

Neue Entwicklungen der  
„lock-in“ modifizierten  
*cycloSal*-Nucleosidmonophosphate

**DISSERTATION**

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

**Dalibor Vukadinović-Tenter**

aus Hamburg

vorgelegt dem Fachbereich Chemie  
der Universität Hamburg

Hamburg 2008



Universität Hamburg



**Meiner Familie und Wiebke**

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Meier in der Zeit von September 2003 bis März 2007 angefertigt.

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

Tag der Disputation: 09. Januar 2009

Herrn Prof. Dr. C. Meier danke ich für die interessante Themenstellung, die hervorragenden Arbeitsbedingungen sowie seine ständige Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Allen Mitgliedern des Arbeitskreises gilt mein Dank für ihre Hilfsbereitschaft und zahlreiche anregende Gespräche.

Einen besonderen Dank möchte ich an die zahlreichen Praktikantinnen und Praktikanten richten, die im Rahmen ihres Studiums experimentelle Arbeiten für mich durchführten. Besonders hervorzuheben sind hierbei meine ehemaligen Schwerpunktspraktikanten, Dr. Dipl.-Chem. N.P.H Böge und Sven Martens.

Herrn Dr. V. Sinnwell, Herrn Dr. E. T. K. Haupt und ihren Mitarbeitern möchte ich für die Messung zahlreicher NMR-Spektren danken. Besonders dankbar bin ich dabei für die hervorragende Kooperation bei der Messung luftempfindlicher Substanzen sowie der Durchführung der <sup>31</sup>P-NMR-Hydrolysestudien. Weiterhin möchte ich Herrn Dr. A. Coksezen, Herrn Dipl.-Chem. D. Wilhelm und Herrn Dipl.-Chem. T. Hackl für die Messung zahlreicher NMR-Spektren herzlichst danken.

Herrn M. Preuße, Frau A. Meiners und Frau C. Christ spreche ich meinen Dank für die Messung von EI-, FAB- bzw. ESI-Massenspektren aus.

Herrn Dr. S. Possner, Herrn Dr. M. Fritsche und Herrn Dipl.-Chem. Gunnar Weibchen möchte ich für die Durchführung zahlreicher GC- und GC-MS-Analysen.

Herrn Prof. Dr. J. Balzarini und Dr. L. Naesens, Rega-Institut Leuven, Belgien, danke ich für die Durchführung von *in vitro*-Zelltests bzw. die Bereitstellung von humanem CEM/0- und Mäuseleber-Zellextrakten.

Ein besonderer Dank geht an meine Frau Wiebke für ihre liebevolle Unterstützung und ihr Verständnis während der gesamten Zeit.

---

Abkürzungen und Symbole

9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
arom.	aromatisch
AZT	3'-Azido-2',3'-didesoxythymidin
Äquiv.	Moläquivalente
BVDU	( <i>E</i> )-5-(2-Bromovinyl)-2'-deoxyuridin
CC <sub>50</sub>	cytotoxische Konzentration
CEM/0	Lymphozytenzellstamm (Wildtyp)
CEM/TK <sup>-</sup>	Lymphozytenzellstamm (Thymidin-Kinase defizient)
dd	Doppeldublett
ddd	Dublett vom Doppeldublett
d4T	2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxythymidin
DC	Dünnschichtchromatographie
DIPEA	Diisopropylethylamin („Hünigs-Base“)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimethylsulfoxid (sechsfach deuteriert)
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EC <sub>50</sub>	effektive Konzentration
EE	Essigsäureethylester
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography)
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
<i>k</i>	Geschwindigkeitskonstante
konz.	konzentriert
<i>m</i>	Multiplett
<i>m</i>	<i>meta</i>
MS	Massenspektrometrie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance

---

<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
PMEA	9-[2-Phosphonylmethoxyethyl]adenin
ppm	part per million
q	Quartett
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
mRNA	Botenribonucleinsäure (messenger RNA)
RT	Reverse Transkriptase
R <sub>t</sub>	Raumtemperatur
s	Singulett
t	Triplett
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
Tab.	Tabelle
t <sub>R</sub>	Retentionszeit
THF	Tetrahydrofuran
wäss.	Wässrig

---

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Allgemeines .....	1
2	Kenntnisstand .....	5
2.1	Das Prodrug-Konzept .....	5
2.2	Das <i>cycloSal</i> -Konzept.....	12
2.2.1	„lock-in“-modifizierte <i>cycloSal</i> -Pronucleotide .....	16
3	Aufgabenstellung .....	20
4	Resultate und Diskussion .....	23
4.1	Allgemeine Synthesen: .....	23
4.1.1	Synthese von d4T.....	23
4.1.2	Synthese der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester 52a-c und 55a-c .....	24
4.1.3	Synthese der Vinylcarbamate 58a und 58b .....	27
4.1.4	Synthese der 3/5-Bromsalicylalkoholisopropylidenacetale 66 und 67 ....	29
4.2	Arbeiten zu estermodifizierten <i>cycloSal</i> -Nucleosid-Monophosphaten mit C2-Linker .....	31
4.2.1	Synthesen.....	31
4.2.2	Trennung der Diastereomerengemische 38a und 42a.....	36
4.2.3	Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten .....	38
4.2.4	Antivirale <i>in vitro</i> Aktivität der „lock-in“-modifizierten- <i>cycloSal</i> -d4TMPs mit C2-Linkerkette .....	49
4.3	Arbeiten zu estermodifizierten <i>cycloSal</i> -Nucleosid-Monophosphaten mit verlängerter Alkylkette .....	53
4.3.1	Synthesestrategien .....	53
4.3.2	Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten .....	75
4.4	Arbeiten zu den carbamatfunktionalisierten <i>cycloSal</i> -Nucleosid-Monophosphaten .....	89
4.4.1	Synthese der carbamatfunktionalisierten Salicylalkoholderivate 37 und 47a-c .....	89
4.4.2	Synthese der carbamatfunktionalisierten Chlorphosphite 131a-b und 132. ....	91
4.4.3	Synthese der carbamatfunktionalisierten <i>cycloSal</i> -d4T-Monophosphate 39 und 47a-b .....	92

---

4.4.4	Versuch der Synthesen von 3/5-AminoEt- <i>cycloSal</i> -d4TMP 40 und 133	92
4.4.5	Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten	95
4.4.6	Antivirale <i>in vitro</i> Aktivität der carbamat- und aminfunktionalisierten <i>cycloSal</i> -d4TMPs 39, 40 und 47a	100
4.5	<sup>31</sup> P-NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolyseprodukte	102
5	Zusammenfassung	105
6	Summary	110
7	Ausblick	112
8	Experimentalteil	114
8.1	Allgemeines:	114
8.1.1	Edukte und Reagenzien	114
8.1.2	Lösungsmittel	114
8.1.3	Chromatographie	115
8.1.4	Spektroskopie	118
8.1.5	Geräte	119
8.2	Synthesen	121
8.2.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV):	121
8.2.2	Allgemeine Synthesen:	129
8.2.3	Synthese der Phenolderivate	143
8.2.4	Synthese der <i>Isopropyliden</i> geschützten <i>Salicylalkoholderivate</i>	146
8.2.5	Synthese der <i>Salicylalkoholderivate</i>	155
8.2.6	Synthese der <i>Chlorphosphite</i>	167
8.2.7	Synthese <i>cycloSal</i> -Nucleosid-Monophosphate	175
8.3	Hydrolyseexperimente	203
8.3.1	Verwendete Puffer und Lösungen	203
8.3.2	Bestimmung der chemischen Hydrolysehalbwertszeiten	204
8.3.3	Hydrolysekinetiken in humanen T-Lmpyhozyten-Zell-Extrakten	204
8.3.4	Hydrolysekinetiken in Mäuseleberzellen-Extrakten	205
9	Literatur	206

---

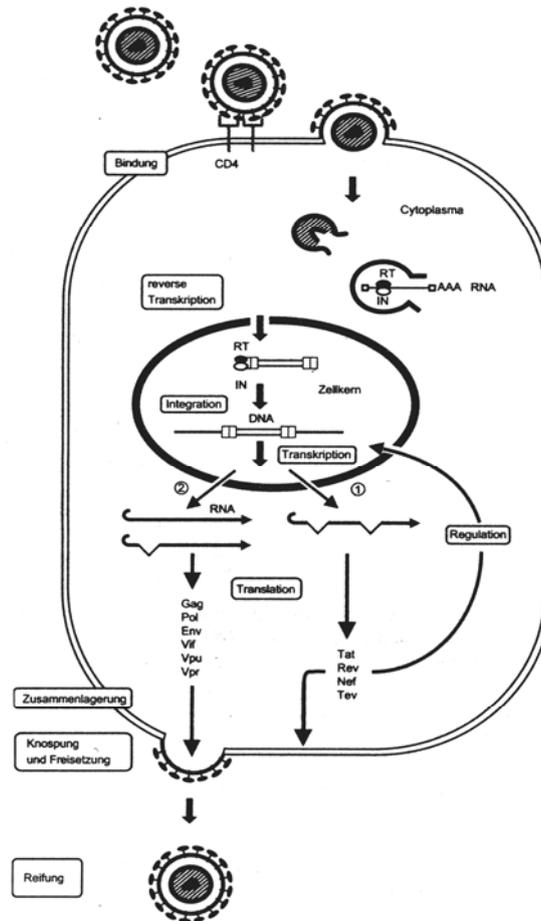
# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeines

Die unheilbare Krankheit AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) stellt eine der gefährlichsten Infektionskrankheiten der heutigen Zeit dar. Sie wird durch das HI-Virus (Human Immunodeficiency Virus) ausgelöst, welches im Jahr 1983 von Montagnier und Gallo isoliert und charakterisiert wurde.<sup>1</sup> Das HI-Virus bildet zwei große Familien, HIV-1, das hauptsächlich in Nordamerika, Europa und Nordafrika verbreitet ist, und HIV-2, das vornehmlich in Asien und Westafrika vorkommt. Beide Familien lassen sich wiederum in mehrere Subtypen unterteilen.<sup>2</sup> Schätzungsweise 42 Millionen Menschen auf der ganzen Welt sind mit dem Virus infiziert. Besonders in den Entwicklungsländern nimmt die Krankheit bedrohliche Ausmaße an. Mangelnde Aufklärung über Präventionsmaßnahmen und vor allem fehlende finanzielle Mittel sind hier die Hauptursachen für die hohe Zahl der Infizierten. Aber auch in den westlichen Industrienationen kommt es trotz zahlreicher Kampagnen jährlich zu einer steigenden Anzahl von Neuinfektionen mit HIV.<sup>3</sup>

Das HI-Virus gehört zu den Retroviren; sein retroviraler Replikationszyklus ist in Abbildung 1 illustriert.

Zunächst heftet sich ein Viruspartikel an Zellen, die den Oberflächenrezeptor CD4 tragen (z.B. T-Helferzellen), anschließend verschmilzt die Virushülle mit der Zellmembran. Im nächsten Schritt schleust das Virus seine Erbinformation in die Wirtszelle. Bei Retroviren liegt die genetische Information in Form einsträngiger RNA vor, sie wird mit Hilfe des viruseigenen Enzyms Reverse Transkriptase (RT) in die komplementäre DNA transkribiert. Die dazu benötigten Nucleotide liegen in der Wirtszelle vor. Nun integriert die virale Integrase (IN) das Transkript in das Wirtsgenom. Bei den folgenden Zellteilungen wird die virale DNA wie die zelleigene repliziert. Unter Verwendung der integrierten DNA (Provirus) als Vorlage beginnt die Zelle mit der Produktion von viralen Proteinen und RNA. Ein drittes Enzym, die HIV Protease, prozessiert die neuen Enzyme. Anschließend wird ein neues Viruspartikel gebildet. Diese neuen Virus-Partikel werden nun von der Zelle freigegeben und können weitere Zellen infizieren.<sup>4</sup>



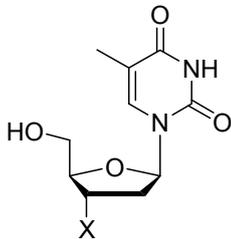
**Abbildung 1:** Retroviraler Replikationszyklus (aus: S. Modrow, D. Falke; Molekulare Virologie; Spektrum Verlag; Heidelberg; 1998)

Zur Bekämpfung des HI-Virus ergeben sich durch den retroviralen Replikationszyklus sechs Ansatzpunkte:<sup>5</sup>

- Eine Blockade des Glycoproteins gp120 der Virushülle soll die Bindung von HIV an den CD4-Rezeptor unterbinden.
- Die Inhibierung der RT soll die Bildung von DNA aus der viralen RNA verhindern.
- Eine Hybridisierung der mRNA mit Antisense-Oligonucleotiden soll die Translation unterbinden.
- Die Bildung von Tripel-Helices kann eine Transkription der DNA in virale mRNA verhindern.
- Protease-Inhibitoren sollen die Proteinprozessierung hemmen.

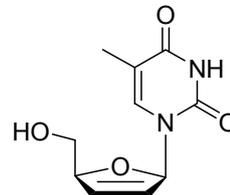
Eine weitere Möglichkeit stellt die Kombinationstherapie mit gleichzeitiger Ein aussichtsreicher Ansatz scheint die RT-Inhibition zu sein, da mit der Hemmung der

reversen Transkription ein virusspezifischer Vorgang gestört wird, der für die Wirtszelle ohne Bedeutung ist. RT-Inhibitoren sind somit potentiell hochselektive antiretrovirale Wirkstoffe. Die Abbildung 2 gibt einige ausgewählte Wirkstoffe wieder.

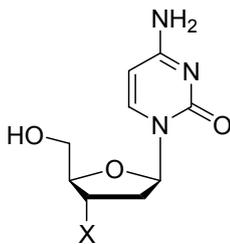


X = N<sub>3</sub>: 2',3'-Dideoxy-3'-azidothymidin, AZT **1**  
(Zidovudin, Retrovir®)

X = OH: 2'-Desoxythymidin (dT) **7**

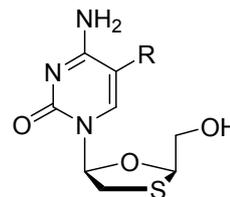


2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin, d4T **2**  
(Stavudin, Zerit®)



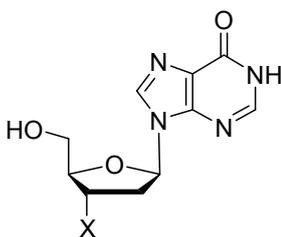
X = H: 2',3'-Dideoxycytidin, ddC **3**  
(Zalcitabin, Hivid®)

X = OH: 2'-Desoxycytidin (dC) **8**



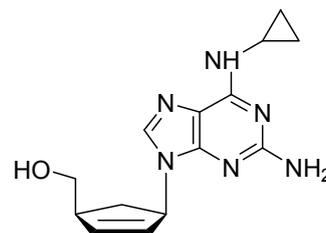
R = H: L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC) **4a**  
(Lamivudin, Epivir®)

R = F: L-5-Fluor-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidin (FTC) **4b**  
Emtriva®



X = H: 2',3'-Dideoxyinosin, ddl **5**  
(Didanosin, Videx®)

X = OH: 2'-Desoxyinosin (dl) **9**



1592U89, ABV **6**  
(Abacavir, Ziagen®)

**Abbildung 2:** Nucleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI) und ihre natürlichen Stammverbindungen

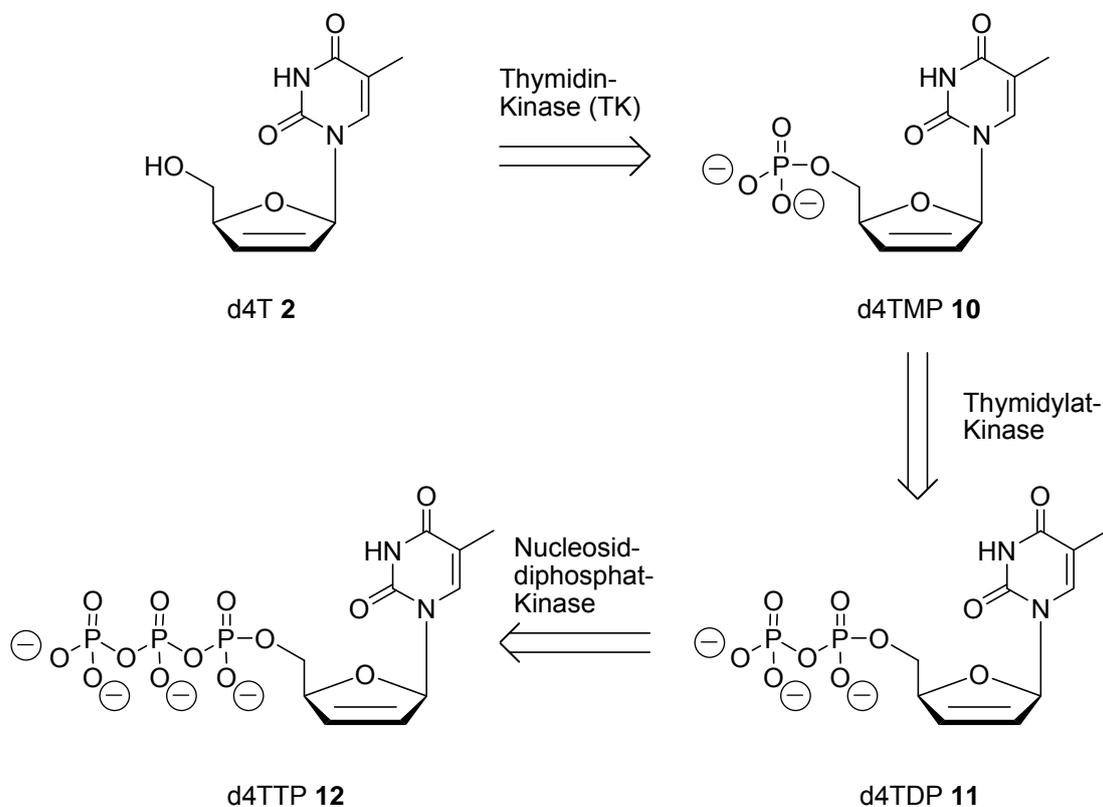
---

Bei den RT-Inhibitoren handelt es sich in der Regel um Nucleosid-Analoga. So leiten sich beispielsweise AZT **1** sowie d4T **2** vom natürlichen 2'-Desoxythymidin (dT) **7** ab, wohingegen die Nucleosid-Analoga 3TC **4a** und FTC **4b** sich von dem nicht natürlich vorkommenden Nucleosid L-2',3'-Dideoxycytidin ableiten. Im Fall 3TC **4a** wurde eine Schwefel-Modifikation im Glycon vorgenommen, bei FTC **4b** wurde zusätzlich ein Fluor-Atom in die Base eingeführt. Allen RT-inhibierenden Nucleosid-Analoga ist gemein, dass sie keine 3'-Hydroxyl-Gruppe besitzen. Werden sie in einen DNA-Strang eingebaut, kann keine weitere Elongation in 3'-Richtung erfolgen, so dass die reverse Transkription an dieser Stelle abbricht und es zusätzlich zu einer kompetitiven Inhibition des Enzyms kommt. Im Gegensatz zur Reversen Transkriptase besitzen die körpereigenen  $\delta$ - und  $\epsilon$ -DNA-Polymerasen ein "Proof-reading", welches die in den DNA-Strang eingebauten Nucleosid-Analoga erkennt und eliminiert. Der Replikationszyklus der Wirtszelle sollte somit durch die Applikation der beschriebenen RT-Inhibitoren weitestgehend nicht berührt werden. Es handelt sich also um selektive antiretrovirale Wirkstoffe.

## 2 Kenntnisstand

### 2.1 Das Prodrug-Konzept

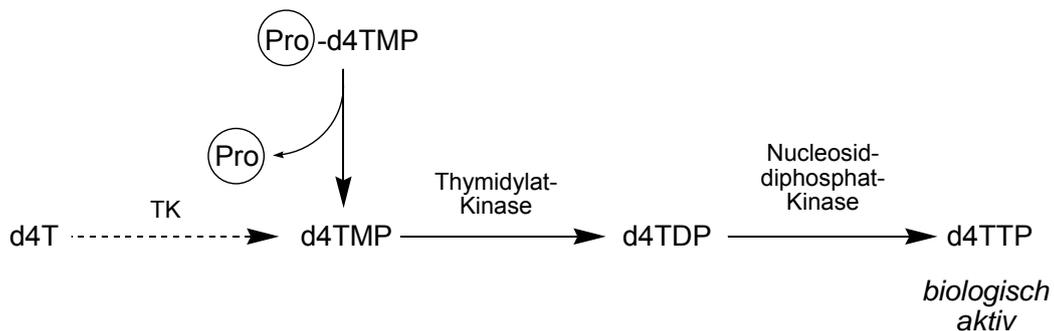
Nucleotide werden stets in Form von Nucleosid-Triphosphaten in DNA-Stränge eingebaut, deshalb müssen auch die therapeutisch eingesetzten Nucleosid-Analoga zu Triphosphaten metabolisiert werden. Diese Phosphorylierungen werden normalerweise durch zelleigene Kinasen katalysiert, welche auch die natürlichen Nucleoside phosphorylieren. Um Nucleosid-Triphosphate zu erhalten, müssen also drei Phosphorylierungsreaktionen katalysiert werden (Abbildung 3). d4T **2** beispielsweise wird von der zelleigenen Thymidin-Kinase (TK) zunächst zum 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidinmonophosphat (d4TMP **10**) phosphoryliert und dann durch die Thymidylat-Kinase zum 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidindiphosphat (d4TDP **11**) umgesetzt. Der dritte Phosphatrest wird durch die Nucleosiddiphosphat-Kinase übertragen, so dass schließlich das biologisch aktive 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidintriphosphat (d4TTP **12**) erhalten wird.



**Abbildung 3:** Metabolisierung von d4T **2**

Aufgrund mangelnder Substrataffinität der beteiligten Kinasen können einzelne Phosphorylierungsschritte für Nucleosid-Analoga gehemmt sein.<sup>6</sup> Beim d4T **2** ist dies bei der ersten Phosphorylierung durch die Thymidin-Kinase zum d4TMP **10** der Fall. Die nachfolgenden Reaktionen zum d4TTP **12** verlaufen zwar wesentlich langsamer als beim natürlichen Substrat 2'-Desoxythymidin (dT) **7**, jedoch ist die Metabolisierung zum d4TMP als geschwindigkeitsbestimmender Schritt einzuordnen. Der damit verbundene Aktivitätsverlust kann durch die direkte Verabreichung von d4TMP umgangen werden (TK-Bypass; Abbildung 4).

Eine direkte Applikation ist jedoch nicht ohne weiteres möglich. Im Allgemeinen können phosphorylierte Nucleosid-Analoga als geladene Moleküle aufgrund mangelnder Lipophilie nicht passiv durch die semipermeablen Membranen diffundieren; ein aktiver Transportmechanismus ist nicht vorhanden. Weiterhin wären sie potentielle Substrate für nichtspezifische Phosphatasen, die im Blut vorhanden sind.



**Abbildung 4:** Schematische Darstellung des TK-Bypasses

Um eine Applikation dennoch möglich zu machen, werden die negativ geladenen Sauerstoffatome durch Derivatisierung reversibel maskiert. Solche Verbindungen nennt man im allgemeinen Prodrugs, in diesem Fall Pronucleotide. Es handelt sich um pharmakologisch inaktive Verbindungen, die durch Aktivierung im Organismus die Maske abspalten und den aktiven Wirkstoff freisetzen.

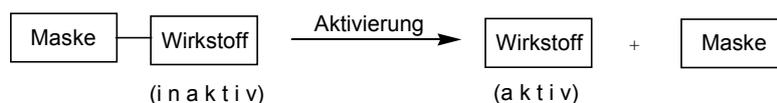
Ein Pronucleotid sollte prinzipiell folgende Voraussetzungen erfüllen:

1. Ausreichende Hydrophilie, um im Blutserum löslich zu sein; ausreichende Lipophilie, um passiv durch die Membranen diffundieren zu können.
2. Die Stabilität muss hoch genug sein, so dass der eigentliche Wirkort erreicht werden kann.
3. Der Wirkstoff muss durch enzymatische oder chemische Hydrolyse freigesetzt werden.
4. Die abgespaltene Maske sollte nicht toxisch sein.

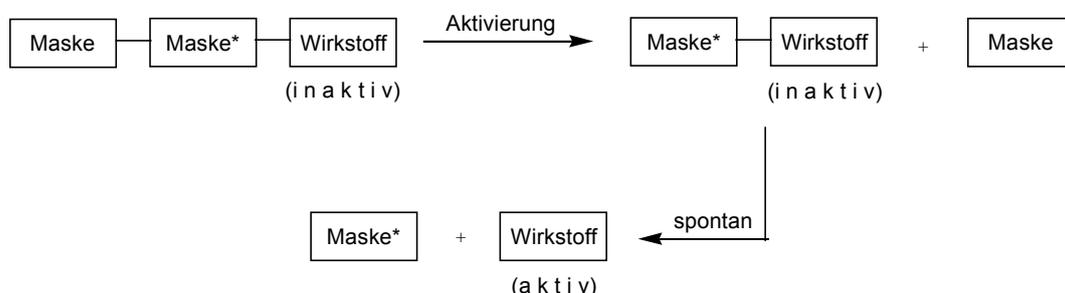
Die Aktivierung kann durch enzymatische Reaktionen und/oder durch chemische Hydrolyse erfolgen. Sie kann während oder nach der Applikation erfolgen, sollte idealerweise aber erst am Wirkort eintreten.

Man unterscheidet allgemein zwischen zwei- und dreiteiligen Prodrugs (Abbildung 5). Beim zweiteiligen Prodrug-Konzept wird der Wirkstoff durch eine Ein-Komponenten-Maske geschützt. Die Abspaltung der Maske führt zur Freisetzung des aktiven Wirkstoffs. Im Gegensatz dazu wird bei einem dreiteiligen Prodrug-Konzept der Wirkstoff durch eine Zwei-Komponenten-Maske derivatisiert. Die Abspaltung eines Teils der Maske führt zur Aktivierung des verbliebenen Teils, so dass die spontane Freisetzung des biologisch aktiven Wirkstoffs erfolgt.

Zweiteiliges Prodrug-Konzept:

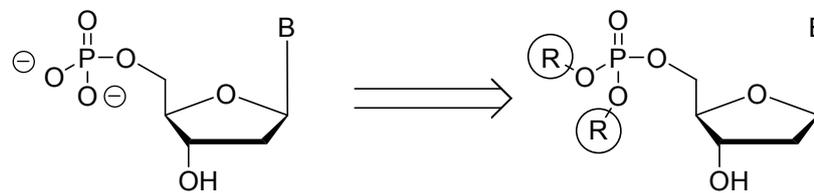


Dreiteiliges Prodrug-Konzept:



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung eines zwei- und dreiteiligen Prodrug-Systems

Bei Pronucleotiden müssen zwei negativ geladene Sauerstoffatome an der Phosphatgruppe maskiert werden, so dass die Verwendung von zwei Masken unumgänglich ist (Abbildung 6).



B = Nucleobase

**Abbildung 6:** Vom Nucleotid zum Pronucleotid

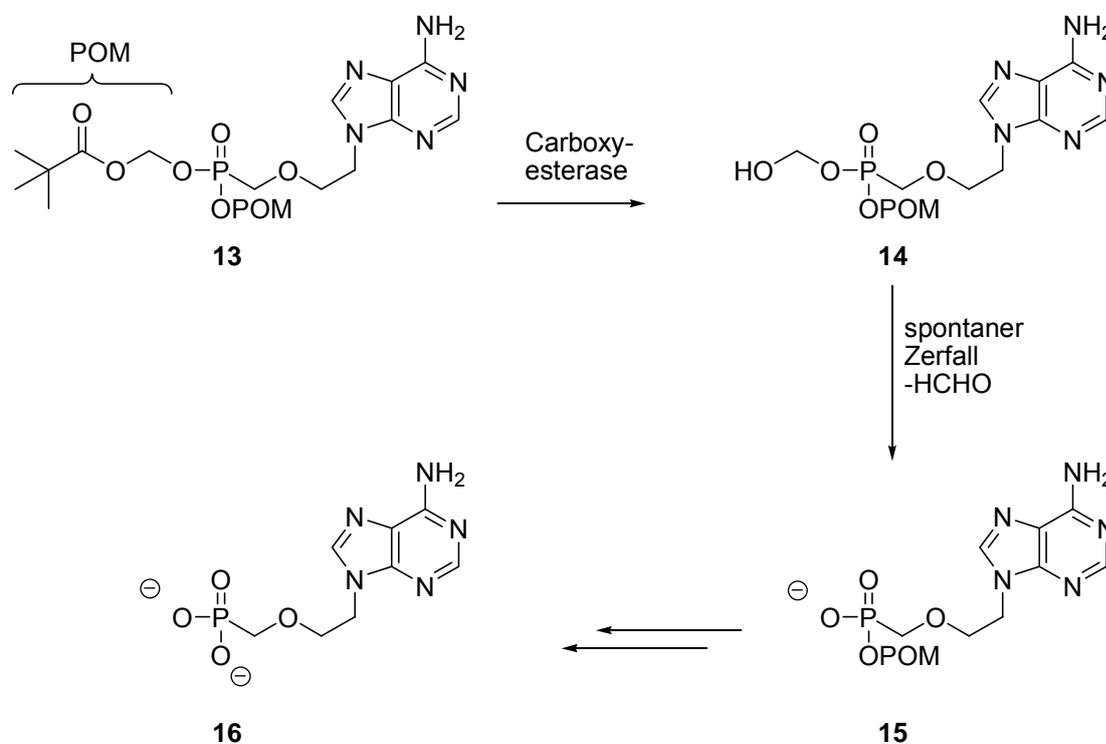
Die ersten Pronucleotid-Systeme waren Dialkylphosphatester (zweiteiliges Prodrug-Konzept). Sie zeigten, dass die Abspaltung einer Maske durch nucleophile Reaktion am Phosphorzentrum durchaus möglich ist. Jedoch verhinderte die negative Ladung des entstehenden Phosphatdiesters eine weitere Hydrolyse, so dass der Wirkstoff nicht freigesetzt werden konnte. Neuere dreiteilige Ansätze nutzen Masken, bei denen eine erste selektive chemische oder enzymatische Reaktion an der Maske zu einer zweiten spontanen Reaktion führt, die schließlich das biologisch aktive Nucleotid liefert.

Einige Beispiele für derartige Systeme werden hier genannt:

- bis(POM)-Nucleotide [bis(Pivaloyloxymethyl)-]<sup>7,8,9,10,11</sup>
- bis(SDTE)-Nucleotide [bis(S-(2-Hydroxyethylsulfidyl)-2-thioethyl)-]<sup>12</sup>
- bis(SATE)-Nucleotide [bis(S-Acy-2-thioethyl)-]<sup>12,13,14,15</sup>
- Aryl-(SATE)-Nucleotide [Aryl-( S-Acy-2-thioethyl)-]<sup>16</sup>
- bis-(SGTE)-Nucleotide [bis-(S-( $\beta$ -Glucopyranosidyl)-2-thioethyl)-]<sup>17</sup>
- bis-(AB)-Nucleotide [bis-4-Acyloxybenzyl)-]<sup>18,19</sup>
- APA-Nucleotide [Arylphosphoramidat-]<sup>20</sup>
- Phosphoramidat-Nucleoside<sup>21,22,23,24,25,26</sup>

Diese Prodrug-Systeme basieren alle auf einem enzymatisch induzierten Spaltungsmechanismus, wobei in der Regel eine Carboxyesterase-vermittelte Esterhydrolyse die Freisetzung des Nucleotids einleitet. In Abbildung 7 wird

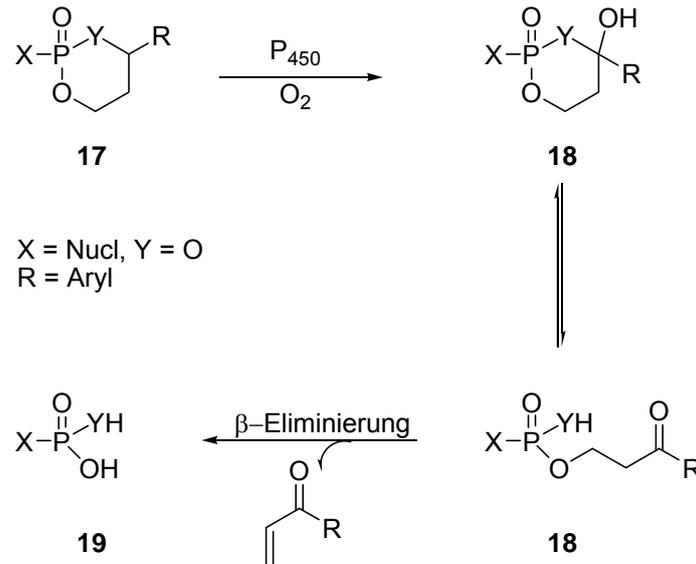
beispielhaft der Freisetzungsmechanismus des Bis-(POM)-PMEA-Prodrugs **13** beschrieben.<sup>27</sup> Dieses ist bereits unter dem Namen Hepsera® als Therapeutikum gegen das Hepatitis-B-Virus (HBV) zugelassen.<sup>28</sup>



**Abbildung 7:** Freisetzungsmechanismus des bereits zugelassenen Bis-(POM)-PMEA-Prodrug **13** Hepsera®

Im ersten Schritt wird durch eine Carboxyesterase einer der Carbonsäureester verseift, wodurch das instabile Halbacetal **14** entsteht. Dieses zerfällt sofort in Formaldehyd und den Phosphatdiester **15**. Die Metabolisierung des verbliebenen POM-Esters von **15** verläuft analog zur Ersten, jedoch wird jetzt das gewünschte Nucleosid-Phosphonat **16** freigesetzt.

Ein neues Prodrug-System stellten Erion *et al.* im Jahre 2004 vor.<sup>29</sup> Dieses sogenannte „HepDirect®-Prodrug“ ist in der Lage hoch selektiv in der Leber Phosph(on)ate von therapeutisch wirksamen Nucleosid-Analoga, wie z.B. 3TC **4a** einem Wirkstoff gegen Hepatitis B, freizusetzen. Das Konzept ist in der Abbildung 8 schematisch dargestellt.



**Abbildung 8:** Spaltungsmechanismus von Hepdirect®-Pronucleotiden

Das Prodrug beinhaltet cyclische Ester der Nucleosidphosph(on)ate von aryl-substituierten 1,3-Propandiolen. Diese werden in einer Cytochrom P<sub>450</sub> vermittelten Oxidation in der 4-Position hydroxyliert. Diese hydroxylierten Verbindungen **18** liegen im Gleichgewicht mit ihrer offenkettigen Form **18** vor, wobei das Gleichgewicht in der Regel auf der Seite der negativ geladenen Form liegt. Eine anschließende  $\beta$ -Eliminierung der offenkettigen Verbindung liefert dann das Nucleosidphosph(on)at **19** und ein Aryl-Vinyl-Keton. Das potentiell toxische Aryl-Vinyl-Keton wird durch Glutathion (GSH) in das entsprechende nicht toxische Addukt überführt. In Studien konnten Erion *et al.* zeigen, dass die Cytochrom P<sub>450</sub> vermittelte Oxidation fast ausschließlich in der Leber stattfindet und somit dort eine hoch selektive Freisetzung des Wirkstoffs gewährleisten können.<sup>30</sup>

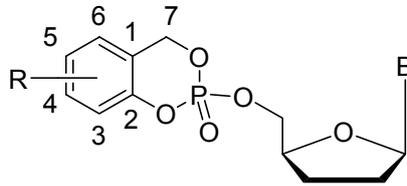
Die hier erwähnten Pronucleotid-Systeme haben entscheidende Nachteile: Ihre Masken sind zum Teil stark toxisch. Ein weiterer Nachteil ist die Abhängigkeit von Enzymen zur Abspaltung des Wirkstoffs. Sie beschränkt die Anwendbarkeit auf Zellen, die die entsprechenden Enzyme zur Verfügung stellen. Weiterhin konkurrieren diese Prodrugs mit den natürlichen Substraten um eine Umsetzung, so dass eine kontinuierliche Freisetzung des Wirkstoffs nicht gesichert ist. Eine kontinuierliche und gleichmäßige Verfügbarkeit ist aber ein entscheidender Faktor, um Resistenzbildungen zu vermeiden.<sup>31</sup>

Das von Meier *et al.* entwickelte *cycloSal*-Konzept stellt ein vollkommen neuartiges Pronucleotid-Konzept dar. Im Gegensatz zu den bisher vorgestellten Prodrug-Systemen beinhaltet es eine einzige cyclische Maske, die sich vom Salicylalkohol

---

ableitet (vgl. Abbildung 9) Die Tatsache, dass mit einem einzigen Molekül beide negativen Ladungen an den Sauerstoffatomen maskiert werden, ergibt ein günstiges Masken/Wirkstoff-Verhältnis von 1:1, was die Verträglichkeit des Prodrugs deutlich steigern könnte. Ein weiterer Vorteil ist die ausschließlich chemisch induzierte Hydrolyse des Prodrugs; die Unabhängigkeit von Enzymen ermöglicht eine kontinuierliche Freisetzung des Wirkstoffs.

## 2.2 Das *cycloSal*-Konzept



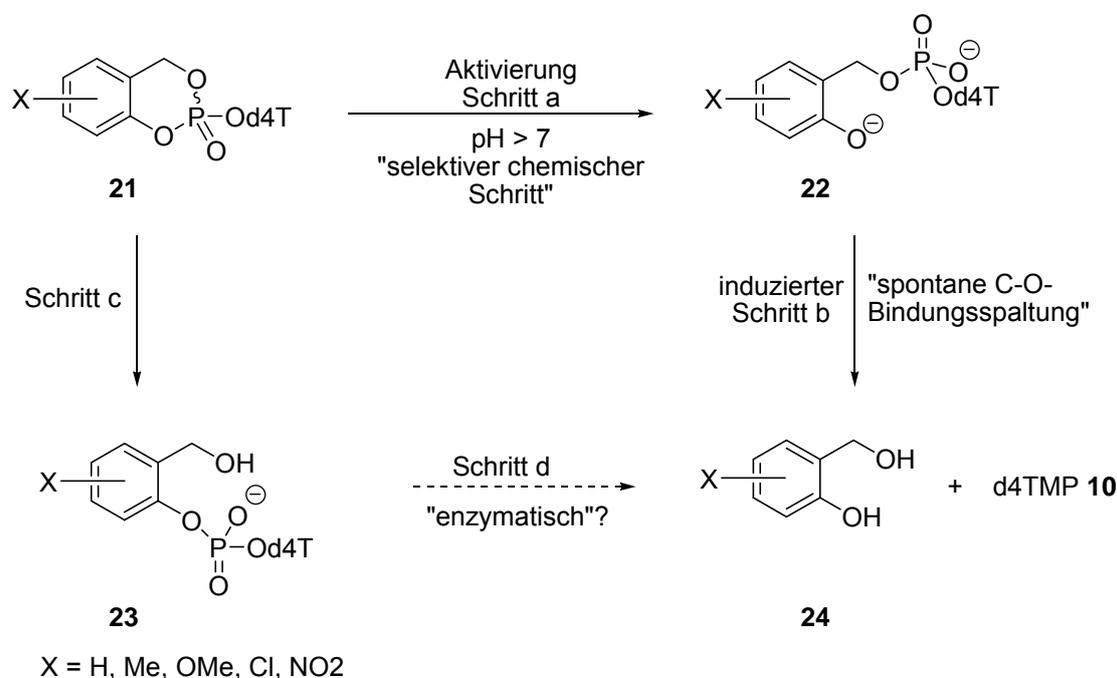
B = Heterocyclus  
R = H, Me, OMe, Cl, NO<sub>2</sub>

**Abbildung 9:** Grundstruktur eines *cycloSal*-Nucleotids mit der Nummerierung der Kohlenstoffatome

Es sei darauf hingewiesen, dass sowohl die Nummerierung der Kohlenstoffatome als auch die Benennung der Ringseiten in der Aryl-Einheit nicht den IUPAC-Regeln folgt, sondern willkürlich ist. Die Besonderheit der *cycloSal*-Nucleotide besteht in der Abspaltung der cyclischen Maske durch eine selektiv verlaufende chemische Hydrolyse.<sup>31,32</sup> Diese Selektivität wird durch die unterschiedlichen Stabilitäten der Benzyl-<sup>33</sup>, Phenyl-<sup>34</sup> und Alkylphosphat-ester-Bindungen erreicht. In Abbildung 10 wird ein Reaktionsschema für die Hydrolyse der *cycloSal*-Nucleotide am Beispiel von d4T-Derivaten dargestellt.

In einem ersten Hydrolyseschritt wird die Benzylester-Bindung des *cycloSal*-NMPs (im Beispiel in Abbildung 10 ist die Prototyp-Struktur von *cycloSal*-d4TMP **21** gezeigt) gespalten. Diese stellt die labilste Esterbindung des Pronucleotids dar, da aus der Spaltung dieser Bindung ein mesomeriestabilisierter 2-Hydroxybenzyl-d4T-phosphatdiester **22** resultiert (Schritt a, Abbildung 10). Die alternativ denkbare Spaltung der Benzylester-Bindung von **21** würde hingegen zu einem 2-Hydroxymethylphenyl-d4T-phosphatdiester **23** führen (Schritt c, Abbildung 10). Da jedoch die Phosphatgruppe als schwacher Donor-Substituent in *ortho*-Position zum Benzylester dessen Hydrolyse stark verlangsamt,<sup>33</sup> kommt es nicht zu dieser Reaktion, und der Schritt a aus Abbildung 10 verläuft als selektiver chemischer Schritt. Bedingung hierfür ist lediglich ein alkalisches pH-Milieu, wie es in biologischen Systemen häufig vorliegt (physiologische pH-Bedingungen pH 7.1 - 7.4). Durch diesen ersten Hydrolyseschritt wird der schwache Donor-Substituent in der C-2-Position der *cycloSal*-Maske (eine Phosphat-Gruppe) in einen starken

Donor-Substituenten (Hydroxyl-Gruppe) überführt. Diese erhebliche Verstärkung der Donoreigenschaften des *ortho*-Substituenten induziert schließlich die spontane Spaltung des Phosphatdiesters **22** zum potentiellen Wirkstoff d4TMP und dem Salicylalkohol-Derivat **24** (Schritt b, Abbildung 10).<sup>34</sup> Insgesamt liegt somit eine Tandem-Reaktion vor. Es sei angemerkt, dass der entstehende Phenyl-Phosphatdiester **23** aufgrund der negativen Ladung an der Phosphatgruppe gegen den erneuten nucleophilen Angriff eines Hydroxid-Anions auf das Phosphor-Atom inert wäre, so dass nur eine selektive enzymatische Spaltung der Phenylester-Bindung in **23** durch eine Phosphodiesterase zur Bildung von d4TMP **10** und dem Diol **24** führen würde (Schritt d, Abbildung 10).



**Abbildung 10:** Reaktionsschema für die selektiv chemische Hydrolyse eines *cycloSal*-d4TMPs

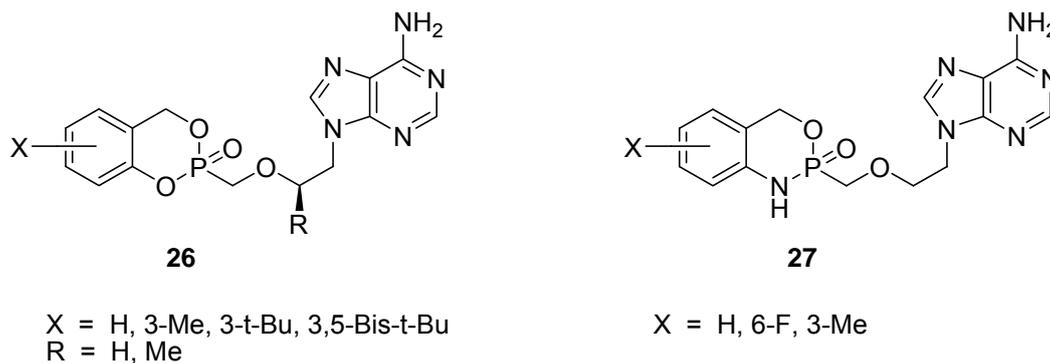
Das *cycloSal*-Konzept wurde bereits für die Nucleosid-Analoga d4T **2** (TK-Bypass)<sup>35,36,37</sup> 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) und seine Derivate (d4A, 2'-Fluor-*ara*-ddA, 2'-Fluor-*ribo*-ddA; Adenosindesaminase-Bypass)<sup>38,39,40,41</sup> und 2',3'-Didesoxythymidin (ddT) etabliert.<sup>42</sup> Auch auf das Nucleosid-Analogon BVDU wurde das Konzept bereits erfolgreich angewendet. Hierbei wurden vor allem die Auswirkungen von strukturellen Modifikationen am Glycon von BVDU (Veresterung der 3'-Hydroxyl-Funktion mit Carbon- und Aminosäuren) auf die Eigenschaften der *cycloSal*-

---

BVDUMPs untersucht. Außerdem gelang durch Anwendung des *cycloSal*-Konzeptes die erstmalige Darstellung anti-EBV-aktiver BVDU-Derivate.<sup>43,44,45</sup> Für die *cycloSal*-d4TMPs wurde der folgende Zusammenhang zwischen dem Substitutionsmuster des aromatischen Ringes und der antiviralen Aktivität gefunden: Je stärker die Elektronendonorfähigkeit des Substituenten X ist, desto besser ist auch die Aktivität des Pronucleotids gegen HIV-1 und HIV-2 in CEM/0-Zellen. So erhöht beispielsweise der Substituent X = Me die antivirale Aktivität, für X = NO<sub>2</sub>, Cl wird sie vermindert. Die Begründung hierfür liegt in den unterschiedlichen Hydrolysehalbwertszeiten, sie wird durch einen Donorsubstituenten wie X = Me erhöht, wohingegen ein elektronenziehender Substituent die Halbwertszeit erniedrigt.

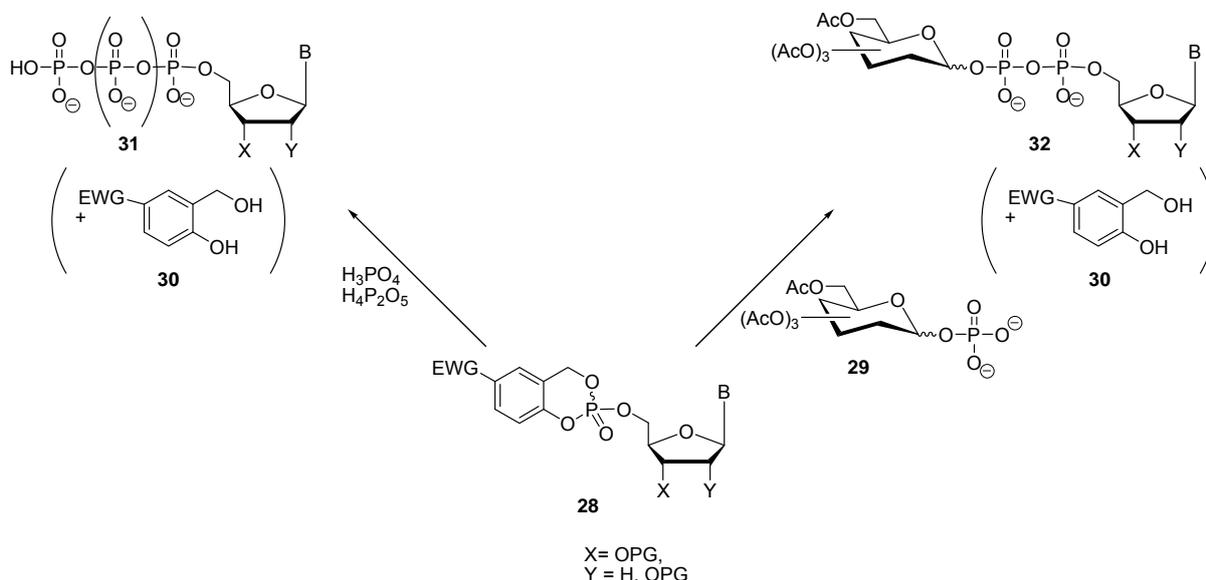
Bis auf die sehr labilen 5-Nitro- und 5-Chlor-*cycloSal*-d4TMP (X = NO<sub>2</sub>, Cl) zeigten alle Verbindungen auch in Thymidin-Kinase-defizienten CEM/TK<sup>-</sup>-Zellen hohe biologische Aktivitäten, was eine Bestätigung des TK-Bypass-Konzeptes darstellte.<sup>46</sup> Darüber hinaus wurden zur weiteren Bestätigung Metabolismus-Studien mit Tritium-markierten *cycloSal*-Nucleotiden durchgeführt.<sup>47,48</sup>

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass *cycloSal*-Prodrugs auch auf acyclische und carbocyclische Nucleosid-Analoga wie z.B. PMEA **16** und Abacavir **6** angewandt werden können.<sup>49,50,51,52,53</sup> Bei den ersten Versuchen das *cycloSal*-Konzept auf Nucleosid-Phosphonate wie z.B. PMEA **16** oder PMPA **25** anzuwenden, stellte man fest, dass die Verbindungen aufgrund ihrer Labilität schlechte antivirale Eigenschaften aufwiesen.<sup>54</sup> Um die Hydrolysestabilität zu erhöhen, wurde das phenolische Sauerstoff- durch ein Stickstoffatom getauscht, um die Elektrophilie des Phosphoratoms zu erniedrigen. Dadurch entstand eine neue Klasse von Prodrugs, die sogenannten *cycloAminobenzyl*- (*cycloAmb*-) Prodrugs. Tatsächlich konnte durch Einführung des Stickstoffatoms eine Erhöhung der Halbwertszeiten erreicht werden.<sup>55</sup> In der Abbildung 11 sind einige Strukturen Nucleosid-Phosphonate- und *cycloAmb*-Prodrugs dargestellt.



**Abbildung 11:** Strukturen der Nucleosid-Phosphonate- und *cycloAmb*-Prodrugs

Eine vollkommen neue Anwendung der *cycloSal*-Verbindungen ist die Verwendung in der Synthese. Hier wird der Phosphatriester als Aktivester zur Übertragung von Nucleotiden benutzt. In den ersten Arbeiten wurde zunächst ein *cycloSal*-Nucleosid-Monophosphat mit geschützten Glycosyl-1-phosphaten als Nucleophil zu sogenannten NDP-Zuckern umgesetzt.<sup>56,57,58</sup> Das Konzept wurde soweit erweitert, dass sowohl eine Variation der Zucker-Monophosphate als auch der Nucleosid-Monophosphate realisiert werden konnte (siehe Abbildung 12, rechts). So konnte eine erhebliche Ausbeutesteigerung gegenüber anderen literaturbekannten Synthesen erreicht werden.<sup>59,60</sup>



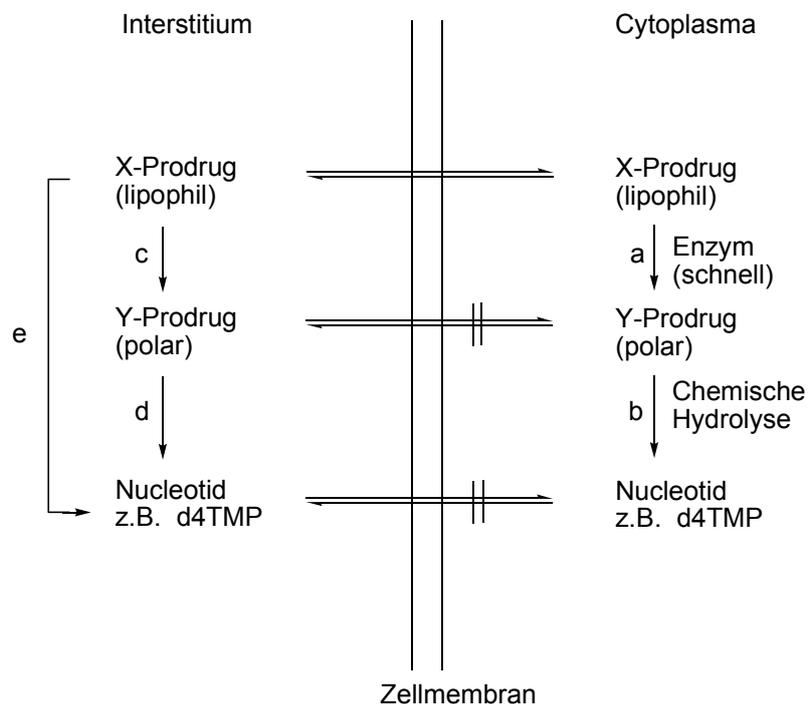
**Abbildung 12:** Anwendung des *cycloSal*-Konzepts als Synthesebaustein

Neben der Umsetzung der *cycloSal*-Pronucleotiden mit Zucker-Phosphaten sind auch Reaktionen mit anderen Nucleophilen, wie z.B. Phosphat oder Pyrophosphat, durchgeführt worden. So wurde eine neue, effiziente Syntheseroute für die

Darstellung von Desoxyribose- und Ribose-di/triphosphate erhalten (siehe Abbildung 12, links).

### 2.2.1 „lock-in“-modifizierte *cycloSal*-Pronucleotide

Für die *cycloSal*-Pronucleotide wird eine passive Zellaufnahme vermutet, ein aktiver Transportmechanismus ist nicht bekannt. Es ist also anzunehmen, dass das Prodrug nach der Aufnahme auch wieder aus der Zelle hinausdiffundieren kann, sich somit ein Gleichgewicht zwischen In- und Efflux an der Zellmembran einstellt. Ein derartiges Gleichgewicht ist nicht wünschenswert, da dies potentiell einen Verlust an antiviraler Aktivität bedeutet. Um dies zu umgehen, sollte durch eine Modifikation eine Hydrolyse selektiv im Cytoplasma gewährleistet werden („lock-in“). So entstand die zweite Generation, die sogenannten „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Pronucleotide. In Abbildung 13 ist eine schematische Darstellung des „lock-in“ illustriert.



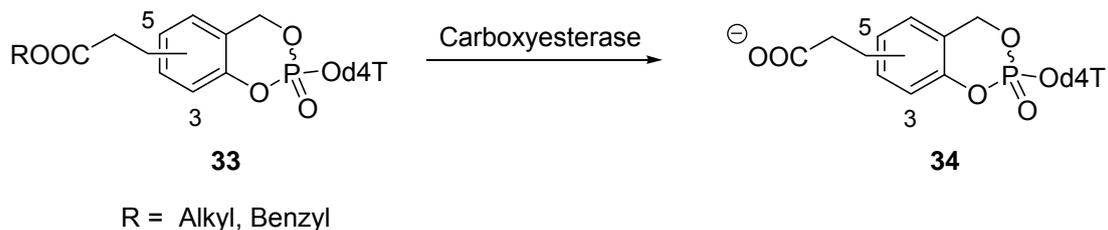
**Abbildung 13:** Postulierter „lock-in“ Mechanismus der zweiten Generation der *cycloSal*-Pronucleotide

Nachdem das lipophile Pronucleotid **X** die Zellmembran passiert hat, soll es durch eine schnelle enzymatische Reaktion in eine polare Verbindung **Y** überführt werden. Durch die gestiegene Polarität von **Y**, sollte eine Diffusion aus der Zelle nicht mehr

möglich sein ("lock-in"). Das eingeschlossene Pronucleotid **Y** sollte nun wie gewohnt durch eine chemische Hydrolyse das Nucleotid freisetzen (Schritt b, Abbildung 13). Es wäre denkbar, dass das postulierte Gleichgewicht zwischen In- und Efflux verstärkt auf die Seite des Influx gebracht werden kann. Auch außerhalb der Zelle ist eine enzymatische Umsetzung des Prodrugs und die anschließende Freisetzung des Wirkstoffs möglich (Schritt c und d, Abbildung 13), sollte aber durch die Wahl einer geeigneten Modifikation so wenig wie möglich stattfinden.

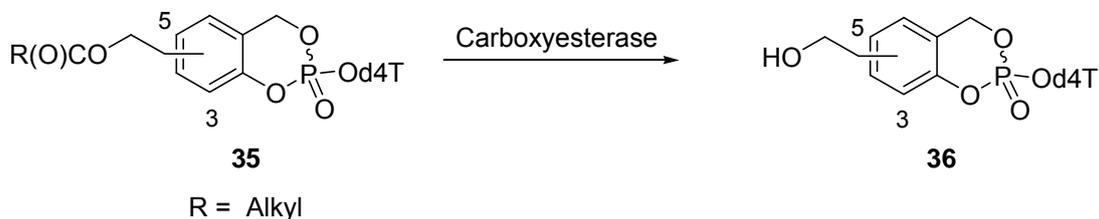
Aus Arbeiten von Imbach weiss man, dass die Konzentration von Carboxyesterasen im Cytoplasma deutlich höher ist als außerhalb der Zellen.<sup>12</sup> Aus diesem Grund wurde in ersten Arbeiten eine Esterfunktion über einen C2-Alkyl-Linker an den Aromaten der *cycloSal*-Maske eingeführt.<sup>77,79</sup> Für die Einführung einer Estermodifikation sind zwei Varianten denkbar:

1. Ester, die sich von der Propionsäure ableiten und nach Hydrolyse die freie Säure bzw. unter physiologischen Bedingungen (pH = 7.3) das Carboxylat liefern.



**Abbildung 14:** Estermodifikationen, die sich von der Propionsäure ableiten

2. Ester, die sich vom Ethylalkohol ableiten und entsprechend den freien Alkohol liefern.



**Abbildung 15:** Estermodifikationen, die sich von dem Ethylalkohol ableiten

Wie sich in den Arbeiten von Ruppel gezeigt hat, sind Estergruppen mit C2-Alkyl-Linker prinzipiell als Substrate für Carboxyesterasen geeignet. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass Ester, die sich von der Propionsäure ableiten, nicht enzymatisch gespalten werden. Dagegen werden die Ester, die sich von dem

---

Ethylalkohol ableiten, zum Teil sehr schnell gespalten. Leider ist die Polarität des resultierenden Alkohols nicht ausreichend, um eine Penetration der Zellmembran zu verhindern.<sup>78,84</sup> Eine weitere wichtige Erkenntnis aus den Vorarbeiten ist, dass der C2-Alkyl-Spacer nicht ausreicht, um den negativen induktiven Effekt der Estermodifikation vollständig von dem aromatischen Ring abzuschirmen.

#### 2.2.1.1 Nomenklatur der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Pronucleotide

Im Folgenden soll die verwendete Nomenklatur zur Bezeichnung der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Pronucleotide erläutert werden. Diese Nomenklatur wurde willkürlich gewählt und ist keineswegs IUPAC-konform (siehe auch Abbildung 16):

3-(Benzyl-4'-butanonyl)-cycloSaligenyl-d4T-monophosphat **37b**

= 3-BnBu-*cycloSal*-d4TMP **37b**

3-(Acetoxy-2'-ethyl)-cycloSaligenyl-d4T-monophosphat **38a**

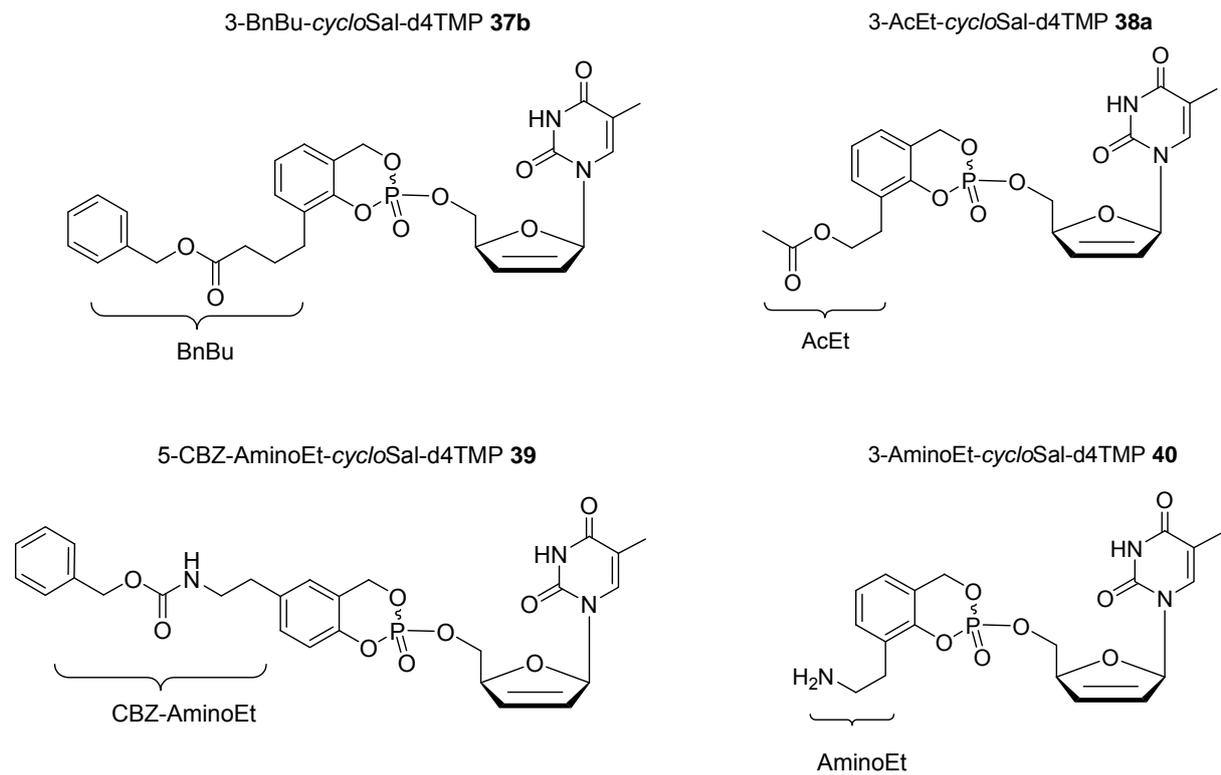
= 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a**

5-(Benzyloxycarbonyl-2'-aminoethyl)-cycloSaligenyl-d4T-monophosphat **39**

= 5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **39**

3-(Amino-2'-ethyl)-cycloSaligenyl-d4T-monophosphat **40**

= 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40**

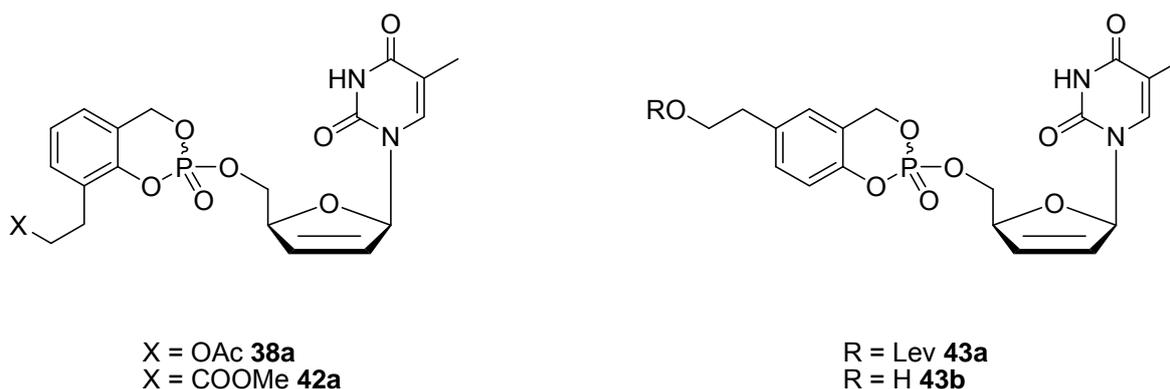


**Abbildung 16:** Einige Beispiele für die Nomenklatur „lock-in“-modifizierter *cycloSal*-d4TMPs

### 3 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit war die Darstellung und Untersuchung „lock-in“-modifizierter *cycloSal*-d4T-Pronucleotide. Dazu sollten an den *cycloSal*-Rest enzymatisch-spaltbare funktionelle Gruppen angeknüpft werden. Dies kann durch die Verwendung von Carbonsäureestern erreicht werden, die allerdings Elektronenakzeptoren darstellen. Um die Hydrolyseeigenschaften der *cycloSal*-Einheit möglichst wenig zu beeinflussen, musste die funktionelle Gruppe durch einen Linker (Spacer) vom *cycloSal*-Rest separiert werden.

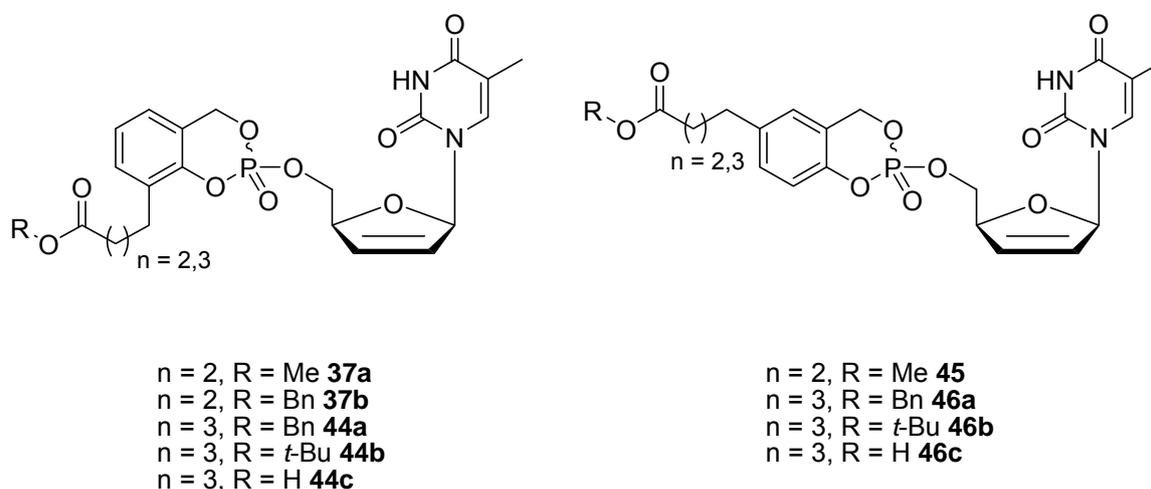
Ein Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich dabei mit Prodrugs, die eine Ethylengruppe als Spacer haben. Für die Verbindungen **38a** und **42a** sollte nach erfolgreicher Synthese eine Diastereomerentrennung durchgeführt werden, um den Einfluss der Konfiguration am Phosphoratom auf die Eigenschaften der Verbindungen zu untersuchen. Die Synthese von 5-LevEt-*cycloSal*-d4TMP **43a** diente zur Darstellung von 5-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **43b**. Mithilfe des freien Alkohols **43b** als Referenzverbindung, sollte eine enzymatische Metabolisierung bereits dargestellter Ester, wie z.B. 5-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **43c**, zweifelsfrei nachgewiesen werden.



**Abbildung 17:** „lock-in“-modifizierte *cycloSal*-d4T-Pronucleotide mit C2-Spacerkette

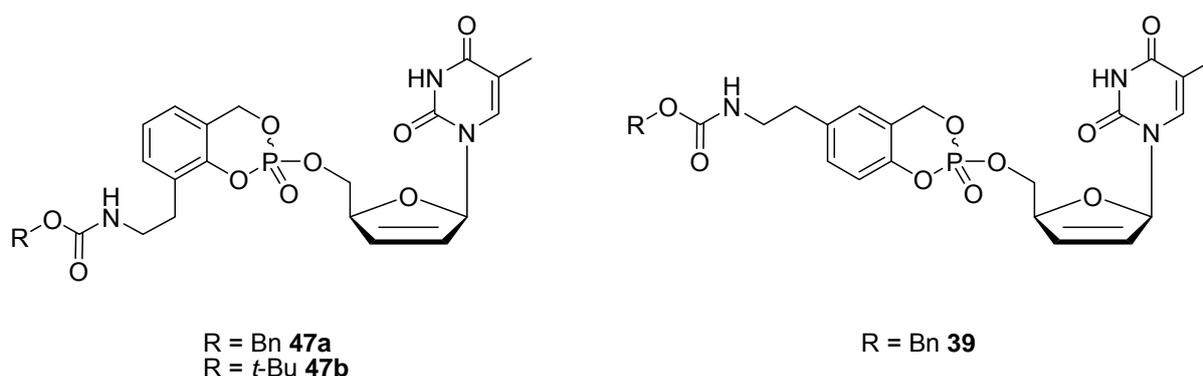
Des Weiteren sollten neue estermodifizierte „lock-in“-modifizierte *cycloSal*-d4T-Monophosphate mit einer Spacerkette von drei und vier gesättigten Kohlenstoffatomen synthetisiert und untersucht werden. Dabei lag der Fokus dieser Arbeit auf Methyl- und Benzylestern der Butan- und Pentansäure (siehe Abbildung 18), da bekannt ist, dass Methylester besonders schlechte und Benzylester

besonders gute Substrate für Carboxyesterasen darstellen. Für die Synthese der Referenzverbindungen **44c** und **46c** sollten die entsprechenden *t*-Butylester **44b** und **46b** dargestellt werden.



**Abbildung 18:** Zielverbindungen mit verlängerter Alkyl-Spacer-Kette

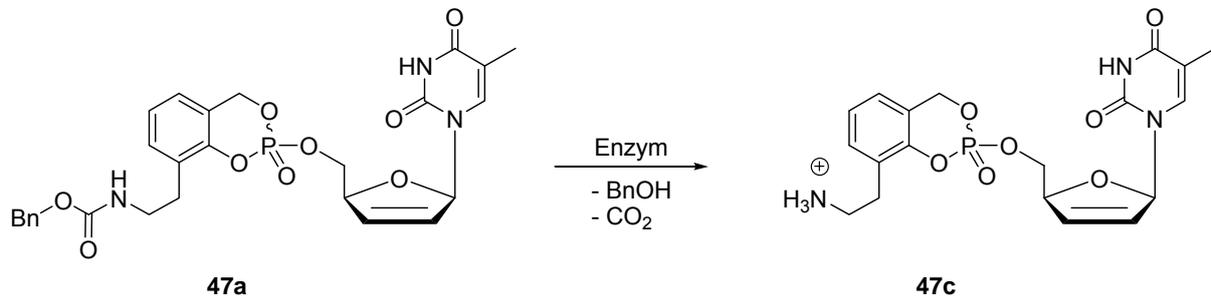
Neben den Arbeiten mit Estern als „lock-in“-Modifikation sollte eine Carbamatfunktion als neue, enzymatisch spaltbare Gruppe in das System eingeführt werden. Dabei wurden die Arbeiten auf Verbindungen mit C2-Alkylkette als Linker eines benzyloxycarbonyl-geschützten Amins fokussiert (siehe Abbildung 19).



**Abbildung 19:** Zielverbindungen mit neuer enzymatisch spaltbarer Funktionalität

Insbesondere stand die Untersuchung der enzymatischen Metabolisierung der Carbamatgruppe im Vordergrund, da hier im Gegensatz zu bisherigen „lock-in“-Modifikationen nach erfolgreicher Spaltung eine positive Ladung entstehen würde (Abbildung 20). Da diese einen erheblichen Effekt auf die Hydrolysehalbwertszeit

haben könnte, sollte auch das freie Amin **47c** in die Untersuchungen miteinbezogen werden.



**Abbildung 20:** Denkbare enzymatische Spaltung der carbamat-modifizierten *cycloSal-d4T*-Monophosphate

Alle "lock-in"-modifizierten-*cycloSal-d4T*MPs sollten nach erfolgreicher Synthese in verschiedenen Medien, wie z.B. Puffer und Zell-Extrakten, hydrolysiert werden. Sowohl die Bestimmung der Halbwertszeiten - chemisch und in Zellextrakten - als auch <sup>31</sup>P-NMR-Hydrolysestudien sollten zur Charakterisierung des Hydrolyseweges herangezogen werden. Zusätzlich sollten durch Zellextrakthydrolysen die "lock-in"-Eigenschaften der Verbindungen untersucht werden. Des Weiteren sollten die antiviralen Aktivitäten dieser Prodrugs in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini, Universität Leuven, Belgien untersucht werden.

## 4 Resultate und Diskussion

### 4.1 Allgemeine Synthesen:

Im Rahmen des synthetischen Teils dieser Arbeit mussten einige Edukte und Reagenzien hergestellt werden. Die Synthese dieser Verbindungen wird im folgenden Abschnitt 4.1 näher beschrieben.

#### 4.1.1 Synthese von d4T

Bei der Synthese von 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxythymidin d4T **2** handelt es sich um eine in der Arbeitsgruppe etablierte Reaktion, so dass hier nur auf die Beschreibungen in der Literatur verwiesen wird.<sup>61,62,75</sup>

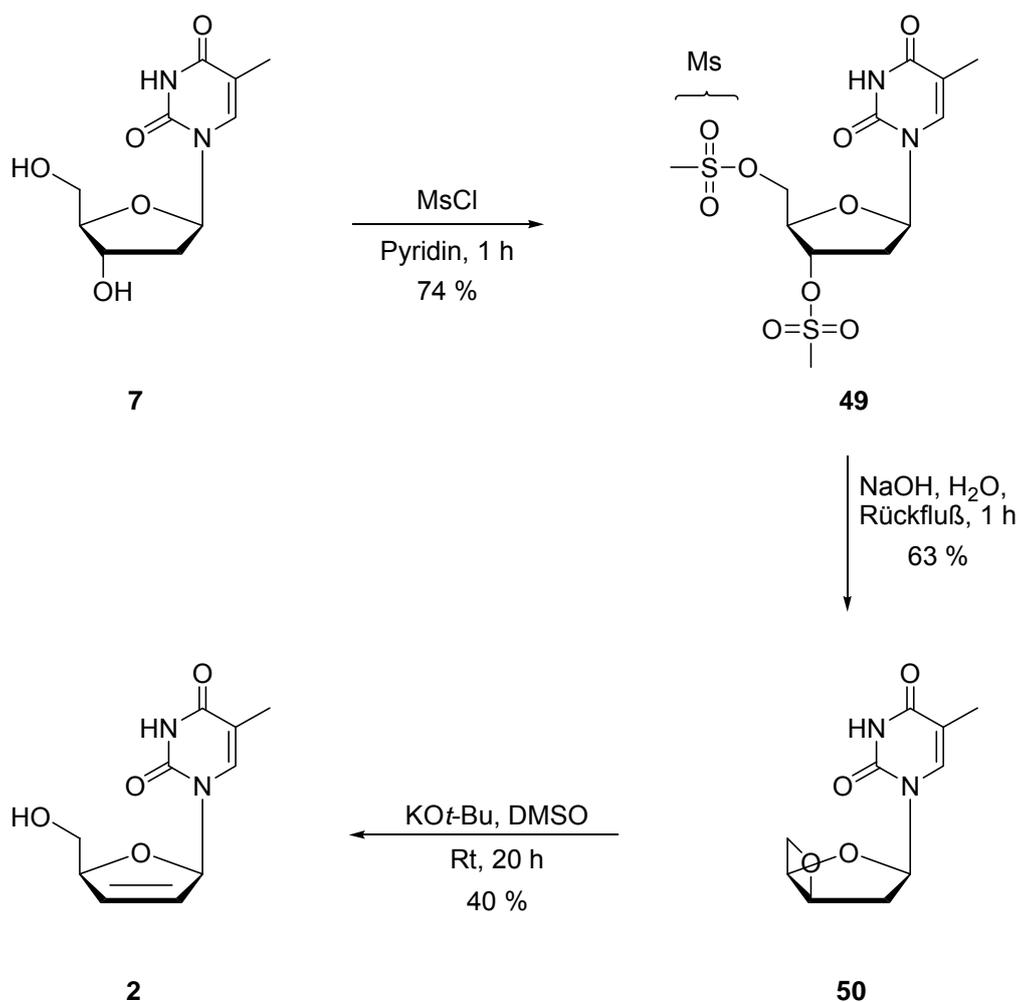
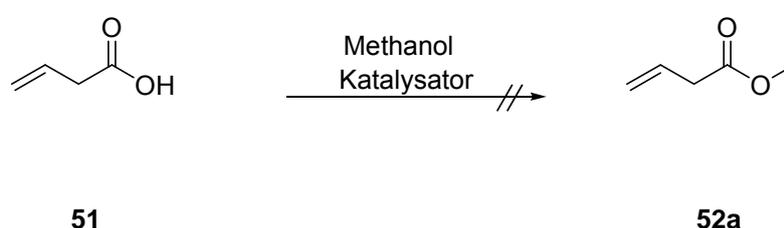


Abbildung 21: Syntheschema zur Darstellung d4T **2**

#### 4.1.2 Synthese der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester 52a-c und 55a-c

##### 4.1.2.1 Synthese der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester durch säurekatalysierte Veresterung

Die ersten Versuche, die  $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester darzustellen, waren säurekatalysierte Veresterungen der 3-Butensäure **51**. Hierfür wurde 3-Butensäure **51** in Methanol als Lösungsmittel mit verschiedenen sauren Katalysatoren und unterschiedlichen Temperaturen umgesetzt (Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Versuche der Synthese von 3-Butensäuremethylester **52a** durch sauer katalysierte Veresterung

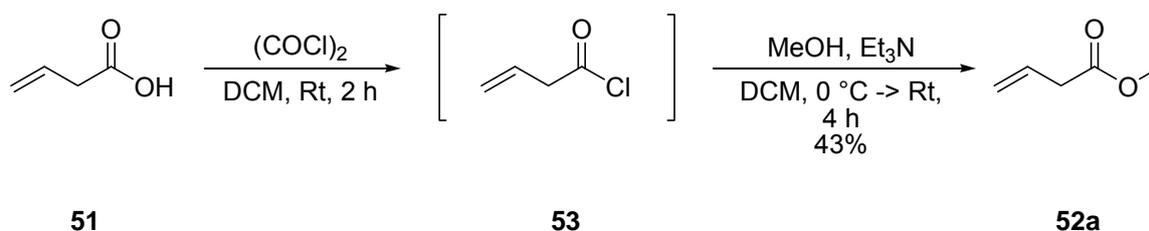
Die Bedingungen und Ergebnisse dieser Reaktion sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die Umsetzung mit Schwefelsäure als Katalysator brachte nach sieben Tagen Reaktionszeit keinen Umsatz, so dass die Reaktion ohne weitere Aufarbeitung abgebrochen wurde. Um eine Polymerisation zu vermeiden, wurde weder die Menge an Schwefelsäure noch die Temperatur erhöht. Stattdessen wurde der saure Ionentauscher DOWEX 50X8 für die nächsten Umsetzungen verwendet. Doch auch hier konnte trotz Verdopplung der Katalysatormenge und Erhöhung der Temperatur bis zum Rückfluss, keine gewünschte Umsetzung zum entsprechenden Methylester **52a** nachgewiesen werden.

