 – 112.0 (m, 2 x Aryl-C1), 119.8 (2 x C5), 124.7 (1 x Aryl-C4), 124.7 (1 x Aryl-C4), 131.4 (2 x Aryl-C5), 133.6 – 133.8 (m, 2 x Aryl-C3), 139.0 (1 x C8), 139.0 (1 x C8), 147.3 (1 x Aryl-C2), 147.4 (1 x Aryl-C2), 148.9 (2 x C4), 152.5 (2 x C2), 156.0 (2 x C6), 154.2 (d, $^1J_{\text{CF}} = 256.8$ Hz, Aryl-C6); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: -10.56, -11.00; $^{19}\text{F-NMR}$ (471 MHz, DMSO- d_6), δ /ppm: -117.32, -117.44; MS (ESI-HR): ber.: 556.2101 [M + Na $^+$], gef.: 556.2084 [M + Na $^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 258; DC: R $_f$ -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.34

3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluor-cycloSal-d4AMP 35d

Die Reaktion wurde gemäß der AAV 3 durchgeführt. Ansatz: 55 mg (0.24 mmol) 2',3'-Didesoxyadenosin **34**, 0.12 mL (88 mg, 0.69 mmol) DIPEA in 3 mL DMF; 112 mg (0.35 mmol) 3,5-Di-*tert*-Butyl-6-fluorsaligenylchlorphosphit **130** in 1.5 mL DMF; 0.08 mL (0.39 mmol) 5 M *tert*-Butylhydroperoxidlösung; Reinigung: Abkondensieren des Lösungsmittels, Chromatotron (DCM mit MeOH-Gradienten).

Ausbeute: 31 mg (0.059 mmol, 25 %), Gemisch von zwei Diastereomeren im Verhältnis 1 : 0.8.

Farblose Watte



35d

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 1.23 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 1.30 (s, 2 x 9H, 2 x *t*-Bu- CH_3), 1.31 (s, 1 x 9H, 1 x *t*-Bu- CH_3), 4.28 – 4.44 (m, 2 x 2H, $\text{H}5'$), 5.06 – 5.13 (m, 2 x 1H, 2 x $\text{H}4'$), 5.21 – 5.53 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl- CH_2), 6.23 – 6.29 (m, 2 x 1H, $\text{H}3'$), 6.46 – 6.51 (m, 2 x 1H, 2 x $\text{H}2'$), 6.94 – 6.97 (m, 2 x 1H, 2 x $\text{H}1'$), 7.21 (d, $^4J_{\text{HF}} = 9.0$ Hz, 1 x Aryl-H), 7.22 (d, $^4J_{\text{HF}} = 9.0$ Hz, 1 x Aryl-H), 7.25 (s, 1 x 2H, 1 x - NH_2), 7.26 (s, 1 x 2H, 1 x - NH_2), 8.02 (s, 1 x 1H, 1 x $\text{H}8$), 8.04 (s, 1 x 1H, 1 x $\text{H}8$), 8.12 (s, 1 x 1H, 1 x $\text{H}2$), 8.13 (s, 1 x 1H, 1 x $\text{H}2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 29.4 (1 x 3-*t*-Bu- CH_3), 29.4 (1 x 3-*t*-Bu- CH_3), 29.7 (2 x 5-*t*-Bu- CH_3), 33.9 (2 x 5-*t*-Bu- C_q), 34.2 (1 x 3-*t*-Bu- C_q), 34.3 (1 x 3-*t*-Bu- C_q), 63.7 (1 x Benzyl- CH_2), 63.8 (1 x Benzyl- CH_2), 68.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.1$ Hz, 1 x $\text{C}5'$), 69.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 1 x $\text{C}5'$), 85.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, 1 x $\text{C}4'$), 85.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.1$ Hz, 1 x $\text{C}4'$), 88.0 (1 x $\text{C}1'$), 88.0 (1 x $\text{C}1'$), 111.1 – 111.4 (m, 2 x Aryl- $\text{C}1$), 118.9 (1 x $\text{C}5$), 118.9 (1 x $\text{C}5$), 124.8 (d, $^3J_{\text{CF}} = 6.6$ Hz, 2 x Aryl- $\text{C}4$), 126.8 (1 x $\text{C}2'$), 126.9 (1 x $\text{C}2'$), 131.8 (2 x Aryl- $\text{C}5$), 132.1 (2 x $\text{C}3'$), 133.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 3.1$ Hz, 2 x Aryl- $\text{C}3$), 138.7 (2 x $\text{C}8$), 147.3 (2 x Aryl- $\text{C}2$), 149.2 (2 x $\text{C}4$), 152.7 (1 x $\text{C}2$), 152.8 (1 x $\text{C}2$), 156.1 (2 x $\text{C}6$), 156.4 (d, $^1J_{\text{CF}} = 241.6$ Hz, 2 x Aryl- $\text{C}6$); $^{31}\text{P-NMR}$ (202 MHz, DMSO-d_6), δ /ppm: -10.45, -11.00; $^{19}\text{F-NMR}$ (471 MHz, DMSO-d_6), δ /ppm: -117.36, -117.57; MS (ESI-HR): ber.: 554.1944 [$\text{M} + \text{Na}^+$], gef.: 554.1932 [$\text{M} + \text{Na}^+$]; UV: λ_{max} [nm]: 258; DC: R_f -Wert (DCM/MeOH 9 : 1 v/v): 0.31

8.11 Die Synthese von CNI-1493 12

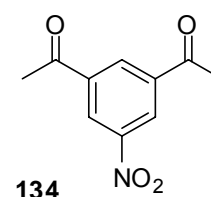
1,3-Diacetyl-5-nitrobenzol 134

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 10.0 g 5-Nitroisophthalsäure **138** (47.4 mmol) in 10.9 mL (17.9 g, 150 mmol) Thionylchlorid aufgenommen und 1 h zum Sieden erhitzt. Danach wurde überschüssiges Thionylchlorid im Vakuum entfernt.

