*Cyclo*Saligenyl-Nucleotide: Untersuchungen zum TK- und ADA-Bypass antiviral aktiver Pro-Nucleotide

Dissertation
zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Universität Hamburg

vorgelegt von
Tina Knispel
aus
Frankfurt/Main

Hamburg
2001

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Paulsen

Letzte Prüfung: 11.12.2001

meinen Eltern und Andreas

Viren sind die einzigen Rivalen
um die Herrschaft über unseren Planeten.
Wir müssen auf Draht sein,
um mit ihnen Schritt zu halten.

Joshua Lederberg

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Meier im Institut für Organische Chemie der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität in Würzburg in der Zeit von Mai 1997 bis März 1999 und im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg in der Zeit von April 1999 bis März 2001 angefertigt.

Herrn Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die interessante Themenstellung, die gute Betreuung während der Arbeit und für die hervorragenden experimentellen Bedingungen zu ihrer Durchführung. Zudem danke ich ihm für die allzeitige Bereitschaft zu zahlreichen Diskussionen und Anregungen, durch die er stets Einfluß auf die Gestalt der Arbeit genommen hat.

Frau Florence Mugnier danke ich für die angenehme und kooperative Zusammenarbeit während der Anfertigung ihres P.F.E Reportes in unserem Arbeitskreis und für die Überlassung ihrer hervorragenden Ergebnisse.

Frau Lieve Naesens vom Institute for Medical Research in Leuven, Belgien danke ich für die erstklassigen experimentellen Bedingungen während meines dortigen Forschungsaufenthaltes, sowie für die intensive Betreuung und die zahlreichen Diskussionen und Anregungen während dieser Zeit.

Außerdem möchte ich mich bei folgenden Personen der Universität Würzburg für die hervorragende technische Unterstützung bedanken:

Herrn Dr. Scheutzow und seinem Team für die Messung von ^{1}H- und ^{13}C-NMR Spektren. Herrn Dr. Buchner und Frau Schäfer für die Messung von ^{31}P-, ^{19}F- und ^{1}H-NMR Spektren. Für die Messung der ESI-Massenspektren bedanke ich mich bei Herrn Priv. Doz. Dr. Herderich und seinen Mitarbeitern vom Institut für Lebensmittelchemie.

Herrn Dr. Sinnwell und seinem Team möchte ich für die Messung der ^{1}H-, ^{13}C-, ^{31}P- und ^{19}F-NMR-Spektren während meiner Arbeit an der Universität Hamburg danken.

MALDI-TOF Massenspektren wurden freundlicherweise von Herrn Nagorny/AK Prof. Thiem gemessen.

Für das gute Arbeitsklima, die stete Hilfsbereitschaft und Zusammenarbeit möchte ich allen Mitarbeitern des Arbeitskreises danken. Besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Laborkollegin Frau Mirjam Rose und Herrn Andreas Lomp für das gute Arbeitsklima während meiner Zeit in Hamburg und Würzburg.

Frau Heide von Rekowski möchte ich für so manchen fürsorglichen Rat und die stete Hilfsbereitschaft während meiner Zeit in Hamburg danken.

Frau Rebecca Rock danke ich für das gute Klima und die produktive Arbeit im Rahmen ihres F-Prakikums an der Universität Würzburg.

Weiterhin möchte ich Herrn Prof. Dr. Jan Balzarini und seinen Mitarbeitern, Institute for Medical Research, Leuven, Belgien für die Durchführung der *in vitro* Zelltests danken.

Herrn Prof. Dr. Victor E. Marquez, National Institutes of Health, NCI, USA und Herrn Prof. Dr. Vasu Nair, University of Iowa, USA danke ich für die großzügige Spende des 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosins.

Herrn Andreas Hohlfeld danke ich für seine große Geduld und Ausdauer während der kritischen Durchsicht des Manuskriptes. Außerdem möchte ich ihm für seine uneingeschränkte Unterstützung während der letzten zwei Jahre meiner Promotion danken.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1

2. Kenntnisstand 6

2.1 Zugelassene HIV-Medikamte 6

2.2 Weitere Nucleosid-Analoga – ihre Wirkungsweise und Eigenschaften 8

2.2.1 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** und 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** 8

2.2.2 β-D-2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** 10

2.2.3 3‘-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** 11

2.2.4 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16** 12

2.2.5 2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** 14

2.3 Das Prodrug-Konzept 14

2.3.1 Prodrug Systeme für Nucleosid-5‘-Monophosphate 16

2.3.1.1 Pro-Nucleotid-Konzepte 17

2.3.2 Probleme der Pro-Nucleotid Konzepte 20

2.3.3 *Cyclo*Saligenyl-Phosphattriester: Ein neues dreiteiliges Pro-Nucleotid-Konzept 20

3. Problemstellung 25

4. Resultate und Diskussionen 28

4.1 Synthese von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) 28

4.1.1 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** 28

4.1.2 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** 30

4.2 Synthese von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) 31

4.2.1 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** 31

4.2.2 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** 32

4.3 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) 34

4.3.1 Synthesestrategien für 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5 und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** ... 34

4.3.2 Darstellung der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5 und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** ... 35

4.4 Synthese der *cyclo*Saligenyl-Nucleosid-Monophosphate ... 36

4.4.1 Synthesestrategien ... 36

4.4.2 Darstellung der Salicylalkohole **29b-h** ... 38

4.4.3 Darstellung der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-h** ... 40

4.4.4 Darstellung des cyclischen Saligenylphosphoramidits **71c** ... 41

4.4.5 Darstellung der cyclischen Saligenylphophorchloridate **72a-c** ... 42

4.4.6 Darstellung der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-c**, *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-h**, 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP **36c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP **44c** und 3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP **45c** ... 43

4.4.6.1 Darstellung der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-c**, *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-h**, 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP **36c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A) ... 43

4.4.6.2 Darstellung von 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP **35c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP **44c** und 3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP **45c** mittels Synthesevariante B ... 45

4.4.6.3 Darstellung der 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Verbindung **35c** mittels Synthesevariante C ... 48

4.5 Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat ... 49

4.5.1 Synthesestrategie zur allgemeinen Darstellung von 5'-Monophosphaten **30** .. 49

4.5.2 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphate (ddAMP+2Na$^+$) **8**α aus *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) **35a** ... 50

4.6 Eigenschaften der *cyclo*Sal-d4AMP- und *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen ... 51

4.6.1 Der Zellmembrantransport und die Zusammenhänge mit der Lipophilie ... 51

4.6.1.1 Bestimmung des Nernst'schen Verteilungskoeffizienten ... 52

4.6.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-d4AMP-, *cyclo*Sal-ddAMP-, *cyclo*Sal-d4IMP- und *cyclo*Sal-ddIMP-Verbindungen **34a-d**, **35a-h**, **36c** und **37c**.....54

4.6.2.1 Hydrolysekinetiken in wäßrigen Puffersystemen.....55

4.6.3 Anti-HIV-Tests der *cyclo*Sal-d4AMP- **34a-d** und *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-h**.....61

4.6.4 Enzymatische Stabilität.....66

4.7 Synthese von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA).....68

4.7.1 Synthesestrategie für 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) **18**.....68

4.7.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) **18** 69

4.8 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI).....72

4.8.1 Synthesestrategien für 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** 72

4.8.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** 74

4.9 Darstellung der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-, und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Verbindungen 75

4.9.1 Darstellung der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-, und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Verbindungen **38a-c,e-f**, **39a-c**, **40c** und **41c** (Synthesevariante A).....75

4.9.2 Darstellung von *cyclo*Sal-(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP) **38c** unter Verwendung von 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid als Schutzgruppe...77

4.10 Synthese der 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphate und 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyinosin-5'-Monophosphate 79

4.10.1 Darstellung von 2‘-F-*ara*-ddAMP **46**α, 2‘-F-*ribo*-ddAMP **47**α, 2‘-F-*ara*-ddIMP **48**α und 2‘-F-*ribo*-ddIMP **49**α 79

4.11 Eigenschaften der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Verbindungen .80

4.11.1 Verteilungskoeffizient der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleosid-Monophosphate **38a-c**,**e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** 80

4.11.2 Hydrolysekinetiken in wäßrigen Puffersystemen 82

4.11.3 Anti-HIV Aktivität der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleosid-Monophosphate **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** 85

4.11.4 Enzymatische Stabilität..... 89

4.12 Konformationsanalyse von Nucleosiden 91

4.12.1 Strukturell rigide 2',3'-Didesoxynucleosid-Analoga..... 96

4.12.2 Konformationsanalyse mittels Hochfeld-^{1}H-NMR-Spektroskopie von 2'-fluorierten 5'-Monophosphaten und *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden 98

4.13 Synthese 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) 101

4.13.1 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin (d4T) **2** 101

4.13.2 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2**..... 102

4.13.3 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2**..... 102

4.14 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 103

4.14.1 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42a,c,e-h** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)..... 103

4.14.2 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42c** (Synthesevariante B). 105

4.14.3 Darstellung der *cyclo*Sal-d4T-Verbindungen **42a-c** (Synthesevariante C) ... 107

4.15 Eigenschaften der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 108

4.15.1 Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** 108

4.15.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** 109

4.15.3 Anti-HIV-Tests der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** 111

4.16 Darstellung der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen..... 112

4.16.1 Synthesestrategie 112

4.16.2 Darstellung der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** (Synthesevariante A) 114

4.17 Eigenschaften der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen..... 115

4.17.1 Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** 115

4.17.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** 116

4.17.3 Anti-HIV Aktivitäten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** 116

5. Zusammenfassung und Ausblick 118

6. Experimenteller Teil 128

6.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen 128

6.1.1 Chromatographie 128

6.1.1.1 Dünnschichtchromatographie (DC) 128

6.1.1.2 Präparative chromatographische Trennung 128

6.1.1.3 Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie) 128

6.1.1.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) 129

6.1.2 Fourier-Transform- Infrarotspektroskopie (FT-IR) 129

6.1.3 Kernresonanzspektroskopie (NMR) 129

6.1.4 Ultraviolettspektroskopie (UV) 130

6.1.5 Massenspektrometrie (MS) 130

6.1.6 Geräte 130

6.1.7 Verwendete Puffer und Reagenzien 131

6.2 Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** 132

6.2.1 Darstellung von 2',3'-*O*-Methoxyethylidenadenosin **51** 132

6.2.2 Darstellung von 3'-Brom-3'-dexoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin 52 133

6.2.3 Darstellung von 5'-*O*-Acetyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **60** 134

6.2.4 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** 135

6.3 Synthese von 2',3'- Didesoxyadenosin (ddA) 136

6.3.1 Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin **63** 136

6.3.2 Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-3'-methylthiocarbonyl-2'-desoxyadenosin **64** 138

6.3.3 Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-didesoxyadenosin **65** 139

6.3.4 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** 140

6.4 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** durch enzymatische Reaktion mit Adenosin-Desaminase (ADA) 141

6.4.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von Hypoxanthin-Nucleosiden aus den entsprechenden Adenin-Verbindungen durch enzymatische Desaminierung mit ADA 141

6.4.2 Darstellung von 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** 142

6.4.3 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** 143

6.5 Synthese der Salicylalkohole 144

6.5.1 Allgemeine Methode zur Reduktion von 2-Hydroxybenzoesäuren **69** zu den jeweiligen Salicylalkoholen **29** 144

6.5.1.1 Darstellung von 5-Methoxysalicylalkohol **29b** 144

6.5.1.2 Darstellung von 3-Methylsalicylalkohol **29c** 145

6.5.2 Darstellung von 2-Hydroxy-3.5-dimethylbenzaldehyd **68d** 146

6.5.3 Darstellung von 3,5-Dimethylsalicylalkohol **29d** 147

6.5.4 Allgemeine Methode zur *ortho*-Formylierung von alkylsubstiuierten Phenolen zu den jeweiligen Salicylaldehyden nach Casiraghi[207] 148

6.5.4.1 Darstellung von 3-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **68e** 149

6.5.4.2 Darstellung von 3-*sek*-Butyl-salicylaldehyd **68f** 150

6.5.4.3 Darstellung von 5-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **68g** 151

6.5.4.4 Darstellung von 5-*sek*-Butyl-salicylaldehyd **68h** 151

6.5.5 Allgemeine Methode zur Reduktion von alkylsubstituierten Salicylaldehyden **68** zu den jeweiligen Salicylalkoholen **29** 152

6.5.5.1 Darstellung von 3-*tert*-Butyl-salicylalkohol **29e** 153

6.5.5.2 Darstellung von 3-*sek*-Butyl-salicylalkohol **29f** 154

6.5.5.3 Darstellung von Darstellung von 5-*tert*-Butyl-salicylalkohol **29g** 154

6.5.5.4 Darstellung von 5-*sek*-Butyl-salicylalkohol **29h** 155

6.6 Synthese der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** 156

6.6.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von cyclischen Saligenylchlorphosphanen (4H-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-chlorid) **70** 156

6.6.1.1 Darstellung von Saligenylchlorphosphan **70a** 156

6.6.1.2 Darstellung von 5-Methoxysaligenylchlorphosphan **70b** 157

6.6.1.3 Darstellung von 3-Methylsaligenylchlorphosphan **70c** 158

6.6.1.4 Darstellung von 3,5-Dimethylsaligenylchlorphosphan **70d** 159

6.6.1.5 Darstellung von 3-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan **70e** 159

6.6.1.6 Darstellung von 3-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan **70f** 160

6.6.1.7 Darstellung von 5-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan **70g** 161

6.6.1.8 Darstellung von 5-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan **70h** 162

6.7 Darstellung von cyclischen Saligenylphosphoramiditen **71** 163

6.7.1 Darstellung von 1.3.2-(3'-Methyl)benzodioxa-2-*N*,*N*'-diisopropylaminophosphorinan) **71c** 163

6.8 Darstellung von cyclischen Saligenylphosphorchloridaten **72** 164

6.8.1 Allgemeine Methode zur Oxidation von cyclischen Saligenylchlorphosphanen zu den jeweiligen cyclischen Saligenylphosphorchloridaten **72** 164

6.8.1.1 Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(5'-methoxybenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) **72b** 164

6.8.1.2 Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(3'-methylbenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) **72c** 165

6.9 Synthese der *cyclo*Saligenyl-2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4AMP) **34** 165

6.9.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphaten (*cyclo*Sal-d4AMP) **34a-d** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A) 166

6.9.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4AMP) **34a** 166

6.9.3 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4AMP) **34**b 168

6.9.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) **34c** 170

6.9.5 Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) **34d** 171

6.10 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphate (*cyclo*Sal-ddAMP) **35** 173

6.10.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-ddAMP) **35a-h** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A) 173

6.10.2 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante B) 174

6.10.3 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-ddAMP) **35** mittels Phosphor(V)-Chemie (Synthesevariante C) 174

6.10.4 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) **35a** 175

6.10.5 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-ddAMP) **35b**..... 176

6.10.6 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** (Synthesevariante A) 178

6.10.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** (Synthesevariante B) 179

6.10.8 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** (Synthesevariante C) 180

6.10.9 Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35d** 180

6.10.10 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenosyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35e** 182

6.10.11 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenosyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35f** 183

6.10.12 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenosyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35g** 184

6.10.13 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-adenosyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35h** 185

6.11 Synthese der *cyclo*Saligenyl-Phosphattriester mit der Nucleobase Hypoxanthin 187

6.11.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroinosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP) **36c** 187

6.11.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-inosinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP) **37c** 188

6.12 Synthese von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxycytidinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) 44c und *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5‘-*O*-(3‘-thiacytidinyl)phosphate (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) **45c** 190

6.12.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **44c** (Synthesevariante A) 190

6.12.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **44c** (Synthesevariante B) 191

6.12.3 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(3'-thiacytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) **45c** (Synthesevariante A) 192

6.12.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(3'-thiacytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) **45c** (Synthesevariante B) 193

6.13 Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat-Dinatriumsalz (ddAMP+2Na$^+$) 193

6.13.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von 5'-Nucleosidmonophos-phaten α aus *cyclo*Sal-Phosphattriestern **25** 194

6.13.1.1 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat-Dinatriumsalz (ddAMP+2Na$^+$) **8**α 194

6.14 Synthese von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'- didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** 195

6.14.1 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)adenosin **78**..... 195

6.14.2 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **79**..... 197

6.14.3 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **80** 198

6.14.4 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **81** 199

6.14.5 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **18** 200

6.14.6 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)adenosin **83**..... 201

6.14.7 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **84**.. 203

6.14.8 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **85** 204

6.14.9 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxy-adenosin **86** 205

6.14.10 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **18** 206

6.15 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** durch enzymatische Reaktion mit Adenosin-Desaminase..... 207

6.15.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von Hypoxanthin-Nucleosiden aus den entsprechenden Adenin-Verbindungen durch enzymatische Des-aminierung mit ADA 207

6.15.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** 208

6.15.3 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** 209

6.16 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyl-adenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a-c,e-h** und *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a-c**..... 210

6.16.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a-c,e-h** und *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a-c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A).....211

6.16.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyl-adenyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a**.....212

6.16.3 Darstellung von *cyclo(*5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39b**.....214

6.16.4 Darstellung von *cyclo(*3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39c**.....217

6.16.5 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyl-adenyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a**.....218

6.16.6 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38b**.....220

6.16.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38c**.....221

6.16.8 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38e**.....223

6.16.9 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38f**.....224

6.16.10 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38g**.....226

6.16.11 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosyladenyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38h**.....227

6.17 Synthese der 2'-Fluor-*cyclo*Saligenyl-Phosphattriester mit der Base Hypoxanthin.....229

6.17.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-arabinosylinosyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP) **40c**.....229

6.17.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluor-ribosylinosyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP) **41c**.....230

6.18 Synthese der 2'-Fluor-5'-Nucleosidmonophosphate (Dinatriumsalze) 232

6.18.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von 2'-Fluor-5'-Nucleosidmonophosphaten aus *cyclo*Sal-2'-Fluor-Phosphattriestern 232

6.18.1.1 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddAMP+2Na$^+$) **46**α 233

6.18.1.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddAMP+2Na$^+$) **47**α 234

6.18.1.3 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddIMP+2Na$^+$) **48**α 235

6.18.1.4 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddIMP+2Na$^+$) **49**α 237

6.19 Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) 238

6.19.1 Darstellung von 3',5'-Di-*O*-mesylthymidin **96** 238

6.19.2 Darstellung von 3',5'-Anhydrothymidin **95** 239

6.19.3 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** 240

6.20 Synthese der *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4TMP) **42** 241

6.20.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A) 241

6.20.2 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante B) 242

6.20.3 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42** mittels Phosphor(V)-Chemie (Synthesevariante C) 243

6.20.4 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42a** (Synthesevariante A) 243

6.20.5 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42a** (Synthesevariante C) 244

6.20.6 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4TMP) **42b** (Synthesevariante C) 245

6.20.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) **42c** (Synthesevariante B) 246

6.20.8 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) **42c** (Synthesevariante C) 247

6.20.9 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42e** (Synthesevariante A) 248

6.20.10 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42f** (Synthesevariante A) 250

6.20.11 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42g** (Synthesevariante A) 251

6.20.12 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42h** (Synthesevariante A) 254

6.21 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphate (*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43a-c** 255

6.21.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxy-adenosinyl)phosphate (*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43a-c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A) 255

6.21.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43a** 256

6.21.3 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)-phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43b** 258

6.21.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43c** 259

6.22 Synthese von *cyclo*Sal-(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-dides-oxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP) **38c** unter Verwendung von 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid als Schutzgruppe 260

6.22.1 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **90** 261

6.22.2 Darstellung von N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **91** 262

6.22.3 Darstellung von N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-*cyclo*(3-Methyl-saligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat **92** 263

6.22.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat **38c** 265

7. Literaturverzeichnis 271

8. Anhang 299

9. Verbindungsliste 302

Abkürzungen und Symbole

3TC(MP)	β-L-(-)-3-Thiacytidin(monophosphat)
AB	4-Acyloxybenzyl
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
ADA	Adenosindesaminase
AIBN	α,α'-Azoisobutyronitril
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AK	Adenosin-Kinase
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPDA	Adenosinmonophosphat-Desaminase
ap	antiperiplanar
ara	arabinosyl
ASL	Adenylosuccinat-Lyase
ASS	Adenylosuccinat-Synthase
ATP	Adenosintriphosphat
arom.	aromatisch
AZT	3‘-Azido-2‘,3‘-didesoxythymidin
Äquiv.	Moläquivalente
BSA	Benzolsulfonsäure
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
CC_{50}	cytotoxische Konzentration
$CDCl_3$	Deuterochloroform
CEM/0	Lymphozytenzellstamm (Wildtyp)
CEM/TK^-	Lymphozytenzellstamm (Thymidin-Kinase defizient)
*cyclo*Sal	*cyclo*-Saligenyl
δ	chemische Verschiebung (NMR)
D_2O	Deuteriumoxid
d4A(MP)	2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin(monophosphat)
d4I(MP)	2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin(monophosphat)
d4T(MP)	2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin(monophosphat)
d	Dublett
dA	2'-Desoxyadenosin

dAK	2‘-Desoxyadenosin-Kinase
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
dCK	2‘-Desoxycytidin-Kinase
dd	Doppeldublett
ddA(MP)	2‘,3‘-Didesoxyadenosin(monophosphat)
ddATP	2‘,3‘-Didesoxyadenosintriphosphat
ddC(MP)	2',3'-Didesoxycytidin(monophosphat)
ddI(MP)	2‘,3‘-Didesoxyinosin(monophosphat)
ddITP	2‘,3‘-Didesoxyinosintriphosphat
DC	Dünnschichtchromatographie
DIPA	*N*,*N*-Diisopropylamin
DIPEA	*N*,*N*-Diisopropylethylamin („Hünigs-Base“)
DMAP	4,4'-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO-d_6	Dimethylsulfoxid (sechsfach deuteriert)
DMTr	4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DTE	S-(2-Hydroxyethylsulfidyl)-2-thioethyl
ε	molarer Extinktionskoeffizient
EC	Enzyme Commission
EC_{50}	effektive Konzentration
EE	Essigsäureethylester
ESI	Elektronenspraymassenspektrometrie
f	folgende
2'-F-*ara*-ddA(MP)	2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin(monophosphat)
2'-F-*ara*-ddI(MP)	2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyinosin(monophosphat)
2'-F-*ribo*-ddA(MP)	2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin(monophosphat)
2'-F-*ribo*-ddI(MP)	2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyinosin(monophosphat)
h	Stunde(n)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography)
Hx	Hypoxanthin
Hz	Hertz
IR	Infrarotspektroskopie

J	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
k	Geschwindigkeitskonstante
konz.	konzentriert
λ_{max}	Wellenlänge (lokales Maximum)
λ_{min}	Wellenlänge (lokales Minimum)
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
log*P*	dekadischer Logarithmus des Verteilungskoeffizienten (PC-Wert)
µl	Mikroliter
m	Multiplett
M	Molekülmasse
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass (Matrix-unterstützte Laser-Desorptions Ionisations Massenspektrometrie
MCC	minimale cytotoxische Konzentration
MCZ	*N*-Methylcarbazol
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mmol	Millimol
mM	millimolar
mRNA	Botenribonucleinsäure (messengerRNA)
MS	Massenspektrometrie
$\tilde{\nu}$	Wellenzahlen [cm^{-1}]
ν_{max}	maximale Torsionswinkel des Furanoserings
n.b.	nicht bestimmt
nm	Nanometer
NMI	*N*-Methylimidazol
NMP	Nucleosidmonophosphat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NRTI	Nucleosidischer RT-Inhibitor
NNRTI	Nicht-nucleosidischer RT-Inhibitor
o	*ortho*
P	Pseudorotationswinkel

p	*para*
pH	negativer dekadische Logarithmus der H^+-Konzentration
Ph	Phenyl
PhH	Benzol
PI	Proteaseinhibitor
PC	Verteilungskoeffizient (partition coefficient)
PNP	Purin Nucleosid Phosphorylase
POM	Pivaloyloxymethyl
PSEUROT	Computersimulationsprogramm zur Konformationsanalyse
ppm	part per million
q	Quartett
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship
quart.	quartär
R	Rest (chemische Gruppe)
rms	root-mean-square (durchschnittl. Abweichung der berechneten Kopplungskonstanten [Hz])
R_f	Retentionsfaktor
ribo	ribosyl
RNA	Ribonucleinsäure
R_p	R-Konfiguration (CIP-Nomenklatur) an einem Phosphoratom
RP-HPLC	Reversed Phase-HPLC (Umkehrphasen-HPLC)
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Reverse Transkriptase
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett
SATE	S-Acyl-2-thioethyl
sc	synclinal
sek	sekundär
SG	Schutzgruppe
SI	Selektivitätsindex
Smp.	Schmelzpunkt
S_p	S-Konfiguration (CIP-Nomenklatur) an einem Phosphoratom
t	Triplett
$t_{1/2}$	Halbwertszeit

tert	tertiär
t_R	Retentionszeit
T	Thymin
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	*tert*-Butyldimethylsilyl
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
TFM	Trifluormethyl
THF	Tetrahydrofuran
TOA	Trioctylamin
TrCl	Triphenylmethylchlorid
U	Unit (Einheit der Enzymaktivität)
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenanteile
wäss.	wässrig

1. Einleitung

Das HI-Virus, ist ein Virus, das seit seiner Entdeckung im Jahre 1983 durch L. Montagnier und R. Gallo[1,2] das Interesse der Wissenschaft auf sich zieht und mit welchem inzwischen weltweit schätzungsweise 36 Millionen Menschen infiziert sind.[3] Es löst bei Infizierten die sogenannte erworbene Immunschwächekrankheit AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) aus. Ihr Verlauf endet fast immer tödlich.

Weltweit haben sich letztes Jahr 5.3 Millionen Menschen neu infiziert; im gleichen Zeitraum starben 3.0 Millionen Menschen an den Folgen von AIDS.[3] Die gegenwärtige globale Verteilung der HIV-Infizierten ist in Abbildung 1 gezeigt. Der afrikanische Kontinent ist zusammen mit Süd- und Südostasien am stärksten betroffen. Allein in Schwarzafrika sind 25.3 Millionen Menschen mit HIV infiziert. In vielen Ländern des südlichen Afrika ist die Ausbreitung des Virus in einem Maße fortgeschritten, daß hier in den nächsten Jahrzehnten eine immense Dezimierung der Bevölkerung eintreten wird. Laut Schätzungen der United Nations (UN) und der World Health Organisation (WHO) ist in Ländern wie Botswana, Zimbawe, Südafrika und Namibia derzeit sogar annähernd jeder dritte Einwohner im Alter zwischen 15 bis 49 Jahren infiziert.[4]

Abbildung 1: Globale Epidemiologie von HIV (Stand: 12/2000)

Auch in den Industrieländern hat sich das HI-Virus in den letzten Jahrzehnten enorm ausgebreitet und fordert jedes Jahr eine Vielzahl von Todesopfern. Allerdings konnten staatliche Aufklärungskampagnen eine Zunahme der Neuinfektionen unter der Bevölkerung verhindern. Eine Eindämmung der Epidemie, vor allem in den wirtschaftlich unterentwickelten Länder ist derzeit noch nicht abzusehen, da die Entwicklung eines Impfstoffes noch nicht erfolgreich

war. Zur Zeit ist deshalb eine medikamentöse Behandlung der infizierten Personen nötig, welche starke Nebenwirkungen nach sich zieht. Die bisher wirksamste Therapieform ist die Kombination unterschiedlicher Typen von anti-HIV wirksamen Stoffen (HAART, Highly Active Antiretroviral Therapy[5]) nach der bei einigen Probanden die Virenlast im Blut unter die Nachweisgrenze von 50 Viren pro Mililiter fiel.[6] Gleichzeitig erhöhte sich die Zahl der Immunzellen. Bislang gelingt es allerdings nicht, mit den verfügbaren Medikamenten den Totalschaden am Immunsystem vollständig zu beheben. Auch wenn die Viruslast langfristig unter der Nachweisgrenze bleibt, so sind fast eine Million Zellen im menschlichen Körper immer noch dauerhafte Bewahrer der Erbinformation von HIV. Die derzeitige medikamentöse Behandlung von HIV-Patienten ist außerdem sehr kostenintensiv, so daß es fast ausschließlich den Infizierten der Industrieländer möglich ist, auf eine Symptome vermindernde und damit lebensverlängernde Kombinationstherapie zurückzugreifen.

Der Grund für das bisherige Scheitern in der Entwicklung eines Impfstoffes ist die Tatsache, daß das HI-Virus ein hochvariables Retrovirus ist. So zeigt die genetische Analyse von HIV-1 und HIV-2, daß sich die Erbinformation von HIV-1 und HIV-2 um 50 Prozent unterscheidet.[7]

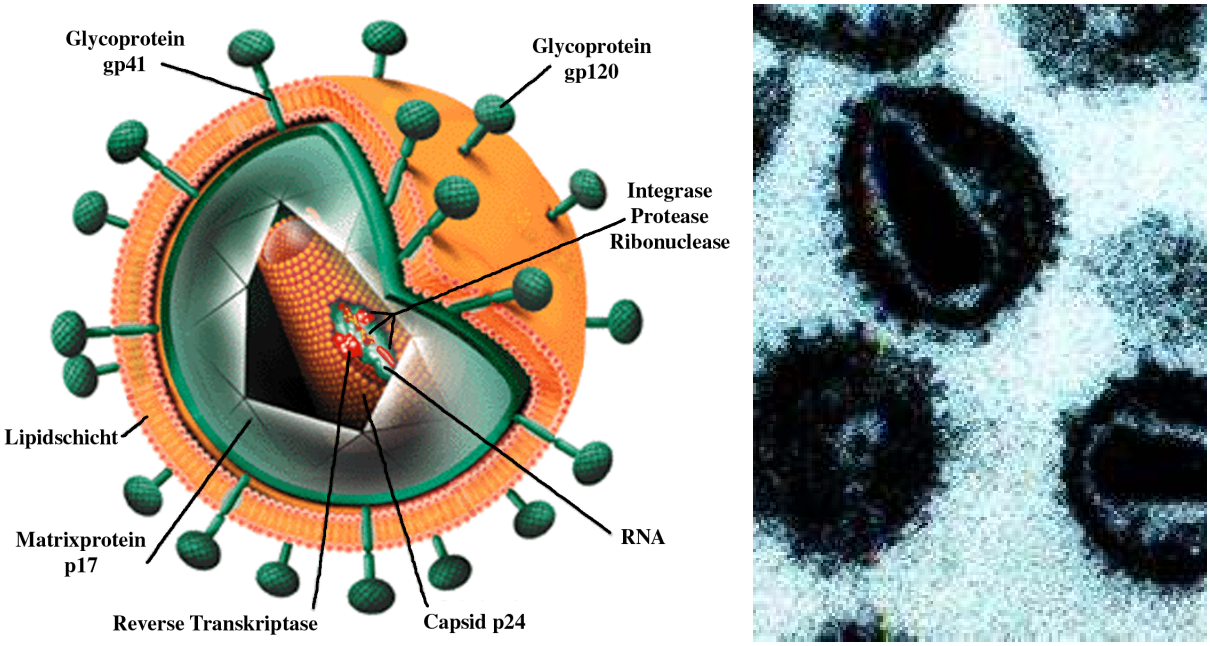


Abbildung 2: Schematische Darstellung (links) und fixierter Kunstharzschnitt (rechts) des "Human Immunodeficiency Virus" (HIV-1)

Neben HIV-1 und HIV-2 existiert eine Vielzahl von Subtypen, und die Vielzahl der Virusvarianten steigt ständig. Während sich die HIV-2-Epidemie bislang im wesentlichen auf

Westafrika, Portugal und Indien beschränkt, ist der Hauptteil der weltweiten HIV-Infektionen durch HIV-1 bedingt. Das HI-Virus gehört zu der Familie der „Retroviridae“. Der Aufbau des Virus ist in Abbildung 2 dargestellt. Die Hülle besteht aus einer Doppelschicht Lipidmolekülen auf deren Oberfläche sich Proteine befinden. Diese "Stachel" des Virus bestehen aus den Glycoproteinen gp120 und gp41. Das gp41 befindet sich dabei in der Hüllmembran des Virus. Diese beiden Proteine dienen dem Virus zum Eindringen in eine Immunzelle. Hierbei heftet sich gp120 an ein Protein der Wirtszelle und unter dem Einfluß von gp41 verschmelzen die Hüllen von Virus und Wirtszelle. Das HI-Virus kann besonders effektiv Zellen befallen die das sogennante CD4-Protein in ihrer Hülle tragen. Hierzu zählen die CD4-Helferzellen, dendritische Zellen der Schleimhaut und Makrophagen. Unter der Hülle befindet sich ein Matrixprotein (p17). Der Kernbereich p24 (Capsid), der die Form eines Kegelstumpfes hat, enthält das genetische Material (RNA) und die Enzyme Reverse Transkriptase (RT), Integrase, Protease und Ribonuclease.

Das HI-Virus kann sich nur vermehren, indem es den Synthese-Apparat von eukariotischen Zellen in Anspruch nimmt und für dessen eigenen Bedürfnisse ausnutzt. Die Erbinformation eines Retrovirus liegt in Form von RNA vor und muß nach der Infektion einer Zelle zunächst in DNA umgewandelt werden, bevor es in das Genom der Wirtszelle eingebaut werden kann.

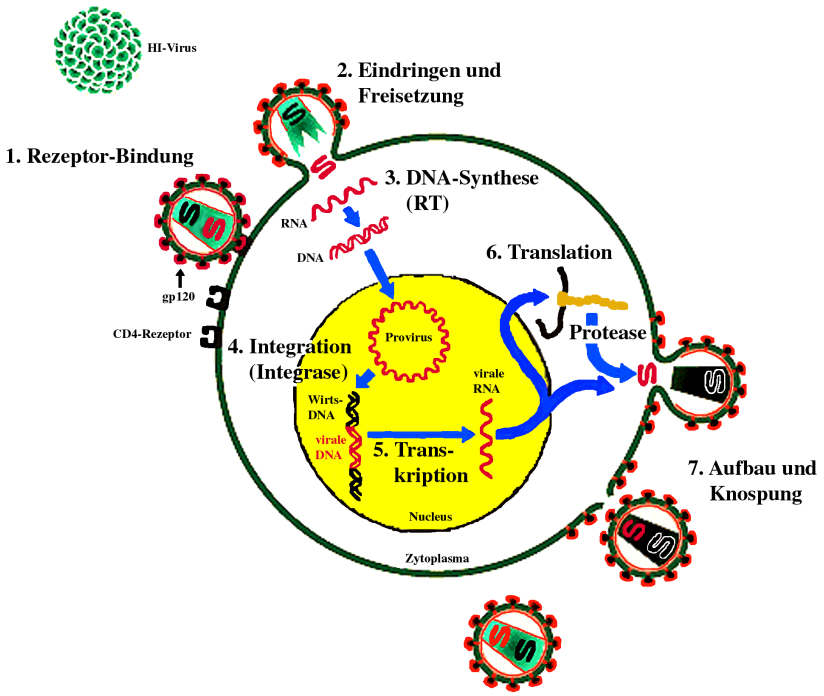


Abbildung 3: Der retrovirale Replikationszyklus

Hierzu wird von dem HI-Virus das viruseigenes Enzym Reverse Transkriptase (RT) in die Wirtszelle eingeschleust, welches spezifisch die RNA in virale-DNA umschreibt. Der retrovirale Replikationszyklus besteht aus folgenden sieben Schritten (Abbildung 3, Seite 3).[8] Zunächst bindet das Virus an einen spezifischen Zelloberflächenrezeptor, den CD4-Rezeptor der T-Lymphozyten (1. Rezeptor-Bindung). Die Hüllmembran verschmilzt mit der Zytoplasmamembran und das Capsid gelangt in das Innere der Zelle. Dort löst sich das Capsid auf und die beiden einzelsträngigen RNA-Genome sowie die Enzyme Reverse Transkriptase (RT), Protease und Integrase werden freigesetzt (2. Eindringen und Freisetzung). Im dritten Schritt wird das virale RNA-Genom im Zytoplasma durch das virusspezifische Enzym Reverse Transkriptase (RT) in doppelsträngige, virale DNA transkribiert (3. Synthese der viralen DNA). Danach wird diese DNA in den Zellkern geschleust und mit Hilfe der viralen Integrase als sogenanntes Provirus in das Erbgut der Zelle eingebaut. (4. Integration). Die nun vorliegende „Provirus-DNA“ wird durch die RNA-Polymerase II der Zelle transkribiert und es entsteht virale mRNA (5. Synthese der viralen RNA). Die mRNA verfolgt zwei unterschiedliche Wege. Zum einen wird sie nach dem Transport aus dem Zellkern in das Zytoplasma zu regulatorisch aktiven Proteinen translatiert (6. Synthese der viralen Proteine). Diese Proteine greifen nach ihrem erneutem Transport in den Zellkern regulatorisch in die Transkription ein und als Folge werden weitere mRNA-Moleküle gebildet. Zum anderen werden die mRNA-Moleküle nach dem Transport in das Zytoplasma in virale Strukturproteine umgewandelt oder als Virusgenom verwendet. Das Virusgenom und die viralen Proteine lagern sich an der Zytoplasmamembran zusammen, worauf es zu einer Knospung unreifer Viruspartikel an der Zelloberfläche kommt. Die Reifung zu infektiösen Viren erfolgt über die Spaltung viraler Vorläuferproteine durch die virale Protease (7. Aufbau und Knospung). Die so gebildeten infektiösen Viruspartikel werden aus der Zelle ausgeschleust und sind nun in der Lage, weitere Zellen zu infizieren. Um nun in diesen Replikationszyklus medikamentös eingreifen zu können, wurden verschiedenartige Konzepte, welche ganz bestimmte Vorgänge im HIV-Replikationszyklus inhibieren, entwickelt.[9,10,11] Eine Möglichkeit besteht darin, die Anheftung des HI-Virus an den CD4-Rezeptor der Wirtszelle zu inhibieren. Das Eindringen des Virus wird somit verhindert. Ein weiterer Ansatz umfaßt die Hemmung des viruseigenen Enzyms Reverse Transkriptase (RT), wodurch die Umwandlung der viralen RNA in DNA unterbunden wird. Die Bindung von Tripel-Helices durch Oligonucleotide an der viralen DNA verhindert im dritten Schritt des Replikationszyklus die Integration in das Wirtsgenom. Weiterhin stellt die Inhibierung der viruseigenen Integrase die vierte Möglichkeit dar, die Vermehrung des Virus zu stoppen. Im fünften Ansatz können Antisense-

Oligonucleotide durch Hybridisierung mit der mRNA eine Duplex-Struktur ausbilden. Hierdurch kann die Translation der viralen RNA in Proteine an den Ribosomen gehemmt werden. Eine weitere sehr erfolgreiche Methode besteht in der Inhibition der HIV-Protease. Durch sogenannte Proteaseinhibitoren können dadurch die nach der Translation gebildeten Vorläuferproteine nicht in virale Strukturproteine gespalten werden. Die freigesetzen Viruspartikel sind aufgrund dieser fehlenden Protease-Reaktion nicht mehr infektiös.

2. Kenntnisstand

2.1 Zugelassene HIV-Medikamte

Ein sehr wichtiger Aspekt bei der Entwicklung von antiviralen Medikamenten ist, daß die natürlichen Zellfunktionen so wenig wie möglich von den Wirkstoffen beeinflußt werden sollten. Auf Grund dessen, gibt es auf dem heutigen Arzneimittelmarkt ausschließlich Medikamente gegen HIV, die relativ spezifisch die beiden viruseigenen Enzyme Reverse Transkriptase (RT) und Protease inhibieren. Ein erster Erfolg wurde schon Mitte der achtziger Jahre mit dem Nucleosidanalogon 3‘-Azido-2',3'-didesoxythymidin **1** (AZT, Zidovudin, Retrovir®) erzielt. AZT **1** ist einige Jahre zuvor gegen die Bekämpfung von Krebs entwickelt worden, weil schon früh Retroviren bekannt waren, die bei Tieren Krebs auslösen. Diese Substanzen waren zwar gegen Krebs beim Menschen wenig wirksam, hatten aber anti-retrovirale Wirkung und konnten daher „direkt aus dem Regal“ für Test gegen das neue Virus verwendet werden. Der Wirkmechanismus dieser Art von Wirkstoffen beruht auf der Inhibierung der Reversen Transkriptase (RT). Das verabreichte Nucleosidanalogon wird intrazelluar zunächst mit Hilfe von Kinasen zum 5‘-Triphosphat (NTP) phosphoryliert. Dieses hemmt kompetitiv den Einbau von Thymidin-5‘-Phosphat und führt so in der DNA-Synthese durch Verhinderung der Bildung von 3‘,5‘-Phosphatdiesterbrücken zu Strangabbrüchen.

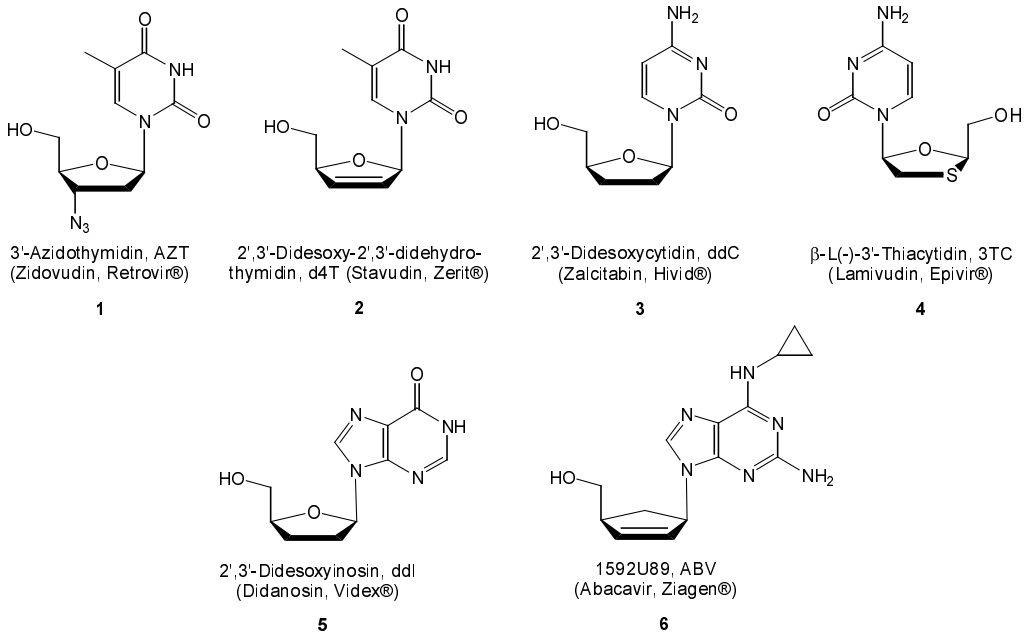


Abbildung 4: Nucleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTI)

Dadurch kann das Virus keine DNA-Kopie seiner viralen RNA herstellen und sich nicht in das Wirtsgenom integrieren.

Nucleosid-Analoga sind relativ spezifisch für die virale RT, zeigt allerdings auch Affinität zu den Säuger-DNA-Polymerasen, speziell zu der zellulären Polymerase γ in den Mitochondrien. Aufgund des Erfolges von AZT **1** Mitte der achtziger Jahre wurden in den darauf folgenden Jahren verschiedene weitere nucleosidische RT-Inhibitoren (NRTIs) mit ähnlichem Wirkmechanismus entwickelt. Fünf weitere Wirkstoffe dieser Klasse sind bereits als Arzneimittel zugelassen. Zusammen mit AZT **1** werden außerdem 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin **2** (d4T, Stavudin, Zerit®), 2‘,3‘-Didesoxycytidin **3** (ddC, Zalcitabin, Hivid®), β-L(-)-3'-Thiacytidin **4** (3TC, Lamivudin, Epivir®), 2‘,3‘-Didesoxyinosin **5** (ddI, Didanosin, Videx®), und 1592U89 **6** (ABV, Abacavir, Ziagen®) erfolgreich am Patienten für den Kampf gegen AIDS eingesetzt (Abbildung 4, Seite 6).

Das HI-Virus ist allerdings in der Lage gegen diese Klasse von Substanzen bei Monotherapie, d.h. bei Verabreichung nur eines einizigen Wirkstoffes, sehr schnell Resistenzen zu bilden.[12] Auch durch wechselnde und kombinierte Gabe verschiedener NRTIs konnte die Entstehung von Kreuzresistenzen nicht verhindert werden, so daß die anfänglichen Erfolge der RT-Inhibitoren schnell deren Grenzen aufzeigte. Seit 1995 haben zwei neue Klassen von Anti-HIV-Wirkstoffen das medizinische Repertoire erweitert.

Die sogenannten nicht-nucleosidischen RT-Inhibitoren (NNRTIs) hemmen ebenfalls die HIV-Replikation, allerdings setzen sie bei der Reversen Transkriptase (RT) an einer anderen Stelle als die Nucleosid-Analoga (NRTIs) an. Sie inhibieren die RT durch Bindung an einer hydrophoben Tasche in der Nähe des aktiven Zentrums. Eine dadurch bedingte Veränderung der Tertiärstruktur führt zum Verlust der Enzymaktivität. Daher können sie in Kombination mit den NRTIs eingesetzt werden. Bisher sind drei Wirkstoffe dieser Klasse auf dem Arzneimittelmarkt: Delaviridin (DLV, Rescriptor®), Nevirapin (NVP, Viramune®) und Efavirenz (DMP 266, Sustiva®). Sie werden in Kombination mit anderen Wirkstoffklassen erfolgreich in der HAART eingesetzt. Doch nicht nur das Enzym Reverse Transkriptase ist ein Target, um in den Replikationszyklus einzugreifen.

Wie schon in Abbildung 3 auf Seite 3 gezeigt, besitzt das HIV auch andere Enzyme, die als Angriffsziele dienen können. Inhibitoren der Integrase, die zum Einbau des viralen DNA-Genoms in das Wirtsgenom nötig ist, sowie der Protease, die für die Bildung reifer, infektiöser Partikel essentiell ist, sind zwei hocheffiziente Wirkstoffklassen. Durch gezielte Optimierung sind inzwischen sechs Proteaseinhibitoren (Ritonavir (Norvir®), Amprenavir

(Agenerase®), Indinavir (Crixivan®), Saquinavir (Fortovase®), Lopinavir (Aluviran®), Nelfinavir (Viracept®)) entwickelt worden, die in Kombinationstherapie mit NNRTIs und NRTIs sehr erfolgreich eingesetzt werden.

Da die Zahl der Mutationen und damit die Anzahl an HIV-Subtypen ständig zunehmen, ist trotz der Vielzahl von Medikamenten die Suche nach weiteren Wirkstoffen unerlässlich. Einige seltene Subtypen, zum Beispiel der Subtyp O des HIV-1, sind heute schon mit den derzeit bekannten Wirkstoffen schwer therapierbar.[13] Deshalb wird dringend nach neuen Wirkstoffen verlangt, die an anderer Stelle des Replikationszyklus ansetzen. Ein hochaktuelles Beispiel hierfür ist der Fusionsinhibitor T-20, der sich bereits in der klinischen Studie (Phase II) befindet.[14,15,16,17]

2.2 Weitere Nucleosid-Analoga – ihre Wirkungsweise und Eigenschaften

Die bisher vorgestellten nucleosidischen RT Inhibitoren sind diejenigen, die von der Food and Drug Administration (FDA) als Medikamente für den US amerikanischen Markt zugelassen sind. Daneben gibt es viele andere hochwirksame Nucleosid-Analoga, mit ähnlichen Modifikationen des Zuckers oder der Base. Allen ist gemein, daß ihnen an der 3‘-Position des Zuckers die Hydroxyfunktion fehlt. Ohne sie ist eine Kettenverlängerung der des DNA-Stranges bei der reversen Transkription unterbrochen und die Vermehrung des Virus wird dadurch gestoppt. Zusätzlich wirken die 5‘-Triphosphate der Nucleosid-Analoga als kompetetive Inhibitoren der RT[18,19] und verstärken dadurch den antiviralen Effekt. Doch nicht das Nucleosid selbst ist verantwortlich für die beobachtete antivirale Wirkung. Um zu dem aktiven Metaboliten, dem 5‘-Triphosphat, zu gelangen, muß das Nucleosid mit Hilfe von zelleigenen Kinasen dreifach phosphoryliert werden. Einige Nucleosid-Analoga werden direkt, d.h. über drei Stufen, phosphoryliert. Bedingt durch die strukturellen Unterschiede der Analoga im Vergleich mit den natürlichen 2‘-Desoxynucleosiden, ist es durchaus möglich, daß die Phosphorylierung verlangsamt, oder sogar vollständig inhibiert wird. Andere Nucleosid-Analoga wiederum setzten das gewünschte 5‘-Triphosphat erst über mehrere metabolische Stufen frei, wodurch zusätzlich ein erheblicher Teil der eingesetzen Verbindung durch katabolische Prozesse verloren gehen kann. Ein Beispiel hierfür sind Analoga, welche die Base Adenin als Aglycon beinhalten.

2.2.1 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) 7 und 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5

Ein Nucleosid-Analogon, welches hohe antivirale HIV-Aktivität aufweist, ist 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** (Abbildung 6, Seite 10). Doch wie bei allen Nucleosid-Analoga, die gegen

das HI-Virus aktiv sind, muß auch im Falle von ddA **7** zunächst eine Biotransformation in das entsprechende 5'-Triphosphat (ddATP, **10**) stattfinden (Abbildung 5, Seite 9). Nur dieses ist in der Lage, als Inhibitor des Targetenzyms, der reversen Transkriptase (RT), zu wirken.[20] Die erste Phosphorylierungsstufe zum 5'-Monophosphat (ddAMP, **8**) wird von den Enzymen Adenosin-Kinase (AK) oder Desoxycytidin-Kinase (dCK) katalysiert. DdA **7** besitzt allerdings nur eine sehr geringe Affinität zu diesen aktivierenden Enzymen.[21,22] Deshalb wird nur ein Teil des verabreichten ddAs **7** durch direkte Phosphorylierung zu der Wirksamkeit (EC_{50} = 1 - 10 μM[23]) beitragen. Statt dessen muß das ddATP **10** über andere Wege intrazellulär generiert werden. Der Metabolit ddATP selbst zeigt immerhin im Vergleich zu 3'-Azido-2',3'-didesoxythymidintriphosphat (AZTTP, K_i = 0.1 μM)[24] an isolierter RT einen ähnlich starken inhibitorischen Effekt der HIV-RT (K_i = 0.22 μM).[24] Im Gegensatz zu den 2',3'-Didesoxynucleosiden mit Pyrimidinbasen, wie zum Beispiel AZT **1** und d4T **2**, unterliegt ddA **7** einem extensiven katabolischen und metabolischen Abbau (Abbildung 5).

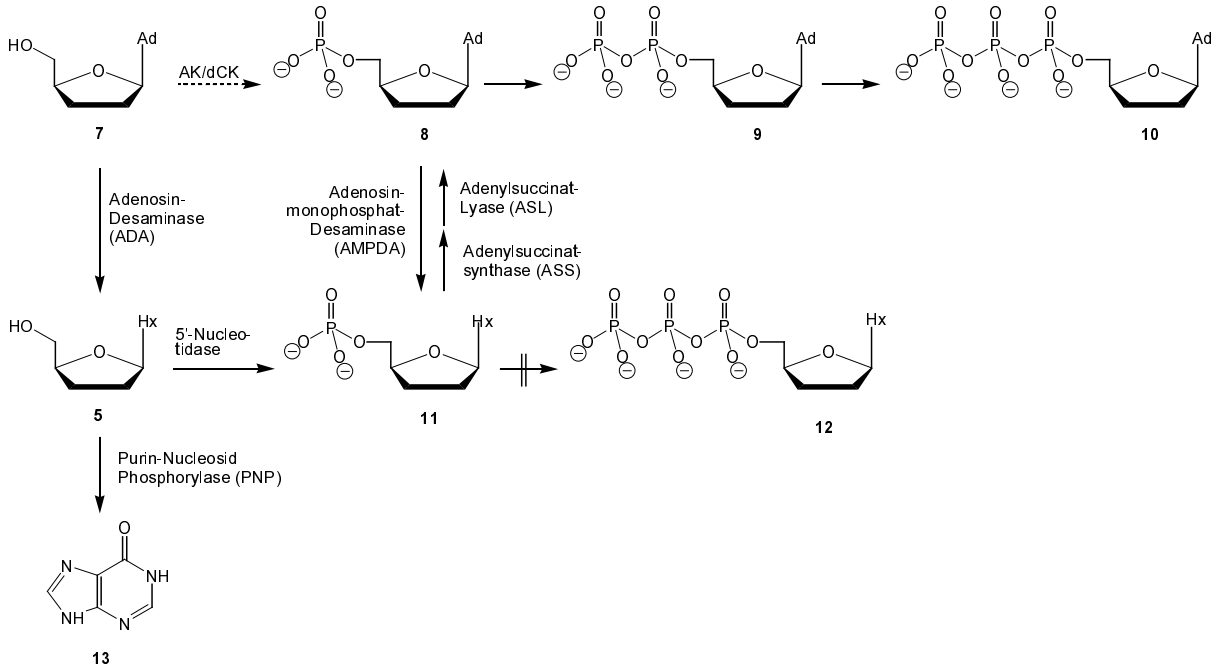


Abbildung 5: Metabolismus von ddA **7** in der Zelle

Gelangt ddA **7** in die Zelle, so wird es in einem ersten Schritt durch das Enzym Adenosin-Desaminase (ADA) zu etwa 95 % in 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** umgewandelt (desaminiert).[25,26] Das Inosin-Derivat ddI **5** kann nun zum einen durch die Purin-Nucleosid-Phosphorylase (PNP) zu Hypoxanthin **13** (Hx) inaktiviert werden, oder mit Hilfe der 5'-Nucleotidase[27], ein zelleigenes Enzym dessen enzymatische Aktivität relativ konstant in allen Phasen des Zellcyclus bleibt[28,29], weiter zu ddIMP **11** konvertiert werden. Eine weitere Phos-

phorylierung zu ddITP **12** konnte intrazellulär bisher nicht nachgewiesen werden, allerdings findet eine Reaminierung des ddIMP zu ddAMP **8** statt. Zwei Enzyme tragen hierbei dazu bei: zum einen die Adenylsuccinat-Synthetase (ASS) und zum anderen die Adenylsuccinat-Lyase (ASL).[25,30] Leider ist diese Konvertierung von ddIMP zu ddAMP nicht sehr effizient, so daß die beiden enzymatischen Schritte, neben der oben beschriebenen Monophosphorylierung von ddA **7** zu ddAMP **8**, einen weiteren sogenannten "Flaschenhals" im Metabolismus von ddA **7** darstellen. Die weitere Phosphorylierung durch zelleigene Kinasen ist unproblematisch und liefert über das ddA-5'-Diphosphat **9** (ddADP) die gewünschte, bioaktive Komponente ddATP **10**.[26,31]

Neben den vielen metabolischen Schritten ist die extreme Säurelabilität von ddA **7** und ddI **5** ein weiterer Nachteil, welche die orale Applikation dieser Verbindungen kompliziert. In sauren Medien wird die glycosidische Bindung nach Protonierung der N^9-Position der Base gespalten. Der Mechanismus der sauren Hydrolyse von ddA **7** ist in Abbildung 6 gezeigt. Die Halbwertszeiten von **7** und **5** betragen 35 Sekunden bei pH 1, was etwa 1/40000 der Halbwertszeit von Adenosin entspricht.[32] Durch Einführung von elektronenziehenden Gruppen an die 5'-OH-Position, wie zum Beispiel von Phosphatester-Gruppen, erzielt man einen stabilisierenden Effekt auf die glycosidische Bindung.[33] Ebenso tragen Hydroxygruppen[34] oder Fluorsubstituenten[35,36] in der C2' oder C3'-Position zur Verlängerung der Halbwertszeit in sauren Medien bei.

