



**Neue Synthese von
Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von
cycloSal-aktivierten Phosphatdonatoren**

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Silke Wendicke

aus Wimbledon (GB)

vorgelegt dem Department Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg

2007



Universität Hamburg

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier in der Zeit von April 2003 bis Oktober 2006 angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier
2. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Thiem

Datum der Disputation: 07.12.2007

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die interessante Themenstellung, die hervorragende fachliche Betreuung, sowie den mir gewährten wissenschaftlichen Freiraum. Sein Interesse und sein Engagement haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens, Herrn Prof. Dr. Ulrich Hahn und Frau Dr. Britta Werner danke ich für die Teilnahme am Dissertationskolloquium.

Mein Dank gilt allen Studenten, die mich im Rahmen von Praktika unterstützt haben, sowie allen Mitarbeitern des Fachbereiches Chemie, die mir bei der Durchführung meiner Arbeit hilfreich zur Seite standen. Dr. V. Sinnwell, Dr. E. T. K. Haupt und ihren Teams danke ich für die Messung zahlreicher NMR-Spektren. Für die Messung der Massenspektren bedanke ich mich bei Frau C. Christ, Frau A. Meiners und Herrn M. Preuße.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinen Schwerpunktpraktikanten Svenja Warnecke und Bastian Reichardt, die durch ihren Einsatz einen großen Beitrag zu dieser Promotion geleistet haben. Meinen Kollegen Christian Ducho und Dalibor Vukadinovic-Tenter danke ich für das gute Arbeitsklima und die ständige Hilfsbereitschaft im Labor. Den übrigen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die hervorragende Atmosphäre und die zahlreichen anregenden Diskussionen über jeweils aktuelle Lebensfragen. Dem Arbeitskreis Maison danke ich für die unterhaltsame Gesellschaft und die kulinarischen Ausflüge. Jens Holscher möchte ich für seinen Optimismus und die schöne Zeit außerhalb des Labors danken.

Svenja Warnecke und Henning Jessen danke ich für das sorgfältige Korrekturlesen der Arbeit. Dr. Manuela Köhler danke ich für das Verständnis während der Erstellung dieses Manuskripts. Ein besonderer Dank gilt Torsten Garmatz für die liebevolle Unterstützung und für seine Geduld während der Anfertigung dieser Arbeit.

Nicht zuletzt danke ich meiner Familie für ihr stetes Interesse und ihren Zuspruch während meiner Ausbildung.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Kenntnisstand	5
2.1. Biosynthese der NDP-Pyranosen	5
2.2. Literaturbekannte Synthesen von NDP-Pyranosen.....	6
2.3. Das <i>cycloSal</i> -Konzept.....	13
2.4. Synthetisches Potential des <i>cycloSal</i> -Konzepts.....	18
3. Aufgabenstellung	24
4. Resultate und Diskussion	25
4.1. Synthesestrategie.....	25
4.2. Darstellung von <i>cycloSal</i> -Nucleosidmonophosphaten.....	26
4.2.1. Darstellung der Salicylalkohole	27
4.2.2. Darstellung der <i>cycloSal</i> igenylchlorphosphite	33
4.2.3. Darstellung der <i>cycloSal</i> -Phosphorchloridate	34
4.2.4. Darstellung der modifizierten Nucleoside	36
4.2.5. Darstellung der <i>cycloSal</i> Nucleotide.....	40
4.3. Synthese von Glycosylmonophosphaten	48
4.3.1. Die Trichloracetimidat-Methode	48
4.3.2. Die Koenigs-Knorr-Methode.....	54
4.3.3. Die Phosphoramidit-Methode.....	58
4.3.4. Darstellung der Gulosederivate 201-214	61
4.3.5. Versuch der Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose.....	68
4.4. Synthese von Nucleosiddiphosphat-Pyranosen	71
4.4.1. Die Morpholidat-Methode	71
4.4.2. Synthese der NDP-Pyranosen aus <i>cycloSal</i> -Nucleotiden	80
5. Zusammenfassung	97
6. Summary	102
7. Ausblick	105

8. Experimenteller Teil	111
8.1. Allgemeines.....	111
8.1.1. Lösemittel.....	111
8.1.2. Verwendete Puffer und Reagenzien	112
8.1.3. Chromatographie	112
8.1.4. Kernresonanzspektroskopie (NMR)	113
8.1.5. Massenspektrometrie (MS)	114
8.1.6. Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FT-IR)	114
8.1.7. Polarimeter.....	115
8.1.8. Sonstige Geräte	115
8.2. Synthesen	115
8.2.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	115
8.2.2. Synthese der modifizierten Nucleoside	121
8.2.3. Synthese der Salicylkoholderivate.....	128
8.2.4. Synthese der Phosphoramidite	140
8.2.5. Synthese der <i>cyclo</i> Saligenylchlorphosphite	142
8.2.6. Synthese der <i>cyclo</i> Sal-Phosphorchloridate.....	145
8.2.7. Synthese der <i>cyclo</i> Sal-Nucleosidmonophosphate	148
8.2.8. Synthese der Glycosylmonophosphate	161
8.2.9. Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen	197
9. Gefahrstoffverzeichnis	203
10. Literaturverzeichnis	206

Abkürzungen und Symbole

A	Adenosin
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	Absolut
Ac	Acetyl
3'-OAcdT	3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin
Äquiv.	Moläquivalente
Bn	Benzyl
Bu	Butyl
C	Cytidin
c	<i>cyclo</i>
CDCl ₃	Deuteriochloroform
COSY	Korrelations-Spektroskopie (correlation spectroscopy)
CIAP	calf intestine alkaline phosphatase
δ	chemische Verschiebung
<i>cyclo</i> Sal	<i>cyclo</i> -Saligenyl
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett von Dublett
DIAD	<i>Di</i> isopropylazodicarboxylat
DIBAL-H	<i>Di</i> isopropylaluminiumhydrid
DIPEA	<i>Di</i> isopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimethylsulfoxid (sechsfach deuteriert)
DNA	Desoxyribonucleinsäure
D ₂ O	Deuteriumoxid
DP	Diphosphat
d4T	2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin
dT	Desoxythymidin
EE	Ethylacetat
EI	Elektronenstossionisation
ESI	Elektronensprayionisation
FAB	Fast Atom Bombardment
G	Guanosin
Gal	Galactose
Glu	Glucose
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
Hz	Hertz
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
konz.	Konzentriert
LPS	Lipopolysaccharid
M	Molar
m	Multipllett

Abkürzungen und Symbole

Man	Mannose
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time of Flight
<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
MHz	Megahertz
MP	Monophosphat
MS	Massenspektrometrie
n.b.	nicht bestimmt
NDP	Nucleosiddiphosphat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PE	Petrolether
ppm	parts per million
q	Quadruplett
R_f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
RP	Reversed Phase
R_t	Raumtemperatur
s	Singulett
SG	Schutzgruppe
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplet
tert	tertiär
t_R	Retentionszeit
T	Thymin
Tab.	Tabelle
TBAC	Tetrabutylammoniumchlorid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TP	Triphosphat
U	Uracil
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenanteile

1. Einleitung

Die Kohlenhydrate sind als größte Naturstoffklasse neben den Lipiden, Proteinen und Nucleinsäuren von essentieller Bedeutung für nahezu alle lebenden Organismen. Während die Strukturen und Funktionen der Nucleinsäuren als Träger der genetischen Information eingehend untersucht wurden, wurde den Kohlenhydraten vergleichsweise wenig Aufmerksamkeit zuteil. In ihren klassischen Funktionen dienen sie als Gerüstsubstanz in Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren (Cellulose, Proteoglycane, Chitin), als schnell mobilisierbare Energiequelle (Stärke, Glycogen), oder als Teile des Grundgerüsts der RNA und DNA.¹ Erst in jüngster Vergangenheit wurde erkannt, dass Kohlenhydrate auch unabdingbare Bestandteile verschiedener biologischer Prozesse sind^{2,3}. Die auf der extrazellulären Seite der Zellmembran anzutreffenden antennären Oligosaccharid-Strukturen fungieren als Informationsträger auf molekularer Ebene.⁴ Obwohl sich Säugetiere in der Regel auf den Einbau von höchstens acht Monosacchariden beschränken, ist aufgrund der hohen Zahl möglicher glycosidischer Verknüpfungen dieser Monomere der Aufbau von komplexen Strukturen möglich. Oligosaccharide vermögen daher effizient die riesigen Datenmengen, die für verschiedenste Erkennungsprozesse auf der Zelloberfläche benötigt werden, zu kodieren. Diese Erkennungsprozesse reichen von interzellulärer Kommunikation über Signalübertragung, Zelladhäsion, Infektion und Zelldifferenzierung bis hin zur Zellentwicklung.^{5,6,7}

In der Biosynthese von Oligosacchariden stellen Nucleosiddiphosphatzucker, im Folgenden auch als Zuckernucleotide oder XDP-Zucker bezeichnet, die Schlüsselsubstanzen dar.⁸ Als Substrate der Glycosyl-Transferasen sind XDP-Zucker neben der Oligo- und Polysaccharidbiosynthese auch an der Biosynthese von Uronsäuren, verzweigt-kettigen Zuckern, Desoxyzuckern und Aminodesoxyzuckern beteiligt. Des Weiteren spielen sie eine fundamentale Rolle in der Synthese der Glycokonjugate, zu denen die Glycolipide sowie die Glycoproteine gehören. XDP-Zucker können strukturell in drei Untereinheiten eingeteilt werden; sie setzen sich aus einem Glycosyl-Rest, einer Pyrophosphatbrücke und einem Nucleosid-Rest zusammen. Das Pyrophosphat aktiviert den Glycosyl-Rest in enzymkatalysierten Übertragungsreaktionen, der Nucleosid-Rest dient Enzymen wie den Glycosyl-Transferasen oder Isomerasen als zusätzliches Erkennungsmerkmal.

Der erste identifizierte Stoffwechselfvorgang, der die bedeutende Rolle der Zuckernucleotide in der Saccharidbiosynthese zeigte, ist die Glycogenbiosynthese.⁹ Zum Aufbau des Glycogens wird zunächst Glucose durch die Glucokinase unter Verbrauch von ATP selektiv am anomeren Zentrum phosphoryliert. Ein Phosphoryl-Sauerstoff-Atom des Glucose-1-Phosphats greift dann das α -Phosphoratom von Uridintriphosphat nucleophil an. Unter Freisetzung von Pyrophosphat wird die Uridindiphosphat-Glucose gebildet. Dieses Zuckernucleotid dient letztlich als aktivierter Glycosyldonor, die Glycosyleinheit wird auf die C4-OH Gruppe der wachsenden Glycogenkette übertragen (Abb. 1).

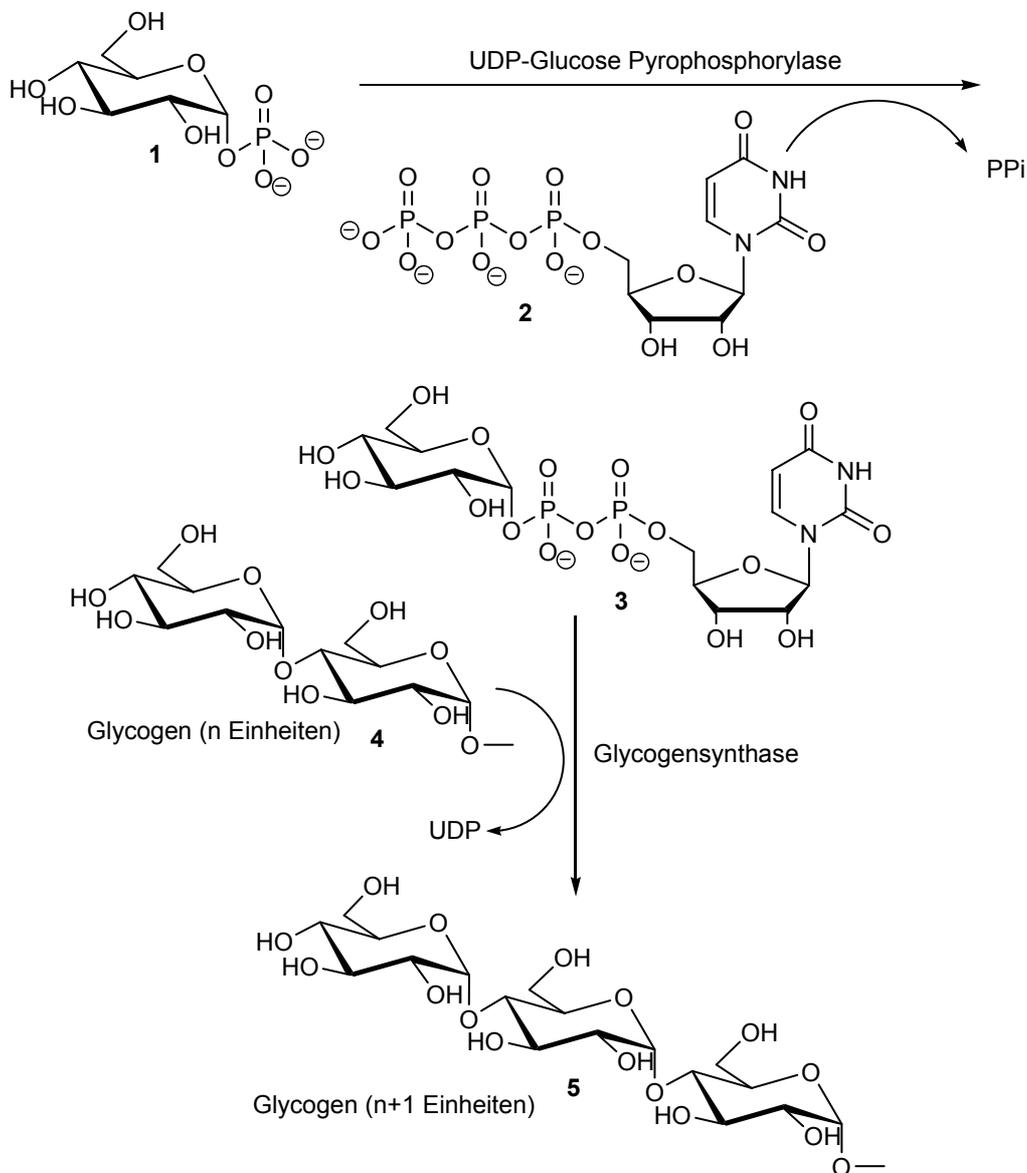


Abb. 1 Biosynthese des Glycogens

Im Jahr 1970 erhielt LÉLOIR für die mechanistische Aufklärung der Glycogenbiosynthese und die Entdeckung der Zuckernucleotide den Nobelpreis für Chemie.¹⁰

Eine Vielzahl von Infektionen ist nach wie vor auf gramnegative Bakterien zurückzuführen, deren Bekämpfung mit einer Reihe von Antibiotika durchgeführt wird. Dennoch ist die Anzahl der Todesfälle nach septischem Schock bei gramnegativen Infektionen beinahe konstant geblieben.¹¹ Das Molekül, das diese heftige Reaktion im Körper hervorruft, ist das Endotoxin oder die Lipoid-A-Komponente der Lipopolysaccharide (LPS) gramnegativer Bakterien.¹² Gramnegative Bakterien weisen im Gegensatz zu Grampositiven außerhalb der Zellwand eine aus Phospholipiden, Proteinen und LPS zusammengesetzte Membran auf (Abb. 2).

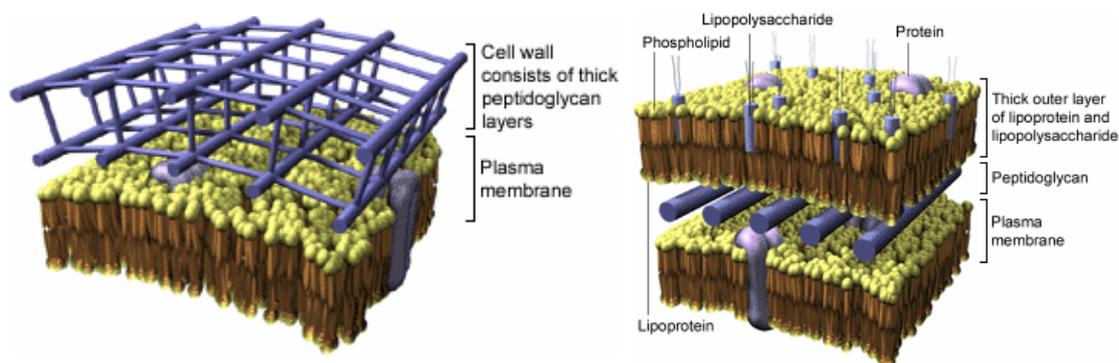


Abb. 2 Schematische Darstellung der Zellwand eines grampositiven Bakteriums (links) und eines gramnegativen Bakteriums (rechts)

Bei jeder Zellteilung wird ein kleiner Teil an LPS freigesetzt, größere Mengen gelangen jedoch bei der Autolyse nach dem Tod der Bakterien in den Körper. Viele Antibiotika bewirken aber genau diese Autolyse der Bakterienzellen, wodurch zwar die Lebendkeimzahl enorm reduziert wird, die Endotoxin-Ausschüttung aber zu einer Verstärkung der Symptome der Sepsis führt. Ein Ziel muss es also sein, antibakterielle Wirkstoffe zu entwickeln, die wenig oder gar kein Endotoxin freisetzen. Darüber hinaus zeichnen sich viele Pathogene mittlerweile durch Multiresistenz gegen die gängigen Antibiotika aus, weshalb die Suche nach alternativen Therapieansätzen von großer Dringlichkeit ist. LPS bestehen aus einem hydrophoben Anteil (Lipoid A) und einer hydrophilen Kohlenhydratkomponente.¹³ Der

hydrophile Kohlenhydratanteil lässt sich in eine Kernregion und das O-Antigen unterteilen, wobei die Kernregion den strukturell konservativen Teil und das polymere O-Antigen einen hochvariablen Teil darstellt (Abb. 3).

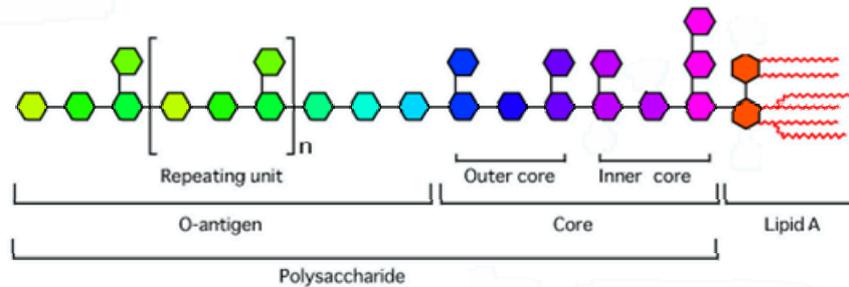


Abb. 3 Aufbau eines Lipopolysaccharides (LPS)

Die Biosynthese der Oligosaccharidkette der Kernregion wird mit Hilfe von Glycosyltransferasen bewerkstelligt. Die spezifischen Glycosyltransferasen verwenden XDP-Zucker als Glycosyldonoren und verlängern die wachsende Oligosaccharidkette der Kernregion. Anschließend werden die Oligosaccharidkette und das Lipid A miteinander verbunden. Stört man nun aber die Biosynthese der Oligosaccharidkette, kann es nicht zur Komplettierung der beiden Untereinheiten kommen, wodurch die gesamte LPS-Biosynthese gehemmt wäre. Die Inhibierung bewirkt neben einer verringerten Viabilität der Bakterien auch eine reduzierte Freisetzung von Endotoxinen und stellt somit ein interessantes Ziel zur Entwicklung neuartiger Antibiotika dar. Um dieses Ziel zu erreichen, müssen die Struktur und die Funktionen der an der LPS-Biosynthese beteiligten Glycosyltransferasen eingehend untersucht werden. Dazu müssen auch ihre Substrate, die Nucleosiddiphosphatpyranosen, in ausreichender Menge zugänglich sein.

2. Kenntnisstand

2.1. Biosynthese der NDP-Pyranosen

Als Substrate der Glycosyl-Transferasen sind die Zuckernucleotide bei nahezu allen Glycosylierungen in biologischen Systemen beteiligt.¹⁴ Mit Ausnahme der Erythrocyten besitzen alle Säugetierzellen die Fähigkeit zur Glycosylierung. Die Glycosyl-Transferasen des Leloir-Weges¹⁰ setzen als Glycosyldonoren Nucleosidmonophosphatpyranosen oder Nucleosiddiphosphatpyranosen um. Nicht-Leloir-Transferasen verwenden Pyranosyl-1-phosphate als Donoren. Die bei Säugetieren anzutreffenden Leloir-Glycosyl-Transferasen beschränken sich im Wesentlichen auf acht Zuckernucleotide: UDP-Glc, UDP-GlcNAc, UDP-Gal, UDP-GalNAc, GDP-Man, GDP-Fuc, UDP-GlcUA und CMP-NeuAc. Über den Mechanismus der Glycosylierung und den daran beteiligten Glycosyldonoren in Pflanzen und Bakterien ist vergleichsweise wenig bekannt.

Die Mehrzahl der Zuckernucleotide des Leloir-Weges werden *in vivo* aus den entsprechenden Glycosylmonophosphaten und Nucleosidtriphosphaten zusammengesetzt. Die Kupplung wird durch eine Zuckernucleosiddiphosphat-Pyrophosphorylase katalysiert. Die Triebkraft der Reaktion ist die irreversible Spaltung des freigesetzten Pyrophosphats durch die Pyrophosphatase (Abb. 4).

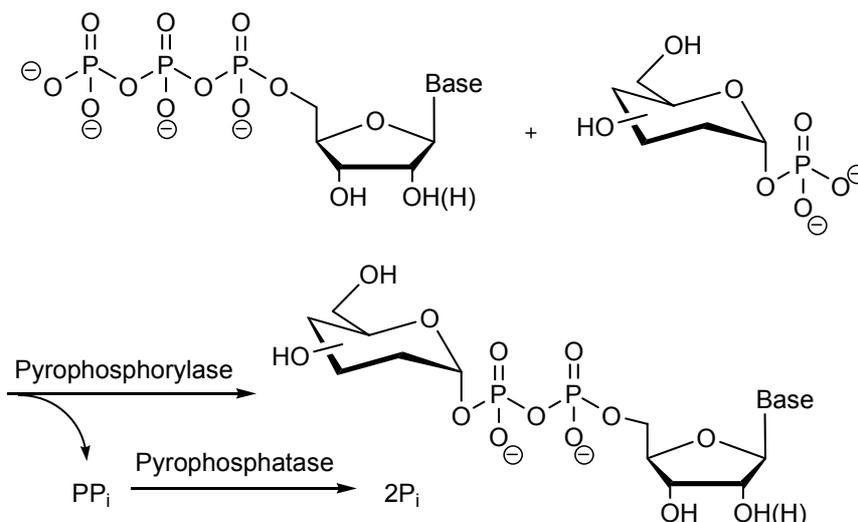


Abb. 4 *In Vivo* Synthese der NDP-Zucker

Andere Nucleosiddiphosphatpyranosen wie GDP-Fucose oder UDP-Glucuronsäure werden durch weitere enzymatische Modifizierung erhalten. Die GDP-Fucose wird aus GDP-Man mit einem NADPH-abhängigen Oxireduktase-Enzysystem gebildet, die UDP-Glucuronsäure wird durch Oxidation von UDP-Glc an C-6 mit der NAD-abhängigen UDP-Glc-Dehydrogenase dargestellt. Eine weitere Ausnahme ist die Nucleosidmonophosphatpyranose CMP-NeuAc, die *in vivo* direkt aus *N*-Acetyl-Neuraminsäure und CTP synthetisiert wird. Die Reaktion wird von der CMP-NeuAc-Synthase katalysiert, eine durch eine Kinase katalysierte initiale Phosphorylierung ist nicht erforderlich. Auch hier wird das freigesetzte Pyrophosphat durch die Pyrophosphatase unter Energiefreisetzung gespalten.

2.2. Literaturbekannte Synthesen von NDP-Pyranosen

Mit der Entdeckung ihres großen pharmakologischen Potentials werden Zuckernucleotide verstärkt *in vitro* synthetisiert. In der Fachliteratur findet sich eine Reihe von Methoden zur Darstellung dieser Verbindungen. Nachfolgend werden die wichtigsten chemischen, enzymatischen und chemo-enzymatischen Synthesen kurz erläutert.

Die vorwiegend genutzte Synthesestrategie zur chemischen Darstellung der NDP-Pyranosen basiert auf dem nucleophilen Angriff eines Pyranosyl-1-phosphats auf ein aktiviertes Nucleotid unter Bildung der Pyrophosphat-Einheit (Abb. 5).

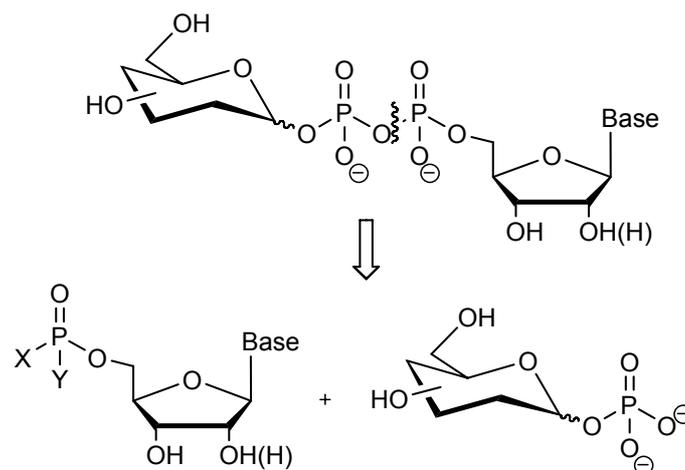


Abb. 5 Synthesestrategie zur chemischen Darstellung von XDP-Zuckern

Das Nucleotid kann durch verschiedene Austrittsgruppen A aktiviert werden. Die Aktivierung wird in der Regel in Form geeigneter N-, S- und O-Nucleophile erzielt.¹⁵ Als Beispiele für diese Austrittsgruppen sind Phosphorsäureamide¹⁶ (Morpholidat **10**, Imidazolid **11**), Phosphorsäureanhydride¹⁷, (Diphenylphosphat **14**, Thiodiphenylphosphat **15**), oder Phosphorsäureester¹⁸ (Alkylsulfid **12**, α -Pyridyl **13**) zu nennen (Abb. 6).^{19,20}

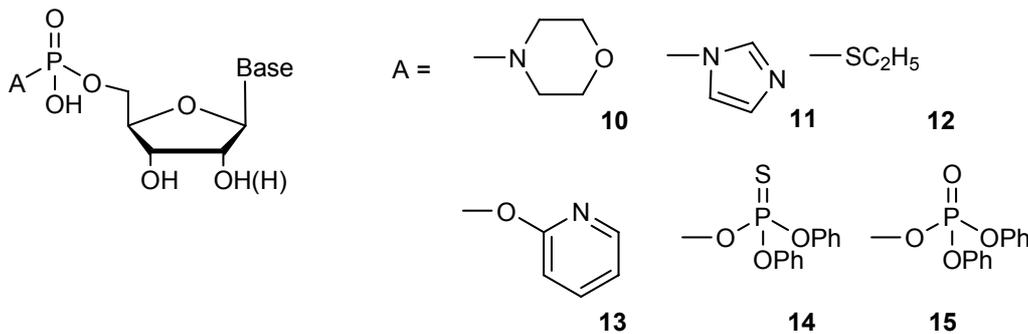


Abb. 6 Aktivierung eines Nucleosids als Phosphorsäureamid, -anhydrid, und -ester

In den vergangenen Jahren wurde die chemische Synthese ausgehend von Nucleosidphosphormorpholidaten am intensivsten genutzt.^{21,22,23,24} Mofatt und Khorana setzen das jeweilige Nucleosid-5'-phosphormorpholidat, welches als *N,N*-Dicyclohexylcarboxamidinium-Salz vorliegt, mit einem ungeschützten Pyranosyl-1-phosphat zur gewünschten NDP-Pyranose um (Abb. 7).

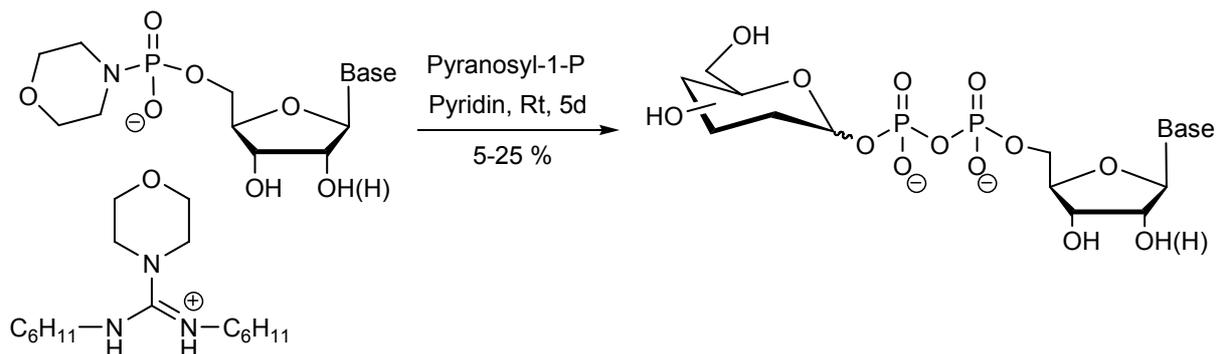


Abb. 7 Die Phosphormorpholidat-Methode

Aufgrund der häufigen Verwendung der Methode und der hohen Stabilität des Morpholidats ist dieses mittlerweile in Form des *N,N*-Dicyclohexylcarboxamidinium-Salzes für die Nucleotide AMP, CMP, GMP und UMP kommerziell erhältlich. Die Ausbeute der Morpholidat-Kupplung ist mit 5-25 % allerdings sehr niedrig, zudem

sind die Reaktionszeiten sehr lang. Neuere Arbeiten beschreiben Verbesserungen dieses Verfahrens durch den Einsatz von 1*H*-Tetrazol als Katalysator.²⁵

Kosma *et al.* verwendeten infolge der schlechten Löslichkeit des ungeschützten Pyranosyl-1-phosphats in Pyridin ein *O*-acetyliertes Heptosyl-1-phosphat **42** in Form des löslichen Monotriethylammoniumsalzes.²⁶ Auf diese Weise konnte das entsprechende Zuckernucleotid in 90% Ausbeute nach Reinigung durch Anionenaustauschchromatographie erhalten werden. Die für die Kupplung benötigte Reaktionszeit wurde von den Autoren nicht angegeben. Die anschließende basische Deacetylierung ergab mit 99 % Ausbeute das Zuckernucleotid **44** (Abb. 8).

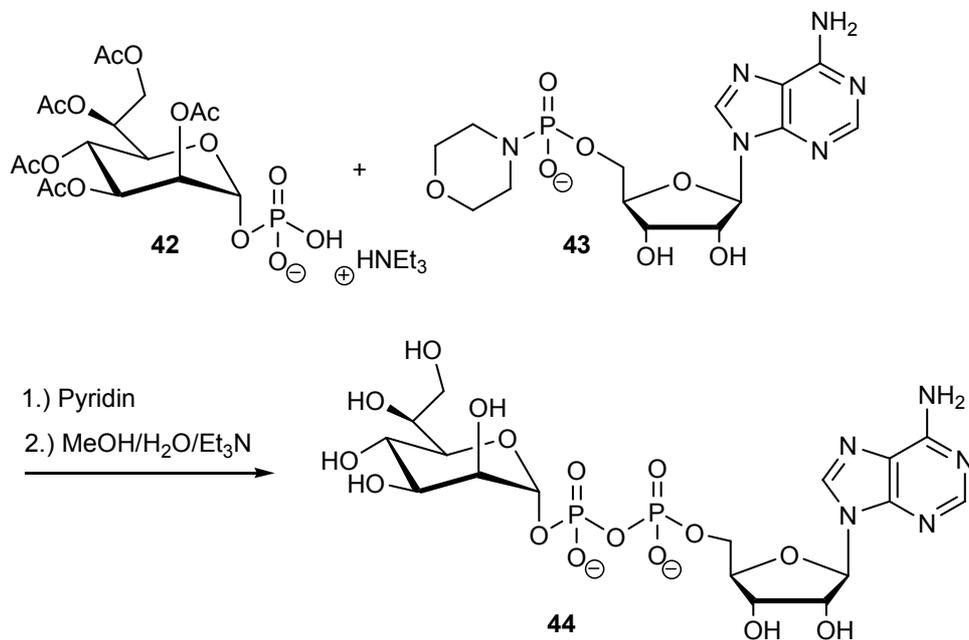


Abb. 8 Synthese von Zuckernucleotiden nach Kosma *et al.*

Diese beachtliche Ausbeute, die offensichtlich durch die bloße Verwendung von Acetyl-Schutzgruppen erreicht wird, konnte allerdings im Rahmen dieser Arbeit unter analogen Reaktionsbedingungen (s. S. 74) nicht nachvollzogen werden.

Öhrlein *et al.* beschreiben ein Morpholidat-aktiviertes Nucleosid (GMP) als ein reaktionsträges Reagenz zum Einsatz in der Zuckernucleotidsynthese. Des Weiteren wurde während der Kupplung das Auftreten vieler Nebenprodukte beobachtet, die nur schwer zu entfernen waren.²⁷ Daher wurde Guanosinmonophosphat **16** mit *N,N*-

Carbonyldiimidazol (CDI) zur Reaktion gebracht, um *in situ* ein reaktives Imidazolylphosphat **17** zu generieren (Abb. 9).

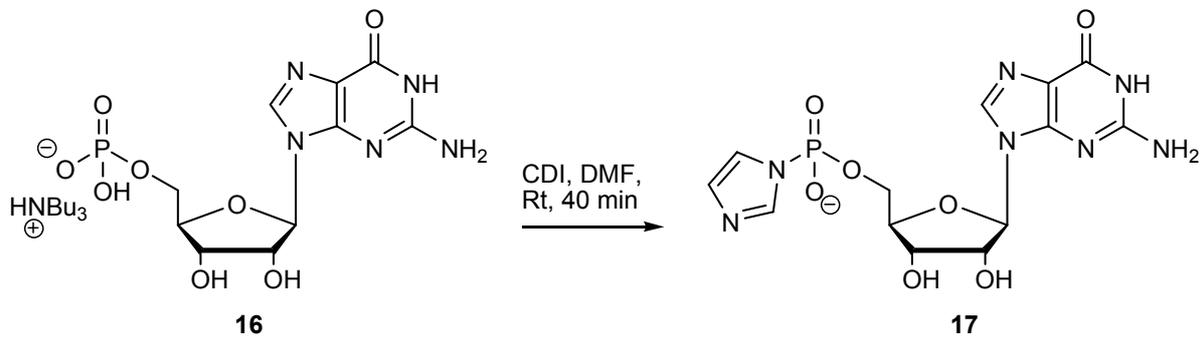


Abb. 9 Reaktives Guanosinmonophosphorimidazol **17**

Die anschließende Kupplung mit vollständig acetylierten Glycosyl-1-phosphaten liefert die entsprechenden NDP-Pyranosen in 35-94 % Ausbeute. Ein Nachteil dieser Methode ist die lange Reaktionszeit von 50 h, die weder durch Temperaturerhöhung noch durch Ultraschall verkürzt werden konnte. Die Aufreinigung erfolgt durch Zersetzung der Monophosphate mit Phosphatase (CIAP, EC 3.1.3.1) und anschließender Ausfällung aus Ethanol. Da die synthetisierten Zuckernucleotide laut Öhrlein *et al.* nicht ausreichend basenstabil sind, wird die Abspaltung der Acetylgruppen ebenfalls enzymatisch (Acetylerase EC 3.1.1.6) durchgeführt. Die Basenlabilität der Zuckernucleotide konnte jedoch in der vorliegenden Arbeit sowie in neueren Arbeiten anderer Arbeitsgruppen nicht bestätigt werden.²⁶ Der Einsatz von Enzymen ist ebenfalls als nachteilig anzusehen wenn man die Kosten der chemoenzymatischen Synthese mit denen der rein chemischen Synthese vergleicht.

Einen ähnlichen Weg zur Darstellung von Zuckernucleotiden wählen Kodama *et al.*, die nicht das Nucleotid sondern die phosphorylierte Hexose mit *N,N'*-Carbonyldiimidazol *in situ* aktivieren.²⁸ Die Ausbeuten sind mit durchschnittlich 30% mit denen der Morpholidat-Methode vergleichbar, die Methode kann sich aber als geeignet erweisen, falls unnatürliche Nucleotide, deren synthetischer Zugang langwierig und/oder schwierig ist, umgesetzt werden.

Eine weitere *in situ* Aktivierung des Nucleotids zur Darstellung von NDP-Pyranosen wurde von Borch *et al.* publiziert.²⁹ Durch hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppe des Phosphoramidats **18** in THF wird intermediär das reaktive

cyclische Zwitterion **19** gebildet. Dieses wird dann von β -D-Glucose-1-phosphat nucleophil angegriffen, das gewünschte Zuckernucleotid **20** entsteht nach 1 Stunde in Pyridin bei Raumtemperatur (Abb. 10).

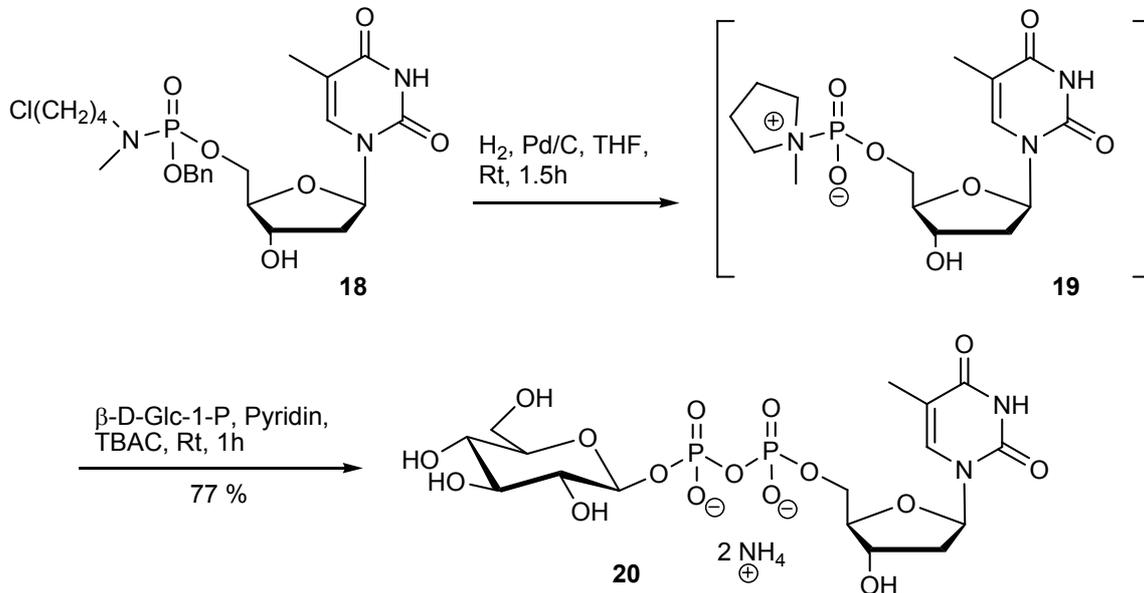


Abb. 10 Synthese eines Zuckernucleotids nach der Methode von Borch *et al.*

Zur Erhöhung der Löslichkeit des Pyranosylphosphats wird der Reaktion TBAC zugesetzt. Die Aufreinigung und Isolierung erfolgt mit Ionenaustauschchromatographie und RP-18 Chromatographie, dTDP- β -D-Glc **20** wird in 77 % (bezogen auf β -D-Glucose-1-phosphat) gewonnen. Das im Anhang der Publikation abgebildete ^{31}P -Spektrum zeigt jedoch noch Verunreinigungen im Bereich von 0 ppm, die vermutlich von nicht vollständig abgetrennten Monophosphaten herrühren. Als Vorteile dieser Methode sind die bemerkenswert kurze Reaktionszeit sowie der Verzicht auf Schutzgruppen zu sehen. Das Phosphoramidat **18**, welches in 2.5-fachem Überschuss eingesetzt wird, muss allerdings zuvor in einer neunstufigen Synthese dargestellt werden.

Die NDP-Halogenose Methode zur Synthese von NDP-Zuckern geht auf Hindsgaul *et al.* zurück.^{30,31} Hierbei wird das Monosaccharid durch Einführung eines Halogenids am anomeren Zentrum gegenüber einem nucleophilen Angriff des Nucleosiddiphosphats aktiviert.³² Durch Umsetzung des per-O-Benzylglycopyranosylbromids **21** mit dem Tetra-*n*-butylammoniumsalz von UDP entsteht die entsprechende NDP-Pyranose **22**, die allerdings als nicht trennbares

Anomerengemisch vorliegt. Die benzylierten Produkte ließen sich nach der Kupplung ohne Zersetzung über Kieselgel reinigen und anschließend durch katalytische Hydrierung entschützen, ohne dass die Doppelbindung in der Base des Nucleosids angegriffen wurde (Abb. 11).

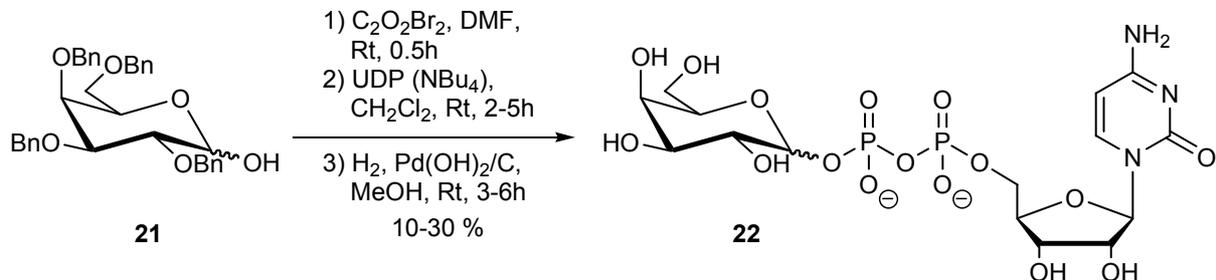


Abb. 11 Zuckernucleotidsynthese nach der Halogenose-Methode

Auch in diesem Fall sind die Ausbeuten mit 10-30 % moderat, obwohl die Umsetzung zum Zuckernucleotid nur 3-5 Stunden benötigt. Die Frage, ob Glycosyltransferasen durch α/β Anomerengemische des Substrates inhibiert werden, ist noch ungeklärt. Falls die Glycosyltransferase durch das falsche Anomer inhibiert wird, müssten die Zuckernucleotide anomerenrein synthetisiert werden. Die Darstellung der Zuckernucleotide nach der NDP-Halogenose Methode wäre folglich ungeeignet, da keine Kontrolle der Stereochemie am anomeren Zentrum erfolgt.

Die Vorteile einer enzymatischen Synthese der NDP-Pyranosen sind die hohe Regio- und Stereospezifität der Reaktion sowie der Verzicht auf Schutzgruppen. Die enzymatische Synthese ist inzwischen für nahezu alle natürlichen Zuckernucleotide möglich, auch wenn sie teilweise sehr aufwendig und kostenintensiv sind.^{33,34} Thiem *et al.* publizierten beispielsweise den enzymatischen Zugang zur GDP-Fucose.³⁵ Analog zur Synthese in biologischen Systemen wird die Fucose *in vitro* durch die Fucokinase selektiv am anomeren Zentrum phosphoryliert. Die Fucokinase verbraucht dabei ATP. Das entstandene ADP wird durch die Pyruvatkinase unter Verbrauch von Phosphoenolpyruvat und Freisetzung von Pyruvat wieder zum ATP umgesetzt. Der Cofaktor Phosphoenolpyruvat kann sowohl chemisch aus Pyruvat als auch enzymatisch aus D-3-Phosphoglycerat hergestellt werden. Die erfolgte Nachbildung des ATP ermöglicht dessen Einsatz in geringen Mengen, die Ausbeute des Glycosylphosphats lässt sich so auf bis zu 80 % steigern. Das Fucose-1-phosphat wird schließlich durch die GDP-Fucose Pyrophosphorylase unter

Verbrauch von GTP zur GDP-Fucose umgesetzt. Das dabei entstehende Pyrophosphat wird durch die anorganische Pyrophosphatase gespalten. Eine Ausbeute von 32% der NDP-Fucose **25** ist nicht zufrieden stellend wenn man den Aufwand durch den Einsatz der beteiligten Enzyme mit teilweise hohen Anschaffungskosten bedenkt (Abb. 12).

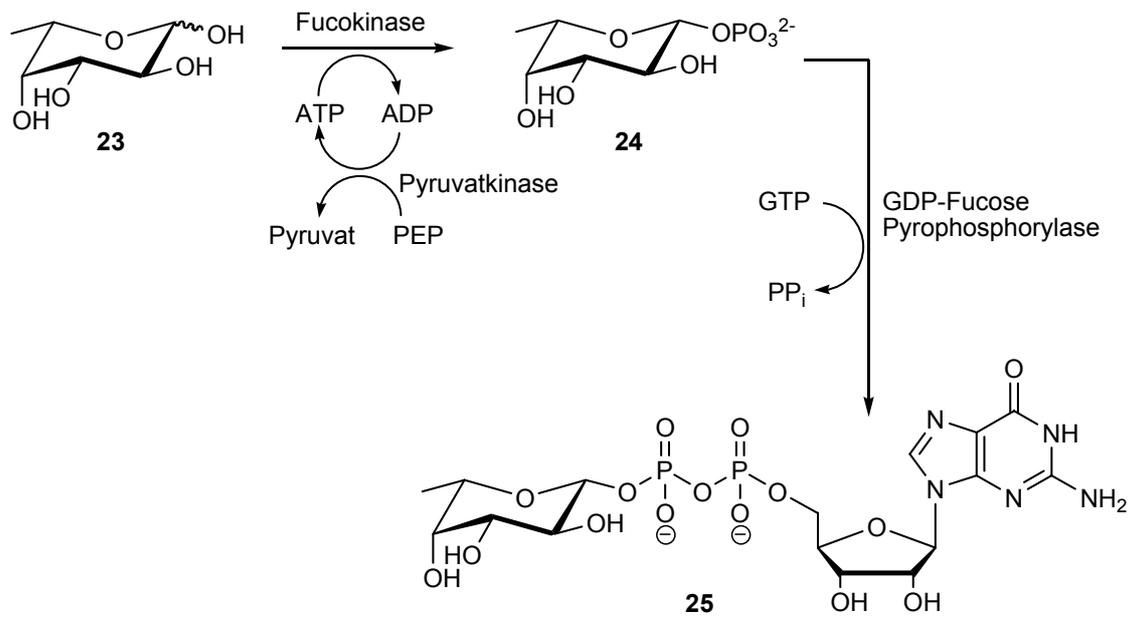


Abb. 12 Enzymatische Synthese der GDP-Fucose

Mit der mittlerweile kommerziell erhältlichen UDP-Glucose Pyrophosphorylase sind Synthesen von UDP-Glucose und UDP-Glucuronsäure im präparativem Maßstab möglich. Der Nachteil einer enzymatischen Synthese besteht trotzdem in der im allgemein begrenzten Verfügbarkeit der Enzyme durch Isolierung aus natürlichen Quellen oder durch Klonierung.^{36,37} Zum anderen verhindert der Mangel an einer generell anwendbaren enzymatischen Synthesemöglichkeit, besonders in Bezug auf nicht natürliche Donorsubstrate, den Fortschritt dieser Methode.³⁸

Aufgrund der großen biologischen Bedeutung der Zuckernucleotide sind zahlreiche Synthesen dieser Verbindungsklasse publiziert worden. Die enzymatischen und chemoenzymatischen Methoden sind allerdings nur für die Synthese natürlicher Zuckernucleotide in Betracht zu ziehen, bei denen die entsprechenden Enzyme verfügbar sind. Auch wenn diese Voraussetzung erfüllt ist, bleiben die Nachteile des teilweise hohen Aufwands und der Darstellung geringer Mengen trotzdem bestehen. Die rein chemischen Synthesen erfolgen in der Regel mit schlechten Ausbeuten von

5-30 %. Die wenigen Ausnahmen,^{25,26} die mit lediglich geringen Änderungen der Morpholidatreaktion sehr gute Ausbeuten erzielen, sind oftmals nicht reproduzierbar. Eine neue, einfache und zuverlässige Syntheseroute zur Darstellung von XDP-Zuckern ist daher notwendig. Die in unserer Arbeitsgruppe entwickelten *cycloSal*-Nucleotide stellen als Phosphorsäureaktivester aussichtsreiche Schlüsselverbindungen für diese neue Syntheseroute dar.

2.3. Das *cycloSal*-Konzept

Obwohl diverse Konzepte für die Synthese von Zuckernucleotiden aus der Literatur bekannt sind, bleibt die Verknüpfung von Nucleotid und Glycosyl-1-Phosphat nach wie vor problematisch. Die geringe Löslichkeit und Reaktivität der Reaktanden, einhergehend mit langen Reaktionszeiten, erschweren die Darstellung der NDP-Pyranosen. Einen neuen Zugang zu dieser wichtigen Naturstoffklasse könnte das *cycloSal*-Konzept bieten. Dieses wurde ursprünglich 1996 von C. Meier *et al.* als Prodrug-Konzept zur Erhöhung der Wirksamkeit biologisch relevanter Nucleotide entwickelt.³⁹

Viele Nucleosid-Analoga spielen als Wirkstoffe zur Chemotherapie viraler Erkrankungen eine herausragende Rolle. Nucleosidische Reverse-Transkriptase Inhibitoren gehörten zu den ersten Medikamenten zur Bekämpfung der Immunschwächekrankheit AIDS. Derzeit kommen unter anderem 3'-Azido-2',3'-didesoxythymidin (Retrovir[®], AZT), 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (Zerit[®], d4T), 2',3'-Didesoxycytidin (Hivid[®], ddC) und 2',3'-Didesoxyinosin (Videx[®], ddl) klinisch gegen das HI-Virus zum Einsatz. Neben der Verwendung als HIV-Medikamente werden Nucleoside ebenfalls erfolgreich gegen Herpes-Infektionen wie Herpes-simplex Typ-I (Zovirax[®], Acyclovir) oder Gürtelrose (Brivudin[®], BVDU) eingesetzt (Abb. 13).

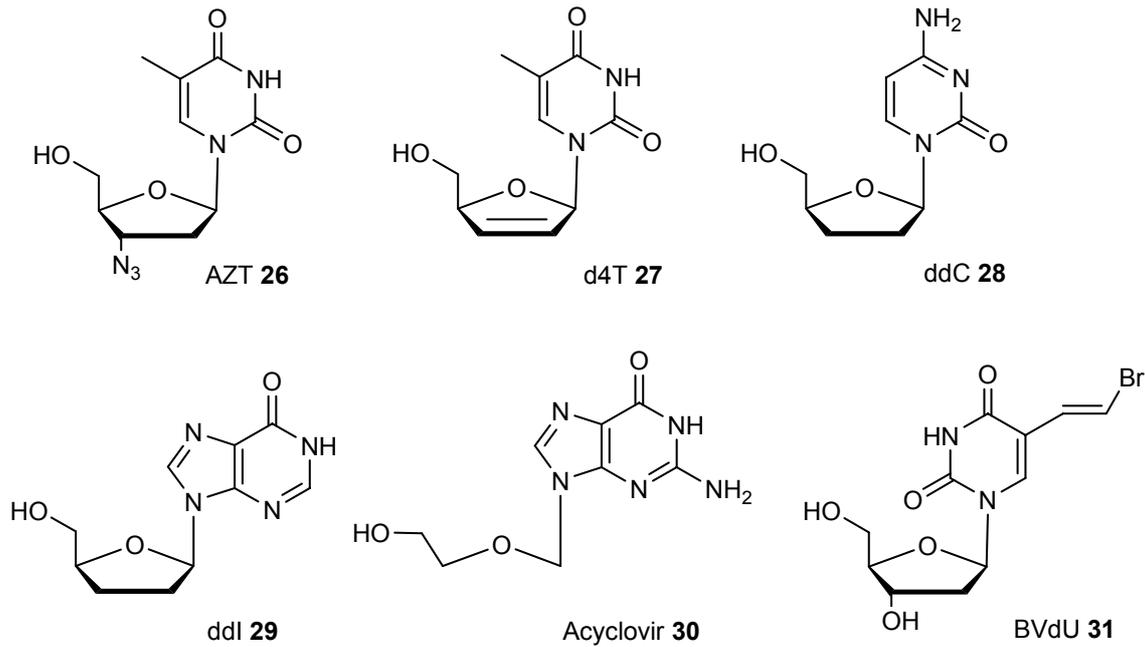


Abb. 13 Antiviral aktive Nucleosid-Analoga

Zu beachten ist, das die oben dargestellten Nucleosid-Analoga ihre biologische Wirkung erst als 5'-Nucleosidtriphosphate entfalten. Die Phosphorylierungsreaktionen werden meist durch zelleigene Kinasen durchgeführt, die mit den Substratanaloga allerdings nur ineffizient arbeiten. Wie im Falle des d4T ist häufig die erste Phosphorylierung zum Nucleosid-Monophosphat der limitierende Schritt, wohingegen die nachfolgenden Reaktionen zumindest eine geringere Beeinträchtigung der enzymkinetischen Parameter aufweisen. Ein Ansatz zur Lösung dieses Problems ist die direkte Applikation der 5'-Monophosphate (Kinase-Bypass, Abb. 14).

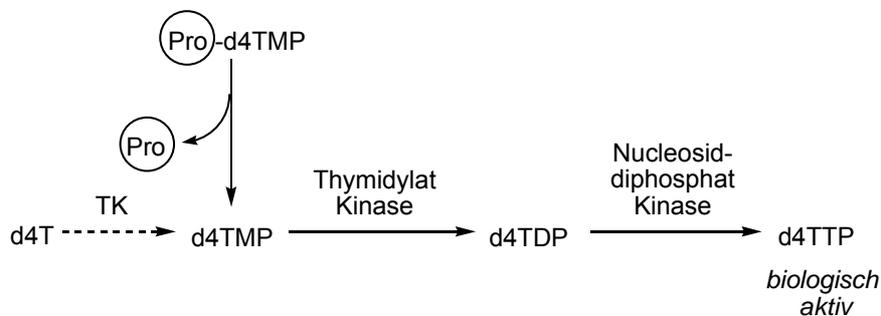
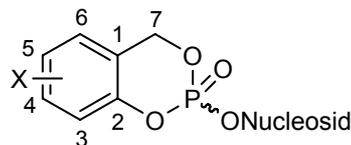


Abb. 14 Schematische Darstellung des Pronucleotid-Konzeptes am Beispiel von d4T

Allerdings sind die zweifach negativ geladenen Verbindungen nicht ausreichend lipophil um die Zellmembran in Ermangelung geeigneter Transportproteine passiv zu passieren. Zudem werden derartige Moleküle durch nichtspezifische Phosphatasen im Blut schnell dephosphoryliert, wodurch sie im Organismus nur eingeschränkt verfügbar sind. Daher werden so genannte Prodrugs (hier: Pronucleotide) verwendet, in denen die negativen Ladungen maskiert sind.

Die Besonderheit des *cycloSal*-Konzeptes ist, dass es im Gegensatz zu anderen Pronucleotid-Systemen ohne eine enzymatisch katalysierte Aktivierung und ohne einen zweiten Aktivierungsschritt auskommt. Die Maskierung erfolgt mit einem Salicylalkohol-Derivat, das mit dem Nucleosidmonophosphat zweifach cyclisch verestert ist. Der aromatische Ring verleiht diesen Phosphatriestern eine ausreichende Lipophilie um die Zellmembran passiv zu passieren. In Abb. 15 ist das Grundgerüst eines ***cycloSaligenyl-Nucleosidmonophosphats*** (*cycloSal*-NMP) dargestellt.



X = H, OMe, NO₂, Alkyl, Hal

Abb. 15 Struktur eines *cycloSal*-Nucleotids mit Nummerierung der Kohlenstoffatome

An dieser Stelle sei kurz darauf hingewiesen dass die Nomenklatur des *cycloSal*-NMPs, nachfolgend auch als *cycloSal*-Nucleotid oder *cycloSal*-Triester bezeichnet, nicht den IUPAC-Regeln folgt.⁴⁰ Gemäß diesen Regeln müssten die Salicylalkohol-Derivate als 2-(Hydroxymethyl)-phenole bezeichnet werden, die *cycloSal*-Nucleotide und deren Vorläufer müssten nach der Heterocyclen-Nomenklatur benannt werden, was schnell zu komplizierten Namen führen würde. Die Nummerierung der Kohlenstoffatome in der Aryleinheit zur Angabe des Substitutionsmusters erfolgt ebenfalls nicht entsprechend der IUPAC-Regeln sondern so wie in Abb. 13 angegeben.

Die chemische Differenzierbarkeit der einzelnen Phosphatesterbindungen⁴¹ des *cycloSal*-Nucleotids ermöglicht eine hochselektive Freisetzung des Nucleotids.⁴²

In anderen Pronucleotidkonzepten bereitet der intermediär gebildete Phosphatdiester in Bezug auf eine weitere Hydrolyse enorme Schwierigkeiten.^{43,44} Im Fall des *cycloSal*-Konzeptes gelingt eine vollständige Abspaltung der cyclischen Maske durch eine gekoppelte Spaltung der Phenyl- und der Benzylesterbindung des Phosphattriesters. Der Hydrolysemechanismus, der anhand von NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie aufgeklärt wurde,⁴⁵ ist in Abb. 16 dargestellt.

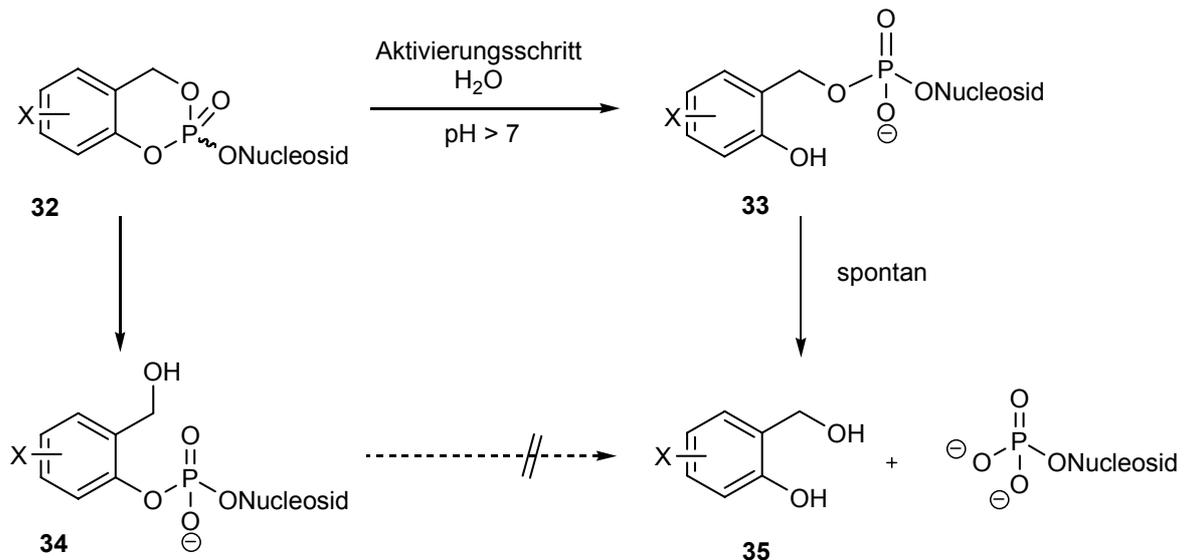


Abb. 16 Hydrolyseweg von *cycloSal*-Phosphattriestern

Die Abspaltung erfolgt nach einem pH-abhängigen Kaskadenmechanismus, dem zwei Hydrolyseschritte zugrunde liegen. Im ersten Schritt wird selektiv die phenylische Phosphatesterbindung gespalten. Ausschlaggebend ist hierbei der Anstieg des pH-Wertes beim Übergang ins Cytosol. Die phenylische Phosphatesterbindung stellt die labilste der drei Phosphatesterbindungen dar, da ihre Spaltung zu einem mesomeriestabilisierten 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **33** führt. Durch den Bindungsbruch wird der schwache Donorsubstituent (Phosphatestergruppe) in einen starken Donorsubstituent (Hydroxylgruppe) umgewandelt. Diese Umpolung im Aromaten induziert die spontane Spaltung der benzylichen C-O Bindung, was die Freisetzung des Nucleotids zur Folge hat. Der Salicylalkohol **35** wird nach Reaktion mit Wasser zurückgewonnen. Die Salicylalkohole wurden auf ihr biologisches Potential getestet und zeigten weder antivirale Aktivität noch Cytotoxizität. Mit *in vivo* Studien an Mäusen wurde die toxische Unbedenklichkeit ebenfalls belegt.

Aus der alternativen, die Hydrolyse einleitenden Spaltung der Benzylesterbindung würde entsprechend ein 2-Hydroxymethylphenylphosphatdiester **34** resultieren. Dieser Schritt ist jedoch eher unwahrscheinlich, da die Phosphatestergruppe als sehr schwacher Donor-Substituent in *ortho*-Position zum Benzylester dessen Hydrolyse stark verlangsamt. Aufgrund der negativen Ladung an der Phosphatgruppe des Phenylphosphatdiesters **34**, ist dieser gegenüber einem erneuten Angriff eines Hydroxidions inert. Eine Freisetzung des Nucleotids auf diesem Weg ist daher nicht möglich.

Die zelluläre Aufnahme der *cycloSal*-Nucleotide konnte mit Hilfe radioaktiv-markierter *cycloSal*-Phosphatdiester zweifelsfrei nachgewiesen werden. Auch die Erhöhung der antiviralen Aktivität wurde mehrfach bestätigt. Das *cycloSal*-Konzept wurde erfolgreich auf das Nucleosid-Analogon d4T angewendet (Thymidin-Kinase-(TK)-Bypass).⁴⁶ Ferner wurde in weiteren Projekten der Adenosin-Desaminase-(ADA)-Bypass für das Nucleosid-Analogon ddA⁴⁷ und seine Derivate d4A,⁴⁸ und 2'-Fluor-*ara*-ddA⁴⁹ verwirklicht. Für ddA konnte durch Anwendung der *cycloSal*-Methode die antivirale Aktivität um das 100-fache gesteigert werden, im Fall von d4A stieg diese sogar um das 600-fache. Mit Hilfe des *cycloSal*-Konzeptes konnte sogar das inaktive Nucleosid-Analogon 2'-Fluor-*ribo*-ddA in eine anti-HIV aktive Verbindung überführt werden.⁵⁰ Weiterhin gelang es ebenfalls durch die *cycloSal*-Maskierung von Brivudin (BVDU) eine gegen das Epstein-Barr-Virus (EBV) aktive Verbindung zu generieren, wohingegen das unmaskierte Nucleosid-Analogon als Referenz vollkommen inaktiv gegen EBV ist.^{51,52} Am Beispiel des Acyclovirs konnte gezeigt werden, dass die Resistenzbildung bei einer *cycloSal*-Maskierung verhindert werden kann, so dass diese Derivate sogar gegen Acyclovir-resistente Virusstämme die volle Aktivität zeigen.^{53,54}

Analog der *cycloSal*-Maskierung von biologisch aktiven Nucleotiden zur Gewährleistung der Membrangängigkeit gelang es, auch lipophile *cycloSal*-Mannose-1-phosphate in Zellen zu schleusen und dort Mannose-1-phosphat freizusetzen. Mannose-1-phosphat könnte potentiell als Therapeutikum für die erbliche Stoffwechselerkrankung CDG Ia (Congenital Disorder of Glycosylation) bei Kindern dienen.⁵⁵ Der dieser Krankheit zugrunde liegende Gendefekt führt zu einer Defizienz des Enzyms Phosphomannomutase 2 (PPM 2), was wiederum die Umwandlung von

Mannose-6-phosphat zu Mannose-1-phosphat erheblich beeinträchtigt.⁵⁶ Der Mangel an Mannose-1-Phosphat führt zur verminderten Bildung von GDP-Mannose, zum daraus resultierenden Aufbau unvollständiger Kohlenhydratstrukturen und schließlich zum frühen Tod der betroffenen Patienten. *In vitro* Tests unter Verwendung von Patientenzellen deuten darauf hin, dass die Applikation von 3-Me-*cycloSal*-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannose-1-phosphat **36** zu einer Vollkorrektur der Hypoglycosylierung führt (Abb. 17).⁵⁷

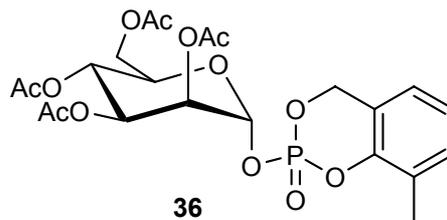


Abb. 17 Struktur von 3-Methyl-*cycloSal*-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-Man-1-phosphat **36**

Auch hier wird die kontrollierte Abspaltung durch chemische Hydrolyse der *cycloSal*-Maske durch die Freisetzung von Mannose-1-Phosphat belegt. Die Acetylschutzgruppen, die vermutlich auch einen Teil zum passiven Membrantransport beitragen, werden durch Carboxyesterasen intrazellulär abgespalten.

2.4. Synthetisches Potential des *cycloSal*-Konzepts

Neben der biologischen Anwendung des *cycloSal*-Konzeptes zur intrazellulären Freisetzung verschiedener phosphorylierter Wirkstoffe könnten diese *cycloSal*-Verbindungen auch als aktive Phosphat-Donatoren zur Synthese von Phosphat-Konjugaten, wie beispielsweise den NDP-Pyranosen, genutzt werden. Entscheidend ist, dass die Methode nicht auf einer enzymatischen Aktivierung beruht. Die *cycloSal*-Maske wird im Fall der Pronucleotide in einer chemisch induzierten Kaskadenreaktion durch nucleophilen Angriff von Hydroxidionen auf das Phosphoratom gespalten. Es hat sich gezeigt, dass an Stelle der Hydroxidionen auch andere Nucleophile zu dieser Spaltung befähigt sind. Als Ergebnis würde sich dann nicht das Nucleosidmonophosphat sondern - je nach eingesetztem Nucleophil - der entsprechende Nucleosidphosphatdiester bilden. Wie bereits für die

Nucleosidmonophosphate erfolgt, wäre auch hier eine Synthese im größeren Maßstab vorstellbar.

Um die *cycloSal*-Nucleotide synthetisch nutzen zu können, müssen die Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen weitestgehend verringert werden, um lange Reaktionszeiten zwischen dem Nucleotid und dem entsprechenden Nucleophil zu vermeiden. Die Elektrophilie des Phosphoratoms und damit das Hydrolyseverhalten des *cycloSal*-Phosphatresters kann über den bzw. die Substituenten im *cycloSal*-Fragment gesteuert werden.

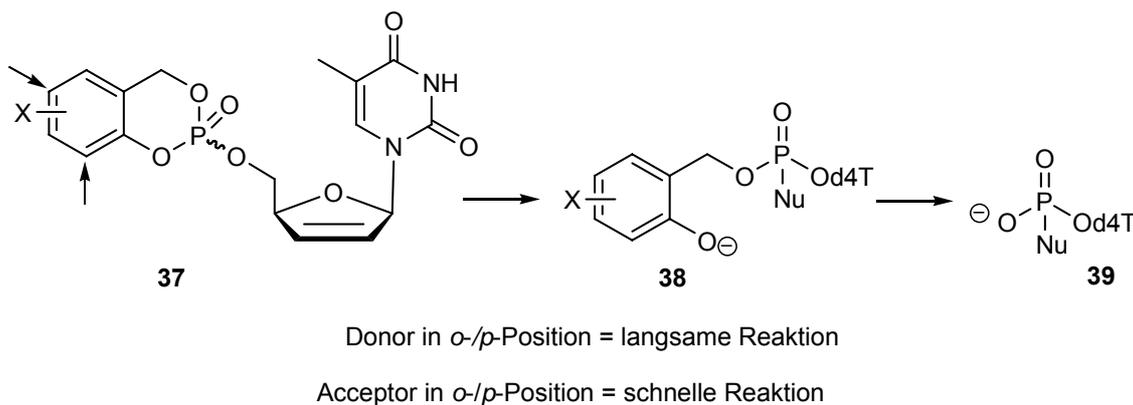


Abb. 18 Struktur-Aktivitätsbeziehungen von *cycloSal*-d4TMPs

Bezüglich der Nutzung der *cycloSal*-Verbindungen als Prodrugs ist eine langsame Hydrolyse erstrebenswert, damit der Wirkstoff nach der Applikation zu seinem spezifischen Wirkort im Körper gelangen kann. Die Herabsetzung der Hydrolysegeschwindigkeit wird durch Donor-Substituenten in *ortho*- oder *para*-Stellung zur Phenylphosphatester-Bindung bewerkstelligt. Die Donor-Substituenten können die Phenylphosphatester-Bindung stabilisieren und verlangsamen dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit der Initialreaktion, die *cycloSal*-Ringöffnung. Ein Beispiel für diesen Zusammenhang ist die Verdopplung der Hydrolysehalbwertszeit der Verbindung 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP im Vergleich zur unsubstituierten Referenz *cycloSal*-d4TMP in einem wässrigen Phosphatpuffer bei einem physiologischen pH-Wert von 7.3. Werden Acceptor-Substituenten, wie beispielsweise das Chlor-Atom eingesetzt, verringern sich die Halbwertszeiten in diesem Puffersystem deutlich. Durch einen Acceptor-Substituenten im *cycloSal*-Fragment in *ortho*- oder *para*-Stellung zur phenylischen Phosphatesterbindung wird das nach dem Bruch entstehende Phenolatanion stabilisiert, wodurch sich die Reaktionsgeschwindigkeit

erhöht. Die Hydrolysen der beschriebenen Verbindungen sind in verschiedenen Puffersystemen durchgeführt worden (Tab. 1).

<i>cycloSal</i> - Substituent X	TRIS-Puffer pH 6.9, 30 mM $t_{1/2}$ [h]	Phosphat-Puffer pH 7.3, 30 mM, $t_{1/2}$ [h]	Borat-Puffer pH 8.9, 30 mM, $t_{1/2}$ [h]
5-Cl	6.4	0.7	0.3
H	24.5	4.5	1.1
3-Me	68.5	10.2	1.5

Tab. 1 Hydrolyseverhalten substituierter *cycloSal*-d4TMPs in unterschiedlichen wässrigen Puffersystemen bei 37 °C

In allen untersuchten Puffersystemen zeigte sich die Abnahme der Halbwertszeit von donor-substituierten- über unsubstituierten- bis hin zu acceptorsubstituierten- *cycloSal*-Nucleotiden. Im Fall des 5-Chlor-*cycloSal*-d4TMPs und weiteren acceptorsubstituierten Verbindungen konnte neben dem zu erwartenden d4T-Monophosphat ein weiteres Hydrolyseprodukt detektiert werden, welches aufgrund seines zeitabhängigen Abbaus und seiner Retentionszeit dem intermediär gebildeten Benzyl-d4T-Diester **38** (s. S. 18) zugeordnet werden konnte. Bei donor-substituierten Verbindungen wurde dieses zusätzliche Hydrolyseprodukt nicht detektiert. Demzufolge sollte der erste Hydrolyseschritt des donor-substituierten *cycloSal*-Nucleotids zum 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **38** geschwindigkeitsbestimmend sein, wohingegen für die acceptor-substituierten Varianten entsprechend der zweite Schritt vom 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **38** zum d4T-Monophosphat geschwindigkeitsbestimmend ist. Der Anteil an unerwünschtem Phenylphosphatdiester ist daher bei der Hydrolyse von acceptorsubstituierten *cycloSal*-Verbindungen vergleichsweise gering.

Die Hydrolyse von 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP in wässrigem Phosphatpuffer wurde mittels ^{31}P -NMR-Spektroskopie verfolgt. Im tieffeldverschobenen Bereich des ^{31}P -NMR-Spektrums befinden sich wie erwartet die Signale des Phosphatpuffers sowie das Hauptprodukt der Hydrolyse, das d4T-Monophosphat. Unter gewissen Bedingungen konnte allerdings auch die Entstehung geringer Mengen an d4T-Nucleosiddiphosphat beobachtet werden. Die Phosphationen konkurrieren folglich

mit den Hydroxidionen, obwohl diese in deutlichem Überschuss vorhanden sind (Abb. 19).

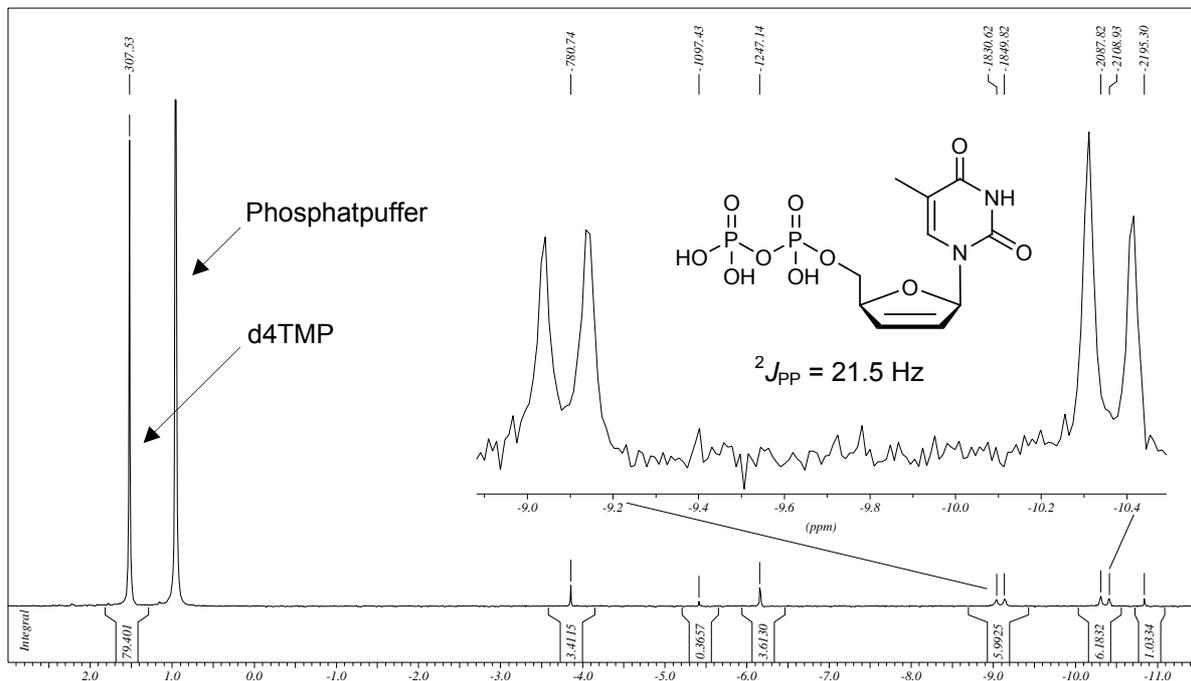


Abb. 19 Hydrolyse von 3-Me-cycloSal-d4TMP in wässrigem Phosphatpuffer

Der Anteil an gebildetem Diphosphat hängt hierbei von der Konzentration des Phosphatpuffers sowie vom pH-Wert der Reaktionslösung ab. Während in einer schwach sauren 25 mM Phosphatpufferlösung noch kein Diphosphat gebildet wird, steigt der Anteil dieses Nebenproduktes stetig mit steigender Phosphatpufferkonzentration und steigendem pH-Wert. Die Ergebnisse spiegeln die bestehende Korrelation zwischen den pK-Werten der Phosphate und dem prozentualen Anteil an gebildetem Diphosphat wieder. So konnte in einem schwach alkalischen 50 mM Phosphatpuffer-System bei pH 8.3 die Bildung von 10 Prozent des Diphosphats festgestellt werden (Tab. 2).

Konzentration Puffer	25 mM	25 mM	50 mM	50 mM
pH	5.5	7.3	7.3	8.3
% Diphosphat	--	6	9	10

Tab. 2 Abhängigkeit der d4T-Diphosphat-Bildung von der Phosphatpufferkonzentration und des pH-Wertes

Die ^{31}P -NMR spektroskopischen Beobachtungen während der Hydrolyse von 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP zeigen, dass *cycloSal*-Nucleotide nicht nur durch Hydroxidionen sondern auch durch Phosphationen gespalten werden können.