In einem zweiten Reaktionsansatz wurden 17.4 g (18.2 g, 114 mmol) Diethylmalonat **135** in 150 mL absolutem THF gelöst und 4.55 g NaH-Suspension (60 % in Paraffin, 2.73 g NaH, 114 mmol) portionsweise zugegeben und das Gemisch 4 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde das zuvor hergestellte Säuredichlorid in 40 mL THF aufgenommen und zur Malonatlösung getropft. Nach 2 h Reflux wurde das Lösungsmittel nach Abkühlen im Vakuum entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Es wurde mit Wasser gewaschen und die wässrige Phase noch 2 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus 100 mL Essigsäure, 20 mL Wasser und 5 mL konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und 3.5 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurden 250 mL Wasser zugegeben und 3 x mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (EE/PE 1:4).

Ausbeute: 3.36 g (16.2 mmol, 34 %)

Farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 2.73 (s, 6H, $-\text{CH}_3$), 8.80 (t, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H2), 8.93 (d, 2H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H4, H6); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 26.9 ($-\text{CH}_3$), 126.7 (C4, C6), 132.9 (C2), 139.0 (C1, C3), 149.0 (C5), 195.1 (Carbonyl-C)

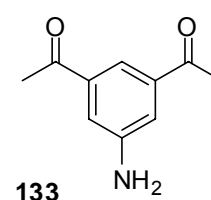
Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

1,3-Diacetyl-5-aminobenzol 133

In 40 mL konzentrierter Salzsäure wurden 12.3 Zinn(II)chlorid (64.8 mmol) gelöst und auf 50 °C erwärmt. Danach wurden 3.36 g (16.2 mmol) 1,3-Diacetyl-5-nitrobenzol **134** portionsweise zugegeben. Nachdem alles vollständig gelöst war, wurde noch 15 min bei 50 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in eine Suspension aus 50 g K₂CO₃ und Eiswasser gegossen. Nach Beendigung der starken Gasentwicklung wurde 3 x mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 1.90 g (10.7 mmol, 66 %)

Gelber Feststoff



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2.61 (s, 6H, -CH₃), 3.97 (s, 2H, -NH₂), 7.44 (d, 2H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, H4, H6), 7.87 (t, 1H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, H2); ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 26.9 (-CH₃), 118.4 (C4, C6), 118.8 (C2), 138.6 (C1, C3), 147.2 (C5), 197.8 (Carbonyl-C)

Die weiteren analytischen Daten entsprechen den Literaturdaten.

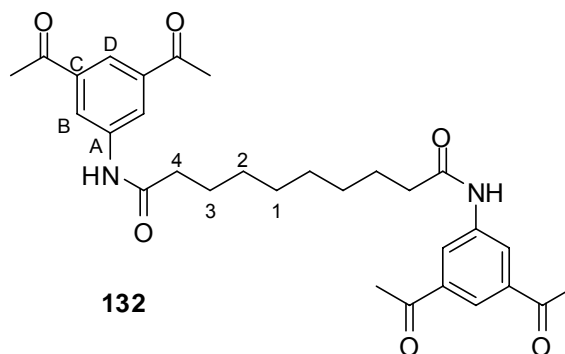
***N,N'*-bis[3,5-bis-Acetylphenyl]decandiamid 132**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 4.0 g (19.8 mmol) Sebacinsäure **140** in 10 mL (16.4 g, 140 mmol) Thionylchlorid aufgenommen und 1 h zum Sieden erhitzt. Danach wurde überschüssiges Thionylchlorid im Vakuum entfernt.

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 950 mg (5.36 mmol) 1,3-Diacetyl-5-aminobenzol **133** und 1.18 mL (1.16 g, 14.6 mmol) absolutes Pyridin in 15 mL trockenem Dichlormethan gelöst. Dazu wurden 0.52 mL (0.58 g, 2.43 mmol) frisch hergestelltes Sebacinsäuredichlorid **139** bei 0 °C getropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde noch 4 h gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde filtriert, mit wenig Dichlormethan gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 704 mg (1.35 mmol, 56 %)

Farbloser Feststoff



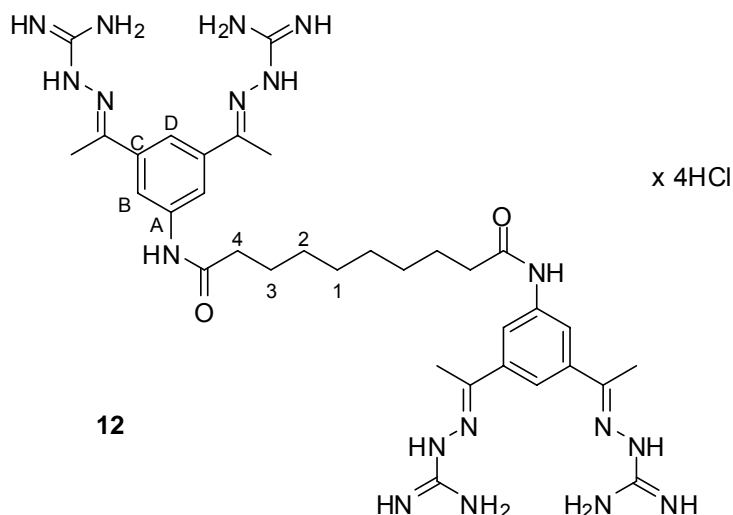
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 1.31 (s, 8H, H1, H2), 1.58 – 1.63 (m, 4H, H3), 2.33 (t, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, H4), 2.62 (s, 12H, $-\text{CH}_3$), 8.13 (t, 2H, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, H-D), 8.41 (d, 4H, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, H-B), 10.3 (s, 2H, $-\text{NH}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6), δ [ppm]: 24.9 (C3), 26.9 ($-\text{CH}_3$), 28.6, 28.7 (C1, C2), 36.4 (C4), 122.2 (C-B), 122.3 (C-D), 137.6 (C-C), 140.1 (C-A), 171.9 (Amid-Carbonyl-C), 197.3 (Keto-Carbonyl-C)