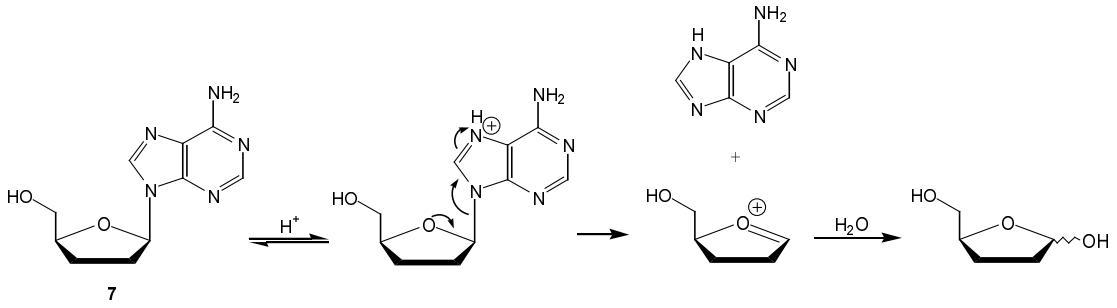
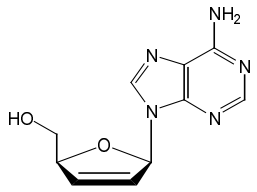


Abbildung 6: Spaltung der glycosidischen Bindung von ddA **7** bei Säureeinwirkung

2.2.2 β-D-2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) 14

Ein dem ddA **7** strukturell ähnliches Nucleosid-Analogon ist 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14**. Der Metabolismus von d4A entspricht dem von ddA **7** (siehe Abbildung 5, Seite 9).



14

Abbildung 7: 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **14** (d4A)

Wie schon im Fall von 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** findet auch hier ein extrem schneller Bruch der glycosidischen Bindung unter Säurekatalyse statt. Das dabei entstehende allylische Carbokation (vergl. Abbildung 6, Seite 10) ist sehr viel stabiler als das Carbokation von 2',3'-Didesoxyribosen. Deshalb ist die Stabilität von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** bei pH < 7 noch geringer als von ddA **7**. Man geht davon aus, daß der intrazelluläre Metabolismus von d4A **14** dem von ddA **7** entspricht (Abbildung 5, Seite 9) und dabei dieselben Enzyme beteiligt sind.

2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** selbst weist extrem unterschiedliche antivirale Aktivität gegenüber dem HI-Virus auf je nachdem mit welchem Zelltyp der Test durchgeführt wird. So finden C.K. Chu et al. in PBM-Zellen (Periphere mononucleare Blutzellen) gute anti-HIV Aktivität (EC_{50} = 0.76 μM[37]), während C. McGuigan et al. in Monocyten-Makrophagen (M/M) bzw. in CEM/0-Zellen nur mäßige anti-HIV Aktivität finden (EC_{50} = 5 μM[38] bzw. EC_{50} = 20 μM[39]). Auch in MT-4-Zellen (EC_{50} = > 5 μM[40,41]) sowie in ATH8-Zellen (EC_{50} = 5-50 μM[42,43,44]) konnte nur eine relativ geringe antivirale Aktivität gefunden werden. Weiterhin ist sowohl bei ddA **7** als auch bei d4A **14** keinerlei cytostatische Aktivität sowohl in murinen als auch in humanen Zellinien zu beobachten.[42] C. McGuigan et al. konnte allerdings auch zeigen, daß die d4A- und ddA-Derivate seiner Aryloxyphosphoramidat-Pro-Nucleotide sowohl gute anti-HIV als auch erstmals gute anti-HBV Aktivität aufzeigen (siehe Kapitel 2.3.1.1, Seite 17).[45]

2.2.3 3‘-Desoxyadenosin (Cordycepin) 15

Nucleosid-Analoga finden nicht nur als Virustatika Anwendung, sondern weisen auch antibakterielle Eigenschaften auf. 3'-Desoxyadenosin **15** (Cordycepin) z.B. ist ein Nucleosid, welches sowohl antivirale, als auch antibiotische Eigenschaften zeigt.[46] Es ist ein natürlich vorkommendes Nucleosid, das 1951 erstmals aus dem Schimmelpilz *Cordyceps militaris* isoliert und charakterisiert wurde.[47] Cordycepin **15** ist in der Lage das Wachstum verschiedener Bakterien[47,48,49,50], des Tuberkelbazillus[47] und humaner Tumorzellen[51,52,53]

in vitro zu inhibieren. Die Wirkungsweise dieses Wirkstoffes basiert auf der Inhibierung der RNA-Synthese. Cordycepin wird nach Biotransformation in das 5'-Triphosphat an das 3'-Ende des RNA-Stranges eingebaut und verhindert somit den weiteren Aufbau der RNA.[54] Die Struktur von Cordycepin[55,56] ist in Abbildung 8 gezeigt.

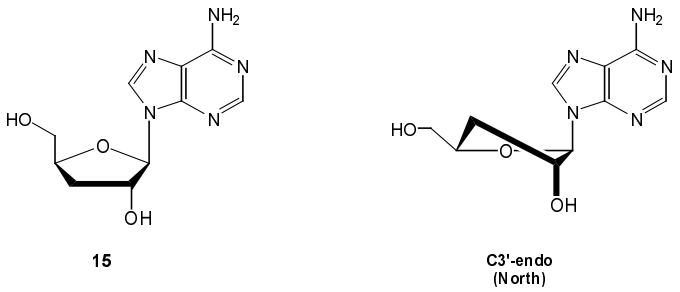


Abbildung 8: Stuktur von 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15**

Mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie bzw. Röntgenstrukturanalyse konnte festgestellt werden, daß Cordycepin sowohl im Kristall[56] als auch in Lösung[57] eine C3'-endo (North) Konformation einnimmt (Abbildung 8). Die Ursachen für eine bevorzugte Konformation des Zuckerrings in Nucleosiden und die Auswirkungen auf die biologische Aktivität bzw. auf die Substratspezifität in bezug auf zelluläre Enzyme wird in Kapitel 4.12 auf Seit 91 diskutiert.

2.2.4 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) 16

Der Austausch eines Wasserstoffatoms durch ein Fluoratom wurde bereits früh für die Suche nach Wirkstoffen in der Biochemie und medizinischen Chemie genutzt, um größere chemische und/oder metabolische Stabilität bei nahezu gleichbleibender biologischer Aktivität zu erzielen.[58,59] Die vergleichbare Größe, die elektronenziehenden Eigenschaften und die größere Stabilität der C-F-Bindung im Vergleich zur C-H-Bindung sind Faktoren, die den Einsatz von Fluor in bioaktiven Molekülen interessant machen.[60] Gleichzeitig verursacht es nur minimale sterische Wechselwirkungen und die Fähigkeit zur Bindung an Rezeptoren oder Enzymen wird dabei kaum beeinflußt. 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA, Lodenosin) **16** (Abbildung 9, Seite 13) wurde als Analogon von 2',3'-Didesoxyadenosin **7** entwickelt, um die oben beschriebenen Nachteile von ddA **7** zu eliminieren und um eine bevorzugte Konformation im Furanosering zu erzielen. 2'-F-*ara*-ddA **16** nimmt zu fast 81 % eine C2'-endo (South) Konformation ein, die auf den "gauche"-Effekt zurückzuführen ist (siehe dazu auch Kapitel 4.12.1, Seite 96).[61] Die Substitution eines Wasserstoffatoms durch ein Fluoratom an der C2'-Position des Furanoseringes in Nucleosiden verringert deren durch Säure katalysierte chemische Hydrolyse.[35,36]

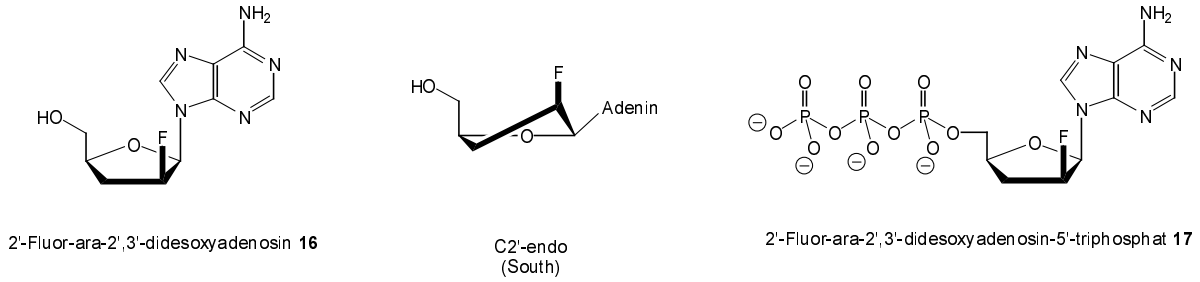


Abbildung 9: Struktur und Konformation von 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin **16** und 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin-5‘-triphosphat **17**

Dies gilt besonders für den Fall der Purine.[62] Die glycosidische Bindung der durch Fluor substituierten Nucleoside, ist extrem stabilisiert, während gleichzeitig im Falle von 2‘-F-*ara*-ddA **16** der enzymatische Abbau durch das Enzym Adenosin-Desaminase um den Faktor 10 verlangsamt wird.[63] 2'-F-*ara*-ddA **16** entwickelt in *in vitro* Testsystemen antivirale Aktivität (EC_{50} = 35 µM/MT-4[64]; EC_{50} = 5 µM/ATH8[35,36]; EC_{50} = 36.7 µM/CEM/0[65]), aber auch in *in vivo* Tests mit Hu-PBL-SCID Mäusen[66,67] hat sich das enorme antivirale Potential von 2'-F-*ara*-ddA bestätigt. Untersuchungen des 5‘-Triphosphats **17** auf isolierter RT zeigten weiterhin, daß 2‘-Fluor-*ara*-ddATP deutlich inhibiert ($IC_{50\,RT}$ = 12 µM).[73]

Der Metabolismus von 2'-F-*ara*-ddA **16** in der Zelle ähnelt sehr dem von ddA (Abbildung 5, Seite 9) Im Gegensatz zu ddA **7**, wird 2'-F-*ara*-ddA **16** allerdings schlechter zu 2'-F-*ara*-ddI desaminiert. Auch eine direkte Phosphorylierung zum 5'-Triphosphat **17** ist durch eine effizientere Monophosphorylierung zum 5'-Monophosphat (2'-F-*ara*-ddAMP) mit Hilfe der Enzyme 2'-Desoxycytidin-Kinase (dCK) bzw. Adenosin-Kinase (AK) begünstigt.[63] Das Desaminierungsprodukt 2'-F-*ara*-ddI wird, im Unterschied zu ddA **7**, nicht weiter von der Purin-Nucleosid-Phosphorylase (PNP) zu Hypoxanthin **13** abgebaut. Ein zusätzlicher Verlust der HIV-aktiven Spezies durch diesen katabolischen Prozess tritt dadurch nicht ein.[63,68]

Ein weiterer großer Vorteil von 2'-F-*ara*-ddA **16** gegenüber andereren NRTIs ist, daß die DNA-Synthese in den Mitochondrien der Zellen, sogar bei Verabreichung hoher Dosen, nicht wesentlich inhibiert wird.[69,70] Aus Resistenz-Studien ist bekannt, daß 2'-F-*ara*-ddA keinerlei Kreuzresistenzen sowohl zu 3'-Azidothymidin (AZT) **1** und 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** als auch zu den nicht-nucleosidischen RT Inhibitoren aufweist.[71] Außerdem wurde festgestellt, daß es ausschließlich durch passiven Zelltransport in das Innere der Zelle gelangt und nicht auf das Purin-Nucleosid-Tranport Carriersystem (Kapitel 4.6.1, Seite 51) angewiesen ist.[63] Diese Daten haben 2'-F-*ara*-ddA **16** als interessanten Wirkstoff für die anti-HIV-Therapie ist ausgewiesen und wurde deshalb bereits als Präparat für die Kombinationstherapie in

klinischen Studien eingesetzt.[72] Leider mußte aufgrund von auftretenden Nebenwirkungen (Lebertoxizität), welche z. T. den Tod von Patienten verursachten, die klinische Studie 1999 gestoppt werden.

2.2.5 2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) 18

Die Konfiguration an der C2'-Position hat nicht nur einen starken Einfluß auf die Konformation des Nucleosids, sondern beeinflußt auch im Fall von 2'-Fluor-2',3'-didesoxyadenosin die antivirale Aktivität. Im Gegensatz zu 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin **16** ist 2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** vollkommen antiviral inaktiv.[35,64] Die Vermutung, daß die entgegengesetze Konfiguration des Fluorsubstituenten an der C2'-Position für diesen Effekt verantwortlich gemacht werden kann, weil sie ausschlaggebend für die Konformation des Zuckerrings ist, liegt deshalb nahe (Abbildung 10).

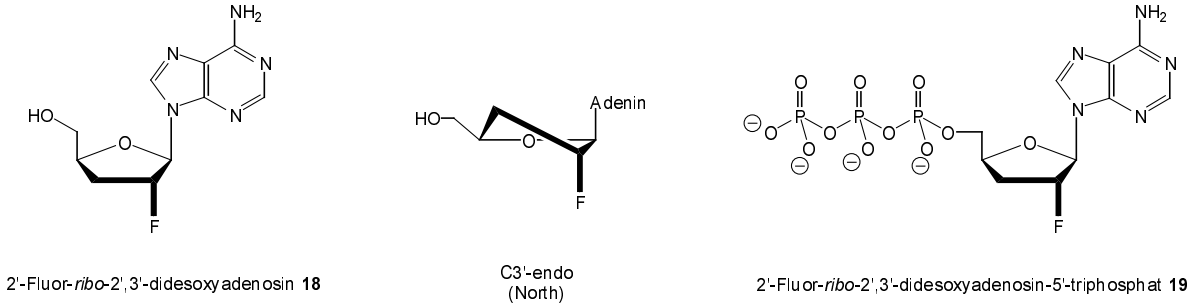


Abbildung 10: Struktur und Konformation von 2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin **18** und 2‘-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin-5‘-triphosphat **19**

Erstaunlich ist jedoch, daß das 5'-Triphosphat von (2'-F-*ribo*-ddATP) **19** in der Lage ist isolierte RT des HI-Virus zu inhibieren (IC_{50} = 50 µM).[73] Im Vergleich zu 2‘-F-*ara*-ddATP **17** unterscheiden sich die erhaltenen Werte um einen Faktor vier. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß Enzyme, die an der Umwandlung des Nucleosid-Analogon beteiligt sind, die rigide C3'-endo Konformation von **18** nicht tolerieren könnten. Deshalb muß untersucht werden, ob sich die Konformation während der Biotransformation zum 5'-Triphosphat ändert und an welcher Stelle im Metabolismus von 2'-F-*ribo*-ddA **18** sich der limitierende Schritt befindet.

2.3 Das Prodrug-Konzept

Der von A. Albert eingeführte Begriff "Prodrug" beschreibt eine pharmakologisch inaktive Verbindung, die durch einen metabolischen Umwandlungsprozess (Aktivierung) in einen aktiven Wirkstoff überführt wird.[74,75] Diese Aktivierung kann sowohl vor, während oder aber

auch nach der Aufnahme stattfinden. Idealerweise wird der aktive Wirkstoff erst an seinem spezifischen Wirkort im Körper freigesetzt. Die dazu notwendigen Aktivierungsmechanismen können enzymatisch, aber auch chemisch z.B. unter Hydrolyse ablaufen. Um den Voraussetzungen eines Prodrugs zu genügen, müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:[76]

a. Ausreichende Hydrophilie, um im Blutserum gelöst zu werden;

b. Ausreichend hohe Stabilität, da es seinen eigentlichen Wirkort erreichen muß;

c. Ausreichend große Liphophilie, da es die Zellmembran passieren muß;

d. Freisetzung des Wirkstoffes auf chemisch oder enzymatisch induzierter Basis;

e. Die abgespaltene Hilfskomponente darf nicht toxisch sein;

Ein Prodrug sollte somit die Bioverfügbarkeit verbessern, die intrazelluläre Freisetzung erhöhen und eine verbesserte Pharmakokinetik des Wirkstoffes erzielen. Dadurch erhält man die Möglichkeit, Wirkstoffe dem Körper darzubieten, die ihren Wirkort unter den gängigen Applikationsformen nicht erreichen können oder unter physiologischen Bedingungen instabil sind. Die einfachste Form eines Prodrugs ist das sogenannte "Zwei-Komponenten-Prodrug". Hier wird der Wirkstoff durch nur einen lipophilen Carrier maskiert. Der Wirkstoff ist in dieser Form zunächst völlig inaktiv und wird erst nach der Abspaltung der Maske durch spontane oder enzymatische Reaktion wieder in seiner aktiven Form freigesetzt.[77,78]

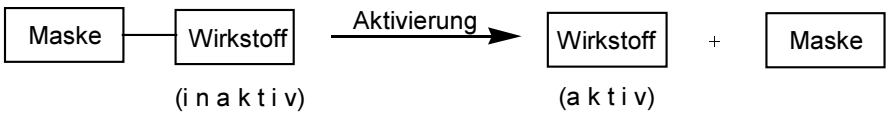


Abbildung 11: Zwei-Komponenten-Prodrug Systeme

Ein dreiteiliges Carrier-Prodrug System (Drei-Komponenten-Prodrug System) unterscheidet sich von ersterem durch ein zusätzliches Brückenglied über welches die Carrierkomponente mit dem Wirkstoff verknüpft ist.[79]

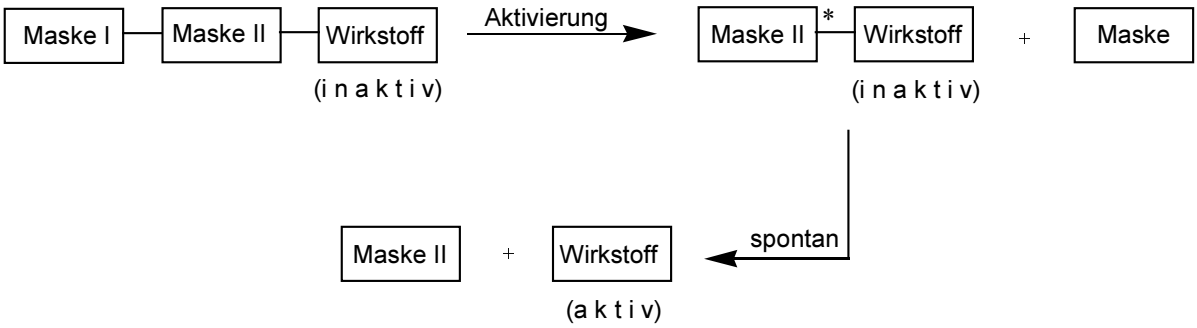


Abbildung 12: Drei-Komponenten-Prodrug System

Die Maske besteht hierbei aus zwei Komponenten, die in ihrer Spaltung von dem Wirkstoff voneinander abhängig sind. Deshalb ist der Freisetzungsmechanismus ein anderer, wobei aber wie schon beim Zwei-Komponenten-Prodrug System auch der maskierte Wirkstoff nicht aktiv ist. Durch eine erste enzymatische oder chemische Reaktion wird der erste Teil der Maske abgespalten und die Abspaltung der zweiten Maske durch diese Primärreaktion aktiviert bzw. induziert. Diese zweite, spontan verlaufende Reaktion setzt dann den Wirkstoff frei.

Eine ganz andere Art von Prodrugs sind solche, die auf dem Prinzip der Biotransformation beruhen. Sie enthalten den Wirkstoff nicht in inaktiver Form, sondern in Form eines Vorläufermetaboliten mit einer von der aktiven Form abweichenden Struktur.

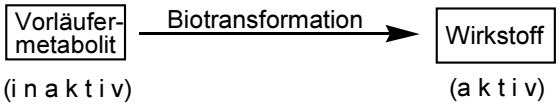


Abbildung 13: Biotransformations-Prodrug

Durch einfaches Abspalten einer Komponente gelingt es deshalb nicht den Wirkstoff freizusetzen. Stattdessen muß durch molekulare Modifikation der Vorläufermetabolit zu einer neuen Verbindung transformiert werden, die erst dadurch in den aktiven Wirkstoff umgewandelt wird. Ein prominentes Beispiel hierfür ist das Analgetika und Antiphlogistica Acetylsalicylsäure (Handelsname Aspirin®), welches nach oraler Aufnahme im Plasma schnell zur Salicylsäure biotransformiert wird.[80]

2.3.1 Prodrug Systeme für Nucleosid-5‘-Monophosphate

Prodrug Systeme für Nucleosid-Monophospate (Nucleotide) sind in der antiviralen Therapie deshalb von hohem Interesse, da eine direkte Verabreichung der Monophosphate aufgrund der beiden negativen Ladungen am Phosphatrest nicht erfolgen kann. Außerdem kann durch ein solches Prodrug der metabolische und oft auch limitierende Schritt vom Nucleosid zum Nucleotid umgangen werden.

Im Fall von Nucleotiden müssen gleich zwei Phosphorsäure-Funktionen durch Reaktion mit einem Alkohol geschützt werden. Erfolgt dies durch eine Veresterung mit demselben Alkohol (Zwei-Komponenten-Prodrug System), so wird der entstandene Phosphattriester zwar einen alkoholischen Rest durch spontane Hydrolyse abspalten, aber der verbleibende Phosphatdiester wäre gegenüber einer zweiten hydrolytischen Spaltung zum Nucleotid stabil.[81,82] Ein zusätzliches Problem, das bei der Hydrolyse von Phosphatdiestern auftritt, ist die Pseudorotation des Phosphoratoms. Es kann dadurch zu einer nicht gewollten Abspaltung des Nuc-

leosids kommen.[83] Der Wirkstoff, das Monophosphat, könnte in solch einem Fall nur durch enzymatische Hydrolyse erhalten werden.

Für Nucleosid-Monophosphate ist das Drei-Komponenten-Prodrug System weitaus vorteilhafter. Hier können zwei gleiche oder auch verschiedene Maskierungsgruppen in den Phosphatmonoester kovalent eingeführt werden, wobei die oben erwähnten Probleme des Zwei-Komponenten-Prodrug Systems nicht auftreten. Bei einer ersten Aktivierung wird eine der beiden lipophilen Masken abgespalten. Dies ist sowohl enzymatisch als auch chemisch (hydrolytisch) möglich. Der intermediär gebildete Phosphatdiester zersetzt sich nun in einer spontan ablaufenden Reaktion zum gewünschten Wirkstoff (Nucleotid).

In der Literatur sind einige Prodrug-Konzepte für die Freisetzung von Nucleotiden, sogenannte Pro-Nucleotid-Konzepte bekannt.[84,85,86] Im folgenden werden einige Beispiele kurz vorgestellt.

2.3.1.1 Pro-Nucleotid-Konzepte

Aus der Literatur sind mehrere Pro-Nucleotid-Konzepte bekannt, die ausschließlich auf enzymatischer Freisetzung des Nucleotids beruhen. Hierbei wird die katalytische Wirkung von Esterasen oder Phosphoramidasen ausgenutzt. Im Abbildung 14 sind die Pro-Nucleotide einiger Arbeitsgruppen dargestellt. Die von D. Farquhar et al. Untersuchten Bis(pivaloyloxymethyl)-nucleosidphosphaten (Bis(POM)-Nucleotide) **20** wurden bisher für 2',3'-Didesoxyuridin[87], für AZT **1**[88], für das anti-Herpes-Virus und anti-HIV aktive 9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)adenin (PMEA)[89] und für das antitumor aktive 5-Fluor-2'-desoxyuridin (FdU)[90] untersucht. Ein Nachteil dieses Pro-Nucleotid-Konzeptes besteht in der zweimalig zu durchlaufenden Esterase-Aktivierung, da der intermediär gebildete Phosphatdiester aufgrund seiner negativen Ladung nur noch ein schlechtes Substrat für die Carboxyesterase ist.[91] Zudem ist die Freisetzung von Formaldehyd aufgrund dessen Toxizität von Nachteil. Die Bis(POM)PMEA-Verbindung (Adefovir-Dipivoxil, Preveon®) wird bereits erfolgreich in klinischen Studien untersucht, wobei der ausschlaggebende Faktor in der besseren Bioverfügbarkeit von PMEA liegt.[92]

Weitere enzymatisch aktivierbare, dreiteilige Pro-Nucleotid Konzepte sind die von J.-L. Imbach entwickelten Bis(S-Acetyl-2-thioethyl)-phosphattriester (SATE).[93] Das Bis(SATE)-Pro-Nucleotid Konzept wurde bereits auf die Nucleoside AZT[94,95], d4T[96], ddA[33,97], β-L-ddA[98], *iso*-ddA[99], β-L-FddC[100], β-L-FD4C[101], FdU[102], ddU[103], ddC,[104] 3TC,[104] Aciclovir[105,106] und PMEA[107] angewendet.

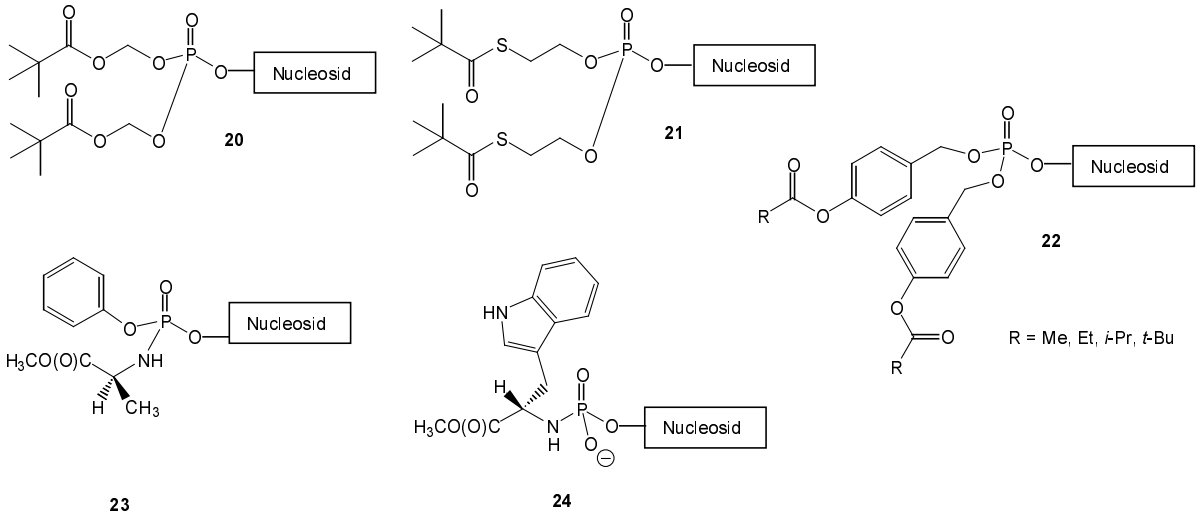


Abbildung 14: Pro-Nucleotid-Konzepte von D. Farquhar **20**, J.-L. Imbach **21**, S. Freeman **22**, C. McGuigan **23** und C.R. Wagner **24**

Hierbei erfolgt die enzymatische Aktivierung durch eine Carboxyesterase. Die Stabilität dieser Ester-Prodrugs wird von sterischen und elektronischen Faktoren bestimmt. Hierbei hat sich gezeigt, daß die sterisch anspruchsvolle *tert*-Butyl-Gruppe die enzymatische Stabilität der Bis(*t*-BuSATE)-Prodrugs erhöht, was sich günstig im Hinblick auf eine *in vivo* Anwendung auswirkt. Der Metabolismus der Bis(*t*-BuSATE)-Verbindungen **21** wurde ausreichend sowohl *in vitro* als auch bereits *in vivo* dokumentiert[108,109,110,98]. Der Nachteil dieses Prodrug-Konzeptes besteht darin, daß pro Nucleotid neben zwei Molekülen Carbonsäure auch zwei Moleküle des bei Mäusen oder Ratten toxisch wirkenden Episulfids freigesetzt werden.[111]

Wie zuvor bei den Bis(POM)-Systemen stellt auch hier der erhaltene Phosphatdiester ein schlechtes Substrat für die Carboxyesterase dar. Weitere Nachteile bestehen in der schlechten Hydrophilie und der damit schlechten Bioverfügbarkeit der Bis(SATE)-Verbindungen. Um diese Nachteile zu beseitigen, wurde anstelle einer der beiden SATE-Gruppen eine andere enzymatisch labile Gruppe verwendet. Zum einen wurde eine SATE-Gruppe durch einen Aryl-Substituenten ersetzt[112,113,114], was zur Folge hat, daß die Freisetzung des Nucleotids im zweiten Schritt nicht durch eine Carboxyesterase sondern durch eine Phosphodiesterase eingeleitet wird. Hierdurch wurde ebenso die Hydrophilie der Verbindungen erhöht, allerdings ist die erzielte antivirale Aktivität in CEM/TK$^-$-Zellen schlechter als die der Modellverbindung Bis(tBuSATE).[113] Zum anderen wurde eine Phosphoramidat-Gruppe verwendet die C. McGuigan für sein Pro-Nucleotid-Konzept entwickelt hat (siehe Abbildung 14, Seite 18). Bei dieser Art Pro-Nucleotiden nutzt man für den zweiten Schritt die Phosphoramidase. Diese SATE-Phosphoramidat-Diester wurden auf ihre anti-HIV Aktivität und auf ihren Freisetzungsmechanismus hin untersucht.[115,116] In neuesten Arbeiten wurden *t*BuSATE-

alkylaminphosphoramidat-Diester mit unterschiedlicher Basizität und sterischen Eigenschaften untersucht.[117] Weiterhin wurde ein bis(SATE)-AZTMP-Prodrug mit ein zwei Hydroxygruppen synthetisiert und auf *in vitro* anti-HIV Aktivität, Stabilität und orale Aufnahme hin untersucht.[118] Hierbei haben die Hydroxy-Gruppen die Polarität und damit auch die Wasserlöslichkeit der Verbindungen extrem erhöht, außerdem ist konnte eine hohe enzymatische Stabilität gegenüber Esterasen festgestellt werden. Eine mögliche orale Aufnahme der Verbindungen wurden mit Hilfe eines *in vitro* Models an Caco-2 Monolayer-Zellen untersucht.

Die Bis-(4-Acyloxybenzyl)-Phosphattriester[91] **22** von S. Freeman stellen eine Möglichkeit dar, anionische Zwischenstufen als Substrate für Esterasen zu verbessern.[119,120,121,122] Hierbei wurde der Abstand zwischen dem Reaktionszentrum der Carboxyesterase und der anionischen Phosphatgruppe durch Einführung einer Acyloxybenzyl-Gruppe (Spacer) vergrößert. Der Nachteil des Enzyms besteht darin, daß in unmittelbarer Umgebung des aktiven Zentrums ein Benzylkation entsteht. Dies kann zu unerwünschten Nebenreaktionen am Enzym führen.

Das von C. McGuigan entwickelte Prodrug-System, beruht auf der Basis von Aryloxyphosphoramidaten **23**. Diese setzen sich neben dem Nucleotid aus einem Phenol-Derivat und einem Ester einer α-Aminosäure zusammen. Dieses Konzept wurde auf eine Vielzahl von antiviral aktiven Nucleosiden, wie AZT **1**[123], d4T **2**[124], 3TC **4**[125], ddA **7**[45], d4A **14** [45,126], Aciclovir[127], PMEA[128] und PMPA[128] angewandt. Der Metabolismus dieser Verbindungsklasse wurden im Fall der d4T-Aryloxyphosphoramidatester mit Hilfe von radioaktiv markierten Verbindungen untersucht.[129] Ein Teil des Hydrolysemechanismus konnte durch Hydrolysestudien in biologischen Medien aufgeklärt werden.[130,131] Interessant sind die Struktur-Aktivitätsbeziehungen, die man für diese Prodrug-Systeme gefunden hat. So ist die Gegenwart einer α-Aminosäure z.B. essentiell für die biologische Aktivität.[132,133] wobei die Variation von α-Aminosäuren gezeigt hat, daß die L-Alanin-Verbindung im Gegensatz zu den unnatürlichen D-Derivaten die mit Abstand besten Ergebnisse in bezug auf deren Aktivität erreichte.[134,135,136] In neuesten Arbeiten wurde allerdings auch gefunden, daß der L-Alanin-Rest durchaus durch unnatürliche Aminosäuren ersetzt werden kann ohne dabei die antivirale Aktivität zu verlieren.[137] Verschiedene Carboxylestergruppen am L-Alanin-Rest wiesen mit einigen Außnahmen (z. B. *tert*-Butyl-Ester) bei unterschiedlichen Esterase-Stabilitäten gute antivirale Aktivität auf.[138] Außerdem wurden Substituenten im Aryl-Rest von d4T-Phosphoramidaten eingeführt, wobei eine Korrelation zwischen Liphophilie und antiviraler Aktivität festgestellt wurde.[139] Ein Nachteil dieser Verbinungen sind zum einen deren schlechte Wasserlöslichkeit und die Toxizität des freigesetzten Phenols. Es wurde versucht, das Problem der geringen Hydrophilie der Verbindungen durch Polyether-Substituenten im Aryl-

Ring zu lösen, während der Ersatz des Phenol-Restes durch ein Tyrosin-Rest die Toxizität herabsetzen sollte.[140] Letzteres scheiterte an einer zu geringen Liphophilie der Verbindung und damit an einem Verlust an antiviraler Aktivität. Einige d4T-Phosphoramidate wurden zusätzlich einer QSAR-Studie unterzogen, die strukturelle Faktoren dieses Prodrug-Systems für eine antivirale Aktivität *in vitro* bestimmen sollten.[141,142] Diese Struktur-Aktivitäts-Beziehungen weisen auf einen spezifischen enzymatischen Prozeß zur Freisetzung des d4TMPs hin.

Bei den von C.R. Wagner konzipierten Aminosäure-phosphoramidatdiester[143,144,145,146] **24** handelt es sich um negativ geladene Phosphoramidate, die sich aus einer aromatischen Aminosäure und einem Nucleotid zusammensetzen. Der Hydrolysemechanismus ist bisher noch nicht eindeutig geklärt, könnte.Vermutungen weisen auf eine bisher noch unbekannte Phosphoramidase hin, die eine direkte Spaltung der P-N-Bindung katalysieren soll.[146,147,148] Möglicherweise ist dieses unbekannte Enzym identisch mit der Phosphoramidase, die im Fall des Pro-Nucleotid Systems von C. McGuigan **23** das Phosphoramidat zum Nucleotid umsetzt.[149,129,131]

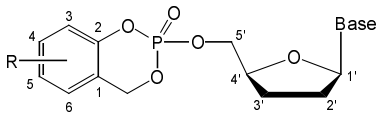
2.3.2 Probleme der Pro-Nucleotid Konzepte

Allen beschriebenen Pro-Nucleotid-Konzepten ist gemeinsam, daß sie zur Freisetzung des Nucleotids einer enzymatischen Reaktion bedürfen. Dies bedeutet eine deutliche Einschränkung in bezug auf die Verfügbarkeit des jeweiligen Enzyms, sowie in bezug auf die Substratafinität der jeweiligen Pro-Nucleotide. Es zeichnen sich Trends ab, für welche Nucleosid-Analoga Pro-Nucleotid Konzepte erfolgreich sind und für welche nicht. So sind z.B. die Prodrug Verbindungen von d4T, ddA und d4A erfolgreich. Im Gegensatz dazu, sind die Pro-Nucleotid Konzepte mit AZT **1** und FdU nicht erfolgreich. Im Fall von AZT **1** ergibt sich ein Erklärungsansatz aus der Tatsache, daß hier der limitierende Schritt in der Metabolisierung zum Triphosphat nicht die Bildung des Monophosphates, sondern die Bildung des Diphosphates darstellt. AZT-5'-monophosphat (AZTMP) ist aufgrund seiner Struktur nur ein sehr schlechtes Substrat für die Thymidylat-Kinase.[150,151,152] In diesem speziellen Fall wäre eine Verwendung von Prodrug Systemen für Nucleosid-Diphosphate sinnvoller, die aber noch entwickelt werden müssen.

2.3.3 *Cyclo*Saligenyl-Phosphattriester: Ein neues dreiteiliges Pro-Nucleotid-Konzept

Ein neues dreiteiliges Pro-Nucleotid System stellen die von C. Meier et al. entwickelten 4H-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-nucleosyl-2-oxide **25** (Abbildung 15) dar. Im Gegensatz zu allen zuvor beschriebenen Konzepten wurde ein Freisetzungsmechanismus konzipiert, der das

Nucleosid-Monophosphat sowie die maskierende Gruppe selektiv durch eine kontrollierte, chemisch induzierte Hydrolyse freisetzt. Es handelt sich hierbei um cyclische Phosphattriester-Derivate, in denen ein Salicylalkohol (Maske) mit einem Nucleosid-Monophosphat zweifach cyclisch verestert ist. Der aromatische Ring dieser Phosphattriester-Verbindungen sorgt für eine ausreichende Lipophilie, so daß ein passiver Zellmembrantransport möglich sein sollte. Die Salicylalkohole wurde mehrfach *in vitro*[157,160] und bereits *in vivo*[153] an SCID-Mäusen im Hinblick auf ihre Toxizität getestet. Hierbei wurde festgestellt, daß die Diole weder ein Einfluß auf die antivirale Aktivität noch eine erhöhte Toxizität bis zu einer Konzentration von > 250 µM zu beobachten ist. Zur Vereinfachung der Nomenklatur werden diese Verbindungen nachfolgend als 5'-***cyclo*Sal**igenyl-**N**ucleosid-**M**ono**p**hosphate (*cyclo*Sal-NMP) **25** abgekürzt.



25

Abbildung 15: Allgemeine Struktur der *cyclo*Sal-Nucleosid-Monophosphate **25**

Die Nummerierung im aromatischen Ring orientiert sich an der Salicylsäure und seinen Derivaten. Die diesem Konzept zugrunde liegende Idee basiert auf den unterschiedlichen Labilitäten der beiden Phosphatesterbindungen zum Salicylalkohol. Es handelt sich hierbei um einen phenolischen und einen benzylischen Phosphatester. Die unterschiedliche Labilität der Esterbindungen ist dabei die Voraussetzung für die unterschiedlichen Hydrolyseeigenschaften dieser beiden Phosphatester. Während *ortho*- oder *para*-Akzeptor-substituierte Phenylphosphattriester unter alkalischen Bedingungen einer schnellen Hydrolyse zum Phosphatdiester unterliegen, beobachtete man für Benzylphosphattriester eine schnelle Hydrolyse nur im Fall der *ortho*- oder *para*-Donor-substituierten Verbindungen.[154,155] Für beide Phosphattriestertypen gilt, daß die resultierenden Phosphatdiester gegenüber nichtenzymatischer Hydrolyse ausgesprochen stabil sind.[81,82]

Die selektive Freisetzung von Nucleotiden aus den *cyclo*Sal-NMP-Derivaten **25** verläuft über eine Tandem Reaktion, wie sie in Abbildung 16 auf Seite 22 dargestellt ist. Im ersten Schritt wird selektiv die phenolische Phosphatesterbindung hydrolytisch gespalten, da die entstehende negative Ladung in den aromatischen Ring delokalisiert werden kann. Dies führt zum 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **26**. Die alternative Spaltung der Benzylesterbindung in **25**, die zum 2-Hydroxymethylphenylphosphatdiester **27** führen würde ist für die in Abbildung

15 auf Seite 21 gezeigte allgemeine Struktur unwahrscheinlich. Die elektronischen Verhältnisse im resultierenden 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **26** haben sich gegenüber dem Phosphattriester **25** umgekehrt.

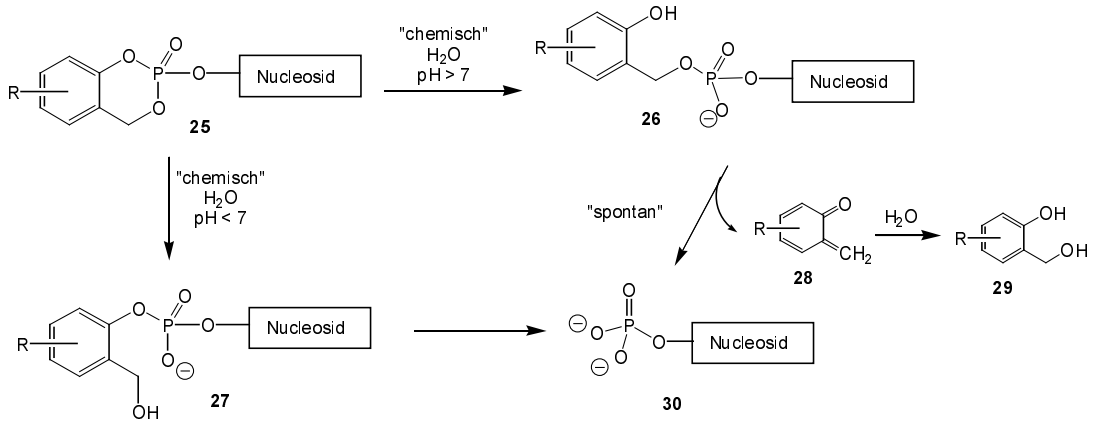


Abbildung 16: Postulierter Hydrolysemechanismus von *cyclo*Sal-NMP **25**

Stellte im Phosphattriester der Phenyl-Phosphatester noch einen Elektronen-Akzeptor dar, so ist im Phosphatdiester **26** die freie Hydroxylgruppe ein starker Elektronen-Donor. Dieser Substituent ist aufgrund der ersten aktivierenden Reaktion "umgepolt" worden. Das Resultat dieser "Umpolung" ist eine spontane Spaltung der C_{Benzyl}-O-Bindung unter Freisetzung des Nucleotids **30** sowie des Chinonmethids **28**, welches nachfolgend zum Salicylalkohol-Derivat **29** hydrolysiert werden kann. Da die Spaltung des Diesters **26** im Gegensatz zur Primärreaktion durch einen spontanen C_{Benzyl}-O-Bindungsbruch erfolgt, kann die bei der Hydrolyse von Phosphatdiestern auftretenden Pseudorotation am Phosphoratom nicht stattfinden.[83] Die bei dem in Abbildung 15 auf Seite 21 gezeigten Prodrug-System verwendeten "Masken" sind Derivate der 2-Hydroxybenzylalkohole (Salicylalkohole) **29**, die in *ortho*- und/oder *para*-Position zur Hydroxylgruppe substituiert sind. Die Verwendung von unterschiedlichen Akzeptor- und Donor-Substituenten sollten die Spaltung des phenolischen Phosphatesters beeinflussen. Akzeptor-Substituenten sollten die Spaltung beschleunigen, während Donor-Substituenten den phenolischen Phosphatester stabilisieren. Durch eine geeignete Auswahl von Substituenten ist es somit möglich, die Stabilität (Halbwertszeit) der *cyclo*Sal-Verbindungen **25** zu beeinflussen, um eine intrazelluläre Freisetzung von Nucleotiden zu gewährleisten.

Der Hauptunterschied zu den zuvor erläuterten Prodrug-Konzepten besteht darin, daß nur ein Aktivierungsschritt notwendig ist. Diese Aktivierung erfolgt noch dazu chemisch induziert und ist somit unabhängig von Enzymen und ihrer intrazellulären Verteilung. Des weiteren wird im *cyclo*Sal-Konzept pro *cyclo*Sal-Verbindung nur ein Molekül der maskierten Gruppe freigesetzt. Das Verhältnis Maske:Wirkstoff (1:1) ist damit optimal.

Dieses neue Pro-Nucleotid-Konzept wurde bisher für 3'-Azidothymidin (AZT) **1**[156], 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **3**[157], 2',3'-Didesoxythymidin (ddT)[158], 5-Fluor-2'-desoxyuridin (FdU)[159], 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7**[160] und 5-[(E)-2-Bromvinyl]-2'-desoxyuridin (BVDU)[161,162,163] sowie für die acyclischen Nucleoside Acyclovir (ACV)[164], Penciclovir (PCV)[164,165], T-Penciclovir (T-PCV)[164] und T-Ganciclovir (T-GCV)[166] angewandt. Bei allen bisher untersuchten *cyclo*Sal-NMPs **25** wurde eine Abhängigkeit der Halbwertszeit von den jeweiligen Substituenten im aromatischen Ring beobachtet. So konnte durch eine Methylgruppe in der 3-Position die Halbwertszeit der *cyclo*Sal-NMPs so verlängert werden, daß dem *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid **25** ausreichend Zeit zum passieren der Zellmembran bleibt. Eine vorzeitige Hydrolyse im extrazellulärem Raum wird dadurch verhindert. Eine selektive, intrazelluläre Freisetzung des jeweiligen Nucleotids **30** konnte für die d4TMP-Prodrugs[157,159] und für die ACVMP-Prodrugs[164] nachgewiesen werden. Die *cyclo*Sal-d4TMP-Phosphattriester zeigten sehr gute anti-HIV Aktivitäten, sowohl in T-Lymphozytenzellen (Wildtyp) als auch in Thymidin-Kinase defizienten Zellen. Für die *cyclo*Sal-ACVMP-Derivate wurden ebenfalls sehr gute Aktivitäten in Wildtypzellinien sowie den entsprechende TK^--Zellinien ermittelt. Im Fall des *cyclo*Sal-AZTMP-Phosphattriesters zeigten anti-HIV-Tests in Wildtypzellinien eine Aktivität in der Größenordnung von AZT **1**. Diese biologische Aktivität ging in den Thymidin-Kinase defizienten Zellinien allerdings wieder verloren. Um diese Beobachtung erklären zu können wurden jeweils eine Tritium-markierte *cyclo*Sal-AZTMP- und *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindung synthetisiert, mit CEM/0- bzw. CEM/TK^--Zellen inkubiert und die Metaboliten quantifiziert.[167,168] Dabei stellte sich heraus, daß die *cyclo*Sal-[3-Me-^{3}H]AZTMP-Verbindung intrazellulär zwar AZTMP freisetzen kann, dieses aber keinerlei Möglichkeit zum Akkumuliation hat, da es von der 5'-Nucleotidase schnell zu AZT **1** dephosphoryliert wird (V_{max}/K_m = 456). Das freie Nucleosid unterliegt dann einer schnellen Umwandlung zu AZTMP durch die TK in CEM/0-Zellen, jedoch nicht in CEM/TK^--Zellen.[167] Das ist der Grund warum AZT-Pro-Nucleotide in TK-defizienten Zellen keinerlei Aktivität entwickeln können. Im Gegensatz dazu ist das durch das *cyclo*Sal-d4TMP-Pro-Nucleotid intrazellulär freigesetzte d4TMP weitaus stabiler gegenüber einen enzymatischen Abbau zu d4T **3** durch die TK (V_{max}/K_m = 22).[168] D4TMP kann also so zu d4TTP phosphoryliert werden und die antivirale Aktivität wird sichtbar. Die *cyclo*Sal-Phosphattriester des Penciclovir konnten ebenfalls kein Nucleosid-Monophosphat freisetzen. Untersuchungen zeigten, daß dort das cyclisches 3',5'-Nucleosidphosphat entstand, welches keine Aktivität in den Thymidin-Kinase defizienten Zellen aufwies.[165]

In neuesten Arbeiten wurde außerdem der Einfluß eines Substituenten in der benzyl-Position des *cyclo*Sal-Pro-Nucleotides im Hinblick auf die beobachtete Toxizität der Verbindungen und den Freisetzungsmechanismus gemacht.[169,170] Hierbei konnte festgestellt werden, daß neben dem gewünschten Hydrolyseweg, der zur Freisetzung des Nucleotids führt, der ungewünschte Diester **27** entsteht. Hierzu wurden außerdem *ab initio* Rechnungen mit Hilfe des Programms „GAUSSIAN 98“ zu den Grund- und Übergangszuständen eines benzylischen C-O-Bindungsbruches durchgeführt.[169]

Weiterhin wurde versucht, das Prinzip eines „lock-in“ (Einschluß) der *cyclo*Sal-Nucleotide **25** in die Zelle zu verwirklichen.[171] Hierbei sollen Estergruppen in der Seitenkette des Salicylalkoholrings nach Diffusion durch intrazellulär vorhandene Carboxyesterasen hydrolysiert werden. Die dadurch resultierende polare Carbonsäure- oder Alkoholgruppe soll einen passiven Efflux des Pro-Nucleotids aus der Zelle verhindern.

Der Freisetzungsmechanismus des *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid Konzeptes kann außerdem zur Darstellung von Nucleotiden aus neuen Nucleosid-Analoga präparativ genutzt werden. Diese wurden im Anschluß auf deren Substrateigenschaften (Thymidilat-Kinase etc.) getestet.[172]

In der vorliegenden Arbeit wurde dieses neue Pro-Nucleotid Konzept auf weitere antiviral aktive Nucleosid-Analoga anwendet, um Engpässe in deren Metabolismus zu umgehen. Außerdem wurden Untersuchungen zu Struktur-Aktivitätsbeziehungen von konformativ rigiden Nucleosiden gemacht.

3. Problemstellung

CycloSaligenyl-Nucleotide: Untersuchungen zum TK- und ADA-Bypass antiviral aktiver Pro-Nucleotide

Im Rahmen dieser Arbeit sollte das in dieser Arbeitsgruppe entwickelte *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid-Konzept auf Nucleosid-Analoga mit der Base Adenin, Thymin und Cytidin angewendet werden. Dabei üben Substituenten in *ortho*- und *para*-Position zum phenolischen Phosphatester einen maßgeblichen Einfluß auf die Lipophilie, die Hydrolyseeigenschaften und die antivirale Aktivität der *cyclo*Sal-Verbindungen aus. Dieser Einfluß sollte untersucht werden. Weiterhin sollte untersucht werden, inwieweit mit Hilfe der *cyclo*Sal-Verbindungen einen Einblick in den Metabolismus von Nucleosid-Analoga möglich ist.

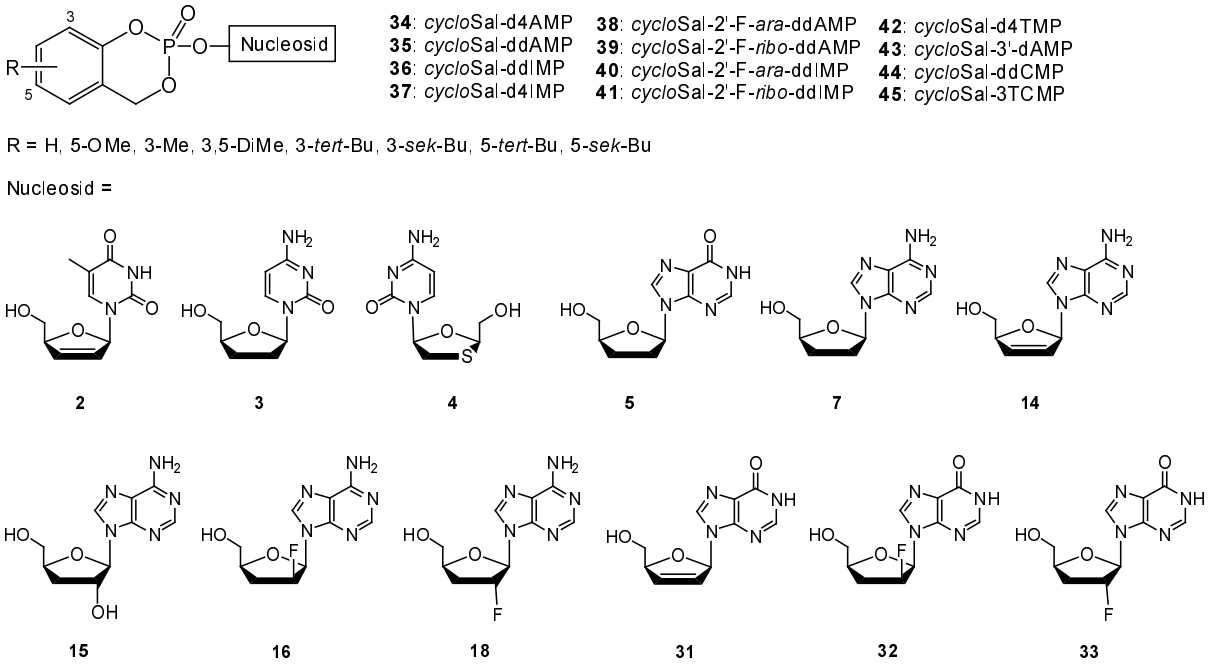


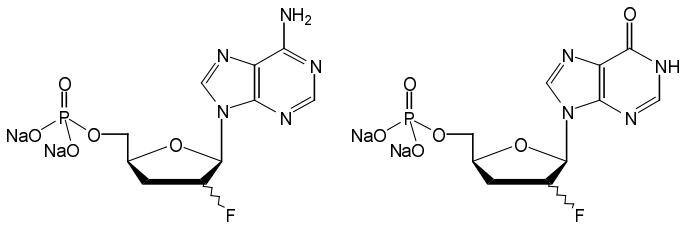
Abbildung 17: *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide

Zunächst war es Ziel, die Nucleoside 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7**, 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** aus Adenosin **50** oder 2'-Didesoxyadenosin **58** bzw. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** aus Thymidin **93** zu synthetisieren. Weiterhin sollten die entsprechenden Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4I) **31**, 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5**, 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** dargestellt werden. Für die Synthese der *cyclo*Sal-Verbindungen dienten, neben den Nucleosid-Analoga, die Salicylalkohole **29a-h** als weitere Grundbausteine. Sie

sollten durch Reduktion der entsprechenden Salicylsäuren oder durch selektive *ortho*-Formylierung der entsprechenden Phenole **67** und anschließender Reduktion darstellbar sein. Die Phosphatgruppe der *cyclo*Sal-Verbindungen kann über verschiedene Wege eingeführt werden. Es sollte untersucht werden, inwieweit Phosphor(III)-Reagenzien **70** und **71** als auch Phosphor(V)-Reagenzien **72** geeignet sind, um *cyclo*Sal-Verbindungen herzustellen. Außerdem sollten die Reaktionsbedingungen für die Synthese der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42** mit dem cyclischen Saligenylphosphoramidit optimiert werden und weiterhin versucht werden, mit verschiedenen chiralen Aktivatoren das Diastereomerenverhältnis zu beeinflussen.