Diese Tatsache wurde auch in den Arbeiten von S. Warnecke bestätigt, die verschiedene *cycloSal*-Nucleotide zu den entsprechenden Nucleosiddi- und triphosphaten umsetzte (Abb. 20).⁵⁸

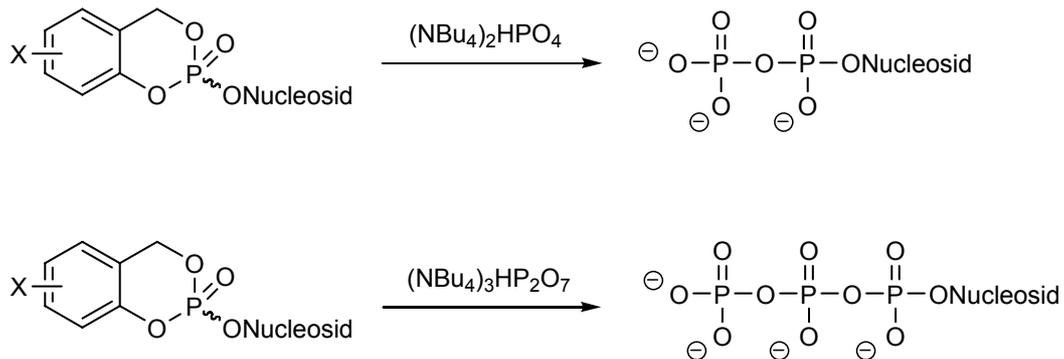


Abb. 20 Synthese von Di- und Triphosphaten ausgehend von *cycloSal*-Nucleotiden

Die Synthese der Phosphate erfolgte hierbei im Labormaßstab, es konnten Ausbeuten von bis zu 55 % erzielt werden.

Des Weiteren wurde Natriummethanolat als Nucleophil eingesetzt, die dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung ergab eine vollständige Umsetzung des *cycloSal*-Triesters **40** bereits nach 30 Minuten. Das entsprechende Nucleosid-5'-methylphosphat konnte in einer Ausbeute von 51 % erhalten werden (Abb. 21).

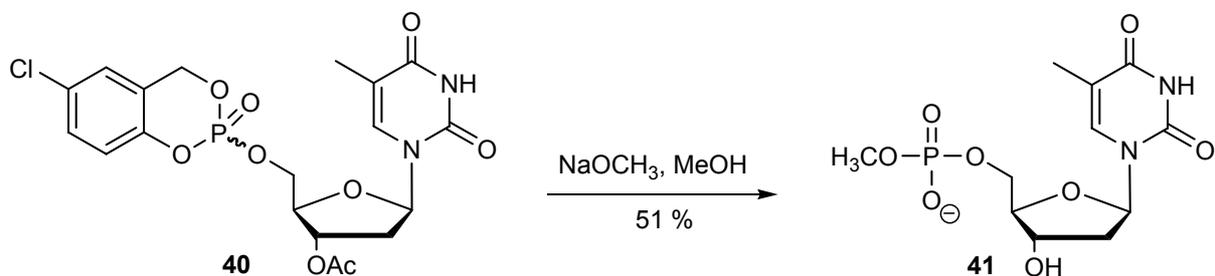


Abb. 21 Nucleophile Öffnung des *cycloSal*-Triesters **40** durch Natriummethanolat

Die Erkenntnis, dass neben Hydroxidionen weitere Nucleophile zur Ringöffnung in den *cycloSal*-Nucleotiden befähigt sind, lässt darauf schließen, dass diese *cycloSal*-

Phosphatdiester als Aktivester zur Bildung diverser biologisch relevanter Phosphat-Konjugate fungieren könnten. In der hier vorliegenden Arbeit sollte der Fokus auf die Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen gelegt werden.

3. Aufgabenstellung

Im Hinblick auf die enorme biologische Bedeutung der Nucleosiddiphosphatzucker ist eine effiziente chemische Synthese dieser Verbindungen wünschenswert. Seit einigen Jahren werden *cycloSal*-Nucleotide erfolgreich als lipophil maskierte Nucleosidmonophosphat-Prodrugs eingesetzt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten diese *cycloSal*-Nucleotide alternativ eine Anwendung als reaktive Phosphatdonatoren in der Nucleosiddiphosphatzucker-Synthese finden.

Die Aufgabe bestand darin, *cycloSal*-Triester mit verschiedenen Pyranosyl-1-phosphaten umzusetzen. Anfangs sollte das neuartige Verfahren mit β -D-Glucose und 2'-Desoxythymidin als Modellsystem untersucht werden. Für den Fall dass sich die *cycloSal*-Nucleotide als geeignete Vorläufer zur Darstellung der XDP-Zucker herausstellen, sollte die neue Synthesemethode hinsichtlich verschiedener Reaktionsparameter, wie z. B. des Lösungsmittels und der Reaktionstemperatur, optimiert werden. Zudem galt es, den Einfluss der Substituenten im *cycloSal*-Rest sowie den Einfluss des Gegenions des Pyranosyl-1-Phosphates auf die Ausbeuten und die Reaktionszeiten zu untersuchen.

Abschließend sollte CDP-6d- β -D-Gulose, welche für Lipopolysaccharid-Biosynthesestudien benötigt wurde, mit Hilfe der neuen optimierten Synthesemethode dargestellt werden (Abb. 22).

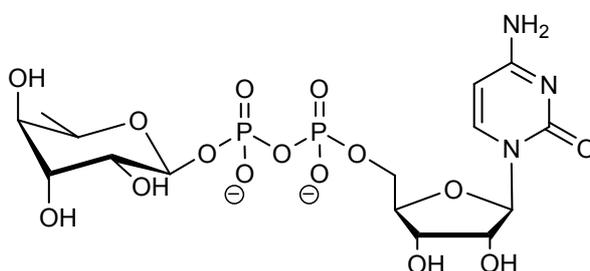


Abb. 22 CDP-6d- β -D-Gulose zum Einsatz in LPS-Biosynthesestudien

Hierzu mussten zunächst sowohl das entsprechende *cycloSal*-maskierte Cytidinmonophosphat als auch das als Nucleophil dienende 6d-D-Gulosemonophosphat synthetisiert werden.

4. Resultate und Diskussion

4.1. Synthesestrategie

Die Darstellung diverser NDP-Pyranosen erfolgte erstmals durch Umsetzung von Pyranose-1-phosphaten mit verschiedenen substituierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten. Die konvergente Synthesestrategie setzt sich aus der Synthese der anmerenreinen Pyranosyl-1-phosphate, der Darstellung der *cycloSal*-Nucleotide aus den jeweiligen Nucleosiden, und der anschließenden Kupplung zu den entsprechenden XDP-Zuckern zusammen (Abb. 23).

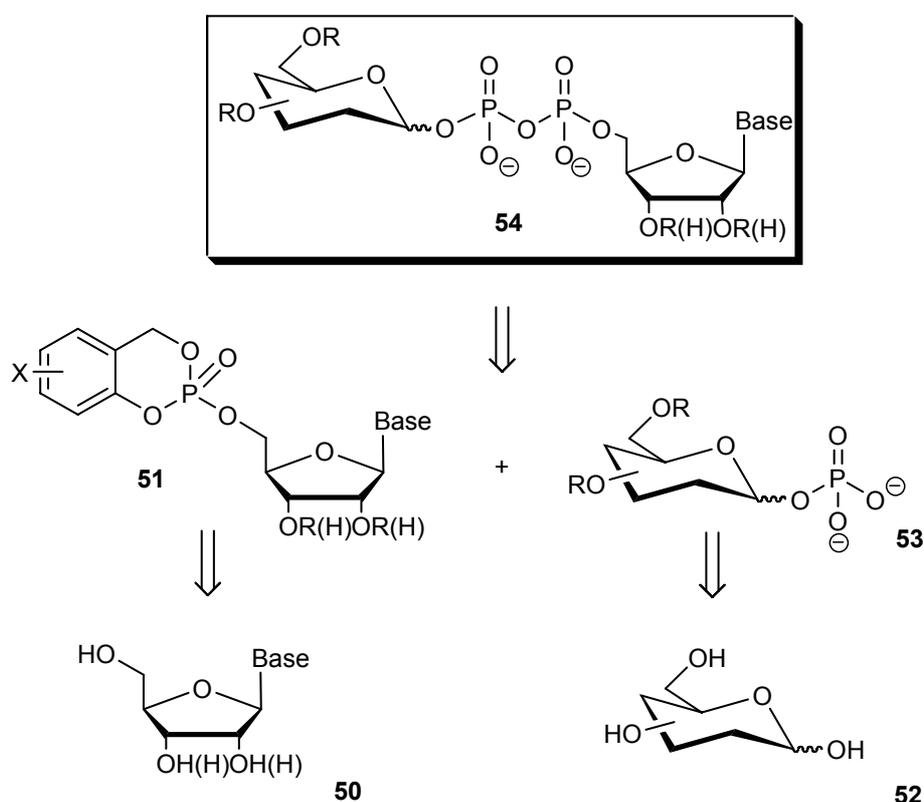


Abb. 23 Konvergente Synthesestrategie zur Darstellung der NDP-Pyranosen

Um eine optimale Löslichkeit der Edukte zu garantieren und zugleich Nebenreaktionen zu vermeiden, wurden sowohl die Pyranose als auch das Nucleosid vollständig geschützt eingesetzt. Bei beiden Schlüsselbausteinen **51** und **53** wurden verschiedene Wege zur Synthese erprobt, die in den folgenden Kapiteln näher erläutert werden. Die eigentliche Herausforderung dieser Arbeit, die

Entwicklung eines Syntheseprotokolls zur Darstellung der XDP-Zucker sowie die anschließende Isolierung der Verbindungen werden ab Kapitel 4.4 beschrieben.

4.2. Darstellung von *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten

Zur Darstellung der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate wurden drei Syntheserouten untersucht. Allen gemein ist die Einführung der Phosphattriestergruppe über ein Salicylalkohol-Derivat (Abb. 24).

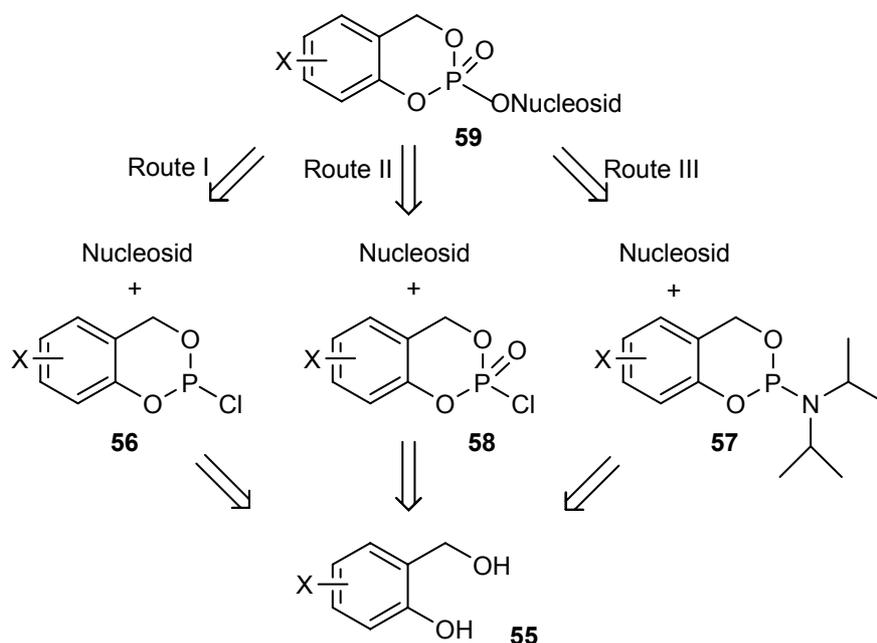


Abb. 24 Synthesestrategie zur Darstellung von *cycloSal*-NMP

Der Einbau der Phosphatgruppe lässt sich entweder über ein *cycloSal*igenylchlorphosphit **56** (Route I)⁵⁹ oder ein *cycloSal*igenylphosphoramidit **57** (Route II)⁶⁰, die anschließend zum gewünschten Phosphattriester oxidiert werden, realisieren. Eine dritte Möglichkeit stellt die Synthese über ein *cycloSal*igenylphosphorchloridat **58** (Route II)⁶¹ dar. In allen Fällen bildet ein substituiertes Salicylalkohol den Grundbaustein, dessen Synthese im Folgenden näher erläutert wird.

4.2.1. Darstellung der Salicylalkohole

Die einfachste Möglichkeit zur Darstellung der Salicylalkohole besteht in der Reduktion der entsprechenden kommerziell erhältlichen Salicylaldehyd- und Salicylsäure-Derivate mit gängigen Reduktionsmitteln (**Methode A**, Abb. 25).

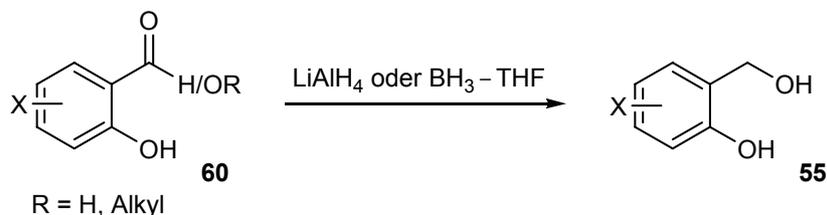


Abb. 25 Synthese von Salicylalkohol-Derivaten durch Reduktion von Carbonylverbindungen

Das vergleichsweise kostengünstige Lithiumaluminiumhydrid wurde hierbei als Standardreagenz eingesetzt. Als Nachteil dieses Reduktionsmittels ist die relativ aufwendige Aufarbeitung zu nennen, zudem vermag Lithiumalanat als starkes Reduktionsmittel auch andere funktionelle Gruppen zu reduzieren. In einigen Fällen wurde daher eine mildere Reduktion mit einem Boran-Tetrahydrofuran-Komplex in THF nach einer Methode von H.C. BROWN *et al.*⁶² bevorzugt.

Für den Fall, dass die Salicylaldehyd- und Salicylsäure-Derivate nicht kommerziell erhältlich sind, ist eine vorausgehende *ortho*-Formylierung^{63,64} oder *ortho*-Carboxylierung⁶⁵ des jeweiligen Phenols vorstellbar. Eine Alternative ist die direkte Umsetzung des jeweiligen Phenols mit Formaldehyd im alkalischen Medium. (**Methode B**, Abb. 26).

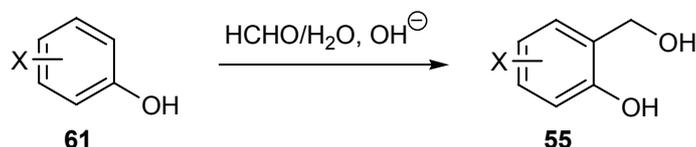


Abb. 26 Synthese von Salicylalkohol-Derivaten durch elektrophile aromatische Substitution an Phenolen mit Formaldehyd

Als Problem ist eine Mehrfachalkylierung, die sich aus der Erhöhung der Reaktivität durch Einführung eines Donorsubstituenten ergibt, zu nennen. Die mehrfach

alkylierten Nebenprodukte können vermieden werden, wenn man von einer doppelten Substitution in *ortho*- und *para*-Position des Phenols ausgeht.

Ein weiterer Nachteil dieser Reaktion ist in der mangelnden Regioselektivität bei *ortho*-substituierten Phenolen zu sehen, da die *para*-Position bei der Hydroxymethylierung gegenüber der *ortho*-Position reaktionsfähiger ist. Um das *ortho/para*-Verhältnis der Hydroxymethylgruppen in diesem Fall zugunsten der *ortho*-Position zu verschieben, wurde die Synthesemethode von W. NAGATA *et al.* verwendet (**Methode C**, Abb. 27).⁶⁶

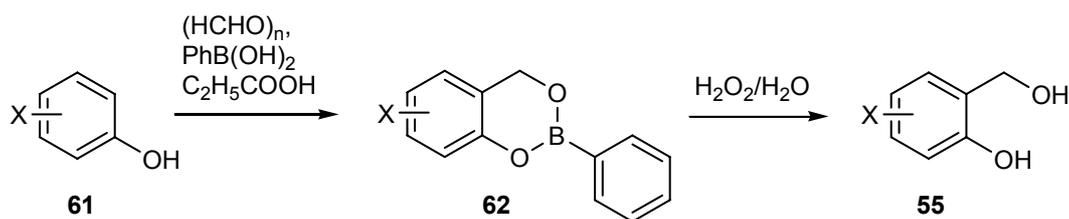


Abb. 27 Synthese von Salicylalkohol-Derivaten nach Nagata *et al.*

Diese Methode beruht auf der Umsetzung eines Phenols mit *para*-Formaldehyd und Phenylboronsäure. Das so erhaltene 2-Phenyl-1,3,2-dioxaborin-Derivat wird anschließend mit Wasserstoffperoxid gespalten, wodurch der substituierte Salicylalkohol freigesetzt wird.

Um die *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate synthetisch als Aktivester nutzen zu können, wurden aus den in Kapitel 2.4 (s. S. 18) erwähnten Gründen diverse acceptorsubstituierte Salicylalkohole synthetisiert. Ihre Darstellung erfolgte nach den oben beschriebenen Methoden A-C.

4.2.1.1. Darstellung der Salicylalkohole 67-70 und 73

Die Darstellung des 5-Chlor-Salicylalkohols **67** und des 6-Fluor-Salicylalkohols **68** erfolgte problemlos durch Reduktion der entsprechend substituierten Salicylsäuren mit 2 Äquivalenten Lithiumalanat in THF (**Methode A**).⁶⁷ Zur Darstellung von 3-Methoxy-Salicylalkohol **69** und 5-Brom-Salicylalkohol **70** wurden die entsprechend substituierten Salicylaldehyde als kommerziell verfügbare Quellen zur Reduktion verwendet (Abb. 28).

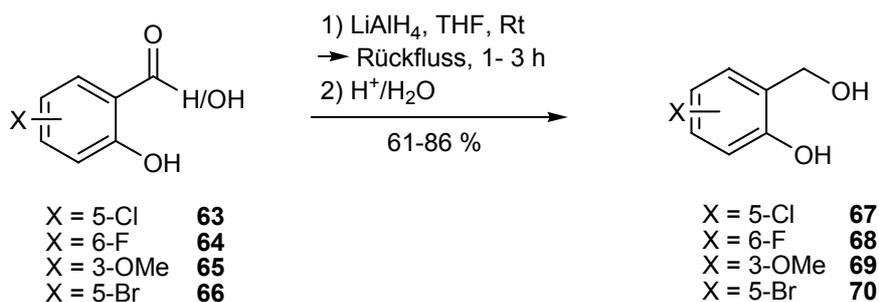


Abb. 28 Synthese von Salicylalkohol-Derivaten durch Reduktion mit LiAlH_4

Die Rohprodukte wurden nach Hydrolyse und Ansäuern der wässrigen Lösung, durch Extraktion mit Essigsäureethylester isoliert. Infolge der emulsionsfördernden Wirkung der Zersetzungsprodukte des Lithiumalanats gestaltete sich die Phasentrennung oftmals langwierig und schwierig. Die abschließende Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Kieselgel und lieferte die Salicylalkohole in 61-86 % Ausbeute. Im Fall des 5-Chlor-Salicylalkohols konnte die Ausbeute durch Reduktion mit Boran in Tetrahydrofuran deutlich gesteigert werden, da sich das Produkt anders als bei der Verwendung von Lithiumaluminiumhydrid sehr gut durch Umkristallisation reinigen ließ.

Die Synthese des 3,5-Dibrom-Salicylalkohols **73** gelang durch Reduktion des zuvor synthetisierten 3,5-Dibrom-Salicylsäuremethylesters **72** mit nur einem Äquivalent Lithiumaluminiumhydrid in einer Ausbeute von 61 % (Abb. 29).

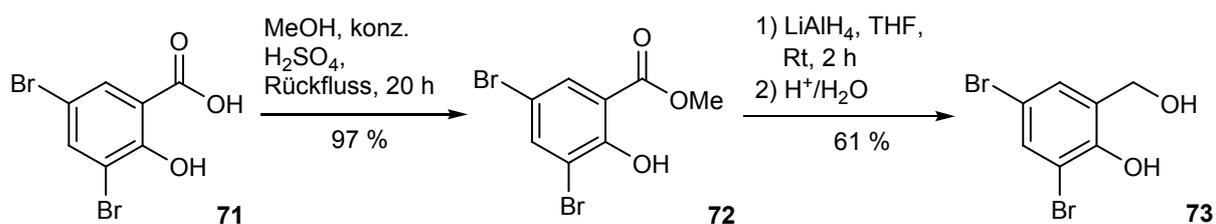


Abb. 29 Synthese des 3,5-Dibrom-Salicylalkohols **73**

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass sich der 3,5-Dibromsalicylalkohol **73** nicht durch direkte Reduktion der entsprechenden 3,5-Dibromsalicylsäure darstellen lässt, da das im Überschuss eingesetzte Lithiumaluminiumhydrid zum Teil eine Dehydrohalogenierung des Aromaten bewirkt.⁶⁸

4.2.1.2. Darstellung des 5-Nitro-Salicylalkohols **75**

Die Synthese des 5-Nitro-Salicylalkohols **75** erwies sich als etwas komplizierter. Da 5-Nitro-Salicylsäure **74** kommerziell verfügbar ist, bot sich auch hier zunächst die Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid unter Standardbedingungen an (Abb. 30). Die anschließende saure Aufarbeitung führte lediglich zur Reisolierung geringer Mengen des Eduktes **74** sowie einiger nicht näher identifizierbarer Nebenprodukte. Offensichtlich wird in diesem Fall die Nitro-Funktion am Aromaten von dem überschüssig eingesetzten Lithiumaluminiumhydrid als stark basischem Reduktionsmittel nicht toleriert. Es musste daher nach einer Möglichkeit gesucht werden, den Salicylalkohol **75** unter milderen Bedingungen reaktiv aus der Salicylsäure **74** oder einem entsprechenden Derivat herzustellen.

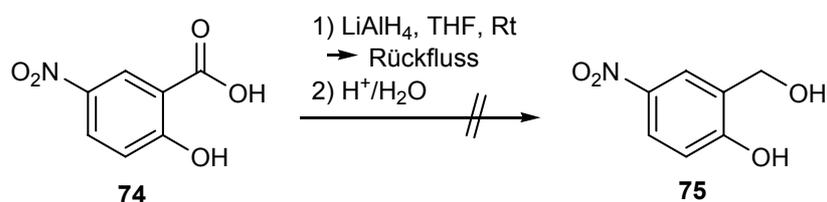


Abb. 30 Versuch der Synthese von 5-Nitro-Salicylalkohol **75**

Da die Reduktion von Carbonsäureestern weniger drastische Bedingungen benötigt als die direkte Reduktion der Carbonsäure, wurde 5-Nitro-Salicylsäuremethylester **76** synthetisiert. Die Verbindung **76** wurde durch eine Veresterung der Salicylsäure **74** in Methanol unter sauren Bedingungen quantitativ erhalten (Abb. 31). Anschließend sollte der Salicylsäuremethylester **76** mit einer äquimolaren Menge an Lithiumaluminiumhydrid reduziert werden, doch auch auf diesem Weg konnte **75** nicht isoliert werden.

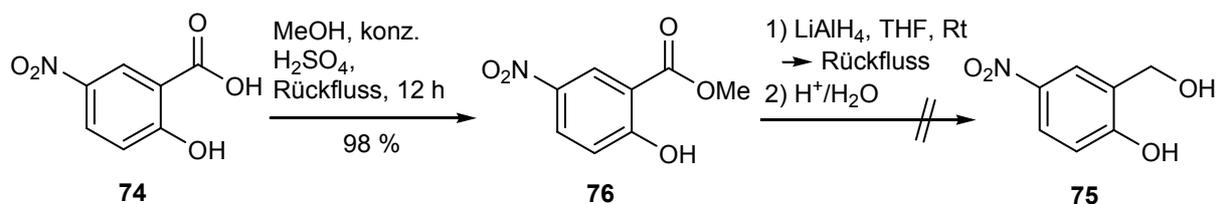


Abb. 31 Versuch der Synthese von 5-Nitro-Salicylalkohol **75**

Es wurde daher alternativ versucht, 5-Nitro-Salicylalkohol **75** durch Hydroxymethylierung des *para*-Nitrophenols **77** zu erhalten (**Methode B**, Abb. 32). Dazu wurde **77** bei 0°C in wässriger Formaldehyd-Lösung gelöst, Kaliumhydroxid wurde der Reaktion zur Erzeugung eines reaktiven Phenolats zugesetzt. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt, nach 24 Stunden wurde mittels dünnschichtchromatographischer Reaktionsverfolgung jedoch keinerlei Umsatz verzeichnet. Auch eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 3 Tage brachte keine Veränderung. Vermutlich ist diese Art der Hydroxymethylierung hier nicht anwendbar, da die elektronenziehende Nitro-Gruppe zu stark desaktivierend wirkt und eine elektrophile aromatische Substitution somit verhindert.

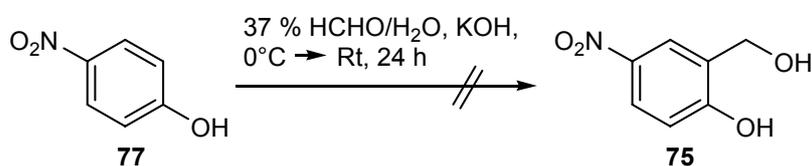


Abb. 32 Versuch der Synthese von 5-Nitro-Salicylalkohol **75**

Die Synthese des 5-Nitro-Salicylalkohols **75** konnte schließlich ausgehend von der entsprechenden Salicylsäure **74** durch Verwendung von Boran in THF erfolgreich durchgeführt werden (Abb. 33).

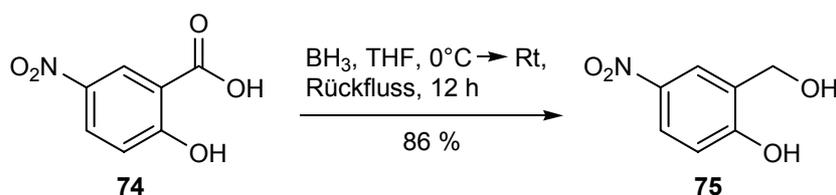


Abb. 33 Synthese des 5-Nitro-Salicylalkohols **75** durch Reduktion mit Boran in THF

Dieses mildere Reduktionsmittel toleriert die Anwesenheit einer Nitro-Funktion bei der Reduktion der Carbonsäure, so dass **75** nach chromatographischer Aufreinigung in 86 % Ausbeute erhalten werden konnte.

Die Darstellung von **75** gelang ebenso durch die Reduktion mit Natriumborhydrid in einer guten Ausbeute von 72 %, allerdings ist der hierbei als Edukt verwendete Aldehyd **78** im Gegensatz zur Carbonsäure **74** vergleichsweise teuer.

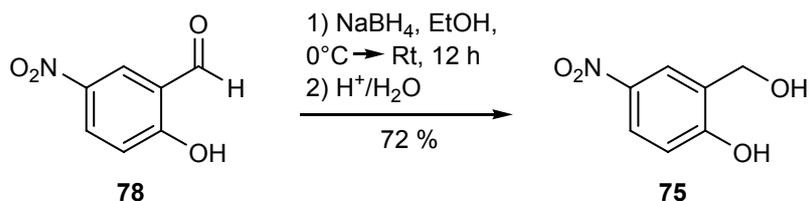


Abb. 34 Synthese des 5-Nitro-Salicylalkohols **75** durch Reduktion mit Natriumborhydrid

4.2.1.3. Darstellung von 3-Brom-Salicylalkohol **81**

Da weder 3-Brom-Salicylsäure noch 3-Bromsalicylaldehyd kommerziell erhältlich sind, wurde 3-Bromsalicylalkohol durch Hydroxymethylierung aus *ortho*-Bromphenol (**Methode C**) erhalten. *Ortho*-Bromphenol **79** wurde zunächst unter Zusatz von Phenylboronsäure und einem großen Überschuss an Paraformaldehyd in das Dioxaborinin **80** überführt; welches ohne weitere Reinigung direkt zum gewünschten 3-Brom-Salicylalkohol **81** oxidiert wurde (Abb. 35).

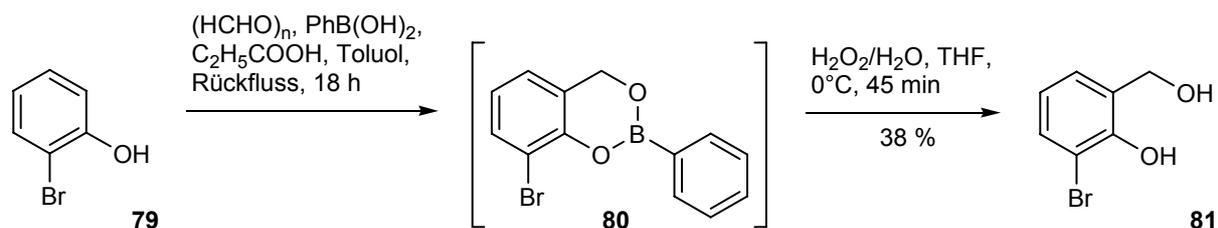


Abb. 35 Synthese des 3-Brom-Salicylalkohols **81**

Die vergleichsweise geringe Ausbeute von 38 % ist auf die unvollständige Bildung von **80** zurückzuführen, da der Brom-Substituent im *ortho*-Bromphenol **79** hinsichtlich der elektrophilen aromatischen Substitution desaktivierend wirkt.

4.2.1.4. Darstellung von 5-Formyl-Salicylalkohol **84**

Um den 5-Formyl-Salicylalkohol **84** zu generieren (Abb. 36), wurden zunächst die Hydroxygruppen des 5-Brom-Salicylalkohols **70** durch Einführung einer Isopropylidenfunktion geschützt.⁶⁹ Dazu wurde **70** in Aceton gelöst und mit 2,2-Dimethoxypropan sowie katalytischen Mengen *para*-Toluolsulfonsäure versetzt. Natriumsulfat wurde zur Gewährleistung trockener Reaktionsbedingungen zugesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde **82** in 67 % Ausbeute erhalten. Die anschließende Substitution des Brom-Substituenten gegen eine Formyl-Gruppe

verlief zunächst über einen Brom-Lithium-Austausch. Hierzu wurde **82** mit zwei Äquivalenten *n*-Butyllithium versetzt, nach 2 Stunden wurde Dimethylformamid zugegeben, um wiederum einen Austausch des Lithiums gegen die Formyl-Gruppe zu erzielen.⁷⁰ Nach chromatographischer Reinigung wurde das Produkt **83** in einer Ausbeute von 92 % erhalten. Zur Entschützung wurde das Isopropylidenacetal **83** in einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser gelöst, nach Zugabe einiger Tropfen konzentrierter Salzsäure wurde das Gemisch ca. eine Minute refluxiert. Der 5-Formyl-Salicylalkohol **84** wurde nach Extraktion der wässrigen Phase mit einer Ausbeute von 85 % isoliert.

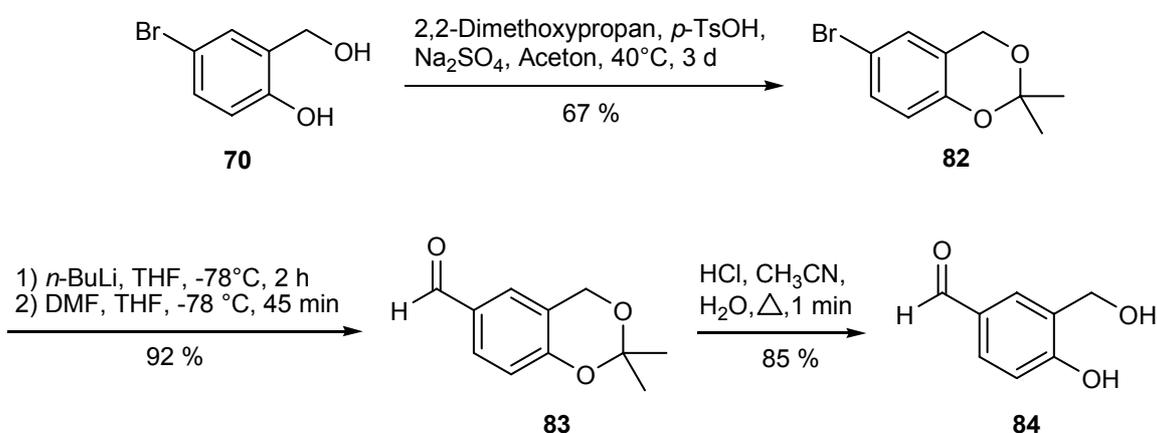


Abb. 36 Synthese des 5-Formyl-Salicylalkohols **84**

Diese in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Methode zur sauren Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppe stellt eine echte Alternative zu den herkömmlichen Methoden der Entschützung mittels TFA oder Ionenaustauscher dar, da die Reaktion schnell abläuft und die Ausbeuten im Vergleich deutlich höher sind.⁷¹

4.2.2. Darstellung der *cyclo*Saligenylchlorphosphite

Die Synthese der cyclischen Saligenylchlorphosphite (Abb. 24, Route I) erfolgte nach einer etablierten Methode,⁴⁶ nach der die in Diethylether gelösten Salicylalkoholderivate bei einer Temperatur von -20 °C mit 1.2 Äquivalenten Phosphor(III)-Chlorid versetzt werden. Zum Abfangen des entstehenden Chlorwasserstoffs wurden 2.3 Äquivalente Pyridin in Diethylether zugetropft. Durch eine ausreichende Verdünnung und die tiefe Temperatur wird die intramolekulare Ringschlussreaktion gewährleistet. Das bei der Reaktion ausfallende Pyridin-

hydrochlorid ließ sich durch Filtration abtrennen. Nach Kondensation des Lösungsmittels wurden in der Regel Öle, in seltenen Fällen Feststoffe, als Rohprodukte erhalten. Aufgrund der hohen Hydrolyseempfindlichkeit der entstandenen Saligenylchlorphosphite wurden diese in der Regel nicht weiter gereinigt, sondern direkt als phosphitylierende Agenzien in den nachfolgenden Synthesen der *cycloSal*-NMP eingesetzt. Auf diesem Weg konnten die Saligenylchlorphosphite **85-91** erhalten werden, die bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ über mehrere Monate haltbar waren (Abb. 37).

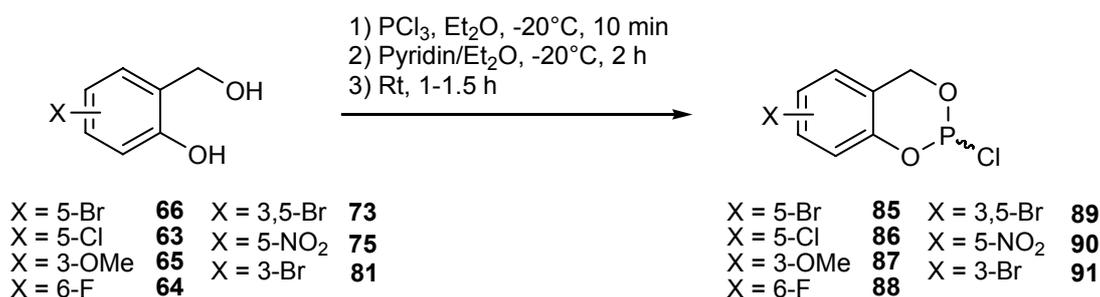


Abb. 37 Synthese der *cycloSal*igenylchlorphosphite **85-91**

Lediglich das 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit **86** wurde durch Kugelrohrdestillation gereinigt und in einer Ausbeute von 42 % erhalten. Der Versuch, 5-Nitro-Saligenylchlorphosphit **90** durch Kugelrohrdestillation zu reinigen, blieb erfolglos. Vermutlich zersetzt sich das Produkt bei hohen Temperaturen unter vermindertem Druck. Das ^{31}P -NMR-Spektrum zeigte mehrere Signale, die nicht zugeordnet werden konnten. In dem für Saligenylchlorphosphite typischen Bereich zwischen 130 und 140 ppm konnte nach der Destillation kein Signal mehr detektiert werden.

4.2.3. Darstellung der *cycloSal*-Phosphorchloridate

Bei der Darstellung der *cycloSal*-NMP ausgehend von Saligenylchlorphosphiten kann es aufgrund der hohen Reaktivität der P(III)-Verbindungen zu unerwünschten Nebenreaktionen kommen. Außerdem stellt die anschließende Oxidation des Phosphittriesters zum Phosphattriestert oftmals ein zusätzliches Problem dar.

Alternativ zu den oben beschriebenen Saligenylchlorphosphiten wurden daher einige cyclische Saligenylchlorphosphate generiert (Abb. 24, Route II), die dann mit den jeweiligen Nucleosiden in einer einfachen Kupplungsreaktion in die entsprechenden *cycloSal*-Nucleotide ohne nachfolgende Oxidation überführt wurden.

Die Synthese der P(V)-Verbindungen **92** und **94-96** wurde mit zwei unterschiedlichen Methoden durchgeführt. Zum einen gelang die Darstellung des *cycloSal*-Phosphorchloridats **92** durch Einleiten von trockenem Sauerstoff in eine Lösung des Saligenylchlorphosphits **86** in Toluol (Abb. 38).⁷² Der Reaktionsverlauf wurde anhand eines ³¹P-NMR-Experimentes kontrolliert. So weist die Phosphor(III)-Verbindung **86** eine chemische Verschiebung von 140.3 ppm auf, die oxidierte Phosphor(V)-Verbindung hingegen zeigt ein Signal bei -5.3 ppm. Die Oxidation war nach 12 h abgeschlossen. Die Lösung von **92** in Toluol konnte über mehrere Monate im Kühlschrank ohne messbare Anzeichen von Zersetzung gelagert werden, so dass sie sich als Maßlösung verwenden ließ.

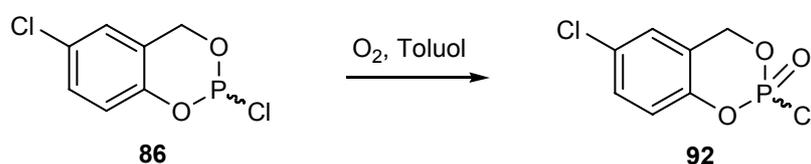


Abb. 38 Synthese des *cycloSal*-Phosphorchloridats **92** durch Oxidation von **86**

Alternativ wurden die *cycloSal*-Phosphorchloridate **92** und **94-96** durch Umsetzung des jeweiligen Alkohols mit Phosphorylchlorid synthetisiert. Zum Neutralisieren von Chlorwasserstoff wurde Triethylamin zugesetzt. Die Reaktion wurde bei tiefen Temperaturen durchgeführt, die langsame Zugabe des Salicylalkohols zum Phosphorylchlorid, gelöst in THF, begünstigte den intramolekularen Ringschluss (Abb 39).

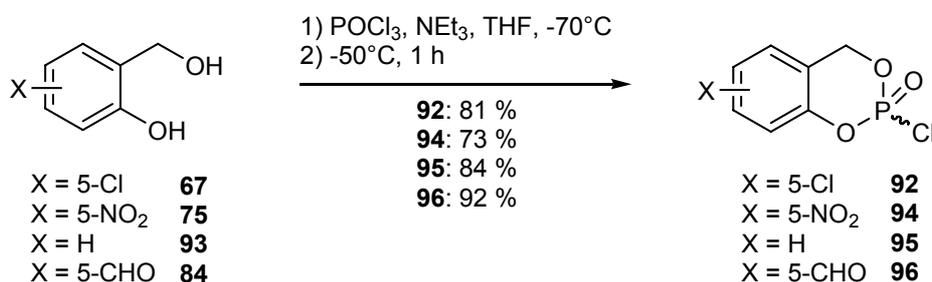


Abb. 39 Synthese der *cycloSal*-Phosphorchloridate **92** und **94-96**

Ein entscheidender Vorteil der *cycloSal*-Phosphor(V)-chloridate gegenüber den korrespondierenden P(III)-Verbindungen ist eine weitaus höhere Stabilität, weshalb die Reinigung nach Filtration und Evaporation des Lösungsmittels in allen Fällen

problemlos chromatographisch erfolgen konnte. Zudem lagen die gereinigten Produkte in fester Form vor, wodurch sich eine bessere Handhabbarkeit ergab.

4.2.4. Darstellung der modifizierten Nucleoside

Sowohl bei der Umsetzung der Saligenylchlorphosphite **85-91** oder der Saligenylchlorphosphate **92, 94-96** mit den jeweiligen Nucleosiden zu den *cycloSal*-Nucleotiden, als auch bei der nachfolgenden Umsetzung dieser *cycloSal*-Nucleotide mit den Pyranosyl-1-phosphaten sollten Nebenreaktionen an anderen freien funktionellen Gruppen des Nucleosids vermieden werden. Die reaktiven Positionen im Nucleosid müssen demzufolge entsprechend blockiert werden.

4.2.4.1. Darstellung von 3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin (3'-O-AcdT) **100**

Die Darstellung von 3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin **100** gelang nach einer erprobten Methode und wird daher im Folgenden nur kurz erläutert.⁷³ Die 5'-OH-Gruppe von 2'-Desoxythymidin **97** wurde zunächst selektiv als *tert*-Butyldimethylsilylether **98** geschützt. Die 3'-Hydroxyfunktion des Nucleosids wurde dann mit Essigsäureanhydrid in Pyridin verestert. Abschließend erfolgte die Abspaltung der Silylschutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid und das gewünschte Produkt wurde in 96 %-iger Ausbeute erhalten (Abb. 40).

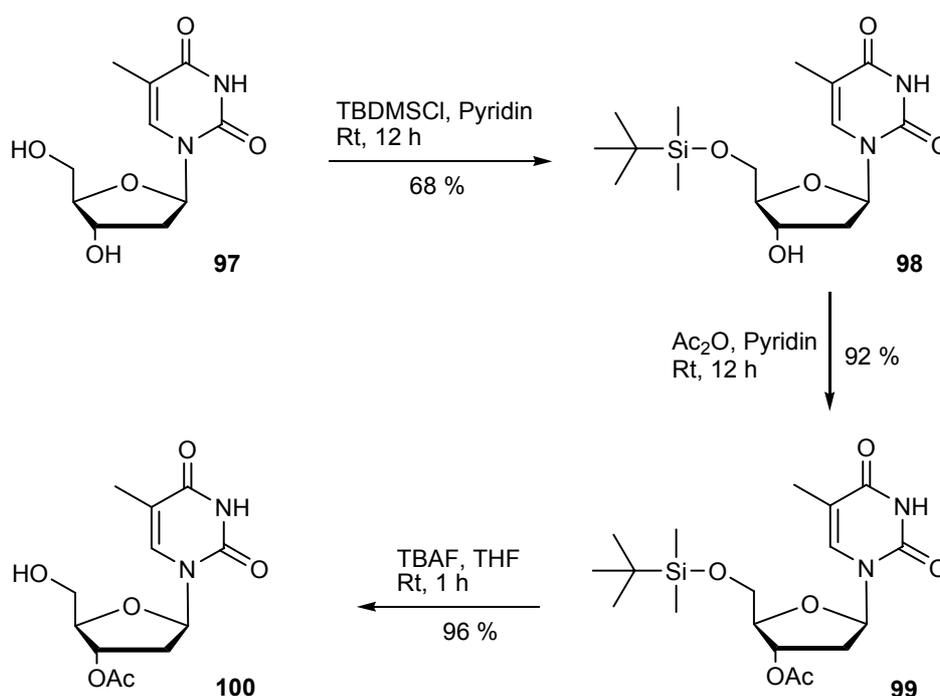


Abb. 40 Synthese von 3'-O-AcdT **100**

Die Silylierung der 5'-Hydroxyfunktion von **97** stellt bei dieser Reaktionssequenz den limitierenden Schritt dar. Die Verwendung von *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid als alternativem Silylierungsreagenz erhöht zwar die Ausbeute im ersten Reaktionsschritt auf 77 %, die Abspaltung dieser Silylschutzgruppe mit TBAF gelang jedoch schlechter; es wurden nur 19 % 3'-O-AcdT **100** erhalten. Die Ausbeute der Verbindung **98** könnte vermutlich auch gesteigert werden, indem man das zweifach silylierte Nebenprodukt durch Chromatographie an Kieselgel abtrennt. Die hier durchgeführte Umkristallisation spart allerdings viel Zeit und Lösungsmittel, wenn man wie in diesem Fall von einem relativ kostengünstigen Edukt ausgeht.

4.2.4.2. Darstellung von *N*-4-Formamidin-2',3'-*O*-acetyl-cytidin **105**

Ziel der Schützung von Cytidin war, die sekundären 2'- und 3'-Hydroxyfunktionen sowie die freie Aminofunktion so zu blockieren, dass die Schutzgruppen alle unter den gleichen basischen Bedingungen wieder abgespalten werden konnten. Dazu wurde zunächst die primäre Hydroxyfunktion erneut mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid verethert (81%) und nachfolgend die Aminofunktion des silylierten Cytidins **102** in sehr guter Ausbeute (93 %) mit *N,N*-Dimethylformamiddiethylacetal in Pyridin blockiert (Abb 41).⁷⁴ Die beiden sekundären Hydroxyfunktionen von **103** sollten dann mit Essigsäureanhydrid in Pyridin als Acetate geschützt werden.

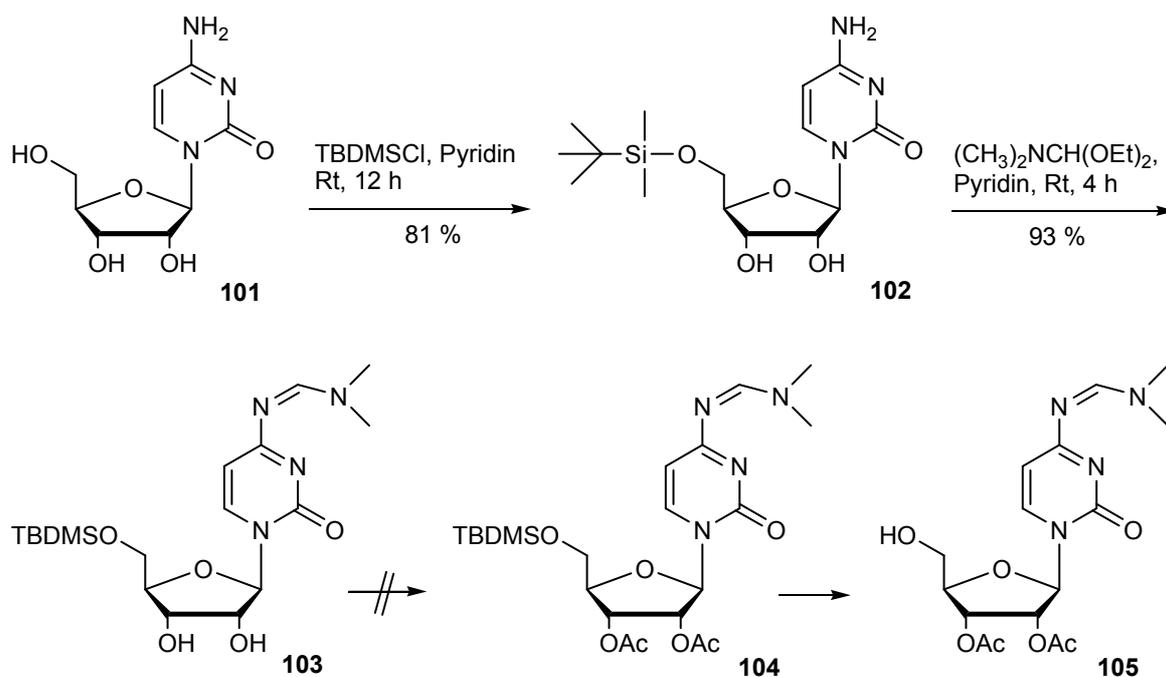


Abb. 41 Versuch der Synthese von *N*-4-Formamidin-2',3'-*O*-acetyl-cytidin **105**

Diese Veresterung blieb erfolglos, da unter den sauren Bedingungen die Formamidin-Gruppe wieder abgespalten wurde. Auch bei dem Versuch, die Acetylgruppen mit Essigsäure, DMAP und DCC einzuführen, erwies sich die Formamidin-Gruppe als zu labil und das gewünschte Produkt **104** wurde lediglich mit 2 % Ausbeute erhalten. Da zu wenig Substanz vorhanden war, wurde auf eine Abspaltung der Silylgruppe, die zum Zielmolekül **105** geführt hätte, verzichtet.

4.2.4.2.1. Synthese von *N*-4-PAc-2',3'-O-PAc-cytidin **107**

Eine weitere Strategie war, das silylierte Cytidin **102** mit Phenoxyacetylchlorid zu verestern.⁷⁵ Die Reaktion wurde in Pyridin, mit in Acetonitril suspendiertem 1-Hydroxybenzotriazol als Aktivator, durchgeführt (Abb. 42). Die in 84 %-iger Ausbeute erhaltene Verbindung **106** wurde dann mit TBAF versetzt, um die primäre Hydroxyfunktion für die Folgereaktion zugänglich zu machen. Die Phenoxyacetylgruppen wurden jedoch mit dieser Methode ebenfalls abgespalten. Da vermutlich die Basizität des TBAF der Grund für die unerwünschte vollständige Entschützung war, wurde Triethylamin-Trihydrofluorid zur Abspaltung der Silylgruppe verwendet und Verbindung **107** wurde auf diese Weise in 76 %-iger Ausbeute erhalten.

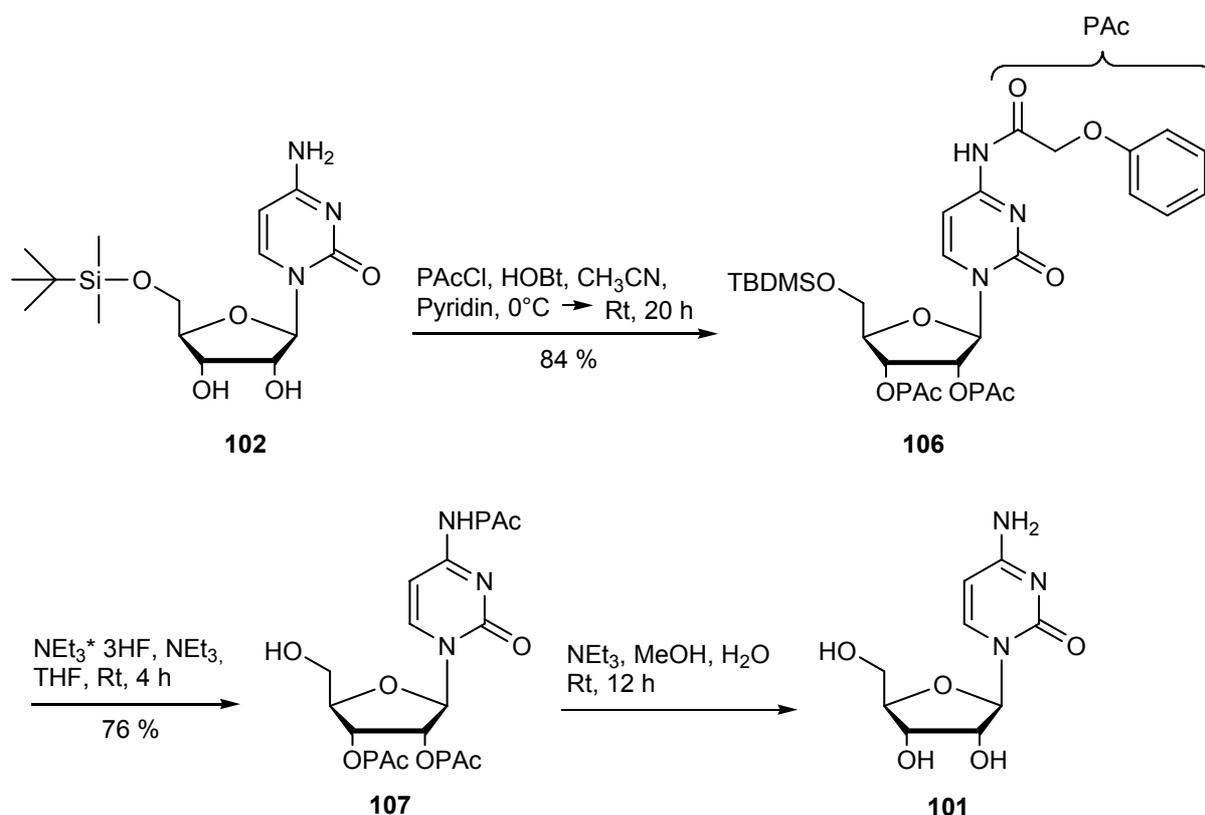


Abb. 42 Synthese von *N*-4-PAc-2',3'-O-PAc-cytidin **107**

Das dargestellte Nucleosid **107** soll später über ein *cycloSal*-Nucleotid zu einer Nucleosiddiphosphatpyranose umgesetzt werden. Nach erfolgreicher Synthese sollen die Schutzgruppen des NDP-Zuckers mit Triethylamin in Methanol und Wasser abgespalten werden. Vor allem die Abspaltung einer Schutzgruppe an der exocyclischen Aminofunktion unter möglichst milden Bedingungen stellt oftmals ein Problem dar. In einem Testansatz konnte gezeigt werden, dass sich die Phenoxyacetylgruppen der Verbindung **107** unter diesen Bedingungen problemlos entfernen lassen.

4.2.4.3. Darstellung von *N*-4-Acetyl-2',3'-*O*-acetyl-cytidin **109**

Bei dem Versuch das Phenoxyacetyl-geschützte Cytidin **107** zu einem *cycloSal*-Nucleotid umzusetzen, wurde nie der gewünschte Phosphattriester erhalten. Vermutlich sind die PAc-Gruppen zu labil und werden durch die bei der Kupplung mit den Phosphor(III)- oder Phosphor(V)-Reagenzien zum Einsatz kommenden Basen abgespalten. Vor diesem Hintergrund wurden die sekundären Hydroxyfunktionen und die Aminofunktion des silylierten Cytidins **102** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin verestert. Das vollständig geschützte Cytidin **108** konnte mit einer Ausbeute von 92 % erhalten werden. Die Abspaltung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Gruppe erfolgte zunächst mit TBAF in THF. Nach beendeter Reaktion konnten die bei der Entschützung entstandenen Salze weder durch Extraktion noch durch Chromatographie abgetrennt werden.⁷⁶ Bei der Umsetzung von **109** mit Triethylamin-Trihydrofluorid hingegen konnte die gewünschte Verbindung nach Chromatographie an Kiesel in 64 %-iger Ausbeute isoliert werden (Abb. 43).

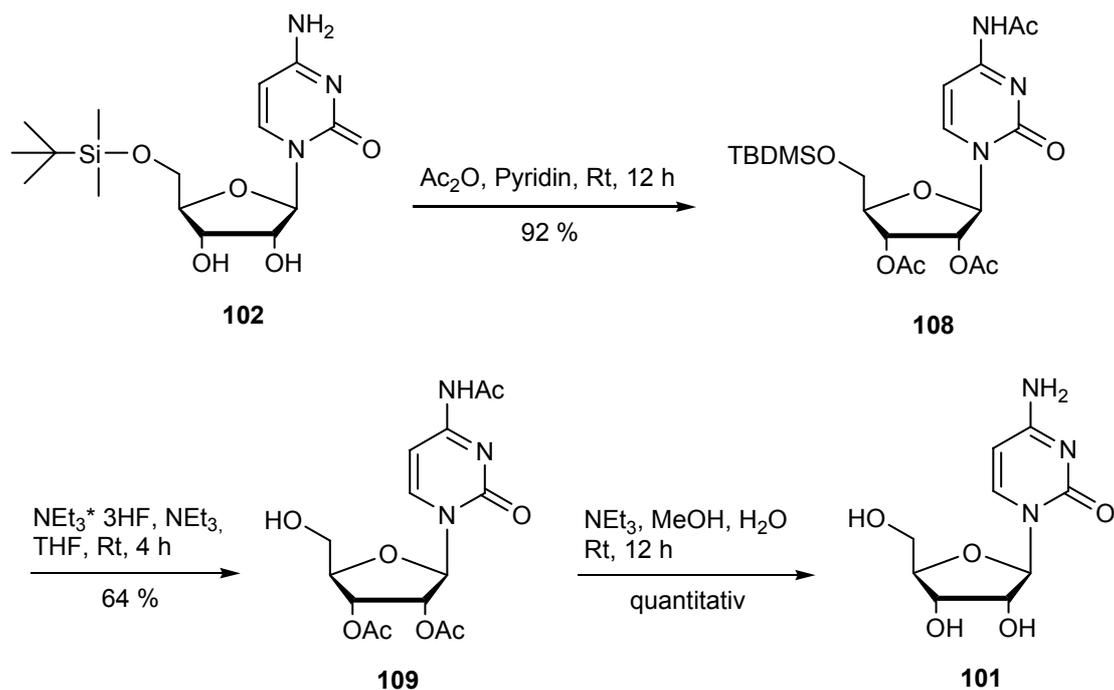


Abb. 43 Synthese von *N*-4-Acetyl-2',3'-O-acetyl-cytidin **109**

Auch in diesem Fall konnte in einem Testansatz gezeigt werden, dass sich sämtliche Acetylgruppen unter den angegebenen basischen Bedingungen abspalten lassen.

4.2.5. Darstellung der *cycloSal* Nucleotide

4.2.5.1. Synthese der *cycloSal* Nucleotide **110-113** und **114-116**

Die Kupplung der cyclischen Saligenylchlorphosphite **85-91** mit den entsprechenden Nucleosid-Derivaten zu *cycloSal*-Nucleotiden erfolgte nach einer in unserer Arbeitsgruppe standardmäßig eingesetzten Methode (Abb. 24, Route I).⁷⁷ Hierzu wurde das Nucleosid-Analogon in Acetonitril gelöst und mit dem jeweiligen Saligenylchlorphosphit (2 Äquivalente bei hypothetischer Reinheit) in Gegenwart von Diisopropylethylamin zu dem korrespondierenden Phosphitriester umgesetzt. Das Produkt konnte dabei dünnschichtchromatographisch detektiert werden. Nach vollständiger Reaktion wurde dieses Phosphit in einer Eintopf-Reaktion mit *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan zum Phosphatriester oxidiert. Die *cycloSal*-Nucleotide **110-113**⁶⁷ und **114-116** konnten so nach chromatographischer Reinigung in Ausbeuten von 39-55 % erhalten werden.

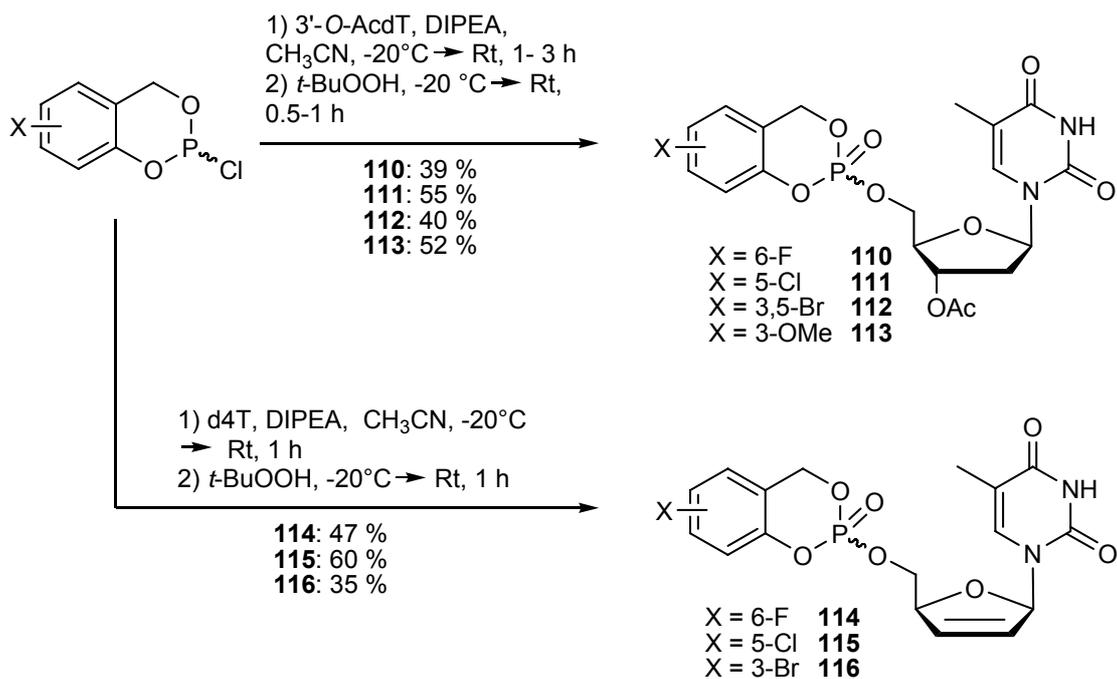


Abb. 44 Synthese der *cycloSal*-Nucleotide 110-113 und 114-116

4.2.5.2. Versuche zur Synthese von 5-Chlor-*cycloSal*-PAC₃-CMP 117

Der Versuch, 5-Chlorsaligenylchlorphosphit **86** mit dem phenoxyacetylgeschützten Cytidinderivat **107** nach der oben beschriebenen Kupplungsvariante umzusetzen, scheiterte. Vermutlich sind die PAC-Schutzgruppen zu labil und werden durch die Zugabe von DIPEA verseift (Abb. 45).

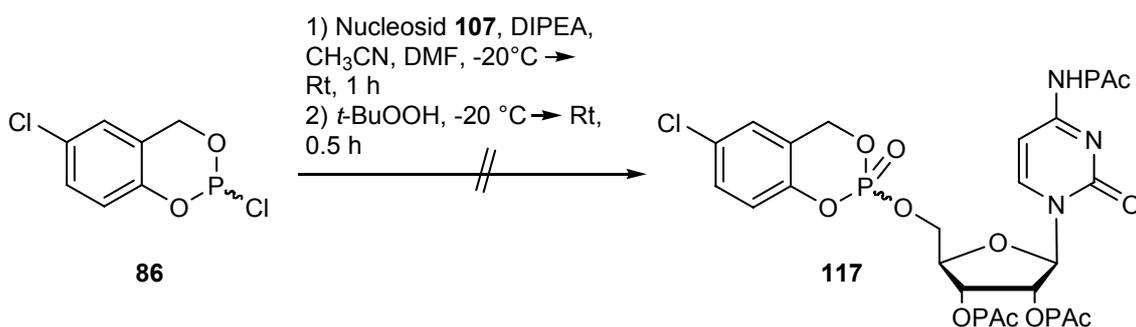


Abb. 45 Versuch der Synthese des *cycloSal*-Nucleotids **117**

Auch der Versuch der Darstellung von **117** durch Kupplung des Cytidinderivates **107** mit 5-Chlor-*cycloSal*igenyl-Phosphorchloridat **92** (siehe auch Abb. 24, Route II) blieb erfolglos.

4.2.5.3. Synthese von 5-Cl-cycloSal-Ac₃-CMP 118

Aufgrund der hohen Labilität der PAc-Gruppen wurde alternativ acetyliertes Cytidin **109** als Nucleosid zur Kupplung eingesetzt (Abb. 46). Da die Cytidinderivate in Acetonitril nur bedingt löslich sind, wurde DMF als Co-Solvens eingesetzt. Das *cycloSal*-Nucleotid **118** wurde so mit 29 % Ausbeute erhalten.

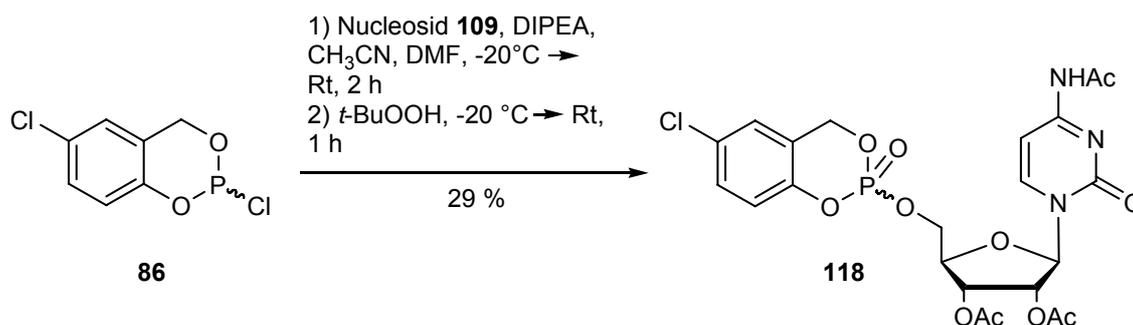


Abb. 46 Synthese des *cycloSal*-Nucleotides **118**

4.2.5.4. Synthese der *cycloSal*-Nucleotide **111**, **119**, **120**

Die Ausbeuten der *cycloSal*-Nucleotide, die über die korrespondierenden Saligenylchlorphosphite generiert wurden, sind mit durchschnittlich 40 % nicht zufriedenstellend, wenn man bedenkt, dass die *cycloSal*-Triester die Schlüsselverbindungen bei den Synthesen der Nucleosiddiphosphatpyranosen darstellen. Wie bereits in Kapitel 4.2.3 erwähnt, haben die hohe Reaktivität der Phosphor(III)-Verbindungen sowie der Einsatz von *tert*-Butylhydroperoxid als Oxidationsmittel einen entscheidenden Einfluss auf den Ausbeuteverlust. Nach erfolgter Oxidation wird das Oxidationsmittel durch Entfernen des Lösungsmittels stark konzentriert, wodurch es zu unerwünschten Nebenreaktionen kommen kann. Um auf eine Oxidation an dieser Stelle zu verzichten, wurden einige *cycloSal*-Nucleotide ausgehend von den jeweiligen Phosphor(V)-chloridaten, deren Darstellung in Kapitel 4.2.3 beschrieben wurde, synthetisiert.

Hierzu wurde das Nucleosid in Pyridin gelöst und bei -40 °C tropfenweise mit dem Phosphorchloridat versetzt. Der vollständige Umsatz des Nucleosides wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert. Pyridin wird in diesem Fall als Lösungsmittel und als Base zugleich eingesetzt (Abb. 47).

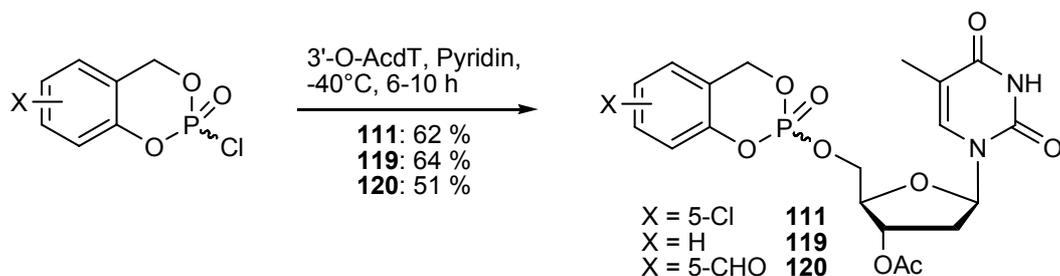


Abb. 47 Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **111**, **119**, **120** nach der Phosphorchloridatmethode

Eine mögliche Nebenreaktion in Pyridin ist der spontane C-O-Bindungsbruch an der Benzylposition des Phosphorchloridats **121** (Abb 48).^{78,79}

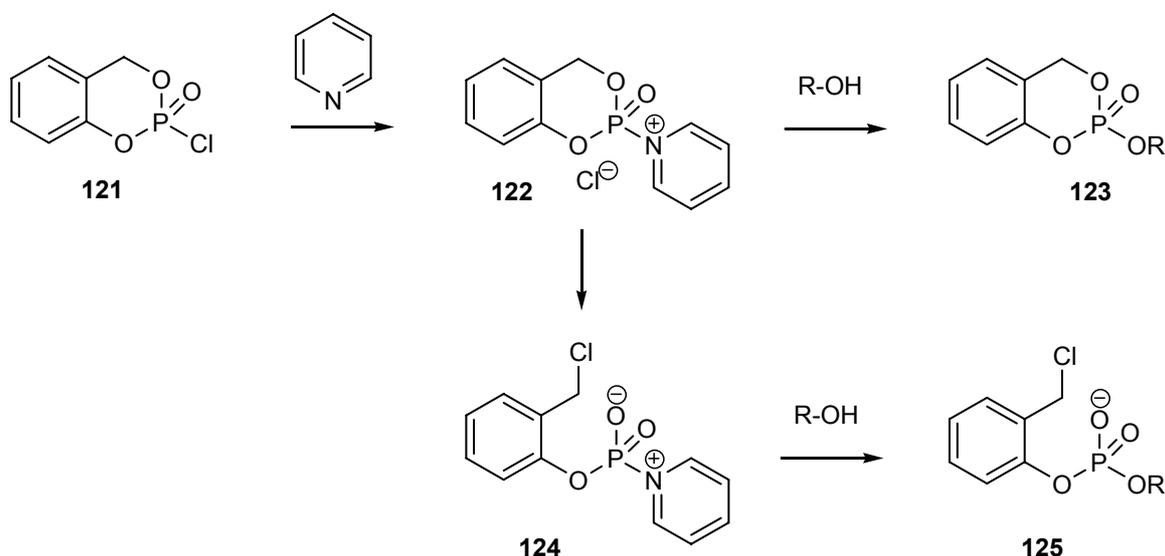


Abb. 48 Mögliche Reaktionsprodukte bei der Veresterung eines Alkohols mit *cycloSal*-Phosphorchloridat in Pyridin

Nach nucleophilem Angriff des Pyridins wird zunächst das Pyridiniumsalz **122** gebildet, das durch Reaktion mit einem Alkohol entweder das gewünschte Produkt **123** liefert oder sich unter Spaltung der benzylichen Esterfunktion in das thermodynamisch stabilere Zwitterion **124** umwandelt. Dieses kann schließlich mit dem Alkohol zum Phosphatdiester **125** reagieren. Das resultierende dealkylierte Produkt **125** wurde bereits in einer analogen Reaktion von J. W. PERICH *et al.* beschrieben.⁸⁰

Nachteilig an der oben beschriebenen Kupplung ist die vergleichsweise lange Reaktionszeit, da neben der tiefen Temperatur auf eine langsame und stark verdünnte Zugabe des Phosphorchloridats geachtet werden muss, um die beschriebene Nebenreaktion mit Pyridin möglichst zu vermeiden. Die synthetisierbare Menge an *cycloSal*-Nucleotid ist demzufolge in diesem Fall stark begrenzt. Da unter dem Aspekt der synthetischen Nutzung der *cycloSal*-Nucleotide größere Mengen dieser Verbindungen benötigt werden, wurde eine weitere Synthesvariante herangezogen (Abb. 49).

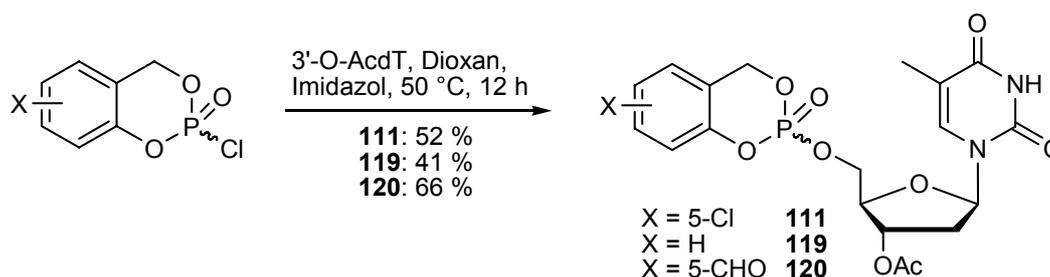


Abb. 49 Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **111**, **119**, **120** nach der Phosphorchloridatmethode mit Imidazol als Aktivator

Dioxan diene bei dieser Umsetzung als Solvens, Imidazol als Aktivator. Die Reaktion wurde bei 50 °C über Nacht gerührt. Bei unvollständigem Umsatz wurde weiteres Phosphorchloridat zugegeben, die gewünschten *cycloSal*-Triester wurden auf diesem Weg mit 41-66 % Ausbeute erhalten. Diese Ausbeuten sind vergleichbar mit denen, die bei Kupplung des Phosphorchloridats in Pyridin erzielt wurden. Die Reaktion mit Imidazol als Aktivator stellt allerdings aufgrund der vereinfachten Reaktionsbedingungen eine Alternative dar, wenn der *cycloSal*-Triester in größeren Mengen synthetisiert werden soll. Die Ausbeute dieser Kupplung könnte eventuell durch den Einsatz von *N*-Methylimidazol als Aktivator verbessert werden. Die chromatographische Abtrennung des *N*-Methylimidazols erwies sich jedoch in der Vergangenheit oftmals als schwierig.

4.2.5.5. Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-AcdTMP **126**

Der 5-Nitro-Phosphatriester **126** wird im Folgenden separat diskutiert, da diese Verbindung sich in der späteren Umsetzung zum Nucleosiddiphosphatzucker als

sehr geeignet erwiesen hatte. Zugleich stellte die Darstellung von **126** eine der großen Herausforderungen dieser Arbeit dar.

Zunächst wurde **126** nach dem etablierten Standardverfahren durch Umsetzung von Saligenylchlorphosphit **90** mit 3'-O-AcdT **100** und anschließender Oxidation mit 41 % Ausbeute erhalten.

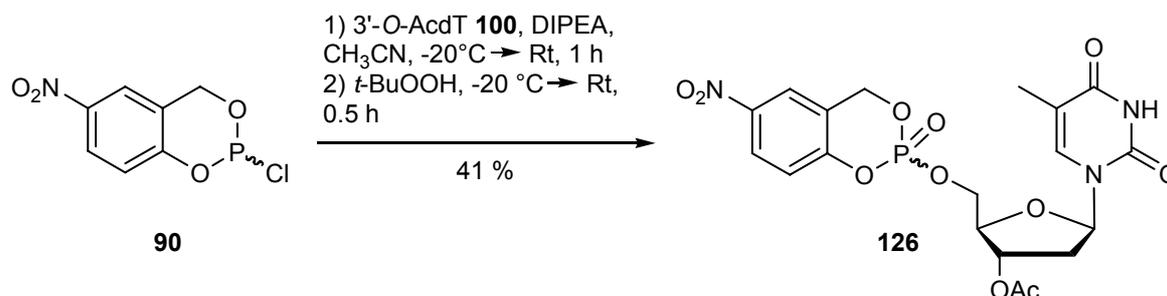


Abb. 50 Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-AcdTMP **126**

Es wurde nun versucht, diese Reaktion im Hinblick auf die Ausbeute zu optimieren. Wie bereits in Kap. 4.2.2 erwähnt, scheiterte der Versuch 5-Nitro-Saligenylchlorphosphit **90** durch Kugelrohrdestillation zu reinigen. Dies hätte unter anderem den Vorteil, dass DIPEA sowie *tert*-Butylhydroperoxid in der stöchiometrisch korrekten Menge zugegeben werden könnten. Die dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion hatte gezeigt, dass sowohl bei der Initialen Kupplung des Nucleosids mit dem Saligenylchlorphosphit **90** als auch bei der späteren Oxidation Probleme durch eine scheinbare Hydrolyse auftraten.

Auch die chromatographische Reinigung lieferte eine Vielzahl von Nebenprodukten, die durch vorhergehende dünnschichtchromatographische Überprüfung des Reaktionsgemisches noch nicht detektierbar waren. Daher wurde das nicht vollständig eingeeengte Reaktionsgemisch vor der chromatographischen Trennung in Dichlormethan aufgenommen und mit Eiswasser extrahiert, um so die entstandenen Salze abzutrennen. Allerdings gestaltete sich die Phasentrennung sehr schwierig und das gewünschte Produkt **126** ließ sich nur noch mit 7 % Ausbeute isolieren.

Daher wurde im Folgenden versucht, den Phosphatriester **126** durch Veresterung des Nucleosids mit 5-Nitro-*cycloSal*-phosphorchloridat **94** zu generieren (Abb. 51).

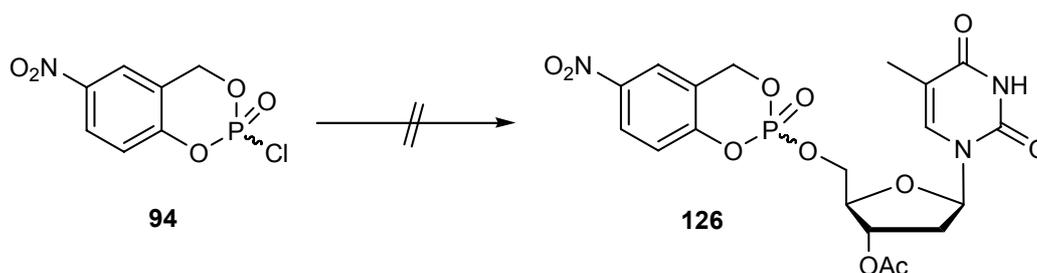


Abb. 51 Versuch der Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-AcdTMP **126**

Sowohl die Umsetzung des Phosphorchloridats **94** in Pyridin bei tiefer Temperatur als auch die Reaktion in Dioxan mit Imidazol als Aktivator scheiterten gänzlich, weshalb von einem weiteren Einsatz von **94** abgesehen wurde.