***N,N'*-bis[3,5-bis[1(Aminoiminomethyl)hydrazonoethyl]phenyl]decandiamide
Tetrahydrochlorid 12**

500 mg (0.960 mmol) *N,N'*-bis[3,5-bis-Acetylphenyl]decandiamid **132** und 531 mg (4.80 mmol) Aminoguanidin **141** Hydrochlorid wurden in 5 mL Ethanol/Wasser 9:1 aufgenommen und 1 Tropfen konzentrierte Salzsäure zugegeben. Es wurde 2 h zum Sieden erhitzt und nach Abkühlen das Produkt bei -26 °C ausgefällt. Danach wurde filtriert, mit wenig Ethanol gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 659 mg (0.740 mmol, 77 %)

Farbloser Feststoff



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 1.31 (s, 8H, H1, H2), 1.58 – 1.63 (m, 4H, H3), 2.34 (t, 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, H4), 2.38 (s, 12H, $-\text{CH}_3$), 7.84 (br s, 16H, $-\text{NH}_2$, $=\text{NH}_2^+$), 8.04 (t, 2H, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, H-D), 8.13 (d, 4H, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, H-B), 10.2 (s, 2H, Amid-NH), 11.3 (s, 4H, N-NH); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 15.2 ($-\text{CH}_3$), 25.0 (C3), 28.7 (C1, C2), 36.4 (C4), 118.9 (C-B), 119.5 (C-D), 137.6 (C-C), 139.5 (C-A), 151.8 (Imin-C), 156.1 (Guanidin-C), 171.6 (Amid-Carbonyl-C)

9 Gefahrstoffverzeichnis

Die folgende Liste umfasst die Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Gefahrstoffe sind mit den jeweiligen Gefahrensymbolen, R-Sätzen sowie S-Sätzen gekennzeichnet. Die Stoffe, für die keine bekannte Einstufung existiert, sind als gefährlich einzustufen. Es ist unbedingt zu vermeiden, dass man sich mit diesen Stoffen in irgendeiner Weise kontaminiert und diese Stoffe in die Umwelt eingebracht werden.

Substanzname	R-Sätze	S-Sätze	Symbole
Aceton	11-36-66-67	2-9-16-26	F
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45	F,T
Ammoniaklösung 25 %	34-50	26-36/37/39-45-61	C,N
Benzolsulfonsäure	22-34	26-36/37/39-45	C
Boran-THF-Komplex	11-19-22-14/15- 36/37/38-66-67	16-26-29-33-36	F,X _i
Bromtrimethylsilan	10-34	16-26-36/37/39-45	C
2-Brompropan	60-11-48/20.1-66	53.1-16-45	
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid	7-10-21/22-23-24	3/7-26-36/37/39-45	O,C
<i>n</i> -Butyllithium in Hexan (1.6 M)	11-15-17-34-48/20- 51/53-62-65-67	16-26-36/37/39- 43.11-45-61-62	F,C,N
<i>tert</i> -Butylmagnesium- chlorid in THF (1.6 M)	11-14-19-22-34	16-26-36/37/39-45	F,C
Chloroform	22-38-40-48/20/22	36/37	X _n
2-Chlor- <i>N</i> -(hydroxy- methyl)-acetamid	34	26-27-36/37/39-45	C
Dichlormethan	40	23.2-24/25-36/37	X _n
Diethylether	12-19-22-66-67	2-9-16-29-33	F ⁺

Substanzname	R-Sätze	S-Sätze	Symbole
Diethylformamid	36/37/38	26-36/37/39	X _i
Diisopropylethylamin	11-22-34-52/53	16-26-36/37/39-45-61	F,C
4-Dimethylaminopyridin	25-27-36/37/38	26-28.2-36/37/39-45	T
Dimethylformamid	61-E20/21-36	53-45	T
Dimethylsulfoxid	36/38	26	X _i
DMF-Dimethylacetal	11-22-36/37/38	16-26-36/37	F,X _i
Eisessig	10-35	23.2-26-45	C
Essigsäureanhydrid	10-20/22-34	26-36/37/39-45	C
Ethanol	11	7-16	F
Ethylacetat	11-36-66-67	2-16-26-33	F
(R)-Glycidol	45-60-21/22-23-34-68	53-26-36/37/39-45	T
Isobuttersäurechlorid	11-35	16-23-26-36-45	F,C
Lithiumaluminiumhydrid	15	7/8-24/25-43.6	F
Magnesium	11-15	7/8-43.6	F
Methanol	11-23/25	7-16-24-45	F,T
Methansulfonylchlorid	24/25-26-34-37	26-28.1-36/37/39-45	T
Methyliodid	21-23/25-37/38-40	36/37-38-45	T
Methylithium in Et ₂ O (1.6 M)	12-15-17-22-34-66-67	16-26-30-36/37/39- 43. 11-45	F,C
Natriumhydrid	15-34	7/8-26-36/37/38-43.6- 45	F,C
5-Nitroisophtalsäure	36/37/38	26-36	X _i
Oxalylchlorid	14-34-23/24/25	26-27-45-36/37/39	T,C
Paraformaldehyd	20/22-37/38-40-41-43	26-36/37/39-45	X _n
Petrolether (50-70)	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62	F,X _n