Die erhaltenen *cyclo*Sal-Verbindungen sollten in bezug auf ihre Eigenschaften untersucht werden. Die Bestimmung der Verteilungskoeffizienten diente dabei als qualitativer Hinweis für die Lipophilie. Hydrolysestudien bei einem pH-Wert von 7.3 sollten einen Beweis für die selektive intrazelluläre Freisetzung des 5'-Monophosphates liefern. Außerdem sollten die *cyclo*Sal-Verbindungen mit der Base Adenin auf ihre Stabilität unter sauren Bedingungungen und auf ihre Stabilität gegenüber den desaminierenden Enzymen Adenosin-Desaminase (ADA) und Adenosinmonophosphat-Desaminase (AMPDA) geprüft werden. Die Zelltests zur Bestimmung der antiviralen Aktivität sollte in Zusammenarbeit mit Prof. J. Balzarini (Rega Institut in Leuven, Belgien) durchgeführt werden.

Im Fall von 2'-Fluor-*ara*-ddA **16**, 2'-Fluor-*ribo*-ddA **18**, 2'-Fluor-*ara*-ddI **32** und 2'-Fluor-*ribo*-ddI **33** sollten die entsprechenden 5'-Monophosphate **46-49** synthetisiert und einer qualitativen bzw. quantitativen Konformationsanalyse unterzogen werden (Abbildung 18). Die qualitative Konformationsanalyse mit Hilfe der Progamme PSEUROT und FLUOROT sollte in Zusammenarbeit mit J.J. Barchi (NIH, Bethesda, USA) durchgeführt werden.



46: 2'-F-*ara*-ddAMP
47: 2'-F-*ribo*-ddAMP
48: 2'-F-*ara*-ddIMP
49: 2'-F-*ribo*-ddIMP

Abbildung 18: 2'-fluorierte Nucleotide (Dinatriumsalze) **46-49**

Ziel war weiterhin, durch Vergleich der biologischen Eigenschaften der *cyclo*Sal-Verbindungen **38-41** und der Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16,** 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33**, einen Grund für die verschiedenen biologischen Aktivitäten von **16** und **18**

zu finden bzw. die Blockade im Metabolismus von 2‘-F-*ribo*-ddA **18** aufzudecken (Abbildung 19).

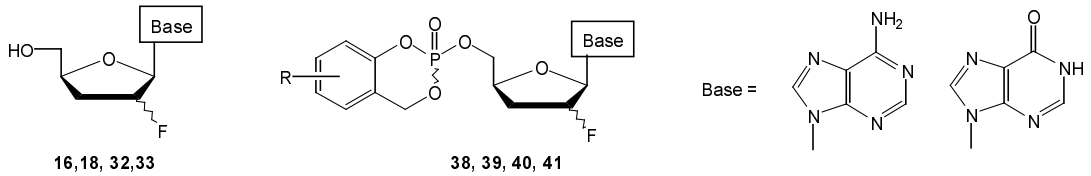


Abbildung 19: 2'-Fluor-2',3'-didesoxynucleoside **16**, **18**, **32**, **33** und *cyclo*Sal-2'-Fluor-2',3'-didesoxynucleotide (*cyclo*Sal-2'-F-ddNMP) **38-41**

4. Resultate und Diskussionen

4.1 Synthese von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A)

In diesem Abschnitt soll die Synthese von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** beschrieben werden.

4.1.1 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) 14

In der Literatur sind einige Synthesewege für 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) bekannt[23], von denen hier die fünf wichtigsten vorgestellt werden sollen.

Zum einen kann ausgehend von Adenosin **50** die 2',3'-ungesättigte Verbindung **14** durch Corey-Winter Eliminierung eines cyclischen 2',3'-*O*-Thionocarbonats **55**[173] oder durch eine milde Desoxygenierung[174,175,176] (Weg D) erhalten werden. Weiterhin hat sich die Reduktion eines Bisxanthates **53** (Weg B) bewährt, um d4A **14** in guten Ausbeuten darzustellen.[176]

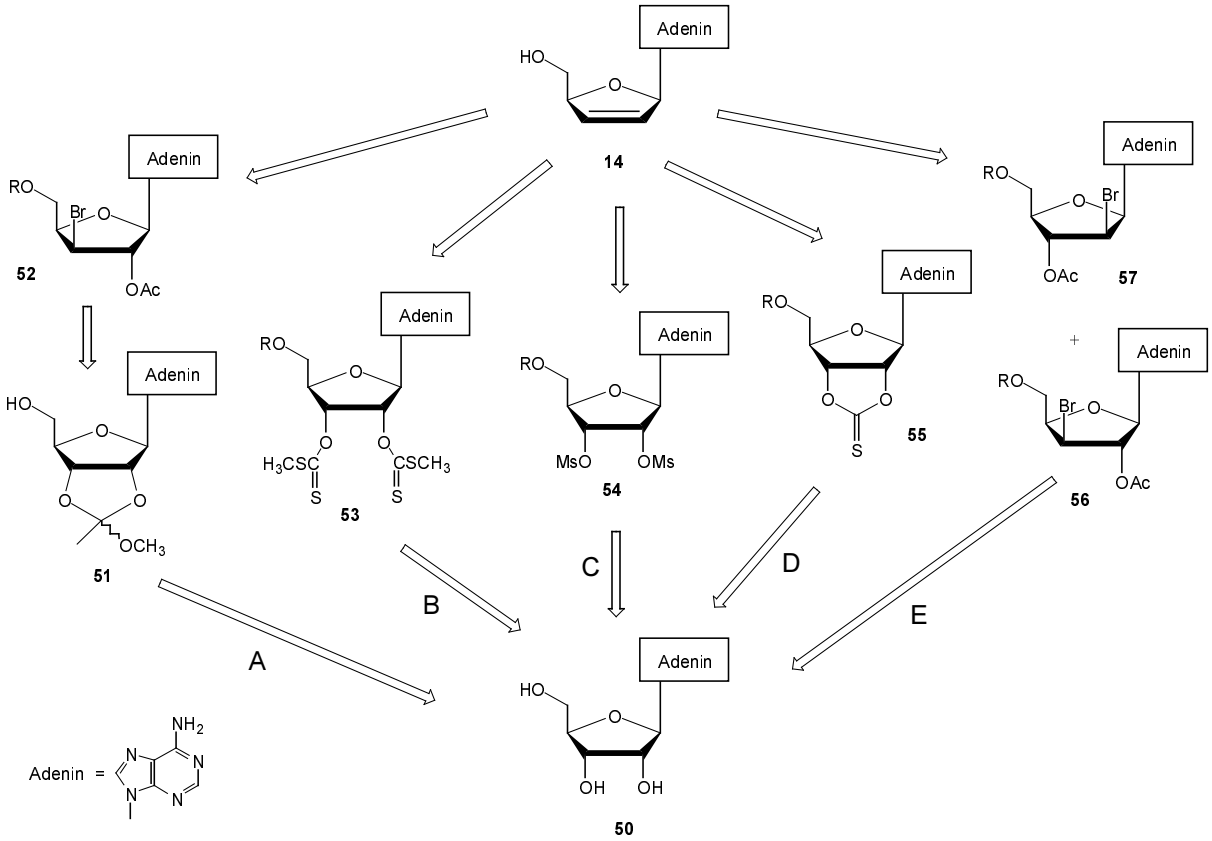


Abbildung 20: Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14**

Eine weitere und dazu noch sehr effiziente Methode ist die Öffnung eines 2',3'-Orthoacetates **51**[177] mit Acetylbromid[178,179] und anschließender reduktiver Eliminierung des Bromacetats

52 (Weg A).[179] 2'- und 3'-*trans*-Bromacetate (**56** und **57**) können außerdem direkt durch Reaktion von Adenosin mit 2-Acetoxyisobutyrylbromid erhalten werden (Weg E).[180,181] Mit Tellur-Verbindungen, die das Tellurid-Dianion (Te^{2-}) freisetzen können, ist man in der Lage aus den 2',3'-Dimesylaten **54** der 5'-geschützen Nucleoside die entspechenden 2',3'-ungesättigten Verbindungen herzustellen (Weg C).[182] Als Quelle für Tellurid-Dianionen dient Dilithiumditellurid (Li_2Te_2) das durch Zugabe von Super-Hydrid (Et_3BHLi) zu Tellurstaub in THF generiert werden kann.[183] Sowohl für Pyrimidine als auch für Purine ist diese Methode zur Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydronucleoside geeignet und liefert durchweg gute bis sehr gute Ausbeuten.

Die Synthese von 2',3'-ungesättigten Nucleosiden ausgehend von 2'-Desoxyadenosin **58** erfordert eine baseninduzierte β-Eliminierung. Diese Reaktion wurde für Uracil-,[184] Thymin-[185] und Adenin-Nucleoside[186,187] beschrieben. Im Fall der Adenin-Nucleoside findet die β-Eliminierung mit Natriummethanolat in DMF ausgehend von einem 3'-*O*-Sulfonylester **59** in 63 %iger Ausbeute statt (Abbildung 21).

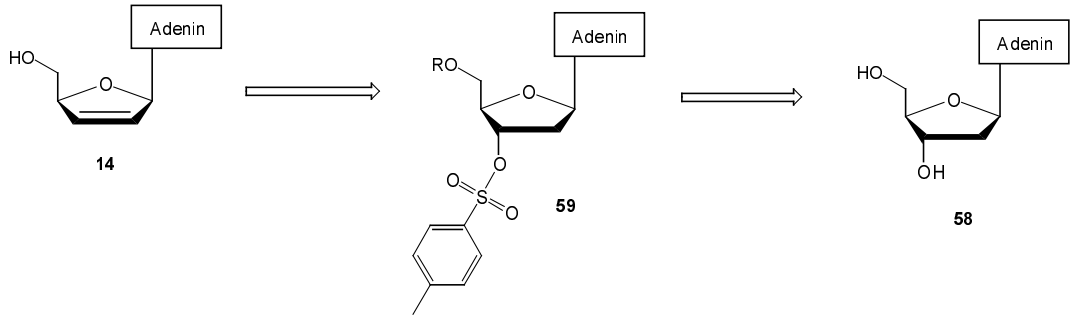


Abbildung 21: Synthese von d4A **14** ausgehend von 2'-Desoxyadenosin **58**

Aufgrund der geringeren Kosten wurde eine Synthese ausgehend von Adenosin **50** gewählt. Hierbei fiel die Wahl auf die Route A über die Verbindungen **51** und **52**, da hier im Vergleich zu den Routen B, C und D über die Verbindungen **53-57** nicht selektiv die 5'-*O*-Position geschützt werden muß. Hierbei darf die gewählte Schutzgruppe an der 5'-*O*-Position nicht sauer abspaltbar sein, da bei anschließender Entschützung zum d4A **14** eine Spaltung der glycosidischen Bindung eintreten würde (Abbildung 6, Seite 10). Da hierbei die sauer abspaltbare Schutzgruppe 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl (DMTr) und die relativ teure Schutzgruppe *tert*-Butyldimethylsilyl (TBDMS) verwendet worden sind und außerdem nur mäßige Ausbeuten erreicht werden, wurde auf diese Synthesevarianten verzichtet. Die Route E über die Verbindungen **56** und **57** führt zu schlechten Ausbeuten und vielen Nebenprodukten die chromatographisch mühsam abgetrennt werden müssen. Aufgrund der geringeren Kosten und

der geringeren Anzahl an Reaktionsschritten wurde die Synthese über das 2',3'-Orthoacetat **51** mit anschließender reduktiver Eliminierung des Bromacetats **52** verwendet.

4.1.2 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) 14

2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** konnte aus Adenosin **50** nach der Methode von Walker (Weg A) synthetisiert werden.[179] Dazu wurde Adenosin **50** zunächst mit 5.0 Äquivalenten Trimethylorthoacetat und 0.3 Äquivalenten *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in DMF zu 2',3'-*O*-Methoxyethylidenadenosin **51** umgesetzt. Der farblose Feststoff konnte durch chromatographische Aufreinigung mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10% in 78 %iger Ausbeute isoliert werden (Abbildung 22).

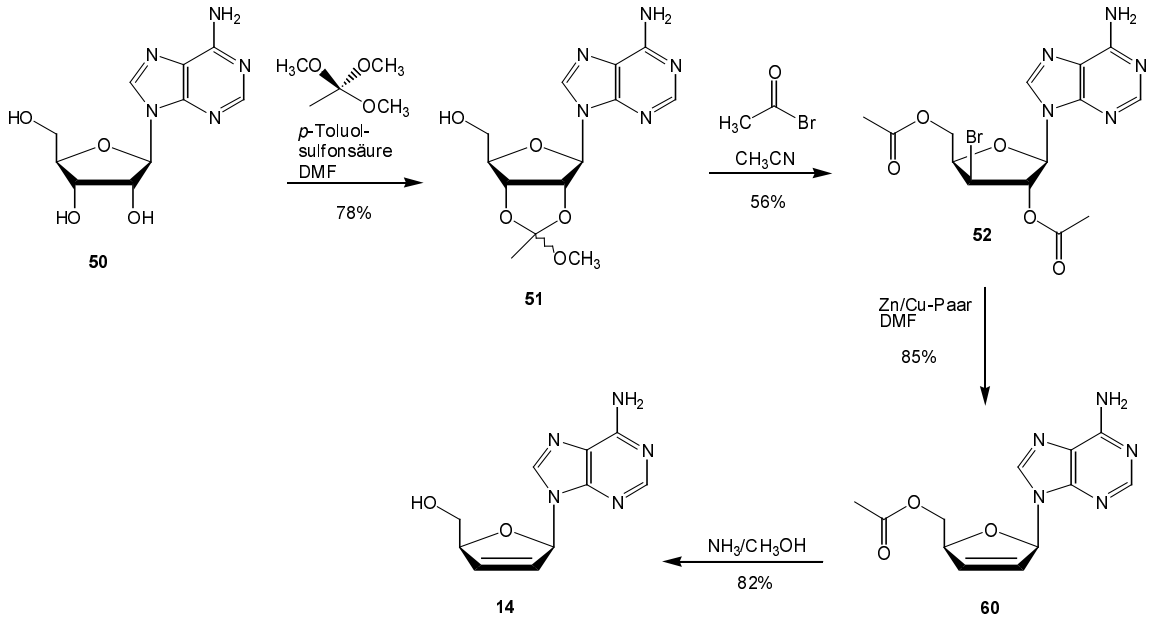


Abbildung 22: Synthese von d4A **14** ausgehend von Adenosin **50**

Die anschließende Reaktion mit 2.2 Äquivalenten Acetylbromid in wasserfreiem Acetonitril bei 0 °C lieferte 3'-Brom-3'-desoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** in 56 % Ausbeute. Die Aufreinigung erfolgte wiederum chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-4 % (Abbildung 22). Für den nächsten Schritt wurde zunächst das Zink/Kupfer-Paar[188] hergestellt. Hierbei wurde zu einer heißen Lösung von Kupfer(II)acetat-monohydrat in Eisessig Zinkstaub hinzugegeben und bis zur Entfärbung gerührt. Nach Isolierung wurde das Zink/Kupfer-Paar in wasserfreiem DMF suspendiert und bei 0°C mit dem 3'-Brom-3'-dexoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** umgesetzt. In einer Ausbeute von 85 % konnte 5'-*O*-Acetyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **60** als farbloser Feststoff erhalten werden. Anschließende Abspaltung der Acetyl-Schutzguppe an der 5'-*O*-Position mit kaltgesättigter

ammoniakalischer Methanol-Lösung lieferte in 82 %iger Ausbeute 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenosin (d4A) **14** als farblosen Feststoff (Abbildung 22). Ausgehend von Adenosin **50** wurde d4A **14** in einer Gesamtausbeute von 31 % erhalten.

4.2 Synthese von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA)

Im folgenden Abschnitt soll die Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin **7** beschrieben werden.

4.2.1 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) 7

Aus der Literatur sind einige Synthesewege für die Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** bekannt.[23] Die meisten gehen hierbei von 2'-Desoxyadenosin **58** aus, welches in einem ersten Schritt selektiv an der 5'-*O*-Position geschützt werden muß, um Nebenreaktionen während der Synthese von ddA **7** zu verhindern. Zweckmäßigerweise fällt die Wahl hierbei auf basenlabile Schutzgruppen wie Acetyl- und Benzoylschutzgruppen aber auch Silylschutzgruppen, welche mit Fluorid-Ionen abspaltbar sind, sind geeignet.

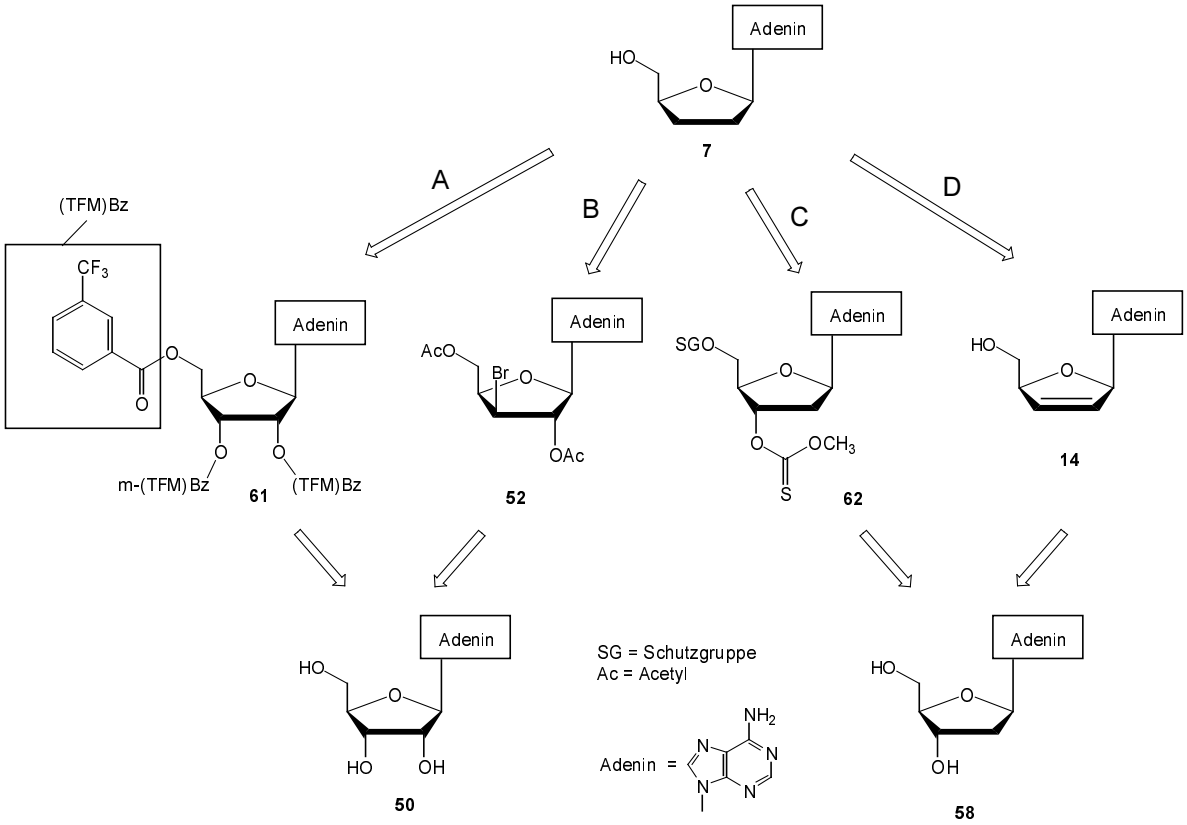


Abbildung 23: Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7**

Sauer abspaltbare Schutzgruppen wie z.B. DMTr sind, wie auch im Fall für d4A **14** auch für ddA **7**, ungeeignet, da bei einer abschließenden Entschützung der 5'-OH-Gruppe, eine

Spaltung der glycosidischen Bindung unvermeidbar wäre (Kapitel 2.2.1, Seite 8). In Abbildung 23 auf Seite 31 sind die Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** aufgezeigt. Nach Schützung der 5'-OH-Position von 2'-Desoxyadenosin **58** kann über ein 3'-Thionocarbonat **62** mit anschließender radikalischer Desoxygenierung und baseninduzierter Entschützung der 5' Hydroxylgruppe 2',3'-Didesoxyadenosin **7** erhalten werden (Weg C). Diese Reaktionsfolge basiert auf Arbeiten von Barton et al.[189,190,191,192] aus den Jahren 1976-1979 und sind einige Jahre danach auch auf die Synthese von 2',3'-Didesoxynucleosiden angewendet worden.[193,194,195] Eine Alternative und gleichzeitig sehr effiziente Methode zur Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin **7** stellt die Hydrierung der 2',3'-ungesättigten Verbindung 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** dar (Weg D).[181,186] Üblicherweise wird mit Wasserstoff an einem auf Aktivkohle fein verteiltem Metallkatalysator, meist Palladium, eine Hydrierung der Doppelbindung erreicht. Der synthetische Zugang zu d4A **14** wurde bereits in Kapitel 4.1.1 auf Seite 28 ausführlich beschrieben. Ausgehend von Adenosin **50,** kann ddA **7** auch, nach Öffnung des 2',3'-Orthoacetates **51**[177] mit Acetylbromid[178,179] über das Intermediat 3'-Brom-3'-desoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** dargestellt werden (Weg B).[196] Diese Gesamtausbeute dieser fünfstufigen Synthese liegt bei 24 %. Weiterhin ist auf die photochemisch ablaufende Reaktion von 2',3',5'-Tri-*meta*-(Trifluormethyl)benzoatestern **61** hinzuweisen[23,197], wobei man in Anwesenheit von $MgClO_4$ und *N*-Methylcarbazol (MCZ) 5'-*O*-geschütztes 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in einer Ausbeute von 73 % erhält (Weg A).

4.2.2 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) 7

Für die Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) wurde ausgehend von 2'-Desoxyadenosin (2'-dA) **58** die vierstufige Syntheseroute C (Abbildung 23, Seite 31) über eine Barton-Desoxygenierung gewählt. Im ersten Schritt mußte regioselektiv die 5'-Hydroxygruppe geschützt werden, da die sekundäre OH-Gruppe an der 3'-Position des 2'-Desoxyadenosins **58** ein weiteres Reaktionszentrum darstellt. Eine Silylschutzgruppe wie *tert*-Butyldimethylsilyl ist, neben den geeigneten Abspaltungsbedingungen, auch durch ihre hohe *O*-Selektivität und der höheren Reaktivität gegenüber primären Alkoholen ausgesprochen geeignet für die temporäre Blockierung der 5'-OH-Position.[198,199] 2'-Desoxyadenosin **58** wurde mit 1.1 Äquivalenten *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und 2.2 Äquivalenten Imidazol in Pyridin als Lösungsmittel bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Nach chromatographischer Aufreinigung mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradient (0-10 %) konnte 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin **63** in guten Ausbeuten (70 %) als farbloser Feststoff erhalten werden. Im

nächsten Schritt wurde 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin **63** in Dimethylformamid (DMF) gelöst und bei 80 °C mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol umgesetzt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels und Zugabe von wasserfreiem Methanol wurde nochmals 2 h auf 60 °C erhitzt. Nach Aufarbeitung und Aufreinigung mittels Säulenchromatographie konnte 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-3'-methylthiocarbonyl-2'-desoxyadenosin **58** als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 54 % erhalten werden.

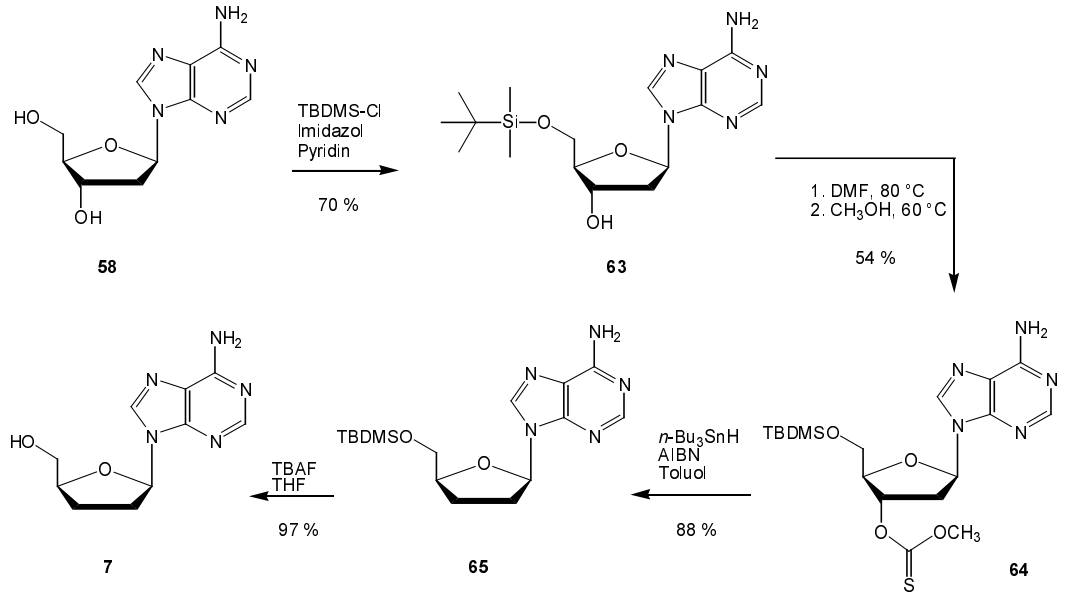


Abbildung 24: Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin **7** ausgehend von 2'-Desoxyadenosin **58**

Die nun folgende Barton-Desoxygenierung verläuft über einen radikalischen Mechanismus mit Hilfe von Tri-*n*-butylzinnhydrid und katalytischen Mengen α,α'-Azoisobutyronitril (AIBN). Hierzu wurde 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-3'-methylthiocarbonyl-2'-desoxyadenosin **64** in Toluol gelöst und *N*,*N*'-Azoisobutyronitril sowie das Tri-*n*-butylzinnhydrid hinzugegeben. Nach Entgasen der Reaktionsmischung und anschließendem Erhitzen auf 110 °C für 4 h wurde das Lösungsmittel abkondensiert und säulenchromatographisch mit einem Dichlormethan-Methanol-Gradienten (0-10 % Methanol) aufgereinigt. Man erhielt 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-didesoxyadenosin **65** als farblosen Feststoff in 88 %iger Ausbeute. Zur abschließenden Abspaltung der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe wurde 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-didesoxyadenosin **65** in wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) gelöst und mit 3.0 Äquivalenten Tetrabutylammoniumfluorid versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels und chromatographischer Aufreinigung mit einem Methanol-Gradienten (0-10 %) in Dichlormethan (+ 0.1 % Triethylamin) konnte ein farbloser Feststoff in 97 % Ausbeute erhalten werden. Ausgehend von 2'-Desoxyadenosin **58** konnte 2',3'-Didesoxyadenosin **7** somit in einer Gesamtausbeute von 32 % erhalten werden. In einer

früheren Variante zur Darstellung von ddA **7** wurde im ersten Syntheseschritt anstelle der 5'-*O-tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe eine Benzoylschutzgruppe gewählt.[200] Die regioselektive Einführung erfolgte hierbei nach einer Methode von A. Liguori.[201] Die erzielte Ausbeute an 5'-benzoyliertem 2'-Desoxyadenosin lag aber nur bei 47 % und ist somit der oben beschriebenen Silylierung der 5'-Position deutlich unterlegen. Danach wurde die 3'-OH-Gruppe unter identischen Bedingungen in einen Thiocarbonsäuremethylester überführt was allerding im Fall des 5'-*O*-Benzoyl-2'-desoxyadenosin in 77 %iger Ausbeute gelang. Die anschließende Barton-Desoxygenierung und abschließende Entschützung der 5'-Position gelang ebenfalls problemlos mit nahezu identischen Ausbeuten von 88 % bzw. 94 %. Die Gesamtausbeute dieser ersten Synthesevariante von 2'-Didesoxyadenosin **7** lag bei nur 30 % und ist somit der hier beschriebenen "5'-Silyl-Variante" unterlegen.

4.3 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I)

4.3.1 Synthesestrategien für 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5 und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) 31

Die Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5**, 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** gelingt auf chemischen Weg, ist aber auch mit Hilfe von desaminierenden Enzymen durchzuführen (Abbildung 25).

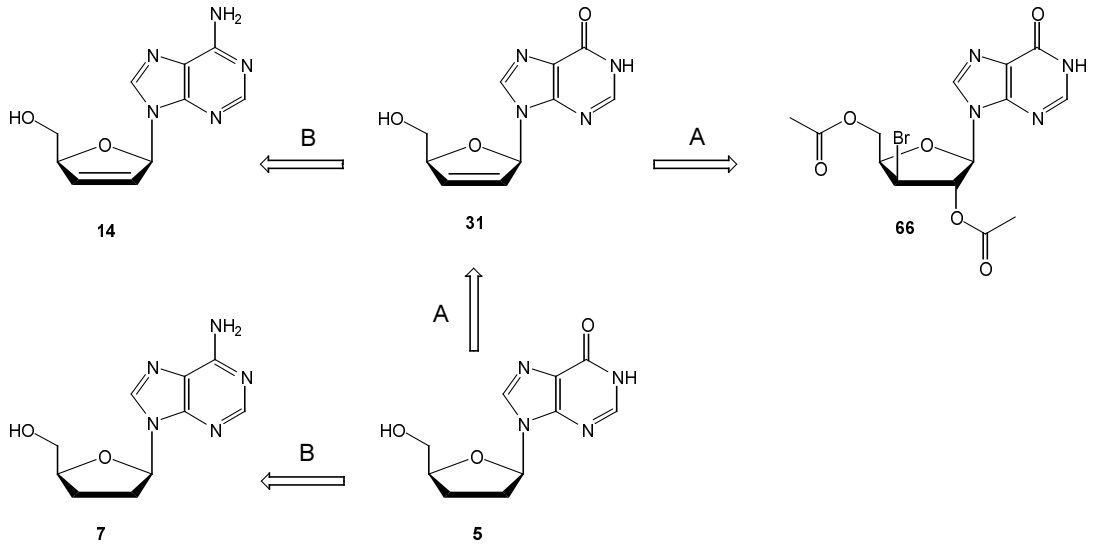


Abbildung 25: Synthesestrategien der Hypoxanthin-Nucleoside ddI **5** und d4I **31**

Die in dem Kapitel 4.1.1 und 4.1.2 beschriebene reduktive Eliminierung des Bromacetats 3'-Brom-3'-desoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** mit einem Zn/Cu-Paar kann auch mit dem

entsprechenden Hypoxanthin-Derivat 3'-Brom-3'-desoxy-2',5'-di-*O*-acetylinosin **66** durchgeführt werden.[179] Hierbei erhält man nach Entschützung der 5'-OH-Gruppe 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxyinosin (d4I) **31** bzw. nach anschließender Hydrierung von **31** 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** (Weg A).[176]

Die Umwandlung der Base Adenin in Hypoxanthin durch Desaminierung stellt eine weitere Methode dar (Abbildung 25, Seite 34). Sie bietet sich dann an, wenn bereits die entsprechenden Adenin-Nucleosid-Analoga zur Verfügung stehen (Weg B). Auf eine aufwendigere, und kostenintensivere separate Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside ddI **5** und d4I **31** kann somit verzichtet werden. Die Desaminierung ist auf verschiedene Arten durchführbar. Zum einen kann die Umsetzung der entsprechenden Adenosin-Derivate **7** und **14** mit Natriumnitrit ($NaNO_2$) in Eisessig durchgeführt werden.[35] Weitaus eleganter ist jedoch eine enzymatische Desaminierung. Hierbei ist die Verwendung der kommerziell erhältlichen Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4) die am häufigsten beschriebene Methode zur Herstellung von Hypoxanthin-Nucleosid-Analoga.[35]

4.3.2 Darstellung der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5 und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) 31

Da 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** bereits zur Verfügung standen, konnte für die Synthese der entsprechenden Hypoxanthin-Nucleoside **5** und **31** eine enzymatische Desaminierung durchgeführt werden.

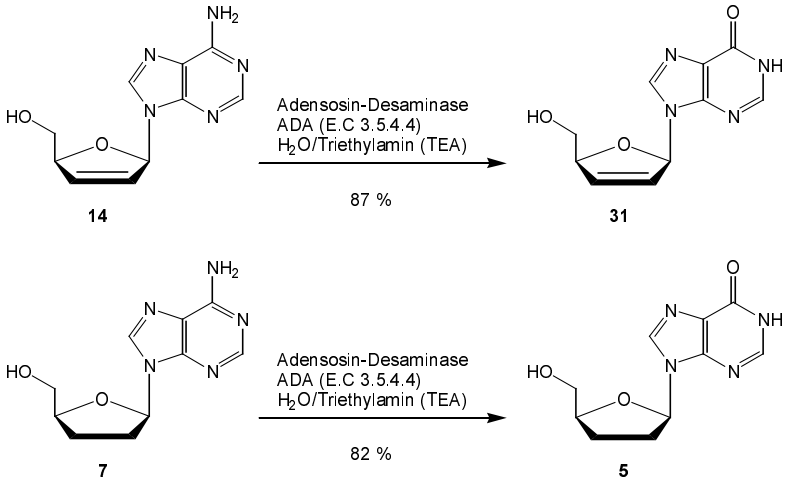


Abbildung 26: Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside ddI **5** und d4I **31**

Dazu wurde das Nucleosid in Wasser gelöst und mit Triethylamin (TEA) versetzt, welches den pH Wert der Lösung auf 8 erhöht. Dies ist nötig, um während der Reaktion eine Spaltung

der glycosidischen Bindung zu verhindern. Im Anschluß wurden 10 Units des kommerziell erhältlichen Enzyms Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4) aus Kälberdarmschleimhaut hinzugegeben und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Enzym wurde mit kaltem Methanol gefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter filtriert, um restliches Enzym zu entfernen. Die weitere Aufreinigung erfolgte chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0 - 10 %. Man erhielt farblose Feststoffe in einer Ausbeute von 82 - 87 %.

4.4 Synthese der *cyclo*Saligenyl-Nucleosid-Monophosphate

4.4.1 Synthesestrategien

Ausgehend von dem Nucleosid gibt es mehrere Möglichkeiten für die Synthese der *cyclo*Saligenyl-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMP) **25**. Die Phosphat-Gruppe könnte über verschiedenartige Salicylalkohol-Derivate eingeführt werden (Abbildung 27).

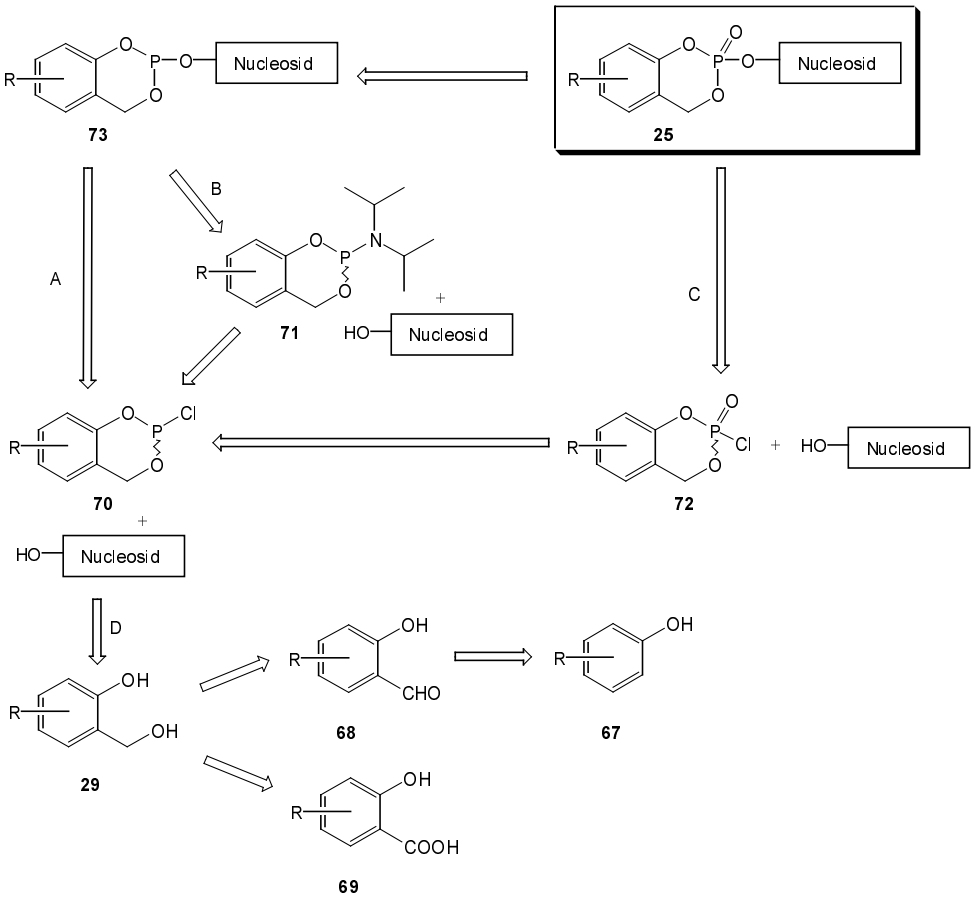


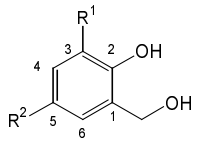
Abbildung 27: Synthesestrategie der *cyclo*Sal-Phosphattriester-Derivate (Variante A, B, C)

Denkbar hierfür ist die Umsetzung des Nucleosids mit dem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70** zu dem entsprechenden cyclischen Phosphit **73** welches im Anschluß zu dem gewünschten Phosphattriester **25** oxidiert werden muß (Variante A). Die cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** wären aus den entsprechenden Salicylalkoholen **29** darstellbar, welche ihrerseits aus den Salicylsäuren **70** oder Salicylaldehyden **68** durch einfache Reduktion zu erhalten sind (Weg D). Eine weitere Synthesevariante ist die Verwendung von cyclischen Saligenylphosphoramiditen **71** zur Synthese der *cyclo*Sal-Nucleotide **25** (Variante B). Hierbei könnte das cyclische Saligenylchlorphosphan **70** mit DIPA zu dem gewünschten Phosphoramidit **71** umgesetzt werden. Bei der anschließenden Synthese der Phosphattriester **25** unter Verwendung der cyclischen Saligenylphosphoramidite **71** (Variante B) ist ein Aktivator notwendig, um das Phosphit **73** zu generieren. Hierfür geeignete Aktivatoren sind Säuren wie z.B. 1H-Tetrazol.[202] Auch bei dieser Synthesevariante wäre eine abschließende Oxidation zum Phosphattriester **25** notwendig. Der Vorteil einer solchen Reaktionsführung gegenüber der Verwendung von cyclischen Saligenylchlorphosphanen **70** (Variante A) könnte sich in einer besseren *N*,*O*-Selektivität bei Nucleosiden mit zusätzlicher reaktiver Gruppe wie der freien Aminogruppe der Basen Adenin, Cytosin und Guanin niederschlagen. Beachtet werden muß dabei allerdings, daß durch den Einsatz des Aktivators unter sauren Reaktionsbedingungen gearbeitet werden muß. Dies könnte sich bei säureempfindlichen Nucleosiden nachteilig auf die Reaktion auswirken. Im Fall der Synthesevariante A wird dagegen, durch den Einsatz der Base DIPEA, unter basischen Bedingungen gearbeitet.

Um die Oxidation im letzen Schritt zu umgehen, liegt ein Einsatz von Phosphor(V)-Verbindungen nahe (Variante C). Hierzu könnte ausgehend vom cyclischen Saligenylchlorphosphan **70** ein cyclisches Saligenylphosphorchloridat **72** synthetisiert werden, welches durch einfache Oxidation mit Sauerstoff zugänglich wäre. Vorteil dieser Methode ist der synthetische Zugang von *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden **25**, die sich gegenüber der abschließenden Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid als empfindlich erweisen. Ein Beispiel hierfür ist die Cyclopropyl-Gruppe des antiviral aktive Nucleosids 1592U89 (Abacavir, Ziagen®) (Abbildung 4, Seite 6).[203] Weiterhin haben Phosphor(V)-Reagenzien den Vorteil, daß, aufgrund ihrer geringeren Reaktivität, bessere N/O-Selektivitäten im Fall von Nucleobasen mit exocyclischen Aminogruppen (z. Bsp.: Adenin oder Guanin) zu erwarten sind. Der Mangel an Reaktivität der Phosphor(V)-Reagenzien könnte sich allerdings auch nachteilig auf die Ausbeute auswirken.

4.4.2 Darstellung der Salicylalkohole 29b-h

Die substituierten Salicylalkohole sind, neben den Nucleosiden, die Grundbausteine der *cyclo*Sal-Nucleotid-Verbindungen. Aus Gründen der Stabilität und in früheren Arbeiten erhaltenen biologischen Daten wurden ausschließlich Donorsubstituenten in 3- und 5-Position im aromatischen Ring synthetisiert. Hierfür kamen die 5-Methoxy- **29b**, 3-Methyl- **29c** und 3,5-Di-methyl-Verbindung **29d** in Frage. Um die Lipophilie der *cyclo*Sal-Phosphattriester weiter zu erhöhen wurden außerdem Salicylalkohole mit 3-*tert*-Butyl- **29e** und 3-*sek*-Butyl- **29f** bzw. 5-*tert*-Butyl- **29g** und 5-*sek*-Butyl-Substituenten **29h** verwendet. Als neutrale Vergleichssubstanz diente die unsubstituierte Verbindung **29a**. Die Nummerierung der einzelnen Positionen der Salicylalkohole **29** orientieren sich an der Salicylsäure und ihren Derivaten (Abbildung 27, Seite 36).

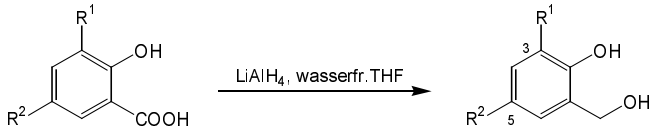


29a-h

a: R^1 = H, R^2 = H
b: R^1 = H, R^2 = OCH_3
c: R^1 = CH_3, R^2 = H
d: R^1 = CH_3, R^2 = CH_3
e: R^1 = *t*-Bu, R^2 = H
f: R^1 = *s*-Bu, R^2 = H
g: R^1 = H, R^2 = *t*-Bu
h: R^1 = H, R^2 = *s*-Bu

Abbildung 28: Substituierte Salicylalkohole **29a-h**

Während Verbindung **29a** käuflich erworben werden konnte, mußten die anderen Derivate zunächst synthetisiert werden. 5-Methoxy- **29b** und der 3-Methylsalicylalkohol **29c** konnten aus den entsprechenden Salicylsäuren **69b** und **69c** durch Reduktion unter Standardbedingungen[204] mit 2.0 Äquivalenten Lithiumaluminiumhydrid in wasserfreiem Tetrahydrofuran als Lösungsmittel erhalten werden (Abbildung 29, Seite 38). Zur Vervollständigung der Reaktion wurde 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach vorsichtiger Hydrolyse mit Eiswasser und Ansäuern mit 10 %iger Schwefelsäure auf pH 1 wurden die Salicylalkohole durch Extraktion mit Essigsäureethylester als Rohprodukt isoliert.



69b,c

b: R^1 = H, R^2 = OCH_3
c: R^1 = CH_3, R^2 = H

29b (87 %)
29c (88 %)

Abbildung 29: Synthese des 5-Methoxy- und 3-Methylsalicylalkohols **29b** und **29c**

Der 5-Methoxy- **29b** und 3-Methyl-salicylsalkohol **29c** konnten, als farblose kristalline Stoffe nach chromatographischer Aufreinigung mit einem Petrolether/Dichlormethan Gradienten (20-100 %) oder durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Dichlormethan/Petrolether erhalten werden. Es wurden Ausbeuten von 87 % bzw. 88 % erzielt.

Im Fall der 3,5-Dimethyl-substituierten Verbindungen **29d** war die entsprechende Salicylsäure käuflich nicht zu erwerben. Analog zu der von M. Lorey durchgeführten Synthese konnte der 3,5-Dimethylsalicylalkohol synthetisiert werden.[157,159] Als Ausgangssubstanz diente das 2,4-Dimethylphenol **67d**, welches zunächst in *ortho*-Position zur Hydroxyl-Gruppe nach Rieche[205,206] mit *ortho*-Dichlormethylmethylether in Gegenwart von Titantetrachlorid formyliert werden mußte (61 %). Eine anschließende Reduktion des erhaltenen Aldehyds **68d** mit Natriumborhydrid unter Standardbedingungen[204] lieferte den 3,5-Dimethylsalicylalkohol **29d** in 70 %iger Ausbeute (Abbildung 30).

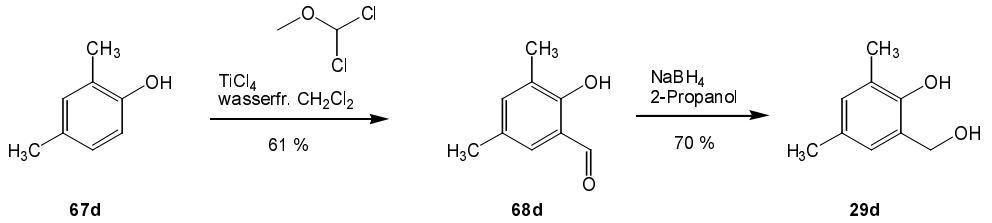


Abbildung 30: Synthese von 3,5-Dimethylsalicylalkohol **29d**

Die Salicylalkohole **29e-h** wurden ausgehend von den entsprechenden Phenolen **67e-h** nach der Methode von Casiraghi[207] dargestellt. Diese Methode weist gegenüber der Rieche-Formylierung eine größere *ortho*-Selektivität auf, so daß auch bei Phenolen mit freier *para*-Position ausschließlich das *ortho*-formylierte Produkt entsteht. Bei der Verwendung der Methode nach Rieche würde es im Fall der Phenole **67e** und **67f** auch zu einem Teil zu einer Formylierung der *para*-Position kommen.

Die *ortho*-Position des Phenols wurde hierzu mit Paraformaldehyd, Zinntetrachlorid und Trioctylamin formyliert (siehe Abbildung 31, Seite 40). Die Phenole **67** wurden in trockenem Toluol gelöst und mit 0.1 Äquivalenten Zinntetrachlorid versetzt. Zu der klaren grünen Lösung wurde 0.4 Äquivalente Trioctylamin hinzugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Die nun klare gelbe Lösung wurde mit 2.2 Äquivalenten Paraformaldehyd versetzt und 8 h unter Rückfluß erhitzt. Die zunächst trübe, gelbe Suspension wurde nach einiger Zeit eine klare gelbe Lösung. Nach Hydrolyse mit Eiswasser und Ansäuern mit 2N Salzsäure wurde mit Diethylether extrahiert. Man isoliert ein grünlich-gelbes Öl, das neben dem gewünschten Aldehyd noch Edukt und Zinnsalze enthält. Die Aldehyde **68** wurden zur vollständigen

Abtrennung der Zinnsalze mit Wasserdampf destilliert. Das Destillat wurde abermals mit Diethylether extrahiert. In den erhaltenen Rohprodukten konnte dünnschichtchromatographisch noch Reste von Edukt (Phenol) detektiert werden. Ein kleiner Teil der gelben Öle wurde zur Charakterisierung chromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten von 0-20 % am Chromatotron aufgereinigt. Man erhielt hierbei farblose Öle.

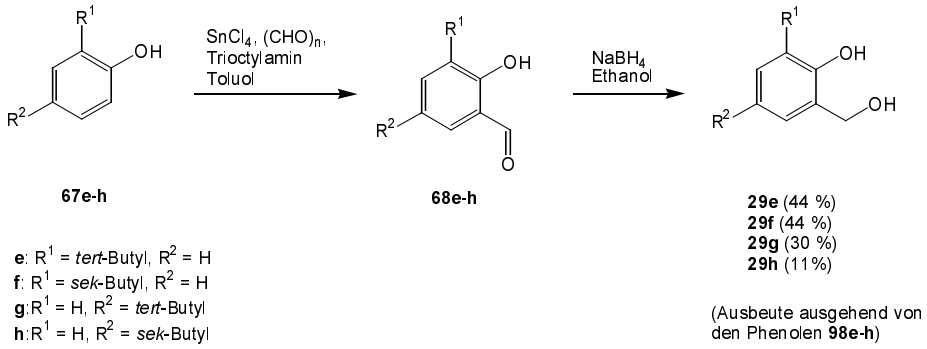


Abbildung 31: Synthese der Salicylalkohole **29e-h**

Einzig der 5-*sek*-Butylsalicylaldehyd **68h** wurde komplett säulenchromatographisch aufgereinigt, um das Phenol **67h** aus dem Rohgemisch abzutrennnen. Hierbei hat sich die Kieselgelsäule während der Chromatographie grünlich verfärbt. Zwar gelang es den 5-*sek*-Butylphenol **67h** abzutrennen, jedoch erhielt man den Salicylaldehyd in sehr geringer Ausbeute (13 %) Die Rohprodukte **68e-g** wurden deshalb ohne weitere Aufarbeitung mit 4.0 Äquivalenten Natriumborhydrid in Ethanol bei Raumtemperatur weiter umgesetzt. Nach saurer Hydrolyse mit 2N HCl und Extraktion mit Diethylether wurde chromatographisch aufgereinigt (Petrolether/Dichlormethan-Gradient (50-100 %) Im Fall des 3-*tert*-Butylsalicylalkohols **29e** konnte ein farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 44 % ausgehend vom 2-*tert*-Butylphenol **67e** erhalten werden. Die Salicylalkohole **29f-h** wurden als gelbliche Öle erhalten. Hier betrugen die Ausbeuten ausgehend von den entsprechend substituierten Phenolen 44 % für **29f**, 30 % für **29g** und 11 % für **29h**.

4.4.3 Darstellung der cyclischen Saligenylchlorphosphane 70a-h

In der Synthesevariante A (Abbildung 27, Seite 36) sind die cyclischen Saligenylchlorphosphane (4H-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-chlorid) **70a-h** die Ausgangsverbindungen für die *cyclo*Sal-Nucleotid-Derivate **25**. Ausgehend von den zuvor dargestellten Salicylalkoholen **29b-h** ließen sich die cyclischen Saligenylchlorphosphane in guten Ausbeuten in einer Reaktion mit Phosphortrichlorid in Gegenwart von Pyridin in Diethylether unter Feuchtigkeitsausschluß (Argon-Atmosphäre) synthetisieren (Abbildung 32, Seite 41).[208]

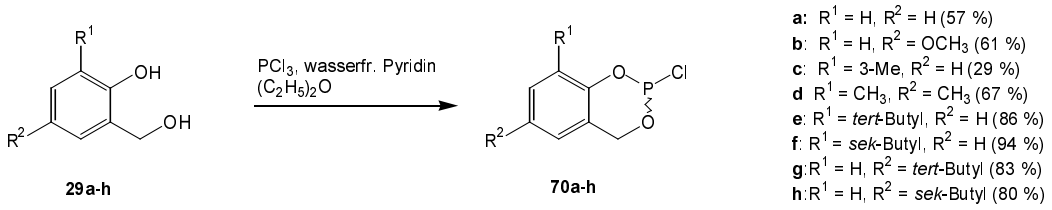


Abbildung 32: Synthese der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-h**

Entsprechend der Reaktionsführung in der Literatur wurde der jeweilige Salicylalkohol **29a-h** unter Argon in wasserfreiem Diethylether gelöst und auf - 10 °C gekühlt. Nach Zugabe von 1.1 Äquivalenten Phosphortrichlorid wurde über einen Zeitraum von 2 h eine Lösung von 1.1 Äquivalenten wasserfreiem Pyridin in Diethylether langsam hinzugetropft. Dabei fiel als farbloser Niederschlag Pyridinhydrochlorid aus. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktion zunächst 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann über Nacht zur vollständigen Ausfällung des Pyridinhydrochlorids bei - 20 °C gelagert. Der Niederschlag wurde unter Argon abfiltriert und nach destillativer Entfernung des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erhielt man die cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-h** als gelbliche Öle. Die cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-c** wurden mittels Kugelrohrdestillation im Ölpumpenvakuum aufgereinigt, während die Saligenylchlorphosphane **70d-h** aufgrund nur wenigen Verunreinigungen ohne destillative Aufreinigung eingesetzt wurden. Man erhielt farblose Öle, die während der Lagerung bei - 20 °C erstarrten. Die so erhaltenen cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-h** wurden in der Synthesevariante A mit den verschiedenen Nucleosiden zu den entsprechenden *cyclo*Sal-Phosphattriestern **25** umgesetzt.

4.4.4 Darstellung des cyclischen Saligenylphosphoramidits 71c

In der Synthesevariante B (Abbildung 27, Seite 36) ist das cyclische Saligenylphosphoramidit (4H-1.3.2-(3-Methyl)benzodioxa-2-*N*,*N'*-diosopropylaminophosphorinan) **71c** die Ausgangsverbindung für die Synthese der *cyclo*Sal-Nucleotide **25**. Ausgehend vom cyclischen Saligenylchlorphosphan **70c** wurde durch Umsetzung mit 2.0 Äquivalenten Diisopropylamin (DIPA) in wasserfreiem Diethylether bei - 25 °C das gewünschte Phosphoramidit **71c** hergestellt (Abbildung 33, Seite 42).[209] Nach Abfiltrieren des entstandenen Niederschlages bestehend aus Diisopropylammoniumchlorid und anschließendem Abkondensieren des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum, konnte Verbindung **71c** gelbes Öle erhalten werden.[209] Anschließend wurde versucht das cyclische Saligenylphosphoramidit **71c** mittels Kugelrohrdestillation aufzureinigen. Die ^{31}P-NMR-Analyse zeigte allerdings, daß das erhaltene isolierte Öl nach der Destillation mehr Phosphorsignale enthielt, als das Rohprodukt. Die große An-

zahl der Phosphorsignale ließ darauf schließen, daß sich das cyclische Saligenylphosphoramidit **71c** in viele verschiedene phosphorhaltige Verbindungen zersetzt hatte. Aus diesem Grund wurde für die weitere Synthese auf eine Aufreinigung des cyclischen Saligenylphosphoramidits **71c** verzichtet.