Katalysator	Menge	Temperatur	Dauer	Ausbeute
Schwefelsäure	4 Tropfen	Rt	7 d	-
DOWEX 50X8	400 mg	Rt	2 d	-
DOWEX 50X8	800 mg	Rt	7 d	-
DOWEX 50X8	800 mg	Reflux	7 d	-

**Tabelle 1:** Variationen des Katalysators und der Reaktionstemperatur

#### 4.1.2.2 Synthese der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester durch Umsetzung mit einem Säurechlorid

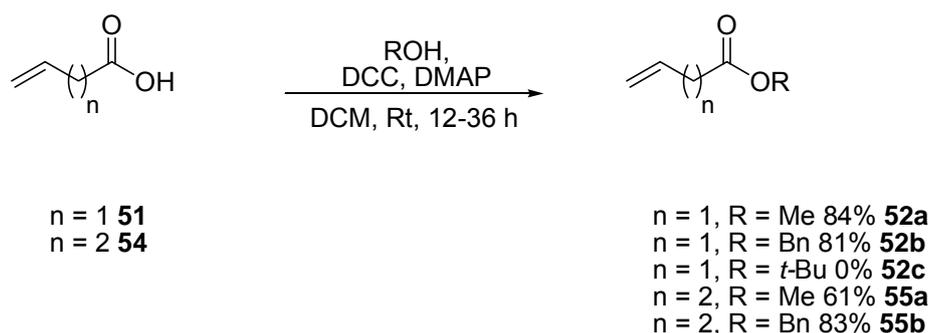
Um die Reaktivität der  $\omega$ -ungesättigten Säuren für eine Veresterung zu erhöhen, sollte die Säure zunächst in das entsprechende Säurechlorid **53** überführt werden, das anschließend zum 3-Butensäuremethylester **52a** umgesetzt werden sollte (Abbildung 23). Als Chlorierungsmittel wurde Oxalylchlorid bei Raumtemperatur in Dichlormethan als Lösungsmittel eingesetzt. Nach Entfernung von nicht umgesetztem Oxalylchlorid erfolgte die Veresterung mit Methanol und Triethylamin als Base.<sup>63,64</sup> Der synthetische Aufwand stand in keinem Verhältnis zu den erreichten 43% Ausbeute, so dass nach einer alternativen Syntheseroute gesucht wurde.



**Abbildung 23:** Synthese der  $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester durch Umsetzung des Säurechlorids **52**

#### 4.1.2.3 Synthese der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester durch DCC-Kupplung

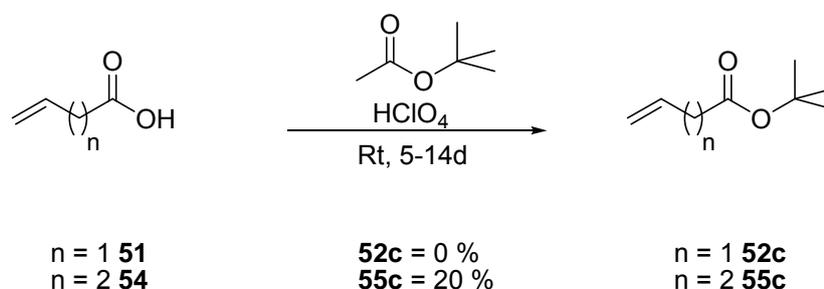
Die Synthese der meisten  $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester erfolgte durch die Aktivestermethode mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) als Aktivator. Hierfür wurden die entsprechenden Säuren **51** und **54** mit unterschiedlichen Äquivalenten DCC, DMAP und einem Alkohol zu den Estern umgesetzt (Abbildung 24). Anfangs wurden zwei Äquivalente DCC und ein Äquivalent DMAP, wie in der Literatur beschrieben, verwendet.<sup>65,66</sup> Im Laufe der Synthesen hat sich gezeigt, dass die Ausbeuten stiegen, wenn man äquimolare Mengen DCC und nur 10 Mol% DMAP eingesetzt wurden, da so die Reinigung erheblich vereinfacht wurde. So konnten die  $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester **52a-b** und **54a-b** in Ausbeuten von 61-84% isoliert werden. Eine Umsetzung mit *t*-Butanol misslang wahrscheinlich wegen des sterischen Anspruchs des Alkohols, so dass ein Zugang zu den *t*-Butylestern **52c** und **55c** über die DCC-Kupplung nicht möglich war.



**Abbildung 24:** Darstellung der  $\omega$ -ungesättigten Carbonsäure durch DCC-Kupplung

#### 4.1.2.4 Darstellung der $\omega$ -ungesättigten Carbonsäureester durch säurekatalysierte Umesterung

Die säurekatalysierte Umesterung von Essigsäure-*t*-butylester zur Darstellung der beiden Ester **52c** und **55c** mit Perchlorsäure als Katalysator führte nur bei dem Einsatz von 4-Pentensäure **54** zum Erfolg. Die in der Literatur angegebenen 52% Ausbeute nach 14 Stunden Reaktionszeit konnten nach zwei Wochen Reaktionsdauer und 20% Ausbeute jedoch nicht reproduziert werden (Abbildung 25).<sup>67</sup>

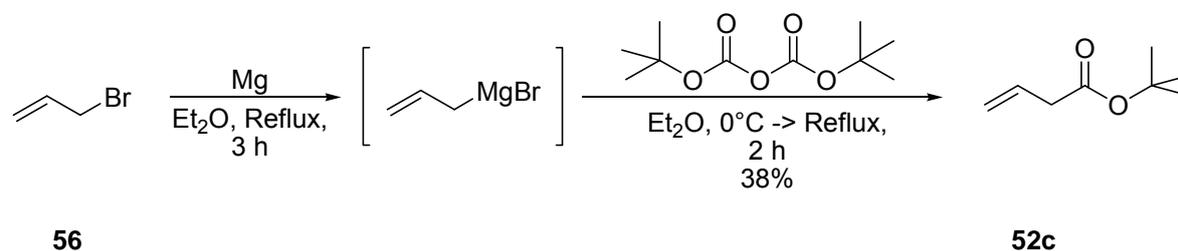


**Abbildung 25:** Synthese der *t*-Butylester **52c** und **55c** durch säurekatalysierte Umesterung

Wegen der schlechten bzw. fehlenden Ausbeute wurde die Umesterung mit Essigsäure-*t*-butylester für eine Darstellung von **52c** und **55c** nicht weiter verfolgt.

4.1.2.5 Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c** über eine Grignardreaktion  
 Neben ihrer säurekatalysierten Umesterung mit Essigsäure-*t*-butylester beschreiben Jung *et al.* auch eine Grignardreaktion zur Darstellung von 4-Butensäure-*t*-butylester **52c**.<sup>67</sup> Hier wurde zunächst aus Allylbromid **56** und Magnesium ein Grignardreagenz

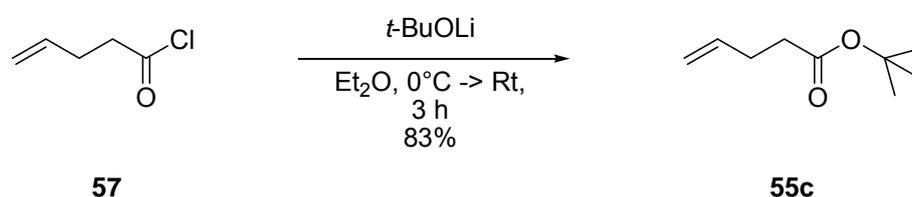
hergestellt, das anschließend mit BOC-Anhydrid in den entsprechenden *t*-Butylester **52c** in einer Ausbeute von 38% überführt wurde (Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c** über eine Grignardreaktion

#### 4.1.2.6 Synthese von 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c** durch Veresterung des Säurechlorids **57**

Eine weitere Methode zur Darstellung von *t*-Butylestern ist die Umsetzung eines Säurechlorids mit Lithium-*t*-butylat bei niedrigen Temperaturen.<sup>68,69</sup> Durch die deutlich höhere Nucleophilie des Alkoholats sollte eine erfolgreiche Umsetzung zum *t*-Butylester **55c** möglich sein. Der erste Ansatz, der mit kommerziell erhältlichem Lithium-*t*-butylat durchgeführt wurde, lieferte kein Produkt **55c**. Bei dem nächsten Versuch wurde das Reagenz durch die Reaktion von *t*-Butanol und Butyllithium direkt hergestellt und anschließend mit Pentensäurechlorid **57** versetzt. Nach Aufarbeitung und destillativer Reinigung konnte der *t*-Butylester **55c** in einer Ausbeute von 83% isoliert werden.

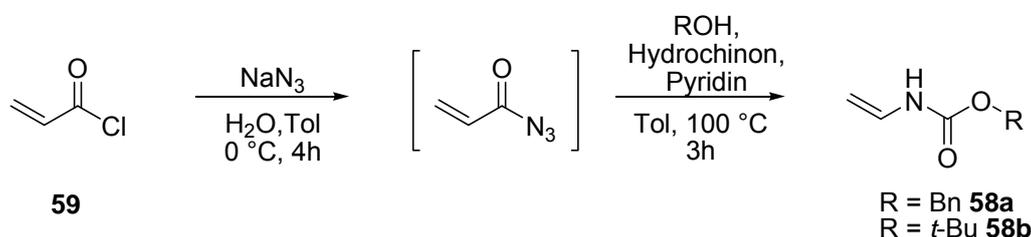


**Abbildung 27:** Synthese von 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c** durch Veresterung des Säurechlorids **57**

#### 4.1.3 Synthese der Vinylcarbamate **58a** und **58b**

Die Darstellung der Vinylcarbamate **58a** und **58b** erfolgte über eine Curtius-Umlagerung mit anschließender Reaktion des Isocyanats zum Carbamat. Es wurde

zunächst Acryloylchlorid **59** mit Natriumazid in Wasser und Toluol in das entsprechende Säureazid überführt.<sup>70,71</sup> Dieses wurde nach einer kurzen Aufarbeitung, bei der mit gekühlten Lösungsmitteln und Waschlösungen gearbeitet wurde, sofort als Lösung in Toluol weiterverarbeitet. Wegen der hohen Toxizität und Explosivität des Azids wurde in hoher Verdünnung und mit Vermeidung thermischer Belastung gearbeitet. Die eigentliche Curtius-Umlagerung wurde anschließend thermisch eingeleitet, indem man die Säureazid-Lösung langsam zu einer 100 °C heißen Mischung des entsprechenden Alkohols, Hydrochinon und Pyridin tropfte (Abbildung 28).



**Abbildung 28:** Synthese der Vinylcarbamate **58a** und **58b**

Man konnte deutlich eine Gasentwicklung erkennen, die von der Stickstoffabspaltung herrührte. Das gebildete Isocyanat wurde *in situ* durch Reaktion mit dem Alkohol in das entsprechende Carbamat überführt. Für die Umsetzung mit Benzylalkohol verlief die Reaktion weitestgehend unproblematisch, hier konnte das Vinylcarbamat **58a** in größeren Mengen und hoher Reinheit (98%) nach säulenchromatographischer Reinigung isoliert werden. Da eine vollständige Analysenreinheit der Verbindung nicht erreicht werden konnte, wird auf die Angabe einer Ausbeute verzichtet. Die Reinheit war aber vollkommen ausreichend für eine spätere Umsetzung des Carbamats **58a**. Ganz anders verhält es sich bei der Reaktion mit *t*-Butanol. Hier konnte nach sieben Versuchen das entsprechende Carbamat **58b** nur in sehr geringen Mengen und mit maximal 70%iger Reinheit erhalten werden. In den ersten Ansätzen war es überhaupt nicht möglich das gewünschte Produkt **58b** in irgendeiner Form nachzuweisen. Deswegen wurde zunächst versucht, die sterische Hinderung durch Verlängerung der Reaktionszeiten auszugleichen, was allerdings nicht zum Erfolg führte. Um die Hydrolyse des gebildeten Isocyanats zum Amin zu verhindern, wurde besonders auf einen Feuchtigkeitsausschluss während der Reaktion geachtet. Dafür wurden die verwendeten Lösungsmittel, besonders das *t*-Butanol, direkt vor der Reaktion getrocknet und besonders viel Natriumsulfat bei

---

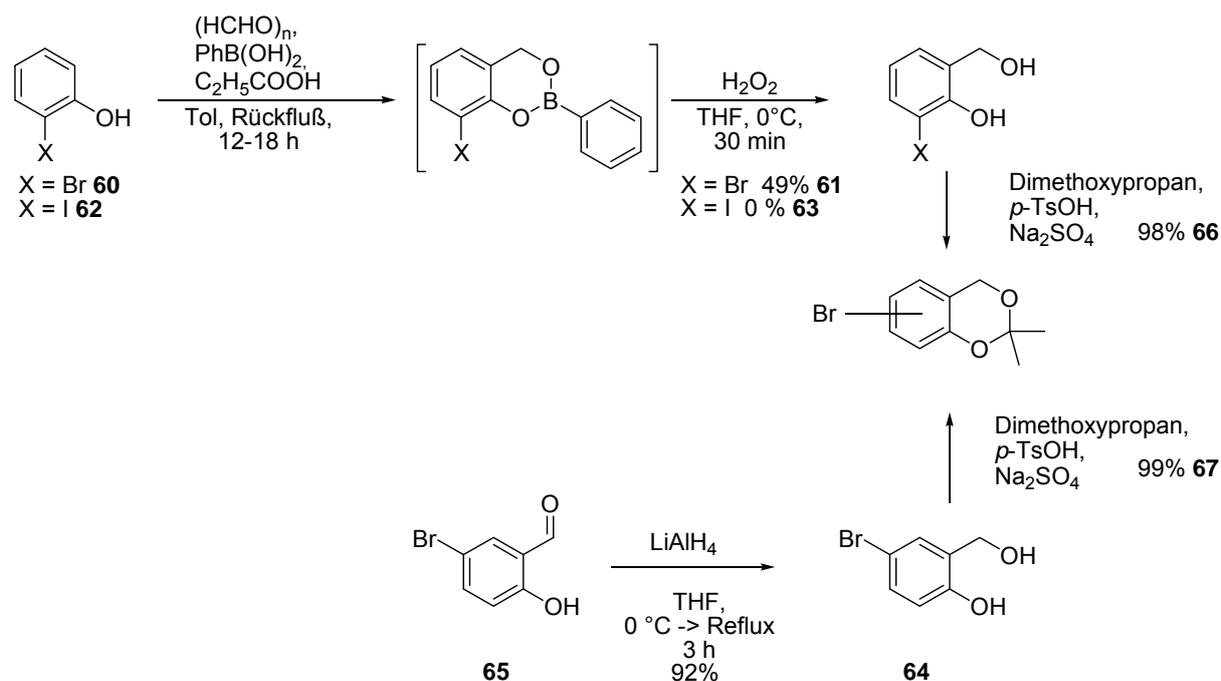
dem Trocknen der Säureazid-Lösung verwendet. Auch durch diese Maßnahmen gelang es nicht, verwendbare Mengen in akzeptabler Reinheit zu erhalten. Erst die Verwendung eines Versuchsaufbaus, der in einer Technikumsvorschrift gefunden wurde, führte nach zwei Anläufen zum Erfolg.<sup>72,73</sup> Diese Vorschrift sah eine stufenweise Umsetzung des gasförmig vorliegenden Isocyanats in drei Reaktionsgefäßen vor, die über Glasrohre miteinander verbunden sind. Da bei den Versuchen nur mit relativ geringen Mengen gearbeitet wurde (0.1 mol), stellte das hohe Totvolumen der Apparatur ein großes Problem dar. Ein konstanter, langsamer Stickstoffstrom brachte hier Abhilfe, so dass letztlich das *N*-Vinylcarbammat **58b** erhalten werden konnte.

#### 4.1.4        **Synthese der 3/5-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetale 66 und 67**

Für die Synthese sollte zunächst 2-Bromphenol **60** hydroxymethyliert werden, um den entsprechenden Salicylalkohol **61** zu erhalten. Eine Methode, Phenole selektiv in *ortho*-Stellung zu hydroxymethylieren, geht auf Nagata *et al.* zurück.<sup>74</sup> Diese Methode wurde in der Arbeitsgruppe bereits für die Synthese zahlreicher Salicylalkoholderivate erfolgreich eingesetzt und in zahlreichen Publikationen beschrieben<sup>75,77,78,79,84</sup>, so dass hier nur eine kurze Diskussion der Ausbeuten und Besonderheiten erfolgt.

Durch den negativen induktiven Effekt der Halogensubstituenten waren die Phenole für eine elektrophile aromatische Substitution deaktiviert, so dass die Reaktionsdauer der eigentlichen Hydroxymethylierung auf 18 Stunden erhöht werden musste (3 Stunden Reaktionszeit zwischen den einzelnen Zugaben). Dennoch waren die Umsetzungen zu den entsprechenden Dioxaborinen nicht quantitativ. Nach der Oxidation mit Perhydrol und anschließender Säulenfiltration konnte 3-Bromsalicylalkohol **61** in einer Ausbeute von 49% isoliert werden. Für das entsprechende Iodderivat **63** konnte schon während der eigentlichen Hydroxymethylierung trotz Lichtausschluss schon sehr früh eine rosa bis lila Färbung der Reaktionslösung beobachtet werden, was ein Hinweis auf eine Iodabspaltung war. Das erhaltene Rohproduktgemisch wurde dennoch mit Wasserstoffperoxid oxidiert, um zu versuchen den entsprechenden Salicylalkohol **63** zu erhalten, was allerdings misslang. Auf weitere Versuche, 3-Iod-salicylalkohol **63** darzustellen, wurde verzichtet.

5-Bromsalicylalkohol **64** ist zwar kommerziell erhältlich, jedoch ist sein Preis im Vergleich zum entsprechenden Aldehyd **65** deutlich höher, so dass er durch eine Reduktion mit Lithiumalanat dargestellt wurde. Die Synthese verlief in der Regel problemlos, und daher konnte 5-Bromsalicylalkohol **64** in einer sehr guten Ausbeute von über 90% erhalten werden.



**Abbildung 29:** Syntheschema zur Darstellung der 3/5-Bromsalicylalkohol isopropylidenacetale **66** und **67**

Nach erfolgreicher Darstellung beider Bromsalicylalkohole sollte nun die Schutzgruppe in die Moleküle eingeführt werden. Eine geeignete Schutzgruppe sollte folgende Bedingungen erfüllen: Sie muss sauer abspaltbar sein, da später eine Estermodifikation im Molekül eingeführt werden soll und eine anschließende Abspaltung unter basischen Bedingungen problematisch sein könnte. Außerdem sollten möglichst beide Alkoholfunktionen mit einer einzigen Schutzgruppe maskiert werden, um den Syntheseaufwand zu minimieren. Acetale kommen hier als geeignete Schutzgruppe in Frage. Daher wurde die kostengünstige und synthetisch gut zugängliche Acetonidschutzgruppe ausgewählt. Die Synthese der Acetonide **66** und **67** erfolgte über eine Umacetalisierung mit 2,2-Dimethoxypropan, Natriumsulfat und katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure in Aceton analog zu Choudhury *et al.*<sup>76</sup> Nach Aufarbeitung konnten beide Isopropylidenacetale **66** und **67** in nahezu quantitativer Ausbeute isoliert werden.

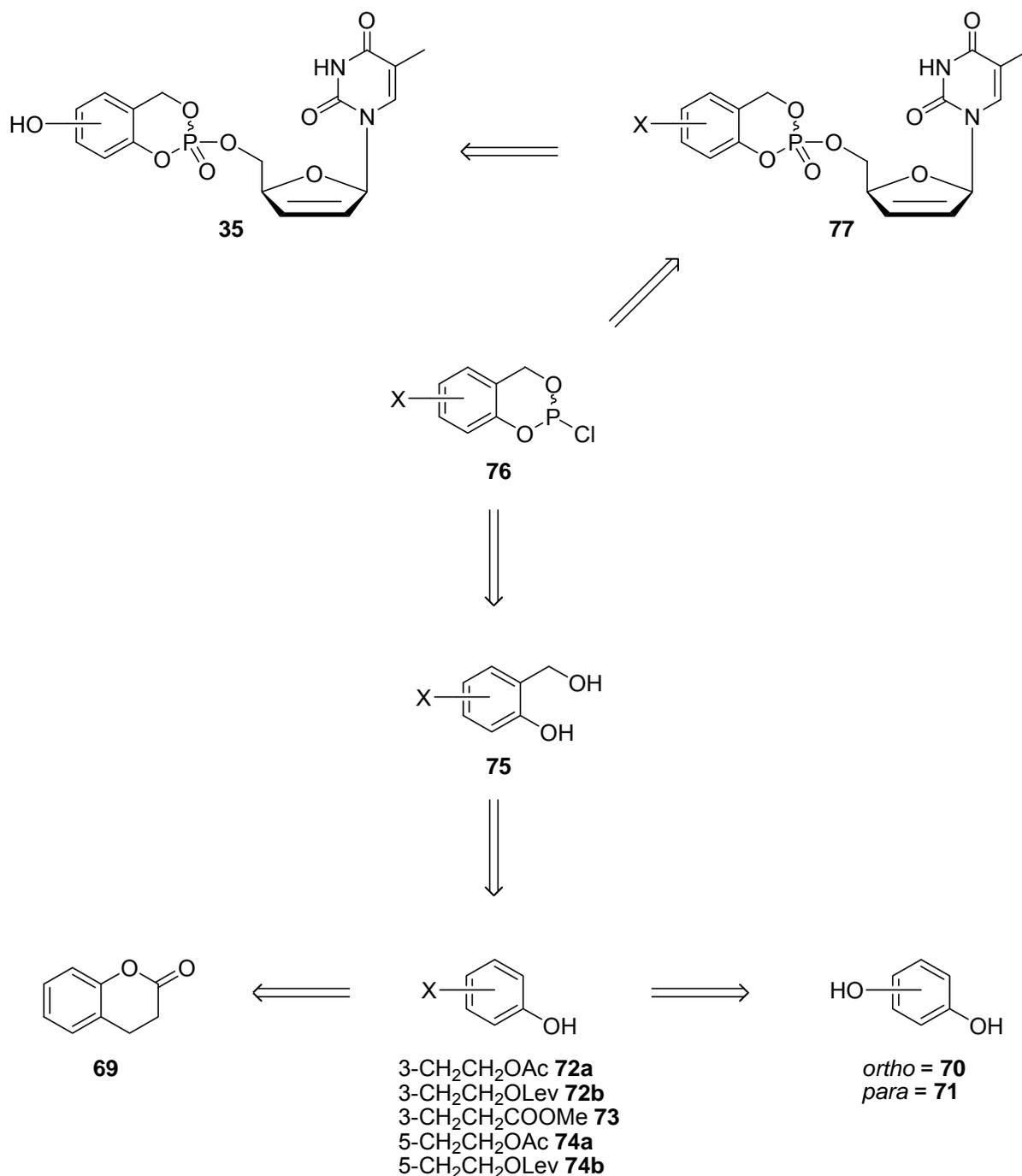
---

## 4.2 **Arbeiten zu estermodifizierten cycloSal-Nucleosid-Monophosphaten mit C2-Linker**

### 4.2.1 **Synthesen**

#### 4.2.1.1 Retrosynthese

Ausgehend von den Salicylalkoholderivaten **75** sollte durch Umsetzung mit Phosphortrichlorid die cyclischen Saligenylchlorphosphite **76** dargestellt werden. Diese dienten dann in der Umsetzung mit dem Nucleosid-Analogon d4T **2** als phosphitylierende Reagenzien. Die resultierenden Phosphor(III)-Verbindungen sollten dann zu den gewünschten Phosphor(V)-Verbindungen **77** oxidiert werden (siehe Abbildung 30). Durch die Spaltung der Levulinoyl-ester sollten dann die entsprechenden Referenzverbindungen **35** erhalten werden. Da die Umsetzungen von Salicylalkoholderivaten mit Phosphortrichlorid und der dabei entstehenden Chlorphosphite mit Nucleosid-Analoga etablierte Reaktionen darstellen, bestand die eigentliche synthetische Herausforderung in der Darstellung der Salicylalkoholderivate. Diese sollten in einer linearen Synthese dargestellt werden, die in bereits für die Herstellung zahlreicher „lock-in“-modifizierter Salicylalkoholderivate Anwendung fand.<sup>77,78,79</sup> Es sollten zunächst durch Umesterungen von Dihydrocumarin **69** oder den beiden Diolen **70** und **71** die entsprechenden estermodifizierten Phenole **72a-b**, **73** und **74a-b** dargestellt werden. Eine anschließende *ortho*-Hydroxymethylierung sollte dann die "lock-in"-modifizierten Salicylalkoholderivate **75** liefern.

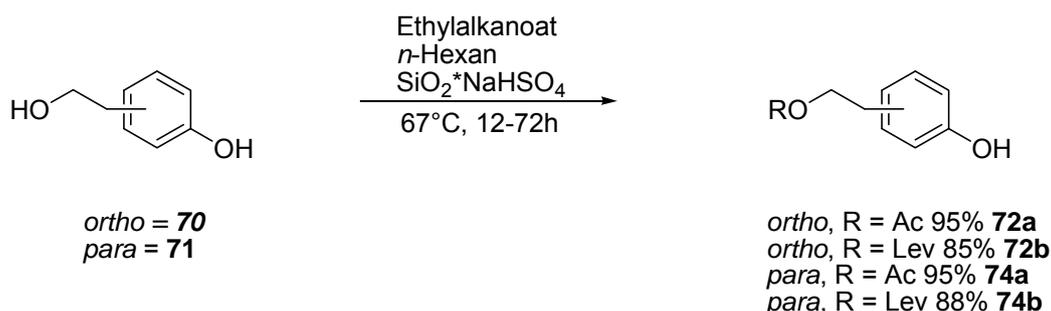


**Abbildung 30:** Retrosyntheseschema zur Darstellung estermodifizierter *cycloSal*-NMPs mit C2-Spacer

#### 4.2.1.1.1 Synthese der Phenolderivate **72a-b**, **73** und **74a-b**

Die Zielsetzung war es, einen primären Alkohol neben einer phenolischen Hydroxyl-Gruppe selektiv zu verestern. In eigenen und anderen Arbeiten wurden bereits Synthesemöglichkeiten für dieses Problem beschrieben, so dass hier nur die Ausbeuten diskutiert werden sollen.<sup>77,78,79,80,84</sup> In Abbildung 31 sind die Reaktionen

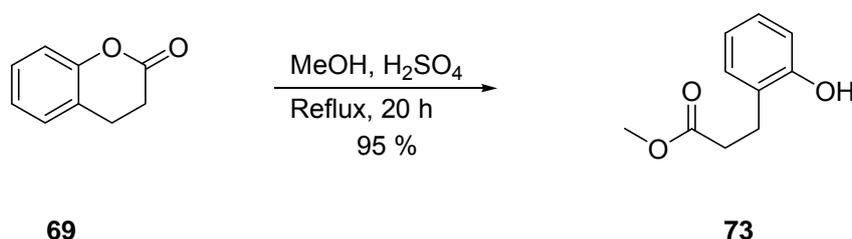
zur Darstellung von **72a-b**, **73** und **74a-b** schematisch dargestellt. Für die Acetate **72a** und **74a** konnte eine Ausbeuten von 95% erzielt werden, wohingegen die Ausbeute bei den Levulinylestern **72b** (85%) und **72b** (88%) geringfügig niedriger waren. Die geringeren Ausbeuten für **72b** und **74b** sind wahrscheinlich auf thermische Zersetzung während der destillativen Abtrennung des überschüssigen Ethyllevulinats zurückzuführen.



**Abbildung 31:** Veresterung der Dirole **70** und **71**

#### 4.2.1.1.2 Synthese von 2-(2-Hydroxyphenyl)methylpropionat **73**

Durch säurekatalysierte Umesterung von Dihydrocumarin **69** wurde das Phenylpropionat dargestellt. Hierfür wurde Dihydrocumarin **69** in Methanol mit konz. Schwefelsäure als Katalysator und wasserbindendes Mittel unter Rückfluss erhitzt und anschließend aufgearbeitet. Der Methylester **73** konnte dabei in einer Ausbeute von 95% isoliert werden.

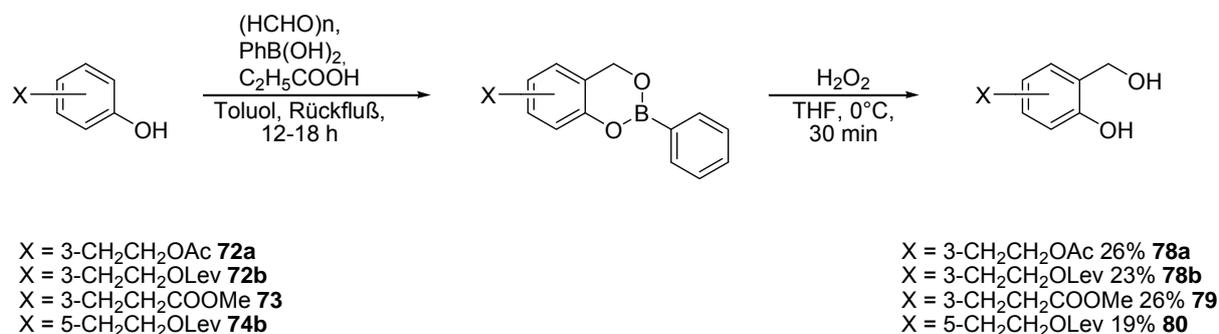


**Abbildung 32:** Umesterung von Dihydrocumarin **69**

Nun sollten die synthetisierten Phenolderivate in die entsprechenden Salicylalkohole überführt werden.

#### 4.2.1.1.3 Synthese der Salicylalkohole **78a-b**, **79** und **80**

Bereits in Abschnitt 4.1.4 wurde eine Methode, Phenole selektiv in *ortho*-Stellung zu hydroxymethylieren, beschrieben.<sup>74</sup> Dass diese Methode für die Synthese der estermodifizierten Salicylalkoholderivate mit C2-Alkyl linker geeignet ist, konnte bereits in einigen Arbeiten gezeigt werden.<sup>77,78,79,84</sup> Aus diesem Grund kam sie auch für die Synthese der in Abbildung 33 aufgeführten Verbindungen **78a-b**, **79** und **80** zum Einsatz. Die Ausbeuten dieser Synthesen liegen zwischen 19% für 2-(2-Hydroxyphenyl)ethyllevulinat **72b**, 4-(2-Hydroxyphenyl)ethyllevulinat **74b** und je 26% für 2-(2-Hydroxyphenyl)ethylacetat **72a** und 2-(2-Hydroxyphenyl)methylpropionat **73**. Die Umsetzung von 4-(2-Hydroxyphenyl)ethylacetat **74a** zum entsprechenden Salicylalkohol fand wegen einer Änderung in der Synthesestrategie nicht statt.



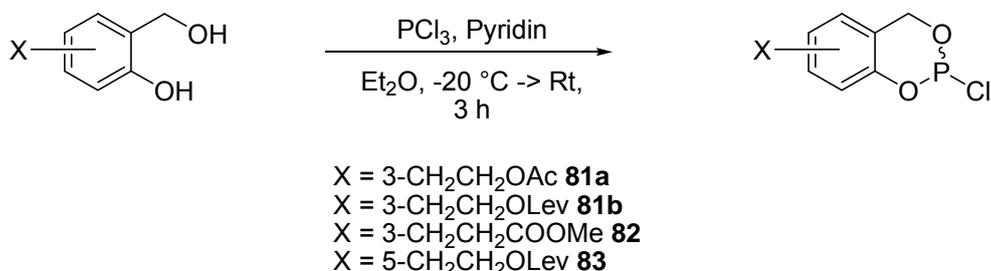
**Abbildung 33:** Synthese der Salicylalkoholderivate **78a-b**, **79** und **80** durch Hydroxymethylierung

Die verhältnismäßig geringen Ausbeuten, die schlechte Atomökonomie und die Beschränkung auf bestimmte Phenolderivate<sup>81,84</sup> der Hydroxymethylierung legten die Suche nach einer alternativen Synthesestrategie zur Darstellung „lock-in“-modifizierter Salicylalkoholderivate nahe. Im Rahmen dieser Arbeit wird eine mögliche Strategie vorgestellt werden (siehe Abschnitt 4.3.1).

#### 4.2.1.1.4 Synthese der Chlorphosphite **81a-b**, **82** und **83**

Die Umsetzung der Salicylalkoholderivate **78a-b**, **79** und **80** zu den Saligenylchlorphosphiten **81a-b**, **82** und **83** erfolgte mit Phosphortrichlorid unter Zugabe von Pyridin als Base in Diethylether bei einer Temperatur von –20 °C (siehe Abbildung 34). Das während der Reaktion entstandene Pyridiniumchlorid wurde durch Filtration abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Saligenylchlorphosphite **81a-b**, **82** und **83** wurden als Rohproduktgemische

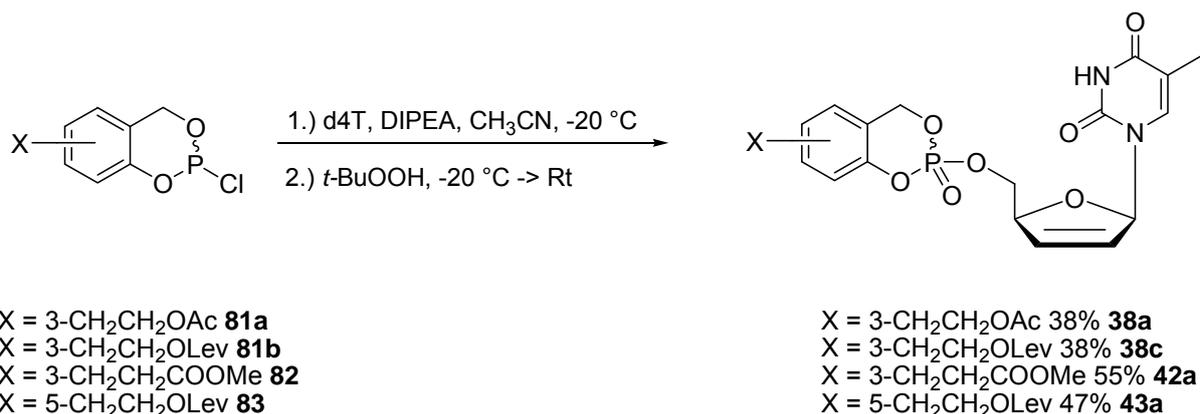
entweder in Form eines Feststoffs oder eines Öls erhalten. Eine Reinigung kam aufgrund der Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit nicht in Frage, die Reinheit (ca. 70%-95% laut  $^{31}\text{P}$ -NMR) war ausreichend, um sie als phosphitylierende Agenzien mit d4T **2** zu den entsprechenden *cycloSal*-NMPs umzusetzen.



**Abbildung 34:** Synthese der Chlorphosphite **81a-b**, **82** und **83**

#### 4.2.1.1.5 Synthese der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs mit C2-Linkerkette **38a**, **38c**, **42a** und **43a**

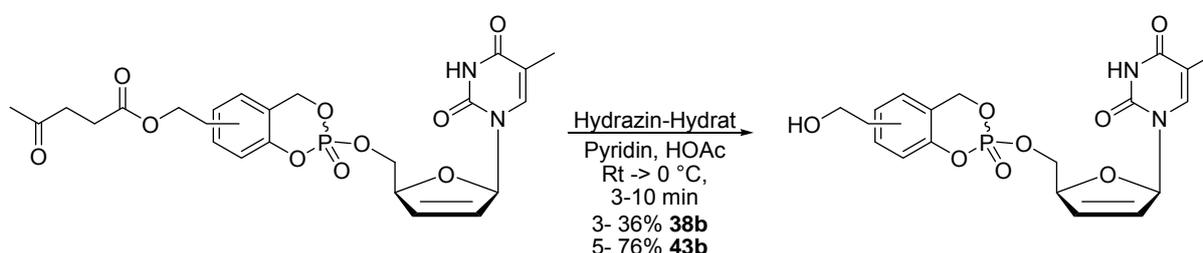
Für die Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **38a**, **38c**, **42a** und **43a** wurden die Saligenylchlorphosphite mit Nucleosid d4T **2** gekuppelt und die resultierende Phosphor(III)-Verbindung mit Hilfe von *t*-Butylhydroperoxid in das entsprechende Phosphat überführt (Abbildung 35). Hierfür wurde auf das in der Arbeitsgruppe etablierte Protokoll zurückgegriffen. Die Ausbeuten lagen mit 38%-55% z.T. deutlich über den früherer Arbeiten.<sup>79,84</sup>



**Abbildung 35:** Synthese der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs mit C2-Linkerkette **38a**, **38c**, **42a** und **43a**

#### 4.2.1.1.6 Synthese von 3/5-Hydroxyethyl-*cycloSal*-d4TMP **38b** und **43b**

Für die Darstellung der Referenzverbindungen 3/5-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **38b** und **43b** musste als letzter Schritt noch die Abspaltung der Levulinoyl-Schutzgruppe vollzogen werden. Diese Reaktion wurde bereits in früheren Arbeiten<sup>66,84</sup> durchgeführt, jedoch wurde die Vorschrift in Kombination mit anderen Vorschriften optimiert.<sup>82,83</sup> Durch die Veränderung der Stöchiometrien konnte die Ausbeute des 5-Isomers **43b** mit 76% gegen 36% für **38b** mehr als verdoppelt werden (Abbildung 36).



**Abbildung 36:** Abspaltung der Levulinoyl-Schutzgruppe zur Darstellung von **38b** und **43b**

Der Versuch ein Up-Scaling von 10 mg auf 100 mg durchzuführen, scheiterte, es konnten weder das Produkt **38b** noch das Edukt **38c** isoliert werden. Die Ursache blieb bis heute ungeklärt.

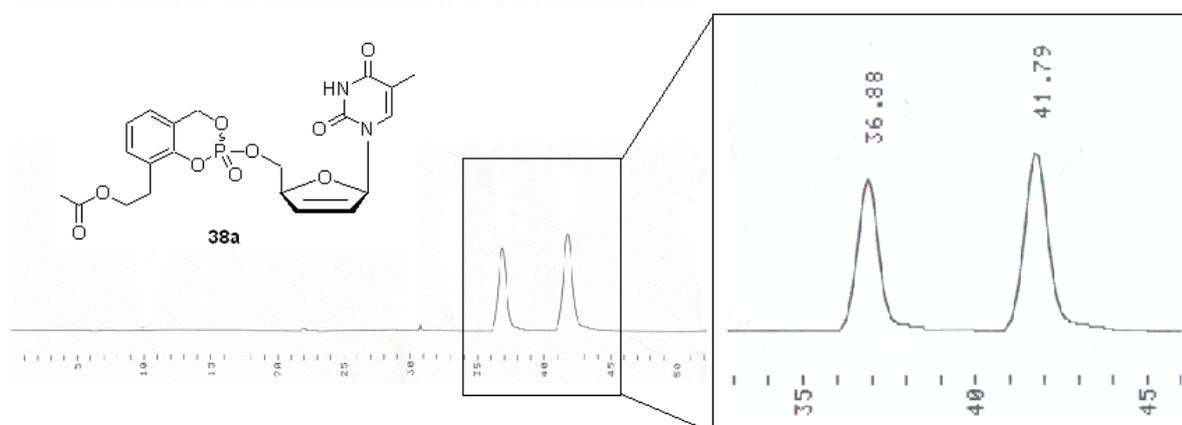
#### 4.2.2 Trennung der Diastereomergemische **38a** und **42a**

Zur Untersuchung des Einflusses der Konfiguration am Phosphoratom auf die Hydrolyseeigenschaften sowie der antiviralen Aktivität sollte eine Trennung der Diastereomergemische von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** und 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** die einzelnen Diastereomere liefern und damit eine Untersuchung diesbezüglich ermöglichen. Die Trennung erfolgte mittels präparativer HPLC.

Für die Trennung stellte sich als optimales Laufmittel ein Gemisch von Acetonitril/Wasser (angesäuert mit 0.5% v/v Essigsäure) 2.5/7.5 v/v heraus.

Abbildung 37 zeigt die erfolgreiche Trennung der beiden Diastereomere des 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a**. Dabei besitzt das schneller eluierende Diastereomer (im Folgenden nur mit 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a fast** bezeichnet) eine Retentionszeit von 36.88 min., während das als zweites eluierende Diastereomer (im folgenden als

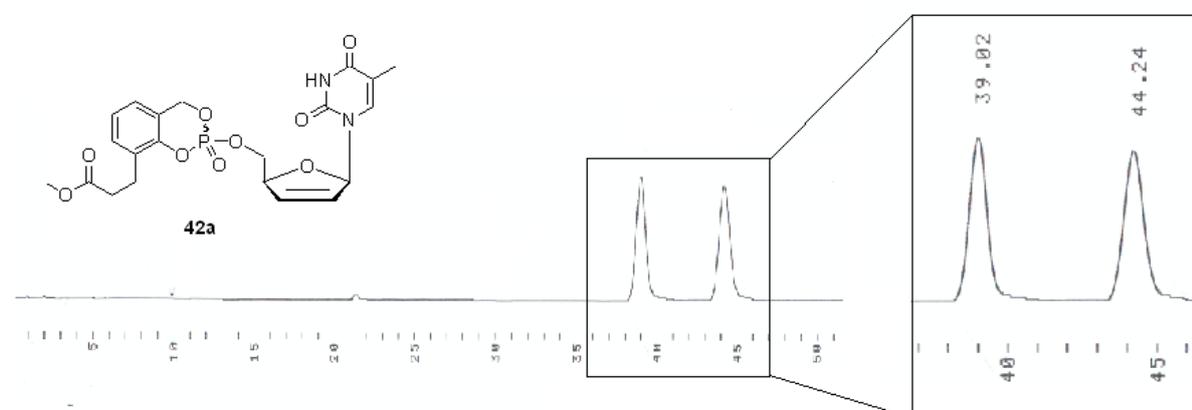
3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** *slow* bezeichnet) eine Retentionszeit von 41.79 min. besitzt.



**Abbildung 37:** Chromatogramm der Diastereomerentrennung von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a**

Mittels dieser Methode war es möglich, 20 mg pro Lauf zu trennen und nach insgesamt sechs Durchgängen 37.7 mg des 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** *fast* und 45.7 mg des 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** *slow* zu erhalten.

Analog verlief die Trennung des 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP-Diastereomergemisches **42a** (siehe Abbildung 38). Die Retentionszeiten lagen hierbei mit 39.02 min. für das 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** *fast* und 44.24 min. für das 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** *slow* in einem ähnlichen Bereich wie die der 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP-Diastereomere.



**Abbildung 38:** Chromatogramm der Diastereomerentrennung von 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a**

Durch die Trennung von je 20 mg pro Chromatographielauf konnten nach insgesamt sieben Durchgängen 43.1 mg des 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a fast** und 47.1 mg des 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a slow** isoliert werden.

Nachdem die Diastereomere erfolgreich getrennt wurden, wurde versucht durch verschiedene Kristallisationsmethoden Einkristalle von den jeweiligen Diastereomeren 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a fast** und **slow** zu erhalten, um eine röntgenkristallographische Bestimmung der Konfiguration am Phosphoratom durchzuführen. Leider konnte kein Einkristall erhalten werden, der eine ausreichende Größe und thermische Stabilität aufwies. Zudem sollte, angelehnt an die Experimente von M. Lorey<sup>62</sup> und C. Ducho<sup>75</sup>, über CD-Spektroskopie die Konfiguration an den Phosphoraten bestimmt werden. Diese Messungen lieferten keine aussagekräftigen Ergebnisse, sodass eine Zuordnung über die Methode nicht möglich war.

### 4.2.3 Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten

#### 4.2.3.1 Hydrolyse in einem schwach basischen Phosphatpuffer (PBS)

Um die Hydrolysestabilität der synthetisierten Pronucleotide zu untersuchen, wurden chemische Hydrolysekinetiken in basischem Medium bei 37 °C in isotonischem Phosphatpuffer (PBS, pH = 7.3) durchgeführt. Wegen des Überschusses an Wasser konnte die Hydrolyse der Pronucleotide als Reaktion pseudo-erster Ordnung aufgefasst werden, so dass sich Hydrolysehalbwertszeiten  $t_{1/2}$  ermitteln ließen.

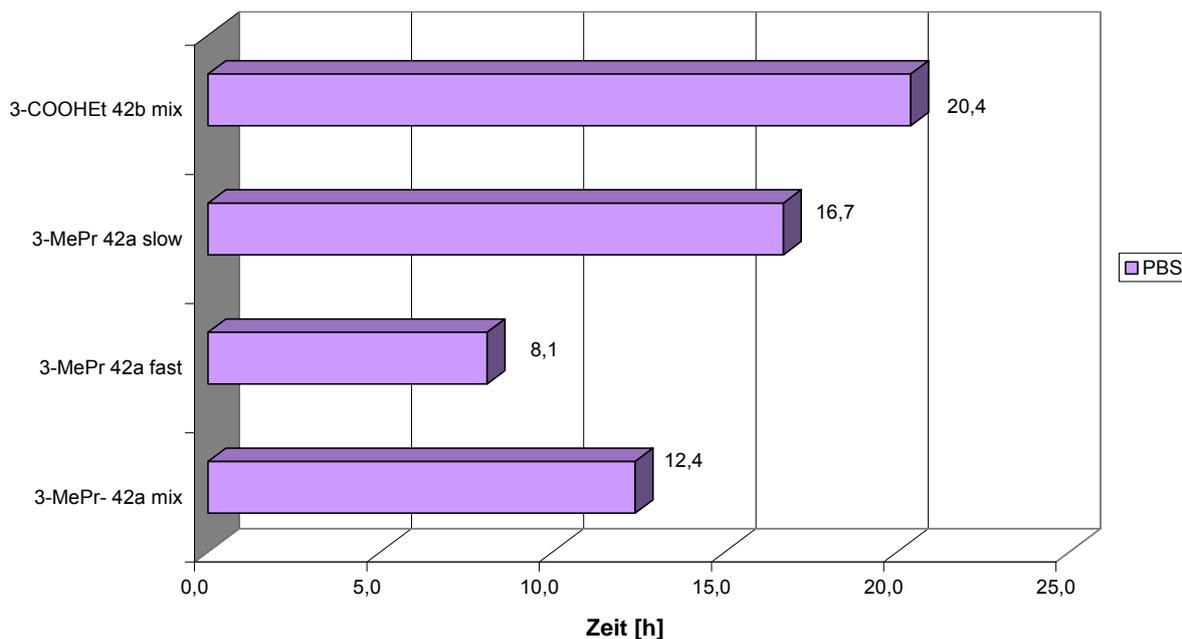
Es wurde eine 1.9 mM Hydrolyse-Stammlösung des jeweiligen Phosphatriesters durch Verdünnen einer 50 mM Stammlösung in Dimethylsulfoxid (DMSO) mit DMSO/Wasser-Gemischen angesetzt. Diese 1.9 mM Hydrolyse-Stammlösung wurde mit einem internen Standard versetzt und die Hydrolyse anschließend durch Zugabe des auf 37 °C temperierten PBS und Durchmischen gestartet. Die Konzentration des Pronucleotids in der so hergestellten Kinetik-Lösung betrug 0.94 mM, die der Puffer-Salze 24.8 mM. Sofort nach Zugabe des PBS wurde jeweils ein erstes Aliquot entnommen ( $t_0$ ). Während der Hydrolyse wurden weitere Proben genommen und zum Stoppen der Reaktion auf konzentrierte Essigsäure pipettiert sowie auf -196 °C (flüssiger Stickstoff) abgekühlt. Die so erhaltenen Proben wurden RP-HPLC-analytisch bei UV-Detektion untersucht.

Sämtliche Hydrolysekinetiken wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Zur Auswertung der Kinetiken wurde für jede Probe der Quotient aus den Peakflächen des Prodrugs und des internen Standards gebildet (= normierte Integrationseinheit; normierte IE) und gegen die Hydrolysedauer (in Stunden; h) graphisch aufgetragen. Durch die experimentell bestimmten Messpunkte wurden mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms exponentielle Ausgleichskurven gelegt, so dass sich Werte für die jeweiligen Geschwindigkeitskonstanten  $k$  der Hydrolyse ergaben. Aus den so erhaltenen Werten für  $k$  konnten gemäß der Formel

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

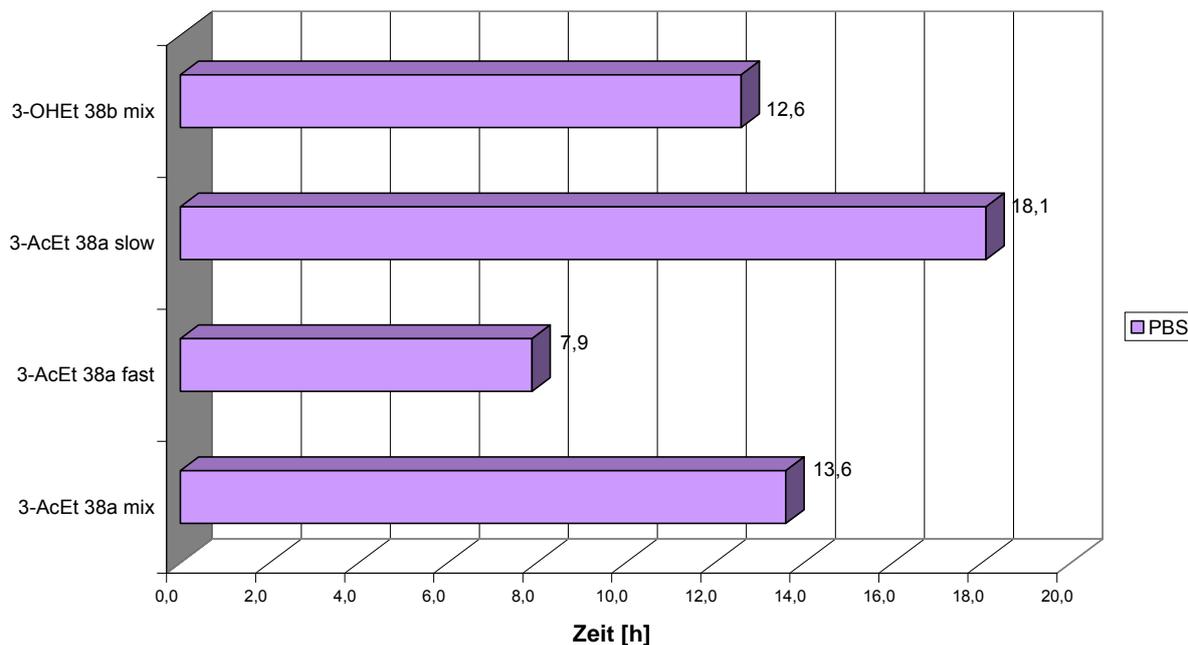
die Hydrolyse-Halbwertszeiten  $t_{1/2}$  errechnet werden.

Wie in Abbildung 39 zu erkennen ist, ist das 3-MePr **42a** *slow* mit einer Halbwertszeit von circa 16 Stunden doppelt so stabil wie das *fast* Isomer **42a**, welches eine Halbwertszeit von etwa acht Stunden aufweist. Für das Gemisch beider Isomere konnte eine Halbwertszeit bestimmt werden, die erwartungsgemäß etwa dem Mittelwert der Halbwertszeiten beider Isomere entspricht. Hieraus wurde deutlich, dass die Stereochemie am Phosphorzentrum einen wesentlichen Einfluss auf das Hydrolyseverhalten des Triesters hatte. Gründe hierfür sind in den unterschiedlichen sterischen Zugänglichkeiten der Phosphatgruppe, die einen Angriff des Nucleophil entweder erschweren (*slow*) oder erleichtern (*fast*), zu finden. Die zum Vergleich dienende Verbindung **42b** hat eine Halbwertszeit  $t_{1/2} = 20.4 \text{ h}$ <sup>79</sup>, die deutlich über der des Diastereomeregemischs 3-MePr **42a** *mix* liegt. Die höhere Stabilität kann durch eine negative Ladung des Carboxylats (die Säure liegt bei pH = 7.3 deprotoniert vor), die eine elektronische Repulsion auf das angreifende Nucleophil ausüben könnte, erklärt werden.<sup>77,78,79</sup>



**Abbildung 39:** Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten **42a** und **38b** in Phosphatpuffer

Für die „umgedrehten“ Ester 3-AcEt **38a fast**, **slow** und **mix** wurden quasi identische Ergebnisse erhalten (siehe Abbildung 40). Das **fast**-Isomer **38a** ist mit  $t_{1/2} = 7.9$  h etwa nur halb so stabil wie das **slow**-Isomer **38a** ( $t_{1/2} = 18.1$  h), das Gemisch beider Diastereomere lag mit  $t_{1/2} = 13.6$  h nur leicht über dem Mittelwert der einzelnen Halbwertszeiten. Die Referenzverbindung 3-OHEt-*cyclo*Sal-d4TMP **38b** lag mit  $t_{1/2} = 12.6$  h in dem Bereich, der für die meisten Diastereomergemische der 3-Isomere mit C2-Spacer gefunden wurde.



**Abbildung 40:** Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten **38a** und **38b** in Phosphatpuffer

#### 4.2.3.2 Hydrolysestudie in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

Das intrazelluläre Verhalten der „lock-in“-modifizierten Pronucleotide sollte nun durch Untersuchungen in den Extrakten humaner T-Lymphozyten (CEM/0) bestimmt werden. Diese Zellextrakte wurden uns freundlicherweise von Dr. Lieve Naesens, Rega-Institut Leuven, Belgien zur Verfügung gestellt.

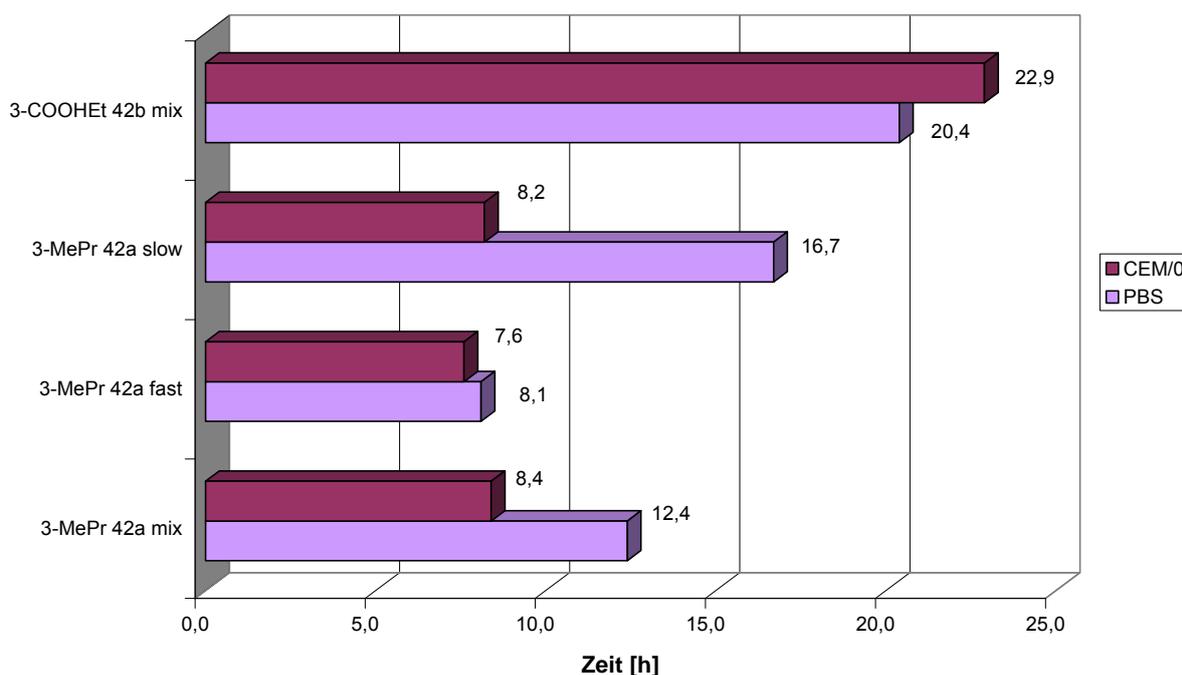
Für die Durchführung der Kinetiken wurden in der Regel zehn Eppendorf-Caps mit je 100  $\mu\text{L}$  des Zellextrakts und mit je 20  $\mu\text{L}$  einer 70 mM Magnesiumchlorid-Lösung vorbereitet (dies entspricht zehn Messpunkten). Die Hydrolysen wurden nun in jedem Cap durch die Zugabe von jeweils 20  $\mu\text{L}$  einer 3.0 mM DMSO-Lösung, die zuvor durch Verdünnen der 50 mM DMSO-Stammlösung hergestellt wurde, gestartet. Im Gegensatz zu den vorherigen Kinetiken mussten jetzt keine Aliquote mehr entnommen werden, sondern jede der zehn Proben wurde durch Zupipettieren von 300  $\mu\text{L}$  essigsauerm Methanol zu unterschiedlichen Zeitpunkten gestoppt. Die Messwerte einer Kinetik wurden also diesmal durch zehn unabhängige Hydrolysen erhalten. Damit konnte eine Kontamination der Zellextrakte bei der Aliquotenentnahme ausgeschlossen werden, die sonst zu stark verfälschten

---

Ergebnissen führen könnte. Nach dem Stoppen wurde die Probe für 15 Minuten auf 0 °C abgekühlt, um eine vollständige Fällung der denaturierten Proteinbestandteile zu gewährleisten. Diese konnten dann durch Zentrifugation und anschließender Filtration des Überstandes abgetrennt werden. Die so erhaltenen Proben wurden RP-HPLC-analytisch vermessen.

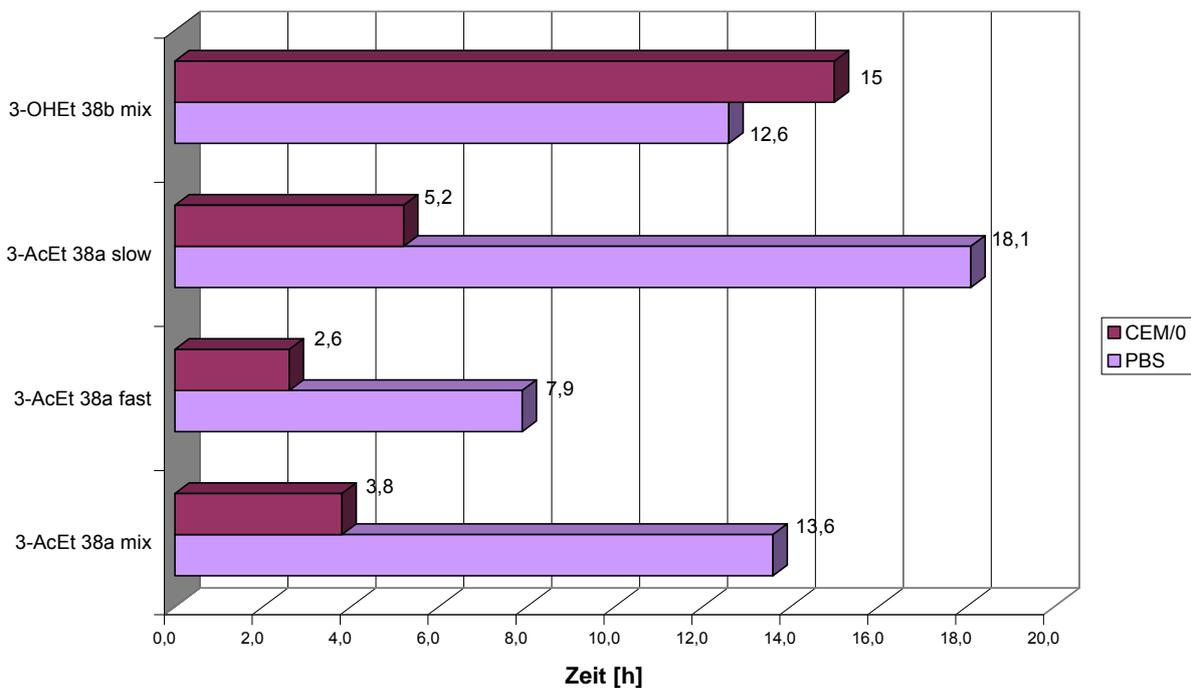
Zur Auswertung konnten diesmal nur die Absolutflächen des Phosphatresters gegen die Hydrolysedauer in einem XY-Diagramm aufgetragen werden. Die Berechnung der Halbwertszeiten erfolgte analog zu dem für die chemischen Hydrolysekinetiken beschriebenen Verfahren.

Bei den Hydrolysestudien von 3-MePr **42a fast**, **slow** und **mix** in humanen T-Lymphozyten (CEM/0) wurden zwei wichtige Erkenntnisse erhalten. Diese Ester wurden unabhängig von der Konfiguration am Phosphoratom nicht enzymatisch gespalten, da in keinem Chromatogramm die entsprechende freie Säure **42b** nachgewiesen werden konnte. Stattdessen wurde d4TMP **10** als einziges Hydrolyseprodukt identifiziert. Weiterhin wurde für alle drei Verbindungen 3-MePr **42a fast**, **slow** und **mix** fast identische Halbwertszeiten  $t_{1/2} \approx 8$  h bestimmt, was für das **slow**-Isomer **42a** eine Halbierung und eine Verringerung um ca. ein Drittel des Gemisches der Werte gegenüber den Hydrolysen in Phosphatpuffer bedeutet. Dagegen bleibt die Halbwertszeit von 3-MePr **42a fast** nahezu unverändert (siehe Abbildung 41). Die Tatsache, dass in allen Hydrolysen identische Halbwertszeiten bestimmt worden sind, konnte sehr wahrscheinlich auf eine unspezifische Proteinbindung der Verbindungen zurückgeführt werden. Wie bereits bei den chemischen Hydrolysen, gab es auch hier eine Korrelation zu der Konfiguration am Phosphoratom; es wurde vermutlich eine größere Menge des **slow**-Isomers **42a** als des **fast**-Isomers an den Proteinen gebunden.



**Abbildung 41:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **42a** und **42b** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

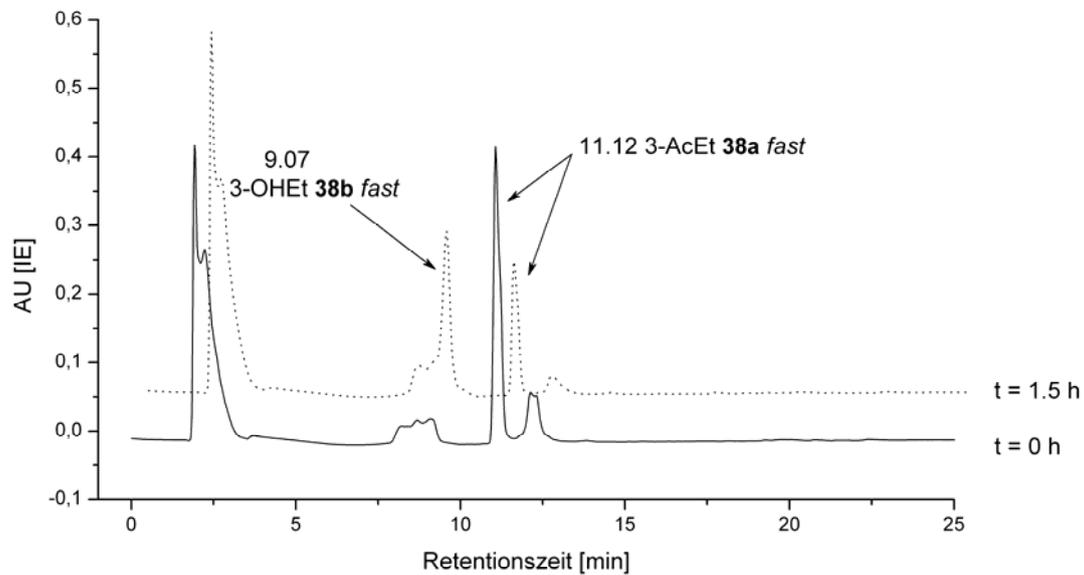
Bei den Untersuchungen der 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** Verbindungen in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0) wurden deutlich verkürzte Hydrolysehalbwertszeiten bestimmt (siehe Abbildung 42). So verringerte sich die Halbwertszeit für 3-AcEt **38a slow** um das 3.5-fache ( $t_{1/2} = 5.2$  h) und bei dem **fast**-Isomer **38a** um den Faktor drei ( $t_{1/2} = 2.6$  h). Wie schon bei den Hydrolysenstudien in Phosphatpuffer war das 3-AcEt **38a fast** nur halb so stabil wie das **slow**-Isomer **38a**. Für das Diastereomeregemisch wurde ebenfalls eine um den Faktor 3.5 verkürzte Halbwertszeit ( $t_{1/2} = 3.8$  h). Dagegen lieferte die Untersuchung des 3-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **38b** eine leicht erhöhte Stabilität gegenüber dem Wert in Phosphatpuffer ( $t_{1/2} = 15$  h vs  $t_{1/2} = 12.6$  h).



**Abbildung 42:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **38a** und **38b** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

In der folgenden Abbildung 43 sind zwei Chromatogramme von der Hydrolysestudie von 3-AcEt **38a fast** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten dargestellt. Zu Beginn der Hydrolyse ( $t=0$  h) ist nur das scharfe Signal 3-AcEt **38a fast** bei 11.12 min zu erkennen, die anderen sehr breiten Peaks stammen aus dem Zellextrakt. Das nächste Chromatogramm ( $t=1.5$  h) zeigt ein neues Signal bei 9.07 min, das durch Koinjektion als 3-OHEt **38b fast** identifiziert werden konnte. Damit konnte eine enzymatische Verseifung der Estergruppe als Ursache für die verkürzten Hydrolysehalbwertszeiten der 3-AcEt-Prodrugs nachgewiesen werden. Interessant hierbei war, dass aus 3-AcEt **38a fast** auch 3-OHEt **38b fast** bzw. 3-AcEt **38a slow** das 3-OHEt **38b slow** freigesetzt wurde.

Wie bereits in Abschnitt 2.2.1 erläutert sind diese Pronucleotide trotz enzymatischer Metabolisierung wegen der mangelnden Polarität des entstehenden Alkohols 3-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **38b** für einen „lock-in“ sehr wahrscheinlich nicht geeignet.

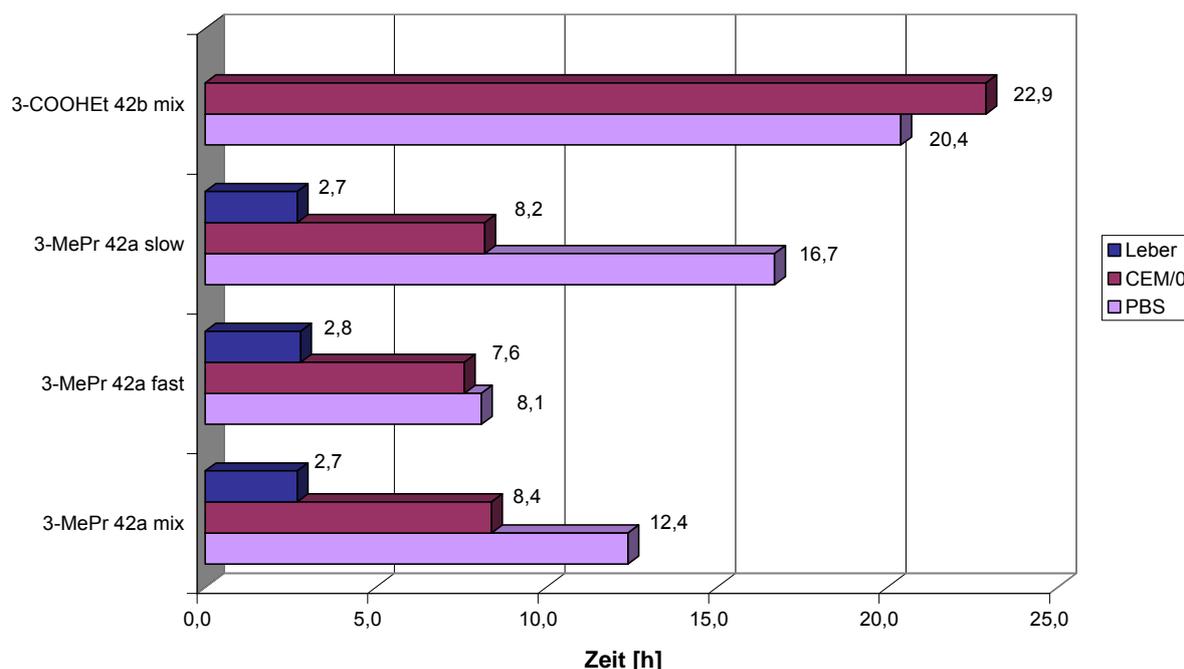


**Abbildung 43:** Chromatogramme der CEM/0-Extrakt-Hydrolysen von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a fast** zu verschiedenen Zeitpunkten

#### 4.2.3.3 Hydrolysestudien in Leberzell-Extrakten

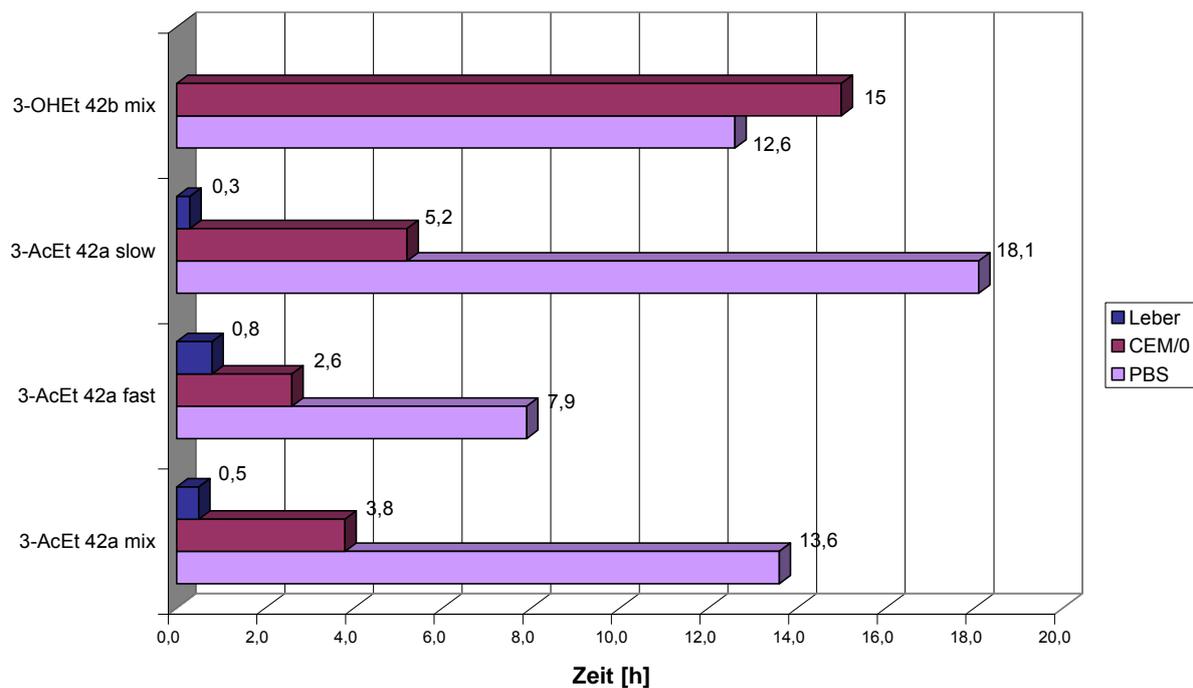
Die Durchführung der Hydrolysestudien erfolgte analog zu den in den CEM/0-Extrakten. Jedoch wurde die Hydrolysedauer auf sechs Stunden begrenzt, da der hohe Proteingehalt der Leberzellen bei längerer Hydrolysedauer zu sehr starken, braunen Ausflockungen führte.

In Abbildung 44 sind die bestimmten Halbwertszeiten für die Verbindungen 3-MePr **42a fast**, **slow** und **mix** graphisch dargestellt. Wie schon bei den Hydrolysen in den humanen T-Lymphozyten-Extrakten, wurde für alle drei Pronucleotide eine nahezu identische Halbwertszeit von  $t_{1/2} \approx 3$  h bestimmt. Auch hier fand keine enzymatische Umsetzung der Estergruppe statt, und eine beschleunigte chemische Hydrolyse war äußerst unwahrscheinlich, weswegen unspezifische Proteinbindung erneut als Ursache für die niedrigeren Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen in Frage kommt. Eine Untersuchung der Referenzverbindung **42b** erfolgte nicht.



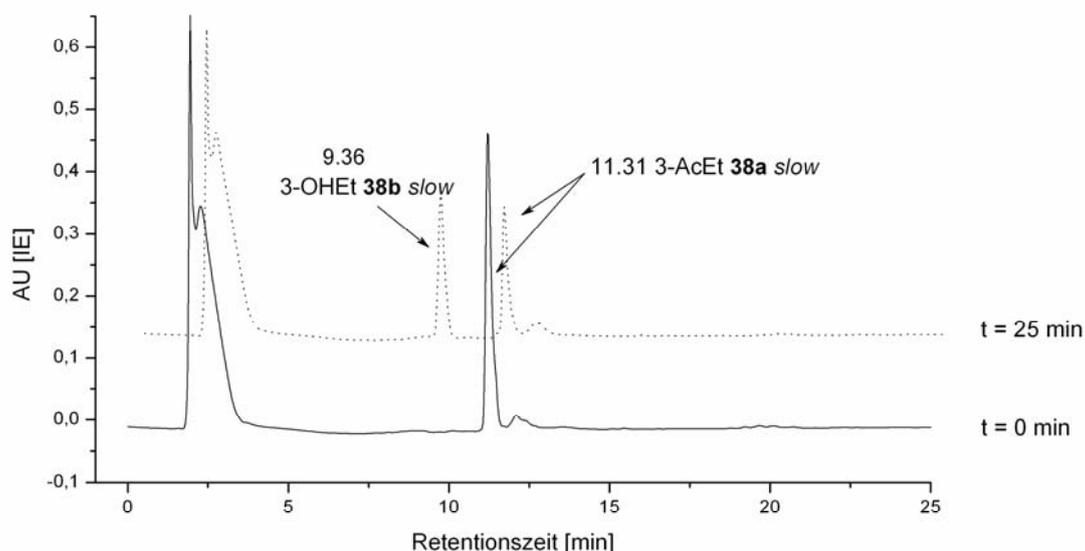
**Abbildung 44:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **42a** und **42b** in Mäuseleberzell-Extrakten

Wie man an den in Abbildung 45 dargestellten Hydrolysehalbwertszeiten von 3-AcEt **38a fast**, **slow** und **mix** deutlich erkennen kann, wurde eine drastische Verringerung der Stabilitäten gefunden. Für das **fast**-Isomer **38a** wurde ein Wert von  $t_{1/2} = 0.8$  h bestimmt, was eine Verringerung um den Faktor 10 bedeutet, für das **slow**-Isomer **38a** mit  $t_{1/2} = 0.3$  h sogar eine Verringerung um Faktor 60! Wegen der Ungenauigkeit dieser Bestimmungsmethode sollte man allerdings alle drei Werte als etwa gleichgroß ansehen und somit eine Differenzierung zwischen den Diastereomeren vernachlässigen. Der freie Alkohol 3-OH-Et **38b** wurde wegen der begrenzten Menge an Zelltrakten nicht untersucht.



**Abbildung 45:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **38a** und **38b** in Mäuseleberzell-Extrakten

In den Chromatogrammen, die in Abbildung 46 abgebildet sind, findet sich der Grund für die deutlich verkürzten Hydrolysehalbwertszeiten: die enzymatische Verseifung des Acetats. Im Verlauf der Hydrolyse konnte man sehr gut beobachten, dass aus dem ursprünglichen Peak von 3-AcEt **38a slow** bei 11.31 min das Produkt der enzymatischen Reaktion 3-OHEt **38b slow** bei 9.36 min entstanden ist. Dasselbe konnte auch für das **fast**-Isomer **38a** nachgewiesen werden.



**Abbildung 46:** Chromatogramme der Leber-Extrakt-Hydrolysen von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a slow** zu verschiedenen Zeitpunkten

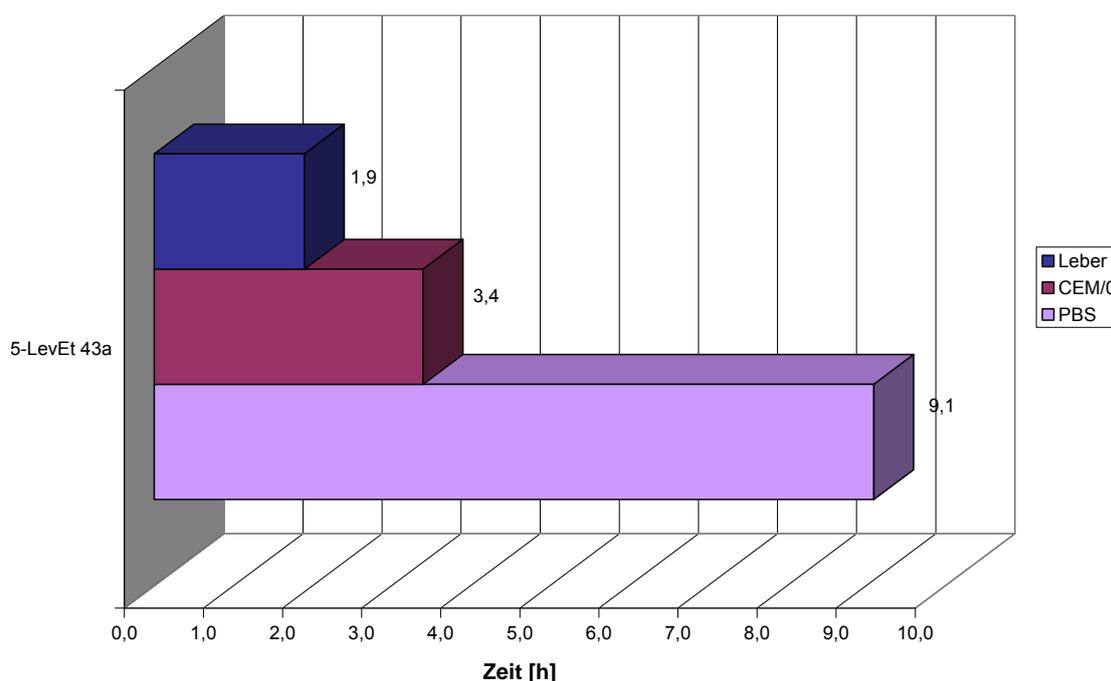
Ungewöhnlich bleibt nach wie vor die Tatsache, dass die Pronucleotide, die nach enzymatischer Metabolisierung zu einer Säure führen würden, im Gegensatz zu den „umgedrehten“ Estern in keinem untersuchten Zellextrakt enzymatische Aktivität zeigen.

#### 4.2.3.4 Hydrolysestudien zu 5-LevEt-*cycloSal*-d4TMP **43a**

Analog zu den bereits beschriebenen Untersuchungen (vgl. Abschnitt 4.2.3.1 bis 4.2.3.3) wurden auch die Hydrolysestudien von 5-LevEt-*cycloSal*-d4TMP **43a** durchgeführt. Wie Abbildung 47 zu entnehmen ist, wurde eine Hydrolysehalbwertszeit von **43a** in schwach basischem Phosphatpuffer mit  $t_{1/2} = 9.1$  h bestimmt. Dieser Wert ist im Vergleich zu dem unsubstituierten Prototypen **21** ( $t_{1/2} = 4.4$  h) und 5-Me-*cycloSal*-d4TMP **124** ( $t_{1/2} = 6.2$  h) ungewöhnlich hoch und nicht ausschließlich mit elektronischen Verhältnissen am Aromaten (vgl. Abschnitt 2.2.1) begründbar. Vielmehr scheinen die hohe Polarität mit  $CLogP = 0.37$  (Verteilungskoeffizient in Wasser/Octanol, berechnet mit dem Algorithmus der Software: Chemdraw Ultra 9.0, CambridgeSoft) und das dadurch bedingte Solvationsverhalten einen entscheidenden Einfluss auf die Stabilität des Prodrugs zu haben.