Eine weitere Möglichkeit, den Phosphattriester **126** zu synthetisieren bot die Anwendung der Phosphoramiditchemie (Kap. 4.2, S. 26, Abb. 24, Route III), die bereits in unserem Arbeitskreis eingehend untersucht worden war.⁸¹ Die Phosphoramidit-Methode bietet den Vorzug, sich unter sehr milden Bedingungen dennoch der reaktiven Phosphitchemie bedienen zu können. Der Nutzen von Phosphoramiditen zur Phosphitylierung von Hydroxylfunktionen ist zudem aus der automatisierten festphasengestützten DNA-Synthese bekannt. Zur Synthese des 5-Nitro-*cycloSal*-phosphoramidits **130** musste zunächst das Dichlor-*N,N*-diisopropylaminophosphan **129** dargestellt werden. Zuvor destilliertes *N,N*-Diisopropylamin wurde in Ether gelöst, dann wurde bei -10 °C destilliertes Phosphortrichlorid tropfenweise hinzugefügt (Abb. 52).⁸²

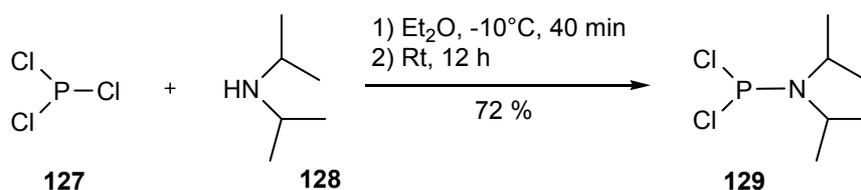


Abb. 52 Darstellung von Dichlor-*N,N*-diisopropylaminophosphan **129**

Nach Entfernung des entstandenen Hydrochlorids durch Filtration und Destillation des Rohproduktes wurde **129** in 72 % Ausbeute erhalten.

Zur Darstellung des 5-Nitro-*cycloSal*igenyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidits **130** wurde der 5-Nitro-Salicylalkohol **94** in Ether gelöst, auf -20 °C gekühlt und mit dem Aminophosphan **129** versetzt. Nach langsamer Zugabe von Triethylamin und Filtration des Reaktionsgemisches konnte das Amidit **130**, nach Entfernung des

Lösungsmittels, als Feststoff isoliert werden (Abb. 53). Das ^{31}P -NMR-Spektrum zeigte eine charakteristische Absorption bei 142.5 ppm, das ^1H -NMR-Spektrum wies keine signifikanten Verunreinigungen auf. Auf eine weitere Reinigung des Rohproduktes wurde in diesem Fall deshalb verzichtet.

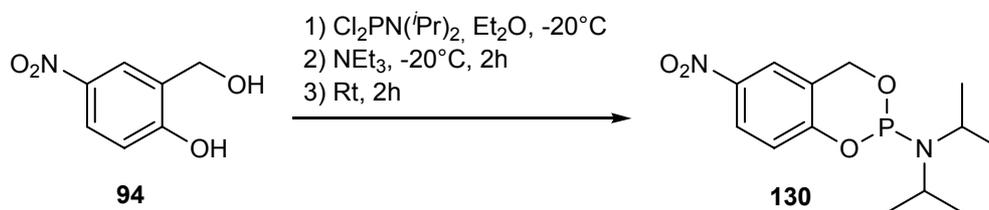


Abb. 53 Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-phosphoramidit **130**

Die Umsetzung des 5-Nitro-*cycloSal*-phosphoramidits **130** mit dem Thymidinderivat **100** erfolgte in Acetonitril bei 0°C mit Dicyanoimidazol als Aktivator. Die Oxidation im Anschluss an die Kupplung wurde mit *tert*-Butylhydroperoxid durchgeführt. Obwohl der Umsatz in der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung vielversprechend war, konnten nur 3% des Phosphattriesters **126** nach Chromatographie isoliert werden (Abb. 54).

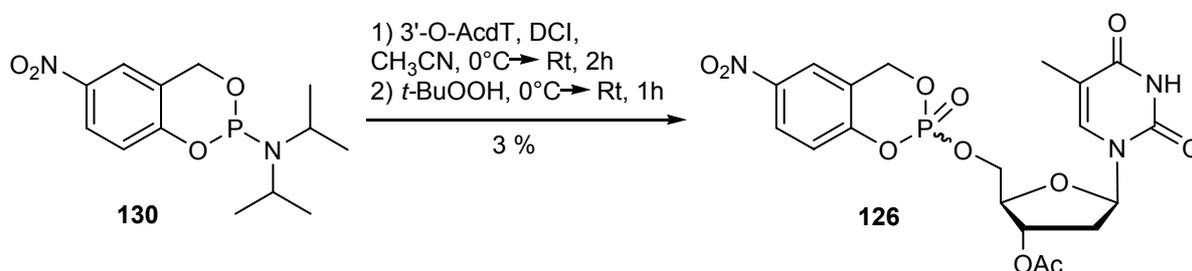


Abb. 54 Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-AcdTMP **126**

Diese Ergebnisse bestätigen die hohe Reaktivität des 5-Nitro-*cycloSal*-Phosphattriesters **126**, was vermutlich auf den starken Elektronenzug des Nitro-Substituenten zurückzuführen ist, der neben einem negativen induktiven Effekt auch einen negativen mesomeren Effekt aufweist.

Für die weiteren Synthesen wurde **126** daher nach der Standardmethode (vgl. Kap 4.2.2, S. 33 und Kap. 4.2.5.1, S. 40) über das entsprechende 5-Nitro-Saligenylchlorphosphit **90** dargestellt, auch wenn diese Variante nicht immer reproduzierbar war.

4.3. Synthese von Glycosylmonophosphaten

Die chemische Bildung einer glycosidischen Bindung verläuft im Allgemeinen nicht diastereoselektiv. Bei den meisten Monosacchariden ist das α -Anomer als thermodynamisches Produkt, trotz der sterisch ungünstigeren axialen Stellung, aufgrund des anomeren Effektes begünstigt. Durch den Einfluss von Lösungsmitteln, Substituenten und Temperatur entsteht jedoch anteilig das β -Anomer, so dass Glycoside gemeinhin als Anomerengemische vorliegen. Da unter biochemischen Aspekten häufig nur ein Anomer der Nucleosiddiphosphatpyranosen relevant ist, wäre eine stereoselektive Synthese der anomenreinen Glycosylmonophosphate vorteilhaft, um schwierige Trennungen der Anomerengemische zu vermeiden.⁸³ Zur Darstellung der anomenreinen Glycosylmonophosphate gibt es zwei generelle Ansätze. Entweder werden die Kohlenhydrate mit einer freien Hydroxyfunktion als Acceptoren in einer Phosphorylierungsreaktion umgesetzt, oder der Saccharidbaustein trägt eine geeignete Abgangsgruppe am anomeren Zentrum und reagiert als Donor in einer entsprechenden Glycosylierungsreaktion. Beim Acceptorverfahren lassen sich einerseits Phosphor-V-Verbindungen, andererseits Phosphor-III-Verbindungen, die anschließend zum Phosphat oxidiert werden, einsetzen.

4.3.1. Die Trichloracetimidat-Methode

Eine Möglichkeit zur selektiven Beeinflussung des α/β -Verhältnisses von Glycosylmonophosphaten nach dem Donorverfahren bietet die Trichloracetimidat-Methode nach R.R. SCHMIDT.⁸⁴ Die Herstellung der Trichloracetimide nutzt das Prinzip der einfachen Addition von Alkoholanionen an elektronenarme Nitrile (Abb. 55).

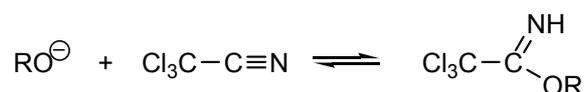


Abb. 55 Darstellung von Trichloracetimidaten

Zur Darstellung des Vorläufers **152** wurde kommerziell erhältliche Methyl- α -D-Glucopyranose durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und anschließender

Umsetzung mit Benzylbromid in sehr guter Ausbeute (93 %) vollständig benzyliert. Die selektive Entschützung der anomeren Hydroxyfunktion erfolgte mit Trifluormethansulfonsäure⁸⁵ in 42 % Ausbeute (Abb. 56).

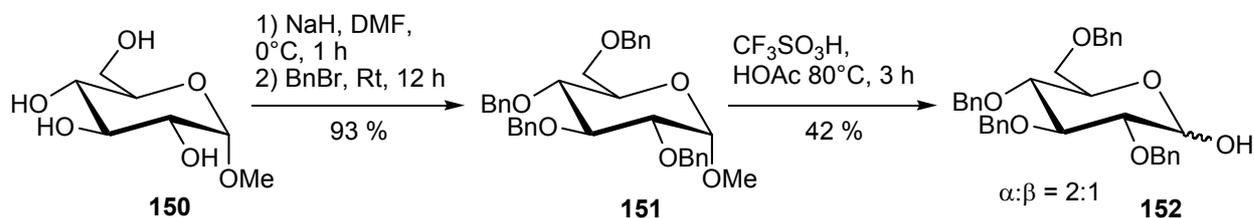


Abb. 56 Darstellung der Vorläufer von Trichloracetimidaten

Es war nun möglich, die Stereochemie am anomeren Zentrum bei der Umsetzung von **152** mit Trichloracetonitril in Abhängigkeit von der eingesetzten Base und den Reaktionsbedingungen zu kontrollieren.^{86,87} So ergab die Reaktion von **152** mit Trichloracetonitril in Dichlormethan und Natriumhydrid als Base nach 2 Stunden das reine α -Anomer in 53 % Ausbeute. Wurde die Reaktion mit Kaliumcarbonat als Base durchgeführt, erhielt man nach 4 Stunden das β -Anomer in 31 % Ausbeute (Abb. 57).

Nach der initialen Bildung der jeweiligen Alkoholate hat das β -Alkoholat durch die resultierenden Dipole eine deutlich höhere Nucleophilie und addiert sich daher schneller an das Nitrilderivat als das α -Alkoholat.

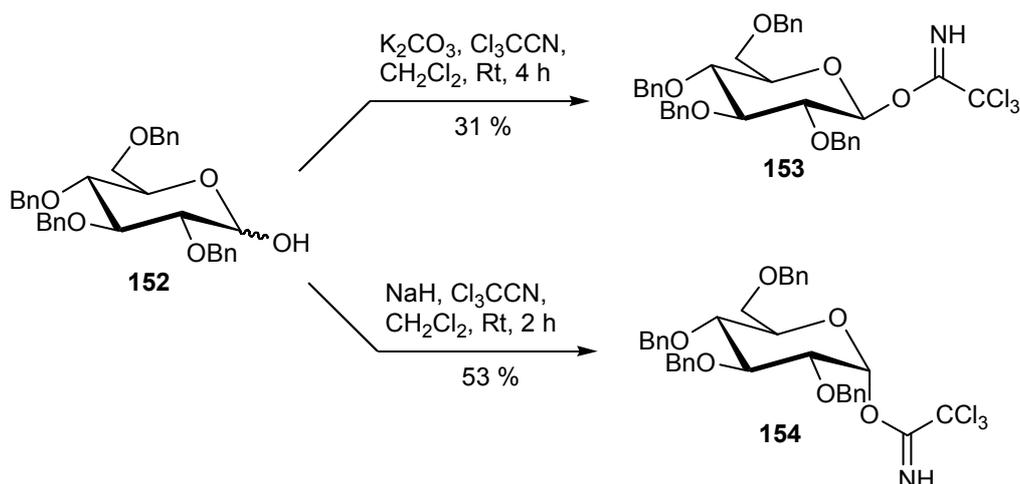


Abb. 57 Glycosylierung nach der Trichloracetimidat-Methode

Das primär gebildete β -Trichloracetimidat anomerisiert dann unter Basenkatalyse zum thermodynamisch stabileren α -Produkt. Durch den Einsatz von Kaliumcarbonat

als schwache Base wird zwar die Bildung des β -Imidates erreicht, die Rückreaktion und damit die Anomerisierungsreaktion sind jedoch innerhalb von 4 Stunden nicht möglich. Man erhält folglich das β -Produkt in einer kinetisch kontrollierten Reaktion.

Die Konfiguration glycosidischer Bindungen lässt sich u.a. durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie klären. Gemäß der Karplus-Beziehung ergibt sich für α -Glycoside mit einem Diederwinkel von 60° , d.h. einer *cis-trans*-Stellung von H-1 und H-2, eine Kopplungskonstante von $J_{1,2} \approx 3.5$ Hz. β -Glycoside zeigen bei einem Diederwinkel von 180° , der einer *trans-trans*-Stellung von H-1 und H-2 entspricht, eine Kopplungskonstante von $J_{1,2} \approx 8.0$ Hz. Um α - und β - Mannopyranoside eindeutig unterscheiden zu können muß ein $^{13}\text{C-gated-NMR}$ -Spektrum aufgenommen werden. In dem hier untersuchten Fall wies das α -Trichloracetimidat **154** eine Kopplungskonstante von $J_{1,2} = 3.3$ Hz auf, das β -Trichloracetimidat **153** zeigte eine Kopplungskonstante von $J_{1,2} = 7.1$ Hz.

Die Einführung der Phosphatgruppe an C-1 erfolgte durch Umsetzung der Trichloracetimide **153** und **154** mit Bisbenzylphosphat in Dichlormethan bei Raumtemperatur. Da infolge der benzylgeschützten Hydroxygruppen Nachbargruppen-Effekte auszuschließen sind, war unter den gegebenen Reaktionsbedingungen eine Inversion der Konfiguration an C-1 zu erwarten. Der Bisbenzylphosphattriester **155** wurde α -anomenenrein mit einer Kopplung von $J_{1,2} = 3.3$ Hz erhalten. Der Triester **156** wurde hingegen zunächst mit Anteilen des α -Anomers ($\alpha:\beta = 1:3$) isoliert. In der Arbeitsgruppe SCHMIDT⁸⁶ wurde gefunden, dass Verunreinigungen des Bisbenzylphosphats mit Phosphorsäure die Diastereoselektivität der Reaktion beeinflussen. Durch den Säureeinfluss wird demnach das initial gebildete β -Phosphat ($J_{1,2} = 7.6$ Hz) in das thermodynamisch stabilere α -Anomer umgewandelt. Um die so entstehenden Anomerengemische zu vermeiden sollte das Bisbenzylphosphat vor seinem Einsatz durch Umkristallisation gereinigt werden. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurden die Triester schließlich in 65 % (**156**) und 79 % (**155**) Ausbeute isoliert (Abb. 58).

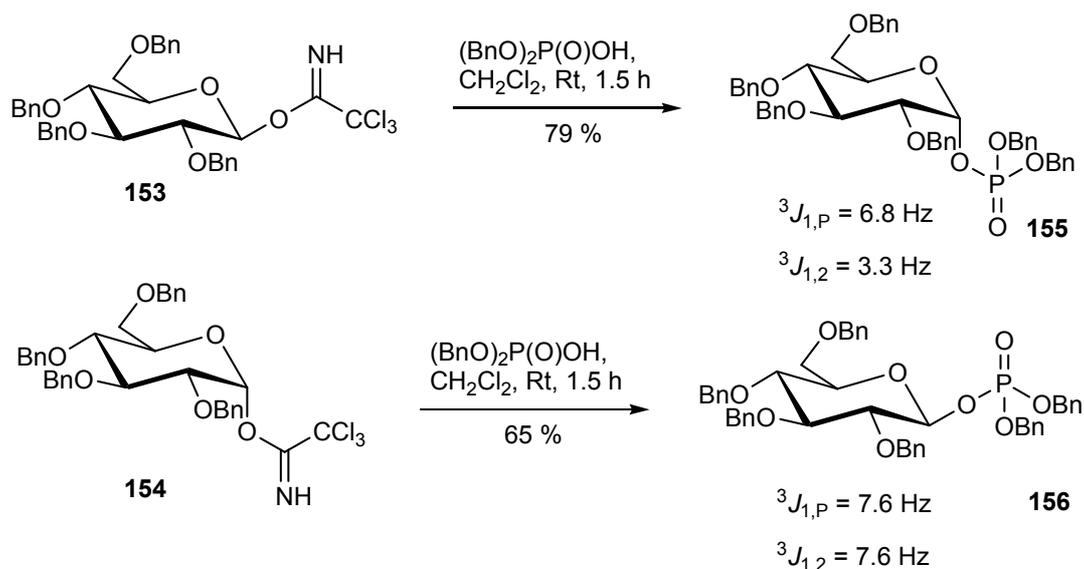


Abb. 58 Synthese der anomenreinen bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-Benzyl-D-glucopyranosyl-1-phosphate **155** und **156**

Zur Generierung der korrespondierenden Pyranosyl-1-phosphate sollten die Triester **155** und **156** abschließend so entschützt werden, dass lediglich die Benzylgruppen am Phosphatrest abgespalten werden, da die Glycosylmonophosphate als Ausgangsmaterialien zur Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen geschützt bleiben sollten. Auf diese Weise sollte die Löslichkeit der polaren Verbindungen erhöht und Nebenreaktionen minimiert werden.

Da eine selektive Entschützung mittels hydrogenolytischer Abspaltung mit Palladium an Aktivkohle (10 %) misslang, wurden Acetate als Schutzgruppen eingesetzt.

Hierzu wurde D-Glucose **131** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin mit 98 % Ausbeute peracetyliert.⁸⁸ Zur selektiven Entschützung des anomeren Zentrums finden sich in der Literatur zahlreiche Möglichkeiten, von denen hier nur zwei vorgestellt werden sollen. Zunächst erfolgte die Abspaltung der Estergruppe an C-1 durch Umsetzung von **157** mit zwei Äquivalenten Benzylamin in THF bei Raumtemperatur.⁸⁹

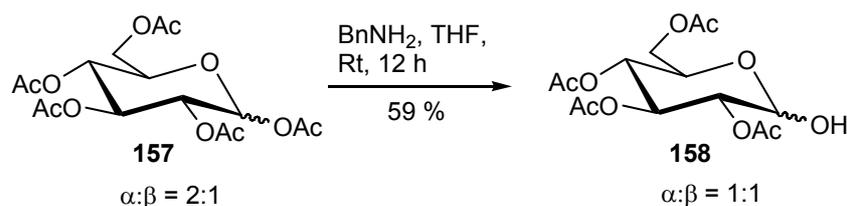


Abb. 59 Einsatz von Benzylamin zur selektiven 1-O-Deacetylierung von **157**

Die Reaktion konnte durch direkte Zugabe des Benzylamins als Lösungsmittel zu **157** unter starkem Rühren auf 10 min verkürzt werden. In beiden Fällen war die säulenchromatographische Abtrennung des überschüssigen Benzylamins problematisch. Eine alternative Methode stellt die Aminolyse mit Hydrazinacetat dar.⁹⁰

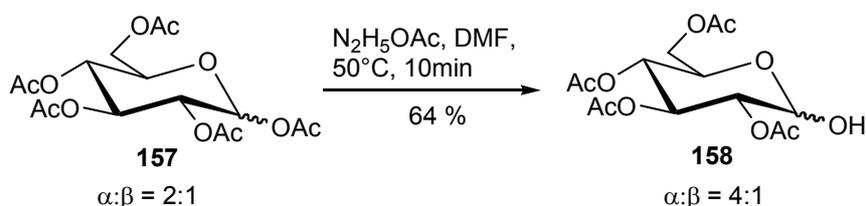


Abb. 60 Einsatz von Hydrazinacetat zur selektiven 1-O-Deacetylierung von **157**

Die Isolierung des Produktes gestaltete sich in diesem Fall wesentlich leichter, so dass das 1-O-deacetylierte Produkt **158** mit 64 % Ausbeute isoliert werden konnte (Abb. 60).

Zur Darstellung der anomererenreinen Trichloracetimidate wurde wiederum auf das Prinzip der kinetischen und thermodynamischen Reaktionskontrolle zurückgegriffen. Das anomerereine β -Trichloracetimidat **159** wurde durch Reaktion des Glucosederivates **158** mit Trichloracetnitril (2.9 Äquivalente) und Kaliumcarbonat (1.6 Äquivalente) in 2 Stunden synthetisiert (Abb. 61).

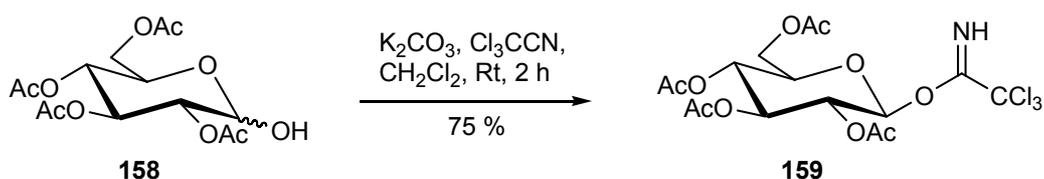


Abb. 61 Synthese des β -Trichloracetimidats **159** (kinetische Kontrolle)

Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde **159** in 75 % Ausbeute erhalten. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt eine typische Kopplungskonstante von $J_{1,2} = 7.9$ Hz für das dem anomeren Proton H-1 zugehörige Signal.

Durch Verlängerung der Reaktionszeit wurde unter sonst analogen Reaktionsbedingungen nach 48 Stunden das thermodynamisch stabilere α -Anomer **160** in 80 % Ausbeute erhalten (Abb. 62).



Abb. 62 Synthese des Trichloracetimidats **160** (thermodynamische Kontrolle)

Das Trichloracetimidat **160** zeigte eine Kopplungskonstante von $J_{1,2} = 3.8$ Hz für das dem anomeren Proton H-1 zugehörige Signal. Die Umsetzung des Trichloracetimidats **160** mit Bisbenzylphosphat lieferte den Triester **161** wie erwartet β -anomenenrein ($J_{1,2} = 7.6$ Hz) in einer sehr guten Ausbeute von 95 % nach säulenchromatographischer Reinigung (Abb. 63).

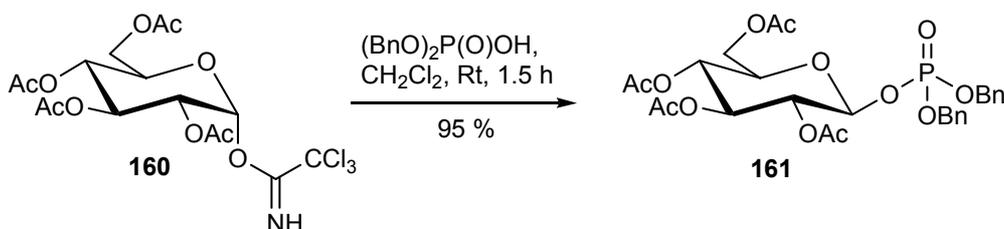


Abb. 63 Synthese des β -anomenenreinen bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyl-1-phosphats **161**

Die Generierung des freien Phosphats erfolgte in diesem Fall problemlos durch hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen; 2,3,4,6-tetra-O-Acetyl-glycosyl-1-phosphat **162** wurde in 95 %iger Ausbeute als Triethylammoniumsalz isoliert.

Die Umsetzung des β -konfigurierten Trichloracetimidats **159** mit Bisbenzylphosphat lieferte ebenfalls ausschließlich den β -konfigurierten Triester **161**. In diesem Fall wird die Reaktion vollständig durch Nachbargruppenbeteiligung der Acetylgruppe an C-2 dominiert. Durch einen S_N2 -artigen Angriff des Carbonylsauerstoffs der Acetoxygruppe entsteht ein Acetoxoniumion⁹¹, welches die Bildung eines α -Phosphatriesters durch sterische Abschirmung verhindert (Abb. 64).

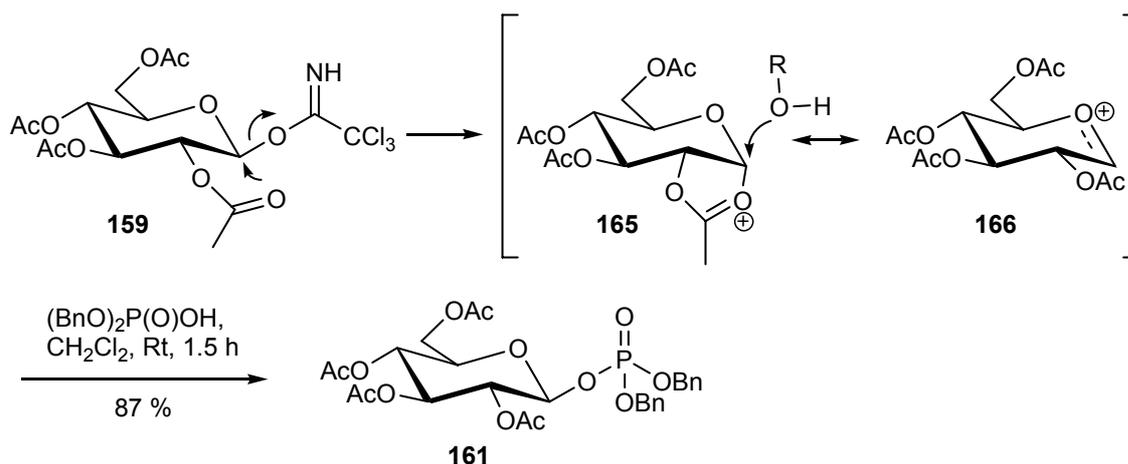


Abb. 64 Versuch der Synthese des α -anomerenreinen bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-gluco-pyranosyl-1-phosphats **163**

Die Trichloracetimidat-Methode ist demzufolge nur zur Synthese axial modifizierter Hexosen geeignet, wenn Schutzgruppen eingesetzt werden, welche die Konfiguration des anomeren Zentrums nicht durch einen Nachbargruppeneffekt kontrollieren können.

4.3.2. Die Koenigs-Knorr-Methode

Eine alternative Darstellung von Glycosylphosphaten nach dem Donorverfahren bietet die Umsetzung von acetylierten Glycosylhalogeniden mit einem Phosphorylierungsreagenz unter Koenigs-Knorr-Bedingungen.⁹² Die Reaktion ist in Bezug auf die Stereochemie am anomeren Kohlenstoffatom ausgesprochen selektiv. Die meisten kinetischen Untersuchungen sprechen für einen monomolekularen Mechanismus. Zur Darstellung der Glycosylhalogenide wurden D-Glucose, D-Mannose und D-Galactose peracetyliert und anschließend mit Bromwasserstoffsäure versetzt.⁹³ In allen Fällen entstand das α -anomerenreine Glycosylbromid (Abb. 65).

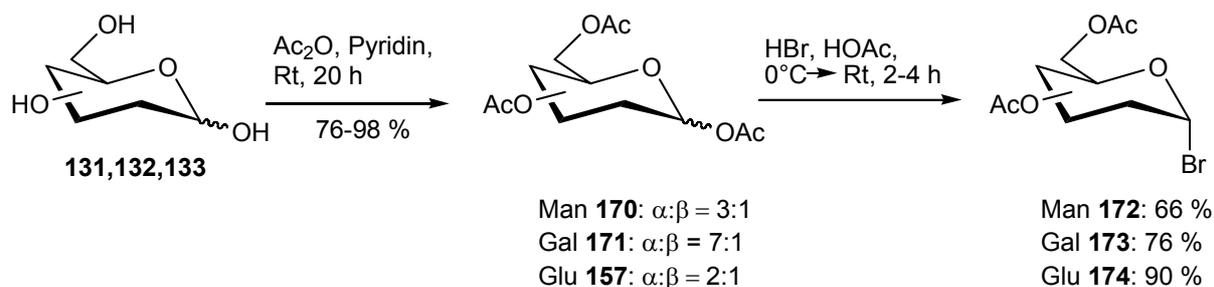


Abb. 65 Synthese der Glycosylbromide **172-174**

Im Fall der Mannose mussten die Reaktion und vor allem die Reinigung variiert werden, da Tetra-O-acetyl-mannopyranosylbromid **172** äußerst hydrolyseempfindlich ist. Zur Einführung der Phosphatgruppe wurden die gelösten Glycosylbromide **172-174** mit Bisbenzylphosphat in Gegenwart von Silbercarbonat⁹⁴ als Aktivator umgesetzt. Das Silbercarbonat bindet einerseits das Bromid und deprotoniert andererseits das Bisbenzylphosphat. Bei der Umsetzung von Glucose und Galactose wurden die β -konfigurierten Triester **161** und **176** nach säulenchromatographischer Reinigung mit 87 % und 81 % Ausbeute erhalten (Abb. 66).

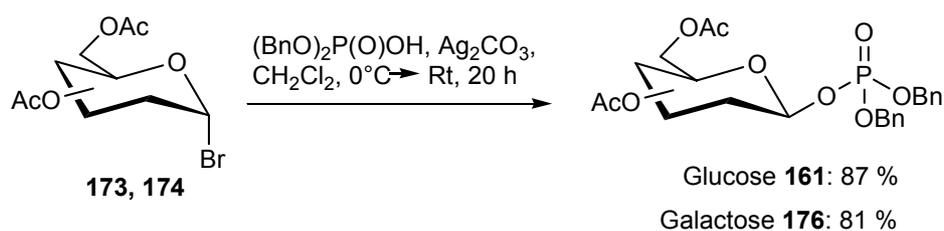


Abb. 66 Synthese der β -anomenenreinen Glycosylphosphatriester **161** und **176**

Die oben dargestellte Phosphorylierung erfolgte im Fall der Mannose α -anomenenrein, vermutlich ist dies auf die trans-diaxiale Stellung der Substituenten an C-1 und C-2 zurückzuführen. Wahrscheinlich findet - ähnlich wie im vorherigen Abschnitt für die Glucose beschrieben - ein intramolekularer Angriff des nucleophilen Carbonyl-sauerstoffs der Acetylgruppe von C-2 statt. Durch die Bildung des Acetoxonium-Ions wird der axiale Angriff gegenüber dem äquatorialen stark begünstigt, so dass ausschließlich das α -Anomer **177** erhalten wird (Abb. 67).

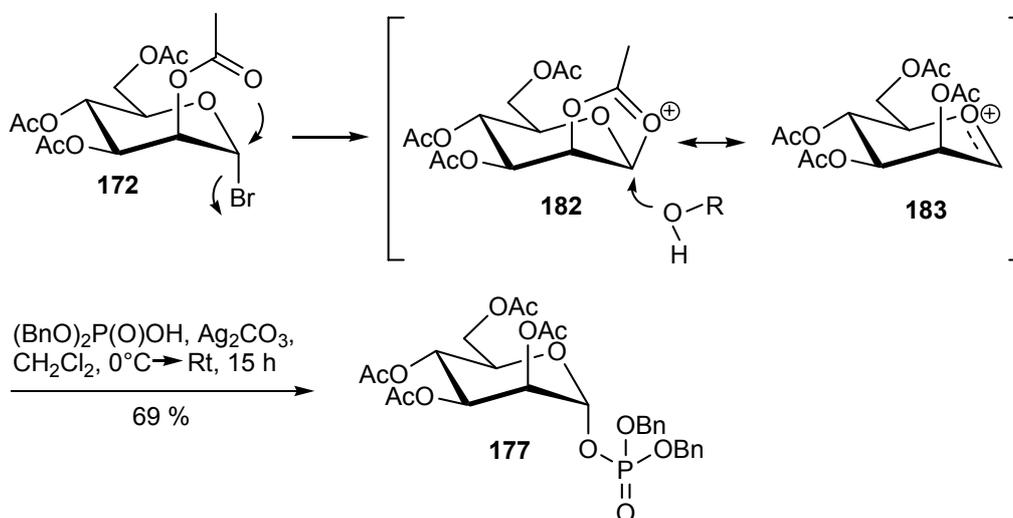


Abb. 67 Synthese von **177** unter Nachbargruppenbeteiligung der C2-Acetylgruppe

Die abschließende reduktive Debenzylierung mit Palladium an Aktivkohle (10 %) unter Zusatz von Triethylamin lieferte die 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-glycosyl-1-phosphate in 55 % (**180**), 87 % (**179**) und 98 % (**162**) Ausbeute in Form ihrer einfachen Triethylammoniumsalze (Abb. 68).

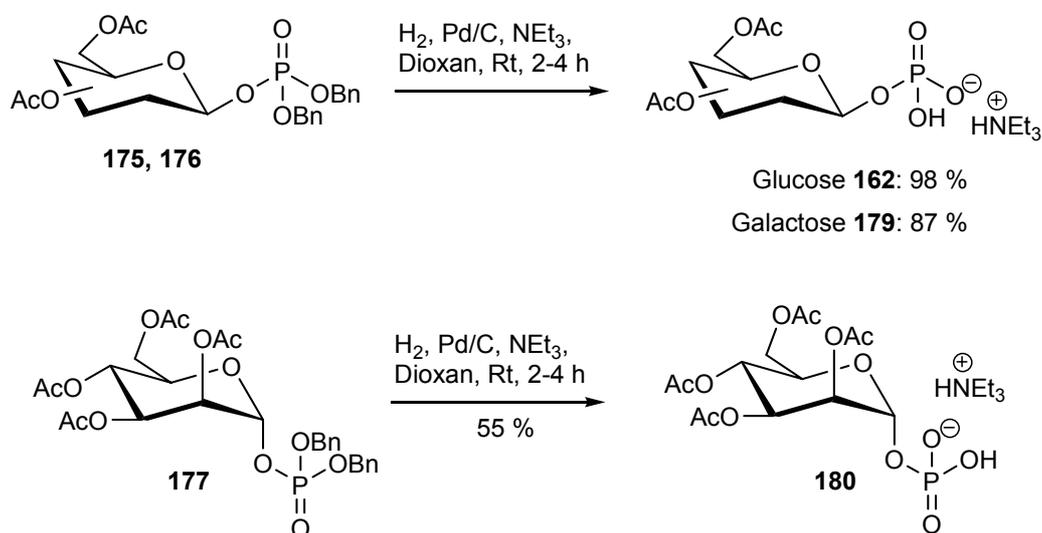


Abb. 68 Synthese der 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-glycosyl-1-phosphate **162**, **179** und **180**

Die dargestellten Glycosylmonophosphate können durch ^1H -, ^{13}C -, und ^{31}P -NMR-Spektroskopie eindeutig charakterisiert werden. Zudem ist die anomere Konfiguration der Verbindungen in den meisten Fällen im ^1H -NMR-Spektrum ablesbar. Im Fall der Mannose ist die Bestimmung der anomeren Konfiguration durch Aufnahme eines ^{13}C -gated-NMR-Spektrums möglich. Die Charakterisierung von Glycosylmonophosphaten und die Bestimmung der anomeren gebundenen Phosphatgruppe soll exemplarisch anhand der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactosyl-1-phosphat **179** veranschaulicht werden (Abb. 69 und 70).

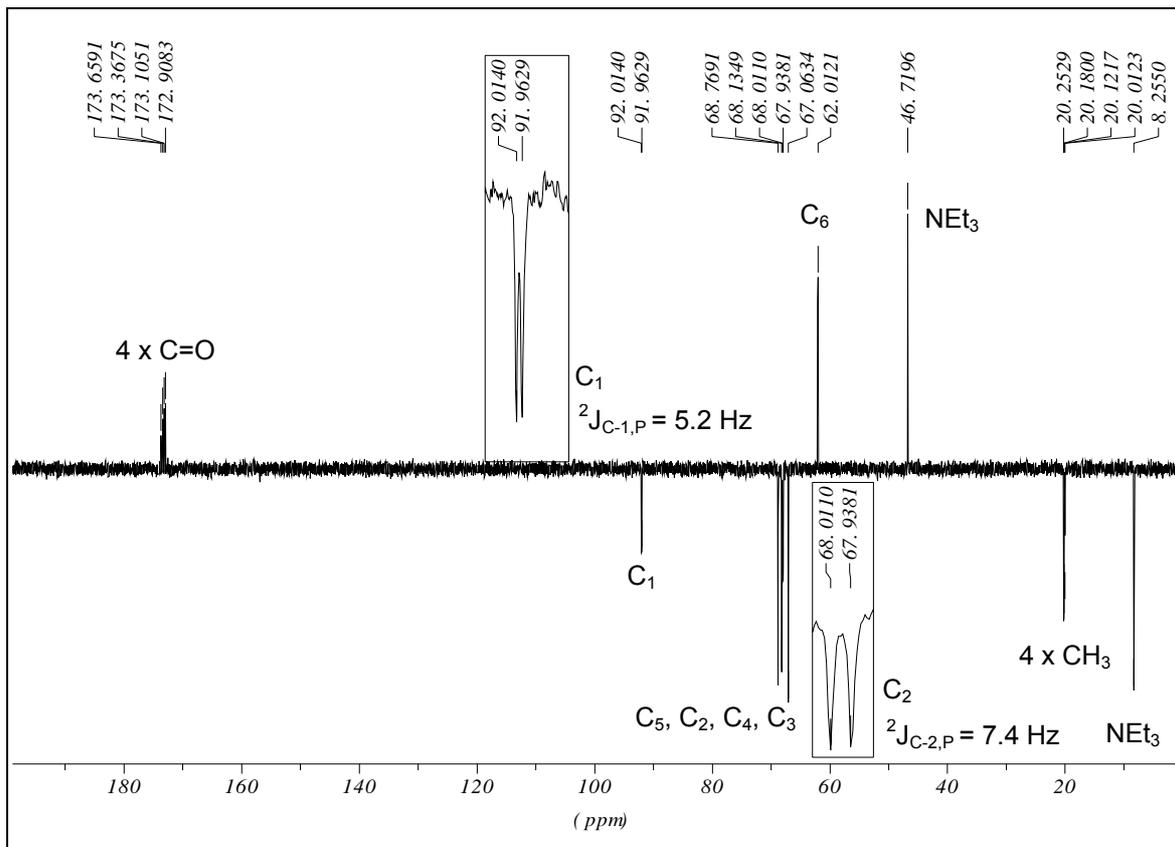
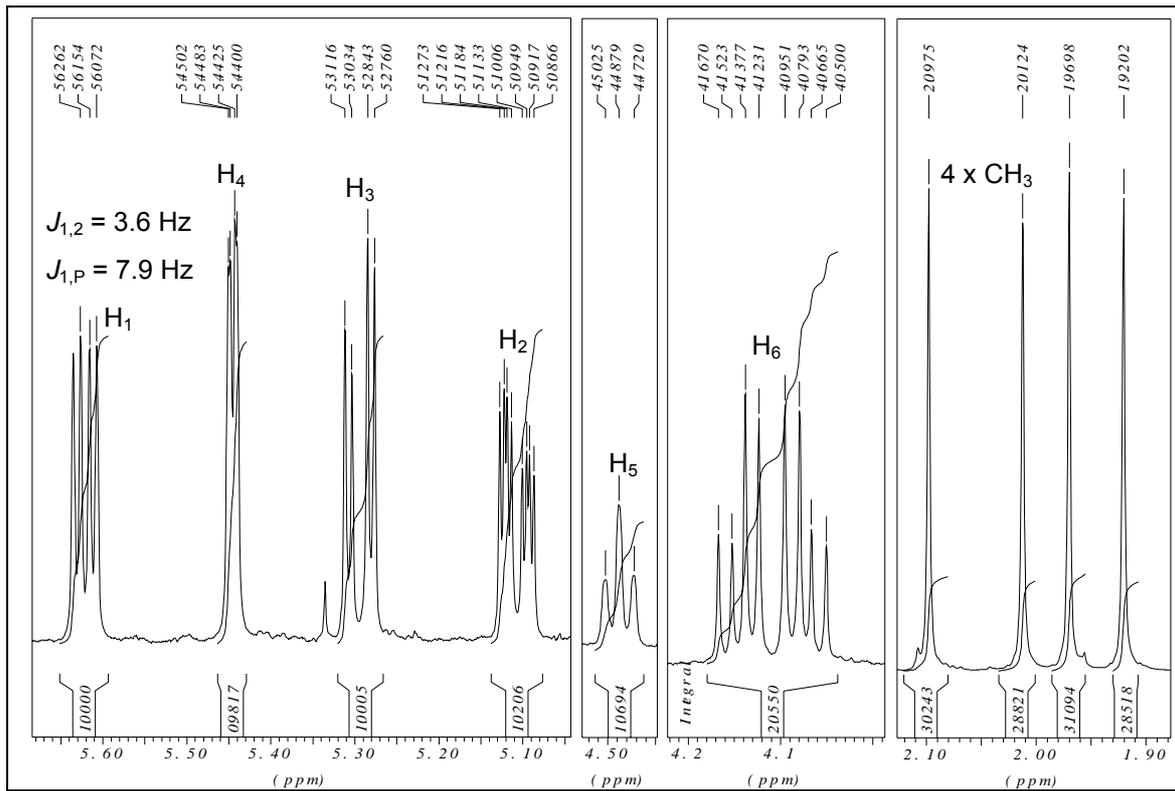


Abb. 69 und 70 ${}^1\text{H}$ - und ${}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactosyl-1-phosphat **179** in D_2O

Im ^1H -Spektrum ist für das anomere Proton H-1 ein dd-Signal erkennbar, das zum einen durch die vicinale 3J -Kopplung zum paramagnetischen ^{31}P -Atom der Phosphatgruppe verursacht wird. Diese Kopplung liegt im Allgemeinen in der Größenordnung von $^3J_{1,\text{P}} \approx 6.5 - 7.9$ Hz. Das zweite Duplett resultiert aus der vicinalen Kopplung von H-1 und H-2, die bei α -konfigurierten Verbindungen zu einer Kopplungskonstante von $^3J_{1,2} \approx 3.2 - 3.6$ Hz führt. Bei β -konfigurierten Glycosylmonophosphaten sind die $J_{1,2}$ - und die $J_{1,\text{P}}$ -Kopplungskonstanten oftmals nicht bestimmbar, da das anomere Proton und das Proton an C-3 eine ähnliche chemische Verschiebung besitzen und deren Signale ein Multiplett bilden. Bei den ungeschützten α - und β -Phosphaten kommt es des Weiteren infolge dynamischer Effekte teilweise zu einer Linienverbreiterung, so dass auch hier die Kopplungskonstanten nicht immer genau ablesbar sind. Im breitbandenkoppelten ^{13}C -Spektrum sind für α - und β -Glycosylmonophosphate Dublett-Aufspaltungen für das C-1- und das C-2 Atom sichtbar. Das Dublett an C-1 resultiert aus einer geminalen Kopplung von C-1 und dem ^{31}P -Atom der Phosphatgruppe mit einer Kopplungskonstante von $^2J_{\text{C-1},\text{P}} \approx 4.0 - 6.0$ Hz. Das entstehende Dublett an C-2 wird durch eine entsprechend vicinale Kopplung von C-2 mit der Phosphatgruppe ($^2J_{\text{C-1},\text{P}} \approx 7.0 - 8.0$ Hz) verursacht. Bei benzylgeschützten Monophosphaten ist ausserdem die geminale Kopplung zwischen der Methylengruppe und des Phosphors als Dublett erkennbar. Zusätzlich zur ^1H - und ^{13}C -Spektroskopie dient die ^{31}P -Spektroskopie der Charakterisierung phosphorylierter Verbindungen. Im breitbandenkoppelten ^{31}P -Spektrum ergibt sich für die Glycosylmonophosphate ein Singulett mit einer typischen chemischen Verschiebung von $\delta = -0.5$ bis -3.0 ppm bezogen auf ortho-Phosphorsäure ($\delta = 0$ ppm).

4.3.3. Die Phosphoramidit-Methode

Die Phosphorylierung der freien anomeren Hydroxyfunktion nach dem Acceptorverfahren kann u. a. über die Phosphoramidit-Methode⁹⁵ erfolgen, bei welcher ein Amin das Halogenid (vgl. Koenigs-Knorr, S. 52) als Abgangsgruppe ersetzt. Weite Verbreitung haben unter anderem Chlor-2-cyanoethyl-*N,N*-di-isopropylphosphoramid^{96,97} sowie Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit⁹⁸ gefunden. Die Oxidation eines Glycosylphosphits wird *in situ* mit 3-Chlorperbenzoesäure⁹⁹, Wasserstoffperoxid¹⁰⁰, *tert*-Butylhydroperoxid, oder Iod¹⁰¹ bewerkstelligt.

Die peracetylierten Verbindungen **170**, **171** und **157** wurden - wie für die Glucose bereits im vorigen Abschnitt beschrieben - selektiv am anomeren Zentrum durch Reaktion mit Hydrazinacetat in DMF entschützt (Abb. 71).

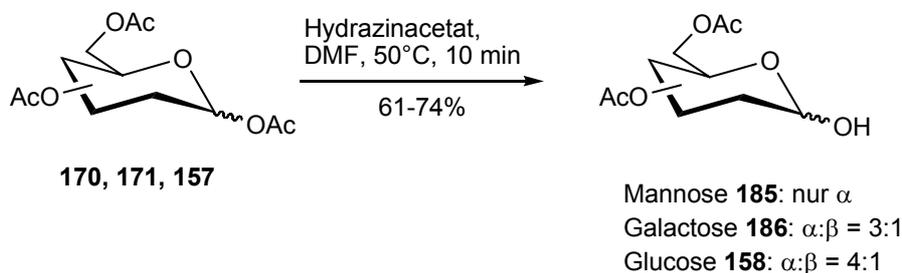


Abb. 71 Darstellung der Verbindungen **185**, **186** und **158**

Die entstandenen Anomerengemische konnten nicht chromatographisch getrennt werden, daher wurden die Verbindungen **185**, **186** und **158** direkt mit Bisbenzyl-*N,N*-di-*iso*-propylphosphoramidit **188** zur Reaktion gebracht. Zur Darstellung des Phosphoramidits **188** wurde Benzylalkohol in Diethylether gelöst, mit Triethylamin versetzt, und zu einer Lösung des Dichlor-*N,N*-di-*iso*-propyl-aminophosphans (Synthese auf S. 46 beschrieben) in Diethylether gegeben. Nach Filtration und chromatographischer Reinigung wurde **188** in 41 % Ausbeute erhalten (Abb. 72).

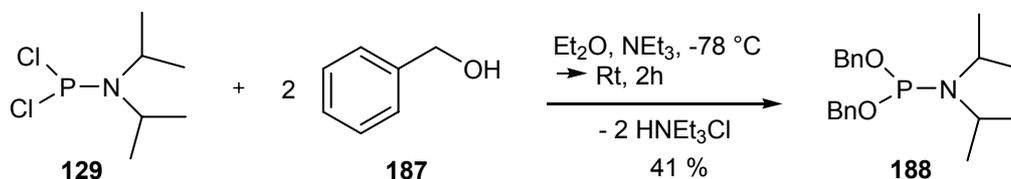


Abb. 72 Synthese des Amidits **188** mit Dichlor-*N,N*-di-*iso*-propylaminophosphan **129**

In der anschließenden Phosphorylierungsreaktion fungierte 1*H*-Tetrazol als Aktivator. Dieses bildet mit dem Phosphoramidit **188** nach Austritt von Di-*iso*-propylamin ein reaktives Tetrazolid und erleichtert somit den nucleophilen Angriff der Hydroxygruppe auf das Phosphoratom. Aufgrund der Einstufung von 1*H*-Tetrazol als explosionsgefährliche Verbindung wurde in jüngster Zeit das in der Oligonucleotidchemie standardmäßig eingesetzte Dicyanoimidazol (DCI) als Aktivator verwendet (Abb. 73).

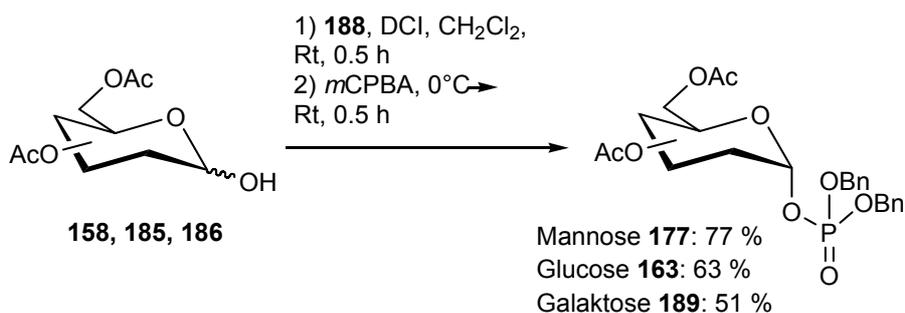


Abb. 73 Synthese der α -anomenreinen Glycosylphosphattriester **163**, **177** und **189**

Analog zur Darstellung der *cycloSal*-Nucleotide über die Phosphor(III)-Route (vgl. Kap. 4.2. und 4.2.5.) wurde der intermediär erzeugte Phosphitriester *in situ* mit 3-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBA) zum Phosphattriester oxidiert, wodurch die α -konfigurierten Verbindungen **163**, **177**, und **189** in Ausbeuten von 51-77 % erhalten wurden. Auf die Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid wurde in diesem Fall verzichtet, da es deutlich teurer als *m*CPBA ist und die Notwendigkeit strikt trockener Reaktionsbedingungen in diesem Fall nicht gegeben war. Die 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **185** als Ausgangssubstanz lag bereits als reines α -Anomer vor, auch der Bisbenzylphosphattriester **177** war α -anomenrein. Zur Reinigung war daher lediglich die Abtrennung des überschüssigen Phosphoramidits mittels einer schnellen Säulenfiltration nötig. Bisbenzyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -mannopyranosylphosphat **177** konnte so mit 77 % Ausbeute isoliert werden. Im Fall der Glucose- und Galactosederivate **163** und **189** mussten die α - und β -Anomere durch Säulenchromatographie voneinander getrennt werden. Die gewünschten α -anomenreinen Verbindungen wurden schließlich in 63 % und 51 % Ausbeute erhalten. Die β -konfigurierten Verbindungen **161** (Glc) und **176** (Gal) wurden mit dieser Methode in 16 % und 14 % Ausbeute isoliert und wurden zusammen mit den Verbindungen, die nach der Koenigs-Knorr-Methode gewonnen wurden, weiter umgesetzt.

Die anschließende hydrogenolytische Spaltung der Benzylschutzgruppen an Pd/C (10 %) verlief problemlos und führte zu den ungeschützten Phosphaten **180**, **190** und **191** in sehr guten Ausbeuten von 92-98 % (Abb. 74).

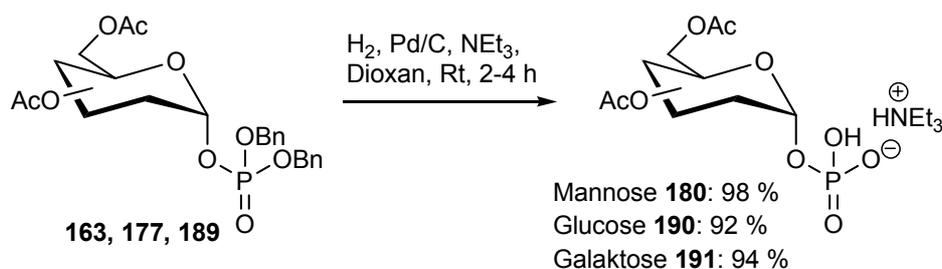


Abb. 74 Synthese der α -anomerenreinen Triethylammonium-2,3,4,6-tetra-O-acetylglycosyl-1-phosphate **180**, **190** und **191**

Die Phosphoramidit-Methode ist eine gut durchführbare Methode zur Darstellung von Glycosylmonophosphaten, die den Vorteil bietet, die α - und β -konfigurierten Monophosphate in nur einer Reaktion zu synthetisieren. Im Fall der D-Glucose und der D-Galactose war die Ausbeute der β -Anomere jedoch relativ gering. Daher wurde die Koenigs-Knorr-Methode als einfache Synthesemöglichkeit zusätzlich herangezogen, um die β -konfigurierten Glycosylmonophosphate darzustellen.

4.3.4. Darstellung der Gulosederivate **201-214**

Zur Untersuchung der Biosynthese von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien ist der XDP-Zucker Cytidindiphosphat-6-desoxy-D-gulose **134** von großer Relevanz. Zur Darstellung von 6-Desoxy-D-Gulosemonophosphat **214** wurde D-Gulono-1,4-lacton **200** als kommerziell erhältliche Ausgangsverbindung eingesetzt.

4.3.4.1. Versuch der Darstellung von D-Gulose **201**

Da D-Gulose **201** ein verhältnismäßig teures Monosaccharid ist, wurde zunächst versucht, diese aus dem entsprechenden D-Gulono-1,4-lacton **200** gemäß einer aus der Literatur^{102,103} bekannten Reduktion zu erhalten. Es wird angenommen, dass der Reduktionsschritt eine Furanose liefert. Diese wandelt sich durch Mutarotation in das für die D-Gulose unter den gegebenen Bedingungen typische Gleichgewichtsgemisch um. Das Lacton **200** wurde in Wasser gelöst und mit Natriumborhydrid reduziert. Dabei musste beachtet werden, dass die Reduktionsmischung nicht zu basisch wird, da das aus dem Lacton entstehende Natriumsalz der freien Säure nicht weiter reduziert worden wäre. Durch Zugabe von verdünnter Schwefelsäure wurde der pH-Wert der Lösung daher auf 3 bis 4 eingestellt (Abb. 75).

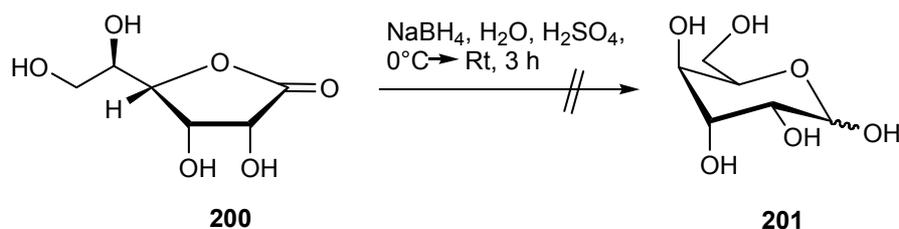


Abb. 75 Versuch der Reduktion von D-Gulono-1,4-lacton **200** mit Natriumborhydrid

D-Gulose **201** konnte auf diesem Wege nicht isoliert werden, da es vermutlich zu einer Überreduktion bis zum Gulitol **202** gekommen war (Abb. 76).

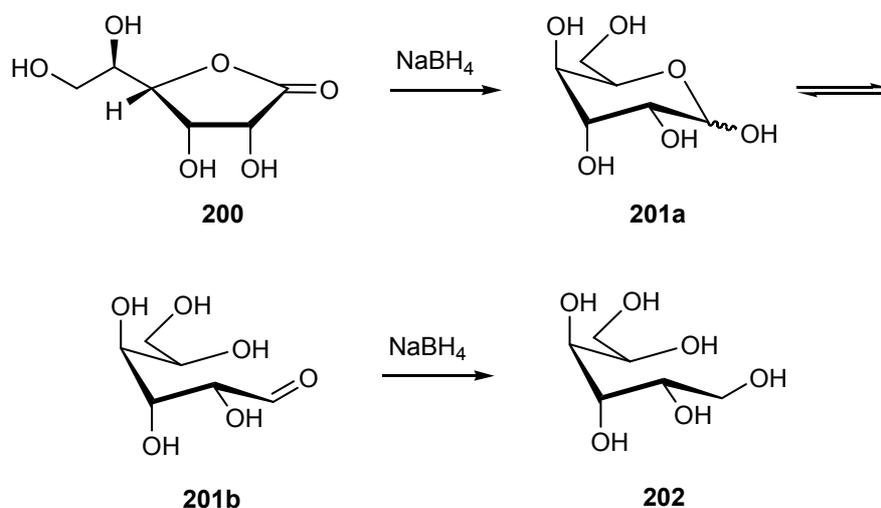


Abb. 76 Überreduktion von **200** zum Gulitol **202** durch Natriumborhydrid

Die vollständige Reduktion zu **202** verläuft über die acyclische Aldehydform **201b**, welche mit dem Halbacetal **201a** im Gleichgewicht steht. Eine energetische Begünstigung des Halbacetals sollte daher die Reduktion zu **202** unterbinden, wobei die Einflussnahme auf das Gleichgewicht über das Lösungsmittel vorgenommen werden sollte. Diese Versuche scheiterten unter anderem wegen der schlechten Löslichkeit des D-Gulono-1,4-Lactons **200**.

4.3.4.2. Synthese von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton **203**

Aufgrund der in Kapitel 4.3.4.1 gewonnenen Ergebnisse sollten die freien Hydroxygruppen des D-Gulono-1,4-Lactons **200** so geschützt werden, dass sich die Löslichkeit dieser Verbindung in organischen Lösungsmitteln deutlich erhöhen würde. Zudem sollten die verwendeten Schutzgruppen in einer nachfolgenden Reaktion basenstabil und nicht reduktiv abspaltbar sein. Eine einfache Möglichkeit

bot die Acetalisierung von Furanosen unter Standardbedingungen.^{104,105} Die Isopropyliden-Schutzgruppe wurde unter Verwendung von Aceton und geringer Mengen Schwefelsäure¹⁰⁶ zweifach in das Molekül eingeführt, das 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton **203** konnte nach Kristallisation in 66 % Ausbeute isoliert werden (Abb. 77).

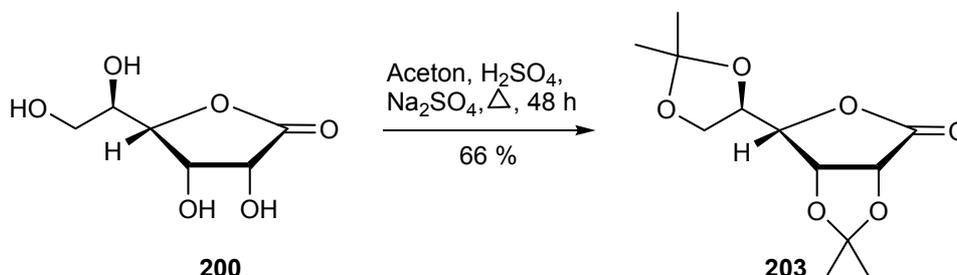


Abb. 77 Darstellung von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton **203**

Obwohl die D-Gulose **201** selbst ein cyclisches Halbacetal ist, ist diese gegenüber Säuren sehr viel stabiler als das korrespondierende Isopropyliden-Acetal. Es sollte also ohne weiteres möglich sein, die D-Gulose nach Reduktion der Carbonylgruppe durch vorsichtige saure Hydrolyse zu gewinnen.

4.3.4.3. Synthese von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lactol **204**

Die Reduktion des 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lactons **203** wurde mit Natriumborhydrid und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel bei 0 °C durchgeführt. Aus bislang ungeklärten Gründen konnte lediglich ein Gemisch aus dem Edukt und vielen unidentifizierbaren Produkten gewonnen werden. Alternativ erfolgte die Reduktion mit DIBAL-H in Toluol bei -78 °C binnen zwei Stunden.^{107,108,109} Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte die 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-Gulose in 52 % Ausbeute isoliert werden.

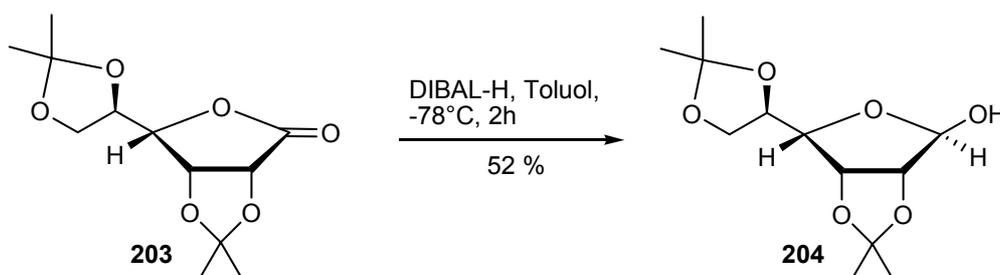


Abb. 78 Darstellung von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-Gulose **204**

An dieser Stelle sei erwähnt, dass im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **204** lediglich eine vicinale Kopplung zwischen dem anomeren Proton H-1 und der entstandenen Hydroxygruppe zu verzeichnen war. Gemäß der Karplus-Beziehung weist die fehlende vicinale Kopplung zwischen H-1 und H-2 auf eine orthogonale Stellung der Protonen zueinander hin.

4.3.4.3.1. Synthese von 1-Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-gulose **205**

Um die geschützte D-Gulose **204** an der C-6 Position reduzieren zu können, musste zunächst die neu formierte anomere Hydroxygruppe entsprechend geschützt werden. Eine Methylgruppe schien als Maskierung geeignet, da sie sich analog der Isopropyliden-Gruppen im sauren Milieu abspalten lässt. Nach einer gängigen Methode¹¹⁰ zur Methylierung der Hydroxy-Komponente wurden Natriumhydrid als Base und Methyljodid als Alkylierungsreagenz verwendet (Abb. 79).

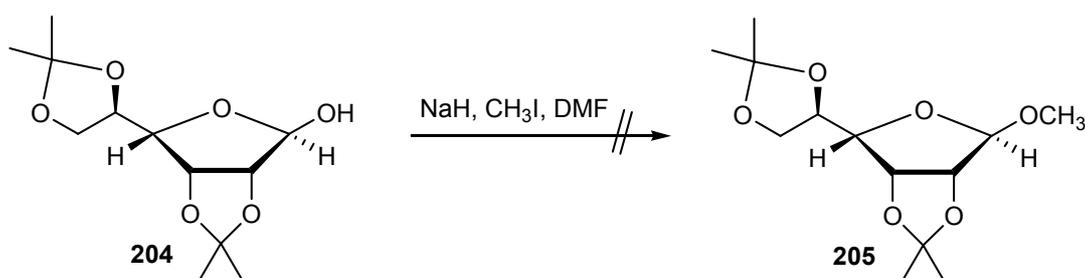


Abb. 79 Versuch der Synthese von 1-Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-Gulose **205**

Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur in DMF durchgeführt. Die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle zeigte einige Produkte, die allesamt polarer waren als das Edukt **204** was auf eine Zersetzung der Verbindung hindeutete.¹¹¹ Auch eine Reaktionsführung bei tiefer Temperatur ($-40\text{ }^\circ\text{C}$) änderte nichts an diesem Ergebnis. Daher wurde Kaliumhydroxid zur Deprotonierung verwendet und die Reaktion in THF durchgeführt. Um die Hydroxy-Gruppe möglichst vollständig in das Anion zu überführen wurde dem Reaktionsgemisch 18-Krone-6 zugesetzt.¹¹² Das Produkt wurde nach chromatographischer Reinigung mit 81 % Ausbeute erhalten (Abb. 80).

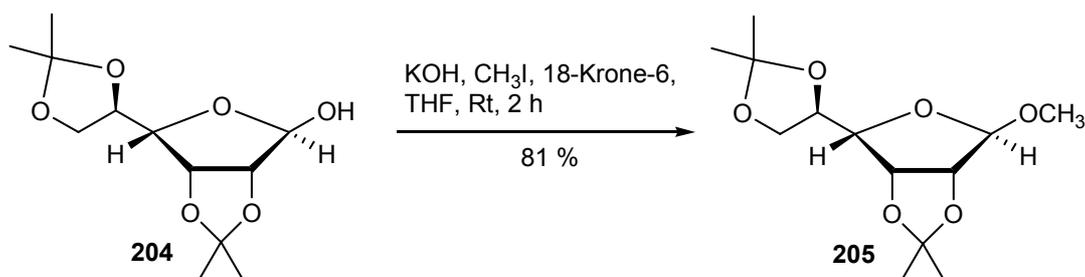


Abb. 80 Darstellung von 1-Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-gulose **205**

4.3.4.4. Synthese von 1-Methyl-2,3-O-isopropyliden-D-gulonolactol **206**

Die unterschiedliche Hydrolysestabilität der Isopropyliden-Gruppen im sauren Milieu wurde zur selektiven Deblockierung der 5,6-Isopropyliden-Gruppe genutzt. Da das primäre Sauerstoffatom an C-6 reaktiver ist wird das 5,6-Acetal vergleichsweise schnell gespalten.¹¹³ Die 2,3-Isopropylidengruppe und die anomere Methylgruppe sollten bei Verwendung einer milden Säure nicht angegriffen werden. 1-Methyl-2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulonolactol **205** wurde daher bei Raumtemperatur mit verdünnter Essigsäure behandelt. Das gewünschte Produkt **206** konnte nach kurzer Kieselgelfiltration in sehr guter Ausbeute von 92 % isoliert werden (Abb. 81).¹¹⁴

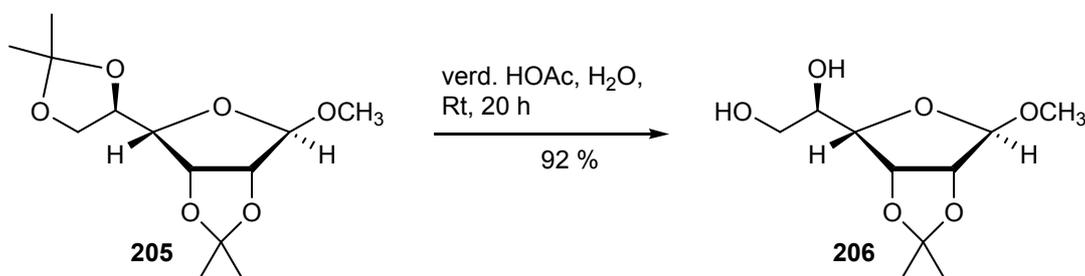


Abb. 81 Darstellung von 1-Methyl-2,3-O-isopropyliden-D-Gulonolactol **206**

4.3.4.4.1. Synthese von 1-Methyl-2,3-O-isopropyliden-5,6-di-O-mesyl-D-Gulose **207**

Um die wenig nucleofuge Hydroxy-Gruppe in der C-6-Position des D-Gulosederivates **206** entfernen zu können, musste diese vor der Substitutionsreaktion in eine bessere Abgangsgruppe überführt werden.¹¹⁵ Durch Reaktion von 1-Methyl-2,3-O-isopropyliden-D-gulonolactol **206** mit Mesylchlorid in Pyridin konnte die 1-Methyl-2,3-O-isopropyliden-5,6-di-O-mesyl-D-gulose **207** dargestellt werden (Abb. 82).

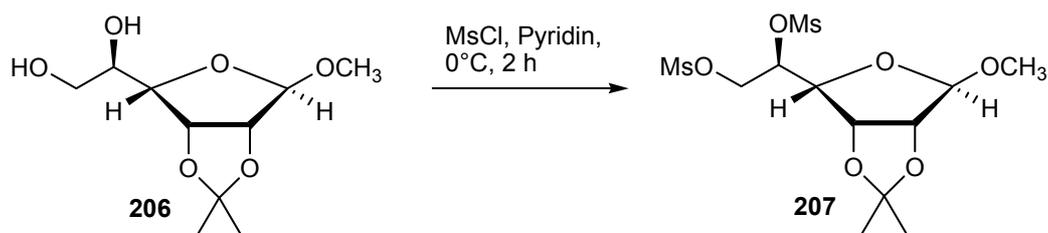


Abb. 82 Synthese von 1-Methyl-2,3-*O*-isopropyliden-5,6-di-*O*-mesyl-D-glucose **207**

Da die säulenchromatographische Reinigung Probleme bereitete und mit einer Umkristallisation hohe Ausbeuteverluste einher gingen, wurde die Verbindung **207** als Rohprodukt weiter umgesetzt und lediglich zu analytischen Zwecken teilweise gereinigt. Eine weitere Möglichkeit zur Aktivierung der 6-Position war die Überführung der freien Hydroxygruppen des Eduktes **206** in ihre Tosylate.^{116,117} Da die Reinigung des Produktes sich jedoch noch schwieriger gestaltete, wurde von dieser Variante im weiteren Verlauf abgesehen.

4.3.4.4.2. Synthese von 1-Methyl-6-desoxy-2,3-*O*-isopropyliden-D-gulosefuranosid **208**

Die Desoxygenierung an C-6-Position des mesylat-aktivierten Gulose-Derivates **207** erfolgte mit LiAlH_4 als Quelle nucleophiler Hydrid-Anionen.^{118,119} Hierbei wurde in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion lediglich die reaktivere Mesyl-Gruppe am primären Kohlenstoffatom angegriffen, das Mesylat am sekundären C-Atom hingegen wurde im Zuge der basischen Aufarbeitung zur Hydroxygruppe hydrolysiert (Abb. 83).

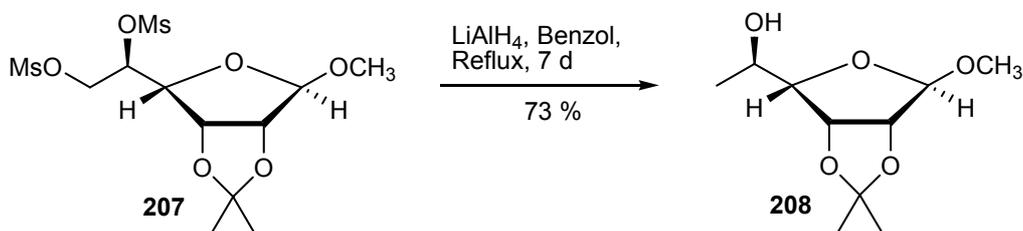


Abb. 83 Synthese von 1-Methyl-2,3-*O*-isopropyliden-6-desoxy-D-gulose **208**

Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan umkristallisiert und das desoxygenierte Gulosederivat **208** wurde in 73 % erhalten.

4.3.4.5. Darstellung der 6-Desoxy- β -D-gulose **209**

Zur Entschützung der desoxygenierten Verbindung **208** wurde erneut auf die Methode der schnellen Acetalspaltung⁷¹ (siehe Kap. 4.2.1.4.) zurückgegriffen. Dazu wurde **208** in Acetonitril gelöst, im Anschluß wurden H₂O und einige Tropfen HCl hinzugefügt. Das Gemisch wurde kurz zum Sieden erhitzt. Hierbei entweichen das bei der Isopropyliden-Spaltung entstehende Aceton und Methanol und werden so dem Gleichgewicht entzogen. Die vollständig entschützte, polare 6-Desoxy-gulose **209** befand sich nun in der wässrigen Phase und konnte nach Gefriertrocknung und Säulenchromatographie an RP-18 Kieselgel in 84 % isoliert werden (Abb. 84).

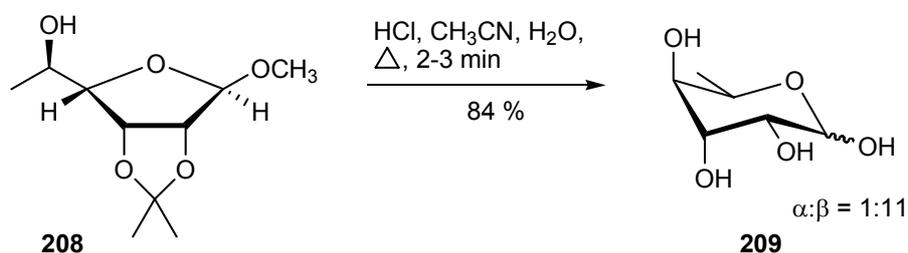


Abb. 84 Synthese von 6-desoxy-D-Gulose **209**

4.3.4.6. Darstellung von 6-Desoxy- β -D-Gulosemonophosphat **214**

Analog der in Kap. 4.3.2. beschriebenen Syntheseroute wurde zunächst die 6-Desoxy-gulose **209** mit Essigsäureanhydrid und Pyridin peracetyliert; die Verbindung **210** wurde in 80 % erhalten. Bemerkenswert ist das Vorliegen des reinen β -Anomers. Die selektive Entschützung der anomeren Hydroxyfunktion erfolgte mit Hydrazinacetat, nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde **211** mit 54 % Ausbeute und einem Anomerenverhältnis von $\alpha:\beta = 1:4$ isoliert. Zur Einführung der Phosphatgruppe wurde die Phosphoramiditmethode (siehe Kap. 4.3.3) gewählt, um das α - und β -konfigurierte 6-desoxy-D-Gulosemonophosphat in nur einem Syntheseschritt zu erhalten. Dazu wurde **211** mit Dibenzyl-diisopropylphosphoramidit sowie DCI versetzt und *in situ* mit *m*CPBA zur Phosphor(V)-Verbindung oxidiert. Nach säulenchromatographischer Trennung wurde das α -Anomer in 8 % Ausbeute erhalten, das β -Anomer konnte in 62 % isoliert werden. Da der nucleophile Angriff der anomeren Hydroxygruppe auf das Phosphoratom von **188** die Konfiguration am anomeren Zentrum von **211** unberührt lässt, entsteht das resultierende Zuckerphosphat vorwiegend β -konfiguriert. Das ursprüngliche Anomerenverhältnis

von $\alpha:\beta = 1:4$ wurde vermutlich aufgrund von Verlusten des α -Produktes bei der säulenchromatographischen Reinigung zu einem Anomerenverhältnis von $\alpha:\beta = 1:8$ verschoben. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde lediglich der β -Gulosephosphatriester **213** weiter umgesetzt. Nach hydrogenolytischer Abspaltung der Benzylgruppen wurde 6-Desoxy-gulose-monophosphat **214** in Form des einfachen Triethylammoniumsalzes mit 71 % Ausbeute erhalten (Abb. 85).

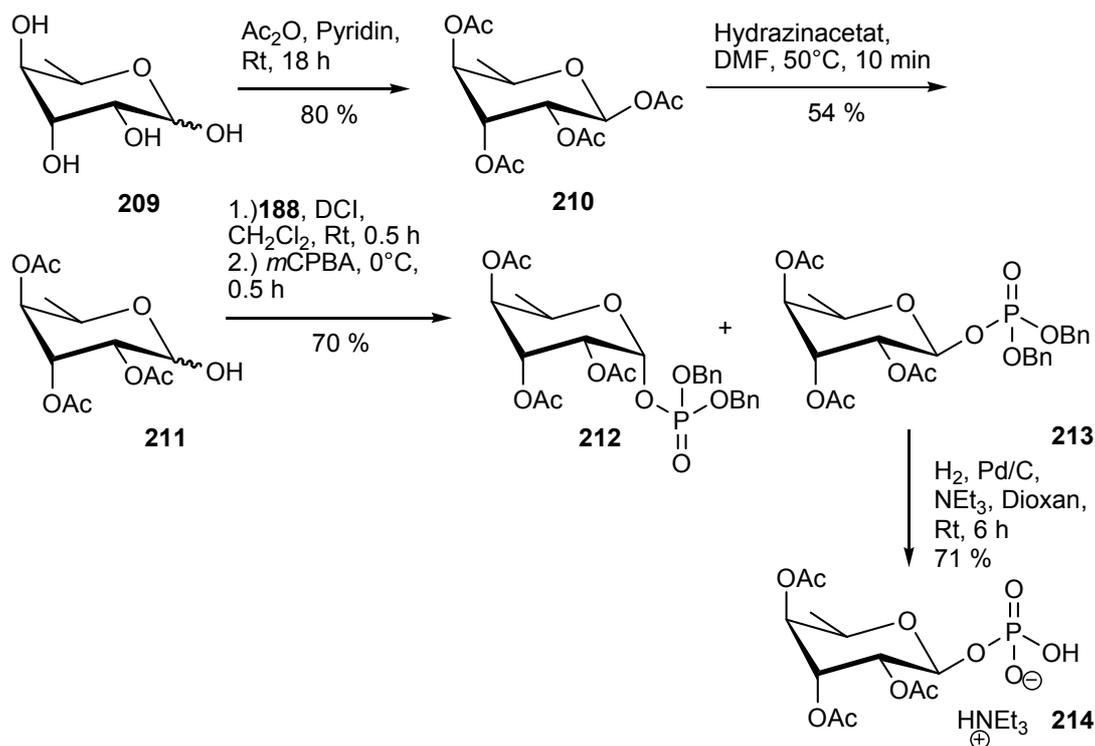


Abb. 85 Synthese von 6-Desoxy- β -D-gulosemonophosphat **214**

4.3.5. Versuch der Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose

Ein weiterer XDP-Zucker, der für Biosynthesestudien von Lipopolysacchariden gram-negativer Bakterien benötigt wird, ist Desoxythymidindiphosphat-6-desoxy-L-altrose. Diese Verbindung könnte durch nucleophilen Angriff eines vollgeschützten 6-Desoxy-L-altrose-monophosphats auf das 5-Nitro-*cyclo*Sal-3'-OAcdT-monophosphat **126** synthetisiert werden. Zur Darstellung des 6-Desoxy-L-altrose-monophosphats sollte zunächst die 6-Desoxy-L-altrose synthetisiert werden. Hierbei wurde die L-Altrose aufgrund der sehr hohen Anschaffungskosten nicht als Ausgangsmaterial verwendet. Die Synthesestrategie zur Darstellung der L-Altrose war die Epimerisierung der kostengünstigen D-Galactose in der 5-Position.