Substanzname	R-Sätze	S-Sätze	Symbole
Pivalinsäurechlorid	11-14-22-26-34	16-26-36/37/39-45	F,T
(R)-Propylencarbonat	36/37/38	26-36	X _i
Pyridin	11-20/21/22	26-28.1	F,X _n
Raney-Nickel	17-40-43	15-36/37	F,X _n
Salzsäure	34-37	26-36/37/39-45	C
Schwefelsäure	35	26-30-45	C
Tetrahydrofuran	11-19-36/37	16-29-33	F,X _i
Thioguanin	23/25-63	28.1-36/37/39-45	T
Thionylchlorid	14-20/22-29-35	26-36/37/39-45	C
Toluol	11-20	16-25-29-33	F,X _n
Triethylamin	11-20/21/22-35	3-16-26-29-36/37/39-45	F,C
Trifluoressigsäure	20-35	9-26-27-28.1-45	C
Tritylchlorid	34	26-45-36/37/39	X _i
Zinn(II)-chlorid	22-34	26-36/37/39-45	C

10 Literaturverzeichnis

- [1] J. Koolmann, K. H. Röhm; *Taschenatlas der Biochemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1998**, 2. Auflage.
- [2] C. F. Ferno, V. Svicher, D. Schols, M. Pollicita, J. Balzarini, S. Aquaro; Therapeutic strategies towards HIV-1 infection in macrophages, *Antiviral Research*, **2006**, 71, 293-300.
- [3] S. Modrow, D. Falke; *Molekulare Virologie*; Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg **1998**, 613.
- [4] E. De Clercq; Towards improved anti-HIV Chemotherapy: Therapeutic Intervention with HIV Infections ; *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2491-2517.
- [5] J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq; Differential Patterns of intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxythymidine and 3'-Azido-2',3'-didesoxythymidine, Two Potent Anti-human Immunodeficiency Virus Compounds; *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 6127-6133.
- [6] E. De Clercq, A. Holy, I. Rosenberg, T. Sakuma, J. Balzarini, P.C. Maugdal; A novel selective broad-spectrum anti-DNA virus agent; *Nature* **1986**, 323, 464-467.
- [7] L. Naesens, J. Balzarini, E. De Clercq; Therapeutic potential of PMEAs as an antiviral drug. *Med. Virol.* **1994**, 4, 147-159.
- [8] E. De Clercq; Broad-spectrum anti-DNA virus and anti-retrovirus activity of phosphonylmethoxyalkylpurines and -pyrimidines. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42, 963-972.
- [9] E. De Clercq, T. Sakuma, M. Baba, R. Pauwels, J. Balzarini, I. Rosenberg, A. Holy; Antiviral activity of phosphonylmethoxyalkyl derivatives of purine and pyrimidines; *Antiviral Res.* **1987**, 8, 261.
- [10] T. Yokota, S. Mochizuki, K. Konno, S. Mori, S. Shigheta, E. De Clercq; Inhibitory effects of selected antiviral compounds on human hepatitis B virus DNA synthesis; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, 35, 394.
- [11] J. Balzarini, S. Aquaro, C.F. Perno, M. Witvrouw, A. Holy, E. De Clercq; Activity of the (R)-enantiomers of 9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-adenine and 9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine against human immunodeficiency

- virus in different human cell systems; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1996**, *219*, 337.
- [12] M.J.M. Hitchcock, H.S. Jaffe, J.C. Martin, R.J. Stagg; A preclinical and clinical overview of the nucleotid-based antiviral agent cidofovir (HPMPC); *Antiviral Chem. Chemother.* **1996**, *7*, 115.
- [13] E. De Clercq; Cidofovir in the treatment of poxvirus infections; *Antiviral Res.* **2002**, *55*,1.
- [14] S. M. Hammer et al.; A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team; *N. Eng. J. Med.* **1997**, *337*, 725-733.
- [15] J. C. Walsh; C. D. Jones E. A. Barnes, B. G. Gazzard, S. M. Mitchell; Increasing survival in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis treated with combination antiretroviral therapy including HIV protease inhibitors; *AIDS* **1998**, *12*, 613-618.
- [16] M. Dybul, A. S. Fauci, J. G. Bartlett, J. E. Kaplan, A. K. Pau; Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents; *Ann. Intern. Med.* **2002**, *137*, 381-433.
- [17] J. S. Little et al.; Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV; *N. Eng. J. Med.* **2002**, *347*, 385-394.
- [18] I. Hauber, D. Bevec, J. Heukeshoven, F. Krätzer, F. Horn, A. Choidas, T. Harrer, J. Hauber; Identification of cellular deoxyhypusine synthase as a novel target for antiretroviral therapy; *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 76-85.
- [19] J. Balzarini; Metabolism and mechanism of antiretroviral action of purine and pyrimidine derivatives; *Pharm. World Sci.* **1993**, *16*, 113-126.
- [20] J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq; Differential Patterns of Intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine and 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine, Two Potent Anti-Human Immunodeficiency Virus Compounds; *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 6127-6133.
- [21] C.R. Wagner, V.V. Iyer, E.J. McIntee; Pronucleotides: Toward the In Vivo Delivery of Antiviral and Anticancer Nucleotides; *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417-451.
- [22] G. Gosselin, J.-L. Girardet, C. Periguad, S. Benzaria, I. Lefebvre, N. Schlienger, A. Pompon, J.-L. Imbach; New insights regarding the potential of the