Bei den Untersuchungen in den Zellextrakten konnte in beiden Fällen eine beschleunigte Hydrolyse gefunden werden. So verringerte sich die Halbwertszeit in den humanen T-Lymphozyten-Extrakten ca. um den Faktor drei auf  $t_{1/2} = 3.4$  h und in den Leberzellextrakten mit  $t_{1/2} = 1.9$  h rund um den Faktor fünf. Durch Koinjektion mit 5-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **43b** wurde eine enzymatische Verseifung als Ursache für die beschleunigte Hydrolyse zweifelsfrei nachgewiesen.

Im Rahmen dieser Hydrolysen wurde ebenfalls durch Koinjektions-Experimente mit 5-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **43b** der bisher fehlende Beweis für eine enzymatische Metabolisierung von 5-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **43c** erbracht.



**Abbildung 47:** Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten von 5-LevEt-*cycloSal*-d4TMP **43a** in verschiedenen Medien

#### 4.2.4 Antivirale *in vitro* Aktivität der „lock-in“-modifizierten-*cycloSal*-d4TMPs mit C2-Linkerkette

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini, Universität Leuven, Belgien wurden die „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs *in vitro* anti-HIV-Tests in Zellkulturen unterzogen. Als Testsystem dienten HIV-1- bzw. HIV-2-infizierte humane T-Lymphozyten (CEM/0) sowie HIV-2-infizierte Thymidin-Kinase-defiziente

---

Zellen (CEM/TK<sup>-</sup>). Die Ergebnisse dieser Tests sind zusammen mit dem Wert des Nucleosids d4T **2** in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Alle getesteten Verbindung zeigten eine vergleichbare antivirale Aktivität ( $EC_{50} \approx 0.2 \mu\text{M}$ ) wie die Referenzverbindung d4T **2** gegen HIV-1 und HIV-2 in den Wildtyp CEM-Zellen. Lediglich die freie Säure **42b** verlor mit  $EC_{50} = 1.40 \mu\text{M}$  deutlich an Aktivität gegen HIV-2 in den Wildtyp CEM/O-Zellen. Dieser Trend setzt sich auch in den Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK<sup>-</sup>) fort, hier verringert sich die antivirale Aktivität ungefähr um den Faktor 100 ( $EC_{50} = 20 \mu\text{M}$ ). Folglich ist **42b** nicht in der Lage, intrazellulär d4TMP freizusetzen. Die in der Wildtypzelllinie gefundene Aktivität stammt demnach von d4T **2**, welches durch extrazelluläre Hydrolyse des Pronucleotids **42b** entstanden ist. Die negative Ladung des unter physiologischen Bedingungen ( $\text{pH} = 7.3$ ) vorliegenden Carboxylats von 3-COOHEt-*cycloSal*-d4TMP **42b** verhinderte eine Penetration der Zellmembran. Alle anderen Verbindungen zeigten in der Mutantenzelllinie CEM/TK<sup>-</sup> volle Retention der antiviralen Aktivität, was ein guter Beleg für das TK-Bypass-Konzept ist. Da für die Referenzverbindung 3-OHEt-*cycloSal*-d4TMP **38b** ebenfalls ein voller Aktivitätserhalt gefunden wurde, musste man davon ausgehen, dass dieses Prodrug volle Membrangängigkeit besitzt (vgl. Abschnitt 2.2.1).

Anders verhielt es sich bei den Werten für die beiden *slow*-Isomere **38a** und **42a**, sie zeigten drei- bis fünffach höhere antivirale Aktivität als die Referenzverbindungen **38b** und **42b**, die *fast*-Isomere **38a** und **42a** und d4T **2** in den Wildtyp-Zellen ( $EC_{50} \approx 0.2 \mu\text{M}$  (fast) vs.  $EC_{50} \approx 0.08 \mu\text{M}$  (slow)). Für die Diastereomerengemische von **38a** und **42a** konnten Werte gefunden werden, die ungefähr dem Mittelwert der einzelnen Diastereomere entsprachen. Dass die *slow*-Isomere deutlich aktiver als ihre *fast* Pendanten waren, konnte nur unzureichend mit den Hydrolysestabilitäten der Verbindungen erklärt werden. Die Methylester **42a** wiesen in CEM/O-Extrakten nahezu identische Halbwertszeiten von rund 8 Stunden auf (vgl. 4.2.3.1) und wurden definitiv nicht enzymatisch metabolisiert. Dennoch ist das *slow*-Isomer **42a** rund fünffach aktiver als das entsprechende *fast*-Isomer. Auch 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP *slow* **38a** war ebenfalls deutlich aktiver als 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP *fast* **38a**, allerdings handelte es sich bei dem *slow*-Isomer um das hydrolysestabilere Prodrug. Dies legte die Vermutung, dass beide *slow*-Isomere **38a** und **42a** aufgrund der Stereochemie am Phosphorzentrum besser in die Zellen aufgenommen worden sind und somit in größeren Konzentrationen das biologisch aktive d4T-Monophosphat **10**

in den Zellen freisetzen konnten. Diese Annahme wurde durch die Tatsache gestützt, dass die beiden *slow*-Isomere **38a** und **42a** nicht nur, wie die anderen Prodrugs auch, volle Retention der antiviralen Aktivität in der Mutantenzelllinie CEM/TK<sup>-</sup> sondern vielmehr hervorragende Aktivitäten von  $EC_{50} \approx 0.07 \mu\text{M}$  zeigten.

Verbindung		EC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)			CC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (μM)
		<u>CEM/0</u>		<u>CEM/TK<sup>-</sup></u>	<u>CEM/0</u>
<i>-cycloSal-d4TMP</i>		HIV-1	HIV-2	HIV-2	
3-COOHEt mix	<b>42b</b>	0.19 ± 0.08	1.40 ± 0.60	20.0 ± 0.00	100
3-OHEt mix	<b>38b</b>	0.24 ± 0.01	0.33 ± 0.11	0.49 ± 0.30	96.0 ± 19.9
3-MePr mix	<b>42a</b>	0.18 ± 0.04	0.22 ± 0.03	0.26 ± 0.14	42.8 ± 13.5
3-MePr fast	<b>42a</b>	0.30 ± 0.14	0.4 ± 0.0	1.93 ± 1.31	66.0 ± 22.6
3-MePr slow	<b>42a</b>	0.090 ± 0.014	0.08 ± 0.0	0.077 ± 0.025	12.9 ± 0.92
3-AcEt mix	<b>38a</b>	0.12 ± 0.05	0.16 ± 0.08	0.17 ± 0.12	13.6 ± 3.32
3-AcEt fast	<b>38a</b>	0.19 ± 0.09	0.27 ± 0.13	0.35 ± 0.09	52.1 ± 13.5
3-AcEt slow	<b>38a</b>	0.055 ± 0.035	0.14 ± 0.1	0.063 ± 0.032	15.8 ± 4.81
d4T <b>2</b>		0.25 ± 0.09	0.19 ± 0.10	21.7 ± 10.4	105 ± 78.4

**Tabelle 2:** Antivirale Aktivitäten der *cycloSal*-Pronucleotide **38a-b** und **42a-b**

- a) 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation;  
 b) 50 % cytotoxische Konzentration

Die Pronucleotide wurden neben ihrer antiviralen Aktivität auch auf ihre Cytotoxizität getestet. Die Referenzverbindungen **38b** und **42b** und d4T **2** waren mit Toxizitäten von  $CC_{50} \approx 100 \mu\text{M}$  nicht toxisch. 3-MePr **42a fast** und 3-AcEt **38a fast** waren mit  $CC_{50} \approx 55 \mu\text{M}$  auch als nicht toxisch einzuordnen, wogegen die entsprechenden *slow*-Isomere **38a** und **42a** mit  $CC_{50} \approx 14 \mu\text{M}$  als leicht toxisch eingestuft werden müssen. Man würde erwarten, dass die Werte für Diastereomeregemische 3-MePr **42a mix** und 3-AcEt **38a mix** in etwa dem Mittelwert der jeweiligen Diastereomere entsprachen. Im Fall von 3-MePr **42a mix** traf das auch zu, bei 3-AcEt **38a mix** jedoch nicht. Für alle Verbindungen konnte folgender Zusammenhang gefunden werden: je aktiver das Prodrug im Vergleich zu d4T **2** war, umso toxischer war diese Verbindung. Betrachtete man allerdings die Selektivitätsindices dieser Pronucleotide

ergab sich ein anderes Bild (siehe Tabelle 3). Hier konnte man deutlich erkennen, dass alle untersuchten Prodrugs, bis auf **42b**, ein deutlich besseres Verhältnis aus Aktivität und Cytotoxizität als d4T **2** besitzen (SI = 34-251 vs. SI = 5). Besonders gute SI-Werte lieferten erneut die beiden *slow*-Isomere von **38a** (SI = 251) und **42a** (SI = 168).

Selektivitätsindex (SI) <sup>a</sup>								
3- <i>cycloSal</i> -d4TMP								
COOHEt	OHEt	MePr	MePr	MePr	AcEt	AcEt	AcEt	d4T
mix	mix	mix	fast	slow	mix	fast	slow	
<b>42b</b>	<b>38b</b>	<b>42a</b>	<b>42a</b>	<b>42a</b>	<b>38a</b>	<b>38a</b>	<b>38a</b>	<b>2</b>
5	196	165	34	168	80	149	251	5

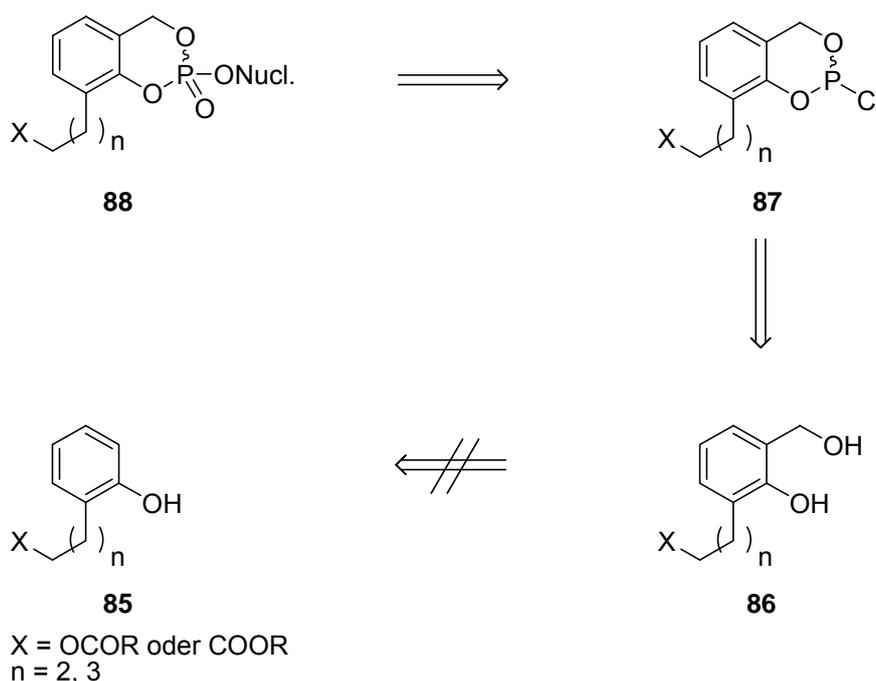
**Tabelle 3:** Selektivitätsindizes der Verbindungen **2**, **38a-b** und **42a-b**

a) Quotient aus  $EC_{50}(\text{CEM}/\text{TK})$  und  $CC_{50}$

### 4.3 Arbeiten zu estermodifizierten *cycloSal*-Nucleosid-Monophosphaten mit verlängerter Alkylkette

#### 4.3.1 Synthesestrategien

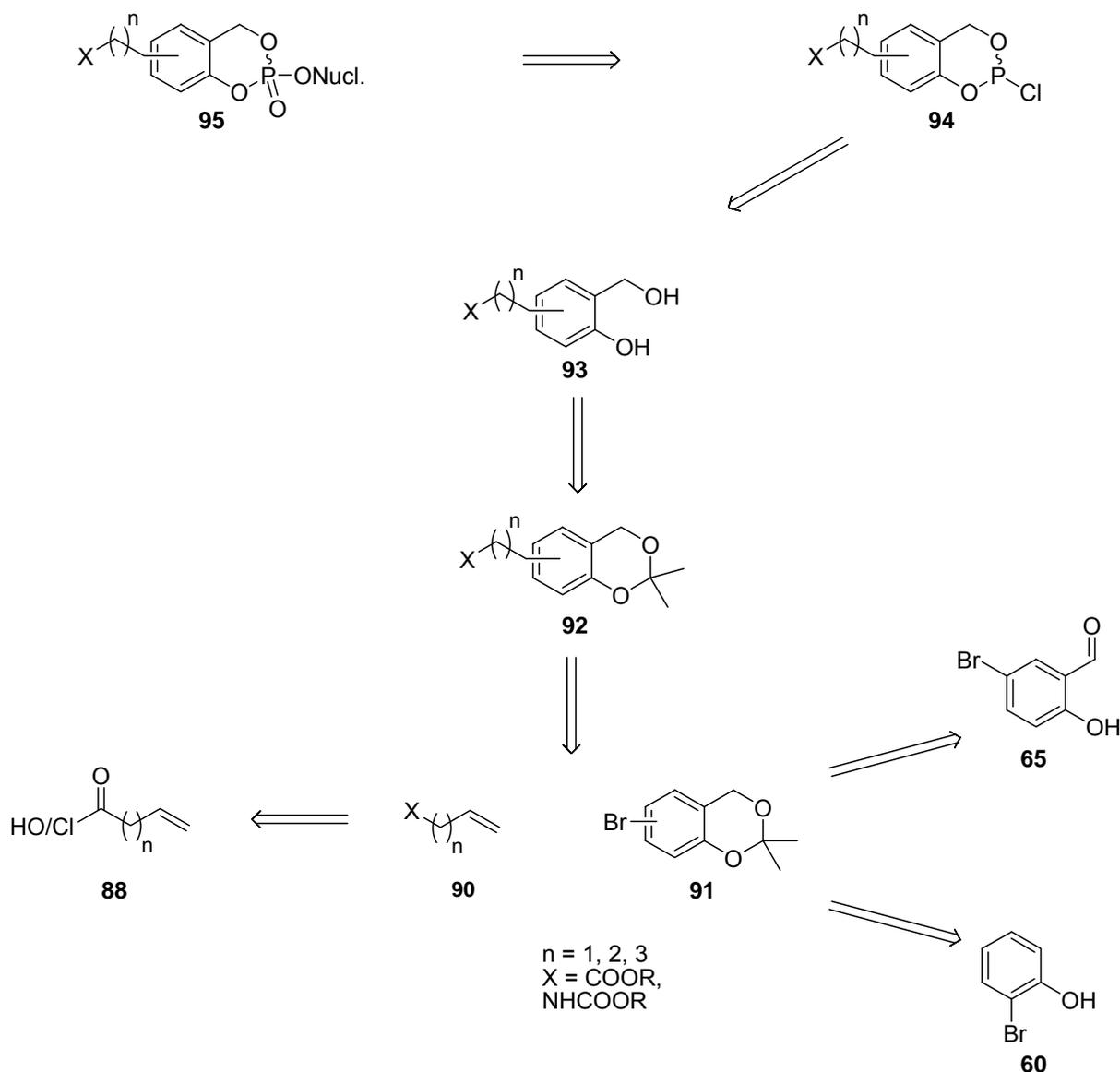
Wie schon im Abschnitt 4.2 erwähnt wurde, erfolgte die Darstellung „lock-in“-modifizierter *cycloSal*-NMPs bisher in einer linearen Synthese, bei der das entsprechende Salicylalkoholderivat das Schlüsselintermediat war. In Rahmen meiner Diplomarbeit wurde versucht, diesen Syntheseweg auch für estermodifizierte Verbindungen mit C3- und C4-Spacerlängen anzuwenden, was allerdings misslang. Als besonders problematisch war hier die Einführung der Hydroxymethylfunktion (siehe Abbildung 48). Die bisher verwendete Hydroxymethylierung nach Nagata<sup>74</sup> lieferte nicht die gewünschten Salicylalkohole.<sup>84</sup> Eine mögliche Ursache könnte eine erhöhte thermische Labilität im Vergleich zu den Verbindungen mit C2-Spacer sein.



**Abbildung 48:** Lineare Synthese zur Darstellung von „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-NMPs mit C3- und C4-Linker

Ein Ziel sollte sein, eine alternative Syntheseroute zu finden, um die Einführung der längeren Spacer-Ketten an das aromatische System zu erreichen. Bereits in vorangegangenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass eine konvergente Synthese, die als zentralen Schritt eine Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion beinhaltet, ein

möglicher Zugang zu den gewünschten Salicylalkoholderivaten ist.<sup>84</sup> Diese Synthese sieht vor, dass ein  $\omega$ -ungesättigter Ester oder beliebiges  $\omega$ -ungesättigtes Olefin mit einem entsprechenden Hydroborierungsreagenz (9-BBN) in ein Trialkylboran überführt wird. Dieses wird anschließend in einer Eintopfreaktion über eine Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung mit dem entsprechend bromierten und geschützten Salicylalkoholderivat umgesetzt (siehe Abbildung 49).



**Abbildung 49:** Retrosyntheseschema mit Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion als zentralen Schritt

Nach Spaltung der Acetale erhält man die entsprechenden Salicylalkoholderivate, die nach den bereits etablierten Methoden zu den *cyclo*Salingenyl-Nucleosid-Monophosphaten umgesetzt werden können (vgl. 4.2.1.1). Da die neue

---

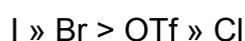
Syntheseroute eine Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion als zentralen Schritt beinhaltet, soll zunächst der theoretische Hintergrund dieser Reaktion erläutert werden.

#### 4.3.1.1 Die Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung

Mit ihrer Veröffentlichung im Jahr 1986 haben A. Suzuki und N. Miyaura der Organischen Chemie einen neuen und effektiven Syntheseweg zur Knüpfung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen zur Verfügung gestellt.<sup>85</sup> Heute ist sie eine der am häufigsten verwendeten Kreuzkupplung. Die größten Vorteile der Suzuki-Miyaura-Reaktion sind die hohe Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen, wie z.B. Estern und das breite Spektrum der umsetzbaren Substrate. Bei dieser Kreuzkupplungsreaktion werden eine Organo-Bor-Verbindung mit einem Aryl- oder Vinylhalogenid, -triflat oder enolphosphat unter Verwendung einer Base und eines Palladium-Katalysator unter milden Bedingungen miteinander verknüpft.

Als Organo-Bor-Verbindung kommen in der Regel Boronsäuren, Boronsäureester und Trialkylborane zum Einsatz. Besonders die Verwendung von Trialkylboranen macht die Suzuki-Miyaura-Reaktion sehr flexibel, da diese durch die Hydroborierung einer Doppelbindung sehr gut erhältlich sind. Die Hydroborierung mit sterisch anspruchsvollen Hydroborierungsagentien wie 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN) oder Catecholboran liefert hoch chemo-, regio- und diastereoselektiv die Alkylborane. Bei dieser Reaktion ist das Regioisomer mit endständiger Alkylborylgruppe das stark bevorzugte Addukt (Anti-Markovnikov-Addition).<sup>86,87</sup> Elektronenreiche, sterisch nicht gehinderte Alkene reagieren in den meisten Fällen am schnellsten mit dem Hydroborierungsreagenz. Die Differenzierung unterschiedlicher Doppelbindungen eines Moleküls ist sehr gut steuerbar.<sup>91</sup>

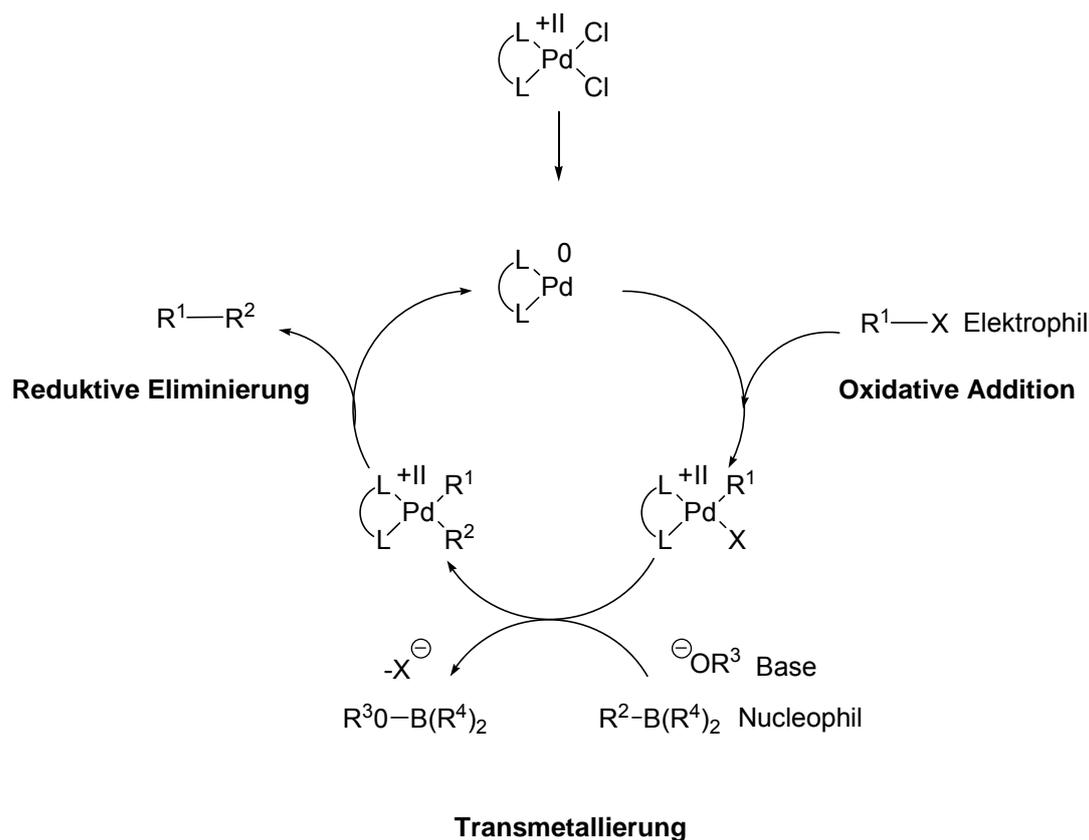
Als Kupplungspartner für die Organo-Bor-Verbindungen werden am häufigsten die Halogenide oder Triflate der Kohlenstoff-Elektrophile eingesetzt. Es wurde folgende Abstufung der Reaktivität der Substituenten gefunden:



Als Kompromiss zwischen Reaktivität, Syntheseweg und Herstellungskosten kommen normalerweise Bromide, seltener Iodide oder Triflate zum Einsatz.

Seit der Entwicklung neuer, hochreaktiver Katalysatorsysteme ist es mittlerweile auch möglich Arylchloride unter Suzuki-Bedingungen umzusetzen.<sup>88</sup> Bisher wurden Chloride nur sehr stark eingeschränkt als Substrate verwendet, da ihre Reaktivität zu gering war. Die billigeren Herstellungskosten und die bessere Zugänglichkeit der Arylchloride macht die Verwendung der neuen, aber leider recht teuren Katalysatoren auch für großtechnische Anwendungen attraktiv.<sup>89</sup>

Wie auch alle anderen Kreuzkupplungsreaktionen, verläuft die Suzuki-Miyaura-Reaktion nach einem Katalysezyklus, der in drei elementare Schritte eingeteilt werden kann: Die Oxidative Addition, die Transmetallierung und die Reduktive Eliminierung (siehe Abbildung 50). Bevor die eigentliche katalysierte Reaktion beginnen kann, wird aus der Palladium(+II)-Spezies zunächst der katalytisch aktive Palladium(0)-Komplex gebildet.

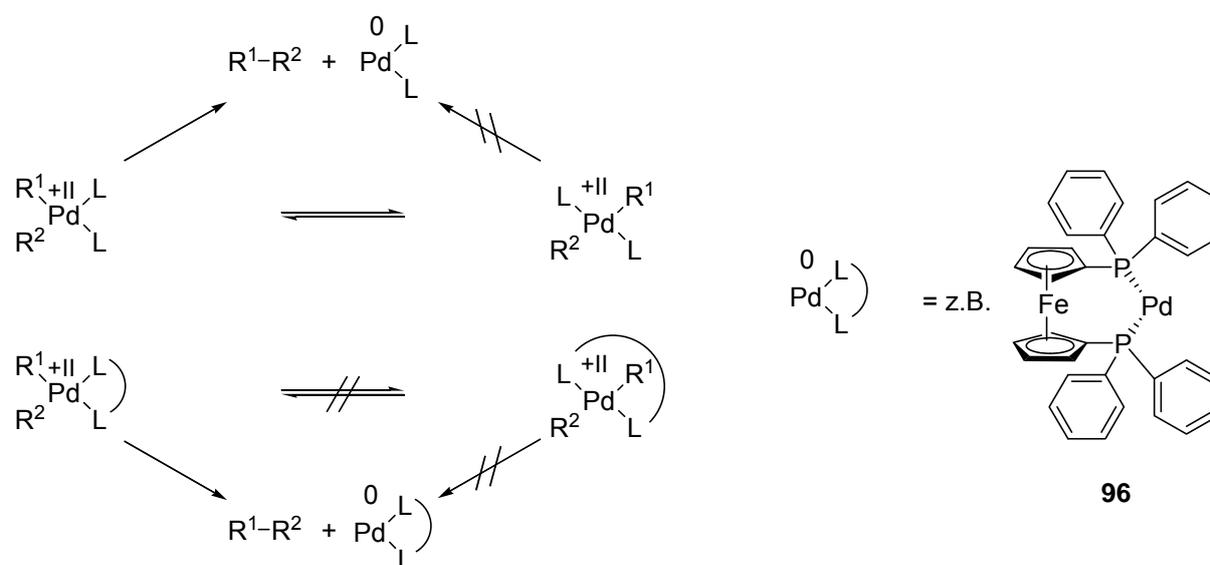


**Abbildung 50:** Allgemeiner Katalysezyklus der Suzuki-Miyaura-Reaktion

Bei der *Oxidativen Addition* insertiert das Palladium in die Kohlenstoff-Halogenid bzw. Pseudohalogenid-Bindung des Elektrophils. Dieser Schritt ist häufig geschwindigkeitsbestimmend, er verläuft besonders gut bei elektronenarmen und sterisch ungehinderten Substraten.<sup>91</sup>

In der nachfolgenden *Transmetallierung* handelt es sich formal um einen Ligandenaustausch am Palladium, bei dem das (Pseudo-) Halogenid X gegen den Kupplungspartner  $R^2$  des Nucleophils ausgetauscht wird. Damit dieser Schritt ablaufen kann, muss zunächst die Organo-Bor-Verbindung aktiviert werden. Die Aktivierung erfolgt durch die Addition der Base an das Boratom, wodurch ein negativ geladener, tetravalenter Boronat-Komplex entsteht, der die eigentliche Transmetallierung einleitet. Aus diesem Grund ist die Verwendung einer Base bei der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion zwingend notwendig. Sonderquist und Matos haben in ihren Untersuchungen eine weitere Ligandenaustauschreaktion am Palladiumzentrum gefunden, es wurde das Halogenid gegen die Base (Hydroxid) getauscht und es kam zur Bildung einer reaktiveren Pd(+II)-OH-Spezies, die anschließend, wie bereits beschrieben, mit dem Boronat-Komplex reagiert.<sup>90</sup>

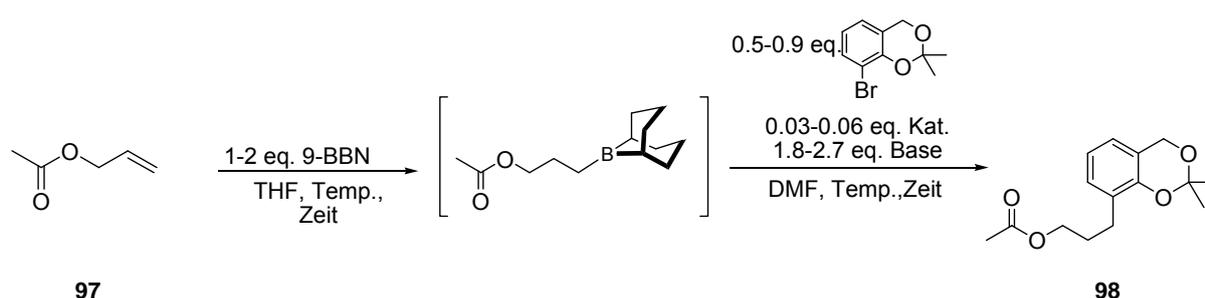
Als letzter Schritt des Katalysezyklus steht die *Reduktive Eliminierung*. Hier wird die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung geknüpft, das Kupplungsprodukt aus dem Komplex eliminiert und der Katalysator regeneriert. Für eine erfolgreiche Eliminierung müssen die beiden Reste im quadratisch-planaren Palladium-Komplex *cis* zueinander stehen, da sonst die räumliche Nähe fehlt. Die Verwendung bidenteter Liganden wie z.B. 1,1'-Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen (dppf) (siehe Abbildung 51), erzwingt die *cis*-Konfiguration des Pd(+II)-Komplexes, so dass eine Änderung der Konfiguration aus einer eventuell vorliegenden *trans*-Spezies entfällt und damit wesentlich effektiver ist.



**Abbildung 51:** Schematische Darstellung der Reduktiven Eliminierung

## 4.3.1.2 Reaktionsoptimierung der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung

In einem ersten Versuch konnte prinzipiell gezeigt werden, dass über eine Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion ein neuer Zugang zu den gewünschten Salicylalkoholderivaten möglich ist.<sup>84</sup> Es sollte nun durch systematische Variation der Versuchsbedingungen eine Optimierung der Reaktion durchgeführt werden. Als Grundlage wurde die von Boehm *et al.*<sup>95</sup> beschriebene Durchführung verwendet und so ein Modellsystem entwickelt, das in der nachfolgenden Abbildung 52 dargestellt ist. Als ungesättigte Komponente wurde das kommerziell erhältliche und kostengünstige Allylacetat **97** mit 9-BBN als Hydroborierungsreagenz unter verschiedenen Bedingungen und unterschiedlichen Verhältnissen miteinander zum Trialkylboran umgesetzt. In einer Eintopfreaktion wurden nun das Bromid **66**, die Base, der Katalysator und das Lösungsmittel zu der Reaktion gegeben. Auch hier wurden die Äquivalente, Temperatur und Zeit variiert. Es war auch vorgesehen, 3-Iod-salicylalkohol/isopropylidenacetal als Kupplungskomponente zu verwenden. Die Synthese der Verbindung gelang jedoch nicht, so dass auf diese Experimente verzichtet werden musste. Was allerdings zunächst nicht geändert wurde, sind Kaliumcarbonat als Base, Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> **96** als Katalysator und *N,N*-Dimethylformamid als Lösungsmittel. Nach diesem Schema wurden zahlreiche Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktionen ausgeführt, um sich so den optimalen Bedingungen anzunähern.



**Abbildung 52:** Mögliche Variationen der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion

Die ersten Untersuchungen ergaben, dass die in der Literatur beschriebene Hydroborierung nicht wie angegeben bei Raumtemperatur durchgeführt werden muss. Vielmehr konnte die Temperatur problemlos auf 50 °C erhöht werden, ohne dass es zu einer unkontrollierten Reaktion kam. Testweise wurde einmal die Reaktionstemperatur der eigentlichen Kreuzkupplungsreaktion bis zum Rückfluss erhöht, dieser Ansatz zeigte bereits nach wenigen Stunden eine sehr starke

---

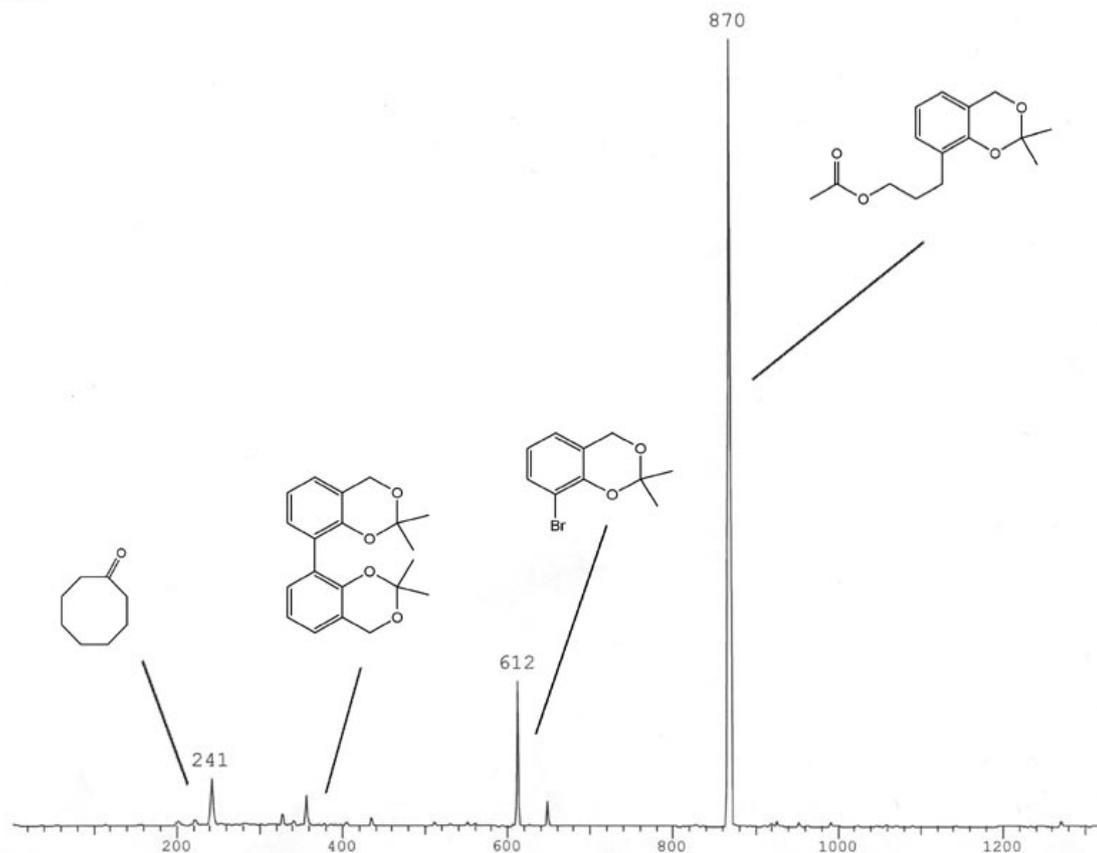
Schwarzfärbung und ungewöhnlich viele Verbindungen im DC, so dass auf weitere Ansätze mit Temperaturerhöhung verzichtet wurde.

In einem anderen Versuch wurde die Menge des Katalysators verdoppelt, um so einen positiven Effekt auf die Ausbeute bzw. Reaktionsgeschwindigkeit zu erhalten. Überraschenderweise konnte kein Einfluss der Katalysatormenge auf die Ausbeute nachgewiesen werden. In späteren, leicht abgewandelten Reaktionen konnte dies mehrfach reproduziert werden (vgl. Abschnitt 4.4.1). Im Folgenden wurde die ursprüngliche Menge von 0.03 Äquivalenten an Katalysator eingesetzt. Des Weiteren wurden mehrfach die Äquivalente an Allylacetat **97**, 9-BBN, Kaliumcarbonat und 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66** variiert, um ein optimales Ergebnis zu erhalten. Im Laufe der Optimierung zeigte sich, dass eine vollständige Aufarbeitung und Reinigung des Reaktionsgemischs, wegen der sehr aufwändigen Chromatographie, nicht praktikabel ist. Aus diesem Grund wurden die Ausbeuten mit Hilfe von Gaschromatographie bestimmt, wobei die Zuordnung der einzelnen Signale mittels Massenspektrometrie erfolgte. Hierzu wurden die Reaktionslösungen im Hochvakuum von *N,N*-Dimethylformamid befreit, über Celite mit Ethylacetat filtriert, um Katalysatorrückstände und andere feste Bestandteile zu entfernen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mittels Gaschromatographie analysiert.

Die Zuordnung der Signale zu den entsprechenden Verbindungen erfolgte einmalig mit Hilfe eines Massenspektrometers, so dass in den folgenden Messungen die Zuordnung über einen Vergleich der Retentionszeiten möglich war.

Über die Integrale der jeweiligen Signale aus den verschiedenen Chromatogrammen ließ sich außerdem das Verhältnis vom erwarteten Produkt **98** zu dem entsprechenden Edukt **66** und gegebenenfalls Nebenprodukt(en) bestimmen. Ein Beispiel eines GC-Laufes mit einer Zuordnung der Verbindungen zu den entsprechenden Signalen ist in Abbildung 53 dargestellt.

20406



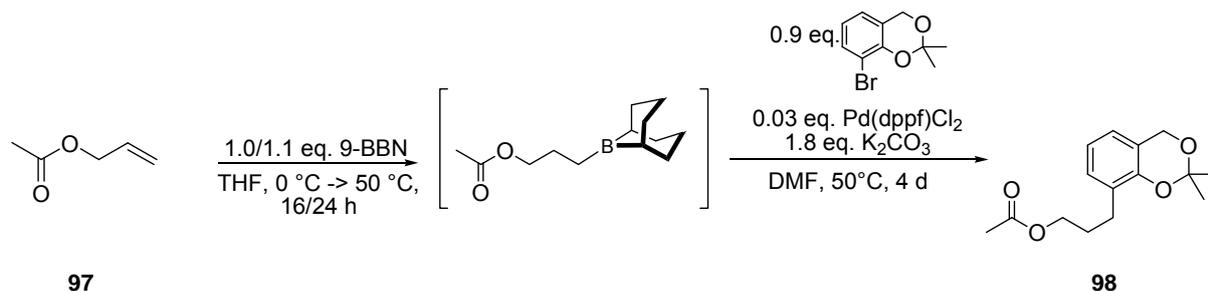
**Abbildung 53:** Beispiel für eine Untersuchung eines Reaktionsgemischs mittels Gaschromatographie

Das Signal bei 241 entspricht Cyclooctanon, einem Nebenprodukt der Hydroborierung, das sich aus 9-BBN bildet. Da es keine Auswirkung auf die Kreuzkupplung hat, kann es bei der Auswertung vernachlässigt werden. Das zweite relevante Signal bei 354 wurde als Homo-Kupplungsprodukt **99** der Kreuzkupplung identifiziert und ist das einzige Nebenprodukt, das gefunden wurde. Das Edukt **66** konnte dem Signal bei 612 zugeordnet werden, das letzte Signal bei 870 entspricht dem Kupplungsprodukt **98**.

Aus dem oben dargestellten und den anderen nicht dargestellten Gaschromatogrammen ließ sich deutlich erkennen, dass bei den Reaktionen ein hoher Umsatz und ein gutes Produkt-Edukt Verhältnis mit nur geringen Mengen an Nebenprodukt(en) erzielt wurde. Leider konnten nicht alle durchgeführten Reaktionen mit Hilfe von Gaschromatographie untersucht werden, da nur ein stark begrenzter Zugang zu den entsprechenden Geräten bestand. Im Folgenden werden die Ergebnisse der mittels Gaschromatographie untersuchten Reaktionen im Detail diskutiert.

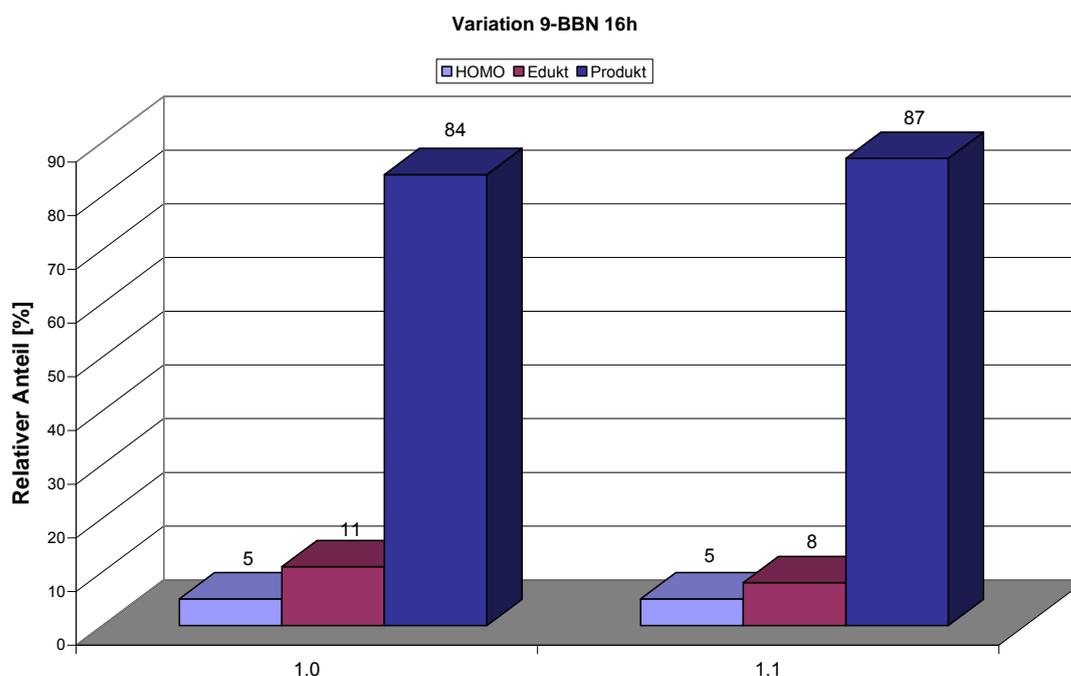
#### 4.3.1.2.1 Einfluss der Äquivalente des Hydroborierungsreagenz und der Dauer der Hydroborierung

Die ersten Untersuchungen beschäftigten sich mit dem ersten Schritt der Reaktion, der Hydroborierung. Über die Variation der Menge des Hydroborierungsreagenzes und der Reaktionsdauer, sollten möglichst optimale Reaktionsbedingungen gefunden werden, um kein Nadelöhr für die eigentliche Kupplungsreaktion zu schaffen (siehe Abbildung 54).



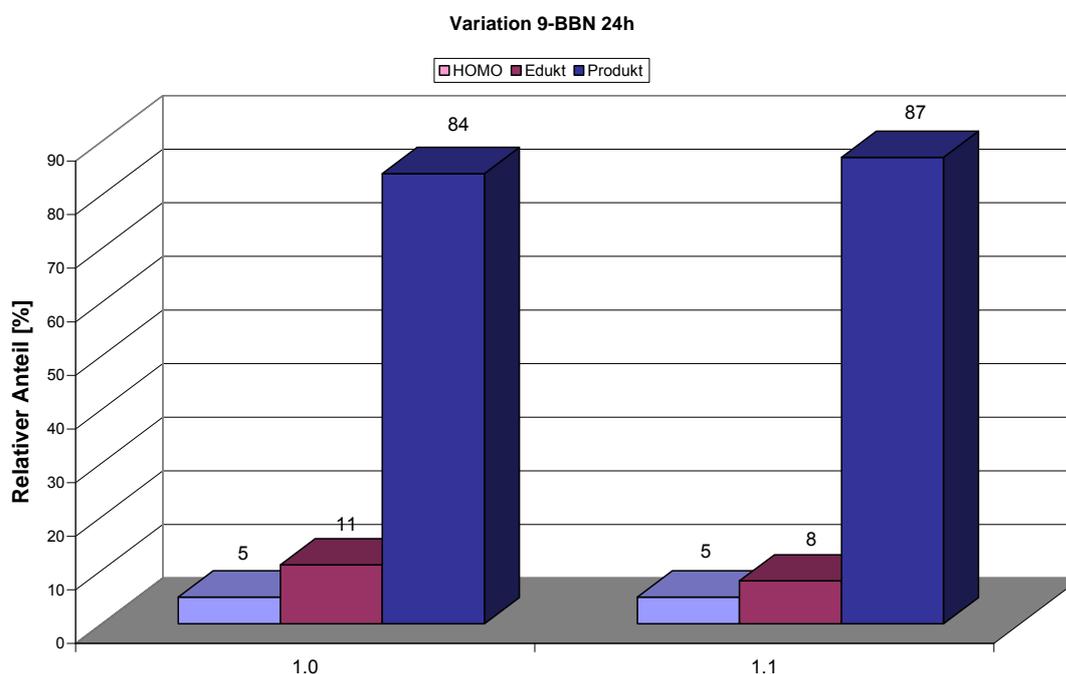
**Abbildung 54:** Reaktionsoptimierung der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion - Variation der Äquivalente von 9-BBN und der Zeit

Wie aus den folgenden Abbildungen deutlich zu erkennen ist, führte die Erhöhung der Menge an 9-BBN von 1.0 auf 1.1 Äquivalente zu einer leichten Steigerung der Produktbildung von 84% auf 87%.



**Abbildung 55:** Vergleich der Mengenvariation bei einer Hydroborierungsdauer von 16 Stunden

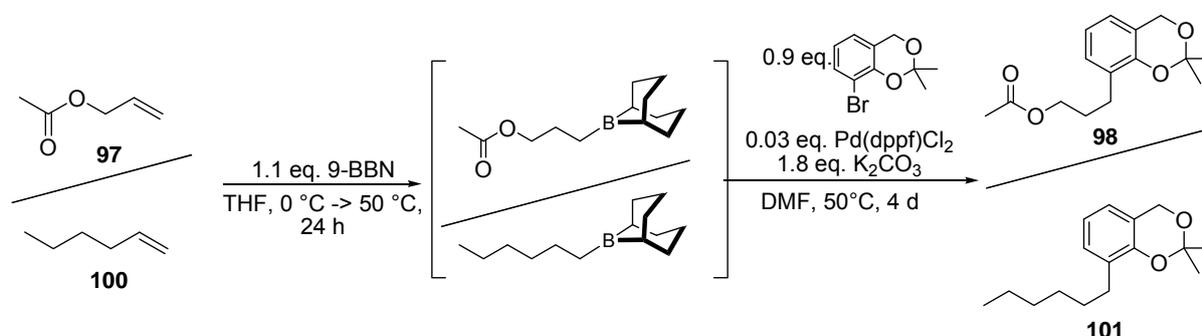
Die Verlängerung der Hydroborierungsdauer von 16 Stunden auf 24 Stunden führte zu keiner Ausbeutensteigerung (siehe Abbildung 56).



**Abbildung 56:** Vergleich der Mengenvariation bei einer Hydroborierungsdauer von 24 Stunden

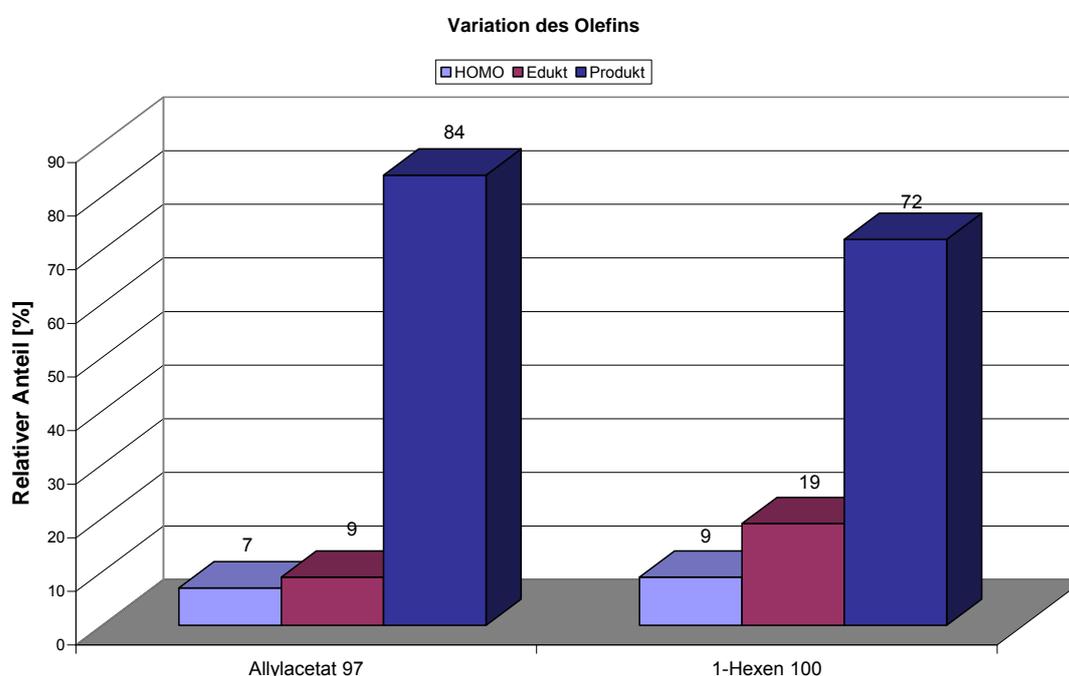
#### 4.3.1.2.2 Einfluss des Olefins auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Als nächstes sollte der Einfluss des Olefins auf die Reaktionsgeschwindigkeit untersucht werden. Dazu wurde neben dem Allylacetat **97** das elektronenreichere 1-Hexen **100** unter den Standardkupplungsbedingungen als ungesättigte Komponente eingesetzt (siehe Abbildung 57).



**Abbildung 57:** Einfluss des Olefins auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion

Wie in der Abbildung 58 zu erkennen ist, hat sich bei der Reaktion mit dem elektronenärmeren Allylacetats **97** 84% und mit 1-Hexen nur 72% des gewünschten Produktes gebildet. Offensichtlich war die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Kupplung mit dem 1-Hexen **100** geringer. Die quantitative GC-Analyse zeigte, dass etwa die doppelte Menge des Eduktes **66** nicht umgesetzt wurde (9% gegenüber 19%). Da in der Literatur beschrieben wird, dass elektronenreichere Doppelbindungen schneller bei der Hydroborierung reagieren, war hiermit nicht zu rechnen.<sup>91</sup> In beiden Fällen liegt keinerlei sterische Hinderung vor, so dass dies als Ursache ausgeschlossen werden kann.

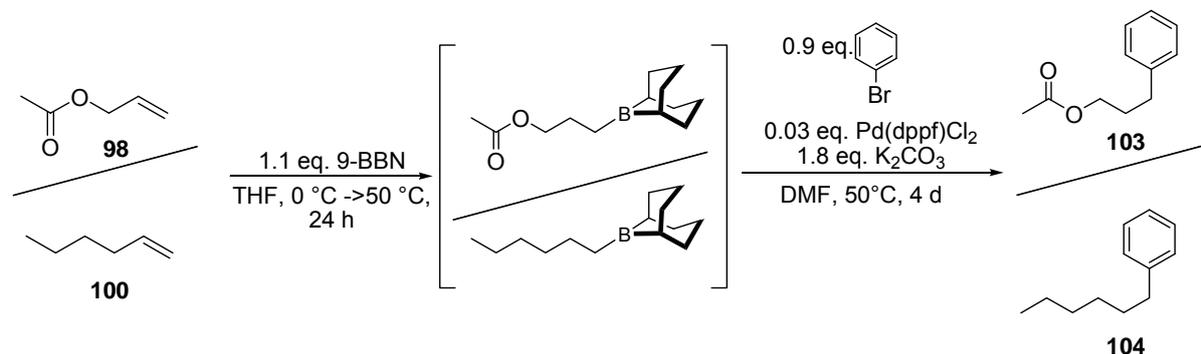


**Abbildung 58:** Untersuchung zum Einfluss des Olefins auf die Reaktionsgeschwindigkeit

#### 4.3.1.2.3 Untersuchungen zum Einfluss des Bromids auf die Reaktionsgeschwindigkeit

In der Literatur wurde beschrieben, dass die elektronischen Verhältnisse am aromatischen Kupplungspartner einen erheblichen Einfluss auf die Ausbeute bzw. die Reaktionsgeschwindigkeit haben.<sup>92,93,91,88</sup> Um diesen Effekt zu verifizieren, wurden Modellversuche mit Brombenzol **102** anstelle des

3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetals **66** mit den beiden Olefinen **98** und **100** durchgeführt (siehe Abbildung 59).

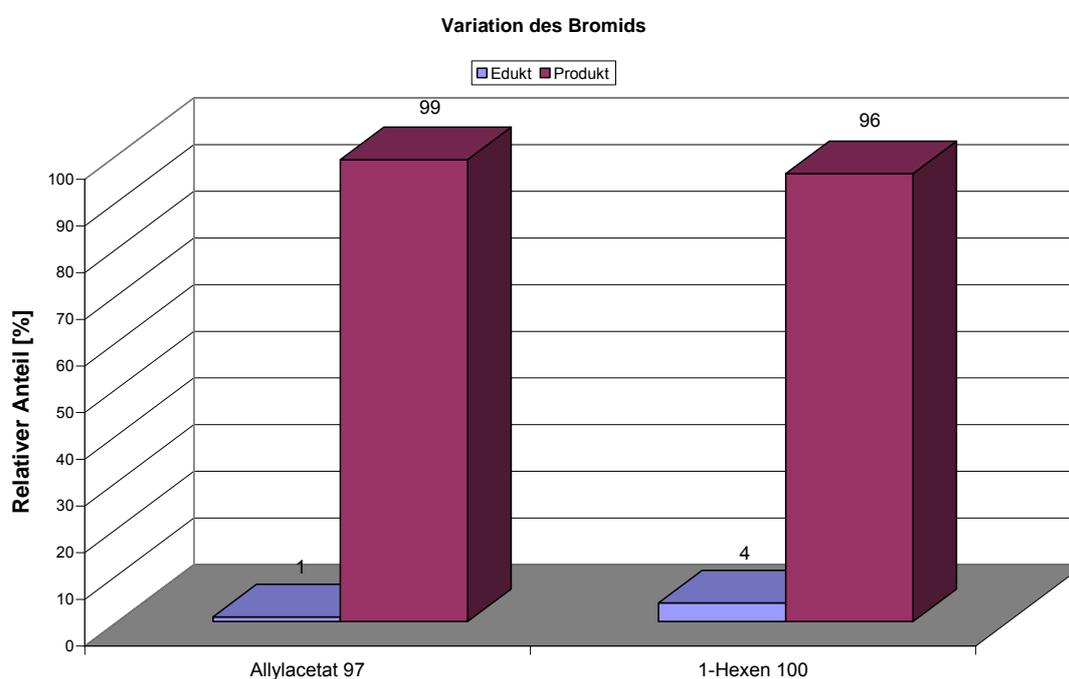


**Abbildung 59:** Einfluss des Bromids als Kupplungspartner auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung

Bei den Reaktionen mit Brombenzol **102** konnte für beide Olefine mit 99% (Allylacetat **97**) bzw. 96% (1-Hexen **100**) eine nahezu quantitative Umsetzung bei der Kreuzkupplungsreaktion beobachtet werden, wobei kein Homokupplungsprodukt **99** identifiziert wurde (siehe Abbildung 60). Im Vergleich dazu konnte in der entsprechenden Reaktion von 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetals **66** und Allylacetat **97** nur eine Ausbeute von 84%, wobei noch 7% Homokupplungsprodukt **99** und 9% des Eduktes **66** gefunden wurden. Die Reaktion von 1-Hexen **100** mit 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetals **66** lieferte 72% des Produkts **101**, 9% des Homokupplungsprodukt **99** und 19% des Eduktes **66** (siehe Abbildung 58). Diese Ergebnisse stimmen weitestgehend mit den Beobachtungen aus der Literatur überein.<sup>91,92,93,96</sup> Im Allgemeinen wird beschrieben, dass elektronenziehende Substituenten am Kupplungspartner oder elektronendefiziente Heteroaromaten als Kupplungspartner deutlich schneller reagieren als entsprechend elektronenreichere Verbindungen. Die Ursache hierfür könnte in einer gesteigerten Elektrophilie liegen. Die höhere Elektrophilie erleichtert die Insertion des Palladiums in die Kohlenstoff-Brom-Bindung des Aromaten, so dass bei ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen die Geschwindigkeit steigt. Beim Brombenzol **102** handelt es sich im Vergleich zum 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66** um den elektronenärmeren Aromaten und somit um das bessere Elektrophil. Allerdings muss man hierbei bedenken, dass dieser Effekt nur zum Tragen kommt, wenn die Oxidative Addition der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Reaktion ist. Es sind auch Beispiele bekannt bei denen die Transmetallierung als der geschwindigkeitsbestimmende Schritt beschrieben wird.<sup>94</sup> Ebenso wäre es denkbar,

dass bei dem *Isopropylidenacetal* **66** sterische Effekte für die verlangsamte Reaktionsgeschwindigkeit verantwortlich sind. In diesem Fall würde man für das 5-Isomer **67** im Vergleich zum 3-Isomer **66** des *Isopropylidenacetals* eine höhere Ausbeute bzw. Reaktionsgeschwindigkeit erwarten. In Abschnitt 4.3.1.3 wird gezeigt, dass dies nicht der Fall ist.

Indirekt konnte durch die annähernd quantitativen Umsätze der beiden durchgeführten Reaktionen mit dem Brombenzol **102** auch nachgewiesen werden, dass die Hydroborierung nicht der limitierende Faktor sein kann.

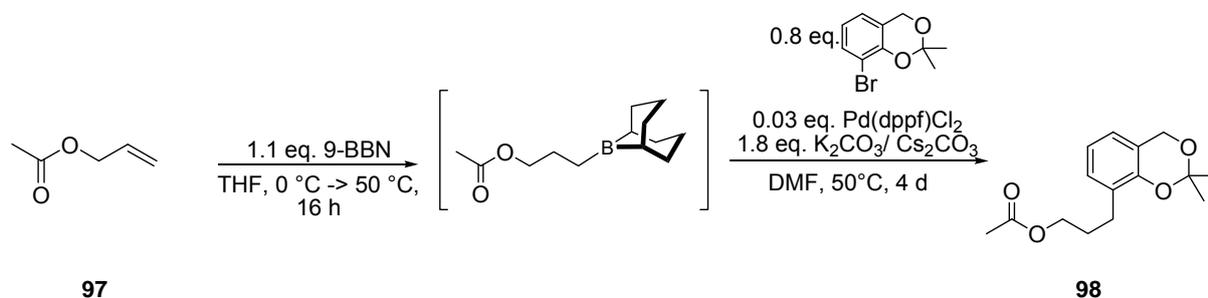


**Abbildung 60:** Untersuchungen zum Einfluss der elektronischen Verhältnisse am Elektrophil

#### 4.3.1.2.4 Untersuchungen zum Einfluss der Base auf die Reaktionsgeschwindigkeit

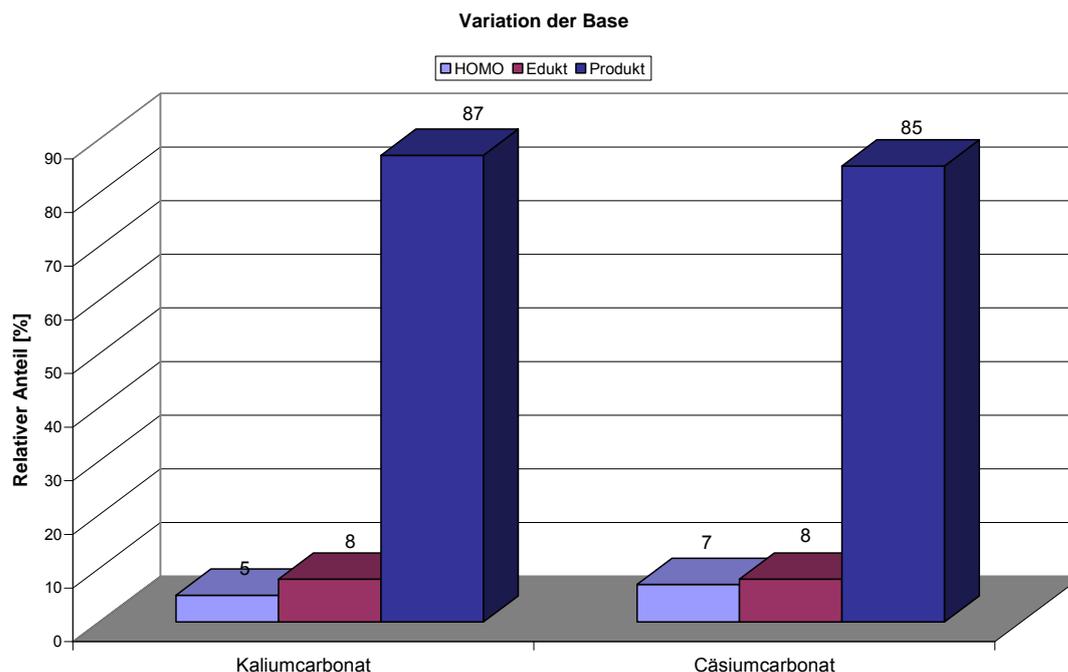
Wie in Abschnitt 4.3.1.1 beschrieben, sind die Basen essentiell für die Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung. Ihre Hauptrolle liegt in der Aktivierung des Trialkylborans durch Anlagerung und Bildung des negativ geladenen, tetravalenten Boratkomplexes, der in die Transmetallierung eingeht (vgl. Abbildung 50). Für die Reaktionen mit hydrolyseempfindlichen Funktionen, wie z.B. Estergruppen, wird hauptsächlich Kaliumcarbonat als Base in *N,N*-Dimethylformamid als Lösungsmittel

beschrieben.<sup>95,96,91</sup> Bei der Durchführung der Reaktionen konnte aber festgestellt werden, das Kaliumcarbonat in *N,N*-Dimethylformamid eine geringe Löslichkeit besitzt. Um einen negativen Effekt auszuschließen, wurde eine Vergleichsreaktion mit dem deutlich besser löslichen Cäsiumcarbonat als Base durchgeführt.



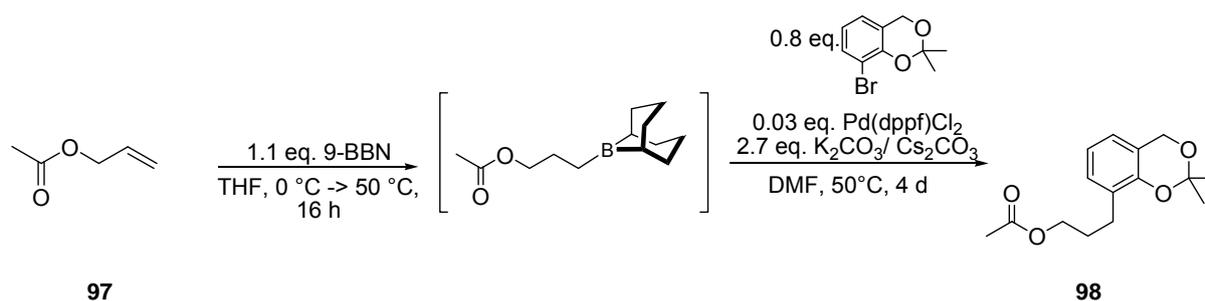
**Abbildung 61:** Einfluss der Base auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung

Wie in Abbildung 62 deutlich zu erkennen ist, konnte man keinen signifikanten Unterschied bei der Verwendung von Kaliumcarbonat oder Cäsiumcarbonat als Base feststellen. In beiden Fällen konnten ca. 85% des Produkts **98**, 8% Homokupplungsprodukt **99** und rund 5% des Eduktes **66** detektiert werden. Auf Grund dieser Ergebnisse und den deutlich geringeren Kosten, wurde weiterhin Kaliumcarbonat in den nachfolgenden Reaktionen als Base verwendet.



**Abbildung 62:** Untersuchung zum Einfluss der Base auf die Reaktionsgeschwindigkeit

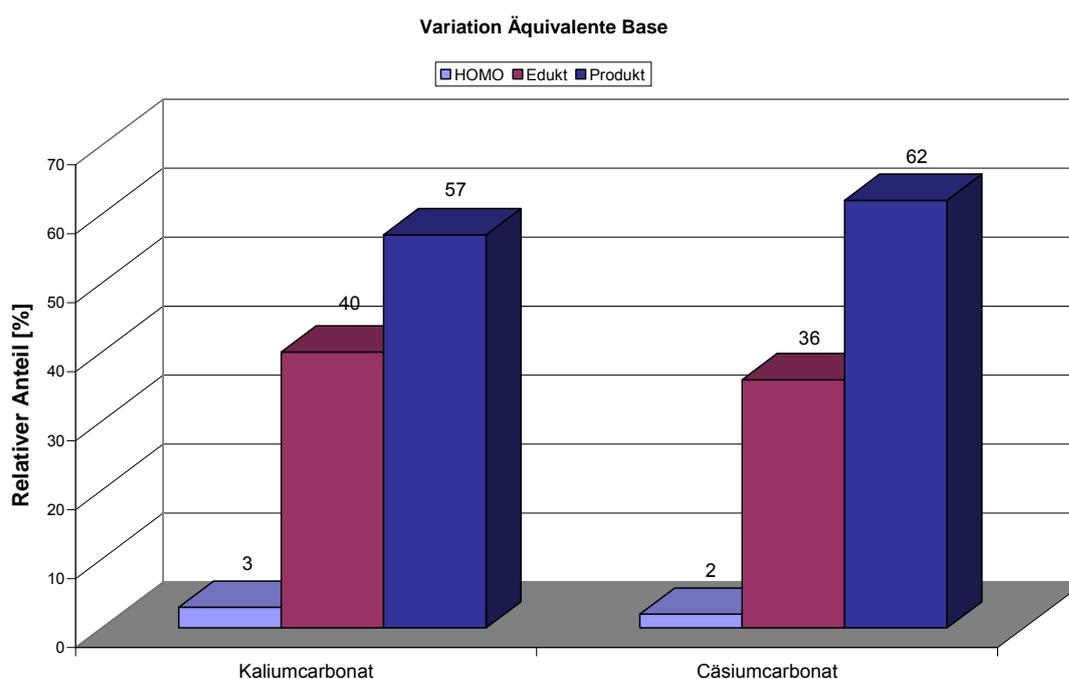
In zwei weiteren Testreaktionen sollte anschließend untersucht werden, wie sich die Erhöhung der Äquivalente der Basen auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung auswirkt.



**Abbildung 63:** Variationen Art und Äquivalente der Base

Die Erhöhung von 1.8 auf 2.7 Äquivalente der eingesetzten Base hatte in beiden Fällen deutlich einen deutlich negativen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit. So konnten für Kaliumcarbonat als Base nur 57% des gewünschten Produktes **98** und 40% des Eduktes **66** quantifiziert werden (Abbildung 64). Dies waren über 34% Verlust gegenüber Vergleichsreaktion mit 1.8 Äquivalenten Base (vgl. Abbildung 62),

wo 87% Produkt **98** nachgewiesen wurde. Sehr ähnlich verhielt es sich bei Cäsiumcarbonat; hier ging der Reaktionsumsatz um rund 27% zurück (62% vs. 85% **98** und 36% vs. 8% Edukt **66**). Die Tatsache, dass der Reaktionsumsatz sank, ist relativ ungewöhnlich, da in der Literatur nicht selten bis zu drei Äquivalente Base verwendet wurden.<sup>70,85,92</sup> Zudem waren die Basen in dem Lösungsmittel suspendiert, so dass die Konzentration der gelösten und damit verfügbaren Base durch das Löslichkeitsprodukt limitiert war. Möglicherweise war die Verdünnung eine Ursache für die verlangsamte Umsetzung. Man musste das Lösungsmittelvolumen um ungefähr die Hälfte erhöhen, um Löslichkeitsprobleme zu vermeiden. Der Sachverhalt konnte nicht abschließend aufgeklärt werden, doch wurde in den nachfolgenden Reaktionen wieder mit 1.8 Äquivalenten Kaliumcarbonat als Base gearbeitet.

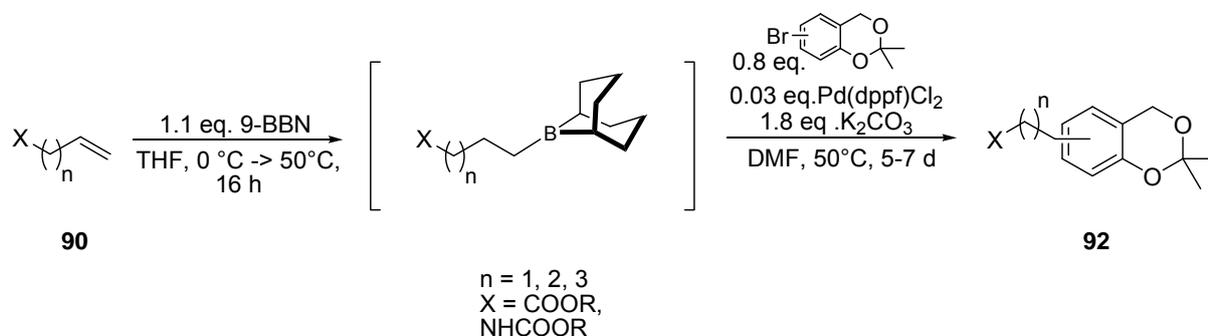


**Abbildung 64:** Variationen Art und Äquivalente der Base

#### 4.3.1.2.5 Zusammenfassung und Ergebnisse der Reaktionsoptimierung

Fasst man alle Ergebnisse der Optimierungen zusammen, so kommt man zu einem Reaktionsschema, das in der nachfolgenden Abbildung 65 zusammenfassend dargestellt ist. Hier wurden 1.0 Äquivalente der ungesättigten Komponente mit 1.1 Äquivalenten 9-BBN 16 h bei 50 °C hydroboriert. Der anschließende Kupplungsschritt

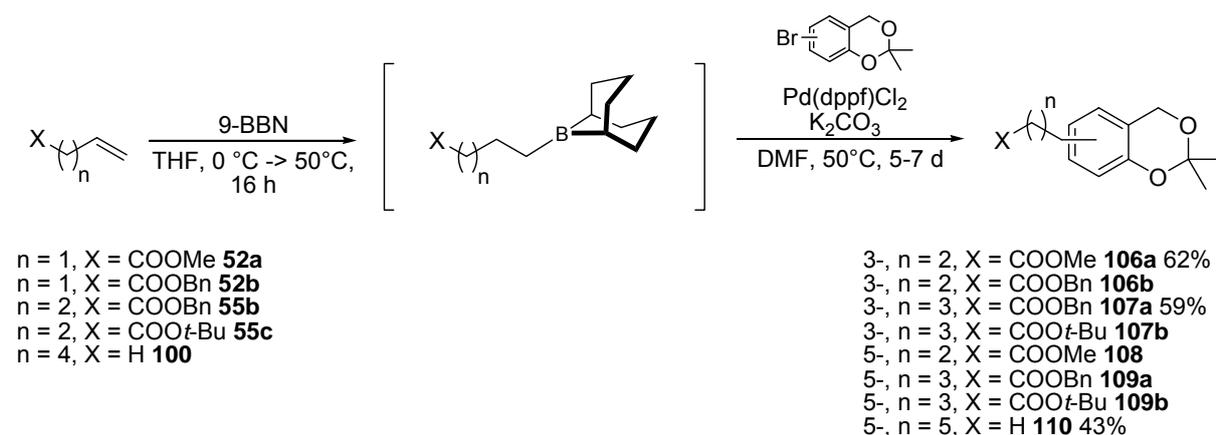
wurde mit 0.8 Äquivalenten des Bromids **66**, 0.03 Äquivalenten des Katalysators und 1.8 Äquivalenten Kaliumcarbonat als Base in *N,N*-Dimethylformamid bei 50 °C durchgeführt. Dabei orientierte sich die Reaktionszeit an der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion.



**Abbildung 65:** Zusammenfassung der optimalen Reaktionsbedingungen

#### 4.3.1.3 Synthese der Salicylalkoholisopropylidenacetale **106a-b**, **107a-b**, **108**, **109a-b** und **110** mit verlängerter Alkylkette

Für die Synthese der estermodifizierten Salicylalkoholisopropylidenacetale **106a-b**, **107a-b**, **108**, **109a-b** und **110** mit der verlängerten Spacerkette wurden die optimierten Bedingungen der Suzuki-Miyaura-Kupplung verwendet (siehe Abbildung 66).



**Abbildung 66:** Reaktionsschema zur Synthese der geschützten Salicylalkoholderivate **106a-b**, **107a-b**, **108**, **109a-b** und **110**

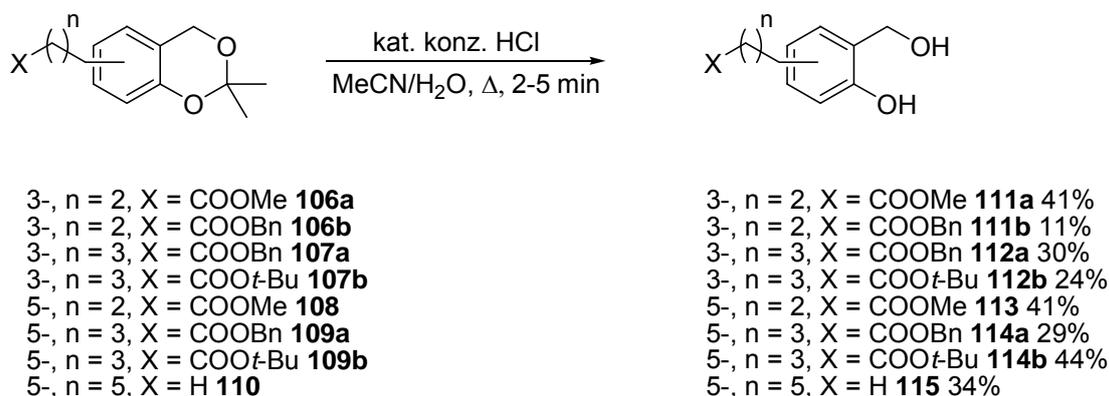
Nicht nur die Kupplungsbedingungen sind im Verlauf dieser Arbeit optimiert worden, sondern auch die Aufarbeitung der Reaktionsgemische. So wurde auf die Versuche verzichtet, die Katalysatorreste durch eine Filtration über Celite vor der Extraktion mit Dichlormethan abzutrennen.<sup>95</sup> Um eine Hydrolyse der Ester während der Extraktion zu vermeiden, wurde die Reaktionslösung zu einem 1 M Acetat-Puffer gegeben und 10 min gerührt. Neben der Neutralisation der Base wurde unter diesen Bedingungen auch metallisches Palladium ausgefällt, das sich später zusammen mit dem Natriumsulfat sehr leicht mittels Filtration abtrennen ließ. Die anschließende Extraktion erfolgte mit Diethylether anstelle von Dichlormethan, da sich die gebildeten Borverbindungen erfahrungsgemäß in Diethylether deutlich schlechter lösen. Die erhaltenen Rohproduktgemische zeigten ein sehr komplexes chromatographisches Verhalten, so konnten trotz vermeintlich vollständigem Umsatz (laut DC-Kontrolle) später die Edukte NMR-spektroskopisch in den Reaktionsgemischen nachgewiesen werden. Besonders die 3-Isomere neigten dazu, mit dem Edukt **66** und anderen Verbindungen koelutieren, so dass in der Regel die

*Isopropylidenacetale* höchstens zweimal säulenchromatographisch gereinigt wurden. Wenn so keine Analysenreinheit erreicht werden konnte, wurde mit der Spaltung der *Acetale* fortgefahren, da die Reinigung der *Salicylalkoholderivate* erheblich einfacher war.

In drei Fällen gelang eine vollständige Reinigung der *Isopropylidenacetale*, so dass nur für die Verbindungen 3-MeBu **106a** (62%), 3-BnPe **107a** (59%) und 5-Hexylsalicylalkoholisopropylidenacetal **110** (43%) Ausbeuten angegeben werden können.

#### 4.3.1.4 Synthese der *Salicylalkohole* **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115** mit verlängerter Alkylkette

Die Spaltung der *Isopropylidenacetale* erfolgte nach einer in der Arbeitsgruppe von H. J. Hessen entwickelten Modifikation der Salzsäure-katalysierten Entschützung von Acetoniden.<sup>97,98</sup> Die Verbindungen bzw. Rohproduktgemische wurden in einem Wasser / Acetonitril-Gemisch (3:7 v/v) aufgenommen, mit wenigen Tropfen konz. Salzsäure versetzt und einem Heißluftfön zum Sieden gebracht (Abbildung 67). Getrieben durch das Verdampfen des entstandenen Acetons war der Umsatz in der Regel nach wenigen Minuten vollständig (DC-Kontrolle). Bei sehr lipophilen Verbindungen, wie z.B. 3-BnPe-salicylalkoholisopropylidenacetal **112a**, erfolgte nur ein unvollständiges Lösen in dem Wasser / Acetonitril-Gemisch. Hier konnte auf eine dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion verzichtet werden, da die Bildung einer klaren Lösung einen vollständigen Umsatz anzeigte.



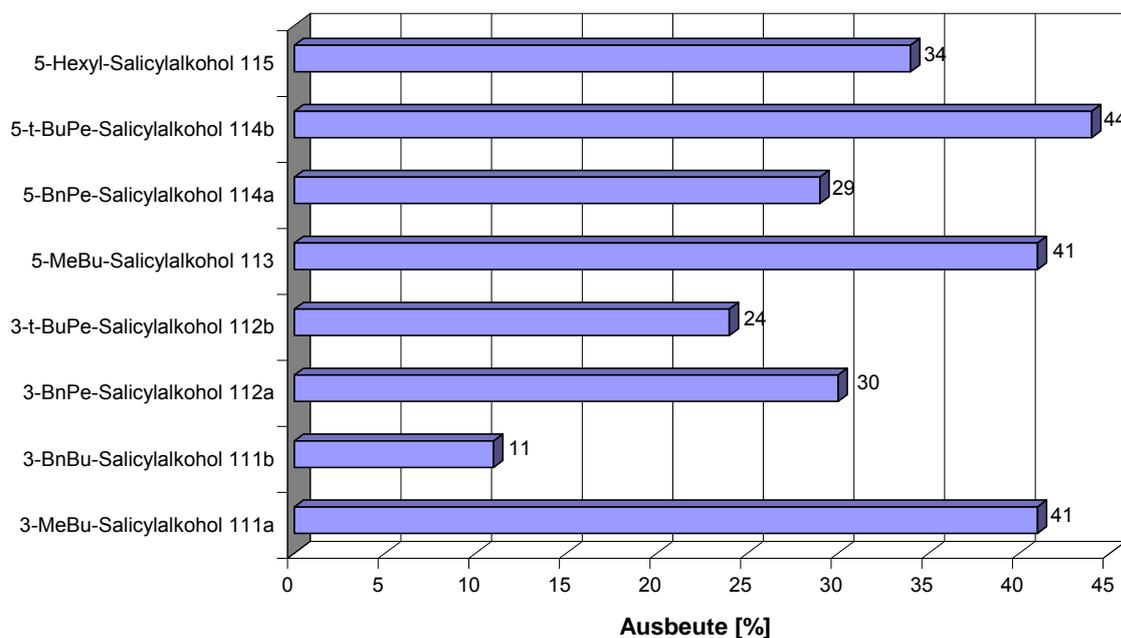
**Abbildung 67:** Säure-katalysierte Entschützung der Acetonide **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115**

Für gewöhnlich wurden noch zwei bis drei säulenchromatographische Reinigungen mit Dichlormethan / Methanol-Gemischen als Eluenten durchgeführt, um eine

---

Analysenreinheit der Salicylalkoholderivate zu erlangen. In Abbildung 68 sind die Ausbeute der Verbindungen **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115** über beide Stufen (Kupplung und Spaltung der Acetale) graphisch dargestellt. Zunächst fällt auf, dass die Ausbeuten der 5-Isomere mit Werten von ca. 30% bis 40% höher sind als die der 3-Isomere (ca. 10% bis 40%). Der Grund hierfür ist nicht etwa eine bessere Kupplung des 5-Isomere, sondern vielmehr die höhere Polarität dieser Salicylalkohole, die eine einfachere Reinigung ermöglichte. Bei den 3-Isomeren zeigte sich eine sehr starke ausgeprägte Neigung mit dem Edukt **66** und mit mindestens einer anderen nicht identifizierten Verbindung koeluiieren, so dass hier häufig mindestens eine säulenchromatographische Reinigung mehr durchgeführt werden musste. Besonders stark fällt dies beim direkten Vergleich der beiden Pentansäure-*t*-butylester **112b** und **114b** auf. Beide Verbindungen sind als Rohproduktgemische in die Entschützung eingesetzt worden, so dass eine sehr ähnliche Ausgangssituation vorlag. Dennoch war die Ausbeute des 5-Isomers etwa doppelt so hoch die des 3-Pendants (24% vs 44%), da für die Reinigung von 5-*t*-BuPe-salicylalkohol **114b** nur eine und für 3-*t*-BuPe-salicylalkohol **112b** drei säulenchromatographische Reinigungen benötigt wurden.