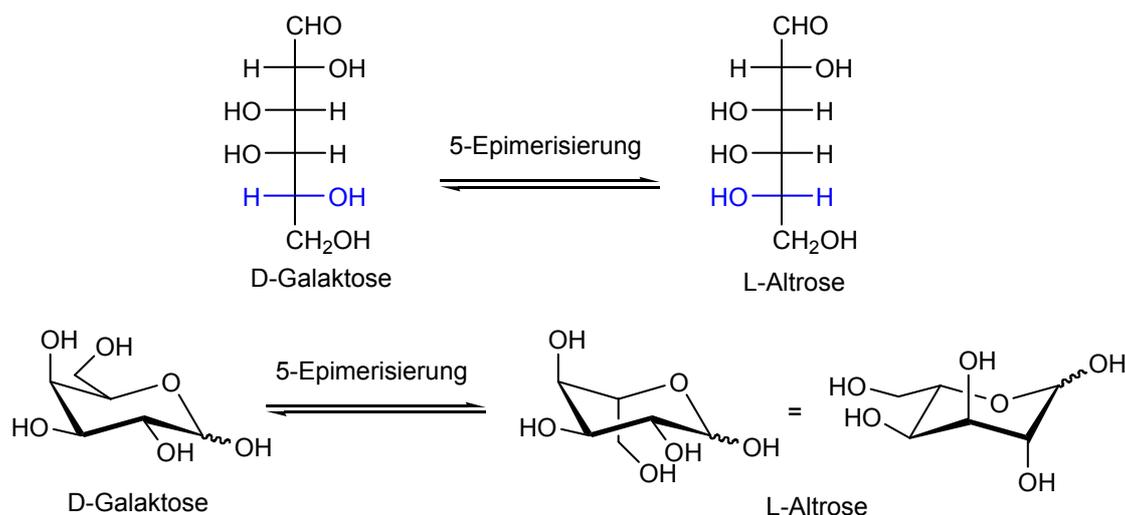


Abb. 86 5-Epimerisierung der D-Galactose

Dazu mussten die übrigen freien Hydroxygruppen der D-Galactose entsprechend geschützt werden. Um eine Epimerisierung zu ermöglichen, musste die Pyranose zudem in ihre offenkettige Form gezwungen werden. Unter Standardbedingungen wurde kommerziell erhältliche Methyl- α -D-galaktopyranose vollständig benzyliert und anschließend mit Trifluormethansulfonsäure an der anomeren Position selektiv entschützt. Zur Ringöffnung wurde **144** in Gegenwart von Trifluoressigsäure mit Ethanthiol behandelt. Aufgrund der höheren Nucleophilie des Schwefels im Vergleich zum Sauerstoff bildet sich hier bevorzugt das Dithioacetal.¹²⁰ Das zunächst entstehende Oxocarbeniumion wird über die freien Elektronenpaare des Schwefels nucleophil angegriffen, es entsteht ein Thioglykosid. Durch anschließende Protonierung des Ringsauerstoffatoms kommt es zur Ringöffnung unter Entstehung eines planaren Carbeniumions an C-1. An dieses Carbeniumion kann sich erneut Ethanthiol unter Bildung des Dithioacetals **145** anlagern. Die Umkehrung der Konfiguration der Hydroxyl-Gruppe am C-5 Atom sollte mit Hilfe der Mitsunobu-Inversion¹²¹ erfolgen (Abb. 87). Dabei sollte Triphenylphosphin mit Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) zu einem zwitterionischen Addukt reagieren, das die Benzoesäure durch seine Basizität deprotoniert. Die Hydroxylgruppe von **145** sollte nun den positiv geladenen Phosphor angreifen, wobei sich ein Oxophosphoniumsalz unter Abspaltung eines Hydrazinderivates bilden sollte. Dann sollte die eigentliche nucleophile Substitution durch Angriff der Benzoesäure auf das C-5 Atom unter Inversion der Konfiguration erfolgen. Der entstehende Ester sollte anschließend unter Retention der Konfiguration verseift werden. Bei der Umsetzung

von **145** mit Benzoesäure unter Mitsunobu-Bedingungen konnte aus bislang ungeklärten Gründen kein Produkt gebildet werden. Im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum wurde lediglich das Edukt identifiziert.

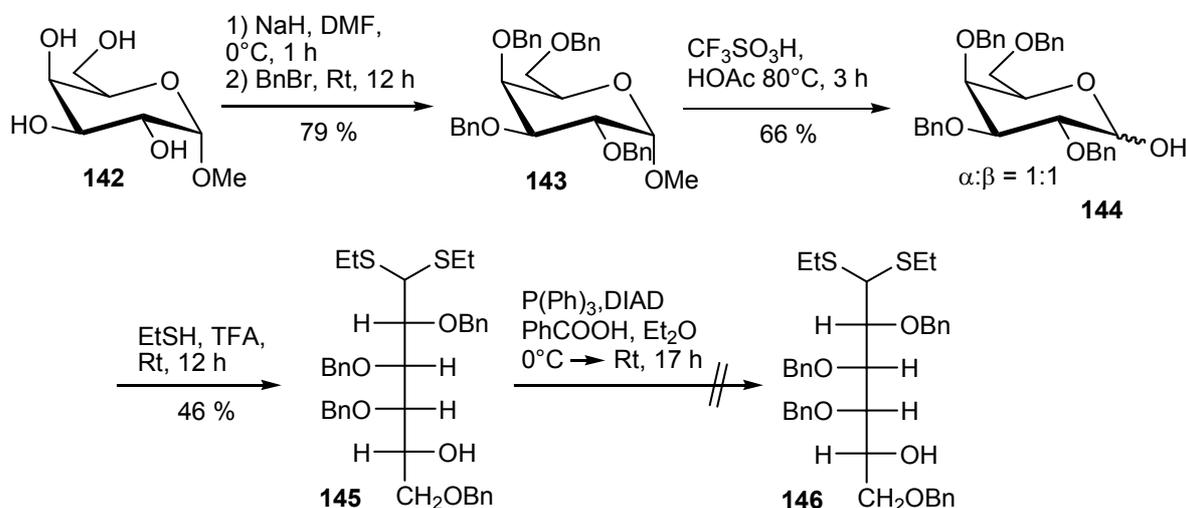


Abb. 87 Versuch der Darstellung von L-Altrose

Eine andere Möglichkeit der Epimerisierung wäre die Oxidation der 5-Hydroxylgruppe mit anschließender stereoselektiver Reduktion. Nach erfolgreicher Epimerisierung müsste das Thioacetal wieder gespalten werden. Da Dithioacetale gegenüber Säurehydrolyse aufgrund der geringeren Basizität des Schwefels meist beständiger sind als ihre Sauerstoffanaloge, müsste hier unter Umständen eine Alternative untersucht werden.

Da die L-Altrose im NDP-Zucker desoxygeniert vorliegen soll, wurde die D-Galactose parallel zur Epimerisierung am C-6 Atom reduziert. Hierzu wurden die sekundären Hydroxyfunktionen von **132** durch Einführung der Isopropyliden-Schutzgruppe in 75 % Ausbeute acetalisiert. Die primäre Hydroxyfunktion wurde durch Reaktion mit *para*-Toluolsulfonsäurechlorid zunächst in eine bessere Abgangsgruppe überführt und anschließend mit Natriumborhydrid in 72 % Ausbeute reduziert (Abb. 88). Die Isopropyliden-Gruppen sollten im sauren Milieu abspaltbar sein. Die 6-Desoxy-D-Galactose könnte dann analog zur oben beschriebenen Synthesestrategie epimerisiert werden.

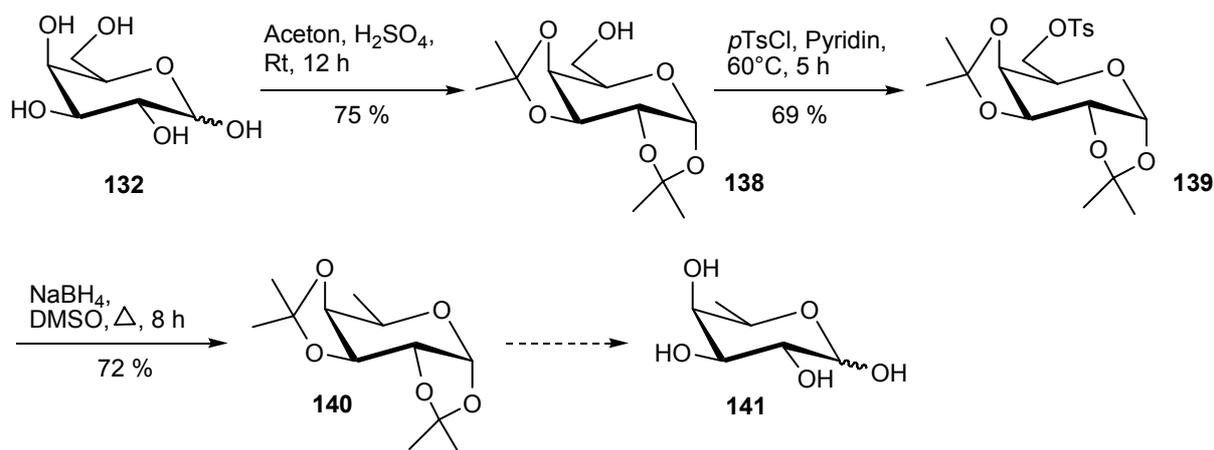


Abb. 88 Darstellung der 6-Desoxy-D-galactose **141**

4.4. Synthese von Nucleosiddiphosphat-Pyranosen

4.4.1. Die Morpholidat-Methode

Um in der Synthese und Reinigung von polaren XDP-Zuckern erste Erfahrungen zu sammeln, wurde 2'-Desoxythymindiphosphat-D-glucose **223** als Referenzverbindung nach der mittlerweile als Standardverfahren etablierten Morpholidat-Methode, erstmalig beschrieben von Moffat und Khorana (Kap. 2.2., S. 7),¹⁶ synthetisiert.

4.4.1.1. Synthese von 2'-Desoxythymidin-diphosphat-D-glucose **223**

Zur Darstellung der Schlüsselverbindung dT-5'-Morpholidat **219** in der Morpholidat-Kupplungs-Reaktion wurde 2'-Desoxythymidin-5'-monophosphat **215** benötigt, das aus dem entsprechenden 2'-Desoxythymidin durch Phosphorylierung der 5'-Hydroxyfunktion synthetisiert werden sollte. In der Literatur finden sich zahlreiche Synthesemöglichkeiten zur Phosphorylierung von Alkoholen.^{122,123,124} Eine einfache Möglichkeit ist die Reaktion des Alkohols mit Phosphorylchlorid zu einem Phosphordichloridat, das nach Hydrolyse in das gewünschte Monophosphat überführt werden kann.¹²⁵ Im Fall von Nucleosiden, die eine freie Hydroxyfunktion in 3'-Position tragen, kann es jedoch in einer Nebenreaktion zur Bildung eines cyclischen 3',5'-Phosphatdiesters kommen. Eine weitere Methode zur Synthese von Nucleosidmonophosphaten beruht auf der selektiven Spaltung von Phosphatresten. Zwei der Alkylphosphatbindungen werden hierbei so gewählt,

dass sie gezielt unter Erhalt der dritten Phosphorsäureesterbindung gespalten werden können. Eine Anwendung dieser kontrollierten Spaltungsreaktion stellt die Hydrolyse eines entsprechenden *cycloSal*-Phosphattriesters dar (Abb. 89). Nach nucleophilem Angriff eines Hydroxidions auf den Phosphattriester **220** wird zunächst die Phenylesterbindung als labilste der drei Alkylphosphatbindungen gespalten. Diese Spaltung leitet wiederum einen spontanen Bindungsbruch der Benzylesterbindung ein, der zur Freisetzung des Monophosphats **222** führt.

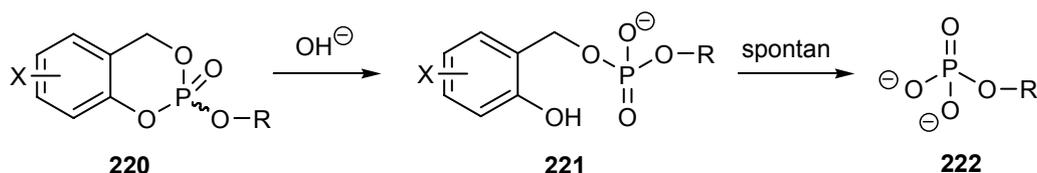


Abb. 89 Hydrolyse eines *cycloSal*-Phosphattriesters **220** zum Monophosphat **222**

Wie bereits in Kap. 2.3. erläutert, wurde das *cycloSal*-Konzept primär als Prodrug-System zur intrazellulären Freisetzung von Nucleosidmonophosphaten entwickelt. Da diese Freisetzung lediglich aus einem Anstieg des pH-Wertes beim Übergang ins Cytosol resultiert und somit nicht auf einer enzymatischen Aktivierung basiert, kann diese Methode auch zur Darstellung von Nucleosidmonophosphaten im Labormaßstab herangezogen werden.^{126,127} Die Hydrolysegeschwindigkeit von *cycloSal*-Phosphattriestern kann durch Acceptorsubstituenten am aromatischen Ring in *para*-Stellung zur phenylischen Esterbindung deutlich erhöht werden. Aus diesem Grund wurde zur Generierung von 2'-Desoxythymidin-5'-monophosphat **215** 5-Chlor-*cycloSal*-3'-O-acetyl-dT-mono-phosphat **111** in Acetonitril und Wasser gelöst und mit Triethylamin versetzt. Die Darstellung von **111** wurde in Kap. 4.2.5.1, S. 41 beschrieben. Das Rohprodukt wurde durch Chromatographie an RP-C18-Kieselgel gereinigt, das gewünschte dT-Monophosphat **215** wurde zu 43% in Form des Triethylammoniumsalzes erhalten (Abb. 90).

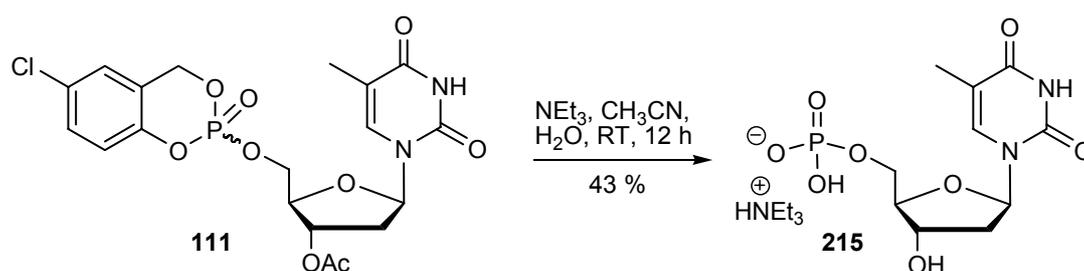


Abb. 90 Synthese von dT-Monophosphat **215** durch basische Hydrolyse von **111**

Durch Elution des Thymidinderivates **215** an einer mit Protonen beladenen Ionenaustauschersäule wurde versucht, das Monophosphat **215** in Form der freien Säure zu erhalten. Da **215** vermutlich aufgrund der zu hohen Acidität des Ionenaustauscherharzes zerfiel, wurde die Verbindung in Form des Triethylammoniumsalzes weiter umgesetzt.

Zur Synthese des dT-5'-Morpholidats **219** wurde das Monophosphat **215** mit je vier Äquivalenten Morpholin und DCC in wässrigem *tert*-Butanol unter Rückfluss erhitzt.¹²⁸ (Abb. 91).

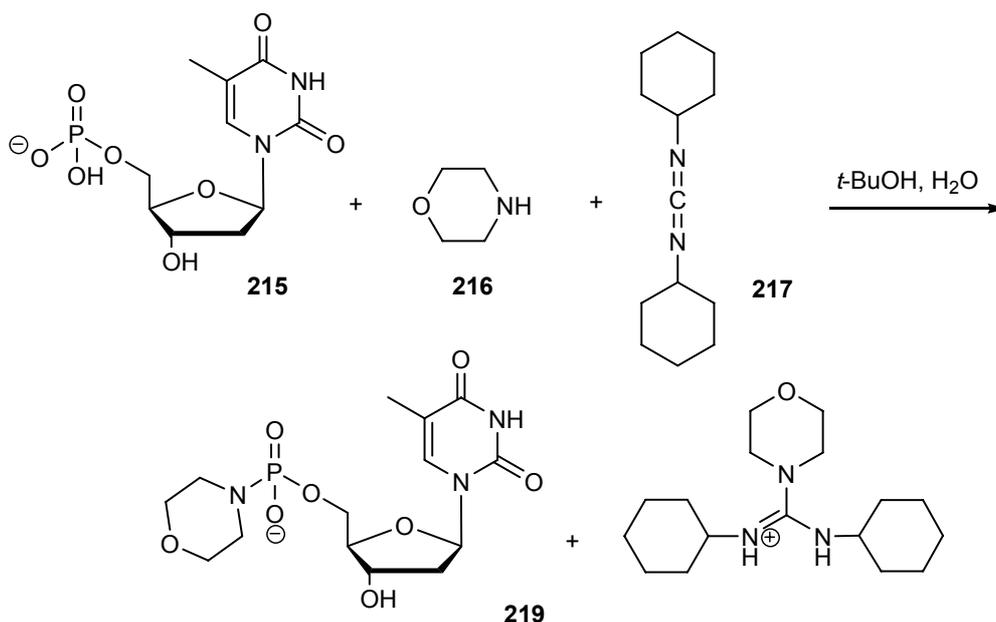


Abb. 91 Synthese des dT-5'-Morpholidats **219**

Da sich die Reinigung als schwierig erwies, wurde **219**, in Anlehnung an die Literatur, in verunreinigter Form als 4-Morpholino-*N,N*'-dicyclohexylcarboxamidinium-Salz zur Kupplung eingesetzt.

Die Kupplung des dT-5'-Morpholidats **219** wurde mit Tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose-1-phosphat **149** bei Raumtemperatur in Pyridin durchgeführt (Abb. 92). Erstaunlich ist, dass sich in nahezu der gesamten Literatur, welche sich der Morpholidat-Kupplung bedient, ein verfestigtes Syntheseprotokoll durchgesetzt hat. Es wird fast ausschließlich absolutes Pyridin als Lösungsmittel neben größeren Mengen an 1*H*-Tetrazol als Aktivator und Pyranosylphosphaten in Form ihrer Mono- und Tri-*n*-octylammonium-Salze verwendet.

Zunächst sollte die Reaktion ohne 1*H*-Tetrazol durchgeführt werden. Da die Morpholidat-Kupplung strikte Schlenk-Bedingungen erfordert, wurden sowohl das

dT-5'-Morpholidat **219** als auch das Pyranosylphosphat **149** zur Entfernung von Kristallwasser mehrfach mit Pyridin co-evaporiert. Tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose-1-phosphat **149** wurde als Triethylammoniumsalz eingesetzt, das Reaktionsgemisch wurde entsprechend der Literatur 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt.

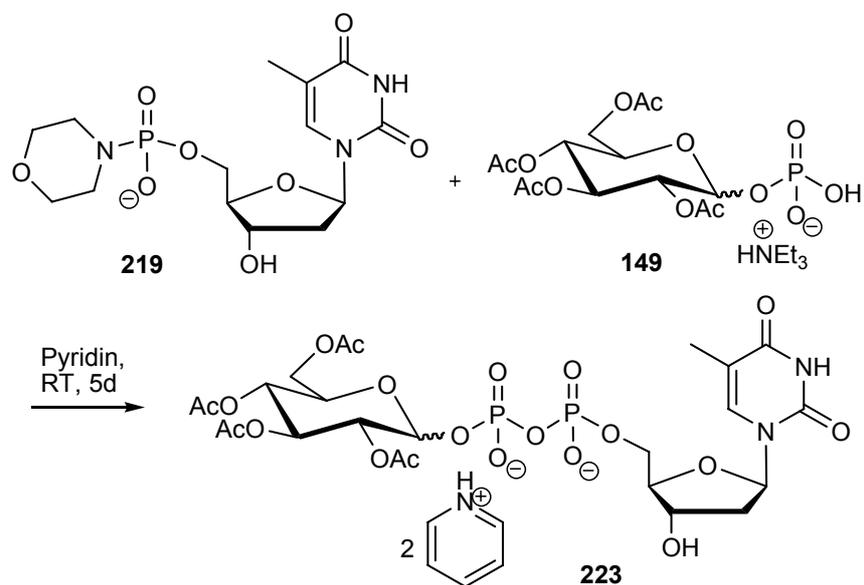


Abb. 92 Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat-tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose **223** nach der Morpholidat-Methode

Allerdings waren nach dieser Reaktionszeit beide Edukte (**219**, **149**) noch dünnschichtchromatographisch detektierbar. WITTMANN und WONG publizierten in diesem Zusammenhang eine modifizierte Morpholidat-Kupplung, bei der 1*H*-Tetrazol als Aktivator fungiert.²⁵ Bei den üblicherweise verwendeten Mengen von 2.5 bis 5 Äquivalenten soll sowohl eine Reaktionsbeschleunigung als auch eine Ausbeuteerhöhung durch die Kombination von Nucleophilie und Acidität des Aktivators erreicht werden. 1*H*-Tetrazol wird gewöhnlich zur Aktivierung von Phosphoramiditen in der Oligonucleotidsynthese eingesetzt.^{129,130,131} Im Fall der Morpholidat-Kupplung protoniert das 1*H*-Tetrazol als schwache Säure (pK_a -Wert = 4.9) ebenfalls den Stickstoff der Austrittsgruppe –hier das Morpholin- und bildet ein hochreaktives Tetrazolid **224** (Abb. 93).

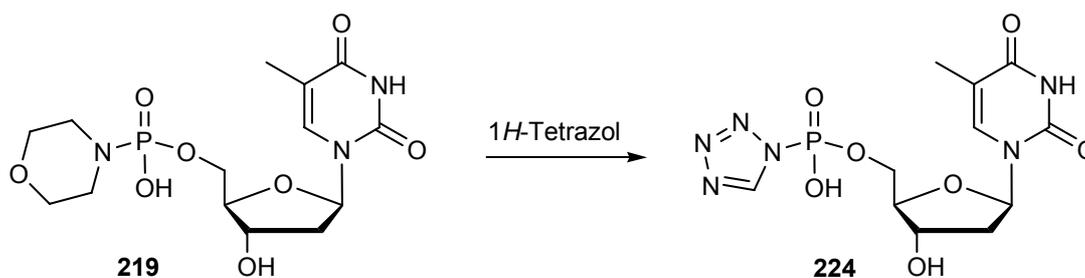


Abb. 93 Entstehung des Tetrazolids **224** während der Morpholidat-Kupplung unter *1H*-Tetrazol-Aktivierung

Dieses während der Kupplung intermediär auftretende Tetrazolid wurde mittels MALDI-TOF-Untersuchungen des Reaktionsmediums nachgewiesen. Der nucleophile Angriff des Glycosyl-1-Phosphats auf das Phosphoratom wird durch die intermediäre Tetrazolid-Bildung erleichtert und das Zuckernucleotid demzufolge schneller gebildet.

Obwohl Essigsäure einen nahezu identischen pK_a -Wert von 4.75 besitzt, vermag diese nicht, die Kupplung zu beschleunigen, was darauf hindeutet, dass es sich bei der Reaktionsbeschleunigung durch *1H*-Tetrazol nicht um eine bloße Säurekatalyse handelt. Andererseits hat 1,2,4-Triazol, das in Pyridin ein stärkeres Nucleophil als *1H*-Tetrazol ist¹³², einen sehr geringen Effekt auf den Umsatz im Vergleich zur unkatalysierten Reaktion.

Um den Einfluss des *1H*-Tetrazols zu untersuchen, wurde die Kupplung in Pyridin bei Raumtemperatur wiederholt. Die Einwaagen der Reaktanden **219** und **149** wurden konstant gehalten, die Menge an *1H*-Tetrazol variierte von einem bis hin zu fünf Äquivalenten, bezogen auf das eingesetzte dT-5'-Morpholidat. In keinem Fall konnte ein vollständiger Umsatz der Edukte mittels dünnschichtchromatographischer Reaktionsverfolgung beobachtet werden, auch wenn die Reaktionen teilweise bis zu 2 Wochen rührten. Es schien, als würde die Reaktion auch mit *1H*-Tetrazol-Aktivierung nach geraumer Zeit zum Erliegen kommen. Da die Reinigung der 2-Desoxy-thymidindiphosphat-tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose **223** anfangs Schwierigkeiten bereitete und somit die Ausbeutebestimmung nur eingeschränkt möglich war, sollte der Effekt des *1H*-Tetrazols NMR-spektroskopisch untersucht werden. Dazu wurde die Reaktionslösung mit deuteriertem DMSO (Pyridin/DMSO- d_6 = 7:3) versetzt und nach 10 min Reaktionszeit eine Probe dieser Lösung analysiert. Das ^{31}P -NMR-

Spektrum war infolge der starken Linienverbreiterungen, die vermutlich von den dynamischen Effekten der in der Reaktionslösung vorhandenen Salze herrührten, nicht auswertbar. Auch die Probenentnahme- und Analyse nach 5 d lieferte kein aussagekräftiges ^{31}P -NMR Spektrum. Die Ergebnisse ließen zu diesem Zeitpunkt keine definitive Aussage über den Effekt des 1*H*-Tetrazols während der Morpholidat-Kupplung zu. Es wurde jedoch nach ersten Vortrennungen von **223** vermutet, dass der Nutzen von 1*H*-Tetrazol vernachlässigbar ist, insbesondere wenn man dessen Kosten sowie die mittlerweile eingeschränkte kommerzielle Verfügbarkeit gegenüberstellt.

Nach Durchführung erster Reinigungen der 2-Desoxy-thymidindiphosphat-tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose **223** konnte in mehreren Fällen ein Nebenprodukt isoliert werden, bei dem es sich um das Homodimer des Nucleotids **215** handelt.¹³³ Dieses symmetrische Dinucleosiddiphosphat, das sich in einer Größenordnung von 15 % isolieren ließ, zeigt im ^{31}P -NMR Spektrum nur ein Singulett bei -10.0 ppm. Es wird wahrscheinlich durch die Kupplung eines als Morpholidat aktivierten Phosphats mit einem durch Hydrolyse entstandenen NMPs während der Kupplung gebildet. Die Hydrolyse könnte auf das trotz mehrfacher Coevaporation nicht eliminierte Kristallwasser zurückzuführen sein.

Um einen besseren Umsatz zu gewährleisten kann zum einen das Nucleosidmonophosphat aktiviert und damit die Austrittsgruppentendenz des Morpholins erhöht werden, was im Fall des 1*H*-Tetrazols scheiterte. Zum anderen kann die Nucleophilie des Pyranosylphosphats durch Austausch des Gegenions erhöht werden. Größere, lipophilere Kationen wie beispielsweise Tetra-*n*-butyl- oder Tetra-*n*-octylammonium-Ionen erhöhen sowohl die Nucleophilie des Phosphats als auch dessen Löslichkeit.^{134,135} Der Austausch des Gegenions erfolgte in diesem Fall durch Elution des geschützten Glucose-Phosphats **149** an einer mit *n*-Octylammonium-Ionen beladenen Ionenaustauschersäule. Hierbei wurde ein Austausch von Triethylammonium gegen *n*-Octylammonium zu 80 % erreicht. Auch bei Einsatz des Glucose-Phosphats **149** in Form des *n*-Octylammoniumsalzes wurde nach 5 d keine signifikante Umsatzsteigerung erreicht, das dT-5'-Morpholidat war dünnschichtchromatographisch weiterhin detektierbar. Das ^1H -NMR-Spektrum der 2-Desoxy-thymidindiphosphat-tetra-*O*-acetyl- α/β -D-glucose **223**, die mit Hilfe der

Morpholidat-Kupplung in Pyridin synthetisiert wurde, weist Pyridinium-Ionen als Gegenionen auf. Daraus lässt sich die Annahme ableiten, dass es während der Kupplung mit der Zeit zu einem Austausch des Glycopyranosylphosphat-Gegenions durch ein Pyridinium-Ion kommt. Da die Phosphate schließlich als vollständig Pyridinium-assoziierte Salze vorliegen, verläuft die Morpholidat-Kupplungsreaktion vermutlich weitgehend unabhängig von der Beschaffenheit des Gegenions.

Für die Darstellung der UDP-Galactose aus dem entsprechenden D-Galactose-Phosphat in Form seines Trioctylammoniumsalzes unter 1*H*-Tetrazol-Aktivierung publizierten WITTMANN und WONG eine Ausbeute von 91 %. Diese Ausbeute ist beeindruckend, wenn man die oben beschriebenen Beobachtungen des unvollständigen Umsatzes des Nucleosid-Morpholidats und die Bildung von Nebenprodukten in nicht unerheblichen Mengen bedenkt.

4.4.1.2. Isolierung und Analytik von D-Glucose-thymidin-diphosphat

Bei der Darstellung der XDP-Zucker war die Kupplung des Glycopyranosylphosphats mit dem aktivierten NMP vergleichsweise unproblematisch, die anschließende Trennung der polaren Substanzen hingegen stellte die eigentliche Herausforderung dar.¹³⁶ Nach der Morpholidat-Kupplung konnten aus dem ³¹P-NMR-Spektrum das Produkt **223** identifiziert und diverse zu dem Zeitpunkt nicht näher charakterisierte Nebenprodukte festgestellt werden (Abb. 94). Die Pyrophosphatbrücke des XDP-Zuckers **223** liefert die jeweils zum Dublett aufgespalteten Signale bei -10.0 ppm und -12.4 ppm mit einer für geminale Phosphatkopplungen typischen Kopplungskonstante¹³⁷ von 18.9 Hz im ³¹P-NMR. Bei den kleineren, den Dubletts benachbarten Signalen könnte es sich um Anomere handeln, da im Fall des Glucosephosphates **149** ein Anomerengemisch vorlag. Die Signale im Bereich zwischen 2 und 4 ppm stammen von nicht umgesetzten Edukten und entstandenen Nebenprodukten. Hier absorbieren typischerweise Monophosphate, die durch Hydrolyse des Produktes entstanden sein könnten. Das Dublett bei -10.0 ppm zeigt nicht die Symmetrie, die das Dublett bei -12.4 ppm aufweist, zudem stimmt die jeweils separat integrierte Fläche der Signale nicht überein. Der Grund hierfür könnte das bereits erwähnte pyrophosphatverbrückte symmetrische Homodimer des Nucleotids **215** sein.

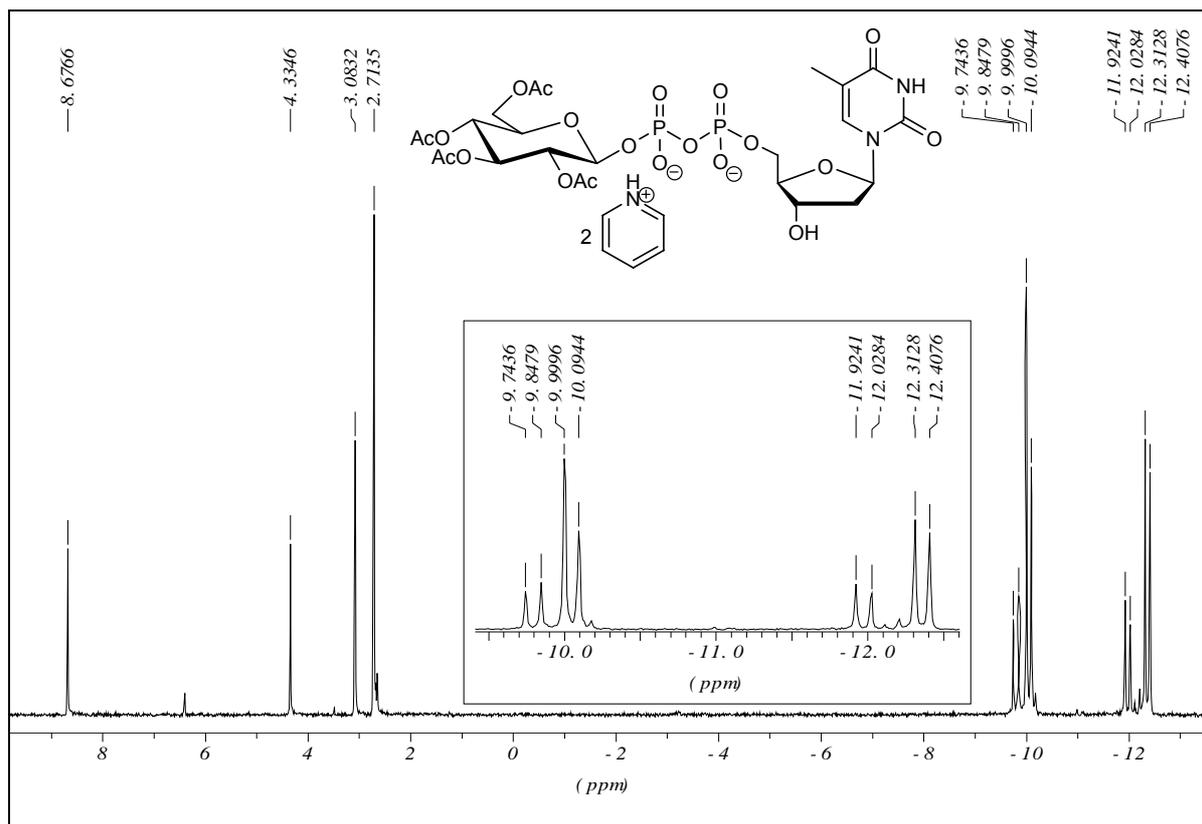


Abb. 94 ^{31}P -NMR-Spektrum nach einer Morpholidat-Kupplung

Um eine erste Reinigung durchzuführen wurde das Rohprodukt auf Biogel P-2 aufgetragen. Dieses aus Polyacrylamid bestehende Gel dient der Gelpermeationschromatographie als Trägermaterial, die auch als Größenausschlußchromatographie bezeichnet wird. Es werden kugelförmige Polymere verwendet, die in Abhängigkeit ihres Vernetzungsgrades verschieden porös sind. In die Poren dieser Matrices können kleinere Substanzen diffundieren. Da die Trennung im Sinne des umgekehrten Siebeffekts erfolgt, d.h. Substanzen mit einem höheren Molekulargewicht schneller eluiert und die niedermolekularen zurückgehalten werden, wird diese Methode auch häufig zur Entsalzung in der Proteinchemie verwendet.^{138,139} Für die vorliegende Problemstellung könnte diese Variante zur Abtrennung des XDP-Zuckers, der sich in der Größe deutlich von den Edukten und den meisten Nebenprodukten unterscheiden sollte, dienen. Die Elution erfolgte isokratisch mit Ammoniumhydrogencarbonat als Puffer. Aufgetragen wurden eine für das Säulenvolumen adäquate Menge von 300 mg Rohprodukt. Die aufgetragene Konzentration des XDP-Zuckers **223** ist für die Trennleistung irrelevant. Mit diesem Verfahren konnten einige Verunreinigungen, die laut ^1H -NMR in geringen Mengen vorhanden waren, abgetrennt werden. Um die entscheidende

Trennung der einzelnen Phosphate voneinander zu gewährleisten, hatte sich die Methode jedoch im Laufe dieser Arbeit als ungeeignet erwiesen. WITTMANN und WONG beschrieben die Isolierung von reiner GDP-Fucose nach nur einmaliger Reinigung des XDP-Zuckers an Biogel P-2.²⁵ Einige Arbeitsgruppen hingegen publizieren eine vollständige Reinigung erst nach mehrfacher Trennung an Biogel P-2.^{140,141} Diese Ergebnisse konnten nicht nachvollzogen werden, da auch nach dreimaliger Reinigung an Biogel P-2 keine vollständige Abtrennung der Nebenprodukte von **223** erreicht werden konnte.

Eine alternative Form der Größenausschlußchromatographie, die in der Literatur häufig zur Trennung von polaren Verbindungen verwendet wird, ist die Reinigung an Sephadex LH 20.^{142,143} Hierbei handelt es sich um ein hydroxypropyliertes Dextrangel, das aufgrund der zahlreichen Hydroxyl-Gruppen eine stark polare stationäre Phase darstellt. Verwendet man als mobile Phase beispielsweise das weniger polare Aceton, so können auch Verbindungen mit geringem Polaritätsunterschied sehr gut voneinander getrennt werden.¹⁴⁴ Die Trennung erfolgt also zum einen nach dem Ausschlußkonzept der Gelpermeationschromatographie und zum anderen aufgrund unterschiedlich starker Adsorptionen der einzelnen Produkte. Der XDP-Zucker **223** konnte dennoch mit diesem Verfahren auch nach wiederholtem Auftragen des Rohproduktes auf Dextrangel nicht in reiner Form isoliert werden. Vermutlich unterscheiden sich die im Rohgemisch vorhandenen Verbindungen hinsichtlich ihrer Größe und ihrer Polarität nicht in dem Maße, die für eine erfolgreiche Trennung über Gelpermeationschromatographie notwendig wäre.

Die dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung erfolgt bei der Zuckernucleotid-Synthese idealerweise mit unpolarem "reversed-phase" Kieselgel, da die polaren Reaktanden auf herkömmlichen Kieselgel-Folien selbst mit einem stark polaren Fließmittel nicht wandern. Die Reihenfolge, in der die Substanzen aufgetrennt werden ist hierbei umgekehrt, d.h. die polaren Moleküle wandern rascher. Die RP-18-Dünnschichtchromatographie kann auch präparativ genutzt werden, HINDSGAUL *et al.* nutzten diese Trennmethode unter anderem zur Isolierung verschiedener Desoxyanaloga von UDP-GlcNAc.¹⁴⁵ Zur Isolierung von **223** trugen sie das Rohgemisch auf einer mit RP-18-Material beschichteten Glasplatte auf. Als Laufmittel wurde ein polares Lösungsmittelgemisch aus Isopropanol,

Ammoniumhydroxid und Wasser verwendet. Die entstandenen drei Produktbanden wurden mechanisch von der Platte abgekratzt und separat mit einem Gemisch aus Isopropanol und Wasser extrahiert. Eine anschließende NMR-spektroskopische Analyse zeigte, dass sich die gewünschte Nucleosiddiphosphatpyranose **223** in keiner der aus den einzelnen Banden extrahierten Fraktionen befand. Die Gründe hierfür könnten sowohl eine nicht ausreichende Extraktion des Kieselgels als auch eine unzureichende Stabilität des Zuckernucleotids während der Extraktion gewesen sein.

Ein standardmäßig eingesetztes Verfahren zur Trennung von geladenen Verbindungen stellt die Reversed-Phase-HPLC dar. Im Folgenden wurde versucht, das vorgereinigte Produkt über eine RP-18-Säule an einer semipräparativen HPLC zu isolieren. Zunächst wurde das Verhältnis von Acetonitril und Triethylammoniumhydrogencarbonat als isokratischem Laufmittel variiert, es gelang jedoch bei keiner Trennung reproduzierbare Retentionszeiten zu erhalten. Die Ursache hierfür könnte die Vielzahl der unterschiedlichen Gegenionen im Produktgemisch sein, die zu einer Verschiebung der Signale führen.

Um die Trennung durch Veränderung der Polarität der Edukte eventuell zu verbessern, wurde die Morpholidat-Kupplung mit ungeschütztem kommerziell erhältlichen α -D-Glucose-1-phosphat wiederholt. Nach einer Reaktionszeit von 10 d in Pyridin bei Raumtemperatur war allerdings keine Thymidindiphosphat- α -D-glucose entstanden.

4.4.2. Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen aus *cycloSal*-Nucleotiden

Die Synthese eines Nucleosiddiphosphatzuckers sollte nun erstmals durch die Reaktion eines *cycloSal*-Nucleotids mit einem entsprechenden Pyranosyl-1-phosphat erfolgen und zeigen, dass sich *cycloSal*-Verbindungen als Phosphataktivester für derartige Umsetzungen eignen.

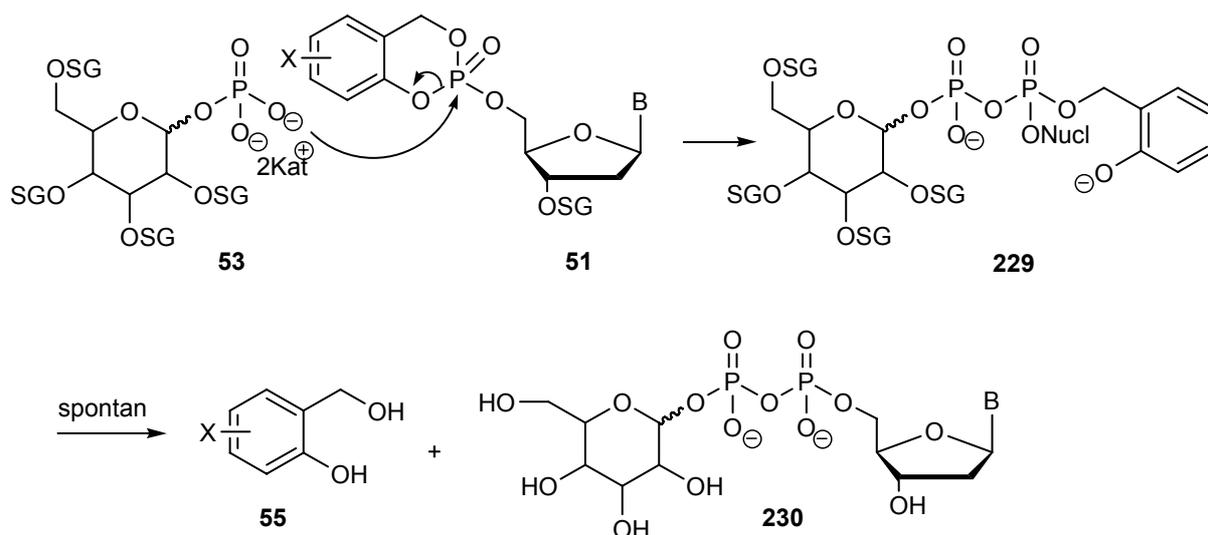


Abb. 95 Umsetzung eines *cycloSal*-Nucleotids **51** zum XDP-Zucker **230**

Das *cycloSal*-Konzept wurde ursprünglich zur selektiven intrazellulären Freisetzung von Nucleosidmonophosphaten entwickelt (s.a. Kap. 2.3.). Da dieses Konzept im Gegensatz zu anderen literaturbekannten Pro-Nucleotid-Konzepten nicht auf eine enzymatische Aktivierung angewiesen ist, kann der *cycloSal*-Triester alternativ auch als Synthesebaustein zur Darstellung von Nucleosiddiphosphatpyranosen im Labormaßstab herangezogen werden. Nach nucleophilem Angriff des Pyranosylphosphats **53** auf den Phosphatetriester **51** erfolgt die Spaltung zum instabilen Benzylphosphatdiester, der daraufhin in einer spontanen Reaktion unter Freisetzung des gewünschten Zuckernucleotids **230** zerfällt. Es sollten nun folgende Parameter dieser Reaktion untersucht und optimiert werden:

- allgemeine Reaktionsbedingungen (Lösungsmittel, Temperatur, Reaktionszeit)
- Einfluss der Substituenten des *cycloSal*-Nucleotids
- Einfluss des Gegenions des Pyranosylphosphats
- Schutzgruppenstrategie
- Isolierung des polaren XDP-Zuckers

4.4.2.1. Synthese von D-Glucose-thymidin-diphosphat

Zunächst wurden die Reaktionsbedingungen der Morpholidat-Kupplung auf das neue System adaptiert, d.h. die Edukte wurden zunächst zur Entfernung von Feuchtigkeitsspuren mehrfach mit Pyridin co-evaporiert. Im Reaktionsgemisch

vorhandene Hydroxid-Ionen würden als Nucleophile mit dem eingesetzten Zuckerphosphat konkurrieren und eine Hydrolyse des *cycloSal*-Nucleotids zum entsprechenden Monophosphat bewirken. Als Modellsystem wurden 5-Chlor-*cycloSal*-3'-O-acetyl-dTMP **111** und Tetra-O-acetyl- β -D-glucose-1-phosphat **162** in Form des Triethylammoniumsalzes eingesetzt. Da ^1H -Tetrazol in der vorher durchgeführten Morpholidat-Kupplung nicht den gewünschten aktivierenden Effekt gezeigt hatte, wurde in dieser Reaktion darauf verzichtet. Die Reaktanden wurden in Pyridin gelöst und die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt (Abb. 96).

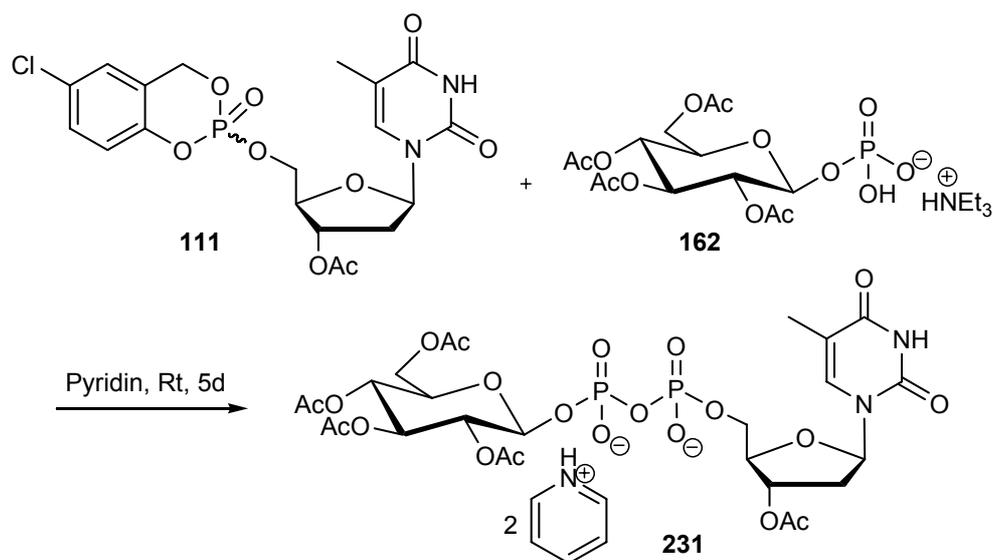


Abb. 96 5-Chlor-*cycloSal*-3'-O-acetyl-dTMP **111** als Phosphataktivester

Bei der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung zeigte sich, dass der Triester **111** nach 5 d noch nicht vollständig umgesetzt worden war, dennoch wurde die Reaktion abgebrochen, um feststellen zu können, ob sich generell das Zuckernucleotid **231** gebildet hatte. Das Pyridin wurde entfernt und ein ^{31}P -NMR Spektrum vom Rohprodukt in D_2O aufgenommen. Da der hohe Salzgehalt des Reaktionsgemisches vermutlich zu einer starken Linienverbreiterung der Signale führte, wurde zur Komplexierung EDTA hinzugefügt (Abb. 97).

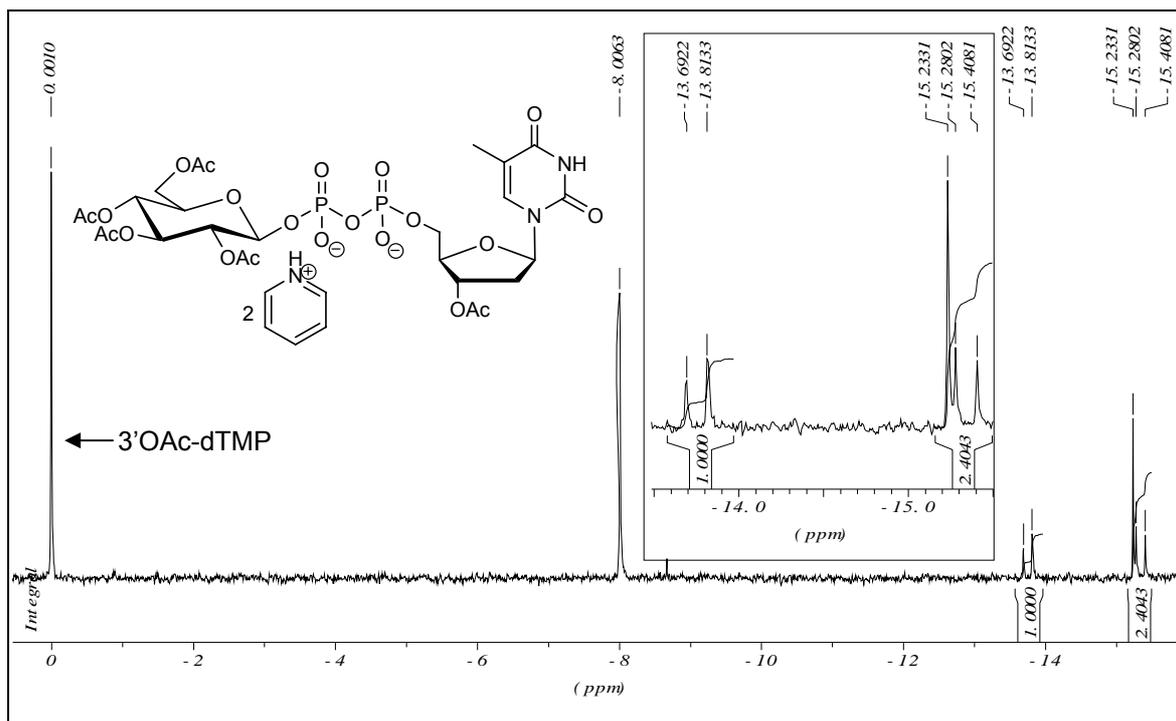


Abb. 97 ^{31}P NMR-Spektrum eines Zuckernucleotids vor der Reinigung

Aus dem Spektrum ist zu entnehmen, dass die gewünschte Nucleosiddiphosphatpyranose (Signale bei -13.7 und -15.3 ppm) im Rohgemisch enthalten ist. Es ist also prinzipiell möglich, *cycloSal*-Triester als synthetische Vorläufer zur Nucleosiddiphosphatsynthese zu nutzen. Des Weiteren ist aus dem ^{31}P -Spektrum ersichtlich, dass sich zwei Nebenprodukte (Signale bei -8.0 ppm und -15.2 ppm) gebildet haben. Bei dem Signal bei 0 ppm handelt es sich vermutlich um $3'\text{OAc-dTMP}$, das in größerer Menge durch Hydrolyse des Triesters in D_2O unter Einfluss geringer Mengen an Pyridin entstanden sein könnte. Das Signal bei -15.2 ppm könnte von einem symmetrischen Dimer des $3'\text{-OAc-dT-Monophosphats}$, welches auch in der Literatur beschrieben wurde,¹⁴⁶ stammen. Dieses könnte, ähnlich wie zuvor bei der Morpholidat-Kupplung beobachtet (vgl. Kap. 4.4.1.1.), durch partielle Hydrolyse des 5-Chlor-*cycloSal*- $3'\text{-O-Acetyl-dT-monophosphats}$ **111** zum Nucleosidmonophosphat **232** und anschließendem nucleophilen Angriff auf den Triester **111** entstanden sein (Abb. 98). Eine vollständige Abwesenheit von Wasser im Reaktionsgemisch kann aufgrund der hygroskopischen Eigenschaften von Pyranose-1-phosphaten nicht gewährleistet werden.

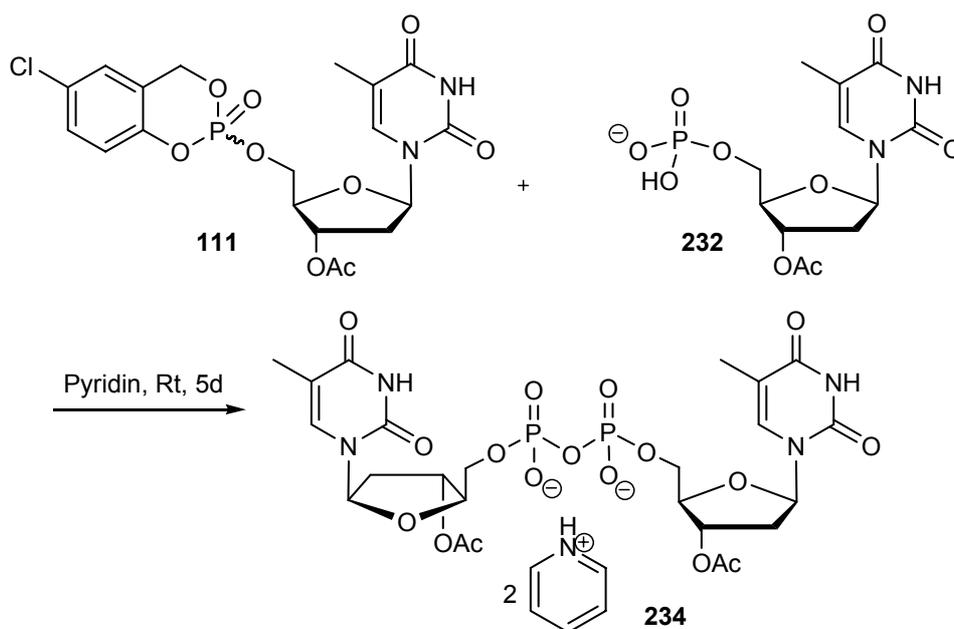


Abb. 98 Bildung des symmetrischen Dimers **234**

Diese Kupplungsreaktion wurde ebenfalls mit 6-Fluor-*cycloSal*-Triester **110**, 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **126** und 3-Brom-*cycloSal*-Triester **116** als aktivierte Nucleotiddonatoren in Pyridin durchgeführt. In allen Fällen ergab sich ein ähnliches ^{31}P -NMR-Spektrum.

Nach einer ersten Reinigung über Biogel P2 gelang es, das Nebenprodukt, das im ^{31}P -NMR ein Signal bei -8.0 ppm zeigte, zu isolieren. Anhand von zusätzlicher ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie konnte die isolierte Verbindung als Phenylphosphatdiester **235** identifiziert werden. Dieser "falsche Diester" resultiert vermutlich aus einem nucleophilen Angriff des in großem Überschuss vorhandenen Pyridins auf die C7-Position der Benzyl-Phosphatesterbindung des *cycloSal*-Triesters **111**. Nach Bruch der Benzylesterbindung entsteht zunächst ein alkylierter Phenylphosphatdiester, der im Zuge der späteren wässrigen Aufarbeitung der Reaktion das unerwünschte Nebenprodukt **235** liefert (Abb. 99).

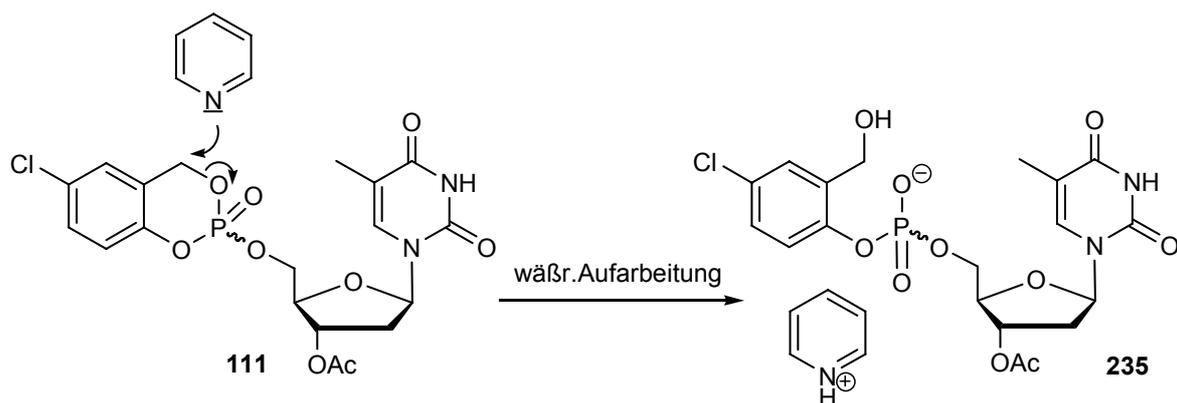


Abb. 99 Entstehung des Nebenproduktes **235** bei der Kupplung in Pyridin

Um diese Vermutung zu bestätigen, wurde der 5-Chlor-*cycloSal*-Triester **111** über Nacht sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 40°C in Pyridin gerührt. Das anschließend aufgenommene ^{31}P -NMR Spektrum zeigte neben dem Signal des Triesters bei -10.3 ppm erneut das Signal bei -8.0 ppm. Da Pyridin offensichtlich nicht das geeignete Lösungsmittel für diese Kupplung ist, wurde zunächst die Stabilität des Triesters **111** in gängigen Lösungsmitteln mittels ^{31}P -NMR Spektroskopie untersucht. Schließlich wurde DMF als Lösungsmittel gewählt, da es die an der Reaktion beteiligten Triethylammoniumsalze zu lösen vermochte und in Bezug auf den Triester **111** inert war. Alternativ könnten auch 1,4-Dioxan, Acetonitril oder THF als Lösungsmittel eingesetzt werden.

Bei der Verwendung von DMF als Lösungsmittel konnte tatsächlich die Bildung des Nebenproduktes **235** unterdrückt werden. Dennoch konnte auch in diesem Lösungsmittel nach einer Reaktionszeit von 14 Tagen keine vollständige Umsetzung der Edukte erzielt werden. Auch eine Erhöhung der Reaktionstemperatur führte weder zu einer Reaktionsbeschleunigung noch zu einer Ausbeuteerhöhung.

Daher sollte im Folgenden der Einfluss des *cycloSal*-Substituenten auf die Ausbeute der Nucleosiddiphosphatpyranosen untersucht werden. Aus Hydrolysestudien ist bekannt, dass *cycloSal*-Triester, die einen elektronenziehenden Substituenten am *cycloSal*-Fragment tragen, wesentlich labiler sind (vgl. Kap. 2.4). Nach Angriff eines Nucleophils sollte die phenolische Esterbindung zuerst brechen, da in diesem Fall die entstehende negative Ladung durch Delokalisierung im aromatischen Ring stabilisiert werden kann. Ein elektronenziehender Substituent am Aromaten stabilisiert zusätzlich diese negative Ladung.

Die höhere Labilität geht einher mit einer erhöhten Elektrophilie des Phosphoratoms, was im Hinblick auf eine synthetische Verwendung dieser Verbindungen essentiell ist. Ein Maß zur Einschätzung der Stabilität der *cycloSal*-Nucleotide bieten die Hydrolyse-Halbwertszeiten $t_{1/2}$. Das Verfahren zur Bestimmung dieser Halbwertszeiten ist eine etablierte Methode in unserer Arbeitsgruppe.¹⁴⁷ Es wurden chemische Hydrolysekinetiken in basischem Medium bei 37°C mit isotonischen Phosphatpufferlösungen (25mM, PBS, pH 7.3) durchgeführt. Es wurden die Triester von 3'-OAc-dT oder d4T¹⁴⁸ verwendet. Durch den großen Überschuss an Wasser kann die Hydrolyse der Triester als Reaktion *pseudo*-erster Ordnung aufgefasst werden, so dass sich die Hydrolyse-Halbwertszeiten $t_{1/2}$ leicht bestimmen lassen. Die Hydrolyse-Halbwertszeiten in Abhängigkeit des *cycloSal*-Substituenten sowie die Ausbeute der dargestellten *cycloSal*-Triester sind in Tabelle 3 zusammenfassend dargestellt.

X	Ausbeute Triester	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	X	Ausbeute Triester	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
5-Cl	60%	0.7	5-NO ₂	34 %	0.15
6-F	47 %	1.1	5-CHO	66 %	0.19
3-OMe	52 %	1.4	3-Br	35 %	0.4
5-Br	38 %	0.9	H	61 %	4.4
3,5-Br	40 %	n.b.	3-Me	70 %	10.2

Tab. 3 Hydrolyse-Halbwertszeiten in Abhängigkeit des Ring-Substituenten

3,5-Dibrom-*cycloSal*-d4TMP **112** ist so hydrolyselabil, dass die Probe, die direkt nach Ansetzen der Hydrolyselösung entnommen wurde, bereits nur noch das entsprechende Monophosphat enthielt. Die Tabelle 3 zeigt, dass *cycloSal*-Triester mit elektronenziehenden Substituenten wie Halogene oder die Nitro-Gruppe am Aromaten eine signifikant geringere Halbwertszeit aufweisen, als die entsprechende unsubstituierte Verbindung oder der donorsubstituierte 3-Methyl-*cycloSal*-Triester **136**. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Labilität (ausgedrückt durch die Hydrolyse-Halbwertszeiten) und der Ausbeute der Verbindungen ist aus Tabelle 3 nicht zu erkennen, es muss jedoch erwähnt werden das die Ausbeuten der Verbindungen mit besonders geringen Halbwertszeiten (5-NO₂ **126**, 3,5-Dibrom **112**, 6-F **114**) erheblich schwankten.

Durch Einsatz von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-*O*-acetyl-dTMP **126** konnte die Reaktionszeit enorm verkürzt werden. Die Reaktion wurde in DMF bei Raumtemperatur durchgeführt, als Glycosyldonor diente Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucose-1-phosphat **162** (Abb. 100). Bereits nach 8 Stunden war der Triester **126** dünn-schichtchromatographisch nicht mehr detektierbar.

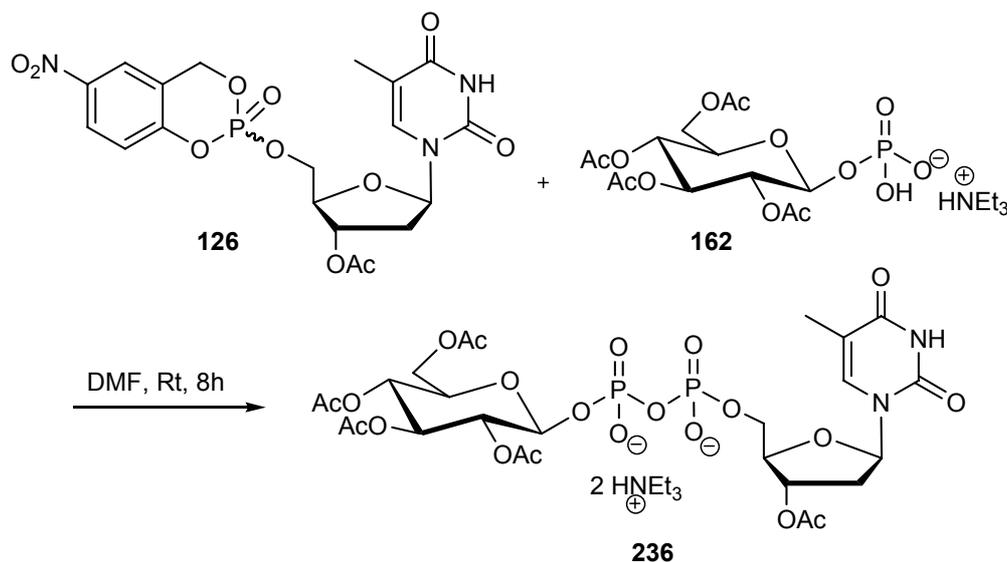


Abb. 100 Synthese der XDP-Pyranose **236** ausgehend vom 5-Nitro-*cycloSal* Triester **126**

Nach Entfernung des DMF wurde das Rohgemisch in Wasser aufgenommen und mit Dichlormethan extrahiert, um organische unpolare Nebenprodukte abzutrennen. Das Verbleiben des Produktes in der wässrigen Phase konnte dünn-schichtchromatographisch festgestellt werden. Die wässrige Phase wurde im Anschluss daran lyophilisiert. Die chromatographische Reinigung des XDP-Zuckers **236** bereitete erhebliche Probleme, da das peracetylierte Zuckernucleotid für eine Reinigung an einer RP-18 Phase mit reinem Wasser zu unpolar ist. Die Zugabe geringer Mengen organischer Lösungsmittel, wie Acetonitril zum Laufmittel führte zwar zu einer unmittelbaren Elution des Produktes **236**, jedoch wurden sämtliche Nebenprodukte zeitgleich eluiert. Daher wurden die Acetylgruppen zunächst basisch abgespalten (Abb. 101).¹⁴⁹

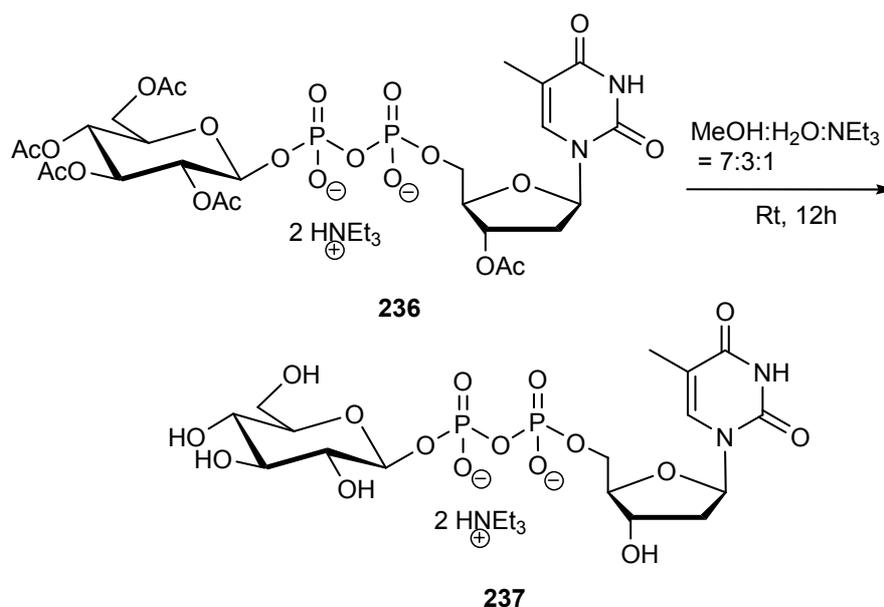


Abb. 101 Basische Entschützung des Zuckernucleotids **236**

Zur Entschützung wurde das Zuckernucleotid über Nacht mit Triethylamin behandelt, anschließend wurde die wässrige Lösung erneut lyophilisiert. Die Reinigung erfolgte letztendlich durch mehrfache Chromatographie an einer RP-18-Phase in einer Glassäule mit reinem Wasser als Eluenten, die 2'-Desoxythymidindiphosphat-β-D-glucose **237** konnte als Triethylammoniumsalz in 40 % erhalten werden. Die Reaktion wurde bei verschiedenen höheren Temperaturen wiederholt. Es stellte sich dabei eine Temperatur von 50°C hinsichtlich der Stabilität der Reaktanden und der Reaktionsdauer als optimal heraus. Unter diesen Bedingungen konnten nach 3 h 51 % des Zuckernucleotids **237** isoliert werden. Diese Ausbeute ist im Vergleich zu anderen chemischen Zuckernucleotidsynthesen sehr gut, allerdings stellte die zuverlässige Synthese des 5-Nitro-*cycloSal*-Triesters **126** eine Herausforderung dar.

Daher wurden weitere Triester mit einer ähnlich geringen Halbwertszeit wie der 5-Nitro-Triester **126** sie mit 0.15 h aufweist, mit Tetra-O-acetyl-β-D-glucose-1-phosphat **162** in DMF zum Zuckernucleotid **237** umgesetzt. Die Entschützung und Reinigung erfolgte analog der in vorherigem Abschnitt beschriebenen Methode. In Tabelle 4 sind die Modellreaktionen zur Evaluierung der optimalen Reaktionsbedingungen und des optimalen *cycloSal*-Substituenten zusammengefasst.

X	Lösemittel	Reaktionszeit	Temperatur	Ausbeute
5-Cl	Pyridin	14 d	Rt	n. i.
6-F	Pyridin	10 d	Rt	n. i.
3-Br	Pyridin	10 d	Rt	n. i.
5-NO ₂	Pyridin	14 d	Rt	n. i.
5-NO ₂	Pyridin	14 d	40 °C	n. i.
5-Cl	DMF	7 d	50 °C	40 %
5-NO ₂	DMF	8 h	Rt	40 %
5-NO ₂	DMF	3 h	50 °C	51 %
5-CHO	DMF	7 d	50 °C	22 %
H	DMF	7 d	50 °C	6 %
3,5-Br	DMF	7 d	50 °C	12 %

Tab. 4 Ausbeute des Zuckernucleotids **237** in Abhängigkeit des *cycloSal*-Substituenten X, der Temperatur und des Lösungsmittels

Aus der Tabelle wird ersichtlich, dass der 5-Chlor-*cycloSal*-Triester **111** bei einer Reaktionszeit von 7 Tagen bei 50 °C die gleiche 40 %-ige Ausbeute liefert, wie der 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **126** nach einer Reaktionszeit von nur 8 h bei Raumtemperatur. Dies verdeutlicht die hervorragende Eignung des 5-Nitro-*cycloSal*-Triesters **126** als Aktivester bei der Umsetzung zu Nucleosiddiphosphatpyranosen. Die ebenfalls sehr labilen 5-Formyl-*cycloSal*-Triester **120** und 3,5-Dibrom-*cycloSal*-Triester **112** liefern vergleichsweise geringe Ausbeuten des Zuckernucleotids **237** von 22 % und 12 %. Der *cycloSal*-Triester **119** wurde als "neutrale" Referenzverbindung umgesetzt; es wurden lediglich 6 % von **237** erhalten. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Halbwertszeit bzw. die Labilität der *cycloSal*-Triester eine wichtige Rolle bezüglich der Ausbeute des XDP-Zuckers spielt, diese Labilität aber nicht das einzige Kriterium für einen guten Umsatz des Triesters ist. Die Gründe für die vergleichsweise sehr gute Eignung des 5-Nitro-*cycloSal*-Triesters **126** konnten in dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden. Eine Möglichkeit könnte der zusätzliche negative mesomere Effekt der Nitro-Gruppe sein; alle anderen untersuchten Substituenten liefern lediglich einen negativen induktiven Effekt.

Die Ausbeute des Zuckernucleotids **237** konnte nach Reaktion in Pyridin nicht bestimmt werden, da es in keinem Fall gelang, das Produkt zu isolieren. Die Entstehung des XDP-Zuckers konnte lediglich anhand von ³¹P-NMR-Spektroskopie bestätigt werden. Neben der bereits erwähnten Bildung des Phenylphosphatdiesters

235 als Nebenprodukt stellte die Reinigung der Verbindungen nach der Reaktion in Pyridin (siehe auch Morpholidat-Methode) ein zweites erhebliches Problem dar.

Zur Reaktionsoptimierung galt es, nicht nur die Elektrophilie des *cycloSal*-Triesters zu erhöhen, sondern in gleichem Maße auch die Nucleophilie des Hexose-1-Phosphates zu steigern. Eine wichtige Rolle könnte in diesem Zusammenhang das Gegenion dieser Phosphate spielen. Das bislang verwendete Triethylammonium-Ion des 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucose-1-phosphats **162** sollte daher gegen ein größeres lipophileres Kation ausgetauscht werden. Dazu wurde **162** zunächst durch Ionenaustauschchromatographie in die protonierte Säure überführt, das Eluat wurde anschließend mit einer Lösung von Tetra-*n*-butylammoniumhydroxid neutralisiert. 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucose-1-phosphat konnte nach Gefriertrocknung in Form des Tetra-*n*-butylammonium-Salzes (**137**) in 31 % Ausbeute isoliert werden. Diese geringe Ausbeute ist vermutlich auf die anteilige Zersetzung des Acetals durch das saure Ionenaustauscherharz zurückzuführen. In einem Testansatz wurde **137** mit 5-Cl-*cycloSal*-Triester **111** in DMF bei 50 °C umgesetzt, der Wechsel des Gegenions des Hexose-1-Phosphats hatte jedoch keine Auswirkung auf die Reaktionszeit. Nach 7 Tagen wurde die Reaktion trotz der aus der dünnschichtchromatographischen Kontrolle ablesbaren unvollständigen Umsetzung des Triesters abgebrochen. Die Reinigung des Zuckernucleotids war durch das lipophilere Tetra-*n*-butylammonium-Gegenion erschwert, so dass eine Isolierung trotz mehrfacher Chromatographie an einer RP-18-Phase misslang. Eine geeignete Alternative zur Maskierung des Gegenions und damit zur Erhöhung der Nucleophilie des Pyranosyl-1-phosphates könnte die Verwendung von Kronenethern sein. Da der Austausch des Gegenions des Glucose-1-Phosphats mit einer verringerten Ausbeute des Eduktes **137** und einer erschwerten Reinigung des entsprechenden XDP-Zuckers einherging, wurde in den nachfolgenden Reaktionen das Triethylammonium-Ion als Gegenion beibehalten.

Nachdem mit den vorherigen Umsetzungen gezeigt werden konnte, dass sich *cycloSal*-Nucleotide durch β -D-Glucose-1-Phosphat unter Bildung des entsprechenden Zuckernucleotids öffnen lassen, sollten auch andere Hexose-1-Phosphate zum Einsatz kommen. Da bisher nur die β -anomerenreine Glucose eingesetzt wurde, sollte zudem bestätigt werden, dass sich die entsprechende α -

konfigurierte Form analog verhält. Die Synthese richtete sich im Wesentlichen nach den Erfahrungen, die bei der Optimierung der Kupplungsparameter gesammelt wurden. Der 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **126** und die in Kap. 4.3 synthetisierten, geschützten Pyranosyl-1-Phosphate wurden jeweils in DMF gelöst und das Reaktionsgemisch 3-5 h bei 50 °C gerührt (Abb. 102).

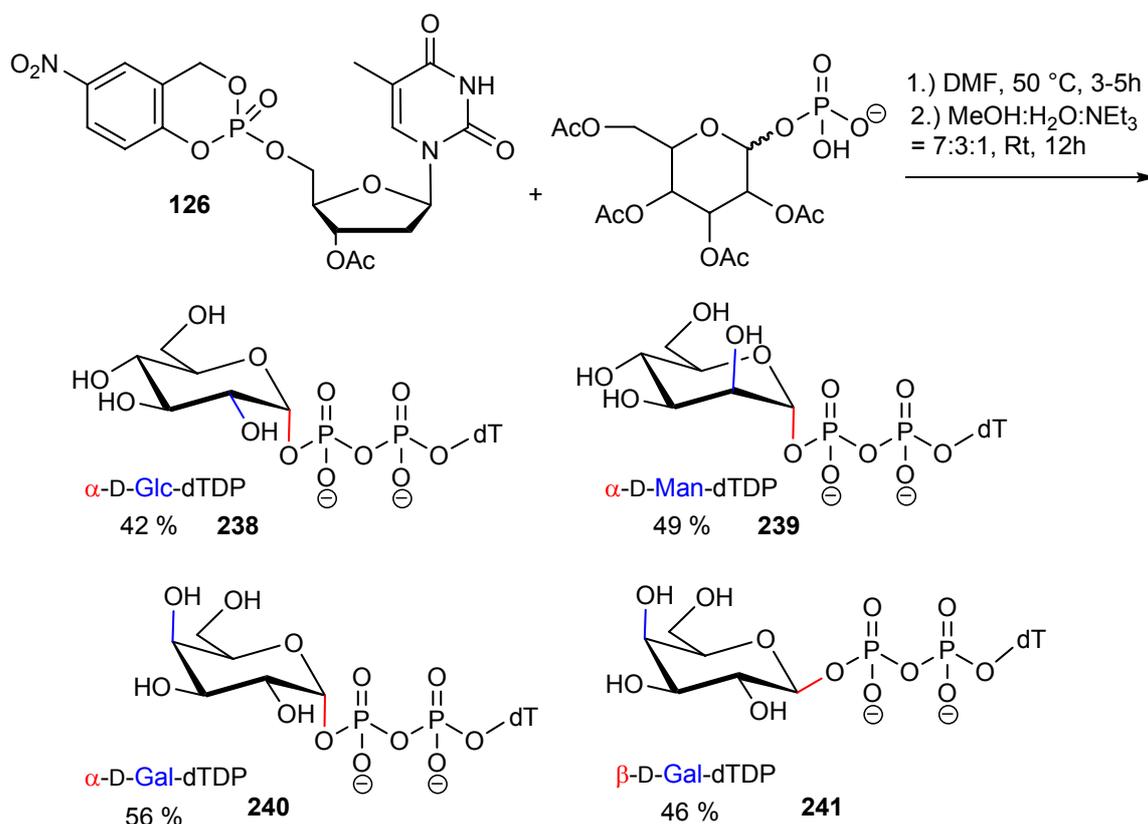


Abb. 102 Synthese der Zuckernucleotide **238-241** ausgehend von einem *cycloSal*-Nucleotid

Die Reinigung erfolgte ebenfalls durch Chromatographie der polaren Substanzen an einer RP-18-Phase. Die Ausbeuten der Kupplungen bewegen sich um 50 %, dies zeigt dass die XDP-Zuckersynthese mit *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierten Schlüsselbausteinen eine zuverlässige, reproduzierbare Methode ist. Es muss allerdings noch geklärt werden, warum die Ausbeuten nicht noch höher sind, obwohl der 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **126** vollständig umgesetzt wurde (DC-Kontrolle) und keine Nebenprodukte identifizierbar sind. Die Konfiguration am anomeren Zentrum des Hexose-1-Phosphats ändert sich bei der Synthese und Isolierung des Zuckernucleotids nicht.