- pronucleotide approach in antiviral chemotherapy; *Acta Biochim. Pol.* **1996**, *43*, 195-208.
- [23] C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini; Synthesis and Evaluation of Novel Amidate Prodrugs of PMEA and PMPA; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1053-1056.
- [24] J. Balzarini, Z. Hao, P. Herdewijn, D. G. Johns, E. de Clercq; Intracellular metabolism and mechanism of anti-retrovirus action of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine, a potent anti-human immunodeficiency virus compound; *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* **1991**, *88*, 1499-1503.
- [25] W. C. Magee, K. Y. Hostetler, D. H. Evans; Mechanism of Inhibition of Vaccinia Virus DNA Polymerase by Cidofovir Diphosphate; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 3153-3162.
- [26] X. Xiong, J. L. Smith, M. S. Chen; Effect on Incorporation of Cidofovir into DNA by Human Cytomegalovirus DNA Polymerase on DNA Elongation; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 594-599.
- [27] J. J. Bronson, I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, J. W. Russell, L. J. Klunk, E. R. Kern, J. C. Martin; In Vivo Anti-Retrovirus and Anti-Cytomegalovirus Activity of 9-((2-Phosphonylmethoxy)ethyl)adenine (PMEA); *Abstracts of Papers*, 5th International Conference on AIDS, Montreal, Canada, **1989**, Abstract M.C.P. 74.
- [28] J. Balzarini, L. Naesens, J. Slachmuylders, H. Niphuis, I. Rosenberg, A. Holy, H. Schellenkens, E. De Clercq; 9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)adenine (PMEA) Effectively Inhibits Retrovirus Replication In Vitro and Simian Immunodeficiency Virus Infection in Rhesus Monkeys. *AIDS* **1991**, *5*, 21-28.
- [29] G. Palu, S. Stefanelli, M. Rattu, C. Parolin, J. Balzarini, E. De Clercq; Cellular Uptake of Phosphonylalkylpurine Derivatives; *Antiviral Res.* **1991**, *16*, 115-119.
- [30] T. Cihlar, I. Rosenberg, I. Votruba, A. Holy; Transport of 9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)adenine Across Plasma Membrane of HeLa S3 Cells is Protein Mediated; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 117-124.
- [31] J. E. Starrett, Jr., D. R. Tortolani, M. J. M. Hitchcock, J.C. Martin, M.M. Mansuri; Synthesis and in vitro evaluation of phosphonate prodrug: Bis(pivaloyloxymethyl)-9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine; *Antiviral Res.* **1992**, *19*, 267-273.
- [32] B. L. Robbins, V. L. Srinivas, C. Kim, N. Bischofberger, A. Fridland; Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity and Cellular Metabolism of a Potential Prodrug

- of the Acyclic Nucleoside Phosphonate 9-*R*-(2-Phosphonmethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropoxyloxymethylcarbonyl)PMPA; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 612-617.
- [33] C. Meier; Pro-Nucleotides – Recent Advances in the Design of Efficient Tools for the Delivery of Biologically Active Nucleoside Monophosphates; *Synlett* **1998**, 233-242.
- [34] N. Tanaji, K. Tanaji, N. Kabham, G. S. Markowitz, A. Bell, V. D. D'Agati; Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondrial DNA depletion; *Human Path.* **2001**, *32*, 734-740.
- [35] A. Pompon, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, S. Khan, D. Farquhar; Decomposition pathways of mono- and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine 5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium: an application of the 'online ISRP-cleaning' HPLC technique; *Antiviral Chem. Chemother.* **1994**, *5*, 91-98.
- [36] D. Farquhar, S. Khan, D.N. Srivastva, P.P. Saunders; Synthesis and antitumor evaluation of bis[(pivaloyloxy)methyl] 2'-deoxy-5-fluorouridine 5'-monophosphate (FdUMP): a strategy to introduce nucleotides into cells; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3902-3909.
- [37] C. Meier; 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,2,3-benzodioxaphosphinin-2-oxides-A New Concept for lipophilic, potential Prodrugs of biologically active Nucleoside Monophosphates; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 70-73.
- [38] J. Renze, M. Plath, C. Ducho, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Meier; Benzylfunctionalized *cycloSal* d4T Monophosphates; *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids.* **2001**, *3-7*, 931-934.
- [39] C. Ducho, J. Balzarini, C. Meier; Non-inhibition of acetylcholinesterase by *cycloSal*-nucleotides; *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2003**, *5-8*, 841-843.
- [40] C. Meier, C. Ducho, U. Görbig, R. Esnouf, J. Balzarini; Interaction of *cycloSal*-Pronucleotides with Cholinesterases from Different Origins. A Structure-Activity Relationship; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2839-2852.

- [41] C. Ducho, S. Wendicke, U. Görbig, J. Balzarini, C. Meier; 3,5-Di-(*tert*-Butyl)-6-fluoro-*cycloSal*-d4TMP - A Pronucleotide with a Considerably Improved Masking Group; *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 24, 4786-4791.
- [42] C. Meier, J. Renze, C. Ducho, J. Balzarini; *cycloSal*-d4TMP pronucleotides-structural variations, mechanistic insights and antiviral activity; *Current Topics in Med. Chem.* **2002**, 2, 1111-1121.
- [43] A. Lomp; Diplomarbeitsschrift; *Universität Würzburg* **1998**.
- [44] H. C. Müller; Dissertationsschrift; *Universität Hamburg* **2003**.
- [45] U. Görbig; Diplomarbeitsschrift; *Universität Hamburg* **2004**.
- [46] A. Holy, I. Rosenberg; Synthesis of 9-(2-Phosphonomethoxyethyl)adenine and Related Compounds; *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1987**, 52, 2801-2809.
- [47] J. J. Bronson, I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, R. R. Webb, II, J. C. Martin; Synthesis and Antiviral Activity of the Nucleotide Analogue (S)-1-[3-Hydroxy-2-(phosphonylmethoxy)propyl]cytosine; *J. Med. Chem.* **1989**, 1457-1463.
- [48] A. Holy, M. Masojdkova; Synthesis of Enantiomeric N-(2-Phosphonomethoxypropyl)derivatives of Purine and Pyrimidine Bases. I. The Stepwise Approach; *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, 60, 1196-1212.
- [49] L. M. Schultze, H. H. Chapman, N. J. P. Dubree, R. J. Jones, K. M. Kent, T. T. Lee, M. S. Louie, M. J. Postich, E. J. Prisbe, J. C. Rohloff, R. H. Yu; Practical Synthesis of the anti-HIV Drug, PMPA; *Tetrahedron Letters* **1998**, 39, 1853-1856.
- [50] J. J. Bronson, L. M. Ferrara, H. G. Howell, P. R. Brodfuehrer, J. C. Martin; A New Synthesis of the Potent and Selective Anti-Herpesvirus Agent (S)-1-[3-Hydroxy-2-(phosphonylmethoxy)propyl]cytosine; *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **1990**, 9, 745-769.
- [51] H. Vu, C. McCollum, K. Jacobson, P. T. Heisen, R. Vinayak, E. Spiess, A. Andrus; Fast Oligonucleotide Deprotection Phosphoramidite Chemistry for DNA Synthesis; *Tetrahedron Letters* **1990**, 50, 7269-7272.
- [52] H. Jessen; Diplomarbeitsschrift; *Universität Hamburg* **2005**.
- [53] A. Holy, I. Rosenberg, H. Dvorakova; Synthesis of N-(2-Phosphonylmethoxyethyl) Derivatives of Heterocyclic Bases; *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1989**, 54, 2190-2210.
- [54] J. E. Starrett, D. R. Tortolani, J. Russell, M. J. M. Hitchcock, V. Witherock, J. C. Martin, M. M. Mansuri; Synthesis, Oral Bioavailability Determination, and *in Vitro*