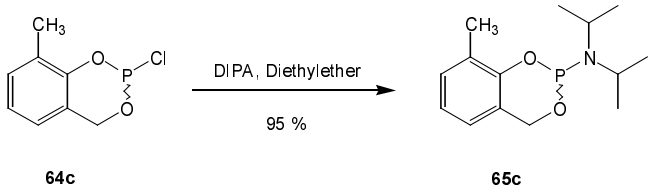


Abbildung 33: Synthese des cyclischen Saligenylphosphoramidits **71c**

4.4.5 Darstellung der cyclischen Saligenylphophorchloridate 72a-c

In der Synthesevariante C (Abbildung 27, Seite 36) sind die cyclischen Saligenylphosphochloridate (4H-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-chlorid-2-oxid) **72** die Ausgangsverbindungen für die Synthese der *cyclo*Sal-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMP) **25**. Diese ließen sich laut Literatur[208] ausgehend von den zuvor dargestellten cyclischen Saligenylchlorphosphanen **70** durch Umsetzung mit Sauerstoff darstellen.

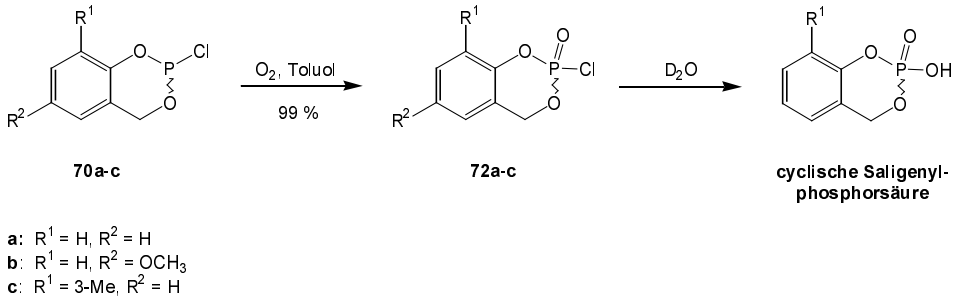


Abbildung 34: Synthese der cyclischen Saligenylphosphochloridaten **72a-c** und Hydrolyse von **72c** mit Deuteriumoxid

Hierzu wurde ein kontinuierlicher Sauerstoff-Strom, der zuvor über Phosphorpentoxid getrocknet wurde, in eine Lösung von **70** in wasserfreiem Toluol über einen Zeitraum von 48 h eingeleitet. Der Fortgang der Reaktion wurde mit Hilfe von ^{31}P-NMR ermittelt. Hierbei konnte ein Peakshift von 139.0 ppm (**70b**) bzw. 141.0 ppm (**70c**) auf -5.76 ppm (**72b**) bzw. -4.93 ppm (**72c**) für das cyclische Saligenylphosphorchloridat **72** beobachtet werden. Die Reaktion konnte beendet werden, wenn eine Detektion des Signals von **70b,c** bei 140 ppm bzw. 139 ppm nicht mehr möglich war. Um auszuschließen, daß während der Reaktionszeit eine Hydrolyse des cyclischen Chlorphosphans **70c** eingetreten war, wurde zum Vergleich

70c mit D_2O hydrolysiert und ein ^{31}P-NMR-Spektrum aufgenommen. Hierbei erhielt man einen Phosphorsignal bei -9.56 ppm, welches der cyclischen Saligenylphosphorsäure zugeordnet werden konnte (Abbildung 34, Seite 42). Dieses was darauf hindeutet, daß eine Hydrolyse des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70c** bedingt durch feuchten Sauerstoff oder Lösungsmittel nicht stattgefunden hat. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum konnten farblose, zähe Öle der Verbindungen **72** erhalten werden, die für die anschließende Synthese der *cyclo*Sal-NMPs **25** nicht weiter aufgereinigt wurden. Das cyclische Saligenylphosphorchloridat **72a** wurde zur weiteren Umsetzung mit den verschiedenen Nucleosiden von Dr. F. Haller-Meier synthetisiert und freundlicherweise zu Verfügung gestellt.

Die Umsetzung der Nucleoside mit den so erhaltenen cyclischen Saligenylphosphorchloridaten **72a-c** zu den *cyclo*Sal-NMPs **25** sollte in Hinblick auf die Reaktionsbedingungen im Vergleich zur Synthesevariante A (Abbildung 27, Seite 36) untersucht werden. Vor allem aber ist die *N*,*O*-Selektivität bei Nucleosiden mit zusätzlichen reaktiven Zentren, wie z.B. die exocyclischen Aminogruppen der Basen Adenin und Guanin von besonderem Interesse. Außerdem entfällt bei Umsetzung der Nucleoside mit den cyclischen Saligenylphosphorchloridaten **72** die Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid, was einen enormen Vorteil bei der Synthese von *cyclo*Sal-Verbindungen mit oxidationsempfindlichen Gruppen verspricht.

4.4.6 Darstellung der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen 34a-c, *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen 35a-h, 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP 36c, 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP 37c, 3-Me-*cyclo*-Sal-ddCMP 44c und 3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP 45c

4.4.6.1 Darstellung der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-c**, *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-h**, 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP **36c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)

Mit Hilfe der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** konnten bisher unter Verwendung der Synthesevariante A[156,157] (Abbildung 27, Seite 36) die *cyclo*Sal-d4AMP- und *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **34a-c** und **35a-h** als auch deren entsprechende Hypoxanthin-Derivate **36c** und **37c** erfolgreich dargestellt werden. Die Nucleoside 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7**, 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14**, 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** bzw. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** wurden dazu in einer Lösung von Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1) gelöst und mit 2.0 Äquivalenten Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Die Lösung wurde im Kältebad auf - 40 °C gekühlt. Danach wurden 1.5 Äquivalente

des jeweiligen cyclischen Saligenylchlorphosphans **70a-h** in 1.0 ml Acetonitril gelöst und über einen Zeitraum von 2 Stunden hinzugetropft. Nach der Zugabe wurde 30 min bei - 40 °C gerührt und mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids überprüft. Anschließend wurde bei - 40 °C mit 4.0 Äquivalenten *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Das Reaktionsgemisch ließ man auf Raumtemperatur auftauen und das Lösungsmittel wurde anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Man erhielt ein gelbes Öl. Nach chromatographischer Aufreinigung erhielt man die Phosphattriester **34a-d, 35a-h, 36c** und **37c** als farblose Öle bzw. nach Lyophilisieren als weiße Watten in Ausbeuten von 35 - 67 % (Abbildung 35).

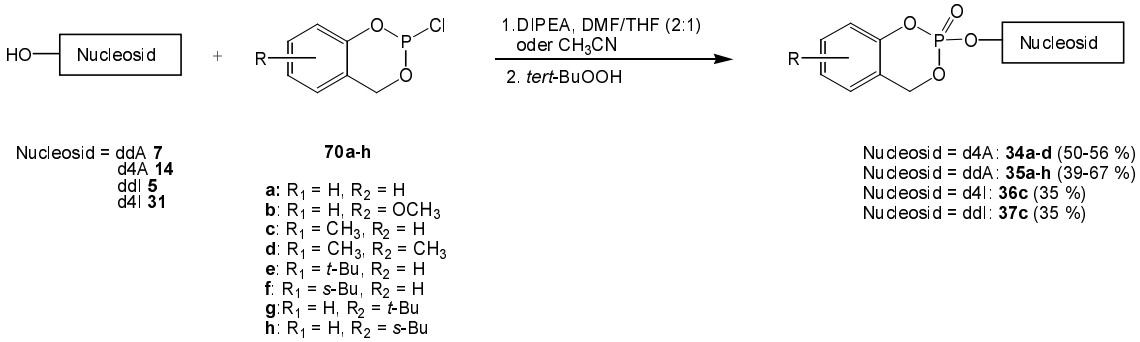


Abbildung 35: Synthese der *cyclo*Sal-NMP-Derivate **34a-d, 35a-h, 36c** und **37c** mittels Variante A

Die Verbindungen wurden durch ^{1}H-NMR-, ^{13}C-NMR-, ^{31}P-NMR- und UV-Spektroskopie sowie massenspektrometrisch nachgewiesen und charakterisiert. Man erhielt Diastereomerengemische, die sich in der Konfiguration am Phosphor unterschieden. Das Diastereomerenverhältnis für die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide **34a-d**, **35a-e,g, 36c** und **37c** konnte anhand der getrennten ^{31}P-NMR-Signale oder anhand der beiden H8-Signale im ^{1}H-NMR-Spektrum bestimmt werden. Die bestimmenten Diastereomerenverhältnisse der Verbindungen **34a-d**, **35a-e,g**, **36c** und **37c** wurden nach chromatographischer Aufreinigung aus den Reinsubstanzen bestimmt. Hierbei muß darauf hingewiesen werden, daß aufgrund der unterschiedlichen Laufeigenschaften der beiden Diastereomere, während der Chromatographie prinzipiell die Möglichkeit bestand, ein Diastereomer in geringen Mengen abzutrennen. Die in Tabelle 1 auf Seite 45 angegebenen Diastereomerenverhältnisse können deshalb im Vergleich zu denen der Rohgemische leicht variieren. Im Fall der 5-Methoxy substituierten Verbindung **34b** konnten die beiden Diastereomere mit Hilfe von semipräparativer "reversed phase HPLC" (RP-HPLC) voneinander getrennt werden. Die angegebenen Diastereomeren Auf die unterschiedlichen Eigenschaften dieser getrennten Diastereomere wird im Kapitel 4.6, Seite 51 genauer eingegangen.

Verbindung	Substituent	chemische Verschiebung [ppm]	Diastereomeren-verhältnis
34a	H	- 9.65/- 9.84	1 : 0.70
34b	5-OMe	- 9.44 (fast)/- 9.65 (slow)	1 : 0.81
34c	3-Me	- 8.99/- 9.24	1 : 0.58
34d	3,5-DiMe	- 9.95/9.18	1 : 0.57
35a	H	- 9.77/- 9.83	1 : 0.90
35b	5-OMe	- 9.57/- 9.63	1 : 0.95
35c	3-Me	- 9.11/- 9.21	1 : 0.80
35d	3,5-DiMe	- 9.08/- 9.18	1 : 0.70
35e	3-*tert*-Bu	- 8.72/- 9.09	1 : 0.40
35f	3-*sek*-Bu	- 8.60/- 8.62/- 8.87	n. b.
35g	5-*tert*-Bu	- 9.52/- 9.57	1 : 0.76
35h	5-*sek*-Bu	- 9.54/- 9.58/- 9.60	n. b.
36c	3-Me	- 9.01/- 9.23	1 : 0.81
37c	3-Me	- 9.13/- 9.20	1 : 0.89

Tabelle 1: Chemische Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum und Diastereomerenverhältnis der *cyclo*Sal-NMP-Derivate **34a-d, 35a-h, 36c** und **37c**

Wie sich ebenfalls aus Tabelle 1 entnehmen läßt, korrellieren die elektronischen Eigenschaften der Substituenten mit der chemischen Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum. Je stärker die Donoreigenschaft des Substituenten, desto tieffeldiger befinden sich die chemische Verschiebung der Phosphor-Signale im Spektrum.

4.4.6.2 Darstellung von 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP **35c**, 3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP **44c** und 3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP **45c** mittels Synthesevariante B

Eine andere Variante der Synthese der *cyclo*Sal-NMP-Verbindungen stellt die Verwendung von cyclischen Saligenylphosphoramiditen **71** dar (Abbildung 27, Seite 36).[209] Wie allgemein in der Phosphoamidit-Chemie und vor allem in der Oligonucleotidsynthese üblich, muß in dem Reaktionsgemisch neben dem Phosphoramidit ein als schwache Säure wirkender Aktivator wie z.B. 1H-Tetrazol[210] zugegen sein. Neben diesem klassischen Aktivator können auch andere schwache Säuren wie z.B. Pyridiniumtetrafluoroborat, Pyridiniumchlorid, Imidazoliumtriflat oder Benzimidazoliumtriflat zur Kupplung eines Phosphoramidits mit einem Alkohol eingesetzt werden.[209] Die Reaktion sollte in Hinblick auf den Einfluß der oben genannten Aktivatoren, auf die Temperatur während der Zugabe des cyclischen Sali-

genylphosphoramidits, auf den Lösungsmitteleinfluß und auf den Einfluß des verwendeten Nucleosids hin untersucht werden.[209]

Eine Variation der Reaktionszeit und die dadurch erhaltene Ausbeute ist ein weiterer wichtiger Parameter der in der Synthesevariante B untersucht werden sollte. Neben 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** wurden weitere Nucleoside mit reaktionsfähigen Zentren im Heterocylus verwendet (2',3'-Didesoxycytidin (ddC) **3** und β-L-(-)-3'-Thiacytidin (3TC) **4**). Außerdem wurde diese Synthesevariante anhand des Pyrimidin-Nucleosides 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** optimiert (Kapitel 4.14.2, Seite 105).[209,211]

2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** und die Aktivatoren wurden zunächst getrennt voneinander mit wasserfreim Toluol coevaporiert, um restliches Wasser zu entfernen. Im Anschluß daran wurde ddA **7** in einem DMF/THF Gemisch (2:1) gelöst. Zu dieser Lösung wurden 4.0 Äquivalente des Aktivators hinzugegeben und im Anschluß daran 2.6 Äquivalente cyclisches Saligenylphosphoramidit **71c** als Lösung in Acetonitril bei 0 °C bzw bei Raumtemperatur hinzugetropft.

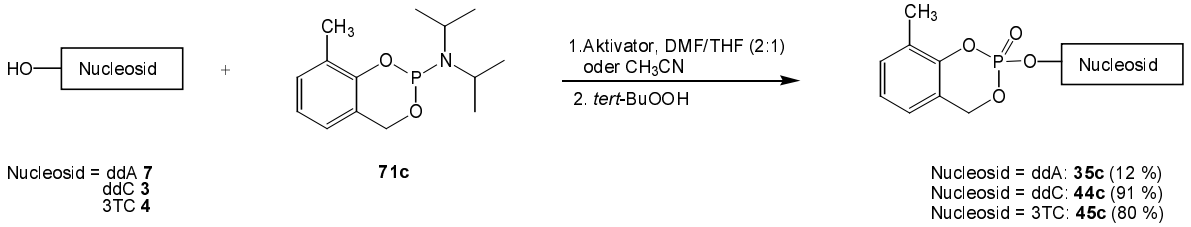


Abbildung 36: Synthese der *cyclo*Sal-NMP-Derivate **35c, 44c** und **45c** mittels Synthesevariante B

Nach der Zugabe wurde die Reaktion mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids überprüft. Anschließend wurde bei 0 °C mit 1.1 Äquivalenten (in bezug auf das Phosphoramidit) *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Das Reaktionsgemisch ließ man zunächst auf Raumtemperatur auftauen, danach wurde noch 30 min bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Man erhielt ein gelbes Öl. Nach chromatographischer Aufreinigung erhielt man den 3-Me-*cyclo*Sal-ddA-Phosphattriester **35c** als farbloses Öl bzw. nach Lyophilisieren als weiße Watte in einer Ausbeute von 12 % (Abbildung 36). Die Reaktion von ddA **7** mit dem cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c** gelang nur in sehr schlechten Ausbeuten. In weiteren Versuchen unter veränderten Reaktionsbedingungen konnte kein gewünschtes Produkt isoliert werden. Ursache hierfür ist ganz offenbar das verwendete Lösungsmittelgemisch Dimethylformamid und Tetrahydrofuran, da auch parallele Syntheseversuche mit dem Nucleosid 2',3'-Didesoxy-2',3'-dide-

hydrothymidins (d4T) **2** bei Verwendung dieses Lösungsmittelgemisches kein Produkt isoliert werden konnte.

Nucleosid	Aktivator	Äquiv.	Reaktions-temperatur	Reaktionszeit (vor Ox.)	Ausbeute [%]	Diastereo-merenverhältnis
ddA	Pyridin-hydrochlorid	4	Rt	0.5 h	12	n.d
3TC	Pyridin-hydrochlorid	4	Rt	0.42	80	n.d
ddC	1H-Tetrazol	4	Rt	0.67 h	58	1:1.02
	Pyridin-hydrochlorid	4	Rt	0.5 h	90	1:1.14
	Pyridinium-tetrafluorborat	4	Rt	0.83 h	64	1:1.14
		4	Rt	0.75 h	52	1:1.09
		4	Rt	0.67 h	91	1:1.03
	Imidazolium-Triflat	4	Rt	2 h	44	1:1.36
		4	Rt	0.83 h	30	1:0.98
		4	Rt	0.5 h	82	1:1.18
		4	Rt	0.67 h	55	1:1.05

Tabelle 2: Ausbeuten und Diastereomerenverhältnisse von 3-Me-*cyclo*Sal-ddA-, *cyclo*Sal-ddC- und *cyclo*Sal-3TC-Phosphattriester **35c, 44c** und **45c** unter verschiedenen Bedingungen

Verwendete man jedoch das Lösungsmittel Acetonitril, so erhielt man gute bis sehr gute Ausbeuten des gewünschten 3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42c** (Kapitel 4.13.3, Seite 102). Da sich ddA **7** nicht in Acetonitril löst, muß nach weiteren geeigneten Lösungsmitteln gesucht werden, damit diese Synthesevariante auf Adenin-haltige Nucleoside angewendet werden kann. Die Darstellung des *cyclo*Sal-ddCMP- **44c** und des *cyclo*Sal-3TCMP-Derivates **45c** gelang über die Phosphoramidit Route mit Acetonitril als Lösungsmittel in allgemein guten bis sehr guten Ausbeuten, während die Synthese des *cyclo*Sal-ddAMP Phosphattriester **35c** in einem DMF/THF Lösungsmittelgemisch (2:1) in einer schlechten Ausbeute von nur 12 % gelang (Tabelle 2, Seite 47). Die getesteten Aktivatoren Pyridinium-tetrafluoroborat, Pyridinium-hydrochlorid und Imidazoliumtriflat führten alle in guten Ausbeuten zu den gewünschten Phosphattriestern, wobei sich der Einsatz von 4.0 Äquivalenten Aktivator hierbei als am effektivsten herausgestellt hat. Einen Einfluß der Aktivatoren auf die Stereochemie am Phosphoratom konnte nicht beobachtet werden. Das Verhältnis der beiden Diastereomeren R_p/S_p lag in allen Fällen bei nahezu 1:1.

Die hier gezeigte Phosphoramidit-Methode ist im Vergleich zur Synthesevariante A (Abbildung 27, Seite 36) besonders vorteilhaft für die Synthese von *cyclo*Sal-3TCMP-Verbindungen **45**, da erstmals Bildung von N^6,$O^{5'}$-diphosphoryliertem Produkt völlig unterdrückt werden konnte. Die hierbei erzielte Ausbeute (80 %) liegt deutlich über der Ausbeute, die unter Verwendung des cyclischen Saligenylchlorphosphans (Synthesevariante A) erreicht wurde (24 %).[211] Ein weiterer Vorteil dieser Synthesemethode ist, daß der Aktivator Pyridinhydrochlorid als Alternative zu 1H-Tetrazol verwendet werden kann. Da der Einsatz von immerhin 4.0 Syntheseäquivalenten des Aktivators sich als unbedingt nötig herausgestellt hat, können damit die Synthesekosten erheblich verringert werden.

4.4.6.3 Darstellung der 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Verbindung **35c** mittels Synthesevariante C

Die 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Verbindung **35c** konnte mittels Variante C ausgehend von ddA **7** synthetisiert werden. Dazu wurde ddA **7** nach der Vorschrift von McGuigan et al.[123] in einem DMF/THF-Gemisch (2:1) gelöst und mit *N*-Methylimidazol als Base versetzt.

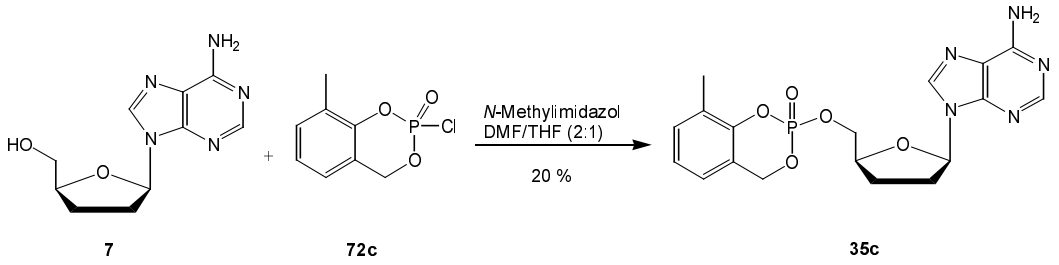


Abbildung 37: Synthese von 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP **35c** mittels Phosphor(V)-Chemie

Bei Raumtemperatur wurden 3.0 Äquivalente cyclisches Saligenylphosphorchloridat **72** unverdünnt hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt und das erhaltene gelbe Öl chromatographisch aufgereinigt. Die erhaltene Ausbeute lag bei 20 %. Im Vergleich zu der Synthesemethode A ist die Synthesemethode C zur Darstellung von *cyclo*Sal-ddA-Phosphattriester **35** bis dato keine Alternative, da sich die chromatographische Aufreinigung als schwierig erwies. Der eingesetzte große Überschuß an *N*-Methylimidazol war nur sehr schwer abzutrennen und die erzielte Ausbeute kann mit der Synthesemethode A nicht konkurieren. Berücksichtigt werden muß allerdings, daß die durchgeführten Untersuchungen zur Synthese von Adenin-haltigen *cyclo*Sal-Phosphattriester über die Phosphor(V)-Route nicht optimiert wurde und somit die mögliche Ausbeute noch gesteigert werden könnte.

4.5 Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat

4.5.1 Synthesestrategie zur allgemeinen Darstellung von 5'-Monophosphaten 30

Zwecks Coinjektion für spätere HPLC-Hydrolysestudien sollten auch die 5‘-Monophosphate der Nucleosid-Analoga **7**, **16**, **18**, **32** und **33** dargestellt werden. In der Literatur werden 5‘-Monophosphate **30** durch direkte Einführung des Phosphates an die 5‘-Position der entsprechenden Nucleoside dargestellt (siehe Abbildung 38). Für die Einführung des Phosphates an der 5‘-Position stehen dabei unterschiedliche Reagenzien zur Verfügung. Im folgenden sollen einige dieser Methoden kurz vorgestellt werden.

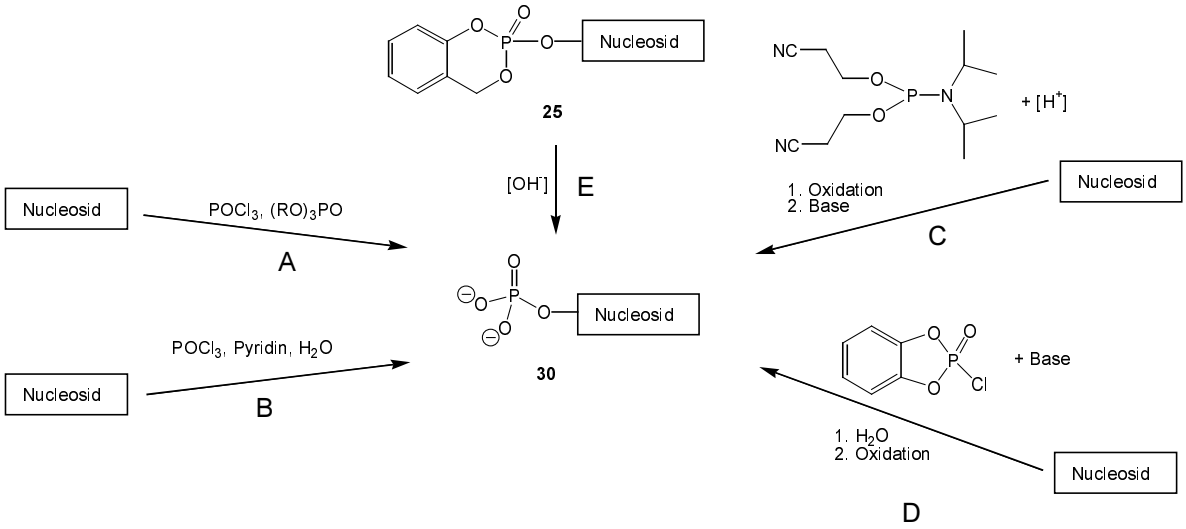


Abbildung 38: Synthesemöglichkeiten von 5'-Monophosphaten **30**

Ende der 60er Jahre untersuchte Yoshikawa die Reaktion von 2‘,3‘-*O*-Isopropyliden-geschützten und 2‘,3‘-ungeschützten Ribonucleosiden mit Phosphorylchlorid in Trimethyl- bzw. Triethylphosphat als Lösungsmittel.[212,213,214] (Weg A) Hierbei konnten gute Ausbeuten der 5‘-Monophosphate erzielt werden. Einige Jahre später konnten T. Sowa und S. Ouchi diese Methode verfeinern, indem sie das Lösungsmittel Trialkylphosphat durch Acetonitril und Pyridin ersetzen (Weg B).[215] Setzt man hierbei Phosphorylchlorid, Wasser und Pyridin im molaren Verhältnis 2:1:2 ein, so entsteht Tetrachloropyrophosphat ($P_2O_3Cl_4$), welches regioselektiv die 5‘-OH-Gruppe phosphoryliert. Allerdings führte im Fall von 2‘-Deoxyribonucleosiden diese Methode nicht zum Erfolg, da eine Spaltung der glycosidischen Bindung aufgrund der sauren Reaktionsbedingungen beobachtet wurde. Beide Methoden sind im Fall von Purinen und Pyrimidinen erfolgreich und tolerieren weiterhin sekundäre Hydroxygruppen.

Eine weitere Möglichkeit die 5‘-Position von Nucleosiden zu phosphorylieren ist die Reaktion mit Bis(2-Cyanoethoxy)-(*N*,*N*-diisopropylamino)phosphin (Weg C).[216,217] Diese Phosphoramidit-Methode wird unter Säurekatalyse mit schwachen Säuren (z. B.: 1H-Tetrazol) durchgeführt. Mit 1,2-Phenylen-phosphorchloridat können basenkatalytisch und nach anschließender Hydrolyse und Oxidation verschiedene primäre und tertiäre Alkohole in in sehr guten Ausbeuten in die 5‘-Monophosphate überführt werden (Weg D).[218]

Weiterhin besteht auch die Möglichkeit durch baseninduzierte Hydrolyse der *cyclo*Sal-Phosphattriester **25** einen Zugang zu den Nucleotiden **30** zu erhalten (Weg E). Hierbei kann der in Kapitel 2.3.3 auf Seite 20 postulierte Freisetzungsmechanismus für die Darstellung der Nucleotide präparativ ausgenutzt werden. Diese Methode hat weiterhin den Vorteil, daß die glycosidische Bindung von säurelabilen Nucleosiden aufgrund der basischen Reaktionsbedingungen keinerlei Schaden nimmt. Außerdem ist die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches (Lyophilisieren mit anschließender chromatographischer Aufarbeitung (RP-18)) denkbar einfach.

Im Fall von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin **7** muß, aufgrund der extremen Säurelabilität der glycosidischen Bindung, unter basischen Reaktionsbedingungen gearbeitet werden. Deshalb sind die Reaktionen A und B mit Phosphorylchlorid (Abbildung 38, Seite 49) zur Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat (ddAMP) aufgrund der wässrigen Aufarbeitung ungeeingnet.

4.5.2 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphate (ddAMP+2Na$^+$) 8α aus *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) 35a

Um einen Beweis für die Freisetzung des Nucleotids aus den *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden zu erhalten, wurde versucht unter basischen Bedingungen im präparativen Maßstab 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat **8**α aus *cyclo*Sal-ddAMP **35a** darzustellen (siehe Abbildung 39). Dazu wurde die *cyclo*Sal-Verbindung **35a** in wenig Acetonitril gelöst und mit Wasser verdünnt. Dabei muß darauf geachtet werden, daß die Substanz nicht wieder ausfällt. Die wässrige Lösung wurde nun mit Triethylamin versetzt wodurch der pH Wert der Lösung auf 10 erhöht wurde und danach solange bei Raumtemperatur gerührt, bis mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden konnte. Nach dem Lyophilisieren wurde säulenchromatographisch (RP-18, 5µm) mit einem Wasser/Acetonitril-Gradienten aufgereinigt.

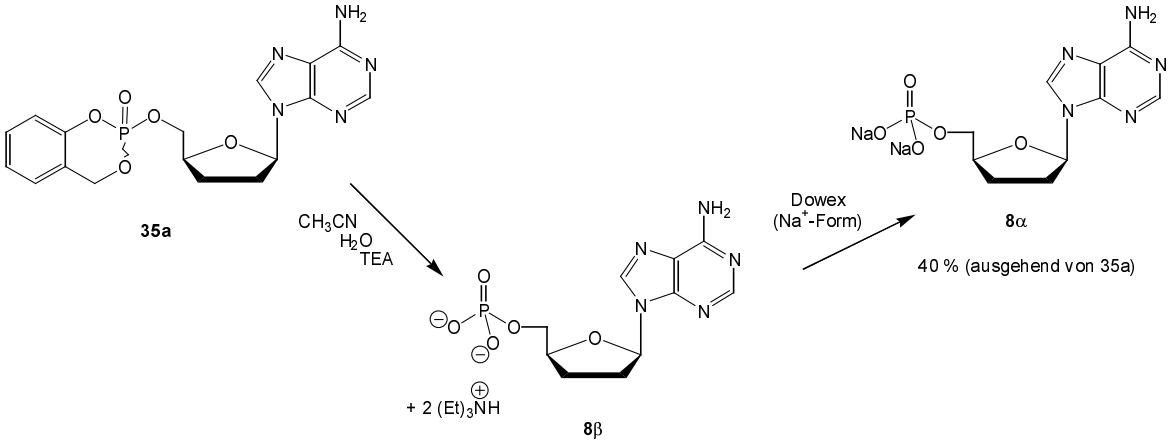


Abbildung 39: Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat (ddAMP+2Na$^+$) **8**α aus aus *cyclo*Sal-ddAMP **35a**

Das so erhaltene Triethylammonium-Salz **8**β wurde anschließend mittels einer Ionentauscher-Säule (Dowex, Na$^+$-Form) in das Natrium-Salz **8**α überführt. Man erhielt das 2',3'-Didesoxy-adenosin-5'-Monophosphat (ddAMP+2Na$^+$) **8**α als farblosen, wattigen Feststoff in einer Gesamtausbeute von 40 %.

4.6 Eigenschaften der *cyclo*Sal-d4AMP- und *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen

4.6.1 Der Zellmembrantransport und die Zusammenhänge mit der Lipophilie

Es gibt vier verschiedene Mechanismen für den Zellmembrantransport: die passive Diffusion, die erleichterte Diffusion, der aktive Transport und die Pinozytose, Phagozytose und Persorption.[219] Bei der passiven Diffusion ist der Stofftransport direkt proportional zu dem Konzentrationsgradienten, zu der Membranfläche sowie zu dem Verteilungskoeffizienten der betreffenden Substanz und umgekehrt proportional zu der Membrandicke. Dieser Prozeß ist durch analoge Verbindungen und durch Stoffwechselblockade nicht hemmbar. Sie ist weder durch stereospezifische Merkmale des Stoffes noch von der Anwesenheit von Natriumionen abhängig.[220] Die erleichterte Diffusion ist wie die Diffusion ein passiver Prozess. Die treibende Kraft stellt der Konzentrationsgradient zwischen Intra- und Extrazellulärraum dar. Bei hydrophilen Substanzen, deren Membranpermeabilität gering ist, ermöglicht die Wechselwirkung mit speziellen Proteinen, sogenannten "Carriern" eine Transporterleichterung durch die Membran ins Zellinnere. Das Purin-Nucleosid-Transport-Carrier-System ist ein solches aktives Zellmembrantransport-System. Carrier-erleichterte Transportprozesse sind durch hohe Strukturspezifität, Sättigung des Transportsystems bei hohen Substratkonzentrationen, die zur

Besetzung sämtlicher Bindungsstellen auf einer Membranseite führen sowie durch eine Hemmbarkeit durch Inhibitoren charakterisiert. In einigen Fällen kann dieser Transport stereospezifisch verlaufen.[219,220] Der aktive Transport dagegen ist ein wichtiges Werkzeug bei sehr geringer extrazellulärer Konzentration. Er ist in der Lage, auch gegen einen Konzentrationsgradienten zu arbeiten. Die hierfür benötigte Energie wird in der Regel von Adenosintriphosphat (ATP) zu Verfügung gestellt. Auch in diesem Fall treten spezifische Inhibitoren auf und der Transport kann stereospezifisch verlaufen.[219,220] Bei der Pinozytose werden kleine Flüssigkeitstropfen, bei der Phagozytose Feststoffpartikel aus dem Extrazellulärraum aufgenommen. Diese Variante des Zellmembrantransportes verläuft über eine Einstülpung der entsprechenden Partikel durch die Oberflächenmembran und anschließender Freisetzung in das Zellinnere. Bei der Persorption gelangen feste Teilchen interzellulär, d.h. zwischen den Epithelzellen hindurch, in den Organismus.[219]

Untersuchungen an Nucleosiden haben gezeigt, daß natürliche Nucleoside über eine erleichterte Diffusion transportiert werden. Im Gegensatz dazu wird 3'-Azido-2'-desoxythymidin (AZT) **1** über passive Diffusion in die Zellen transportiert.[221] Im Fall von 2',3'-Didesoxyadensonin (ddA) **7** und 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16** erfolgt der Zellmembrantransport ebenfalls fast ausschließlich über einen passiven Membrantransport.[63]

4.6.1.1 Bestimmung des Nernst'schen Verteilungskoeffizienten

Die Bestimmung des Nernst'schen Verteilungskoeffizienten (partition coefficient, log*P*-Wert) in einem Octanol/Wasser-Gemisch (v/v 1:1) hat sich als eine gängige Möglichkeit zur Voraussage über die Lipophilie einer Verbindung etabliert. Dieses rein empirische Verfahren erlaubt die Bestimmung der Lipophilie einer Verbindung anhand von Vergleichsdaten anderer Verbindungen.[222] Im Fall von Nucleosiden und Nucleotid-Derivaten wird der Verteilungskoeffizient von AZT **1** (log*P* 0.04)[156] als Vergleichwert herangezogen, da es die Zellmembran ausschließlich durch passiven Transport durchwandert. Liegt der erhaltene Lipophiliewert (log*P*-Wert) im Bereich von AZT **1** bzw. darüber, kann man den Rückschluß zulassen, daß ein passiver Membrantransport wahrscheinlich ist. Die Verteilungskoeffizienten der verschiedenen Nucleoside und Nucleosid-Analoga können der Literatur entnommen werden.[223,224]

Für die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten wurde eine Substanzprobe in 300 µl 1-Octanol gelöst, mit 300 µl Wasser versetzt und 10 min intensiv durchmischt. Im Anschluß wurde das Zweiphasengemisch 5 min bei 13000 rpm zentrifugiert. Die Substanzmenge in den getrennten Phasen wurde HPLC-analytisch quantifiziert. Das Verhältnis der Absolutflächen der Peakflächen von 1-Octanol zu Wasser ergibt den Verteilungskoeffizienten (PC-Wert).

Voraussetzung für diese Bestimmung ist, daß die untersuchten Substanzen unter diesen Bedingungen stabil sind.

Wie aus den Daten aus Tabelle 3 ersichtlich ist, sind die Verteilungskoeffizienten aller *cyclo*Sal-Verbindungen **34a-d**, **35a-h**, **36c** und **37c** > 1 und weisen durchgehend positive log*P*-Werte auf. Alle *cyclo*Sal-Verbindungen sind außerdem lipophiler als die Ausgangsverbindungen ddA **7**, d4A **14**, ddI **5** und d4I **31**.

Verbindung	Substituent	PC-Wert	log*P*-Wert
34a	H	2.29	0.36
34b	5-OMe (fast)	3.02	0.48
34b	5-OMe (slow)	2.57	0.41
34c	3-Me	4.27	0.63
34d	3,5-DiMe	8.91	0.95
d4A **14**	---	0.32	-0.49
35a	H	3.89	0.59
35b	5-OMe	4.37	0.64
35c	3-Me	7.58	0.88
35d	3,5-DiMe	22.4	1.35
35e	3-*tert*-Butyl	64.4	1.81
35f	3-*sek*-Butyl	92.9	1.97
35g	5-*tert*-Butyl	67.3	1.83
35h	5-*sek*-Butyl	100	2.00
ddA **7**	---	0.52	-0.28[156]
36c	3-Me	1.20	0.078
d4I **31**	---	0.13	-0.89
37c	3-Me	1.38	0.14
ddI **5**	---	0.06	-1.25[156]
AZT **1**	---	1.09	0.04[156]

Tabelle 3: Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-Derivate **34a-d, 35a-h, 36c und 37c** und der entsprechenden Nucleoside **5**, **7**, **14** und **31**

Vergleicht man die *cyclo*Sal-Verbindungen mit ihren entsprechenden Nucleosiden so sind deren PC-Werte im Falle der Verbindungen **35a-h** um einen Faktor 7.5-192 höher als ddA **7** und im Falle der Derivate **34a-d** um einen Faktor 7.2-27.8 höher als d4A **14**. Vergleicht man die erhaltenen Werte mit dem Verteilungskoeffizienten von AZT **1**, so kann man davon ausgehen, daß für alle *cyclo*Sal-Verbindungen in Tabelle 3 ein passiver Membrantransport mög-

lich ist. Das lipophilste Derivat ist, sieht man von den *tert*- und *sek*-Butyl-Verbindungen **35e-h** ab, sowohl im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-d** als auch bei den *cyclo*Sal-d4A-Derivaten **34a-d** erwartungsgemäß die 3,5-Dimethyl-substituierte Verbindung **35d** bzw. **34d**. Man erhielt für die Substituenten eine Reihung der Lipophilie von 3,5-DiMe > 3-Me > 5-OMe > H. Wie die PC-Werte der beiden getrennten Diastereomeren der Verbindung **34b** zeigen, hat die Konfiguration am Phosphoratom keine gravierenden Auswirkungen auf die Lipophilie der Verbindungen. Wie schon bei den Nucleosiden ddA **7**, ddI **5**, d4A **14** und d4I **31** zu beobachten war, sind die *cyclo*Sal-Verbindungen mit der Base Hypoxanthin (**36c**, **36c**) hydrophiler als die entsprechenden Verbindungen mit Adenin als Base (**34c**, **35c**). Einen besonders drastischen Effekt üben *tert*- bzw. *sek*-Butyl-Substituenten im aromatischen Ring aus. Im Vergleich zu der 3-Methyl-Verbindung **35c** erhöht sich der PC-Wert durch eine 3-*tert*-Butyl bzw. 3-*sek*-Butyl-Gruppe (**35e,f**) um einen Faktor 8.5 bzw. 12.2. Außerdem zeichnet sich im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP-Phosphattriester **35e-h** der Trend ab, daß ein *sek*-Butyl-Substituent die Lipophilie stärker erhöht als ein *tert*-Butyl-Substituent. Ein *sek*-Butyl-Substituent in der 3-Position ist hingegen weniger lipophil als ein 5-*sek*-Butyl Rest im aromatischen Ring. Hohe Lipophiliewerte steigern formal zwar die Möglichkeit einer Zellpenetration, jedoch ist bei extrem hohen PC-Werten wie im Fall der Verbindungen **35e-h** die Wasserlöslichkeit stark herabgesetzt und somit auch die Verabreichung des Wirkstoffs in Zellen eine nicht unwesentliche Problematik.

4.6.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-d4AMP-, *cyclo*Sal-ddAMP-, *cyclo*Sal-d4IMP- und *cyclo*Sal-ddIMP-Verbindungen 34a-d, 35a-h, 36c und 37c

Im Gegensatz zu den beschriebenen Pro-Nucleotid-Konzepten (Kapitel 2.3.1.1, Seite 17) beruht das hier diskutierte *cyclo*Sal-Nucleotid-Konzept auf einem selektiven, chemischen Hydrolysemechanismus, der das Nucleotid sowie die Maske selektiv durch eine kontrollierte Tandem-Reaktion freisetzt. Das Prinzip der Freisetzung wurde bereits in Kapitel 2.3.3 auf Seite 20 ausführlich diskutiert. Die beiden möglichen Hydrolysewege der *cyclo*Sal-Phosphattriester **25** sind in Abbildung 40 auf Seite 55 nochmals zusammengefaßt. Die Hydrolysekinetiken wurden bei einer Temperatur von 37 °C in wässrigen Pufferlösungen bei pH 7.3 und bei pH 1.5 bzw. pH 3.0 durchgeführt, um physiologische Bedingungen bzw. das saure Milieu des menschlichen Magens zu simulieren. Die untersuchten *cyclo*Sal-Verbindungen und deren Hydrolyseprodukte wurden mit Hilfe von Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert.

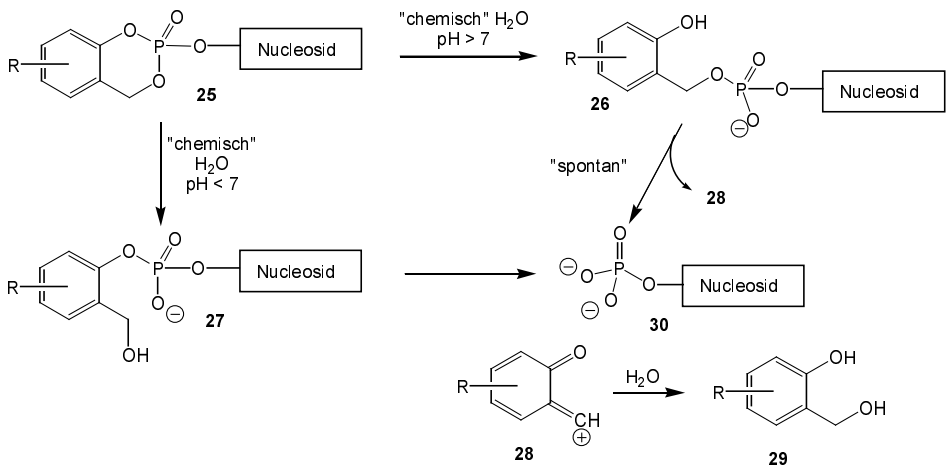


Abbildung 40: Mögliche Hydrolysewege der *cyclo*Sal-Phosphattriester **25**

4.6.2.1 Hydrolysekinetiken in wäßrigen Puffersystemen

Um die selektive Freisetzung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-monophosphat (ddAMP) **8** bzw. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin-5'-monophosphat (d4AMP) aus den *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-d** und den *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-d** nachzuweisen und somit deren Eignung als Pro-Nucleotide zu beweisen, wurden Hydrolysekinetiken in wässrigen Puffersystemen durchgeführt. Die Verbindungen wurden zuerst in einem 12.5 mM Phosphatpuffer nach Sörensen[225] mit einem pH-Wert von 7.3 bei einer Temperatur von 37 °C hydrolysiert. Obwohl der pH-Wert im menschlichen Körper von ≈7.3 hauptsächlich durch einen Carbonat/Hydogencarbonat-Puffer reguliert wird, sollte das hier gewählte Modell (Phosphatpuffer, pH-Wert 7.3) das reale System simulieren.

Weiterhin soll bei den Hydrolysestudien der Einfluß einer Purinbase im Vergleich zu den bisher untersuchten *cyclo*Sal-Nucleotiden mit Pyrimidinbasen (*cyclo*Sal-AZTMP und *cyclo*Sal-d4TMP **42**) untersucht werden.

Hierzu wurde zunächst eine 50 mM Stammlösung der zu untersuchenden Substanz in Dimethylsulfoxid hergestellt. Eine definierte Menge dieser Stammlösung wurde zusammen mit einem internen Standard (wässrige Lösung von AZT **1,** 10 mg/ml) in Wasser verdünnt, kurz durchmischt und mit dem wäßrigen Puffer im Verhältnis 1:1 bei 37 °C im Thermomixer inkubiert. Die Endkonzentration des Puffers im Reaktionsgefäß betrug hierbei 12.5 mM, die der zu untersuchenden Substanz lag bei 0.9 mM. Das erste Aliquot (t_0) wurde sofort nach Zugabe des Puffers entnommen. Die Hydrolyse wurde durch ein sofortiges Abkühlen der Proben in flüssigem Stickstoff gestoppt. Im Fall der Hydrolysestudien mit Phosphatpuffer, wurde auf ein Abstoppen der Reaktion durch einen Tropfen Essigsäure verzichtet, um einen zusätzlichen Effekt durch Bruch der glycosidischen Bindung auszuschließen (Kapitel 2.2.1,

Seite 8). Die Hydrolysegemische wurden weiterhin bei 37 °C temperiert und in Abständen wurden weitere Aliquote entnommen. Zur Bestimmung der Produkte wurden die Aliquote anschließend HPLC-analytisch bei einer Wellenlänge von 260 nm untersucht. Für die Hydrolysen im Phosphatpuffer verwendete man eine „reversed-phase"-HPLC-Säule mit einem Lösungsmittelgradienten aus Acetonitril und 0.6 mM Tetrabutylammoniumphosphat-Puffer (TBAP-Puffer), pH 3.9. Das Tetrabutylammonium-Kation verursacht bei negativ geladenen Verbindungen, wie zum Beispiel bei Nucleotiden, eine Erhöhung der Lipophilie durch Ionenpaarung. Diese Lipophiliesteigerung polarer Hydrolyseprodukte hat zur Folge, daß man aufgrund der Retentionszeiten zwischen einem einfach geladenen Phosphatdiester und einem zweifach geladenen Monophosphat unterscheiden kann. Ohne die Verwendung eines solchen Puffers, würden sowohl die Nucleotide **30** als auch die Phosphatdiester **26** bzw. **27** auf einer „reversed-phase"-HPLC-Säule nicht binden und mit der Lösungsmittelfront sofort eluieren. Zur Auswertung der Chromatogramme wurden die Peakflächenintegrale mit Hilfe des internen Standards normiert und in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen. Aus dem exponentiellen sowie dem halblogarithmischen Kurvenverlauf ist ersichtlich, daß es sich um eine Kinetik *pseudo-erster* Ordnung ($[A]_t = [A]e^{-kt}$) handelt. Die Geschwindigkeitskonstante k für die Hydrolyse der einzelnen *cyclo*Sal-Verbindungen wurde anhand einer exponentiellen Ausgleichsfunktion, die mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogrammes Excel® erstellt wurde, bestimmt. Die Halbwertszeit $t_{1/2}$ ließ sich aus der Geschwindigkeitskonstante k berechnen ($t_{1/2} = (\ln 2)/k$). Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus mindestens zwei unabhängig voneinander durchgeführten Experimenten und in Tabelle 4 zusammengefaßt. In den untersuchten Fällen verfolgte man die Abnahme der Edukte je nach Halbwertszeit bis maximal 100 h.

Man kann im Fall der Verbindungen **34a-d** und **35a-d** eine klare Korrelation zwischen Stabilität bzw. Halbwertszeit im Phosphatpuffer und den Substituenten im aromatischen Ring erkennen. Je ausgeprägter die Donoreigenschaft des Substituenten ist, desto höher ist auch die gemessene Halbwertszeit im Phosphatpuffer (pH 7.3). Man erhält für die Substituenten eine Reihung der gemessenen Halbwertszeiten von 3,5-DiMe > 3-Me > 5-OMe > H. Im Vergleich zu den zuvor untersuchten *cyclo*Sal-Verbindungen mit Pyrimidinbasen (*cyclo*Sal-AZTMP[156], *cyclo*Sal-d4TMP[157]) sind die hier untersuchten *cyclo*Sal-Derivate deutlich stabiler. Doch nicht nur der Heterocyclus scheint einen Einfluß auf die Hydrolyse zu haben. Vergleicht man die Halbwertszeiten der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-d** und *cyclo*Sal-ddAMP-Phosphattriester **35a-d** miteinander so erkennt man, daß die d4AMP-Derivate labiler als die ddAMP-Derivate sind. Offensichtlich übt nicht nur die Base, sondern auch die Natur des Glycons einen großen Einfluß auf die chemische Hydrolysegeschwindigkeit der *cyclo*Sal-Pro-

Nucleotide aus. Dieser beobachtete Effekt der Nucleobase bzw. des Glycons auf die Hydrolysegeschwindigkeit kann bisher noch nicht erklärt werden. Die beschriebene Abhängigkeit der Substituenten von den Donoreigenschaften ist bei den Verbindungen **35e-h** allerdings nicht zu beobachten. Da *sek*- und *tert*-Butyl-Gruppen ähnliche elektronische Eigenschaften besitzten, sollten die *cyclo*Sal-ddAMP-Triester mit *sek*-Butyl- und *tert*-Butyl-Resten (**35e-h**) in der 3- bzw. 5-Position ähnliche Halbwertszeiten aufweisen. Wie jedoch aus Tabelle 4 auf Seite 60 ersichtlich ist zeigen die Verbindungen mit einem Substituenten in 5-Position (**35b**, **35g,h**) ähnliche Halbwertszeiten (21-23 h), während bei den Verbindungen mit einem Substituenten in 3-Position (**35c**, **35e,f**) eine deutliche Abstufung zu beobachten ist (**35c**: 44 h, **35f**: 89 h, **35e**: 166 h). Der Grund für diese Beobachtung liegt in dem unterschiedlichen sterischen Einfluß der Substituenten. Sterisch anspruchsvolle Gruppen wie *sek*-Butyl und *tert*-Butyl in der 5-Position des aromatischen Rings beeinflussen einen nucleophilen Angriff am Phosphoratom kaum. Da Substituenten in der 3-Position sehr nahe am Reaktionszentrum liegen, erschweren Substituenten wie *sek*-Butyl und *tert*-Butyl einen nucleophilen Angriff und erhöhen somit die Halbwertszeit. Da ein *tert*-Butyl Substituent durch seine drei Methyl-Gruppen sterisch anspruchsvoller ist als ein *sek*-Butyl Substituent, erklärt dies auch die extrem hohe Halbwertzeit von **35e** (166 h) im Vergleich zu **35f** (89 h).

Zur Identifizierung de Hydrolyseprodukte im Phosphatpuffer wurden Coinjektionen mit den Salicylalkoholen **29a-d** und dem 2‘,3‘-Didesoxyadenosin-5‘-monophosphat (ddAMP) **8** durchgeführt. In Abbildung 41 auf Seite 58 ist dies exemplarisch an der Verbindung *cyclo*Sal-ddAMP **35a** dargestellt. Zur Bestimmung der Retentionszeiten der möglichen Hydrolyseprodukte wurden der Salicylalkohol **29a** (t_R = 11.27 min), das 5‘-Monophosphat ddAMP **8** (t_R = 15.72 min) und außerdem das Nucleosid 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA) **7** (t_R = 10.05 min) injiziert. Vergleicht man das Hydrolyse-Chromatogramm von *cyclo*Sal-ddAMP **35a** mit dem Chromatogramm der Coinjektion von **8** so erkennt man, daß fast ausschließlich ddAMP **8** (t_R = 16.13 min) freigesetzt wird. Da der Salicylalkohol **29a** ein Absorptionsmaximum bei 275 nm besitzt, die Detektionswellenlänge jedoch bei 260 nm liegt, ist dieser nur sehr schwach zu sehen, kann allerding durch Coinjektion auch eindeutig als Hydrolyseprodukt neben ddAMP identifiziert werden. Weiterhin fallen zwei weitere Peaks im Hydrolysechromatogramm 17.19 min und 19.8 min auf. Nach Ende der Hydrolyse ist jedoch nur noch der Peak bei 19.8 min zu detektierten (siehe Abbildung 42, Seite 58). Bei diesen beiden noch nicht identifizierten Hydrolyseprodukten könnte um den temporär auftretenden *cyclo*Sal-Phosphatdiester **26** (17.19 min) bzw. um den „falschen“ *cyclo*Sal-Phosphatdiester **27** (19.8 min, Metabolit X) handeln (siehe Kapitel 2.3.3, Seite 20). Hierfür spricht die lange

Retentionszeit aufgrund der hohen Lipophilie durch die noch vorhandene Maske und den Tetrabutylammonium-Ionen als Gegenkationen. Weiterhin ist dieser nicht in der Lage zum Nucleotid zu hydrolysieren und könnte deshalb als Nebenprodukt sichtbar werden. Eine eindeutige Zuordnung kann jedoch nur durch Coinjektion der separat synthetisierten und charakterisierten Verbindungen **26** bzw. **27** gemacht werden.