4.4.2.2. Analytik und Charakterisierung der dargestellten Zuckernucleotide

Nachdem die Isolierung der XDP-Zucker schließlich durch Reversed-Phase-Chromatographie gelang, sollte die Abwesenheit von Verunreinigungen durch eine sorgfältige Analytik bestätigt werden. Zudem war eine vollständige Charakterisierung der Verbindungen notwendig. Um nachzuweisen, dass es sich bei den synthetisierten Verbindungen **237-241** tatsächlich um Nucleosiddiphosphatpyranosen handelt, bietet sich die Massenspektrometrie an. Die polaren Zuckernucleotide benötigen sehr schonende Ionisierungsmethoden, so dass nur die Laserdesorption/ionisation (MALDI) oder die Elektronenspray-Ionisation (ESI) im Negativmodus in Frage kommen. Ein MALDI-TOF Experiment lieferte den Molekülpeak der zweifach negativ geladenen dTDP- β -D-Glucose **237**. Das Protonenbreitband-entkoppelte ^{31}P -NMR-Spektrum von Verbindung **237** zeigt die für XDP-Zucker charakteristischen Signale bei -11.52 und -13.15 ppm. Die beiden Phosphoratome bilden durch geminale $^2J_{\text{PP}}$ -Kopplungen jeweils ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von 19.6 Hz aus. Das tieffeldverschobene Signal bei -11.52 ppm wird von dem Phosphoratom P_β erzeugt, das mit dem nucleosidischen Teil des XDP-Zuckers **237** verknüpft ist. Das zweite Signal bei -13.15 ppm kann entsprechend dem Phosphoratom P_α zugeordnet werden (Abb. 103). Diese Annahme konnte mittels $^{31}\text{P}, ^1\text{H}$ -Korrelationsspektroskopie bestätigt werden.

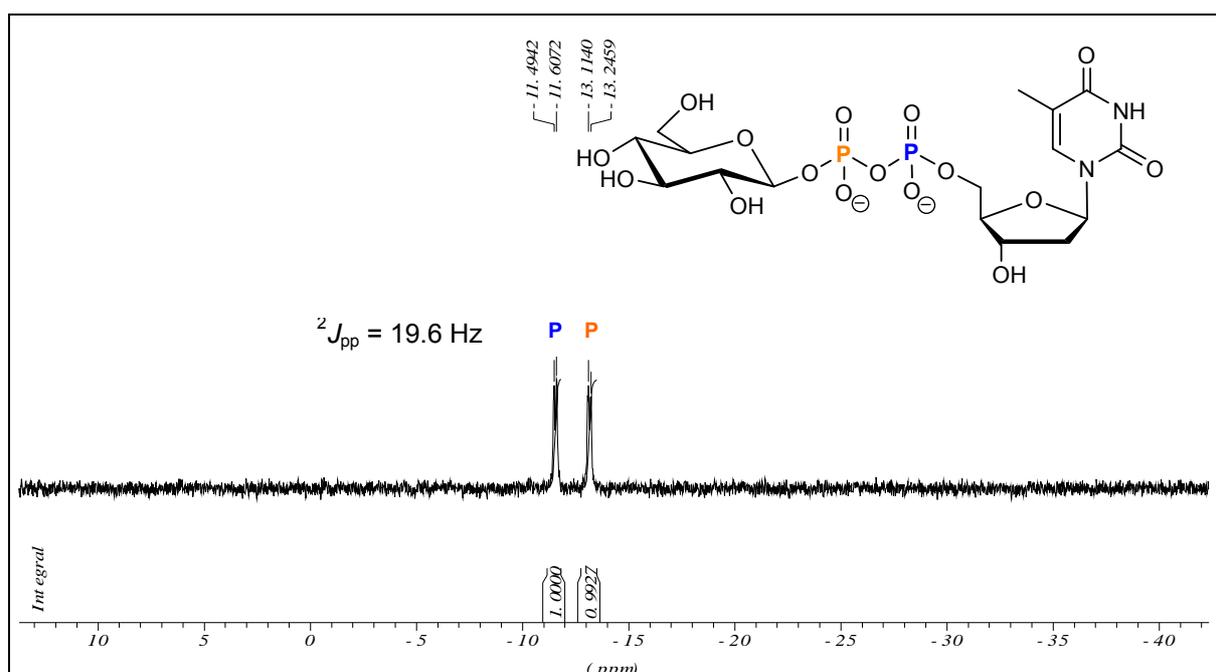


Abb. 103 Protonenentkoppeltes ^{31}P -NMR-Spektrum des Zuckernucleotids **237** in D_2O

Das ^1H -Spektrum liefert einen Signalsatz mit sieben Protonen, die der β -D-Glucose zuzuordnen sind und einen Signalsatz mit den 12 Protonen des 2'-Desoxythymidins (Abb 104). Aus der nicht zu beobachtenden Signalsatzverdopplung bestätigt sich die Anomerenreinheit der Verbindung. Zudem wird die β -Konfiguration der D-Glucose durch eine Kopplungskonstante von $^3J_{1,2} = 7.8 \text{ Hz}$ belegt.

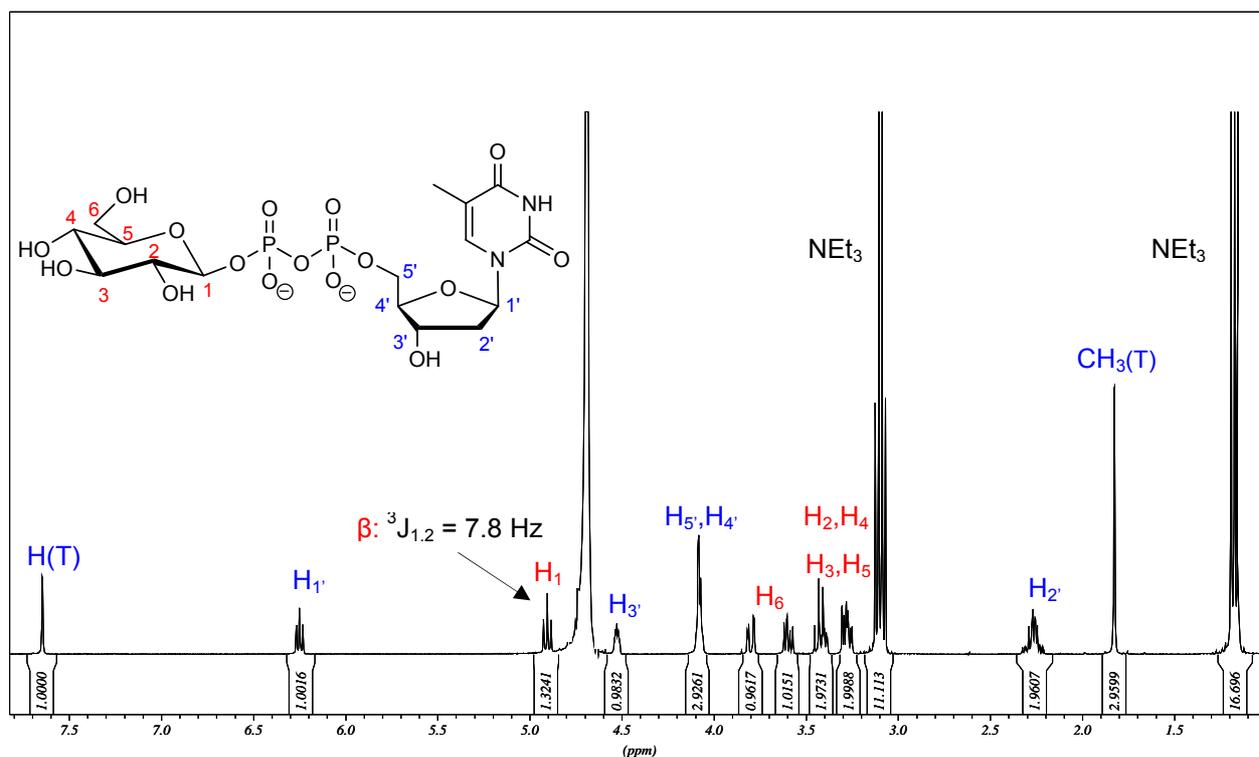


Abb. 104 ^1H -NMR-Spektrum von dTDP- β -D-Glucose **237** in D_2O

Nach Auswertung des Protonen-NMR-Spektrums konnten die Phosphorsignale durch Aufnahme eines ^{31}P - ^1H -COSY-Spektrums eindeutig zugeordnet werden. Die Abbildung 105 zeigt die vicinale Kopplung des P_β -Atoms und der beiden 5'-Nucleosidprotonen sowie die vicinale Kopplung des P_α -Atoms mit dem Proton am anomeren Zentrum des Zuckers.

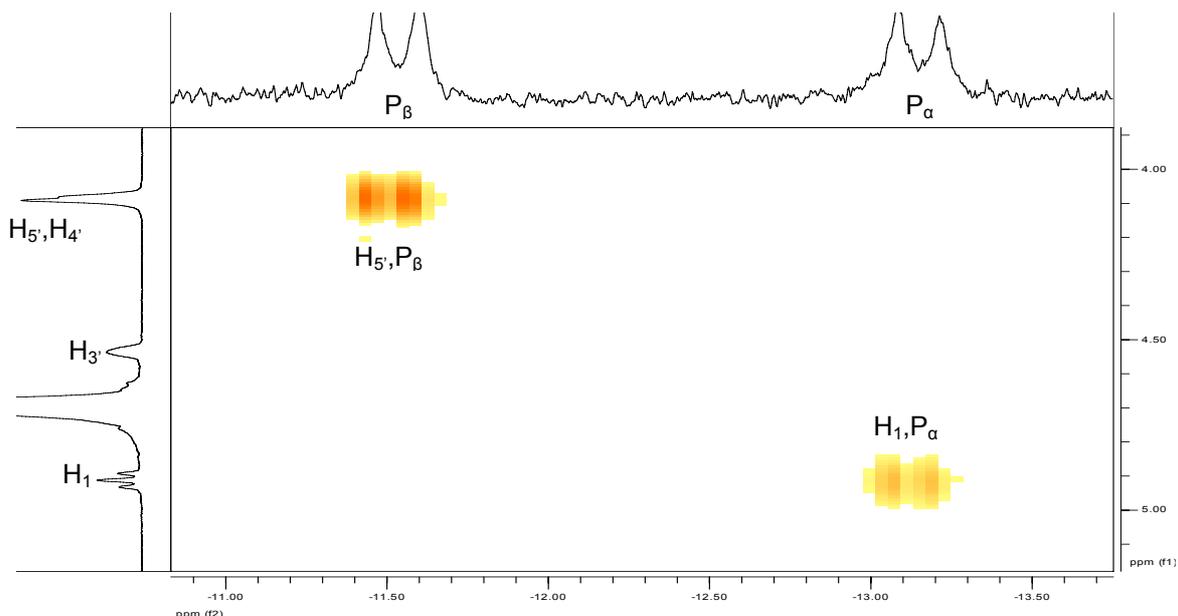


Abb. 105 ^1H - ^{31}P -NMR Korrelationsspektrum von dTDP- β -D-Glucose **237** in D_2O

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind die typischen Dubletts zu erkennen, die sich aus den jeweiligen geminalen und vicinalen Kopplungen der Kohlenstoffatome des Zuckers (C-1, C-2) und des Nucleosids (C-4', C-5') mit den Phosphoratomen ergeben (Abb. 106).

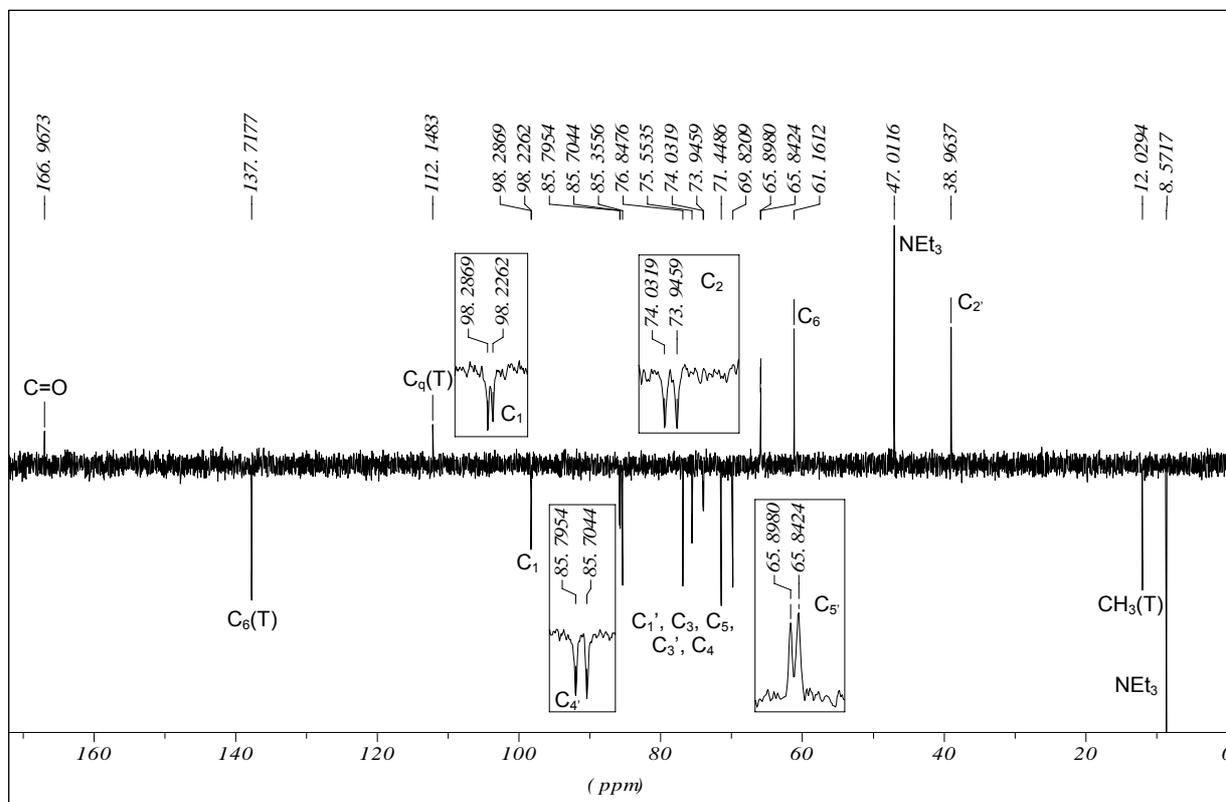


Abb. 106 ^{13}C -Spektrum von dTDP- β -D-Glucose **237** in D_2O

4.4.2.3. Synthese von Cytidindiphosphat-6-desoxy- β -D-Gulose

Ein Ziel dieser Arbeit war es, das Zuckernucleotid CDP-6-desoxy- β -D-gulose **134** zu synthetisieren. Bei der Darstellung der XDP-Zucker nach der hier vorgestellten Syntheseroute stellt weniger die finale Umsetzung zum Zuckernucleotid, sondern vielmehr die Synthese des *cycloSal*-Triesters den ausbeutebestimmenden Schritt dar. Die Umsetzung des β -D-Gulosemonophosphats mit dem 5-Nitro-*cycloSal*-Nucleotid **127** würde zwar wesentlich schneller erfolgen und die Ausbeute an Zuckernucleotid **134** wäre höher, jedoch traten bei der Darstellung des 5-Nitro-*cycloSal*igenyl-cytidinmonophosphats **127** Schwierigkeiten hinsichtlich der Durchführung und der Reproduzierbarkeit der Synthese auf. Daher erfolgte die Darstellung der CDP-6-desoxy- β -D-gulose **134** ausgehend von 5-Chlor-*cycloSal*igenyl-cytidinmonophosphat **118**, da sich die Chlor-substituierten Triester aufgrund ihrer im Vergleich zur entsprechenden Nitroverbindung höheren Stabilität verlässlicher synthetisieren lassen. Als Nucleophil wurde 6-Desoxy- β -D-gulosemonophosphat **214** in Form des Triethylammoniumsalzes eingesetzt. Die Umsetzung erfolgte bei 50 °C in DMF, nach 5 Tagen wurde die Reaktion abgebrochen. Nach Abtrennung der unpolaren Nebenprodukte erfolgte die Abspaltung der Schutzgruppen des Zuckernucleotids mit Triethylamin. Nach einmaliger Reinigung an einer RP-18 Phase konnten die polaren Nebenprodukte größtenteils abgetrennt werden. Es verblieben 5 % einer nicht näher charakterisierten Verbindung (Signal bei 9.8 ppm im ^{31}P -NMR-Spektrum) und 10 % Nucleosidmonophosphat im Produkt. Die Zielverbindung **134** konnte mit 85 % Reinheit in 21 % Ausbeute isoliert werden (Abb. 107).

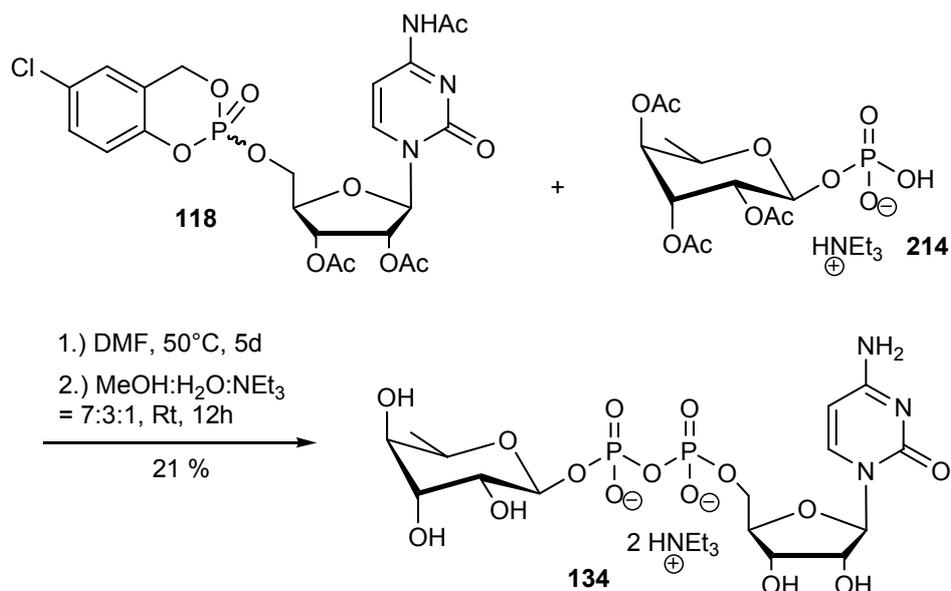


Abb. 107 Darstellung der Cytidindiphosphat-6-desoxy-β-D-gulose **134**

CDP-6-desoxy-β-D-gulose **134** soll hinsichtlich ihrer Verwendung in der Biosynthese von Lipopolysacchariden der Zellwand gram-negativer Bakterien untersucht werden. Diese Untersuchungen werden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. M. Skurnik, Universität Turku, Finnland, durchgeführt.

Die in Kapitel 4.2.2 beschriebenen Synthesen wurden im Milligramm-Maßstab durchgeführt. Prinzipiell ist die Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen im Labor im Gramm-Maßstab möglich. Limitierend ist die Menge an RP-18 Kieselgel, die zur Isolierung der synthetisierten Produkte benötigt wird. Hier müssten die Ansätze entsprechend in kleinere Mengen geteilt werden und diese nacheinander getrennt werden. Ein Nachteil gegenüber literaturbekannten Zuckernucleotid-Synthesen ergibt sich dabei jedoch nicht. Die Vorteile der neuen Methode sind die deutlich höheren Ausbeuten und die wesentlich kürzeren Reaktionszeiten. Zudem existieren noch viele Möglichkeiten diese neue Methode weiter zu optimieren und auf andere Systeme auszuweiten, in denen reaktive Phosphatdonatoren benötigt werden.

5. Zusammenfassung

Nucleosiddiphosphatpyranosen erfüllen in nahezu allen Stoffwechselfvorgängen, die den Aufbau einer glycosidischen Bindung zur Folge haben, eine essentielle Funktion. Als Substrate der Glycosyltransferasen stellen sie die aktivierten Vorstufen zur Biosynthese von Oligo- und Polysacchariden dar. Des Weiteren sind NDP-Pyranosen als Glycosyldonatoren auch an der Biosynthese von Glycoproteinen und Glycolipiden beteiligt.

Mit der Entdeckung des großen pharmakologischen Potentials von Oligosacchariden wurden die Bemühungen um einen effizienten synthetischen Zugang zu NDP-Pyranosen intensiviert. Dennoch ist es bislang nicht gelungen, diese Verbindungen mit guten, reproduzierbaren Ausbeuten chemisch zu synthetisieren. Die am häufigsten angewendete Synthese nutzt die Aktivierung des Nucleotids durch einen Morpholidat-Rest. Die Nachteile dieser Methode sind jedoch die sehr langen Reaktionszeiten und die sehr geringen Ausbeuten. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Darstellung von NDP-Pyranosen erstmals erfolgreich ausgehend von *cycloSal*-aktivierten Nucleotiden.

Die *cycloSal*-Nucleotide haben sich als Prodrugs im therapeutischen Einsatz von biologisch aktiven Nucleotiden etabliert. Die Salicyl-Funktion dient hier als lipophile Maske zur Erhöhung der Membrangängigkeit der phosphorylierten Wirkstoffe. In der Zelle wird der Salicylalkohol durch den nucleophilen Angriff von Hydroxidionen auf das Phosphoratom abgespalten und das Nucleotid somit freigesetzt. Es galt nun zu überprüfen, ob *cycloSal*-Nucleotide als aktivierte Phosphatester auch synthetisch genutzt werden können. Als Nucleophile kamen verschiedene Pyranosyl-1-phosphate zum Einsatz, deren Angriff auf das Phosphoratom des *cycloSal*-Nucleotids in diesem Fall die Bildung der Pyrophosphatbrücke der NDP-Pyranosen bewirkte.

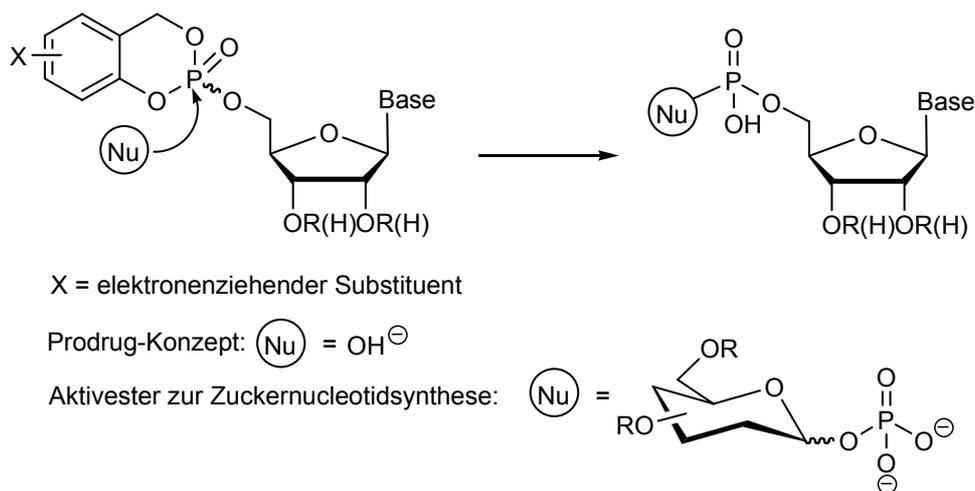


Abb. 108 *cycloSal*-Nucleotide als Pronucleotide und als Phosphataktivester

Die eingeschlagene Synthesestrategie zur Darstellung der NDP-Pyranosen gliederte sich in drei separate Reaktionssequenzen, bestehend aus der Generierung der *cycloSal*-Nucleotide aus den jeweiligen Nucleosiden, der Synthese der Pyranosyl-1-phosphate und der anschließenden Kupplung zu den jeweiligen Zuckernucleotiden.

Um eine effiziente Kupplung zu gewährleisten, wurden acceptorsubstituierte *cycloSal*-Nucleotide eingesetzt, da elektronenziehende Substituenten die Elektrophilie des Phosphoratoms erhöhen und folglich die Abspaltung des Salicylkohols erleichtert werden sollte. Die Synthese der *cycloSal*-Triester wurde durch die Umsetzung entsprechend substituierter Saligenylchlorphosphite- und phosphate mit den jeweiligen Nucleosiden bewerkstelligt.

Die Salicylkohole **67-70** und **73, 75** wurden durch Reduktion der jeweiligen Salicylsäuren, Salicylsäureester oder Salicylaldehyde in 61-86 %-iger Ausbeute gewonnen. 3-Brom-Salicylkohol **81** wurde durch Hydroxymethylierung von *ortho*-Bromphenol mit 38 % Ausbeute erhalten, 5-Formyl-Salicylkohol **84** wurde durch eine Formylierung von 5-Bromsalicylkohol **70** mit 52 % Gesamtausbeute synthetisiert. Die Synthese der cyclischen Saligenylchlorphosphite **85-91** erfolgte nach einer etablierten Methode durch Reaktion der Salicylkohole mit Phosphortrichlorid bei tiefen Temperaturen. Da die hohe Reaktivität der Saligenylchlorphosphite sowie die Oxidation der anschließend generierten Phosphittriestere in einigen Fällen zu hohen Ausbeuteverlusten führte, wurden alternativ cyclische Saligenylchlorphosphate synthetisiert. Die *cycloSal*igenyl-

phosphorchloridate **92-96** wurden in 73-92 % Ausbeute dargestellt und konnten direkt in die entsprechenden *cycloSal*-Nucleotide ohne nachfolgende Oxidation überführt werden. Um Nebenreaktionen bei der Synthese der *cycloSal*-Nucleotide sowie bei der nachfolgenden Umsetzung zu den NDP-Pyranosen zu vermeiden, wurden die freien funktionellen Gruppen der eingesetzten Nucleoside blockiert. Die Darstellung der modifizierten Nucleoside **100** und **109** gelang in einer jeweils dreistufigen Synthese mit 60 % - bzw. 48 % Gesamtausbeute.

Mit diesen Edukten konnten im Folgenden die Kupplungen zu den entsprechenden *cycloSal*-Nucleotiden durchgeführt werden. Die Reaktion der Nucleoside mit den Saligenylchlorphosphiten **85-91** und die anschließende Oxidation führte zu den Phosphatriestern **110-116** sowie **118** und **126** mit Ausbeuten von 29-60 %. Diese Ausbeuten sind nicht zufriedenstellend, wenn man bedenkt, dass sie die Ausgangsverbindungen für die Synthese der Zuckernucleotide darstellen. Daher wurden die modifizierten Nucleoside mit den cyclischen Saligenylphosphorchloridaten **92-96** umgesetzt, da in diesem Fall eine anschließende Oxidation entfällt. Die *cycloSal*-Nucleotide **111**, **119** und **120** konnten allerdings nur mit geringfügig höheren Ausbeuten von 51-62 % isoliert werden. Auch der Einsatz von Imidazol als Aktivator und die Änderung der Reaktionsbedingungen (s. S. 44) änderten daran nichts.

Die in der Zuckernucleotidsynthese als Nucleophile eingesetzten Pyranosyl-1-phosphate wurden anomenenrein dargestellt. Zudem wurden sie als vollgeschützte Derivate eingesetzt, um die Löslichkeit zu erhöhen und die möglichen Nebenreaktionen der verschiedenen alkoholischen Funktionen zu verhindern. Als Modellsysteme wurden zunächst die Monophosphate der Glucose, Galactose und Mannose eingesetzt. Mit der Phosphoramiditmethode konnten bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-gluco-pyranosyl-1-phosphat **163** und bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galacto-pyranosyl-1-phosphat **189** als Anomerengemisch synthetisiert werden und anschließend chromatographisch getrennt werden. Die hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen lieferte die Pyranosyl-1-phosphate **162**, **179**, **190** und **191** in Form ihrer Monotriethylammoniumsalze. Da allerdings in beiden Fällen das α -Anomer das Hauptprodukt bildete, wurde zusätzlich die Koenigs-Knorr-Methode zur Generierung der β -konfigurierten Monophosphate herangezogen.

Das 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-1-phosphat **180** wurde aufgrund des anchimeren Effektes der C-2 Acetylgruppe lediglich als α -Anomer synthetisiert.

Zur Darstellung der Zielverbindungen **237-241** wurden die verschieden substituierten *cycloSal*-Aktivester mit den Pyranosyl-1-phosphaten zur Reaktion gebracht. Hierbei stellte sich besonders der 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **126** hinsichtlich der Reaktionszeit und der Ausbeute als geeignetes Elektrophil heraus. Die Reaktion von **126** mit Glucosyl-1-phosphat **162** bzw. Galaktosyl-1-phosphat **191** lieferte die entsprechenden NDP-Pyranosen **237** und **240** in 51 % und 56 % Ausbeute. Diese guten Ergebnisse wurden in DMF bei 50 °C innerhalb von nur 3-5 Stunden erzielt. Zunächst waren die Kupplungen aufgrund der guten Löslichkeit der Edukte in Pyridin durchgeführt worden. Allerdings wurde, neben sehr langen Reaktionszeiten, die Entstehung eines Nebenproduktes beobachtet, dass eindeutig durch Pyridin verursacht wird. Daher wurden die Synthesen der NDP-Zucker **238**, **239** und **241** ebenfalls in DMF durchgeführt. Die Ausbeuten von 42 %, 49 % und 46 % verdeutlichen die gute Reproduzierbarkeit dieser neuen Methode.

Neben der Synthese stellte vor allem die Isolierung der Zuckernucleotide einen Schwerpunkt dieser Arbeit dar. Das anfänglich in der Kupplungsreaktion verwendete Lösungsmittel Pyridin bereitete auch hier enorme Probleme. Zudem führten viele literaturbekannte Reinigungsverfahren zur Trennung polarer Verbindungen nicht zu reinen Produkten. Im Anschluss an die Kupplung in DMF und die Abspaltung der Acetylgruppen mit einem $\text{NEt}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ -Gemisch erfolgte die Isolierung schließlich säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit reinem Wasser als Eluent. Die Charakterisierung der reinen Zuckernucleotide erfolgte mittels NMR-Spektroskopie sowie Massenspektrometrie. Wie erwartet blieb die anomere Konfiguration des eingesetzten Pyranosyl-1-phosphates im Zuckernucleotid bestehen.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurde CDP-6d- β -D-Gulose **134** synthetisiert, die für Biosynthesestudien von Lipopolysacchariden benötigt wird. Hierzu wurde zunächst 6-Desoxy- β -D-Gulose **209** ausgehend von D-Gulono-1,4-lacton **200** in 7 Stufen synthetisiert. Anschließend wurde diese in 4 Stufen zum 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulopyranosyl-1-phosphat **214** umgesetzt. Cytidin **109** sollte zum 5-Nitro-*cycloSal*-Triester **127** umgesetzt werden, allerdings war die Durchführung der Synthese

problematisch. Daher erfolgte die Darstellung der Zielverbindung ausgehend von 5-Chlor-*cycloSal*igenyl-Cytidinmonophosphat **118**, CDP-6d- β -D-Gulose **134** wurde in 21 % Ausbeute isoliert. Diese Ausbeute lässt sich erfahrungsgemäß mit dem Einsatz von reaktiveren *cycloSal*-Nucleotiden steigern.

In dieser Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass *cycloSal*-Nucleotide als aktivierte Phosphatester zur Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranose eingesetzt werden können. Die verschiedenen NDP-Zucker wurden hierbei in guten Ausbeuten und kurzen Reaktionszeiten im Labormaßstab erhalten, die Zielverbindungen konnten als reine Anomere synthetisiert werden. Diese neue Methode kann zudem auf NDP-Zucker mit einer modifizierten Pyranose- oder Nucleosid-Einheit angewendet werden.

6. Summary

The topic of the presented thesis is the development of a new and efficient route towards Nucleoside diphosphate sugars (NDP-sugars). NDP-sugars are key intermediates in various biochemical processes. They serve as substrates of glycosyltransferases in the biosynthesis of almost all oligosaccharides, polysaccharides and glycoconjugates. As a result, a number of methods have been developed for the preparation of naturally occurring NDP-sugars as well as for their analogues. The classical method is the coupling of glycosyl monophosphates to nucleotide morpholidates. However, this method as well as other literature-known procedures for this important class of compounds proceed with long reaction times and very low yields.

The thesis on hand describes a novel access to NDP-sugars by using *cycloSal*-nucleotides as active esters of the nucleotide part. Originally, *cycloSal*-Nucleotides were used as prodrugs to deliver antiviral active nucleotides into cells. In this prodrug concept, the salicylalcohol serves as a lipophilic masking unit to ensure the membrane-permeability of phosphorylated drugs. The cleavage is initialized by a nucleophilic attack of water or hydroxide ions on the phosphate triester. A subsequent selective hydrolysis pathway yields the nucleotide and the salicylalcohol. For synthetic application, the *cycloSal*-nucleotide is cleaved by an initial nucleophilic attack of a glycosyl monophosphate on the phosphorus center, leading to the desired NDP-sugar in a tandem reaction.

As starting material several *cycloSal*-nucleotides and glycosyl monophosphates were prepared. Electron-withdrawing groups were attached to the aromatic moiety of the *cycloSal*-nucleotides in order to increase the electrophilic properties of the phosphorus atom. The salicylalcohols **67-70**, **73** and **75** were obtained by reduction of the corresponding salicylic acids, esters or aldehydes. The *cycloSal*-nucleotides were synthesized either by using phosphorus(III)-reagents or phosphorus(V)-reagents. The salicylalcohols were reacted with phosphorus trichloride at low temperature to give the cyclic chlorophosphites **85-91**. Alternatively, the phosphorchloridates **92-96** were prepared with $P(O)Cl_3$ in 73-92 % yield. The latter phosphorus (V) methodology has the advantage of avoiding the oxidation step in the

coupling reaction with the nucleoside. In the past this oxidation step has led to undesired side products and therefore lower yields in some coupling reactions.

The coupling of the chlorophosphites **85-91** with the nucleoside analogues **100**, **109** was carried out in acetonitrile at low temperatures. The resulting cyclic phosphite triesters were subsequently oxidized in a one-pot reaction to yield the *cycloSal*-nucleotides **110-116**, **118** and **126** (29-60 %). The *cycloSal*-nucleotides **111**, **119** and **120**, derived from the reaction with the phosphorchloridates **92-96**, were prepared with yields between 51-62 %.

The pyranoses were peracetylated by standard conditions to increase the solubility and to minimize side reactions at the different hydroxy functions. The pyranoses were selectively deprotected at the anomeric center and subjected to phosphitylation with a phosphoramidite derivative. Subsequent *in situ* oxidation yielded the glucose-1-phosphate **163** and the galactose-1-phosphate **189** as anomeric mixtures, which were separated via column chromatography. With this method predominantly α -configured pyranoses were obtained. To synthesize the β -counterparts, the Koenigs-Knorr method was applied to the corresponding pyranosyl-bromides additionally. In the case of D-Mannose, even this reaction sequence led to exclusive formation of the α -phosphate triester. The phosphate moieties were deprotected by hydrogenolysis using Pd/C, leading to the α - or β -configured glycosyl monophosphates **162**, **179**, **180**, **190**, and **191** in good overall yields.

For the synthesis of the target NDP-sugars, several *cycloSal*-nucleotides with different substitution pattern were investigated and the reaction conditions were optimized. With regard to the reaction time and the yield, best results for the coupling were obtained with 5-nitro-*cycloSal*-triester **126**. The reaction of **126** with the glycosyl monophosphates led to the formation of the NDP-sugars **237-241** in good yields (42-56 %). The coupling was completed in DMF at 50 °C within 3-5 hours. In contrast, pyridine led to very long reaction times and the *cycloSal*-nucleotide slowly decomposed.

Using this new method, CDP-6d- β -D-gulose **134** was synthesized and can now be used for biosynthetic studies of lipopolysaccharides.

The NDP-sugars were purified on a glass column filled with RP-18 silica gel, water was used as eluent. The isolation of the polar products was a main challenge of this thesis since literature-known purification procedures for NDP-sugars could not be reproduced. The compounds were characterized by spectroscopy and mass spectrometry. The unchanged anomeric configuration of the NDP-sugar, derived from the initial pyranosyl-phosphate, could be determined.

The results of this thesis demonstrate that *cycloSal*-nucleotides can be used as activated phosphate esters for the synthesis of nucleoside diphosphate sugars. The different NDP-sugars were synthesized in short reaction times and with good yields. Moreover, the new method allows the synthesis of NDP-sugars with a defined anomeric configuration. We optimized the reaction with regard to the solvent, the reaction temperature and the substituents at the *cycloSal*igenyl moiety. The method can also be applied to the synthesis of nucleoside diphosphate sugars with a modified sugar moiety or a modified nucleoside moiety.

7. Ausblick

In dieser Arbeit konnte mehrfach gezeigt werden, dass sich die *cycloSal*-Nucleotide als Phosphataktivester zur Zuckernucleotidsynthese eignen. Die Ausbeuten sind im Vergleich zu anderen Synthesemethoden bereits verbessert, könnten aber durchaus weiter optimiert werden. Der Einsatz von noch reaktiveren *cycloSal*-Phosphattriestern könnte zur weiteren Ausbeuteerhöhung führen. Denkbar hierfür wären *cycloSal*-Nucleotide, die in der 3- oder 5- Position des Aromaten Substituenten tragen, die neben einem –I einen zusätzlichen –M-Effekt liefern. Die Nitril- oder Sulfonyl-Gruppe könnten dafür geeignet sein. T. Zismann synthetisierte diesbezüglich im Rahmen ihrer Diplomarbeit 5-Methylsulfonyl-*cycloSal*-Nucleotide.¹⁵⁰ Weiter muss nicht nur die Ausbeute der Zuckernucleotide sondern auch die der *cycloSal*-Nucleotide optimiert werden. In der Vergangenheit wurde wiederholt festgestellt, dass die Zugabe von *tert*-Butylhydroperoxid bei der Umsetzung des Phosphittriesters zum Phosphattriester zu vollständigen Produktverlusten führt. Der Austausch dieses Oxidationsmittels gegen ein Gemisch aus I₂/Pyridin/Wasser oder gegen Oxon¹⁵¹ wird gegenwärtig in unserer Arbeitsgruppe mit ersten positiven Resultaten erprobt.

Im Zusammenhang mit den beobachteten Ausbeuteverlusten sollte des Weiteren ein eventuell bedeutsamer Aspekt genauer untersucht werden. Nach der Abspaltung der *cycloSal*-Maske kann ein reaktives Chinonmethid **A** als Intermediat auftreten. Die Reaktion von **A** mit Wasser liefert den entsprechenden Salicylalkohol. Im wasserfreien Medium könnte das reaktive Intermediat **A** als Alkylierungsreagenz agieren, wodurch prinzipiell Folgereaktionen mit dem Zuckernucleotid möglich sind. Um Nebenprodukte dieser Art zu unterbinden, könnten benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-Phosphattriester zum Einsatz kommen. Diese besitzen in der Benzylposition des Salicylalkohols α -acide Wasserstoffatome, um die nucleophile Abfangreaktion zugunsten einer Eliminierungsreaktion zurückzudrängen. Geeignet wäre beispielsweise die Einführung einer Ethoxycarbonylmethylgruppe als acidifizierende Einheit. Das nach Abspaltung der *cycloSal*-Maske entstehende Chinonmethid **B** wird in diesem Fall durch eine Deprotonierung intrinsisch unter Bildung eines Zimtsäureesters stabilisiert (Abb. 109).

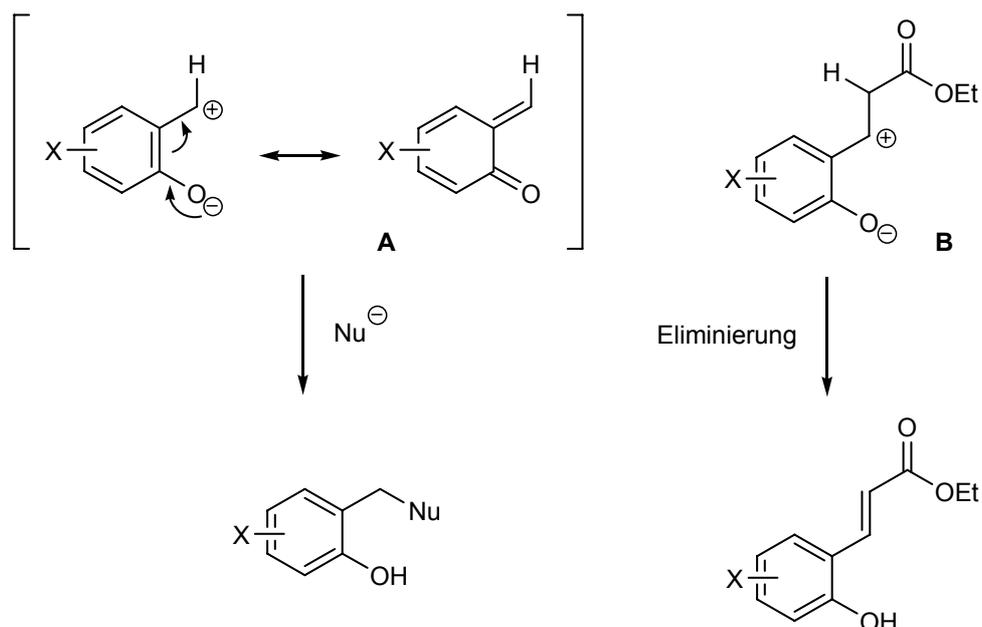


Abb. 109 Reaktionsmöglichkeiten unterschiedlich substituierter Chinonmethode

Die Benzyl-funktionalisierten Salicylalkohole sollten durch Alkylierung der korrespondierenden Salicylaldehyde zugänglich sein und können dann zum Aufbau der *cycloSal*-Nucleotide eingesetzt werden.

Ein vollständig neuer Ansatz ist die Durchführung der Zuckernucleotidsynthese, ausgehend von *cycloSal*-Nucleotiden, an einer festen Phase. Eine Möglichkeit hierfür wäre die Immobilisierung der *cycloSal*-Einheit durch Anbindung an einen festen polymeren Träger (z.B. Polystyrol). Das vorher synthetisierte *cycloSal*-Nucleotid, mit einem geeigneten Linker im *cycloSal*-Fragment, könnte über eine Ankergruppe an den Träger gebunden werden. Außerdem wäre es denkbar, zunächst den Salicylalkohol an die feste Phase zu binden, und dann den *cycloSal*-Phosphatrest an dem immobilisierten Träger aufzubauen. Die Reaktion mit einem Pyranose-1-Phosphat würde wie gewohnt die entsprechende NDP-Pyranose liefern, die nach Entstehung direkt in die Reaktionslösung diffundieren sollte (Abb. 110).

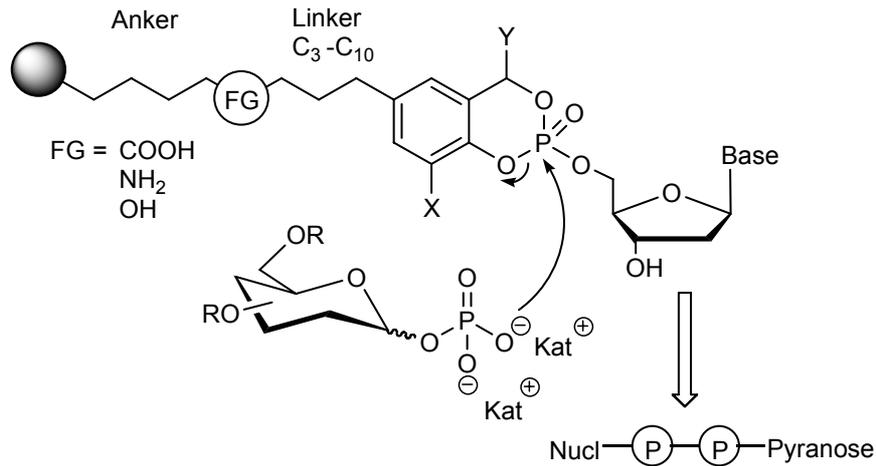


Abb 110 Festphasen-gestütztes Verfahren zur Zuckernucleotidsynthese I

Die *cycloSal*-Einheit bleibt dabei auf dem Träger gebunden. Die Isolierung würde dadurch stark vereinfacht werden. Die Trennung des Zuckernucleotids von überschüssig eingesetztem Glycosylphosphat wäre durch den Einsatz von speziellen phosphatabbauenden Enzymen denkbar.^{152,153} Auch eventuell vorhandene Nucleosidmonophosphate könnten so abgetrennt werden. Die Gruppe der alkalischen Phosphatasen besteht aus Enzymen, die Phosphatester hydrolysieren. Beim Einsatz dieser Phosphatasen müsste gewährleistet sein, dass das Enzym lediglich die Phosphatesterbindungen der im Rohgemisch vorhandenen Monophosphate abbaut und die Phosphatesterbindungen des Zuckernucleotids unberührt lässt. Nach Abtrennung der Enzyme könnte das resultierende Rohgemisch direkt in biologischen Assays eingesetzt werden.

Eine Immobilisierung könnte alternativ auch von Seiten des Nucleosids erfolgen. Die Anbindung des Nucleosids an den festen Träger könnte entweder über den Heterocyclus der Base oder über die Hydroxyfunktionen des Zuckers durch geeignete Linker bewerkstelligt werden (Abb. 111). Nach der Umsetzung des Glycosyl-1-phosphats mit dem immobilisierten *cycloSal*-Nucleotid würde das Zuckernucleotid an der festen Phase verbleiben. Nach Entfernen aller überschüssigen polaren und organischen Bestandteile könnte das Produkt durch Abspalten vom Träger auf sehr einfachem Wege isoliert werden.

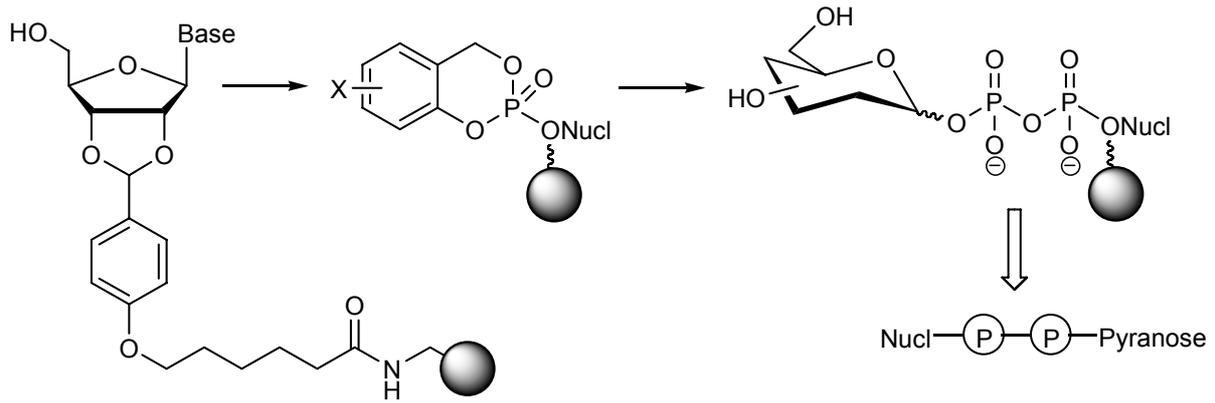


Abb. 111 Festphasen-gestütztes Verfahren zur Zuckernucleotidsynthese II

Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von NDP-Zuckern wäre die Aktivierung der phosphorylierten Hexose durch die Einführung des *cycloSal*-Fragments (Abb. 112). Solche Verbindungen wurden als "Kohlenhydrat-Prodrugs" bereits beschrieben.¹⁵⁴ Das Nucleotid müsste in diesem Fall das Phosphoratom der maskierten Pyranose angreifen, nach Abspaltung der *cycloSal*-Maske würde der gewünschte NDP-Zucker entstehen. Eine denkbare Nebenreaktion wäre der nucleophile Angriff des Nucleotids auf das anomere Zentrum des Zuckers. In diesem Fall würde eine Nucleosidmonophosphatpyranose entstehen.

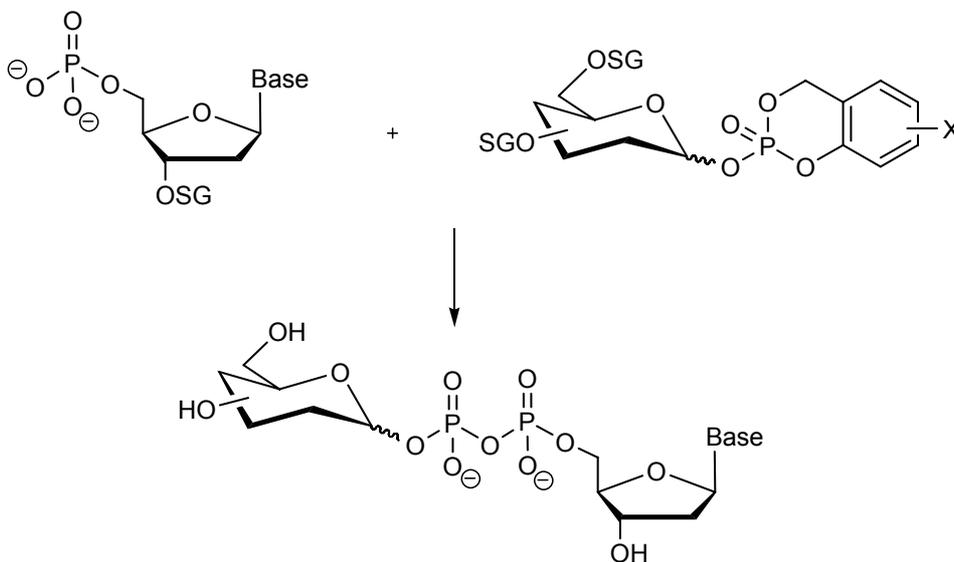


Abb.112 Synthese der Zuckernucleotide ausgehend von *cycloSal*-Hexose-1-phosphaten

Diese Methode wäre besonders dann geeignet, um schwer zugängliche Nucleotide umzusetzen, da hier die günstigere Pyranose aktiviert wird und nicht das Nucleotid.

Der Einsatz von unnatürlichen Nucleotiden könnte im Zusammenhang mit der Untersuchung der Enzym-Substrat-Wechselwirkung in der Biosynthese von Oligosacchariden interessant sein. Die Bedeutung der Glyconstruktur des Nucleosids für die Bindungsfähigkeit an Glycosyltransferasen ist noch nicht gänzlich geklärt. Bekannt ist, dass die selektive Bindung an das Enzym maßgeblich durch den Heterocyclus des Nucleosids und die Pyranosylkomponente des Zuckernucleotids stattfindet.¹⁵⁵

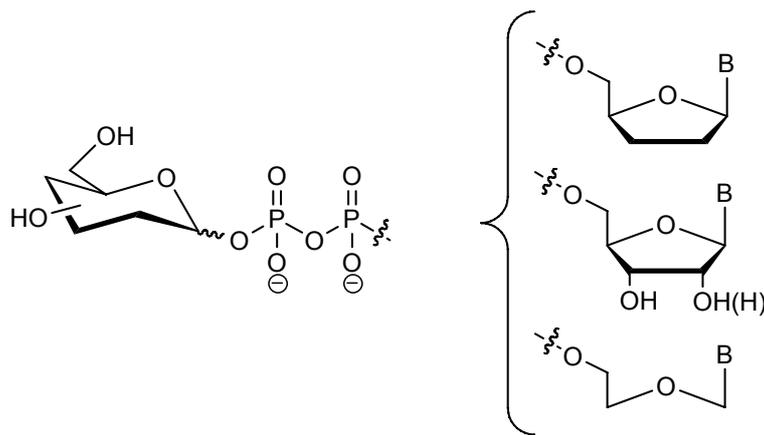


Abb. 113 Synthese von XDP-Zuckern mit unnatürlichen Nucleosiden

Zur Untersuchung der Rolle des Nucleosid-Glycons könnten verschiedene Zuckernucleotide mit modifizierter Glycon-Struktur durch synthetische Anwendung des *cycloSal*-Konzeptes dargestellt werden. Die Substrateigenschaften dieser Verbindungen könnten dann mit Hilfe der STD-NMR-Technik aufgeklärt werden.^{156,157}

Aufgrund des hohen synthetischen Potentials der *cycloSal*-Verbindungen, ist ein Einsatz als Phosphataktivester zur Bildung von weiteren Phosphatesterbindungen denkbar. In Abhängigkeit des Nucleophils könnten die verschiedensten biologisch relevanten Verbindungen im Labormaßstab synthetisiert werden. Durch Umsetzung eines *cycloSal*-Nucleotids mit einem Nucleosidmonophosphat entsteht ein 5'-Dinucleosidpyrophosphat. Beispielsweise ist Nicotinamidadenindinucleotid ein wichtiges Coenzym, das als Wasserstoffüberträger eine entscheidende Rolle in der Zellatmung spielt. Beim Angriff von Pyrophosphat auf das *cycloSal*-Nucleotid würde das entsprechende Nucleosidtriphosphat entstehen. Adenosintriphosphat ist der wichtigste Überträger freier Enthalpie zum Antrieb endergoner Prozesse für lebende

Organismen. Arbeiten auf dem Gebiet der Nucleosiddi- und triphosphate werden gegenwärtig in unserer Arbeitsgruppe erprobt.⁵⁸

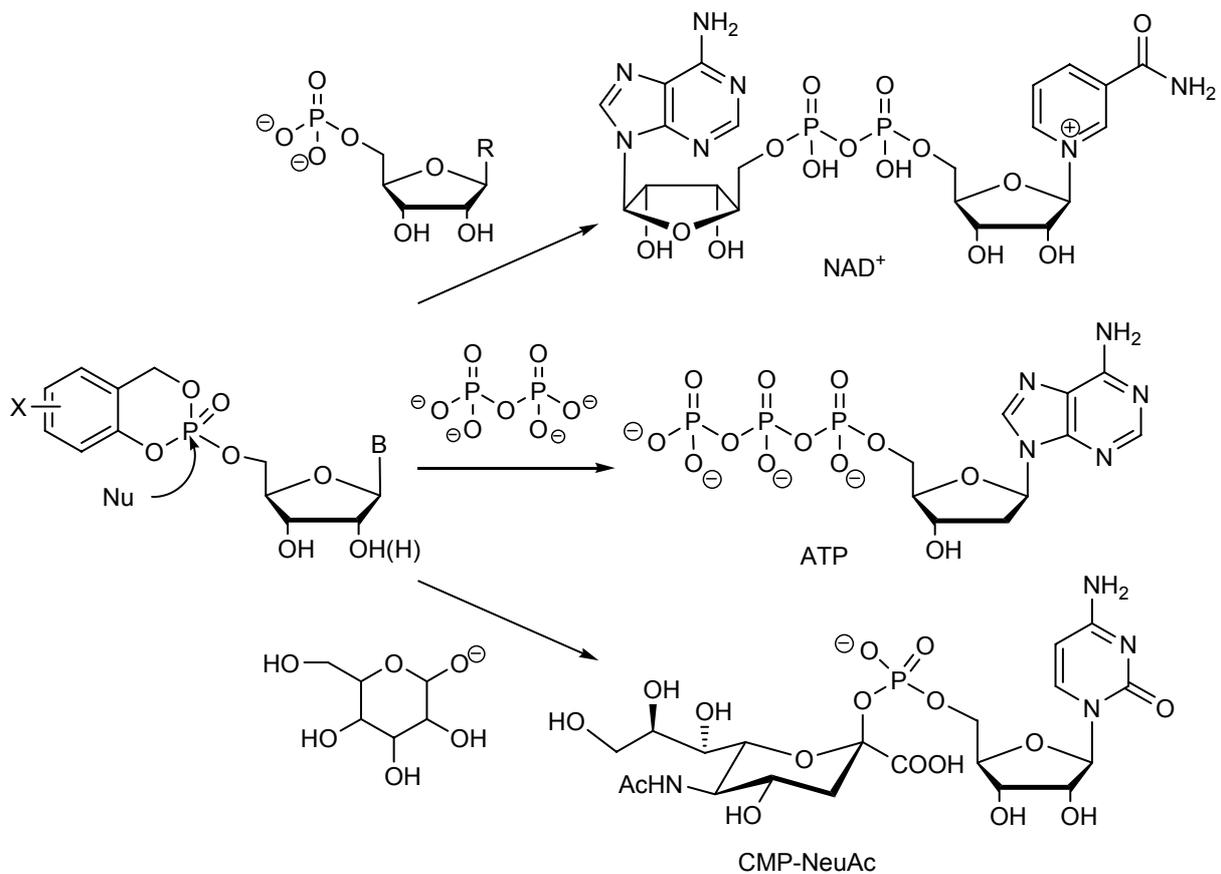


Abb. 114 Synthese verschiedener Phosphatester ausgehend von *cycloSal*-Nucleotiden

CMP-N-Acetylneuraminsäure (CMP-NeuAc) ist der Überträger der N-Acetylneuraminsäure, häufig auch als Sialinsäure bezeichnet. Dieses Monosaccharid ist eine charakteristische Komponente von Glycoproteinen und Glycolipiden.^{158,159} CMP-NeuAc könnte durch Umsetzung eines *cycloSal*-aktivierten Cytidinmonophosphats mit der entsprechend deprotonierten Neuraminsäure gewonnen werden.

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 Stickstoff destilliert.
Benzol:	C_6H_6 ; Sdp.: 80 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Dichlormethan:	CH_2Cl_2 ; Sdp.: 40 °C; zur präparativen Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert; zur Synthese über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Diethylether:	$C_4H_{10}O$; Sdp.: 35 °C; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
<i>N,N</i> -Dimethylformamid:	C_3H_7NO ; Sdp.: 153 °C; über Calciumhydrid getrocknet und im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
Diisopropylethylamin:	$C_8H_{19}N$; Sdp.: 127 °C; über Natrium getrocknet, bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert und unter Lichtausschluss aufbewahrt.
Dimethylformamid:	C_3H_7NO ; Sdp.: 153 °C; über Calciumhydrid getrocknet und im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
Dioxan:	$C_4H_8O_2$; Sdp.: 101 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Essigsäureethylester:	$C_4H_8O_2$; Sdp.: 77 °C; zur Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.
Ethanol	C_2H_6O ; Sdp.: 78 °C; über Natrium und getrocknet und unter Stickstoff 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.
Phosphor(III)-chlorid:	PCl_3 ; Sdp.: 76 °C, unter Stickstoff destilliert.

Tetrahydrofuran:	C_4H_8O ; Sdp.: 65 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Triethylamin:	$C_6H_{15}N$; Sdp.: 89 °C, über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Pyridin:	C_5H_5N ; Sdp.: 116 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.

8.1.2. Verwendete Puffer und Reagenzien

8.1.3. Chromatographie

- Dünnschichtchromatographie (TLC)

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 10 cm zugeschnitten; die Laufstrecke betrug 6 – 7 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 und durch Besprühen mit 10 %iger ethanolischer Schwefelsäure und anschließender Wärmebehandlung. Zur Detektion von ungesättigten Verbindungen wurde eine Iodkammer verwendet.

- Zirkulare, zentrifugale Dünnschichtchromatographie (CCTLC)

Mittels eines Chromatotrons 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 der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

- Präparative Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden PSC-Fertigplatten der Firma Merck verwendet. Die Platten waren mit Aluminiumoxid 60 F₂₅₄ beschichtet, hatten eine Schichtdicke von 1.5 mm und eine Größe von 20 x 20 cm. Als Laufmittel wurde *iso*-Propanol/ NH_3 / H_2O 14:1:7 v/v verwendet.

- Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)

Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (230 – 400 mesh, Korngröße 0.040 – 0.063 nm, Merck) nach dem Flash-Verfahren bei einem Überdruck von 0.2 – 0.4 bar durchgeführt. Es wurden stets destillierte Lösemittel verwendet.

- Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die semipräparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an zwei Merck-Hitachi-Anlagen durchgeführt:

Software: Chromatography Data Station Software; HPLC-Manager Version 2 bzw. Version 3.1.1; Interface: Model D 6000 bzw. Model L-7000; Pumpe: Model L 6200 A Intelligent Pump bzw. Model L-7100; Automatischer Probenwechsler: Model AS 2000 A bzw. Model L-7200; Dioden Array Detektor: Model L-7455; Detektion: UV, 260 nm; Säule für semipräparative Trennungen: Merck LiChroCart 250-10, reversed phase mit Silicagel Lichrospher 100 RP 18 (10 µm); Laufmittel: isokratisch mit wechselnden Anteilen Acetonitril/Wasser bei einer Flussrate von 4 mL/min.

Die präparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an einer Dionex-Anlage durchgeführt:

Software: Dionex Chromeleon 6.4; Pumpe: Dionex P 580; Detektor: Dionex UVD 340 S; Detektion: UV, 260 nm; Säule für präparative Trennungen: VYDAC 300 C18; Laufmittel: isokratisch mit 100 % H₂O + 0.1 % Trifluoressigsäure bei einer Flussrate von 10 mL/min.

8.1.4. Kernresonanzspektroskopie (NMR)

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; ¹³C mit 101 MHz)
- Bruker DMX 500 (¹H mit 500 MHz; ¹³C mit 126 MHz; ³¹P mit 202 MHz; ¹⁹F mit 471 MHz)
- Bruker AMX 400 (³¹P mit 162 MHz)

Zusätzlich wurde von allen nicht luftempfindlichen Verbindungen ¹H,¹H- sowie ¹H,¹³C-Korrelationsspektren (H,H-COSY bzw. HMQC) aufgenommen. Darüber hinaus wurden einige NMR-Spektren in der spektroskopischen Abteilung des Instituts

für Anorganische und Angewandte Chemie aufgenommen (Modell Bruker AVANCE 400, 400 MHz)

^1H -NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl_3 ($\delta = 7.27$ ppm), DMSO-d_6 ($\delta = 2.49$ ppm) und D_2O ($\delta = 4.65$ ppm).

^{13}C -NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl_3 ($\delta = 77.0$ ppm) und DMSO-d_6 ($\delta = 39.7$ ppm).

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

Zur Wiedergabe der Multiplizitäten in den ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-Spektren finden folgende Abkürzungen Verwendung: br. = breit, s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin = Quintett, sept = Septett, m = Multiplett, arom. = aromatisch.

8.1.5. Massenspektrometrie (MS)

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

Die ESI-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem Elektrospray-Gerät (Hewlett Packard HP 5989 B MS mit einem ESI Interface HP 599 87 A API oder Finnegan MAT 95 Trap XL) gemessen und mit der Software ISIS 8.1 nachbearbeitet. Als Fließmittel wurde Acetonitril mit 0.1 % Essigsäure (ESI^+) oder Acetonitril/Wasser 50:50 v/v benutzt.

Die FAB-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem Doppelfokussierenden Spektrometer VG/70-250 F der Firma VG Analytical gemessen. Als Matrix wurde *m*-Nitrobenzylalkohol verwendet.

8.1.6. Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FT-IR)

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

8.1.7. Polarimeter

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 oder einem Jasco DIP-370 Digital Polarimeter in 10 cm Küvetten mit einer Natriumlampe bei einer Wellenlänge von 589 nm gemessen.

8.1.8. Sonstige Geräte

- Gefriertrocknung

Wässrige Lösungen wurden an einer Amsco/Finn-Aqua Lyovac GT2 Gefriertrocknungsanlage bzw. an einer Christ/Alpha 2-4 Gefriertrocknungsanlage lyophilisiert.

- Thermomixer

Als Thermomixer wurde ein Eppendorf Thermomixer 5436 verwendet.

- SpeedVac

Zur Entfernung kleiner Lösungsmittelmengen kam ein Eppendorf Concentrator 5301 zum Einsatz.

- Zentrifuge

Suspensionen des Hydrierkatalysators wurden an einer Heraeus Biofuge Primo R bei 6000 U/min zentrifugiert.

8.2. Synthesen

8.2.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften

8.2.1.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Salicylalkohol-Derivaten durch Reduktion von Carbonylverbindungen (AAV 1)

Zum Ausschluss von Feuchtigkeit wurde die Reaktion in einer Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Abhängig vom Edukt wurden 1.0 Äquiv. (Aldehyde) bzw. 2.0 Äquiv. (Carbonsäuren, Carbonsäureester) Lithiumaluminiumhydrid in abs. THF suspendiert. Zu dieser Suspension wurde unter Rühren eine Lösung der zu reduzierenden

Carbonylverbindung in abs. THF getropft. Die Zugabe erfolgte innerhalb von 30 min bei 0°C. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und noch 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei unvollständiger Reaktion (DC-Kontrolle) wurde das Reaktionsgemisch noch 1-3 h unter Rückfluss erhitzt. Überschüssiges Lithiumaluminiumhydrid wurde durch Zugabe von 2N Salzsäure unter starkem Rühren und unter Eiskühlung zerstört. Bei einem pH-Wert des Reaktionsgemisches von 4-5 wurde Wasser zugegeben und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde noch fünfmal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Die erhaltenen Produkte waren teilweise noch verunreinigt. Gegebenenfalls musste eine abschließende Säulenchromatographie durchgeführt werden.

8.2.1.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Saligenylchlorphosphiten (AAV 2)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 1.0 Äquiv. des entsprechenden Salicylalkohol-Derivates in trockenem Diethylether vorgelegt und auf -20 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden 1.2 Äquivalente frisch destilliertes Phosphor(III)-chlorid zugegeben und circa 10 min gerührt. Anschließend wurden ebenfalls bei -20 °C über einen Zeitraum von 2 h 2.3 Äquiv. abs. Pyridin, gelöst in abs. Diethylether, zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und noch 1.5 h gerührt. Die Ansätze wurden über Nacht bei -20 °C gelagert, um ein möglichst vollständiges Ausfallen des entstandenen Pyridinhydrochlorids herbeizuführen, welches nachfolgend unter Schutzgas mittels einer Umkehrfritte abfiltriert wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert. Die erhaltenen Rohprodukte der Saligenylchlorphosphite wurden in der Regel ohne weitere Reinigung zu den *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten umgesetzt.

8.2.1.3. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Saligenylphosphorchloridaten (AAV 3)

In einer Stickstoffatmosphäre wurden 1.1 Äquiv. POCl₃ in abs. THF gelöst und auf -60 °C gekühlt. In einem Tropftrichter mit aktiviertem Molsieb (4 Å) wurden 1.0 Äquiv.

des jeweiligen Salicylalkohol-Derivates und 2.2 Äquiv. Triethylamin in abs. THF gelöst. Nach 30 min wurde dieses Gemisch zur Lösung des POCl_3 in THF innerhalb einer Stunde bei $-60\text{ }^\circ\text{C}$ zugetropft. Gegebenenfalls wurde mit geringen Mengen THF nachgespült. Anschließend wurde das Gemisch 1 h bei $-40\text{ }^\circ\text{C}$ und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Daraufhin wurde das gebildete Triethylammoniumchlorid abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde am Chromatotron (PE/EE) gereinigt.

8.2.1.4. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten (AAV 4)

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen.

Variante I:

Das zu veresternde Nucleosid (1.0 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Acetonitril gelöst und auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren DIPEA (2.0 Äquiv.) sowie vorsichtig das entsprechende Saligenylchlorophosphit (verunreinigtes Rohprodukt, entsprechend 2.0 Äquiv. bei hypothetischer Reinheit), gelöst in abs. Acetonitril, gegeben. Nach beendeter Zugabe ließ man die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmen und noch 1 h bei dieser Temperatur rühren. Die Reaktion wurde dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v). Anschließend wurden wiederum bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 3.4 Äquivalente einer *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung (5-6 M Lösung in *n*-Decan) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde erneut auf Raumtemperatur erwärmt und nochmals 1 h gerührt. Nach vollendeter Oxidation (DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron in einer ersten Trennung von Salzen befreit (Essigester/Methanol (angesäuert mit 0.1 % Essigsäure) = 9:1 v/v). Durch weitere Reinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradient (angesäuert mit 0.1 % Essigsäure)) wurde das Produkt zunächst in Form eines farblosen Öls erhalten. Durch nachfolgende Gefriertrocknung aus Acetonitril/Wasser 1:2 v/v wurden farblose Watten isoliert.

Variante II:

Das zu veresternde Nucleosid (1.0 Äquiv.) wurde in abs. Pyridin gelöst, die Lösung wurde dann in einen Schlenkkolben mit aktiviertem Molsieb (4 Å) überführt. Anschließend wurde bei -40 °C das Saligenylphosphorchloridat (1.8 Äquiv), gelöst in THF oder in Toluol (1.0 M), sehr langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch noch weitere 3 - 8 h bei -40°C gerührt, der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde am Chromatotron mit Dichlormethan/Methanol gereinigt. Das erhaltene Öl wurde in Acetonitril/Wasser 1:2 v/v aufgenommen und gefriergetrocknet.

Variante III:

Das Saligenylphosphorchloridat (1.0 Äquiv.) wurde in wasserfreiem Dioxan gelöst, dann wurden 2.0 Äquivalente Imidazol hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das zu veresternde Nucleosid tropfenweise zugegeben. Die Reaktion wurde auf 50 °C erwärmt und 12-15 h bei dieser Temperatur gerührt. Der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde am Chromatotron mit Dichlormethan/Methanol gereinigt. Das erhaltene Öl wurde in Acetonitril/Wasser 1:2 v/v aufgenommen und gefriergetrocknet.

8.2.1.5. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Acetylierung von Hydroxylgruppen (AAV 5)

Die zu acetylierende Verbindung (1.0 Äquiv.) wurde in abs. Pyridin gelöst. Die Reaktionslösung wurde auf 0°C abgekühlt, Essigsäureanhydrid (3.0 Äquiv. pro OH-Gruppe) wurde tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei 0°C gerührt und anschließend weitere 18 h bei Raumtemperatur. Danach wurde mehrmals mit Toluol codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr vorhanden war. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und gründlich mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat und

Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

8.2.1.6. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur selektiven Entschützung der anomeren Hydroxylgruppe von Monosacchariden (AAV 6)

In einer Stickstoffatmosphäre wurde die zu entschützende Pyranose (1.0 Äquiv.) in abs. DMF gelöst und mit Hydrazinacetat (1.2 Äquiv.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde solange auf 50 °C erwärmt bis das Hydrazinacetat vollständig gelöst war. Anschließend wurde unter Rühren auf Raumtemperatur abgekühlt und der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat 3:1 v/v) verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde die Reaktionslösung in Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer eingeeengt, restliches DMF wurde im Ölpumpenvakuum entfernt. Der ölige Rückstand wurde mehrfach mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert. Die abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat v/v) an Kieselgel.

8.2.1.7. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur anomeren Phosphatylierung von Monosacchariden (AAV 7)

Variante I: Die entsprechende 1-OH freie Pyranose (1.0 Äquiv.) wurde in einer Stickstoffatmosphäre in abs. Dichlormethan gelöst und mit 1.2 Äquiv. Dicyanoimidazol versetzt. Unter Eiskühlung wurden 1.5 Äquivalente bis-(Benzyl)-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit langsam zugetropft. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 45 min bei dieser Temperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle, Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v) wurden unter erneuter Eiskühlung 1.5 Äquivalente 3-Chlorperbenzoesäure in kleinen Portionen zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach 30 Minuten rühren mit Diethylether verdünnt. Es wurde solange mit Natriumsulfat-Lösung gewaschen bis in der organischen Phase keine Peroxide mehr vorhanden waren. Anschließend wurde diese Phase mit gesättigter Natriumchloridlösung und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether/Ethylacetat

v/v) gereinigt wobei die entstandenen α - und β -Phosphate voneinander getrennt werden konnten.

Variante II: In einem Schlenkkolben mit 3 Å Molsieb wurden 1.8 Äquivalente Dibenzylphosphat in einem Gemisch aus abs. Dichlormethan und abs. Acetonitril gelöst. Unter Eiskühlung und starkem Rühren wurden 1.0 Äquivalente des Pyranosylbromids, gelöst in abs. Dichlormethan, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde mit 1.8 Äquivalenten Ag_2CO_3 versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite filtriert, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether/Ethylacetat). Mit dieser Variante konnte das β -Phosphat in reiner Form isoliert werden.

8.2.1.8. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur hydrogenolytischen Abspaltung von Benzyl-Schutzgruppen (AAV 8)

Die jeweilige benzylgeschützte Verbindung (1.0 Äquiv.) wurde in einer Stickstoffatmosphäre in abs. Dioxan gelöst und 2.0 Äq. Et_3N wurden tropfenweise zugesetzt. Abschließend wurden in der Reaktionslösung je nach Ansatzgröße ein bis drei Spatelspitzen Pd/C (10%ig) suspendiert. Der Reaktionsansatz wurde mit leichtem H_2 -Überdruck bei Raumtemperatur reduziert. Die Reaktionszeit betrug 2-15 h (DC-Kontrolle). Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde die Suspension über Celite filtriert. Die in einigen Fällen im Produkt verbliebenen Pd-Rückstände wurden mittels einer Zentrifuge vollständig abgetrennt. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan aufgenommen und fünfmal mit Wasser extrahiert. Das Produkt konnte aus den vereinigten wässrigen Fraktionen durch Gefriertrocknung gewonnen werden.

8.2.1.9. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen (AAV 9)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Das jeweilige *cycloSal*-Nucleosidmonophosphat (1.0 Äq.) wurde in abs. DMF gelöst und mit 1.2 Äquiv. des Glycosyl-1-phosphats (in Form des Triethylammoniumsalzes) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei 50°C gerührt, die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v). Die Reaktionszeit variierte je nach Substitutionsmuster des *cycloSal*-

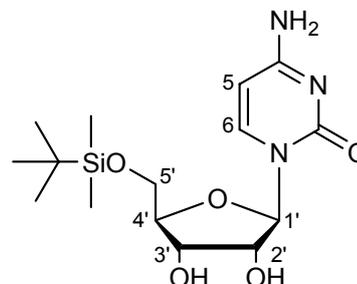
Fragments zwischen 3 h und 14 Tagen. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert. Das nach Gefriertrocknung erhaltene Zuckernucleotid wurde in einem Gemisch von 2 mL Wasser, 5 mL Methanol und 0.7 mL Triethylamin aufgenommen und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Gefriertrocknung wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 N Ammoniumacetat-Lösung (2:1, v/v).

8.2.2. Synthese der modifizierten Nucleoside

8.2.2.1. Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-Cytidin **102**

Cytidin **101** (4.00 g, 16.5 mmol) wurde zunächst in einer Stickstoffatmosphäre in 60 mL wasserfreiem Pyridin gelöst. Bei Raumtemperatur wurden 1.2 Äquivalente *tert*-Butyldimethylchlorsilan (2.87 M in Toluol) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde diese mit 100 mL Methanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert, danach wurde mehrmals mit Toluol codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr vorhanden war. Anschließend wurde zweimal mit Dichlormethan coevaporiert. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 4.76 g (13.3 mmol, 81 %) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** C₁₅H₂₇N₃O₅Si; **Molgewicht:** 357.48 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.28;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 0.08 (s, 6H, Silyl-CH₃), 0.89 (s, 9H, *t*Bu-CH₃), 3.72-3.75 (m, 1H, H-5'), 3.85-3.91 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 4.97 (d, 1H,

$^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, OH), 5.36 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, OH), 5.67 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, H-5), 5.77 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H-1'), 7.10 (s, 2H, NH₂), 7.81 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, H-6).

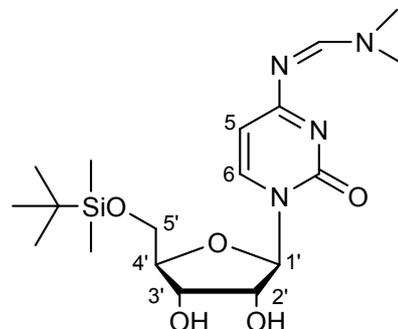
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 18.1 (Si-C_q), 25.9 (Silyl-CH₃), 62.1 (C-5'), 68.9 (C-4'), 74.5 (C-2'), 83.2 (C-3'), 89.2 (C-1'), 93.6 (C-5), 140.7 (C-6), 155.3 (C-4), 165.6 (C-2).

HRMS (FAB): berechnet für C₁₅H₂₇N₃O₅Si [M+H]: 358.1798, gefunden: 358.1823.

8.2.2.2. Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-N-4-Formamidin-Cytidin 103

Es wurden 1.00 g (2.80 mmol) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-Cytidin **102** in 70 mL abs. Pyridin gelöst und mit 0.958 mL (5.60 mmol) *N,N*-Dimethylformamiddiethylacetal versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand wurde zweimal mit Toluol und abschließend zweimal mit Dichlormethan coevaporiert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 1.07 g (2.59 mmol, 93 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₈H₃₂N₄O₅Si; **Molgewicht:** 412.56 g/mol; **DC:** *R_f* (Dichlormethan/ Methanol 9:1 v/v): 0.40;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 0.09 (s, 6H, Silyl-CH₃), 0.90 (s, 9H, *t*Bu-CH₃), 3.04 (s, 3H, N-CH₃), 3.17 (s, 3H, N-CH₃), 3.74-3.77 (m, 1H, H-5'), 3.89-3.95 (m, 4H, H-2', H-3', H-4', H-5'), 4.98 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, OH), 5.46 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, OH), 5.78 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H-1'), 5.86 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H-5), 8.04 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, H-6), 8.63 (s, 1H, N=CH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 18.4 (Si-C_q), 26.2 (Silyl-CH₃), 35.1 (N-CH₃), 41.2 (N-CH₃), 62.2 (C-5'), 68.9 (C-4'), 75.0 (C-2'), 83.6 (C-3'), 90.1 (C-1'), 101.5 (C-5), 142.2 (C-6), 155.5 (C-4), 171.4 (C-2).