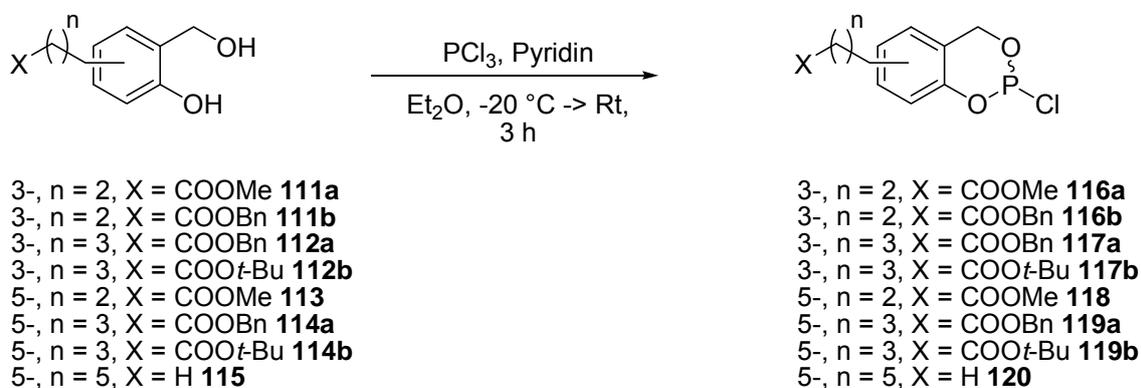
Für 3-MeBu- **106a** und 3-BnPe-salicylalkohol/isopropylidenacetal **107a** und die beiden entsprechenden 5-Isomere **108a** und **109a** konnten zwar identische Ausbeuten erhalten werden, jedoch erfolgte die Entschützung der 3-Isomere von analysenreinen Acetalen, so dass ein direkter Vergleich nicht möglich ist. Für die Verbindungen 5-Hexyl- **115** und 3-BnBu-salicylalkohol **111b** konnten Ausbeuten von 34% bzw. nur 11% isoliert werden. Als Gründe für die sehr niedrige Ausbeute für den Benzylester **111b** sind außergewöhnlich viele chromatographische Reinigungen für das Acetal **106b** und für den entsprechenden Salicylalkohol **111b** anzuführen.



**Abbildung 68:** Graphische Darstellung der Syntheseausbeuten von **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115**

#### 4.3.1.5 Synthese der Chlorphosphite **116a-b**, **117a-b**, **118**, **119a-b** und **120** mit verlängerter Alkylkette

Die Umsetzung der Salicylalkoholderivate **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115** zu den Saligenylchlorphosphiten **116a-b**, **117a-b**, **118**, **119a-b** und **120** erfolgte analog zu der Umsetzung, die in Abschnitt 4.2.1.1.4 bereits beschrieben wurde (siehe Abbildung 69).



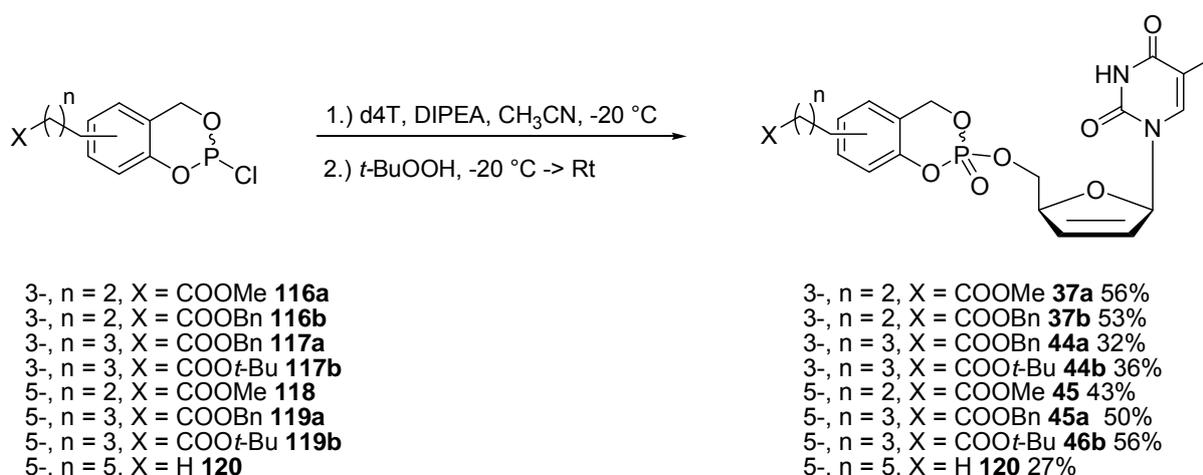
**Abbildung 69:** Synthese der Chlorphosphite **116a-b**, **117a-b**, **118**, **119a-b** und **120**

Die Saligenylchlorphosphite **116a-b**, **117a-b**, **118**, **119a-b** und **120** wurden als Rohproduktgemische in Form eines Feststoffs oder Öls erhalten. Eine Reinigung kam aufgrund der Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit nicht in Frage. Die Reinheit war ausreichend, um sie als phosphitylierende Agenzien mit d4T **2** zu den entsprechenden *cyclo*Sal-NMPs umzusetzen.

#### 4.3.1.6 Synthese der *cyclo*Sal-d4T-Monophosphate **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** mit verlängerter Alkylkette

Für die Synthese der *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphate **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** wurden die Saligenylchlorphosphite mit dem Nucleosid d4T **2** gekuppelt und die resultierende Phosphor(III)-Verbindung mit Hilfe von *t*-Butylhydroperoxid in das entsprechende Phosphat überführt (Abbildung 70). Im Gegensatz zu früheren Arbeiten wurden in der Regel nicht 2.0 sondern nur 1.2-1.5 Äquivalente der Chlorphosphite und entsprechend auch weniger Base eingesetzt. Außerdem wurde auf weitere Zugaben von Chlorphosphiten verzichtet, die dazu dienen sollten einen vollständigen Umsatz des Nucleosids zu erreichen, da die Synthese von d4T **2** deutlich einfacher als die Darstellung der Chlorphosphite war.

Die Ausbeuten spiegeln in etwa die Lipophilie der Verbindungen wider (vgl. Abschnitt 4.2.3.1). Mit Ausnahme der Butansäuremethylester **37a** und **45** (56% vs 43%), konnten die 5-Isomere in ca. 20% höherer Ausbeute als die entsprechenden 3-Isomere isoliert werden. Das lipophilste Pronucleotid 5-Hexyl-*cyclo*Sal-d4TMP **122** konnte nur mit einer Ausbeute von 27% isoliert werden.



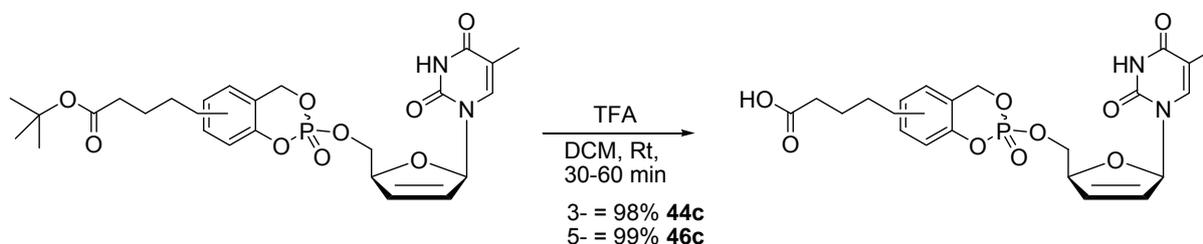
**Abbildung 70:** Synthese der *cyclo*Sal-d4T-Monophosphate **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122**

Die erhöhte Lipophilie machte sich auch bei den chromatographischen Reinigungen der Prodrugs bemerkbar. Im Vergleich zu den Verbindungen mit C2-Linkerkette musste mindestens eine Chromatographie mehr durchgeführt werden. Besonders aufwändig gestaltete sich die Reinigung von 3-BnPe-*cycloSal*-d4TMP **44a**. Hier konnte eine Analysenreinheit nur durch Reinigung durch präparative HPLC erreicht werden.

#### 4.3.1.7 Synthese der Referenzverbindungen 3/5-COOHBu-*cycloSal*-d4T-Monophosphat **44c** und **46c**

Um eine eventuelle enzymatische Verseifung der Estermodifikationen eindeutig nachweisen zu können, sollten die Hydrolyseprodukte, die Verbindungen **44c** und **46c**, synthetisiert werden. Diese wurden anschließend für Koinjektions-Experimente bei der HPLC-Analyse der Hydrolyseprodukte verwendet.

Die Darstellung der freien Säuren **44c** und **46c** erfolgte durch saure Spaltung der *t*-Butylester **44b** und **46b**. Als Spaltungsreagenz wurde Trifluoressigsäure in Dichlormethan eingesetzt (Abbildung 71).<sup>99,79</sup> Nach Reinigung am Chromatotron konnten die Pronucleotide **44c** und **46c** in nahezu quantitativer Ausbeute (98% und 99%) erhalten werden.



**Abbildung 71:** Spaltung der *t*-Butylester **44b** und **46b** zur Darstellung der Referenzverbindungen **44c** und **46c**

### 4.3.2 Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten

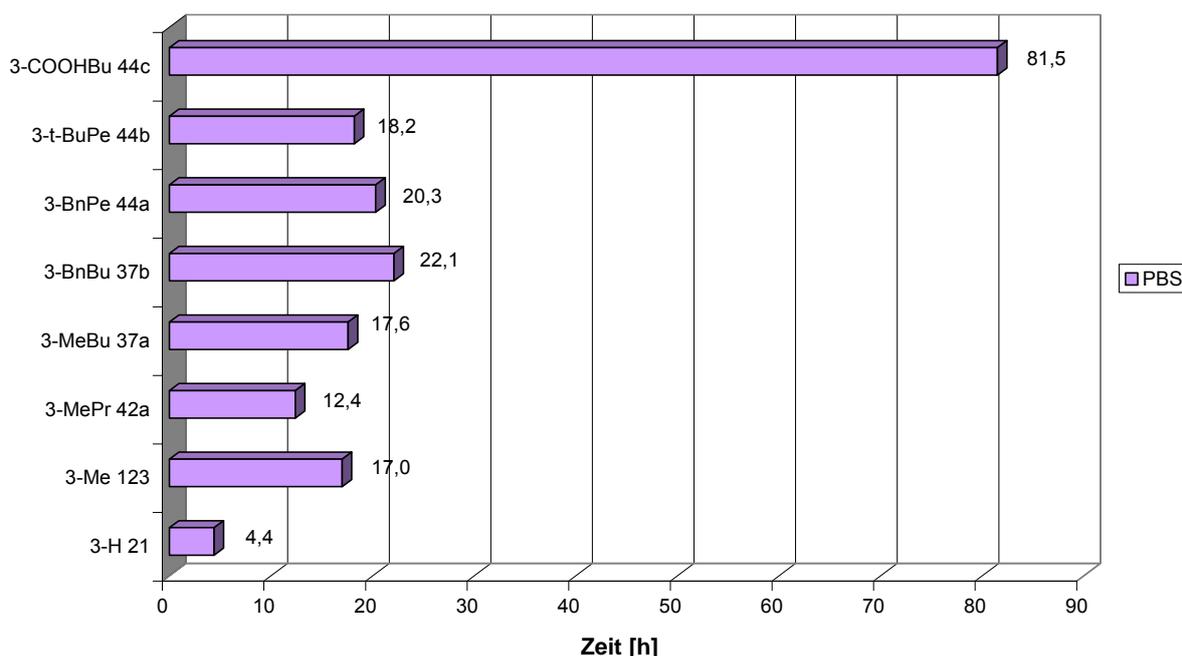
#### 4.3.2.1 Hydrolyse in einer schwach basischen Phosphat-Pufferlösung

Die Durchführung der Bestimmung der Halbwertszeiten wurden analog zu den Verbindungen C2-Spacer (vgl. Abschnitt 4.2.3.1) durchgeführt. Zum Vergleich wurden die Halbwertszeiten des unsubstituierten Prototyps **21**, der 3-Methyl-Verbindung **123** und die von 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** mit in das Diagramm aufgenommen (Abbildung 72). Für 3-MeBu **37a** konnte eine Halbwertszeit von

---

$t_{1/2} = 17.6$  h gefunden werden, wogegen für den entsprechenden Benzylester **37b** ein Wert von ca. 22 h bestimmt wurde. Mit diesen Werten sind diese Verbindung stabiler oder ähnlich stabil wie 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123**. Dies bedeutet, dass der negative induktive Effekt des Estersubstituenten durch die C3-Alkylkette vollständig kompensiert wird und der Substituent ähnlich gute Donoreigenschaften wie eine Methylgruppe hat. Im Vergleich dazu reicht eine Ethylkette als Linker (Verbindung **42a**) nicht aus, um den elektronenziehenden Einfluss der Estergruppe vollständig auszugleichen, so dass die Halbwertszeit mit  $t_{1/2} = 12.4$  h zwischen der des unsubstituierten Prototypen **21** ( $t_{1/2} = 4.4$  h) und der der 3-Methyl-Verbindung **123** ( $t_{1/2} = 17$  h) liegt. Eine weitere Verlängerung der Spacerkette führte nur zu marginalen Veränderungen der Hydrolysehalbwertszeiten ( $t_{1/2} = 20.3$  h **44a** und  $t_{1/2} = 18.2$  h **44b**). Dieser Effekt wurde auch so erwartet, da die Einführung einer zusätzlichen Methylengruppen in den Linker elektronisch kaum einen Einfluss auf den Aromaten hat und eine sterische Abschirmung des Phosphorzentrums<sup>75</sup> wegen der Flexibilität der Alkylkette ausgeschlossen werden konnte.

Für die Verbindung **44c** wurde eine Halbwertszeit  $t_{1/2} = 81.5$  h bestimmt. Bereits in früheren Arbeiten wurde eine erhöhte Stabilität der freien Säuren festgestellt.<sup>79</sup> Diese Verbindungen liegen unter diesen Bedingungen (pH = 7.3) als Carboxylat vor, so dass vermutet wird, dass die negative Ladungen repulsive Effekte auf das angreifende Nucleophil hat und so zu einer höheren Halbwertszeit führt. Für die Carboxylate mit C2-Alkyllinker wurden Werte bestimmt, die ungefähr um den Faktor zwei höher waren als die der entsprechenden Ester. Die freie Säure **44c** ist allerdings ca. viermal stabiler als die entsprechenden Ester **44a** und **44b**, was sehr ungewöhnlich scheint. Möglicherweise kann durch die verlängerte Alkylkette die Repulsion der negativen Ladung das Phosphorzentrum besser abgeschirmt werden. Des Weiteren kommen noch Solvatisierungsphänomene als Ursache in Frage.

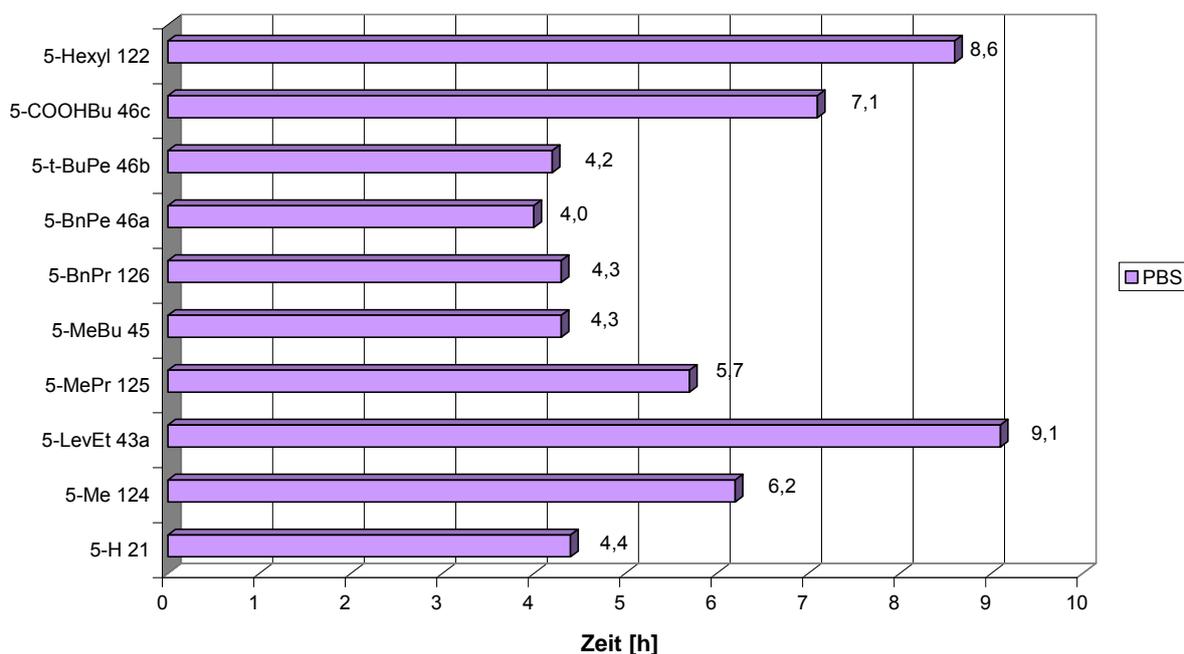


**Abbildung 72:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **21**, **37a-b**, **42a**, **44a-c** und **123** in Phosphatpuffer

Ähnlich wie schon bei den 3-Isomeren wurden der unsubstituierte Prototyp **21**, der 5-Methyl-Triester **124**, 5-MePr **125** und das 5-BnPr-*cycloSal*-d4TMP **126** mit in das Diagramm aufgenommen. Zudem wurden die 5-Hexyl- **122** und 5-LevEt-Verbindungen **43a**, die auch im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert und charakterisiert wurden, mit dargestellt (siehe Abbildung 73).

Bei der Betrachtung der Werte fällt sofort auf, dass die Verlängerung der Spacer-Kette nicht zu einer Erhöhung der Stabilität führt. Für die Ester **45**, **46a-b** und **126** wurde fast identische Halbwertszeiten von  $t_{1/2} \approx 4$  h bestimmt, die dem Wert des unsubstituierten Prototypen **21** entspricht. Erwartet hätte man, dass die Verlängerung der Alkylkette des Linkers zu Werten führt, die im Bereich des 5-Me-*cycloSal*-d4TMPs **124** ( $t_{1/2} = 6.2$  h) liegen. Denn es ist hinreichend bekannt, dass der elektronische Einfluss in *ortho*-Stellung zur Phenol-Phosphatester-Bindung, also der 3-Position, erheblich größer ist als in 5-Position. Dieser Effekt führte bei den 3-Isomeren zu den erhöhten Stabilitäten, die bei den 5-Isomeren nicht einmal in der erwarteten abgeschwächten Form gefunden wurde. Lediglich die Halbwertszeiten der freien Säure **46c** ( $t_{1/2} = 7.1$  h), von 5-LevEt **43a** ( $t_{1/2} = 9.1$  h) und der 5-Hexyl-Verbindung ( $t_{1/2} = 8.6$  h) **122** waren deutlich höher. Wie bereits diskutiert, kommt

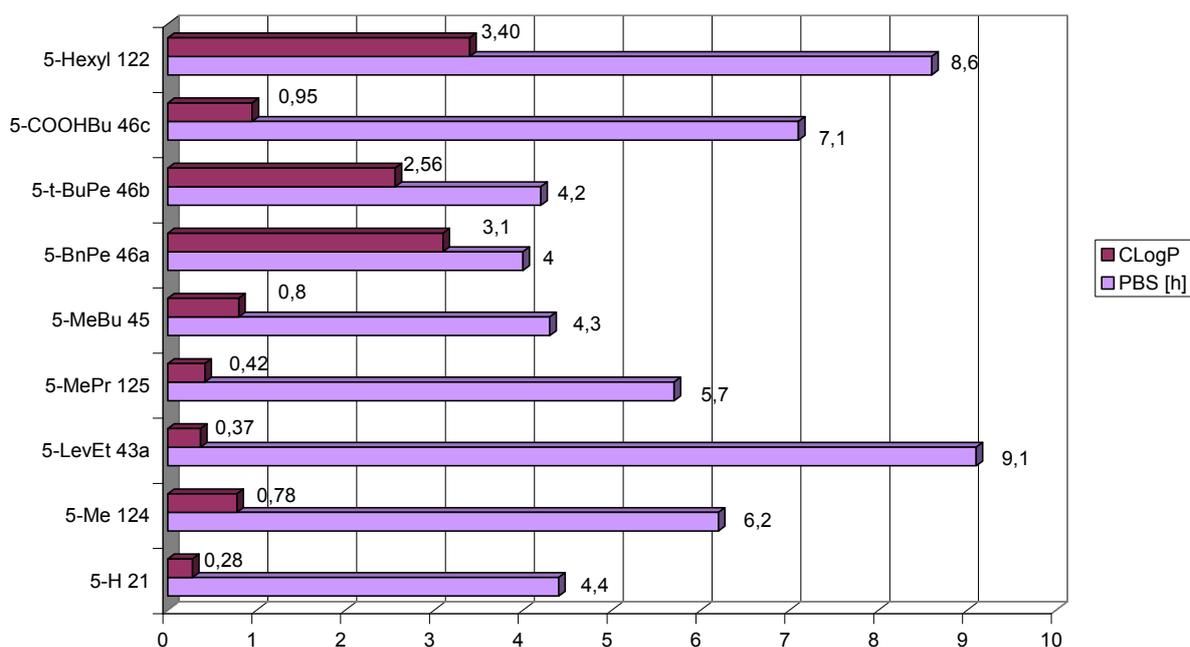
auch für den Triester **46c** elektrische Repulsion als Ursache für die höhere Hydrolysehalbwertszeit in Frage.



**Abbildung 73:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **21**, **43a**, **46a-c**, **122**, **124**, **125** und **126** in Phosphatpuffer

Um mögliche weitere Erklärungen zu finden, wurden die LogP-Werte (Verteilungskoeffizient in Wasser/Octanol, berechnet mit dem Algorithmus der Software: Chemdraw Ultra 9.0, CambridgeSoft) mit in die Betrachtung einbezogen (Abbildung 74). Vor diesem Hintergrund fällt auf, dass die stabilsten Verbindungen **43a** und **122** mit ca. 9 h Hydrolysehalbwertszeit auch die extremsten Polaritäten in dieser Serie haben. So ist 5-LevEt **43a** mit CLogP = 0.37 die polarste Verbindung und das Hexylderivat **122** mit CLogP = 3.4 das lipophilste Pronucleotid. Von langen Alkylketten ist bekannt, dass sie dazu neigen, höhere Aggregate zu bilden, die wiederum einen erheblichen Einfluss auf das Solvationsverhalten der jeweiligen Verbindungen haben können.

Es ist also nicht unwahrscheinlich, dass die Summe des elektronischen und des Solvatisierungseffekts maßgeblich für die erhöhte Stabilität der genannten Prodrugs verantwortlich ist.



**Abbildung 74:** Hydrolysehalbwertszeiten und die berechneten Verteilungskoeffizienten der Verbindungen **21**, **43a**, **46a-c**, **122**, **124**, **125** und **126**

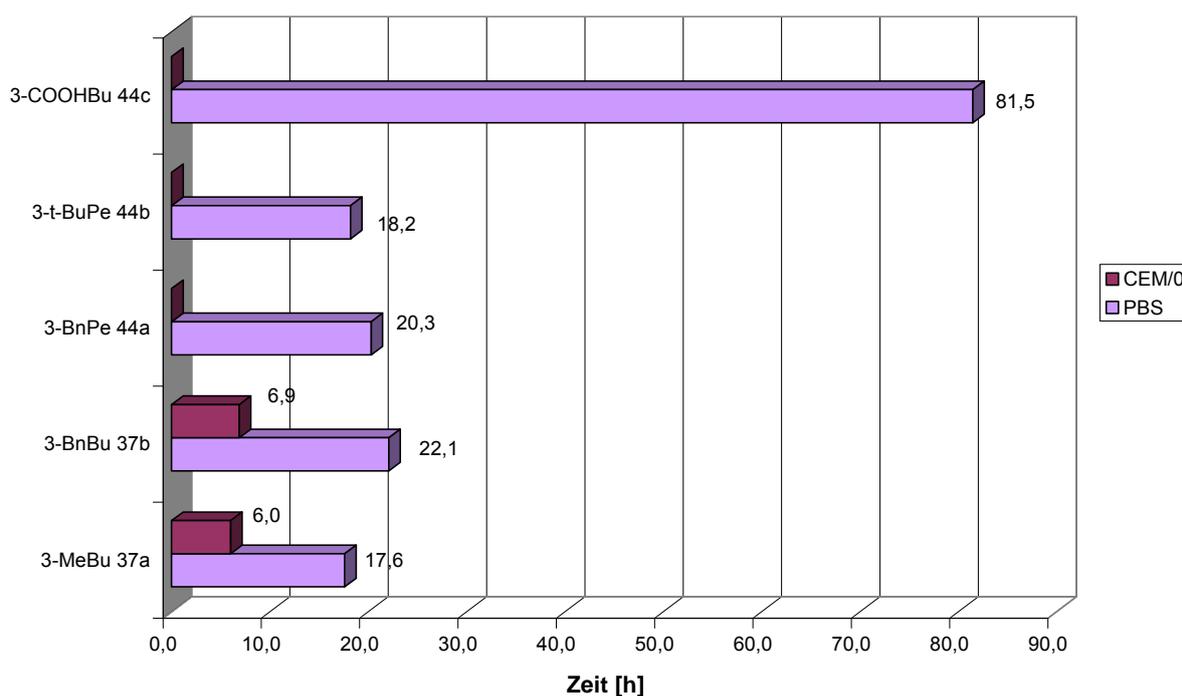
#### 4.3.2.2 Hydrolysestudien im humanen T-Lymphozyten-Extrakt (CEM/0)

##### *Hydrolysestudien zu den 3-Isomeren*

Zur Untersuchung der „lock-In“-Eigenschaften der Pronucleotide **37a-b** und **44a-c** wurden analog zum Abschnitt 4.2.3.2 Hydrolysestudien in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0) durchgeführt. In der Abbildung 75 sind die Ergebnisse der Hydrolysen für 3-Isomere graphisch dargestellt.

Wie man der Graphik entnehmen kann, sind nur für zwei Verbindungen Halbwertszeiten angegeben. Es handelt sich hierbei um die beiden Butansäurederivate **37a** und **37b**, für die Werte von  $t_{1/2} = 6.0$  h für den Methylester **37a** und  $t_{1/2} = 6.9$  h für den Benzylester **37b** bestimmt wurden. Im Vergleich zu den Halbwertszeiten, die im Phosphatpuffer bestimmt wurden, verlaufen die Hydrolysen in den CEM/0-Extrakten scheinbar etwa um den Faktor drei schneller. Da im Verlauf der Hydrolysen keine Signale entstanden sind, die man der freien Säure zuordnen könnte, ist die enzymatische Metabolisierung der Estergruppe ausgeschlossen. Als

mögliche Gründe für die beschleunigte Hydrolyse der Verbindungen **37a** und **37b** sind unspezifische Proteinbindungen der Pronucleotide anzuführen. Für die anderen drei *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **44a**, **44b** und **44c** war es nicht möglich, eine Halbwertszeit zu bestimmen, da wegen fehlender enzymatischer Umsetzung und fehlender unspezifischer Proteinbindung ihre Stabilität zu hoch war, um in den zeitlichen Rahmen dieser Hydrolysen (8 Stunden) sinnvolle Messwerte zu liefern.

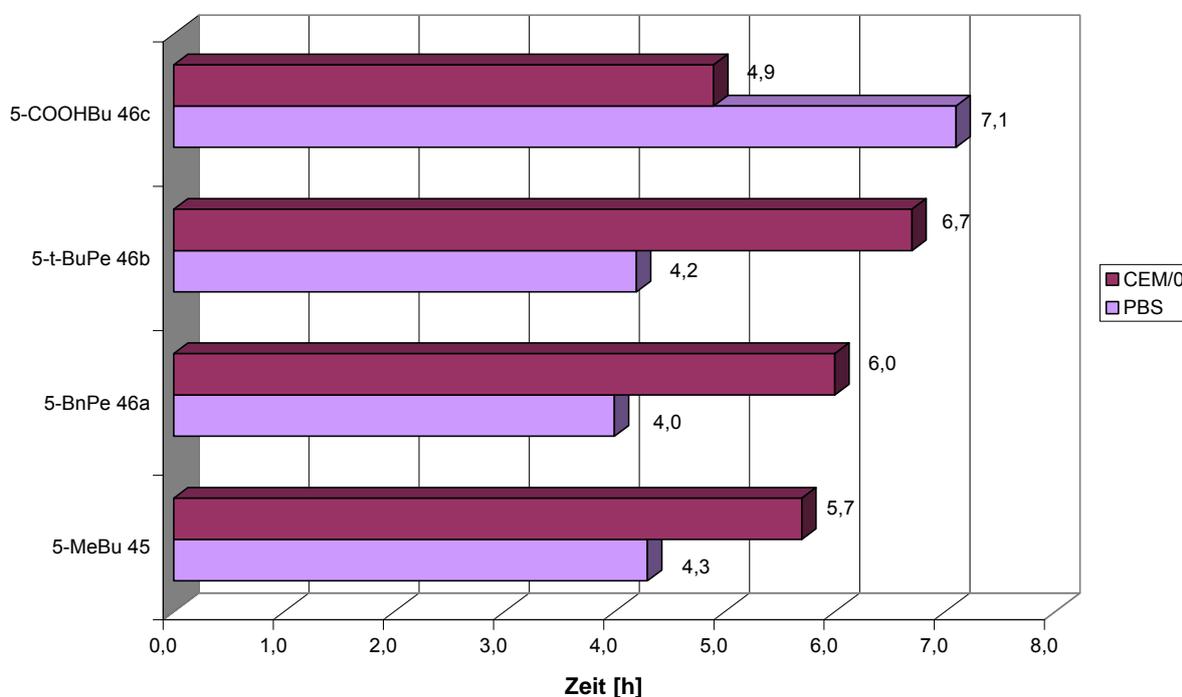


**Abbildung 75:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **37a-b** und **44a-c** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

#### *Hydrolysestudien zu den 5-Isomeren*

Die gleichen Untersuchungen wurden auch für die 5-Isomere durchgeführt. Hier gelang es in allen Fällen, Werte für die Halbwertszeiten der Verbindungen **45** und **46a-c** zu bestimmen (siehe Abbildung 76). Hier lässt sich eine recht einheitliche Halbwertszeit von  $t_{1/2} \approx 6$  h erkennen, die rund zwei Stunden über den Werten, die in Phosphatpuffer bestimmt worden sind, liegt. Ein Grund hierfür ist sicherlich die auch hier fehlende enzymatische Verseifung der Esterfunktion. In keinem Chromatogramm konnten Anzeichen für die Entstehung der freien Säuren gefunden werden. Ein weiterer Grund könnte die pH-bedingte, verlangsamte Freisetzung des Monophosphats sein, da die Zellextrakte in einem Phosphatpuffer mit pH = 6.8 gelöst

waren. Wie in Abschnitt 2.2 beschrieben, ist die Freisetzung des Nucleotids pH abhängig und kann im direkten Vergleich zu Puffer mit pH = 7.3 zu einer Erhöhung der Halbwertszeit führen. Außerdem schien die unspezifische Proteinbindung entweder gar nicht oder zumindest nur sehr geringe Mengen der Prodrugs **45**, **46a** und **46b** zu binden, so dass es zu keiner Erniedrigung der Halbwertszeiten kam. Für die freie Säure **46c** wurde allerdings mit  $t_{1/2} = 4.9$  h eine leicht beschleunigte Hydrolyse im Vergleich zum Phosphatpuffer ( $t_{1/2} = 7.1$  h) gefunden. Eventuell wird sie im Gegensatz zu den Estern **45**, **46a** und **46b** doch verstärkt unspezifisch an Proteine aus dem Zellextrakt gebunden.



**Abbildung 76:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **45** und **46a-c** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

Es zeigte sich also, dass eine Verlängerung der Spacerkette nicht die gewünschte Verbesserung der Substrateigenschaften gegenüber den Verbindungen mit C2-Linkerkette brachte. Weder für die 3- noch für die 5-Isomere konnte eine enzymatische Verseifung der Estergruppen in den T-Lymphozyten-Extrakten nachgewiesen werden. Vielmehr zeigte sich, dass sich einige wichtige Eigenschaften der Verbindungen im direkten Vergleich zu den Verbindungen mit C2-Alkylkette deutlich verschlechtert haben. So führte die gesteigerte Lipophilie zu erheblichen Löslichkeitsproblemen. Ein weiterer negativer Effekt, der beobachtet wurde, ist eine

deutliche Verschlechterung der antiviralen Aktivität, besonders in der TK<sup>-</sup>Aktivität (siehe auch Abschnitt 4.3.2.4). Aus diesen Gründen wurde auf eine Verlängerung der Spacerkette verzichtet, um zu versuchen, die Substrateigenschaften weiter zu optimieren.

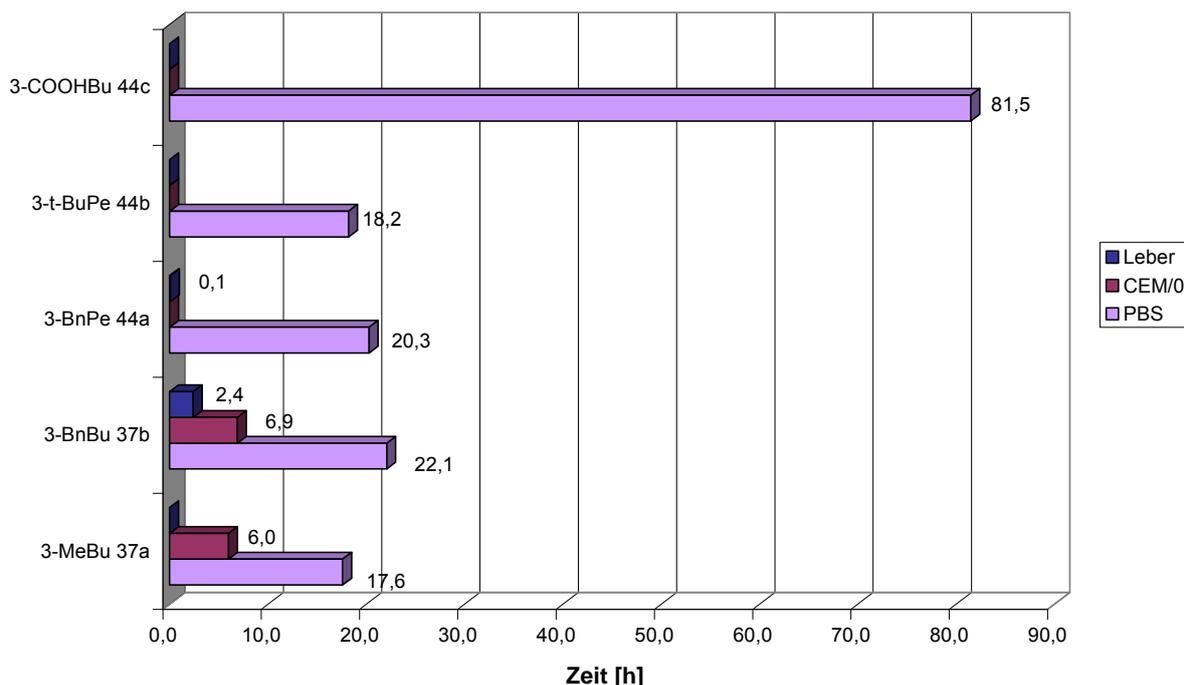
#### 4.3.2.3 Hydrolysestudien in Leberzell-Extrakten

##### *Hydrolysestudien zu den 3-Isomeren*

Zur Untersuchung der „lock-In“-Eigenschaften der Pronucleotide **37a-b** und **44a-c** wurden analog zum Abschnitt 4.2.3.3 Hydrolysestudien in Mäuseleberzell-Extrakten durchgeführt. In der Abbildung 77 sind die Ergebnisse der Hydrolysen für 3-Isomere graphisch dargestellt. Wie bereits bei den Hydrolysen in den CEM/0-Extrakten gefunden, konnten nicht für alle untersuchten Prodrugs Halbwertszeiten in den Mäuseleberzell-Extrakten bestimmt werden. Die Hydrolysedauer in diesen Extrakten beträgt maximal sechs Stunden, spätere Probenentnahmen lieferten in der Regel keine sinnvollen Ergebnisse mehr. Der hohe Proteingehalt der Extrakte führte mit der Zeit zu sehr starken, braunen Ausflockungen in dem Hydrolysegefäß, so dass der enge zeitliche Rahmen eingeführt wurde.

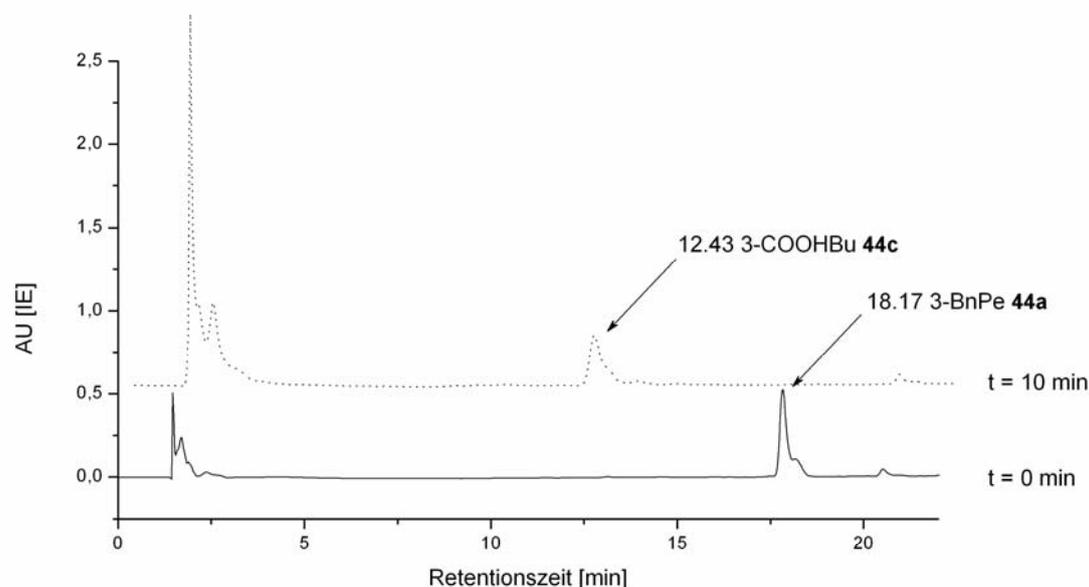
Wie man der Abbildung 77 entnehmen kann, war es möglich für die beiden Benzylester **37b** und **44a** eine Halbwertszeit zu bestimmen. Für das Butansäurederivat **37b** wurde  $t_{1/2} = 2.4$  h gemessen, also eine etwa um den Faktor zehn beschleunigte Hydrolyse im Vergleich zum Phosphatpuffer ( $t_{1/2} = 22.1$  h). Als Ursache für die erheblich schnellere Hydrolyse könnte eine enzymatische Spaltung der Estergruppe ausgeschlossen werden, da es keinerlei Anzeichen auf die freie Säure in den Chromatogrammen gab. Wegen des sehr hohen Proteingehalts der Leberzellextrakte, ist es sehr wahrscheinlich, dass unspezifische Proteinbindung des Pronucleotids **37b** zu der deutlich geringeren Halbwertszeit führte.

Auch für 3-BnPe-cycloSal-d4TMP **44a** wurde eine stark beschleunigte Hydrolyse mit  $t_{1/2} \approx 0.1$  h gefunden. Gegenüber dem Wert im Phosphatpuffer  $t_{1/2} = 20.3$  h ist das eine Beschleunigung um den Faktor 200!



**Abbildung 77:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **37a-b** und **44a-c** in Mäuseleberzell-Extrakten

Den Grund hierfür kann man in Abbildung 78 deutlich erkennen. Die beiden abgebildeten Chromatogramme stammen von den Proben zum Start der Hydrolyse ( $t_0$ ) und nach 10 Minuten Hydrolysedauer. In dem ersten Chromatogramm zum Beginn der Hydrolyse sieht man bei 18.27 min den Peak, der vom 3-BnPe-*cyclo*Sal-d4TMP **44a** stammt. Bereits in dem nächsten Chromatogramm nach 10 Minuten ist dieser Peak kaum mehr zu erkennen und eine weiterer ist bei 12.42 Min hinzugekommen. Dieses Signal konnte einwandfrei der freien Säure **44c** zugeordnet werden, so dass eine enzymatische Verseifung der Estergruppe Grund für die extrem stark beschleunigte Hydrolyse ist. Rein mathematisch gesehen müsste die Halbwertszeit als noch viel kleiner angegeben werden. Da jedoch die Bestimmungsmethode z.T erhebliche Ungenauigkeiten birgt, wurde der Wert mit  $t_{1/2} \approx 0.1$  h als untere Bestimmungsgrenze festgelegt. Durch die chemische Hydrolyse der gebildeten Säure **44c** sollte im weiteren Verlauf der Hydrolyse d4TMP **10** freigesetzt werden. Auf Grund der hohen Hydrolysestabilität der freien Säure **44c** konnten nur sehr geringe Konzentrationen des Nucleotids **10** gefunden werden.



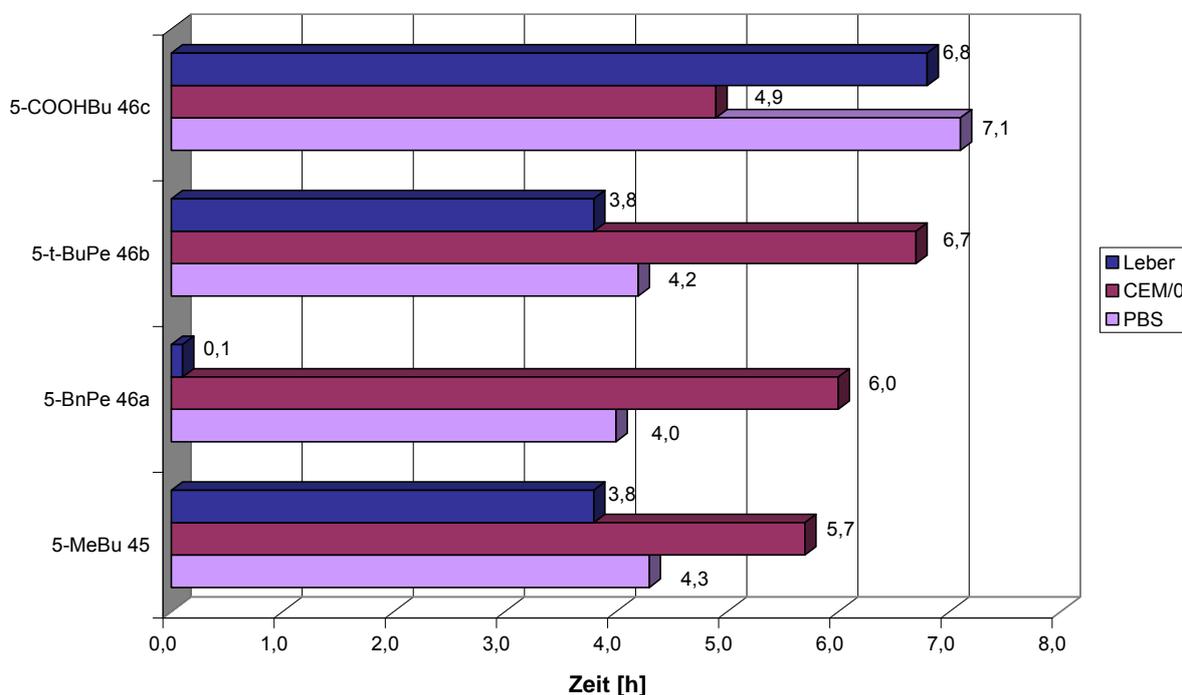
**Abbildung 78:** Chromatogramme der Leberzell-Extrakt Hydrolysen von 3-BnPe-*cycloSal*-d4TMP **44a** zu verschiedenen Zeitpunkten

Somit wurde erstmals der Beweis geliefert, dass die so genannten „einfachen“ Estermodifikationen, die eine freie Säure liefern, sehr gute Substrate für die beteiligten Enzyme und somit auch potentiell „lock-in“-fähig sind. Bisher wurde eine enzymatische Verseifung nur bei Derivaten nachgewiesen, die eine Alkoholfunktion an der aromatischen Maske freisetzen (vgl. Abschnitt 2.2.1).

#### *Hydrolysestudien zu den 5-Isomeren*

In der nachfolgenden **Abbildung 79** sind die Hydrolysehalbwertszeiten in Leberzellextrakten der Verbindungen **45** und **46a-c** graphisch dargestellt. Wie schon bei den Hydrolysen im Phosphatpuffer und in den humanen T-Lymphozyten wurde auch in Leberzellextrakten sehr ähnliche beziehungsweise gleiche Werte für die Verbindungen 5-MeBu-*cycloSal*-d4TMP **45** ( $t_{1/2} = 3.8$  h) und 5-*t*-BuPe-*cycloSal*-d4TMP **46b** ( $t_{1/2} = 3.8$  h) bestimmt. In beiden Fällen konnten keine Anzeichen für eine enzymatische Verseifung der Estergruppe gefunden werden. Für die freie Säure **46c** lag der Wert bei  $t_{1/2} = 6.8$  h. Bei der Untersuchung des Pentansäurebenzylesters **46a** wurde eine Halbwertszeit von  $t_{1/2} = 0.1$  h bestimmt. Wie schon beim 3-Isomer **44a** ist auch in diesem Fall eine enzymatische Metabolisierung für die rund 40-fache Beschleunigung der Hydrolyse verantwortlich. Die Entstehung der freien Säure **46c**,

aus der im weiteren Verlauf der Hydrolyse d4TMP **10** freigesetzt wurde, konnte zweifelsfrei nachgewiesen werden.



**Abbildung 79:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **45** und **46a-c** in Mäuseleberzell-Extrakten

Folglich erwiesen sich beide Pentansäurederivate **44a** und **46a** als erste geeignete Substrate, die einen „lock-in“ mit „einfachen“ Estern ermöglichen können. Die bis zu 40-bzw. 200-fache Beschleunigung der Hydrolyse beider Benzylester **44a** und **46a** in Leberzellen könnte man sich zu Nutze machen, um hoch selektiv Monophosphate von Nucleosid-Analoga, wie z. B. 3TC **4a** oder PMEAs in der Leber freizusetzen. So könnte man eventuell Lebererkrankungen wie Hepatitis ähnlich hoch selektiv wie mit den in Abschnitt 2.1 beschriebenen bis-(POM)-PMEA-Prodrug Hepsera<sup>®</sup> oder HepDirect<sup>®</sup>-Prodrug behandeln.<sup>27,29</sup> Vor diesem Hintergrund könnte man diskutieren, welches der beiden Pentansäurederivate wahrscheinlich geeigneter für eine medizinische Anwendung wäre. Beide Prodrugs **44a** und **46a** werden in Leberzellen etwa gleich schnell enzymatisch metabolisiert, so dass die freien Säuren **44c** und **46c** erhalten werden, die dann vermutlich in den Zellen eingeschlossen wären. Da diese Säure bei dem 3-Isomer eine chemische Stabilität von über 80 Stunden hat, würde die Freisetzung des Wirkstoffs nur sehr langsam erfolgen. Zwar hätte man eine sehr schöne Depotwirkung, aber in der Regel sollten pharmakologisch wirksame Substanzen eine nicht zu große Verweildauer im Organismus haben.

---

Mit rund sieben Stunden Hydrolysehalbwertszeit erscheint das 5-Isomer **46c** deutlich geeigneter, um die Belastung des Körpers zu reduzieren, aber letztendlich könnten nur *in vivo* Experimente gesicherte Aussagen liefern.

#### 4.3.2.4 Antivirale *in vitro* Aktivität der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs mit verlängerter Alkylkette

Die Bestimmung der antiviralen Aktivitäten erfolgte analog zu dem Abschnitt 4.2.4 und die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Zunächst fiel bei der Betrachtung der Werte auf, dass die Standardabweichungen zum Teil sehr groß sind und so eine sinnvolle Auswertungen erschwerten (alle Werte wurden in einer Testreihe bestimmt). Besonders hoch waren die Abweichungen bei den Messungen in der TK-defizienten Zelllinie, mit bis zu 85%. Vor diesem Hintergrund entfiel eine Diskussion der Einzelwerte und es erfolgte lediglich eine Einteilung in Gruppen und Tendenzen.

Bei Tests gegen HIV-1 in den Wildtypzellen zeigten die getesteten Prodrugs eine ähnlich oder leicht geringere Aktivität als d4T **2** (0.33-1.10  $\mu\text{M}$  vs. 0.35  $\mu\text{M}$ ). Die Ausnahme bildete 3-COOHBu-*cycloSal*-d4TMP **44c** mit  $\text{EC}_{50} = 1.87 \mu\text{M}$ . Hier führte sehr wahrscheinlich die hohe chemische Stabilität (> 80 h) zum Aktivitätsverlust. Diese Tendenz setze sich bei den Aktivitäten gegen HIV-2 fort. Die meisten Werte entsprachen dem von d4T **2** oder waren leicht schlechter. Die freie Säure **44c** wies auch diesem Fall aus den eben genannten Gründen keine antivirale Aktivität auf.<sup>1</sup>

Die Untersuchungen in den Mutantenzellen (CEM/TK<sup>-</sup>) offenbarten, dass die Prodrugs **37a-b**, **44a-c**, **45**, **46a-b** und **122** nach der Einführung der längeren Alkylkette nicht mehr in Lage waren intrazellulär größere Menge biologisch aktives d4TMP **10** freizusetzen. Bis auf 3-MeBu-*cycloSal*-d4TMP **37a** ( $\text{EC}_{50} = 1.68 \mu\text{M}$ ) zeigten alle untersuchten Verbindungen einen vollständigen Verlust ihrer antiviralen Wirksamkeit (4-17  $\mu\text{M}$ ). Demnach stammte die Aktivität in den Wildtypzellen von dem Nucleosid d4T **2**, das durch die extrazelluläre Hydrolyse der Pronucleotide entstanden ist.

<sup>1</sup> Aufgrund der Erfahrungen mit 3-COOHBu-*cycloSal*-d4TMP **44c** und den entsprechenden Säuren mit C2-Spacer sollte 5-COOHBu-*cycloSal*-d4TMP **46c**, das nicht getestet werden konnte, sehr ähnliche Eigenschaften aufweisen.

Verbindung		EC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (μM)		CC <sub>50</sub> <sup>b</sup> (μM)	
		<u>CEM/0</u>		<u>CEM/TK</u>	<u>CEM/0</u>
<i>-cycloSal-d4TMP</i>		HIV-1	HIV-2	HIV-2	
3-COOHBu	<b>44c</b>	1.87 ± 0.23	3.47 ± 1.31	17.2 ± 4.84	>250
3-MeBu	<b>37a</b>	0.79 ± 0.04	0.87 ± 0.40	1.68 ± 1.11	66.3 ± 12.5
3-BnBu	<b>37b</b>	0.61 ± 0.30	1.43 ± 0.55	11.2 ± 9.67	81.3 ± 8.13
3-BnPe	<b>44a</b>	0.75 ± 0.04	1.20 ± 0.17	4.53 ± 2.17	48.4 ± 16.0
3- <i>t</i> -BuPe	<b>44b</b>	0.49 ± 0.04	1.23 ± 0.21	4.03 ± 0.63	37.5 ± 4.03
5-MeBu	<b>45</b>	0.89 ± 0.16	0.89 ± 0.55	4.33 ± 1.61	66.7 ± 2.19
5-BnPe	<b>46a</b>	0.33 ± 0.12	0.93 ± 0.06	8.63 ± 6.30	38.5 ± 8.13
5- <i>t</i> -BuPe	<b>46b</b>	1.10 ± 0.14	1.15 ± 0.07	7.10 ± 2.95	18.7 ± 9.12
5-Hexyl	<b>122</b>	0.54 ± 0.35	0.80 ± 0.36	6.38 ± 4.42	22.6 ± 5.09
<hr/>					
	<b>d4T 2</b>	0.35 ± 0.09	0.63 ± 0.20	43.3 ± 40.2	169.4 ± 64.8

**Tabelle 4:** Antivirale Aktivitäten der *cycloSal*-Pronucleotide **37a-b**, **44a-c**, **45**, **46a-b** und **122**

- a) 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation;  
 b) 50% cytotoxische Konzentration

Die Ursache für die deutliche Verschlechterung der antiviralen Eigenschaften gegenüber den Prodrugs mit C2-Alkylspacer war vermutlich die gesteigerte Lipophilie der neuen Prodrugs. Schon bei der Durchführung der Hydrolysestudien (vgl. Abschnitt 4.3.2) gab es zum Teil erhebliche Löslichkeitsprobleme bei der Herstellung der jeweiligen Hydrolyselösungen. Deswegen ist es nicht unwahrscheinlich, dass die Verbindungen während der Tests aus dem Testmedium (RPMI/FCS) ausfielen und deswegen schlechter in den Zellen aufgenommen worden sind. Alternativ könnten die verlängerten Alkylketten eine Penetration der Membranen verhindert haben, indem durch sie die Prodrugs entweder auf der Oberfläche gebunden werden oder in der Membran „steckengeblieben“ sind. So könnte auch die teilweise hohe Cytotoxizität (z.B. 5-*t*-BuPE-*cycloSal*-d4TMP **46b** CC<sub>50</sub> = 18.7 μM) erklärt werden.

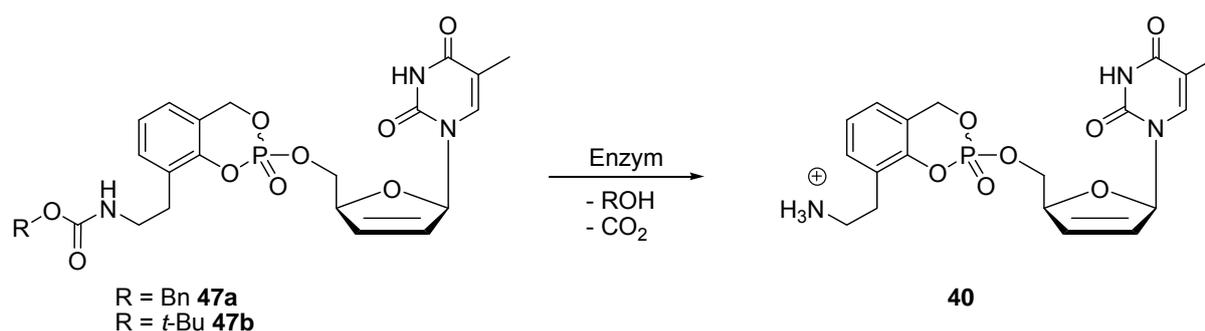
Zusammenfassend musste man feststellen, dass die Einführung längerer Alkylketten an die aromatische Maske nicht die gewünschte Verbesserung der „lock-in“ Eigenschaften brachte, sondern zu einer deutlichen Verschlechterung der antiviralen

---

Aktivitäten gegen HIV führte. Jedoch eröffnet die in Leberzell-Extrakten erstmals nachgewiesene Metabolisierung der Pentansäurebenzylester **44a** und **46a** die Möglichkeit zur Behandlung von Lebererkrankungen. Hierfür müsste man entsprechende *cyc/oSal*-Pronucleotide von Nucleosid-Analoga wie z.B 3TC **4a**, das u.a. in der Therapie von Hepatitis B eingesetzt wird, darstellen, um dann möglicherweise den Wirkstoff hochselektiv in der Leber freizusetzen.

#### 4.4 Arbeiten zu den carbamatfunktionalisierten *cycloSal-Nucleosid-Monophosphaten*

Neben der Verlängerung der Alkylkette des Spacers sollten im Rahmen dieser Arbeit Carbamate als eine neue „lock-in“-Modifikation an die *cycloSal*-Maske eingeführt werden. Senter *et al.* konnten in ihren Arbeiten zeigen, dass carbamatfunktionalisierte Prodrugs Substrate für humane Carboxyesterasen sind.<sup>100</sup> Dies wurde zum Anlass genommen, den in der Abbildung 80 dargestellten Metabolismus für ein neues „lock-in“-modifiziertes Pronucleotid zu postulieren. Die erfolgreiche enzymatische Umsetzung des carbamatfunktionalisierter *cycloSal*-d4T-Monophosphats liefert ein Ammonium-Ion, einen Alkohol und Kohlendioxid als Nebenprodukte. Die positive Ladung am Ammonium-Ion sollte ein Efflux aus der Zelle verhindern, so dass das Prodrug in der Zelle eingeschlossen und dort gezielt den Wirkstoff freisetzen sollte („lock-in“).



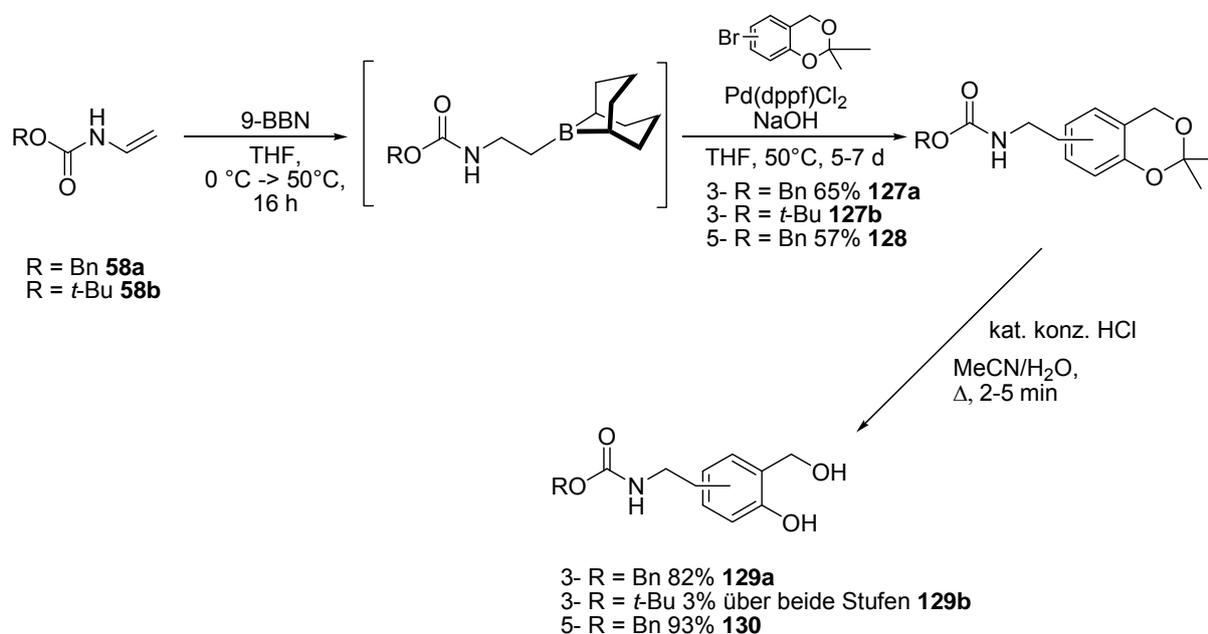
**Abbildung 80:** Postulierter Metabolismus carbamatfunktionalisierter *cycloSal*-Prodrugs

##### 4.4.1 Synthese der carbamatfunktionalisierten Salicylalkoholderivate **37** und **47a-c**

Die Darstellung der carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-d4T-Monophosphate **37** und **47a-c** erfolgte ebenfalls über eine konvergente Syntheseroute mit einer Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion als zentralem Schritt (vgl. Abschnitt davor). Allerdings erfolgte die Kupplungsreaktion unter leicht veränderten Bedingungen, es wurde wässrige Natriumhydroxidlösung als Base und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel verwendet (siehe Abbildung 81). Zudem kamen auch leicht veränderte Stöchiometrien zum Einsatz, das Bromid wurde im Überschuss und der Katalysator Pd(dppf) mit 15 Mol% eingesetzt.<sup>70</sup>

Weiterhin wurden die ungesättigten Carbamate **58a** und **58b** leicht verunreinigt in die Hydroborierung eingesetzt, da, wie bereits beschrieben, eine vollständige Reinigung nicht gelang. Die Verunreinigungen wurden allerdings bei der Berechnung der Stöchiometrien berücksichtigt.

Die Ausbeute für die CBZ-Regioisomere **127a** und **128** lagen mit 65% und 57% nicht signifikant über den der isolierten Acetonide aus Kapitel 4.3.1.3 (43% bis 62%) und die Reaktionszeiten lagen in allen Fällen zwischen fünf und sieben Tagen. Dementsprechend führt eine Erhöhung der Katalysatormenge nicht automatisch zu einer Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit. Ähnliche Ergebnisse wurden schon bei der Reaktionsoptimierung der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung in Abschnitt 4.3.1.2 gefunden. Die Tatsache, dass das 3-Isomer **127a** (65%) in einer höheren Ausbeute als das 5-Isomer (57%) unter ansonsten gleichen Bedingungen isoliert wurde, macht eine stärkere sterische Hinderung des 3-Isomers **127a** eher unwahrscheinlich. Die BOC-Verbindung **127b** lag nach mehreren chromatographischen Reinigungen noch sehr stark verunreinigt vor, da hier das ungesättigte Carbamat **58b** nur mit einer Reinheit von ca. 70% eingesetzt werden konnte (bei **58a** lag die Reinheit bei ca. 98%). In diesem Fall wurde mit der Spaltung des Acetals fortgefahren.



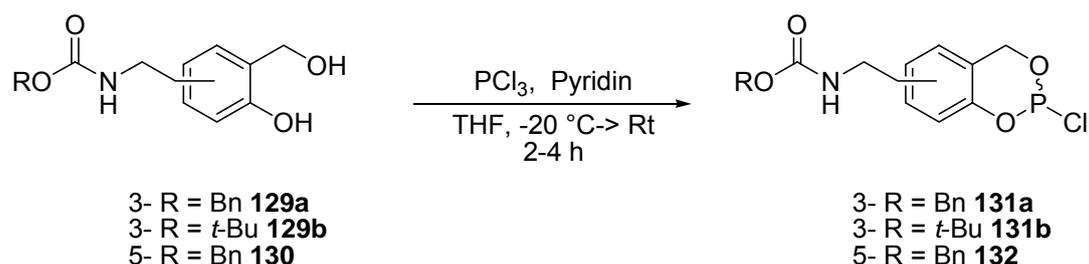
**Abbildung 81:** Syntheseschema zur Darstellung der carbamatfunktionalisierten Salicylalkoholderivate **129a-b** und **130**

Für die Entschützung kam ebenfalls die von H.J. Jessen modifizierte säurekatalysierte Spaltung der Acetonide zum Einsatz. Die beiden

Benzyloxycarbonyl-ester **129a** und **130** konnten ohne weitere Reinigung in Ausbeuten von 82% bzw. 93% erhalten werden. Die sehr schlechte Ausbeute von 3% für **129b** ist sicherlich größtenteils auf die starken Verunreinigungen zurückzuführen. Da die Bedingungen zur Abspaltung der BOC-Schutzgruppe<sup>101</sup> und des Acetonids sehr ähnlich sind, konnte auch die Bildung des Amins **133** dünnschichtchromatographisch beobachtet werden (Nachweis des Amins mit Ninhydrin-Färbereagenz). Dieser Verlust wurde bewusst in Kauf genommen, da als letzter Schritt der Synthesefolge die Abspaltung der Aminschutzgruppe erfolgen sollte. Wegen der Hydrolyseempfindlichkeit der *cycloSal*-Pronucleotide unter basischen Bedingungen (vgl. Abschnitt 2.2) musste eine Schutzgruppe gewählt werden, die unter milden, sauren Bedingungen abspaltbar ist. Die BOC-Gruppe erfüllte genau diese Voraussetzungen, so dass sie verwendet wurde.

#### 4.4.2 Synthese der carbamatfunktionalisierten Chlorphosphite **131a-b** und **132**

Die Umsetzung der Salicylalkoholderivate **129a-b** und **130** zu den Saligenylchlorphosphiten **131a-b** und **132** erfolgte weitestgehend analog zu der Umsetzung, die in Abschnitt 4.2.1.1.4 bereits beschrieben wurde. Allerdings wurde wegen der schlechten Löslichkeit der Salicylalkohole **129a-b** und **130** Tetrahydrofuran anstelle von Diethylether als Lösungsmittel verwendet (Abbildung 82).

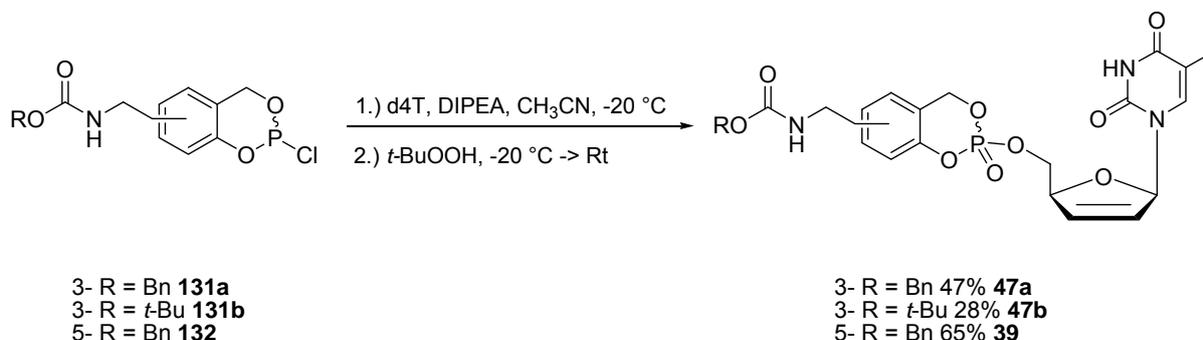


**Abbildung 82:** Synthese der carbamatfunktionalisierten Chlorphosphite **131a-b** und **132**

Auch hier wurden die Chlorphosphite **131a-b** und **132** als Rohprodukte in den nachfolgenden Umsetzungen zum entsprechenden *cycloSal*-d4TMPs eingesetzt.

#### 4.4.3 Synthese der carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-d4T-Monophosphate **39** und **47a-b**

Für die Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **39** und **47a-b** wurden die Saligenylchlorphosphite mit Nucleosid d4T **2** gekuppelt und die resultierende Phosphor(III)-Verbindung mit Hilfe von *t*-Butylhydroperoxid in das entsprechende Phosphat überführt (Abbildung 83). Die Umsetzung erfolgte auch hier nach den angepassten Bedingungen, die bereits für die Synthese der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs mit verlängerter Spacerkette verwendet wurde (vgl. Abschnitt 4.3.1.5). Für 5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **39** konnte eine sehr gute Ausbeute von 65% erhalten werden, die anderen Triester wurden in 47% (**47a**) und 28% (**47b**) Ausbeute isoliert.



**Abbildung 83:** Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **39** und **47a-b**

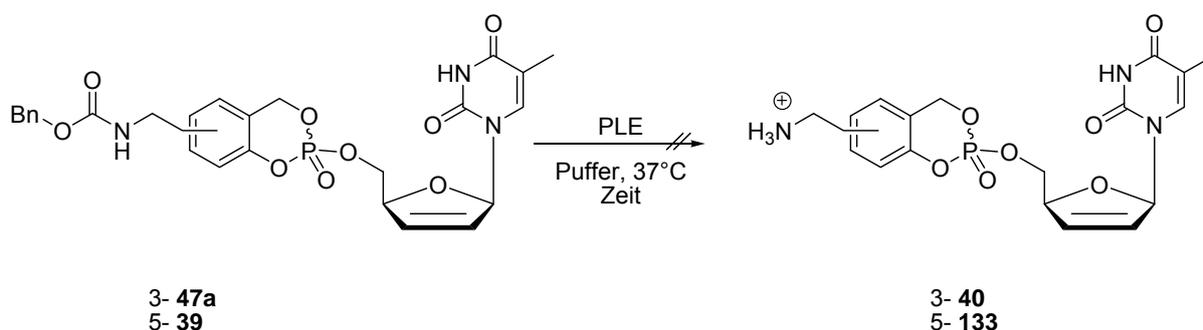
In den nachfolgenden Umsetzungen wurde versucht, durch enzymatische Verseifung oder chemische Spaltung die CBZ-Schutzgruppe der *cycloSal*-Prodrugs **39** und **47a** zu entfernen, um so eine Synthese von **47b** (BOC) zu vermeiden. Die Darstellung des BOC-geschützten Amins **47b** gestaltete sich sehr schwierig und diente ausschließlich der Synthese des freien Amins **40**.

#### 4.4.4 Versuch der Synthesen von 3/5-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40** und **133**

##### 4.4.4.1 Versuch der Synthesen von 3/5-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40** und **133** durch eine präparative enzymatische Umsetzung

In den ersten Versuchen die Schutzgruppe des Amins abzuspalten, wurden die Prodrugs **39** und **47a** mit Schweineleber-Esterase (Pig Liver Esterase, PLE (EC 3.1.1.1)) mit zwei verschiedenen Puffern bei 37 °C inkubiert (Abbildung 84).<sup>79</sup> Die

Umsetzungen wurden dünnschichtchromatographisch verfolgt, wobei die Detektion des Amins durch Anfärben mit Ninhydrin erfolgen sollte.



**Abbildung 84:** Versuche der enzymatischen Spaltung der CBZ-Schutzgruppe von **39** und **47a**

In der Tabelle 5 sind die Bedingungen und Dauer der durchgeführten enzymatischen Reaktionen aufgelistet. Es wurde pro Verbindung je ein Versuch in einem Phosphatpuffer mit pH = 6.8 und pH = 7.3 bei gleichbleibender Enzymmenge (87 U) durchgeführt. Die Verbindungen wurden für 50-120 min mit dem Enzym inkubiert ohne dass eine Metabolisierung nachgewiesen werden konnte. Nach Aufarbeitung konnte lediglich ein Großteil der Edukte reisoliert werden.

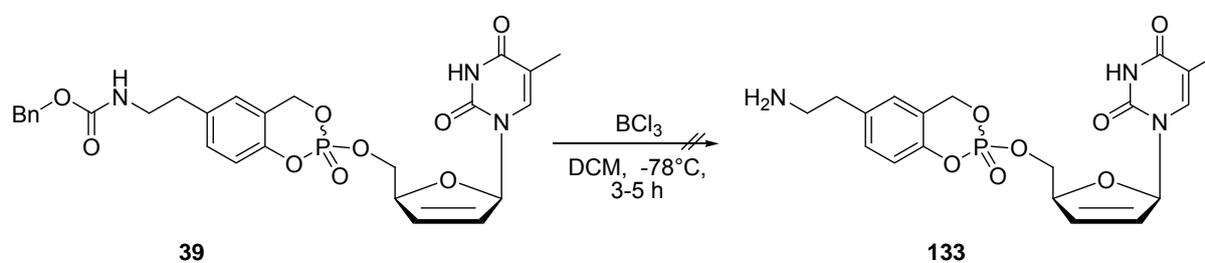
Verbindung	Menge Enzym [U]	Puffer [pH]	Dauer [min]	Ausbeute
3-CBZ-Amin <b>47a</b>	86	6.8	90	-
3-CBZ-Amin <b>47a</b>	86	7.3	120	-
5-CBZ-Amin <b>39</b>	86	6.8	50	-
5-CBZ-Amin <b>39</b>	86	7.3	90	-

**Tabelle 5:** Überblick über die Versuche der enzymatischen Verseifung von **39** und **47a**

#### 4.4.4.2 Versuch der Synthese von 5-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **133** durch chemische Spaltung der CBZ-Schutzgruppe

Die übliche hydrogenolytische Abspaltung der CBZ-Schutzgruppe konnte in diesem Fall wegen der zweiten Benzylposition im Molekül nicht zum Einsatz kommen, so dass nach einem alternativen Weg gesucht werden musste. Aus der Literatur ist bekannt, dass starke Lewis-Säuren wie Bortrichlorid in Lage sind Benzyl- bzw. CBZ-Gruppen abzuspalten.<sup>102,103</sup> Aus diesem Grund wurden zwei Versuche

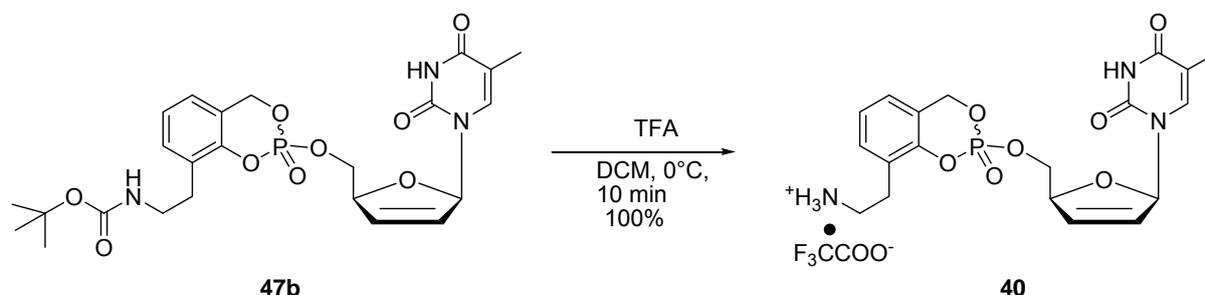
unternommen, die Schutzgruppe mit Bortrichlorid abzuspalten. Die Durchführung orientierte sich dabei im wesentlichen an der Vorschrift von B. Reichardt.<sup>104,105</sup> Hierfür wurde das Prodrug **39** bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit einer Bortrichlorid-Lösung in Dichlormethan versetzt und der Fortschritt der Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt (Abbildung 85). In dem ersten Versuch wurde die Temperatur noch konstant bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gehalten. Hierbei keine Bildung des Amins **133** detektiert werden. Beim zweiten Versuch wurde nach Zugabe der Bortrichlorid-Lösung kein weiterer flüssiger Stickstoff in das Aceton-Kältebad gegeben, so dass sich der Ansatz sehr langsam erwärmte. Mit steigender Temperatur zeigten sich dann deutliche Zersetzungerscheinungen (Schwarzfärbung), dass auch dieser Versuch erfolglos abgebrochen wurde.



**Abbildung 85:** Versuch der Spaltung der CBZ-Schutzgruppe mit Bortrichlorid

#### 4.4.4.3 Synthese von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40** durch chemische Spaltung der BOC-Schutzgruppe

Final gelang die Darstellung des Amins **40** durch die saure Spaltung der BOC-Schutzgruppe von **47b**. Mit Trifluoressigsäure als Säure war der Umsatz nach 10 Minuten vollständig und **40** konnte ohne weitere Reinigung quantitativ als Salz der Trifluoressigsäure isoliert werden (Abbildung 86).<sup>101</sup>



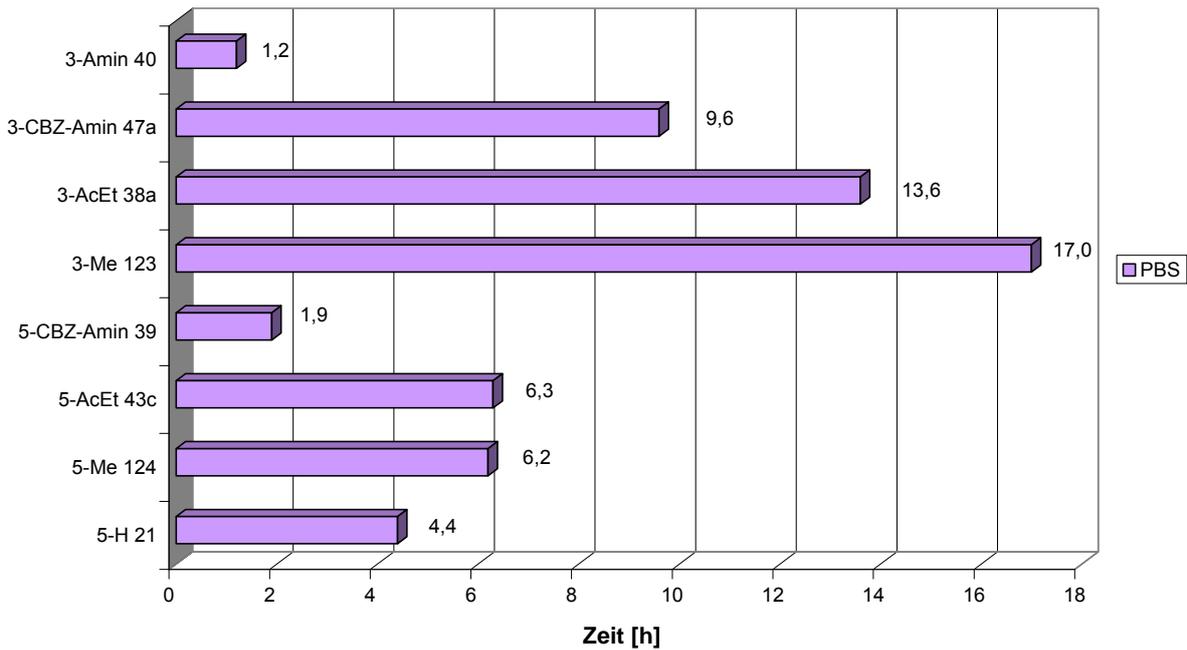
**Abbildung 86:** Spaltung der BOC-Schutzgruppe zur Darstellung von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40**

## 4.4.5 Untersuchungen zum Hydrolyseverhalten

### 4.4.5.1 Hydrolysen in einer schwach basischen Phosphat-Pufferlösung

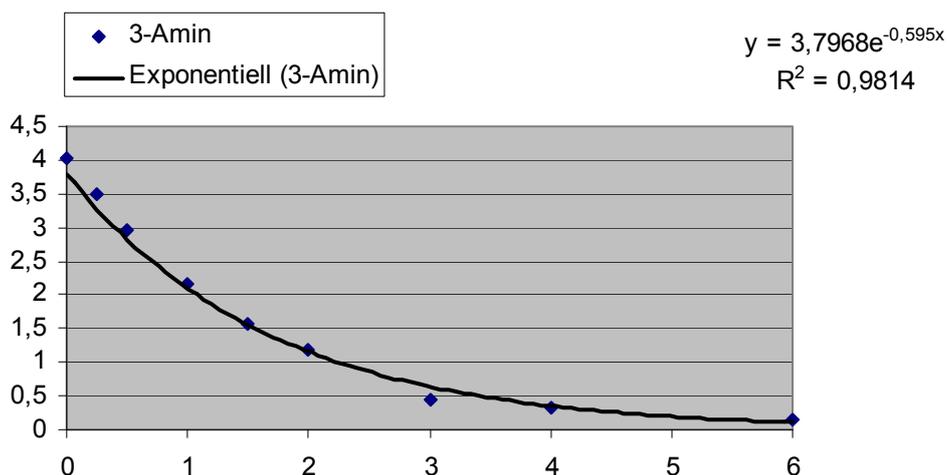
Die Bestimmung der Halbwertszeiten wurden analog zu den Verbindungen C2-Spacer (vgl. Abschnitt 4.2.3.1) durchgeführt. Zum Vergleich wurden die Halbwertszeiten der 3/5-Methyl- **123** und **124**, der 3/5-AcEt-Verbindungen **38a** und **43c** sowie die des unsubstituierten Prototyps **21** mit in das Diagramm aufgenommen (Abbildung 87). Die Halbwertszeiten von 3-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **47a** lag mit  $t_{1/2} = 9.6$  h unter den Werten von 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123** ( $t_{1/2} = 17.0$  h) und 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** ( $t_{1/2} = 13.6$  h), aber über dem des unsubstituierten Prototypen **21** ( $t_{1/2} = 4.4$  h). Demnach hat die Carbamatfunktion in 3-Position der aromatischen Maske grundsätzlich Donoreigenschaften, da sich die Halbwertszeit im Vergleich zum Prototypen **21** erhöhte. Überraschenderweise lag die Hydrolysehalbwertszeit unter der von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a**, was theoretisch bedeutete, dass die Carbamatfunktion bei gleicher Spacerlänge elektronendefizienter als der Essigsäureester war. Dies erschien als nicht schlüssig, da die elektronischen Verhältnisse zumindest ähnlich oder zu Gunsten des wahrscheinlich elektronenreicheren Urethans verschoben sein sollten. Eine mögliche Erklärung könnte eine andere Solvatisierung von 3-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **47a** gewesen sein, die das angreifende Hydroxid-Ion über Wasserstoffbrückenbindungen besser an das Phosphorzentrum herangeführt hat.