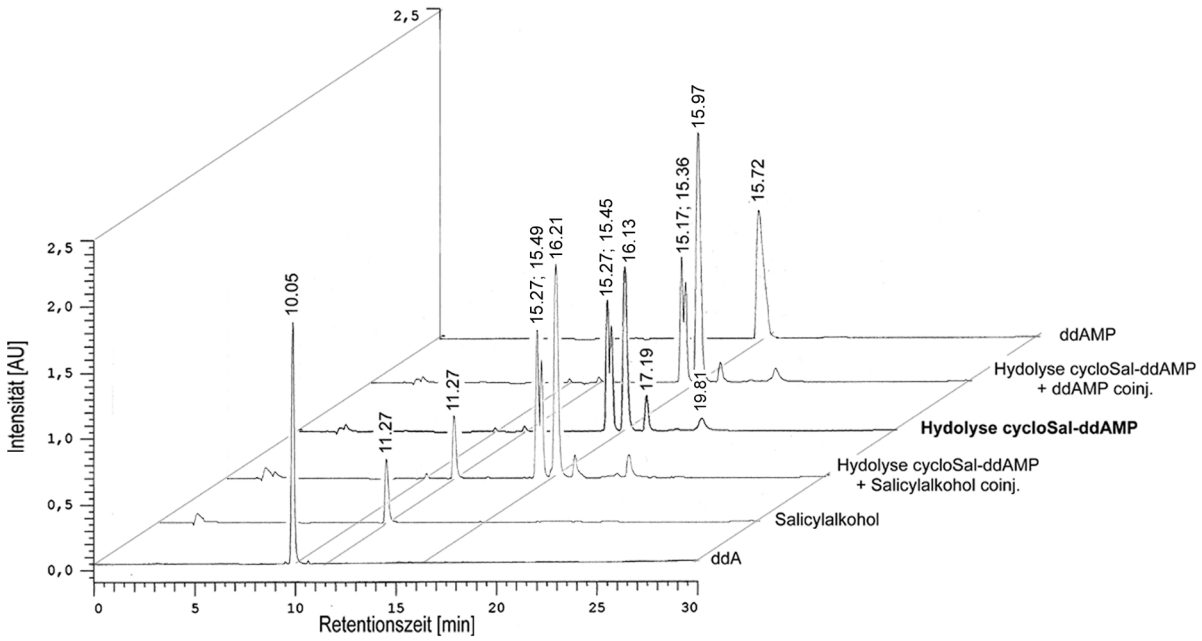


Abbildung 41: Hydrolyse von *cyclo*Sal-ddAMP **35a** und Coinjektionen von **8** und **29a** in TBAP-Puffer

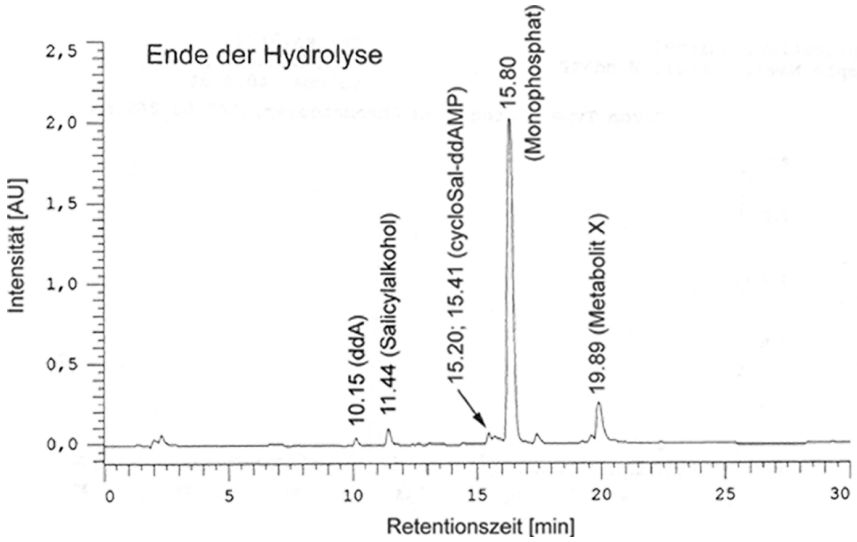


Abbildung 42: Ende der Hydrolyse von *cyclo*Sal-ddAMP **35a** (Hydrolyseprodukte)

Weiterhin sind geringe Mengen an ddA **7** (t_R = 10.15 min) entstanden (siehe Abbildung 42). Da nicht unter sterilen Bedingugen gearbeitet wurde, kann das detektierte ddA **7** somit auf-

grund von Verunreinigungen (Phosphatasen) aus dem ddAMP **8** gebildet worden sein. Ein Auftreten von ddA **7** als direktes Hydrolyseprodukt aus dem *cyclo*Sal-Triester **35a** muß, aufgrund der geringen Konzentration ($\lambda_{max\ ddA}$ = 260 nm), ausgeschlossen werden.

Ein gravierender Nachteil der 2',3'-Didesoxynucleoside mit Purinbasen ist ihre extreme Säurelabilität in Hinblick auf die glycosidische Bindung. Auf Grund dessen muß bei einer HIV-Therapie mit ddI (Didanosin, Videx®) **5** dieser Wirkstoff bei oraler Verabreichung mit hohen Konzentrationen an Puffersalzen eingenommen werden, um den pH-Wert des Magens anzuheben. Außer den wirkstoffbedingten Nebenwirkungen führt das beim Patienten zu Übelkeit und Erbrechen, was die Einnahme weiterer Medikamente, in Rahmen einer Kombinationstherapie erheblich erschwert. Die Suche nach alternativen Wirkstoffen, die aufgrund ihrer Säurestabilität weit weniger bzw. gar keine Puffersalze mehr notwenig machen, ist deshalb unerläßlich.

Vergleicht man die *cyclo*Sal-Verbindungen mit ihren entsprechenden Nucleosiden so sind deren PC-Werte im Falle der Verbindungen **35a-h** um einen Faktor 7.5-192 höher als ddA **7** und im Falle der Derivate **34a-d** um einen Faktor 7.2-27.8 höher als d4A **14**. Die HPLC-analytischen Untersuchungen zur Säurestabilität der *cyclo*Sal-Verbindungen und ihrer entsprechenden Nucleoside wurden analog dem oben beschriebenen Protokoll für die Hydrolysestudien im Phosphatpuffer durchgeführt. Die Ergebnisse sind Mittelwerte aus mindestens zwei unabhängig voneinander durchgeführten Experimenten und in Tabelle 4, Seite 60 zusammengefaßt. Die Kinetiken wurden ebenfalls mit Hilfe einer „reversed-phase"-HPLC-Säule" durchgeführt, allerdings wurde ein Lösungsmittelgradient aus Acetonitril und Wasser gewählt, was zur Folge hatte, daß ausschließlich der Abbau der *cyclo*Sal-Verbindung beobachtet werden konnte. Eine Aussage zur Produktverteilung ließ sich unter diesen Bedingungen HPLC-analytisch nicht treffen. Sowohl innerhalb der *cyclo*Sal-ddAMP-Serie **35a-d** als auch innerhalb der *cyclo*Sal-d4AMP-Derivate **34a-d** erhielt man nahezu identische Halbwertzeiten von rund 13 h und 0.15 h bei pH 3.0 bzw. rund 0.7 h und 0.01 h bei einem pH von 1.5 (Tabelle 4). Das bedeutet, daß die säurekatalysierte Spaltung der glycosidischen Bindung erwartungsgemäß unabhängig von dem Substituenten des aromatischen Ringes ist.[32] Weiterhin fällt auf, daß die *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **34a-d** um einen Faktor 86 bzw. 70 labiler sind als die *cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35a-d**. Der Grund hierfür liegt in der größeren Stabilität des intermediär entstehenden allylischen Carbokations aufgrund mesomerer Effekte (vergl. Kapitel 2.2.1, Seite 8). Vergleicht man nun die erhaltenen Halbwertszeiten der Zielverbindungen mit den entsprechenden Nucleosiden bei pH 1.5 und 3.0 so

erkennt man, daß die Einführung einer Phosphat-Gruppe mit *cyclo*Sal-Rest an die 5'-Position von ddA **7**, bzw. d4A **14** die glycosidische Bindung 10-15 fach stabilisiert.

		Halbwertszeit ($t_{1/2}$) in wässrigen Puffersystemen bei 37 °C [h]		
Verbindung	Substituent (R)	pH 7.3	pH 3.0	pH 1.5
34a	H	10.3	0.14	0.01
34b	5-OMe	14.5	0.14	0.011
34c	3-Me	32.3	0.15	0.0098
34d	3,5-DiMe	44.7	0.14	0.01
d4A **14**	---	---	0.01	<< 0.01
35a	H	17.0	12.9	0.60
35b	5-OMe	23.4	12.2	0.80
35c	3-Me	44.3	13.9	0.53
35d	3,5-DiMe	58.2	10.3	0.73
35e	3-*tert*-Butyl	166	---	---
35f	3-*sek*-Butyl	89	---	---
35g	5-*tert*-Butyl	21.5	---	---
35h	5-*sek*-Butyl	22.1	---	---
ddA **7**	---	---	1.28	0.03
36c	3-Me	29.7	0.04	<< 0.01
d4I	---	---	<< 0.01	<< 0.01
37c	3-Me	44.4	3.0	0.20
ddI **5**	---	---	0.2	0.03
38c	3-Me	21.6	284	19

Tabelle 4: Ergebnisse der Hydrolyse-Kinetiken der *cyclo*Sal-Verbindungen **34a-d**, **35a-h**, **36c**, **37c** und **38c** in 12.5 mM wässrigem Puffersystemen bei 37 °C

Außerdem nimmt die Stabilität der *cyclo*Sal-ddAMP-Serie **35a-d** und der *cyclo*Sal-d4AMP-Derivate **34a-d** deutlich ab, wenn der pH-Wert von 3.0 auf 1.5 erniedrigt wird. Bei pH 1.5 erfolgt diese Spaltung der *cyclo*Sal-Verbindungen mit einer 15-20 fach höheren Geschwindigkeit als bei einem pH von 3.0. Im Fall von 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** beobachtet man eine Erhöhung der Spaltungsrate bei pH 1.5 auf das 43 fache im Vergleich zu pH 3.0. Im Fall des d4A **14** liegt die Halbwertszeit unterhalb der Meßgrenze von 0.01 Stunden (36 Sekunden).

Da im pH Bereich von 1.5 bis 3.0 eine säurekatalysierte Hydrolyse der *cyclo*Sal-Phosphattriester-Bindungen nicht ausgeschlossen werden kann, wurde ein säurestabiler Phosphattriester (3-Me-*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP, **38c**) unter gleichen Bedingungen hydrolysiert. Die gemessene Halbwertszeit gibt somit die Stabilität der drei Triesterbindungen im sauren Milieu wieder. Bei pH 3.0 wurde eine Halbwertszeit von 284 h (im Vergleich: ca. 13 h für **35a-d**) und bei pH 1.5 eine Halbwertszeit von 19 h (im Vergleich: ca. 0.54 h für **35a-d**) gemessen (Tabelle 4). Eine Verfälschung der Säurehydrolysen durch eine gleichzeitige Phosphatester-Hydrolyse ist damit ausgeschlossen. Auch bei den *cyclo*Sal-Verbindungen mit Hypoxanthin als Base (**36c**, **37c**) kann diese Beobachtung gemacht werden. Ähnliche Untersuchungen von Imbach et al. an den Bis(SATE)-ddAMP-Triestern zeigten ebenfalls eine Erhöhung der Stabilität bei pH 2.0 um einen Faktor 10.[33] Wie sich ebenfalls aus Tabelle 4 entnehmen läßt, weisen die 2',3'-Didesoxyadenosin-Derivate **34c** und **35c** im Vergleich zu ihren 2',3'-Didesoxyinosin-Derivaten **36c** und **37c** eine höhere Stabilität auf. Im Fall von **36c** und **37c** findet man einen Faktor 4.6 bzw. 3.8 im Stabilitätsunterschied zu den entsprechenden *cyclo*Sal-Verbindungen mit Adenin als Base (**34c** bzw. **35c**). Dieser Trend wurde schon bei den Nucleosiden ddI **5** und ddA **7** festgestellt und kann nun auch bei d4I **31** und d4A **14** beobachtet werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die synthetisierten *cyclo*Sal-ddAMP- **35a-h** und *cyclo*Sal-d4AMP-Derivate **34a-d** erhöhte Stabilität der glycosidischen Bindung im Vergleich zu ddA **7**, d4A **14** und ddI **5** aufweisen und somit eine orale Applikation begünstigt ist.

4.6.3 Anti-HIV-Tests der *cyclo*Sal-d4AMP- 34a-d und *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen 35a-h

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini, Rega Institute for Medical Research, Leuven/Belgien wurden die *cyclo*Sal-ddAMP-Derivate **35a-h** und die *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-d** auf ihre *in vitro* anti-HIV-Aktivität in Zellkulturen untersucht. Weiterhin wurden die beiden Hypoxanthin-Verbindungen 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** und 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP **36c** in den antiviralen Test mit einbezogen, da sie intrazellulär ddIMP **11** bzw. d4IMP freisetzten. Um daraus die bioaktive Komponente ddATP **10** zu erhalten, muß d4IMP bzw. ddIMP **11** zunächst durch eine zweistufige enzymatische Reaktion zu ddAMP **8** bzw. d4AMP reaminiert werden (Kapitel 2.2.1, Seite 8). Diese Reaktion durch die beiden Enzyme ASS und ASL ist nicht sehr effizient.[30] Die Verbindungen **36c** und **37c** sollten deshalb eine geringere antivirale Aktivität als ihre entsprechendne Adenin-Verbindungen **34c** und **35c** aufweisen. Vor den Testreihen wurde mittels HPLC-Analytik sichergestellt,

daß die zu untersuchenden Verbindungen keinerlei Nucleosid oder andere Verunreinigungen enthielten. Als Referenzverbindungen wurden die Nucleoside ddA **7**, ddI **5**, d4A **14**, d4I **31** mitgetestet. Als Testsystem diente eine Wildtypzelllinie humaner T-Lymphozyten (CEM/0).

Verbindung	Substituent	Antivirale Aktivität EC_{50} [µM]			Zytotoxizität		
		CEM/0 HIV-1	CEM/0 HIV-2	C3H/3T3 MSV	CEM/0 CC_{50} [µM]	C3H/3T3 MCC [µM]	SI (CEM)
34a	H	0.065	0.35	0.30	86	> 50	1323
34b	5-OMe (m)	0.08	0.065	1.21	77	> 50	963
34b	5-OMe (f)	0.043	0.050	2.83	40	> 50	930
34b	5-OMe (s)	0.50	0.33	12.8	62	> 50	124
34c	3-Me	0.065	0.19	1.24	49	> 50	754
34d	3,5-DiMe	0.05	0.055	1.14	25	> 50	500
d4A	---	30	50	35	96	> 50	3
35a	H	0.03	0.13	2.86	93	> 50	3100
35b	5-OMe	0.047	0.16	3.9	87	> 50	1851
35c	3-Me	0.047	0.03	1.18	28	> 50	595
35d	3,5-DiMe	0.025	0.025	1.14	10	> 50	400
35e	3-*tert*-Butyl	0.60	1.30	---	31	---	51.6
35f	3-*sek*-Butyl	0.04	0.06	---	6.3	---	158
35g	5-*tert*-Butyl	0.07	0.14	---	15	---	214
35h	5-*sek*-Butyl	0.05	0.1	---	16	---	320
ddA	---	4.33	4.5	40	> 250	> 50	> 58
36c	3-Me	5.3	5.0	> 50	94	> 50	18
d4I	---	4.3	> 50	> 50	87	> 50	20
37c	3-Me	1.1	0.7	> 50	58	> 50	53
ddI	---	3.5	4.0	> 50	156	> 50	44

Tabelle 5: Antivirale Aktivität der *cyclo*Sal-Derivate **34a-d**, **35a-h**, **36c** und **37c**

Außerdem wurden die Verbindungen zusätzlich gegen das Moloney murine sarcoma Virus (MSV) in C3H/3T3 embryonalen Fibroblasten getestet. Die CEM/0-Zellen wurden zum einen mit HIV-1 und zum anderen mit HIV-2 infiziert. Man bestimmte die effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt werden (EC_{50}) und die zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen aufgrund toxischer Eigenschaften absterben (CC_{50}). Die antiviralen Aktivitätsdaten der *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34a-d** und *cyclo*Sal-ddAMP-Derivate **35a-h** sind in Tabelle 5 dargestellt. Beide Nucleosid-Analoga ddA **7** und

d4A **14** zeigen gute antivirale Aktivität sowohl in HIV-1 als auch in HIV-2 infizierten Lymphozyten, wobei man eine 10 fach höhere Aktivität für ddA **7** im Vergleich zu d4A **14** beobachten kann (**7**: EC_{50} = 4.3 µM und 4.5 µM; **14**: 30 µM und 50 µM). Im Gegensatz dazu zeigen die *cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35a-h** eine 7-170 fache Erhöhung der Aktivität gegenüber ddA **7** in HIV-1 infizierten Zellen. Dieser Trend zeigt sich auch im Fall von HIV-2 infizierten CEM/0-Zellen. Besonders bemerkenswert ist der Selektivitätsindex SI der untersuchten Verbindungen. Er ergibt sich aus dem Quotienten aus Zytotoxizität (CC_{50}) und der antiviralen Aktivität (EC_{50}) und ist ein Maß für das "therapeutische Fenster" einer Verbindung. Die SI-Werte der *cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35a-h** liegen um einen bis zu 50 fach höheren Wert im Vergleich zu dem Nucleosid ddA **7**. Diese enorme Steigerung der antiviralen Aktivität und damit des Selektivitätsindexes (SI) ist ausschließlich durch eine intrazelluläre Freisetzung des 5'-Monophosphates aus den *cyclo*Sal-Verbindungen zu erklären. Der ADA-Bypass ist gelungen und eine direkte Phosphorylierung zum bioaktiven 5'-Triphosphat ist möglich.

Vergleicht man die antivirale Aktivität (EC_{50}) der *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35a-h** mit deren zuvor ermittelten Lipophilie-Werten (log*P*) (Tabelle 3; Seite 53), so erkennt man, daß sich ein sich steigernder log*P*-Wert weder positiv noch negativ auf die antivirale Aktivität auswirkt. Verbindung **35a** besitzt den kleinsten log*P*-Wert von 0.59 und weist hierbei einen EC_{50}-Wert von 0.03 µM in HIV-1 infizierten Zellen bzw. einen EC_{50}-Wert von 0.13 µM in HIV-2 infizierten CEM/0-Zellen auf. Erhöht man nun die Lipophilie durch Alkylsubstituenten in 3- und 5-Position des aromatischen Rings (z. Bsp. **35c**: log*P* 0.88; **35h**: log*P* 2.0) so kann keine deutliche Erhöhung der antiviralen Aktivität sowohl in HIV-1- als auch in HIV-2 infizierten Zellen beobachtet werden (**35c**: EC_{50} = 0.047 µM bzw. 0.03 µM; **35h**: EC_{50} = 0.05 µM bzw. 0.1 µM).

Wie erwartet zeigt ddI **5** einen ähnlichen EC_{50}- und SI-Wert wie ddA **7**. Das resultiert aus der schnellen Umwandlung von ddA in ddI durch das Enzym Adenosin-Desaminase (ADA). Erstaunlich ist auch, daß die Verbindung 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** rund 4 mal aktiver ist als ddI **5** selbst. Diese Steigerung kann man einerseits auf eine höhere intrazelluläre Konzentration von ddIMP **11** durch das Prodrug zurückführen. Andererseits ist der Abbau von ddI durch die Purin-Nucleosid-Phosphorylase (PNP) zu Hypoxanthin (Hx) **13** infolge der Freisetzung von ddIMP **11** aus der *cyclo*Sal-Verbindung nicht mehr möglich. Der signifikante Unterschied in der Wirksamkeit von 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP **35c** und 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** (EC_{50}: 0.047 µM bzw. 1.1 µM) spiegelt die geringe Effizienz der

Reaminierung von ddIMP **11** zu ddAMP **8** durch die beiden Enzyme ASS und ASL wieder. Dieses macht sich auch in den SI-Werten bemerkbar (**35c**, SI 595, **37c**, SI 53). Die Grundstruktur und der Freisetzungsmechanismus der beiden Verbindungen ist identisch. Die Erhöhung des Selektivitätsindex um einen Faktor 13 ist daher das Resultat eines unterschiedlichen metabolischen Profils. Die geringste Zytotoxizität (CC_{50}) wurde bei der *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindung **35a** beobachtet, welche dadurch den bisher höchsten Selektivitätsindex aller bisher getesteten *cyclo*Sal-Verbindungen von 3100 aufweist.

Eine Korrelation zwischen zuvor ermittelter Halbwertszeit $t_{1/2}$ der *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **35a-h** und **34a-d** in Phosphat-Puffer (Kapitel 4.6.2.1, Seite 55) und antiviraler Aktivität ist hier nicht festzustellen, ebenso kann aufgrund der gemessenen PC-Werte, nicht auf eine bessere Membranpermeabilität, und somit auf eine erhöhte antivirale Aktivität einiger Verbindungen geschlossen werden.

Obwohl ddA **7** ein 10 fach höheres antivirales Potential als d4A **14** aufweist, zeigen die *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **34a-d** vergleichbare antivirale Aktivitäten wie die entsprechenden *cyclo*Sal-ddAMP-Derivate **35a-d**. Das führt zu einer außergewöhnlich hohen Aktivitätssteigerung um einen Faktor 375-600. Gleichzeitig erhöht sich auch der Selektivitätsindex von 3 für d4A **14** auf 500, 754, 963 und 1323 für die *cyclo*Sal-Verbindungen **34a-d**. In früheren Untersuchungen wurde gefunden, daß die Konfiguration am Phosphoratom maßgeblich die biologische Aktivität beeinflußt.[157] Im Fall der 5-OMe-*cyclo*Sal-d4AMP-Verbindung **34b** ist es gelungen, die beiden Diastereomern mittels semipräparativer HPLC zu trennen und separat zu untersuchen. Wie schon bei den *cyclo*Sal-d4TMP-Triestern zuvor beobachtet[157,159], zeigt sich auch hier wieder, daß die verschiedenen Diastereomere unterschiedliche antivirale Aktivität besitzen. Das "fast"-Diastereomer weist dabei ein höheres antivirales Potential auf, als das "slow"-Diastereomer, wobei im Falle der getrennten *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate dieses Verhältnis umgekehrt war und immer das "slow"-Diastereomer mit R_p-Konfiguration am Phosphoratom die aktivere Verbindung darstellte. Eine Bestimmung der absoluten Konfiguration dieser beiden Diastereomere ist nötig, um sie mit den *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen vergleichen zu können. Die antivirale Aktivität des Diastereomerengemisches **34b** befindet sich interessanterweise nicht zwischen den Werten des fast-eluierenden und des slow-eluierenden Diastereomeren.

Die 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP-Verbindung **36c** zeigt einen ähnlich großen Wert wie d4I **31** auf und ist gleichzeitig 6 mal aktiver als d4A **14**. Überraschenderweise besitzt d4I selbst einen um Faktor 7 höheres antivirales Potential als d4A. Wie schon bei dem 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP-

Triester **37c** erreicht man auch im Fall des 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP-Verbindung **36c** keinen derart großen biologischen Effekt, der vergleichbar mit dem der *cyclo*Sal-d4AMP-Serie **34a-d** ist.

Im Gegensatz zu den bisherigen Beobachtungen, findet man bei den *cyclo*Sal-ddAMP-Triestern **35a-d** als auch bei den *cyclo*Sal-d4AMP-Triestern **34a-d** keinerlei Korrelation zwischen Halbwertszeit und biologischer Aktivität. In früheren Untersuchungen an *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen[157,159], konnte man stets eine klare Abhängigkeit zwischen der anti-HIV Aktivität und den Substituenten des aromatischen Rings und damit auch, von der Halbwertszeit beobachten. Obwohl im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen und der *cyclo*Sal-d4AMP-Triester die Korrelation zwischen Halbwertszeit im Phosphat-Puffer, pH 7.3 und den Donoreigenschaften der Substituenten im aromatischen Ring besteht, liegen die antiviralen Aktivitäten der Prodrugs alle im gleichen Bereich. Dieses Resultat könnte dadurch erklärt werden, daß die ddA- und d4A-Phosphattriester **35** und **34** einen anderen Aktivierungsmechanismus haben, als die d4T-Phosphattriester. Obwohl das *cyclo*Sal-Konzept ausschließlich auf chemisch induzierter Hydrolyse zur Freisetzung der 5'-Monophosphate basiert, kann man aufgrund der hier erhaltenen Werte eine enzymatische Beteiligung am Freisetzungsmechanismus nicht ausschließen. Der Selektivitätsindex der in Tabelle 5 auf Seite 62 untersuchten Verbindungen sinkt mit zunehmender Donoreigenschaft der Substituenten. Dies ist durch eine höhere Zytotoxizität (CC_{50}) der Verbindungen begründet, wobei die Ursache hierfür noch nicht geklärt ist. Hierbei ist anzumerken, daß die abgespaltenen Salicylalkohole **29a-d** diese zytotoxischen Wirkungen nicht auslösen können, da bereits in zuvor durchgeführten antiviralen Tests diese Substanzen keinerlei Toxizität (CC_{50} > 500 µM) in CEM/0-Lymphozyten aufwiesen.[226] Zusätzlich zu der antiviralen Aktivität in HIV-infizierten CEM/0-Zellen, wurden die *cyclo*Sal-Prodrugs **34** und **35** gegen das „Moloney murine sarcoma Virus“ in C3H/3T3 embryonalen Fibroblasten getestet. Wie in Tabelle 5 zu sehen zeigen sowohl die *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen **35**, als auch die *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34** eine erhöhte Bioaktivität gegenüber MSV im Vergleich zu den Nucleosiden ddA **7** und d4A **14**. Letztere sind inaktiv gegenüber MSV (EC_{50} = 40 bzw. 35 µM) Im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP-Derivate **35** liegt eine bis zu 35 fache Verbesserung vor; die *cyclo*Sal-d4AMP-Derivate **34** weisen dagenen eine bis zu 30 fache Verbesserung der antiviralen Aktivität auf. Die minimale zytotoxische Konzentration (MCC) in diesem Zellessay liegt für alle Verbindungen bei über 50 µM. Wie schon im HIV/CEM Zelltest beobachtet, wurden keine gravierenden Unterschiede in der antiviralen Aktivität beobachtet, die aufgrund der unterschiedlichen Substituenten des aromatischen Rings zurückzuführen wären.

4.6.4 Enzymatische Stabilität

Wie in Kapitel 2.2.1, Seite 8 erwähnt wurde, wird ddA **7** sehr schnell von desaminierenden Enzymen zu dem entsprechenden Inosin-Derivate ddI **5** umgewandelt. Man kann davon ausgehen, daß dieser enzymatische Metabolismus für den doch erheblichen Verlust an Bioaktivität von ddA verantwortlich ist, da die im weiteren Verlauf zu durchlaufenden reaminierenden Schritte zu ddAMP **8** ausgesprochen ineffizient sind. Die freie 5'-OH-Gruppe spielt bei der enzymatischen Desaminierung eine entscheidende Rolle. Bereits 1967 fanden Bloch et al., daß die Blockade der 5'-Hydroxyl-Gruppe einen Abbau der Adenin-Nucleoside durch ADA verhindert.[227] Das hier beschriebenen *cyclo*Sal-Konzept wurde auf die Problematik der Desaminierung von ddA angewandt, um einen ADA-Bypass durch 5'-Modifikation des Nucleosids bei gleichzeitiger selektiven Freisetzung des 5'-Monophosphates zu ermöglichen. Da die *cyclo*Sal-Verbindungen sozusagen "derivatisierte Nucleotide" sind, muß zusätzlich berücksichtigt werden, daß das Enzym Adenosinmonophosphat-Desaminase (AMPDA), welches verantwortlich für die Umwandlung von Adenosin-5'-Monophosphat zu Inosin-5'-Monophosphat ist, theoretisch auch in der Lage sein könnte, die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide **34** und **35** in die entsprechenden Hypoxanthin-Pro-Nucleotide **36** und **37** umzuwandeln. Deshalb müssen nicht nur die Substrateigenschaften gegenüber ADA untersucht werden, sondern es muß auch ein Abbau der *cyclo*Sal-ddAMP-Verbindungen zu *cyclo*Sal-ddIMP-Derivaten durch AMPDA ausgeschlossen werden. Die enzymatischen Studien wurden anhand der 3-Methyl substituierten Verbindungen **34c** und **35c**, und zur Kontrolle an den beiden Nucleosiden ddA **7** und d4A **14** unter identischen Bedingungen durchgeführt. Die Experimente mit den Nucleosiden wurden mit einer Substratkonzentration 185 µM in einem 25 mM Phosphat-Puffer durchgeführt. Zu 1.3 ml dieser Lösung wurde das Enzym hinzupipettiert und die Reaktion UV spektroskopisch (Cary 1E, Varian) bei einer Wellenlänge von 260 nm verfolgt. Der zu beobachtende Abfall der Absorption beruht auf den unterschiedlichen Absorptionsmaxima der Basen Adenin und Hypoxanthin. Vor und nach der Enzymzugabe wurde außerdem jeweils ein UV-Spektrum aufgenommen. Als Kontrollexperiment wurde die zu untersuchende Verbindung über den gleichen Zeitraum ohne Enzym inkubiert.

Die Nucleoside wurden mit 0.25 U Adenosin Desaminase (EC 3.5.4.4 aus Kälberdarmschleimhaut) in einem 10 mM Phosphat-Puffer (nach Sörensen), pH 7.3 und einer Temperatur von 37 °C inkubiert und UV-spektroskopisch über einen Zeitraum von 90 min verfolgt. Der pH-Wert der Lösung wurde leicht basisch eingestellt, um einem Bruch der glycosidischen Bindung entgegenzuwirken. Dies würde zu einer Verfälschung der Meßwerte führen. Vor und nach Zugabe des Enzyms wurden außerdem UV-Spektren der Verbindungen aufgenommen.

DdA **7** und d4A **14** wurden unter diesen Bedingungen innerhalb von 2 min bzw. 10 min vollständig zu den entsprechenden Inosin-Derivaten umgewandelt (siehe Kapitel 8 (Anhang), 1. Abbildung). Dies wird durch das UV-Spektrum belegt, was nach Ende der Reaktionszeit von 90 Minuten aufgenommen wurde.

Es zeigte sich, daß sich das Absorptionsmaximum um 10 nm auf 250 nm verschoben hat, was dem Maximum die Base Hypoxanthin **13** entspricht. Der 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35c** und der 3-Me-*cyclo*Sal-d4AMP-Triester **34c** wurden unter identischen Bedingungen untersucht, allerdings mußte der pH-Wert der Pufferlösung auf 6.8 eingestellt werden, um eine Hydrolyse der Phosphatesterbindungen zu vermeiden. Die Enzymmenge betrug im Fall der *cyclo*Sal-Verbindungen 0.5 U. Wie erwartet waren die 5'-modifizierten *cyclo*Sal-Phosphattriester gegenüber einer Desaminierung durch ADA innerhalb der Reaktionszeit von 90 min ausnahmslos stabil (siehe Kapitel 8 (Anhang), 2. Abbildung). Sowohl die Verdopplung der Enzymmenge von 0.25 U auf 0.5 U im Vergleich zu den Nucleosiden, als auch eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 12 h führte zu keinerlei detektierbaren Abbaureaktion. Der 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35c** ebenso wie die 3-Me-*cyclo*Sal-d4AMP-Verbindung **34c** zeigten nach der Reaktionszeit dieselben UV-Spektren wie vor Zugabe des Enzyms. Durch diese Beobachtung kann ausgeschlossen werden, daß sich 3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP **37c** bzw. 3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP **36c** durch Desaminierung der entsprechenden Adenin-Verbindungen gebildet hat. Um auszuschließen, daß die Adenosin-Desaminase (ADA) durch die *cyclo*Sal-Verbindungen inhibiert wird, wurde zunächst zu der wässrigen Lösung des 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Triesters **35c** 0.5 U des Enzyms hinzupipettiert, durchmischt und 90 min bei 37 °C inkubiert. Hierbei konnte keine enzymatische Reaktion nachgewiesen werden. Im Anschluß wurde die Reaktionsmischung mit dem Substrat 2'-Desoxyadenosin (2'-dA) **58** versetzt und 120 min wiederum UV spektroskopisch bei 260 nm untersucht. Die Abnahme der Absorption kurz nach der Zugabe des Substrates 2'-dA **58** zeigte, daß die zuvor gefundene Stabilität der *cyclo*Sal-Verbindungen nicht auf eine Inhibierung des Enzyms ADA zurückzuführen ist.

Als Referenzverbindungen für die AMPDA-Stabilitätsstudien wurde 2'-Desoxyadenosin-5'-monophosphat (2'-dAMP) und 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-monophosphat (ddAMP) **8** verwendet. Die Kinetiken wurden in einem 10 mM Phosphatpuffer bei einem pH-Wert von 6.8 und einer Temperatur von 37 °C durchgeführt. Wie zuvor wurde zu einer 185 mM Lösung von 2'-dAMP beziehungsweise ddAMP **8** 1.0 U bzw 2.0 U Adenosinmonophosphat-Desaminase (AMPDA, EC 3.5.4.6 aus Hasenmuskel) hinzupipettiert und 200 Minuten UV-spektroskopisch bei einer Wellenlänge von 260 nm inkubiert. Auch hier wurden vor und nach der

Enzymzugabe jeweils ein UV-Spektrum aufgenommen. Unter diesen Bedingungen wurde 2'-dAMP innerhalb von 60 min vollständig zu 2'-dIMP desaminiert, während ddAMP **8** innerhalb der Reaktionszeit von 200 min nur zu 25 % zu ddIMP **11** desaminiert wurde (siehe Kapitel 8 (Anhang), 3. Abbildung). Nach 12 h Inkubationszeit konnte auch im Fall von ddAMP eine vollständige Desaminierung durch UV-Spektren festgestellt werden. Im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **35c** und **34c** wurde die Reaktionszeit ebenfalls auf 200 Minuten begrenzt und die verwendete Enzymmenge auf 2 U erhöht. Die Existenz der intakten exocyclischen Aminogruppe bei den *cyclo*Sal-Verbindungen nach Inkubation mit dem Enzym, wurde wiederum durch das charakteristische UV-Maximum bei 260 nm nachgewiesen (siehe Kapitel 8 (Anhang), 4. Abbildung). Auch im Fall der AMPDA wurde ein Kontrollexperiment durchgeführt, um eine Inhibition des Enzyms durch die *cyclo*Sal-Triester auszuschließen. Zu der wässrigen Lösung des 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Triesters **35c** wurden 2.0 U des Enzyms hinzupipettiert, durchmischt und 60 min bei 37°C inkubiert. Hierbei konnte keine enzymatische Reaktion nachgewiesen werden. Im Anschluß wurde die Reaktionsmischung mit den Substrat 2'-Desoxyadenosin-Monophosphat (2'-dAMP) versetzt und 120 min wiederum UV spektroskopisch bei 260 nm untersucht. Die Abnahme der Absorption kurz nach der Zugabe des Substrates 2'-dAMP zeigte, daß die zuvor gefundene enzymatische Stabilität der *cyclo*Sal-Verbindungen nicht auf eine Inhibierung der AMPDA zurückzuführen ist.

Diese Untersuchungen zeigen, daß die *cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35** und die *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **34** vollkommen stabil gegenüber enzymatischen Abbau sowohl durch ADA als auch gegenüber AMPDA sind. Sie wirken ebenfalls nicht als Inhibitor der beiden genannten Enzyme. Deshalb setzen sie intrazellulär nicht ddIMP **11** bzw. d4IMP, sondern ausschließlich die Adenin-Nucleotide ddAMP **8** und d4AMP frei.

4.7 Synthese von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA)

In diesem Kapitel soll die Synthese von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) **18** beschrieben werden.

4.7.1 Synthesestrategie für 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) 18

Drei Synthesewege zur Darstellung des 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) **18** sind beschrieben worden.[228,229,230] Alle drei Wege führen über die an der 5'-OH-Position geschützte Zwischenverbindung 9-(3-Desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **74**.

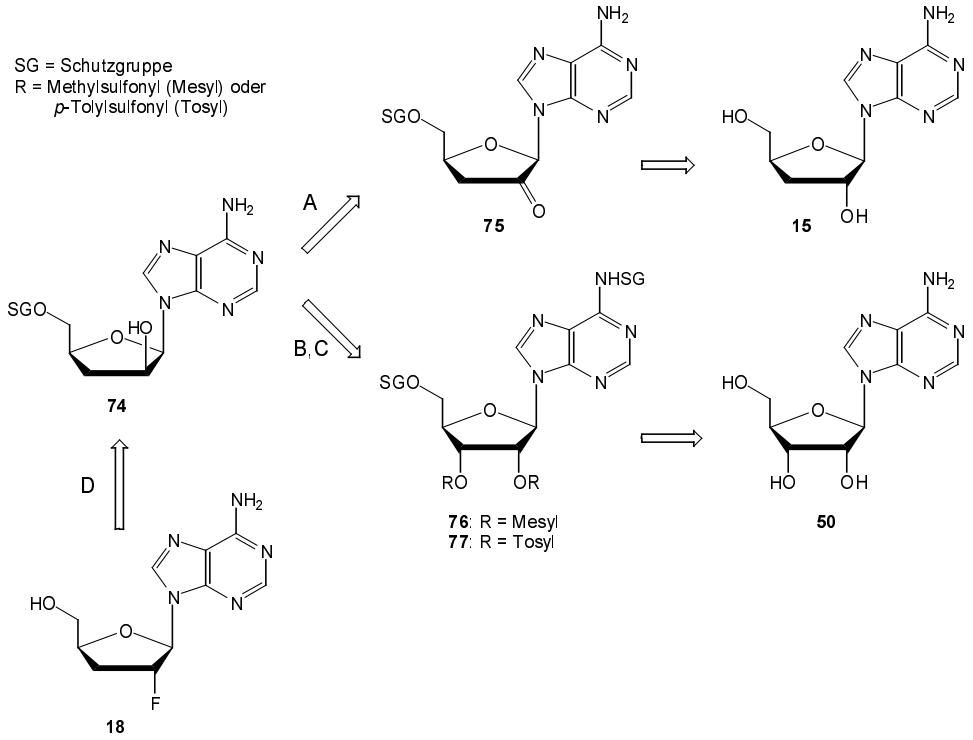


Abbildung 43: Synthesen für 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin **18**

Es kann ausgehend von Cordycepin **15** nach dessen Schützung der 5'-*O*-Position durch Oxidation in das entsprechende 2'-Ketonucleosid **75** und anschließender Reduktion unter Inversion der Konfiguration an C2' dargestellt werden (Weg A).[228] Ein weiterer synthetischer Zugang für die Zwischenverbindung **74** liefert ausgehend von Adenosin **50** nach Schützung der 5'-OH-Position eine β-Eliminierung des 2',3'-Di-*O*-Mesylates **76** mit anschließendem [1,2]-Hydrid-Shift (Weg B).[229] Nach einer Methode von Herdewijn et al. kann ausgehend von Adenosin durch Eliminierungs-Reaktion an 2',3'-Di-*O*-Tosyl-adenosin **77** mit Lithiumtri-ethylborhydrid ($LiEt_3BH$) 9-(3-Desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **74** dargestellt werden (Weg C).[230] Die anschließende nucleophile Substitution der 2'-OH-Gruppe durch Fluor mit Hilfe von Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) unter Inversion der Konfiguration und anschließender Abspaltung der Schutzgruppen liefert das gewünschte fluorierte Nucleosid 2'-F-*ribo*-ddA **18** (Weg D).

4.7.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ribo*-ddA) 18

N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)adenosin **78** konnte aus Adenosin **50** nach der Methode von M. Kawana et al. synthetisiert werden (Abbildung 44, Seite 70).[229] Dazu wurde Adenosin **50** zunächst mit 2.5 Äquivalenten 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid (DMTr-Cl) in einem Gemisch aus wasserfreiem Pyridin und DMF (2:3) umgesetzt. N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-

dimethoxytriphenylmethyl)adenosin **78** konnte nach chromatographischer Aufreinigung als gelblicher Schaum in einer Ausbeute von 68 % isoliert werden.

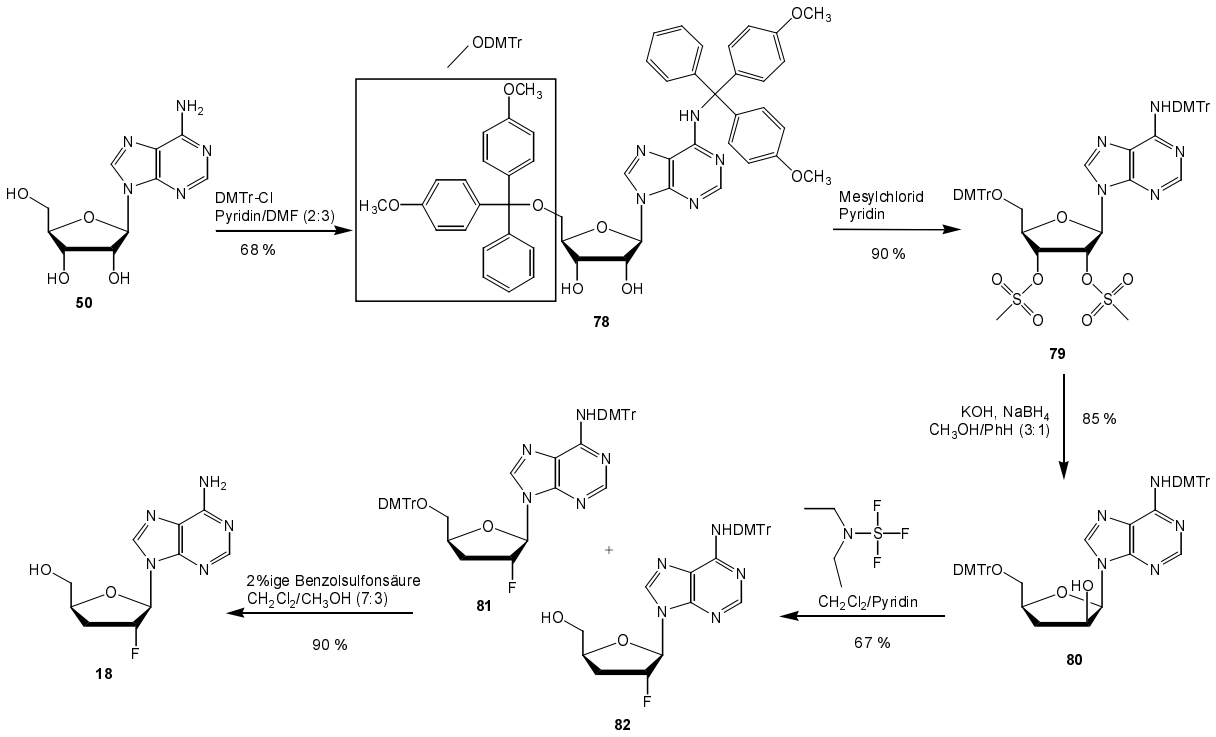


Abbildung 44: Synthese von 2'-F-*ribo*-ddA **18** ausgehend von Adenosin **50**

Die Reaktion mit 3.0 Äquivalenten Mesylchlorid in wasserfreiem Pyridin bei 0 °C und anschließendem Rühren bei Raumtemperatur über Nacht lieferte N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **79** in 90 % Ausbeute. Die Aufreinigung erfolgte chromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten von 50-100 %. Im dritten Schritt wurde **79** in einem Gemisch aus Benzol und Methanol (1:3) gelöst und mit einer Lösung von 10 Äquivalenten Kaliumhydroxid (KOH) in Methanol und 5.0 Äquivalenten Natriumborhydrid versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **80** konnte nach Chromatographie mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 85 % erhalten werden. Die Substitution der 2'-Hydroxylgruppe durch Fluor erfolgte nach einer Methode von T. Tewson et al.[231] durch Reaktion von **80** mit 1.1 Äquivalenten Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST)[64,232,233] in Dichlormethan und Pyridin bei 0 °C. Nach chromatographischer Aufreinigung konnte N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **81** als farbloser Schaum in einer Ausbeute von 67 % isoliert werden.

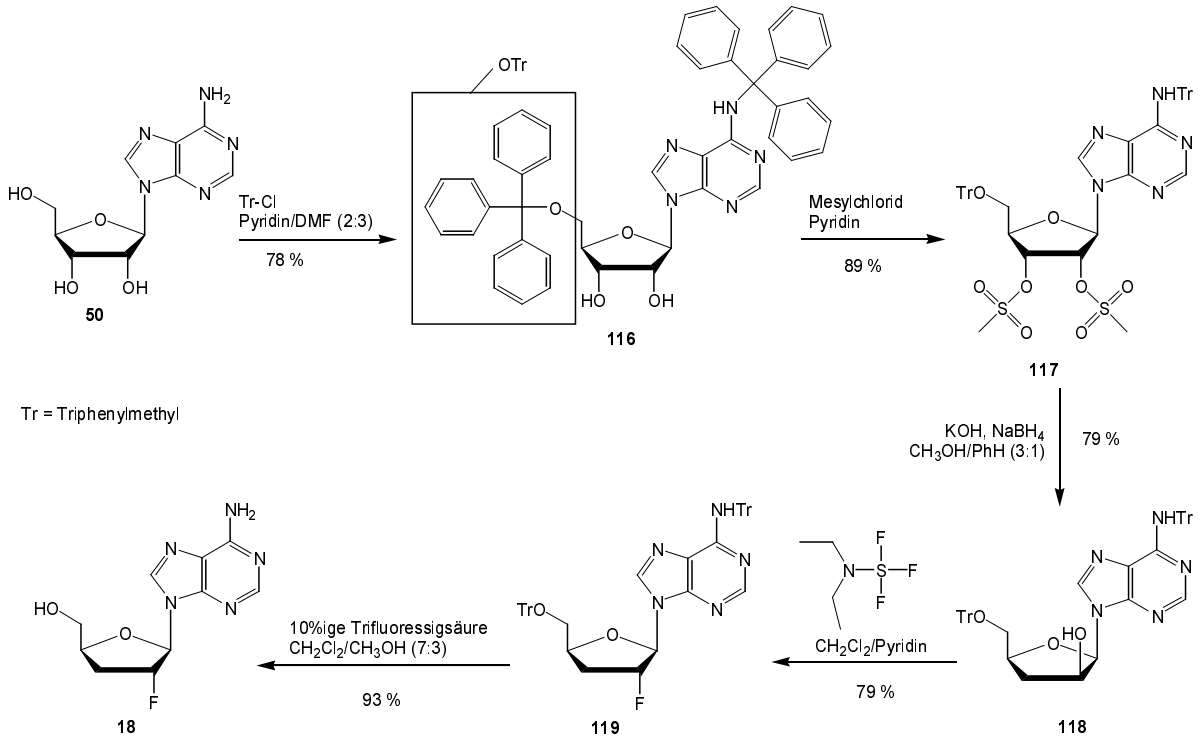


Abbildung 45: Synthese von 2'-F-*ribo*-ddA **38** ausgehend von Adenosin **81**

Allerdings wurde nach der chromatographischen Aufreinigung zusätzlich N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **82** detektiert. Offenbar spaltet sich die 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Gruppe unter den bei dieser Reaktion herrschenden schwach sauren Bedingungen ab. Nach abschließender Entschützung der N^6- und $O^{5'}$-Position mit einer 2 %igen Lösung von Benzolsulfonsäure in Dichlormethan/Methanol (7:3) oder mit einer 10 %igen Trifluoressigsäure bei Raumtemperatur konnte das gewünschte Nucleosid-Analogon 2'-Fluor-*ribo*-ddA **18** in einer Ausbeute von 90 % erhalten werden. Ausgehend von Adenosin **50** wurde 2'-F-*ribo*-ddA **18** über die beschriebenen fünf Schritte in einer Gesamtausbeute von 31 % erhalten. Anstelle der 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Gruppe wurde versucht die säurestabilere und kostengünstigere Schutzgruppe Triphenylmethylchlorid für die Synthese des 2'-F-*ribo*-ddA **18** zu verwenden. N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)adenosin **83** konnte aus Adenosin **50** synthetisiert werden. Dazu wurde Adenosin **50** zunächst mit Triphenylmethylchlorid (Tr-Cl) und katalytischen Mengen Dimethylaminopyridin (DMAP) bei 40 °C in einem Gemisch aus wasserfreiem Pyridin und wasserfreiem DMF (2:3) umgesetzt. Nach wässriger Aufarbeitung, Extraktion mit Diethylether und chromatographischer Aufreinigung mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-5 %) konnte N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-adenosin **83** in einer Ausbeute von 78 % isoliert werden. Die anschließende Reaktion mit 3.0 Äquivalenten Mesylchlorid in wasserfreiem Pyridin bei 0 °C und anschließendem Rühren bei Raumtemperatur über Nacht lieferte N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **84**

in 89 % Ausbeute. Die Aufreinigung erfolgte wie schon im Fall der 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-geschützten Verbindung **79** chromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten von 50-100 %. Im dritten Schritt wurde **84** in einem Gemisch aus Benzol und Methanol (1:3) gelöst und mit einer Lösung von 10 Äquivalenten Kaliumhydroxid (KOH) in Methanol und 5.0 Äquivalenten Natriumborhydrid versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)-adenin **85** konnte nach Chromatographie mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 79 % erhalten werden. Die Substitution der 2'-Hydroxylgruppe durch Fluor erfolgte wiederum nach der Methode von T. Tewson et al.[231] N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **86** konnte nach chromatographischer Aufreinigung als farbloser Schaum in einer Ausbeute von 79 % isoliert werden. Hierbei wurde keinerlei Nebenprodukt detektiert. Nach abschließender Entschützung der N^6- und $O^{5'}$-Position mit einer 10 %igen Trifluoressigsäure bei Raumtemperatur konnte das gewünschte Nucleosid-Analogon 2'-Fluor-*ribo*-ddA **18** in einer Ausbeute von 93 % erhalten werden.

Ausgehend von Adenosin **50** konnte 2'-F-*ribo*-ddA **18** mit Hilfe von Triphenylmethylchlorid (Tr-Cl) als Schutzgruppe der $O^{5'}$- und N^6-Position in einer Ausbeute von 40 % erhalten werden. Vergleicht man beide Syntheserouten von 2'-F-*ribo*-ddA **18** miteinander so ist die Verwendung der Triphenylmethyl-Schutzgruppe im Hinblick auf die Gesamtausbeute (31 % *versus* 40 %) effizienter.

4.8 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI)

4.8.1 Synthesestrategien für 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) 32 und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) 33

Die Hypoxanthin-Nucleoside 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** sind problemlos aus den entsprechenden Adenin-Nucleosiden 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** durch desaminierende Reaktionen darstellbar. Die Umwandlung von Adenin in Hypoxanthin durch Desaminierung gelingt sowohl auf chemischen als auch auf enzymatische Weg. Eine solche Reaktion bietet sich besonders dann an, wenn bereits die entsprechenden Adenin-Nucleosid-Analoga zur

Verfügung stehen und auf eine aufwendigere und kostenintensivere, separate Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** verzichtet werden kann.

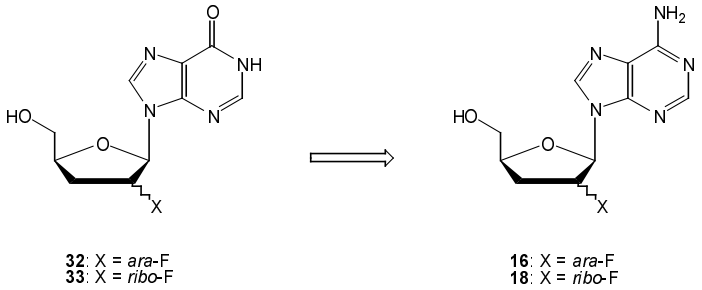


Abbildung 46: Synthesestrategien der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33**

Da im Allgemeinen vor der enzymatischen Desaminierung die Synthese der entsprechenden Adenin-Derivate erforderlich ist, soll kurz auf einige Synthesemöglichkeiten besonders von 2'-F-*ara*-ddA **16** eingegangen werden (Abbildung 47, Seite 74).[234] Die Synthesestrategien von 2'-F-*ribo*-ddA **18** und deren Darstellung wurden bereits ausführlich in Kapitel 4.7, Seite 68 diskutiert.

Ausgehend von 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** kann nach Schützung der 5'-Hydroxyl-Gruppe die 2'-Position mit Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) durch ein Fluoratom substituiert werden.[64] Eine weitere Möglichkeit, ausgehend von 1-Brom-3-*O*-acetyl-5-*O*-benzoyl-2-deoxy-2-fluor-D-arabinofuranose **89**, ist der Aufbau des Nucleosides durch Reaktion mit 6-Chlorpurin und anschließender Barton-Desoxygenierung der 3'-OH-Gruppe (**88**).[35,36] Hierbei muß allerdings eine aufwendige Isomerentrennung in Kauf genommen werden. Das bereits bei der Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** verwendete 3'-Brom-3'-desoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** (Kapitel 4.1.2, Seite 30) kann auch zur Darstellung von 2'-F-*ara*-ddA **16** verwendet werden. Nach regioselektiver Deacetylierung der 2'-Position und Debromierung mittels Hydrierung kann die 2'-Hydroxylgruppe von **87** wiederum mit Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) durch ein Fluoratom substituiert werden.[196] Die Gesamtausbeute dieser Route (**52**→**87**→**16**) liegt bei 6.5 %. Eine Desaminierung von 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** ist auf verschiedene Arten durchführbar. Zum einen kann die Umsetzung der entsprechenden Adenosin-Derivate mit Natriumnitrit ($NaNO_2$) in Eisessig durchgeführt werden.[35] Weitaus eleganter ist jedoch eine enzymatische Desaminierung. Hierbei ist die Verwendung der kommerziell erhältlichen Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4.) die am häufigsten beschriebene Methode zur Herstellung von Hypoxanthin-Nucleosid-Analoga.[35]

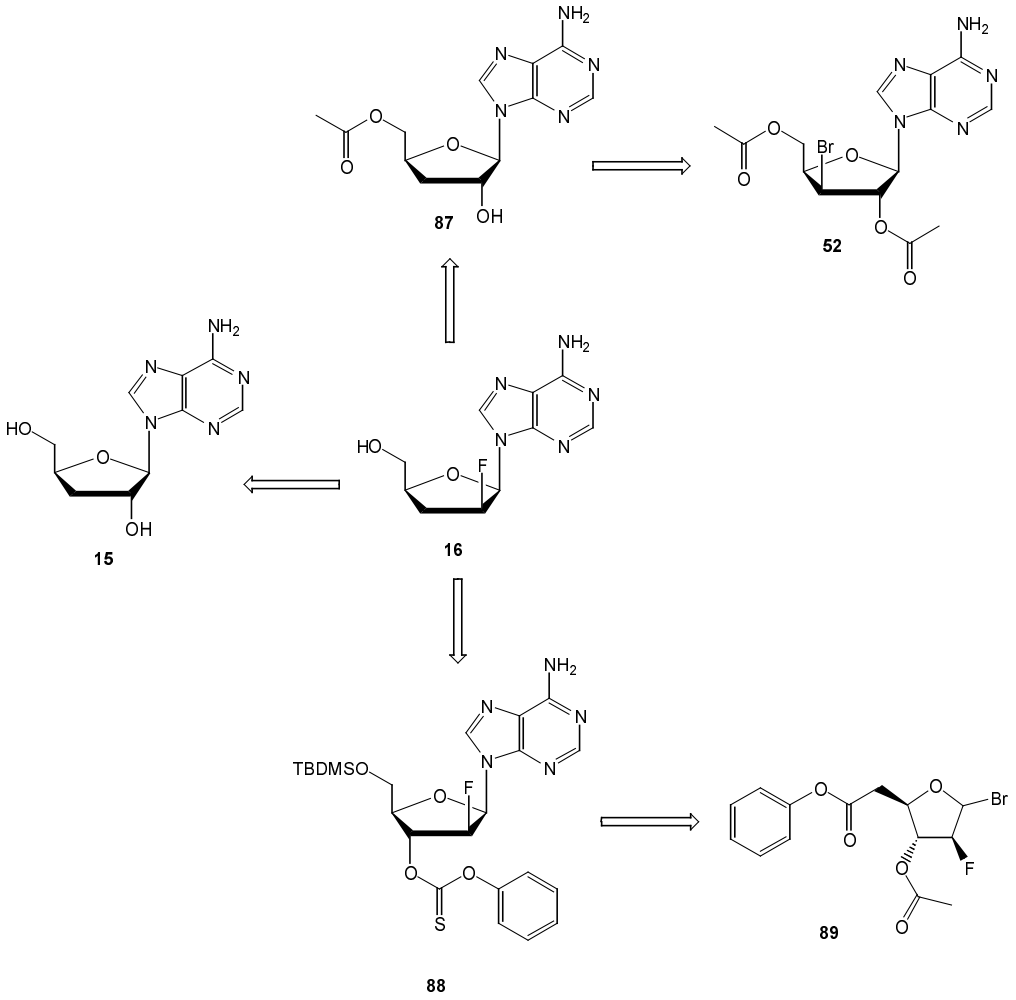


Abbildung 47: Synthesemöglichkeiten von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16**

4.8.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) 32 und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) 33

Da die Adenin-Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16** (Spende von V. E. Marquez, NCI) und 2'-F-*ribo*-ddA **18** bereits zur Verfügung standen, konnte für die Synthese der entsprechenden Hypoxanthin-Nucleoside **32** und **33** eine enzymatische Desaminierung durchgeführt werden. Hierbei wurde ähnlich der Synthese von 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** das entsprechende Nucleosid in Wasser gelöst. Aufgrund der Säurestabilität der 2'-fluorierten Nucleoside konnte auf den Triethylamin-Zusatz verzichtet werden (Kapitel 2.2.4, Seite 12). Im Anschluß daran wurden 10 Units des kommerziell erhältlichen Enzyms Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4) aus Kälberdarmschleimhaut hinzugegeben und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt.