- Evaluation of Prodrugs of the Antiviral Agent 9-[2-(Phosphonomethoxy)-ethyl]adenine (PMEA); *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1857-1864.
- [55] S. Benzaria, H. Pelicano, R. Johnson, G. Maury, J.-L. Imbach, A.-M. Aubertin, G. Obert, G. Gosselin; Synthesis, *in Vitro* Antiviral Evaluation, and Stability of Bis(S-acyl-2-thioethyl) Ester Derivatives of 9-[2-(Phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA) as Potential PMEA Prodrugs with Improved Oral Bioavailability; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4958-4965.
- [56] M. D. Erion, K. R. Reddy, S. H. Boyer, M. C. Matelich, J. Gomez-Galano, R. H. Lemus, B. G. Ugarkar, T. J. Colby, J. Schanzer, P. D. van Poelje; Design, Synthesis, and Characterization of a Series of Cytochrome P₄₅₀ 3A-Activated Prodrugs (HepDirect Prodrugs) Useful for Targeting Phosph(on)ate-Based Drugs to the Liver; *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5154-5163.
- [57] J. T. Renze; Diplomarbeitsschrift; *Universität Würzburg* **1998**.
- [58] T. V. Hansen, L. Skattebol; A high yielding one-pot method for the preparation of salen ligands; *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 3829-3830.
- [59] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (cycloSal-d4TMP)*: Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.
- [60] J. Balzarini, J. Cools, E. De Clercq; Estimation of the lipophilicity of anti-HIV nucleoside analogues by determination of the partition coefficient and retention time on a Lichrosphere 60 RP-8 HPLC column; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *158*, 413-422.
- [61] E. J. Lien, H. Gao, H. Prabhakar; Physical factors contributing to the partition coefficients and retention times of 2',3'-dideoxynucleoside analogues; *J. Pharm. Sci.* **1991**, *80*, 517-521.
- [62] M. Woods, A. D. Sherry; Synthesis and Luminescence Studies of Aryl Substituted Tetraamide Complexes of Europium(III): A New Approach to pH Responsive Luminescent Europium Probes; *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4401-4408.
- [63] G. E. Stokker, A. A. Deana, S. J. deSolms, E. M. Schultz, R. L. Smith, E. J. Cragoe, Jr., J. E. Baer, C. T. Ludden, H. F. Russo, A. Scriabine, C. S. Sweet, L. S. Watson; 2-(Aminomethyl)phenols, a New Class of Saluretic Agents. 1. Effects of Nuclear Substitution; *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1414-1427.

- [64] P. R. Brodfuehrer, H. G. Howell, C. Sapino Jr., P. Vemishetti; A Practical Synthesis of (S)-HPMPC; *Tetrahedron Letters* **1994**, *20*, 3243-3246.
- [65] S. Hoegland, Y. Morita, D. L. Bai, H.-P. Marki, K. Kees, L. Brown, C. H. Heathcock; Stereoselective Synthesis of the C-8 to C-15 Moiety of Erythronolide A; *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4730-4735.
- [66] J. C. Martin, D. F. Smee, J. P. H. Veheyden; Synthesis of 9-(4-Hydroxy-2-oxobutyl)guanine, 9-(2,4-Dihydroxybutyl)guanine, and Related Acyclic Nucleoside Analogues; *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 755-759.
- [67] C. Meier, C. Ducho, H. Jessen, D. Vukadinovic-Tenter, J. Balzarini; Second-Generation *cycloSal*-d4TMP Pronucleotides Bearing Esterase-Cleavable Sites - The „Trapping“ Concept; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *27*, 197-206.
- [68] J. R. Beadle, W. B. Wan, S. L. Ciesla, K. A. Keith, C. Hartline, E. R. Kern, K. Y. Hostetler; Synthesis and Antiviral Evaluation of Alkoxyalkyl Derivatives of 9-(S)-(3-Hydroxy-2-phosphonomethoxypropyl)adenine against Cytomegalovirus and Orthopoxviruses; *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2010-2015.
- [69] T.-L. Ho, G. A. Olah; Silane/iodine-based cleavage of esters and ethers under neutral conditions; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 4-6.
- [70] H. R. Kricheldorf, G. Mörber, W. Regel; Syntheses of Alkyl Bromides from Ethers and Bromotrimethylsilane; *Synthesis* **1981**, 383-384.
- [71] M. J. Robins, S. D. Hawrelak, T. Kanai, J.-M. Siefert, R. Mengel; Transformations of Adenosine to the First 2',3'-Aziridine-Fused Nucleosides, 9-(2,3-Epimino-2,3-dideoxy- β -D-ribofuranosyl)adenine and 9-(2,3-Epimino--2,3-dideoxy- β -D-lyxofuranosyl)adenine; *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1317-1322.
- [72] D. L. Hughes; The Mitsunobu Reaction; *Org. React.* **1992**, *42*, 335-656.
- [73] N. Bischofberger, M. J. Hitchcock, M. S. Chen, D. B. Barkhimer, K. C. Cundy, K. M. Kent, S. A. Lacy, W. A. Lee, Z. H. Li, D. B. Mendel, D. F. Smee, J. L. Smith; 1-[[((S)-2-Hydroxy-2-Oxo-1,4,2-Dioxaphosphorinan-5-yl)Methyl]Cytosine, an Intracellular Prodrug for (S)-1-(3-Hydroxy-2-Phosphonylmethoxypropyl)Cytosine with Improved Therapeutic Index In Vivo; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, *38*, 2387-2391.
- [74] C. Meier, C. Ducho, U. Görbig, R. Esnouf, J. Balzarini; Interaction of *cycloSal*-Pronucleotides with Cholinesterases from Different Origins. A Structure-Activity Relationship; *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2839-2852.