Für 5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **39** konnte die Halbwertszeiten  $t_{1/2} = 1.9$  h bestimmt werden, die unter denen von 5-Me-*cycloSal*-d4TMP **124** ( $t_{1/2} = 6.2$  h), 5-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **43c** ( $t_{1/2} = 6.3$  h) und der des unsubstituierten Prototypen **21** ( $t_{1/2} = 4.4$  h) lag. Anders als bei dem entsprechenden 3-Isomer müsste die Carbamatfunktion in diesem Fall einen negativen induktiven Effekt auf den Aromaten ausgeübt haben. Wie in Abschnitt 2.2 erwähnt ist der Einfluss von Substituenten in 5-Position generell geringer als in 3-Position der aromatischen Maske. Dennoch war es ungewöhnlich, dass ein und derselbe Substituent gegensätzlich elektronische Eigenschaften abhängig von der Stellung am Aromaten haben sollte. Wahrscheinlich spielte auch in diesem Fall die Solvatisierung eine entscheidende Rolle.



**Abbildung 87:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **39**, **40** und **47a** in Phosphatpuffer

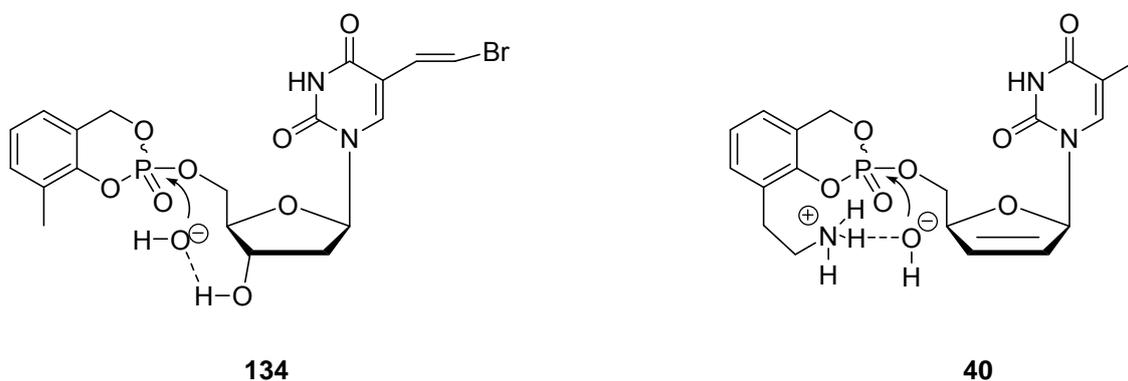
Dieser Trend bestätigte sich ebenfalls durch die auffällig niedrige Halbwertszeit  $t_{1/2} = 1.2$  h von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40** (siehe auch Abbildung 88).



**Abbildung 88:** Exponentielle Ausgleichskurve der Hydrolyse von **40** in Phosphatpuffer (pH = 7.3)

Auch hier konnte die deutliche Erniedrigung der Hydrolysestabilität nicht über elektronische Effekte erklärt werden. Vielmehr wurde hier deutlicher, dass das

angreifende Nucleophil erheblich besser an die Phosphatgruppe „geführt“ wurde. Der Grund hierfür war wahrscheinlich die positive Ladung des Ammonium-Ions (das Amin lag bei pH = 7.3 weitestgehend protoniert) vor. Dieser sogenannte assistierende Effekt war bereits von *cycloSal*-Prodrugs mit 3'-Hydroxylgruppe am Glycon bekannt. In der Abbildung 89 ist der postulierte Mechanismus graphisch dargestellt. Links in der Abbildung ist zu sehen, wie ein angreifendes Hydroxid-Ion durch Wasserstoffbrückenbindungen an das Phosphoratom **134** herangeführt wurde und so die Hydrolyse des Pronucleotids deutlich gegenüber 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123** beschleunigte (> Faktor 2). Im Fall des Ammonium-Ions **40** wurde dieser Effekt noch zusätzlich durch elektrostatische Anziehung des negativ geladenen Nucleophils verstärkt, so dass eine noch geringere Halbwertszeit gefunden wurde. Bei den als Carboxylaten vorliegenden Säuren 3/5-COOHEt- bzw. 3/5-COOHBu-*cycloSal*-d4TMPs wurde bereits ähnliches beschrieben, wobei es jedoch durch die repulsiven Wechselwirkungen der negativen Ladung zur Erhöhung der Stabilitäten kam (vgl. Abschnitte 2.2.1 und 4.3.2.1).



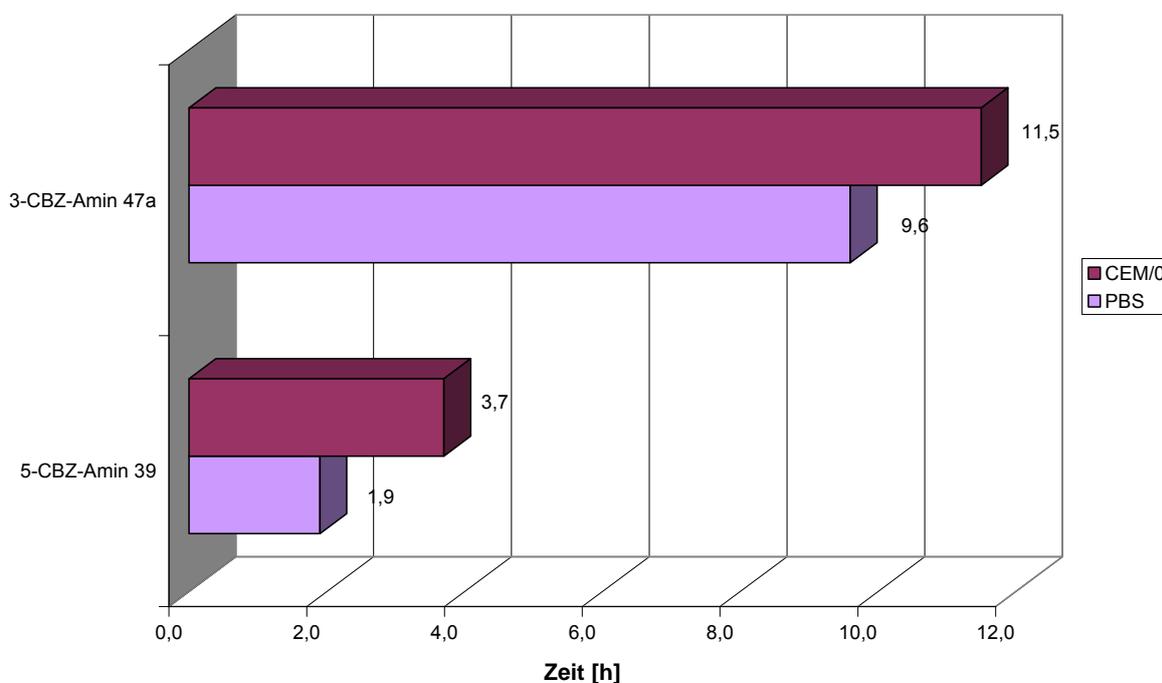
**Abbildung 89:** Postulierter assistierender Effekt von 3-Me-*cycloSal*-BVDUMP **134** und 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40**

Sollte es gelingen aus z.B. 3-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **47a** intrazellulär durch enzymatische Metabolisierung das freie Amin **40** zu erhalten, könnte dies für eine pharmazeutische Anwendung sehr vorteilhaft sein, da das Prodrug aufgrund seiner Ladung höchstwahrscheinlich eingeschlossen wäre („lock-in“). Dadurch könnte selektiv in der Zelle sehr schnell biologisch aktives d4TMP **10** freigesetzt werden. Ein weiterer deutlicher Vorteil ist, dass die sehr schnelle Freisetzung weitestgehend unabhängig vom verwendeten Nucleosid erfolgen sollte.

Im Folgenden wurden 3/5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP durch Hydrolysestudien in verschiedenen Zellmedien auf ihre „lock-in“ Eigenschaften untersucht.

#### 4.4.5.2 Hydrolysestudie in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

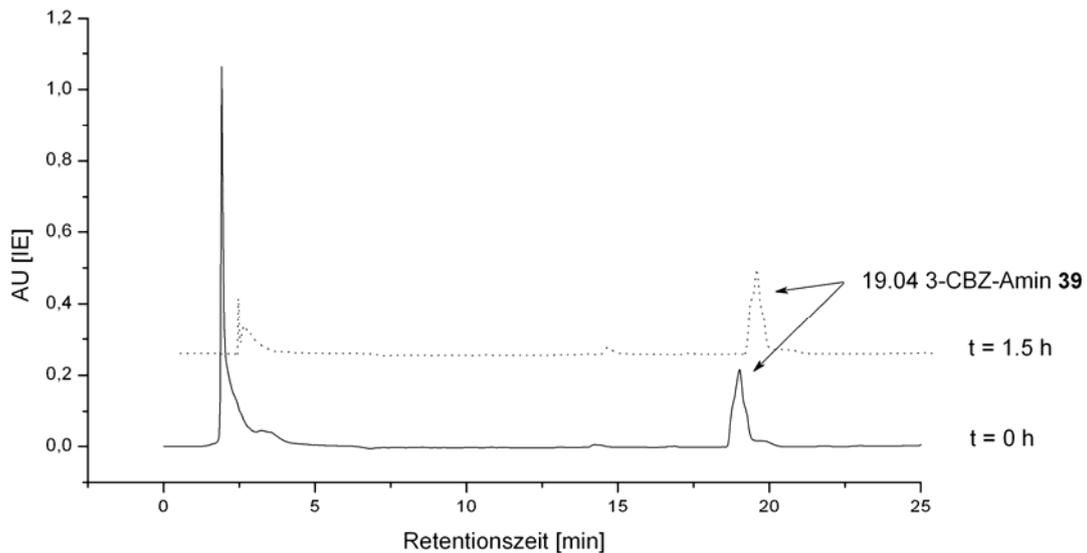
Zur Untersuchung der „lock-in“ Eigenschaften der Pronucleotide **39** und **47a** wurden analog zum Abschnitt 4.2.3.2 Hydrolysestudien in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0) durchgeführt. In der Abbildung 90 sind die bestimmten Hydrolysehalbwertszeiten graphisch dargestellt. Die Halbwertszeit in humanen T-Lymphozyten-Extrakten betrug für 3-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **47a**  $t_{1/2} = 11.5$  h und für 5-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **39**  $t_{1/2} = 3.7$  h. Für das 5-Isomer hat sich der Wert gegenüber dem in schwach basischem Phosphatpuffer fast verdoppelt, wogegen die Halbwertszeit des anderen Isomers nur um rund 20% gestiegen ist.



**Abbildung 90:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **39** und **47a** in humanen T-Lymphozyten-Extrakten (CEM/0)

Die Tatsache, dass die Stabilitäten der beiden Prodrugs gestiegen sind, ist vermutlich auf den niedrigeren pH-Wert des verwendeten Puffers (6.8 vs. 7.3) und eine fehlende enzymatische Verseifung der Carbamatfunktion zurückzuführen. In der nachfolgenden Abbildung 91 sind exemplarisch zwei Chromatogramme der Zellextrakthydrolysen in CEM/0-Extrakten von 3-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **47a** dargestellt. Zu Beginn der Hydrolyse (t=0 h) ist nur das scharfe Signal 3-CBZ-AminoEt **47a** bei 19.04 min zu erkennen, die anderen Peaks stammen aus dem

Zellextrakt. Das nächste Chromatogramm ( $t = 1.5$  h) zeigt kein Signal des freien Amins **40**, das bei einer erfolgreichen Metabolisierung der Carbamatfunktion entstanden wäre. Auch im weiteren Verlauf der Hydrolyse konnten keine Hinweise auf eine enzymatische Verseifung gefunden werden.

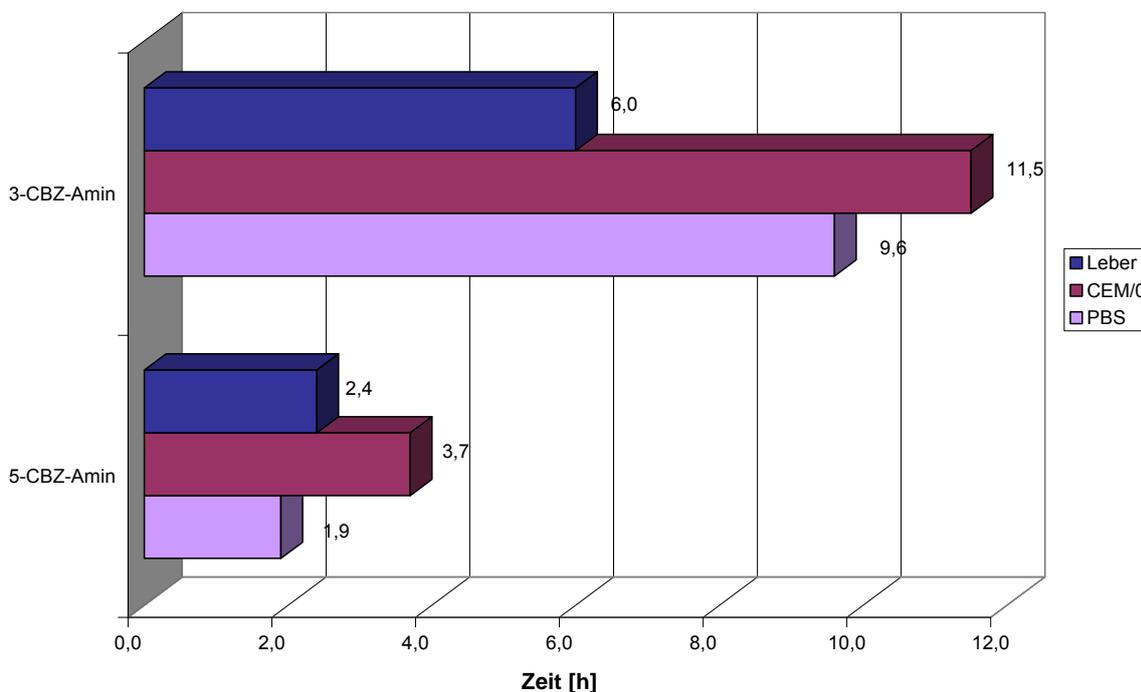


**Abbildung 91:** Chromatogramme der Hydrolyse von 3-CBZ-AminoEt **47a** in CEM/0-Extrakten

#### 4.4.5.3 Hydrolysestudien in Leberzell-Extrakten

Die Durchführung der Hydrolysestudien in Mäuseleberzell-Extrakten der Pronucleotide **39** und **47a** erfolgte analog zum Abschnitt 4.3.2.3. Wie man der nachfolgenden Abbildung 92 entnehmen kann, ist die Halbwertszeit in Leberzell-Extrakten für 3-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **47a**  $t_{1/2} = 6.0$  h rund ein Drittel niedriger als die in schwach basischem Phosphatpuffer ( $t_{1/2} = 9.1$  h) und in etwa halb so hoch wie die CEM/0-Extrakten ( $t_{1/2} = 11.5$  h). Für 5-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4TMP **39** wurde die Halbwertszeit zu  $t_{1/2} = 2.4$  h bestimmt. Dieser Wert ist im Rahmen der Messeingenaugigkeit nahezu mit dem in PBS ( $t_{1/2} = 1.9$  h) identisch und ebenfalls geringer als in dem CEM/0-Extrakt ( $t_{1/2} = 3.7$  h). Für beide Prodrugs konnte eine enzymatische Verseifung als Ursache für die beschleunigte Hydrolyse ausgeschlossen werden, da sich in den Chromatogrammen keine Hinweise auf die Bildung des entsprechenden freien Amins nachweisen ließ. Vielmehr waren

wahrscheinlich unspezifische Proteinbindungen der Prodrugs **39** und **47a** die Ursache für die verkürzte Hydrolysedauer.



**Abbildung 92:** Hydrolysehalbwertszeiten der Verbindungen **39** und **47a** in Mäuseleberzell-Extrakten

Zusammenfassend muss man feststellen, dass die bisher dargestellten carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-Pronucleotide weder in den humanen T-Lymphozyten- noch in den Leberzell-Extrakten die gewünschte enzymatische Spaltung zeigten.

#### 4.4.6 Antivirale *in vitro* Aktivität der carbamat- und aminfunktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **39**, **40** und **47a**

Die Werte wurden analog zu Abschnitt 4.2.4 und 4.3.2.4 bestimmt. Die Ergebnisse dieser Tests sind zusammen mit dem Wert von d4T **2** in der Tabelle 6 zusammengefasst. Für alle drei Prodrugs wurde eine mit d4T **2** vergleichbare Aktivität gegen HIV-1 ( $EC_{50} \approx 0.45 \mu\text{M}$ ) in den Wildtypzellen gefunden. Allerdings verringert sich ihre Wirksamkeit leicht bei den entsprechenden Tests mit HIV-2 infizierten Wildtypzellen. Die Untersuchungen in den TK-defizienten Zellen zeigten, dass die Verbindungen **39** ( $EC_{50} = 4.23 \mu\text{M}$ ) und **47a** ( $EC_{50} = 2.88 \mu\text{M}$ ) fünf- bis sechsfach geringere Aktivität als im Wildtyp besitzen, also nur einen unvollständigen

TK-Bypass zeigten. Bedenkt man die niedrige Halbwertszeit ( $t_{1/2} = 3.7$  h in CEM/0-Extrakten) von 5-CBZ-Amin-*cycloSal*-d4TMP **39**, ist dieser Verlust verständlich. Für das freie Amin **40** konnte ein  $EC_{50} = 12.3$   $\mu\text{M}$  bestimmt werden, demnach war dieses Pronucleotid nicht in Lage, intrazellulär d4TMP in den Zellen freizusetzen. Ähnlich wie bei den freien Säuren kann diese Tatsache als Indiz gesehen werden, dass das Amin **40** aufgrund seiner positiven Ladung die Zellmembran nicht passieren konnte und deswegen potentiell „lock-in“ fähig wäre. Da alle drei Prodrugs entweder gar nicht oder nur unzureichend den TK-Bypass vollzogen haben, stammte die antivirale Aktivität in den Wildtypzellen vermutlich von dem freigesetzten Nucleosid d4T **2**. Die bestimmte Cytotoxizität war in allen drei Fällen sehr ähnlich ( $CC_{50} \approx 50$   $\mu\text{M}$ ), was nur einer geringen Toxizität entsprach.

Verbindung		$EC_{50}^a$ ( $\mu\text{M}$ )			$CC_{50}^b$ ( $\mu\text{M}$ )
		<u>CEM/0</u>	<u>CEM/TK</u>	<u>CEM/0</u>	
<i>-cycloSal</i> -d4TMP		HIV-1	HIV-2	HIV-2	
5-CBZ-AminoEt	<b>39</b>	$0.86 \pm .021$	$1.67 \pm 1.41$	$4.23 \pm 1.53$	$38.3 \pm 12.1$
3-CBZ-AminoEt	<b>47a</b>	$0.49 \pm 0.26$	$1.01 \pm 0.26$	$2.88 \pm 1.06$	$50.8 \pm 1.06$
3-Amin	<b>40</b>	$0.43 \pm 0.30$	$0.93 \pm 0.25$	$12.3 \pm 4.04$	$55.0 \pm 3.32$
-----					
	d4T <b>2</b>	$0.35 \pm 0.09$	$0.63 \pm 0.20$	$43.3 \pm 40.2$	$169.4 \pm 64.8$

**Tabelle 6:** Antivirale Aktivitäten der *cycloSal*-Pronucleotide **39**, **40** und **47a**

- a) 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation;  
 b) 50% cytotoxische Konzentration

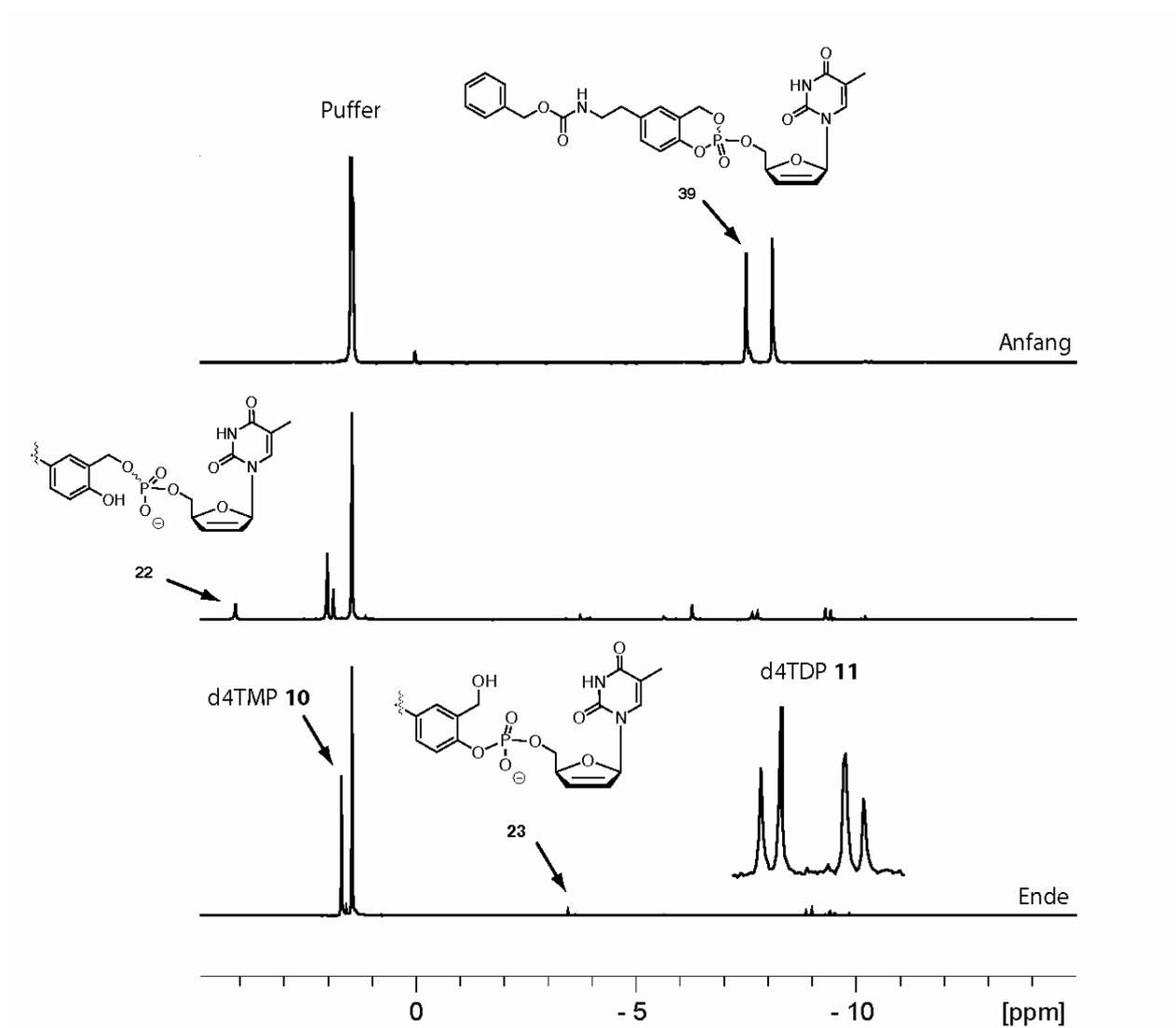
#### 4.5 <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolyseprodukte

Aus früheren Arbeiten ist bekannt, dass der Prototyp *cycloSal*-d4TMP bei der Hydrolyse ausschließlich den Benzyl-Phosphatdiester und infolgedessen auch d4TMP bildet. Wird eine zusätzliche Methylgruppe in 3-Position des Saligenylaromaten (3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123**) angebracht, führt dies zu einer deutlichen Verlängerung der Halbwertszeit und zu einer nachweisbaren Bildung des hydrolyseresistenten Phenyl-Phosphatdiesters. Es sollte nun untersucht werden, wie sich die Verlängerung der Linker-Kette und die Einführung der Carbamatfunktion auf das Hydrolyseverhalten der hergestellten *cycloSal*-NMPs auswirkt. Eine geeignete Untersuchungsmethode, bei der die unterschiedlichen Hydrolyseprodukte nebeneinander nachgewiesen und quantifiziert werden können, ist eine <sup>31</sup>P-NMR-Hydrolysestudie. Es wurden nicht alle im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Pronucleotide untersucht. Stattdessen wurden exemplarisch einige Verbindungen ausgewählt, welche jeweils die geänderten Eigenschaften repräsentierten (z.B. längere Linker-Kette oder neue Funktionalität).

Zur Durchführung wurden ungefähr 7 µmol des jeweiligen *cycloSal*-NMPs in einem Gemisch aus deuteriertem DMSO und einem 50 mM Phosphat-Puffer (pH 7.3) gelöst. Die Hydrolysen fanden bei 37 °C im NMR-Röhrchen statt, und wurden durch Messung <sup>1</sup>H-entkoppelter <sup>31</sup>P-NMR-Aufnahmen verfolgt. Unter den genannten Bedingungen lagen die Hydrolysehalbwertszeiten im Bereich mehrerer Tage, so dass eine spektroskopische Verfolgung der Reaktion problemlos möglich war. Durch Integration der Signale und zusätzliche Messung von <sup>1</sup>H-gekoppelter <sup>31</sup>P-NMR-Spektren, konnten die Hydrolyseprodukte quantitativ- und qualitativ bestimmt werden.

In der nachfolgenden Abbildung 93 ist der stacked Plot der <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse von 5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **39** dargestellt. Zu Beginn der Hydrolyse konnte man deutlich zwei Signale (-8.9 und -9.6 ppm) erkennen, die von den beiden Diastereomeren von **39** stammen. Im weiteren Verlauf konnte die Bildung des gewünschten Benzyl-Phosphatdiesters **22** (2.6 ppm) und die Freisetzung von d4TMP **10** (0.57 ppm) beobachtet werden. Weiterhin fanden sich zwei Dupletts im Bereich von -9 und -11 ppm, die d4TDP **11** zugeordnet werden konnten, welches sich durch den nucleophilen Angriff von Phosphat auf das Phosphorzentrum des Prodrug bildet. Mit der Freisetzung von

d4TDP **11** konnte ebenfalls ein geringer Anteil des unerwünschten Phenyl-Phosphatdiester **23** (-5.3 ppm) in den Spektren nachgewiesen werden, der im weiteren Verlauf der Hydrolyse anstieg. Dieser hydrolyseresistente, „falsche“ Diester **23** lag am Ende der Hydrolyse mit 5%, d4TMP **10** mit 78% und d4TDP **11** mit 17% vor.



**Abbildung 93:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 5-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **39**

Die Hydrolysen der ebenfalls untersuchten Verbindungen verliefen sehr ähnlich. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 7 aufgelistet. Man kann deutlich erkennen, dass alle untersuchten Prodrugs sehr effektiv das gewünschte Nucleotid d4TMP **10** freigesetzt haben (76-88%). Der hydrolyseresistente Phenyl-Phosphatdiester hat sich nur in geringen Mengen von 2-7% gebildet, was ungefähr den Werten für den

unsubstituierten Prototypen **21** (1%) und 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123** (6%) entspricht.<sup>106</sup> Bei den Untersuchungen der getrennten Diastereomere 3-MePr **42a** *fast* und *slow* konnte bis auf die verschiedenen Hydrolysegeschwindigkeiten kein signifikanter Unterschied in der Produktverteilung gefunden werden.

Die Tatsache, dass sich mehr als doppelt so viel d4TDP **11** bei der Hydrolyse von **37a**, **39** und **47a** im Vergleich zu den übrigen Prodrugs gebildet hat, ist sicherlich auf den frisch hergestellten Phosphatpuffer zurückzuführen. Demnach hatte die Einführung der neuen Funktionalitäten bzw. die Verlängerung der Spacerkette keine negativen Auswirkungen auf den Hydrolysemechanismus.

<b>-<i>cycloSal</i>-d4TMP</b>		<b>d4TMP 10</b>	<b>d4TDP 11</b>	<b>Phenyl-</b>
		<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	<b>Phosphatdiester 22</b>
3-MePr fast	<b>42a</b>	88	6	6
3-MePr slow	<b>42a</b>	87	8	5
3-CBZ-AminoEt	<b>47a</b>	76	22	2
5-CBZ-AminoEt	<b>39</b>	78	17	5
3-MeBu	<b>37a</b>	80	18	2
5-BnPe	<b>46a</b>	87	6	7

**Tabelle 7:** Verteilung der Hydrolyseprodukte der <sup>31</sup>P-NMR-Hydrolysen

## 5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei unterschiedliche Gruppen von „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs synthetisiert und untersucht; estermodifizierte Pronucleotide mit C2-Alkylspacer, estermodifizierte Prodrugs mit verlängertem Alkyllinker sowie carbamatfunktionalisierte *cycloSal*-NMPs ebenfalls mit C2-Alkylspacer.

Zunächst wurden auf frühere Arbeiten aufbauend über eine lineare Syntheseroute „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs **38a-c**, **42a** und **43a-b** mit C2-Spacer synthetisiert. Für diese Pronucleotide waren die entsprechenden Salicylalkoholderivate **78a-b**, **79** und **80**, die aus den jeweiligen estermodifizierten Phenolen **72a-b**, **73** und **74a-b** in Ausbeuten von 19-26% erhalten wurden, die Schlüsselintermediate. Die Darstellung dieser Salicylalkohole **78a-b**, **79** und **80** stellte die eigentliche Herausforderung dar. Bei den nachfolgenden Synthesen handelte es sich um etablierte Reaktionen, so dass die „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-d4TMPs **38a-c**, **42a** und **43a-b** in Ausbeuten von 38-55% erhalten werden konnten. Die Spaltung der Levulinoyl-ester **38c** und **43a** lieferte die Referenzverbindungen **38b** und **43b** mit 36% bzw. 76% Ausbeute (Abschnitt 4.2.1). Die Diastereomergemische von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** und 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** wurden mittels präparativer HPLC getrennt und anschließend die jeweiligen Diastereomere 3-AcEt **38a fast**, 3-AcEt **38a slow**, 3-MePr **42a fast** und 3-MePr **42a slow** bezüglich ihres Hydrolyseverhaltens in verschiedenen Medien (PBS, humane T-Lymphozyten- und Mäuseleber-Extrakte) und ihre antivirale Aktivität (in Kooperation mit Prof. Dr. J. Balzarini, Universität Leuven, Belgien) hinuntersucht.

Die Hydrolysestudien in schwach basischem Phosphatpuffer (PBS) zeigten, dass die **slow**-Isomere von **38a** und **42a** mit einer Halbwertszeit von rund 18 Stunden mehr als doppelt so stabil waren wie die entsprechenden **fast**-Isomere von **38a** und **42a** ( $t_{1/2} \approx 8$  h). Hieraus wurde deutlich, dass die Stereochemie am Phosphorzentrum einen wesentlichen Einfluss auf das Hydrolyseverhalten des Triesters hatte. Gründe hierfür waren die unterschiedlichen sterischen Zugänglichkeiten der Phosphatgruppe, die einen Angriff des Nucleophil entweder erschwerten (**slow**) oder erleichterten (**fast**) (Abschnitt 4.2.3.1).

Bei den Hydrolysestudien der getrennten Diastereomeren von 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** in verschiedenen Zellmedien setzte sich der Trend fort, dass das **slow**-Isomer im Vergleich etwa doppelt so stabil ist. Allerdings waren die Halbwertszeiten deutlich geringer, als die in PBS bestimmten. So verringerte sich die Halbwertszeit in humanen T-Lymphozyten-Extrakten für 3-AcEt **38a slow** um das 3.5 fache ( $t_{1/2} = 5.2$  h) und bei dem **fast**-Isomer um den Faktor drei ( $t_{1/2} = 2.6$  h). In Mäuseleberzell-Extrakten konnte für das **fast**-Isomer ein Wert von  $t_{1/2} = 0.8$  h bestimmt werden, was eine Verringerung um den Faktor 10 bedeutet - für das **slow**-Isomer mit  $t_{1/2} = 0.3$  h sogar eine Verringerung um Faktor den 60! In allen Fällen konnte zweifelsfrei eine enzymatische Verseifung als Ursache für die beschleunigte Hydrolyse nachgewiesen werden. Überraschenderweise konnte bei den Untersuchungen in den Zellextrakten weder in dem humanen T-Lymphozyten noch in den Mäuseleber-Extrakten eine enzymatische Verseifung der Methylester von 3-MePr **42a fast** und 3-MePr **42a slow** gefunden werden (Abschnitt 4.3.2.3).

Bei den antiviralen Eigenschaften der getrennten Diastereomere zeigte sich ebenfalls, dass die **slow**-Isomere von **38a** und **42a** bessere Eigenschaften als ihre entsprechenden **fast**-Isomere haben ( $EC_{50} \approx 0.08 \mu\text{M}$  (**slow**) vs.  $EC_{50} \approx 0.2 \mu\text{M}$  (**fast**)). Gründe hierfür könnten erneut die höhere Stabilität und/oder eine bessere Zellaufnahme der **slow** Isomere von **38a** und **42a** gewesen sein (Abschnitt 4.2.4).

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit neuen *cycloSal*-Pronucleotiden **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** mit verlängerter Alkylkette als Spacer. Für die Synthese dieser neuen Verbindungen konnte die bereits etablierte, lineare Syntheseroute nicht angewandt werden, so dass nach einer Alternative gesucht werden musste. Es wurde ein Weg gewählt, der als zentralen Schritt eine Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion beinhaltet (Abbildung 94). Doch bevor diese konvergente Syntheseroute auf die neuen Prodrugs angewendet werden konnte, musste die Kreuzkupplung in zahlreichen Testreaktionen bzgl. der Reaktionsbedingungen optimiert werden. Als Ergebnis erhielt man eine Synthesevorschrift, die anschließend erfolgreich auf die Darstellung der neuen Salicylalkoholderivate **106a-b**, **107a-b**, **108**, **109a-b** und **110** übertragen werden konnte. In der Regel wurden die so erhaltenen Acetale als Rohprodukt durch saure Spaltung der Acetonide direkt in die entsprechenden Salicylalkohole **111a-b**, **112a-b**, **113**, **114a-b** und **115** überführt (Ausbeute 11-44%). Die Synthesen der *cycloSal*-

NMPs **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** verliefen in Ausbeuten von 27-56% und die Spaltung der *t*-Butylester **112b** und **114b** lieferten nahezu quantitativ die Referenzverbindungen **112c** und **114c**. So ist es im Rahmen dieser Arbeit erstmals gelungen „lock-in“-modifizierte *cycloSal*-d4TMPs mit verlängerter Spacerkette darzustellen (Abschnitt 4.3.1).

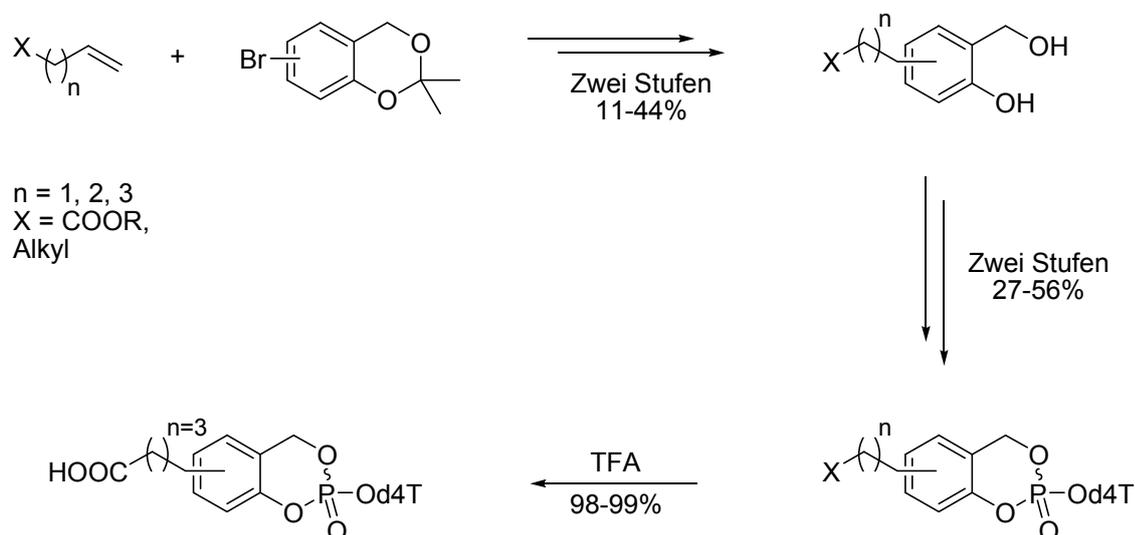


Abbildung 94: Syntheseroute zur Darstellung der *cycloSal*-Prodrugs mit verlängerter Alkylkette

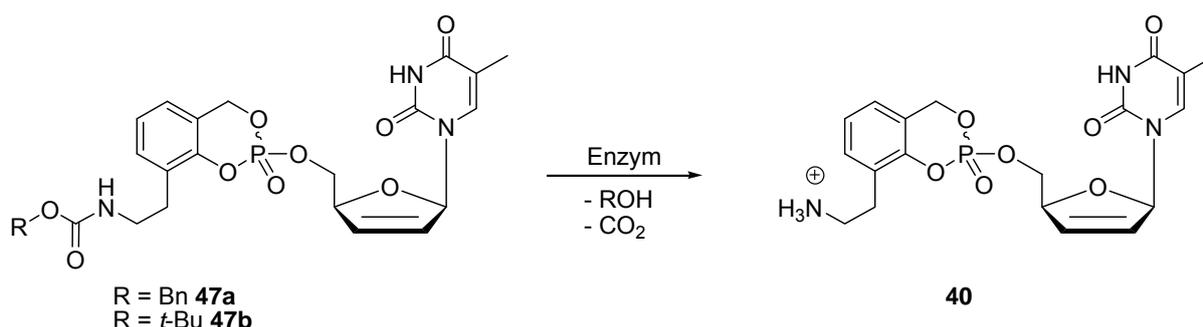
Die Pronucleotide **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** wurden hinsichtlich ihrer Hydrolyseeigenschaften in verschiedenen Medien (PBS, humane T-Lymphozyten- und Mäuseleber-Extrakte) untersucht. Die Hydrolysen der 3-Isomere **37a-b**, **42a** und **44a-c** in PBS zeigten, dass die Verlängerung der Alkylkette auf drei oder vier Kohlenstoffatome ausreichend ist, um den negativ induktiven Effekt der Estergruppe vollständig zu kompensieren. Für diese Verbindungen wurden sehr ähnliche oder sogar größere Stabilitäten (18-81 h) als für 3-Me-*cycloSal*-d4TMP **123** ( $t_{1/2} = 17$  h) bestimmt. Anders verhielt es sich bei den Prodrugs **43a**, **46a-c** und **122**, welche die Modifikation in 5-Position der aromatischen Maske trugen. Hier konnten Halbwertszeiten bestimmt werden, die zwischen vier und neun Stunden lagen (Abschnitt 4.3.2.1).

Bei den Hydrolysestudien in humanen T-Lymphozyten-Extrakten zeigten weder die 3- noch die 5-Isomere verbesserte Substrateigenschaften, so dass keine enzymatische Metabolisierung der Estergruppen stattfand. Die entsprechenden Untersuchungen in Mäuseleberzell-Extrakten lieferten das positive Ergebnis, dass beide Benzylester mit C4-Linkerkette **44a** und **46a** im Gegensatz zu allen anderen

Verbindungen innerhalb von wenigen Minuten nahezu komplett enzymatisch gespalten wurden! Potentiell wäre man so in der Lage, einen Wirkstoff gegen Lebererkrankungen, wie z.B. 3TC **4a**, selektiv in der Leber freizusetzen (Abschnitte 4.3.2.2 und 4.3.2.3).

Die Bestimmung der antiviralen Eigenschaften der neuen Prodrugs **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** und **122** offenbarte, dass die Einführung der längeren Alkylketten eher einen negativen Effekt auf die antivirale Aktivität hatte. Die Werte verschlechterten sich zum Teil sehr deutlich, was sehr wahrscheinlich auf die höhere Lipophilie der Verbindungen zurückzuführen war (Abschnitt 4.3.2.4).

Der dritte und letzte Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich mit der Synthese und Untersuchung von carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-Pronucleotiden. Erstmals wurde ein „lock-in“-modifiziertes *cycloSal*-Prodrugssystem entwickelt, das nach erfolgreicher enzymatischer Umsetzung eine positive Ladung, ein Ammonium-Ion **40**, freisetzen und so einen Einschluss in den Zellen („lock-in“) ermöglichen sollte.



Die Darstellung der carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-d4T-Monophosphate **39** und **47a-b** erfolgte ebenfalls über eine konvergente Syntheseroute mit einer Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion als zentralen Schritt. Die Synthese der für die Kupplungsreaktion benötigten Vinylcarbamate **58a** und **58b** gestaltete sich dabei z.T. sehr schwierig, sie konnten nur als Rohprodukte isoliert werden. Suzuki-Miyaura-Reaktionen, die unter leicht veränderten Bedingungen zu den eben genannten durchgeführt wurden, lieferten nach Abspaltung der Acetonidschutzgruppen die Salicylalkohole 3-CBZ-AminoEt- **129a** (53%) **129a**, 3-BOC-AminoEt- **129b** (3%) und 5-CBZ-AminoEt-salicylalkohol **130** (53%). Die Darstellung der *cycloSal*-d4TMPs **39** und **47a-b** verliefen mit Ausbeuten von 28-65% und die saure Spaltung der BOC-Schutzgruppe lieferte 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40** in quantitativer Ausbeute (Abschnitte 4.4.1 bis 4.4.4.3).

---

Die Pronucleotide **39**, **40** und **47a** wurden hinsichtlich ihrer Hydrolyseeigenschaften in verschiedenen Medien (PBS, humane T-Lymphozyten- und Mäuseleber-Extrakte) und ihrer antiviralen Eigenschaften untersucht.

Die Untersuchungen in schwach basischem Phosphatpuffer ergaben erstaunliche Ergebnisse: die Verbindungen zeigten mit Halbwertszeiten  $t_{1/2} = 9.6$  h (**47a**),  $t_{1/2} = 1.9$  h (**39**) und  $t_{1/2} = 1.2$  h (**40**) vergleichsweise geringe Stabilitäten. Elektronische Effekte an der aromatischen Maske konnten diese Erniedrigung nur unzureichend erklären, so dass nach alternativen Erklärungen gesucht wurde. Eine mögliche Ursache könnte eine veränderte Solvatisierung der Prodrugs sein, die das angreifende Nucleophil über Wasserstoffbrückenbindungen besser an das Phosphorzentrum herangeführt hat. Besonders ausgeprägt war dieser Effekt bei 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40**, da dieses Molekül bei pH = 7.3 eine positive Ladung trug und somit noch elektrostatische Anziehungskräfte hinzukamen (Abschnitt 4.4.5.1).

Die Hydrolysestudien in den Zellextrakten zeigten, dass die carbamatfunktionalisierten *cycloSal*-Pronucleotide **39** und **47a** keine Substrate für eine enzymatische Metabolisierung waren. Demnach ist nicht gelungen die entsprechende Amine in den Zellextrakten freizusetzen (Abschnitte 4.4.5.2 und 4.4.5.3).

Die Bestimmung der antiviralen Eigenschaften der Prodrugs **39**, **40** und **47a** offenbarte eine leichte Verschlechterung im Vergleich zu den estermodifizierten Verbindungen mit C2-Spacer, was hauptsächlich auf die niedrigere Hydrolysestabilitäten zurückzuführen war (Abschnitt 4.4.6).

## 6 Summary

Regarding this work, three different groups of “lock-in”-modified *cycloSal*-d4TMPs were synthesized and analysed: ester-modified pronucleotides with C2-alkyl spacers, ester-modified prodrugs with elongated alkyl linker and carbamate-functionalised *cycloSal*-NMPs with C2-alkyl spacers respectively.

At first, “lock-in”-modified *cycloSal*-d4TMPs **38a-c**, **42a** und **43a-b** with C2-spacers were prepared by a linear synthesis and the diastereomeric mixtures were separated from 3-AcEt-*cycloSal*-d4TMP **38a** and 3-MePr-*cycloSal*-d4TMP **42a** resulting in diastereomers 3-AcEt **38a fast**, 3-AcEt **38a slow**, 3-MePr **42a fast** and 3-MePr **42a slow**. Researching their hydrolysis reaction in various media, such as PBS-buffer, human T-lymphocytes- and mouse liver-extracts, as well as their antiviral activities resulted in significant differences in view of their properties. Thus, the two *slow*-isomers were normally double as stable as the *fast*-isomers. An enzymatic metabolism was proven for the 3-AcEt **38a** compounds and surprisingly not for the inverted esters, the 3-MePr **42a**.

Regarding the second group, including *cycloSal*-pronucleotides **37a-b**, **44a-b**, **45**, **46a-b** and **122** with an elongated alkyl chain as spacer, a new synthetic route was established. Central step was a Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction which was optimized in several test reactions before the prodrug synthesis. Consequently, for the first time, “lock-in”-modified *cycloSal*-d4TMPs with elongated spacer chain were successfully prepared.

The evaluation of the new pronucleotides in view of their antiviral properties resulted in a deterioration of the compounds with C2-alkyl spacers. The investigations in PBS-buffer lead to a considerable increase of the stabilities; in that regard the 5-isomers conveyed inconsistent findings. Both kind of isomers showed no enhanced substrate attributes in human T-lymphocyte extracts. Hence no enzymatic metabolism of the ester groups took place. Within the third medium, consisting of mouse liver cells-extracts, both benzylester with C4-linkerchain **44a** and **46a** were entirely enzymatically split within a few minutes as opposed to all other compounds!

In conclusion, based on the carbamate-functionalised *cycloSal*-d4TMPs a “lock-in”-modified *cycloSal*-prodrug system was developed for releasing a positive charge after a successful enzymatic metabolism. In that case, the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction also embodied a central element of convergent synthesis. The

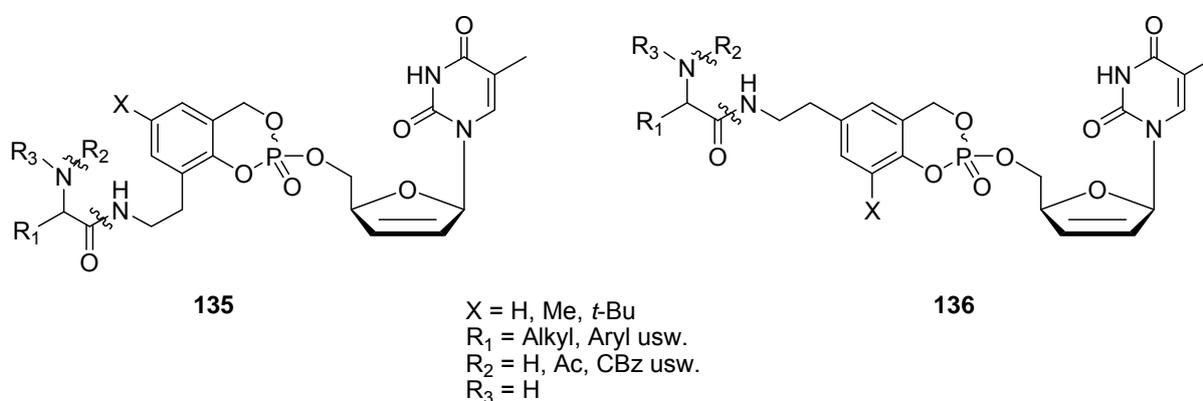
---

investigations of those prodrugs in PBS-buffer conveyed surprisingly comparative low stabilities. In view of the cell extracts, the pronucleotide **39** and **47a** showed no substrates for enzymatic metabolism. The assay of antiviral attributes of prodrugs **39**, **40** and **47a** revealed a slight deterioration compared against ester-modified compounds with C2-spacers.

## 7 Ausblick

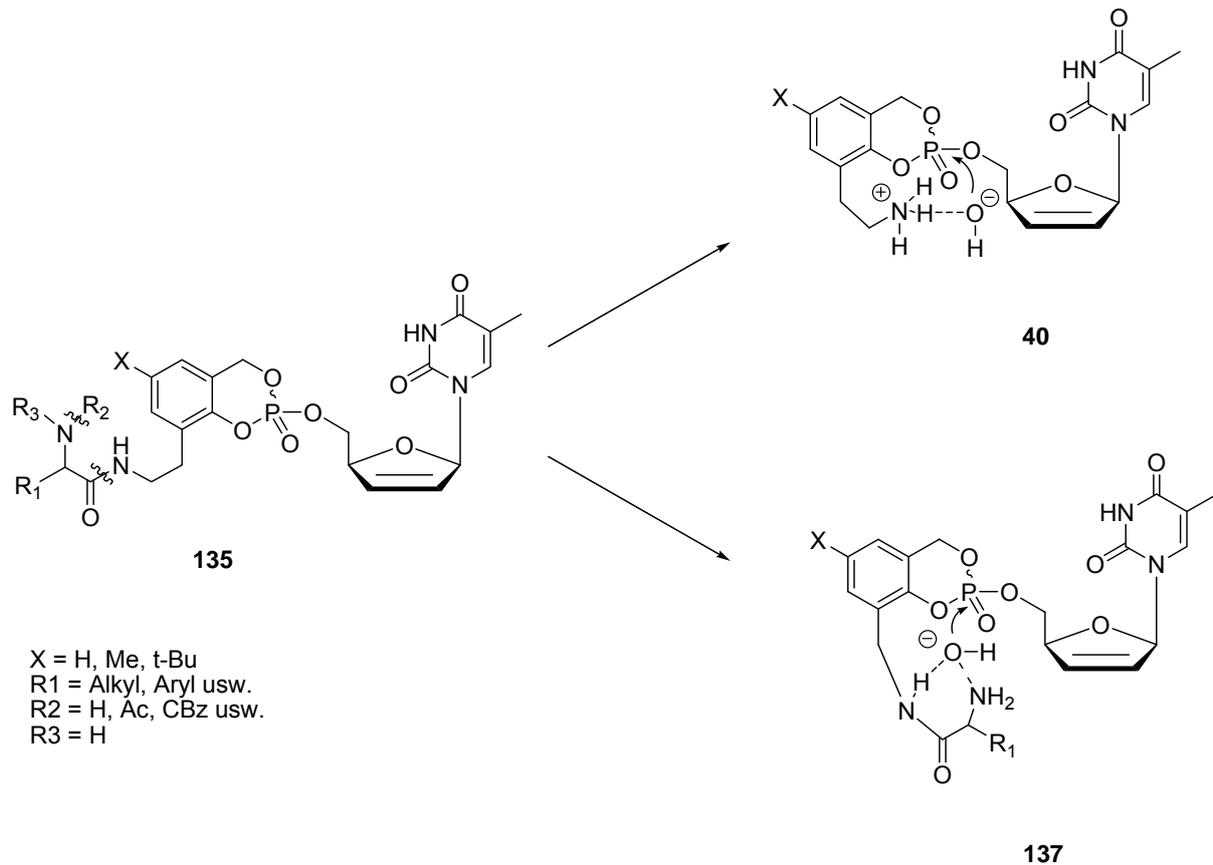
Aufbauend auf die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich ausblickend folgende Vorschläge für die Weiterentwicklung der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Pronucleotide formulieren.

Die neuen „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Nucleosid-Monophosphate sollten eine C2-Alkylkette als Spacer haben, da längere Linker zwar zur Erhöhung der Hydrolysestabilität aber ebenso auch zu Verschlechterung der antiviralen Aktivität führte. Weiterhin sollte eine enzymatische Metabolisierung des Prodrugs möglichst eine positive Ladung ergeben, da diese die Freisetzung des Nucleotids in der Zelle beschleunigen sollte. Da Carbamate im Rahmen dieser Arbeit bereits untersucht worden sind, sollte der Fokus zukünftiger Arbeiten auf, wie sie in Abbildung 95 dargestellt sind, gelegt werden. Anders als bei bisher dargestellten aminosäurefunktionalisierten *cycloSal*-Pronucleotiden<sup>98</sup> sollen die Aminosäuren über die Säure- und nicht über die Amino-Gruppe an den C2-Linker gebunden werden.



**Abbildung 95:** Vorschlag für neue „lock-in“-modifizierte *cycloSal*-Nucleosid-Monophosphate

Diese Prodrugs könnten prinzipiell an zwei Stellen enzymatisch gespalten werden. Zunächst ist eine Spaltung an der Amidbindung zum Linker denkbar, aber diese Möglichkeit wird als eher unwahrscheinlich angesehen.<sup>98</sup> Alternativ käme es zur enzymatischen Abspaltung der Restes R<sub>2</sub>, wodurch ebenfalls eine freie Aminofunktion im Pronucleotid **137** vorhanden wäre. Eine Acetyl-Gruppe konnte hier Schutzgruppe R<sub>2</sub> besonders geeignet sein, da diese häufig sehr gut metabolisiert werden (Abbildung 96).



**Abbildung 96:** Möglicher Metabolismus neuer „lock-in“-modifizierter *cycloSal*-Pronucleotide

In beiden Fällen dürfte man auf Grund der Wechselwirkungen mit dem Nucleophil eine Erniedrigung der Hydrolysehalbwertszeit und somit eine schnelle Freisetzung des biologisch aktiven Nucleosidmonophosphats erwarten (siehe Abbildung 96).

## 8 Experimentaltteil

### 8.1 Allgemeines:

#### 8.1.1 Edukte und Reagenzien

Sämtliche Edukte und Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen VWR, Fluka und Sigma-Aldrich in Synthesequalität bezogen und ohne weitere Reinigung für die Synthesen verwendet. Nucleoside und Nucleosid-Analoga wurden von den Firmen ChemGenes und Berry & Associates, Palladium-haltige Katalysatoren von der Firma Strem bezogen.

#### 8.1.2 Lösungsmittel

*Acetonitril*;  $C_2H_3N$  [41.05]; technische Qualität; Sdp.: 82 °C. über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*Dichlormethan*;  $CH_2Cl_2$  [84.93]; technische Qualität; Sdp.: 39-40 °C;

- a) über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.
- b) Über Calciumchlorid getrocknet, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*Diethylether*;  $C_4H_{10}O$  [74.11]; technische Qualität; Sdp.: 34 °C;

- a) bei Normaldruck destilliert und über Kaliumhydroxid aufbewahrt.
- b) über Natrium getrocknet, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*N,N-Dimethylformamid*;  $C_3H_7NO$  [73.10]; Sdp.: 153 °C; Fluka Nr. 40248, puriss., aminfrei; absolut über Molekularsieb ( $H_2O < 0.01 \%$ ); >99.5 %.

*Ethylacetat*;  $C_4H_8O_2$  [88.11]; technische Qualität; Sdp.: 77 °C; über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.

---

*n-Hexan*; C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> [86.17]; Sdp.: 68.7 °C; technische Qualität; über Normaldruck destilliert.

*Methanol*; CH<sub>4</sub>O [32.04]; technische Qualität; Sdp. 64°C;

- a) bei Normaldruck destilliert.
- b) über Magnesium getrocknet, bei Normaldruck

*Petrolether* (50-70); technische Qualität; Sdp.: 50-70°C; bei Normaldruck destilliert.

*Pyridin*; C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N [79.10]; Sdp.: 116°C, technische Qualität; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*Tetrahydrofuran*; C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O [72.11]; Sdp.: 66°C, technische Qualität, über Natrium getrocknet, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*Toluol*; C<sub>7</sub>H<sub>8</sub> [92.14]; Sdp. : 110 °C

- a) purum., min. 99 %, Riedel-de-Haen Nr. 24526
- b) purum., über Calciumhydrid getrocknet, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (4Å) aufbewahrt.

*Triethylamin*; C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N [101.19]; Sdp.: 89 °C; technische Qualität; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.

### 8.1.3 Chromatographie

#### *Dünnschichtchromatographie*

Es wurden Kieselgel-beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr.: 5554; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Laufstrecke betrug 7-8 cm. Alle R<sub>f</sub>-Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm.

---

*Präparative circulaire Dünnschichtchromatographie (Chromatotron)*

Mittels eines Chromatotrons der Firma Harrison Research, Modell 7924 T, wurden Substanzgemische mit Rohausbeuten von maximal 4 g getrennt. Als Trennmittel diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF<sub>254</sub> (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 bei einer Wellenlänge von 254 nm.

*Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)*

Substanzgemische mit mehr als 4 g Rohausbeute wurden über eine Säule mit leichtem Überdruck gereinigt. Als Trennmaterial wurde Merck Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) verwendet.

*Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)*

Die analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an einer Merck-Hitachi-Anlage Modell D-7000 durchgeführt.

Software:	Chromatography Data Station Software
Interface:	D-7000
Pumpe:	L-7100
Automatischer Probenwechsler:	L-7200
Detektion:	Diode Array Detector L-7455
Analytische Säule:	LiChroCart 125-3 mit LiChrospher 100 RP 18 (5 µm) Füllmaterial

## HPLC-Methoden:

**Methode I:** Für die Vermessung der Aliquote der chemischen Hydrolysen wurde ein Acetonitril-Gradient in Wasser von 5-100% in 20 min, dann 15 min isokratisch Acetonitril/Wasser 5:95 v/v, mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm verwendet.

**Methode II:** Die Aliquote der Zellextrakthydrolysen wurden mit einem Acetonitril-Gradienten in Ionenpaarungspuffer (Tetrabutylammoniumphosphat, pH 3.8) von 8-

---

100% in 22 min, 5 min 100% Acetonitril, dann 6 min isokratisch 8% Acetonitril mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm vermessen.

**Methode III:** Für die Vermessung der Aliquote der chemischen Hydrolysen wurde ein Methanol-Gradient in Wasser von 20-100% in 20 min, dann 10 min 100% Acetonitril und anschließend 5 min isokratisch Wasser / Methanol 8 / 2 v/v mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm verwendet.

**Methode IV:** Die Aliquote der Zellextrakthydrolysen wurden mit einem Acetonitril-Gradient in Wasser von 3-40% in 20 min, dann in 5 min von 40-100% anschließend 3 min bei 100% Acetonitril und abschließend 2 min isokratisch bei Wasser / Acetonitril 97 / 3 v/v mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm vermessen.

**Methode V:** Die Aliquote der Zellextrakthydrolysen wurden mit einem Acetonitril-Gradienten in Ionenpaarungspuffer (Heptansulfonat) von 0-60% in 20 min, dann in 5 min von 60-100% Acetonitril und abschließend 10 min 100% Ionenpaarungspuffer (Heptansulfonat) mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion 240-260 nm vermessen.

HPLC-Lösungsmittel:

Für alle HPLC-Anwendungen wurde Acetonitril und Methanol des Reinheitsgrades „HPLC grade“ (Firma J.T. Baker, Acros) sowie Reinstwasser (Milli-Q) verwendet.

Ionenpaarungspuffer:

Tetrabutylammoniumhydroxid-Puffer (TBAH-Puffer):

Stammlösung (9.8 mM TBAH): Es wurden 1000 mL Milli-Q-Wasser und 6.6 ml Tetrabutylammoniumhydroxid vermischt und mit 85 %-iger Phosphorsäure der pH-Wert auf 3.8 eingestellt. Zu 60 mL der Stammlösung wurden wiederum 1000 mL Milli-Q-Wasser gegeben, um den eigentlichen Ionenpaarungspuffer (0.55 mM) zu erhalten.

Natriumheptansulfonat:

Es wurden 111 mg (0.55 mmol) Natriumheptansulfonat in 1000 mL Milli-Q-Wasser gelöst.

### Präparative HPLC:

Die präparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde isokratisch mit einer Merck-Hitachi L-6250 Intelligent Pump mit 5 mL-Schleife durchgeführt. Als Detektor diente ein Merck-Hitachi LaChrom UV-Detektor L-7400 mit einem Merck-Hitachi D-2500A Chromato-Integrator. Die verwendete Säule war eine Merck Hibar Fertigsäule RT 250-25 mit LiChrospher 100 RP-18e (5  $\mu$ m) Füllmaterial. Die Flußrate betrug 10 mL/min., die Detektion erfolgte, soweit nicht anders angegeben, bei 260 nm.

Das zu trennende Gemisch wurde in einer geringen Menge des Eluenten gelöst. Die für einen einzelnen HPLC-Lauf injizierten Mengen wurden so gewählt, daß das Volumen der injizierten Lösung maximal 2 mL und die injizierte Menge des Substanzgemisches maximal 50 mg betrug. Für anspruchsvollere Trennungen (beispielsweise von Diastereomergemischen) wurde die injizierte Menge pro HPLC-Lauf auf maximal 20-30 mg begrenzt.

## 8.1.4 Spektroskopie

### *Kernresonanzspektroskopie (NMR)*

Die NMR-Spektren wurden in der spektroskopischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie sowie des Instituts für Anorganische Chemie auf Bruker-Geräten aufgenommen. Auf dem Modell AMX 400 und AV400 wurden 400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-, 101 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR- und 162 MHz- $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren gemessen. Auf dem Modell DRX 500 wurden 500 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-, 125 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR und 202 MHz- $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren gemessen. Auf dem Modell DRX700 der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bernd Meier wurden die 700 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-, 176 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren aufgenommen. Zusätzlich wurden von einigen Verbindungen  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -Korrelations (COSY), HMBC- und HMQC-Spektren aufgenommen.

Die chemische Verschiebung  $\delta$  [ppm] wurde auf die Lösungsmittelsignale bezogen, wobei DMSO- $d_6$  auf 2.50( $^1\text{H}$ ) bzw. 39.43 ( $^{13}\text{C}$ ) ppm und  $\text{CDCl}_3$  auf 7.26 ( $^1\text{H}$ ) bzw. 77.00 ( $^{13}\text{C}$ ) ppm kalibriert wurde. Die Verschiebungen der  $^{31}\text{P}$ -NMR-Signale wurden gegen einen externen Standard von 85 %-iger Phosphorsäure angegeben.

---

### 8.1.5 Geräte

#### *Gefriertrocknung*

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

#### *Massenspektrometrie (MS)*

Die FAB-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem doppelfokussierenden Spektrometer VG/70-250 F der Firma VG Analytical gemessen. Als Stoßgas wurde Xenon, als Matrix wurde m-Nitrobenzylalkohol verwendet.

Die EI-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem doppelfokussierenden VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer aufgenommen.

Die ESI-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem ThermoQuest Spektrometer der Marke Finnigan, Modell MAT 95 XL gemessen.

#### *Gaschromatographie (GC)*

Gaschromatographische Trennungen wurden mit einem Carlo Erba GC 6000 Vega Series 2 mit FID (Flammenionisationsdetektor), sowie mit Hilfe eines HP 6890 der Firma Agilent mit Split/Splitless-Injektor und FID durchgeführt.

#### *Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)*

Sektorfeldmassenspektrometer VG 70/250 der Firma VG Analytical mit vorgeschaltetem Gaschromatographen HP 5890 der Firma Hewlett-Packard mit Split/Splitless-Injektor.

#### *Schmelzpunktbestimmung*

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunkt-Bestimmer apotec der Firma Otto Stein ermittelt.

#### *Infrarot-Spektrometer*

Die IR-Spektren wurden an einem IR-Spektrometer AVATAR 370 FT-IR bei Raumtemperatur in einem Messbereich von 400 - 4000 cm<sup>-1</sup> aufgenommen. Die

---

Substanzen wurden als KBr - Presslinge und teils mit Hilfe von NaCl-Platten gemessen.

#### *UV-Spektrometer*

Die UV-Spektren wurden an einem UV-Spektralphotometer (CARY 1E) der Firma Varian aufgenommen.

#### *Thermomixer*

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

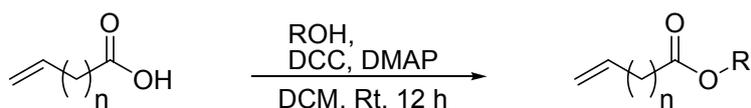
#### *Circularer Dichroismus*

Die Messungen des Circular Dichroismus wurden an einem CD Instrument Model 215 der Firma AVIV durchgeführt.

## 8.2 Synthesen

### 8.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV):

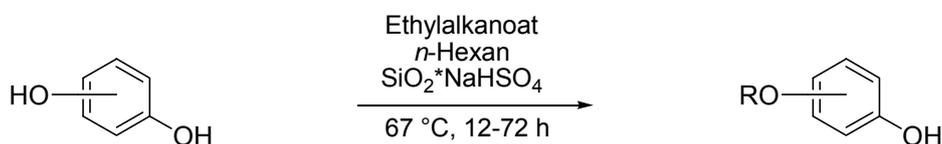
#### 8.2.1.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der DCC-Kupplung (AAV 1):



In einer Stickstoffatmosphäre wurden 1.0 Äquivalente Dicyclohexylcarbodiimid und 0.1 Äquivalente 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin in abs. Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung wurden bei Raumtemperatur unter Rühren 1.0 Äquivalente der jeweiligen Säure und 1.0 Äquivalente des abs. Alkohols getropft. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde die Lösung am Rotationsverdampfer vorsichtig auf die Hälfte des Volumens eingengt und vom Dicyclohexylharnstoff filtriert (gegebenenfalls wird der Vorgang wiederholt). Das Filtrat wurde 5x mit ges. Natriumcarbonatlösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet.

Die Reinigung der Rohprodukte wird bei den jeweiligen Verbindungen beschrieben.

#### 8.2.1.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Veresterung einer primären Hydroxyl-Funktion (AAV 2):



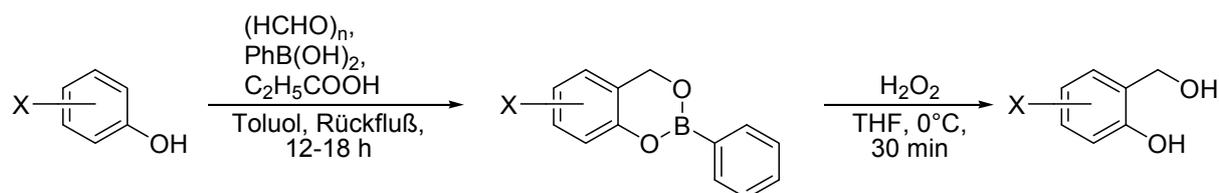
Zu einem Gemisch von 1 mmol des entsprechenden Diols in 15 mL einer 30%-igen Lösung des Ethylalkanoats in *n*-Hexan wurden 100 mg des NaHSO<sub>4</sub>·SiO<sub>2</sub>-Katalysators gegeben. Danach wurde unter Rühren die Temperatur auf 67 °C erhöht und in regelmäßigen Abständen der Reaktionsverlauf verfolgt. Sobald das Edukt vollständig umgesetzt war, wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und

anschließend filtriert. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und das erhaltene ölige Rohprodukt chromatographisch gereinigt (Dichlormethan mit einem Methanol-Gradienten von 0 - 20 %).

Darstellung des  $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$ -Katalysators:

In einem Becherglas wurden 4.14 g (0.03 mol)  $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  in 20 mL Wasser gelöst und mit 10 g  $\text{SiO}_2$  (säulenchromatographische Qualität, 60 Å, 200-400 mesh) vermischt. Das Gemisch wurde zu Beginn 15 Minuten gerührt und anschließend unter leichtem Erwärmen so lange fortgesetzt, bis ein trockenes Pulver entstanden war. Der Katalysator wurde zum weiteren Trocknen 48 Stunden bei 120 °C im Trockenschrank gelagert und war danach fertig zum Gebrauch.

### 8.2.1.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Hydroxymethylierung (AAV 3):



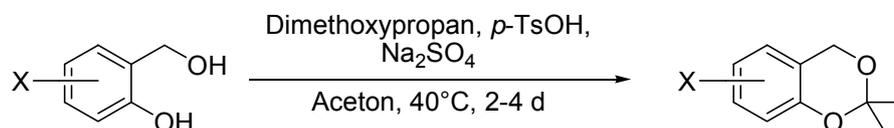
Es wurden 1.0 Äquivalente des entsprechenden Phenol-Derivats, 1.2 Äquivalente Phenylboronsäure, 2.0 Äquivalente *para*-Formaldehyd und 0.5 Äquivalente Propionsäure in Toluol unter Rückfluss erhitzt. Das bei der Reaktion entstandene Wasser wurde mit Hilfe einer Dean-Stark-Apparatur azeotrop entfernt. Nach zwei Stunden versetzte man den Ansatz erneut mit 2.0 Äquivalenten *para*-Formaldehyd und refluxierte. Diesen Vorgang wiederholte man in Regel 3-4 Mal, so dass insgesamt 8-12 Äquivalente *para*-Formaldehyd eingesetzt wurden. Nach beendeter *para*-Formaldehyd-Zugabe entfernte man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und nahm den Rückstand in Dichlormethan und Wasser auf. Die Phasen wurden getrennt, die wässrigen zweimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Die Reinheit der Verbindungen war häufig ausreichend, so dass nur die Levulinylsäureester **X-X** chromatographisch vor der Oxidation gereinigt wurden.

Zur Oxidation wurden 1.0 Äquivalente Dioxaborin in THF (2 mL pro mmol Dioxaborin) auf 0 °C gekühlt und mit einer 30%-igen Wasserstoffperoxid-Lösung (1 mL pro mmol Dioxaborin) versetzt. Man ließ die Lösung ca. 30 min bei 0 °C rühren und verdünnte anschließend mit Wasser (ca. 9 mL pro mmol Dioxaborin). Die wässrige Phase wurde fünfmal Diethylether und anschließend mit einer Natriumhydrogensulfit peroxidfrei gewaschen. Nach Waschen mit einer ges. Natriumchlorid-Lösung und Trocknung über Natriumsulfat, entfernte man die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Die erhaltenen Rohprodukte wurden durch Chromatographie und Umkristallisieren gereinigt.

*Variante I:*

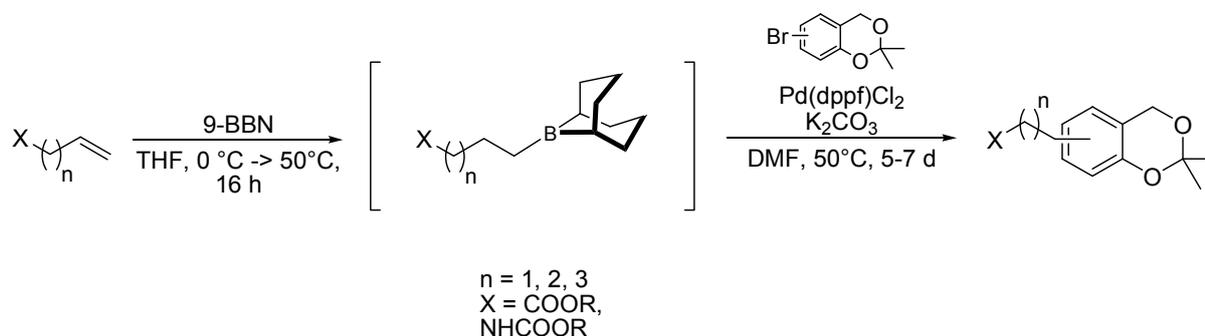
Für reaktionsträge Aromaten, wie z.B. *ortho*-Bromphenol **X**, wurde die Reaktionszeit zwischen den *para*-Formaldehyd Zugaben auf drei Stunden verlängert. Es wurden insgesamt 12 Äquivalente *para*-Formaldehyd eingesetzt.

8.2.1.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese *Isopropylideacetale* (AAV 4):



Es wurden 1.0 Äquivalente des jeweiligen Salicylalkohols in Aceton (etwa 4 mL pro mmol Salicylalkohol) gelöst und mit 5 Äquivalenten 2,2-Dimethoxypropan, 0.1 Äquivalente *para*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat sowie wasserfreiem Natriumsulfat (0.4 g pro mmol Salicylalkohol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4 d bei 40°C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abkondensiert und der Rückstand in Ethylacetat und Wasser aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wusch man zweimal mit 1 M Natronlauge und anschließend einmal mit Wasser. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die so erhaltenen Verbindungen waren in der Regel rein genug. In seltenen Fällen wurde eine Kieselgelfiltration mit Dichlormethan als Eluenten durchgeführt, um die gewünschte Reinheit zu erreichen.

### 8.2.1.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Durchführung der Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplungsreaktion (AAV 5):



Die gesamte Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit zu vermeiden.

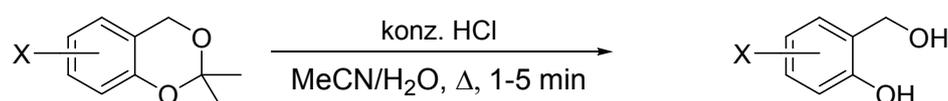
Zu 1.0 Äquivalenten des  $\omega$ -ungesättigten Ester wurden bei 0 °C unter Rühren 1.1 Äquivalente einer 9-BBN-Lösung (0.5 M, in THF) gegeben. Man entfernte die Kühlung und ließ die Lösung 20 min bei Raumtemperatur und anschließend über Nacht bei 50 °C rühren. Nun wurde das Reaktionsgemisch mit 0.8 Äquivalenten des geschützten Bromsalicylalkohols, 1.8 Äquivalenten Kaliumcarbonat, 0.03 Äquivalenten Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> und abs. DMF versetzt und erneut bei 50 °C gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, nach vollständigem Umsatz wurde der Ansatz in einen 1 M Acetat-Puffer (pH = 5) gegossen und 10 min gerührt. Die wässrige Phase wurde viermal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der erhaltene braune Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt. Die Reinigung wird bei den jeweiligen Verbindungen beschrieben. In einigen Fällen war es nicht möglich, die erhaltenen Verbindungen vollständig zu reinigen, in solchen Fällen wurde mit der Spaltung des Acetals fortgefahren.

#### Variante I:

Zu einer Lösung von 1.0 Äquivalenten des jeweiligen Vinylcarbamats in abs. THF wurden bei 0 °C unter Rühren 1.0 Äquivalente einer 9-BBN-Lösung (0.5 M, in THF) gegeben. Man entfernte die Kühlung und ließ die Lösung 4 h bei Raumtemperatur rühren. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit 3.0 Äquivalente einer

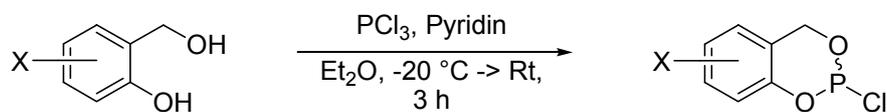
wässrigen 3 M Natriumhydroxid-Lösung versetzt und für weitere 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend überführte man das Gemisch in eine Suspension von 0.5 Äquivalenten des jeweiligen geschützten Salicylalkoholderivat und 0.15 Äquivalenten des Katalysators Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> in THF und ließ das Reaktionsgemisch bei 50 °C rühren. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständigem Umsatz wurde der Ansatz mit Petrolether verdünnt, auf 0 °C heruntergekühlt und vorsichtig mit einer Lösung, bestehend aus einem 0.5 M Kaliumdihydrogenphosphat-Puffer (pH = 7) und Perhydrol in einem Verhältnis von 2:1 (v/v), versetzt. Nach 10 min Rühren bei 0 °C bildete sich ein Palladiumniederschlag. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der erhaltene braune Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt. Die Reinigung wird bei den jeweiligen Verbindungen beschrieben. In einigen Fällen war es nicht möglich, die erhaltenen Verbindungen vollständig aufzureinigen. In solchen Fällen wurde mit der Spaltung des Acetals fortgefahren.

#### 8.2.1.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Spaltung der *Isopropylidenacetale* (AAV 6):



Es wurde das jeweilige Acetal in einer Mischung aus Acetonitril und Wasser (7/3 v/v) gelöst, mit 2-5 Tropfen konz. Salzsäure versetzt und mit einem Fön vorsichtig zum Sieden erhitzt. Nach 1-5 min ließ man die Lösung abkühlen und verdünnte mit Wasser und Dichlormethan. Die organische Phase wurde nacheinander mit ges. Ammoniumchlorid und Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen extrahierte man einmal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel anschließend unter vermindertem Druck abdestilliert. Die Reinigung wird bei den jeweiligen Verbindungen beschrieben.

### 8.2.1.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der Salicylchlorphosphite (AAV 7):



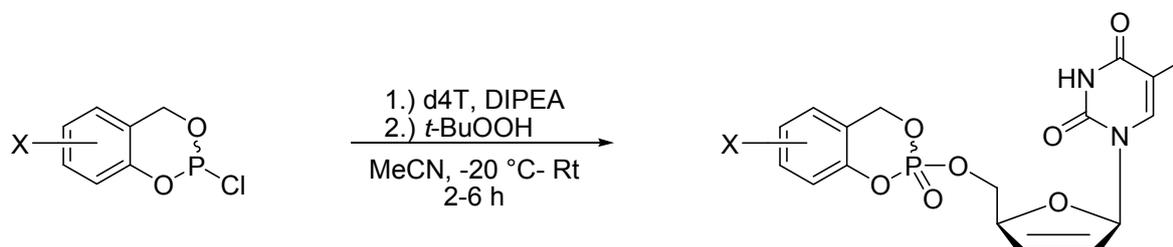
Die gesamte Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit zu vermeiden.

Es wurde 1.0 Äquivalente des jeweiligen Salicylalkoholderivats in abs. Diethylether gelöst, auf  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt und mit 1.2 Äquivalenten frisch destilliertem Phosphor(III)-chlorid versetzt. Nach 10 min. Rühren bei  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  wurden 2.3 Äquivalente abs. Pyridin, gelöst in dem fünffachen Volumen abs. Diethylether, über einen Zeitraum von 2-3 h bei  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  langsam zugetropft. Nach beendeter Zugabe entfernte man die Kühlung und ließ das Reaktionsgemisch noch für 1-2 h bei Raumtemperatur rühren. Zur Vervollständigung der Pyridiumchlorid-Ausfällung, lagerte man das Reaktionsgemisch über Nacht bei  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . Am nächsten Tag filtrierte man den Niederschlag unter Inertgas ab und entfernte das Lösungsmittel unter vermindertem Druck. Die so erhaltenen Öle oder Feststoffe wurden in der Regel umgehend als Rohprodukte zur Synthese der *cycloSal-d4T*-Monophosphate eingesetzt.