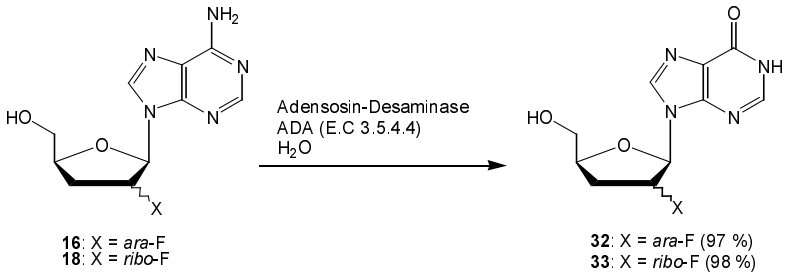


Abbildung 48: Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33**

Das Enzym wurde mit kaltem Methanol gefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter filtriert, um restliches Enzym zu entfernen. Die weitere Aufreinigung erfolgte chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0 - 10 %. Man erhielt einen farblosen Feststoff in einer Ausbeute von 97 % bzw. 98 %.

4.9 Darstellung der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-, und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Verbindungen

4.9.1 Darstellung der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-, *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-, und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Verbindungen 38a-c,e-f, 39a-c, 40c und 41c (Synthesevariante A)

Ausgehend von den entsprechenden Nucleosiden 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18,** 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** konnten die *cyclo*Sal-NMP-Verbindungen **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** in dieser Variante mittels Phosphor(III)-Chemie[156,157] unter Verwendung der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** erfolgreich dargestellt werden. Das Nucleosid wurde zusammen mit 2.0 Äquivalenten Diisopropylethylamin (DIPEA) in einem Lösungsmittelgemisch aus Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1) gelöst und auf - 40 °C abgekühlt. Anschließend wurde dazu langsam eine Lösung aus 1.5 Äquivalenten des jeweiligen cyclischen Saligenylchlorphosphans **70a-c,e-h** in 1.0 ml Acetonitril über einen Zeitraum von zwei Stunden hinzugetropft. Nach der Zugabe wurde 30 min bei - 40 °C gerührt und mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids überprüft. Anschließend wurde bei - 40 °C mit 4.0 Äquivalenten *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Das Reaktionsgemisch ließ man auf Raumtemperatur erwärmen und das Lösungsmittel wurde anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Man erhielt ein gelbes Öl.

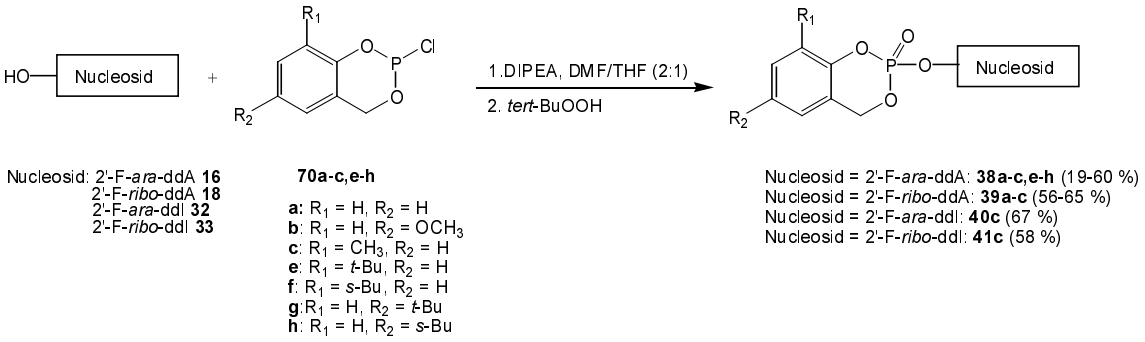


Abbildung 49: Synthese der *cyclo*Sal-Phosphattriester **38a-c,e-h, 39a-c, 40c** und **41c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)

Nach chromatographischer Aufreinigung erhielt man sowohl die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Triester **38a-c,e-h**, und **39a-c** als auch die beiden 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP- und 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Triester **40c** und **41c** als farblose Öle bzw. nach dem Lyophilisieren als weiße Watten in Ausbeuten von 19 - 67 % (Abbildung 49). Die Verbindungen wurden durch NMR- und UV-Spektroskopie sowie massenspektrometrisch nachgewiesen und charakterisiert.

Verbindung	Substituent	chemische Verschiebung [ppm]	Diastereomeren-verhältnis
38a	H	- 9.55/- 9.66	1 : 0.88
38b	5-OMe	- 9.38/- 9.48	1 : 0.75
38c	3-Me	- 9.23/- 9.24	1 : 0.64
38e	3-*tert*-Bu	- 8.46/- 8.74	1 : 0.96
38f	3-*sek*-Bu	- 8.34/- 8.38/- 8.58/- 8.60	1 : 0.96 : 1.34 : 0.81
38g	5-*tert*-Bu	- 9.30/- 9.41	1 : 0.72
38h	5-*sek*-Bu	- 9.32/- 9.43	n. b.
39a	H	- 9.83/- 9.85	1 : 1
39b	5-OMe	- 9.63 (slow)/- 9.65 (fast)	1 : 0.98
39c	3-Me	- 9.23/- 9.24	1 : 0.92
40c	3-Me	- 9.16/- 9.20	1 : 0.63
41c	3-Me	- 9.16/- 9.20	1 : 1

Tabelle 6: Chemische Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum und Diastereomerenverhältnis der *cyclo*Sal-NMP-Verbindungen **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c**

Man erhielt Diastereomerengemische, die sich in der Konfiguration am Phosphor unterschieden. Deren Verhältnis wurde nach zweimaliger chromatographischer Aufreinigung mittels ^{1}H- bzw. ^{31}P-NMR-Spektroskopie bestimmt und sind in Tabelle 6 aufgelistet. Im Fall des

5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddA-Phosphattriesters **39b** konnten die Diastereomere mit Hilfe von semipräparativer HPLC (RP-HPLC) voneinander getrennt werden. Die beiden Diastereomere konnten so jeweils den Hydrolyseuntersuchungen im Phosphatpuffer und den antiviralen *in vitro* Zelltests unterzogen werden. Syntheseversuche der 2'-fluorierten *cyclo*Sal-Phosphattriester über die Variante B bzw. Variante C wurden nicht durchgeführt.

4.9.2 Darstellung von *cyclo*Sal-(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP) 38c unter Verwendung von 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid als Schutzgruppe

Da bei Verwendung der Synthesevariante A im Fall von Adenin-Nucleosiden immer auch die unerwünschte N^6,$O^{5'}$-Bis-*cyclo*Sal-Verbindung isoliert wurde, versuchte man, über die Verwendung einer N^6-Schutzgruppe Nebenprodukte zu vermeiden. Eine Synthesemöglichkeit besteht darin, daß das Nucleosid 2'-F-*ara*-ddA **16** selektiv in der N^6-Position des Heterocyclus geschützt wird und dann mit dem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70** zu einer N^6-geschützten 5'-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Verbindung umgesetzt wird (siehe Abbildung 50, Seite 78). Diese wird dann in einem abschließenden Schritt entschützt. Da die glycosidische Bindung von 2'-F-*ara*-ddA **16** bei Säureeinwirkung nicht gespalten wird und der *cyclo*Sal-Phosphattriester basenlabil ist, müssen säurelabile Schutzgruppen für die $O^{5'}$- und die N^6-Position des Nucleosides gewählt werden. Hierfür ist 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid als Schutzgruppe geeignet.

Die selektive Schützung der exocyclischen Aminogruppe konnte nur über eine zweistufige Reaktion gelingen. In einem ersten Schritt wurde eine Lösung aus 1.0 Äquivalenten des Nucleosids 2'-F-*ara*-ddA **16** mit 3.0 Äquivalenten 4,4-Dimethoxytriphenylmethylchlorid in Pyridin als Lösungsmittel und dem Zusatz von 0.1 Äquivalenten *N*,*N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) umgesetzt. Man erhielt N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **90** in einer Ausbeute von 95 %. Im nächsten Schritt wurde die 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Gruppe an der $O^{5'}$-Position durch kurze Einwirkung einer 2 %igen Benzolsulfonsäure in einem 7:3 Gemisch aus Dichlormethan und Methanol selektiv abgespalten (siehe Abbildung 50). Um die optimalen Abspaltungsbedingungen zu ermitteln, wurde eine kleine Menge des N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **90** mit einem Überschuß an 2%iger Benzolsulfonsäure versetzt und die Reaktion in Abständen von 0.5 Minuten dünnschichtchromatographisch verfolgt. Die so ermittelte optimale Reaktionszeit für eine selektive Detritylierung der 5'-OH-Position lag zwischen 2 und 3 Minuten.

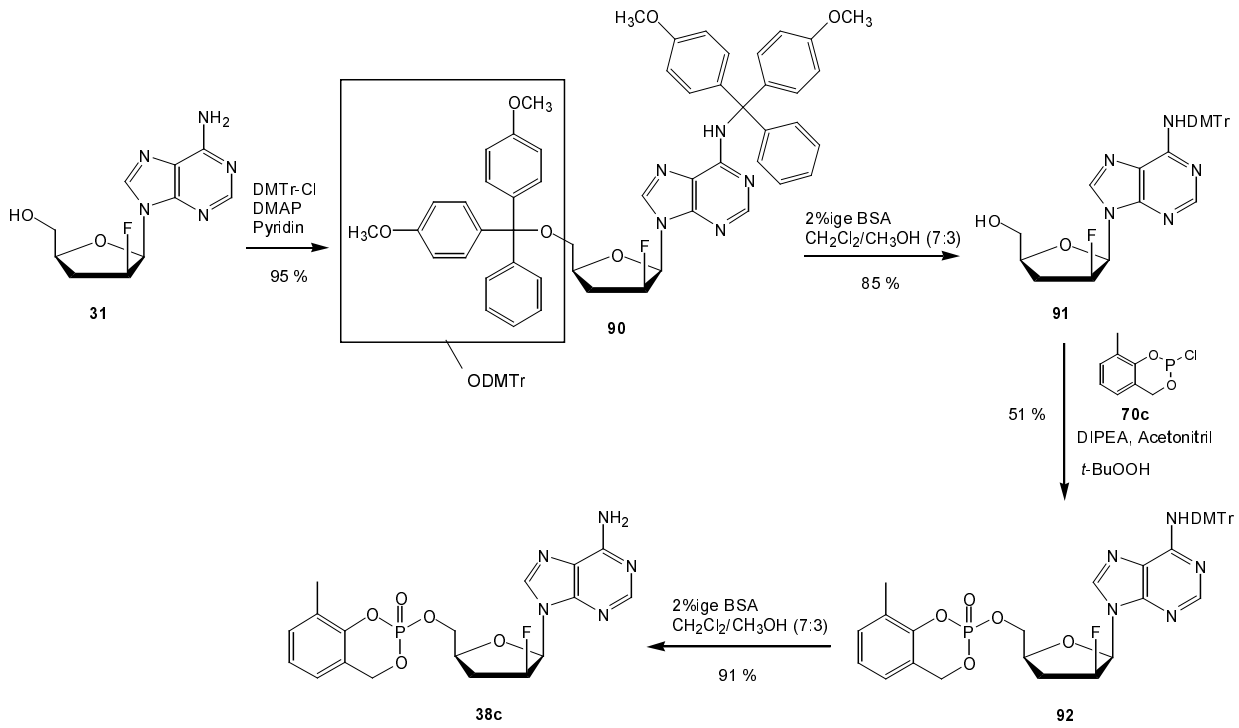


Abbildung 50: Darstellung von 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP **38c** mittels Schutzgruppenstrategie

N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **90** wurde nun mit einem Überschuß an 2%iger Benzolsulfonsäure in einem 7:3 Gemisch aus Dichlormethan und Methanol versetzt. Die Reaktion wurde nach 2.5 Minuten durch sofortige chromatographische Aufreinigung gestoppt. Die selektive Detritylierung der 5'-Position wurde durch die Existenz der 5'-OH-Gruppe bei 5.03 ppm bzw. des NH-Protons bei 7.31 ppm mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie nachgewiesen (siehe Kapitel 6.22.2, Seite 262). Man erhielt so N^6-(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **91** in einer Ausbeute von 85 %. Es konnten weiterhin 7 % des eingesetzten Eduktes **90** reisoliert werden. N^6-(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **91** wurde im Anschluß in wasserfreiem Acetonitril gelöst und mit 2.0 Äquivalenten *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und eine Lösung von 3.0 Äquivalenten cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** hinzugetropft. Nach Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid und anschließender chromatographischer Aufreinigung konnten 51 % des an der N^6-Position geschützten *cyclo*Sal-Phosphattriesters **92** isoliert werden. In einem letzen Schritt wurde N^6-(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-5'-*O*-*cyclo*(3'-methylsaligenyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **92** mit 2 %iger Benzolsulfonsäure in einem 7:3 Gemisch aus Dichlormethan und Methanol versetzt (Abbildung 50). Die ermittelte optimalen Reaktionszeit für eine selektive Detritylierung der exocyclischen Aminogruppe liegt zwischen 10 und 15 Minuten. Nach

sofortiger chromatographischer Aufreinigung erhielt man *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38c** in einer Ausbeute von 91 %. Ausgehend von 2'-Fluor-*ara*-ddA **16** konnte *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38c** mit Hilfe von 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid (DMTr-Cl) als Schutzgruppe der $O^{5'}$- und N^6-Position in einer Ausbeute von 37 % erhalten werden. Diese Methode ist somit nicht nur aufgrund der zu erzielenden Ausbeute, sondern auch durch den erforderlichen zeitlichen Mehraufwand und die Verwendung der relativ teuren Schutzgruppe 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid der Synthesevariante A unterlegen. Berücksichtigt werden muß allerdings, daß die Synthesevariante B zur Darstellung des N^6-geschützten *cyclo*Sal-Nucleotids bei dieser Methode bisher noch nicht angewendet wurde. Damit könnte eine Steigerung der Ausbeute, wie im Fall der *cyclo*Sal-d4TMP-Triester **42** erreicht werden (siehe Kapitel 4.14, Seite 103f). Außerdem ist die Verwendung der Triphenylmethyl-Schutzgruppe anstelle der 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Schutzgruppe (siehe dazu auch Kapitel 4.9.2, Seite 77) eine weitere interessante Variation in Hinblick auf die Synthesekosten.

4.10 Synthese der 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphate und 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyinosin-5'-Monophosphate

4.10.1 Darstellung von 2‘-F-*ara*-ddAMP 46α, 2‘-F-*ribo*-ddAMP 47α, 2‘-F-*ara*-ddIMP 48α und 2‘-F-*ribo*-ddIMP 49α

Wie zuvor in Kapitel 4.5.1 auf Seite 49 beschrieben existieren mehrere Möglichkeiten der Darstellung von Nucleotiden ausgehend von den entsprechenden Nucleosiden. Im Fall der 2‘-fluorierten Nucleoside **16**, **18**, **32** und **33** findet jedoch keine Spaltung der glycosidischen Bindung unter sauren Reaktionsbedingungen statt, so daß auch die Synthesewege A und B (siehe Kapitel 4.5.1, Seite 49) zur Darstellung der 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphate **46**α, **47**α und 2‘-Fluor-2',3'-Didesoxyinosin-5'-Monophosphate **48**α, **49**α in Betracht gezogen werden können. Da jedoch die Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxyadenosin-5‘-Monophosphat (ddAMP) **8** aus *cyclo*Sal-ddAMP **35a** erfolgreich war, (siehe Kapitel 4.5.2, Seite 50) sollte diese neue Methode auch auf andere Nucleoside angewendet werden. Deshalb wurde im Fall der 2‘-fluorierten Nucleoside ebenfalls versucht, deren 5‘-Monophosphate **46**α-**49**α aus den *cyclo*Sal-Phosphattriestern **38a**, **39a**, **40a** und **41a** durch basen-induzierte Hydrolyse darzustellen. Die Durchführung entspricht der für ddAMP **8** in Kapitel 4.5.1 auf Seite 49 beschrieben.

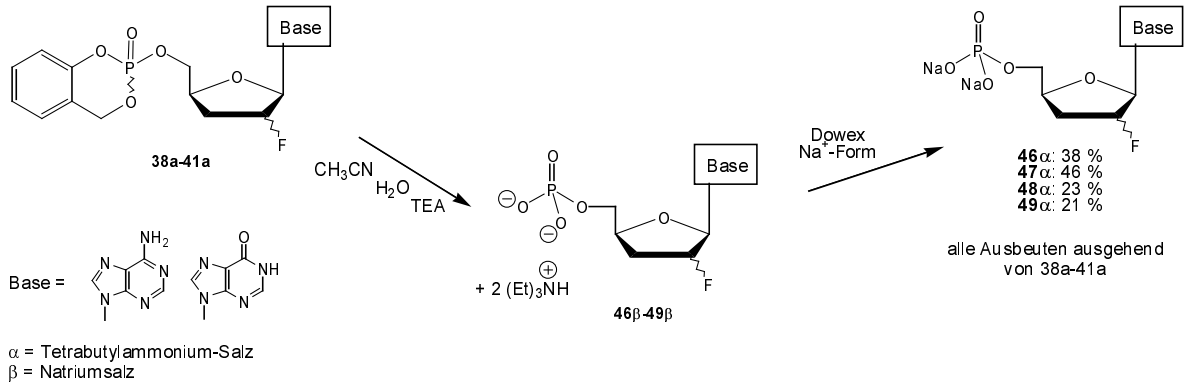


Abbildung 51: Darstellung der 5‘-Monophosphate **46**α-**49**α

Die erreichte Ausbeute lag für 2‘-F-*ara*-ddAMP+2Na$^+$ **46**α bei 38 %, 2‘-F-*ribo*-ddAMP+2Na$^+$ **47**α bei 46 %, für 2‘-F-*ara*-ddIMP+2Na$^+$ **48**α bei 23 %, 2‘-F-*ribo*-ddIMP+2Na$^+$ **49**α bei 21 %.

4.11 Eigenschaften der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Verbindungen

4.11.1 Verteilungskoeffizient der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleosid-Monophosphate 38a-c,e-h, 39a-c, 40c und 41c

Wie zuvor in Kapitel 4.6.1.1 auf Seite 52 beschrieben, wurden für die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleotide **38a-c,d-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** die Nernst'schen Verteilungskoeffizienten (PC- und log*P*-Werte) in einem 1-Octanol/Wasser-Gemisch (1:1, v/v) bestimmt. Als Referenzverbindung für die Abschätzung eines passiven Zellmembrantransportes diente AZT **1**. Desweiteren wurden die ermittelten Verteilungskoeffizienten mit dem entsprechenden Ausgangsnucleosid 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** verglichen. Die Durchführung erfolgte wie in Kapitel 4.6.1.1 beschrieben. Wie aus den Ergebnissen aus Tabelle 7 ersichtlich, sind die Verteilungskoeffizienten aller *cyclo*Sal-Verbindungen **38a-c,d-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** > 1 und weisen durchgehend positive log*P*-Werte auf. Alle *cyclo*Sal-Verbindungen sind außerdem lipophiler als die Ausgangsverbindungen 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33**. Vergleicht man die PC-Werte der *cyclo*Sal-Verbindungen mit denen ihrer entsprechenden Nucleoside, so sind diese im Falle der Verbindungen **38a-c,e-h** um einen Faktor 13-290 höher als 2'-F-*ara*-ddA **16** und im Falle der Derivate **39a-c** um einen Faktor 8-14 höher als 2'-F-*ribo*-ddA **18**. Der Effekt der Alkylsubstituenten *tert*-Butyl und *sek*-Butyl in der 3- und 5-Position im aromatischen Ring üben einen enormen Effekt auf die PC-Werte aus.

Verbindung	Substituent	PC-Wert	log*P*-Wert
38a	H	8.91	0.95
38b	5-OMe	11.0	1.04
38c	3-Me	19.5	1.29
38e	3-*tert*-Bu	135	2.13
38f	3-*sek*-Bu	166	2.22
38g	5-*tert*-Bu	156	2.19
38h	5-*sek*-Bu	200	2.30
2'-F-*ara*-ddA **16**	---	0.69	-0.16[235]
39a	H	5.25	0.72
39b	5-OMe (mix)	5.13	0.71
39b	5-OMe (fast)	n.b.	n.b.
39b	5-OMe (slow)	n.b.	n.b.
39c	3-Me	8.51	0.93
2'-F-*ribo*-ddA **18**	---	0.63	-0.20
40c	3-Me	3.24	0.51
2'-F-*ara*-ddI **32**	---	0.06	-1.19
41c	3-Me	1.74	0.24
2'-F-*ribo*-ddI **33**	---	0.11	-0.96
AZT **1**	---	1.09	0.04[156]

Tabelle 7: Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleotide **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c**

Die Steigerung in der Lipophilie ist so dramatisch, daß eine zuverlässige Bestimmung der PC-Werte mittels HPLC-Analytik nicht mehr möglich ist. Trotzdem zeichnet sich hier wie auch schon im Fall der *cyclo*Sal-ddAMP-Phosphattriester **35e-h** der Trend ab, daß ein *sek*-Butyl-Substituent die Lipophilie der Verbindung stärker erhöht als ein *tert*-Butyl-Substituent. Weiterhin kann man aus den Ergebnissen in Tabelle 7 erkennen, daß ein *sek*-Butyl-Rest in der 5-Position des aromatischen Rings wesentlich lipophiler ist, als ein 3-*sek*-Butyl-Substituent. Durch den Vergleich zu AZT **1**, welches einen log*P*-Wert von 0.04[156] besitzt, und die Zellmembran ausschließlich durch passiven Transport passiert, kann man davon ausgehen, daß die in Tabelle 7 genannten *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddA-Phosphattriester **38a-c,e-h** und **39a-c** ebenfalls aufgrund ihrer log*P*-Werte passiv die Membran durchdringen können.

Die Verteilungskoeffizienten der Nucleoside **16** und **18** unterscheiden sich nicht wesentlich (**16**: 0.69; **18**: 0.63), wohingegen die PC-Werte der entsprechenden *cyclo*Sal-Triester **38a-c** und **39a-c** um einen Faktor 2 voneinander abweichen. Offensichtlich tragen die verschiedenen *cyclo*Sal-Masken einen unterschiedlich großen Beitrag zu der Lipophilie der Triester bei, je nachdem, um welches Nucleosid es sich handelt. Diese Beobachtung kann allerdings noch nicht erklärt werden. Hierzu könnten computergestützte Untersuchungen (Molecular Modelling) und NMR-Studien weiterhelfen, um eventuelle strukturelle Unterschiede der Verbindungen, die zu unterschiedlicher Lipophilie führen können, aufzudecken. Weiterhin, sind hohe Lipophiliewerte nicht ausschließlich für eine intrazelluläre Anreicherung des Wirkstoffs verantwortlich. Eine direkte Korrelation zwischen Lipophilie und erleichtertem Zellmembrantranport ist nicht immer möglich, zumal ein sehr hoher PC-Wert einer Verbindung die Wasserlöslichkeit verringert und somit die Verabreichung enorm erschwert wird. Dies wird deutlich, vergleicht man den log*P*-Wert von 2'-F-*ara*-ddA **16** mit dem von ddA **7**. 2'-F-*ara*-ddA ist lipophiler als ddA (**16**, -0.18[235],**7**, -0.29[235]), trotzdem kann ddA **7** weitaus besser in das Zellinnere gelangen als F-*ara*-ddA **16**.[63]

4.11.2 Hydrolysekinetiken in wäßrigen Puffersystemen

Die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleotide **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c** wurden, wie zuvor auch die *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **35a-h** und **34a-d**, in wässrigen Puffersystemen auf ihre Hydrolyseeigenschaften untersucht (Kapitel 4.6.2.1, Seite 55). Man verwendete einen Phosphatpuffer nach Sörensen (12.5 mM, pH 7.3) bei einer Temperatur von 37 °C. Die Durchführung der Hydrolysekinetiken erfolgte analog zu den in Kapitel 4.6.2.1 auf Seite 55 beschriebenen Hydrolysekinetiken für die *cyclo*Sal-ddA- und *cyclo*Sal-d4A-Phosphattriester (**35**, **34**). Wie in Tabelle 8 zusammengefaßt ist liegen die gemessenen Halbwertszeiten der Phosphattriester **38** und **39** zwischen 8.4 und 102.5 Stunden. Auch hier konnte, wie schon im Fall des *cyclo*Sal-ddAMP-Triesters **35a** (siehe Kapitel 4.6.2.1, Seite 55 bzw. Abbildung 41, Seite 58), durch Coinjektion des entsprechenden Salicyl-alkohols **29a** bzw. des entsprechenden Nucleotids **46** mittels HPLC nachgewiesen werden, daß unter diesen Bedingungen das Nucleotid 2‘-F-*ara*-ddAMP **46** freigesetzt wird. (siehe Abbildung 52, Seite 83). Interessanterweise hat die Stellung des Fluoratoms an der C2'-Position der Ribose keinerlei Auswirkungen auf die Stabilität der Triester. Vergleicht man die erhaltenen Werte der Verbindungen **38c** und **39c** bzw. **40c** und **41c** miteinander, so läßt sich außerdem feststellen, daß auch der Heterocyclus Adenin bzw. Hypoxanthin die Halbwertszeit nicht wesentlich beeinflußt.

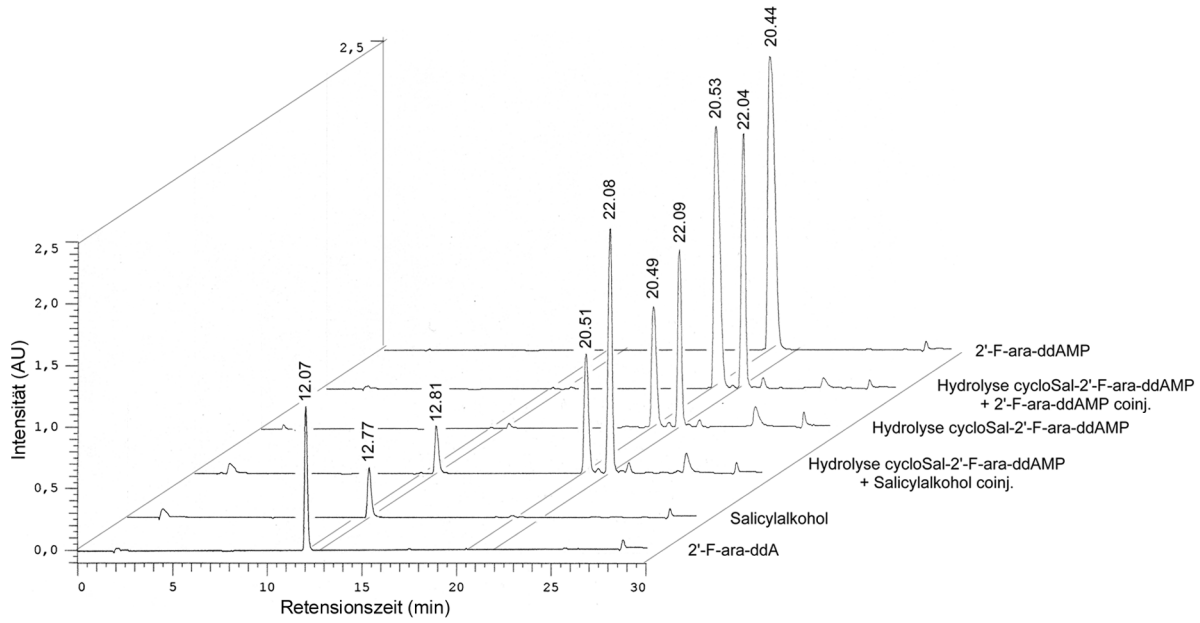


Abbildung 52: Hydrolyse von *cyclo*Sal-2‘-F-ara-ddAMP **38a** und Coinjektionen von **46** und **29a** in TBAP-Puffer

Wie in Tabelle 4 auf Seite 60 gezeigt wurde, sind allerdings die Halbwertszeiten der *cyclo*Sal-2'-F-ddAMP-Verbindungen **38** und **39** um etwa die Hälfte kleiner, als die der *cyclo*Sal-ddAMP-Triester **35**. Das legt den Schluß nahe, daß das Fluoratom an der C2'-Position, einen aktivierenden Effekt auf das Hydrolysezentrum am Phospharatom ausübt, obwohl es sechs Bindungen davon entfernt ist. Wie auch im Fall der *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **34a-c** zu sehen ist, scheint auch eine Doppelbindung zwischen der C2' und der C3'-Position einen aktivierenden Effekt auszuüben (Tabelle 4, Seite 60).

Im Fall der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Triester **38** und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Derivate **39** ist wiederum eine Abhängigkeit der Halbwertszeit von den Eigenschaften des Donorsubstituenten im aromatischen Ring zu erkennen. Auf Hydrolyseexperimente aller fluorierten *cyclo*Sal-Verbindungen unter sauren Bedingungen wurde verzichtet, da im Fall der Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** bereits eine extreme hohe Säurestabilität der glycosidischen Bindung bewiesen worden ist[35] und folglich auch die entsprechenden *cyclo*Sal-Verbindungen **38** und **39** diese Eigenschaft beibehalten sollten. Trotzdem wurde am Beispiel des 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Triesters **38c** exemplarisch die Halbwertszeit in einem Glycin/HCl Puffer (12.5 mM, 37 °C) bei einem pH von 1.5 und 3.0 bestimmt. Die Durchführung der Hydrolysekinetiken erfolgte analog zu den in Kapitel 4.6.2.1 auf Seite 55 beschriebenen Hydrolysekinetiken für die *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Triester (**34**, **35**).

		Halbwertszeit ($t_{1/2}$) in wässrigen Puffersystemen (12.5 mM) bei 37 °C [h]		
		Phosphatpuffer	Glycin/HCl	
Verbindung	Substituent (R)	pH 7.3	pH 1.5	pH 3.0
38a	H	8.9	---	---
38b	5-OMe	13.0	---	---
38c	3-Me	21.6	19	284
38e	3-*tert*-Butyl	102.5	---	---
38f	3-*sek*-Butyl	67.8	---	---
38g	5-*tert*-Butyl	13.0	---	---
38h	5-*sek*-Butyl	24.4	---	---
2'-F-*ara*-ddA **16**	---	---	stabil[36]	
39a	H	8.4	---	---
39b	5-OMe (mix)	12.3	---	---
39b	5-OMe (fast)	14.0	---	---
39b	5-OMe (slow)	8.9	---	---
3c	3-Me	23.4	---	---
2'-F-*ribo*-ddA **18**	---	---	stabil[36]	
40c	3-Me	22.2	---	---
41c	3-Me	22.7	---	---

Tabelle 8: Halbwertszeiten der *cyclo*Sal-Derivate **38a-c,e-h**, **39a-d**, **40c** und **41c**

Wie erwartet konnte ein Bruch der glycosidischen Bindung nicht beobachtet werden, jedoch wurde eine pH-Wert abhängige Hydrolyse des Phosphattriesters detektiert. Der Phosphattriester **38c** weist eine Halbwertszeit $t_{1/2}$ bei pH 3.0 von 284 Stunden auf. Die starke Abnahme der Halbwertszeit bei pH 1.5 ($t_{1/2}$ = 19 h) ist dabei die Folge der säurekatalysieren Spaltung der Phosphatesterbindungen. Im Fall des 5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddA-Phosphattriesters **39b** ist es gelungen die beiden Diastereomere zu trennen und separat einer Hydrolysekinetik im Phosphatpuffer bei pH 7.3 auszusetzen. Hierbei wurde festgestellt, daß das "fast"-Diastereomer unter den oben genannten Bedingungen stabiler ist als das entsprechende "slow"-Diastereomer. Diese Ergebnisse decken sich nicht mit den Beobachtungen, die im Fall der von M. Lorey untersuchten *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen gemacht wurden.[157,159] Hier war das "slow"-Diastereomer mit R_p-Konfiguration am Phosphoratom das stabilere Isomer. Da das Elutionsverhalten der einzelnen Diastereomere nicht einheitlich ist, muß, um diese Beobachtungen miteinander vergleichen zu können, die

absolute Konfiguration 5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Verbindungen **39b** (fast) und **39b** (slow) bestimmt werden. Dies könnte durch eine Röntgenstrukturanalyse von Einkristallen der slow- bzw. fast-Verbindungen ermittelt werden. Kristallisationsversuche der Verbindung **39b** wurden bereits erfolgreich durchgeführt, allerdings konnten die erhaltenen Reflexe nicht integriert werden. Eine weitere Möglichkeit ist der Vergleich einer Modellverbindung mit bekannter Konfiguration. Bereits im Fall der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen wurde zur Aufklärung der Konfiguration am Phosphoratom die Modellverbindung *cyclo*(5-Chlorsaligenyl)-(-)-menthylmonophosphat hinzugezogen.[159] Die von Dr. W. Laux synthetisierte Verbindung konnte, nach der Trennung der Diastereomeren, in Einkristallen erhalten werden und mit Hilfe von Röntgenstrukturanalyse eindeutig dem R_p- und S_p-Diastereomer zugeordnet werden. In den anschließend gemessenen CD-Spektren konnte in bezug auf die Konfiguration am Phosphoratom ein positiver Cotton-Effekt für das S_p-Isomer bestimmt werden, während das R_p-Isomer einen negativen Cotton-Effekt zeigte.[236]

4.11.3 Anti-HIV Aktivität der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*- und *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-Nucleosid-Monophosphate 38a-c,e-h, 39a-c, 40c und 41c

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini vom Rega Institute for Medical Research, in Leuven (Belgien), wurden die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Derivate **38a-c,e-h,** die *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Verbindungen **39a-c** sowie die *cyclo*Sal-2'-F-ddIMP-Derivate **40c** und **41c** auf ihre *in vitro* anti-HIV-Aktivität in Zellkulturen untersucht. Auch in diesem Fall diente eine Wildtypzellinie humaner T-Lymphozyten (CEM/0) als Testsystem. Die *cyclo*Sal-Verbindungen **38a**, **39a**, **39c, 40c** und **41c** wurden zusätzlich gegen das Moloney murine sarcoma Virus (MSV) in C3H/3T3 embryonalen Fibroblasten getestet. Die CEM/0-Zellen wurden mit HIV-1 und HIV-2 infiziert. Die EC_{50}- und CC_{50}-Werte sind in Tabelle 9 zusammengefaßt. Zusätzlich wurden die entsprechenden Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** als Vergleichssubstanzen getestet. Wie die Ergebnisse aus Tabelle 9 zeigen, ist eine Verbesserung der antiviralen Aktivität *cyclo*Sal-2'-F-ddAMP-Prodrugs im Vergleich zu den entsprechenden Nucleosiden eingetreten. Die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Verbindungen **38a-c,e-h** sind 8-24 mal aktiver als das Nucleosid **16**, während die *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Prodrugs **39a-c** eine Verbesserung der anti-HIV-Aktivität um einem Faktor > 13-21 im Vergleich zu dem inaktiven 2'-F-*ribo*-ddA **18** aufweisen.

Dies ist wie schon im Fall der nicht-fluorierten *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **35** und **34** ausschließlich auf die selektive Freisetzung des 5'-Monophosphates

und somit auf einen erfolgreichen ADA-Bypass zurückzuführen. Wie sich aber später noch zeigen wird existiert im Fall der 2‘-Fluor-Nucleoside **16** und **18** ein weiterer metabolischer „Flaschenhals“ der durch die *cyclo*Sal-Verbindungen **38c**, **39c, 40c** und **41c** lokalisiert werden konnte.

Wie in Tabelle 9 auf Seite 87 zu sehen läßt sich keinerlei Abhängigkeit zwischen den Donor-eigenschaften des Substituenten des aromatischen Rings und der antiviralen Aktivität feststellen. Die beiden 2'-F-*ribo*-Nucleoside **18** und **33** sind wie erwartet ohne jegliches antivirale Potential (EC_{50} > 250 µM), hingegen weisen die EC_{50}-Werte der beiden 2'-F-*ara*-Nucleoside **16** und **32** gegen HIV-1 und HIV-2 einen ähnlichen Wert auf (EC_{50} = 30-40 µM). Diese Werte stimmen gut mit den gefundenen HIV-Aktivitäten in MT-4 Zellen überein (EC_{50} ca. 35 µM).[64] Im gleichen Zellassay weist ddA **7** einen 10fach höheren Wert auf, als F-*ara*-ddA **16**, obwohl man intrazellulär eine höhere 2'-F-*ara*-ddADP- und 2'-F-*ara*-ddATP-Konzentration erwarten sollte. Den Grund für diese Annahme zeigt ein Experiment an MOLT-4 Zellen, in dem die Konzentration an Diphosphat und Triphosphat in der Zelle in Abhängigkeit von der Zeit untersucht wurde. Hierbei wurden innerhalb eines bestimmten Zeitraums im Vergleich zu ddADP **9** und ddATP **10** ein 20- bzw. 5-fach höherer Level an 2'-F-*ara*-ddADP bzw. 2'-F-*ara*-ddATP **17** gefunden.[63]

Interessant ist auch, daß die erhaltenen antiviralen Aktivitäten gegenüber HIV-1 und HIV-2 und der Selektivitätsindex (SI) sowohl im Fall der *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Triester **38** als auch bei der 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-Verbindung **40c** in dem Bereich von ddA **7** liegen. Die Verbindungen **38e-h** sind, obwohl sie aufgrund der *tert*-Butyl und *sek*-Butyl-Substituenten im aromatischen Ring eine extrem hohe Lipophilie aufweisen (Tabelle 7, Seite 81), gleichermaßen antiviral aktiv, wie die restlichen Verbindungen **38a-c**. Die Erhöhung der Lipophilie durch verschiedenen Substituenten hat also weder positive noch negative Auswirkungen auf das biologische Potential.

Wie bisher für *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide ausschließlich beobachtet, ist auch im Fall der Derivate **38a-c**,**e-h** keinerlei Korrelation zwischen PC-Wert und biologischer Aktivität festzustellen. Desweiteren wurden die antiviralen Aktivitäten der getrennten Diastereomere der 5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Verbindung **39b** bestimmt. Man erkennt, daß das "fast"-Diastereomer aktiver als das „slow“-Diastereomer. Diese Beobachtung ist ungewöhnlich, da im Falle der getrennten *cyclo*Sal-d4TMP-Triester das "slow" eluierende Diastereomer (R_p) in allen Fällen aktiver ist als das "fast" eluierende (S_p)-Diastereomer.[159,157] Dabei hat man einen Faktor von 3 bis 16 beobachten können. Allerdings ist zu bedenken, daß

sich die Elutionseigenschaften der R_p- und S_p-Diastereomere von **39b** im Vergleich zu den *cyclo*Sal-d4TMP-Triester verändert haben.

Verb.	Subst.	Antivirale Aktivität EC_{50} [µM]			Zytotoxizität		
		CEM/0 HIV-1	CEM/0 HIV-2	C3H/3T3 MSV	CEM/0 CC_{50} [µM]	C3H/3T3 MCC [µM]	SI (CEM)
38a	H	4.53	1.85	1.7	137	> 50	74
38b	5-OMe	1.50	5.67	---	121	---	80
38c	3-Me	3.67	3.3	---	146	---	44
38e	3-*tert*-Butyl	3.0	7.5	---	32.4	---	11
38f	3-*sek*-Butyl	2.1	3.0	---	22.9	---	11
38g	5-*tert*-Butyl	3.5	5.0	---	54.0	---	15
38h	5-*sek*-Butyl	3.5	5.5	---	52.7	---	15
16 (2'-F-*ara*-ddA)		36	40.0	> 50	> 250	> 50	> 6.8
39a	H	19.0	13.0	4.7	> 250	> 50	> 19
39b	5-OMe (m)	20.0	25.0	---	> 250	---	> 12
39b	5-OMe (f)	22.5	30.0	---	142	---	---
39b	5-OMe (s)	50.0	50.0	---	> 250	---	---
39c	3-Me	11.7	12.5	2.83	118	> 50	10
18 (2'-F-*ribo*-ddA)		> 250	> 250	> 50	> 250	> 50	> 8
40c	3-Me	3.57	3.57	> 50	92	> 50	26
32 (2'-F-*ara*-ddI)		41.7	30.0	> 50	> 250	> 50	> 8.0
41c	3-Me	75.0	31.7	> 50	> 250	> 50	18
33 (2'-F-*ribo*-ddI)		> 250	> 250	> 50	> 250	> 50	20
7 (ddA)		4.33	4.55	39.1	> 250	> 50	> 57
5 (ddI)		3.5	4.0	> 50	156	> 50	44

Tabelle 9: Antivirale Aktivität der 2'-fluorierten *cyclo*Sal-Verbindungen **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c** und **41c**

Besonders interessant sind die Ergebnisse der *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Triester **39**. Im Gegensatz zu dem Nucleosid 2'-F-*ribo*-ddA **18** zeigen alle 2'-F-*ribo*-Derivate antivirale Aktivität (EC_{50} = 12-25 µM) sowohl in HIV-1 als auch in HIV-2 infizierten CEM/0-Lymphozyten. Bei den Verbindungen **39a-c** ist auch hier wiederum eine Korrelation zwischen den Substituenten der *cyclo*Sal-Maske und der antiviralen Aktivität nicht möglich. Das aktivste Pro-Nucleotid in dieser Reihe ist die 3-Methyl-substituierte Verbindung **39c**. Das *cyclo*Sal-Konzept ist demnach in der Lage, das gänzlich inaktive Nucleosid 2'-F-*ribo*-ddA **18**

in eine antiviral aktive Verbindung zu verwandeln. Die erhaltenen EC_{50}-Werte der *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Triester **39** zeigen eine 3-4 mal höhere Aktivität als für das Nucleosid 2'-F-*ara*-ddA **16**, welches zwischenzeitlich bereits die klinische Phase I erfolgreich bestanden hat.[72] Trotzdem findet man zwischen den *cyclo*Sal-F-*ara*- und den *cyclo*Sal-F-*ribo*-ddAMP-Verbindungen **38a-c,e-h** und **39a-c** immer noch einen 4-5 fachen Unterschied im biologischen Potential. Dieser Unterschied ist exakt der gleiche, den H. Mitsuya und V.E. Marquez für die IC_{50}-Werte der entsprechenden Triphosphate 2'-F-*ara*-ddATP **17** (12 µM) und 2'-F-*ribo*-ddATP **19** (50 µM) auf isolierter, rekombinanter RT gefunden haben.[237] Diese Beobachtung könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Phosphorylierung zum Triphosphat unabhängig von der Konfiguration des Fluoratoms an der C2'-Position ist. Offensichtlich liegt der limitierende Schritt im Metabolismus des 2'-F-*ribo*-ddAs **18** an einer anderen Stelle. Mit Hilfe des *cyclo*Sal-Konzeptes wurde versucht, diese metabolische Blockade zu lokalisieren. Zu den bisherigen Überlegungen ist es weiterhin wichtig, die antiviralen Aktivitäten der *cyclo*Sal-2'-F-ddIMP-Verbindungen **40c** und **41c** im Vergleich zu den Nucleosiden 2'-F-*ribo*-ddI **33** und 2'-F-*ara*-ddI **32** und zu den entsprechenden *cyclo*Sal-2'-F-ddAMP-Verbindungen **38c** und **39c** hinzuzuziehen. Daß die beiden enzymatischen Reaminierungsschritte von 2'-F-ddIMP zu 2'-F-ddAMP nur im Fall der *ribo*-Verbindung nicht effizient abläuft, wird durch Vergleich der antiviralen Daten der Verbindungen **38c** (3.67 µM) und **40c** (3.57 µM) bzw. **39c** (11.7 µM) und **41c** (75 µM) deutlich.

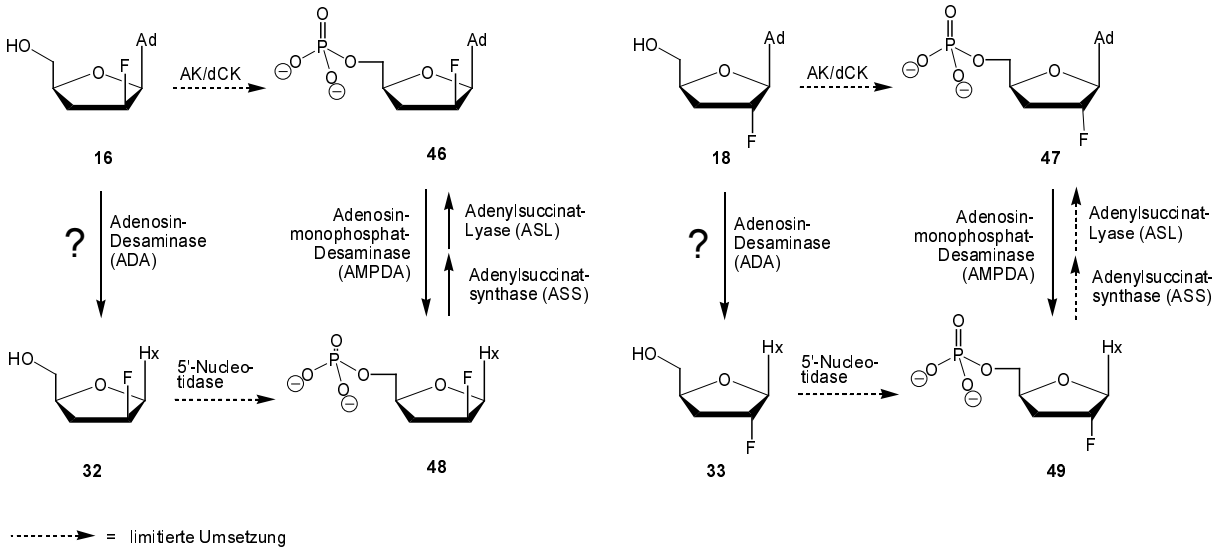


Abbildung 53: Limitierende Schritte im Metabolismus von 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18**

Die *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-Verbindungen **38c** und **40c** weisen nahezu identische anti-HIV-Aktivitäten auf, was für eine effektive Umwandlung von 2'-F-*ara*-ddIMP **48** zu 2'-F-*ara*-

ddAMP **46** durch die beiden Enzyme ASS und ASL spricht (Kapitel 2.2.4, Seite 12). Im Fall der *ribo*-Verbindungen **39c** und **41c** weist der Verlust an antiviraler Aktivität im Fall von 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP **41c** darauf hin, daß die Umwandlung von 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** zu 2'-F-*ribo*-ddAMP **47** sehr ineffektiv ist. Ein weiterer limitierender Schritt ist die Phosphorylierung von 2'-F-*ribo*-ddI **33** zu 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** durch die 5'-Nucleotidase.

Dies wird deutlich, vergleicht man die antiviralen Daten des *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP-Triesters **41c** (75 µM) mit den antiviralen Daten des Nucleosids **33** (**33**: > 250 µM). Das anti-HIV-inaktive 2'-F-*ribo*-ddI **33** kann, wie in Tabelle 9 zu sehen ist, erst mit Hilfe *cyclo*Sal-Konzeptes und der entsprechenden Verbindung **41c** antivirales Potential aufbauen, da dadurch der phosphorylierende Schritt zum 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** umgangen wird. Dieser Verlust an Aktivität durch eine ineffektive Phosphorylierung durch das Enzym 5'-Nucleotidase, wird auch bei der Umwandlung von 2'-F-*ara*-ddI **32** zu 2'-F-*ara*-ddIMP **48** deutlich, vergleicht man die antiviralen Daten des *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP-Triesters **40c** (3.57 µM) mit den antiviralen Daten des Nucleosids **32** (41.7 µM) (Abbildung 53, Seite 88).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, daß durch die Synthese der *cyclo*Sal-Phosphattriester **38c, 39c, 40c** und **41c** und den Vergleich der antiviralen Aktivitäten untereinander, eine limitierte Umwandlung innerhalb des vierstufigen Umwegs im Metabolismus nachgewiesen werden konnte. Weiterhin ist es eine Überlegung wert, inwieweit das Enzym Adenosin-Desaminase (ADA) an der metabolischen Blockade beteiligt ist. Um dieses herauszufinden, wurden Versuche zur enzymatischen Stabilität mittels UV-Spektroskopie durchgeführt, deren Resultate im nächsten Kapitel ausführlich beschrieben werden.

4.11.4 Enzymatische Stabilität

Wie in Kapitel 2.2.4 auf Seite 12 bereits erwähnt wurde, werden auch 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** durch desaminierende Enzyme zu ihren Hypoxanthin Derivaten abgebaut. Aufgrund dieser enzymatischen Reaktion müssen, wie im vorausgegangenen Kapitel beschrieben wurde, weitere, z.T. limitierende Schritte durchlaufen werden, um das Triphosphat zu generieren. Sie bedeuten zwangsläufig einen Verlust des biologischen Potentials. Aus Gründen, die bereits in Kapitel 4.6.4 auf Seite 66 beschrieben sind, wurden exemplarisch sowohl die 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-ddAMP-Verbindungen **38c** und **39c**, als auch die entsprechenden Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** und das 5'-Monophosphat 2'-F-*ara*-ddAMP **46** auf ihre enzymatische Stabilität gegenüber Adenosin-Desaminase (ADA, EC 3.5.4.4) bzw. Adenosinmonophosphat-Desaminase (AMPDA, EC 3.5.4.6) getestet. Die en-

zymatischen Studien wurden, wie bereits in Kapitel 4.6.4 auf Seite 66 beschrieben, unter identische Bedingungen durchgeführt.

Die beiden Nucleoside **16** und **18** wurden mit nur 0.25 U ADA versetzt, da eine vollständige Desaminierung des 2'-F-*ribo*-ddA **18** bereits nach 0.6 min, des 2'-F-*ara*-ddA **16** bereits nach 30 min zu beobachten war (siehe Kapitel 8 (Anhang), 1. Abbildung). Die extrem schnelle Desaminierung von 2'-F-*ribo*-ddA **18** im Vergleich zu ddA **7** (2 min), d4A **14** (10 min) und 2'-F-*ara*-ddA **16** (30 min) ist höchstwarscheinlich auf die Konformation des Zuckerrings des 2'-F-*ribo*-ddAs zurückzuführen Das Enzym Adenosin-Desaminase (ADA) scheint eine C3'-endo-Konformation (North), wie sie im 2'-Fluor-*ribo*-Zuckerringen (Kapitel 2.2.5. Seite 14) und bei ddA **7** vorkommt, zu bevorzugen. 2'-F-*ara*-ddA **16** welches zum Hauptteil aus einer C2'-endo-Konformation (South) besteht (Kapitel 2.2.4, Seite 12), bzw. Nucleoside die keinerlei konformativen Präferenz des Riboserings besitzen (d4A **14**) werden weniger effizient desaminiert. Die hier gemachten Beobachtungen sind identisch mit kinetischen und strukturellen Untersuchungen konformativ eingeschränkter Nucleoside, die V.E. Marquez et al. parallel zu den hier diskutierten Studien gemacht haben.[61] Weiterhin wurde die Abbaureaktion von 2‘-F-*ara*-ddAMP **46** zu 2‘-F-*ara*-ddIMP **48** mittels AMPDA über einen Zeitraum von 200 min untersucht. Hierbei wurde eine 50 %ige Desaminierung von **46** zu **48** beobachtet (siehe Kapitel 8 (Anhang), 3. Abbildung). Im Vergleich zu ddAMP **8** wird 2‘-F-*ara*-ddAMP **46** schneller desaminiert, allerdings ist im Vergleich zu dem natürlichen Substrat 2‘-dAMP die Desaminierung von **46** immer noch extrem verlangsamt, was auf die strukturellen Unterschiede zurückzuführen ist.

Wie schon im Fall der 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Verbindungen **35c** und **34c** gezeigt werden konnte, ist auch im Fall der 2'-fluorierten 3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP-Derivate **38c** und **39c** keinerlei Desaminierung durch ADA (0.5 U ADA) bzw. AMPDA (2 U AMPDA) innerhalb von 200 min zu beobachten (siehe Kapitel 8 (Anhang), 2. und 4. Abbildung). Auch hier wurden vor und nach der Enzymzugabe UV-Spektren aufgenommen, welche durch eine Veränderung des Absorptionsmaximums (λ_{Adenin}: 260 nm, $\lambda_{Hypoxanthin}$: 250 nm) eine Desaminierung der 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-ddAMP-Verbindungen **38c** und **39c** sichtbar machen würden. Um sicherzustellen, daß inhibitorische Effekte der untersuchten 3-Me-*cyclo*Sal-Derivate bei dem Experiment keine Rolle spielen wurde zunächst der 3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddA-Phosphattriester **38c** zusammen mit 2 U AMPDA in einem 10 mM Phosphatpuffer für 60 min inkubiert. Zu den Zeitpunkten t(0) und t(60) wurden wiederum UV-Spektren gemessen. Hierbei konnte ebenfalls keinerlei Verschiebung des Absorptionmaximus von 260 nm festgestellt werden. Im Anschluß daran wurde das natürliche Substrat

der AMPDA (2'-dAMP) hinzugegeben. Man beobachtete einen zügigen Abfall der Absorption bei 260 nm innerhalb von 2 Stunden (siehe Kapitel 8 (Anhang), Abbildung 5 und 6). Innerhalb einer Stunde wurden dabei etwa 90 % des hinzupipettierten 2'-dAMP desaminiert. Das Enzym war somit noch in der Lage 2'-dAMP zu 2'-dIMP umzusetzen. Berücksichtigt man einen Abfall der Enzymaktivität während der einstündigen Inkubation bei einer Temperatur von 37 °C und etwaiger Schwankungen der Enzymkonzentration in unterschiedlich verwendeten Enzym-Chargen, so korreliert das erhaltene Ergebnis gut mit den zuvor gemachten Beobachtungen ohne Triesterzusatz (siehe Kapitel 8 (Anhang), Abbildung 3). Bei letzterem Versuch wurde 2'-dAMP innerhalb einer Stunde vollständig desaminiert (100 %). Dies weist eindeutig darauf hin, daß die *cyclo*Sal-Derivate nicht als Inhibitoren der AMPDA wirken.