- [75] C. Meier; *Mini Rev. In Med. Chem.* **2002**, *2*, 219-234.
- [76] A. Lomp; Dissertationsschrift; *Universität Hamburg* **2002**.
- [77] C. Meier, U. Görbig, H. C. Müller, J. Balzarini; *cycloSal-PMEA* and *cycloAmb-PMEA*: Potentially New Phosphonate Prodrugs Based on the *cycloSal-Pro-nucleotide* Approach; *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8079-8086.
- [78] D. A. Cooney, G. Ahluwalia, J. Mitsuya, A. Fridland, M. Johnson, Z. Hao, M. Dalal, J. Balzarini, S. Broder, D. G. Johns; Initial Studies of the Cellular Pharmacology of 2',3'-Dideoxyadenosine, an Inhibitor of HTLV-III Infection; *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*, 1765-1768.
- [79] D. A. Carson, T. Haertle, D. B. Wasson, D. D. Richman; Biochemical Genetic Analysis of 2',3'-Dideoxyadenosin Metabolism in Human T Lymphocytes; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *151*, 788-793.
- [80] (a) M. Bianchi, A. Cerami, K. J. Tracey, P. Ulrich ; Guanylhydrazones for treating cachexia and inflammatory and other conditions. *PCT Int. Appl.* **1995**, 87pp.
(b) M. Stein-Gerlach, D. Bevec; Preparation of aromatic guanylhydrazones as effective compounds against neurological diseases; *PCT Int. Appl.* **2003**, 70pp.
(c) D. Sielecki, M. Thais; Preparation of acetylbenzamide guanylhydrazone compounds as inhibitors of TNF- α and nitric oxide release; *PCT Int. Appl.* **2006**, 138pp.
- [81] D. M. McKinnon, J. Y. Wong; Studies on Some 2,1-Benzisoxazole Derivatives; *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 2018-2022.
- [82] S. Benetti, R. Romagnoli, C. De Risi, G. Spalluto, V. Zanirato ; Mastering β -Keto Esters; *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 1065-1114.
- [83] C. Ducho; Diplomarbeitsschrift; *Universität Hamburg* **2001**.
- [84] G. K. Ferrington, A. Kumar, F. C. Wedler; Design and Synthesis of new transition-state analog inhibitors of aspartate transcarbamylase; *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1668-1673.
- [85] J. F. Larrow, S. E. Schauns, E. N. Jacobsen; Kinetic Resolution of Terminal Epoxides via a Highly Regioselective and Enantioselective Ring Opening with TMSN_3 , An Efficient, Catalytic Route to 1,2-Amino Alcohols; *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7420-7421.

- [86] M.-J. Kim, Y. K. Choi; Lipase-Catalyzed Enantioselective Transesterification of *O*-Trityl 1,2-Diols. Practical Synthesis of (*R*)-Tritylglycidol; *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1605-1607.
- [87] L. Deng, E. N. Jacobsen; A Practical, Highly Enantioselective Synthesis of the Taxol Side Chain via Asymmetric Catalysis; *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4320-4323.

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation „Nucleosidphosphonat-Prodrugs auf Basis des *cycloSal*-Konzepts“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwandt habe.

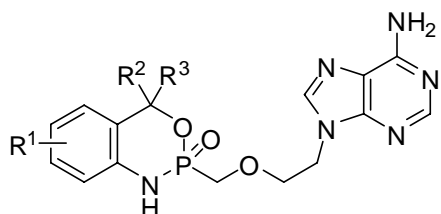
Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, im Oktober 2007

Verbindungsübersicht I

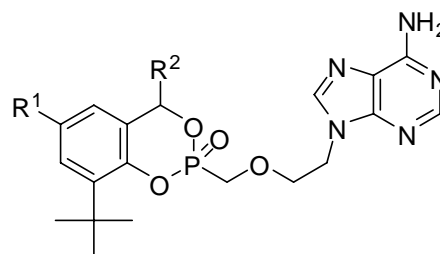
PMEA-Prodrugs



- R¹ = R² = R³ = H, **31a**
R¹ = 3-Me, R² = R³ = H, **31b**
R¹ = 6-Fluor, R² = R³ = H, **31c**
R¹ = 5-Me, R² = R³ = H, **31d**