#### *Variante I:*

Bei schlecht löslichen Salicylalkoholderivaten wurde abs. Tetrahydrofuran anstelle des abs. Diethylether als Lösungsmittel verwendet. Das Nachspülen des Pyridiumchlorids erfolgte wie gewohnt mit abs. Diethylether.

### 8.2.1.8 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der *cycloSal* d4T-Monophosphate (AAV 8):



Die gesamte Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit zu vermeiden.

Es wurden 1.0 Äquivalente 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro-thymidin (d4T) **2** in abs. Acetonitril (2.2 mL pro 0.1 mmol d4T) gelöst und auf -20°C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden bei -20 °C und unter Rühren 2.0 Äquivalente Diisopropylethylamin sowie vorsichtig das jeweilige Saligenylchlorphosphit (verunreinigtes Rohprodukt, entsprechend 2.0 Äquivalente bei hypothetischer Reinheit), gelöst in einer definierten Menge abs. Acetonitril, gegeben. Man ließ die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmen und noch 1 h bei Raumtemperatur rühren. Die Reaktion wird dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v, Detektion per UV und Zuckerkärbereagenz). Im Falle unvollständiger Umsetzung wurde erneut auf -20°C abgekühlt, weiteres Saligenylchlorphosphit zugegeben, auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden bei -20°C und unter Rühren 3.4 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid in Form einer Lösung in *n*-Decan (5-6 M) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde erneut auf Raumtemperatur erwärmt und nochmals 1 h gerührt (DC-Kontrolle). Es wurden nun die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abkondensiert. Aus dem so erhaltenen Rohprodukt wurden in einer ersten Trennung am Chromatotron Salze entfernt (Ethylacetat/Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure] 9 : 1 v/v). Durch weitere Reinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten, Methanol angesäuert mit 0.1 % Essigsäure) konnte das Produkt zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Anschließende Gefriertrocknung ergab dann farblose Watten.

*Variante I:*

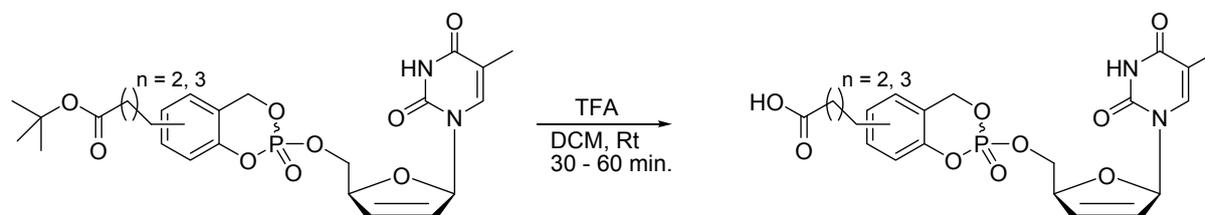
Die Synthese erfolgte analog, allerdings mit weniger Saligenylchlorphosphit (1.5 Äquivalente bei hypothetischer Reinheit).

*Variante II:*

Die Synthese erfolgte analog, aber mit weniger Saligenylchlorphosphit (1.2 Äquivalente bei hypothetischer Reinheit), 1.5 Äquivalente DIPEA und 3.0 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid.

*Variante III:*

Die Synthese erfolgte analog, aber mit weniger Saligenylchlorphosphit (1.2 Äquivalente bei hypothetischer Reinheit), 1.5 Äquivalente DIPEA und 1.8 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid.

8.2.1.9 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Spaltung der *tert*-Butylester (AAV 9):

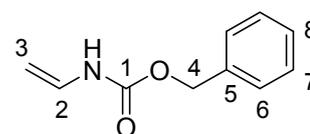
Es wurde 1.0 Äquivalente des entsprechenden *t*-Butylester in Dichlormethan gelöst (10  $\mu$ mol Substanz in 5 ml Lösungsmittel) und anschließend langsam bei Raumtemperatur mit 1000 Äquivalenten Trifluoressigsäure versetzt. Man ließ das Reaktionsgemisch für 30-60 min bei dieser Temperatur rühren, wobei der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt wurde (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v, Detektion per UV und Zuckerfärbereagenz). Nach vollständigem Umsatz wurden das Lösungsmittel und die überschüssige Trifluoressigsäure unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Der ölige, braune Rückstand wurde mit Hilfe des Chromatotröns gereinigt (Dichlormethan mit einem Methanol-Gradienten (angesäuert mit 0.1% Essigsäure)). Danach wurden die Produkte als

farblose Feststoffe isoliert, die durch die abschließende Gefriertrocknung in farblose feste Schäume überführt werden konnten.

## 8.2.2 Allgemeine Synthesen:

### 8.2.2.1 Synthese von Benzyl-vinylcarbammat **58a**

Es wurden 9.58 g (0.147 mol) Natriumazid in 50 mL Wasser gelöst und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurden langsam 10.0 mL (0.124 mol) Acryloylchlorid **59**, gelöst in 30 mL Toluol, zu der Lösung gegeben und für 5 h bei 0 °C



**58a**

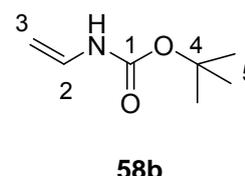
sehr stark gerührt. Man trennte die Phasen und wusch die organische Phase nacheinander mit dreimal je 10 mL 10-iger Natriumcarbonatlösung. Um auf nicht hydrolysiertes Acryloylchlorid zu testen, tropfte man verd. Silbernitrat-Lösung in die organische Phase. Anschließend wurde zweimal mit je 10 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die so erhaltene Lösung des Säureazids wurde umgehend ohne weitere Aufarbeitung zum Carbamat **58a** umgesetzt. Dazu wurden 15.3 mL (0.148 mol) Benzylalkohol, 609 mg (5.53 mmol) *p*-Hydrochinon und 600 µL (7.42 mmol) Pyridin auf 100 °C erhitzt und langsam mit der Säureazid-Lösung versetzt, wobei eine Stickstoff-Entwicklung sichtbar war. Nach 30 min Rühren bei 110 °C wurde das Ölbad entfernt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Morgen wurde die nun orangene Lösung am Rotationsverdampfer eingeeengt und ein Versuch unternommen aus Petrolether umzukristallisieren, was allerdings misslang. Eine säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel mit Dichlormethan mit einem Methanolgradienten von 0-10% lieferte das Benzyl-vinylcarbammat **58a** in Form eines farblosen Feststoffs, der noch Verunreinigungen enthielt.

**Ausbeute:** Es wurden 12.5 g eines farblosen Feststoff als Rohprodukt erhalten.

**IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3310, 3065, 3032, 1706, 1650, 1517, 1454, 1401, 1369, 1334, 1256, 1091, 1026, 976, 852, 770, 737, 697; **MS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 200 (M+Na<sup>+</sup>), gefunden: 200.

### 8.2.2.2 Versuch der Synthese von *t*-Butyl-vinylcarbammat **58b**

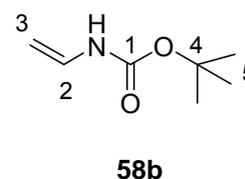
Es wurden 9.58 g (0.147 mol) Natriumazid in 50 mL Wasser gelöst und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurden langsam 10.0 mL (0.124 mol) Acryloylchlorid **59**, gelöst in 30 mL Toluol, zu der Lösung gegeben und für 5 h bei 0 °C sehr stark



gerührt. Man trennte die Phasen und wusch die organische Phase nacheinander dreimal je 10 mL 10-iger Natriumcarbonatlösung. Um auf nicht hydrolysiertes Acryloylchlorid **59** zu testen, tropfte man verd. Silbernitrat-Lösung in die organische Phase. Anschließend wurde zweimal mit je 10 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Die so erhaltene Lösung des Säureazids wurde umgehend ohne weitere Aufarbeitung zum Carbamat **58b** umgesetzt. Dazu wurden 14.08 mL (0.148 mol) *t*-Butanol, 609 mg (5.53 mmol) *p*-Hydrochinon und 600  $\mu\text{L}$  (7.42 mmol) Pyridin auf 100 °C erhitzt und langsam mit der Säureazid-Lösung versetzt, wobei eine Stickstoff-Entwicklung sichtbar war. Man ließ das Reaktionsgemisch bei 90 °C über Nacht rühren. Am nächsten Morgen wurde die nun orangefarbene Lösung am Rotationsverdampfer eingeengt und versucht über mehrere säulenchromatographische Reinigungen das gewünschte Urethan **58b** zu isolieren, was allerdings misslang.

### 8.2.2.3 Synthese von *t*-Butyl-vinylcarbammat **58b**

Es wurden 11.28 g (0.1736 mol) Natriumazid in 50 mL Wasser gelöst und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurden langsam 10.0 mL (0.124 mol) Acryloylchlorid **59**, gelöst in 30 mL Toluol, zu der Lösung gegeben und für 5 h bei 0 °C sehr stark



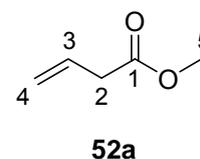
gerührt. Man trennte die Phasen und wusch die organische Phase nacheinander dreimal mit je 40 mL 10-iger Natriumcarbonatlösung. Anschließend wurde solange je 40 mL Wasser gewaschen bis das Waschwasser nicht mehr basisch reagierte und

abschließend über Natriumsulfat getrocknet. Die so erhaltene Lösung des Säureazids wurde umgehend ohne weitere Aufarbeitung zum Carbamat **58b** umgesetzt. Dazu wurden 30 mL Toluol und 609 mg (5.53 mmol) *p*-Hydrochinon in einen Dreihalskolben refluxiert, wobei ein stetiger Stickstoffstrom durch die Lösung geleitet wurde. Das durch langsames Zutropfen der Säureazidlösung entstandenen Isocyanat wurde über den Rückflusskühler in einen weiteren Dreihalskolben geleitet. In diesem befanden sich 20 mL (0.34 mol) frisch destilliertes *t*-Butanol und 0.3 mL Pyridin bei 35 °C. Hier fand die Umsetzung zum gewünschten Carbamat **58b** statt, was durch eine Trübung in der Lösung erkennbar wurde. Nicht umgesetztes Isocyanat wurde wiederum in einen weiteren Kolben mit 10 mL (0.17 mol) frisch destilliertem *t*-Butanol und 0.2 mL Pyridin geführt zusätzlich mit einem Rückflusskühler versehen war. Auch hier hielt man das Gemisch bei 35 °C. Nach insgesamt 24 Stunden Reaktionszeit wurden der Inhalt der einzelnen Kolben miteinander vereint und anschließend die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Mehrere säulenchromatographische Aufreinigungen lieferten ein Rohprodukt, welches als schwach gelber Feststoff vorlag.

**Ausbeute:** Es wurden 1.9 g eines schwach gelben Feststoffs mit einer Reinheit von ca. 70% erhalten, der als Rohprodukt in die nachfolgende Reaktion eingesetzt wurde.

#### 8.2.2.4 Synthese von 3-Butensäuremethylester **52a**

Es wurden 3.50 g (41 mmol) 3-Butensäure **51**, 1.31 g (41 mol), Methanol 8.46 g (41 mol) Dicyclohexylcarbodiimid und 2.50 g (20.5 mmol) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt.



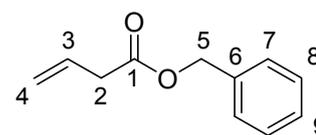
**Ausbeute:** Es wurden 3.42 g (35.0 mmol, 84%) als farblose Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 5.92-5.82 (m, 1H, H<sub>3</sub>), 5.19-5.12 (m, 2H, 2x H<sub>4</sub>) 3.61 (s, 3H, H<sub>5</sub>), 3.13 (dt, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, H<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 38.51 (C<sub>2</sub>), 51.79 (C<sub>5</sub>), 118.62 (C<sub>4</sub>), 131.22 (C<sub>3</sub>), 171.64 (C<sub>1</sub>); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan/Methanol 30:1 v/v) 0.47; **Sdp.:** 112 °C;

**IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3048, 2989, 2954, 2908, 2845, 1743, 1643, 1437, 1293, 1258, 1173, 1107, 1013, 994, 924, 886.

### 8.2.2.5 Synthese von 3-Butensäurebenzylester **52b**

Es wurden 4.00 g (47 mmol) 3-Butensäure **51**, 5.02 g (47 mmol) Benzylalkohol, 9.58 g (47 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 2.84 g (23.5 mmol)



**52b**

4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt. Die

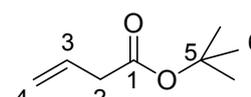
Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether / Aceton (8:2 v/v) als Eluenten.

**Ausbeute:** Es wurden 6.63 g (38.0 mmol, 81%) als farblose Flüssigkeit erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.29-7.22 (m, 5H, H7, H8, H9), 5.92-5.82 (m, 1H, H3), 5.12-5.06 (m, 2H, 2x H4), 5.04 (s, 2H, H5), 3.05 (dt, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H2);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 171.31 (C1), 135.82 (C6), 130.09 (C3), 128.53 (2x C9), 128.22 (C8), 128.17 (2x C7), 118.65 (C4), 66.43 (C5), 39.08 (C2); **DC:**  $R_f$ -Wert (Petrolether / Aceton 8:2 v/v) 0.69; **Sdp.:** 108 °C (30 mbar); **IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3034, 2954, 1736, 1643, 1498, 1455, 1376, 1325, 1293, 1259, 1167, 1103, 993, 922, 740, 697; **MS** (EI, 70 eV): 176 (M, 1%), 91 (100); **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 251, 257.

### 8.2.2.6 Versuch der Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c**

Es wurden 8.6 g (0.10 mol) 3-Butensäure **51** in 200 mL Essigsäure-*t*-Butylester mit 5 Tropfen konz. Perchlorsäure bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach 10 Tagen Reaktionszeit

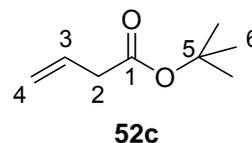


**52c**

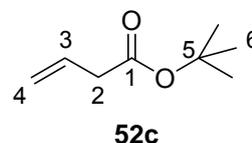
wurde die Reaktionslösung mit ges. Natriumcarbonatlösung neutralisiert und anschließend mit 50 mL Diethylether versetzt. Die organische Phase wurde nacheinander mit ges. Natriumcarbonatlösung und Wasser gewaschen und abschließend über Natriumsulfat getrocknet. Durch Destillation sollte der gewünschte 3-Butensäure-*t*-butylester **52c** erhalten werden, was allerdings misslang.

8.2.2.7 Versuch der Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c**

Es wurden 100 mg (1.16 mmol) 3-Butensäure **51** langsam mit 0.23 mL (13 mmol) Diisopropylethylamin, gelöst in 10 ml Tetrahydrofuran, versetzt. Anschließend tropfte man bei Raumtemperatur innerhalb von 15 min 0.68 mL (6.0 mmol) *t*-Butylbromid in die Reaktionslösung und refluxierte den Ansatz. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 7 Tagen destillierte man das Lösungsmittel und überschüssiges *t*-Butylbromid ab und nahm den Rückstand in 20 mL Diethylether auf. Nach zweimaligem Waschen mit Wasser und anschließendem Trocknen über Natriumsulfat, wurde das Lösungsmittel erneut abdestilliert. Der gewünschte 3-Butensäure-*t*-butylester **52c** konnte nicht erhalten werden.

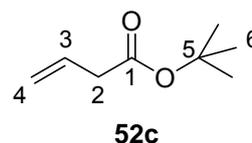
8.2.2.8 Versuch der Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c**

Es wurden 4.00 g (47 mmol) 3-Butensäure **51**, 3.48 g (47 mmol) *t*-Butanol, 9.58 g (47 mol) Dicyclohexylcarbodiimid und 2.84 g (23.5 mmol) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt. Es konnte kein 3-Butensäure-*t*-butylester **52c** isoliert werden.

8.2.2.9 Synthese von 3-Butensäure-*t*-butylester **52c**

Die gesamte Reaktion wurde unter Inertgasatmosphäre und Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt.

Es wurden 8.03 g (33.0 mmol) Magnesium in 20 mL abs. Diethylether vorgelegt und mit 4.00 g (33 mmol) Allylbromid **56**, gelöst in 50 mL abs. Diethylether, so versetzt dass der Diethylether gelinde siedete. Anschließend refluxierte man den Ansatz für eine Stunde, kühlte mit Hilfe eines Eisbades und überführte die Lösung in einen Tropftrichter. Diese ließ man langsam bei 0 °C über einen Zeitraum von 45 Min zu einer Suspension von 14.70 g (66.00 mmol) Di-*t*-butyldicarbonat in 20 mL abs. Diethylether tropfen. Die Kühlung wurde entfernt und das Reaktionsgemisch für eine



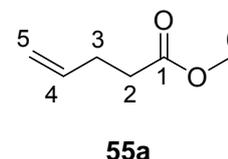
Stunde refluxiert. Nach erneutem Abkühlen wurde der Ansatz mit 100 mL ges. Ammoniumchlorid-Lsg. versetzt und anschließend zweimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser und ges. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend unter vermindertem Druck von dem Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte mittels Destillation.

**Ausbeute:** Es wurden 2.82 g (20.1 mmol, 38%) als farblose Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 5.83 (tdd, 1H,  $^3J_{HH} = 17.1$  Hz,  $^3J_{HH} = 10.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz, H3), 5.17-5.12 (m, 2H, 2x H4), 3.00 (dt, 2H,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.5$  Hz, H2), 1.40 (s, 9H, H6); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 169.98 (C1), 131.23 (C3), 117.75 (C4), 79.88 (C5), 39.55 (C2), 27.58 (C6); **Sdp.:** 42 °C (25 mbar) **IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3005, 2980, 2933, 1735, 1643, 1478, 1458, 1426, 1392, 1368, 1334, 1292, 1258, 1206, 1155, 993.

#### 8.2.2.10 Synthese von 4-Pentensäuremethylester **55a**

Es wurden 10.0 g (0.10 mol) 4-Pentensäure **54**, 3.2 g (0.10 mol) Methanol, 20.6 g (0.10 mol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.22 g (10.0 mmol) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt.

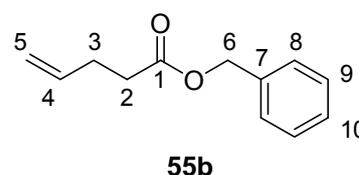


**Ausbeute:** Es wurden 7.1 g (62 mmol, 62 %) als farblose Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 5.80 (ddt, 1H,  $^3J_{HH} = 17.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 10.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.4$  Hz, H4) 5.04 (ddd, 1H,  $^3J_{HH} = 17.0$  Hz,  $^4J_{HH} = 3.5$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.5$  Hz, H5<sub>trans</sub>), 4.99-4.95 (m, 1H, H5<sub>cis</sub>), 3.58 (s, 3H, H6), 2.40 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 7.5$  Hz, H3) 2.26 (td, 1H,  $^3J_{HH} = 3.5$  Hz,  $^3J_{HH} = 7.5$  Hz, H2); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.17 (C1), 136.98 (C4), 115.52 (C5), 51.28 (C6), 32.57 (C2), 28.36 (C3); **Sdp.:** 42 °C (22 Torr).

8.2.2.11 Synthese von 4-Pentensäurebenzylester **55b**

Es wurden 10.0 g (0.10 mol) 4-Pentensäure **54**, 10.8 g (0.10 mol) Benzylalkohol, 20.6 g (0.10 mol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.22 g (10.0 mmol) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt.

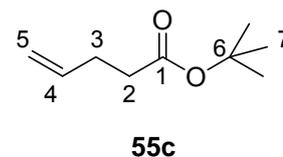


**Ausbeute:** Es wurden 15.8 g (83.0 mmol, 83%) als farblose Flüssigkeit erhalten.

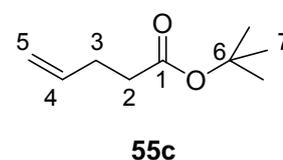
**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 7.38-7.28 (m, 5H, Aryl-H), 5.81 (ddt, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H4), 5.10 (s, 2H, H6), 5.02 (dd, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, H5), 2.45 (dt, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H2), 2.30 (dt, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H3) **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.10 (C1), 136.87 (C4), 136.29 (C7), 128.37 (C-Aryl), 127.91 (C-Aryl), 115.46 (C5), 65.40 (C6), 32.71 (C2), 28.38 (C3); **Sdp.:** 125 °C (33 mbar); **IR** (Film):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 1734, 1653, 1635, 1560, 1437, 1097.

8.2.2.12 Versuch Synthese von 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c**

Es wurden 5.00 g (50 mmol) 4-Pentensäure **54**, 3.71 g (50 mmol) *t*-Butylalkohol, 6.31 g (50 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0.61 g (5.0 mmol) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin nach AAV 1 umgesetzt. Es konnte kein 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c** isoliert werden.

8.2.2.13 Synthese von 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c**

Es wurden 6.00 g (60 mmol) 4-Pentensäure **54** in 120 mL Essigsäure-*t*-Butylester mit 5 Tropfen konz Perchlorsäure bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach 12 Tagen Reaktionszeit wurde die Reaktionslösung mit ges. Natriumcarbonatlösung



neutralisiert und anschließend mit 50 mL Diethylether versetzt. Die organische Phase wurde nacheinander mit ges. Natriumcarbonatlösung und Wasser gewaschen und abschließend über Natriumsulfat getrocknet. Durch Destillation konnte der gewünschte 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c** erhalten werden.

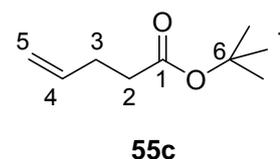
**Ausbeute:** Es wurden 1.85 g (12.0 mmol, 20%) einer schwach gelben Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 5.84-5.74 (m, 1H, H<sub>4</sub>), 5.05-4.95 (m, 2H, H<sub>5</sub>) 3.61 (s, 3H, H<sub>5</sub>), 2.29-2.21 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>); 1.39 (s, 9H, H<sub>7</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 171.40 (C<sub>1</sub>), 136.93 (C<sub>4</sub>), 115.15 (C<sub>5</sub>), 79.40 (C<sub>6</sub>); 33.85 (C<sub>2</sub>), 28.54 (C<sub>3</sub>), 27.62 (C<sub>7</sub>); **Sdp.:** 51-53 °C (26 mbar); **IR:**  $\nu$  (Film) [cm<sup>-1</sup>] 3080, 2979, 2932, 1733, 1653, 1641, 1479, 1457, 1419, 1392, 1367, 1257, 1153, 996, 915, 848, 754; **MS** (EI, 70 eV): 156 (M, 1%), 57 (100).

#### 8.2.2.14 Synthese von 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c**

Die gesamte Reaktion wurde unter Inertgasatmosphäre und Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt.

Zu 10.0 mL (105 mmol) *t*-Butanol wurden innerhalb von 20 min 37.5 mL (60.0 mmol) einer *n*-BuLi-Lösung (15% in Hexan) bei 0 °C zugetropft. Die gelbe Suspension wurde für weitere 40 min bei 0 °C gerührt und anschließend mit ließ man die



Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmen. Nun versetzte man das Reaktionsgemisch langsam mit 6.62 mL (60.0 mmol) 4-Pentensäurechlorid **57**, gelöst in 20 mL abs. Diethylether, wobei darauf geachtet wurde, dass die Temperatur 25 °C nicht überstieg. Nach 4 h rühren bei Raumtemperatur wurden 20 mL Wasser in die Lösung geben und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde nacheinander mit ges. Natriumhydrogencarbonat-, ges. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck erhielt man eine schwach gelbe Flüssigkeit.

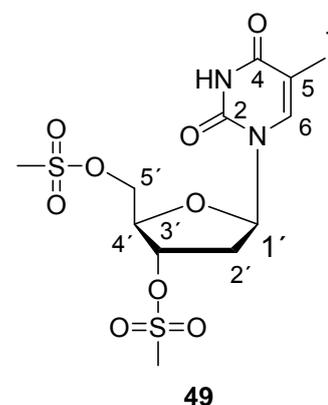
**Ausbeute:** Es wurden 8.23 g (54.0 mmol, 88 %) einer schwach gelben Flüssigkeit erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 5.84-5.74 (m, 1H, H4), 5.05-4.95 (m, 2H, H5) 3.61 (s, 3H, H5), 2.29-2.21 (m, 4H, H2, H3); 1.39 (s, 9H, H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 171.40 (C1), 136.93 (C4), 115.15 (C5), 79.40 (C6); 33.85 (C2), 28.54 (C3), 27.62 (C7); **Sdp.:** 51-53 °C (20 Torr); **IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3080, 2979, 2932, 1733, 1653, 1641, 1479, 1457, 1419, 1392, 1367, 1257, 1153, 996, 915, 848, 754; **MS** (EI, 70 eV): 156 (M, 1%), 57 (100).

### 8.2.2.15 Synthese von 3',5'-Di-O-Mesylthymidin **49**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen.

Eine Lösung von 10.1 g (41.7 mmol) 2'-Desoxythymidin **7** in 100 mL abs. Pyridin wurde bei 0 °C langsam mit 7.1 mL (96 mmol) Mesylchlorid versetzt und für eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Das gelbe Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 4 °C aufbewahrt, um die Ausfällung des Pyridiumchlorids zu vervollständigen. Nach Einengen auf ca. die Hälfte des Volumens, wurde der orangene Lösung erneut auf 0 °C gekühlt und anschließend auf 200 mL



Eiswasser gegossen. Es fiel ein farbloser Feststoff aus, der nach einer Stunde abfiltriert und mehrmals mit Eiswasser gewaschen wurde. Trocknung im Ölpumpenvakuum und anschließendes Umkristallisieren aus Aceton lieferte einen farblosen Feststoff.

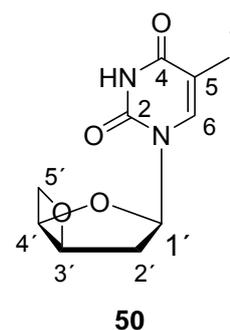
**Ausbeute:** Es wurden 12.2 g (30.7 mmol, 74%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.41 (s, 1H, Thymin-NH), 7.53 (d, 1H,  $^4J = 1.4$  Hz, Thymin-H6), 6.24 (dd, 1H,  $^3J = 7.3$  Hz,  $^3J = 7.3$  Hz, H1'), 5.34-5.31 (m, 1H, H3'), 4.51-4.44 (m, 2H, H5'), 4.41-4.38 (m, 1H, H4'), 3.34 (s, 3H, Mesyl- $\text{CH}_3$ ), 3.27 (s, 3H, Mesyl- $\text{CH}_3$ ), 2.56-2.51 (m, 2H, H2'), 1.81 (d, 3H,  $^4J = 1.4$  Hz, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 163.82 (Thymin-C4), 150.59 (Thymin-C2), 136.03 (Thymin-C6), 110.30 (Thymin-C5), 84.30 (C1'), 80.77 (C4'), 79.60 (C3'), 68.68 (C5'), 37.93 (Mesyl- $\text{CH}_3$ ), 37.06 (Mesyl- $\text{CH}_3$ ), 36.22 (C2'), 12.21 (Thymin-C7);

**DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.45; **MS** (FAB): berechnet: 399.1 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 399.2 (M+H<sup>+</sup>); **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3169, 3113, 3029, 2937, 1723, 1690, 1474, 1359, 1280, 1160, 1094, 1041, 989, 959, 840, 825, 525; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\max}$  [nm] 262.

#### 8.2.2.16 Synthese von 3',5'-Anhydrothymidin **50**

Zu einer Lösung von 3.88 g (97.1 mmol) Natriumhydroxid in 80 mL Wasser wurden portionsweise 12.0 g (30.1 mmol) 3',5'-Di-O-mesythymidin **49** gegeben. Die orange-rote Lösung wurde eine Stunde unter Rückfluss gehalten, wobei das Reaktionsgemisch eine dunkelrote Färbung annahm. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur neutralisierte man die Lösung mit 2 N Salzsäure und extrahierte fünfmal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der erhaltene gelbe Feststoff wurde aus Ethanol umkristallisiert.



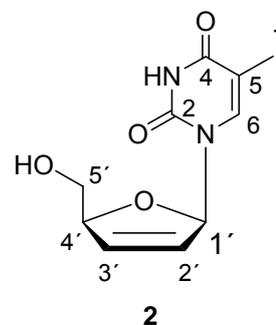
**Ausbeute:** Es wurden 4.23 g (18.9 mmol, 63%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.35 (s, 1H, Thymin-NH), 8.04 (d, 1H, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, Thymin-H6), 6.52 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, H1'), 5.51-5.48 (m, 1H, H3'), 4.91 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.1 Hz, H4'), 4.71 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>3</sup>J = 2.1 Hz, H5'a), 4.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, H5'b), 2.52-2.48 (m, 2H, H2'), 1.81 (d, 3H, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 163.92 (Thymin-C4), 151.37 (Thymin-C2), 136.86 (Thymin-C6), 109.86 (Thymin-C5), 88.54 (C1'), 80.09 (C4'), 79.60 (C3'), 75.40 (C5'), 32.40 (C2'), 12.60 (Thymin-C7); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.45; **MS** (FAB): berechnet: 225.1 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 225.2 (M+H<sup>+</sup>); **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3169, 3044, 2876, 2818, 1682, 1466, 1420, 1271, 1090, 970, 951, 859, 759, 425; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\max}$  [nm] 264.

8.2.2.17 Synthese von 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen.

Zu einer Lösung von 4.13 g (18.4 mmol), 3',5'-Anhydrothymidin **50** in 40 mL abs. DMSO wurden portionsweise 3.25 g (43.8 mmol) Kalium-*t*-butanolat gegeben. Das gelbe Reaktionsgemisch wurde 20 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein gelber Niederschlag bildete. Nun wurde der Ansatz in 140 mL Toluol gegeben und für 45 min bei 0 °C gerührt. Man bewahrte die Reaktionsmischung über Nacht bei



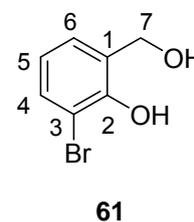
4 °C auf. Anschließend wurde der Niederschlag filtriert, in Wasser gelöst, mit 2 N Salzsäure neutralisiert und gefriergetrocknet. Der erhaltene rote Feststoff wurde in Ethylacetat suspendiert und in einer Kieselgelfiltration mit Ethylacetat als Eluenten von den Salzen befreit. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt am Chromatotron gereinigt (Dichlormethan / Methanol-Gradient 0-5 %).

**Ausbeute:** Es wurden 1.64 g (7.32 mmol, 40%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.28 (s, 1H, Thymin-NH), 7.66 (d, 1H,  $^4J = 1.3$  Hz, Thymin-H6), 6.84 (ddd, 1H,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^4J = 1.8$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, H1'), 6.41 (ddd, 1H,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^4J = 1.8$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, H3'), 5.92 (ddd, 1H,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^3J = 2.3$  Hz, H2'), 5.02 (s, 1H, OH), 4.81-4.77 (m, 1H, H4'), 3.64-3.60 (m, 2H, H5'), 1.74 (d, 3H,  $^4J = 1.3$  Hz, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 164.02 (Thymin-C4), 150.96 (Thymin-C2), 136.92 (Thymin-C6), 135.11 (C3'), 126.13 (C2'), 109.14 (Thymin-C5), 89.05 (C1'), 87.46 (C4'), 62.44 (C5'), 12.33 (Thymin-C7); **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.31; **MS** (FAB): berechnet: 225.1 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 225.2 (M+H<sup>+</sup>); **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3465, 3155, 3032, 2823, 1682, 1467, 1422, 1343, 1269, 1252, 1226, 1115, 1091, 1072, 975, 881, 851, 819, 780, 760, 742, 582, 429; **UV** (MeOH):  $\lambda_{max}$  [nm] 263.

8.2.2.18 Synthese von 3-Bromsalicylalkohol **61**

Es wurden 17.30 g (0.10 mol) *ortho*-Bromphenol **60**, 14.61 g (0.12 mol) Phenylboronsäure, 3.70 g (50.0 mmol) Propionsäure, insgesamt 42 g (1.4 mol) *para*-Formaldehyd (in sieben Portionen), 750 mL Toluol, 180 mL 30%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung und 360 mL Tetrahydrofuran nach AAV 3 Variante I umgesetzt. Die



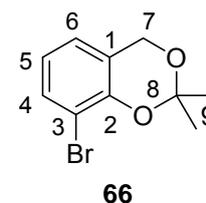
Zwischenstufe, das Dioxaborinin, wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung mit (25 g, (91 mmol, 91%) in der Oxidation umgesetzt. Die Reinigung des Salicylalkohols **61** erfolgte mittels Säulenfiltration (Dichlormethan mit Methanolgradienten 0-3%).

**Ausbeute:** Es wurden 9.92 g (48.8 mmol, 49%) eines rotbraunen Öls erhalten, das bei -20 °C auskristallisierte.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz; DMSO- $d_6$ ): 9.13 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.38 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.8$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.4$  Hz, H4), 7.27 (dd, 1H, H6), 6.79 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.8$  Hz, H5), 5.37 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 4.1$  Hz, Benzyl-OH), 4.57 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 4.1$  Hz, H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 151.07 (C2), 131.57 (C3), 131.19 (C4), 127.05 (C6), 121.21 (C5), 110.93 (C1), 59.65 (C7); **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan): 0.17; **MS** (EI, 70 eV): 202 (M, 33 %), 184 (100), 156 (57), 94 (10), 77 (85), 63 (12), 51 (28); **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3394, 3142, 2866, 1601, 1453, 1329, 1316, 1242, 1230, 1206, 1122, 1027, 840, 751, 717, 647; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm] 229, 278.

8.2.2.19 Synthese von 3-Bromsalicylalkoholisopropylidenacetal **66**

Es wurden 12.7 g (63.0 mmol) 3-Bromsalicylalkohol **61**, 32.57 g (0.313 mmol) 2,2-Dimethoxypropan, 1.19 g (0.63 mmol) *para*-Toluolsulfonsäure, 25.2 g Natriumsulfat in 250 mL Aceton nach AAV 4 umgesetzt. Eine Reinigung war nicht notwendig.

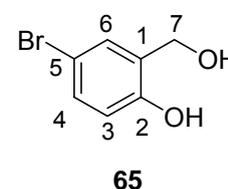


**Ausbeute:** Es wurden 14.9 g (61.3 mmol, 98%) eines rotbraunen Öls erhalten, das bei -20 °C auskristallisierte.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz; DMSO- $d_6$ ): 7.43 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.6$  Hz,  $^4J_{HH} = 0.9$  Hz, H4), 7.08 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.6$  Hz,  $^4J_{HH} = 0.9$  Hz, H6), 6.84 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.6$  Hz, H5), 4.83 (s, 2H, H7), 1.49 (s, 6H, 2 x H9); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 147.79 (C2), 131.58 (C4), 124.91 (C6), 121.97 (C1), 121.69 (C5), 110.22 (C3), 100.98 (C8), 60.28 (C7), 25.16 (2 x C9); **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan): 0.70; **MS** (FAB) berechnet: 244/242, gefunden: 244/242; **UV** (MeOH):  $\lambda_{max}$  [nm] 227, 276, 283.

#### 8.2.2.20 Synthese von 5-Bromsalicylalkohol **64**

Zu einer Suspension von 1.9 g (50.0 mmol) Lithiumalanat in 400 mL abs. Tetrahydrofuran wurden bei Raumtemperatur langsam unter Rühren 10.0 g (50.0 mmol) 5-Brom-Salicylaldehyd **65**, gelöst in 100 mL abs. Tetrahydrofuran, zugetropft. Man rührte



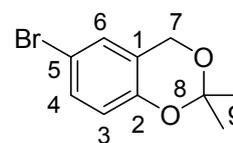
die Reaktionsmischung zwei Stunden bei Raumtemperatur und anschließend eine Stunde unter Rückfluss. Zur Zersetzung von überschüssigem Lithiumalanat wurde das Reaktionsgemisch vorsichtig mit 2 N Salzsäure auf pH = 4 eingestellt. Nach Verdünnen mit Wasser und Ethylacetat, wurde die wässrige Phase mehrmals Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Entfernung der Lösungsmittel unter vermindertem Druck lieferte einen schwach gelben Feststoff.

**Ausbeute:** Es wurden 9.2 g (46 mmol, 92%) eines schwach gelben Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.70 (s, 1H, Phenol-OH), 7.41 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 2.6$  Hz, H6), 7.21 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.4$  Hz,  $^4J_{HH} = 2.6$  Hz, H4), 6.74 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.4$  Hz, H3), 5.20 (s, 1H, Benzyl-OH), 4.47 (s, 2H, H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 153.47 (C2); 131.74 (C1), 129.81 (C4), 129.54 (C6), 116.74 (C3), 110.19 (C5), 57.79 (C7); **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan): 0.13; **MS** (EI, 70 eV): 202 (M, 35 %), 184 (100), 156 (55), 94 (12), 77 (84), 63 (12), 51 (28); **IR** (KBr):  $\nu$  [ $cm^{-1}$ ]: 3438, 3150, 1482, 1431, 1407, 1268, 1181, 1126, 1011, 1000, 898, 819, 633; **UV** (MeOH):  $\lambda_{max}$  [nm] 230, 284.

8.2.2.21 Synthese von 5-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **67**

Es wurden 7.00 g (35.0 mmol) 5-Bromsalicylalkohol **64**, 18.14 g (0.174 mmol) 2,2-Dimethoxypropan, 0.66 g (0.33 mmol) *para*-Toluolsulfonsäure, 14.0 g Natriumsulfat in 140 mL Aceton nach AAV 4 umgesetzt. Eine Reinigung war nicht notwendig.

**67**

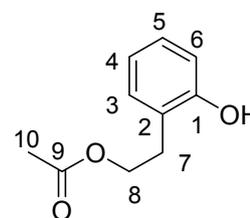
**Ausbeute:** Es wurden 8.3 g (34 mmol, 99%) eines schwach gelben Öls erhalten, das bei -20 °C auskristallisierte.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.17 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H4), 7.02 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H6), 6.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H3), 4.72 (s, 2H, H7), 1.44 (s, 6H, H9); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 150.29 (C2), 130.97 (C4), 127.33 (C6), 121.34 (C1), 118.90 (C3), 112.37 (C5), 99.77 (C8), 60.34 (C7), 24.59 (C9); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan): 0.60; **MS** (FAB): berechnet: 244/242, gefunden: 244/242; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\max}$  [nm] 230, 283.

## 8.2.3 Synthese der Phenolderivate

### 8.2.3.1 Synthese von 2-(2-Hydroxyphenyl)ethylacetat **72a**

Es wurden 2.76 g (20.0 mmol) 2-(2-Hydroxyphenyl)ethanol **70**, 2 g NaHSO<sub>4</sub>:SiO<sub>2</sub>-Katalysator und 300 mL 30 %-igen Lösung von Ethylacetat in *n*-Hexan nach AAV 3 umgesetzt. Eine zusätzliche Reinigung war nicht notwendig.



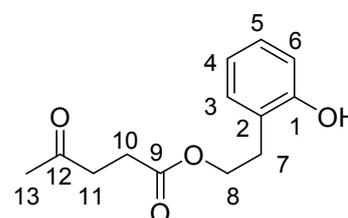
**72a**

**Ausbeute:** Es wurden 3.41 g (18.9 mmol, 95%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.39 (s, 1H, Aryl-OH), 7.08–7.01 (m, 2H, H-5, H-3), 6.78 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H4), 6.71 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H6), 4.15 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, H8), 2.81 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, H7), 1.97 (s, 3H, H10); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 170.67 (C9), 155.72 (C1), 130.86 (C3), 127.92 (C5), 124.07 (C2), 119.27 (C4), 115.27 (C6), 63.48 (C8), 29.63 (C7), 21.10 (C10); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether / Ethylacetat 1:2 v/v) 0.59.

### 8.2.3.2 Synthese von 2-(2-Hydroxyphenyl)ethyllevulinat **72b**

Es wurden 2.00 g (15.0 mmol) 2-(2-Hydroxyphenyl)ethanol **70**, 1.5 g NaHSO<sub>4</sub>:SiO<sub>2</sub>-Katalysator und 225 mL 30 %-igen Lösung von Levulinylnacetat in *n*-Hexan nach AAV 3 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-5%) gereinigt.



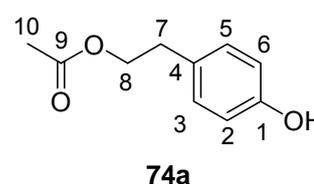
**72b**

**Ausbeute:** Es wurden 2.74 g (11.6 mmol, 80%) eines farblosen Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9.38 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.07 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, H3), 7.03 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, H5), 6.79 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H6), 6.72 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H4), 4.15 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, H8), 2.81 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, H7), 2.68 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H11), 2.43 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H10), 2.08 (s, 3H, H13); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 207.14 (C12), 172.54 (C9), 155.71 (C1), 130.90 (C3), 127.92 (C5), 124.07 (C2), 119.27 (C4), 115.28 (C6), 63.57 (C8), 37.75 (C11), 29.88 (C13), 29.61 (C7), 28.02 (C10); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v) 0.63; **MS** (FAB): berechnet 237.1 (M+H<sup>+</sup>), gefunden 237.2.

### 8.2.3.3 Synthese von 2-(4-Hydroxyphenyl)ethylacetat **74a**

Es wurden 3.00 g (22 mmol) 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol **71**, 2.2 g NaHSO<sub>4</sub>·SiO<sub>2</sub>-Katalysator und 330 mL 30 %-igen Lösung von Ethylacetat in *n*-Hexan nach AAV 3 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-5%) gereinigt.

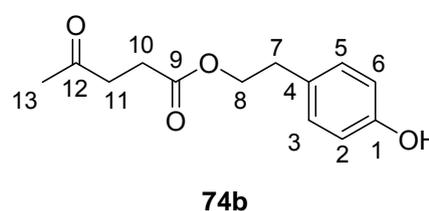


**Ausbeute:** Es wurden 3.73 g (20.7 mmol, 95%) eines farblosen Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9.21 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.02 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.4$  Hz, H2, H6), 6.68 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.4$  Hz, H3, H5), 4.12 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, H7), 2.75 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, H8), 1.97 (s, 3H, H10); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 170.14 (C9), 155.73 (C1), 129.55 (C3, C5), 127.74 (C4), 115.03 (C2, C6), 64.58 (C8), 33.42 (C7), 20.57 (C10); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether / Ethylacetat 3:2 v/v) 0.15; **HRMS** (FAB): berechnet 180.0786, gefunden 180.0800; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm] 277.

### 8.2.3.4 Synthese von 2-(4-Hydroxyphenyl)ethyllevulinat **74b**

Es wurden 2.32 g (16.8 mmol) 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol **71**, 1.7 g NaHSO<sub>4</sub>·SiO<sub>2</sub>-Katalysator und 255 mL 30 %-igen Lösung von



Levulinylacetat in *n*-Hexan nach AAV 3 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether (50-70) / Ethylacetat 3/2 v/v) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 3.74 g (15.8 mmol, 94%) eines farblosen Öl erhalten.

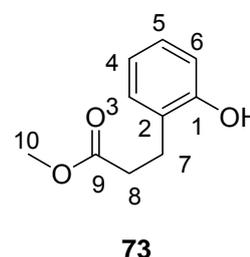
**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.21 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.02 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.6 Hz, H2, H6), 6.67 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.6 Hz, H3, H5), 4.11 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H7), 2.74 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H8), 2.67 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H5), 2.42 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H4), 2.08 (s, 3H, H10); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 207.17 (C12), 172.84 (C9), 154.48 (C1), 129.98 (C3, C5), 129.57 (C4), 115.34 (C2, C6), 65.43 (C8), 37.91 (C11), 34.12 (C7), 29.83 (C11), 27.96 (C10) **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether / Ethylacetat 3:2 v/v) 0.15; **MS** (FAB): berechnet 237 (M+H<sup>+</sup>), gefunden 237.

#### 8.2.3.5 Synthese von 2-(2-Hydroxyphenyl)methylpropionat **73**

Dihydrocumarin **69** und fünf Tropfen konz. Schwefelsäure gegeben und das Reaktionsgemisch 48 h unter Rückfluss erhitzt.

Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 150 ml Diethylether aufgenommen, viermal mit je 50 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlösung, viermal mit je 30 ml

Wasser gewaschen und abschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde erneut am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Petrolether (50-70) mit einem Dichlormethangradienten 50–100%) gereinigt.



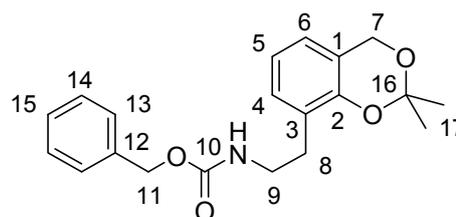
**Ausbeute:** Es wurden 10.9 g (60.0 mmol, 86 %) als farblose Nadel erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 9.37 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.06-6.97 (m, 2H, H3, H5), 6.78 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H4), 6.71 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H6), 3.58 (s, 3H, H10), 2.79-2.75 (m, 2H, H8), 2.55 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, H7); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 173.30 (C9), 155.48 (C1), 130.23 (C3), 127.92 (C5), 124.66 (C2), 119.48 (C4), 115.20 (C6), 51.55 (C10), 33.67 (C7), 28.94 (C8); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v) 0.70.

## 8.2.4 Synthese der *Isopropyliden geschützten Salicylalkoholderivate*

### 8.2.4.1 Synthese von Benzyl 2-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-ethylcarbammat (3-CBZ-AminoEt-salicylalkohol/isopropylidenactetal) **127a**

Es wurden 2.13 g (12.0 mmol) Benzylvinylcarbammat **58a**, 24 mL (12 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 12 mL abs. Tetrahydrofuran, 1.95 g (8.02 mol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 12 mL 3 M Natronlauge und 878 mg (1.20 mmol)



**127a**

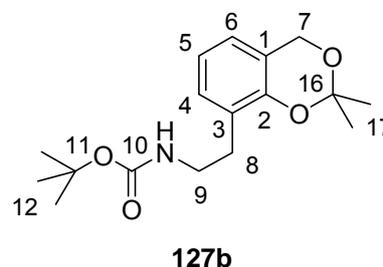
Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, 50 mL Tetrahydrofuran, 120 mL Petrolether und 240 mL der Puffer/Perhydrol-Lösung nach AAV 5 Variante I umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten.

**Ausbeute:** Es wurden 1.8 g (53 mmol, 65%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 7.40-7.22 (m, 6H, H13, H14, H15, NH), 6.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H4), 6.91 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H6), 6.81 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H5), 4.99 (s, 2H, H11), 4.79 (s, 2H, H7), 3.19-3.15 (m, 2H, H9), 2.65 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H8), 1.46 (s, 6H, H17); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 155.85 (C10), 148.63 (C2), 137.18 (C12), 128.08 (C4), 128.41-127.41 (C13, C14, C15), 126.50 (C3), 122.88 (C6), 119.60 (C5) 119.07 (C1), 99.00 (C16), 64.90 (C11), 59.98 (C7), 40.16 (C9), 29.47 (C8), 24.47 (C17); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether / Ethylacetat 4:1 v/v) 0.41; **IR** (Film): ν [cm<sup>-1</sup>] 3345, 3064, 3032, 2992, 2941, 2859, 1715, 1596, 1525, 1463, 1406, 1384, 1374, 1243, 1136, 1084, 1059, 1025, 957, 887, 814, 778, 743, 697; **MS** (FAB) berechnet: 341.1, gefunden: 341.2.

8.2.4.2 Synthese von *t*-butyl 2-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-ethylcarbammat (3-BOC-AminoEt-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **127b**

Es wurden 1.20 g (5.87 mmol) noch verunreinigtes *t*-Butyl-vinylcarbammat **58b**, 14 mL (7.0 mmol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 10 mL abs. Tetrahydrofuran, 2.14 g (8.81 mol) 3-Bromsalicylalkohol-isopropylidenacetal **66**, 6 mL 3 M Natronlauge und 717 mg (0.878 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, 40 mL

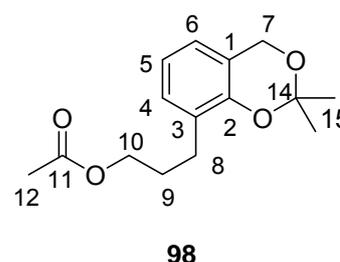


Tetrahydrofuran, 60 mL Petrolether und 120 mL der Puffer/Perhydrol-Lösung nach AAV 5 Variante I umgesetzt. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (5:1 v/v) als Eluenten konnte die Analysenreinheit des Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

**Ausbeute:** Es wurden 510 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls (100% Ausbeute: 1.84 g).

8.2.4.3 Synthese von 3-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)propylacetat (3-AcPr-salicylalikohol/isopropylidenacetal) **98**

Es wurden 200 mg (2.00 mmol) Allyacetat **97**, 4.4 mL (2.2 mmol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 438 mg (1.80 mmol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 497 mg (3.60 mmol) Kaliumcarbonat und 44 mg (0.05 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Die



Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten.

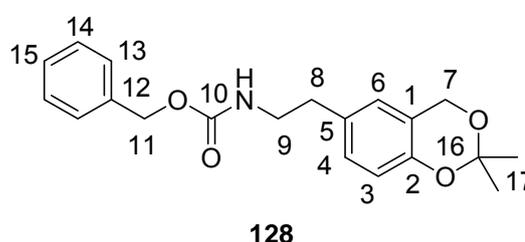
**Ausbeute:** Es wurden 306 mg (1.16 mmol, 64%) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 6.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, H4), 6.80 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H6), 6.71 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H5), 4.69 (s, 2H, H7), 3.86 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, H12), 2.45 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H10), 1.89 (s,

3H, H14), 1.75-1.68 (m, 2H, H11), 1.35 (s, 6H, H9);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 170.76 (C13), 148.91 (C2), 128.81(C3), 128.49 (C4), 122.94 (C6), 120.14 (C5), 119.48 (C1), 99.43 (C8), 63.87 (C12), 60.76 (C7), 28.35 (C11), 25.89 (C10), 24.88 (C9), 21.01 (C14); **DC**:  $R_f$ -Wert ( Petrolether / Ethylacetat 4:1 v/v) 0.36; **MS** (EI, 70 eV): 264 (M, 3%), 147 (24), 146 (91), 145 (79), 133 (10), 132 (8), 131 (71), 119 (14), 118 (8), 117 (21), 115 (10), 105 (8), 103 (14), 91 (39), 79 (13), 78 (9), 77 (24), 65 (21), 51 (10), 43 (100), 41 (9), 39 (12).

#### 8.2.4.4 Synthese von Benzyl 2-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)-ethylcarbammat (5-CBZ-AminoEt-salicylalkohol/isopropylidenactetal) **128**

Es wurden 1.77 g (10.0 mmol) Benzylvinylcarbammat **58a**, 20 mL (11 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 10 mL abs. Tetrahydrofuran 3.31 g (13.0 mol) 5-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **67**,



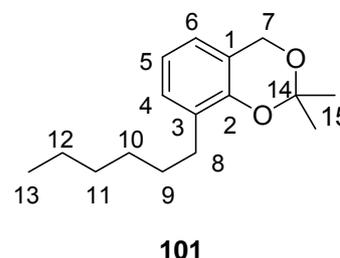
10 mL 3 M Natronlauge und 1.1 g (1.5 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>, 50 mL Tetrahydrofuran, 110 mL Petrolether und 220 mL der Puffer/Perhydrol-Lösung nach AAV 5 Variante I umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten.

**Ausbeute:** Es wurden 1.94 g (57.0 mmol, 57%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 7.38-7.29 (m, 5H, Aryl-H), 6.97 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}}=8.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}}=2.4$  Hz; H4), 6.87 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}}=2.4$  Hz, H6), 6.83 (br, 1H, NH), 6.69 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}}=8.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}}=2.4$  Hz, H3), 5.01 (s, 2H, H11), 4.76 (s, 2H, H7), 3.20-3.16 (m, 2H, H9), 2.63 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}}=7.4$  Hz, H8), 1.44 (s, 6H, H17);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 155.89 (C10), 148.95 (C2), 137.16 (C12), 130.76 (C5), 128.19 (C-Aryl), 128.07 (C-Aryl), 127.58 (C-Aryl), 127.52 (C-Aryl), 124.81 (C6), 119.16 (C1), 116.11 (C3), 98.91 (C16), 64.95 (C11), 59.93 (C7), 41.85 (C9), 34.52 (C8), 24.41 (C17); **DC**:  $R_f$ -Wert ( Petrolether / Ethylacetat 4:1 v/v) 0.19; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3364; 2987, 2937, 1717, 1688, 1545, 1503, 1456, 1383, 1374, 1287, 1253, 1199, 1145, 1119, 1043, 993, 871, 827, 750, 695, **HRMS** (FAB): berechnet: 341.1627, gefunden: 341.1595; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 279, 286.

#### 8.2.4.5 Synthese von 6-Hexyl-2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxine (3-Hexyl-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **101**

Es wurden 200 mg (2.0 mmol) 1-Hexen **100**, 4.4 mL (2.2 mmol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 438 mg (1.80 mmol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 497 mg (3.60 mmol) Kaliumcarbonat und 44 mg (0.05 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten.

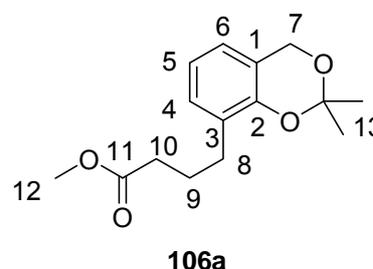


**Ausbeute:** Es wurden 203 mg (8.00 mmol, 45%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 6.98 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, H4), 6.86 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, H6) 6.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H5), 4.78 (s, 2H, H7), 2.47 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H8), 1.50-1.47 (m, 8H), 1.45 (s, 6H, H15), 0.84 (t, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H13); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 148.48 (C2), 129.68 (C3), 128.04 (C4), 122.92 (C6), 119.69 (C5), 119.08 (C1), 98.92 (C14), 60.14 (C7), 31.02 (C-Alkyl), 29.21 (C-Alkyl), 28.75 (C-Alkyl), 28.29 (C-Alkyl), 24.61 (C15), 22.00 (C-Alkyl), 13.93 (C13); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Petrolether/Ethylacetat 7:1 v/v) 0.47; **Sdp:** zersetzlich; **MS (FAB):** berechnet: 248.2, gefunden: 248.2.

#### 8.2.4.6 Synthese von Methyl 4-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-butanoat (3-MeBu-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **106a**

Es wurden 1.00 g (10.0 mmol) 3-Butensäuremethylester **52a**, 22 mL (11 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 1.86 g (8.00 mol) 3-Bromsalicylalkohol-isopropylidenacetal **66**, 2.49 g (16.0 mmol) Kaliumcarbonat und 198 mg (0.27 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten.

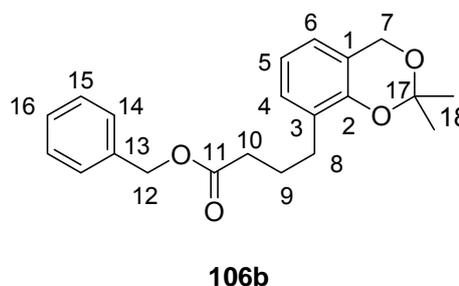


**Ausbeute:** Es wurden 1.25 g (5.00 mmol, 62%) als farbloses Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 6.97(dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, H4), 6.87 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, H6), 6.73 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, H5), 4.77 (s, 2H, H7), 3.55 (s, 3H, H12), 2.49 (t, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz H8), 2.24 (t, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H10), 1.76 (tt, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H9), 1.43 (s, 6H, 2x H14); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.18 (C11), 148.91 (C2), 128.65 (C3), 125.37 (C4), 122.81 (C6), 119.78 (C5), 119.22 (C1), 99.08 (C13), 60.14 (C7), 51.18 (C12), 32.67 (C10), 28.05 (C8), 24.63 (C9), 24.56 (C14); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether/Ethylacetat 4:1 v/v) 0.36; **Sdp.:** zersetzlich; **MS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 287.13 (M+Na<sup>+</sup>) gefunden: 287.23.

#### 8.2.4.7 Synthese von Benzyl 4-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-butanoat (3-BnBu-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **106b**

Es wurden 1.76 g (10.0 mmol) 3-Butensäurebenzylester **52b**, 22 mL (11 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 1.86 g (8.00 mol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 2.49 g (16.0 mmol) Kaliumcarbonat und 198 mg (0.27 mmol)

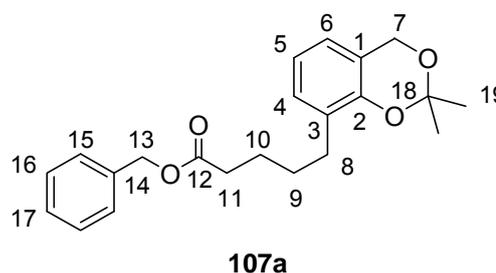


Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (7:1 v/v) als Eluenten konnte die analysenreinheit des Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

**Ausbeute:** Es wurden 1.60 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 2.60 g).

#### 8.2.4.8 Synthese von Benzyl 5-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-pentanoat (3-BnPe-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **107a**

Es wurden 2.09 g (11.0 mmol) 4-Pentensäurebenzylester **55b**, 24 mL (12 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.14 g (8.80 mol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 2.72 g (19.7 mmol) Kaliumcarbonat



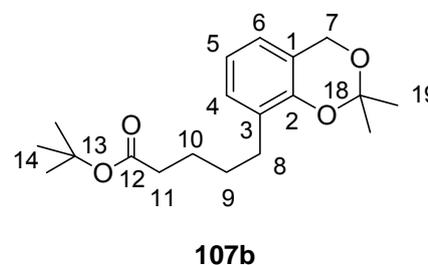
und 216 mg (0.30 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (7:1 v/v) als Eluenten.

**Ausbeute:** Es wurden 1.84 g (5.20 mmol, 59%) als schwach gelbes Öl erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 7.37–7.28 (m, 5H, H15, H16, H17), 6.97 (dd, 1H, H4), 6.87 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H6), 6.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H5), 5.07 (s, 2H, H13), 4.77 (s, 2H, H7), 2.49-2.46 (m, 2H, H8) 2.38–2.34 (m, 2H, H11), 1.53–1.49 (m, 4H, H9, H10), 1.42 (s, 6H, 2x H19); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.71 (C12), 148.50 (C2), 136.27 (C14), 129.22 (C3), 128.41 (C-Aryl), 128.08 (C-Aryl), 127.96 (C-Aryl), 127.90 (C-Aryl), 122.57 (C-Aryl), 119.71 (C-Aryl), 119.11 (C1), 98.99 (C18), 65.28 (C13), 60.12 (C7), 33.28 (C11), 28.70 (C9), 28.26 (C8), 24.56 (C19), 23.98 (C10); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Petrolether / Ethylacetat 7:1 v/v) 0.41; **Sdp.:** zersetzlich; **HRMS** (FAB): berechnet: 354.1831, gefunden: 354.1797.

#### 8.2.4.9 Synthese von *t*-butyl 5-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-8-yl)-pentanoat (3-*t*-BuPe-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **107b**

Es wurden 1.72 g (11.0 mmol) 4-Pentensäure-*t*-butylester **55c**, 24 mL (12 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.14 g (8.80 mol) 3-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **66**, 2.72 g (19.7 mmol) Kaliumcarbonat und 220 mg (0.30 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt.



Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (14:1 v/v) als Eluenten konnte die Analysenreinheit des Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

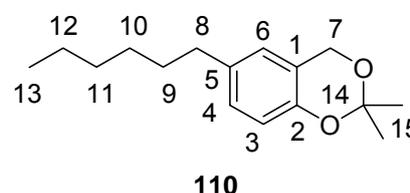
**Ausbeute:** Es wurden 1.60 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 2.82 g).

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 6.99 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H4), 6.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H6), 6.80 (dd, 1H,

$^3J_{\text{HH}} = 7.4 \text{ Hz}$ , H5), 4.79 (s, 2H, H7), 2.49-2.46 (m, 2H, H8) 2.21-2.17 (m, 2H, H11), 1.53–1.47 (m, 4H, H9, H10), 1.45 (s, 6H, 2x H16), 1.37 (s, 9H, H14);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.60 (C12), 148.86 (C2), 136.27 (C-13), 129.66 (C3), 128.45 (C4), 122.93 (C6), 120.09 (C5), 119.48 (C1), 98.35 (C15), 79.68 (C13), 60.49 (C7), 33.97 (C11), 29.14 (C9), 28.69 (C8), 28.11 (C14), 24.94 (C16), 24.53 (C10).

#### 8.2.4.10 Synthese von 6-Hexyl-2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxine (5-Hexyl-salicylalkoholisopropylidenaceta)l **110**

Es wurden 1.26 g (15.0 mmol) 1-Hexen **100**, 33 mL (17 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.93 g (12.0 mol) 5-Bromsalicylalkoholisopropylidenacetal **67**, 3.72 g (27.0 mmol) Kaliumcarbonat und 297 mg



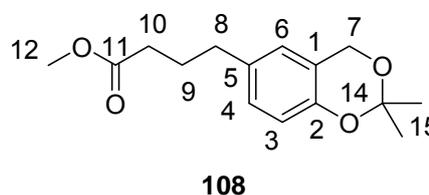
(0.41 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (7:1 v/v) als Eluenten.

**Ausbeute:** Es wurden 1.29 g (52.0 mmol, 43%) eines farblosen Öls erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 6.99-6.95 (m, 1H, H4), 6.88-6.84 (m, 1H, H6), 6.67-6.64 (m, 1H, H3), **4.77** (s, 2H, H7), 2.47 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$ , H8), 1.53-1.50-1.46 (m, 2H, H9), 1.44 (s, 6H, H15), 1.31-1.21 (m, 6H, H10, H11, H12), 0.85 (t, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9 \text{ Hz}$ , H13);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 148.65 (C2), 133.77 (C5), 127.78 (C4), 124.45 (C6), 119.19 (C1), 116.14 (C3), 98.96 (C14), 60.09 (C7), 34.40 (C8), 31.10 (C-Alkyl), 28.33 (C-Alkyl), 24.55 (C15), 22.05 (C-Alkyl), 13.96 (C13); **DC**: $R_f$ -Wert (Petrolether / Ethylacetat 30:1 v/v) 0.32; **Sdp.**: zersetzlich; **IR** (Film):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 2994, 2927 2855, 1500, 1455, 1383, 1372, 1355, 1269, 1202, 1144, 1121, 1064, 958, 874, 820, 796; **MS** (FAB): berechnet: 248.2, gefunden: 248.2.

### 8.2.4.11 Synthese von Methyl 4-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)-butanoat (5-MeBu-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **108**

Es wurden 1.50 g (15.0 mmol) 3-Butensäuremethylester **52a**, 33 mL (17 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.20 g (9.05 mmol) 5-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal **67**, 3.72 g

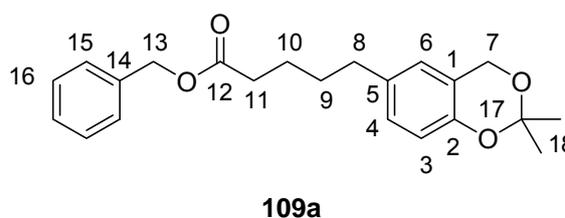


(27.0 mmol) Kaliumcarbonat und 297 mg (0.41 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (4:1 v/v) als Eluenten konnte die Analysenreinheit der Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

**Ausbeute:** Es wurden 1.55 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls (100% Ausbeute: 2.39 g).

### 8.2.4.12 Synthese von Benzyl 5-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)-pentanoat (5-BnPe-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **109a**

Es wurden 2.86 g (15.0 mmol) 4-Pentensäurebenzylester **55b**, 33 mL (17 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.93 g (12.0 mmol)



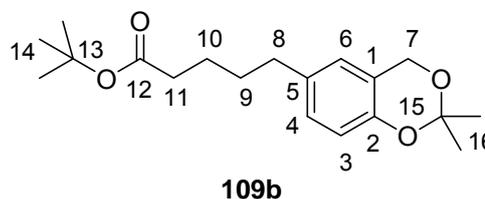
5-Bromsalicylalkohol/isopropylidenacetal

**67**, 3.72 g (27.0 mmol) Kaliumcarbonat und 297 mg (0.40 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (9:1 v/v) als Eluenten konnte die Analysenreinheit des Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

**Ausbeute:** Es wurden 2.32 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 4.27 g).

8.2.4.13 Synthese von *t*-Butyl 5-(2,2-dimethyl-4H-benzo[d][1,3]dioxin-6-yl)-pentanoat (5-*t*-BuPe-salicylalkohol/isopropylidenacetal) **109b**

Es wurden 1.72 g (11.0 mmol) 4-Pentensäure*tert*butylester **55c**, 24 mL (12 mol) 9-BBN (0.5 M in Tetrahydrofuran), 2.14 g (8.80 mol)



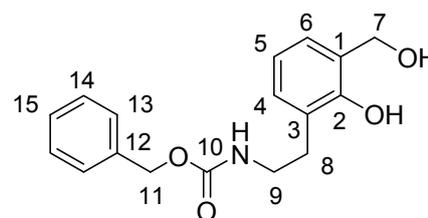
5-Bromsalicylalkohol-*isopropylidenacetal* **67**, 2.72 g (19.7 mmol) Kaliumcarbonat und 220 mg (0.30 mmol) Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> nach AAV 5 umgesetzt. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen mit Petrolether (50-70) / Ethylacetat (7:1 v/v) als Eluenten konnte die Analysenreinheit des Produkts nicht erreicht werden, so dass das Rohprodukt für die nachfolgende Spaltung des Acetals eingesetzt wurde.

**Ausbeute:** Es wurden 2.16 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 2.82 g).

## 8.2.5 Synthese der Salicylalkoholderivate

### 8.2.5.1 Synthese von Benzyl 2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethylcarbamate (3-CBZ-AminoEt-salicylalkohol) **129a**

Es wurden 1.00 g (2.93 mmol) Acetal **127a** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 30 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Es war keine Reinigung notwendig.



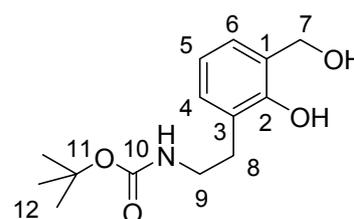
**129a**

**Ausbeute:** Es wurden 720 mg (2.39 mmol, 82%) eines farblosen Öls erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.50 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.38-7.29 (m, 5H, H15, H16, H17), 7.27 (br, 1H, NH), 7.07 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H6), 6.96 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H4), 6.74 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H5), 5.39 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, Benzyl-OH), 5.01 (s, 2H, H13), 4.58 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, H7), 4.28 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H9), 3.21-3.17 (m, 2H, H9), 2.71 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H8);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 155.94 (C10), 152.50 (C2), 137.19 (C13), 128.57 (C4), 128.20 (C-Aryl), 127.86 (C1), 127.58 (C-Aryl), 127.53 (C-Aryl), 125.86 (C3), 125.48 (C6), 119.02 (C5), 64.96 (C12), 59.99 (C7), 40.42 (C9), 29.95 (C8); **DC:**  $R_f$  Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.50; **IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3675, 3344, 2866, 1700, 1684, 1545, 1465, 1363, 1264, 1136, 990, 753, 697; **HRMS** (FAB): berechnet: 301.1314, gefunden: 301.1344; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 276.

### 8.2.5.2 Synthese von *t*-Butyl 2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethylcarbamate (3-BOC-AminoEt-salicylalkohol) **129b**

Es wurden 510 mg verunreinigtes Acetal **127b** mit drei Tropfen konz. Salzsäure und 25 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron (Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-50%) gereinigt.



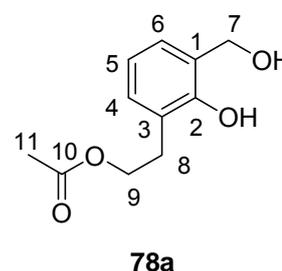
**129b**

**Ausbeute:** Es wurden 65 mg (0.25 mmol, 3% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.45-8.32 (br, 1H, Phenyl-OH), 7.38-7.29 (m, 5H, H15, H16, H17), 6.92 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz H6), 6.69 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz, NH), 6.81 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H4), 6.59 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H5), 5.40-5.20 (br, 1H, Benzyl-OH), 5.01 (s, 2H, H13), 4.42 (s, 2H, H9), 2.94 (td, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz H9), 2.54 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, H8), 1.23 (s, 9H, H12);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 156.05 (C10), 152.46 (C2), 128.51 (C6), 127.90 (C3), 127.86 (C1), 126.01 (C1), 125.42 (C4), 119.02 (C5), 77.37 (C11), 59.94 (C7), 39.64 (C9), 30.01 (C8), 28.19 (C12); **DC:**  $R_F$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.52; **HRMS** (ESI $^+$ ) berechnet: 290.1368 (M+Na $^+$ ), gefunden: 290.1376.

### 8.2.5.3 Synthese von 2-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethylacetat (3-AcEt-salicylalkohol) **78a**

Es wurden 2.70 g (15.0 mmol) 2-(2-Hydroxy-phenyl)ethylacetat **72a**, 2.19 g (18.0 mmol) Phenylboronsäure, 555 mg (7.00 mmol) Propionsäure, insgesamt 4.50 g (0.15 mol) *para*-Formaldehyd (in fünf Portionen), 150 mL Toluol, 10.7 mL 30%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung und 22 mL Tetrahydrofuran nach AAV 3 Variante I umgesetzt. Die Zwischenstufe, das Dioxaborinin, wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung mit (3.19 g, (10.7 mmol, 72%) in der Oxidation umgesetzt. Die Reinigung erfolgte am Chromatotron mit Petrolether: Diethylether (Gradient: 10 – 30 %).



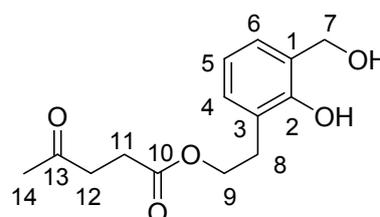
**Ausbeute:** Es wurden 828 mg (3.94 mmol, 26% über beide Stufen) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.89 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.06 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, H4), 6.91 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, H6), 6.77 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H5), 4.80 (s, 2H, H7), 4.28 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H9), 3.27 (s, 1H, Benzyl-OH), 2.96 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H8), 2.01 (s, 3H, H11);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 172.19 (C10), 155.01 (C2), 130.95 (C4), 129.98 (C6),

126.90 (C1), 125.15 (C3), 120.30 (C5), 66.32 (C9), 64.70 (C7), 30.02 (C8), 21.41 (C11); **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan): 0.05; **MS** (FAB): berechnet: 210, gefunden: 210.

#### 8.2.5.4 Synthese von 2-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethyl 4-oxo-pentanoat (3-LevEt-salicylalkohol) **78b**

Es wurden 5.00 g (21.0 mmol) 2-(2-Hydroxyphenyl)-ethyllevulinat **72b**, 2.56 g (25.0 mmol) Phenylboronsäure, 0.78 g (10.5 mmol) Propionsäure, insgesamt 8.83 g (0.168 mol) *para*-Formaldehyd (in sieben Portionen), 750 mL Toluol, 20 mL 30%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung und 40 mL Tetrahydrofuran



**78b**

nach AAV 3 umgesetzt. Die Zwischenstufe, das Dioxaborinin, wurde am Chromatotron mit Dichlormethan als Laufmittel gereinigt jedoch ohne Charakterisierung mit (10.06 g, (20 mmol, 95%) in der Oxidation umgesetzt. Das erhaltene zähe Öl wurde mehrfach am Chromatotron gereinigt, zunächst zweimal mit Petrolether (50-70) / mit einem Ethylacetatgradienten 0-100% und dann mit Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-10%. Die erhaltenen Mischfraktionen wurden am Chromatotron mit Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-8% als Laufmittel gereinigt und die dabei erhaltenen Mischfraktionen wurden säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol 19 : 1 (v/v) als Laufmittel gereinigt.

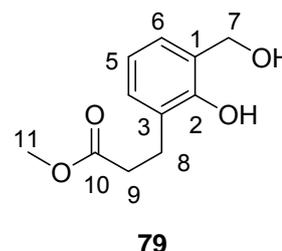
**Ausbeute:** Es wurden 766 mg (2.88 mmol, 23%) eines schwach gelben Öls erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.40-8.80 (br, 1H, Phenyl-OH), 7.11-6.99 (m, 2H, H4, H6), 6.77 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz, H6), 6.76 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz, H4), 5.30-5.70 (br, 1H, Benzyl-OH), 4.59 (s, 2H, H7), 4.15 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz, H9), 2.86 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz, H8), 2.68 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H11), 2.43 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H12), 2.03 (s, 3H, H14);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) 207.14 (C13), 172.55 (C10), 153.02. (C2) , 129.26 (C4), 126.31(C6), 124.77 (C3), 122.54 (C1), 119.58 (C5), 63.72 (C9), 60.37 (C7), 37.75

(C12), 29.89 (C14), 29.47 (C8), 28.01 (C11); **DC**: R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.53; **MS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 289.15 (M +Na<sup>+</sup>), gefunden: 289.15.

#### 8.2.5.5 Synthese von Methyl 3-(2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)-propanoat (3-MePr-salicylalkohol) **79**

Es wurden 3.60 g (20.0 mmol) 2-(2-Hydroxyphenyl)methylpropionat **73**, 2.93 g (24.0 mmol) Phenylboronsäure, 741 mg (10.0 mmol) Propionsäure, insgesamt 6 g (0.2 mol) *para*-Formaldehyd (in fünf Portionen), 250 mL Toluol, 12.8 mL 30%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung



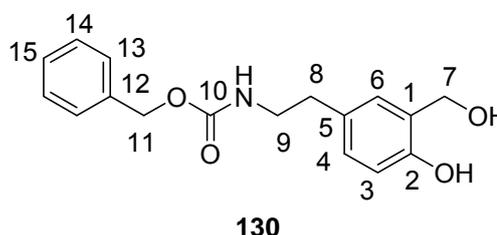
und 25 mL Tetrahydrofuran nach AAV 3 umgesetzt. Die Zwischenstufe, das Dioxaborinin, wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung mit (3.80 g, (12.8 mmol, 64%) in der Oxidation umgesetzt. Die Reinigung erfolgte am Chromatotron mit Petrolether: Diethylether (Gradient: 10 – 50 %).

**Ausbeute:** Es wurden 1.08 g (5.14 mmol, 26% über beide Stufen) eines schwach gelbens Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.52 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H4), 6.97 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H6), 6.74 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, H5), 5.39 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, Benzyl-OH), 4.56 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, H7), 3.58 (s, 3H, H11), 2.81 (t, 2 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, H8), 2.55 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, H9); **<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 173.30 (C10), 152.74 (C2), 128.52 (C4), 128.46 (C6), 127.48 (C1), 126.00 (C3), 119.56 (C5), 60.35 (C7), 51.59 (C11), 33.85 (C9), 25.60 (C8); **DC**: R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.08; **MS** (FAB): berechnet: 210, gefunden: 210.

### 8.2.5.6 Synthese von Benzyl 4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethylcarbammat (5-CBZ-AminoEt-salicylalkohol) **130**

Es wurden 1.54 g (4.51 mmol) Acetal **128** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 50 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Es war keine Reinigung notwendig.

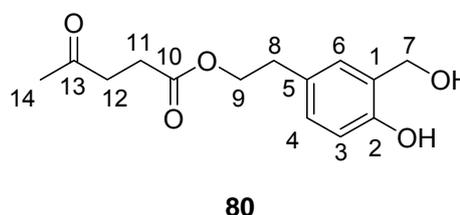


**Ausbeute:** Es wurden 1.27 g (4.21 mmol, 93%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.12 (s, 1H Phenol-OH), 7.39-7.28 (m, 6H, H13, H14, H15, NH), 7.12-7.10 (m, 1H, H6), 6.98-6.85 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.1$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.9$  Hz, H4), 6.66 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 1.9$  Hz, H3), 5.00 (s, 2H, H11), 4.95-4.85 (br, 1H, Benzyl-OH), 4.45 (s, 2H, H7), 3.18-3.12 (m, 2H, H9), 2.60 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.7$  Hz, H8); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 155.88 (C10), 152.62 (C2), 137.22 (C12), 128.41-127.78 (C13, C14, C15), 128.62 (C4), 128.15 (C1), 125.95 (C5), 125.39 (C6), 119.17 (C3), 65.04 (C12), 59.69 (C7), 41.20 (C9), 29.81 (C8); **DC:** R<sub>F</sub> Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v) 0.58; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3448, 3320, 1679, 1262; **HRMS** (FAB): berechnet: 301.1314, gefunden: 301.1309; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 280.

### 8.2.5.7 Synthese von 4-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenethyl 4-oxo-pentanoat (5-LevEt-salicylalkohol) **80**

Es wurden 3.00 g (12.7 mmol) 4-(4-Hydroxyphenyl)ethyllevulinat **74b**, 1.70 g (13.7 mmol) Phenylboronsäure, 470 mg (6.35 mmol) Propionsäure, insgesamt 2.76 g (91.4 mmol) *para*-Formaldehyd (in vier Portionen),



100 mL Toluol, 9 mL 30%-ige Wasserstoffperoxid-Lösung und 18.5 mL Tetrahydrofuran nach AAV 3 umgesetzt. Die Zwischenstufe, das Dioxaborinin, wurde ohne weitere Reinigung und Charakterisierung in der Oxidation umgesetzt. Der Versuch einer Umkristallisation aus Petrolether schlug fehl. Daher wurde das erhaltene zähe Öl mehrfach am Chromatogramm gereinigt, zunächst zweimal mit

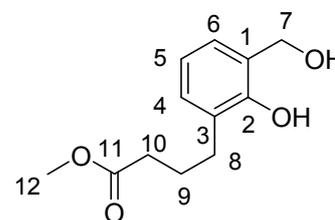
Petrolether (50-70) / mit einem Ethylacetatgradienten 0-100% und dann mit Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-10%. Die erhaltenen Mischfraktionen wurden am Chromatotron mit Dichlormethan mit einem Methanolgradienten 0-8% als Laufmittel gereinigt und die dabei erhaltenen Mischfraktionen wurden säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol 19 : 1 (v/v) als Laufmittel gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 624 mg (2.34 mmol, 19% über beide Stufen) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 9.15 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.14 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H6), 6.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.2 Hz; <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H4), 6.68 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.2 Hz, H3), 4.91 (s, 1H, Benzyl-OH), 4.45 (s, 2H, H7), 4.12 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H9), 2.74 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H8), 2.69 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, H11), 2.43 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, H12), 2.08 (s, 3H, H14); **<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] 206.81 (C13), 172.23 (C10), 152.68 (C2), 128.39 (C1), 127.73 (C4), 127.61 (C6), 127.57 (C5), 114.48 (C3), 64.92 (C9), 58.21 (C7), 37.41 (C11), 33.78 (C8), 29.54 (C14), 27.67 (C12); **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.39; **MS** (FAB) berechnet: 266, gefunden: 266.

#### 8.2.5.8 Synthese von Methyl 4-(2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)butanoat (3-MeBu-salicylalkohol) **111a**

Es wurden 940 mg (3.56 mmol) Acetal **106a** mit drei Tropfen konz. Salzsäure und 30 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Es war keine Reinigung notwendig.