Im Gegensatz dazu konnte für das Nucleotid 2'-F-*ara*-ddAMP **46** ein Abbau zu 2'-F-*ara*-ddIMP **48** durch das Enzym AMPDA beobachtet werden (siehe Kapitel 8 (Anhang), Abbildung 3). Bedingt durch die strukturellen Unterschiede von 2'-F-*ara*-ddAMP **46** im Vergleich zu dem natürlichen Substrat 2'-Desoxyadenosin-5'-monophosphat (2'-dAMP) wird das 2'-fluorierte Nucleotid allerdings in dem untersuchten Zeitraum (200 min) nur zu etwa 50 % desaminiert, währen 2'-dAMP bereits nach einer Stunde vollständig desaminiert wurde.

Als Kontrollexperiment wurde die zu untersuchenden Verbindungen über den gleichen Zeitraum ohne Enzym inkubiert.

4.12 Konformationsanalyse von Nucleosiden

Seit der Entdeckung von AZT als Medikament in der AIDS Therapie sind die meisten Nucleosid-Analoga nur in Hinblick auf das Fehlen der 3'-OH-Guppe entwickelt worden, damit das entsprechende Triphosphat die RT des HI-Virus inhibieren kann. Doch wurde schnell klar, daß dieses Kriterium nicht unbedingt der wichtigste strukturelle Parameter ist, welcher benötigt wird, um eine Verbindung zu einem biologisch aktiven Wirkstoff zu machen.

Vielmehr ist die Kenntnis der beteiligten Enzyme im Metabolismus des Nucleosids, deren Substratpräferenz und letztlich auch die Wechselwirkungen von Substrat und Enzym entscheidend, um zu verstehen, warum eine Verbindung biologisch aktiv oder biologisch inaktiv ist. Ein wesentlicher Faktor der diese Aufklärung von Struktur-Aktivitätsbeziehungen erschwert, ist die vorhandende strukturelle Flexibilität des Nucleosids.[238] Hierbei

beschreiben drei Parameter die wichtigsten konformativen Eigenschaften eines Nucleosids:[239]

1. Der Torsionswinkel der glycosidischen Bindung χ (der Winkel C2-N1-C1'-O4' im Falle der Pyrimidine und der Winkel C4-N9-C1'-O4' im Fall der Purine), beschreibt die Orientierung der Base relativ zu dem Furanosering. Wie in Abbildung 54 gezeigt ist, sind hierbei zwei verschiedene Stellungen (syn, anti) der Base möglich.

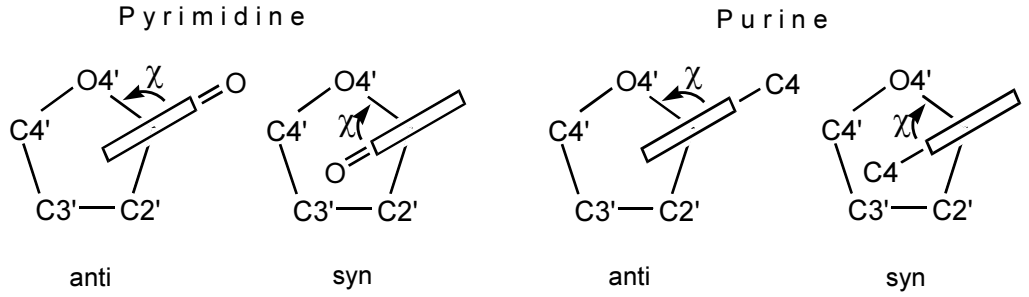


Abbildung 54: Verschiedene Geometrien der glycosidischen Bindung am Beispiel der Pyrimidin- und Purin-Basen

2. Der Torsionswinkel γ um die C4'-C5'-Achse beschreibt die Orientierung der 5'-Hydroxygruppe relativ zum Furanosering. Hierbei sind drei Winkel möglich (Abbildung 55) von denen + sc und ap die bei Nucleosiden am häufigsten auftretenden sind.[238]

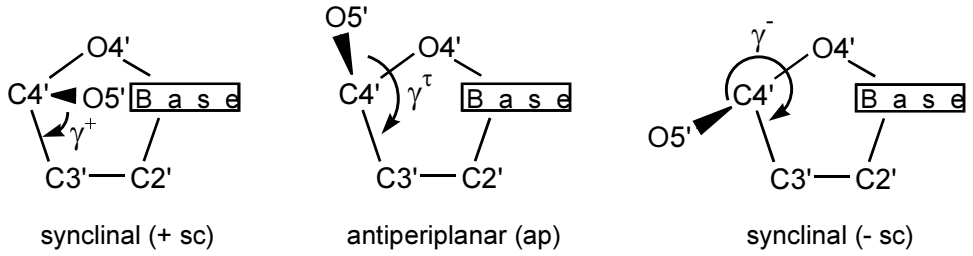


Abbildung 55: Orientierung der C5'-O5'-Bindung relativ zum Furanosering

3. Der Pseudorotationswinkel *P* und der maximale Torsinswinkel ν_{max} beschreiben, inwieweit die fünf Atome des Zuckerrings durch Verdrillung von einer planaren Struktur abweichen. Es können hierbei ein Atom (envelope) oder auch zwei (twist) Atome aus der Ebene herausragen. Es konnte eine gute Korrelation zwischen dem Pseudorotationswinkel *P* und der Stellung der 5'-OH Gruppe (γ) festgestellt werden.[240] Der Torsionswinkel ν_{max} gibt das Ausmaß dieser Verdrillung des Furanoserings an. In Abbildung 56, Seite 93 ist der Pseudorotationszyklus mit den verschiedenen Anordnungen des Furanoserings aufgezeigt.

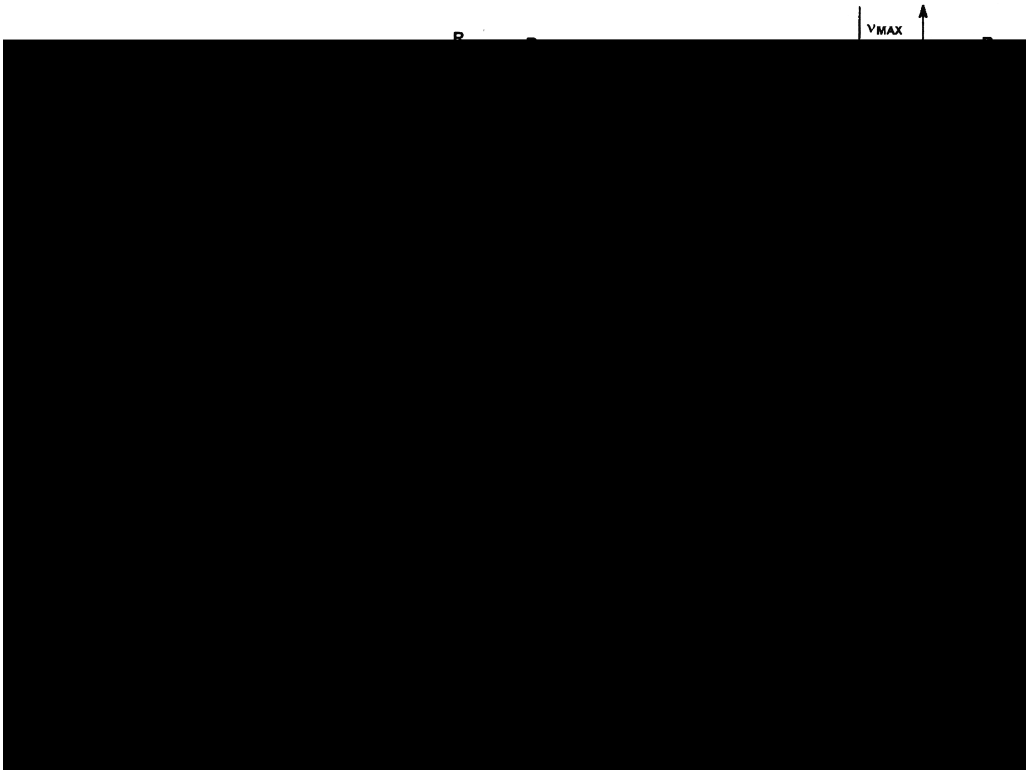


Abbildung 56: Pseudorotationswinkel *P* und ν_{max} des Furanoserings

Die meisten Nucleoside liegen in Lösung in einem dynamischen Gleichgewicht zwischen einer C3'-endo (P ≈ 20°, North) Konformation und einer C2'-endo (P ≈ 160°, South) Konformation vor, wobei North (N) bzw. South (S) jeweils ein Energieminimum darstellen. Dieses N/S-Umwandlung ist auf der NMR-Zeitskala sehr schnell. Während der N/S-Umwandlung müssen North- bzw. South-Konformere eine Energiebarriere überwinden, wobei von den beiden möglichen zu durchlaufenden Übergangszuständen, derjenige mit einer O4'-exo Konformation (P ≈ 90°, East) energetisch günstiger ist, als derjenige mit O4'-endo Konformation (P ≈ 270°, West).

Das N/S-Gleichgewicht verläuft deshalb vorwiegend über die rechte Seite (East) des Pseudorotationszyklus. In Abbildung 57 auf Seite 94 ist die höhe der Energiebarrieren (ΔG) in Abhängigkeit des Pseudorotationswinkels *P* dargestellt.[241] In NMR-Studien wurde im Fall der 2'-Fluorribonucleoside eine N/S-Energiedifferenz (ΔG^o) von 1.1 - 2.4 kJ/mol ermittelt.[58] Die Je nachdem, ob es sich um Riboside, Desoxyriboside, Purine oder Pyrimidine handelt kann der berechnete *P*-Wert im Fall von North bzw. South sehr unterschiedlich sein. Ein Großteil der Nucleoside mit North-Konformation weisen *P*-Werte zwischen 3-25° auf (P_N). Im Fall von South-Nucleosiden ist der Bereich an möglichen *P*-Werten größer; hier liegen die gemessenen Pseudorotationswinkel *P* (P_S) zwischen 145 ° und 175 ° ($P_{\varnothing Purine}$ = 158°,

$P_{\varnothing Pyrimidine}$ = 170°). Nucleoside, deren Konformation in Lösung nicht eindeutig fixiert ist, sind für eine Struktur-Aktivitätsuntersuchung nicht geeignet.

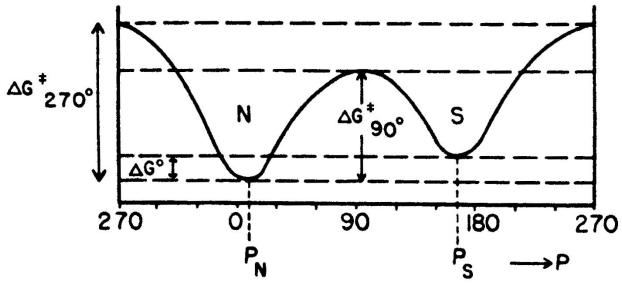


Abbildung 57: Energiebarriere (ΔG) in Abhängigkeit des Pseudorotationswinkels *P*

Vielmehr sind hierbei Nucleosid-Analoga von größerem Interesse, deren Pseudorotationswinkel *P* eindeutig, oder innerhalb eines Toleranzbereiches weniger Grade festgelegt ist. Man geht dabei davon aus, daß ein zu untersuchendes Enzym nur eines der beiden Konformere als Substat akzeptiert und an seiner "active site" effizient umsetzt. Die oben beschriebenen Parameter χ, γ, *P* und ν_{max} wurden an ausgewählten Nucleosiden schon früh mit Hilfe von Röntgenstrukturanalyse, mit ^{1}H-NMR-Studien und mit computergestützer Konformationanalyse untersucht.[238,242,243,244] Hierbei muß beachtet werden, daß die Konformation des Nucleosid-Analogons in Lösung nicht unbedingt identisch mit der Konformation im Kristall ist. Deshalb sind weitere Untersuchungen in Lösung unabdingbar. Mit Hilfe der Hochfeld-Protonen-Kernresonanzspektroskopie können die Veränderung der ^{1}H-^{1}H-Kopplungskonstanten in Abhängigkeit der Temperatur gemessen werden, um das Ausmaß an Flexibilität des Furanoserings zu bestimmen aber auch, um die Population von North und South und die der drei Rotamere der 5'-OH-Gruppe in Lösung zu ermitteln. Herbei ist die Größe der Kopplungskonstanten *J* der resonanzfähigen Atome (Protonen, Fluor) des Zuckerrings von Interesse. Ein Großteil der benötigten Kopplungskonstanten können idealerweise direkt aus dem gemessenen Spektrum erhalten werden und mit Hilfe der Karplus-Beziehung[245,246] kann ermittelt werden, ob bevorzugt eine North- oder South-Konformation vorliegt. In Abbildung 58 und Abbildung 59 auf Seite 95 sind die Newman-Projektionen entlang der drei Bindungen C1'-C2', C2'-C3' und C3'-C4' sowohl für die North- als auch für die South-Konformation am Beispiel eines 2',3'-Didesoxynucleosides bzw. 2'-Desoxynucleosides aufgezeigt.[241]

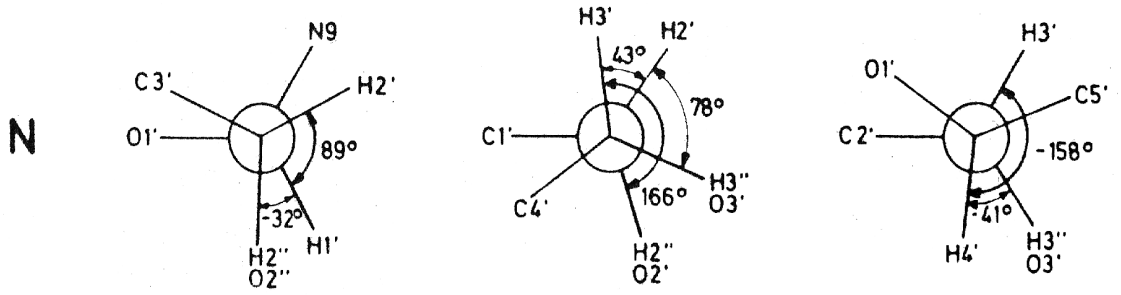


Abbildung 58: Newman-Projektionen entlang der drei Bindungen C1'-C2', C2'-C3' und C3'-C4' (North-Konformation)

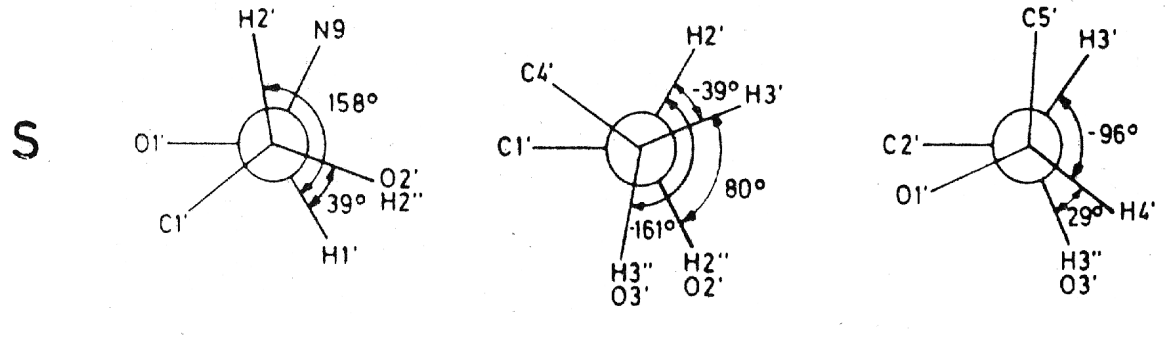


Abbildung 59: Newman-Projektionen entlang der drei Bindungen C1'-C2', C2'-C3' und C3'-C4' (South-Konformation)

In Tabelle 13 sind die berechneten Kopplungskonstanten der vier verschiedenen Kombinationen der beiden Extremwerte von P_N und P_S aufgelistet (**B-E**). Die Kopplungskonstanten der Zeile **A** entsprechen den durchschnittlichen Pseudorotationswinkeln P (P_N = 10°, P_S = 162°). Bereits 1972 wurde mit Hilfe dieser Methode versucht, Konformationsanalysen von verschiedenen Nucleosiden durchzuführen.[241] Viele weitere NMR-Untersuchungen zur Konformation in Nucleosiden folgten.[247,248,249,250,251] 1997 wurde erstmals durch J.J. Barchi und V. E. Marquez monofluorierte 2',3'-Didesoxyuridine mit Hilfe der 500 MHz-^{1}H-NMR-Spektroskopie untersucht.[252]

Iterativ arbeitende Computerprogramme wie z.B. PSEUROT[253] sind entwickelt worden, um aus den experimentell ermittelten vicinalen Kopplungskonstanten die entsprechenden Parameter χ, γ, P und ν_{max} zu errechnen.

Mittels der Karplus-Beziehung, welche eine Funktion des dihedralen Winkels θ darstellt und die abhängig von der Elektronegativität der Substituenten und ihrer relativen Orientierung zu den benachbarten Protonen ist, können oben genannte Parameter errechnet werden.[254]

	P_N [°]	%N %S	100 0	80 20	60 40	40 60	20 80	0 100	P_S [°]
A	10	$J_{1',2'}$	0.0	2.0	4.0	6.1	8.1	10.1	162
		$J_{2',3'}$	4.7	4.8	5.0	5.1	5.3	5.4	
		$J_{3',4'}$	10.1	8.1	6.1	4.2	2.2	0.2	
B	3	$J_{1',2'}$	0.0	2.1	4.2	6.2	8.3	10.4	145
		$J_{2',3'}$	4.6	4.9	5.2	5.6	5.9	6.2	
		$J_{3',4'}$	9.9	8.1	6.4	4.7	2.8	1.1	
C	25	$J_{1',2'}$	0.3	2.1	4.0	5.8	7.7	9.5	175
		$J_{2',3'}$	5.2	5.2	5.2	5.1	5.1	5.1	
		$J_{3',4'}$	10.5	8.4	6.3	4.2	2.1	0.0	
D	3	$J_{1',2'}$	0.0	1.9	3.8	5.7	7.6	9.5	175
		$J_{2',3'}$	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	
		$J_{3',4'}$	9.9	7.9	5.9	4.0	2.0	0.0	
E	25	$J_{1',2'}$	0.3	2.3	4.3	6.4	8.4	10.4	145
		$J_{2',3'}$	5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.2	
		$J_{3',4'}$	10.5	8.6	6.7	4.9	3.0	1.1	

Tabelle 10: Berechnete $^3J_{HH}$-Kopplungskonstanten [Hz] von North und South-Konformationen für fünf verschiedene P_N- und P_S-Kombinationen

4.12.1 Strukturell rigide 2',3'-Didesoxynucleosid-Analoga

Um die Konformation von Nucleosiden "einzufrieren" gibt es mehrere Möglichkeiten, von denen die beiden wichtigsten hier vorgestellt werden sollen. Die erste beeinflußt den Furanosering mit Hilfe von stereoelektronischen Effekten. Hierbei spielt nicht der in Zuckern bekannterweise wirkende "anomere"-Effekt[255,256] die wichtigste Rolle. Elektronenziehende Gruppen wie z.B. Halogene oder OH-Gruppen in C2' oder C3' Position des Zuckers führen dazu, daß entweder eine C3'-endo (North) oder eine C2'-endo (South) Konformation eingenommen wird. Der Grund für diese bevorzugten Konformationen ist der sogenannte "gauche"-Effekt[256,257,250,258], der aus Orbital-Wechselwirkungen zwischen dem Sauerstoffatom des Zuckers und der elektronenziehenden Gruppe resultiert.

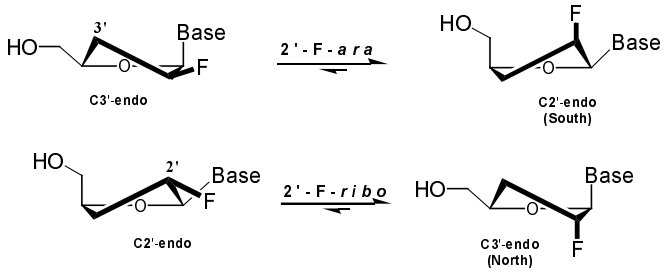


Abbildung 60: Effekt eines 2'-Fluorsubstituenten auf die Konformation

Der "gauche"-Effekt hat einen enormen stereoelektronischen Einfluß auf die stereochemische Orientierung der Nachbargruppen. Er zwingt den elektronegativen Substituenten in eine axiale Position (Abbildung 60).

Fluor als Substituent hat aufgrund seiner enormen Elektronegativität von 4.1 (nach Allred und Rochow)[259] einen größeren Einfluß auf die Zuckerkonformation als andere elektronegative Gruppen.[254] Beispiele hierfür sind 2‘-Fluor-*ara*- und 3'-Fluor-*ribo*-Nucleosid-Analoga, welche vorwiegend in der C2'-endo Konformation vorliegen und 2‘-Fluor-*ribo*- und 3'-Fluor-*ara*-Nucleosid-Analoga, welche fast ausschließlich in der C3'-endo Konformation vorkommen.[260,261,262,263,252] In Abbildung 60 ist dieses am Beispiel von 2'-Fluor-2',3'-didesoxynucleosiden dargestellt.

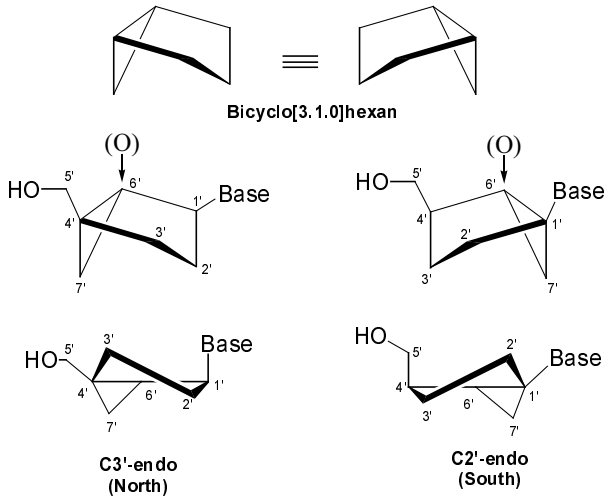


Abbildung 61: Konformativ starre Formen von Nucleosid-Analoga mit Bicyclo[3.1.0]-hexan-Einheit

Eine andere Möglichkeit zum "Einfrieren" der Konformation eines Nucleosids ist, anstelle eines Furanoserings eine Bicyclo[3.1.0]hexan-Einheit einzuführen (siehe Abbildung 61).

Durch diesen Bicyclus handelt es sich nun formal um carbocyclische Nucleoside, die aufgrund des zusätzlichen Cyclopropanrings zwischen dem C4' und C6' bzw. C1' und C6' in

einen konformative Vorzugsrichtung gezwungen werden.[264,265] Durch Austausch des Sauerstoffatoms durch ein Kohlenstoffatom spielen nun sowohl der anomere- als auch der "gauche"-Effekt keine Rolle mehr.

4.12.2 Konformationsanalyse mittels Hochfeld-^{1}H-NMR-Spektroskopie von 2'-fluorierten 5'-Monophosphaten und *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden

Die Aufklärung, warum 2'-F-*ara*-ddA **16** und nicht etwa 2'-F-*ribo*-ddA **18** gegen das HI-Virus aktiv ist, stellt eine enorme Herausforderung dar. Die Korrelation von Struktur und Aktivitätspotential antiretroviraler Nucleoside ist aufgrund der komplexen anabolischen Prozesse, die der Aktivierung zum eigentlichen Wirkstoff, dem 5'-Triphosphat, vorausgehen sehr kompliziert. Der Aktivierungsprozess besteht bestenfalls aus drei, im Fall der Adenin-Nucleoside aus mehreren enzymatischen Schritten (Kapitel 2.2.4, Seite 12), der abschließenden Wechselwirkung mit dem "Target-Enzym", der Reversen Transkriptase (RT) und letztlich der Stabilität der Nucleosid-Triphosphate in der Zelle. Nur durch eine Analyse der bevorzugten Konformation des Nucleosides, zwischen diesen enzymatisch katalysierten Stufen, kann möglicherweise eine Erklärung für die Unterschiede in antiviraler Aktivität der beiden diastereomeren Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** gefunden werden. Wie die antiviralen Daten der *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Verbindungen **39** in Tabelle 9 zeigen, kann durch einen erfolgreichen ADA-Bypass die antivirale Aktivität des 2'-F-*ribo*-ddAs **18** sichtbar gemacht werden. Dieses Phänomen sollte Anlaß genug sein, um zu untersuchen, warum 2'-F-*ribo*-ddA **18** nicht antiviral aktiv ist und in welcher Art und Weise die verschiedenen Konformationen der Nucleoside **16** und **18** eine Rolle im Metabolismus spielen. In Zusammenarbeit mit V.E. Marquez und J.J. Barchi wurde versucht, Antworten auf die gestellten Fragen zu bekommen.

Zur Klärung der Konformation des Riboserings in Lösung ist die Hochfeld-^{1}H-NMR-Spektroskopie eine wichtige Methode. Mit ihr kann man durch Berechnung der Kopplungskonstanten, die Konformation der Nucleoside in Lösung bestimmen. Weiterhin ist es mit Hilfe des Computerprogramms PSEUROT möglich die Parameter des Zuckerrings (P, ν_{max}, γ) berechnen zu lassen. Im Fall der Nucleoside wurden 500 MHz ^{1}H-NMR-Spektren in DMSO-d_6 und in D_2O aufgenommen und die Kopplungskonstanten $J_{H1',H2'}$, $J_{H1',H2''}$, $J_{H2',H3'}$, $J_{H2',H3''}$, $J_{H2'',H3'}$, und $J_{H2'',H3''}$ bestimmt. In Tabelle 11 auf Seite 99 sind diese gezeigt. Steht das 2'-Fluoratom in der *ara*-Position im Ribosering (**16**, **32**), so ist eine South-Anordnung (C2'-endo) die bevorzugte Konformation. Im Fall der 2'-Fluor-*ribo*-Nucleoside **18** und **33** liegt aufgrund der gemessenen Kopplungskonstanten eine North-Konformation (C3'-endo) vor.

Nucleosid	Lösungsm.	$J_{H1',H2'}$	$J_{H1',H2''}$	$J_{H2',H3'}$	$J_{H2',H3''}$	$J_{H2'',H3'}$	$J_{H2'',H3'}$	bevorz. Konform.
2'-F-*ara*-ddA **16**	DMSO-d_6	---	3.9	---	---	3.4	6.0	South
	D_2O	---	3.2	---	---	2.2	5.7	South
2'-F-*ribo*-ddA **18**	DMSO-d_6	0.0	---	4.3	0.0	---	---	North
	D_2O	0.0	---	4.2	0.0	---	---	North
2'-F-*ara*-ddI **32**	DMSO-d_6	---	3.9	---	---	2.4	5.5	South
2'-F-*ribo*-ddI **33**	DMSO-d_6	0.0	---	4.3	0.0	---	---	North

Tabelle 11: ^{1}H-^{1}H-Kopplungskonstanten der Nucleoside **14**, **18**, **32** und **33** in DMSO-d_6 und D_2O in Hertz [Hz]

Einige Enzyme reagieren durchaus sensibel auf solch konformativen Unterschiede, da ihre "active site" nur für eine bestimmte Struktur zugänglich ist und nur ein Molekül welches in diese "active site" passt, umgesetzt wird. Deshalb ist es denkbar, daß sowohl das Enzym Adenosin-Desaminase (ADA), als auch die 5'-Nucleotidase, die beiden Nucleoside (2'-F-*ara*- bzw. 2'-F-*ribo*-) unterschiedlich metabolisieren. Zusätzlich wurden zu den Nucleosiden die 5'-Monophosphate der vier 2'-fluorierten Nucleoside hergestellt und eine qualitative Konformationsanalyse mit Hilfe der ^{1}H-NMR-Spektroskopie in D_2O vorgenommen. Hier sollte untersucht werden, ob die 5'-Phosphatgruppe eine Umkehrung der Konformation im Vergleich zu dem freien Nucleosid ausübt und dadurch eventuell die weitere Umsetzung zum aktiven Metaboliten verhindert wird.

Wie in Tabelle 12 auf Seite 99 zu sehen ist, ist dies nicht der Fall. Wie schon zuvor im Fall der Nucleoside liegen auch die 5'-Monophospate in den erwarteten Konformationen vor. Die 2'-Fluor-*ara*-Nucleotide 2'-F-*ara*-ddAMP **46** und 2'-F-*ara*-ddIMP **48** bevorzugen eine South, die 2'-Fluor-*ribo*-Adenylate 2'-F-*ribo*-ddAMP **47** und 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** liegen, in der North Konformation vor.

Nucleotid	$J_{H1',H2'}$	$J_{H1',H2''}$	$J_{H2',H3'}$	$J_{H2',H3''}$	$J_{H2'',H3'}$	$J_{H2'',H3'}$	bevorz. Konform.
2'-F-*ara*-ddAMP **46**	---	3.2	---	---	2.7	5.6	South
2'-F-*ribo*-ddAMP **47**	0.0	---	2.5	0.0	---	---	North
2'-F-*ara*-ddIMP **48**	---	3.3	---	---	2.7	5.7	South
2'-F-*ribo*-ddIMP **49**	0.0	---	3.8	0.0	---	---	North

Tabelle 12: ^{1}H-^{1}H-Kopplungskonstanten der Nucleotide **46-49** in D_2O in Hertz

In Zusammenarbeit mit V. Marquez und J.J. Barchi wurden die 5'-Nucleosid-Monophosphate **46-49** einer quantitativen Konformationsanalyse unterzogen und mit Hilfe der Programme PSEUROT und FLUOROT die konformativen Parameter bestimmt.[237,266] Die erhaltenen Ergebnisse wurden mit den denen der Nucleoside und der 5'-Triphosphate verglichen. Wie in Tabelle 13 zu sehen ist, behalten sowohl die 5'-Monophosphate **46-49** als auch die entsprechenden 5'-Triphosphate **17** und **19** die ursprüngliche Konformation der Nucleoside **16** (ca. 80 % South) und **18** (ca. 100 % North) bei. Die spektralen Unterschiede der 5'-Triphosphate **17** und **19** und der 5'-Monophosphate **46** und **47** sind minimal und hängen überwiegend mit unterschiedlichen chemischen Verschiebungen bzw. mit kleinen Änderungen des Torsionswinkel γ (+sc, ap, -sc) zusammen. Im Fall von 2'-F-*ara*-ddAMP **46** und 2'-F-*ara*-ddATP **17** wurde die Berechnung der Kopplungskonstanten durch die Komplexität der Peaks der H3' und H3"-Protonen behindert. Durch Entkopplungsexperimente und Spektrensimulation dieser Region konnte dieses Problem zumindest zum Teil gelöst werden.

Bei den 2'-Fluor-*ara*-Verbindungen liegt das Gleichgewicht nicht zu 100 % auf der South-Konformation. Hier ist die dominante Konfiguration eindeutig die South-Konformation, allerdings nehmen alle drei untersuchten Verbindungen immerhin noch ca. 20 % der North-Konformation ein. Offensichtlich hat eine 5'-Phosphorylierung von 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18** fast keinen Effekt auf die Zuckerkonformation. Die Pseudorotations-Parameter werden deshalb ausschließlich durch den elektronischen Charakter des Fluoratoms der Nucleosid- und Nucleotid-Analoga bestimmt.

Nucleotid	P_N	ν_N	P_S	ν_S	%N	rms	γ^+	γ^τ	γ^-
2'-F-*ara*-ddA **16**	-10.0	36.0	132.7	38.1	19	0.361	0.380	0.520	0.000
2'-F-*ribo*-ddA **18**	-0.2	35.9	160.0	36.0	99	0.126	0.620	0.340	0.000
2'-F-*ara*-ddAMP **46**	-17.1	38.0	133.4	38.0	23	0.344	0.320	0.472	0.208
2'-F-*ribo*-ddAMP **47**	-9.6	35.0	180.0	38.0	100	0.238	0.680	0.293	0.027
2'-F-*ara*-ddIMP **48**	-12.8	---	---	---	24	0.272	---	---	---
2'-F-*ribo*-ddIMP **49**	10.6	---	---	---	99	0.341	0.63	0.34	0.03
2'-F-*ara*-ddATP **17**	-16.5	38.0	133.6	38.0	20	0.382	0.416	0.484	0.100
2'-F-*ribo*-ddATP **19**	-6.0	35.7	180.0	36.0	98	0.425	0.700	0.269	0.031

P_N bzw. P_S: Pseudorotations-Parameter; ν_N, ν_S: Torsionswinkel der Ribose; %N: prozentualer Anteil an North-Konformation; rms: (root-mean-square) durchschnittliche Abweichung der berechneten und der experimentell bestimmten Kopplungskonstanten [Hz]; γ^+, γ^τ, γ^-: Orientierung der 5'-OH-Gruppe relativ zum Furanosering (+sc, ap, -sc)

Tabelle 13: Konformative-Parameter der 5'-Monophosphate **46-49** im Vergleich mit den 5'-Triphosphaten **17** und **19** und den Nucleosiden **16** und **18**

4.13 Synthese 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T)

Bevor auf die Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) näher eingegangen wird, soll zunächst der Metabolismus von d4T **2** kurz beschrieben werden.

4.13.1 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin (d4T) 2

Thymidin-Analoga wie AZT **1** oder d4T **2** werden intrazellulär ebenfalls enzymatisch zum 5‘-Triphosphat metabolisiert (siehe Abbildung 62). Hierbei ist die Thymidin-Kinase (TK) für die Umwandlung des Nucleosids in das 5‘-Monophosphat verantwortlich. Die Umwandlung zum 5‘-Diphosphat erfolgt durch die Thymidilat-Kinase und im Anschluß daran katalysiert die Nucleosid-Diphosphat-Kinase die Phosphorylierung zum 5‘-Triphosphat.

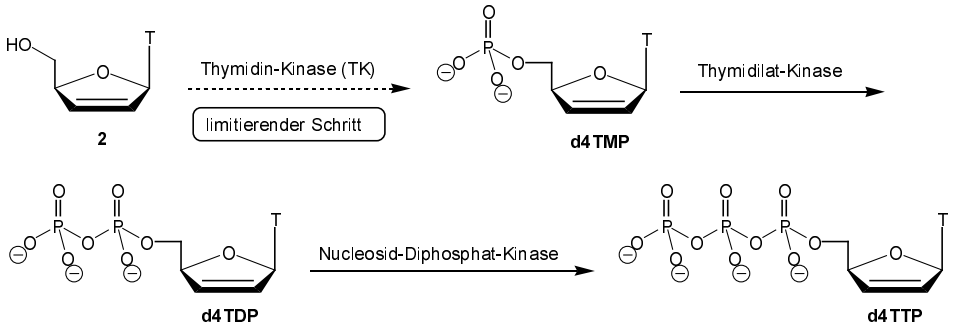


Abbildung 62: Intrazellulärer Metabolismus von 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin **2**

Auch hier kann es aufgrund der strukturellen Unterschiede zwischen natürlichen Nucleosiden und den Nucleosid-Analoga zu Metaboliesierungsengpässen kommen. Im Fall von d4T ist die Phosphorylierung vom Nucleosid in das Monophosphat gehemmt. Die zelleigene Thymidin Kinase akzeptiert d4T **2** nur unzureichen als Substrat und die Metabolisierung zu d4TMP findet deshalb nur sehr langsam statt.[267,268] Die nachfolgenden Phosphorylierungen zum 5‘-Triphosphat (d4TMP) stellen kein Hindernis mehr da. Aufgund dieses „metabolischen Flaschenhalses“ verabreicht man in der anti-HIV Therapie d4T **2** in höheren Dosen, um intrazellulär die erforderliche Konzentration an aktiven Metaboliten zu erreichen. Da dies aber mit erheblichen Nebenwirkungen einhergeht, versucht man mit Pro-Drugs diesen metabolischen Engpass zu umgehen (TK-Bypass). Das *cyclo*Sal-Konzept wurde bereits erfolgreich von M. Lorey auf d4T **2** angewendet.[157,159] Nun soll versucht werden inwieweit sich *tert*-Butyl- und *sek*-Butyl-Substituenten im aromatischen Ring die Eigenschaften der *cyclo*Sal-d4TMP-Pro-Nucleotide beeinflussen.

4.13.2 Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) 2

Aus der Literatur sind einige Synthesewege für 2‘,3‘-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** bekannt.[23] Ausgehend von Thymidin **93** kann d4T **2** über die 2,3'-Anhydrothymidin-Verbindung **94** (Weg A)[185] oder über 3',5'-Anhydrothymidin **95** (Weg B)[269] dargestellt werden (Abbildung 63). Für die Synthese von d4T **2** über die Verbindung **94** würden vier Reaktionsschritte benötigt während die Reaktion über Verbindung **95** nur drei Schritte benötigt. Des weiteren werden bei der Synthese über die Zwischenstufe **94** relativ teure Schutzgruppen verwendet. Aufgrund der geringeren Kosten und der geringeren Anzahl an Reaktionsschritten wurde die Synthese über das 3',5'-Anhydrothymidin **95** gewählt.

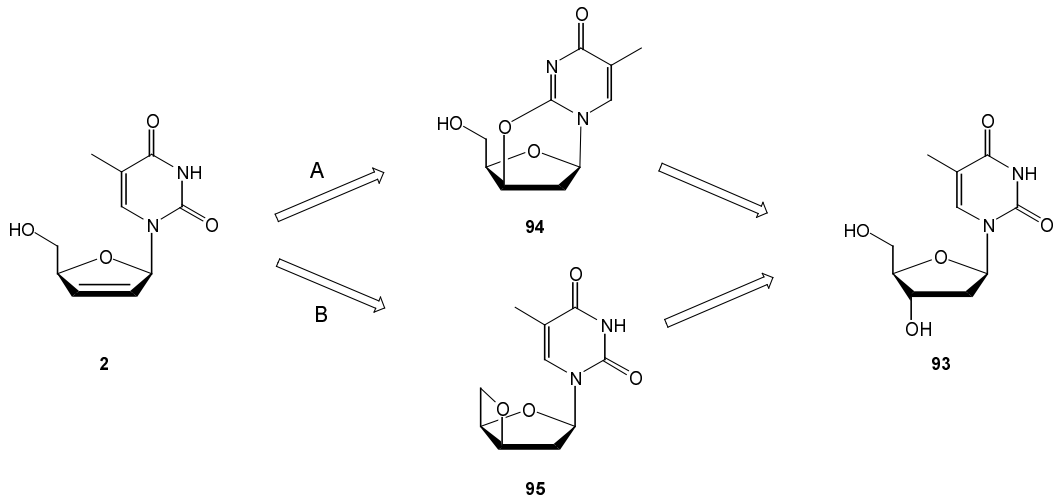


Abbildung 63: Synthesestrategien für 2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2**

4.13.3 Darstellung von 2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) 2

2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** konnte aus Tymidin **93** nach der Methode von Mansuri synthetisiert werden.[269] Dazu wurde Thymidin **93** zunächst mit Mesylchlorid in zum 3',5'-Dimesylthymidin **96** umgesetzt. Die kristalline Verbindung **96** konnte durch Umkristallisation aus Aceton in 98 % Ausbeute isoliert werden (Abbildung 64). Die anschließende Reaktion mit Natriumhydroxid unter Rückfluß lieferte nach Umkristallisation aus Ethanol 3',5'-Anhydrothymidin **95** in 84 %iger Ausbeute (Abbildung 64). Im letzten Schritt wurde **95** mit Kalium-*tert*-butylat bei Raumtemperatur umgesetzt. In einer Ausbeute von 88 % konnte 2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** als farbloser Feststoff isoliert werden (Abbildung 64, Seite 103). Ausgehend von Thymidin **93** wurde d4T **2** in einer Gesamtausbeute von 72 % erhalten, da vor allem die Ausbeute des letzten Syntheseschrittes

durch wiederholtes Ausschütteln der wässrigen Phase mit Essigsäureethylester enorm gesteigert werden konnte.

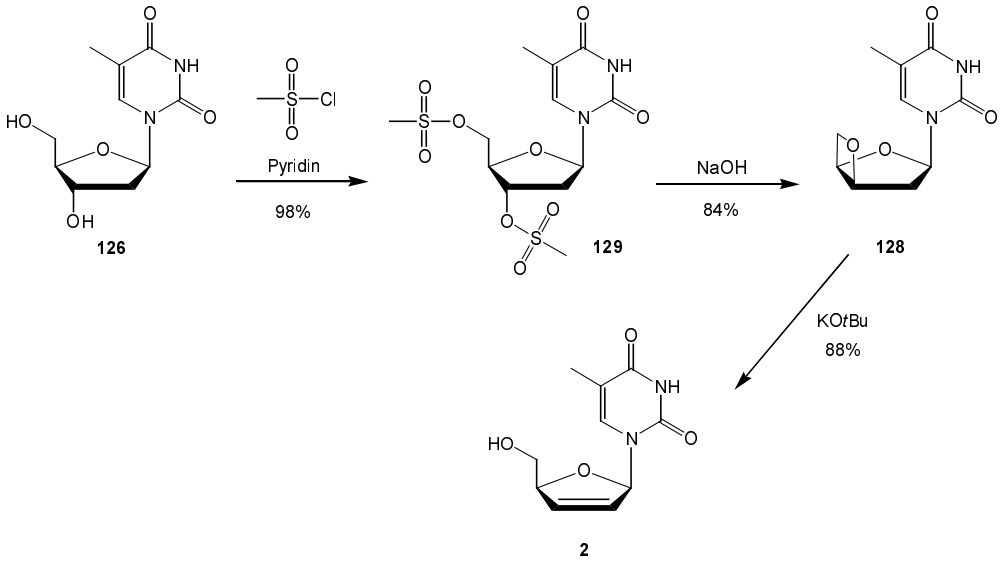


Abbildung 64: Synthese von 2‘,3‘-Didesoxy- 2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2**

Horwitz et al. konnte in seiner Synthese nur eine Gesamtausbeute von 36 % für d4T **2** ausgehend von Thymidin **93** erzielen. Dies stellt im Vergleich zur Literaturvorschrift eine Steigerung um 36 % über alle Syntheseschritte dar.

4.14 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen

4.14.1 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 42a,c,e-h mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)

Ausgehend von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** wurden die *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42** nach Variante A[156,157] unter Verwendung der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** erfolgreich dargestellt. Dazu wurde zu einer Lösung von d4T **2** und 2.0 Äquivalenten Diisopropylethylamin (DIPEA) in wasserfreiem Acetonitril nach Abkühlung auf - 40 °C langsam eine Lösung aus 1.5 Äquivalenten des jeweiligen cyclischen Saligenylchlorphosphans **70a,c,e-h** in 1.0 ml Acetonitril über einen Zeitraum von zwei Stunden hinzugetropft. Nach der Zugabe wurde 30 min bei -40 °C gerührt und mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids überprüft. Anschließend wurde bei -40 °C mit 4.0 Äquivalenten *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Das Reaktionsgemisch ließ man auf Raumtemperatur auftauen und das Lösungsmittel wurde anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Man erhielt ein gelbes Öl. Nach chromatographischer Aufreinigung erhielt man die

*cyclo*Sal-d4TMP-Triester **42a,c,e-h** als farblose Öle bzw. nach Lyophilisieren als weiße Watten in Ausbeuten von 27 - 91 % (siehe Abbildung 35).

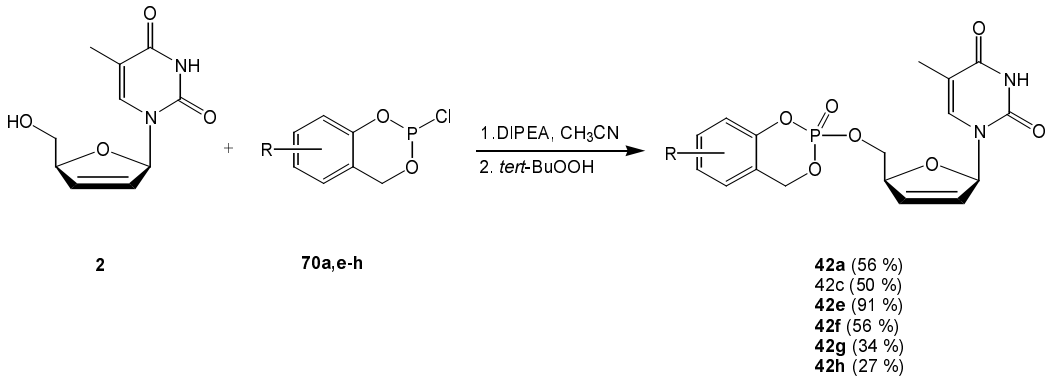


Abbildung 65: Synthese der *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate **42a,c,e-f** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)

Die Verbindungen wurden durch ^{1}H-NMR-, ^{13}C-NMR-, ^{31}P-NMR und UV-Spektroskopie sowie massenspektrometrisch nachgewiesen und charakterisiert. Man erhielt Diastereomerengemische im Verhältnis von nahezu 1:1 (Tabelle 14). Die hier aufgeführten Diastereomerenverhältnisse sind, wie schon bei den *cyclo*Sal-Adenylaten nach zweimaliger chromatographischer Aufreinigung der Rohgemische ermittelt worden.

Verbindung	Substituent	chemische Verschiebung [ppm]	Diastereomeren-verhältnis
42a	H	-8.11/-8.13	1 : 1.27
42c	3-Me	-7.34/-7.54	n.d
42e	3-*tert*-Bu	- 7.48 (fast)/- 7.24 (slow)	1 : 0.89
42f	3-*sek*-Bu	- 6.80/- 6.89/- 7.21/- 7.24	1 : 0.9 : 1.14 : 0.9
42g	5-*tert*-Bu	- 7.85 (fast)/- 7.83 (slow)	1 : 0.96
42h	5-*sek*-Bu	- 7.77/- 7.78/- 7.80	n. b.

Tabelle 14: Chemische Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum und Diastereomerenverhältnis der *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate **42a,c,e-h**

Im Fall der 3-*tert*-Butyl und 5-*tert*-Butyl substituierten Verbindungen **42e** und **42g** konnten die Diastereomere mit Hilfe von semipräparativer HPLC voneinander getrennt werden. Auf die unterschiedlichen Eigenschaften dieser getrennten Diastereomere wird im Kapitel 4.15, Seite 108 genauer eingegangen.

4.14.2 Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 42c (Synthesevariante B)

Im Gegensatz zu den Purin-haltigen Nucleosiden stellt die Verwendung von cyclischen Saligenylphosphoramiditen **71** die bisher effektivste Variante für die Synthese der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen dar (Abbildung 27, Seite 36). Wie allgemein in der Phosphoamidit-Chemie und vor allem in der Oligonucleotidsynthese üblich, muß in dem Reaktionsgemisch neben dem Phosphoramidit eine schwache Säure als Aktivator wie z.B. 1H-Tetrazol[270] zugegen sein. Neben diesem klassischen Aktivator können auch andere schwache Säuren wie z.B. Pyridinium-tetrafluoroborat, Pyridin-hydrochlorid oder Imidazolium-triflat zur Kupplung eines Phosphoramits mit einem Alkohol eingesetzt werden. Aufgrund dieser „sauren" Reaktionsbedingungen muß berücksichtigt werden, daß säureempfindliche Nucleoside, möglicherweise diesen Bedingungen während der Reaktion nicht standhalten. Für solche Fälle ist die Synthesevariante A aufgrund der Stickstoffbase DIPEA eventuell günstiger. Die Reaktion wurde in Hinblick auf den Einfluß der oben genannten Aktivatoren, auf die Temperatur während der Zugabe des cyclischen Saligenylphosphoramidits, auf den Lösungsmitteleinfluß und auf die Reaktionszeit hin untersucht. Durch die Verwendung verschiedener chiraler Tetrazol- und Imidazol-Aktivatoren, könnte zusätzlich das Diastereomerenverhältnis der Reaktion am Phosphoratom beeinflußt werden. Anhand des Nucleosids 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** wurde diese Synthesevariante optimiert.[209,211]

Die Nucleoside und die Aktivatoren wurden zunächst getrennt voneinander mit Toluol coevaporiert, um restliches Wasser zu entfernen. Im Anschluß daran wurde d4T **2** in Acetonitril gelöst. Zu dieser Lösung wurden zwischen 2.0 und 4.0 Äquivalente des Aktivators hinzugegeben und im Anschluß daran 2.6 Äquivalente cyclisches Saligenylphosphoramidit **71c** als Lösung in Acetonitril bei 0 °C bzw. bei Raumtemperatur hinzugetropft.

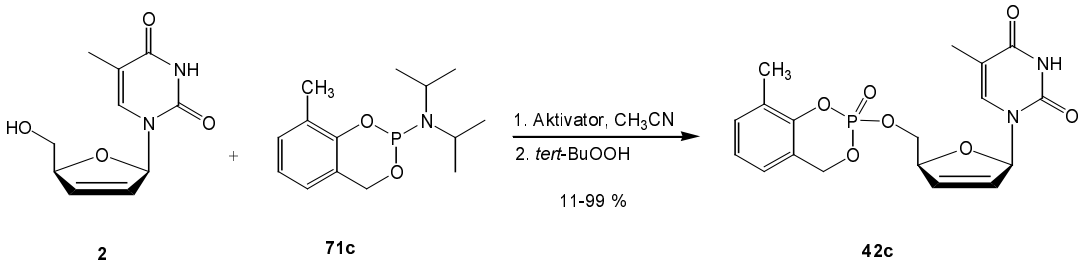


Abbildung 66: Synthese des *cyclo*Sal-d4TMP-Derivates **42c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante B)

Nach der Zugabe wurde die Reaktion mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids kontrolliert. Anschließend wurde bei 0 °C mit 1.1 Äquivalenten (in bezug auf das Phosphoramidit) mit *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert.

Aktivator	Äquivalente	Reaktions-temperatur	Reaktionszeit (vor Ox.)	Ausbeute [%]	Diastereomeren-verhältnis
1H-Tetrazol	2	0 °C	3 h	38	1:1.08
	2	0 °C	5 h	40	1:1.07
	4	0 °C	2.5 h	73	1:1.01
	4	0 °C	2.5 h	66	1:1.05
	4	Rt	4 h	65	1:1.06
	4	**Rt**	**4 h**	**74**	**1:1.08**
Pyridin-hydrochlorid	2	0 °C	> 24 h	21	1:1.07
	2	0 °C	> 20 h	69	1:0.8
	4	0 °C	3 h	79	1:0.81
	4	**0 °C**	**2.5 h**	**83**	**1:0.79**
	4	Rt	6 h	44	1:0.9
	4	Rt	6 h	55	1:0.93
Pyridinium-tetrafluorborat	2	0 °C	2.25 h	49	1:1.10
	2	0 °C	2.25 h	78	1:0.91
	4	0 °C	2.25 h	64	1:0.92
	4	0 °C	2.25 h	72	1:1.05
	4	**Rt**	**1.5 h**	**86**	**1:0.91**
	4	Rt	1.5 h	70	1:0.97
Imidazolium-Triflat	1	0 °C	4.25 h	51	1:0.81
	1	0 °C	4.25 h	50	1:0.82
	2	0 °C	4 h	37	1:0.81
	2	0 °C	3.5 h	68	1:0.78
	4	0 °C	1 h	64	1:0.81
	4	0 °C	3 h	67	1:0.85
	4	Rt	2.5 h	76	1:0.81
	4	**Rt**	**2.5 h**	**99**	**1:0.82**
	4	Rt	keine Reaktion[a]		
	4	Rt	keine Reaktion[a]		

[a]Die Reaktion wurde in DMF/THF (2:1) durchgeführt

Tabelle 15: Ausbeuten und Diastereomerenverhältnisse von 3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP **42c** unter verschiedenen Bedingungen[209]

Die gewählten Reaktionsbedingungen und die damit erhaltenen Ausbeuten und Diastereomerenverhältnisse sind in Tabelle 15 auf Seite 106 dargestellt. Auffallend ist, daß die Natur des Aktivators (1H-Tetrazol, Pyridin-hydrochlorid, Pyridinium-tetrafluorborat, Imidazolium-Triflat) keinen Einfluß auf die Ausbeute der Reaktion hat. Alle verwendeten Aktivatoren führten zu guten bis sehr guten Ausbeuten (74 - 99 %). Um diese hohen Ausbeuten zu erhalten hat es sich gezeigt, daß mindestens 4.0 Äquivalente des Aktivators nötig sind. Setzt man weniger als 4.0 Äquivalente ein, so macht sich dies in einer geringeren Ausbeute bemerkbar. Die ermittelten Diastereomerenverhältnisse liegen bei allen verwendeten Reaktionsbedingungen bei nahezu 1:1, da keinerlei chirale Induktion durch die Aktivatoren stattfindet. Um zu untersuchen, ob das Diastereomerenverhältnis der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide über die Synthesevariante B zu beeinflussen ist, wurden verschiedene chirale Imidazole und Tetrazole (2-(3‘,5‘-Dimethylbiphenyl-2-yl)-5,4-dicyanimidazol, 2-(2‘,4‘,6‘-Trimethylbiphenyl-2-yl)-4,5-dicyanimidazol, 2-(Triphenylmethyl)-4,5-dicyanimidazol, (-)-5-(2-(2-Methoxy)bornyl)-1-tetrazol[271]) verwendet. Mit ihnen ließen sich einige Jahre zuvor bei der diastereoselektiven Synthese von Methylphosphonat-Dimeren über die Phosphoramidit-Route gute Erfolge zugunsten des Rp-Diastereomers erzielen.[272,273] Sie wurden freundlicherweise von P. Schell (Universität Frankfurt/M.) zu Verfügung gestellt. Diese chiralen Aktivatoren hatten allerdings keinen Einfluß auf das Diastereomerenverhältnis der 3-Methyl-*cyclo*Sal-d4TMP-Verbindung **42c**. Zusätzlich waren die erhaltenen Ausbeuten wesentlich geringer als mit den achiralen Aktivatoren. [209]

4.14.3 Darstellung der *cyclo*Sal-d4T-Verbindungen 42a-c (Synthesevariante C)

Die *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate **42a-c** konnten auch mittels Phosphor(V)-Chemie synthetisiert werden. Dazu wurde das Nucleoside d4T **2** ähnlich der Vorschrift von McGuigan et al.[123] in Acetonitril gelöst und mit *N*-Methylimidazol als Base versetzt. Bei Raumtemperatur wurden 3.0 Äquivalente cyclische Saligenylphosphorchloridat **72** unverdünnt hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt und das erhaltene gelbe Öl chromatographisch aufgereinigt. Die erhaltenen Ausbeuten lagen zwischen 19 und 59 %. Die chromatographische Aufreinigung der nach der Synthesevariante C hergestellten *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide erwies sich als schwierig. Das im Überschuß (4.0 Äquivalente) eingesetzte *N*-Methylimidazol (NMI) ließ sich nur schwer von dem gewünschten Produkt abtrennen, so daß mehrere chromatographische Trennungen nötig waren, um den reinen *cyclo*Sal-d4T-Phosphattriester **42** zu erhalten.