MS (FAB): berechnet für C₁₈H₃₂N₄O₅Si [M+H]: 413.6, gefunden: 413.6.

8.2.2.3. Synthese von 5'-O-TBDMS-N-4-Pac-2',3'-O-PAc-Cytidin **106**

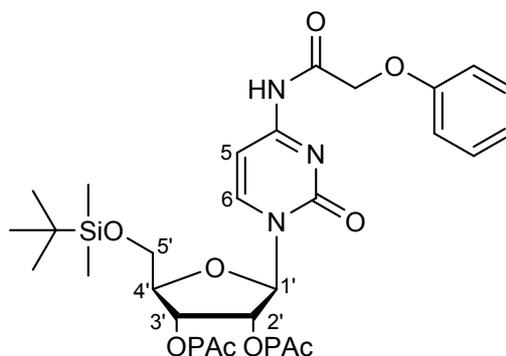
Es wurden 3.65 g (27.0 mmol) 1-Hydroxybenzotriazol in 15 mL abs. Acetonitril suspendiert, anschließend wurden 4.66 mL (33.8 mmol) Phenoxyacetylchlorid zugegeben. Die entstandenen Salze wurden in 80 mL abs. Pyridin gelöst. Diese Lösung wurde bei 0°C unter starkem Rühren langsam zu einer Lösung aus 2.41 g (6.75 mmol) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-Cytidin **102** in 20 mL abs. Pyridin getropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 20 h gerührt. Nach beendeter Reaktion (dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung mit Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) wurden bei 0°C 30 mL Wasser zugegeben. Nach Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mehrmals mit Wasser und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden abschließend mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v gereinigt.

Ausbeute: 4.29 g (5.65 mmol, 84 %) eines

gelben Öls; **Summenformel:** C₃₉H₄₅N₃O₁₁Si;

Molgewicht: 759.87 g/mol; **DC:** R_f

(Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.62;



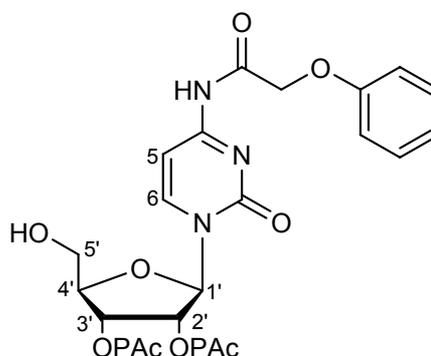
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*₆): 0.00 (Silyl-CH₃), 0.01 (Silyl-CH₃), 0.81 (*t*Bu-CH₃), 3.64 (dd, 1H, ²*J*_{HH} = 11.7 Hz, ³*J*_{HH} = 1.5 Hz, H-5'), 3.87 (dd, 1H, ²*J*_{HH} = 11.7 Hz, ³*J*_{HH} = 1.5 Hz, H-5'), 4.14-4.15 (m, 1H, H-4'), 4.39-4.54 (m, 6H, CH₂-PAC), 5.37-5.41 (m, 2H, H-2', H-3'), 6.20 (d, 1H, ³*J*_{HH} = 4.3 Hz, H-1'), 6.73-6.89 (m, 9H, H_{arom}), 7.09-7.17 (m, 6H, H_{arom}), 7.33 (d, 1H, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, H-5), 8.20 (d, 1H, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, H-6), 9.35 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*₆): -5.7 (Silyl-CH₃), 18.2 (*t*Bu-C_q), 60.2 (C-5'), 62.0, 64.6, 67.2 (CH₂-PAC), 71.1 (C-3'), 75.0 (C-2'), 83.0 (C-4'), 87.2 (C-1'), 96.8 (C-5), 114.6, 121.7, 121.9, 122.4, 129.2, 129.5, 129.7 (C_{arom}), 144.3 (C-6), 155.0 (C-4), 156.7, 157.5, 161.7 (Aryl-C_q), 167.8, 167.9, 168.5 (C=O), 170.9 (C-2).

8.2.2.4. Synthese von *N*-4-PAc-2',3'-O-PAc-cytidin **107**

Es wurden 2.70 g (3.60 mmol) 5'-O-TBDMS-*N*-4-Pac-2',3'-O-PAc-Cytidin **106** in 40 mL abs. THF gelöst. Zu dieser Lösung wurden bei Raumtemperatur 3.62 mL (22.2 mmol) Triethylamintrihydrofluorid sowie 2.50 mL (18.0 mmol) Triethylamin gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) wurde das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde am Chromatotron mit Dichlormethan und anschließend mit Ethylacetat gereinigt.

Ausbeute: 1.77 g (2.74 mmol, 76 %) eines gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₃₃H₃₁N₃O₁₁; **Molgewicht:** 645.61 g/mol; **DC:** *R_f* (Ethylacetat): 0.43;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 3.61-3.75 (m, 2H, H-5'), 4.21-4.23 (m, 1H, H-4'), 4.74-4.90 (m, 6H, CH₂-PAC), 5.40 (t, 1H, ³J_{HH} = 5.4 Hz, OH), 5.47-5.49 (m, 1H, H-3'), 5.57 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.5 Hz, 5.0 Hz, H-2'), 6.09 (d, 1H, ³J_{HH} = 5.0 Hz, H-1'), 6.89-6.97 (m, 9H, H_{arom}), 7.16 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, H-5), 7.24- 7.31 (m, 6H, H_{arom}), 8.34 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, H-6), 11.09 (s, 1H, NH).

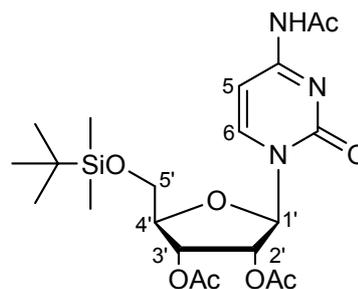
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 60.1 (C-5'), 63.9, 64.0, 66.4 (CH₂-PAC), 70.9 (C-3'), 73.6 (C-2'), 82.8 (C-4'), 87.9 (C-1'), 95.8 (C-5), 114.2, 121.0, 129.2, 129.4 (C_{arom}), 148.9 (C-6), 162.2, 161.5, 167.7 (C_q-PAC), 167.8 (C-2).

HRMS (ESI): berechnet für C₃₃H₃₁N₃O₁₁K [M+K]: 684.1583, gefunden: 684.1581.

8.2.2.5. Synthese von 5'-O-TBDMS-*N*-4-Ac-2',3'-O-Ac-Cytidin **108**

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**. Es wurden 2.00 g (5.59 mmol) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-Cytidin **102**, gelöst in 30 mL Pyridin und 7.31 mL (75.5 mmol, abweichend von **AAV 5** Einsatz von 4.5 Äquiv. pro OH-Gruppe) Essigsäureanhydrid eingesetzt.

Ausbeute: 2.48 g (5.13 mmol, 92 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₁H₃₃N₃O₈Si; **Molgewicht:** 483.20 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.55;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 0.01 (s, 6H, Silyl-CH₃), 0.80 (s, 9H, ^tBu-CH₃), 1.98, 1.99, 2.03 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl), 3.73 (dd, 1H, ²J_{HH} = 11.9 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, H-5'), 3.86 (dd, 1H, ²J_{HH} = 11.9 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, H-5'), 4.17-4.19 (m, 1H, H-4'), 5.23 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 5.4 Hz, H-3'), 5.30 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, H-2'), 5.94 (d, 1H, ³J_{HH} = 4.6 Hz, H-1'), 7.16 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, H-5), 8.13 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, H-6), 10.90 (s, 1H, NHAc).

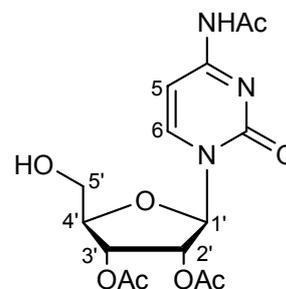
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): -5.7 (Silyl-CH₃), 17.9 (^tBu-C_q), 20.2, 20.3 (CH₃-Acetyl), 24.4 (CH₃-Acetyl), 25.6 (^tBu-CH₃), 62.2 (C-5'), 69.8 (C-4'), 73.5 (C-2'), 82.3 (C-3'), 88.1 (C-1'), 95.8 (C-5), 144.7 (C-6), 154.3 (C-4), 162.7 (C-2), 169.2, 169.3, 171.1 (C_q-Acetyl).

HRMS (FAB): berechnet für C₂₁H₃₃N₃O₈Si [M+H]: 484.2115, gefunden: 484.2132.

8.2.2.6. Synthese von N-4-Ac-2',3'-O-Ac-Cytidin 109

Es wurden 1.50 g (3.10 mmol) 5'-O-TBDMS-N-4-Ac-2',3'-O-Ac-Cytidin **108** in 20 mL abs. THF gelöst und mit 3.16 mL (3.12 g, 19.4 mmol) Triethylamin-Trihydrofluorid sowie 2.15 mL (1.57 g, 15.5 mmol) Triethylamin versetzt. Die Reaktion wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 731 mg (1.98 mmol, 64 %) eines leicht gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₅H₁₉N₃O₈; **Molgewicht:** 369.33 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan /Methanol 9:1 v/v) 0.38;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 2.02, 2.05, 2.18 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl), 3.78 (d, 1H, ²J_{HH} = 11.5 Hz, H-5'), 3.94 (dd, 1H, ²J_{HH} = 11.5 Hz, H-5'), 4.19-4.21 (m,

^1H , H-4'), 5.46 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H-2'), 5.56 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, H-3'), 5.97 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H-1'), 7.38 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, H-5), 8.11 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, H-6), 9.19 (s, 1H, NHAc).

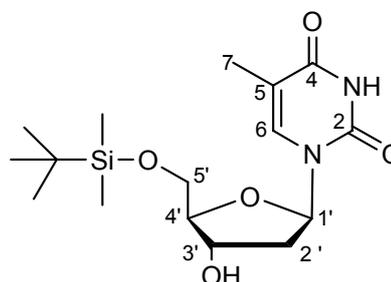
^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 20.3, 20.4 (CH₃-Acetyl), 24.4 (CH₃-Acetyl), 60.3 (C-5'), 70.3 (C-4'), 73.3 (C-2'), 82.9 (C-3'), 88.0 (C-1'), 96.0 (C-5), 145.6 (C-6), 154.5 (C-4), 162.8 (C-2), 169.2 169.5, 171.3 (C_q-Acetyl).

HRMS (FAB): berechnet für C₁₅H₁₉N₃O₈ [M+H]: 370.1250, gefunden: 370.1273.

8.2.2.7. Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2'-desoxythymidin **98**

2'-Desoxythymidin **97** (3.00 g, 12.4 mmol) wurde in einer Stickstoffatmosphäre mehrmals mit Pyridin coevaporiert und anschließend in 40 mL wasserfreiem Pyridin gelöst. Bei Raumtemperatur wurden 1.3 Äquivalente *tert*-Butyldimethylchlorsilan (2.43 g, 16.1 mmol) portionsweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und zum Abbruch der Reaktion mit 60 mL Methanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert, danach wurde mehrmals mit Toluol codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr vorhanden war. Anschließend wurde zweimal mit Dichlormethan coevaporiert. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus 60 mL Benzol und wenig Essigester (15 mL) umkristallisiert.

Ausbeute: 3.00 g (8.42 mmol, 68 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₈N₂O₅Si; **Molgewicht:** 356.49 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55;



^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 0.11 (s, 6H, Silyl-CH₃), 0.92 (s, 9H, ^tBu-CH₃), 1.91 (d, 3H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H-7), 2.06-2.13 (m, 1H, H-2'b), 2.37 (ddd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, H-2'a), 3.86 (ddd, 2H, $^2J_{\text{HH}} = 24.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H-5'), 4.04 (dt, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, H-4'), 4.44-4.46 (m,

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 6.38 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, H-1'), 7.51 (q, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H-6), 8.83 (s, 1H, NH).

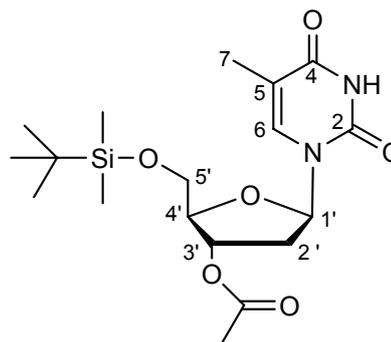
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): -5.0 (Silyl- CH_3), 12.7 (C-7), 18.5 ($^t\text{Bu-C}_q$), 26.1 ($^t\text{Bu-CH}_3$), 41.3 (C-2'), 63.7 (C-5'), 72.8 (C-3'), 85.1 (C-1'), 87.3 (C-4'), 111.1 (C-5), 135.6 (C-6), 150.5 (C-2), 163.9 (C-4).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3554, 3180, 2951, 2927, 2848, 1690, 1467, 1256, 1118, 834, 774.

8.2.2.8. Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetyl-2'-desoxythymidin 99

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**. Es wurden 2.80 g (7.85 mmol) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2'-desoxythymidin **98**, gelöst in 20 mL Pyridin und 0.740 mL (7.85 mmol) Essigsäureanhydrid eingesetzt.

Ausbeute: 2.88 g (7.23 mmol, 92 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$; **Molekulargewicht:** 398.53 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.60;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 0.12 (s, 6H, Silyl- CH_3), 0.92 (s, 9H, $^t\text{Bu-CH}_3$), 1.92 (d, 3H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-7), 2.09 (s, 3H, CH_3 -Acetyl), 2.10-2.15 (m, 1H, H-2'b), 2.37-2.42 (m, 1H, H-2'a), 3.90 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, H-5'), 4.08-4.09 (m, 1H, H-4'), 5.23 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, H-3'), 6.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$ Hz, H-1'), 7.54 (q, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-6), 9.11 (s, 1H, NH).

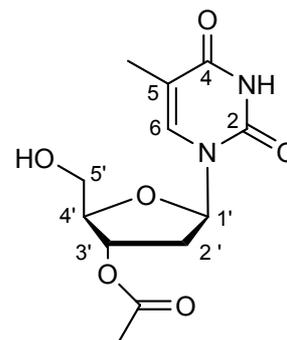
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): -4.6 (Silyl- CH_3), 12.6 (C-7), 18.5 ($^t\text{Bu-C}_q$), 21.1 (CH_3 -Acetyl), 26.0 ($^t\text{Bu-CH}_3$), 38.1 (C-2'), 63.7 (C-5'), 75.5 (C-3'), 84.7 (C-1'), 85.5 (C-4'), 111.4 (C-5), 135.1 (C-6), 150.6 (C-2), 163.9 (C-4), 170.8 (C- q -Acetyl).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3234, 3065, 2945, 2927, 2854, 1733, 1684, 1473, 1401, 1383, 1244, 828, 774.

8.2.2.9. Synthese von 3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin 100

5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetyl-desoxythymidin **99** (2.70 g, 6.78 mmol) wurde bei Raumtemperatur in THF gelöst, mit 1.5 Äquivalenten einer 1.0 M Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung (10.2 mL, 10.2 mmol) versetzt und 1 h gerührt. Nach vollständiger Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Essigester/Methanol 8:2 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 1.85 g (6.51 mmol, 96 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₂H₁₆N₂O₆; **Molgewicht:** 284.27 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.50;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.92 (d, 3H, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, H-7), 2.11 (s, 3H, CH₃-Acetyl), 2.34-2.46 (m, 2H, H-2'), 3.92-3.96 (m, 2H, H-5'), 4.09 (dt, 1H, ³J_{HH} = 2.5 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, H-4'), 5.35 (dt, 1H, ³J_{HH} = 2.5 Hz, ³J_{HH} = 5.0 Hz, H-3'), 6.24 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ³J_{HH} = 8.2 Hz, H-1'), 7.50 (q, 1H, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, H-6), 8.67 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 12.7 (C-7), 21.1 (CH₃-Acetyl), 37.3 (C-2'), 62.8 (C-5'), 74.8 (C-3'), 85.2 (C-4'), 86.0 (C-1'), 111.6 (C-5), 136.3 (C-6), 150.5 (C-2), 163.6 (C-4), 170.9 (C_q-Acetyl).

MS(EI, m/z): ber.: 284 (M), gef.: 284 (M, 12 %), 193 (8), 159 (33), 126 (24), 99 (100), 69 (81), 43 (59).

IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3469, 3198, 3108, 3065, 2945, 1709, 1660, 1250, 949, 786.

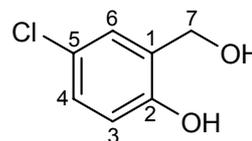
8.2.3. Synthese der Salicylalkoholderivate

8.2.3.1. Synthese von 5-Chlor-Salicylalkohol 67

Methode I: Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**. Es wurden 1.00 g (5.79 mmol) 5-Chlor-Salicylsäure, gelöst in 20 mL abs. THF, und 440 mg (11.6 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 30 mL abs. THF, eingesetzt.

Methode II: In einer Stickstoffatmosphäre wurden 2.50 g (14.5 mmol) 5-Chlor-Salicylsäure in 10 mL abs. THF gelöst und bei 0 °C mit 25 mL einer 1 M Boran-THF-Komplexlösung (25.0 mmol) tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde überschüssiges Hydrid durch Zugabe von Wasser zerstört. Das Reaktionsgemisch wurde vorsichtig mit 3 N Natronlauge versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0°C mit verdünnter Essigsäure ein pH-Wert von 5-6 eingestellt und drei bis fünf Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde aus 40 mL Benzol umkristallisiert.

Ausbeute: Methode I: 602 mg (3.80 mmol, 66 %) eines farblosen Feststoffes; Methode II: 1.98 g (12.5 mmol, 86 %) eines farblosen Feststoffes **Summenformel:** C₇H₇ClO₂; **Molgewicht:** 158.58 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 4.45 (d, 2H, ³J_{HH} = 5.4 Hz, H-7), 5.11 (t, 1H, ³J_{HH} = 5.4 Hz, Benzyl-OH), 6.76 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.7 Hz, H-3), 7.06 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, H-4), 7.27 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, H-6), 9.65 (s, 1H, Phenol-OH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 57.7 (C-7), 116.0 (C-3), 122.4 (C-1), 126.5 (C-6), 126.7 (C-4), 131.1 (C-5), 152.9 (C-2).

MS (EI, m/z): ber.: 159 (M), gef.: 159 (M, 10 %), 158 (40), 142 (29), 140 (100), 114 (30), 112 (98), 77 (58), 51 (20), 40 (44).

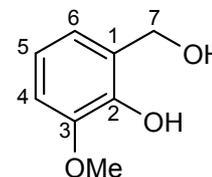
IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3427, 3162, 1618, 1503, 1485, 1431, 1407, 1274, 1184, 1112, 997, 882, 816, 653.

8.2.3.2. Synthese von 3-Methoxy-Salicylalkohol 69

Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Es wurden 2.00 g (13.2 mmol) 3-Methoxy-Salicylaldehyd, gelöst in 30 mL abs. THF, und 500 mg (13.2 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 30 mL abs. THF, eingesetzt.

Ausbeute: 1.24 g (8.05 mmol, 61 %) eines farblosen Feststoffes;
Summenformel: C₈H₁₀O₃; **Molgewicht:** 154.16 g/mol; **DC:** R_f
 (Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v): 0.25;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.90 (s, 3H, OCH₃), 4.75 (s, 2H, H-7), 6.01 (bs, 1H, Benzyl-OH), 6.83-6.88 (m, 3H, H-4, H-5, H-6).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 56.5 (OCH₃), 62.3 (C-7), 110.8 (C-5), 120.2 (C-6), 121.3 (C-4), 141.6 (C-3), 158.0 (C-2).

MS (EI, m/z): ber.: 154 (M), gef.: 154 (M, 2 %), 135 (100), 110 (12), 106 (99), 78 (10), 65 (59), 51 (24), 39 (11).

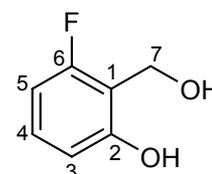
IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3415, 3343, 3264, 2939, 2830, 1618, 1600, 1479, 1437, 1292, 1262, 1069, 1009, 882, 768, 732.

8.2.3.3. Synthese von 6-Fluor-Salicylalkohol 68

Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Es wurden 550 mg (3.50 mmol) 6-Fluor-Salicylsäure, gelöst in 8 mL abs. THF, und 270 mg (7.00 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 20 mL abs. THF, eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 430 mg (3.00 mmol, 86 %) eines farblosen Feststoffes;
Summenformel: C₇H₇FO₂; **Molgewicht:** 142.13 g/mol; **DC:** R_f
 (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.52;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 2.48 (s, 1H, Benzyl-OH), 4.99 (s, 2H, H-7), 6.59 (ddd, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 8.3 Hz, ⁴J_{HF} = 1.1 Hz, H-4), 6.66 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.3 Hz, H-

3), 7.12 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HF}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, H-5), 7.83 (br, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 51.5 (d, $^3J_{\text{CF}} = 5.1$ Hz, C-7), 105.5 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.4$ Hz, C-5), 111.3 (d, $^4J_{\text{CF}} = 2.0$ Hz, C-3), 115.4 (d, $^3J_{\text{CF}} = 18.3$ Hz, C-4), 129.0 (d, $^2J_{\text{CF}} = 11.2$ Hz, C-1), 157.3 (d, $^3J_{\text{CF}} = 8.1$ Hz, C-2), 162.2 (d, $^1J_{\text{CF}} = 243.1$ Hz, C-6).

$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (471 MHz, CDCl_3): - 119.45 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 10.0$ Hz, $^4J_{\text{HF}} = 10.0$ Hz).

MS (EI, m/z): ber.: 142 (M), gef.: 142 (M, 54 %), 124 (76), 96 (100), 77 (5), 51 (5).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3258, 1630, 1606, 1467, 1389, 1335, 1286, 1190, 1033, 973, 907, 786, 732, 689.

8.2.3.4. Synthese von 5-Nitro-Salicylalkohol 75

Methode I: Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**. Es wurden 5.00 g (27.3 mmol) 5-Nitro-Salicylsäure, gelöst in 30 mL abs. THF, und 2.07 g (54.6 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 120 mL abs. THF, eingesetzt. Mit dieser Methode ließ sich jedoch kein Produkt isolieren.

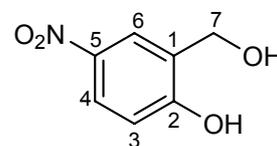
Methode II: Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**. Es wurden 3.00 g (15.2 mmol) 5-Nitro-Salicylsäuremethylester **76**, gelöst in 30 mL abs. THF, und 585 mg (15.4 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 40 mL abs. THF, eingesetzt. Mit dieser Methode ließ sich jedoch ebenfalls kein Produkt isolieren.

Methode III: Es wurden 3.00 g (21.6 mmol) 4-Nitrophenol in 30 mL Methanol gelöst und mit 1.33 g (23.7 mmol) KOH versetzt. Unter starkem Rühren wurden 5.30 mL (1.95 g, 64.8 mmol) Formaldehyd als 37 %-ige wässrige Lösung zugetropft und das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur 4 d gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (Methanol/ Dichlormethan 9:1 v:v) verfolgt. Da keine Umsetzung erfolgte, wurde das Reaktionsgemisch anschließend 2 d refluxiert. Die Reaktion wurde nicht aufgearbeitet, da in allen Fällen keine Umsetzung des Eduktes beobachtet wurde.

Methode IV: Zu einer Lösung von 2.00 g (10.9 mmol) 5-Nitro-Salicylsäure in 60 mL abs. THF wurden bei 0 °C 18.5 mL einer 1 M Boran-THF-Komplexlösung (18.5 mmol) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Hydrid wurde durch Zugabe von Wasser zerstört. Das Reaktionsgemisch wurde vorsichtig mit 3 N Natronlauge versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde bei 0°C mit verdünnter Essigsäure ein pH-Wert von 5-6 eingestellt und das Reaktionsgemisch wurde mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron (Dichlormethan/Methanol-Gradient 0-5 %) gereinigt.

Methode V: Es wurden 2.00 g (12.0 mmol) 5-Nitro-Salicylaldehyd in 60 mL abs. Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung wurden 455 mg (12.0 mmol) Natriumborhydrid gegeben und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Natriumborhydrid wurde durch Zugabe von 1N Salzsäure (10 mL) zerstört. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und das Lösungsmittel wurde erneut im Vakuum entfernt. Diese Co-Destillation wurde insgesamt dreimal wiederholt. Das Rohprodukt wurde aus Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: Methode IV: 1.58 g (9.34 mmol, 86 %) eines gelb kristallinen Feststoffes; Methode V: 1.46 g (8.64 mmol, 72 %) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₇NO₄; **Molgewicht:** 169.13 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.56;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 4.51 (s, 2H, H-7), 6.93 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, H-3), 8.01 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, H-4), 8.20-8.21 (m, 1H, H-6).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 57.5 (C-7), 114.7 (C-3), 122.7 (C-6), 124.0 (C-4), 130.3 (C-1), 139.7 (C-5), 160.5 (C-2).

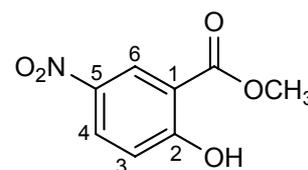
MS (EI, m/z): ber.: 169 (M), gef.: 169 (M, 73 %), 151 (100), 121 (8), 79 (38), 65 (42), 51 (31).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3457, 3065, 1618, 1588, 1491, 1443, 1335, 1292, 1087, 985, 907, 870.

8.2.3.5. Synthese von 5-Nitro-Salicylsäuremethylester 76

Es wurden 5.00 g (27.3 mmol) 5-Nitro-Salicylsäure in 70 mL Methanol gelöst und bei 0°C vorsichtig mit 15 mL konz. Schwefelsäure versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung 12 h unter Rückfluss erhitzt, wobei sich ein farbloser Niederschlag bildete. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und dann auf ca. 200 mL Eiswasser gegossen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 5.28 g (26.8 mmol, 98 %) eines orange bräunlichen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_5$; **Molgewicht:** 197.14 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.59;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 3.91 (s, 3H, OCH_3), 7.15 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, H-3), 8.32 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, H-4), 8.55 (m, 1H, H-6), 10.01 (s, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 51.4 (OCH_3), 116.7 (C-3), 124.9 (C-6), 129.0 (C-4), 130.8 (C-1), 140.0 (C-5), 160.5 (C-2), 165.9 (C=O).

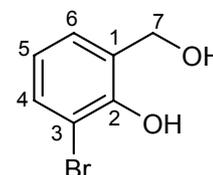
MS (EI, m/z): ber.: 197 (M), gef.: 197 (M, 37 %), 165 (100), 137 (12), 84 (7), 61 (11), 42 (4).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3402, 3067, 3043, 2940, 1662, 1439, 1355, 1210, 1138, 1106, 965, 820, 670.

8.2.3.6. Synthese von 3-Brom-Salicylalkohol **81**

In einer Dean-Stark-Apparatur mit Wasserabscheider wurden 12.5 mL *ortho*-Bromphenol (20.4 g, 118 mmol), 17.2 g (141 mmol) Phenylboronsäure und zunächst 7.08 g (236 mmol) *para*-Formaldehyd in 250 mL Toluol aufgenommen. Anschließend wurden 4.40 mL (4.38 g, 59.0 mmol) Propionsäure zugesetzt und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss erhitzt. Alle zwei Stunden wurde das Reaktionsgemisch leicht abgekühlt und weitere 2.0 Äq. *para*-Formaldehyd (zusätzliche fünf Portionen, insgesamt 42.5 g, 1.43 mol) zugesetzt. Die Reaktion wurde dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/ Methanol 9:1 v/v). Nach vollständigem Umsatz wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan und Wasser aufgenommen und die Phasen wurden getrennt. Die wässrige Phase wurde noch zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt (17.4 g Dioxaborinin **80**) wurde als dunkelrotes Öl ohne Reinigung weiter eingesetzt. Das Dioxaborinin **80** wurde in 65 mL THF gelöst, auf 0°C abgekühlt und vorsichtig mit 60 mL 30 %-iger H₂O₂-Lösung versetzt. Die Reaktionslösung wurde noch 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt und dann mit Eiswasser auf das fünffache Gesamtvolumen verdünnt. Die Lösung wurde mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dann mit 40 %-iger NaHSO₃-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 9.10 g (44.8 mmol, 38 %) eines leicht braunen Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₇BrO₂; **Molgewicht:** 203.03 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v): 0.31;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 4.59 (s, 2H, H-7), 5.39 (s, 1H, Benzyl-OH), 6.78 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 7.9 Hz, H-5), 7.26-7.28 (m, 1H, H-6), 7.38 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, H-4), 9.12 (s, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 59.5 (C-7), 110.6 (C-3), 120.9 (C-5), 126.5 (C-6), 130.8 (C-4), 150.8 (C-2).

MS(EI, m/z): ber.: 202 (M), gef.: 202 (M, 42 %), 184 (100), 156 (16), 105 (78), 77 (44), 51 (19), 39 (15).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3397, 3337, 2927, 2860, 1600, 1455, 1329, 1238, 1226, 1118, 1021, 834, 750.

8.2.3.7. Synthese von 5-Brom-Salicylalkohol 70

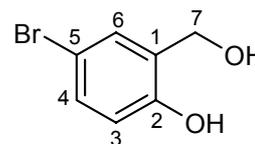
Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Es wurden 10.0 g (49.6 mmol) 5-Brom-Salicylaldehyd, gelöst in 80 mL abs. THF, und 1.88 g (49.6 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 120 mL abs. THF, eingesetzt.

Ausbeute: 8.00 g (39.4 mmol, 79 %) eines gelben Feststoffes;

Summenformel: $\text{C}_7\text{H}_7\text{BrO}_2$; **Molgewicht:** 203.03 g/mol; **DC:** R_f

(Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v): 0.31;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 4.46 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$ Hz, H-7), 5.10 (t, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$ Hz, Benzyl-OH), 6.72 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, H-3), 7.19 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H-4), 7.27 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H-6), 9.66 (s, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 57.7 (C-7), 110.1 (C-5), 116.6 (C-3), 129.3 (C-6), 129.8 (C-4), 131.6 (C-1), 153.3 (C-2).

MS(EI, m/z): ber.: 202 (M), gef.: 202 (M, 49 %), 184 (100), 156 (49), 94 (14), 77 (76), 51 (25).

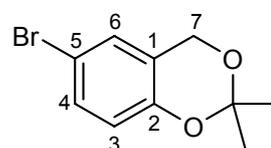
IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3439, 3150, 1485, 1425, 1262, 1124, 997, 816.

8.2.3.8. Synthese von 5-Brom-Salicylalkoholisopropylidenacetal 82

5-Brom-Salicylalkohol **70** (6.00 g, 29.6 mmol) wurde in 120 mL wasserfreiem Aceton gelöst und mit 5.0 Äquivalenten 2,2-Dimethoxypropan (18.8 mL), 0.1 Äquivalenten

(0.560 g, 2.96 mmol) *para*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat sowie wasserfreiem Natriumsulfat (12.0 g) versetzt. Die Reaktion wurde 3 d bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen. Anschließend wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wurde mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit verdünnter Natronlauge (1M) und einmal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel erneut am Rotationsverdampfer abkondensiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 4.83 g (19.9 mmol, 67 %) eines gelben Öls, welches bei -20 °C fest vorliegt; **Summenformel:** C₁₀H₁₁BrO₂;
Molgewicht: 243.1 g/mol; **DC:** *R_f* (Dichlormethan): 0.58;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.46 (s, 6H, Acetal-CH₃), 4.81 (s, 2H, H-7), 6.75-6.77 (m, 1H, H-3), 7.29-7.32 (m, 2H, H-4, H-6).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 24.4 (Acetal-CH₃), 59.6 (C-7), 99.7 (Acetal-C_q), 111.5 (C-5), 118.7 (C-3), 122.1 (C-1), 127.8 (C-6), 130.7 (C-4), 150.0 (C-2).

MS(EI, m/z): ber.: 242 (M), gef.: 242 (M, 32 %), 184 (100), 156 (45), 77 (55), 51 (26).

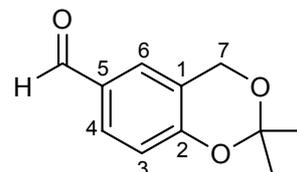
IR (NaCl): ν [cm⁻¹]: 2987, 2933, 2854, 1751, 1594, 1497, 1407, 1377, 1268, 1130, 1075, 955, 852, 804, 689.

8.2.3.9. Synthese von 5-Formyl-Salicylalkoholisopropylidenacetal **83**

Es wurden 4.70 g (19.3 mmol) 5-Brom-Salicylalkoholisopropylidenacetal **82** in 120 mL abs. THF gelöst. Die Lösung wurde auf -78 °C abgekühlt und mit 2.0 Äquivalenten einer 1.6 M *n*-Butyllithium-Lösung (24.1 mL) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde bei -78 °C eine Lösung aus 21.9 mL (20.7 g, 284 mmol) abs. *N,N*-Dimethylformamid in 21.9 mL abs. THF tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde noch 45 Minuten bei -78 °C gerührt und dann auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von Wasser und Diethylether (je 50 mL) wurden die Phasen getrennt. Die organische Phase

wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, die wässrige Phase mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abkondensiert, das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether gereinigt.

Ausbeute: 3.42 g (17.8 mmol, 92 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₁H₁₂O₃; **Molgewicht:** 192.21 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.82;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.51 (s, 6H, Acetal-CH₃), 4.92 (s, 2H, H-7), 6.98 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.5 Hz, H-3), 7.67-7.68 (m, 1H, H-6), 7.73 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, H-4), 9.85 (s, 1H, Formyl-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 24.5 (Acetal-CH₃), 59.9 (C-7), 100.6 (Acetal-C_q), 117.2 (C-3), 120.1 (C-1), 127.4 (C-6), 129.2 (C-5), 129.9 (C-4), 156.1 (C-2), 191.3 (Formyl-C).

MS(EI, m/z): ber.: 192 (M), gef.: 192 (M, 48 %), 150 (25), 134 (100), 106 (75), 78 (41), 43 (20).

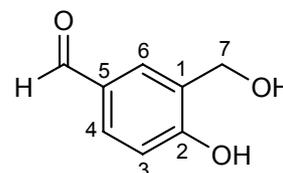
IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 2993, 2842, 2752, 1678, 1576, 1383, 1341, 1262, 1196, 1100, 1069, 864, 828, 683, 605.

8.2.3.10. Synthese von 5-Formyl-Salicylalkohol **84**

Es wurden 2.00 g (10.4 mmol) 5-Formyl-Salicylalkoholisopropylidenacetal **83** in 35 mL Acetonitril und 15 mL Wasser gelöst und mit einigen Tropfen rauchender Salzsäure versetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit einem Heißluftfön ca. eine Minute zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von weiteren 20 mL Wasser und 30 mL Dichlormethan wurden die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde fünfmal mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden solange mit Ethylacetat extrahiert, bis dünnschichtchromatographisch kein Produkt mehr in der wässrigen Phase detektierbar war. Die vereinigten organischen

Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer konnte das Produkt in reiner Form erhalten werden.

Ausbeute: 1.34 g (8.8 mmol, 85 %) eines gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** $C_8H_8O_3$; **Molgewicht:** 152.15 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.48;



1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 4.51 (s, 2H, H-7), 6.94 (d, 1H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, H-3), 7.65 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, $^4J_{HH} = 2.2$ Hz, H-4), 7.87-7.88 (m, 1H, H-6), 9.80 (s, 1H, Formyl-H).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 57.7 (C-7), 114.8 (C-3), 128.2 (C-5), 128.7 (C-6), 129.7 (C-1), 130.4 (C-4), 160.0 (C-2), 191.2 (Formyl-C).

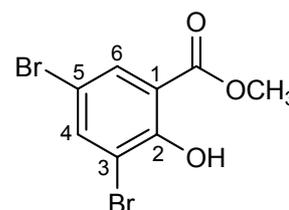
MS(EI, m/z): ber.: 152 (M), gef.: 152 (M, 100%), 134 (97), 106 (60), 78 (63), 51 (31), 39 (23).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3397, 1666, 1600, 1298, 1262, 1112, 991.

8.2.3.11. Synthese von 3,5-Dibrom-Salicylsäuremethylester 72

Es wurden 6.00 g (20.3 mmol) 3,5-Dibrom-Salicylsäure in 50 mL Methanol gelöst und bei 0°C vorsichtig mit 10 mL konz. Schwefelsäure versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung 20 h unter Rückfluss erhitzt, wobei sich ein farbloser Niederschlag bildete. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und dann auf ca. 200 mL Eiswasser gegossen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 6.10 g (19.7 mmol, 97 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_8H_6Br_2O_3$; **Molgewicht:** 309.94 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.60;



1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 3.98 (s, 3H, OCH_3), 7.81 (d, 1H, $^4J_{HH} = 2.3$ Hz, H-4), 7.91 (d, 1H, $^4J_{HH} = 2.3$ Hz, H-6), 11.37 (s, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 53.2 (OCH_3), 110.9 (C-3), 112.5 (C-5), 114.6 (C-1), 131.7 (C-6), 141.1 (C-4), 157.5 (C-2), 169.3 (C=O).

MS(EI, m/z): ber.: 310 (M), gef.: 310 (M, 33 %), 278 (100), 250 (16), 197 (6), 143 (8), 62 (12), 40 (21).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3421, 3077, 3053, 2951, 1672, 1437, 1323, 1238, 1196, 967, 683, 792.

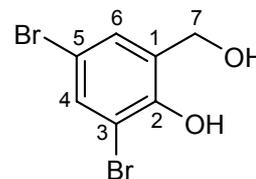
8.2.3.12. Synthese von 3,5-Dibrom-Salicylalkohol 73

Die Durchführung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 1**.

Es wurden 6.00 g (19.4 mmol) 3,5-Dibrom-Salicylsäuremethylester **72**, gelöst in 45 mL abs. THF, und 750 mg (19.8 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, suspendiert in 75 mL abs. THF, eingesetzt. Abweichend von der **AAV 1** war zur Phasentrennung die Sättigung der wässrigen Phase mit Natriumchlorid erforderlich.

Ausbeute: 3.33 g (11.8 mmol, 61 %) eines gelben Feststoffes;

Summenformel: $\text{C}_7\text{H}_6\text{Br}_2\text{O}_2$; **Molgewicht:** 281.93 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.57;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 4.53 (s, 2H, H-7), 5.46 (s, 1H, Benzyl-OH), 7.42 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H-6), 7.58 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H-4), 9.42 (s, 1H, Phenol-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 58.6 (C-7), 111.2 (C-3), 111.7 (C-5), 129.0 (C-6), 132.2 (C-4), 133.8 (C-1), 150.1 (C-2).

MS(EI, m/z): ber.: 282 (M), gef.: 282 (M, 28 %), 264 (100), 236 (15), 183 (26), 155 (21), 75 (12), 63 (12), 39 (6).

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3433, 1455, 1148, 1009, 858, 683.

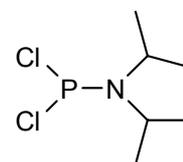
8.2.4. Synthese der Phosphoramidite

8.2.4.1. Synthese von Dichlor-*N,N*-diisopropylphosphoramidit **129**

Zu einer Lösung aus 21.0 mL (147 mmol) *N,N*-Diisopropylamin in 40 mL abs. Diethylether wurden bei -10 °C 7.70 mL (88.0 mmol) frisch destilliertes Phosphortrichlorid, gelöst in 10 mL abs. Diethylether, über einen Zeitraum von 40 Minuten zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht bei dieser Temperatur gerührt. Der Niederschlag wurde unter Schutzgas mittels Umkehrfritte abfiltriert, das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde bei 50°C im Ölpumpenvakuum destilliert.

Ausbeute: 12.8 g (63.3 mmol, 72 %) eines leicht gelblichen Öls;

Summenformel: C₆H₁₄Cl₂NP; **Molgewicht:** 202.06 g/mol;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.28 (d, 12H, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 2 x Isopropyl-CH₃), 3.88-3.97 (m, 2H, 2 x Isopropyl-CH).

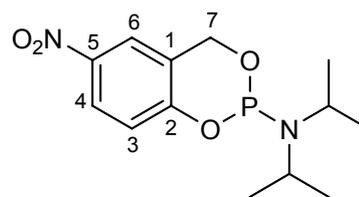
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 23.3 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz, Isopropyl-CH₃), 48.1 (d, ²J_{CP} = 14.1 Hz, Isopropyl-CH).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃): 169.7.

8.2.4.2. Synthese von 5-Nitro-*cyclo*Saligenylphosphoramidit **130**

In einer Stickstoffatmosphäre wurden 460 mg (2.72 mmol) 5-Nitro-Salicylalkohol **75** in 10 mL abs. Diethylether gelöst und auf -20 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 620 µL (3.26 mmol) Dichlor-*N,N*-diisopropylphosphoramidit **129** zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 10 Minuten bei -20 °C gerührt, dann wurden innerhalb von 2 Stunden 880 µL (6.26 mmol) Triethylamin zugetropft. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und noch 2 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei -20 °C gelagert, anschließend wurde unter Schutzgas mittels einer Umkehrfritte filtriert. Der Niederschlag wurde zweimal mit Diethylether gewaschen, das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 704 mg eines noch verunreinigten gelben Feststoffes; **Summenformel:** $C_{13}H_{19}N_2O_4P$; **Molgewicht:** 298.27 g/mol;



1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 1.28 (d, 12H, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 2 x Isopropyl- CH_3), 3.59-3.65 (m, 2H, 2 x Isopropyl-CH), 4.87-4.97 (m, 1H, H-7), 5.22 (dd, 1H, $^2J_{HH} = 14.8$ Hz, $^3J_{HP} = 4.5$ Hz, H-7), 6.93-6.95 (m, 1H, H-3), 7.92-7.93 (m, 1H, H-4), 8.07-8.10 (m, 1H, H-6).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 19.0 (Isopropyl- CH_3), 47.5 (Isopropyl-CH), 64.7 (C-7), 118.9 (C-3), 124.5 (C-4), 125.0 (C-6), 129.7 (C-1), 140.5 (C-5), 153.9 (C-2).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): 142.5.

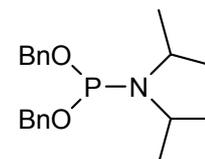
8.2.4.3. Synthese von bis-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylphosphoramidit **188**

Unter Schutzgas wurden 2.20 g (20.3 mmol) Benzylalkohol in 25 mL abs. Diethylether gelöst und mit 2.81 mL (20.3 mmol) Triethylamin versetzt. Diese Reaktionslösung wurde tropfenweise zu einer auf -78 °C gekühlten Lösung aus 2.06 g (10.2 mmol) Dichlor-*N,N*-diisopropylphosphoramidit **129** in 40 mL abs. Diethylether gegeben. Es wurde auf Raumtemperatur erwärmt und noch 2 Stunden gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und zweimal mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether/Ethylacetat 3:2 v/v gereinigt.

Ausbeute: 1.45 g (4.20 mmol, 41 %) eines farblosen Öls;

Summenformel: $C_{20}H_{28}NO_2P$; **Molgewicht:** 345.42 g/mol; **DC:**

R_f (Petrolether/ Ethylacetat 3:2): 0.71;



1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 1.12 (d, 12H, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 2 x Isopropyl- CH_3), 3.60-3.71 (m, 2H, 2 x Isopropyl-CH), 4.62 (dd, 2H, $^2J_{HH} = 12.6$ Hz, $^3J_{HP} = 8.2$ Hz, 2 x Benzyl- CH_2), 4.72 (dd, 2H, $^2J_{HH} = 12.6$ Hz, $^3J_{HP} = 8.2$ Hz, 2 x Benzyl- CH_2), 7.14-7.35 (m, 10H, Aryl-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 24.7 (2 x Isopropyl- CH_3), 24.8 (2 x Isopropyl- CH_3), 43.2, 43.3 (Isopropyl- CH), 65.4, 65.6 (Benzyl- CH_2), 127.1, 127.3, 127.7, 127.9 (Aryl- CH), 139.2, 139.3 (Aryl- C_q).

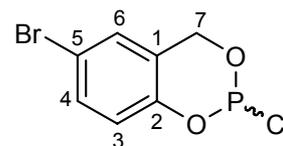
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 148.9.

8.2.5. Synthese der *cyclo*Saligenylchlorphosphite

8.2.5.1. Synthese von 5-Brom-Saligenylchlorphosphit 85

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**. Es wurden 1.50 g (7.39 mmol) 5-Brom-Salicylalkohol **70**, 770 μL (1.22 g, 8.87 mmol) Phosphor(III)-chlorid, 1.37 mL (1.34 g, 17.0 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 5.0 mL abs. Diethylether, und 30 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 1.35 g eines noch verunreinigten gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** $\text{C}_7\text{H}_5\text{BrClO}_2\text{P}$;
Molgewicht: 267.44 g/mol;



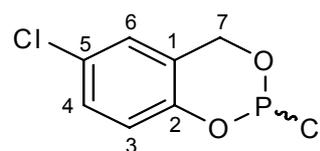
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.00 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.2$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 9.7$ Hz, H-7), 5.41 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 14.2$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 2.5$ Hz, H-7), 6.88 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, H-3), 7.13 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H-6), 7.38 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H-4).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 140.3.

8.2.5.2. Synthese von 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit 86

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2** durchgeführt. Es wurden 1.33 g (8.37 mmol) 5-Chlor-Salicylalkohol **67**, 880 μL (1.56 g, 10.0 mmol) Phosphor(III)-chlorid, 1.55 mL (1.52 g, 19.3 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 5.0 mL abs. Diethylether, und 25 mL abs. Diethylether eingesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Kugelrohrdestillation (Kp.: 130 °C, 0.1 mbar) gereinigt.

Ausbeute: 0.785 g (3.52 mmol, 42 %) eines farblosen Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; Ausbeute **Summenformel:** C₇H₅Cl₂O₂P; **Molgewicht:** 222.99 g/mol;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 4.98 (dd, 1H, ²J_{HH} = 14.4 Hz, ³J_{HP} = 9.6 Hz, H-7), 5.41 (dd, 1H, ²J_{HH} = 14.4 Hz, ³J_{HP} = 2.4 Hz, H-7), 6.92 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, H-3), 6.98 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H-6), 7.22 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H-4).

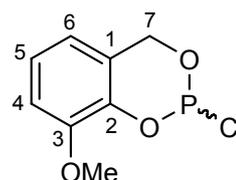
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 60.7 (d, ²J_{CP} = 2.5 Hz, C-7), 121.3 (d, ³J_{CP} = 2.1 Hz, C-3), 122.8 (C-4), 125.7 (C-6), 129.3 (C-5), 130.5 (d, ²J_{CP} = 6.7 Hz, C-1), 144.8 (d, ²J_{CP} = 7.1 Hz, C-2).

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃): 140.3.

8.2.5.3. Synthese von 3-Methoxy-Saligenylchlorphosphit 87

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**. Es wurden 1.00 g (6.48 mmol) 3-Methoxy-Salicylalkohol **69**, 682 µL (1.07 g, 7.78 mmol) Phosphor(III)-chlorid, 1.20 mL (1.18 g, 14.9 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 5.0 mL abs. Diethylether, und 30 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 1.10 g eines noch verunreinigten hellgelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** C₈H₈ClO₃P; **Molgewicht:** 218.57 g/mol;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.85 (s, 3H, OCH₃), 4.97 (dd, 1H, ²J_{HH} = 14.2 Hz, ³J_{HP} = 9.6 Hz, H-7), 5.40 (dd, 1H, ²J_{HH} = 14.2 Hz, ³J_{HP} = 2.3 Hz, H-7), 6.55 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, H-6), 6.84 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, H-4), 7.01-7.03 (m, 1H, H-5).

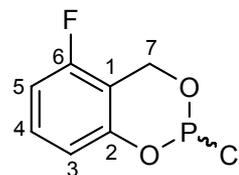
³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl₃): 141.1.

8.2.5.4. Synthese von 6-Fluor-Saligenylchlorphosphit 88

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**. Es wurden 400 mg (2.81 mmol) 6-Fluor-Salicylalkohol **68**, 294 µL (386 mg, 3.37 mmol)

Phosphor(III)-chlorid, 522 μL (511 mg, 6.46 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 2.0 mL abs. Diethylether, und 20 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 340 mg eines noch verunreinigten leicht gelblichen Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClFO}_2\text{P}$; **Molgewicht:** 206.54 g/mol;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.19 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 15.0$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 9.6$ Hz, H-7), 5.34 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 15.0$ Hz, $^3J_{\text{HP}} = 2.5$ Hz, H-7), 6.80 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, H-3), 6.84 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, H-4), 7.20-7.24 (m, 1H, H-5).

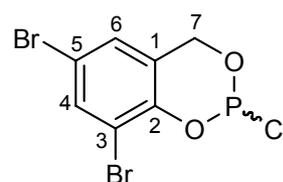
$^{19}\text{F-NMR}$: δ [ppm] (188 MHz, CDCl_3): - 119.16 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HF}} = 7.5$ Hz).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 138.6.

8.2.5.5. Synthese von 3,5-Dibrom-Saligenylchlorphosphit 89

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2**. Es wurden 1.00 g (3.55 mmol) 3,5-Dibrom-Salicylalkohol **73**, 370 μL (585 mg, 4.62 mmol) Phosphor(III)-chlorid, 660 μL (646 mg, 8.17 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 5.0 mL abs. Diethylether, und 30 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 750 mg eines noch verunreinigten gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** $\text{C}_7\text{H}_4\text{Br}_2\text{ClO}_2\text{P}$; **Molgewicht:** 346.34 g/mol;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 4.96-4.98 (m, 1H, H-7), 5.39-5.41 (m, 1H, H-7), 7.10-7.13 (m, 1H, H-6), 7.66-7.70 (m, 1H, H-4).

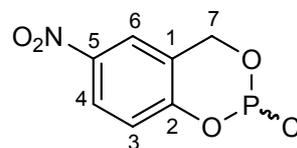
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 140.7.

8.2.5.6. Synthese von 5-Nitro-Saligenylchlorphosphit 90

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2** durchgeführt. Es wurden 2.70 g (16.0 mmol) 5-Nitro-Salicylalkohol **75**, 1.70 mL (2.64 g, 19.2 mmol)

Phosphor(III)-chlorid, 3.00 mL (2.91 g, 36.8 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 7.0 mL abs. Diethylether, und 40 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 2.20 g eines noch verunreinigten orangefarbenen Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** $C_7H_5ClNO_4P$; **Molgewicht:** 233.55 g/mol;



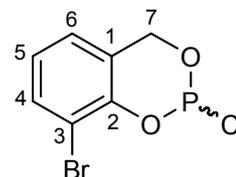
1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 4.78 (dd, 1H, $^2J_{HH} = 14.2$ Hz, $^3J_{HP} = 9.6$ Hz, H-7), 4.81 (dd, 1H, $^2J_{HH} = 14.2$ Hz, $^3J_{HP} = 2.6$ Hz, H-7), 5.98 (d, 1H, $^3J_{HH} = 8.6$ Hz, H-3), 8.10 (d, 1H, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz, H-6), 8.22 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 8.6$ Hz, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz, H-4).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): 140.7.

8.2.5.7. Synthese von 3-Brom-Saligenylchlorphosphit 91

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 2** durchgeführt. Es wurden 1.2 g (5.91 mmol) 3-Brom-Salicylalkohol **81**, 620 μ L (974 mg, 7.09 mmol) Phosphor(III)-chlorid, 1.10 mL (1.08 g, 13.6 mmol) abs. Pyridin, gelöst in 4.0 mL abs. Diethylether, und 25 mL abs. Diethylether eingesetzt.

Ausbeute: 1.05 g eines noch verunreinigten gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren; **Summenformel:** $C_7H_5BrClO_2P$; **Molgewicht:** 267.44 g/mol;



1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 4.96-5.02 (m, 1H, H-7), 5.38-5.44 (m, 1H, H-7), 6.93-6.95 (m, 1H, H-6), 6.98 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 7.5$ Hz, $^3J_{HH} = 7.5$ Hz, H-5), 7.50-7.53 (m, 1H, H-4).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): 141.3.

8.2.6. Synthese der *cycloSal*-Phosphorchloridate

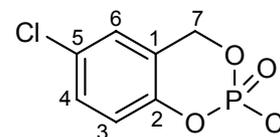
8.2.6.1. Synthese von 5-Chlor-Salicylphosphorchloridat 92

Methode I: 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit **86** (3.16 g, 11.4 mmol) wurde unter Schutzgas in 11.4 mL abs. Toluol gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht

mit leichtem O₂-Überdruck bei Raumtemperatur reduziert. Die Entstehung des 5-Chlor-Salicylphosphorchloridats **92** wurde durch ³¹P-NMR-Spektroskopie bestätigt, das Produkt wurde als Lösung in Toluol weiter umgesetzt.

Methode II: Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 3.00 g (18.9 mmol) 5-Chlor-Salicylalkohol **67**, 1.90 mL (3.19 g, 20.8 mmol) Phosphorylchlorid, 5.78 mL (4.21 g, 41.6 mmol) Triethylamin und, abweichend von der **AAV 3**, 60 mL abs. Diethylether als Lösungsmittel verwendet. Die Aufreinigung des Rohproduktes am Chromatotron erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v.

Ausbeute: Methode II: 3.63 g (15.2 mmol, 81 %) eines leicht gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₅Cl₂O₃P; **Molgewicht:** 238.99 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v): 0.74;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.43-5.48 (m, 2H, H-7), 7.07 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, H-3) 7.12-7.13 (m, 1H, H-6), 7.34 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, H-4).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 69.9 (d, ²J_{CP} = 8.2 Hz, C-7), 121.0 (C-5), 121.1 (C-3), 125.6 (C-6), 130.8 (C-4), 131.3 (C-1), 147.8 (C-2).

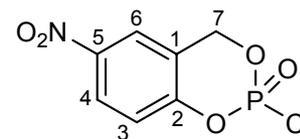
³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -6.66.

HRMS (FAB): berechnet für C₇H₆Cl₂O₃P [M+H]: 238.9432, gefunden: 238.9432.

8.2.6.2. Synthese von 5-Nitro-Salicylphosphorchloridat **94**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 1.50 g (8.87 mmol) 5-Nitro-Salicylalkohol **75**, 893 µL (1.50 g, 9.76 mmol) Phosphorylchlorid, 2.70 mL (1.97 g, 19.5 mmol) Triethylamin und 30 mL abs. THF verwendet. Die Aufreinigung des Rohproduktes am Chromatotron erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v.

Ausbeute: 1.62 g (6.49 mmol, 73 %) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₅ClNO₅P; **Molgewicht:** 249.55 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v): 0.80;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.57-5.62 (m, 2H, H-7), 7.26-7.31 (m, 1H, H-3) 8.11 (d, 1H, ³J_{HH} = 2.5 Hz, H-4), 8.28-8.30 (m, 1H, H-6).

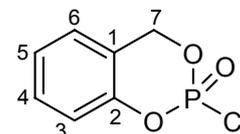
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 69.7 (d, ²J_{CP} = 8.4 Hz, C-7), 121.0 (C-3), 121.9 (C-4), 122.0 (C-6), 126.4 (C-1), 139.7 (C-5), 153.0 (C-2).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -7.33.

8.2.6.3. Synthese von Salicylphosphorchloridat 95

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 1.00 g (8.06 mmol) Salicylalkohol, 810 µL (1.36 g, 8.86 mmol) Phosphorylchlorid, 2.45 mL (1.79 g, 17.7 mmol) Triethylamin und 25 mL abs. THF verwendet. Die Aufreinigung des Rohproduktes am Chromatotron erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v.

Ausbeute: 1.39 g (6.80 mmol, 84 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₆ClO₃P; **Molgewicht:** 204.55 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.59;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.44-5.53 (m, 2H, H-7), 7.09-7.14 (m, 2H, H-3, H-5) 7.21-7.25 (m, 1H, H-4), 7.35-7.39 (m, 1H, H-6).

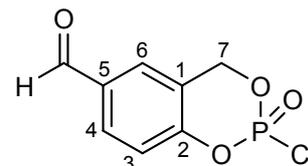
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 70.3 (d, ²J_{CP} = 8.1 Hz, C-7), 119.2 (C-1), 119.3 (d, ³J_{CP} = 9.6 Hz C-3), 125.3 (C-5), 125.6 (C-6), 130.4 (C-4), 149.0 (d, ²J_{CP} = 8.8 Hz C-2).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -5.98.

8.2.6.4. Synthese von 5-Formyl-Salicylphosphorchloridat **96**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 500 mg (3.29 mmol) 5-Formyl-Salicylalkohol **84**, 330 μL (555 mg, 3.62 mmol) Phosphorylchlorid, 1.00 mL (733 mg, 7.24 mmol) Triethylamin und 15 mL abs. THF verwendet. Die Aufreinigung des Rohproduktes am Chromatotron erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v.

Ausbeute: 705 mg (3.03 mmol, 92 %) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_8\text{H}_6\text{ClO}_4\text{P}$; **Molgewicht:** 232.56 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.70;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.56-5.58 (m, 2H, H-7), 7.26-7.29 (m, 1H, H-3) 7.70-7.73 (m, 1H, H-4), 7.89-7.93 (m, 1H, H-6), 9.98 (s, 1H, Formyl-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 70.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 8.4$ Hz, C-7), 118.5 (C-3), 123.7 (C-6), 124.1 (C-1), 124.3 (C-5), 128.8 (C-4), 146.8 (C-2), 180.4 (Formyl-C).

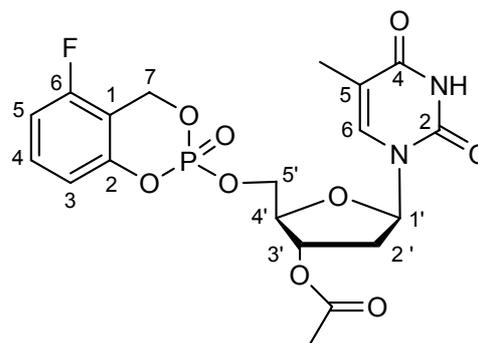
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -6.77.

8.2.7. Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate

8.2.7.1. Synthese von 6-Fluor-*cycloSal*-3'OAcdT-monophosphat **110**

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 284 mg (1.00 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 413 mg (2.00 mmol) noch verunreinigtes 6-Fluor-Saligenylchlorphosphit **88**, gelöst in 3 mL abs. Acetonitril, 340 μL (259 mg, 2.00 mmol) DIPEA, 618 μL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (497 mg, 3.40 mmol) und 20 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 183 mg (0.390 mmol, 39 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel:** $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{FN}_2\text{O}_9\text{P}$; **Molgewicht:**



470.34 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.58;

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.72 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, Thymin H-7), 1.75 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, Thymin H-7), 2.04 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.05 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.24-2.38 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.14-4.16 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.31-4.44 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.16 (dd, 2 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 2 x H-3'), 5.42-5.55 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.13-6.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.16-7.18 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-3), 7.41-7.42 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-6, 2 x Thymin H-6), 7.46-7.49 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-4), 11.36 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 12.6 (2 x Thymin C-7), 20.8 (2 x CH₃-Acetyl), 35.6, 35.4 (C-2'), 67.7, 67.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 2.1$ Hz, C-5'), 67.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.9$ Hz, 2 x Benzyl C-7), 73.3 (2 x C-3'), 81.4 (2 x C-1'), 84.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.5$ Hz, 2 x C-4'), 110.0 (2 x Thymin C-5), 120.1 (2 x Aryl C-3), 126.0 (2 x Aryl C-6), 129.6 (2 x Aryl C-4), 130.1 (2 x Aryl C-5), 135.7, 135.8 (Thymin C-6), 152.7 (2 x Aryl C-2), 153.2 (2 x Thymin C-2), 163.6 (2 x Thymin C-4), 172.3, 172.5 (C_q-Acetyl).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -8.96, -9.07.

HRMS (ESI): berechnet für C₁₉H₂₀FKN₂O₁₉P [M+K]: 509.0528, gefunden: 509.0535.

IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3475, 3186, 3071, 2830, 1708, 1473, 1358, 1298, 1238, 1117, 1027, 937, 870, 822, 726, 612, 556.

8.2.7.2. Synthese von 5-Chlor-cycloSal-3'OAcdT-monophosphat 111

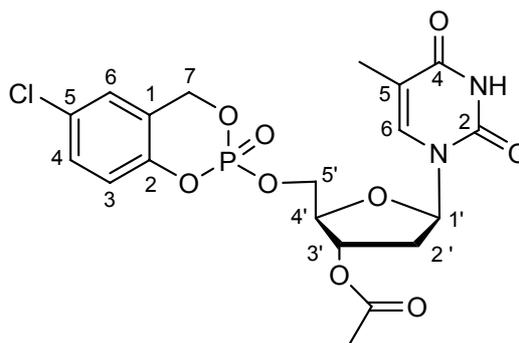
Methode I: Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 900 mg (3.17 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 1.40 g (6.34 mmol) destilliertes 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit **86**, gelöst in 8 mL abs. Acetonitril, 1.08 mL (819 mg, 6.34 mmol) DIPEA, 1.96 mL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (1.58 g, 10.8 mmol) und 50 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Methode II: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(II)**. Es wurden 11.4 mmol (1.2 M in Toluol) 5-Chlor-Salicylphosphorchloridat

92, 1.80 g (6.30 mmol) 3'-O-AcdT **100** und 25 mL abs. Pyridin verwendet. Die Reaktion wurde 9 h bei -40 °C gerührt.

Methode III: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(III)**. Es wurden 100 mg (0.420 mmol) 5-Chlor-Salicylphosphorchloridat **92**, 80 mg (0.280 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 57 mg (0.840 mmol) Imidazol und 4 mL Dioxan eingesetzt. Die Reaktion wurde 12 h bei 50 °C gerührt.

Ausbeute: Methode I: 847 mg (1.74 mmol, 55 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; Methode II: 1.91 g (3.92 mmol, 62 %); Methode III: 71 mg (0.146 mmol, 52 %); **Summenformel**: C₁₉H₂₀ClN₂O₉P; **Molgewicht**: 486.80 g/mol; **DC**: R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51;



¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 1.72 (d, 1 x 3H, ³J_{HH} = 0.8 Hz, Thymin H-7), 1.75 (d, 1 x 3H, ³J_{HH} = 0.8 Hz, Thymin H-7), 2.04 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.05 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.24-2.38 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.14-4.16 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.31-4.44 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.16 (dd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 6.4 Hz, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, 2 x H-3'), 5.42-5.55 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.13-6.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.16-7.18 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-3), 7.41-7.42 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-6, 2 x Thymin H-6), 7.46-7.49 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-4), 11.36 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 12.6 (2 x Thymin C-7), 20.8 (2 x CH₃-Acetyl), 35.6, 35.4 (C-2'), 67.7, 67.6 (d, ²J_{CP} = 2.1 Hz, C-5'), 67.9 (d, ²J_{CP} = 7.9 Hz, 2 x Benzyl C-7), 73.3 (2 x C-3'), 81.4 (2 x C-1'), 84.1 (d, ³J_{CP} = 7.5 Hz, 2 x C-4'), 110.0 (2 x Thymin C-5), 120.1 (2 x Aryl C-3), 126.0 (2 x Aryl C-6), 129.6 (2 x Aryl C-4), 130.1 (2 x Aryl C-5), 135.7, 135.8 (Thymin C-6), 152.7 (2 x Aryl C-2), 153.2 (2 x Thymin C-2), 163.6 (2 x Thymin C-4), 172.3, 172.5 (C_q-Acetyl).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d₆): -8.96, -9.07.

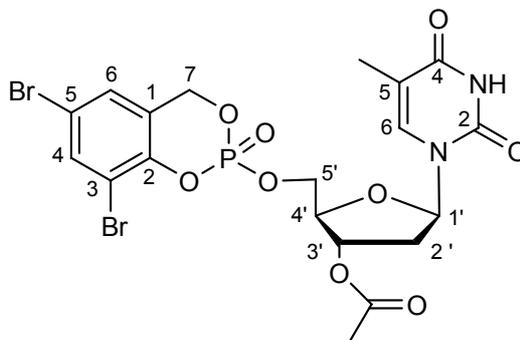
HRMS (FAB): berechnet für C₁₉H₂₁ClN₂O₉P [M+H]: 487.0673, gefunden: 487.0692.

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3475, 3186, 3071, 2830, 1708, 1473, 1358, 1298, 1238, 1117, 1027, 937, 870, 822, 726, 612, 556.

8.2.7.3. Synthese von 3,5-Dibrom-cycloSal-3'-OAcdT-monophosphat **112**

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 308 mg (1.08 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 750 mg (2.16 mmol) noch verunreinigtes 3,5-Dibrom-Saligenylchlorphosphit **89**, gelöst in 4 mL abs. Acetonitril, 370 μL (279 mg, 2.16 mmol) DIPEA, 430 μL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (345 mg, 2.36 mmol) und 25 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 264 mg (0.433 mmol, 40 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel:** $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$; **Molgewicht:** 610.14 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 1.73 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 0.9$ Hz, Thymin H-7), 1.75 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 0.9$ Hz, Thymin H-7), 2.04 (s, 1 x 3H, 1 x CH_3 -Acetyl), 2.05 (s, 1 x 3H, 1 x CH_3 -Acetyl), 2.24-2.29 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.16-4.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.32-4.43 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.15-5.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-3'), 5.43-5.60 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.13-6.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.46 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl H-6), 7.49 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl H-6), 7.58-7.59 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-4), 7.96 (m, 2 x 1H, 2 x Thymin H-6), 11.38 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 12.0 (2 x Thymin C-7), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 35.4 (2 x C-2'), 67.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, 2 x C-5'), 67.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, 2 x Benzyl C-7), 73.2 (2 x C-3'), 81.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, 2 x C-4'), 84.1 (C-1'), 109.9 (2 x Thymin C-5), 116.4 (2 x Aryl C-3), 123.3 (2 x Aryl C-5), 124.8, 124.9 (Aryl C-1), 128.5 (2 x Aryl C-6), 132.4 (2 x Aryl C-2), 134.8 (2 x Aryl C-4), 135.6, 135.8 (Thymin C-6), 150.3 (2 x Thymin C-2), 163.6 (2 x Thymin C-4), 170.0 (2 x C_q -Acetyl).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -10.20, -10.29.

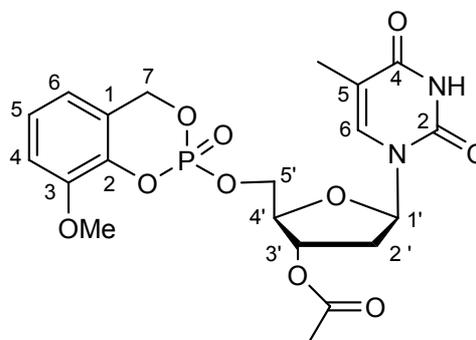
MS (FAB): berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ [M+H]: 611.2, gefunden: 611.4.

8.2.7.4. Synthese von 3-Methoxy-cycloSal-3'-OAcdT-monophosphat 113

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**.

Es wurden 423 mg (1.49 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 650 mg (2.97 mmol) noch verunreinigtes 3-Methoxy-Saligenylchlorphosphit **87**, gelöst in 5 mL abs. Acetonitril, 505 μL (384 mg, 2.97 mmol) DIPEA, 922 μL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (742 mg, 5.07 mmol) und 30 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 371 mg (0.77 mmol, 52 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 4:1; **Summenformel**: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{P}$; **Molgewicht**: 482.38 g/mol; **DC**: R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.62 (d, 2 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 2 x Thymin H-7), 1.92 (s, 2 x 3H, 2 x CH_3 -Acetyl), 2.10-2.23 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.03-4.04 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.22-4.23 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.03-5.05 (m, 2 x 1H, 2 x H-3'), 5.29-5.39 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.03 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 6.60-6.76 (m, 4 x 1H, 2 x Thymin H-6, 2 x Aryl H-5), 6.95-7.03 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-4, 2 x Aryl H-6), 11.24 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 12.0 (2 x Thymin C-7), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 35.5 (2 x C-2'), 67.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 2.5$ Hz, 2 x C-5'), 68.5, 68.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, Benzyl C-7), 73.4 (2 x C-3'), 81.4, 81.5 (C-1'), 84.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.2$ Hz, 2 x C-4'), 110.0 (2 x Thymin C-5), 112.6 (2 x Aryl C-5), 117.0 (2 x Aryl C-4), 124.6 (2 x Aryl C-6), 135.7 (2 x Thymin C-6), 150.4 (2 x Aryl C-2), 153.9 (2 x Thymin C-2), 163.6 (2 x Thymin C-4), 171.5 (2 x C_q -Acetyl).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -7.80, -8.04.

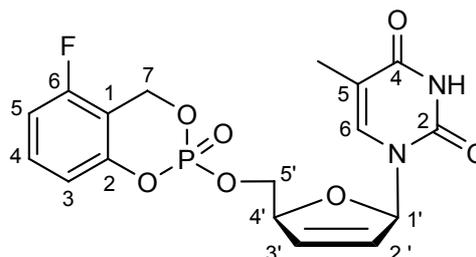
HRMS (FAB): berechnet für C₂₀H₂₄N₂O₁₀P [M+H]: 483.1169, gefunden: 483.1197.

IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3434, 3186, 3065, 2933, 2836, 1739, 1690, 1485, 1365, 1280, 1232, 1015, 990, 870, 822, 767.

8.2.7.5. Synthese von 6-Fluor-cycloSal-d4T-monophosphat 114

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 163 mg (0.725 mmol) d4T, 300 mg (1.45 mmol) noch verunreinigtes 6-Fluor-Saligenylchlorphosphit **88**, gelöst in 4 mL abs. Acetonitril, 247 μ L (187 mg, 1.45 mmol) DIPEA, 450 μ L einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (2.50 mmol) und 15 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 141 mg (0.343 mmol, 47 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel:** C₁₇H₁₆FN₂O₇P; **Molgewicht:** 410.29 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55;



¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 1.67 (s, 1 x 3H, Thymin H-7), 1.72 (s, 1 x 3H, Thymin H-7), 4.28-4.42 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.98 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 5.44-5.65 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.03-6.06 (m, 2 x 1H, 2 x H-2'), 6.39 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 5.7 Hz, 1 x H-3'), 6.44 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 5.7 Hz, 1 x H-3'), 6.79-6.82 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.01 (d, 2 x 1H, ³J_{HH} = 8.7 Hz, 2 x Aryl H-3), 7.12 (ddd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 8.7 Hz, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HF} = 5.7 Hz, 2 x Aryl H-4), 7.19-7.22 (m, 2 x 1H, 2 x Thymin H-6), 7.44 (ddd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ³J_{HF} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 4.7 Hz, 2 x Aryl H-5), 11.35 (s, 1 x 1H, 1 x NH), 11.37 (s, 1 x 1H, 1 x NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 11.9 (2 x Thymin C-7), 63.7, 63.9 (dd, ²J_{CP} = 2.0 Hz, ³J_{CF} = 5.1 Hz, Benzyl C-7), 84.0, 84.1 (d, ²J_{CP} = 2.6 Hz, C-5'), 89.3 (2 x C-1'), 109.6, 109.7 (Thymin C-5), 111.3, 111.5 (d, ⁴J_{CF} = 2.0 Hz, Aryl C-3), 114.3, 114.4 (d, ³J_{CF} = 3.6 Hz, Aryl C-4), 127.3 (2 x C-2'), 130.8, 130.9 (d, ²J_{CF} = 10.2 Hz, Aryl C-

1), 132.7, 132.8 (C-3'), 135.7 (2 x Thymin C-6), 150.2 (2 x Thymin C-2), 150.7 (2 x Aryl C-2), 157.7 (d, $^1J_{CF} = 249.2$ Hz, 2 x Aryl C-6), 163.7, 164.1 (Thymin C-4).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -9.57, 9.72.

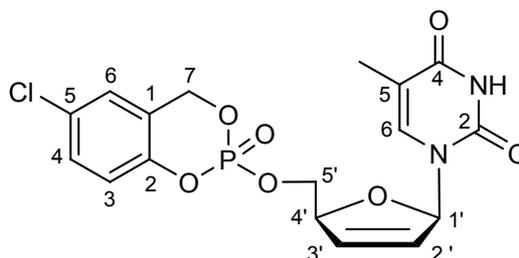
HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_7\text{P}$ [M+H]: 411.0757, gefunden: 411.0767.

IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3482, 3143, 2998, 2821, 1443, 1235, 1200, 1058, 1021, 823, 711, 658.

8.2.7.6. Synthese von 5-Chlor-cycloSal-d4T-monophosphat 115

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 140 mg (0.620 mmol) d4T, 277 mg (1.24 mmol) destilliertes 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit **86**, gelöst in 4 mL abs. Acetonitril, 211 μL (160 mg, 1.24 mmol) DIPEA, 384 μL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (309 mg, 2.11 mmol) und 20 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 159 mg (0.373 mmol, 60%) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel**: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{O}_7\text{P}$; **Molgewicht**: 426.74 g/mol; **DC**: R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.48;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.64 (d, 1 x 3H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin H-7), 1.68 (d, 1 x 3H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin H-7), 4.24-4.35 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.95 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 5.35-5.54 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.01-6.04 (m, 2 x 1H, 2 x H-2'), 6.36 (ddd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H-3'), 6.42 (ddd, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H-3'), 6.79 (ddd, 2 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 2 x H-1'), 7.14-7.19 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-3, 2 x Thymin H-6), 7.41-7.45 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-4, 2 x Aryl H-6), 11.36 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 11.9 (2 x Thymin C-7), 67.8 (2 x C-5'), 68.6 (2 x Benzyl C-7), 84.1 (2 x C-4'), 89.2 (2 x C-1'), 109.7 (2 x Thymin C-5), 120.0 (2 x Aryl C-3), 120.1 (2 x Aryl C-1), 123.3 (2 x Aryl C-4), 126.2 (2 x Aryl C-5), 127.4 (2 x C-2'), 128.4 (2 x Aryl C-6), 129.6 (2 x Thymin C-6), 132.7 (2 x C-3'), 135.7 (2 x Aryl C-2), 150.8 (2 x Thymin C-2), 163.7 (2 x Thymin C-4).

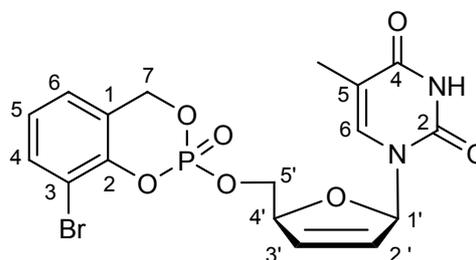
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -8.57, -8.63.

HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_7\text{P}$ [M+H]: 427.0462, gefunden: 427.0461.

8.2.7.7. Synthese von 3-Brom-cycloSal-d4T-monophosphat 116

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 238 mg (1.06 mmol) d4T, 570 mg (2.12 mmol) noch verunreinigtes 3-Brom-Saligenylchlorphosphit **91**, gelöst in 6 mL abs. Acetonitril, 373 μL (280 mg, 2.12 mmol) DIPEA, 650 μL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.40 mmol) und 25 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 175 mg (0.371 mmol, 35 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel:** $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{BrN}_2\text{O}_7\text{P}$; **Molgewicht:** 471.20 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.60 (s, 1 x 3H, Thymin H-7), 1.66 (s, 1 x 3H, Thymin H-7), 4.26-4.36 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.97 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 5.39-5.45 (m, 1 x 2H, 1 x Benzyl H-7), 5.51-5.58 (m, 1 x 2H, 1 x Benzyl H-7), 6.03-6.04 (m, 2 x 1H, 2 x H-2'), 6.37 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, 1 x H-3'), 6.42 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, 1 x H-3'), 6.80-6.82 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.14-7.19 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-6, 2 x Thymin H-6), 7.31 (d, 2 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 2 x Aryl H-4), 7.68 (dd, 2 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 4.6$ Hz, 2 x Aryl H-5), 11.33 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 11.9 (2 x Thymin C-7), 68.2 (2 x C-5'), 68.8 (2 x Benzyl C-7), 84.0, 84.1 (C-4'), 89.2 (2 x C-1'), 109.7 (2 x Thymin C-5), 125.8 (2 x

Aryl C-5), 127.9 (2 x C-2'), 128.4 (2 x Aryl C-1), 132.7, 132.8 (Aryl C-4), 133.1 (2 x C-3'), 135.6, 135.7 (Thymin C-6), 151.3 (2 x Aryl C-2), 155.3, 155.4 (Thymin C-2), 163.7 (2 x Thymin C-4).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d₆): -8.05, -8.08.