**111a**

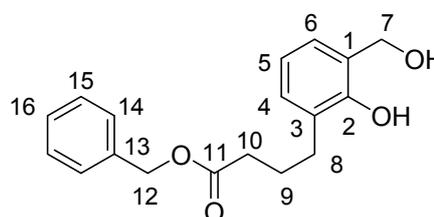
**Ausbeute:** Es wurden 524 mg (2.34 mmol, 65%) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.42 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H4), 6.95 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H6), 6.74 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H5), 5.37 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, Benzyl-OH), 4.57 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, H7), 3.58 (s, 3H, H13), 2.56 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H8), 2.30 (t, 2H,

$^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H10), 1.77 (tt, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H9);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 173.29 (C11), 152.39 (C2), 128.36 (C6), 128.07 (C1), 127.92 (C3), 125.34 (C4), 119.10 (C5), 60.04 (C7), 51.21 (C12), 32.97 (C10), 28.82 (C8), 24.85 (C9); **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 14:1 v/v): 0.53; **Sdp.**: zersetzlich; **HRMS** (FAB): berechnet: 224.1049, gefunden: 224.1069.

#### 8.2.5.9 Synthese von Benzyl 4-(2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)butanoat 3-BnBu-salicylalkohol **111b**

Es wurden 1.6 g verunreinigtes Acetal **106b** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 20 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.



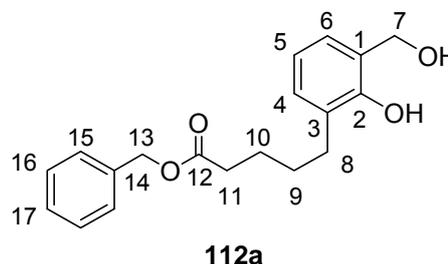
**111b**

**Ausbeute:** Es wurden 260 mg (0.83 mmol, 11% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.42 (br, 1H, Phenyl-OH), 7.39-7.31 (m, 5H, 5x Aryl-H), 7.06 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, H4), 6.92 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, H6), 6.73 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H5), 5.36 (br, 1H Benzyl-OH) 4.56 (s, 2H, H7), 2.57 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H8), 2.35 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H10), 1.80 (tt, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H9);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.73 (C11), 152.40 (C2), 136.31 (C-Aryl) 128.46 (C-Aryl), 128.42 (C-Aryl), 128.10 (C3), 128.00 (C-Aryl), 127.90 (C1), 125.37 (C4), 119.13 (C5), 65.38 (C12), 60.05 (C7), 33.20 (C10), 28.84 (C8), 24.92 (C9); **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan): 0.14; **Sdp.**: zersetzlich; **MS** (EI, 70 eV): 300 (M, 13%), 91(100).

### 8.2.5.10 Synthese von Benzyl 5-(2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)pentanoat (3-BnPe-salicylalkohol) **112a**

Es wurden 1.45 g (4.09 mmol) Acetal **107a** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 40 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.

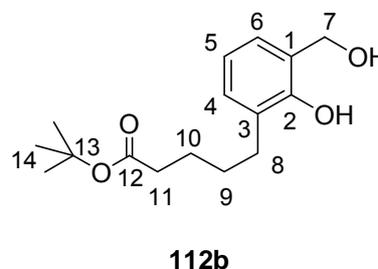


**Ausbeute:** Es wurden 658 mg (2.09 mmol, 53%) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 8.38 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.38-7.31 (m, 5H, Aryl-H), 6.72 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H5), 5.36 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, Benzyl-OH), 5.08 (s, 2H, H13), 4.56 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, H7), 2.54 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, H8), 2.38 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, H11), 1.59-1.48 (m, 4H, H9, H10); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) 172.70 (C12), 152.21 (C2), 136.22 (C14), 128.08 (C3), 128.01-127.69 (C15, C16, C17), 127.87 (C1), 127.62 (C6), 124.71 (C4), 118.72 (C5), 65.20 (C13), 59.99 (C7), 33.10 (C11), 28.80 (C9), 28.42 (C8), 24.25 (C10); **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan) 0.25; **Sdp.**: zersetzlich **HRMS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 337.1407 (M+Na<sup>+</sup>), gefunden: 337.1416; **IR** (Film):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3415, 2932, 1729, 1654, 1458, 1177, 1024, 1002, 826, 753; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 275.

### 8.2.5.11 Synthese von *t*-Butyl 5-(2-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)pentanoat (3-*t*-BuPe-salicylalkohol) **112b**

Es wurden 1.30 g verunreinigtes Acetal **107b** mit zwei Tropfen konz. Salzsäure und 20 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.

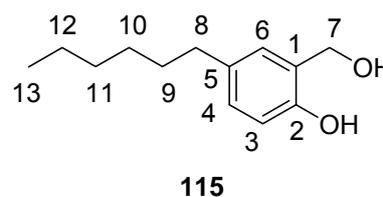


**Ausbeute:** Es wurden 601 mg (2.14 mmol, 24% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.38 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.04 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, H4), 6.94 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, H6), 6.73 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H5), 5.36 (s, 1H, Benzyl-OH), 4.56 (s, 2H, H7), 2.54 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, H8), 2.20 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, H11), 1.53-1.48 (m, 4H, H9, H10), 1.38 (s, 9H, H14); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 172.19 C(12), 152.24 (C2), 128.42 (C3), 128.13 (C6), 127.85 (C1), 124.98 (C4), 118.93 (C5), 79.24 (C13), 60.02 (C7), 34.62 (C11), 29.04 (C9), 28.80 (C8), 27.67 (C14), 24.41 (C10); **DC**: R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan) 0.22; **Sdp.**: zersetzlich; **IR** (Film):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3439, 2977, 2931, 1701, 1637, 1595, 1459, 1367, 1240, 1156, 1086, 1057, 1011, 842, 748, 668; **MS** (FAB): berechnet: 281.2, gefunden: 281.2; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 276.

#### 8.2.5.12 Synthese von 4-Hexyl-2-(hydroxymethyl)phenol (5-Hexyl-salicylalkohol) **115**

Es wurden 800 mg (3.22 mmol) Acetal **110** mit drei Tropfen konz. Salzsäure und 30 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Durch Umkristallisation aus Dichlormethan konnte das gewünschte Produkt **115** erhalten werden.

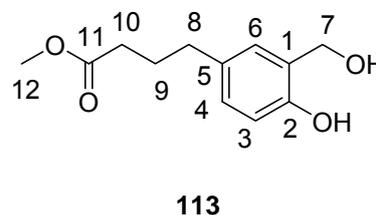


**Ausbeute:** Es wurden 532 mg (2.55 mmol, 79%) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz, H4), 6.99 (br, 1H, Phenyl-OH), 6.85 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz, H6), 6.81 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz, H3), 4.84 (s, 2H, H7), 2.51 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, H8), 2.18-2.06 (br, 1H, Benzyl-OH), 1.59-1.55 (m, 2H, H9) 1.34-1.26 (m, 6H, H10, H11, H12), 0.94-08.83 (m, 3H, H13); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 154.09 (C2), 135.73 (C5), 129.45 (C4), 127.84 (C6), 124.47 (C1), 116.48 (C3), 64.98 (C7), 35.17 (C8), 31.88 (C-Alkyl), 29.09 (C-Alkyl), 14.24 (C13); **DC**: R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan) 0.25; **HRMS** (FAB): berechnet: 208.1463, gefunden: 208.1411.

### 8.2.5.13 Synthese von Methyl 4-(4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)butanoat (5-MeBu-salicylalkohol) **113**

Es wurden 1.30 g verunreinigtes Acetal **108** mit zwei Tropfen konz. Salzsäure und 20 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.

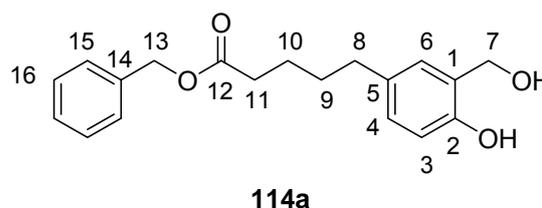


**Ausbeute:** Es wurden 826 mg (3.68 mmol, 41% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.07 (br, 1H, Phenyl-OH) 7.04 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 2.1$  Hz, H6), 6.83 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.2$  Hz,  $^4J_{HH} = 2.1$  Hz, H4), 6.66 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.2$  Hz, H3), 4.89 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 5.3$  Hz, Benzyl-OH), 4.44 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 5.3$  Hz, H7), 3.58 (s, 3H, H12), 2.53-2.46 (m, 2H, H8), 2.28 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.5$  Hz, H10), 1.76 (tt, 2H,  $^3J_{HH} = 7.5$  Hz, H9); **<sup>13</sup>C-NMR**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 174.24 (C11), 154.41 (C2), 133.02 (C1), 129.50 (C4), 127.94 (C6), 124.70 (C5), 116.59 (C3), 64.83 (C7), 51.18 (C12), 34.31 (C10), 33.47 (C8), 26.85 (C9); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan) 0.04; **Sdp.:** zersetzlich; **IR** (Film):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3446, 3179, 2949, 1735, 1684, 1620, 1566, 1512, 1481, 1449, 1437, 1418, 1340, 1250, 1298, 1374, 1196, 1172, 1124, 1001, 899, 826; **HRMS** (FAB): berechnet: 224.1049, gefunden: 224.1069.

### 8.2.5.14 Synthese von Benzyl 5-(4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)pentanoat (5-BnPe-salicylalkohol) **114a**

Es wurden 2.32 g verunreinigtes Acetal **109a** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 30 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.

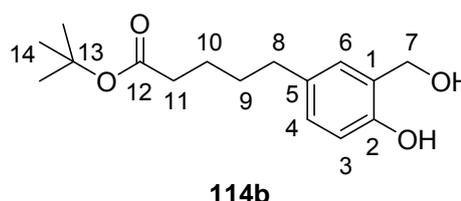


**Ausbeute:** Es wurden 1.10 g (3.50 mmol, 29% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.07 (br, 1H, Phenyl-OH), 7.39–7.30 (m, 5H, Aryl-H), 7.07 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, H6), 6.81 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, H4), 6.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, H3), 5.07 (s, 2H, H13) 4.92 (br, 1H, Benzyl-OH), 4.45 (s, 2H, H7), 2.45 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H8), 2.36 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H11), 1.59–1.49 (m, 4H, H9, H10); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.88 (C12), 152.10 (C2), 136.31 (C14), 131.82 (C5), 128.64–126.98 (C4, C6, C15, C16, C17) 114.38 (C3), 65.34 (C13), 58.34 (C7), 34.22 (C8), 33.39 (C11), 32.67 (C10), 30.70 (C10), 24.15 (C9); **DC:** R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan): 0.19; **Sdp.:** zersetzlich **IR** (Film):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3415, 2932, 1734, 1616, 1501, 1456, 1383, 1261, 1003, 751, 698; **UV** (MeOH):  $\lambda_{\max}$  [nm]: 281.

#### 8.2.5.15 Synthese von *t*-Butyl 5-(4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl)pentanoat (5-*t*-BuPe-salicylalkohol) **114b**

Es wurden 2.00 g verunreinigtes Acetal **109b** mit vier Tropfen konz. Salzsäure und 50 mL des Acetonitril / Wasser-Gemisch gemäß AAV 6 umgesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Methanol (99:1 v/v) als Eluenten.



**Ausbeute:** Es wurden 1.09 g (3.89 mmol, 44% über beide Stufen) eines farblosen Öls erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.03 (s, 1H, Phenyl-OH), 7.08 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, H6), 6.82 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, H4), 6.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, H3), 4.88 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, Benzyl-OH), 4.44 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz H7), 2.45 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H8) 2.19 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H11), 1.55–1.45 (m, 4H, H9, H10); 1.38 (s, 9 H, H14) **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.12

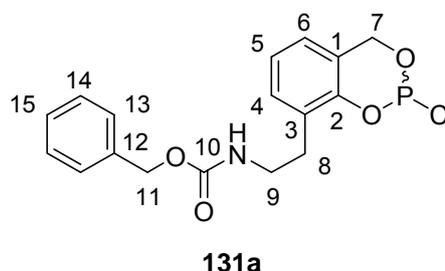
---

(C12), 151.97 (C2), 131.68 (C5), 128.02 (C1), 127.00 (C6), 126.73 (C4), 114.24 (C3), 79.22 (C13), 34.52 (C8), 34.10 (C11), 30.50 (C10), 24.13 (C9); **DC**: R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan): 0.18; **Sdp.**: zersetzlich; **HRMS** (FAB): berechnet: 280.1675, gefunden: 280.1632.

## 8.2.6 Synthese der Chlorphosphite

### 8.2.6.1 Synthese von 3-CBZ-AminoEt-saligenylchlorphosphit **131a**

Es wurden 660 mg (2.20 mmol) 3-CBZ-AminoEt-salicylalkohol **129a**, 0.23 mL (2.6 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.41 mL (5.0 mmol) abs. Pyridin in 15 mL abs. Tetrahydrofuran nach AAV 7 Variante I umgesetzt.

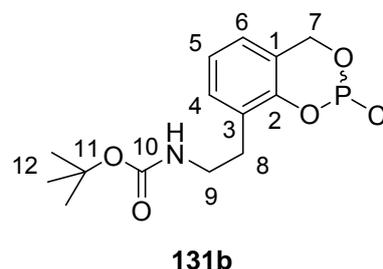


**Ausbeute:** Es wurden 660 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 880 mg).

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.38-7.20 (m, 5H, H13, H14, H15), 7.15-7.08 (m, 1H, H4), 7.04-7.00 (m, 1H, H6), 6.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H5), 5.40 (dd, 2H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 2.3 Hz, 1x H7), 5.10 (s, 2H, H11), 5.05-4.99 (m, 1H, 1x H7), 3.55-3.52 (m, 2H, H9), 2.60-2.56 (m, 2 H, H8); **<sup>31</sup>P-NMR**:  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 150.57.

### 8.2.6.2 Synthese von 3-BOC-AminoEt-saligenylchlorphosphit **131b**

Es wurden 65 mg (0.16 mmol) 3-BOC-AminoEt-salicylalkohol **129b**, 26  $\mu$ L (0.29 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 45  $\mu$ L (0.55 mmol) abs. Pyridin in 3 mL abs. Tetrahydrofuran nach AAV 7 Variante I umgesetzt.



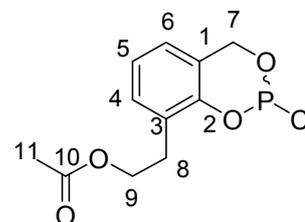
**Ausbeute:** Es wurden 45 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 53 mg).

**<sup>1</sup>H-NMR**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.13-7.10 (m, 1H, H4), 7.09-7.02 (m, 1H, H6), 6.85 (d, 1H, H5), 5.39 (dd, 2H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 2.3 Hz, 1x H7), 5.10 (s, 2H,

H11), 5.05-4.99 (m, 1H, 1x H7), 3.52-3.48 (m, 2H, H9), 2.60-2.56 (m, 2 H, H8) 1.13 (s, 9H, H12);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 150.52.

### 8.2.6.3 Synthese von 3-AcEt-saligenylchlorphosphit **81a**

Es wurden 825 mg (3.90 mmol) 3-AcEt-salicylalkohol **78a**, 0.41 mL (4.7 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.73 mL (9.0 mmol) abs. Pyridin in 20 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



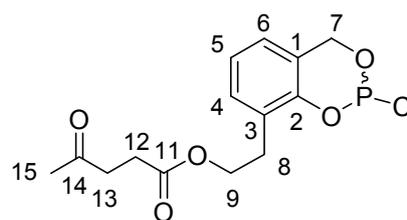
**81a**

**Ausbeute:** Es wurden 740 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 1.07 g).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.15 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H4), 7.04 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H6), 6.87 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H5), 5.43 (dd, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 1.5$  Hz, 1x H7), 5.03 (dd, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 1.5$  Hz, 1x H7), 4.26 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz, H9), 2.96 (t, 2 H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz, H8), 2.03 (s, 3H, H11);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 141.57.

### 8.2.6.4 Synthese von 3-LevEt-saligenylchlorphosphit **81b**

Es wurden 500 mg (1.90 mmol) 3-LevEt-salicylalkohol **78b**, 0.20 mL (2.3 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.35 mL (4.4 mmol) abs. Pyridin in 15 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



**81b**

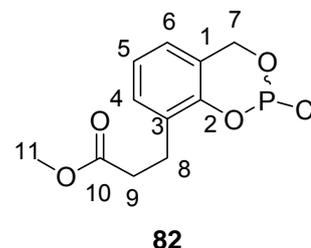
**Ausbeute:** Es wurden 461 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 628 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.17 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, H4), 7.05 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, H5), 6.88 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, H6), 4.96 (dd, 2x 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 9.5$  Hz), 4.55 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H9), 2.97 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, H8), 2.74 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz, H11),

2.57 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz, H12), 2.18 (s, 3H, H14);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 141.50

#### 8.2.6.5 Synthese von 3-MePr-saligenylchlorphosphit **82**

Es wurden 1.08 mg (5.15 mmol) 3-MePr-salicylalkohol **79**, 0.54 mL (6.2 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.96 mL (11.8 mmol) abs. Pyridin in 25 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.

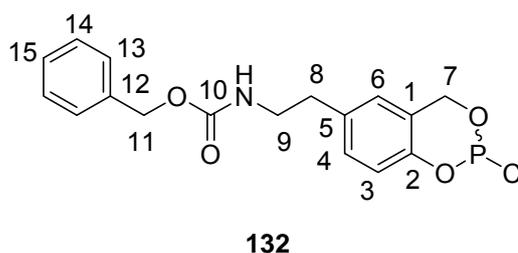


**Ausbeute:** Es wurden 1.28 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 1.41 g).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.15 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H4), 7.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H6), 6.84 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H5), 5.42 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 1.5$  Hz, H7), 5.03 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.9$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 1.5$  Hz, H7), 3.67 (s, 3H, H11), 2.95 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H8), 2.61 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz, H9);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 141.37

#### 8.2.6.6 Synthese von 5-CBZ-AminoEt-saligenylchlorphosphit **132**

Es wurden 1.20 g (3.98 mmol) 5-CBZ-AminoEt-salicylalkohol **130**, 0.42 mL (4.8 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.80 mL (9.2 mmol) abs. Pyridin in 20 mL abs. Tetrahydrofuran nach AAV 7 Variante I umgesetzt.



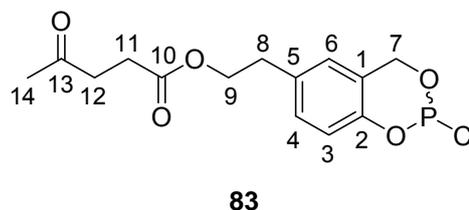
**Ausbeute:** Es wurden 856 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 1.45 g).

$^1\text{H-NMR}$   $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.42-7.35 (m, 5H, H13, H14, H15), 7.14-7.07 (m, 1H, H4), 6.99-6.92 (m, 1H, H6), 6.81 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, H5), 5.45-5.40 (m, 2H, 1x

H7), 5.13 (s, 2H, H11), 5.07-5.00 (m, 1H, 1x H7), 3.78-3.54 (m, 2H, H9), 2.85-2.75 (m, 2H, H8);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 139.86.

### 8.2.6.7 Synthese von 5-LevEt-saligenylchlorphosphit **83**

Es wurden 1.1 g (54.1 mmol) 5-LevEt-salicylalkohol **80**, 0.43 mL (5.0 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.78 mL (9.5 mmol) abs. Pyridin in 50 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.

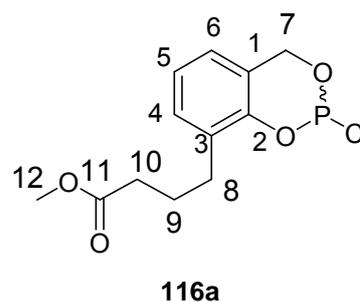


**Ausbeute:** Es wurden 1.32 g eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 1.37 g).

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] 7.16 (d, 1 H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H3), 7.10-7.03 (m, 1H, H-Aryl), 6.95-6.84 (m, 1H, H-Aryl), 5.42 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz, 1x H7), 5.04 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 9.6$  Hz, 1x H7), 4.26 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, H9), 2.95 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, H8), 2.73 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, H12), 2.56 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, H13), 2.18 (s, 3H, H14);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 140.42

### 8.2.6.8 Synthese von 3-MeBu-saligenylchlorphosphit **116a**

Es wurden 451 mg (2.0 mmol) 3-MeBu-salicylalkohol **111a**, 0.21 mL (2.4 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.37 mL (4.6 mmol) abs. Pyridin in 30 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



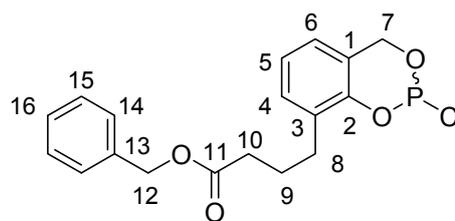
**Ausbeute:** Es wurden 352 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 576 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.17-7.09 (m, 1H, Aryl-H), 7.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H5), 6.86-6.82 (m, 1H, Aryl-H), 5.49-5.40 (m, 1H, 1x H7), 5.05-4.95 (m, 1H, 1x H7), 3.67 (s, 3H, H12), 2.66 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H8), 2.34 (t,

2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H10), 1.93 (tt, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, H9);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 141.42.

#### 8.2.6.9 Synthese von 3-BnBu-saligenylchlorphosphit **116b**

Es wurden 250 mg (0.90 mmol) 3-BnBu-salicylalkohol **111b**, 0.09 mL (1.1 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.16 mL (2.0 mmol) abs. Pyridin in 30 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



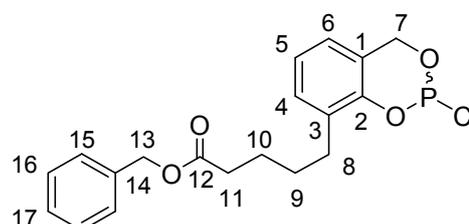
**116b**

**Ausbeute:** Es wurden 260 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 328 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.44-6.75 (m, 8x H, H13-H16, H4, H6, H5), 5.22-5.03, (m, 2x H, H7), 4.78-4.60 (m, 2x H, H12), 2.76-2.52 (m, 2x H, H10), 2.50-2.34 (m, 2x H, H9), 2.02-1.74 (m, 2x H, H8);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 141.50.

#### 8.2.6.10 Synthese von 3-BnPe-saligenylchlorphosphit **117a**

Es wurden 504 mg (1.6 mmol) 3-BnPe-salicylalkohol **112a**, 0.17 mL (1.9 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.30 mL (3.6 mmol) abs. Pyridin in 35 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



**117b**

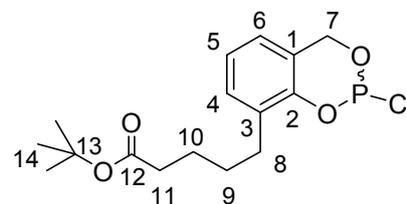
**Ausbeute:** Es wurden 393 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 606 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.40-6.75 (m, 8H, H4, H5, H6, H15, H16, H17), 5.48-5.40 (m, 1H, 1x H7), 5.11 (s, 2H, H13), 5.06-4.98 (m, 1H, 1x

H7), 2.72-2.55 (m, 2H, H11), 2.44-2.36 (m, 2H, H8), 1.75-1.52 (m, 4H, H9, H10);  
<sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 140.89.

#### 8.2.6.11 Synthese von 3-*t*-BuPe-saligenylchlorphosphit **117b**

Es wurden 307 mg (1.09 mmol) 3-*t*-BuPr-salicylalkohol **112b**, 0.13 mL (1.4 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.20 mL (2.5 mmol) abs. Pyridin in 20 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



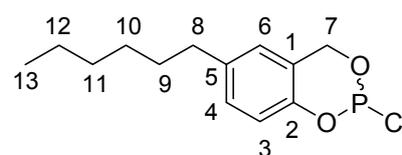
**117b**

**Ausbeute:** Es wurden 397 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 375 mg).

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.11 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H4), 7.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H5), 6.81 (d, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H6), 5.42 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>2</sup>J<sub>HP</sub> = 2.8 Hz, 1x H7), 5.02 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 9.6 Hz, 1x H7), 2.64-2.54 (m, 2H, H8), 2.28-2.19 (m, 2H, H11), 1.68-1.55 (m, 4H, H9, H10), 1.44 (s, 9H, H14); <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 140.45.

#### 8.2.6.12 Synthese von 5-Hexyl-saligenylchlorphosphit **120**

Es wurden 200 mg (0.96 mmol) 5-Hexyl-salicylalkohol **110**, 0.10 mL (1.2 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.19 mL (2.3 mmol) abs. Pyridin in 10 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



**120**

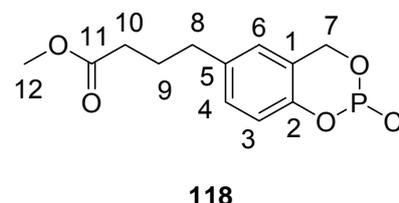
**Ausbeute:** Es wurden 232 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 262 mg).

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H4), 6.88 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, H3), 6.77 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz; H6), 5.43 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 2.6 Hz, 1x H7), 5.00 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 2.6 Hz, 1x H7), 2.54 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H8), 1.57 (m, 2H, H9), 1.35-1.25 (m,

6H, H10, H11, H12), 0.88-0.82 (m, 3H, H13);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 140.40.

### 8.2.6.13 Synthese von 5-MeBu-saligenylchlorphosphit **118**

Es wurden 550 mg (2.45 mmol) 5-MeBu-salicylalkohol **113**, 0.26 mL (3.0 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.46 mL (5.6 mmol) abs. Pyridin in 30 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.

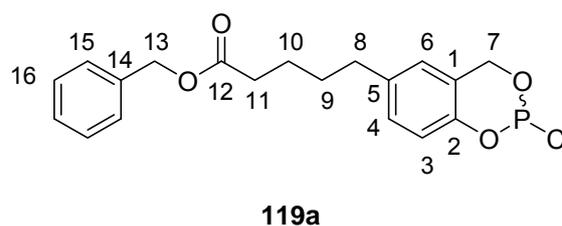


**Ausbeute:** Es wurden 585 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 707 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.06 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, H4), 6.89 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz, H3), 6.78 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, H6), 5.42 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 2.3$  Hz, 1x H7), 4.99 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 2.3$  Hz, 1x H7), 3.67 (s, 3H, H12), 2.59 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H8), 2.32 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H10), 1.91 (q, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H9);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 140.64.

### 8.2.6.14 Synthese von 5-BnPe-saligenylchlorphosphit **119a**

Es wurden 1.10 mg (3.50 mmol) 5-BnPe-salicylalkohol **114a**, 0.37 mL (4.2 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.65 mL (8.1 mmol) abs. Pyridin in 30 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



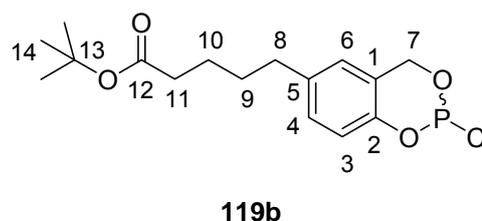
**Ausbeute:** Es wurden 1.21 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 1.33 g).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.40–7.29 (m, 5H, Aryl-H), 7.03 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, H4), 6.87 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.2$  Hz, H3), 6.74 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, H6), 5.41 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 2.4$  Hz, 1x H7), 5.12 (s,

2H, H13), 4.98 (dd, 1H,  $^2J_{H,H} = 14.2$  Hz,  $^3J_{PH} = 9.6$  Hz, 1x H7), 2.56 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.3$  Hz, H8), 2.38 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.3$  Hz, H11), 1.73-1.55 (m, 4H, H9, H10);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 140.73.

#### 8.2.6.15 Synthese von 5-*t*-BuPe-saligenylchlorphosphit **119b**

Es wurden 421 mg (1.5 mmol) 3-*t*-BuPe-salicylalkohol **114b**, 0.16 mL (1.8 mmol) Phosphor(III)-chlorid und 0.28 mL (3.5 mmol) abs. Pyridin in 15 mL abs. Diethylether nach AAV 7 umgesetzt.



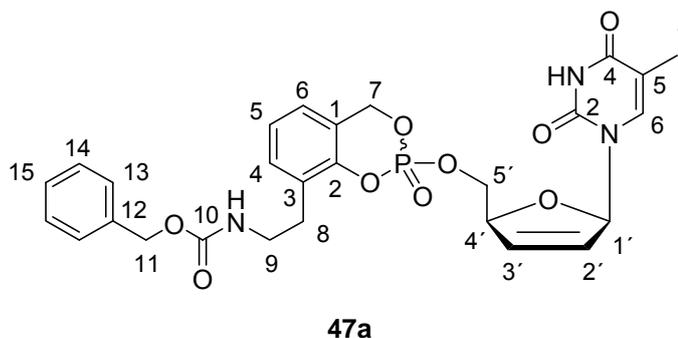
**Ausbeute:** Es wurden 459 mg eines noch verunreinigten schwach gelben Öls als Gemisch von 2 Enantiomeren erhalten (100% Ausbeute: 518 mg).

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (Rohprodukt, 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.05 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.5$  Hz,  $^4J_{HH} = 2.2$  Hz, H4), 6.88 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.5$  Hz, H3), 6.76 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 2.2$  Hz, H6), 5.42 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 14.2$  Hz,  $^3J_{PH} = 2.4$  Hz, 1x H7), 5.00 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 14.2$  Hz,  $^3J_{PH} = 9.7$  Hz, 1x H7), 2.57-2.54 (m, 2H, H8), 2.48-2.22 (m, 2H, H11), 1.69-1.53 (m, 4H, H9, H10), 1.43 (s, 9H, H14);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 140.4.

## 8.2.7 Synthese *cyclo*Sal-Nucleosid-Monophosphate

### 8.2.7.1 Synthese von 3-CBZ-AminoEt-*cyclo*Sal-d4T-Monophosphat **47a**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol) d4T **2**, 660 mg noch verunreinigtes 5-CBZ-AminoEt-saligenylchlorphosphit **131a**, 0.26 mL (1.5 mmol) DIPEA, 330  $\mu$ L einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan



(1.80 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante III umgesetzt.

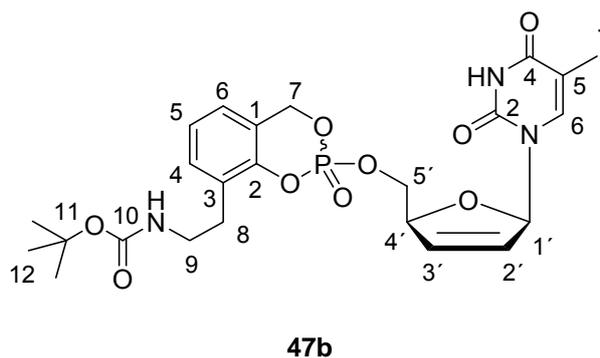
**Ausbeute:** Es wurden 268 mg (0.47 mmol, 47%) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.36 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 11.34 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 7.40-7.25 (m, 2x 6H, 2x H13, 2x H14, 2x H15, 2x NH), 7.26-7.20 (m, 2x 1H, 2x H4), 7.19-7.17 (m, 2x 1H, 2x Thymin-H6), 7.16-7.08 (m, 2x 2 H, 2x H6, 2x H5), 6.83-6.73 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.46-6.40 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.39-6.30 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.08-6.00 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.47 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{HH} = 14.9$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.4$  Hz), 5.36 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{HH} = 14.5$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.6$  Hz), 5.00 (s, 1x 2H, 1x H11), 4.99 (s, 1x 2H, 1x H11), 4.98-4.90 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.22 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.25-3.18 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.79-2.70 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.70-1.63 (m, 1x 3H, 1x Thymin-H7), 1.60 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 0.9$  Hz, 1x Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 164.14 (2x Thymin-C4), 155.94 (C10), 151.12 (2x Thymin-C2), 148.15 (2x C2), 137.08 (2x C12), 136.04 (2x Thymin-C6), 133.10 (2x C3'), 131.28 (2x C4), 130.10 (2x C1), 128.21 (C-Aryl), 127.63 (C-Aryl), 127.56 (C-Aryl), 127.74 (2x C2'), 125.05 (2x C6), 124.54 (2x C5), 121.66 (2x C3), 110.09 (2x Thymin-C5), 89.53 (2x C1'), 84.43 (2x C4'), 68.99 (2x C5'), 68.56 (2x C7), 64.96 (2x C11), 39.99 (2x C9), 28.47 (2x C8), 12.03 (1x Thymin-C7), 11.93 (1x Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.31; **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.56;

**HRMS** (FAB): berechnet: 570.1641 ( $M+H^+$ ), gefunden: 570.1641; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3422, 2925, 1696, 1560, 1534, 1465, 1247, 1187, 1113, 1087, 1022, 943, 778, 698; **HPLC**:  $t_R = 14.43$  min (Methode I),  $t_R = 19.04$  min (Methode V); **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 264.

### 8.2.7.2 Synthese von 3-BOC-AminoEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **47b**

Es wurden 24 mg (0.11 mmol) d4T **2**, 45 mg noch verunreinigtes 3-BOC-AminoEt-saligenylchlorphosphit **131b**, 38  $\mu\text{L}$  (0.22 mmol) DIPEA, 31  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (0.17 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 2.5 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante III umgesetzt.



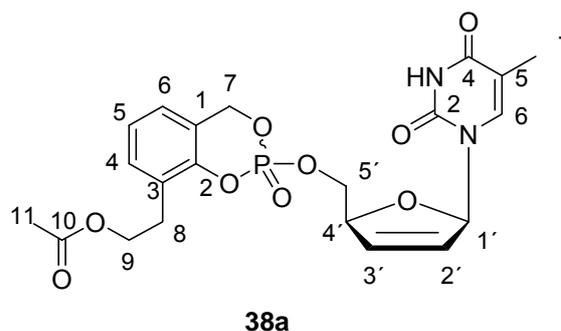
**Ausbeute:** Es wurden 16 mg (27  $\mu\text{mol}$ , 28%) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.8 erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (700 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 11.36 (s, 1x 1H, 1x NH), 11.34 (s, 1x 1H, 1x NH), 7.21 (d, 2x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, 2x H4), 7.20 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.19 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.15-7.09 (m, 2x 2 H, 2x H5, 2x H6), 7.07-6.95 (m, 2H, 2x NH), 6.81 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^5J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H1'), 6.79 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H1'), 6.42 (d, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.8$  Hz, 1x H3'), 6.39 (dd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H3'), 6.04-6.00 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.50-5.45 (m, 2x 1H, 1x H7), 5.42-5.35 (m, 2x 1H, 1x H7), 5.00-4.93 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.27 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.15-3.07 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.75-2.65 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.66 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7), 1.60 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7), 1.35 (s, 1x 9H, 1x H12), 1.34 (s, 1x 9H, 1x H12);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (176 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) 164.14 (2x Thymin-C4), 156.05 (C10), 151.12 (2x Thymin-C2), 148.15 (2x C2), 136.04 (2x Thymin-C6), 133.10 (2x C3'), 131.28 (2x C4), 130.10 (2x C1), 127.74 (2x C2'), 125.05 (2x C6), 124.54 (2x C5), 121.66 (2x C3), 110.09 (2x Thymin-C5), 89.53 (2x C1'), 84.43 (2x C4'), 77.72 (2x C11), 68.99 (2x C5'), 68.56 (2x C7), 40.27 (2x C9), 29.13 (2x C12), 28.27 (2x

C8), 11.93 (2x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.33; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.53 **MS** (FAB): berechnet: 536.3 ( $M+H^+$ ), gefunden: 536.3

### 8.2.7.3 Synthese von 3-AcEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **38a**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol) d4T **2**, 397 mg noch verunreinigtes 3-AcEt-saligenylchlorphosphit **81a**, 0.33 mL (2.00 mmol) DIPEA, 680  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.40 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 umgesetzt.



**Ausbeute:** Es wurden 180 mg (0.38 mmol, 38 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) 11.32 (s, 2x 1H, 2x NH), 7.29 (d, 2x 1H, 2x H-4), 7.22-7.17 (m, 2x 1H, 2x Thymin-H6), 7.10-7.16 (m, 2x 2 H, 2x H5, 2x H-6), 6.78-6.82 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.36-6.41 (m, 2x 1H, 2x H3'), 6.00-6.04 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.51 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.8$  Hz), 5.40 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.8$  Hz), 4.99-4.92 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.26-4.34 (m, 2x 2H, 2x H5'), 4.12-4.23 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.82-2.98 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.96 (s, 1 x 3H, 1x H11), 1.95 (s, 1 x 3H, 1x H11) 1.63 (s, 2x 3H, 2x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) 173.15 (2x C10), 164.00 (2x Thymin-C4), 150.85 (2x Thymin-C2), 148.15 (2x C2), 136.04 (2x Thymin-C6), 133.10 (2x C3'), 131.28 (2x C4), 130.10 (2x C1), 127.74 (2x C2'), 125.05 (2x C6), 124.54 (2x C5), 121.66 (2x C3), 110.09 (2x Thymin-C5), 89.53 (2x C1'), 84.43 (2x C4'), 68.99 (2x C5'), 68.56 (2x C7), 63.13 (2x C9), 28.47 (2x C8), 20.97 (2x C11), 12.07 (2x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO- $d_6$ ) -7.49, -7.64; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.51; **HRMS** (FAB): berechnet: 479.1219 ( $M+H^+$ ), gefunden: 479,1225; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3431,1684, 1465, 1245, 1040; **HPLC**:  $t_R = 13.28, 13.44$  (Methode I),  $t_R = 11.12, 11.21$  (Methode II),  $t_R = 36.88, 41.79$  (Präparativ); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 266.

---

**8.2.7.4 3-AcEt-cycloSal-d4TMP 38a fast**

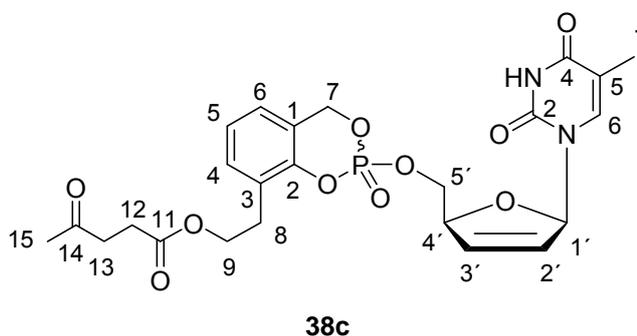
**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.33 (s, 1H, NH), 7.29 (d, 1H, H4, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz), 7.20-7.12 (m, 3H, H5, H6, Thymin-H6), 6.80 (d, 1H, H1', <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.3 Hz), 6.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.7 Hz, H3'), 6.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, H2'), 5.48 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.7 Hz, 1x H7), 5.38 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.7 Hz, 1x H7), 4.99-4.44 (m, 1H, H4'), 4.33-4.26 (m, 2H, H5'), 4.22-4.22 (m, 2H, H9), 2.98-2.82 (m, 2H, H8), 1.95 (s, 3H, H11), 1.60 (s, 3H, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 170.60 (C10), 164.07 (Thymin-C4), 151.05 (Thymin-C2), 148.52 (C2), 135.97 (Thymin-C6), 133.14 (C3'), 133.10 (C4), 131.17 (C1), 127.76 (C2'), 125.5 (C6), 124.58 (C5), 122.21 (C3), 110.08 (Thymin-C5), 89.48 (C1'), 84.53 (C4'), 69.04 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.1 Hz, C5'), 68.60 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.1 Hz, C7), 63.12 (C9), 28.48 (C8), 20.97 (C11), 12.09 (Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) -7.64; **HPLC:** t<sub>R</sub> = 13.28 (Methode I), t<sub>R</sub> = 11.12 (Methode II), t<sub>R</sub> = 36.88 (Präparativ).

**8.2.7.5 3-AcEt-cycloSal-d4TMP 38a slow**

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 11.31 (s, 1H, NH), 7.29 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H4), 7.20-7.12 (m, 3H, H5, H6, Thymin-H6), 6.79 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H1'), 6.41 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H3'), 6.03 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H2'), 5.47 (d, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.7 Hz, H7), 5.44 (d, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.7 Hz, H7), 4.98-4.92 (m, 1H, H4'), 4.32-4.29 (m, 2H, H5'), 4.25-4.13 (m, 2H, H9), 2.98-2.84 (m, 2H, H8), 1.96 (s, 3H, H11), 1.64 (s, 3H, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.19 (C10), 164.10 (Thymin-C4), 151.06 (Thymin-C2), 148.17 (C2), 136.04 (Thymin-C6), 133.17 (C3'), 131.31 (C4), 130.16 (C1), 127.59 (C2'), 125.01 (C6), 124.53 (C5), 121.66 (C3), 110.09 (Thymin-C5), 89.58 (C1'), 84.45 (C4'), 68.99 (C5'), 68.51 (C7), 63.18 (C9), 28.45 (C8), 20.99 (C11), 12.19 (Thymin-C7); **HPLC:** t<sub>R</sub> = 13.44 (Methode I), t<sub>R</sub> = 11.31 (Methode II), t<sub>R</sub> = 41.79 (Präparativ).

8.2.7.6 Synthese von 3-LevEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **38c**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol) d4T **2**, 604 mg noch verunreinigtes 3-LevEt-saligenylchlorphosphit **81b**, 0.33 mL (1.1 mmol) DIPEA, 660  $\mu$ L einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (2.25 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 umgesetzt.



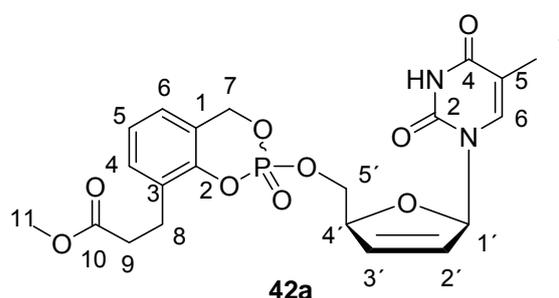
**Ausbeute:** Es wurden 204 mg (0.38 mmol, 38 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.9 erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) 11.35 (s, 1x 1H, 1x NH), 11.33 (s, 1x 1H, 1xNH), 7.33–7.29 (m, 2x 1H, 2x H6), 7.21–7.13 (m, 2x 3H, 2x Thymin-H6, 2x H4, 2x H5), 6.83-6.80 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.41 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 1x H3'), 6.38 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, 1x H3'), 6.04 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, 1x H2'), 6.02 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, 1x H2'), 5.51 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.2$  Hz, 1x H7), 5.47 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.2$  Hz, 1x H7), 5.40 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.0$  Hz, 1x H7), 5.37 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 7.0$  Hz, 1x H7), 4.99-4.95 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.26 (m, 2x 2H, 2x H5'), 4.23-4.13 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.96-2.83 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.68 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H11), 2.67 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz, H11), 2.43 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz, H12), 2.42 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H12), 2.08 (s, 2x 3H, 2x H15), 1.66 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.61 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz, 1x Thymin-H7);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ) 207.14 (2x C14); 172.54 (2x C10), 163.69 (2x Thymin-C4), 155.71 (2x C2), 150.67 (2x Thymin-C2), 135.66 (1x Thymin-C6), 135.60 (1x Thymin-C6), 132.71 (1x C3'), 132.78 (1x C3'), 130.84 (1x C6), 130.93 (1x C6), 127.33 (1x C2'), 127.36 (1x C2'), 126.98 (1x C3), 127.05 (1x C3), 124.62 (1x C5), 124.65 (1x C5), 124.15 (2x C4), 120.36 (2x C1), 109.65 (1x Thymin-C5), 109.70 (1x Thymin-C5), 89.12 (1x C1'), 89.22 (1x C1'), 84.07 (1x C4'), 84.13 (1x C4'), 68.63 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 2.5$  Hz, 1x C5'), 68.57 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 2.0$  Hz, 1x C5'), 68.23 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 4.6$  Hz,

1x C7), 68.17 (d,  $^3J_{CP} = 4.4$  Hz, 1x C7), 62.85 (1x C9), 62.89 (1x C9), 37.34 (2x C11), 29.47 (2x C15), 28.07 (2x C8), 27.53 (1x C12), 27.55 (1x C12), 11.82 (1x Thymin-C7), 11.71 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ) -7.52, -7.60; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.42; **MS** (ESI $^+$ ): berechnet: 557.16 (M+Na $^+$ ), gefunden: 557.16; **HPLC**:  $t_R = 12.22$  min (Methode I),  $t_R = 11.41, 11.23$  (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 265.

#### 8.2.7.7 Synthese von 3-MePr-cycloSal-d4T-Monophosphat **42a**

Es wurden 230 mg (1.04 mmol) d4T **2**, 560 mg noch verunreinigtes 3-MePr-saligenylchlorphosphit **79**, 0.35 mL (2.05 mmol) DIPEA, 700  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.40 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV X umgesetzt.



**Ausbeute:** Es wurden 270 mg (0.56 mmol, 56 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.33 (s, 2x 1H, 2x NH), 7.29-7.22 (m, 2x 1H, 2x H4), 7.24-7.18 (m, 2x 1H, 2x Thymin-H6), 7.16-7.10 (m, 2x 2H, 2x H5, 2x H6), 6.82-6.79 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.42-6.35 (m, 2x 1H, 2x H3'), 6.04-5.99 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.51 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^2J_{\text{HP}} = 6.8$  Hz, 1x H7), 5.46 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.9$  Hz,  $^2J_{\text{HP}} = 7.4$  Hz, 1x H7), 5.40 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^2J_{\text{HP}} = 6.8$  Hz, 1x H7), 5.37 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.9$  Hz,  $^2J_{\text{HP}} = 7.4$  Hz, 1x H7), 4.99-4.93 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.34-4.25 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.58 (s, 1 x 3H, 1 x H11), 3.57 (s, 1 x 3H, 1 x H11), 2.89-2.79 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.62-2.56 (m, 2x 2H, 2x H9), 1.63 (s, 2x 3H, 2x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.69 (2x C10), 164.07 (2x Thymin-C4), 151.06 (2x C2), 148.20 (2x Thymin-C2), 136.06 (2x Thymin-C6), 133.18 (2x C3'), 133.07 (2x C4), 130.40 (2x C1), 127.71 (2x C2'), 125.70 (2x C6), 124.55 (2x C5), 121.82 (2x C3), 110.02 (2x Thymin-C5), 89.57 (2x C1'), 84.53 (C4'), 68.93 (2x C5'), 68.59 (2x C7), 51.74 (2x C11), 33.48 (2x C9), 24.45 (2x C8), 12.24 (2x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO- $d_6$ ) -7.51, -7.60; **DC**:  $R_f$

Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.51; **HRMS** (FAB): berechnet: 479.1219 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 479,1248; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3447, 2996, 1700,1684, 1560, 1465, 1299, 1190, 1085, 1018; **HPLC**:  $t_R$  = 13.20, 13.38 (Methode I),  $t_R$  = 11.23, 11.41 (Methode II),  $t_R$  = 39.02, 44.24 (Präparativ); **UV** (HPLC)  $\lambda_{max}$  [nm]: 266.

#### 8.2.7.8 3-MePr-cycloSal-d4TMP **42a fast**

**<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 11.31 (s, 1H, NH), 7.27 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H4), 7.24-7.18 (m, 1H, 1x Thymin-H6), 7.15-7.09 (m, 2H, H5, H6), 6.79 (ddd, 1H <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H1'), 6.40 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H3'), 6.03 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H2'), 5.46 (d, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 15.9 Hz, 1x H7), 5.36 (d, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 15.9 Hz, 1x H7), 4.99-4.93 (m, 1H, H4'), 4.32-4.29 (m, 2H, H5'), 3.58 (s, 3H, H11), 2.92-2.82 (m, 2H, H8), 2.59 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H9), 1.63 (s, 3H, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 172.75 (C10), 164.07 (Thymin-C4), 151.06 (Thymin-C2), 148.21 (C2), 136.17 (C6), 133.20 (C3'), 133.17 (C4), 130.45 (C1), 127.72 (C2'), 125.73 (C6), 124.54 (C5), 121.82 (C3), 110.02 (C5), 89.56 (C1'), 84.53 (C4'), 68.96 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C5'), 68.59 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C7), 51.76 (C11), 33.48 (C9), 24.40 (C8), 12.20 (Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR**:  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) -7.51; **HPLC**:  $t_R$  = 13.20 (Methode I),  $t_R$  = 11.23 (Methode II),  $t_R$  = 39.02 (Präparativ).

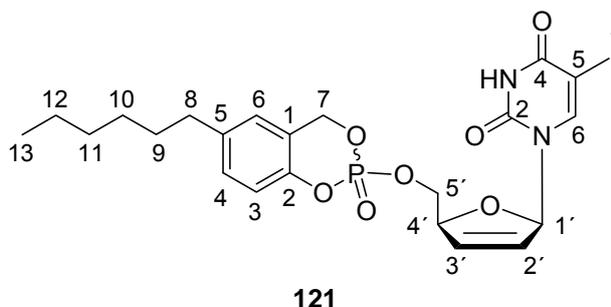
#### 8.2.7.9 3-MePr-cycloSal-d4TMP **42a slow**

**<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.32 (s, 1H, NH), 7.26 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H4), 7.24-7.17 (m, 1H, Thymin-H6), 7.16-7.10 (m, 2H, H5, H6), 6.82-6.78 (m, 1H, H1'), 6.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H3'), 6.03 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H2'), 5.48 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.9 Hz, 1x H7), 5.38 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.9 Hz, 1x H7), 4.98-4.94 (m, 1H, H4'), 4.35-4.25 (m, 2H, H5'), 3.57 (s, 3H, H11), 2.90-2.79 (m, 2H, H8), 2.58 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H9), 1.59 (s, 3H, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 172.69 (C10), 164.06 (Thymin-C4), 151.04 (Thymin-C2), 148.21 (C2), 135.95 (Thymin-C6), 133.14 (C3'), 133.07 (C4), 130.51 (C1), 127.76 (C2'), 125.76 (C6), 124.54 (C5), 121.84 (C3), 110.06 (Thymin-C5), 89.49 (C1'), 84.53 (C4'), 69.00 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 6.1 Hz, C5'), 68.63 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.1 Hz, C7), 51.74 (C11), 33.43 (C9), 24.46

(C8), 12.09 (C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO- $d_6$ ): -7.60; **HPLC**:  $t_R$  = 13.38 (Methode I),  $t_R$  = 11.41 (Methode II),  $t_R$  = 44.24 (Präparativ).

### 8.2.7.10 Synthese von 5-Hexyl-cycloSal-d4T-Monophosphat **121**

Es wurden 159 mg (700  $\mu\text{mol}$ ) d4T **2**, 232 mg noch verunreinigtes 5-Hexylsaligenylchlorphosphit **120**, 0.20 mL (1.1 mmol) DIPEA, 233  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (1.26 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 14 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante III umgesetzt.



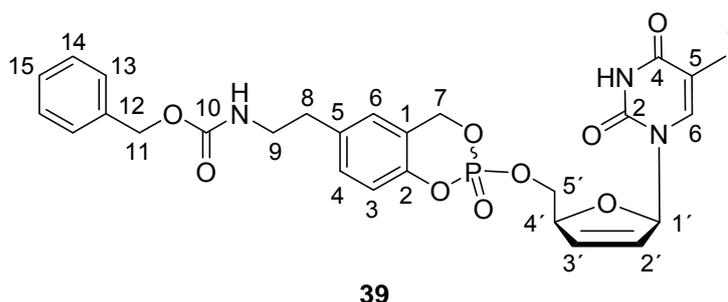
**Ausbeute:** Es wurden 90 mg (189  $\mu\text{mol}$ , 27 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.35 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 11.34 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 7.19 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.18-7.16 (m, 2x 1H, 2x H6), 7.16 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.12-7.08 (m, 2x 1H, 2x H3), 7.08-7.02 (m, 2x 1 H, 2x H4), 6.81 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H1'), 6.79 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H1'), 6.41 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H3'), 6.35 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H3'), 6.02 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 1x H2'), 6.00 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, 1x H2'), 5.45 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{\text{HH}} = 15.3$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 5.2$  Hz), 5.35 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{\text{HH}} = 15.3$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 10.7$  Hz), 4.99-4.93 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.23 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.55-2.50 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.66 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz 1x Thymin-H7), 1.60 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz 1x Thymin-H7), 1.59-1.51 (m, 2x 2H, 2x H9), 1.31-1.20 (m, 2x 6H, 2x H10, 2x H11, 2x H12), 0.90-0.80 (m, 2x 3H, 2x H13);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 163.41 (2x Thymin-C4), 150.55 (1x Thymin-C2), 150.53 (1x Thymin-C2) 147.85 (2x C2), 135.57 (2x Thymin-C6), 135.50 (2x C5), 132.74 (1x C3'), 132.67 (1x C3'), 129.85 (2x C4), 127.21 (1x C2'), 127.17 (1x C2'), 124,55 (2x C6), 120.61 (2x C1), 117.81 (2x C3), 109.54 (2x Thymin-C5), 89.03 (2x C1'), 83.95 (2x C4'), 68.27 (1x C5'), 68.25 (1x C5'), 68.16 (d,

$^2J_{CP} = 6.5$  Hz, 2x C7) 41.51 (2x C9), 34.38 (2x C8), 31.10 (C-Alkyl), 28.33 (C-Alkyl), 24.55 (C15), 22.05 (C-Alkyl), 13.96 (2x C13), 11.79 (1x Thymin-C7), 11.71 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -9.12; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.84; **HRMS** (FAB): berechnet 477.1791 ( $M+H^+$ ), gefunden 477.1793; **HPLC**:  $t_R = 19.57$  (Methode I); **UV** (HPLC)  $\lambda_{max}$  [nm]: 265.

### 8.2.7.11 Synthese von 5-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **39**

Es wurden 336 mg  
(1.50 mmol) d4T **2**, 658 mg  
noch verunreinigtes 5-CBZ-  
AminoEt-saligenyl-  
chlorphosphit **132**, 0.39 mL  
(2.3 mmol) DIPEA, 490  $\mu\text{L}$



einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (2.70 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 30 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante III umgesetzt.

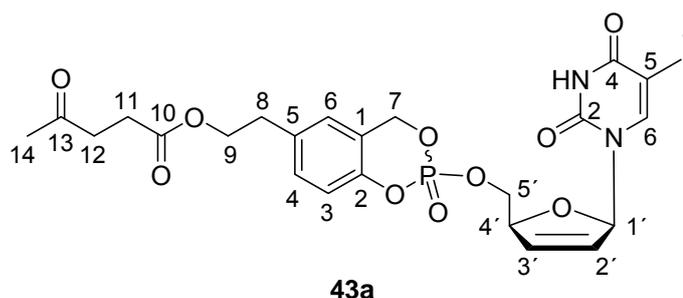
**Ausbeute:** Es wurden 554 mg (0.97 mmol, 65 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.7 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.34 (s, 2x 1H, 2x Thymin-NH), 7.40-7.28 (m, 2x 6H, 2x H13, 2x H14, 2x H15, 2x NH), 7.21-7.05 (m, 2x 3H, 2x H4, 2x Thymin-H6, 2x H6), 7.04-7.00 (m, 2x 1H, 2x H3), 6.81-6.77 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.41 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.7$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.7$  Hz, 1x H3'), 6.35 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.7$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.7$  Hz, 1x H3'), 6.02 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.3$  Hz,  $^4J_{HH} = 2.4$  Hz, 1x H2'), 6.00 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.3$  Hz,  $^4J_{HH} = 2.4$  Hz, 1x H2'), 5.45 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{HH} = 14.5$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.4$  Hz), 5.36 (dd, 2x 1H, H7,  $^2J_{HH} = 14.5$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.3$  Hz), 5.00 (s, 2x 2H, 2x H11), 4.99-4.92 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.22 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.23-3.18 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.72-2.68 (m, 2x 2H,  $^3J_{HH} = 7.2$  Hz, 2x H8), 1.68 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz 1x Thymin-H7), 1.62 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz 1x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 163.59 (2x Thymin-C4), 155.92 (2x C10), 150.59 (1x Thymin-C2), 150.57 (1x Thymin-C2) 147.90 (2x C2), 137.11 (2x C12), 135.57 (2x Thymin-C6), 135.50 (2x C5), 132.74 (1x C3'), 132.67 (1x C3'), 129.94 (1x C4), 129.85 (1x C4), 128.21 (C-

Aryl), 127.63 (C-Aryl), 127,56 (C-Aryl), 127.21 (1x C2'), 127.17 (1x C2'), 120.61 (2x C1), 117.81 (d,  $^3J_{CP} = 9.2$  Hz, 1x C3), 117.78 (d,  $^3J_{CP} = 8.2$  Hz, 1x C3), 109.54 (2x Thymin-C5), 89.03 (2x C1'), 84.04 (1x C4'), 83.95 (1x C4'), 68.27 (1x C5'), 68.25 (1x C5'), 68.16 (d,  $^2J_{CP} = 6.5$  Hz, 2x C7), 65.02 (2x C11), 41.51 (2x C9), 34.38 (2x C8), 11.79 (1x Thymin-C7), 11.71 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -9.23, -9.28; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.52; **HRMS** (FAB): berechnet 570.1641 (M+H $^+$ ), gefunden 570.1641; **IR** (KBr)  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3425, 2925, 2359, 1701, 1691, 1649, 1632, 1496, 1465, 1453, 1252, 1206, 1114, 1086, 1028, 994, 948; **HPLC**:  $t_R = 15.09$  min (Methode III),  $t_R = 21.44$  min (Methode V); **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 265.

### 8.2.7.12 Synthese von 5-LevEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **43a**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol)  
d4T **2**, 595 mg noch  
verunreinigtes 5-LevEt-  
saligenylchlorphosphit **83**,  
0.30 mL (1.5 mmol) DIPEA,  
550  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von



*t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.00 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 umgesetzt.

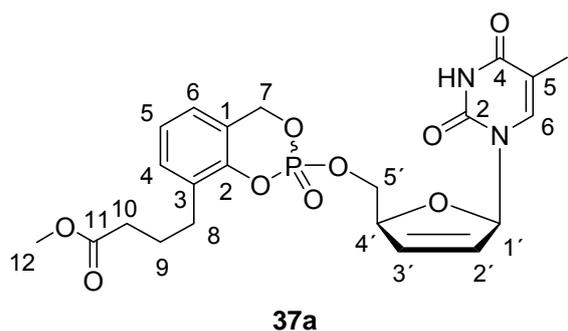
**Ausbeute:** Es wurden 250 mg (0.47 mmol, 47 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.34 (s, 1H, 1x Thymin-NH), 11.32 (s, 1H, 1x Thymin-NH), 7.35-7.32 (m, 1x 1H, 1x Thymin-H6), 7.31-7.29 (m, 1x 1H, 1x Thymin-H6), 7.21-7.11 (m, 2x 3H, 2x H6, 2x H4, 2x H3), 6.83-6.78 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.41 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H3'), 6.40 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H3'), 6.38 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H3'), 6.36 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H3'), 6.05-5.99 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.49 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.2$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.5$  Hz, 1x H7), 5.46 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.2$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.5$  Hz, 1x H7), 5.39 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.1$  Hz, 1x H7), 5.36 (dd, 1x 1H,

$^2J_{\text{HH}} = 13.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.1$  Hz, 1x H7), 4.99-4.92 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.27 (m, 2x 2H, 2x H5'), 4.23-4.11 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.97-2.81 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.67 (t, 1x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1x H11), 2.66 (t, 1x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1x H11), 2.42 (t, 1x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1x H12), 2.41 (t, 1x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 1x H12), 2.09 (s, 2x 3H, 2x H14), 1.65 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.60 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 207.42 (2x C13), 173.24 (2x C10), 164.45 (2x Thymin-C4), 148.89 (1x Thymin-C2), 148.87 (1x Thymin-C2) 148.28 (2x C2), 136.37 (2x Thymin-C6), 132.72 (1x C3'), 132.68 (1x C3'), 122.21 (2x C1), 127.91 (2x C2'), 110.25 (2x Thymin-C5), 89.19 (1x C1'), 89.09 (1x C1'), 84.04 (1x C4'), 84.03 (1x C4'), 68.57 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 5.1$  Hz, 2x C5'), 68.19 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 4.6$  Hz, 2x C7), 62.84 (1x C9), 62.80 (1x C9), 37.30 (2x C11), 29.41 (2x C14), 27.53 (2x C12), 27.50 (2x C8), 11.75 (1x Thymin-C7), 11.65 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.62, -8.70; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.38; **HRMS** (FAB): berechnet: 535.1482 ( $M+H^+$ ), gefunden: 535.1504; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3447, 3074, 2956, 1701, 1466, 1363, 1298, 1246, 1187, 1158, 1112, 1088, 1020, 996, 940; **HPLC**:  $t_R = 12.32$ , 12.53 min (Methode I),  $t_R = 12.51$  min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 265.

### 8.2.7.13 Synthese von 3-MeBu-cycloSal-d4T-Monophosphat **37a**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol) d4T **2**, 350 mg noch verunreinigtes 3-MeBu-saligenylchlorphosphit **116a**, 0.262 mL (1.50 mmol) DIPEA, 500  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.00 mmol *tert*-Butylhydroperoxid) und in 20 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.



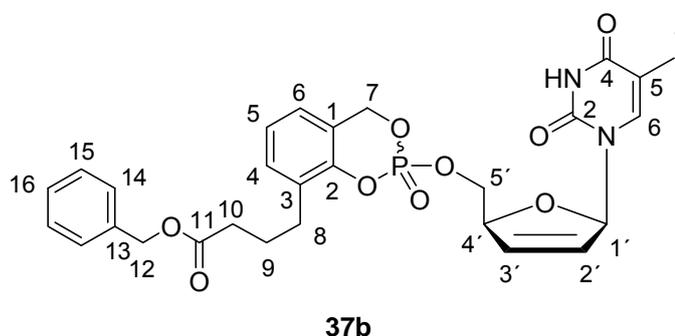
**Ausbeute:** Es wurden 277 mg (0.560 mmol, 56 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.34 (s, 1x 1H, 1x NH), 11.32 (s, 1x 1H, 1x NH), 7.28-7.10 (m, 2x 4H, 2x H4, 2x H5, 2x H6, 2x Thymin-H6), 6.82-6.78 (m, 2x 1H,

2x H1'), 6.38-6.35 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.05-5.99 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.48 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.5$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 6.3$  Hz, 1x H7), 5.44 (dd,  $^2J_{\text{HH}} = 15.5$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 5.7$  Hz, 1x 1H, 1x H7), 5.38 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 6.3$  Hz, 1x H7), 5.34 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 6.3$  Hz, 1x H7), 4.97-4.93 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.34-4.24 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.58 (s, 1x 3H, 1x H12), 3.57 (s, 1x 3H, 1x H12), 2.66-2.54 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.32 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 1x 2H, 1x H10), 2.30 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz, 1x 2H, 1x H10), 1.83-1.75 (m, 2x 2H, 2x H9), 1.62 (d,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x 3H, 1x Thymin-H7) 1.59 (d,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x 3H, 1x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.97 (2x C11), 163.71 (2x Thymin-C4), 150.70 (2x C2), 135.68 (1x C-Aryl), 135.62 (1x C-Aryl), 132.81 (1x C3'), 132.74 (1x C3'), 130.35 (1x C-Aryl), 130.30 (1x C-Aryl), 127.38 (2x C2'), 124.18 (2x C-Aryl), 109.69 (1x Thymin-C5), 109.64 (1x Thymin-C5), 89.19 (1x C1'), 89.11 (1x C1'), 84.18 (1x C4'), 84.10 (1x C4'), 68.61 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 4.5$  Hz, 1x C5'), 68.51 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 4.0$  Hz, 1x C5'), 68.26 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 3.5$  Hz, 1x C7), 68.19 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 3.2$  Hz, 1x C7), 32.66 (1x C9), 32.64 (1x C9), 27.89 (2x C8), 24.59 (1x C10), 24.56 (1x C10), 11.85 (1x Thymin-H7), 11.75 (1x Thymin-H7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.37, -8.51; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.47; **HRMS** (FAB): berechnet: 493.1376 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), gefunden: 493.1377; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3188, 3072, 2951, 1689, 1465, 1366, 1298, 1247, 1189, 1139, 1112, 1087, 996, 941, 881, 848, 778; **HPLC**:  $t_R = 14.5$  min (Methode I),  $t_R = 11.2, 11.1$  min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 267.

#### 8.2.7.14 Synthese von 3-BnBu-*cyclo*Sal-d4T-Monophosphat **37b**

Es wurden 78 mg (0.40 mmol) d4T **2**, 250 mg noch verunreinigtes 3-BnBu-saligenylchlorphosphit **116b**, 0.121 mL (1.50 mmol) DIPEA, 200  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (1.20 mmol *t*-



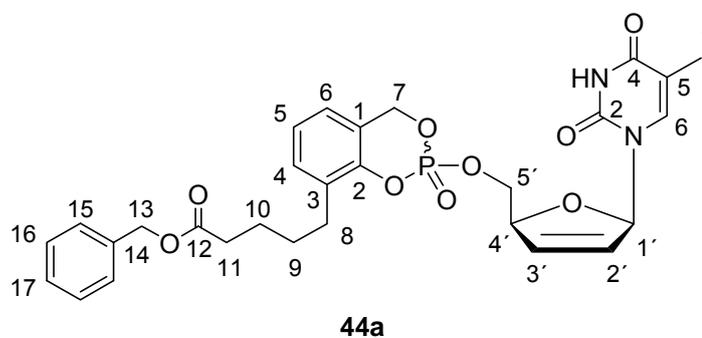
Butylhydroperoxid) und in 8 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 104 mg (0.16 mmol, 53%) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11.34, (s, 1x 1H, Thymin-NH), 11.32, (s, 1x 1H, Thymin-NH), 7.41-7.28 (m, 2x 5H, H13, H14, H15, H16), 7.25-7.08 (m, 2x 4H, H4, H5, H6, Thymin-H6), 6.81-6.77 (m, 2x 1H, H1'), 6.40-6.37 (m, 1x 1H, H3'), 6.37-6.33 (m, 1x 1H, H3'), 6.03-5.97 (m, 2x 1H, H2'), 5.47 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 15.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 5.4 Hz, 1x H7), 5.46 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 15.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 5.0 Hz, 1x H7), 5.36 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 4.7 Hz, 1x H7), 5.35 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 5.4 Hz, 1x H7), 5.08 (s, 1x 2H, H12), 5.07 (s, 1x 2H, H12), 4.96-4.91 (m, 2x 1H, H4'), 4.34-4.22 (m, 2x 2H, H5'), 2.69-2.53 (m, 2x 2H, H8), 2.38 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H10), 2.36 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H10), 1.86-1.76 (m, 2x 2H, H9), 1.63 (d, 1x 3H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.0 Hz, Thymin-H7), 1.58 (d, 1x 3H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.0 Hz, Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 174.20, (2x C11), 165.11 (2x Thymin-C4), 148.67 (2x C2), 136.05 (2x Thymin-C6), 133.16-124.54 (2x C13, 2x C14, 2x C15, 2x C16, 2x C3, 2x C4, 2x C5, 2x C6, 2x C1, 2x Thymin-C5, 2x C2', 2x C3'), 89.55 (1x C1'), 89.47 (1x C1'), 84.53 (1x C4'), 84.46 (1x C4'), 68.93 (1x C7), 68.87 (1x C7), 68.59 (1x C5'), 68.54 (1x C5'), 65.80 (2x C12), 33.23 (1x C10), 33.19 (1x C10), 28.30 (1x C8), 28.23 (1x C8), 24.98 (1x C9), 24.97 (1x C9), 12.32 (1x Thymin-C7), 12.12 (1x Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -8.39, -8.47; **DC:** *R*<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.75; **HRMS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 569.1685 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 569.1689; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3186, 3065, 2950, 1700, 1464, 1299, 1188, 1086, 996, 848, 778, 698, 655; **HPLC:** *t*<sub>R</sub> = 18.00 min (Methode I), *t*<sub>R</sub> = 18.17 min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda$ <sub>max</sub> [nm]: 264.

### 8.2.7.15 Synthese von 3-BnPe-cycloSal-d4T-Monophosphat **44a**

Es wurden 156 mg (0.693 mmol) d4T **2**, 314 mg noch verunreinigtes 3-Bn-BuPe-saligenylchlorphosphit **117a**, 0.182 mL (1.04 mmol) DIPEA, 378  $\mu$ L einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan



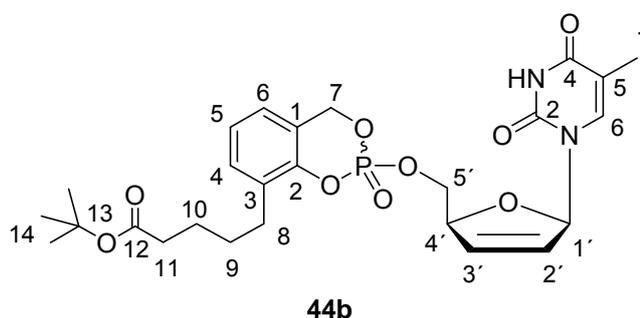
(2.08 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 15 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 131 mg (0.225 mmol, 32 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.8 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.33, (br, 2x 1H, Thymin-NH), 7.38-7.30 (m, 2x 5H, 4x H15, 4x H16, 2x H17), 7.25-7.21 (m, 2x 1H, 2x H4), 7.20 (d, 1x 1H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.18 (d, 1x 1H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.12-7.09 (m, 2x 2H, 2x H5, 2x H6), 6.81 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz, 1x H1'), 6.79 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz, 1x H1'), 6.40 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.1$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz, 1x H3'), 6.36 (ddd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.1$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.8$  Hz, 1x H3'), 6.05-5.97 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.48 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.3$  Hz, 1x H7), 5.44 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 4.9$  Hz, 1x H7), 5.41 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 12.8$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.2$  Hz, 1x H7), 5.37 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 12.8$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.7$  Hz, 1x H7), 5.08 (s, 1x 2H, 1x H13), 5.06 (s, 1x 2H, 1x H13), 4.97-4.91 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.34-4.25 (m, 2x 2H, H5'), 2.62-2.52 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.41-2.35 (m, 2x 2H, 2x H11), 1.62 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.60 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.58-1.51 (m, 2x 4H, 2x H9, 2x H10); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.82, (2x C12), 164.26 (2x Thymin-C4), 135.94 (2x C14), 135.51 (2x Thymin-C6), 133.30 (1x C3'), 132.08 (1x C3'), 130.93 (2x C4), 132.19-124.79 (2x C1, 2x C3, 2x C5, 2x C6, 2x C15, 2x C16, 2x C17), 127.71 (2x C2'), 109.26 (2x Thymin-C5), 89.47 (2x C1'), 84.32 (2x C4'), 69.08 (m, 2x C7), 68.85 (m, 2x C5'), 65.63 (2x C13), 34.05 (2x C11), 29.11 (2x C9), 28.68 (2x C8), 24.60 (2x C10), 12.79 (1x Thymin-C7), 12.36 (1x Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.46, -8.69; **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v) 0.81; **HRMS** (FAB): berechnet: 583.1845 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 583.1860; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3447, 2926, 1700, 1684, 1669, 1653, 1617, 1560, 1465, 1246, 1187, 1087, 1019, 942, 778; **HPLC:**  $t_R = 17.57$  min (Methode I),  $t_R = 17.84$  min (Methode II); **UV** (MeOH):  $\lambda_{max}$  [nm]: 264.

8.2.7.16 Synthese von 3-*t*-BuPe-cycloSal-d4T-Monophosphat **44b**

Es wurden 168 mg (0.749 mmol) d4T  
**2**, 397 mg noch verunreinigtes  
 3-*t*-BuPe-saligenylchlorphosphit  
**116b**, 0.20 mL (1.1 mmol) DIPEA,  
 400  $\mu$ L einer 5.5 M Lösung von  
*t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan



(2.25 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 16.5 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 148 mg (0.27 mmol, 36 %) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.8 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.33, (br, 2x 1H, Thymin-NH), 7.28-7.23 (m, 2x 1H, 2x H4), 7.20 (d, 1x 1H,  $^4J_{HH} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.19 (d, 1x 1H,  $^4J_{HH} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.12-7.09 (m, 2x 2H, 2x H5, 2x H6), 6.81-6.77 (m, 2x 1H, H1'), 6.41-6.37 (m, 1x 1H, H3'), 6.37-6.33 (m, 1x 1H, H3'), 6.04-5.97 (m, 2x 1H, H2'), 5.47 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.0$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.5$  Hz, 1x H7), 5.44 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.0$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.7$  Hz, 1x H7), 5.37 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 12.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.5$  Hz, 1x H7), 5.34 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 12.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.5$  Hz, 1x H7), 4.98-4.93 (m, 2x 1H, H4'), 4.33-4.23 (m, 2x 2H, H5'), 2.63-2.53 (m, 2x 2H, H8), 2.21 (t, 1x 2H,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz, 1x H11), 2.19 (t, 1x 2H,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz, 1x H11), 1.63 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.61 (d, 1x 3H,  $^4J_{HH} = 1.1$  Hz, 1x Thymin-H7) 1.54-1.43 (m, 2x 4H, 2x H9, 2x H10), 1.37 (s, 1x 9H, 9x H14), 1.36 (s, 1x 9H, 9x H14);

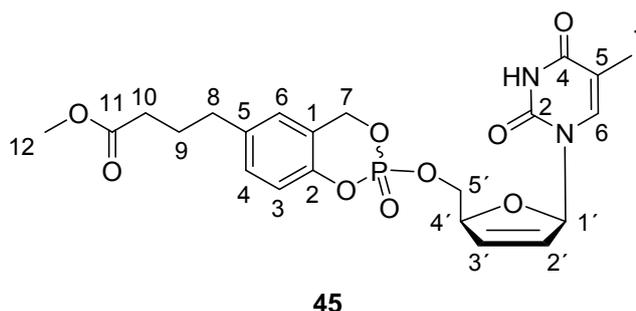
**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.01, (2x C12), 163.58 (2x Thymin-C4), 150.58 (2x Thymin-C2), 147.43 (2x C2), 135.53 (2x Thymin-C6), 132.69 (1x C3'), 132.63 (1x C3'), 130.14 (2x C4), 130.11 (2x C1), 127.24 (2x C2'), 124.08, 124.03, 123.89 (2x C5, 2x C6), 121.42 (2x C3), 109.58 (1x Thymin-C5), 109.53 (1x Thymin-C5), 89.09 (1x C1'), 89.01 (1x C4'), 83.98 (2x C4'), 79.57 (2x C13) 68.40 (d,  $^2J_{CP} = 4.7$  Hz, 2x C5'), 68.13 (d,  $^2J_{CP} = 4.2$  Hz, 1x C7), 68.06 (d,  $^2J_{CP} = 4.0$  Hz, 1x C7), 33.40 (2x C11), 28.58 (1x C8), 28.51 (1x C8), 28.13 (1x C9), 28.12 (1x C9), 27.63 (18x C14), 24.13 (1x C10), 24.05 (1x C10) 11.71 (1x Thymin-C7), 11.62 (1x Thymin-C7);

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.35, -8.52; **DC:** R<sub>F</sub>-Wert

(Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.75; **MS** (FAB): berechnet: 549.3 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 549.3; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3447, 2925, 2361, 1700, 1696, 1684, 1653, 1647, 1560, 1539, 1507, 1457, 1368, 1248, 1187, 1022, 668; **HPLC**:  $t_R$  = 17.25 min (Methode I),  $t_R$  = 17.55 min (Methode II); **UV** (MeOH):  $\lambda_{max}$  [nm]: 264.

### 8.2.7.17 Synthese von 5-MeBu-cycloSal-d4T-Monophosphat **45**

Es wurden 223 mg (0.995 mmol) d4T **2**, 415 mg noch verunreinigtes 5-MeBu-saligenylchlorphosphit **118**, 0.27 mL (1.50 mmol) DIPEA, 500  $\mu$ L einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan



(3.00 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 22 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

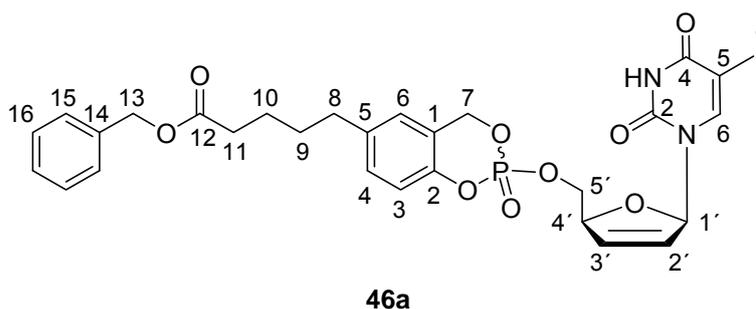
**Ausbeute:** Es wurden 212 mg (0.43 mmol, 43%) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.37 (s, 1x 1H, Thymin-NH), 11.34, (s, 1x 1H, Thymin-NH), 7.20-7.18 (m, 2x H6, 2x Thymin-H6), 7.03 (d, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 2x H3), 7.01 (d, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 2x H4), 6.80 (dd, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, 1x H1'), 6.77 (dd, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, 1x H1'), 6.43 (ddd, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, 1x H3'), 6.35 (ddd, 1x 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, 1x H3'), 6.06-6.00 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.50 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 5.7 Hz, 1x H7), 5.45 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 5.5 Hz, 1x H7), 5.39 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 10.7 Hz, 1x H7), 4.95-4.90 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.23 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.34 (s, 1x 3H, 1x H13), 3.57 (s, 1x 3H, 1x H13), 2.56 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 2x H8), 2.30 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 2x H10), 1.79 (tt, 2x 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, 2x H9), 1.67 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7), 1.61 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 173.91 (2x C11), 164.44 (1x Thymin-C4), 164.42 (1x Thymin-C4), 151.21 (1x Thymin-C2), 151.20 (1x Thymin-C2), 148.14 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.7 Hz, 2 x C2), 138.43 (2x C5), 136.43 (1x Thymin-C6), 136.39 (1x Thymin-C6), 133.43 (1x C3'), 133.39 (1x

C3'), 130.32 (1x C4), 130.28 (1x C4), 127.62 (1x C2'), 127.58 (1x C2'), 126.21 (1x C6), 126.19 (1x C6). 121.42 (d,  $^3J_{CP}=5.7$  Hz, 1x C1), 121.3 (d,  $^3J_{CP}=3.7$  Hz, 1x C1), 118.51 (d,  $^3J_{CP}=6.3$  Hz, 1x C3), 118.39 (d,  $^3J_{CP}=8.4$  Hz, 1x C3), 110.22 (2x Thymin-C5), 89.72 (1x C1'), 89.69 (1x C1'), 84.59 (1x C4'), 84.55 (1x C4'), 68.91 (d,  $^2J_{CP}=6.8$  Hz, 1x C7), 68.89 (d,  $^2J_{CP}=6.8$  Hz, 1x C7), 51.84 (2x C12), 33.83 (2x C9), 33.03 (1x C8), 33.02 (1x C8), 26.5 (2x C10), 12.32 (1x Thymin-C7), 12.28 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -9.19, -9.21; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.43; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3447, 2953, 1700, 1684, 1669, 1653, 1648, 1617, 1496, 1437, 1301, 1250, 1205, 1114, 1086, 1028, 993, 946; **HRMS** (FAB) ber.: 493.1376 (M+H), gef.: 493.1347; **HPLC**:  $t_R = 13.59$  min (Methode I),  $t_R = 14.5$  min (Methode II); **UV** (MeOH):  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 264.