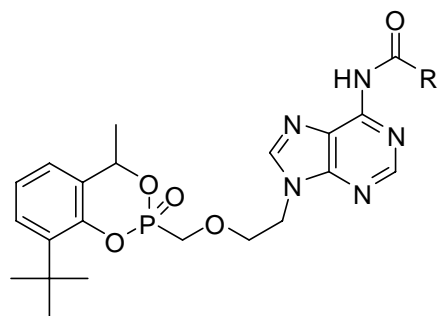
- R¹ = 4-Me, R² = R³ = H, **59a**
R¹ = 6-Me, R² = R³ = H, **59b**

- R¹ = H, R² = Me, R³ = H, **61a**
R¹ = H, R² = Me, R³ = Me, **61b**
R¹ = H, R² = Ph, R³ = H, **61c**

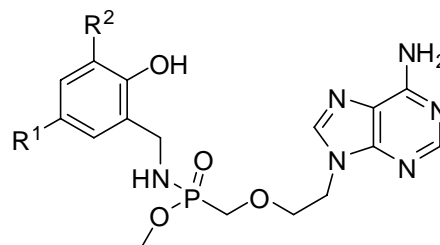


- R¹ = H, R² = Me, **74a**
R¹ = H, R² = *n*-Butyl, **74b**
R¹ = H, R² = *i*-Propyl, **74c**
R¹ = H, R² = *t*-Butyl, **74d**

- R¹ = *t*-Butyl, R² = Me, **76a**
R¹ = *t*-Butyl, R² = *n*-Butyl, **76b**
R¹ = *t*-Butyl, R² = *i*-Propyl, **76c**
R¹ = *t*-Butyl, R² = *t*-Butyl, **76d**



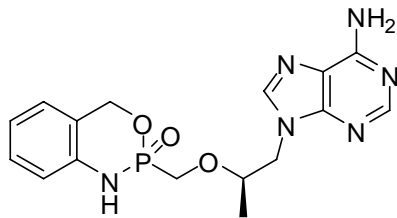
- R = *t*-Butyl, **80a**
R = Me, **80b**



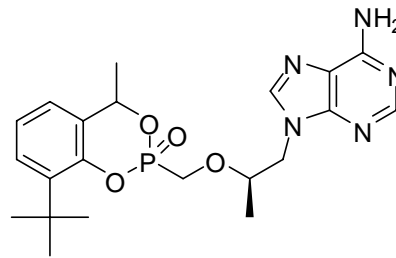
- R¹ = H, R² = H, **88a**
R¹ = Cl, R² = H, **88b**
R¹ = Br, R² = H, **88c**
R¹ = Cl, R² = Cl, **88d**

Verbindungsübersicht II

PMPA-Prodrugs

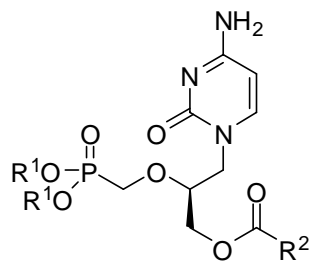


95



96

HPMPC-Derivate

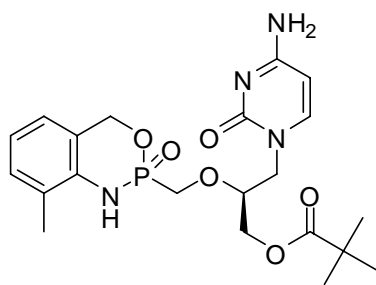


$R^1 = \text{Et}, R^2 = t\text{-Butyl}$, **119a**

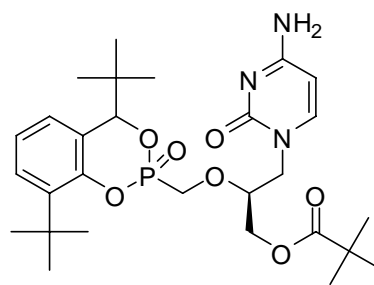
$R^1 = \text{Et}, R^2 = i\text{-Propyl}$, **119b**

$R^1 = \text{H}, R^2 = t\text{-Butyl}$, **120a**

$R^1 = \text{H}, R^2 = i\text{-Propyl}$, **120b**



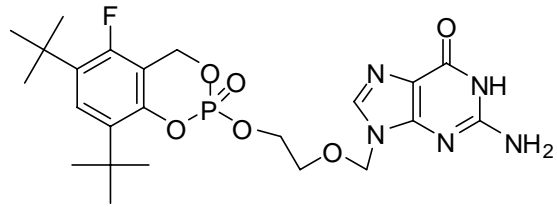
32a



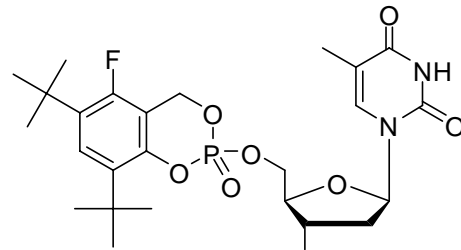
32b

Verbindungsübersicht III

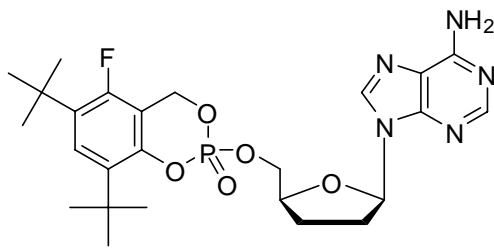
Pronucleotide mit optimierter Maske



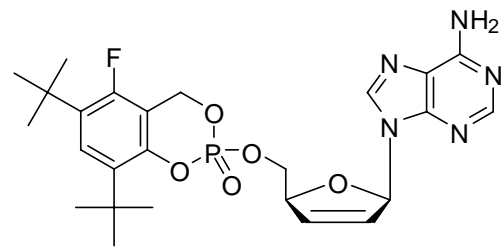
35a



35b



35c



35d

CNI-1493