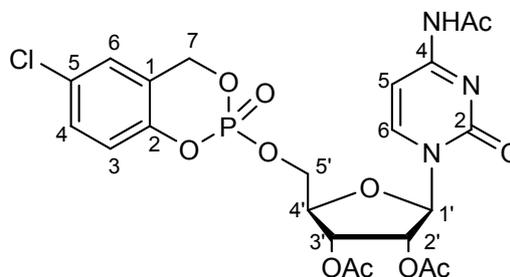
HRMS (FAB): berechnet für C₁₇H₁₇BrN₂O₇P [M+H]: 470.9957, gefunden: 470.9957.

IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3506, 3186, 3071, 2957, 2927, 2884, 1696, 1461, 1365, 1304, 1244, 1105, 1016, 931, 774, 647, 612, 472.

8.2.7.8. Synthese von 5-Chlor-cycloSal-Ac₃Cytidin-monophosphat 118

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 2.00 (5.19 mmol) Ac₃Cytidin **109**, 2.30 g (10.3 mmol) noch verunreinigtes 5-Chlor-Saligenylchlorphosphit **86**, gelöst in 10 mL abs. Acetonitril, 1.75 mL (1.33 g, 10.3 mmol) DIPEA, 2.00 mL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan und 50 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

Ausbeute: 863 mg (1.51 mmol, 29 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; **Summenformel:** C₂₂H₂₃ClN₃O₁₁P; **Molgewicht:** 571.86 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.52;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 2.03 2.04, 2.05, 2.06 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl), 2.11 (s, 2 x 3 H, 2 x CH₃-Acetyl), 4.29-4.50 (m, 2 x 3H, 2 x H-5', 2 x H-4'), 5.32 (dd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 2 x H-3'), 5.41 (dd, 2 x 1H, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 2 x H-2'), 5.45-5.50 (m, 2 x 2H, H-7), 5.81 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 3.7 Hz, H-1'), 5.86 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 3.7 Hz, H-1'), 7.13-7.17 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl H-4, 2 x Aryl H-6), 7.33-7.40 (m, 4 x 1H, 2 x Aryl-H3, 2 x H-5), 8.01 (d, 2 x 1H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x H-6), 9.19 (s, 2 x 1H, 2 x NHAc).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 20.2 (4 x CH₃-Acetyl), 24.4 (2 x CH₃-Acetyl), 66.5 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C-5'), 66.8 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C-5'), 68.0 (d, ²J_{CP} = 6.6

Hz, C-7), 68.1 (d, $^2J_{CP} = 6.6$ Hz, C-7), 68.9 (2 x C-3'), 69.2 (2 x C-2'), 72.5 (2 x C-4'), 79.3 (2 x C-1'), 91.0 (C-5), 91.3 (C-5), 120.0 (2 x Aryl C-3), 125.9 (2 x Aryl C-6), 128.2 (2 x Aryl C-5), 128.3 (2 x Aryl C-1), 129.4 (2 x Aryl C-4), 146.6 (C-6), 146.7 (C-6), 154.1 (2 x C-4), 163.0 (C-2), 169.2 (C_q-Acetyl), 169.3 (4 x C_q-Acetyl), 171.0 (C_q-Acetyl).

MS (FAB): berechnet für C₂₂H₂₃ClN₃O₁₁P [M+H]: 572.1, gefunden: 572.3.

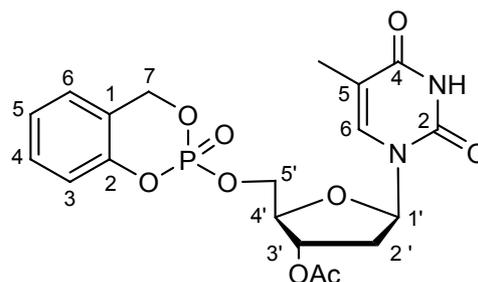
³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d₆): -10.47, -10.66;

8.2.7.9. Synthese von *cycloSal-3'OAc*T-monophosphat **119**

Methode I: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(II)**. Es wurden 350 mg (1.66 mmol) Salicylphosphorchloridat **95**, gelöst in 5 mL abs. THF, 262 mg (0.922 mmol) 3'-O-AcdT **100** und 10 mL abs. Pyridin verwendet. Die Reaktion wurde 6 h bei -40 °C gerührt.

Methode II: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(III)**. Es wurden 800 mg (3.91 mmol) Salicylphosphorchloridat **95**, 596 mg (2.00 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 532 mg (7.82 mmol) Imidazol und 10 mL Dioxan eingesetzt. Die Reaktion wurde 12 h bei 50 °C gerührt.

Ausbeute: Methode I: 267 mg (0.590 mmol, 64 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; Methode II: 371 mg (0.820 mmol, 41 %); **Summenformel:** C₁₉H₂₁N₂O₉P; **Molgewicht:** 452.35 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.65;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.71 (d, 1 x 3H, $^3J_{HH} = 1.1$ Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.76 (d, 1 x 3H, $^3J_{HH} = 1.1$ Hz, 1 x Thymin-CH₃), 2.04, 2.05 (s, 2 x 3H, 2 x Acetyl-CH₃), 2.22-2.36 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.15-4.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.30-4.42 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.16 (ddd, 2 x 1H, $^3J_{HH} = 6.0$ Hz, $^3J_{HH} = 6.0$ Hz, $^3J_{HH} = 2.8$ Hz, 2 x H-3'), 5.42-5.53 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.13-6.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.11-7.14 (m, 2 x 1H, Aryl-H), 7.18-7.22 (m, 2 x 1H, Aryl-H), 7.27-7.29 (m, 2 x 1H,

Aryl-H), 7.35-7.40 (m, 2 x 1H, Aryl-H), 7.46 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, Thymin-H₆), 7.50 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, Thymin-H₆), 11.36 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 11.9, 12.0 (2 x Thymin C-7), 20.7 (2 x CH₃-Acetyl), 35.5, 35.6 (C-2'), 67.4 (C-5'), 68.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, Benzyl C-7), 68.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, Benzyl C-7), 73.3, 73.4 (2 x C-3'), 81.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, 2 x C-4'), 84.0, 84.1 (2 x C-1'), 109.9 (2 x Thymin C-5), 118.1 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.8$ Hz, Aryl C-3), 118.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.8$ Hz, Aryl C-3), 124.5 (2 x Aryl C-6), 126.1 (2 x Aryl C-5), 129.8 (2 x Aryl C-4), 135.6 (Thymin C-6), 135.7 (Thymin C-6), 150.3 (2 x Thymin C-2), 163.5. (2 x Thymin C-4), 169.9 (2 x C_q-Acetyl).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -9.71, -9.76.

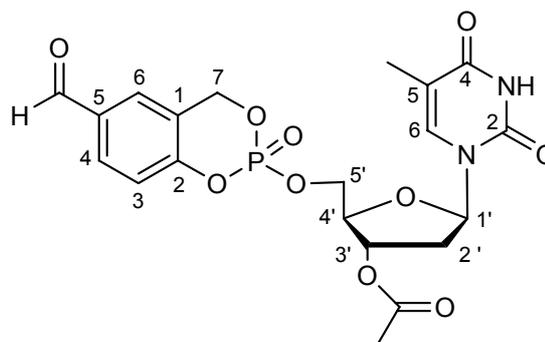
HRMS (FAB): berechnet für C₁₉H₂₁N₂O₉P [M+H]: 453.1063, gefunden: 453.1076.

8.2.7.10. Synthese von 5-Formyl-cycloSal-3'OAcdT-monophosphat **120**

Methode I: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(II)**. Es wurden 150 mg (0.645 mmol) Salicylphosphorchloridat **95**, gelöst in 5 mL abs. THF, 102 mg (0.359 mmol) 3'-O-AcdT **100** und 8 mL abs. Pyridin verwendet. Die Reaktion wurde 8 h bei -40 °C gerührt.

Methode II: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(III)**. Es wurden 375 mg (1.61 mmol) 5-Formyl-Salicylphosphorchloridat **96**, 227 mg (0.800 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 217 mg (3.22 mmol) Imidazol und 5 mL Dioxan eingesetzt. Die Reaktion wurde 48 h bei 50 °C gerührt.

Ausbeute: Methode I: 88.0 mg (0.183 mmol, 51 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:2.5; Methode II: 252 mg (0.525 mmol, 66 %); **Summenformel:** C₂₀H₂₁N₂O₁₀P; **Molgewicht:** 480.36 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.47;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.78 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin H-7), 1.81 (d, 1 x 3H, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin H-7), 2.10 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.11 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.32 (dd, 2 x 1H, $^2J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, 2 x H-5'), 2.37-2.42 (m, 2 x 1H, 2 x H-5'), 4.22-4.23 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.46-4.49 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.21-5.25 (m, 2 x 1H, 2 x H-3'), 5.58-5.69 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.18-6.23 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.40 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 1 x Aryl H-3), 7.41 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 1 x Aryl H-3), 7.53 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl H-6), 7.56 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl H-6), 7.92-7.93 (m, 2 x 1H, 2 x Thymin H-6), 7.98-8.02 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-4), 10.00 (s, 1 x 1H, 1 x Formyl-H), 10.01 (s, 1 x 1H, 1 x Formyl-H), 11.43 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 12.7 (2 x Thymin C-7), 21.4. (2 x CH₃-Acetyl), 35.3, 35.4 (C-2'), 67.9, 68.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.0$ Hz, C-5'), 68.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.0$ Hz, 2 x Benzyl C-7), 81.3 (2 x C-3'), 81.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, 2 x C-4'), 84.0 (2 x C-1'), 109.7 (2 x Thymin C-5), 119.7 (2 x Aryl C-3), 119.8 (2 x Aryl C-1), 122.8 (2 x Aryl C-6), 125.4, 125.5 (Aryl C-4), 136.0 (2 x Thymin C-6), 143.5 (2 x Aryl C-2), 150.1 (2 x Thymin C-2), 156.0 (2 x Aryl C-5), 165.4. (2 x Thymin C-4), 171.2 (2 x C_q-Acetyl), 190.2 (2 x Formyl-C).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d₆): -10.38, -10.51.

IR (KBr): ν [cm⁻¹]: 3345, 3178, 3051, 2830, 1324, 1256, 1211, 1056, 947, 854, 748, 712, 622.

8.2.7.11. Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'OAcdT-monophosphat 126

Methode I: Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(I)**. Es wurden 1.34 g (4.71 mmol) 3'OAcdT **100**, 2.20 g (9.42 mmol) 5-Nitro-Saligenylchlorphosphit **90**, gelöst in 10 mL abs. Acetonitril, 1.60 mL (1.22 g, 9.42 mmol) DIPEA, 3.20 mL einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (16.0 mmol) und 30 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

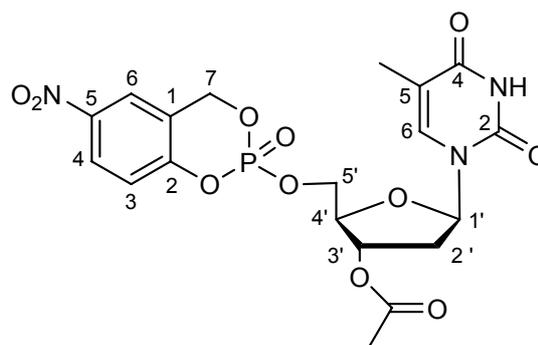
Methode II: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(II)**. Es wurden 500 mg (2.00 mmol) 5-Nitro-Salicylphosphorchloridat **94**, gelöst

in 6 mL abs. THF, 284 mg (1.00 mmol) 3'-O-AcdT **100** und 6 mL abs. Pyridin verwendet. Die Reaktion wurde 9 h bei -40 °C gerührt. Nach Reinigung am Chromatotron konnte kein Produkt isoliert werden.

Methode III: Die Darstellung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 4(III)**. Es wurden 50.0 mg (0.200 mmol) 5-Nitro-Salicylphosphorchloridat **94**, 37.0 mg (0.130 mmol) 3'-O-AcdT **100**, 27.0 mg (0.400 mmol) Imidazol und 6 mL Dioxan eingesetzt. Die Reaktion wurde 24 h bei 50 °C gerührt. Nach Reinigung am Chromatotron konnte lediglich das Nucleosid reisoliert werden.

Methode IV: Unter Schutzgas wurden 191 mg (0.67 mmol) 3'-O-AcdT **100** in 10 mL abs. Acetonitril gelöst, die Lösung wurde im Anschluß auf 0°C abgekühlt. Zur Lösung wurden 21.4 mL Dicyanoimidazol (5.36 mmol, 0.25 M in Acetonitril) sowie tropfenweise 400 mg (1.34 mmol) 5-Nitro-cycloSaligenylphosphoramidit **130**, gelöst in 15 mL abs. Acetonitril, zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h gerührt. Danach wurde die Lösung erneut auf 0°C abgekühlt und 0.3 mL (1.34 mmol) einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan wurden zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde noch eine Stunde gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan/Methanol (Gradient) gereinigt.

Ausbeute: Methode I: 959 mg (1.92 mmol, 41 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1:1; Methode IV: 10.0 mg (0.0201 mmol, 3 %) **Summenformel:** C₁₉H₂₀N₃O₁₁P; **Molgewicht:** 497.35 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.54;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.73 (d, 1 x 3H, ³J_{HH} = 1.0 Hz, Thymin H-7), 1.75 (d, 1 x 3H, ³J_{HH} = 1.0 Hz, Thymin H-7), 2.04 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.05 (s, 1 x 3H, 1 x CH₃-Acetyl), 2.23-2.37 (m, 2 x 2H, 2 x H-5'), 4.15-4.18 (m, 2 x 1H, 2 x H-4'), 4.36-4.50 (m, 2 x 2H, 2 x H-2'), 5.15- 5.19 (m, 2 x 1H, 2 x H-3'), 5.53-5.71 (m, 2 x 2H, 2 x Benzyl H-7), 6.11-6.17 (m, 2 x 1H, 2 x H-1'), 7.37 (d, 1 x 1H, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 1

x Aryl H-3), 7.39 (d, 1 x 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, 1 x Aryl H-3), 7.47 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Aryl H-6), 7.50 (d, 1 x 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Aryl H-6), 8.22-8.31 (m, 2 x 1H, 2 x Aryl H-4), 8.30-8.31 (m, 2 x 1H, 2 x Thymin H-6), 11.36 (s, 2 x 1H, 2 x NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 12.0 (2 x Thymin C-7), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 35.4, 35.5 (C-2'), 67.8, 67.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, C-5'), 68.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 7.4$ Hz, 2 x Benzyl C-7), 81.3 (2 x C-3'), 81.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.6$ Hz, 2 x C-4'), 84.2 (2 x C-1'), 109.9 (2 x Thymin C-5), 119.5 (2 x Aryl C-3), 119.6 (2 x Aryl C-1), 122.5 (2 x Aryl C-6), 125.4, 125.5 (Aryl C-4), 135.8 (2 x Thymin C-6), 143.5 (2 x Aryl C-2), 150.3 (2 x Thymin C-2), 156.0 (2 x Aryl C-5), 163.6 (2 x Thymin C-4), 170.0 (2 x C_q -Acetyl).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, DMSO- d_6): -10.72, -10.92.

HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{P}$ [M+H]: 498.0914, gefunden: 498.0927.

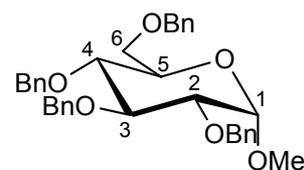
IR (KBr): ν [cm^{-1}]: 3454, 3200, 3076, 2931, 1693, 1533, 1349, 1251, 1030, 939, 749.

8.2.8. Synthese der Glycosylmonophosphate

8.2.8.1. Synthese von 1-O-Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucose 151

Es wurden 5.00 g (25.8 mmol) 1-O-Methyl- α -D-glucose in 60 mL abs. Dimethylformamid gelöst und auf 0°C gekühlt. In kleinen Portionen wurden 6.13 g (160 mmol, 60 % in Paraffinöl) Natriumhydrid zugegeben. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt. Nach Zugabe von 15.9 mL (22.9 g, 134 mmol) Benzylbromid wurde das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden 15 mL MeOH unter Rühren und Eiskühlung tropfenweise zum Reaktionsgemisch gegeben. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum weitestgehend entfernt, der Rückstand wurde in 50 mL Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 13.3 g (24.0 mmol, 93 %) eines leicht gelblichen Sirups; **Summenformel:** C₃₅H₃₈O₆; **Molgewicht:** 554.67 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 3:1 v/v): 0.44; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 78.2° (c=1.0, CHCl₃);



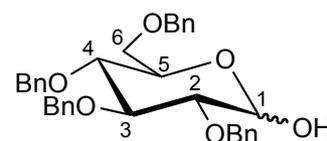
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.20 (s, 3H, OCH₃), 3.34-3.92 (m, 9H, 3 x Benzyl-CH₂, H-5, H-6) 4.25-4.94 (m, 6H, Benzyl-CH₂, H-3, H-4, H-2, H-1) 6.92-7.35 (m, 20 H, Aryl-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 55.6 (OCH₃), 70.3 (C-6), 71.3 (C-5), 73.3, 73.5, 73.7 (4 x Benzyl CH₂), 78.1 (C-4), 80.3 (C-3), 82.5 (C-2), 98.6 (C-1), 127.5, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 (Aryl-CH), 138.0, 138.5, 138.7, 139.0 (Aryl-C_q).

8.2.8.2. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucose **152**

Es wurden 8.30 g (15.0 mmol) 1-O-Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-D-glucose **151** in 146 mL konzentrierter Essigsäure gelöst und mit 35 mL (2 M) Trifluormethansulfonsäure versetzt. Die Reaktion wurde solange auf 80°C erwärmt bis der Umsatz vollständig war (DC-Kontrolle). Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan verdünnt und je dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat 10:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 3.40 g (6.29 mmol, 42 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₃₄H₃₆O₆; **Molgewicht:** 540.65 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Ethylacetat 10:1 v/v): 0.30; Anomerenverhältnis: α:β = 2:1; [α]_D²⁰ = + 8.1° (c=1.0, CHCl₃);



α-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.54-3.74 (m, 3H, H-5, H-6), 4.49-4.53 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 4.57-4.63 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 4.72-4.74 (m, 1H, H-2), 4.76-4.77

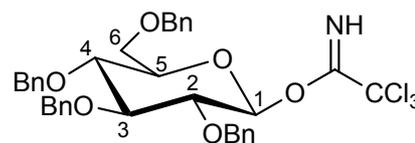
(m, 1H, H-3), 4.81 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-4) 4.83-4.87 (m, 2 H, Benzyl-CH₂), 4.93-4.98 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 5.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, H-1 α), 7.27-7.36 (m, 20 H, Aryl-H).

α -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 68.8 (C-6), 70.5 (C-5), 73.4, 73.7, 75.1, 75.8 (4 x Benzyl CH₂), 77.9 (C-4), 81.9 (C-3), 84.7 (C-2), 91.5 (C-1), 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.7 (Aryl-CH), 138.0, 138.1, 138.4, 138.7 (Aryl-C_q).

8.2.8.3. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyltrichloracetimidat 153

Es wurden 300 mg (2.17 mmol) Kaliumcarbonat in 2 mL Dichlormethan suspendiert. Zu dieser Suspension wurden 300 mg (0.555 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucose **152**, gelöst in 4 mL Dichlormethan, sowie 300 μ L (3.00 mmol) Trichloroacetonitril hinzugefügt. Die Reaktion wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 7:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 116 mg (0.170 mmol, 31 %) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₃₆H₃₆Cl₃NO₆; **Molgewicht:** 685.03 g/mol; **DC:** *R_f* (Petrolether/Ethylacetat 7:1 v/v): 0.40; Anomeren-verhältnis: β -anomerenrein; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +68.5^\circ$ (c=1.0, CHCl₃);



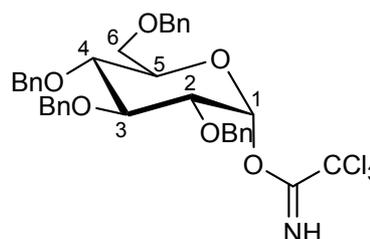
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.61-3.93 (m, 6H, 2 x Benzyl-CH₂, H-6), 4.54-4.65 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 4.67-5.11 (m, 4 H, 2 x Benzyl-CH₂), 5.88 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, H-1), 7.12-7.53 (m, 20H, Aryl-H), 8.76 (s, 1H, NH).

8.2.8.4. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranosyltrichloracetimidat 154

Es wurden 50 mg (2.00 mmol) Natriumhydrid in 2 mL Dichlormethan suspendiert. Zu dieser Suspension wurden 540 mg (1.00 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-glucose

152, gelöst in 3 mL Dichlormethan, bei Raumtemperatur hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde 15 Minuten gerührt, dann wurden 350 μ L (3.50 mmol) Trichloroacetonitril zugegeben. Die Reaktion wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 7:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 366 mg (0.534 mmol, 53 %) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** $C_{36}H_{36}Cl_3NO_6$; **Molgewicht:** 685.03 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Ethylacetat 10:1 v/v): 0.74; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +22.8^\circ$ ($c=1.0$, $CHCl_3$);

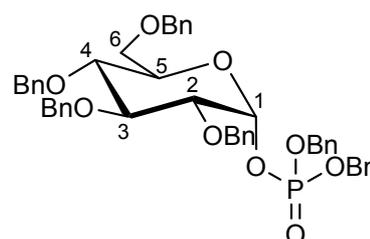


1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 3.67 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 2.3$ Hz, $^2J_{HH} = 11.0$ Hz H-6), 3.75-3.81 (m, 3H, CH_2 -Benzyl, H-6), 3.99 (ddd, 1H, $^3J_{HH} = 9.7$ Hz, $^3J_{HH} = 2.3$ Hz, $^3J_{HH} = 2.3$ Hz, H-5), 4.03-4.97 (m, 9 H, 3 x Benzyl- CH_2 , H-2, H-3, H-4), 6.53 (d, 1H, $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, H-1), 7.27-7.31 (m, 20H, Aryl-H), 8.58 (s, 1H, NH).

8.2.8.5. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranosyl-1-phosphat **155**

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyltrichloracetimidat **153** (113 mg, 0.165 mmol) wurde in 5 mL abs. Dichlormethan gelöst, nach Zugabe von 46.0 mg (0.165 mmol) Bisbenzylphosphat wurde das Reaktionsgemisch 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat (Gradient) gereinigt.

Ausbeute: 104 mg (0.130 mmol, 79 %) eines farblosen Öls; **Summenformel:** $C_{48}H_{49}O_9P$; **Molgewicht:** 800.87 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v): 0.35; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +57.6^\circ$ ($c=1.0$, $CHCl_3$);



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.50 (dd, 1H, ³J_{HH} = 1.8 Hz, ²J_{HH} = 10.8 Hz H-6), 3.63-3.74 (m, 2H, H-5, H-6), 3.91-3.96 (m, 2H, Benzyl-CH₂), 4.42-4.59 (m, 3H, Benzyl-CH₂, H-3), 4.67-4.95 (m, 6H, 2 x Benzyl-CH₂, H-2, H-4), 5.04-5.13 (m, 4 H, 2 x Benzyl-CH₂), 5.98 (dd, 1H, ³J_{HP} = 6.8 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H-1), 7.24-7.36 (m, 30 H, Aryl-H).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 68.1 (C-6), 69.3 (d, ²J_{CP} = 5.9 Hz, Benzyl-CH₂), 69.5 (d, ²J_{CP} = 5.9 Hz, Benzyl-CH₂), 72.7 (C-5), 73.1, 73.6, 75.2, 75.8 (Benzyl-CH₂), 77.0 (C-4), 79.4 (d, ³J_{CP} = 7.4 Hz, C-2), 81.2 (C-3), 95.8 (d, ²J_{CP} = 6.6 Hz, C-1), 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6 (Aryl-CH), 135.9, 136.0, 137.7, 137.9, 138.2, 138.6 (Aryl-C_q).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -2.37.

8.2.8.6. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- β -D-glucopyranosyl-1-phosphat **156**

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranosyltrichloracetimidat **154** (346 mg, 0.505 mmol) wurde in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst, nach Zugabe von 142 mg (0.505 mmol) Bisbenzylphosphat wurde das Reaktionsgemisch 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 5:2 v/v gereinigt.

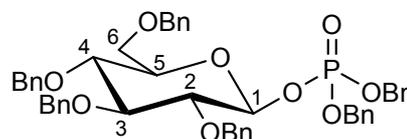
Ausbeute: 263 mg (0.328 mmol, 65 %) eines

farblosen Sirups; **Summenformel:** C₄₈H₄₉O₉P;

Molgewicht: 800.87 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/

Ethylacetat 2:1 v/v): 0.36; Anomerenverhältnis: β -anomeren-

rein; $[\alpha]_D^{20} = +25.5^\circ$ (c=1.0, CHCl₃);



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 3.45-3.63 (m, 3H, H-5, H-6), 4.30-4.47 (m, 3H, Benzyl-CH₂, H-4, H-2), 4.56-4.83 (m, 7H, 3 x Benzyl-CH₂, H-3), 4.92-5.02 (m, 4 H, 2 x Benzyl-CH₂), 5.16 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H-1), 7.12-7.22 (m, 30 H, Aryl-H).

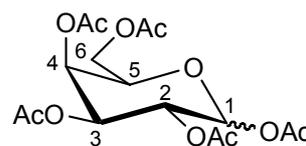
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 68.4 (C-6), 69.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.2$ Hz, Benzyl- CH_2), 69.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.2$ Hz, Benzyl- CH_2), 72.6 (C-5), 73.4, 74.9, 75.0 (Benzyl- CH_2), 75.5 (C-4), 75.7 (Benzyl- CH_2), 77.2 (C-3), 81.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.8$ Hz, C-2), 99.1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, C-1), 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 (Aryl-CH), 137.6, 137.9, 138.0, 138.1, 138.3, 138.5 (Aryl- C_q).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -2.34.

8.2.8.7. Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-galaktopyranose 171

Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**. Es wurden 5.00 g (27.8 mmol) D-Galactose, 39.4 mL (42.6 g, 0.417 mol) Essigsäureanhydrid und 60 mL Pyridin eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 8 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 10.4 g (26.6 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v): 0.67; Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 7:1$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29.0^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3);



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.97, 1.99, 2.01, 2.12, 2.13 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.04 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H-6), 4.08 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H-6), 4.31 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-5), 5.29-5.30 (m, 2H, H-3, H-4), 5.46-5.47 (m, 1H, H-2), 6.34 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H-1).

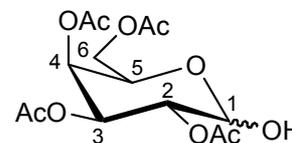
α - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.6 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.7 (CH_3 -Acetyl), 20.8 (CH_3 -Acetyl), 20.9 (CH_3 -Acetyl), 61.3 (C-6), 66.5 (C-5), 67.4 (C-4), 67.5 (C-2), 68.8 (C-3), 89.8 (C-1), 168.9 (C=O), 169.9 (C=O), 170.1 (C=O), 170.2 (C=O), 170.4 (C=O).

8.2.8.8. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-galaktopyranose 186

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 4.00 g (10.3 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-galaktopyranose **171**, 1.13 g (12.3 mmol) Hydrazinacetat und 10 mL abs. DMF eingesetzt. Die abschließende

Säulenchromatographie erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: 2.19 g (6.29 mmol, 61 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₄H₂₀O₁₀; **Molgewicht:** 348.34 g/mol; **DC:** *R_f* (Petrolether/Ethylacetat 3:1 v/v): 0.62; Anomerenverhältnis: α/β ≈ 3:1; [α]_D²⁰ = + 68.5° (c=1.0, CHCl₃);



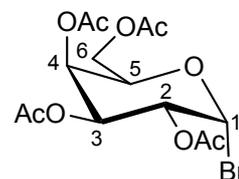
α-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.97, 2.03, 2.07, 2.12 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.06-4.08 (m, 1H, H-6), 4.12 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, H-6), 4.44 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, H-5), 5.12 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.9 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, H-4), 5.37-5.40 (m, 1H, H-2), 5.44 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.5 Hz, ³J_{HH} = 1.0 Hz, H-3), 5.48 (d, 1H, ³J_{HH} = 2.8 Hz, H-1).

α-¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.7 (2 x CH₃-Acetyl), 20.8 (CH₃-Acetyl), 20.9 (CH₃-Acetyl), 61.9 (C-6), 66.2 (C-5), 67.3 (C-4), 68.3 (C-2), 68.5 (C-3), 90.7 (C-1), 170.3 (C=O), 170.4 (C=O), 170.6 (C=O), 170.8 (C=O).

8.2.8.9. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-galaktopyranosyl-1-bromid 173

Es wurden 10.0 g (25.6 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-galaktopyranose **171** in 50 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Langsam wurden unter starkem Rühren 20.6 mL (6.80 g, 76.5 mmol) Bromwasserstoffsäure (33 % in Essigsäure) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 20 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde Eiswasser zugegeben und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat und Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Evaporieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand aus Diethylether umkristallisiert.

Ausbeute: 8.02 g (19.5 mmol, 76 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₄H₁₉BrO₉; **Molgewicht:** 411.2 g/mol; **DC:** *R_f* (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.38; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 167.1° (c= 1.0, CHCl₃);



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 2.01, 2.03, 2.12, 2.15 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.05 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, H-6), 4.06 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, H-6), 4.13-4.15 (m, 1H, H-4), 4.25 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, H-5), 5.15 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H-3), 5.43 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H-2), 6.27 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, H-1).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.8 (CH_3 -Acetyl), 20.9 (CH_3 -Acetyl), 61.4 (C-6), 66.2 (C-4), 67.6 (C-2), 68.8 (C-5), 70.5 (C-3), 90.7 (C-1), 170.3 (C=O), 170.4 (C=O), 170.6 (C=O), 170.8 (C=O).

8.2.8.10. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galaktopyranosyl-1-phosphat **189**

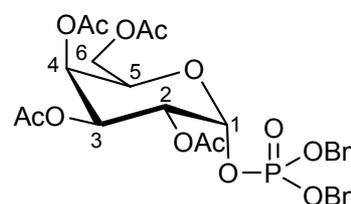
Die Reaktionsdurchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7(I)**. Es wurden 1.80 g (5.17 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-galaktopyranose **186**, 24.8 mL Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril, 6.20 mmol), 2.56 mL (2.68 g, 7.76 mmol) bis-(Benzyl)-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit und 20 mL abs. Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 1.34 g (7.76 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure verwendet. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohgemisches konnte ein α : β -Verhältnis von 3:1 bestimmt werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung mit Petrolether/Ethylacetat 3:4 v/v konnten 51 % des α -Anomers und 14 % des β -Anomers isoliert werden.

Ausbeute: 1.61 g (2.65 mmol, 51 %) eines farblosen Öls;

Summenformel: $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}\text{P}$; **Molgewicht:** 608.53 g/mol;

DC: R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.34;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +54.5^\circ$ (c=1.0, CHCl_3);



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.90, 1.92, 2.00, 2.14 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 3.96 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H-6), 4.07 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H-6), 4.30 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-5), 5.06-5.10 (m, 4H, CH_2 -Benzyl), 5.22 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 10.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 2.5$ Hz, H-2), 5.33 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 10.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, H-3), 5.45 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} =$

3.2 Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-4), 5.95 (dd, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 6.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, H-1), 7.35-7.36 (m, 10H, Aryl).

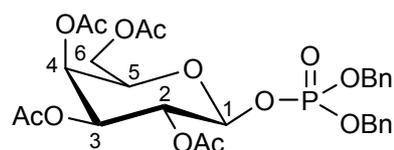
α - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.6 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 61.4 (C-6), 67.1 (C-3), 67.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.6$ Hz, C-2), 67.6 (C-5), 69.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, CH_2 -Benzyl), 69.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, CH_2 -Benzyl), 94.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.9$ Hz, C-1), 128.1 (C-Aryl), 128.2 (C-Aryl), 128.8 (2 x C-Aryl), 128.9 (2 x C-Aryl), 170.0 (2 x C=O), 170.2 (C=O), 170.4 (C=O).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -2.59.

8.2.8.11. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl-1-phosphat **176**

Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7 (II)**. Es wurden 2.00 g (4.86 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-galactose-1-bromid **173**, 2.43 g (8.75 mmol) Dibenzylphosphat, 2.48 g (9.00 mmol) Silbercarbonat, 12.0 g 3 Å Molsieb sowie 30 mL abs. Dichlormethan und 30 mL abs. Acetonitril eingesetzt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat 1:2 v/v als Eluent.

Ausbeute: 2.40 g (3.94 mmol, 81 %) eines farblosen Öls; **Summenformel:** $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}\text{P}$; **Molgewicht:** 608.53 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:2 v/v): 0.6; Anomerenverhältnis: β -anomerenrein; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -1.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3);



β - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.92, 1.97, 1.99, 2.17 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.02 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-5), 4.08-4.18 (m, 2H, H-6), 5.01-5.10 (m, 4H, CH_2 -Benzyl), 5.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H-4), 5.32-5.34 (m, 2H, H-3, H-1), 5.42 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H-2), 7.30-7.34 (m, 10H, Aryl).

β - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.6 (4 x CH_3 -Acetyl), 61.2 (C-6), 66.9 (C-3), 68.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.7$ Hz, C-2), 69.8 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, CH_2 -Benzyl), 69.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$

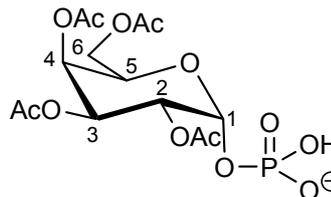
Hz, CH₂-Benzyl), 71.9 (C-5), 97.0 (d, ²J_{CP} = 4.6 Hz, C-1), 128.0 (2 x C-Aryl), 128.7 (2 x C-Aryl), 128.8 (2 x C-Aryl), 169.6 (C=O), 170.0 (C=O), 170.2 (C=O), 170.4 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -2.95.

8.2.8.12. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-galaktopyranosyl-1-phosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes 191

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 1.24 g (2.04 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-galaktopyranosylphosphat **189**, 560 μL (413 mg, 4.08 mmol) Triethylamin und 200 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 25 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 4 Stunden.

Ausbeute: 1.02 g (1.92 mmol, 94 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 7:2 v/v): 0.45; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 84.3° (c = 1.0, MeOH);



α-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.28 (t, 9H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, CH₃-NEt₃), 2.04, 2.09, 2.14, 2.22 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.20 (q, 6H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, CH₂-NEt₃), 4.20 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.4 Hz, ²J_{HH} = 11.6 Hz, H-6), 4.27 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ²J_{HH} = 11.6 Hz, H-6), 4.61 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 6.4 Hz, H-5), 5.23 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, ⁴J_{HP} = 2.2 Hz, H-2), 5.42 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 3.2 Hz, H-3), 5.57 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.2 Hz, ³J_{HH} = 0.8 Hz, H-4), 5.95 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, H-1).

α-¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.2 (CH₃-NEt₃), 20.0 (CH₃-Acetyl), 20.1 (CH₃-Acetyl), 20.2 (CH₃-Acetyl), 20.3 (CH₃-Acetyl), 46.7 (CH₂-NEt₃), 62.0 (C-6), 67.1 (C-5), 68.0 (d, ³J_{CP} = 7.4 Hz, C-2), 68.1 (C-4), 68.8 (C-3), 92.0 (d, ²J_{CP} = 5.2 Hz, C-1), 172.9 (C=O), 173.1 (C=O), 173.4 (C=O), 173.7 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.57.

8.2.8.13. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl-1-phosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes 179

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 500 mg (0.820 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosylphosphat **176**, 230 μ L (166 mg, 1.64 mmol) Triethylamin und 83 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 10 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 10 Stunden.

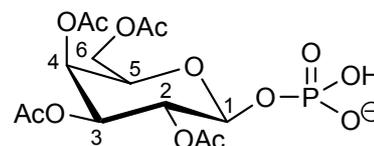
Ausbeute: 387 mg (0.713 mmol, 87 %) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P; **Mol-**

gewicht: 529.47 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/

Methanol 7:2 v/v): 0.48; Anomerenverhältnis: β -

anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +4.2^\circ$ (c= 0.8, CHCl₃); $[\alpha]_D^{20} = +6.5^\circ$ (c= 1.0, MeOH);



β -¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.36 (t, 9H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, CH₃-NEt₃), 2.11, 2.18, 2.22, 2.31 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.28 (q, 6H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, CH₂-NEt₃), 4.28-4.39 (m, 3H, H-5, H-6), 5.21 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 1.0 Hz, H-4), 5.31-5.37 (m, 2H, H-3, H-1), 5.56 (d, 1H, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H-2).

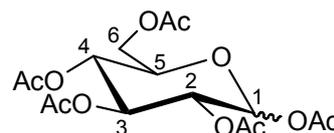
β -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.7 (CH₃-NEt₃), 20.4 (CH₃-Acetyl), 20.5 (CH₃-Acetyl), 20.6 (CH₃-Acetyl), 20.8 (CH₃-Acetyl), 47.2 (CH₂-NEt₃), 62.3 (C-6), 68.4 (C-4), 70.5 (d, ³J_{CP} = 7.7 Hz, C-2), 71.4 (C-5), 71.9 (C-3), 95.9 (d, ²J_{CP} = 4.1 Hz, C-1), 173.1 (C=O), 173.6 (C=O), 173.7 (C=O), 173.9 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.42.

8.2.8.14. Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucopyranose 157

Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**. Es wurden 4.00 g (22.2 mmol) D-Glucose, 31.5 mL (34.0 g, 0.333 mol) Essigsäureanhydrid und 40 mL Pyridin eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat 10:1 v/v) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 8.51 g (21.8 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{16}H_{22}O_{11}$; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.75; Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 2:1$; $[\alpha]_D^{20} = +57.1^\circ$ ($c=1.0$, $CHCl_3$);



α - 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 1.98, 1.99, 2.01, 2.06, 2.15 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.04-4.11 (m, 2H, H-5, H-6), 4.21-4.28 (m, 1H, H-6), 5.05-5.13 (m, 2H, H-2, H-4), 5.44 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 9.0$ Hz, $^3J_{HH} = 9.0$ Hz, H-3), 6.29 (d, 1H, $^3J_{HH} = 3.8$ Hz, H-1).

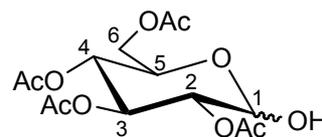
α - ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 20.5 (CH_3 -Acetyl), 20.6 (CH_3 -Acetyl), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.9 (CH_3 -Acetyl), 61.6 (C-6), 68.0 (C-4), 69.3 (C-2), 69.9 (C-3), 72.9 (C-5), 89.1 (C-1), 168.8 (2 x C=O), 169.4 (C=O), 169.7 (C=O), 170.3 (C=O).

8.2.8.15. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **158**

Methode I: 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucopyranose **157** (5.00 g, 12.8 mmol) und Benzylamin (2.10 mL, 19.2 mmol) wurden über Nacht in 30 mL abs. THF bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v) wurde das Reaktionsgemisch mit Eiswasser verdünnt und mit Dichlormethan (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden je zweimal mit 1N HCl, gesättigter $NaHCO_3$ - und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (1. Säule: Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v, 2. Säule: Petrolether/Ethylacetat 3:2 v/v) gereinigt.

Methode II: Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 3.00 g (7.69 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucopyranose **157**, 850 mg (9.23 mmol) Hydrazinacetat und 7 mL abs. DMF eingesetzt. Die abschließende Säulenchromatographie erfolgte an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: Methode I: 2.63 g (7.55 mmol, 59 %) eines farblosen Feststoffes; Methode II: 1.71 g (4.92 mmol, 64 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₄H₂₀O₁₀;



Molgewicht: 348.3 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.62; Methode I: Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 1:1$; Methode II: Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 4:1$; $[\alpha]_D^{20} = +54.5^\circ$ (c=1.0, CHCl₃);

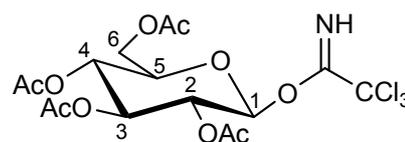
α -¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.94, 1.96, 2.00, 2.01 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.03-4.08 (m, 1H, H-6), 4.14-4.21 (m, 2H, H-5, H-6), 4.79 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.4 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, H-2), 5.00 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.7 Hz, ³J_{HH} = 9.7 Hz, H-4), 5.37 (d, 1H, ³J_{HH} = 3.7 Hz, H-1), 5.45 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.7 Hz, ³J_{HH} = 9.7 Hz, H-3).

α -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.5 (2 x CH₃-Acetyl), 20.6 (CH₃-Acetyl), 20.7 (CH₃-Acetyl), 62.0 (C-6), 66.9 (C-3), 68.6 (C-4), 70.0 (C-2), 71.2 (C-5), 89.9 (C-1), 169.8 (C=O), 170.3 (2 x C=O), 171.0 (C=O).

8.2.8.16. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyltrichloracetimidat 159

Unter Schutzgas wurden 2.00 g (5.74 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **158** in 15 mL abs. Dichlormethan gelöst. Anschließend wurden 1.66 mL (16.6 mmol) Trichloracetonitril und 1.30 g (9.41 mmol) Kaliumcarbonat zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde überschüssiges Kaliumcarbonat abfiltriert, das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Diethylether 1:1 v/v als Eluent. Der erhaltene Schaum wurde mit heissem Diethylether zur Kristallisation gebracht.

Ausbeute: 2.13 g (4.32 mmol, 75 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀; **Molgewicht:** 492.69 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Diethylether 1:1 v/v): 0.64; Anomerenverhältnis: β -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +8.0^\circ$ (c=1.0, CHCl₃);



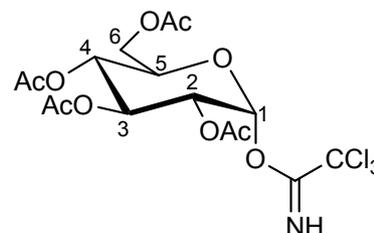
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 2.01, 2.02, 2.04, 2.08 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.94 (ddd, 1H, 1H, ³J_{HH} = 9.6 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, H-5), 4.16 (dd, 1H, ³J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, H-6), 4.31 (dd, 1H, ³J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz, H-6), 5.19-5.32 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 5.88 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, H-1), 8.71 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.6 (CH₃-Acetyl), 20.7 (2 x CH₃-Acetyl), 20.8 (CH₃-Acetyl), 61.7 (C-6), 68.1 (C-3), 70.4 (C-4), 72.8 (C-2), 72.9 (C-5), 95.7 (C-1), 161.1 (C=NH), 169.1, 169.5, 170.3, 170.8 (C=O).

8.2.8.17. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl-trichloracetimidat 160

Unter Schutzgas wurden 2.00 g (5.74 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **158** in 15 mL abs. Dichlormethan gelöst. Anschließend wurden 1.66 mL (16.6 mmol) Trichloracetonitril und 1.30 g (9.41 mmol) Kaliumcarbonat zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde überschüssiges Kaliumcarbonat abfiltriert, das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan/Diethylether 1:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: 2.27 g (4.61 mmol, 80 %) eines farblosen Schaums; **Summenformel:** C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀; **Molgewicht:** 492.69 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Diethylether 1:1 v/v): 0.82; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 101.2° (c=1.0, CHCl₃);



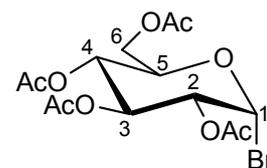
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.95, 1.96, 1.98, 2.01 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.06 (dd, 1H, 1H, ²J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, H-6), 4.13-4.17 (m, 1H, H-5), 4.21 (dd, 1H, ²J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, H-6), 5.05-5.14 (m, 2H, H-2, H-4), 5.50 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.9 Hz, ³J_{HH} = 9.9 Hz, H-3), 6.50 (d, 1H, ³J_{HH} = 3.8 Hz, H-1), 8.63 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.5, 20.7 (CH₃-Acetyl), 20.8 (2 x CH₃-Acetyl), 61.5 (C-6), 68.0 (C-3), 69.9 (C-4), 70.0 (C-2), 70.2 (C-5), 93.1 (C-1), 160.9 (C=NH), 169.6, 169.9, 170.1, 170.6 (C=O).

8.2.8.18. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-1-bromid 174

Zu einer Lösung aus 3.75 g (9.60 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucopyranose **157** in 15 mL abs. Dichlormethan wurden unter Rühren und Eiskühlung 8.44 mL Bromwasserstoffsäure (33 % in Eisessig) tropfenweise hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 5 h bei dieser Temperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch in 150 mL Eiswasser gegossen und dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend jeweils zweimal mit Wasser, gesättigter NaHCO_3 - sowie gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Diethylether unkristallisiert.

Ausbeute: 3.55 g (8.63 mmol, 90 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{BrO}_9$; **Molgewicht:** 411.2 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.40; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +192.1^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3)



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 2.04, 2.05, 2.10, 2.11 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.12-4.15 (m, 1H, H-6), 4.29-4.35 (m, 2H, H-5, H-6), 4.84 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.9$ Hz, H-2), 5.16 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.6$ Hz, H-4), 5.56 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.6$ Hz, H-3), 6.61 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.9$ Hz, H-1).

α - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.6 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 61.0 (C-6), 67.2 (C-4), 70.2 (C-2), 70.6 (C-5), 72.2 (C-3), 86.7 (C-1), 169.5 (C=O), 169.8 (2 x C=O), 170.5 (C=O).

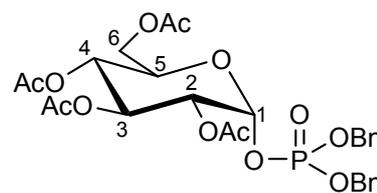
HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{BrO}_9$ [M+H]: 411.0291, gefunden: 411.0274.

8.2.8.19. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-1-phosphat 163

Es wurden 375 mg (1.08 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **158** (synthetisiert nach Methode II) in ca. 20 mL abs. Dichlormethan gelöst, anschließend

wurden 188 mg (2.69 mmol) 1*H*-Tetrazol zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde tropfenweise mit 420 μ L bis-(Benzyl)-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit versetzt und dann 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 555 mg (3.23 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure verwendet. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohgemisches konnte ein $\alpha:\beta$ -Verhältnis von 4:1 bestimmt werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung am Chromatotron mit Dichlormethan und Methanol (Gradiententrennung) konnten 63 % des α -Anomers und 16 % des β -Anomers isoliert werden.

Ausbeute: 414 mg (0.680 mmol, 63 %) eines farblosen Öls; **Summenformel:** $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}\text{P}$; **Molgewicht:** 608.53 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.31; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +63.0^\circ$ ($c = 0.16$, CHCl_3);



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.88, 1.98, 2.00, 2.01 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, H-6), 4.04 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.4$ Hz, H-5), 4.15 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, H-6), 4.95-4.99 (m, 1H, H-4), 5.05-5.12 (m, 5H, 2 x CH_2 -Benzyl, H-2), 5.47 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, H-3), 5.90 (dd, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 6.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-1), 7.31-7.37 (m, 10H, Aryl).

α - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 20.7 (CH_3 -Acetyl), 20.9 (CH_3 -Acetyl), 21.0 (2 x CH_3 -Acetyl), 61.6 (C-6), 68.1 (C-3), 67.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 2.9$ Hz, C-2), 70.1 (C-4), 70.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.7$ Hz, CH_2 -Benzyl), 70.3 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.5$ Hz, CH_2 -Benzyl), 70.2 (C-5), 94.3 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.3$ Hz, C-1), 128.4 (C-Aryl), 128.5 (C-Aryl), 128.9 (2 x C-Aryl), 129.2 (2 x C-Aryl), 169.8 (C=O), 170.2 (C=O), 170.4 (C=O), 170.9 (C=O).

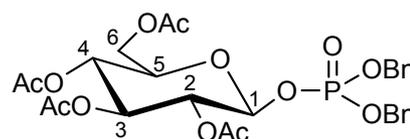
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -1.42.

8.2.8.20. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-1-phosphat 161

Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7 (II)**. Es wurden 1.70 g (4.13 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucose-1-bromid **174**, 2.07 g

(7.43 mmol) Dibenzylphosphat, 2.11 g (7.64 mmol) Silbercarbonat, 10.0 g 3 Å Molsieb sowie 25 mL abs. Dichlormethan und 25 mL abs. Acetonitril eingesetzt. Abweichend von **AAV 7 (II)** wurde das Reaktionsgemisch 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: 2.22 g (3.61 mmol, 87 %) eines farblosen Öls; **Summenformel:** C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.53 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.41; Anomerenverhältnis: β-anomerenrein; [α]_D²⁰ = -4.6° (c = 1.0, CHCl₃);



β-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.89, 2.00, 2.01, 2.03 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.81 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ³J_{HH} = 4.8 Hz, ³J_{HH} = 2.2 Hz, H-5), 4.11 (dd, 1H, ³J_{HH} = 2.2 Hz, ²J_{HH} = 12.5 Hz, H-6), 4.24 (dd, 1H, ³J_{HH} = 4.8 Hz, ²J_{HH} = 12.5 Hz, H-6), 5.01-5.15 (m, 6H, CH₂-Benzyl, H-2, H-4), 5.22 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.4 Hz, ³J_{HH} = 9.4 Hz, H-3), 5.35 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H-1), 7.29-7.36 (m, 10H, Aryl).

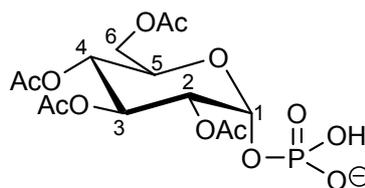
β-¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.5 (2 x CH₃-Acetyl), 20.7 (2 x CH₃-Acetyl), 61.7 (C-6), 69.8 (d, ²J_{CP} = 5.9 Hz, CH₂-Benzyl), 69.9 (d, ²J_{CP} = 5.2 Hz, CH₂-Benzyl), 71.4 (d, ³J_{CP} = 8.8 Hz, C-2), 72.5 (C-3, C-4), 72.8 (C-5), 96.4 (d, ²J_{CP} = 4.4 Hz, C-1), 127.9 (C-Aryl), 128.1 (C-Aryl), 128.7 (C-Aryl), 128.8 (2 x C-Aryl), 135.3 (C-Aryl), 169.4 (C=O), 169.5 (C=O), 170.1 (C=O), 170.6 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -3.22.

8.2.8.21. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosyl-1-phosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes 190

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 120 mg (0.197 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosylphosphat **163**, 55 μL (39.9 mg, 0.394 mmol) Triethylamin und 20 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 3 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 2 Stunden.

Ausbeute: 96 mg (0.181 mmol, 92 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:2 v/v): 0.15; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 90.4° (c = 1.0, MeOH);



α-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.23 (t, 9H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₃-NEt₃), 2.03, 2.05, 2.07, 2.08 (je s, je 3H, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.15 (q, 6H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₂-NEt₃), 4.13-4.16 (m, 1H, H-6), 4.32-4.40 (m, 2H, H-5, H-6), 5.23 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, ⁴J_{HP} = 2.1 Hz, H-2), 5.10 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ³J_{HH} = 9.8 Hz, H-4), 5.44 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 9.8 Hz, H-3), 5.63 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.8 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, H-1).

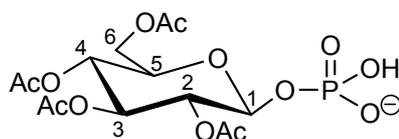
α-¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.6 (CH₃-NEt₃), 20.4 (CH₃-Acetyl), 20.5 (CH₃-Acetyl), 20.6 (2 x CH₃-Acetyl), 47.0 (CH₂-NEt₃), 62.1 (C-6), 68.2 (C-4), 68.4 (C-5), 70.8, 70.9 (C-2, C-3), 91.7 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C-1), 173.1 (C=O), 173.2 (C=O), 173.7 (C=O), 174.1 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): 0.05.

8.2.8.22. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-1-phosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes **162**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 2.10 (3.45 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosylphosphat **161**, 950 μL (698 mg, 6.90 mmol) Triethylamin und 400 mg Pd/C (in 2 Portionen) eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 35 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 2 Tage. Zur Abtrennung des Palladiums wurde über Celite filtriert und zusätzlich zentrifugiert.

Ausbeute: 1.79 g (3.38 mmol, 98 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 7:2 v/v): 0.48; Anomerenverhältnis: β-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 6.4° (c = 1.0, MeOH);



β - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 1.28 (t, 9H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 1.96, 1.99, 2.03, 2.05 (je s, je 3H, $\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 3.03 (q, 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 3.87 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-5), 4.16 (dd, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-6), 4.25 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 12.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, H-6), 4.98 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, H-2), 5.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, H-4), 5.22-5.27 (m, 2H, H-3, H-1).

β - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 8.6 ($\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 20.7 (2 x $\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 20.9 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 21.0 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 45.6 ($\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 62.0 (C-6), 68.5 (C-4), 71.8 (C-5), 72.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.7$ Hz, C-2), 73.1 (C-3), 95.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.1$ Hz, C-1), 169.8 (C=O), 170.2 (C=O), 170.3 (C=O), 170.9 (C=O).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, D_2O): -2.39.

8.2.8.23. Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannopyranose 170

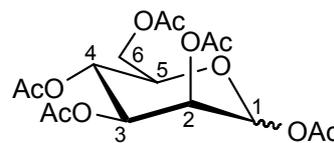
Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**. Es wurden 1.00 g (5.55 mmol) D-Mannose, 8.30 mL (9.04 g, 88.0 mmol) Essigsäureanhydrid und 12.0 mL Pyridin eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether/Ethylacetat 10:1 v/v) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 1.65 g (4.23 mmol, 76 %) eines farblosen Öls;

Summenformel: $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; **Molekulargewicht:** 390.34 g/mol;

DC: R_f (Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v): 0.49,

(Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.40; Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 3:1$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32.0^\circ$ (c=1.0, CHCl_3)



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 2.01, 2.06, 2.10, 2.17, 2.18 (je s, je 3H, $\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 4.04-4.06 (m, 1H, H-5), 4.11-4.13 (m, 1H, H-6), 4.26-4.31 (m, 1H, H-6), 5.26-5.27 (m, 1H, H-2), 5.34-5.36 (m, 2H, H-3, H-4), 6.10 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H-1).

α -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.9 (CH₃-Acetyl), 21.0 (CH₃-Acetyl), 21.1 (2 x CH₃-Acetyl), 21.2 (CH₃-Acetyl), 62.5 (C-6), 65.9 (C-4), 68.9 (C-2), 71.0 (C-3), 77.4 (C-5), 90.9 (C-1), 168.6 (2 x C=O), 169.0 (C=O), 169.2 (C=O), 170.0 (C=O).

8.2.8.24. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **185**

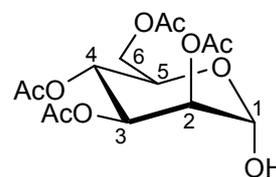
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 2.00 g (5.12 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannopyranose **170**, 566 mg (6.15 mmol) Hydrazinacetat und 7 mL abs. DMF eingesetzt. Die abschließende Säulenchromatographie erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: 1.28 g (3.67 mmol, 72 %) eines farblosen Öls;

Summenformel: C₁₄H₂₀O₁₀; **Molgewicht:** 348.3 g/mol; **DC:**

R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.43; Anomeren-

verhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +18.3^\circ$ (c=1.0, CHCl₃)



α -¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.98, 2.03, 2.09, 2.14 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.88-4.13 (m, 1H, H-6), 4.21-4.26 (m, 2H, H-5, H-6), 5.22- 5.31 (m, 3H, H-1, H-2, H-4), 5.40 (dd, 1H, ³J_{HH} = 9.9 Hz, ³J_{HH} = 3.1 Hz, H-3).

α -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.7 (2 x CH₃-Acetyl), 20.8 (CH₃-Acetyl), 20.9 (CH₃-Acetyl), 61.9 (C-6), 66.2 (C-5), 67.3 (C-4), 68.3 (C-2), 68.5 (C-3), 90.7 (C-1), 170.3 (C=O), 170.4 (C=O), 170.6 (C=O), 170.8 (C=O).

8.2.8.25. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-1-bromid

172

Es wurden 5.00 g (12.8 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannopyranose **170** in fein pulverisierter Form unter starkem Rühren und Eiskühlung mit 11.25 mL Bromwasserstoffsäure (33 % in Eisessig) versetzt. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch in 20 mL Dichlormethan aufgenommen und unter Rühren in 200 mL Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde schnell abgetrennt, die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten

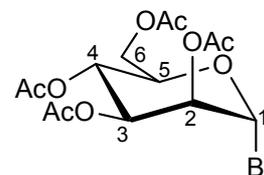
organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das Dichlormethan wurde zunächst am Rotationsverdampfer, anschließend an der Ölpumpe abdestilliert.

Ausbeute: 3.47 g (8.44 mmol, 66 %) eines gelblichen Öls;

Summenformel: C₁₄H₁₉BrO₉; **Molgewicht:** 411.2 g/mol; **DC:**

R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.38; Anomerenverhältnis:

α-anomerenrein; [α]_D²⁰ = + 104.6° (c=1.0, CHCl₃)



α-¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 2.00, 2.07, 2.10, 2.17 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.12 (dd, 1H, ³J_{HH} = 2.3 Hz, ²J_{HH} = 12.4 Hz, H-6), 4.15-4.24 (m, 1H, H-5), 4.32 (dd, 1H, ³J_{HH} = 4.8 Hz, ²J_{HH} = 12.4 Hz, H-6), 5.36 (t, 1H, ³J_{HH} = 10.2 Hz, H-4), 5.44 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.6 Hz, ³J_{HH} = 1.3 Hz, H-2), 5.73 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.6 Hz, ³J_{HH} = 10.2 Hz, H-3), 6.29 (d, 1H, ³J_{HH} = 1.3 Hz, H-1).

α-¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 20.9 (2 x CH₃-Acetyl), 21.0 (2 x CH₃-Acetyl), 61.9 (C-6), 65.8 (C-4), 68.3 (C-2), 73.2 (C-3), 77.4 (C-5), 83.5 (C-1), 169.9 (2 x C=O), 170.1 (C=O), 170.9 (C=O).

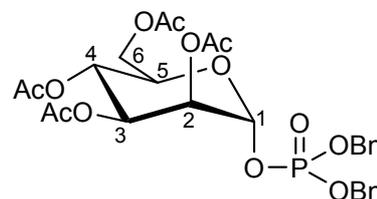
8.2.8.26. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl-1-phosphat **177**

Methodel: Die Reaktionsdurchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7(I)**. Es wurden 1.90 g (5.45 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **185**, 26.2 mL Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril, 6.54 mmol), 2.70 mL (2.83 g, 8.18 mmol) bis-(Benzyl)-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit und 10 mL abs. Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 1.41 g (8.18 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure verwendet. Dem ¹H-NMR-Spektrum des Rohgemisches zufolge war das Produkt als α-anomerenrein. Die abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v als Eluent.

Methodel II: Die Synthese erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7 (II)**. Es wurden 3.18 g (7.75 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-1-bromid **172**, 3.85 g (13.9 mmol) Dibenzylphosphat, 3.92 g (14.3 mmol) Silbercarbonat, 15.0 g 3 Å Molsieb sowie 45 mL abs. Dichlormethan und 45 mL abs.

Acetonitril eingesetzt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: Methode I: 2.55 g (4.19 mmol, 77 %) eines farblosen Öls; Methode II: 3.26 g (5.36 mmol, 69 %) eines farblosen Öls; **Summenformel:** $C_{28}H_{33}O_{13}P$; **Molgewicht:** 608.53 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.35; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +40.2^\circ$ (c=1.0, $CHCl_3$)



α - 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 1.99, 2.03, 2.04, 2.15 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 2.5$ Hz, $^2J_{HH} = 12.6$ Hz, H-6), 4.00-4.06 (m, 1H, H-5), 4.24-4.25 (m, 1H, H-6), 5.07-5.10 (m, 4H, 2 x CH_2 -Benzyl), 5.28-5.29 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 5.60 (dd, 1H, $^3J_{HP} = 6.5$ Hz, $^3J_{HH} = 1.8$ Hz, H-1), 7.34-7.37 (m, 10H, Aryl).

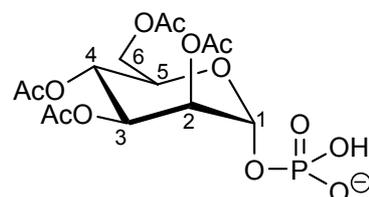
α - ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 20.6 (CH_3 -Acetyl), 20.7 (2 x CH_3 -Acetyl), 20.8 (CH_3 -Acetyl), 61.8 (C-6), 65.3 (C-4), 68.3 (C-3), 68.8 (d, $^3J_{CP} = 11.7$ Hz, C-2), 69.9 (d, $^2J_{CP} = 5.6$ Hz, CH_2 -Benzyl), 70.1 (d, $^2J_{CP} = 5.1$ Hz, CH_2 -Benzyl), 70.3 (C-5), 94.7 (d, $^2J_{CP} = 5.1$ Hz, C-1), 128.1 (2 x C-Aryl), 128.3 (C-Aryl), 128.8 (C-Aryl), 128.9 (2 x C-Aryl), 169.6 (2 x C=O), 169.7 (C=O), 170.5 (C=O).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -3.10.

8.2.8.27. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-1-phosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes 180

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 1.00 g (1.64 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-1-phosphat **177**, 455 μ L (332 mg, 3.28 mmol) Triethylamin, 10 mL Dioxan und 160 mg Pd/C eingesetzt.

Ausbeute: 852 mg (1.61 mmol, 98 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{20}H_{36}NO_{13}P$; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 7:2 v/v): 0.45; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +$



25.0° (c= 1.0, MeOH);

α -¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.36 (t, 9H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₃-NEt₃), 1.95, 2.02, 2.08, 2.13 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 3.10 (q, 6H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₂-NEt₃), 3.64-3.68 (m, 1H, H-6), 3.80-4.37 (m, 4H, H-5, H-6, H-2, H-4), 5.54 (d, 1H, ³J_{HP} = 6.3 Hz, H-1).

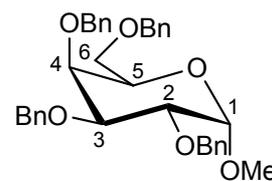
α -¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.9 (CH₃-NEt₃), 21.0 (CH₃-Acetyl), 21.1 (CH₃-Acetyl), 21.2 (CH₃-Acetyl), 21.3 (CH₃-Acetyl), 46.1 (CH₂-NEt₃), 62.6 (C-6), 66.4 (C-5), 69.3 (C-4), 69.7 (C-3), 77.4 (d, ³J_{CP} = 9.2 Hz, C-2), 94.1 (d, ³J_{CP} = 5.5 Hz, C-1), 171.7 (C=O), 171.8 (C=O), 171.9 (2 x C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.37;

8.2.8.28. Synthese von 1-O-Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-galactose 143

Unter Schutzgas wurden 3.00 g (15.5 mmol) 1-O-Methyl- α -D-galactose in 50 mL abs. Dimethylformamid gelöst, unter Rühren und Eiskühlung wurden 2.30 g (95.8 mmol) Natriumhydrid zugegeben. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt. Anschließend wurden 9.50 mL (13.7 g, 80.3 mmol) Benzylbromid zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurden 10 mL MeOH unter Rühren und Eiskühlung tropfenweise zugegeben. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde in 50 mL Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 4:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 6.77 g (12.2 mmol, 79 %) eines leicht gelblichen Sirups; **Summenformel:** C₃₅H₃₈O₆; **Molgewicht:** 554.67 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 4:1 v/v): 0.28; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +80.1^\circ$ (c=1.0, CHCl₃);



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 3.49 (s, 1H, OCH_3), 3.64 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 6.4$ Hz, H-6), 4.00-4.06 (m, 3H, H-5, H-4, H-2), 4.15-4.25 (m, 1H, H-3), 4.94-4.61 (m, 2 H, Benzyl- CH_2), 4.69 (d, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, Benzyl- CH_2), 4.79-4.86 (m, 3H, Benzyl- CH_2 , H-1), 4.93-4.98 (m, 2H, Benzyl- CH_2), 5.07 (d, 1H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, Benzyl- CH_2), 7.39-7.50 (m, 20 H, Aryl-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 55.4 (OCH_3), 69.1 (C-6), 69.3 (C-5), 73.3, 73.5, 73.6, 74.8 (4 x Benzyl CH_2), 75.2 (C-4), 76.5 (C-3), 79.2 (C-2), 98.9 (C-1), 127.5, 127.6, 127.7, 127.8, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 (Aryl-CH), 138.1, 138.5, 138.7, 138.9 (Aryl- C_q).

8.2.8.29. Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-galactose 144

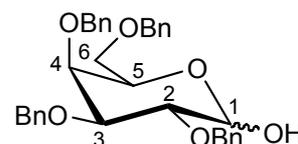
1-O-Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-galactose **143** (1.20 g, 2.16 mmol) wurde in 21.0 mL konzentrierter Essigsäure gelöst und mit 4.32 mL (2 M) Trifluormethansulfonsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 80°C erwärmt und 3 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle) wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan verdünnt und je dreimal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat 10:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 767 mg (1.42 mmol, 66 %) eines farblosen Sirups;

Summenformel: $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_6$; **Molgewicht:** 540.65 g/mol; **DC:**

R_f (Dichlormethan/Ethylacetat 10:1 v/v): 0.26; Anomeren-

verhältnis: $\alpha:\beta = 1:1$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29.7^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3);



α - $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 3.47-3.63 (m, 3H, H-5, H-6), 4.39-4.46 (m, 3H, Benzyl- CH_2 , H-4, H-2), 4.57-4.62 (m, 1H, H-3), 4.65-4.85 (m, 6 H, Benzyl- CH_2), 4.91-4.96 (m, 2H, Benzyl- CH_2 , H-1 β), 5.28 (d, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-1 α), 7.25-7.37 (m, 20 H, Aryl-H).

α - $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 69.0 (Benzyl- CH_2), 69.3 (C-6), 69.7 (C-5), 73.0, 73.7, 74.7 (3 x Benzyl CH_2), 74.8 (C-4), 76.7 (C-3), 78.9 (C-2), 92.1 (C-1),

127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 (Aryl-CH), 138.0, 138.5, 138.8, 138.9 (Aryl-C_q).

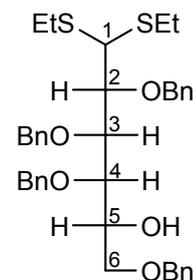
8.2.8.30. Synthese von bis-(Thioethyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-galaktopyranosyl-1-acetal **145**

Es wurden 500 mg (0.925 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-galactose **144** in 7.00 mL Ethanthiol gelöst und unter Rühren mit 1.00 mL Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde vorsichtig mit Natriumhydrogencarbonat versetzt, mit 20 mL Wasser verdünnt und fünfmal mit je 15 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 4:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 278 mg (0.430 mmol, 46 %) eines hellgelben Öls;

Summenformel: C₃₈H₄₆O₅S₂; **Molgewicht:** 646.90 g/mol; **DC:**

R_f (Petrolether/Ethylacetat 4:1 v/v): 0.47;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.10-1.16 (m, 6H, 2 x Thioethyl-CH₃), 2.56 (q, 2H, ³J_{HH} = 4.0 Hz, Thioethyl-CH₂), 2.58-2.65 (m, 2H, Thioethyl-CH₂), 3.54-3.64 (m, 2H, H-5, H-6), 3.76 (dd, 1H, ²J_{HH} = 6.8 Hz, ³J_{HH} = 2.2 Hz, H-6), 3.95-4.04 (m, 2H, H-3, H-4), 4.23-4.26 (m, 1H, H-2), 4.43-4.78 (m, 8H, 4 x Benzyl-CH₂), 4.93 (d, 1H, ³J_{HH} = 6.5 Hz, H-1), 7.27-7.33 (m, 20H, Aryl-H).

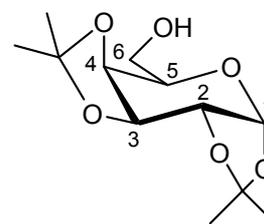
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 14.5 (2 x Thioethyl-CH₃), 24.5, 24.8 (Thioethyl-CH₂), 53.2 (C-1), 69.0 (C-5), 71.3 (C-6), 72.2, 72.7, 73.2, 73.8 (Benzyl-CH₂), 78.5 (C-3), 79.2 (C-4), 81.3 (C-2), 127.3, 127.4, 127.5, 127.7, 128.1, 128.2 (Aryl-CH), 138.3, 138.5, 138.6, 138.8 (Aryl-C_q).

8.2.8.31. Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galactose **138**

Zu einer Suspension aus 5.00 g (27.8 mmol) D-Galactose in 100 mL Aceton wurden 3.50 mL konz. Schwefelsäure gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde solange bei Raumtemperatur gerührt bis eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde mit wässriger Ammoniak-Lösung (25 %) neutralisiert, das Lösungsmittel wurde am

Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:5 v/v gereinigt.

Ausbeute: 5.39 g (20.7 mmol, 75 %) eines farblosen Öls;
Summenformel: C₁₂H₂₀O₆; **Molgewicht:** 260.28 g/mol; **DC:**
R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:5 v/v): 0.58; Anomerenverhältnis:
 α-anomerenrein;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.27 (s, 6 H, 2 x Isopropyliden-CH₃), 1.33, 1.44 (je s, je 3H, Isopropyliden-CH₃), 3.39-3.51 (m, 2H, H-5, H-6), 3.68 (ddd, 1H, ²J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, H-6), 4.22 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, H-4), 4.30 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.1 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, H-2), 4.56 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, H-3), 4.68 (m, 1H, OH), 5.43 (d, 1H, ³J_{HH} = 5.1 Hz, H-1).

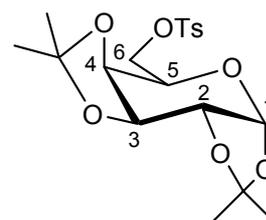
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 25.2, 25.7, 26.7, 26.8 (Isopropyliden-CH₃), 60.1 (C-6), 65.5 (C-5), 68.5 (C-2), 68.6 (C-3), 70.4 (C-4), 95.8 (C-1), 108.0, 108.4 (Isopropyliden-C_q).

HRMS (FAB): berechnet für C₁₂H₂₀O₆ [M+H]: 261.1338, gefunden: 261.1335.

8.2.8.32. Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-tosyl-α-D-galactose **139**

Es wurden 500 mg (1.92 mmol) 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galactose **138** in 7 mL abs. Pyridin gelöst, nach Zugabe von 550 mg (2.88 mmol) *para*-Toluolsulfonylchlorid wurde das Reaktionsgemisch unter Rühren auf 60°C erwärmt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wurde das Reaktionsgemisch in 200 mL Eiswasser gegossen. Der Niederschlag wurde abfiltriert, das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 551 mg (1.33 mmol, 69 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₉H₂₆O₈S; **Molgewicht:** 414.47 g/mol; **DC:** *R_f* (Petrolether/Ethylacetat 1:2 v/v): 0.41; Anomerenverhältnis: α-anomerenrein;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.23, 1.26, 1.27, 1.38, (je s, je 3H, Isopropyliden- CH_3), 2.42 (s, 3H, Tosyl- CH_3), 3.85-3.96 (m, 2H, H-6), 4.15 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H-5), 4.20 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-4), 4.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, H-2), 4.58 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-3), 5.42 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, H-1), 7.49 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, Aryl-H), 7.80 (d, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, Aryl-H).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 21.5 (Tosyl- CH_3), 24.5, 25.1, 26.0, 26.1 (Isopropyliden- CH_3), 66.0 (C-5), 69.5 (C-6), 69.8 (C-2), 70.2 (C-3), 70.3 (C-4), 95.8 (C-1), 108.4, 109.0 (Isopropyliden- C_q), 128.0, 130.6 (je 2 x Aryl-CH), 132.4, 145.4 (Aryl- C_q).

HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{S}$ [M+H]: 415.1427, gefunden: 415.1420.

8.2.8.33. Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-desoxy- α -D-galactose 140

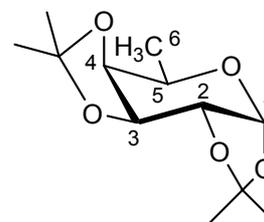
Es wurden 300 mg (0.720 mmol) 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-tosyl- α -D-galactose **139** in 5 mL abs. Dimethylsulfoxid gelöst. Zu dieser Lösung wurden in 2 Portionen 218 mg (5.76 mmol) Natriumborhydrid gegeben, die Suspension wurde 8 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle) wurde die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und langsam in 20 mL kaltes Wasser gegossen. Die wässrige Phase wurde fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 127 mg (0.520 mmol, 72 %) eines farblosen Öls;

Summenformel: $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_5$; **Molgewicht:** 244.28 g/mol; **DC:**

R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:2 v/v): 0.33; Anomerenverhältnis:

α -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = -52.2^\circ$ (c=1.0, CHCl_3);



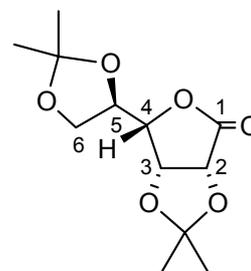
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.05 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, CH_3), 1.22, 1.24, 1.30, 1.38 (je s, je 3H, Isopropyliden- CH_3), 3.73-3.79 (m, 1H, H-5), 4.01 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H-4), 4.24 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-2), 4.50 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, H-3), 5.36 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H-1).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 16.2 (C-6), 25.1, 25.8, 26.2, 28.0 (Isopropyliden- CH_3), 63.0 (C-5), 68.5 (C-3), 68.6 (C-2), 70.4 (C-4), 96.2 (C-1), 108.2, 108.6 (Isopropyliden- C_q).

8.2.8.34. Synthese von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton 203

Zu einer Suspension aus 4.00 g (22.5 mmol) D-Gulono- γ -lacton in 150 mL abs. Aceton wurden 0.2 mL konz. Schwefelsäure und 9.00 g wasserfreies Natriumsulfat gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 d unter Rückfluss erhitzt. Zum Abbruch der Reaktion wurde diese auf Raumtemperatur abgekühlt und mit konz. Ammoniaklösung neutralisiert. Das entstandene Ammoniumsulfat sowie das Natriumsulfat wurden abfiltriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in 40 mL Chloroform aufgenommen, das unlösliche Monoacetonid 2,3-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton wurde abfiltriert. Die Lösung wurde auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingeeengt, dabei ausfallendes Monoacetonid wurde erneut abfiltriert. Anschließend wurde fast bis zur Trockne eingeeengt und das Produkt wurde durch tropfenweise Zugabe von Petrolether ausgefällt. Nach Filtration wurde das Produkt in 2 Fraktionen in reiner Form erhalten. Das als Nebenprodukt entstandene Monoacetonid wurde erneut umgesetzt.

Ausbeute: 3.85 g (14.9 mmol, 66 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_6$; **Molgewicht:** 258.27 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 5:1 v/v): 0.80; $[\alpha]_D^{20} = -63.2^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3);



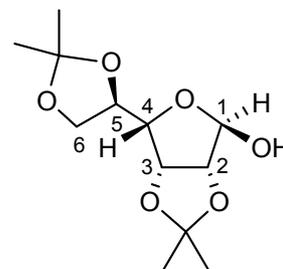
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.38, 1.40, 1.47, 1.48 (je s, je 3H, Isopropyliden- CH_3), 3.82 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, H-6), 4.22 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, H-6), 4.40-4.48 (m, 2H, H-2, H-5), 4.74 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H-4), 4.83 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 25.3, 26.0, 26.8, 26.9 (4 x Isopropyliden- CH_3), 65.3 (C-6), 75.4 (C-5), 75.9 (C-4), 76.2 (C-3), 81.0 (C-2), 110.6, 114.8 (2 x Isopropyliden- C_q), 173.1 (C-1).

8.2.8.35. Synthese von 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lactol **204**

Eine Lösung aus 2.30 g (8.91 mmol) 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lacton **203** in 25 mL abs. Toluol wurde auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und tropfenweise mit 12.0 mL (17.8 mmol, 1.5 M in Toluol) DIBAL-H versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde noch 1.5 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, danach wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Zum Abbruch der Reaktion wurde diese unter Eiskühlung mit 20 mL Methanol versetzt, anschließend wurde mit 1N Salzsäure neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand wurde in Ethylacetat und Wasser (je 30 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Ethylacetat/Petrolether 10:1 v/v + 0.1 % NEt_3) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 1.21 g (4.65 mmol, 52 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$; **Molgewicht:** 260.28 g/mol; **DC:** R_f (Ethylacetat/Petrolether 10:1 v/v): 0.47;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 1.21, 1.27, 1.32, 1.34

(je s, je 3H, Isopropyliden- CH_3), 3.73 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4\text{ Hz}$, $^2J_{\text{HH}} = 8.3\text{ Hz}$, H-6), 3.93 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 3.8\text{ Hz}$, H-4), 4.03 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6\text{ Hz}$, $^2J_{\text{HH}} = 8.3\text{ Hz}$, H-6), 4.10-4.15 (m, 1H, H-5), 4.44 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8\text{ Hz}$, H-2), 4.74 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 3.8\text{ Hz}$, H-3), 5.18 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 4.8\text{ Hz}$, H-1), 6.42 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.8\text{ Hz}$, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 24.9, 25.8, 26.2, 26.9 (4 x Isopropyliden- CH_3), 65.7 (C-6), 75.7 (C-5), 80.0 (C-3), 81.5 (C-4), 85.7 (C-2), 100.6 (C-1), 109.0, 111.9 (2 x Isopropyliden- C_q).