#### 8.2.7.18 Synthese von 5-BnPe-cycloSal-d4T-Monophosphat **46a**

Es wurden 223 mg (0.995 mmol) d4T **2**, 545 mg noch verunreinigtes 5-BnPe-saligenylchlorphosphit **119a**, 0.27 mL (1.5 mmol) DIPEA, 500  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung



von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (3.00 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 22 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

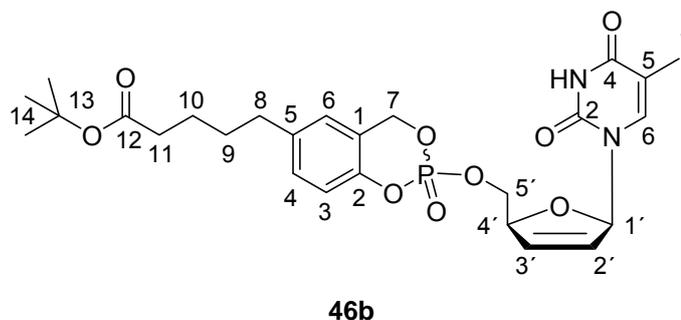
**Ausbeute:** Es wurden 290 mg (0.50 mmol, 50 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.8 erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.35, (s, 1x 1H, Thymin-NH), 11.25 (s, 1x 1H, Thymin-NH), 7.40-7.30 (m, 2x 5H, 2x H15, 2x H16, 2x H17), 7.20-7.13 (m, 2x 2H, 2x H4, 2x H6), 7.03 (t, 2x 1H,  $^3J_{HH} = 8.3$  Hz, 2x H3), 6.46-6.40 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.40 (dd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 5.8$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.0$  Hz, 1x H3'), 6.35 (dd, 1x 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.8$  Hz, 1x H3'), 6.02-5.98 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.48 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.4$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.6$  Hz, 1x H7), 5.41 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.7$  Hz,  $^3J_{HP} = 5.4$  Hz, 1x H7), 5.34 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 14.4$  Hz,  $^3J_{HP} = 10.7$  Hz, H7), 5.07 (s, 2x 2H, 2x H13), 4.99-4.93 (m,

2x 2H, 2x H4'), 4.31-4.27 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.55-2.48 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.37 (t, 2x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, 2x H11), 1.67 (d, 1x 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.64 (d, 1x 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.59-1.50 (m, 2x 2H, 2x H9, 2x H10);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 174.40 (2x C11), 165.20 (2x Thymin-C4), 139.20 (2x C2), 136.21 (1x Thymin-C6), 135.90 (1x Thymin-C6), 133.49-118.73 (2x C14, 2x C15, 2x C16, 2x C17, 2x C3, 2x C4, 2x C5, 2x C6, 2x C1), 128.22 (1x Thymin-C5), 128.13 (1x Thymin-C5), 125.55 (1x C3'), 125.53 (1x C3'), 118.80 (1x C2'), 118.78 (1x C2'), 90.13 (2x C1'), 84.90 (2x C4'), 68.9 (d, 2x C13), 68.54 (d, 2x C7,  $^2J_{\text{CP}} = 5.4$  Hz), 66.61 (2x C5'), 35.14 (2x C12), 34.41 (2x C10), 31.10 (2x C8), 24.89 (2x C9), 12.63 (1x Thymin-C7), 12.59 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.58, -8.33; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.75; **HRMS** (FAB): berechnet: 583.1845 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), gefunden: 583.1849; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3440, 3037, 2934, 2861, 2342, 4360, 1691, 1497, 3 1464, 1384, 1366, 1302, 1250, 1206, 1138, 1114, 1087, 1030, 995, 949, 910, 878, 849, 826, 755, 744; **HPLC**:  $t_{\text{R}} = 17.89$  min (Methode I),  $t_{\text{R}} = 18.08$  min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 267.

### 8.2.7.19 Synthese von 5-*t*-BuPe-cycloSal-d4T-Monophosphat **46b**

Es wurden 224 mg (1.00 mmol) d4T **2**, 459 mg noch verunreinigtes 5-*t*-BuPe-saligenylchlorphosphit **119b**, 0.27 mL (1.5 mmol) DIPEA, 500  $\mu\text{L}$  einer 5.5 M Lösung von *t*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan



(3.00 mmol *t*-Butylhydroperoxid) und in 22 mL abs. Acetonitril nach AAV 8 Variante II umgesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 276 mg (0.56 mmol, 56%) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.8 erhalten.

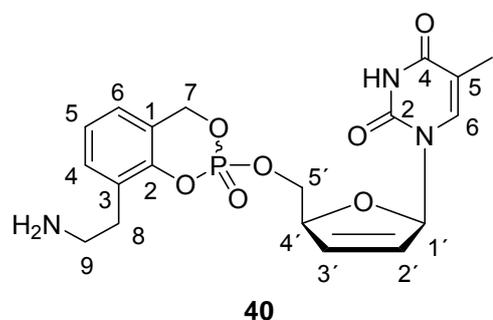
$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.33 (br, 2x 1H, 2x Thymin-NH), 7.21-7.09 (m, 2x 3H, 2x H4, 2x Thymin-H6, 2x H6), 7.04 (d, 1x H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz, 1x H3), 7.01 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz, 1x H3), 6.80 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H1'), 6.78

(dd, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, 1x H1'), 6.41 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, 1x H3'), 6.35 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz, 1x H3'), 6.02-5.98 (m, 1H, 2x H2'), 5.46 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.3$  Hz, 1x H7), 5.43 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.6$  Hz, 1x H7), 5.39 (dd, 2x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 10.3$  Hz, 2x H7), 4.96-4.91 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.35-4.23 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.54 (t, 2x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, 2x H8), 2.20 (t, 2x 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz, 2x H11), 1.67 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.4$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.61 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.4$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.56-1.46 (m, 2x 4H, 2x H9, 2x H10), 1.38 (s, 1x 9H, H14), 1.37 (s, 1x 9H, H14);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 172.71 (2x C12), 164.25 (2x Thymin-C4), 150.80 (2x Thymin-C2), 147.55 (2x C2), 138.39 (2x C5), 135.35 (2x Thymin-C6), 132.61 (1x C3'), 132.18 (1x C3'), 129.39 (2x C4), 127.03 (2x C2'), 125.52 (2x C6), 121.03 (2x C1), 117.58 (2x C3), 110.24 (2x Thymin-C5), 88.79 (2x C1'), 83.64 (2x C4'), 79.39 (2x C13), 68.17 (2x C7), 67.96 (2x C5'), 34.45 (2x C11), 33.80 (2x C8), 29.50 (2x C9), 27.36 (2x C14), 24.13 (2x C10), 11.68 (1x Thymin-C7), 11.43 (1x Thymin-C7)  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -9.20, -9.18; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.74; **HRMS** (FAB): berechnet: 549.2002 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ), gefunden: 549.2017; **IR** (KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] 3854, 3821, 3736, 3676, 3650, 3629, 3432, 2930, 1690, 1498, 1465, 1366, 1303, 1251, 1206, 1152, 1114, 1087, 1029, 994, 948; **HPLC**:  $t_R = 17.95$  min (Methode I),  $t_R = 18.03$  min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 267.

#### 8.2.7.20 Versuch der Synthese von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40**

Die gesamte Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit zu vermeiden.

Zu einer Lösung von 10 mg (13  $\mu\text{mol}$ ) 3-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **47a** in 5 mL abs. Dichlormethan wurden bei  $-78$  °C 88  $\mu\text{L}$  (88  $\mu\text{mol}$ ) einer  $\text{BCl}_3$ -Lösung (1 M in Dichlormethan) gegeben. Man rührte das Reaktionsgemisch 3-5 Stunden, wobei man den

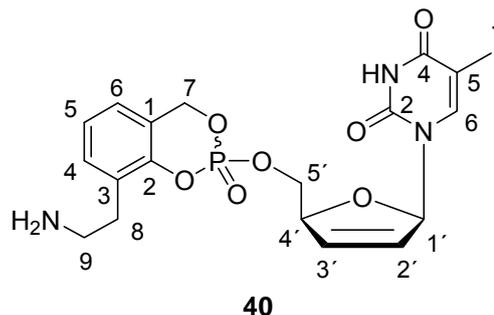


Ansatz sich langsam erwärmen ließ ohne die Kühlung zu entfernen. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, wobei die abgenommene DC-Probe vorher mit Methanol versetzt wurde (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen

Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Die Reaktion wurde durch die Zugabe von einigen mL Methanol gestoppt, die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der erhaltene schwarze Rückstand lyophilisiert. Es konnte kein gewünschtes Produkt erhalten werden.

#### 8.2.7.21 Versuch der Synthese von 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40**

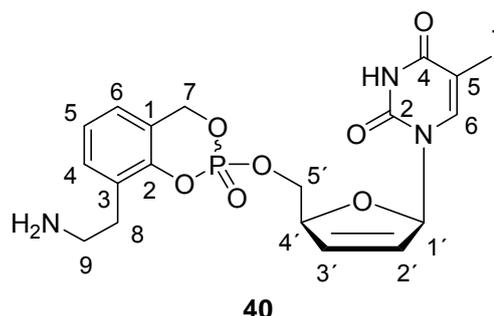
Es wurden 5.0 mg (9.0  $\mu$ mol) 3-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **47a** in einer Mischung aus 0.9 mL Dimethylsulfoxid, 1 mL Wasser und 1.5 mL 50 mM Phosphatpuffer (pH = 6.8) mit 0.5 mg PLE (171 U/mg) bei 37 °C für 91 min inkubiert. Die Reaktion wurde



dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und abschließend lyophilisiert. Es konnte kein gewünschtes Amin isoliert werden.

#### 8.2.7.22 Versuch der Synthese von 3-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **40**

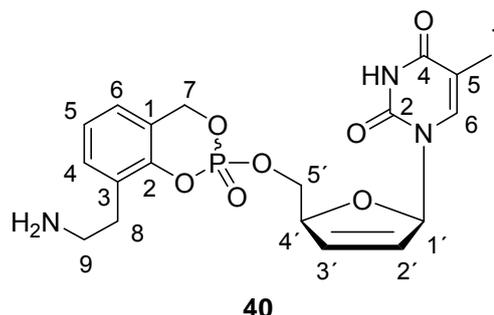
Es wurden 9.7 mg (1.7  $\mu$ mol) 3-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **47a** in einer Mischung aus 1 mL Dimethylsulfoxid, 2 mL Wasser und 3 mL 50 mM Phosphatpuffer (pH = 7.3) mit 0.5 mg PLE (171 U/mg) bei 37 °C für 120 min inkubiert. Die Reaktion wurde



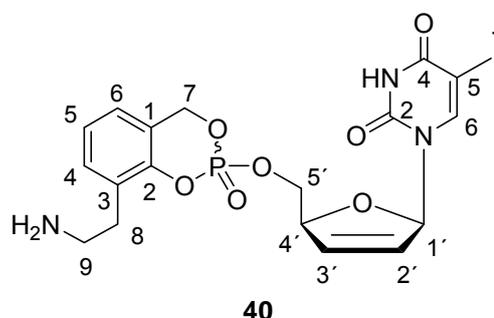
dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und abschließend lyophilisiert. Es konnte kein gewünschtes Amin isoliert werden.

8.2.7.23 Versuch der Synthese von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40**

Es wurden 1.0 mg (1.8  $\mu$ mol) 3-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **47a** in 0.15 mL (1.9 mmol) Trifluoressigsäure in 0.88 mL Dichlormethan nach AAV 9 umgesetzt, wobei die Reaktionszeit auf 7 Stunden verlängert wurde. Es konnte kein Produkt **X** isoliert werden.

8.2.7.24 Synthese von 3-AminoEt-cycloSal-d4TMP **40**

Es wurden 12 mg (22  $\mu$ mol) 3-BOC-AminoEt-cycloSal-d4TMP **47b** mit 0.86 mL (11 mmol) Trifluoressigsäure in 5 mL Dichlormethan bei 0 °C umgesetzt. Die Reaktion wurde alle 2 min dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3



Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Nach 7 min Reaktionszeit wurde die Kühlung entfernt und nach 10 min war der Umsatz bereits vollständig. Das Lösungsmittel und die überschüssige Trifluoressigsäure wurden im Stickstoffstrom entfernt und der erhaltene Rückstand lyophilisiert.

**Ausbeute:** Es wurden 12 mg (22  $\mu$ mol, 98%, als Trifluoracetat) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.6 erhalten.

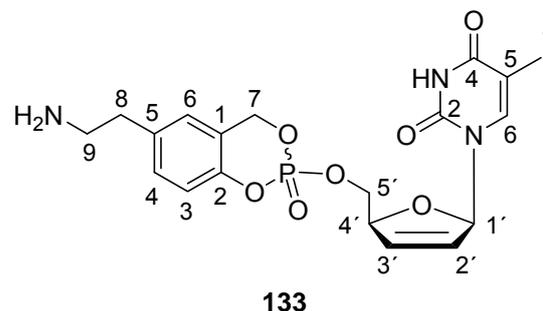
**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (700 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.37 (s, 1x 1H, 1x NH), 11.33 (s, 1x 1H, 1x NH), 7.87 (br, 1x 3H, 1x  $\text{NH}_3^+$ ), 7.79 (br, 1x 3H, 1x  $\text{NH}_3^+$ ), 7.30 (t, 2x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, 2x H4), 7.23-7.18 (m, 2x 2H, 2x H5, 2x H6), 7.20 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 0.8$  Hz, 1x Thymin-H6), 7.17 (d, 1x 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H6), 6.84-6.80 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.47-6.42 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.40-6.36 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.05-6.02 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.49 (dd, 2x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz, 1x H7), 5.41 (dd, 2x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.2$  Hz, 1x H7), 4.99-4.95 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.37-4.24 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.04-2.98 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.95-2.84 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.63 (s, 1x 3H, 1x

Thymin-H7), 1.61 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 164.16 (2x Thymin-C4), 150.84 (2x Thymin-C2), 148.26 (2x C2), 135.79 (2x Thymin-C6), 132.78 (2x C3'), 131.06 (2x C4), 130.63 (2x C1), 127.62 (2x C2'), 126.33 (2x C6), 125.04 (2x C5), 122.03 (2x C3), 109.99 (2x Thymin-C5), 89.35 (2x C1'), 84.19 (2x C4'), 69.57 (2x C5'), 68.28 (2x C7), 38.61 (2x C9), 27.43 (2x C8), 11.96 (2x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -8.65, -9.01; **DC**:  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.45; **HRMS** (FAB): berechnet: 436.1274 ( $M+H^+$ ), gefunden: 436.1292; **HPLC**:  $t_R$  = 14.48 (Methode V); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\max}$  [nm]: 264.

### 8.2.7.25 Versuch der Synthese von 5-AminoEt-cycloSal-d4TMP **133**

Die gesamte Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit zu vermeiden.

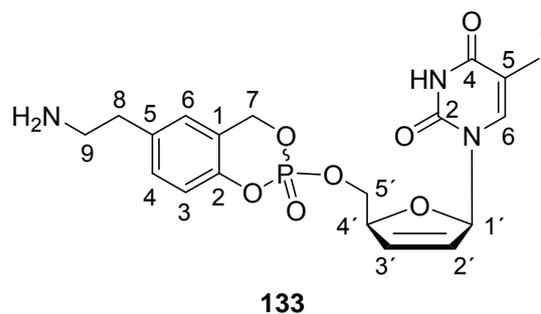
Zu einer Lösung von 20 mg (35  $\mu\text{mol}$ ) 5-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **39** in 10 mL abs. Dichlormethan wurden bei  $-78^\circ\text{C}$  175  $\mu\text{L}$  (175  $\mu\text{mol}$ ) einer  $\text{BCl}_3$ -Lösung (1 M in Dichlormethan) gegeben. Man rührte das Reaktionsgemisch 3-5 Stunden, wobei



man den Ansatz sich langsam erwärmen ließ ohne die Kühlung zu entfernen. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, wobei die abgenommene DC-Probe vorher mit Methanol versetzt wurde (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Die Reaktion wurde durch die Zugabe von einigen mL Methanol gestoppt, die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der erhaltene schwarze Rückstand lyophilisiert. Es konnte kein gewünschtes Produkt erhalten werden.

8.2.7.26 Versuch der Synthese von 5-AminoEt-cycloSal-d4TMP **133**

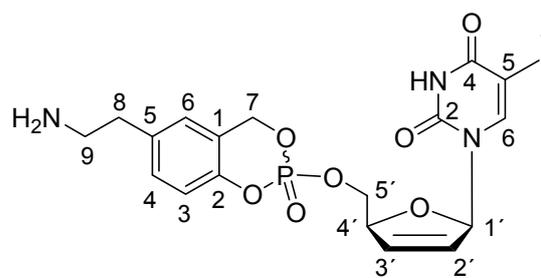
Es wurden 10 mg (18  $\mu$ mol) 5-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **39** in einer Mischung aus 1 mL Dimethylsulfoxid, 2 mL Wasser und 3 mL 50 mM Phosphatpuffer (pH = 6.8) mit 0.5 mg PLE (171 U/mg) bei 37 °C für 50 min inkubiert. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch

**133**

verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und abschließend lyophilisiert. Es konnte lediglich 5.7 mg des Eduktes reisoliert werden.

8.2.7.27 Versuch der Synthese von 5-AminoEt-cycloSal-d4TMP **133**

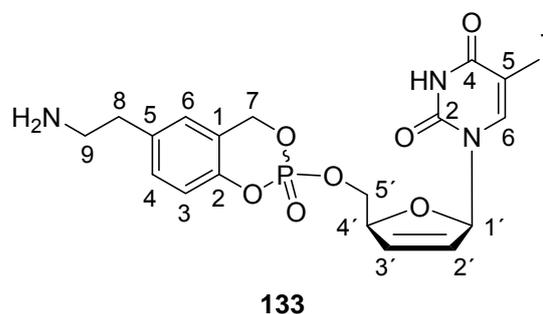
Es wurden 10 mg (18  $\mu$ mol) 5-CBZ-AminoEt-cycloSal-d4TMP **39** in einer Mischung aus 1.7 mL Dimethylsulfoxid, 2 mL Wasser und 3 mL 50 mM Phosphatpuffer (pH = 7.3) mit 0.5 mg PLE (171 U/mg) bei 37 °C für 91 min inkubiert. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch

**133**

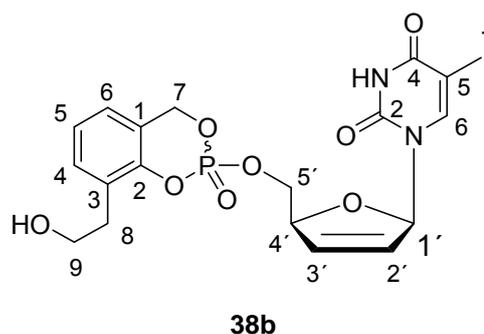
verfolgt (Dichlormethan / Methanol 9 : 1 v/v + 2-3 Tropfen Triethylamin, Detektion Ninhydrin-Färbereagenz). Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und abschließend lyophilisiert. Es konnte kein gewünschtes Amin isoliert werden.

8.2.7.28 Versuch der Synthese von 5-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **133**

Es wurden 10 mg (18  $\mu\text{mol}$ ) 5-CBZ-AminoEt-*cycloSal*-d4TMP **X** in 1.48 mL (19.3 mmol) Trifluoressigsäure in 8.8 mL Dichlormethan nach AAV 9 umgesetzt, wobei die Reaktionszeit auf 24 Stunden verlängert wurde. Es konnte kein Produkt **133** isoliert werden.

8.2.7.29 Synthese von 3-OHEt-*cycloSal*-d4T-Monophosphat **38b**

Es wurden 65 mg (0.12 mmol) 3-LevEt *cycloSal*-d4TMP **38c** in 5 ml Pyridin vorgelegt und zügig mit einer Lösung von 1 mL (0.24 mmol) Hydrazin-Hydrat, 3.1 mL (0.48 mmol) Pyridin und 2 mL (0.36 mmol) Essigsäure versetzt. Nach 5 min. heftigem Rühren, wurde das Gemisch mit einem Eisbad gekühlt und für weitere 4 min gerührt. Man verdünnte mit je 30 mL Wasser und Essigester, trennte die Phasen und wusch die organische Phase dreimal mit je 10 mL 5%-iger Natriumhydrogencarbonatlösung. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten [angesäuert mit 0.1% Essigsäure] von 0-4 %) gereinigt. Nach Lyophilisieren erhielt man eine farblose Watte.



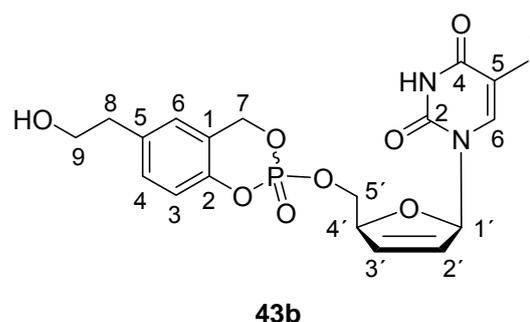
**Ausbeute:** Es wurden 19 mg (44  $\mu\text{mol}$ , 36 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.4 erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.41-11.32 (br, 2x 1H, 2x NH), 7.33–7.29 (m, 2x 1H, 2x H6), 7.21–7.13 (m, 2x 3H, Thymin-H6, H4, H5), 6.83–6.78 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.42 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, H3'), 6.36 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, H3'), 6.04 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,

$^3J_{\text{HH}} = 1.3 \text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{HH}} = 2.4 \text{ Hz}$ , H2'), 6.02 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5 \text{ Hz}$ , H2'), 5.54 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HP}} = 8.0 \text{ Hz}$ , H7), 5.45 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HP}} = 8.0 \text{ Hz}$ , H7), 5.38 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HP}} = 5.4 \text{ Hz}$ , H7), 5.36 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HP}} = 5.4 \text{ Hz}$ , H7), 4.98–4.92 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.72 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2 \text{ Hz}$ , -OH), 4.68 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2 \text{ Hz}$ , -OH), 4.35–4.26 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.80–2.69 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.66 (d, 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3 \text{ Hz}$ , Thymin-H7), 1.62 (d, 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3 \text{ Hz}$ , Thymin-H7);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 163.69 (2x Thymin-C4), 155.71 (2x C2), 150.67 (2x Thymin-C2), 135.60 (1x Thymin-C6), 135.66 (1x Thymin-C6), 132.71 (1x C3'), 132.78 (1x C3'), 130.84 (1x C6), 130.93 (1x C6), 127.33 (1x C2'), 127.36 (1x C2'), 126.98 (1x C3), 127.05 (1x C3), 124.62 (1x C5), 124.65 (1x C5), 124.01 (2x C4), 120.36 (2x C1), 120.20 (2x Thymin-C5), 89.11 (1x C1'), 89.19 (1x C1'), 84.04, (2x C4'), 68.62–68.91 (m, 2x C5', 2x C7), 60.38 (2x C9), 32.41 (2x C8), 11.83 (1x Thymin-C7), 11.74 (1x Thymin-C7);  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (202 MHz, DMSO- $d_6$ ): -7.43, -7.48; **DC**: R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.32; **MS** (ESI<sup>+</sup>): berechnet: 459.13 (M+Na<sup>+</sup>), gefunden: 459.13; **HPLC**: t<sub>R</sub> = 10.27 min (Methode I), t<sub>R</sub> = 9.36, 9.07 (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 265.

#### 8.2.7.30 Synthese von 5-OHEt-cycloSal-d4T-Monophosphat **43b**

Es wurden 35 mg (66  $\mu\text{mol}$ ) 5-LevEt-cycloSal-d4TMP **43c** in 5 mL Pyridin vorgelegt und zügig mit einer Lösung von 6.4 mL (13 mmol) Hydrazin-Hydrat, 21.6 mL Pyridin und 11.4 mL Essigsäure versetzt. Nach 5 min. heftigem Rühren, wurde das Gemisch mit einem Eisbad gekühlt und für



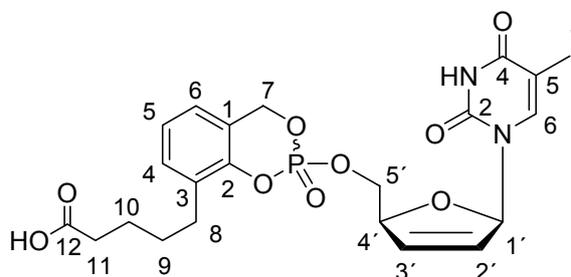
weitere 4 min gerührt. Man verdünnte mit je 30 mL Wasser und Essigester, trennte die Phasen und wusch die organische Phase dreimal mit je 10 mL 5%-iger Natriumhydrogencarbonatlösung und abschließend einmal mit ges. Natriumchloridlösung. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten [angesäuert mit 0.1% Essigsäure] von 0–10%) gereinigt. Nach Lyophilisieren erhielt man eine farblose Watte.

**Ausbeute:** Es wurden 21 mg (48  $\mu$ mol, 74%) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (700 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.39 (s, 1x H, 1x Thymin-NH), 11.37 (s, 1x H, 1x Thymin-NH), 7.28 (d, 2x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, 2x H3), 7.24-7.20 (m, 2x 1H, 2x Thymin-H6), 7.14-7.09 (m, 2x 2H, 2x H4, 2x H6), 6.81 (dd, 1x H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H1'), 6.79 (dd, 1x H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, 1x H1'), 6.43-6.40 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.37-6.34 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.05-5.99 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.47 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.0$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 10.1$  Hz, 1x H7), 5.43 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.0$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 10.1$  Hz, 1x H7), 5.37 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.5$  Hz, 1x H7), 5.33 (dd, 1x 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{PH}} = 7.5$  Hz, 1x H7), 4.97-4.84 (m 2x 1H, 2x H4'), 4.75 (t, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, 1x OH), 4.72 (t, 1x 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3$  Hz, 1x OH), 4.35-4.20 (m, 2x 2H, 2x H5'), 3.61-3.50 (m, 2x 2H, 2x H9), 2.79-2.68 (m, 2x 2H, 2x H8), 1.65 (d, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz, 1x Thymin-H7), 1.60 (s, 1x 3H,  $^4J_{\text{HH}} = 1.0$  Hz; 1x Thymin-H7);  **$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (176 MHz, DMSO- $d_6$ ) 164.45 (2x Thymin-C4), 149.86 (2x Thymin-C2), 147.27 (2x C2), 135.14 (2x Thymin-C6), 133.19 (2x C3'), 127.92 (2x C2'), 123.00 (2x C1), 109.14 (2x Thymin-C5), 89.96 (2x C1'), 84.57 (1x C4'), 68.76 (2x C5'), 68.75 (2x C7), 60.55 (2x C9), 31.99 (2x C8), 12.10 (1x Thymin-C7), 11.93 (1x Thymin-C7);  **$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ) -8.66, -8.72; **DC:**  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.28; **MS** (ESI $^+$ ): berechnet: 459.13 (M+Na $^+$ ), gefunden: 459.13; **HPLC:**  $t_R = 9.89$  min (Methode I),  $t_R = 9.92$  min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\text{max}}$  [nm]: 265.

### 8.2.7.31 Synthese von 3-COOHBu-cycloSal-d4TMP **44c**

Es wurden 80 mg (15  $\mu$ mol) 3-*t*-BuPe-cycloSal-d4TMP **44b** in 11.2 mL (0.146 mmol) Trifluoressigsäure in 70 mL Dichlormethan nach AAV 9 umgesetzt.



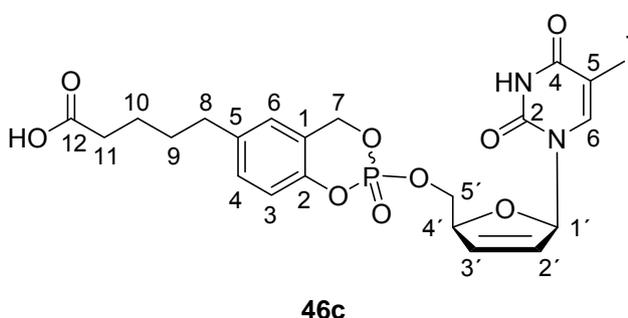
**44c**

**Ausbeute:** Es wurden 70 mg (14  $\mu$ mol, 98%) einer farblosen Warte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 11.33, (br, 2x 1H, Thymin-NH), 7.26-7.22 (m, 2x 1H, 2x H4), 7.21 (s, 1x 1H, 1x Thymin-H6), 7.19 (s, 1x 1H, 1x Thymin-H6), 7.14-7.07 (m, 2x 2H, 2x H5, 2x H6), 6.82-6.77 (m, 2x 1H, 2x H1'), 6.42-6.37 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.37-6.33 (m, 1x 1H, 1x H3'), 6.04-5.97 (m, 2x 1H, 2x H2'), 5.49 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 15.1$  Hz,  $^3J_{HP} = 7.7$  Hz, 1x H7), 5.44 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 15.1$  Hz,  $^3J_{HP} = 7.4$  Hz, 1x H7), 5.39 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 13.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.9$  Hz, 1x H7), 5.35 (dd, 1x 1H,  $^2J_{HH} = 13.3$  Hz,  $^3J_{HP} = 6.9$  Hz, 1x H7), 4.96-4.92 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.33-4.23 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.65-2.53 (m, 2x 2H, 2x H8), 2.15-2.07 (3, 2x 2H, 2x H11), 1.63 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7), 1.61 (s, 1x 3H, 1x Thymin-H7) 1.54-1.43 (m, 2x 4H, 2x H9, 2x H10); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 172.01, (2x C12), 164.26 (2x Thymin-C4), 150.59 (2x Thymin-C2), 147.55 (2x C2), 135.56 (2x Thymin-C6), 132.72 (1x C3'), 132.66 (1x C3'), 130.13 (2x C4), 130.11 (2x C1), 127.21 (2x C2'), 123.95, 123.70 (2x C5, 2x C6), 120.76 (2x C3), 109.57 (1x Thymin-C5), 109.52 (1x Thymin-C5), 89.10 (1x C1'), 89.03 (1x C4'), 84.04 (1x C4'), 83.98 (1x C4'), 68.39 (d,  $^2J_{CP} = 6.4$  Hz, 2x C5'), 68.15 (d,  $^2J_{CP} = 5.8$  Hz, 2x C7), 35.64 (2x C11), 29.06 (1x C9), 28.98 (1x C9), 28.31 (2x C8), 25.33 (2x C10), 11.71 (1x Thymin-C7), 11.64 (1x Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -8.47, -8.67; **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v) 0.45; **MS (FAB):** berechnet: 493.1 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 493.2; **IR (KBr):**  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3675, 3629, 3431, 1700, 1684, 1560, 1465, 1186, 1138, 1020; **HPLC:** t<sub>R</sub> = 11.61 min (Methode I), t<sub>R</sub> = 12.43 min (Methode II); **UV (MeOH):**  $\lambda_{\max}$  [nm]: 265.

### 8.2.7.32 Synthese von 5-COOH*bu*-cycloSal-d4TMP **46c**

Es wurden 123 mg (224  $\mu$ mol) 5-*t*-BuPe-cycloSal-d4TMP **46b** in 18.3 mL (0.237 mmol) Trifluoressigsäure in 115 mL Dichlormethan nach AAV 9 (tBu-ester-spaltung) umgesetzt.



**Ausbeute:** Es wurden 109 mg (221  $\mu$ mol, 99%) einer farblosen Wasse als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.9 erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 12.30-11.90 (br, 1H, COOH), 11.36 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 11.35 (s, 1x 1H, 1x Thymin-NH), 7.21-7.15 (m, 2x 2H, 2x H4, 2x Thymin-H6), 7.09 (d, 2x 1H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, 2x H6), 7.04 (d, 1x H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 1x H3), 7.01 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 1x H3), 6.79 (dd, 1x 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, 1x H1'), 6.78 (dd, 1x 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, 1x H1'), 6.41 (ddd, 1x 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, 1x H3'), 6.34 (ddd, 1x 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, 1x H3'), 6.03-5.98 (m, 1H, 2x H2'), 5.47 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>PH</sub> = 6.2 Hz, 1x H7), 5.43 (dd, 1x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>PH</sub> = 6.2 Hz, 1x H7), 5.32 (dd, 2x 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>PH</sub> = 10.7 Hz, 2x H7), 4.96-4.91 (m, 2x 1H, 2x H4'), 4.33-4.23 (m, 2x 2H, 2x H5'), 2.54 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, 2x H8), 2.22 (t, 2x 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, 2x H11), 1.67 (d, 1x 3H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.1 Hz, 1x Thymin-H7), 1.61 (d, 1x 3H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.1 Hz, 1x Thymin-H7), 1.56-1.46 (m, 2x 4H, 2x H9, 2x H10); **<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 174.25 (2x C12), 163.59 (2x Thymin-C4), 150.60 (1x Thymin-C2), 150.57 (1x Thymin-C2), 147.50 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 6.8 Hz, 1x C2), 147.46 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 7.0 Hz, 1x C2), 138.26 (2x C5), 135.58 (1x Thymin-C6), 135.54 (1x Thymin-C6), 132.75 (1x C3'), 132.67 (1x C3'), 129.49 (1x C4), 129.41 (1x C4), 127.20 (1x C2'), 127.17 (1x C2'), 125.52 (1x C6), 125.48 (1x C6), 120.79 (1x C1), 120.69 (1x C1), 117.77 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.7 Hz, 1x C3), 117.74 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.9 Hz, 1x C3), 109.54 (2x Thymin-C5), 89.07 (2x C1'), 84.03 (1x C4'), 83.96 (1x C4'), 68.30 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 6.9 Hz, 2x C7), 68.19 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.8 Hz, 1x C5'), 68.15 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 6.8 Hz, 1x C5'), 33.79 (2x C11), 33.32 (2x C8), 30.11 (2x C9), 23.90 (2x C10), 11.79 (1x Thymin-C7), 11.71 (1x Thymin-C7); **<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): -9.21 -9.19; **DC:** R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.44; **HRMS** (FAB): berechnet: 493.1376 (M+H<sup>+</sup>), gefunden: 493.1417; **IR** (KBr):  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] 3868, 3851, 3814, 3799, 3748, 3742, 3686, 3673, 3667, 3433, 2927, 1694, 1496, 1464, 1250, 1204, 1115, 1030, 950; **HPLC:** t<sub>R</sub> = 12.24 min (Methode I), t<sub>R</sub> = 12.35 min (Methode II); **UV** (HPLC)  $\lambda_{\max}$  [nm]: 267.

---

## **8.3 Hydrolyseexperimente**

### **8.3.1 Verwendete Puffer und Lösungen**

#### **50 mM Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 7.3):**

In 1000 mL Wasser wurden 6.85 g (38.5 mmol) Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) und 1.55 g (11.4 mmol) Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) gelöst und falls nötig, der pH-Wert mittels verdünnter Phosphorsäure oder verdünnter Natronlauge auf 7.3 eingestellt.

#### **Ionenpaarungspuffer für die HPLC:**

*Tetrabutylammoniumhydroxid:*

Es wurden 1000 mL Wasser und 6.6 mL Tetrabutylammoniumhydroxid vermischt und mit 85 %-iger Phosphorsäure der pH-Wert auf 3.8 eingestellt (Puffer I). Zu 60 mL des Puffers I wurden wiederum 1000 mL Wasser gegeben, um den eigentlichen Ionenpaarungspuffer zu erhalten (Puffer II).

*Natriumheptansulfonat:*

Es wurden 111 mg (0.55 mmol) Natriumheptansulfonat in 1000 mL Milli-Q-Wasser gelöst.

#### **Interner Standard (AZT-Lösung):**

Es wurden 5 mg AZT in 500  $\mu\text{L}$  Wasser gelöst.

#### **50 mM DMSO-Stammlösung:**

Es wurden 3-6 mg des *cycloSal*-Nucleotides in der entsprechenden Menge (150-250  $\mu\text{L}$ ) DMSO aufgenommen.

#### **3.0 mM DMSO-Stammlösung:**

Es wurden 24  $\mu\text{L}$  der 50 mM DMSO-Stammlösung mit 376  $\mu\text{L}$  DMSO versetzt.

---

### 8.3.2 Bestimmung der chemischen Hydrolysehalbwertszeiten

Die chemischen Hydrolysehalbwertszeiten wurden in einer 1.9 mM isotonischen Phosphatpuffer-Lösung bei pH 7.3 ermittelt. Dazu wurden 188.6  $\mu\text{L}$  DMSO, 100  $\mu\text{L}$  Wasser, 5  $\mu\text{L}$  der AZT-Lösung (interner Standard) und 300  $\mu\text{L}$  des 50 mM Phosphatpuffers (pH 7.3) in einem Eppendorf-Cap vorgelegt und mit Hilfe des Thermomixers auf 37°C temperiert. Durch Hinzupipettieren von 11.4  $\mu\text{L}$  der 50 mM DMSO-Stammlösung (dadurch wurde die Pufferkonzentration auf 24.8 mM und die des *cycloSal*-Nucleotides auf 0.94 mM verdünnt) und kurzes Durchmischen (Vortex) wurde die Hydrolyse gestartet. Das erste Aliquot ( $t_0$ ) wurde sofort danach entnommen (100  $\mu\text{L}$ ) und weitere sieben Aliquote in zunehmend größer werdenden Zeitabständen. Zum Stoppen der Hydrolyse wurden die Aliquote in ein Eppendorf-Cap zu einigen Tropfen (2-3) konzentrierte Essigsäure gegeben. Danach erfolgte die HPLC-analytische Auswertung der Proben nach der Methode I.

### 8.3.3 Hydrolysekinetiken in humanen T-Lmpyhozyten-Zell-Extrakten

Ein Milliliter des entsprechenden Zellextraktes (CEM/0) wurde gleichmäßig auf zehn Eppendorf-Caps verteilt und jeweils mit 20  $\mu\text{L}$  der 70 mM Magnesiumchlorid-Lösung versetzt. Die Hydrolyse wurde nun in jedem einzelnen Cap durch die Zugabe von 20  $\mu\text{L}$  der 3.0 mM DMSO-Stammlösung des entsprechenden Triesters gestartet und in einem Thermomixer bei konstant 37 °C gehalten. Im Gegensatz zu den chemischen Hydrolysen wurden die benötigten Proben hierbei nicht durch die Entnahme von Aliquoten gewonnen, sondern durch das sukzessive Stoppen der zehn Einzelhydrolysen. Der zeitliche Rahmen der Kinetiken wurde dabei auf maximal 8 Stunden beschränkt. Zum Abbruch der Hydrolyse wurden 300  $\mu\text{L}$  von essigsauerm Methanol hinzugegeben. Um die ausgefallenen Bestandteile abzutrennen, wurde die Probe etwa 10 Minuten auf 0°C abgekühlt und anschließend zentrifugiert (10 min mit 13000 U/min). Der Überstand wurde in eine Spritze (1 mL) aufgenommen und nochmals filtriert. Die so erhaltenen klaren Lösungen wurden nun HPLC-analytisch untersucht.

---

### 8.3.4 Hydrolysekinetiken in Mäuseleberzellen-Extrakten

Ein Milliliter des entsprechenden Zellextraktes (CEM/0) wurde gleichmäßig auf zehn Eppendorf-Caps verteilt und jeweils mit 20 µl der 70 mM Magnesiumchlorid-Lösung versetzt. Die Hydrolyse wurde nun in jedem einzelnen Cap durch die Zugabe von 20 µl der 3.0 mM DMSO-Stammlösung des entsprechenden Triesters gestartet und in einem Thermomixer bei konstant 37 °C gehalten. Im Gegensatz zu den chemischen Hydrolysen wurden die benötigten Proben hierbei nicht durch die Entnahme von Aliquoten gewonnen, sondern durch das sukzessive Stoppen der zehn Einzelhydrolysen. Der zeitliche Rahmen der Kinetiken wurde dabei auf maximal 6 Stunden beschränkt. Zum Abbruch der Hydrolyse wurden 300 µl von essigsaurem Methanol hinzugegeben. Um die ausgefallenen Bestandteile abzutrennen, wurde die Probe etwa 10 Minuten auf 0°C abgekühlt und anschließend zentrifugiert (10 min mit 13000 U/min). Der Überstand wurde in eine Spritze (1 mL) aufgenommen und nochmals filtriert. Die so erhaltenen klaren Lösungen wurden nun HPLC-analytisch untersucht.

---

## 9 Literatur

- 1 a) F. Barré-Sinoussi, J.C. Cherman, F. Rey, M.T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruset, C. Dautet, C. Axler-Bhin, F. Yenizet-Brun, C. Rozioux, L. Montagnier; Isolation of a T-lymphocytic retrovirus from a patient at risk for AIDS; *Science* **1983**, *220*, 868-871.  
b) M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Reed, R.C. Gallo; Detection, isolation and continuous production of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS; *Science* **1984**, *224*, 497-499.
- 2 MSD Sharp & Dohme GmbH (Hrsg.); MSD-Manual; 5. Auflage, *Urban & Schwarzenberg*; München, Wien, Baltimore; **1993**; 1368-1372.
- 3 Aids Epidemic Update December 2005; <http://www.unaids.org>; **2005**, letzter Zugriff 23.10.2006
- 4 a) A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox; Prinzipien der Biochemie; 2. Auflage, *Spektrum Akademischer Verlag*, Heidelberg **1994**, 1004.  
b) <http://www.glaxowellcome.ch/gw/dt/viro/guidelines7/part20.html>
- 5 E. De Clercq; Towards Improved Anti-HIV Chemotherapy: Therapeutic Intervention with HIV Infections; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2491-2517.
- 6 a) J. Balzarini, P. Herdewijn, E. de Clercq; Differential Patterns of Intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine and 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine, Two Potent Anti-Human Immunodeficiency Virus Compounds; *J. Biol. Chem.*; **1989**; *264*; 6127-6133.  
b) N. Ostermann, D. Segura-Pena, C. Meier, T. Veit, C. Monnerjahn, M. Konrad, A. Lavie; Structures of Human Thymidilate Kinase in Complex with Prodrugs: Implications for the Structure-Based Design of Novel Compounds; *Biochemistry*; **2003**; *42*; 2568-2577.
- 7 a) D. Farquhar, D. N. Srivastava, N. J. Kattesch, P. P. Saunders; Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups; *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 324-325.

- 
- b) R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y.-F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland; Pivaloyloxymethyl Esters of Acyclic Nucleoside Phosphonates; *Int. Antiviral News* **1994**, *2*, 53-55.
- 8 J. K. Sastry, P. N. Nehete, S. Khan, B. J. Nowak, W. Plunkett, R. B. Arlinghaus, D. Farquhar; Membrane-Permeable Dideoxyuridine 5'-Monophosphate Analogue Inhibits Human Immunodeficiency Virus Infection; *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 441-445.
- 9 A. Pompon, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, S. Khan, D. Farquhar; Decomposition Pathways of the Mono-(Pivaloyloxymethyl) and Bis-(Pivaloyloxymethyl) Esters of Azidothymidine-5'-Monophosphate in Cell Extract and in Tissue-Culture Medium - An Application of the Online Isrp-Cleaning HPLC Technique; *Antiviral Chem. Chemother.* **1994**, *5*, 91-98.
- 10 R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y.-F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland; Metabolism and *in vitro* Antiretroviral Activities of Bis(Pivaloyloxymethyl)-Prodrugs of Acyclic Nucleoside Phosphates; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2247-2250.
- 11 D. Farquhar, R. Chen, S. Khan; 5'-[4-(Pivaloyloxy)-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl]-2'-deoxy-5-fluorouridine: A Membrane-Permeating Prodrug of 5-Fluoro-2'-deoxyuridic Acid (FdUMP); *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 488-495.
- 12 C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Minireview: From the Pronucleotide Concept to the SATE Phosphate Protecting Groups; *Curr. Topics in Med. Chem.* **1997**, *2*, 15-29.
- 13 Lefebvre, C. Perigaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Girardet, A. Kim, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Mononucleoside Phosphatetriester Derivates with S-Acyl-2-thioethyl Bioreversible Phosphate-Protecting Groups: Intracellular Delivery of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine-5'-monophosphate; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950.
- 14 J.-L. Girardet, C. Perigaud, A.-M. Aubertin, G. Gosselin, A. Kim, J.-L. Imbach; Increase of the anti-HIV Activity of d4T in Human T-Cell Culture by the use of

- the SATE Pronucleotide Approach; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2981-2984.
- 15 C. Perigaud, A.-M. Aubertin, S. Benzaria, H. Pelicano, J.-L. Girardet, G. Maury, G. Gosselin, A. Kim, J.-L. Imbach; Equal Inhibition of the Replication of Human Immunodeficiency Virus in Human T-Cell Culture by ddA Bis(SATE)Phosphotriesters and 3'-Azido-2',3'-Dideoxythymidine; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 11-14.
- 16 S. Peyrottes, G. Coussot, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, C. Périgaud, S-Acyl-2-Thioethyl Aryl Phosphotriester Derivatives of AZT: Synthesis, Antiviral Activity and Stability Study; *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 782-793.
- 17 N. Schlienger, C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach, Synthesis and Studies of Mononucleoside Glucosyl Phosphotriester Derivatives, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7216-7221.
- 18 A. G. Mitchell, W. Thomson, D. Nicholls, W. J. Irwin, S. Freeman, Bioreversible Protection for the Phospho Group: Bioactivation of the Di(4-acyloxybenzyl) and Mono(4-acyloxybenzyl) Phosphoesters of Methylphosphonate and Phosphonoacetate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1992**, *1*, 2345-2353.
- 19 S. Freeman, W. J. Irwin, A. G. Mitchell, D. Nicholls, W. Thomson, Bioreversible Protection for the Phospho Group: Chemical Stability and Bioactivation of Di(4-acetoxybenzyl) Methylphosphonate with Carboxyesterase, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 875-877.
- 20 N. Schlienger, C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach, Synthesis and Studies of Mononucleoside Glucosyl Phosphotriester Derivatives, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7216-7221.
- 21 C. McGuigan, M.-J. Camarasa, H. Egberink, K. Hartmann, A. Karlsson, C. F. Perno, J. Balzarini; Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Nucleotide Prodrugs as Inhibitors of HIV Replication; *Int. Antiviral News* **1997**, *5*, 19-21.

- 
- 22 C. McGuigan, D. Cahard, H. M. Sheeka, E. De Clercq; Aryl Phosphoramidate Derivatives of d4T Have Improved anti-HIV Efficiency in Tissue Culture and May Act by the Generation of a Novel Intracellular Metabolite; *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1748-1753.
- 23 C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq; Intracellular Delivery of Bioactive AZT Nucleotides by Aryl Phosphate Derivates of AZT; *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048-1052.
- 24 J. Balzarini, O. M. Wedgewood, J. Kruining, H. Pelemans, R. Heijtkink, E. De Clercq, C. McGuigan; anti-HIV and anti-HBV Activity and Resistance Profile of 2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidine (3TC) and its Arylphosphoramidate Derivate; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, 225, 363-369.
- 25 J. Balzarini, J. Kruining, O. M. Wedgewood, C. Pannecouque, S. Aquaro, C.-F. Perno, L. Naesens, M. Witvrouw, R. Heijtkink, E. De Clercq, C. McGuigan; Conversion of 2',3'-Dideoxyadenosine (ddA) and 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) to their Corresponding Aryloxyphosphoramidate Derivatives Markedly Potentiates their Activity Against Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus; *FEBS Letters* **1997**, 410, 324-328.
- 26 C. McGuigan, O. M. Wedgewood, E. De Clercq, J. Balzarini; Phosphoramidate Derivates of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) Have Markedly Improved anti-HIV Potency and Selectivity; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 2359-2362
- 27 L. Naesens, J. Balzarini, N. Bischofberger, E. De Clercq; Antiretroviral activity and pharmacokinetics in mice of oral bis(pivaloyloxymethyl) ester prodrug of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)-adenine; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, 40, 22-28.
- 28 [www.gilead.com](http://www.gilead.com)
- 29 M. D. Erion, K. R. Reddy, S. H. Boyer, M. C. Matelich, J. Gomez-Galeno, R. H. Lemus, B. G. Ugarkar, T. J. Colby, J. Schanzer, P. D. van Poelje; Design, Synthesis, and Characterization of a Series of Cytochrome P450 3A-Activated Prodrugs (HepDirect Prodrugs) Useful for Targeting Phosph(on)ate-Based Drugs to the Liver; *J. A. C. S.*; **2004** 126; 5154-63.

- 
- 30 K. R. Reddy, M. C. Matelich; B. G. Ugarkar J. E. Gomez-Galeno, J. DaRe, K. Ollia, Z. Sun, W. Craigo, T. J. Colby, J. M. Fujitaki, S. H. Boyer, P. D. van Poelje, M. D. Erion; Pradefovir: A Prodrug That Targets Adefovir to the Liver for the Treatment of Hepatitis B; *J. Med. Chem.* **2008**; *51*; 666-676.
- 31 C. Meier; Rational for Design of Biologically Reversible Drug Derivatives: Prodrugs, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 70-72.
- 32 C. Meier; *cycloSal*-Pronucleotides – Design of Chemical Trojan Horses, *Mini Reviews in Med. Chem.*; **2002**, *2*, 219-234.
- 33 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.
- 34 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.
- 35 C. Meier, J. Renze, C. Ducho, J. Balzarini; *CycloSal*-d4TMP Pronucleotides - Structural Variations, Mechanistic Insights and Antiviral Activity; *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**, *2*, 1109-1119.
- 36 C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; Cyclic Saligenyl Phosphotriesters of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T) - A New Pro-Nucleotide Approach; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 99-104
- 37 C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *CycloSal*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (*cycloSal*-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.
- 38 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.

- 
- 39 C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-Pro-Nucleotides (*cycloSal*-NMP) of 2',3'-dideoxyadenosine (ddA) and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydroadenosine (d4A): Synthesis and antiviral evaluation of a highly efficient nucleotide delivery system; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604-1614.
- 40 C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, M. A. Siddiqui, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-Pro-Nucleotides of 2'-fluoro-*ara*- and 2'-fluoro-*ribo*-2',3'-dideoxyadenosine (F-*ara*- and F-*ribo*-ddA) as a strategy to bypass a metabolic blockade; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624.
- 41 C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-2'-*ara(ribo)*-Fluoro-2',3'-Dideoxyadenosine Monophosphates - an Effort to Solve the Structure-Activity Relationship of 2'-Fluoro-ddA; *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 907-912.
- 42 C. Meier; 4*H*-[1.3.2]-Benzodioxaphosphorin-2-nucleosyl-2-oxide - A New Concept for Lipophilic, Potential Prodrugs of Biologically Active Nucleoside Monophosphates; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79.
- 43 A. Meerbach, P. Wutzler, A. Lomp, C. Meier; Synthesis, properties and anti-EBV activity of a new series of 3'-modified *cycloSal*-BVDUMP pronucleotides; *Antiviral Res.* **2000**, *46*, A82-150.
- 44 C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cycloSal*-BVDUMP Pronucleotides - from an Antivirally Inactive Nucleoside Analogue to a Potential anti-EBV Active Drug; *ChemBioChem* **2001**, *2*, 283-285.
- 45 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
- 46 C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *CycloSal*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (*cycloSal*-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.
- 47 J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular Metabolism of *CycloSaligenyl*-3'-Azido-2',3'-dideoxy-

- 
- thymidine Monophosphate, a Prodrug of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine (Zidovudine); *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 1354-1361.
- 48 J. Balzarini, S. Aquaro, T. Knispel, C. Rampazzo, V. Bianchi, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; *CycloSaligenyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine Monophosphate: Efficient Intracellular Delivery of d4TMP*; *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58*, 928-935.
- 49 C. Meier, L. Habel, F. Haller, P. Wutzler; Chemistry and properties of *cycloSaligenyl-nucleotides (cycloSal-NMP)* of acyclic nucleoside analogues as potential anti-HSV agents; *Antiviral Res.* **1998**, *37*, A75.
- 50 A. Meerbach, R. Klöcking, C. Meier, P. Wutzler; Inhibitory effect of *cycloSaligenyl-nucleoside monophosphates (cycloSal-NMP)* of acyclic nucleoside analogues on HSV-1 and EBV; *Antiviral Res.* **1998**, *37*, A76.
- 51 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.
- 52 A. Meerbach, R. Klöcking, C. Meier, A. Lomp, B. Helbig, P. Wutzler; Inhibitory effect of *cycloSaligenyl-nucleoside monophosphates* of acyclic nucleoside analogues on HSV-1 and EBV; *Antiviral Res.* **2000**, *45*, 69-77.
- 53 J. Balzarini, F. Haller-Meier, E. De Clercq, C. Meier; Antiviral activity of *cycloSaligenyl prodrugs* of acyclovir, carbovir and abacavir; *Antiviral Chem. Chemother.* **2001**, *12*, 301-306
- 54 H. C. Müller; *Dissertation* **2003**, Universität Hamburg.
- 55 U. Görbig; *Diplomarbeit* **2004**, Universität Hamburg.
- 56 S. B. Wendicke; *Dissertation* **2007**; Universität Hamburg.
- 57 S. Warnecke; *Diplomarbeit* **2006**; Universität Hamburg.
- 58 S. Wendicke, S. Warnecke, C. Meier; Efficient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**; *8*; 1500-1502.
- 59 S. Roseman, J. J. Distler, J. G. Moffatt, H. G. Khorana; Nucleoside polyphosphates. XI. An improved general method for the synthesis of

- nucleotide coenzymes. Synthesis of uridine 5'-, cytidine 5'-, and guanosine 5'-diphosphate derivatives; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**; 83; 659-663.
- 60 A. Schafer, 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.
- 61 M. M. Mansuri, J. E. Starrett Jr., I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, R. Z. Sterzycki, V. Brankovan, T. S. Lin, E. M. August, W. H. Prusoff, J.-P. Sommadossi, J. C. Martin; 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.
- 62 M. Lorey; Dissertation **2000**, Universität Würzburg.
- 63 J. G. Cannon, T. Lee, F. L. Hsu; Congeners of the  $\alpha$  Conformer of Dopamin Derived from Octahydrobenz[*h*]isoquinoline; *J. Med. Chem.* **1980**; 23; 502-505.
- 64 S. B. Wendicke, E. Burri, R. Scopelliti, K. Severin; A Chloro-Bridged (Arene)Ru Complex with a Polymerizable Side Chain; *Organometallics* **2003**; 22; 1898-1897.
- 65 B. Helge, T. Anthonson; Lipase-catalyzed resolution of esters of 4-chloro-3-hydroxybutanoic acid: effects of the alkoxy group and solvent on the enantiomeric ratio; *Tetrahedron Asymmetry* **1999**; 10; 1401-1412.
- 66 A. Lomp; *Dissertation*; **2001**, Universität Hamburg.
- 67 M. Kolb, J. Barth, J.-G. Heydt, M. J. Jung; Synthesis and Evaluation of Mono-, Di- and Trifluoroethenyl-GABA Derivates as GABA-T Inhibitors; *J. Med. Chem.* **1987**; 30; 267-272.
- 68 S. Yamago, M. Nakamura, X. Q. Wang, M. Yanagawa, S. Tokumitsu, E. Nakamura; Thermal Hetero [3 + 2] Cycloaddition of Dipolar Trimethylenemethane to O-Alkyloximes. Straightforward Synthetic Routes to Substituted Pyrrolidines and Prolines; *J. Org. Chem.* **1998**; 63; 1694-1703.

- 
- 69 D. J. Ritson, R. J. Cox, J. Berge; Indium mediated allylation of glyoxylate oxime ethers, esters and cyanoformates; *Org. Biomol. Chem.* **2004**; 2; 1921-1933.
- 70 G. M. Wieber, L. G. Hegedus, B. Ackermack, E. T. Michalson; Palladium(II)-Assisted Carboacylation of Enamides To Produce Functionalized  $\beta$ -Amino Acids. Synthesis of Relays to ( $\pm$ )-Thienamycin; *J. Org. Chem.* **1989**; 54; 4649-4653.
- 71 A. Kamatani, L.E. Overmann; A Suzuki Coupling Method for Directly Introducing a Protected  $\beta$ -Aminoethyl Group into Arenes and Alkenes. Convenient Synthesis of Phenethyl and Homoallylic Amines; *J. Org. Chem.* **1999**; 99; 8743-8744.
- 72 R. Hart; *N*-Vinyl derivatives. III. Synthesis of vinylureas, vinylcarbamates, and their polymers; *Bull. Soc. Chim. Belges* **1957**; 66; 229-243.
- 73 R. Hart; Grafted and block copolymers; *Ind. Chim. Belge* **1957**; 22; 39-51.
- 74 W. Nagata, K. Okada, T. Aoki; *ortho*-Specific  $\alpha$ -Hydroxyalkylation of Phenols with Aldehyds. An Efficient Synthesis of Saligenol Derivatives; *Synthesis* **1979**, 365-368.
- 75 C. Ducho; *Dissertation* **2005**, Universität Hamburg.
- 76 P. K. Choudhury, J. Almena, F. Foubelo, M. Yus; New Homologation of 2-Hydroxy and 2-Mercapto Benzylic Alcohols; *Tetrahedron* **1997**, 53, 17373-17382.
- 77 C. Meier, M. Ruppel, D. Vukadinovic, J. Balzarini; "Lock-in"-*cycloSal*-pronucleotides - a new generation of chemical trojan horses; *Mini Rev. in Med. Chem.* **2003**, 4, 383-394.
- 78 C. Meier, M. Ruppel, D. Vukadinovic, J. Balzarini; Second generation *cycloSal*-pronucleotides with esterase-cleavable sites - the "lock-in"-concept; *Nucleoside, Nucleotides & Nucleic Acids* **2004**, 89-115.
- 79 M. F. H. Ruppel; *Dissertation* **2003**, Universität Hamburg.

- 
- 80 G.W. Breton; Selective Monoacetylation of Unsymmetrical Diols Catalysed by Silica Gel-Supported Sodium Hydrogen Sulfate; *J. Org. Chem.* **1997**; 62; 8952-8954.
- 81 T. Zismann; *Diplomarbeit* **2007**, Universität Hamburg.
- 82 J. H. van Boom, P. M. J. Burgers; Use of Levulinic Acid in the Protection of Oligonucleotides via the modified Phosphotriester Method: Synthesis of Decaribonucleotide U-A-U-A-U-A-U-A-U-A.; *Tetrahedron Lett.* **1976**; 52; 4875-4878.
- 83 N. Jeker, C. Tamms; Synthesis of New, Unnatural Macrocyclic Trichothecenes: 3-Isoverrucarin A ((1"-0)(3->4)abeo-Verrucarín A), Verrucinol, and Verrucene; *Helv. Chim. Acta* **1988**; 71; 1895-1903.
- 84 D. Vukadinovic; *Diplomarbeit* **2003**, Universität Hamburg.
- 85 N. Miyaura, T. Ishiyama, M. Ishikawa, A. Suzuki; Palladium-catalyzed Cross-coupling Reactions of B-alkyl-9-BBN, or Trialkylboranes with Aryl and I-Alkenyl Halides; *Tetrahedron Lett.* **1986**; 27; 6369-6372.
- 86 R. Brückner; Reaktionsmechanismen; Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford **1996**; 87-94.
- 87 B. H. Ridway, K.A. Woerpel; Transmetalation of Alkylboranes to Palladium in the Suzuki Coupling Reaction Proceeds with Retention of Stereochemistry; *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 458-460.
- 88 J.P. Wolfe, R. A. Stinger, B. H. Yang, S. L. Buchwald; Highly Active Palladium Catalyst for Suzuki Coupling Reactions; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**; 121; 9559-9561.
- 89 J. P. Corbet, G. Mignani; Selected Patented Cross-Coupling Reaction Technologies; *Chem. Rev.* **2006**; 106; 2651-2710.
- 90 K. Matos, J. A. Sonderquist; Alkylboranes in the Suzuki-Miyaura Coupling: Stereochemical and Mechanistic Studies; *J. Org. Chem.* **1998**; 63; 461-470.
- 91 S. R. Chemler, D. Trauner, S. j. Danishefsky, Die B-Alkyl-Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung: Entwicklung, Untersuchungen zum Mechanismus und Anwendung in der Naturstoffsynthese; *Angew. Chem.* **2001**, 113; 4676-4701.

- 
- 92 F. Diederich, P.J. Stang, *Metal-catalyzed Cross-coupling Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, Berlin, New York. **1998**, 49–97.
- 93 N. Miyaura, A. Suzuki, *Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds*, *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2457-2483.
- 94 G. B. Smith, G. C. Dezeny, D. L. Hughes, A. O. King, T. R. Verhoeven; *Mechanistic Studies of the Suzuki Cross-Coupling Reaction*; *J. Org. Chem.* **1994**; 59; 8151-8156.
- 95 J.C. Boehm, J.G. Gleason, I. Pendrak, H.M. Sarau, D.B. Schmidt, J.J. Foley, W.D. Kingsbury, *Synthesis and LTB4 Receptor Antagonist Activities of the Naturally Occurring LTB4 Receptor Antagonist Leucettamine A and Related Analogues*; *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 3333-3340.
- 96 N. Miyaura, T. Ishiyama, H. Sasaki, M. Ishikawa, M. Satoh, A. Suzuki; *Palladium-Catalyzed Inter- and Intramolecular Cross-Coupling Reactions of *B*-Alkyl-9-borabicyclo[3.3.1]nonane Derivatives with 1-Halo-1-alkenes. Syntheses of Functionalized Alkenes, Arenes and Cycloalkenes via a Hydroboration-Coupling Sequence*; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**; 111; 314-321.
- 97 T. Ohgi, T. Kondo, T. Goto; *Total Synthesis of Nucleoside Q*; *Tetrahedron Lett.* **1977**; 46; 4051-4054.
- 98 H. J. Jessen; *Dissertation 2008*, Universität Hamburg.
- 99 W.F. Huffmann, K. G. Holden, T. F. Buckley, J. G. Gleason, L. Wu; *Nuclear Analogues of  $\beta$ -Lactam Antibiotics. 2. The Total Synthesis of 8-Oxo-4-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic Acids*; *J. Org. Chem.* **1972**; 99; 2353-2355.
- 100 P.D. Senter, K.S. Beam, B. Mixan, A.F. Wahl; *Identification and Activities of Human Carboxylesterases for the Activation of CPT-11, a Clinically Approved Anticancer Drug*, *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 1074-1080.
- 101 G. L. Stahl, R. Walter, C. W. Smith; *General Procedure for the Synthesis of Mono-*N*-acylated 1,6-Diaminohexanes*; *J. Org. Chem.* **1978**; 11; 2285-2286.
- 102 D. R. Williams, D. L. Brown, J. W. Bendow; *Studies of Stemonal Alkaloids. Total Synthesis of (+)-Croomine*; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**; 111; 1923-1925.

- 
- 103 T. Fukuyama, R. K. Frank, C. F. Jewell; Total Synthesis of dl-Antibiotic 593A; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**; *102*; 2122-2123.
- 104 B. Reichardt; *Diplomarbeit* **2005**, Universität Hamburg.
- 105 B. Reichardt, O. R. Ludek, C. Meier; New and efficient Synthesis of Racemic Cyclopent-3-en-1-yl Nucleoside Analogues and their Derivatives; *Coll. Czech. Chem. Comm.* **2006**; *71*; 1011-1028.
- 106 C. Meier, J. Renze, C. Ducho, J. Balzarini; CycloSal-d4TMP Pronucleotides - Structural Variations, Mechanistic Insights and Antiviral Activity; *Curr. Top. Med. Chem.* **2002**; *2*; 1109-1119.

## Anhang

### Gefahrstoffliste

Substanz	Gefahrensymbole	R-Sätze	S-Sätze
9-BBN	Xi, F	11-14/15-19- 36/37	16-26-33-43
Aceton	Xi, F	11-36-66-67	9-16-26
Acetonitril	Xn, F	11-20/21/22-36	16-36/37
Acrylsäurechlorid	F, C	11-35-37	7/9-16-26- 36/37/39-45-51
Ammoniumchlorid	Xn, Xi	22-36	22
Benzophenon	Xi, N	36/37/38-50/53	26-36-60-61
Benzylalkohol	Xn	20/22	(2)-26
Bortrichlorid 1 M in Dichlormethan	T+, C	14-26/28-35-40	9-23-26-28- 36/37/39-45
Brombenzol	Xi, N	10-38-51/53	61
<i>ortho</i> -Bromphenol	Xn, Xi	10-22-36/37/38	16-36/37/39
5-Bromsalicylaldehyd	Xi	36/37/38	26-36
<i>t</i> -Butanol	Xn, F	11-20	9-16
3-Butensäure	C	34-37	26-36/37/39-45
<i>t</i> -Butylhydroperoxid	C, O	7-10-20/21/22- 34-65	14.1-26-3/7- 36/37/39-45-62
<i>n</i> -Butyllithium 1.6 M in Hexan	F, C, N	11-15-17-34- 48/20-51/53-62- 65-67	16-26-36/37/39- 43.11-45-61-62
Cäsiumcarbonat	Xi	36/37/38	22-26
Calciumchlorid	Xi	36	22-24
Calciumhydrid	F	15	24/25-43.12-7/8

Substanz	Gefahrensymbole	R-Sätze	S-Sätze
Chloroform	Xn	22-38-40- 48/20/22	36/37
2'-Desoxythymidin	-----	-----	22-24/25
Dichlormethan	Xn	40	23-24/25-36/37
<i>N,N'</i> - Dicyclohexylcarbodiimid	T	24-22-41-43	(1/2)-24-26- 37/39-45
Diethylether	Xn, F+	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Dinatriumhydrogenphosphat	-----	-----	-----
2,2-Dimethoxypropan	Xi, F	11-36-66	9-16-26
2,4-Dinitrophenylhydrazin	Xn, F	1-11-22	35
Diisopropylethylamin	F, C	11-22-34-52/53	16-26-36/37/39- 45-60
<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin	T	25-27-36/37/38	26-28.2- 36/37/39-45
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	T	61-20/21-36	53.1-45
<i>N,N</i> -Dimethylformamid- dineopentylacetal	Xi	36/37/38	26-36
Dimethylsulfoxid	-----	-----	-----
Di- <i>tert</i> -butylpyrocarbonat	T+	10-26-36/38-43	28-36/37-45
Dowex 50 X 8	Xi	36/37/38	26-36
Essigsäure	C	10-35	26-36/37/39-45
Ethanol	F	11	7-16

Substanz	Gefahrensymbole	R-Sätze	S-Sätze
Ethylacetat	Xi, F	11-36-66-67	16-26-33
<i>para</i> -Formaldehyd	C	20/22-34-40-43	26-36/37/39-45
<i>n</i> -Hexan	Xn, F, N	11-38-48/20- 51/53-62-65-67	9-16-29-33- 36/37-61-62
1-Hexen	F, Xn	11-65	-----
2-(2-Hydroxyphenyl)ethanol	Xn	24-41	26-37/39
2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	Xi	36/37/38	26-37/39
Kaliumacetat	-----	-----	-----
Kalium- <i>t</i> -butanolat	F, C	11-14-35	16-26-36/37/39- 43.12-45-7/9
Kaliumcarbonat	Xn, Xi	22-36/37/38	26-36
Kaliumdihydrogenphosphat	-----	-----	-----
Lithiumaluminiumhydrid	F	15	24/25-43.12-7/8
Magnesium	-----	-----	-----
Magnesiumchlorid	-----	-----	-----
Mesylchlorid	T	24/25-26-34-37	26-28.1- 36/37/39-45
Methanol	T, F	11-23/24/25- 39/23/24/25	7-16-36/37-45
<i>N</i> -Methylpyrrolidin	F, C	11-22-34	16-26-36/37/39- 45
3-Methylsalicylsäure	Xn, Xi	22-37/38-41	26-36/39
Natrium	F, C	14/15-34	8-43.12-45
Natriumazid	T+, N	28-32-50/53	(1/2)-28-45-60- 61
Natriumcarbonat	Xi	36	22-26

Substanz	Gefahrensymbole	R-Sätze	S-Sätze
Natriumhydrid 60 % in Öl	Xi, F	15-36	24/25-26-43.11-7/8
Natriumhydrogencarbonat	-----	-----	-----
Natriumiodid	Xi	36/38	26
Natriumsulfat	-----	-----	-----
Natronlauge 3 M	C	34	26-37/39-45
Pd(dppf)Cl <sub>2</sub>	nicht geprüft	nicht geprüft	nicht geprüft
Petrolether 50/70	Xn, F+	12-65	9-16-29-33-62
4-Pentensäure	C	22-34	26-36/37/39-45
4-Pentensäurechlorid	C	10-34	16-26-36/37/39-45
Phenylboronsäure	Xn	22	22-24/25
Phosphor(III)-chlorid	T+, C	14-26/28-29-35-48/20	26-36/37/39-45-7/8
Phosphor(V)-oxid	C	35	22-26-45
Propionsäure	C	34	26-36/37/39-45
Pyridin	Xn, F	11-20/21/22	26/28
Salzsäure 2 N	C	34-37	26-36/37/39-45
Salzsäure konzentriert	C	34-37	(1/2)-26-36/37/39-45
Schwefelsäure konz.	C	35	26-30-45
Silbernitrat	C, N	34-50/53	(1/2)-26-45-60-61
TBAF 1 M in THF	F, C	11-19-34	16-26-36/37/39-45
TBAH 40 % in Wasser	C	34	26-36/37/39-45

---

<b>Substanz</b>	<b>Gefahrensymbole</b>	<b>R-Sätze</b>	<b>S-Sätze</b>
Tetrahydrofuran	Xi, F	11-19-36/37	16-29-33
Toluol	Xn, F	11-20	16-25-29-33
<i>para</i> -Toluolsulfonsäure	Xi	36/37/38	26
Triethylamin	F, C	11-20/21/22-35	3-16-26-29- 36/37/39-45
Trifluoressigsäure	C	20-35-52/53	26-36/37/39-45
Wasserstoffperoxid 30 %	C	34	28.1-36/39-45

---

## Lebenslauf

### Dalibor Vukadinovic-Tenter

geboren am 02. Juli 1975 in Hamburg, Deutschland

verheiratet, keine Kinder

### Akademische Ausbildung

10/1996 - 06/2003 Studium der Chemie an der Universität Hamburg

09/2002-06/2003 Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg. Titel: "Synthese und Hydrolyseverhalten neuer "lock-in"-modifizierter *cycloSal*-Pronucleotide"

seit 09/2003 Promotion an der Universität Hamburg an dem Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier

### Lehrerfahrung

09/2003-03/2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich Chemie der Universität Hamburg. Assistent im organisch-chemischen Grundpraktikum, Assistent im Fortgeschrittenenpraktikum in Organischer Chemie sowie im Integrierten Synthesepraktikum in Anorganischer und Organischer Chemie (für Studierende der Chemie im Hauptstudium)

### Berufstätigkeit

09/2003-03/2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich Chemie der Universität Hamburg. Assistent im organisch-chemischen Grundpraktikum, Assistent im Fortgeschrittenenpraktikum in Organischer Chemie sowie im Integrierten Synthesepraktikum in Anorganischer und Organischer Chemie (für Studierende der Chemie im Hauptstudium)

seit 06/2007 Anstellung bei IPB AG

## Publikationsliste

### Zeitschriftenbeiträge:

1. C. Meier, M. F. Ruppel, D. Vukadinovic, A. Merbach, P. Wutzler, E. De Clerq, J. Balzarini; "Lock-in" modified *cycloSal*-d4TMP and -BVDUMP triesters - extension of a pronucleotide system; *Antiviral Res.* **2003**, 57, 1 A39.
2. C. Meier, M. F. Ruppel, D. Vukadinović, J. Balzarini; Second generation of *cycloSal*-pronucleotides with esterase-cleavable sites: the "lock-in"-concept; *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2004**; 23(1-2); 89-115.
3. C. Meier, M. F. Ruppel, D. Vukadinović, J. Balzarini.; "Lock-in"-*cycloSal*-pronucleotides - a new generation of chemical Trojan Horses?; *Mini Rev Med Chem.* 2004; 4(4); 383-394.
4. D. Vukadinović; N. P. H. Böge, C. Meier, J. Balzarini; "Lock-in" modified *cycloSal* Nucleotides - the second generation of *cycloSal* Prodrugs; *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2005**; 24(5-7); 939-942.
5. D. Vukadinovic, C. Meier, J. Balzarini; Novel "Lock-in" Modified *cycloSal* Nucleotides (I): Variations of the Linker Moiety; *Antiviral Research* **2005**, 65, A93.
6. C. Meier, C. Ducho, H. Jessen, D. Vukadinović-Tenter, J. Balzarini; Second Generation of *cycloSal*-d4TMP pronucleotides bearing esterase cleavable sites – The trapping concept; *Eur. J. Org. Chem.* **2006**; 1; 197-206.
7. D. Vukadinović-Tenter, C. Meier, J. Balzarini; New Developments of the "lock-in" *cycloSal*-d4TMPs; *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2007**; 26(10-12); 1325-1328.

*Posterpräsentationen:*

1. D. Vukadinović; N. P.H Böge, M. F. Ruppel, C. Meier, J. Balzarini; "Lock-in" modified *cycloSal* Nucleotides - The second Generation of *cycloSal* Prodrugs, GDCH-JCF-Frühjahrssymposium, Heidelberg, März 31- April 3, 2004.
2. D. Vukadinović; N. P.H Böge, C. Meier, J. Balzarini; "Lock-in" modified *cycloSal* Nucleotides - The second Generation of *cycloSal* Prodrugs, XVI-International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids; Minneapolis, September, 12-16, 2004.
3. D. Vukadinović; J. Albers, C. Meier, J. Balzarini; Novel "lock-in" modified *cycloSal* Nucleotides - Variation of the linker moiety, 18th International Conference on Antiviral Research, Barcelona, April, 10-14, 2005.
4. D. Vukadinović-Tenter, C. Meier, J. Balzarini; New Developments of "lock-in" modified *cycloSal* Pronucleotides, XVII-International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids; Bern, September, 3-7, 2006.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Dissertation „Neue Entwicklungen der „lock-in“-modifizierten *cycloSal*-Nucleosid-Monophosphate“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

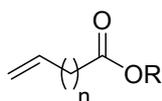
Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

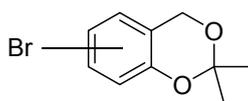
Dalibor Vukadinovic-Tenter

Hamburg, den 20.10.2008

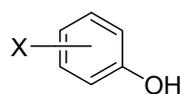
## Verbindungsliste



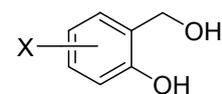
n = 1, R = Me **52a**  
 n = 1, R = Bn **52b**  
 n = 1, R = *t*-Bu **52c**  
 n = 2, R = Me **55a**  
 n = 2, R = Bn **55b**  
 n = 2, R = *t*-Bu **52c**



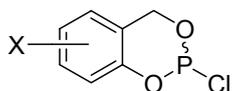
3- **66**  
 5- **67**



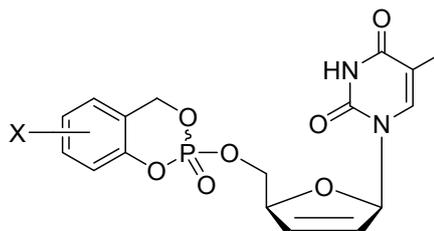
X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAc **72a**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **72b**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOMe **73**  
 X = 5-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **74b**



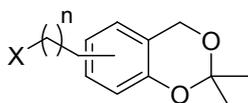
X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAc **78a**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **78b**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOMe **79**  
 X = 5-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **80**



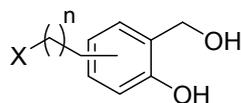
X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAc **81a**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **81b**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOMe **82**  
 X = 5-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **83**



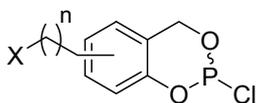
X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OAc **38a**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH **38b**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **38c**  
 X = 3-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOMe **42a**  
 X = 5-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OLev **43a**  
 X = 5-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH **43b**



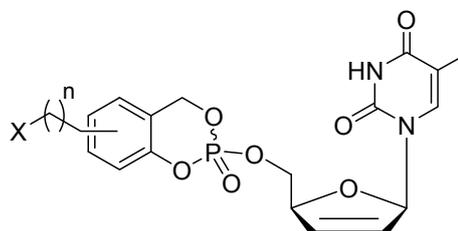
3-, n = 2, X = COOMe **106a**  
 3-, n = 2, X = COOBn **106b**  
 3-, n = 3, X = COOBn **107a**  
 3-, n = 3, X = COO*t*-Bu **107b**  
 5-, n = 2, X = COOMe **108**  
 5-, n = 3, X = COOBn **109a**  
 5-, n = 3, X = COO*t*-Bu **109b**  
 5-, n = 5, X = H **110**



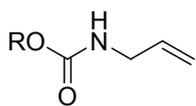
3-, n = 2, X = COOMe **111a**  
 3-, n = 2, X = COOBn **111b**  
 3-, n = 3, X = COOBn **112a**  
 3-, n = 3, X = COO*t*-Bu **112b**  
 5-, n = 2, X = COOMe **113**  
 5-, n = 3, X = COOBn **114a**  
 5-, n = 3, X = COO*t*-Bu **114b**  
 5-, n = 5, X = H **115**



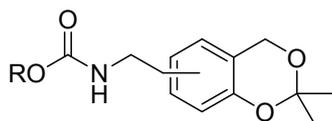
3-, n = 2, X = COOMe **116a**  
 3-, n = 2, X = COOBn **116b**  
 3-, n = 3, X = COOBn **117a**  
 3-, n = 3, X = COO*t*-Bu **117b**  
 5-, n = 2, X = COOMe **118**  
 5-, n = 3, X = COOBn **119a**  
 5-, n = 3, X = COO*t*-Bu **119b**  
 5-, n = 5, X = H **120**



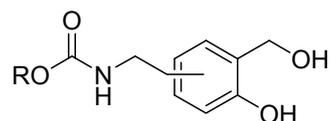
3-, n = 2, X = COOMe **37a**  
 3-, n = 2, X = COOBn **37b**  
 3-, n = 3, X = COOBn **44a**  
 3-, n = 3, X = COO*t*-Bu **44b**  
 3-, n = 3, X = COOH **44c**  
 5-, n = 2, X = COOMe **45**  
 5-, n = 3, X = COOBn **45a**  
 5-, n = 3, X = COO*t*-Bu **46b**  
 5-, n = 3, X = COOH **46c**  
 5-, n = 5, X = H **120**



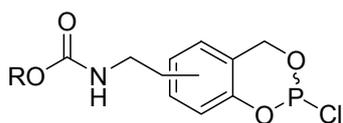
R = Bn **58a**  
R = *t*-Bu **58b**



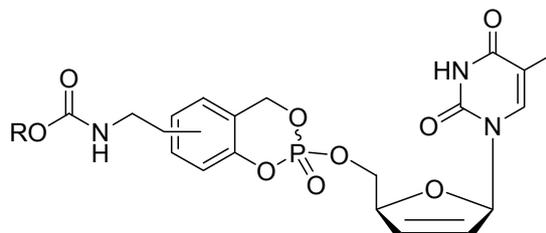
3- R = Bn **127a**  
3- R = *t*-Bu **127b**  
5- R = Bn **128**



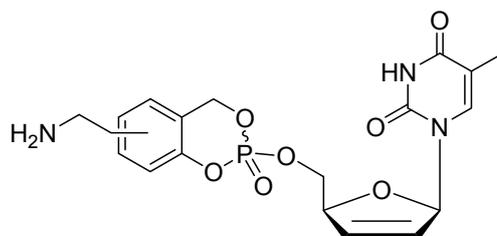
3- R = Bn **129a**  
3- R = *t*-Bu **129b**  
5- R = Bn **130**



3- R = Bn **131a**  
3- R = *t*-Bu **131b**  
5- R = Bn **132**



3- R = Bn **47a**  
3- R = *t*-Bu **47b**  
5- R = Bn **39**



3- **40**  
5- **133**