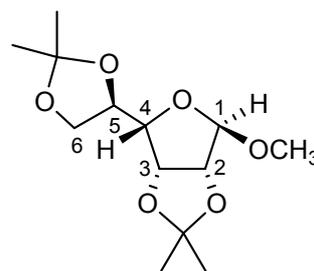
HRMS (FAB): berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_6$ [$\text{M}+\text{H}$]: 261.1338, gefunden: 261.1345.

8.2.8.36. Synthese von 1-O-Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lactol **205**

Es wurden 1.80 g (6.92 mmol) 2,3:5,6-Di-O-isopropyliden-D-gulono- γ -lactol **204** in 20 mL abs. THF gelöst und mit 700 mg (12.5 mmol) Kaliumhydroxid und 74.0 mg

(0.280 mmol) 18-Krone-6 versetzt. Anschließend wurden 0.480 mL (1.08 g, 7.61 mmol) Methyljodid hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Petrolether Ethylacetat 7:3 v/v). Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktion mit Dichlormethan versetzt und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether Ethylacetat 7:3 v/v) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 1.54 g (5.61 mmol, 81 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₃H₂₂O₆; **Molgewicht:** 274.31 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 7:3 v/v): 0.78; [α]_D²⁰ = + 68.5° (c=1.0, CHCl₃);



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.22, 1.28, 1.33, 1.35 (je s, je 3H, Isopropyliden-CH₃), 3.23 (s, 1H, OCH₃), 3.73 (dd, 1H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, ²J_{HH} = 8.4 Hz, H-6), 3.77 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, H-4), 4.02 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ²J_{HH} = 8.4 Hz, H-6), 4.12-4.18 (m, 1H, H-5), 4.51 (d, 1H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, H-2), 4.75 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, H-3), 4.88 (s, 1H, H-1).

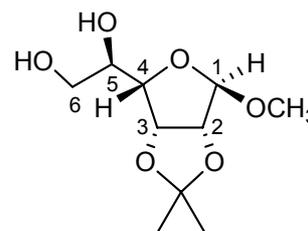
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 24.5, 25.5, 25.8, 26.6 (4 x Isopropyliden-CH₃), 54.0 (OCH₃), 65.2 (C-6), 75.2 (C-5), 79.3 (C-3), 81.5 (C-4), 85.2 (C-2), 106.5 (C-1), 108.7, 111.8 (2 x Isopropyliden-C_q).

HRMS (FAB): berechnet für C₁₃H₂₃O₆ [M+H]: 275.1495, gefunden: 275.1495.

8.2.8.37. Synthese von 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-D-gulono-γ-lactol **206**

Es wurden 100 mg (0.360 mmol) 1-O-Methyl-2,3:5,6-di-O-isopropyliden-D-gulono-γ-lactol **205** in einem Gemisch aus 2.0 mL konz. Essigsäure und 0.5 mL Wasser gelöst. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 77.5 mg (0.331 mmol, 92 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₀H₁₈O₆; **Molgewicht:** 234.25 g/mol; **DC:** *R*_f (Ethylacetat v/v): 0.28; [α]_D²⁰ = - 89.3° (c=1.0, MeOH);



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.23, 1.34 (je s, je 3H, Isopropyliden-CH₃), 3.22 (s, 1H, OCH₃), 3.43 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ²J_{HH} = 11.3 Hz, H-6), 3.51 (dd, 1H, ³J_{HH} = 2.6 Hz, ²J_{HH} = 11.3 Hz, H-6), 3.67-3.68 (m, 1H, H-5), 3.75 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H-4), 4.49 (d, 1H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, H-2), 4.75 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H-3), 4.81 (s, 1H, H-1).

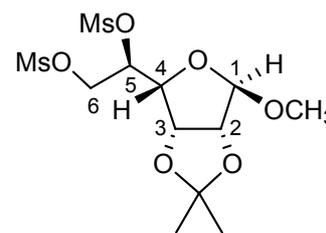
¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 25.0, 26.4 (2 x Isopropyliden-CH₃), 54.1 (OCH₃), 63.1 (C-6), 70.8 (C-5), 79.5 (C-3), 81.0 (C-4), 85.0 (C-2), 106.3 (C-1), 111.7 (Isopropyliden-C_q).

HRMS (FAB): berechnet für C₁₀H₁₈O₆ [M+H]: 235.1182, gefunden: 235.1181.

8.2.8.38. Synthese von 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-5,6-di-O-methyl-sulfonyl-D-gulonolactol **207**

Zu einer Lösung aus 800 mg (3.42 mmol) 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-D-gulonolactol **206** in 15 mL abs. Pyridin wurden unter Eiskühlung tropfenweise 1.60 mL (2.29 g, 20 mmol) zuvor destilliertes Methansulfonylchlorid gegeben. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 2 h bei dieser Temperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch in Eiswasser gegossen und 30 min gerührt. Die auf Raumtemperatur erwärmte wässrige Phase wurde dreimal mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und dann einmal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es wurde mehrmals mit Toluol codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr vorhanden war. Abschließend wurde zweimal mit Dichlormethan coevaporiert.

Ausbeute: 1.56 g eines noch verunreinigten gelblichen Öls;
Summenformel: C₁₂H₂₂O₁₀S₂; **Molgewicht:** 390.43 g/mol;
DC: R_f (Ethylacetat v/v): 0.54; [α]_D²⁰ = + 0.11° (c=1.0, CHCl₃);



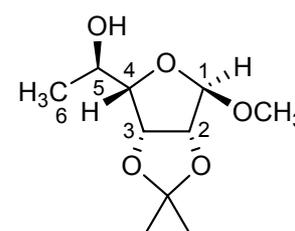
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.29, 1.45 (je s, je 3H, Isopropyliden-CH₃), 3.10, 3.14 (je s, je 3H, Mesyl-CH₃), 3.31 (s, 1H, OCH₃), 4.22 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, H-4), 4.54-4.64 (m, 3H, H-2, H-6), 4.77 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, H-3), 4.93 (s, 1H, H-1), 4.99 (ddd, 1H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, H-5).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d₆): 24.6, 26.1 (2 x Isopropyliden-CH₃), 37.7 (Mesyl-CH₃), 38.6 (Mesyl-CH₃), 54.9 (OCH₃), 68.8 (C-6), 77.8 (C-5), 78.8 (C-3), 79.3 (C-4), 85.2 (C-2), 107.2 (C-1), 113.4 (Isopropyliden-C_q).

8.2.8.39. Synthese von 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-6-deoxy-D-gulonolactol 208

Es wurden 1.20 g (3.07 mmol) des rohen 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-5,6-di-O-methylsulfonyl-D-gulonolactols **207** in einem Gemisch aus 15 mL Benzol und 30 mL Diethylether gelöst. Zu dieser Lösung wurden 817 mg (21.5 mmol) Lithiumaluminiumhydrid gegeben, die Suspension wurde 7 d unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch (Ethylacetat/Petrolether 1:1 v/v) verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde die Reaktion auf 0°C abgekühlt und vorsichtig mit 2 mL Wasser und 3 mL 1N Natriumhydroxidlösung versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt wurde aus Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 488 mg (2.24 mmol, 73 %) eines gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₀H₁₈O₅; **Molgewicht:** 218.25 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.21; [α]_D²⁰ = - 90.1° (c=1.0, CHCl₃);



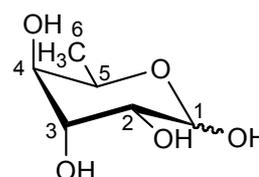
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.09 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, CH_3), 1.23, 1.34 (je s, je 3H, Isopropyliden- CH_3), 3.22 (s, 1H, OCH_3), 3.54 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-4), 3.75-3.81 (m, 1H, H-5), 4.48 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, H-2), 4.65 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 5.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-3), 4.81 (s, 1H, H-1).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 19.8 (C-6), 25.0, 26.4 (4 x Isopropyliden- CH_3), 54.1 (OCH_3), 65.3 (C-5), 79.8 (C-3), 84.9 (C-2), 85.1 (C-4), 106.5 (C-1), 111.7 (Isopropyliden- C_q).

8.2.8.40. Synthese von 6-deoxy-D-gulose 209

Es wurden 1.00 g (4.58 mmol) 1-O-Methyl-2,3-O-isopropyliden-6-deoxy-D-gulonolactol **208** in 12 mL Acetonitril und 12 mL Wasser gelöst und mit sechs Tropfen rauchender Salzsäure versetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit einem Heißluftfön solange zum Sieden erhitzt, bis die Isopropyliden-Gruppe abgespalten war (dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung Petrolether Ethylacetat 2:1 v/v). Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Nach Gefriertrocknung wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 632 mg (3.85 mmol, 84 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_5$; **Molgewicht:** 164.16 g/mol; **DC:** R_f (Dichlormethan/Methanol 1:1 v/v): 0.12; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +66.5^\circ$ ($c=1.0$, MeOH);



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 1.24 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, CH_3), 3.60 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-2), 3.66 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 0.9$ Hz, H-4), 4.11 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, H-3), 4.13-4.14 (m, 1H, H-5), 4.88 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, H-1).

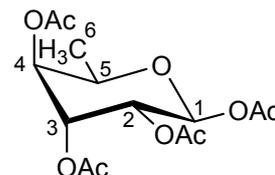
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 15.6 (C-6), 65.3 (C-5), 67.0 (C-2), 71.9 (C-3), 72.3 (C-4), 94.0 (C-1).

8.2.8.41. Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose 210

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5**.

Es wurden 600 mg (3.65 mmol) 6-deoxy-D-gulose **209**, gelöst in 8 mL Pyridin und 4.1 mL (4.47 g, 43.9 mmol) Essigsäureanhydrid, eingesetzt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether Ethylacetat 2:1 v/v)

Ausbeute: 965 mg (2.90 mmol, 80 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₄H₂₀O₉; **Molgewicht:** 332.3 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 2:1 v/v): 0.40;



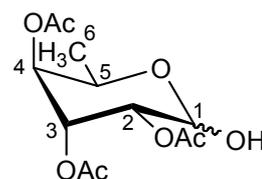
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.20 (d, 1H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, CH₃), 2.00, 2.12, 2.14, 2.18 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.27 (dq, 1H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, ³J_{HH} = 1.4 Hz, H-5), 4.87 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.5 Hz, ³J_{HH} = 1.4 Hz, H-4), 5.10 (dd, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, H-2), 5.40 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.5 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, H-3), 5.99 (d, 1H, ³J_{HH} = 8.8 Hz, H-1).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 16.1 (C-6), 21.0 (CH₃-Acetyl), 21.1 (2 x CH₃-Acetyl), 21.3 (CH₃-Acetyl), 67.8 (C-2), 68.4 (C-3), 70.1 (C-5), 70.5 (C-4), 90.4 (C-1), 169.4 (C=O), 169.8 (2 x C=O), 170.1 (C=O).

8.2.8.42. Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose 211

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 930 mg (2.80 mmol) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose **210**, 313 mg (3.40 mmol) Hydrazinacetat und 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die abschließende Säulenchromatographie erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v als Eluent.

Ausbeute: 436 mg (1.50 mmol, 54 %) eines; **Summenformel:** C₁₂H₁₈O₈; **Molgewicht:** 290.27 g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.28; Anomerenverhältnis: α/β ≈ 1:4



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.20 (d, 1H, ³J_{HH} = 6.5 Hz, CH₃), 2.07, 2.14, 2.18 (je s, je 3H, CH₃-Acetyl), 4.15 (dq, 1H, ³J_{HH} = 6.5 Hz, ³J_{HH} = 1.3 Hz, H-5), 4.85

(dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H-4), 4.93 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, H-2), 5.00 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, H-1), 5.34 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 16.0 (C-6), 20.9 (3 x CH_3 -Acetyl), 68.7 (C-5), 69.3 (C-3), 70.5 (C-4), 70.7 (C-2), 93.2 (C-1), 169.1 (C=O), 169.9 (C=O), 170.9 (C=O).

8.2.8.43. Synthese von bis-(Benzyl)-2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose 213

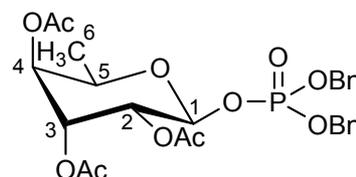
Die Reaktionsdurchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7(I)**. Es wurden 400 mg (1.38 mmol) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose **211**, 6.60 mL Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril, 1.66 mmol), 681 μL (715 mg, 2.07 mmol) bis-(Benzyl)-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit und 20 mL abs. Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 476 mg (2.76 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure verwendet. Nach säulenchromatographischer Reinigung mit Petrolether/Ethylacetat 3:2 v/v konnten 8 % des α -Anomers und 62 % des β -Anomers isoliert werden. In der Folgereaktion wurde lediglich das β -Anomer umgesetzt.

Ausbeute: 474 mg (0.861 mmol, 62 %) eines;

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{O}_{11}\text{P}$; **Molgewicht:** 550.49

g/mol; **DC:** R_f (Petrolether/Ethylacetat 3:2 v/v): 0.35;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.12 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, CH_3), 1.80, 2.06, 2.12 (je s, je 3H, CH_3 -Acetyl), 4.18 (dq, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H-5), 4.79 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H-4), 4.96-5.06 (m, 5H, 2 x CH_2 -Benzyl), 5.30-5.32 (m, 1H, H-3), 5.56 (dd, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 8.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, H-1), 7.22-7.24 (m, 10H, Aryl).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 15.9 (C-6), 20.6 (CH_3 -Acetyl), 20.8 (CH_3 -Acetyl), 20.9 (CH_3 -Acetyl), 68.2 (C-3), 68.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.6$ Hz, C-2), 69.5 (d, $^2J_{\text{CP}} = 2.2$ Hz, CH_2 -Benzyl), 69.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 2.2$ Hz, CH_2 -Benzyl), 70.0 (C-4), 70.2 (C-5), 95.1 (d,

$^2J_{CP} = 4.4$ Hz, C-1), 127.8 (C-Aryl), 128.0 (C-Aryl), 128.7 (2 x C-Aryl), 135.8 (2 x C-Aryl), 169.2 (C=O), 169.6 (C=O), 169.9 (C=O).

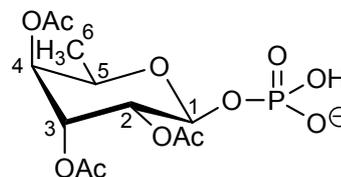
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -2.72.

MS (FAB): berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{11}\text{P}$ [M+H]: 551.2, gefunden: 551.2.

8.2.8.44. Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulopyranosyl-1-phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes **214**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 400 mg (0.727 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulose **213**, 202 μL (148 mg, 1.46 mmol) Triethylamin und 80 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 10 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 14 h. Zur Abtrennung des Palladiums wurde über Celite filtriert und zusätzlich zentrifugiert.

Ausbeute: 243 mg (0.515 mmol, 71 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel**: $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{NO}_{11}\text{P}$; **Molgewicht**: 471.44 g/mol; **DC**: R_f (iso-Propanol/Ammoniumacetat 2:1 v/v): 0.82; Anomerenverhältnis: β -anomerenrein; $[\alpha]_D^{20} = +22.0^\circ$ ($c=1.0$, CHCl_3);



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 1.19 (d, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, CH_3), 1.26 (t, 9H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 2.07, 2.18, 2.20 (je s, je 3H, $\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 3.18 (q, 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 4.37 (q, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ Hz, H-5), 4.90 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, H-4), 4.91 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, H-2), 5.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, H-3), 5.43 (dd, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, H-1).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 8.3 ($\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 14.8 (C-6), 20.1 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 20.2 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 20.3 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 46.7 ($\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 68.1 (C-3), 69.2 (d, $^3J_{CP} = 8.1$ Hz, C-2), 69.8 (C-5), 70.6 (C-4), 93.5 (d, $^2J_{CP} = 4.1$ Hz, C-1), 172.7 (C=O), 172.9 (2 x C=O).

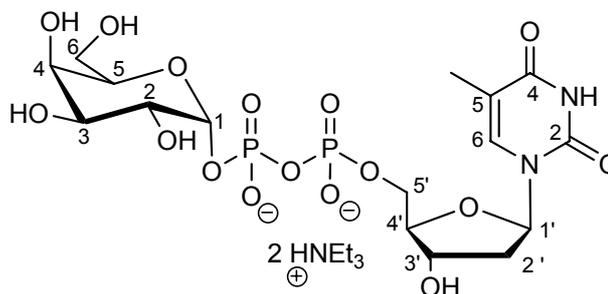
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, D_2O): -1.21.

8.2.9. Synthese der Nucleosiddiphosphatpyranosen

8.2.9.1. Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat- α -D-galactose **240**

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 100 mg (0.209 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-3'-OAcT-monophosphat **126**, 133 mg (0.251 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galaktopyranosyl-1-phosphat **191** und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h bei 50°C gerührt.

Ausbeute: 89.0 mg (0.116 mmol, 56 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₈H₅₆N₄O₁₂P₂; **Molgewicht:** 766.71 g/mol; **DC:** R_f (*iso*-Propanol/Ammoniumacetat 2:1 v/v): 0.56; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.29 (t, 18H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 2 x CH₃-NEt₃), 1.94 (d, 3H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Thymin-CH₃), 2.37-2.44 (m, 2H, H-2'), 3.21 (q, 12H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 2 x CH₂-NEt₃), 3.71-3.83 (m, 3H, H-5, H-6), 3.93 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.3 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, H-3), 4.04 (d, 1H, ³J_{HH} = 3.0 Hz, H-4), 4.19-4.20 (m, 4H, H-2, H-4', H-5'), 4.63 (m, 1H, H-3'), 5.65 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.3 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, H-1), 6.36 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.5 Hz, ³J_{HH} = 6.5 Hz, H-1'), 7.76 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Thymin-CH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.3 (CH₃-NEt₃), 11.7 (Thymin-CH₃), 38.6 (C-2'), 46.7 (CH₂-NEt₃), 61.1 (C-6), 65.5 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, C-5'), 68.5 (d, ³J_{CP} = 8.1 Hz, C-4'), 69.2, 69.4, 71.0 (C-3, C-4, C-5), 71.9 (C-3'), 85.1 (C-1'), 85.4 (d, ³J_{CP} = 8.8 Hz, C-2), 95.8 (d, ²J_{CP} = 6.6 Hz, C-1), 111.8 (Thymin-C_q), 137.4 (Thymin-CH), 151.8 (C=O), 166.6 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -11.20 (d, J_{PP} = 20.9 Hz, P_β), -12.66 (d, J_{PP} = 20.9 Hz, P_α).

HRMS (ESI): berechnet für C₁₆H₂₅N₂O₁₆P₂ [M+H]: 563.0685, gefunden: 563.0671.

8.2.9.2. Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat- β -D-glucose 237

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 120 mg (0.250 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Sal-3'-OAcT-monophosphat **126**, 159 mg (0.300 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl-1-phosphat **162** und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei 50°C gerührt.

Ausbeute: 97.0 mg (0.127 mmol,

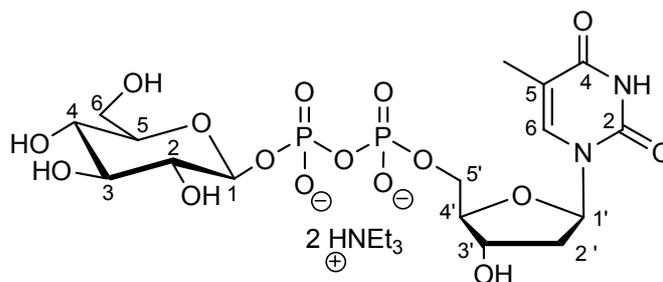
51 %) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: $C_{28}H_{56}N_4O_{16}P_2$;

Molgewicht: 766.71 g/mol; **DC:** R_f

(*iso*-Propanol/ NH_3 / H_2O 14:1:7 v/v):

0.22; Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;



1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 1.28 (t, 18H, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 2 x CH_3-NEt_3), 1.94 (d, 3H, $^4J_{HH} = 0.9$ Hz, Thymin- CH_3), 2.32-2.39 (m, 2H, H-2'), 3.21 (q, 12H, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 2 x CH_2-NEt_3), 3.36-3.42 (m, 2H, H-2, H-4), 3.50-3.56 (m, 2H, H-3, H-5), 3.71 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 6.0$ Hz, $^2J_{HH} = 12.3$ Hz, H-6), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 2.0$ Hz, $^2J_{HH} = 12.3$ Hz, H-6), 4.18-4.19 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.62-4.65 (m, 1H, H-3'), 5.02 (dd, 1H, $^3J_{HP} = 7.8$ Hz, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, H-1), 6.36 (dd, 1H, $^3J_{HH} = 6.5$ Hz, $^3J_{HH} = 6.5$ Hz, H-1'), 7.75 (d, 1H, $^4J_{HH} = 1.0$ Hz, Thymin-CH).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 8.6 (CH_3-NEt_3), 12.0 (Thymin- CH_3), 39.0 (C-2'), 47.0 (CH_2-NEt_3), 61.2 (C-6), 65.9 (d, $^2J_{CP} = 5.6$ Hz, C-5'), 69.8 (C-4), 71.4 (C-3'), 74.0 (d, $^3J_{CP} = 8.7$ Hz, C-2), 75.6 (C-5), 76.8 (C-3), 85.3 (C-1'), 85.7 (d, $^3J_{CP} = 9.2$ Hz, C-4'), 98.3 (d, $^2J_{CP} = 6.1$ Hz, C-1), 112.1 (Thymin- C_q), 137.7 (Thymin-CH), 167.0 (C=O).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, D_2O): -11.53 (d, $J_{PP} = 19.6$ Hz, P_β), -13.15 (d, $J_{PP} = 19.6$ Hz, P_α).

MALDI-TOF: berechnet für $C_{16}H_{26}N_2Na_2O_{16}P_2$ [$M+Na$]: 610.05, gefunden: 610.10.

8.2.9.3. Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat- α -D-mannose 239

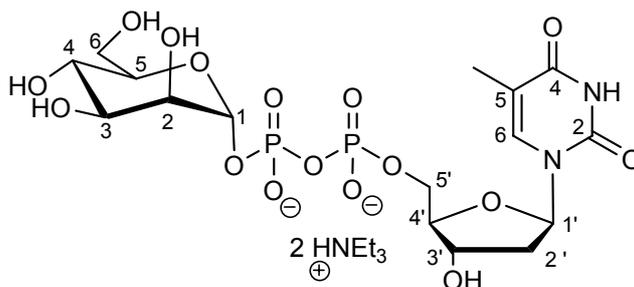
Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 100 mg (0.209 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Sal-3'-OAcT-monophosphat **126**, 133 mg (0.251 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-mannopyranosyl-1-phosphat **180** und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h bei 50°C gerührt.

Ausbeute: 80.0 mg (0.104 mmol, 49 %) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₂₈H₅₆N₄O₁₆P₂;

Molgewicht: 766.71 g/mol; **DC:** R_f

(*iso*-Propanol/Ammoniumacetat 2:1 v/v): 0.55; Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.22 (t, 18H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₃-NEt₃), 1.87 (s, 3H, Thymin-CH₃), 2.26-2.37 (m, 2H, H-2'), 3.14 (q, 12H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₂-NEt₃), 3.59-3.65 (m, 1H, H-4), 3.71 (dd, 1H, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ²J_{HH} = 12.3 Hz, H-6), 3.77-3.81 (m, 2H, H-2, H-3), 3.86 (dd, 1H, ³J_{HH} = 3.3 Hz, ²J_{HH} = 12.3 Hz, H-6), 3.99-4.00 (m, 1H, H-5), 4.13 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.56-4.57 (m, 1H, H-3'), 5.45 (d, 1H, ³J_{HP} = 6.8 Hz, H-1), 6.30 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.8 Hz, ³J_{HH} = 6.8 Hz, H-1'), 7.71 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 0.8 Hz, Thymin-CH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.3 (CH₃-NEt₃), 11.7 (Thymin-CH₃), 38.7 (C-2'), 46.7 (CH₂-NEt₃), 60.9 (C-6), 65.5 (d, ²J_{CP} = 5.9 Hz, C-5'), 66.5 (C-3'), 69.9 (C-4), 70.3 (d, ³J_{CP} = 8.8 Hz, C-2), 71.1 (C-3), 73.7 (C-5), 85.1 (C-1'), 85.5 (d, ³J_{CP} = 8.8 Hz, C-4'), 96.5 (d, ²J_{CP} = 4.4 Hz, C-1), 111.8 (Thymin-C_q), 137.4 (Thymin-CH), 151.8 (C=O), 168.3 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -11.87 (d, J_{PP} = 18.6 Hz, P_β), -13.99 (d, J_{PP} = 18.6 Hz, P_α).

MS (ESI): berechnet für C₁₆H₂₅N₂O₁₆P₂ [M+H]: 563.1, gefunden: 563.0.

8.2.9.4. Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat- α -D-glucose 238

Die Durchführung erfolgte entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 100 mg (0.209 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-3'-OAcdT-monophosphat **126**, 122 mg (0.231 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-1-phosphat **190** und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h bei 50°C gerührt.

Ausbeute: 68.0 mg (0.0887 mmol, 42 %) eines farblosen Feststoffes;

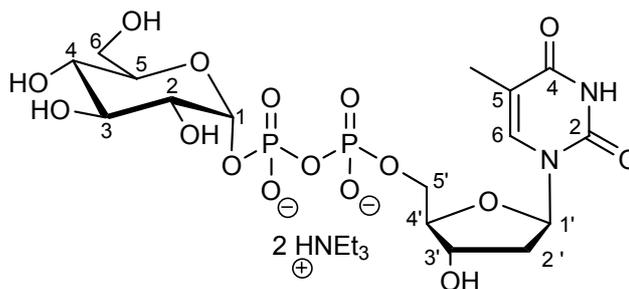
Summenformel: C₂₈H₅₆N₄O₁₆P₂;

Molgewicht: 766.71 g/mol; **DC:** R_f

(*iso*-Propanol/Ammoniumacetat 2:1

v/v): 0.60; Anomerenverhältnis: α -

anomerenrein;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.26 (t, 18H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₃-NEt₃), 1.93 (d, 3H, ⁴J_{HH} = 0.9 Hz, Thymin-CH₃), 2.36-2.42 (m, 2H, H-2'), 3.19 (q, 12H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₂-NEt₃), 3.60-3.62 (m, 3H, H-5, H-6), 3.85 (dd, 1H, ³J_{HH} = 10.3 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, H-3), 4.04-4.06 (m, 1H, H-4), 4.19-4.20 (m, 4H, H-2, H-4', H-5'), 4.63 (m, 1H, H-3'), 5.65 (dd, 1H, ³J_{HP} = 7.2 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, H-1), 6.30 (dd, 1H, ³J_{HH} = 6.4 Hz, ³J_{HH} = 6.4 Hz, H-1'), 7.70 (d, 1H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Thymin-CH).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.7 (CH₃-NEt₃), 11.7 (Thymin-CH₃), 38.6 (C-2'), 46.9 (CH₂-NEt₃), 61.0 (C-6), 65.5 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, C-5'), 69.1 (C-3'), 72.4 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz, C-4'), 74.0 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz, C-2), 74.5, 75.0 (C-4, C-5), 77.2 (C-3), 85.4 (C-1'), 98.3 (d, ²J_{CP} = 5.9 Hz, C-1), 111.7 (Thymin-C_q), 137.3 (Thymin-CH), 151.7 (C=O), 168.0 (C=O).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -11.70 (d, J_{PP} = 19.8 Hz, P_β), -12.73 (d, J_{PP} = 19.8 Hz, P_α).

HRMS (ESI): berechnet für C₁₆H₂₅N₂O₁₆P₂ [M+H]: 563.0685, gefunden: 563.0659.

8.2.9.5. Synthese von 2-Desoxy-thymidindiphosphat- β -D-galactose 241

Die Darstellung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 85 mg (0.177 mmol) 5-Nitro-cycloSal-3'OAcT-monophosphat **126**, 105 mg (0.195 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl-1-phosphat **179** und 4 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei 50°C gerührt.

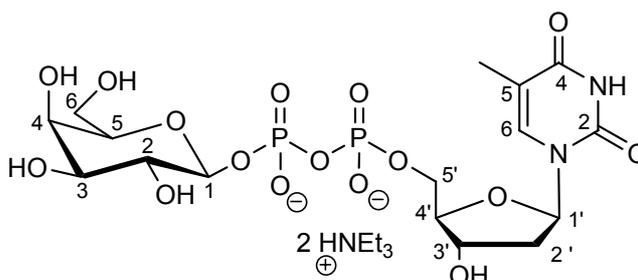
Ausbeute: 62.0 mg (0.0809 mmol, 46 %) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: $C_{28}H_{56}N_4O_{16}P_2$;

Molgewicht: 766.71 g/mol; **DC:** R_f

(*iso*-Propanol/Ammoniumacetat 2:1 v/v): 0.50; Anomerenverhältnis: β -

anomerenrein;



$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 1.23 (t, 18H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 2 x $\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 1.88 (s, 3H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin- CH_3), 2.27-2.39 (m, 2H, H-2'), 3.15 (q, 12H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 2 x $\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 3.57 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 10.3$ Hz, H-6), 3.63-3.67 (m, 1H, H-4), 3.70 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 10.3$ Hz, H-6), 3.74-3.80 (m, 2H, H-3, H-5), 3.87 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H-2), 4.13-4.14 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.58-4.60 (m, 1H, H-3'), 4.91 (dd, 1H, $^3J_{\text{HP}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H-1), 6.31 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, H-1'), 7.71 (d, 1H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Thymin-CH).

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 8.6 ($\text{CH}_3\text{-NEt}_3$), 12.0 (Thymin- CH_3), 39.0 (C-2'), 47.0 ($\text{CH}_2\text{-NEt}_3$), 61.6 (C-6), 65.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, C-5'), 69.0 (C-4), 71.4 (C-3'), 71.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.2$ Hz, C-2), 72.7 (C-5), 76.2 (C-3), 85.4 (C-1'), 85.8 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.2$ Hz, C-4'), 98.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, C-1), 112.1 (Thymin- C_q), 137.7 (Thymin-CH), 152.1 (C=O), 166.9 (C=O).

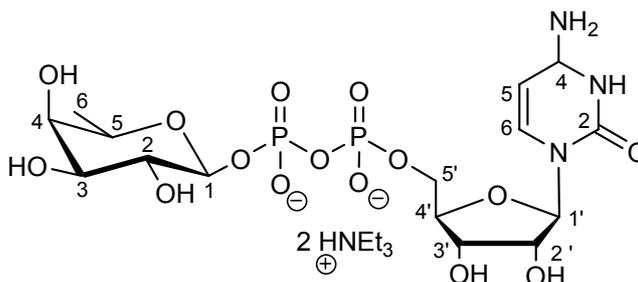
$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, D_2O): -11.75 (d, $J_{\text{PP}} = 20.7$ Hz, P_β), -13.24 (d, $J_{\text{PP}} = 20.7$ Hz, P_α).

HRMS (ESI): berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{P}_2$ [$\text{M}+\text{H}$]: 563.0685, gefunden: 563.0673.

8.2.9.6. Synthese von Cytidindiphosphat-6-desoxy- β -D-Gulose 134

Die Darstellung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 9**. Es wurden 100 mg (0.175 mmol) 5-Chlor-*cyclo*Sal-Ac₃Cytidin-monophosphat **118**, 116 mg (0.245 mmol, abweichend von **AAV 9** 1.4 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-deoxy-D-gulopyranosyl-1-phosphat **214** und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 5 d bei 50°C gerührt.

Ausbeute: 27.5 mg (0.0365 mmol, 21 %) eines farblosen Feststoffes;
Summenformel: C₁₅H₂₄N₃O₁₅P₂;
Molgewicht: 753.71 g/mol; **DC:** R_f (iso-Propanol/Ammoniumacetat 2:1 v/v): 0.52; Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 1.23 (d, 3H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, CH₃), 1.27 (t, 18H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₃-NEt₃), 3.18 (q, 12H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2 x CH₂-NEt₃), 3.63-3.64 (m, 1H, H-4), 3.68 (dd, ³J_{HH} = 8.3 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, H-2), 4.10-4.23 (m, 3H, H-3, H-5, H-3'), 4.28-4.32 (m, 2H, H-5', H-4'), 4.33-4.38 (m, 2H, H-5', H-2'), 5.26 (dd, 1H, ³J_{HP} = 8.3 Hz, ³J_{HH} = 8.3 Hz, H-1), 5.98 (d, 1H, ³J_{HH} = 4.0 Hz, H-1'), 6.22 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, Cytidin H-5), 8.08 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, Cytidin H-6).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 8.6 (CH₃-NEt₃), 15.4 (C-6), 47.0 (CH₂-NEt₃), 65.0 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, C-5'), 68.9 (d, ³J_{CP} = 8.4 Hz, C-2), 69.7 (C-3), 70.4 (C-5), 71.3 (C-4), 71.7 (C-3'), 74.7 (C-2'), 83.4 (d, ³J_{CP} = 9.2 Hz, C-4'), 89.6 (C-1'), 96.5 (Cytidin C-5), 96.8 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, C-1), 142.9 (Cytidin C-6), 154.5 (Cytidin C-4), 163.8 (Cytidin C-2).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -11.17 (d, J_{PP} = 20.5 Hz, P_β), -12.73 (d, J_{PP} = 20.5 Hz, P_α).

HRMS (ESI): berechnet für C₁₅H₂₄N₃O₁₅P₂ [M+H]: 548.0694, gefunden: 548.0670.

9. Gefahrstoffverzeichnis

Das folgende Verzeichnis beinhaltet die chemischen Verbindungen und Lösemittel, mit denen während dieser Promotion gearbeitet wurde. Die Gefahrstoffe sind mit den jeweiligen Gefahrensymbolen sowie den R-Sätzen und S-Sätzen gekennzeichnet. Die Substanzen, für die keine Gefahreinschätzung bekannt ist, sind als gefährlich einzustufen. Es ist zu vermeiden, sich oder eine andere Person mit diesen Substanzen zu kontaminieren und diese Stoffe in die Umwelt einzubringen.

Substanz	Gefahrensymbole	R-Sätze	S-Sätze
Acetanhydrid	C	10-20/22-34	(1/2-)26-36/37/39-45
Aceton	F	11-36-66-67	2-9-16-26
Acetonitril	F, T	11-23/24/25	16-27-45
Ammoniak	T, N	10-23-34-50	9-16-26-36/37/39-45-61
Ammoniak (25%ige Lösung)	C,N	34-50	26-36/37/39-45.1-61
Benzol	F, T	45-11-48/23/24/25.1	53.1-45
Boran-THF-Komplex	F, X _i	11-19-22-14/15-36/37/38-66-67	16-26-29-33-36
5-Bromsalicylaldehyd	X _i	36/37/38	26-36
Butanol	X _n , X _i	10-22-37/38-41-67	13-26-37/39-46-7/9
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid	O, C	7-10-21	3/7-26-36/37/39-45
<i>n</i> -Butyllithium	F,C	14/15-17-34-48/20	26-36/37/39/45
Celite	X _n	68/20	22
Chloroform	X _n	22-38-40-48/20/22	36/37
3-Chloperbenzoesäure	O, X _i	7-36/37/38	3/37-14.10-36/37/39

5-Chlorsalicylsäure	X _i	36/37/38	26-36
Deuteriumoxid (D ₂ O)	---	---	---
3,5-Dibromsalicylsäure	---	---	22-24/25
Dichlormethan	X _n	40	23.2-24/25- 36/37
Diethylether	F ⁺	12-19-22-66-67	(2-)-9-16-29-33
2,2-Dimethoxypropan	X _i , F	11-36/37/38	---
Dimethylformamid	T	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfoxid	X _i	36/38	26
1,4-Dioxan	F, X _n	11-19-36/37-40- 66	9-16-36/37-46
DIPEA	F, C	11-22-34-52/53	16-26-36/37/39- 45-60
DOWEX 50x8	X _i	36/37/38	26-36
Essigsäure (Eisessig)	C	10-35	23.2-26-45
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F	11-36-66-67	(2-)-16-26-33
H ₂	F	12	9-16-33
Kaliumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	7/8-24/25-43.6
Magnesiumsulfat	---	---	---
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Natriumchlorid	---	---	---
Natriumborhydrid	F, T	15-25-34	14-26-26/37/39- 43.6-45
Natriumhydrid	F, C	15-34	7/8-26- 36/37/39-43.6- 45
Natriumhydrogencarbonat	---	---	---
Natriumhydroxid	C	35	26-37/39-45
Natriumsulfat	---	---	---
5-Nitrosalicylsäure	X _i	36/37/38	26-36
<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbo-	T	22-24-41-43	24-26-37/39-45

diimid			
<i>N,N</i> -Diisopropylamin	F, X _i	11-36/37/38	9-16
Palladium/Kohle 5 %	---	---	14.1-22
Petrolether	F, X _n	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33-62
Phosphortrichlorid	C	34-37	7/8-26-45
Pyridin	F, X _n	11-20/21/22	26-28.1
Salicylsäure	X _n	22-41	26-39
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
Schwefelsäure	C	35	26-30-45
Tetrabutylammonium-fluorid 1M in THF	X _n	11-19-34-37/38	16-26
TBDMS-Cl	F, C	11-35-37	16-26-36/37/39-45
Tetrahydrofuran	F, X _i	11-19-36/37	16-29-33
2'-Desoxythymidin		---	22-24/25
Toluol	F, X _n	11-20	16-25-29-33
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	X _i	36/37/38	26-37
Triethylamin	F, C	11-20/21/22-35	3-16-26-29-36/37/39-45
Triethylamintrihydrofluorid	T ⁺ , C	26/27/28-35	7/9-26-28.1-36/37/39-45
Trifluoressigsäure	C	20-35-52/53	9-26-27-28-45-61
Wasserstoffperoxid 30 %	C	34	28.1-36/39-45

10. Literaturverzeichnis

- ¹ J. Lehmann, *Chemie der Kohlenhydrate*, Thieme, Stuttgart **1976**, 1-3.
- ² A. Varki, Biological Roles of Oligosaccharides: All Theories are Correct, *Glycobiology*, **1993**, 3, 97-130.
- ³ G. M. Edelmann, Zelladhäsionsmoleküle und Embryonale Musterbildung, *Spektrum der Wissenschaft*, **1984**, 6, 62-74; G. M. Edelmann, Topobiologie, *Spektrum der Wissenschaft*, **1989**, 7, 52-60.
- ⁴ C.-H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, Enzyme in der Organischen Synthese: Das Problem der Molekularen Erkennung von Kohlenhydraten (Teil 1), *Angew. Chem.* **1995**, 107, 453-474.
- ⁵ N. Sharon, H. Lis, Kohlenhydrate und Zellerkennung, *Spektrum der Wissenschaft*, **1993**, 3, 66-74.
- ⁶ R. A. Dwek, Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683-720.
- ⁷ T. Feizi, Demonstration by Monoclonal Antibodies that Carbohydrate Structures of Glycoproteins and Glycolipids are Onco-Developmental Antigens, *Nature* **1985**, 314, 53-57.
- ⁸ E. F. Neufeld, W. Z. Hassid, Biosynthesis of Saccharides from Glycopyranosyl Esters of Nucleotides, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1963**, 18, 309-356.
- ⁹ D. Voet, J.G. Voet, *Biochemistry*, Wiley & Sons, New York **1995**, 491-493.
- ¹⁰ L.F. Leloir, Two Decades of Research on the Biosynthesis of Saccharides, *Science* **1971**, 172, 1299-1303.
- ¹¹ S. Löbau, W. Brabetz, L. Brade, Glycosyltransferasen der Frühen Lipopolysaccharid-Biosynthese, *Chemotherapie Journal* **1999**, 5, 183-188.
- ¹² C. E. Bulawa, C. R. H. Raetz, The Biosynthesis of Gram-negative Endotoxin, *J. Biolog. Chem.* **1984**, 259, 4846-4851.
- ¹³ M. Skurnik, L. Zhang, Molecular Genetics and Biochemistry of Yersinia Lipopolysaccharide, *APMIS* **1996**, 104, 849-872.
- ¹⁴ R. Kornfeld, S. Kornfeld, Assembly of Asparagine-linked Oligosaccharides, *Annu. Rev. Biochem.* **1985**, 54, 631-664.
- ¹⁵ N. Kochetov, V. Shibaev, Glycosyl Esters of Nucleoside Pyrophosphates, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1973**, 28, 307-399.
- ¹⁶ J. G. Moffatt, H. G. Khorana, Nucleoside Polyphosphates. VIII. New and Improved Syntheses of Uridine Diphosphate Glucose and Flavin Adenine Dinucleotide using Nucleoside-5'-Phosphoramidates, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 80, 3756-3761.

- ¹⁷ H.G. Khorana, Some Recent Developments in the Chemistry of Phosphate Esters of Biological Interest, Wiley, New York **1961**.
- ¹⁸ S. Hanessian, P-P. Liu, H. Ishida, One-Step, Stereocontrolled Synthesis of Glycosyl-1-Phosphates, Uridine-5'-diphosphogalactose and Uridine-5'-diphosphoglucose from Unprotected Glycosyl Donors, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13296-13300.
- ¹⁹ L. A. Slotin, Current Methods of Phosphorylation of Biological Molecules, *Synthesis* **1977**, 737-752.
- ²⁰ A. M. Michelson, *The Chemistry of Nucleosides and Nucleotides*, Academic Press, New York **1963**.
- ²¹ A. Schäfer, J. Thiem, Synthesis of Novel Donor Mimetics of UDP-Gal, UDP-GlcNAc, and UDP-GalNAc as Potential Transferase Inhibitors, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 24-29.
- ²² L. Liu, H. Liu, Synthesis of Cytidine Diphosphate D-Quinovose, *Tetrahedron Letters* **1989**, *30*, 35-38.
- ²³ H. A. Nunez, J. O'Connor, P. R. Rosevear, R. Barker, The Synthesis and Characterization of α - and β -L-Fucopyranosyl Phosphates and GDP-Fucose, *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 2086-2095.
- ²⁴ R. Campbell, M. E. Tanner, UDP-Glucose Analogues as Inhibitors and Mechanistic Probes of UDP-Glucose Dehydrogenase, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9487-9492.
- ²⁵ V. Wittmann, C.-H. Wong, 1*H*-Tetrazole as Catalyst in Phosphomorphilidate Coupling Reactions: Efficient Synthesis of GDP-Fucose, GDP-Mannose and UDP-Galactose, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2144-2147.
- ²⁶ P. Kosma, H. Brade, M. Puchberger, C. Oertelt, S. Gronow, A. Zamyatina, Efficient Chemical Synthesis of the Two Anomers of ADP-L-glycero- and D-glycero-D-manno-Heptopyranose Allows the Determination of the Substrate Specificities of Bacterial Heptosyltransferases, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4322-4325; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4150-4153.
- ²⁷ G. Baisch, R. Öhrlein, Convenient Chemoenzymatic Synthesis of β -Purine-diphosphate Sugars (GDP-fucose-analogues), *Bioorg. & Med. Chem.* **1997**, *5*, 383-391.
- ²⁸ a) Y. Kajihara, H. Hashimoto, H. Kodama, Methyl-3-O-(2-acetamido-2-deoxy-6-thio- β -D-glucopyranosyl)- β -D-galactopyranoside: A Slow Reacting Acceptor-Analog Which Inhibits Glycosylation by UDP-D-galactose-N-acetyl-D-glucosamine-(1,4)- β -D-galactosyltransferase, *Carbohydrate Research* **1992**, *229*, C5-C9.
b) H. Kodama, K. Hisashi; Y. Kajihari, T. Endo, H. Hashimoto, Synthesis of UDP-6-deoxy- and -6-fluoro-D-galactoses and their Enzymatic Glycosyl Transfer to Mono- and Biantennary Carbohydrate Chains, *Tetrahedron Letters* **1993**, *34*, 6419-22.
c) Y. Kajihara, H. Kodama, T. Endo, H. Hashimoto, Novel Features of Acceptor Recognition by β -(1,4)-Galactosyltransferase, *Carbohydrate Research* **1998**, *306*, 361-378.
- ²⁹ C. L. Freel Meyers, R. F. Borch, A Novel Method for the Preparation of Nucleoside Diphosphates, *Organic Letters* **2001**, *3*, 3765-3768.
- ³⁰ M. Arlt, O. Hindsgaul, Rapid Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides in a Form Suitable for Enzymatic Oligosaccharide Synthesis, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 14-15.

- ³¹ S. C. Timmons, D. L. Jakeman, Stereoselektive Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides via Direct Displacement of Acylated Glycosyl Bromides, *Org. Letters* **2007**, *9*, 1227-1230.
- ³² M. Oberthür, C. Leimkuhler, D. Kahne, A Practical Method for the Stereoselective Generation of β -2-Deoxy Glycosyl Phosphates, *Org. Letters* **2004**, *6*, 2873-2876.
- ³³ B. Kneidinger, M. Graninger, M. Puchberger, P. Kosma, P. Messner; Biosynthesis of Nucleotide-activated D-Glycero-D-mannoheptose, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 20935–20944.
- ³⁴ E. S. Simon, S. Grabowski, G. M. Whitesides, Convenient Syntheses of Cytidine 5'-triphosphate, Guanosine 5'-triphosphate, and Uridine 5'-triphosphate and their Use in the Preparation of UDP-Glucose, UDP-Glucuronic acid, and GDP-mannose, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1834-1841.
- ³⁵ P. Stangier, J. Thiem, Enzymes in Carbohydrate Synthesis (Ed. M.D. Bednarski, E.S. Simon), *ACS Symposium Series 466*, ACS, Washington D.C., **1991**, 63-78.
- ³⁶ J. B. Lowe, Molecular Cloning, Expression, and Uses of Mammalian Glycosyltransferases, *Cell Biol.* **1991**, *2*, 289-307.
- ³⁷ M. L. Field, L. J. Wainwright, Molecular Cloning of Eukaryotic Glycoprotein and Glycolipid Glycosyltransferases: a Survey, *Glycobiology* **1995**, *5*, 463-472.
- ³⁸ J. E. Heidlas, K. W. Williams, G. M. Whitesides, Nucleoside Phosphate Sugars: Syntheses on Practical Scales for Use as Reagents in the Enzymatic Preparation of Oligosaccharides and Glycoconjugates, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 307-314.
- ³⁹ C. Meier, 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphin-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.
- ⁴⁰ www.iupac.org/nomenclature
- ⁴¹ S. N. Farrow, A. S. Jones, A. Kumar, R. T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq, Synthesis and Biological Properties of Novel Phosphotriesters, A New Approach to the Introduction of Biologically Active Nucleotides into Cells, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1400-1406.
- ⁴² C. Meier, L. W. Habel, J. Balzarini, E. De Clercq, 5',5'-Di-O-nucleosyl-O'-benzylphosphotriesters as Potential Prodrugs of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine-5'-monophosphate, *Liebigs. Ann.* **1995**, 2203-2208.
- ⁴³ C. A. Bunton, M. M. Mhala, K. G. Oldham, C. A. Vernon, The Reactions of Organic Phosphates, Part III: The Hydrolysis of Dimethyl Phosphate, *J. Chem. Soc.* **1960**, 3293-3301.
- ⁴⁴ J.-L. Giradet, G. Gosselin, C. Périgaud, J. Balzarini, E. De Clercq, J.-L. Imbach, New Prodrugs of 9-(2-Phosphonomethoxyethyl)adenine [PMEA]: Synthesis and Stability Studies, *Nucleotides & nucleosides* **1995**, *14*, 563-565.
- ⁴⁵ C. Meier, M. Lorey, E. de Clercq, J. Balzarini, Cyclic Saligenylphosphotriesters of 2'-3'-Dideoxy-2'-3'didehydrothymidine (d4T) – A New Pro-Nucleotide Approach, *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 99-104.

- ⁴⁶ C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini, *cycloSal*-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (*cycloSal*-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.
- ⁴⁷ C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini, *cycloSal*-Pronucleotides of 2',3'-Dideoxyadenosine and 2'-3'-Dideoxy-2'-3'-didehydroadenosine: Synthesis and Antiviral Evaluation of a Highly Efficient Nucleotide Delivery System, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604-1614.
- ⁴⁸ C. Meier, T. Knispel, E. de Clercq, J. Balzarini, ADA-Bypass by Lipophilic *cycloSal*-ddAMP Pro-Nucleotides. A Second Example of the Efficiency of the *cycloSal*-Concept, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1577-1582.
- ⁴⁹ C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, E. de Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-2'-*ara(ribo)*-Fluoro-2'-3'-Dideoxyadenosine Monophosphate – an Effort to Solve the Structure-Activity Relationship of 2'-Fluoro-ddA, *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 907–912.
- ⁵⁰ C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, M. A. Siddiqui, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-Pronucleotides of 2'-Fluoro-*ara*- and 2'-Fluoro-*ribo*-2',3'-dideoxyadenosine as a Strategy to Bypass a Metabolic Pathway; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624.
- ⁵¹ C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cycloSal*-BVDUMP Pronucleotides – From an Antivirally Inactive Nucleoside Analogue to a Potential Anti-EBV Active Drug, *Chem. Bio. Chem.* **2001**, *2*, 283–285.
- ⁵² C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cycloSal*-BVDUMP Pronucleotides – How to Convert an Antiviral-inactive Nucleoside Analogue into a Bioactive Compound against EBV, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5157–5172.
- ⁵³ C. Meier, L. Habel, F. Haller-Meier, A. Lomp, M. Herderich, R. Klöcking, A. Meerbach, P. Wutzler; Chemistry and Anti-Herpes Simplex Virus Type 1 Evaluation of *cycloSal*-Nucleotides of Acyclic Nucleoside Analogues; *Antiviral Chem. Chemother.* **1998**, *9*, 389 – 402.
- ⁵⁴ A. Meerbach, R. Klöcking, C. Meier, A. Lomp, B. Helbig, P. Wutzler; Inhibitory Effect of *cycloSal*igeny-nucleoside Monophosphates (*cycloSal*-NMP) of Acyclic Nucleoside Analogues on HSV-1 and EBV; *Antiviral Res.* **2000**, *45*, 69–77.
- ⁵⁵ R. Zeevaert, E. Schollen, H. Carchon, G. Matthijs, J. Jaeken, Congenital Disorders of Glycosylation (CDG): Update and Perspectives, *Curr. Pediatric Rev.* **2006**, *2*, 323-330.
- ⁵⁶ S. Rutschow, J. Thiem, C. Kranz, T. Marquardt, Membrane-Permeant Derivatives of Mannose-1-phosphate, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 4043-4049.
- ⁵⁷ U. Muus, C. Kranz, T. Marquardt, C. Meier, *cycloSal*igenyl-mannose-1-monophosphates as a New Strategy in CDG-Ia Therapy: Hydrolysis, Mechanistic Insights and Biological Activity, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1228-1235.
- ⁵⁸ S. Warnecke, *cycloSal*-aktivierte Phosphatdonatoren zur Synthese von Phosphatestern, *Diplomarbeit* **2006**, Hamburg
- ⁵⁹ C. Meier, *cycloSal*-Pronucleotides- Design of Chemical Trojan Horses, *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 219-234.

- ⁶⁰ F. Mugnier, C. Meier, Phosphoramidite Chemistry for the Synthesis of *cycloSal*-Pro-Nucleotides, *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 941-942.
- ⁶¹ S.-Y. Wu, J.E. Casida, Neuropathy Target Esterase Inhibitors: 2-Alkyl-, 2-Alkoxy-, and 2-(Aryloxy)-4H-1,3,2-benzodioxaphosphorin 2-oxides, *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, *5*, 660-684.
- ⁶² N. M. Yoon, C. S. Pak, H. C. Brown, S. Krishnamurthy, T. P. Stocky; Selective Reductions; XIX. The Rapid Reaction of Carboxylic Acids with Borane-Tetrahydrofurane. A Remarkably Convenient Procedure for the Selective Conversion of Carboxylic Acids to the Corresponding Alcohols in the Presence of Other Functional Groups; *J. Org. Chem.* **1973**, *58*, 2786-2792.
- ⁶³ H. Gross, A. Rieche, G. Matthey, Neue Verfahren zur Darstellung von Phenolaldehyden, *Chem. Ber.* **1962**, *96*, 308-313.
- ⁶⁴ G. Casiraghi, G. Casnati, G. Paglia, G. Sartori, G. Terenghi, Selective Reactions Between Phenols and Formaldehyd: A Novel Route to Salicylaldehyds, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1980**, 1862-1865.
- ⁶⁵ H.J. Shine, *Aromatic Rearrangements*, Elsevier, New York **1967**, 344-348.
- ⁶⁶ W. Nagata, K. Okada, T. Aoki, *ortho*-Specific α -Hydroxyalkylation of Phenols with Aldehyds. An Efficient Synthesis of Saligenol Derivatives, *Synthesis* **1979**, 365-368.
- ⁶⁷ 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**, 4786 – 4791.
- ⁶⁸ C. Ducho, *cycloSal*-Nucleotide, Ansätze zur Optimierung eines Wirkstoffsystems, *Dissertation* **2005**, Hamburg.
- ⁶⁹ P. K. Choudhury, J. Almena, F. Foubelo, M. Yus, New Homologation of 2-Hydroxy and 2-Mercapto Benzyl Alcohols, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 17373-17382.
- ⁷⁰ N. A. Saccomano, F. J. Vinick, B. K. Koe, J. A. Nielsen, W. M. Whalen, M. Meltz, D. Phillips, P. F. Thaddeo, S. Jung, D. S. Chapin, L. A. Lebel, L. L. Russo, D. A. Helweg, J. L. Johnson (Jr.), J. L. Ives, I. H. Williams, Calcium-Independent Phosphodiesterase Inhibitors as Putative Antidepressants: [3-(Bicycloalkoxy)-4-methoxyphenyl]-2-imidazolidinones, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 291-298.
- ⁷¹ H. J. Jessen, Synthese und Charakterisierung Fluoreszierender *cycloSal*-Nucleotid-Analoga, *Diplomarbeit* **2005**, Hamburg.
- ⁷² A. Wissner, M. L. Carroll, K. E. Green, S. S. Kerwar, W. C. Pickett, R. E. Schaub, L. W. Torley, S. Wrenn, C. A. Kohler; Analogues of Platelet Activating Factor. 6. Mono- and Bis-Aryl Phosphate Antagonists of Platelet Activating Factor; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1650-1662.
- ⁷³ K. K. Ogilvie, D. J. Iwacha; Use of the *tert*-Butyldimethylsilyl Group for Protecting the Hydroxyl Functions of Nucleosides, *Tetrahedron Letters* **1973**, *4*, 317-319.
- ⁷⁴ E. Y. Osei-Twum, O. A. Mamer, M. A. Quilliam, R. Gergely, *N*-Dimethylaminomethylene-*O*-trialkylsilyl Derivatives of Nucleosides for Chromatography and Mass Spectrometry, *Nucleosides Nucleotides* **1990**, *9*, 369-72.

- ⁷⁵ F. Benseler, L. W. McLaughlin, An Improved Procedure for the Protection of 2'-Deoxyguanosine, *Synthesis* **1986**, 45-46.
- ⁷⁶ A. T. Khan, E. Mondal, A Highly Efficient and Useful Synthetic Protocol for the Cleavage of tert-Butyldimethylsilyl (TBS) Ethers Using a Catalytic Amount of Acetyl Chloride in Dry Methanol, *Synlett* **2003**, 5, 694-698.
- ⁷⁷ C. Meier, *cycloSal*-Pronucleotides-Design Of The Concept, Chemistry And Antiviral Activity, *Advances in Antiviral Drug Design* **2004**, 4, 147-213.
- ⁷⁸ P. F. Alewood, S. Palma, R. B. Johns; Synthesis of a Model Phosphopeptide; *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 425-428.
- ⁷⁹ P. F. Alewood, J. W. Perich, R. B. Johns; Preparation of *N* α -(*t*-Butoxycarbonyl)-*O*-(dibenzylphosphono)-L-serine; *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 429-433.
- ⁸⁰ J. W. Perich, P. F. Alewood, R. B. Johns; Synthesis of Casein-Related Phosphopeptides. VII. The Efficient Synthesis of Ser(*P*)-Containing Peptides of Boc-Ser(PO₃R₂)-OH Derivatives; *Aust. J. Chem.* **1991**, 44, 233-252.
- ⁸¹ T. Knispel, *cycloSaligenyl*-Nucleotide: Untersuchungen zum TK- und ADA-Bypass Antiviral Aktiver Pro-Nucleotide, *Dissertation* **2001**, Hamburg.
- ⁸² J. W. Perich, R. B. Johns, Di-*tert*-butyl *N,N*-Diethylphosphoramidit. A New Phosphitylating Agent for the Efficient Phosphorylation of Alcohols, *Synth. Commun.* **1988**, 2, 142-144.
- ⁸³ R. Roy, F. D. Tropper, C. Grand-Maitre, Synthesis of Glycosyl Phosphates by Phase Transfer Catalysis, *Can. J. Chem.* **1991**, 69, 1462-1467.
- ⁸⁴ R. R. Schmidt, M. Stumpp, Glycosylphosphate aus Glycosyl(trichloracetimidaten), *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 680-691.
- ⁸⁵ K. Jansson, G. Noori, G. Magnusson, 2-(Trimethylsilyl)ethyl glycosides. Transformation into Glycopyranosyl Chlorides, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3181-3185.
- ⁸⁶ R. R. Schmidt, New Methods of Glycoside and Oligosaccharide Syntheses - Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 213-236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 212-235.
- ⁸⁷ R. R. Schmidt, B. Wegmann, K.-H. Jung, Stereospecific Synthesis of α - and β -Fucopyranosyl Phosphates and of GDP-Fucose via Trichloracetimidate, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 121-124.
- ⁸⁸ J. Coniche, G. A. Levy, Aryl Glycopyranosides by the Helferich Method, *Methods Carbohydr. Res.* **1963**, 2, 345-347.
- ⁸⁹ B. Helferich, W. Portz, N-Glycoside. II, *Chem. Ber.* **1953**, 86, 604-612.
- ⁹⁰ G. Excoffier, D. Gagnaire, J. P. Uille, Coupure Selective par l'Hydrazine des Groupements Acetyles Anomères de Residues Glycosyles Acetyls, *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373.
- ⁹¹ S. Jacobsen, Dioxolanylium Ions Derived from Carbohydrates. IX. Rearrangement between Dioxolanylium and Dioxoanylium Ions, *Acta Chem. Scand.* **1984**, 38, 157-164.

- ⁹² G. Baisch, R. Öhrlein, Convenient Chemoenzymatic Synthesis of β -Purine-diphosphate Sugars (GDP-fucose-analogues), *Bioorg. & Med. Chem.* **1997**, 5, 383-391.
- ⁹³ M. L. Wolfrom, P. J. Cangliaro, Trifluoroacetyl as an N-protective Group in the Synthesis of Purine Nucleosides of 2-Amino-2-deoxy saccharides, *Carbohydr. Res.* **1969**, 11, 63-76.
- ⁹⁴ K. Adelhorst, G. M. Whitesides, Large-scale Synthesis of beta-L-fucopyranosyl Phosphate and the Preparation of GDP-beta-L-fucose, *Carbohydr. Res.* **1993**, 242, 69-76.
- ⁹⁵ J. W. Perich, R. B. Johns, A New Convenient And Efficient General Procedure for the Conversion of Alcohols into their Dibenzyl Phosphotriesters using *N,N*-Diethyl Dibenzyl Phosphoramidite, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 101-102.
- ⁹⁶ P. Westerduin, G. H. Veeneman, J. E. Marugg, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, An Approach to the Synthesis of alpha-L-fucopyranosyl Phosphoric Mono- and Diesters via Phosphite Intermediates, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 1211-1214.
- ⁹⁷ S. Liemann, W. Klaffke, Syntheses of Thymidine Diphosphoglucose Derivatives, *Liebigs Ann.* **1995**, 1779-1787.
- ⁹⁸ M. M. Sim, H. Kondo, C.-H. Wong, Synthesis and Use of Glycosyl Phosphites: An Effective Route to Glycosyl Phosphates, Sugar Nucleotides, and Glycosides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260-2267.
- ⁹⁹ K. Fukase, T. Kamikawa, Y. Iwai, Synthesis of Allyl 3-deoxy-D-manno-2-octulopyranosidic Acid 4- and 5-Phosphates, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, 64, 3267-3273.
- ¹⁰⁰ O. Eyrisch, G. Sinerius, W.-D. Fessner, Enzymes in Organic Synthesis. Part 4. Facile Enzymic de Novo Synthesis and NMR Spectroscopic Characterization of D-Tagatose 1,6-bisphosphate, *Carbohydr. Res.* **1993**, 238, 287-306.
- ¹⁰¹ P. Westerduin, G. H. Veeneman, J. H. van Boom, Synthesis of Diphosphorylated and Diphosphonylated Two Lipid A Monosaccharide Analogs via Phosphite Intermediates, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, 106, 601-606.
- ¹⁰² L. Wolfrom, A. Thompson, Reduction with Sodium Borohydride. D - glycerol - D - gulonic - Heptose, meso - glycerol - gulonic - Heptitol, and Galactitol, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 65-68.
- ¹⁰³ H. L. Frush, H. S. Isbell, Sodium Borohydride Reduction of Aldonic Lactones to Glycitol, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 2844-2846.
- ¹⁰⁴ K. Bennis, P. Calinaud, J. Gelas, M. Ghobsi, A New Route to Some Enantiomerically Pure Substituted Morpholines from D-Ribono- and D-Gulono-1,4-lactones, *Carbohydr. Res.* **1994**, 264, 33-44.
- ¹⁰⁵ T. K. M. Shing, J. G. Gillhouley, Enantiospecific Synthesis of (+)-Altholactone and its Three Stereoisomers, *Tetrahedron* **1994**, 50, 8685-8698.
- ¹⁰⁶ L. M. Lerner, B. D. Kohn, P. Kohn, Preparation of Nucleosides via Isopropylidene Sugar Derivatives. 3. Synthesis of 9-beta-D-Gulofuranosyladenine and 9-alpha-L-Lyxofuranosyladenine, *J. Org. Chem.* **1968**, 33, 1780-1783

- ¹⁰⁷ J. Schmidlin, A. Wettstein, Ein Neues Verfahren zur Herstellung von 21-Desoxyaldosteron und 21-Desoxy-17-iso-aldosteron, *Helv. Chim. Acta* **1963**, 2799-2810.
- ¹⁰⁸ E. J. Corey, A. Venkateswarlu, Protection of Hydroxyl Groups as *tert*-Butyldimethylsilyl Derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.
- ¹⁰⁹ E. Winterfeldt, Applications of Diisobutylamin Hydride (DIBAH) and Triisobutylaluminium (TIBA) as Reducing Agents in Organic Synthesis, *Synthesis* **1975**, 617-630.
- ¹¹⁰ P. Venturello, M. Barbero, Product Subclass 2: Sodium Hydride, *Science of Synthesis* **2006**, 895-924.
- ¹¹¹ M. H. Randall, Synthesis of Methyl D- Mannofuranosides and 5-O-Methyl-D-Mannose, *Carbohydr. Res.* **1969**, *11*, 173-178.
- ¹¹² M. Bessodes, J. Shamsazar, K. Antonakis, Crown Ether Catalyzed O-Alkylation of Carbohydrates and Nucleosides, *Synthesis* **1988**, *7*, 560-562.
- ¹¹³ H. Yuasa, Y. Izukawa, H. Hashimoto, Synthesis of 5-Thio-D-mannose, *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 753-763.
- ¹¹⁴ G. H. Veeneman, L. J. F. Gomes, J. H. Van Boom, Synthesis of Fragments of a *Sterptococcus Pneumoniae* Type Specific Capsular Polysaccharide, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7433-7448.
- ¹¹⁵ L. M. Lerner, Simple Preparation of 6-Deoxy-D-gulose, *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, 116-120.
- ¹¹⁶ O. Th. Schmidt, 6-Deoxy- β -D-galactose (β -D-fucose). Hydrogenation of 6-Deoxy-6-iodo-D-galactose, *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, 191-194.
- ¹¹⁷ R. W. Binkley, Reactions of p-Toluenesulfonates with Lithium Triethylborohydride. Visible and Hidden Rearrangements, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5646-5649.
- ¹¹⁸ H. Weidmann, N. Wolf, W. Timpe, Reactions of Carbohydrate Derivatives with Complex Metal Hydrides. 1. Simple Preparation of 6-Deoxy-D-glucopyranoside and 6-Deoxy-D-glucofuranoside, *Carbohydr. Res.* **1972**, *24*, 184-187.
- ¹¹⁹ J. Thiem, B. Meyer, Darstellungen von Disaccharidglycosiden des B-A-Typs in Chromomycin A₃ nach dem *N*-Iodsuccinimid-Verfahren, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 3067-3074.
- ¹²⁰ L. Bellon, J.-L. Barascut, J.-L. Imbach, Efficient Synthesis of 4-Thio-D-Ribofuranose and some 4'-Thioribonucleosides, *Nucleosides & Nucleotides* **1992**, *11*, 1467-1479.
- ¹²¹ D. L. Hughes, The Mitsunobu Reaction, *Org. React.* **1992**, *42*, 335-656.
- ¹²² M. Yoshikawa, T. Kato, T. Takenishi, A Novel Method for Phosphorylation of Nucleosides to 5'-Nucleotides, *Tetrahedron Lett.* **1967**, *50*, 5065-5068.
- ¹²³ M. Yoshikawa, T. Kato, T. Takenishi, Studies of Phosphorylation II. Reaction of 2', 3'-O-Isopropylideneinosine and -guanosine with Phosphorylchloride, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1968**, *41*, 142-149.

- ¹²⁴ O. Mitsunobu, K. Kato, J. Kimura, Selective Phosphorylation of the 5'-Hydroxy Groups of Thymidine and Uridine, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6510-6511.
- ¹²⁵ T. Sowa, S. Ouchi, The Facile Synthesis of 5'-Nucleotides by the Selective Phosphorylation of a Primary Hydroxyl Group of Nucleosides with Phosphoryl Chloride, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, *48*, 2084-2090.
- ¹²⁶ H. C. Müller, Welche Faktoren beeinflussen die Eigenschaften von Nucleosidmonophosphaten? Untersuchungen zu den Substrateigenschaften gegenüber Thymidylatkinase, *Dissertation* **2003**, Hamburg
- ¹²⁷ A. Lomp, Design, Synthese und Eigenschaften Neuer Antiviral Aktiver Nucleotid Prodrugs, *Dissertation* **2002**, Hamburg
- ¹²⁸ J. Moffatt, H. Khorana, Nucleoside polyphosphates. X. The Synthesis and Some Reactions of Nucleoside 5'-phosphoromorpholidates and Related Compounds. Improved Methods for the Preparation of Nucleoside 5'-polyphosphates, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 649-658.
- ¹²⁹ M. M. Sim, H. Kondo, C.-H. Wong, Synthesis and Use of Glycosyl Phosphites: An Effective Route to Glycosyl Phosphates, Sugar Nucleotides, and Glycosides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2260-2267.
- ¹³⁰ A. K. Seth, E. Jay, A Study of the Efficiency and the Problem of Sulfonation of Several Condensing Reagents and Their Mechanisms for the Chemical Synthesis of Deoxyoligoribonucleotides, *Nucleic Acids Res.* **1980**, *8*, 5445-5459.
- ¹³¹ V. F. Zarytova, D. G. Knorre, General Scheme of the Phosphotriester Condensation in the Oligodeoxyribonucleotide Synthesis with Arylsulfonyl Chlorides and Arylsulfonyl Azolides, *Nucleic Acids Res.* **1984**, *4*, 2091-2110.
- ¹³² S. Chandrasegaran, A. Murakami, L. Kann, Phosphorus-31 NMR Study of the Mechanism of Activation and Coupling Reactions in the Synthesis of Oligodeoxyribonucleotides by the Phosphotriester Method, *J. Org. Chem.* **1984**, 4951-4957.
- ¹³³ S. M. H. Christie, D. T. Elmore, G. W. Kenner, A. R. Todd, F. J. Weymouth, Nucleotides. XXII. Synthesis of P1-P2-diadenosine 5'-pyrophosphates and P1-P2-diuridine 5'-pyrophosphates, *J. Chem. Soc.* **1953**, 2947-2953.
- ¹³⁴ J. G. Moffatt, A General Synthesis of Nucleoside-5'-Triphosphates, *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 599-604.
- ¹³⁵ W. Wu, C. L. Freel Meyers, R. F. Borch, A Novel Method for the Preparation of Nucleoside Triphosphates from Activated Nucleoside Phosphoramidates, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2257-2260.
- ¹³⁶ Ginsburg Victor, Isolation of Sugar Nucleotides, *Methods in Carbohydr. Chem.* **1972**, *6*, 433-5.
- ¹³⁷ S. Hanessian, L. Pu-Ping, One-Step Stereocontrolled Synthesis of Glycosyl 1-Phosphates, Uridine-5'-diphosphogalactose, and Uridine-5'-diphosphoglucose from Unprotected Glycosyl Donors, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13296-13300.

- ¹³⁸ D. A. Brown, R. D. Simon, Biogenesis of 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme; A Reductase, An Integral Glycoprotein of the Endoplasmic Reticulum, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 1674-1678.
- ¹³⁹ L. S. Gennis, C. R. Cantor, Double-headed Protease Inhibitors from Black Eyed Peas. I. Purification of Two New Protease Inhibitors and the Endogenous Protease by Affinity Chromatography, *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 734-740.
- ¹⁴⁰ C. D. Poulter, D. T. Fox, Synthesis of (E)-4-Hydroxydimethylallyl Diphosphate. An Intermediate in the Methyl Erythritol Phosphate Branch of the Isoprenoid Pathway, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 5009-5410.
- ¹⁴¹ M.-C. Chapeau, P. A. Frey, Synthesis of UDP-4-deoxy-4-fluoroglucose and UDP-4-deoxy-4-fluorogalactose and their Interactions with Enzymes of Nucleotide Sugar Metabolism, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6994-6998.
- ¹⁴² J. Gardiner, R. W. Horobin, Determination of the Molecular Weights of Dyes by Thin-Layer Gel Filtration on Sephadex LH-20, *J. Chromatog.* **1969**, *44*, 509-521.
- ¹⁴³ C. Brooks, R. Keates, Gel Filtration in Lipophilic Solvents using Hydroxyalkoxypropyl Derivatives of Sephadex, *J. Chromat.* **1969**, *44*, 509-521.
- ¹⁴⁴ M. Joustra, B. Söderqvist, L. Fischer, Gel Filtration in Organic Solvents, *J. Chromatog.* **1967**, *28*, 21-25.
- ¹⁴⁵ O. Hindsgaul, G. Srivastavo, G. Alton, Combined Chemical-enzymic Synthesis of Deoxygenated Oligosaccharide Analogs: Transfer of Deoxygenated D-GlcpNAc Residues from their UDP-GlcpNAc Derivatives using *N*-Acetylglucosaminyltransferase I., *Carbohydr. Res.* **1990**, *207*, 259-276.
- ¹⁴⁶ S. M. Christie, D. T. Elmore, G. W. Kenner, A. R. Todd, F. J. Weymouth, Nucleotides XXII. Synthesis of P1P2-Diadenosine 5'-pyrophosphates and P1P2-Diuridine 5'-pyrophosphates, *J. Chem. Soc.* **1953**, 2947-2953.
- ¹⁴⁷ 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.
- ¹⁴⁸ M. M. Mansuri, J. E. Starrett, I. Ghazzouli, M. J. Hitchcock, 1-(2,3-Dideoxy-beta-D-glycero-pent-2-enofuranosyl)thymine. A Highly Potent and Selective Anti-HIV Agent, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 461-466.
- ¹⁴⁹ H. Yuasa, O. Hindsgaul, M. M. Palcic, Chemical-Enzymatic Synthesis of 5'-Thio-N-acetyllactosamine: The First Disaccharide with Sulfur in the Ring of the Nonreducing Sugar, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5891-5892.
- ¹⁵⁰ T. Zismann, Synthese von Guanosindiphosphatglycopyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-Aktivierten Phosphat-Donatoren, *Diplomarbeit* **2007**, Hamburg.
- ¹⁵¹ L. A. Wozniak, W. J. Stec, Oxidation in Organophosphorus Chemistry: Potassium Peroxymonosulphate, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2637-2640.
- ¹⁵² B. Evers, J. Thiem, Further Syntheses Employing Phosphorylase, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 857-863.

- ¹⁵³ B. Evers, J. Thiem, Synthesis of 2-Deoxy-maltooligosaccharides with Phosphorylase and Their Degradation with Amylases, *Starch* **1995**, *47*, 434-439.
- ¹⁵⁴ U. Muus, Synthese, Untersuchung und Mechanistische Interpretation von Prodrug-Konzepten an Nucleotidanaloga und Glycosylmonophosphaten, *Dissertation* **2003**, Hamburg.
- ¹⁵⁵ U. M. Unlignil, S. Zhou, S. Yuwaraj, M. Sarkar, H. Schachtner, J. M. Rini, X-ray Crystal Structure of Rabbit *N*-Acetylglucosaminyltransferase I: Catalytic Mechanism and a New Protein Superfamily, *EMBO J.* **2000**, *19*, 5269-5280.
- ¹⁵⁶ T. Biet, T. Peters, Molecular Recognition of UDP-Gal by β -1,4-Galactosyltransferase T1, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 4189-4192.
- ¹⁵⁷ M. Mayer, B. Meyer, Characterization of Ligand Binding by Saturation Transfer Difference NMR Spectroscopy, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1784-1788.
- ¹⁵⁸ H. Paulsen, Synthesen, Konformationen und Röntgenstrukturanalysen von Saccharidketten der Core-Regionen von Glycoproteinen, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 851-867; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1990**, *29*, 823-839.
- ¹⁵⁹ H. Kunz, Synthese von Glycopeptiden, Partialstrukturen Biologischer Erkennungskomponenten, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 297-311; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1987**, *26*, 294-308.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Silke Brigitta Wendicke
geboren am 23.10.1978 in Wimbledon

Schulbildung

1983-1987 American International School, Tel Aviv, Israel
1987-1988 Grundschule Forstenried, München
1988-1997 Gymnasium Fürstenried-West – Abschluss: Abitur

Akademische Ausbildung

10/97-12/02 Universität München: Studium der Chemie
06/02-12/02 Diplomarbeit an der EPFL Lausanne, Schweiz, am Institute of Chemical Sciences and Engineering in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Severin
seit 04/03 Promotion an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Meier

Praktika/Jobs

07/99-10/99 Industriepraktikum bei der Siemens AG, München
08/00-11/00 Forschungspraktikum an der Ecole Polytechnique Palaiseau, Frankreich in der Arbeitsgruppe von Prof. Mathey
03/01-08/01 Industriepraktikum bei der Beiersdorf AG, Hamburg
08/01-10/01 Industriepraktikum bei Octogene Biomedical Laboratories, Martinsried
04/03-10/06 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in Lehre und Forschung, Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg
seit 11/06 Anstellung bei der Beiersdorf AG, Hamburg

Publikationen

- Zeitschriftenbeiträge**
- C. Burney, D. Carmichael, K. Forissier, J. C. Green, F. Mathey, L. Ricard, S. Wendicke, Paramagnetic Phosphametalloenes, *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements* **2002**, 177, 1999-2000.
- S. B. Wendicke, E. Burri, R. Scopelliti, K. Severin, A Chloro-Bridged (Arene)Ru Complex with a Polymerizable Side Chain, *Organometallics* **2003**, 22, 1894-1897.
- 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**, 4786-4791.
- S. Wendicke, S. Warnecke, C. Meier, Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 1523-1525; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1500-1502.
- Posterbeiträge**
- S. Wendicke, S. Warnecke, B. Reichardt, C. Meier; A New Approach Towards Nucleoside Diphosphate Sugars Using *cycloSal* Activated Nucleotides, *Glycostructures in Biological Systems XIII*, Hamburg, Dezember 1-3, **2004**.
- S. B. Wendicke, C. Meier; Entwicklung von Prodrugs Phosphorylierter Zuckerderivate und Synthese von NDP-Pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren, *SFB 470 Begutachtung 2006*, Hamburg, Januar 16-18, **2006**.
- S. Wendicke, C. Meier, A Novel Access To Nucleoside Diphosphate Sugars, *1st European Chemistry Congress*, Budapest, August 27-31, **2006**.
- Vortrag**
- S. Wendicke, A Novel Access to Nucleoside Diphosphate Sugars, *2nd Baltic Meeting on Microbial Carbohydrates*, Rostock, Oktober 4-8, 2006.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation „Neue Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren“ selbstständig 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 mit den im Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, im Oktober 2007