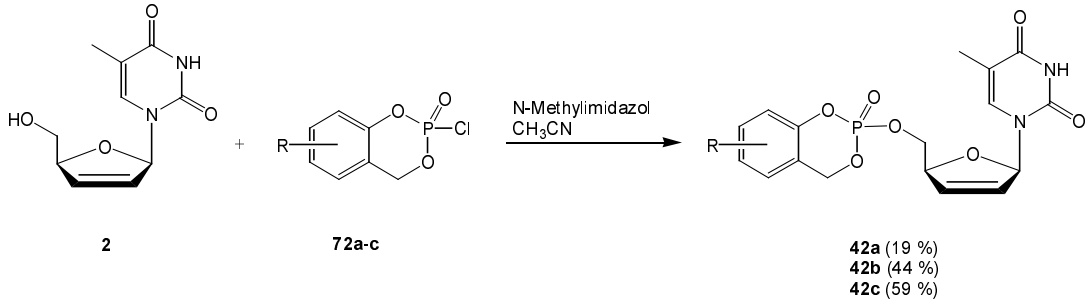


Abbildung 67: Synthese der *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate **42a-c** nach Synthesevariante C

Der Versuch das Produkt nach der Reaktion durch eine wässrige Aufarbeitung von der Base zu trennen, führte zu erheblichen Ausbeuteverlusten. Da für diese Reaktionsvariante noch keine intensive Reaktionsoptimierung wie im Fall der Synthesevariante B durchgeführt worden ist, kann das synthetische Potential dieser Variante für noch nicht abschließend eingeschätzt werden.

4.15 Eigenschaften der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen

4.15.1 Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 42e-h

Wie zuvor in Kapitel 4.6.1.1 auf Seite 52 beschrieben, wurden für die *cyclo*Sal-d4TMP-Triester **42** die Nernst'schen Verteilungskoeffizienten (PC- und log*P*-Werte) in einem 1-Octanol/Wasser-Gemisch (1:1, v/v) experimentell bestimmt. Als Referenzverbindung für die Abschätzung eines passiven Zellmembrantransportes diente wiederum AZT **1**. Desweiteren wurden die ermittelten Verteilungskoeffizienten mit dem entsprechenden Ausgangsnucleosid 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** verglichen. Die Durchführung erfolgte wiederum wie in Kapitel 4.6.1.1 beschrieben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengefaßt.

Die *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** weisen sehr hohe PC-Werte von 42 - 87 auf. Diese Werte sind im Vergleich zu der Ausgangsverbindung d4T um einen Faktor 280 - 580 höher. Im Vergleich zu AZT **1** konnte ein Faktor von 38 - 80 erzielt werden. Die beiden Diastereomere von **42e** und **42g** unterscheiden sich nicht wesentlich in ihrer Lipophilie. Wie schon für die *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Triester (**35**, **38**) gezeigt werden konnte, zeichnet sich auch im Fall der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen eine Abhängigkeit von der Größe der PC-Werte und der verschiedenen Butyl-Reste in 3- bzw. 5-Position im aromatischen Ring ab.

Verbindung	Substituent	PC-Wert	log*P*-Wert
42e "fast"	3-*tert*-Bu	43.8	1.64
42e "slow"	3-*tert*-Bu	42.0	1.62
42f	3-*sek*-Bu	72.4	1.86
42g "fast"	5-*tert*-Bu	50.5	1.70
42g "slow"	5-*tert*-Bu	53.4	1.72
42f	5-*sek*-Bu	87.4	1.94
d4T **2**	---	0.15	-0.8[159]
AZT **1**	---	1.09	0.04[156]

Tabelle 16 Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h**

Ein *sek*-Butyl Rest im aromatischen Ring ist im Vergleich zu einem *tert*-Butyl Substituenten deutlich lipophiler, wobei der 5-*sek*-Butyl Substituent wiederum lipophiler ist als ein 3-*sek*-Butyl-Rest. Die relativ niedrigen PC-Werte (40 - 80) im Vergleich zu den *cyclo*Sal-Phosphattriestern mit einer Purin-Base (64 - 200) resultieren aus der höheren Hydrophilie der Pyrimidine.

4.15.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 42e-h

Die synthetisierten *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** wurden, wie zuvor auch die *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Triester **35a-h** und **34a-d,** in wässrigen Puffersystemen auf ihre Hydrolyseeigenschaften untersucht (siehe Kap. 4.6.2.1, Seite 55). Zuvor war es möglich, die Diastereomerengemische der 3-*tert*-Butyl bzw. 5-*tert*-Butyl-Verbindungen **42e** bzw. **42g** mittels semipräparativer RP-HPLC zu trennen und separat zu untersuchen. Als Referenz wurden die von M. Lorey synthetisierten Derivate *cyclo*Sal-d4TMP **42a**, 3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP (fast) **42c**, 3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP (slow) **42c** und 5-Me-*cyclo*Sal-d4TMP **42j** hinzugezogen und unter gleichen Bedingungen untersucht.[157,159]

Die Durchführung der Hydrolysekinetiken erfolgte analog derer in Kapitel 4.6.2.1, Seite 55 beschriebenen Hydrolysekinetiken für die *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-d4AMP-Triester (**35**, **34**). Wie in Tabelle 17 auf Seite 110 zusammengefaßt ist, liegen die gemessenen Halbwertszeiten der Phosphattriester **42a,c,e-j** in einem 12.5 mM Phosphatpuffer (pH 7.3, 37 °C) zwischen 9.2 und 155 Stunden. Außergewöhnlich lange Halbwertszeiten besitzen, wie schon zuvor bei den *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Verbindungen **35** und **38** beobachtet werden konnte, die 3-*tert*-Butyl- und 3-*sek*-Butyl-*cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e** und **42f**.

Verbindung	Substituent (R)	Halbwertszeit ($t_{1/2}$) in Phosphatpuffer (12.5 mM) bei 37 °C [h] pH 7.3
42a	H	9.2
42c "fast"	3-Me	15.1
42c "slow"	3-Me	42.2
42e "fast"	3-*tert*-Bu	155
42e "slow"	3-*tert*-Bu	132
42f	3-*sek*-Bu	57.5
42g "fast"	5-*tert*-Bu	30.8
42g "slow"	5-*tert*-Bu	14.7
42h	5-*sek*-Bu	24.2
42j	5-Me	14.6

Tabelle 17: Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-j** und **42a,c**

Wie aus Tabelle 17 ersichtlich ist zeigen die Verbindungen mit einem Substituenten in 5-Position (**42g-j**) ähnliche Halbwertszeiten (14-30 h), während bei den Verbindungen mit einem Substituenten in 3-Position (**42c,e,f**) eine deutliche Abstufung zu beobachten ist (**42c**: 15 bzw. 42 h, **42f**: 57 h, **42e**: 155 bzw. 132 h). Der Grund für diese Beobachtung liegt auch hier in dem unterschiedlichen sterischen Einfluß der Substituenten. Auch hier üben Substituenten wie *sek*-Butyl und *tert*-Butyl in der 5-Position des aromatischen Rings nur einen kleinen Einfluß, Substituenten in der 3-Position allerdings einen großen Einfluß auf einen nucleophilen Angriff am Phosphoratom aus. Wie schon bei den *cyclo*Sal-ddAMP- und *cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP-Verbindungen **35** und **38** zu beobachten war, ist, bedingt durch den größeren sterischen Anspruch einer *tert*-Butyl Gruppe im Vergleich zu einer sek-Butyl Gruppe, die Halbwertszeit von **42e** um nahezu das 3 fache größer als im Fall von **42f**. Interessant ist die unterschiedliche Stabilität der getrennten Diastereomeren der Verbindungen **42c**, **42e** und **42g**. Hierbei zeigen sich unterschiedlich starke Differenzen der Halbwertszeiten im Phosphatpuffer innerhalb derselben Verbindung. Während im Fall des 3-Methyl-substituierten Phosphattriesters **42c** die Stabilität der beiden Diastereomere "fast" und "slow" um einen Faktor 3 variieren, findet man bei der Verbindung **42g** nur noch einen Faktor 2. Vergleicht man nun die beiden 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-Derivate **42e** "fast" und **42e** " slow " miteinander, so kann man keine deutliche Abweichung der Halbwertszeiten voneinander mehr feststellen. Eine Ursache für dieses Phänomen ist noch nicht bekannt. Weiterhin fällt auf, daß so-

wohl im Fall des 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-Phosphattriesters **42e** als auch bei der 5-*tert*-Butyl-Verbindung **42g** das "fast"-eluierende Diastereomer immer das stabilere und das "slow"-eluierende Diastereomer das instabilere ist. Bei der 3-Methyl-substituierten Verbindung **42c** ist dieses Verhältnis umgekehrt. Wahrscheinlich haben das R_p- bzw. das S_p-Diastereomer je nach Substituent im aromatischen Ring unterschiedliche Elutionseigenschaften. Nur eine Bestimmung der absoluten Konfiguration am Phosphoratom kann diese Frage klären.

4.15.3 Anti-HIV-Tests der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen 42e-h

Die *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini auf ihre *in vitro* anti-HIV-Aktivität untersucht. Auch in diesem Fall diente eine Wildtypzellinie humaner T-Lymphozyten (CEM/0) als Testsystem. Außerdem wurde eine Thymidin-Kinase-defiziente (CEM/TK$^-$) Zellinie verwendet. Dieses Enzym ist für die intrazelluläre Umwandlung von d4T **2** zu d4TMP verantwortlich. Fehlt dieses Enzym der Zelle, so geht die Aktivität von d4T **2** verloren. Im Fall der *cyclo*Sal-Verbindungen sollte das Fehlen der Thymidin-Kinase keine Auswirkungen auf die Aktivität haben, da das 5'-Monophosphat d4TMP intrazelluär freigesetzt wird. Die beobachtete antivirale-Aktivität der Wildtypzellinie CEM/0 sollte in CEM/TK$^-$-Zellen erhalten bleiben. Bei bisherigen Untersuchungen von *cyclo*Sal-d4TMP-Triestern mit den Substituenten H, 5-OMe, 5-Me, 3-Me und 3,5-DiMe konnte beobachtet werden, daß die *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate in den Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK$^-$) ihre antivirale Aktivität weitgehend beibehalten. In Tabelle 18 auf Seite 112 sind die antiviralen Daten der *tert*- und *sek*-Butyl *cyclo*Sal-d4TMP-Derivate zusammengestellt. Als Vergleich wurde außerdem das 3-Methyl substituierte *cyclo*Sal-d4TMP-Derivat **42c** getestet.

Die *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** weisen in der Wildtypzelllinie (CEM/0) eine Aktivität gegen HIV-1 und HIV-2 auf, die in der gleichen Größenordnung liegt wie die Ausgangsverbindung d4T **2**. Weiterhin ist zu bemerken, daß in der HIV-2 infizierten Zellinie die Aktivität schlechter ist, als in HIV-1 infizierten Zellen. Entscheidend ist allerdings, daß in den HIV-2 infizierten Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK$^-$) die antivirale Aktivität im Fall der Verbindungen **42e**, **42e** "fast" und **42f** zunimmt bzw. im Fall von **42g** "fast" nahezu erhalten bleibt. Bei allen anderen Verbindungen (**42e** "slow", **42g**, **42g** "slow" und **42h**) geht die beobachtete Aktivität verloren. Dieser Aktivitätsverlust wurde bisher im Fall der *cyclo*Sal-d4T-Pro-Nucleotide nicht beobachtet und kann auch nicht auf eine Instabilität der Verbindungen zurückgeführt werden (siehe Tabelle 17, Seite 110).

Verbindung	Substituent	Antivirale Aktivität EC_{50} [µM]			Zytotoxizität
		CEM/0 HIV-1	CEM/0 HIV-2	CEM/ TK-	CEM/0 CC_{50} [µM]
42c	3-Me	0.067	0.21	---	20.0
42e "mix"	3-*tert*-Bu	0.18	0.65	0.33	34.4
42e "fast"	3-*tert*-Bu	0.13	0.44	0.19	25.2
42e "slow"	3-*tert*-Bu	0.60	3.0	5.0	78.7
42f	3-*sek*-Bu	0.08	0.33	0.09	18.1
42g "mix"	5-*tert*-Bu	0.14	0.9	1.5	33.8
42g "fast"	5-*tert*-Bu	0.09	0.8	0.9	27.0
42g "slow"	5-*tert*-Bu	0.21	0.65	7.5	33.0
42h	5-*sek*-Bu	0.19	0.85	1.9	46.4
d4T **2**	---	0.18	0.26	15.0	56.5

Tabelle 18: Antivirale Daten der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** und **42c**

Des weiteren wurden die antiviralen Aktivitäten der getrennten Diastereomere der 3-*tert*- und 5-*tert*-Butyl-Verbindungen **42e** und **42g** getestet. Man erkennt, daß das "fast" eluierende Diastereomer aktiver ist, als das "slow" eluierende Diastereomer. Eine Möglichkeit für die Erklärung dieses Effektes liegt in den unterschiedlichen Halbwertszeiten der Verbindungen. Wie Tabelle 17 auf Seite 110 zeigt, weist das "fast" eluierende Diastereomer in beiden Fällen eine höhere Halbwertszeit auf als das "slow" eluierende Diastereomer (155 und 132 h bzw. 31 und 15 h). Eine weitere Möglichkeit wäre ein unterschiedlicher Zellmembrantransport abhängig von der Konfiguration des Phosphoratoms oder ein unterschiedlicher intrazellulärer, enzymatischer Abbau der beiden Diastereomere.

4.16 Darstellung der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen

4.16.1 Synthesestrategie

Im Fall von 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** muß man bei der Synthese der *cyclo*Sal-Cordycepin-monophosphate **43** beachten, daß das Nucleosid neben der primären 5'-Hydroxyl-Gruppe und der exocyclischen Aminogruppe eine weitere Hydroxylgruppe besitzt. Diese sekundäre Hydroxylgruppe an der 2'-Position der Ribose stellt ein weiteres, potentielles Reaktionszentrum dar. Eine Synthesemöglichkeit besteht nun darin, das Nucleosid zunächst an der 2'-Position zu schützen (**97**) und dann erst mit dem cyclischen Saligenylchlorphos-

phanen **70** zu der 2'-geschützten *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindung **98** umzusetzen. Diese muß dann in einem abschließenden Schritt entschützt werden (Weg A, Abbildung 68).

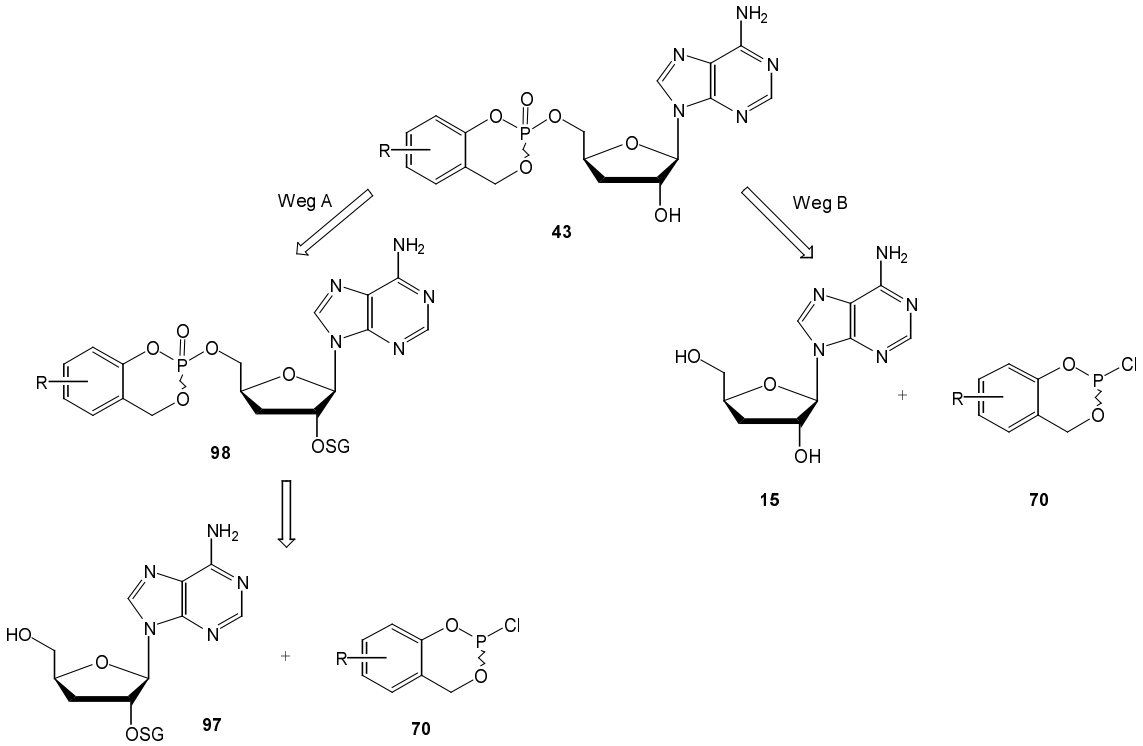


Abbildung 68: Synthesestrategie der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Derivate **34** nach Synthesevariante A, Weg A und Weg B

Desweiteren könnte man Cordycepin **15** auch direkt mit dem cyclischen Saligenylchlorphosphan umsetzen und versuchen einen Reaktivitätsunterschied zwischen der primären und der sekundären Hydroxyl-Gruppe auszunutzen (Weg B, Abbildung 68). Auf diesem Weg würde man die *cyclo*Sal-3'-dAMP-Derivate **43** in einem Schritt ausgehend vom Nucleosid **15** erhalten. Bei dieser Synthesevariante muß allerdings aufgrund der drei möglichen Reaktionszentren die Bildung diverser Nebenprodukte und deren anschließende Trennung von dem gewünschten *cyclo*Sal-Phosphattriester **43** bedacht werden.

Die oben erwähnte Schutzgruppenstrategie wurde bereits von M. Lorey im Fall der Synthese der *cyclo*Sal-5-fluor-2'-desoxyuridin-5'-monophosphat-Verbindungen angewendet.[159] Da allerdings die Verwendung von Schutzgruppen im Fall von 5-Fluor-2'-desoxyuridin (FdU) nur unzureichend zum Ziel führte, wurde im Fall von Cordycepin **15** zunächst versucht, über den direkten Syntheseweg ohne Schutzgruppen die gewünschten *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen darzustellen.

4.16.2 Darstellung der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen 43a-c (Synthesevariante A)

Das Nucleosid 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** wurde in einer Lösung von wasserfreiem Dimethylformamid und wasserfreiem Tetrahydrofuran (2:1) durch leichtes Erwärmen der Lösungsmittel gelöst und mit 2.0 Äquivalenten Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Die Lösung wurde im Kältebad auf - 40 °C gekühlt. Danach wurden 1.5 Äquivalente des jeweiligen cyclischen Saligenylchlorphosphan **70a-c** in 1.0 ml Acetonitril gelöst und über einen Zeitraum von 2 Stunden hinzugetropft. Nach der Zugabe wurde 30 min bei - 40 °C gerührt und mittels DC-Kontrolle auf vollständige Umsetzung des Nucleosids überprüft. Anschließend wurde bei - 40 °C mit 4.0 Äquivalenten *tert*-Butylhydroperoxid oxidiert. Das Reaktionsgemisch ließ man auf Raumtemperatur auftauen und das Lösungsmittel wurde anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Man erhielt ein gelbes Öl welches laut DC-Kontrolle drei Hauptprodukte enthielt. Nach chromatographischer Aufreinigung erhielt man die gewünschten *cyclo*Sal-Phosphattriester **43a-c** als farblose Öle bzw. nach dem Lyophilisieren als weiße Watten in Ausbeuten von 20-50 % (Abbildung 69). Es wurde kein Edukt reisoliert.

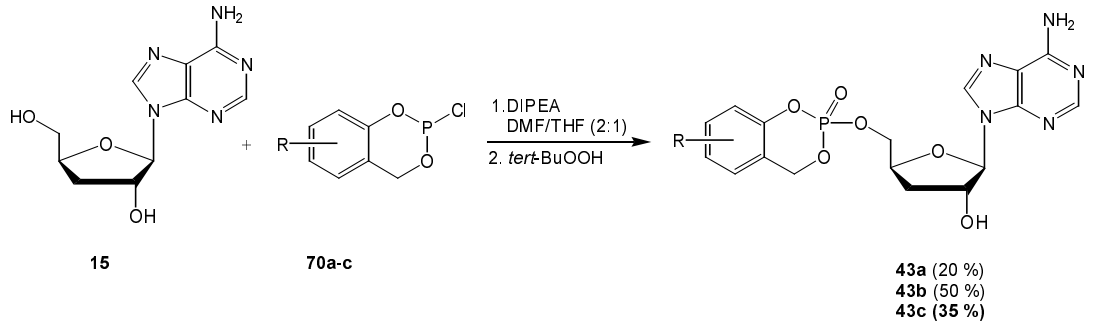


Abbildung 69: Synthese der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Derivate **43a-c** mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)

Die Verbindungen wurden durch ^{1}H-NMR-, ^{13}C-NMR-, ^{31}P-NMR- und UV-Spektroskopie sowie massenspektrometrisch nachgewiesen und charakterisiert. Mit Hilfe der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70** konnten somit unter Verwendung der Synthesevariante A (Abbildung 27, Seite 36) mittels Phosphor(III)-Chemie[156,157] die *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** erfolgreich dargestellt werden. Man erhielt Diastereomerengemische, die sich in der Konfiguration am Phosphor unterschieden. Das Diastereomerenverhältnis für das *cyclo*-Saligenyl-Pro-Nucleotid **43c** konnte nach zweimaliger chromatographischer Aufreinigung anhand der getrennten ^{31}P-NMR-Signale bestimmt werden. Im Fall der Verbindungen **43a** und **43b** wurden hierfür die ^{1}H-NMR-Signale herangezogen (Tabelle 19, Seite 115).

Verbindung	Substituent	chemische Verschiebung [ppm]	Diastereomerenverhältnis
43a	H	- 8.62	1 : 1
43b	5-OMe	- 8.43	1 : 0.90
43c	3-Me	- 7.99/- 8.03	1 : 0.62

Tabelle 19: Chemische Verschiebung der ^{31}P-Signale und Diastereomernverhältnis der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c**

4.17 Eigenschaften der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen

4.17.1 Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen 43a-c

Nach der in Kapitel 4.6.1.1 auf Seite 52 beschrieben allgemeinen Methode, wurden ebenfalls für die *cyclo*Sal-3'-dAMP-Triester **43a-c** die Nernst'schen Verteilungskoeffizienten (PC- und log*P*-Werte) in einem 1-Octanol/Wasser-Gemisch (1:1, v/v) bestimmt. Die ermittelten Verteilungskoeffizienten wurden mit Cordycepin **15** verglichen. Die Durchführung erfolgte analog der in Kapitel 4.6.1.1 beschriebenen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 zusammengefaßt.

Verbindung	Substituent	PC-Wert	log*P*-Wert
43a	H	2.3	0.36
43b	5-OMe	2.8	0.45
43c	3-Me	4.9	0.69
Cordycepin **15**	---	0.34	- 0.47
AZT **1**	---	1.09	0.04[156]

Tabelle 20: Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c**

Wie aus Tabelle 13 zu erkennen ist, sind alle log*P*-Werte der synthetisierten *cyclo*Sal-3'-dAMP Verbindungen durchgehend positiv. Im Vergleich zu der Ausgangsverbindung Cordycepin **15** erkennt man eine deutliche Erhöhung der Lipophilie. Wie schon zuvor bei den *cyclo*Sal-ddAMP-, *cyclo*Sal-d4AMP- und 2'-F-ddAMP-Triestern erkennt man eine Korrelation zwischen dem Substituenten im aromatischen Ring und dem PC-Werte. Die Verbindungen ohne Substituent bzw. mit einer 5-Methoxygruppe besitzen eine ähnliche große Lipophilie, während der Phosphattriester mit der 3-Methyl-Gruppe einen deutlich höheren PC-Wert aufweisen. Im Vergleich zu AZT, welches einen log*P*-Wert von 0.04[156] besitzt, und die Zellmembran ausschließlich durch passiven Transport passiert, kann auch im Fall der

*cyclo*Sal-3'-dAMP-Triester **43** davon ausgegangen werden, daß die in Tabelle 20 genannten Verbindungen ebenfalls die Membran durchdringen können.

4.17.2 Hydrolysekinetiken der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen 43a-c

Die *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c** wurden in wässrigen Puffersystemen auf ihre Hydrolyseeigenschaften untersucht (Kapitel 4.6.2.1, Seite 55).

		Halbwertszeit ($t_{1/2}$) in Phosphatpuffer (12.5 mM) bei 37 °C [h]
Verbindung	Substituent (R)	pH 7.3
43a	H	11.4
43b	5-OMe	16.0
43c	3-Me	35.6

Tabelle 21: Halbwertszeiten der *cyclo*Sal-Verbindungen **43a-c** in 12.5 mM wässrigem Phosphatpuffer bei 37 °C

Die Durchführung der Hydrolysekinetiken erfolgte analog der in Kapitel 4.6.2.1 auf Seite 55 beschriebenen Hydrolysekinetiken für die *cyclo*Sal-ddA- und *cyclo*Sal-d4A-Phosphattriester (**35**, **34**). Wie in Tabelle 21 zusammengefaßt ist, bewegen sich die gemessenen Halbwertszeiten der Phosphattriester **43a-c** zwischen 11.4 und 35.6 Stunden. Auch hier ist eine Abhängigkeit der Halbwertszeit von der Donoreigenschaft des Substituenten im aromatischen Ring zu erkennen. Je stärker der Donor, desto länger die Halbwertszeit im Phosphatpuffer.

4.17.3 Anti-HIV Aktivitäten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen 43a-c

Auch die *cyclo*Sal-3'-Desoxyadenosin-Phosphattriester **43a-c** wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini, Rega Institute for Medical Research, Leuven/Belgien einem *in vitro* Zelltest in HIV-1 und HIV-2 infizierten CEM/0-Zellen unterworfen. Durch Vergleich der EC_{50}-Werte in Tabelle 22 der Phosphattriester mit dem Nucleosid Cordycepin **15** kann eine Verbesserung der Bioaktivität festgestellt werden. Die ermittelten Zytotoxizitäten dagegen sind bis auf Verbindung **43c** gut und kommen dem CC_{50}-Wert von Cordycepin sehr nahe. Der Grund für diese relativ schlechten antiviralen Aktivitäten resultiert offensichtlich aus einer verminderten bzw. ineffektiven Freisetzung des 5'-Cordycepin-Monophosphates.

Verbindung	Substituent	Antivirale Aktivität EC_{50} [µM]		Zytotoxizität	
		CEM/0 HIV-1	CEM/0 HIV-2	CEM/0 CC_{50} [µM]	SI (CEM)
43a	H	42.5	27.5	75.5	1.8
43b	5-OMe	22.5	27.5	92.2	4.1
43c	3-Me	20.0	17.5	56.4	2.8
Cordycepin **15**	---	> 50	> 50	96.4	< 1.9

Tabelle 22: Anti-HIV-Aktivitäten der *cyclo*Sal-3'-dAMP-Verbindungen **43a-c**

Formal könnte hierfür ein intramolekularer Angriff der freien OH-Gruppe an dem Phosphatrest, mit anschließender Spaltung der Phosphatesterbindungen des Saligenylrestes verantwortlich sein. Das so entstandene, siebengliedrige cyclische Monophosphat besitzt nicht die erwartete biologische Aktivität. Weitere Untersuchungen zur Aufklärung der Spaltprodukte unter basischen Bedingungen sind hier unbedingt erforderlich, um den Hydrolysemechanismus der *cyclo*Sal-3'-Desoxyadenosin-Monophosphate **43** aufzuklären.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene *cyclo*Sal-Nucleotide **25** synthetisiert und in bezug auf Lipophilie, Hydrolyseeigenschaften, enzymatische Stabilität und anti-HIV-Aktivität untersucht. Ausgangsverbindungen für die Synthese dieser Zielverbindungen waren die entsprechenden Salicylalkohole **29** und die entsprechenden Nucleosidanaloga. Als Salicylalkohol-Derivate wurden die Donor-substituierten Verbindungen **29a-h** sowie das unsubstituierte Derivat **29a** verwendet. Diese waren aus den jeweiligen Salicylsäuren **69** bzw. den entsprechenden substituierten Phenolen **67** darstellbar (Kapitel 4.4.2, Seite 38). Die Nucleosid-Analoga konnten aus natürlichen Nucleosiden bzw. durch anschließende enzymatische Desaminierung in guten Ausbeuten dargestellt werden. (d4A **14**: Kapitel 4.1, Seite 28f; ddA **7**: Kapitel 4.2, Seite 31f; ddI **5** und d4I **31**: 4.3, Seite 34f; 2‘-F-*ribo*-ddA **18**: 4.7, Seite 68f; 2‘-F-*ara*-ddI **32** und 2‘-F-*ribo*-ddI **33**: 4.8, Seite 72f; d4T **2**: 4.13, Seite 101f)

Die Synthese der *cyclo*Sal-Nucleotide **34a-d**, **35a-h, 36c, 37c, 38a-c,e-h, 39a-c, 40c, 41c, 42e-h** und **43a-c** gelang durch Verwendung der cyclischen Saligenylchlorphosphane **70a-h** (Synthesevariante A, Kapitel 4.4.6.1, Seite 43; Kapitel 4.9.1, Seite 75, Kapitel 4.14.1, Seite 103, Kapitel 4.16.2, Seite 114). Außerdem wurden zwei weitere Synthesevarianten von *cyclo*Sal-Phosphattriestern untersucht (Kapitel 4.4.6.2, Seite 45; Kapitel 4.4.6.3, Seite 48; Kapitel 4.14.2, Seite 105 und Kapitel 4.14.3, Seite 107). Hierbei konnte sowohl mit Hilfe eines Aktivators und des cyclischen Saligenylphosphoramidits **71c** (Synthesevariante B, Kapitel 4.4.4, Seite 41, Kapitel 4.4.6.2, Seite 45, Kapitel 4.14.2, Seite 105) als auch unter Verwendung des cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72c** (Synthesevariante C, Kapitel 4.4.5, Seite 42, Kapitel 4.4.6.3, Seite 48) die *cyclo*Sal-Phosphattriester dargestellt werden. Die Darstellung der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42c** gelang über alle drei Synthesevarianten (Kapitel 4.14, Seite 103f). Die erreichten Ausbeuten der drei Methoden schwankten erheblich. Als exzellent erwies sich die Synthesevariante B nach Optimierung der Versuchsbedingungen aufgrund der sehr guten Ausbeuten von bis zu 99 % (Kapitel 4.14.2, Seite 105). Im Vergleich der drei Synthesemöglichkeiten ist die Verwendung von cyclischen Saligenylchlorphosphanen **70** (Synthesevariante A) bei Adenin-haltigen Nucleosiden den anderen Methoden, was den zeitlichen Anspruch aber vor allem die Ausbeuten angeht, überlegen (Kapitel 4.4.6, Seite 43).

Im Fall von 3TC ist die Synthesevariante B aufgrund der Regioselektivität und der erzielten Ausbeute den anderen vorzuziehen (Kapitel 4.4.6.2, Seite 45). Berücksichtigt werden muß allerdings, daß die Untersuchungen zu den Synthesevarianten B und C für Adenin-haltige

*cyclo*Sal-Phosphattriester nicht optimiert wurde und somit die Ausbeute möglicherweise noch gesteigert werden könnte.

In allen Synthesewegen wurden *cyclo*Sal-Nucleotide **25** als Gemische zweier Diastereomere erhalten. Eine Trennung der Diastereomerenpaare durch semipräparative RP-HPLC konnte nur im Falle der Verbindungen **34b, 39b, 42e, 42g** erzielt werden.

Als ein Anhaltspunkt für die Lipophilie der *cyclo*Sal-Nucleotide **25** dienten die Verteilungskoeffizienten (log*P*-Werte) zwischen 1-Octanol und Wasser. Die ermittelten Verteilungskoeffizienten der *cyclo*Sal-Nucleotide **34a-d**, **35a-h, 36c, 37c, 38a-c,e-h, 39a-c, 40c, 41c, 42e-h** und **43a-c** weisen alle eine größere Lipophilie als AZT **1** auf (Kapitel 4.6.1.1, Seite 52, Kapitel 4.11.1, Seite 80, Kapitel 4.15.1, Seite 108, Kapitel 4.17.1, Seite 115). Insgesamt sind die erhaltenen Werte somit ausreichend, um einen passiven Zellmembrantransport zu gewährleisten. Im Fall der *tert*- und *sek*-Butyl substituierten Phosphattriester **38e-f** war allerdings zu befürchten, daß aufgrund der außergewöhnlich hohen Lipophilie und der damit verbundenen extrem geringen Wasserlöslichkeit keinerlei antivirale Aktivität beobachtet werden kann.

Das Hydrolyseverhalten der *cyclo*Sal-Nucleotide **34a-d**, **35a-h, 36c, 37c, 38a-c,e-h, 39a-c, 40c, 41c, 42e-h** und **43a-c** wurde zunächst in 12.5 mM Phosphatpuffer bei pH 7.3 untersucht (Kapitel 4.6.2.1, Seite 55; Kapitel 4.11.2, Seite 82; Kapitel 4.15.2, Seite 109; Kapitel 4.17.2, Seite 116). Es konnte anhand der Verbindungen **34a** und **38a** gezeigt werden, daß diese *cyclo*Sal-Phosphattriester unter diesen Bedingungen selektiv zu ddAMP **8** bzw. zu 2‘-F-ara-ddAMP **46** hydrolysieren (Abbildung 41 und Abbildung 42, Seite 58; Abbildung 52, Seite 83). Dabei konnte eine deutliche Korrelation des Substituenten im aromatischen Ring mit der Hydrolysegeschwindigkeit beobachtet werden. Jedoch hat nicht nur die Donoreigenschaft, sondern auch der sterische Anspruch des Substituenten in der 3-Position einen Einfluß auf die Stabilität. Als außergewöhnlich stabil erwiesen sich die 3-*tert*- und 3-*sek*-Butyl-Derivate **35e,f**, **38e,f** und **42e,f.** Weitere Untersuchungen der *cyclo*Sal-ddAMP- **35a-h**, *cyclo*Sal-d4AMP-Derivate **34a-d** in einem 12.5 mM Glycin/HCl-Puffer bei einem pH von 3.0 und 1.5 zeigten, daß die glycosidische Bindung der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide im sauren Milieu im Vergleich zu den Nucleosiden ddA **7** und d4A **14** stabilisiert ist (Kapitel 4.6.2.1, Seite 55). Die Phosphat-Gruppe mit *cyclo*Sal-Rest an der 5'-Position vermindert also die Säurelabilität von ddA **7**, bzw. d4A **14**. Eine orale Applikation der *cyclo*Sal-ddAMP- **35a-h** und *cyclo*Sal-d4AMP-Phosphattriester **34a-d** sollte somit im Vergleich zu den entsprechenden Nucleosiden ddA **7**, d4A **14** und ddI **5** begünstigt sein. Aufgrund der gemessenen Halbwertszeiten sollten die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide als potentielle Nucleotid-Quellen sowohl für die *in vitro* anti-

HIV-Zelltests als auch für weitere *in vivo* anti-HIV-Untersuchungen interessant sein. Um die Säurestabilität der Phosphatesterbindungen der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide zu untersuchen, wurden ebenfalls exemplarisch an der Verbindung **38c** Hydrolysestudien bei pH 3.0 und 1.5 durchgeführt. Die hierbei ermittelten Halbwertszeiten von 284 h bzw. 19 h schließen bei den Säurehydrolysen der *cyclo*Sal-ddAMP- **35a-h** und *cyclo*Sal-d4AMP-Phosphattriester **34a-d** außerdem eine Verfälschung durch gleichzeitige Phosphatester-Hydrolyse aus (Kapitel. 4.6.2.1, Seite 55).

Die *in vitro* anti-HIV-Zelltests der *cyclo*Sal-Nucleotide **34a-d**, **35a-h, 36c, 37c, 38a-c,e-h, 39a-c, 40c** und **41c** zeigten sehr gute antivirale Aktivitäten gegen HIV-1 und HIV-2 (Kapitel 4.6.3, Seite 61, Tabelle 5; Kapitel 4.11.3, Seite 85, Tabelle 9; Kapitel 4.15.3, Seite 111, Tabelle 18). Die EC_{50}-Werte der *cyclo*Sal-d4AMP-Phosphattriester **34** und *cyclo*Sal-ddAMP-**35** waren im Fall von HIV-1 infizierten Lymphozyten alle ähnlich gut ($EC_{50} \cong 0.05$ µM). Erstaunlich ist, daß man im Fall der *cyclo*Sal-Nucleotide **34a-d**, **35a-h, 38a-c,e-h, 39a-c** und **42e-h** keine Abhängigkeit der Aktivität von der Hydrolysestabilität der Verbindungen findet. Weiterhin ist auch eine Korrelation zwischen Lipophilie und antiviraler Aktivität nicht zu erkennen (Tabelle 3, Seite 53 und Tabelle 5, Seite 62). Die *in vitro* anti-HIV-Zelltestst der *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen **42e-h** zeigten ähnlich gute antivirale Aktivitäten gegen HIV-1 und gegen HIV-2 wie das Nucleosid d4T **2** (Kapitel 4.15.3, Seite 111f, Tabelle 18). Untersuchungen der *cyclo*Sal-d4TMP-Triester **42e-h** in Thymidin-Kinase-defizienten HIV-2 infizierten Zellen zeigten in einigen Fällen einen Verlust an Aktivität (**42e** "slow", **42g**, **42g** "slow", **42h**) in Fall der Verbindungen **42e**, **42e** "fast", **42f** und **42g** "fast" einen Erhalt bzw. Gewinn an antiviraler Aktivität im Vergleich zu der CEM/0-Zellinie (HIV-2). Der in früheren Untersuchungen an *cyclo*Sal-d4TMP-Verbindungen beobachtete TK-Bypass kann bei den sehr lipophilen Verbindungen **42e-h** nicht mehr beobachtet werden. Ein Verlust der Aktiviät aufgrund zu geringer Stabilität kann hierbei nicht der Grund sein.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid Konzept erfolgreich auf ddA **7**, d4A **14**, 2‘-F-*ara*-ddA **16** und 2‘-F-*ribo*-ddA **18** angewendet wurde. Es konnte gezeigt werden, daß durch die intramolekulare Freisetzung der Nucleotide die biologische Aktivität im Vergleich zu den entsprechenden Nucleosiden deutlich erhöht werden konnte. Die vorhandene metabolische Blockade wurde in allen Fällen erfolgreich umgangen (ADA-Bypass). Durch die Synthese der *cyclo*Sal-Phosphattriester **38c, 39c, 40c** und **41c** und den Vergleich der antiviralen Aktivitäten untereinander, konnte eine limitierte Umwandlung innerhalb des vierstufigen Umwegs im Metabolismus nachgewiesen werden (Kapitel 4.11.3, Seite 85). Besonders bemerkenswert ist weiterhin die Umwandlung des inaktiven Nucleosids 2'-F-*ribo*-

ddA **18** in einen aktiven Wirkstoff mit Hilfe der *cyclo*Sal-Maske. Die synthetisierten *cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP-Verbindungen **39a-c** besaßen im Gegensatz zu dem entsprechenden Nucleosid **18** alle gute anti-HIV-Aktivitäten, was auf eine metabolische Blockade innerhalb des Metabolismus von 2'-F-*ribo*-ddAs **18** hingewiesen hat. Die Synthese der entsprechenden Hypoxanthin-Triester **40c** und **41c** hat die Lokalisierung des "metabolischen Flaschenhalses" ermöglicht. Durch Vergleich der antiviralen Daten miteinander konnte festgestellt werden, daß sowohl die Reaminierung von 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** zu 2'-F-*ribo*-ddAMP **47** als auch die Umwandlung von 2'-F-*ribo*-ddI **33** zu 2'-F-*ribo*-ddIMP **49** nicht effizient abläuft. Das *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid-Konzept bewirkt hier nicht nur einen erneuten ADA-Bypass, sondern steuert in diesem Fall zusätzlich einen wichtigen Beitrag zu der Aufklärung des Metabolismus des Nucleosides **18** bei. Ein weiterer und dabei besonders effizienter ADA-Bypass ist somit gelungen.

Um den Abbau der Nucleobase Adenin zum entsprechenden Hypoxanthin-Derivat zu verhindern, dürfen die *cyclo*Sal-Phosphattriester keine Substrate für desaminierende Enzyme sein. Deshalb wurde die enzymatische Stabilität der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide **34c**, **35c**, **38c** und **39c** gegenüber Adenosin-Desaminase (ADA) und Adenosin-Monophosphat-Desaminase (AMPDA) UV-spektrometrisch in einem Phosphatpuffer bestimmt (Kapitel 4.6.4, Seite 66 Seite 66 und Kapitel 4.11.4, Seite 89). Hierbei konnte kein Abbau zum Hypoxanthin-Phosphattriester detektiert werden. Zusätzliche Experimente mit dem natürlichen Substrat 2'-Desoxyadenosin **58** und 2'-Desoxyadenosin-5'-Monophosphat konnten zeigen, daß die untersuchten *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide keine Inhibitoren der verwendeten Enzyme darstellten (Kapitel 4.6.4, Seite 66).

Weiterhin wurden die 5'-Monophosphate der Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** aus den *cyclo*Sal-Verbindungen synthetisiert und einer Konformationsanalyse durch ^{1}H-NMR-Spektroskopie unterworfen (Kapitel 4.12.2, Seite 98). Hierbei konnte anhand der Kopplungskonstanten der Protonen im Ribosering gezeigt werden, daß im Fall der 2'-Fluor-*ara*-Nucleoside **16** und **32** bevorzugt eine South und im Fall der 2'-Fluor-*ribo*-Nucleoside **18** und **33** eine North Konformation vorliegt. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Konformationen der entsprechenden Nucleotide **46-49** (Kapitel 4.12.2, Seite 99, Tabelle 11 und Tabelle 12, Seite 99).

Zusätzlich wurde eine Pseudorotationsanalyse der Monophosphate 2'-F-*ara*-ddAMP **46**, 2'-F-*ribo*-ddAMP **47**, 2‘-F-*ara*-ddIMP **48** und 2‘-F-*ribo*-ddIMP **49** in Kooperation mit J.J. Barchi (NIH, Bethesda, USA) durchgeführt und mit den Pseudorotationsparameter der entsprechen-

den Nucleoside und der 5'-Triphosphate **17** und **19** verglichen (Kapitel 4.12.2, Seite 98f, Tabelle 13). Hierbei konnte gezeigt werden, daß sowohl die 5'-Monophosphate **46-49** als auch die entsprechenden Triphosphate **17** und **19** die ursprüngliche Konformation der Nucleoside 2‘-F-*ara*-ddA **16** bzw. 2‘-F-*ara*-ddI **32** (South) und 2‘-F-*ribo*-ddA **18** bzw. 2‘-F-*ribo* ddI **33** (North) beibehalten. Die 5'-Phosphatgruppe übt somit keine Umkehrung der Zucker-Konformation im Vergleich zum freien Nucleosid aus. Daher kann eine veränderte Konformation des 5'-Monophosphates nicht die Ursache für eine schlechtere Substrateigenschaft im Vergleich zum Nucleosid sein (Kapitel 4.12.2, Seite 98).

Von dem antiviral und antibakteriell wirksamen Nucleosid 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** wurden die *cyclo*Sal-Verbindungen **43a-c** über die Synthesevariante A synthetisiert und deren chemische und biologische Eigenschaften untersucht (Kapitel 4.16, Seite 112 und Kapitel 4.17, Seite 115). Die Lipophilie der *cyclo*Sal-3'-Desoxyadenosin-Derivate **43a-c** ist im Vergleich zu den bisherigen *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden aufgrund der freien OH-Gruppe an der 2'-Position geringer. Trotzdem weisen sie noch einen um einen Faktor 2-4.5 höhere Lipophilie als AZT **1** auf (Kapitel 4.17.1, Seite 115). Die Hydrolysestudien in Phosphatpuffer zeigten die gleiche Abhängigkeit vom Substituenten des aromatischen Ringes wie im Fall der Verbindungen **34a-c, 35a-c**, **38a-c** und **39a-c** beobachtet werden konnte (Kapitel 4.17.2, Seite 116). Die *in vitro* durchgeführten antiviralen Zelltests (Kapitel 4.17.3, Seite 116) zeigten eine geringe Verbesserung der Bioaktivität im Vergleich zum Nucleosid Cordycepin.

Eine weiterer vielversprechender Einsatz des *cyclo*Sal-Konzepts ist der Anwendung auf 9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)adenin (PMEA). Dieses acyclische Nucleosidphosphonat weist sehr gute antivirale Aktivitäten gegen HIV-1 und HIV-2 sowie eine Reihe von DNA-Viren auf.[274,275] Aufgrund seiner zweifach negativen Ladung des Phosphonat-Restes besitzt PMEA eine schlechte Bioverfügbarkeit. Die Synthese des *cyclo*Sal-Derivates von PMEA könnte eine Zellpenetration entscheidend verbessern.

Weiterführende Untersuchungen zur Bestimmung der Konfiguration der getrennten Diastereomeren **34b** und **39b** mittels CD-Spektroskopie und Röntgenstrukturanalyse sind ebenfalls von großem Interesse, da ein doch ganz erheblicher Unterschied in biologischer Aktivität und Hydrolysegeschwindigkeit der verschiedenen Diastereomeren beobachtet wird. In Anbetracht einer deutlich höheren antiviralen Aktivität einer der beiden Diastereomeren ist die Entwicklung einer diastereoselektiven Synthese von Vorteil.

Im Fall der 2'-Fluor-Nucleoside **16** und **18** kann die bestehende metabolische Blockade durch zusätzliche enzymatische Stabilitätstest mit den Enzymen 5'-Nucleotidase, Adenylosuccinat-

Lyase (ASL) und Adenylosuccinat-Synthase (ASS) gesichert werden. Die Enzyme 5'-Nucleotidase (EC 3.1.3.5.) und ASL (EC 4.3.2.2.) sind käuflich, während das Enzym ASS aus Weizenkeimen isoliert werden kann.[276] Hierbei könnten wie schon bei den Untersuchungen mit Adenosin-Desaminase (ADA) und Adenosinmonophosphat-Desaminase (AMPDA) mit Hilfe von UV-Spektroskopie die Substrateigenschaften der beiden Nucleoside 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** bzw. deren 5'-Monophosphate **48** und **49** im Hinblick auf die Enzyme 5'-Nucleotidase, ASL und ASS untersucht werden.

Weiterhin hat sich durch Hydrolysestudien in biologischen Medien von radioaktiv markierten *cyclo*Sal-AZTMP- und *cyclo*Sal-d4TMP-Pro-Nucleotiden gezeigt, daß das *cyclo*Sal-Konzept bei AZT aufgrund eines unterschiedlichen Metabolismus nicht zum Erfolg führt.[277,278] Hier wäre ein Pro-Nucleotid Konzept vorteilhafter, welches nicht das 5'-Monophosphat, sondern das 5'-Diphosphat des Nucleosides freisetzt. Eine Entwicklung eines solchen Konzeptes auf Basis des *cyclo*Sal-Konzeptes könnte AZT **1** ein noch höheres antivirales Potential geben.

Wie die *in vitro* Untersuchungen gezeigt haben, könnte aufgrund der erheblichen Steigerung der antiviralen Aktivitäten durch die *cyclo*Sal-Derivatisierung, besonders von ddA **7**, 2'-F-*ara*-ddA **16** und 2'-F-*ribo*-ddA **18**, in einem nächsten Schritt Hydrolyseuntersuchungen der Pro-Nucleotide in Zellhydrolysat und Seren verschiedener Säuger sein. Hierbei könnte das therapeutische Potential der *cyclo*Sal-Verbindungen in Anwesenheit der im Körper vorkommender Enzyme ermittelt werden.

Summary

The synthesis, hydrolysis, enzymatic stability and antiviral evaluation of novel lipophilic *cyclo*Sal-Nucleotides **70** were reported. The phosphotriesters were synthesized, respectively, from substituted salicylic alcohols **29** and the unprotected nucleosides. The salicylic alcohols **29** were prepared by reduction of the salicylic acids **69** or by selective formylation of the corresponding phenols **67**. The nucleoside analogues were synthesized by multistep reactions of the natural occuring nucleosides adenosine, 2‘-deoxyadenosin or thymidine.

All *cyclo*Sal-Nucleotides **34a-d**, **35a-h**, **36c**, **37c**, **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c**, **41c 42e-h** and **43a-c** were synthesized in good yields using the cyclic saligenylchlorophosphanes **70a-h** (method A). Besides, two different methods were used in which the *cyclo*Sal-phosphotriesters could be prepared by the use of a cyclic saligenylphosphoamidite **71c** (Method B) as well as by the use of cyclic saligenylphosphochloridates **72** (Method C). The yields of the triesters which were obtained by the three methods, were extremely different. After optimizing the reaction conditions, method B could be pointed out as an excellent method for the synthesis of *cyclo*Sal-d4TMP-triesters (yield 99 %). The comparison of method A, B and C showed that the use of cyclic saligenylchlorophosphanes **70** (method A) is the best one for the synthesis of adenin-containing nucleosides. On the other hand, method B ist better for the synthesis of *cyclo*Sal-d4TMP- and *cyclo*Sal-3TCMP-phosphotriesters according to yield and side products. Considering that the reaction conditions for the synthesis of adenine-containing *cyclo*Sal-triesters *via* method B and method C were not optimized, the obtained yield could possibly be increased.

All *cyclo*Sal-triesters were isolated as diastereomeric mixtures with respect to the configuration at the phosphorous atom. In some cases (**34b**, **39b**, **42e**, **42g**) the separations of the diastereomers were possible by means of semipreparative HPLC.

As a qualitative estimation of the lipophilic properties of the described compounds, their partition coefficients (logP) in 1-octanol/water were determined. All *cyclo*Sal-phosphotriesters (**34a-d**, **35a-h**, **36c**, **37c**, **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c**, **41c 42e-h**, **43a-c**) showed positive log*P* values which were higher than those of AZT **1**. Consequently, the passive diffusion through a membrane should be easier than for the free nucleosides. Because of the extreme high lipophilicity and therefore low hydrophilicity of the *tert*-butyl and *sec*-butyl substituted phosphotriesters **38e-f,** it must be assumed that no antiviral activity was observed.

Hydrolysis studies of the *cyclo*Sal-nucleotides **34a-d**, **35a-h**, **36c**, **37c**, **38a-c,e-h**, **39a-c**, **40c**, **41c, 42e-h** and **43a-c** were carried out in 12.5 mM phosphate buffer (pH 7.3). Compound **34a** and **38a** were taken as model compounds to demonstrate that the *cyclo*Sal-nucleotides release the nucleotides selectively by a controlled, chemical induced tandem reaction.The nucleotides ddAMP **8** and 2‘-F-ara-ddAMP **46** as well as the salicylic alcohol **29a** were detected by HPLC analysis as the exclusive products of the hydrolysis. The obtainded half-lifes showed a clear correlation between hydrolytic stability and the substituents on the aromatic ring. In phosphate buffer, the half-lifes increased commensurately with the electron-donating ability of the substiutent. In addition, the steric bulk of the substituent in the 3-position had a strong influence on the stability. Therefore the 3-*tert*-butyl and the 3-*sec*-butyl-derivatives **35e,f**, **38e,f** and **42e,f** were extraordinary stable under basic conditions. To investigate the stability towards acid-catalyzed cleavage of the glycosidic bond, the *cyclo*Sal-d4AMP- and *cyclo*Sal-ddAMP-triesters (**34a-d**, **35a-h**) as well as the corresponding *cyclo*Sal-d4IMP- and *cyclo*Sal-ddIMP-triesters (**36c**, **37c**), were incubated in 12.5 mM glycine/HCl buffer (pH 3.0 and 1.5). Within each series (**34a-d** and **35a-h**) the $t_{1/2}$ values remained constant, which suggests that the proton-induced cleavage of the glycosidic bond is independent of the substitution pattern in the *cyclo*Sal residue. However, as can be concluded from the half-lifes, the introduction of the *cyclo*Sal moiety at the 5‘-position of the dideoxyribose residue stabilized the glycosidic bond considerably with respect to nucleosides **7**, **5**, **14** and **31**. An oral application of the *cyclo*Sal-d4AMP- **34a-d** and *cyclo*Sal-ddAMP-triesters **35a-h** therefore should be possible. To investigate the acid-stability of the phosphate ester bonds of the *cyclo*Sal-phosphotriesters, hydrolysis studies at pH 3.0 and pH 1.5 were carried out for the 3-methyl-*cyclo*Sal-derivative of 2‘-F-*ara*-ddA **38c**, an acid stable analogue of ddA **8** under identical conditions. The half lifes showed (pH 3.0: 284 h compared to 13 h for **35c**; pH 1.5: 19 h compared to 0.54 h for **35c**) that the decrease of the triester peak in the HPLC chromatogramm was caused nearly exclusively by glycosidic bond cleavage and not by proton induced hydrolysis of the phosphotriesters.

The *cyclo*Sal-nucleotides **34a-d, 35a-h, 36c, 37c, 38a-c,e-h, 39a-c, 40c** and **41c** were evaluated for their ability to inhibit the replication of HIV-1 and HIV-2 in CEM cells. They exhibited an increase in antiviral potency in comparison to their corresponding nucleosides. An interesting difference to our previous findings was the virtual independence of the biological activity of the *cyclo*Sal compounds in relation to the substitution pattern of the aromatic ring of the *cyclo*Sal moiety. Additionally, no correlation of the hydrolysis stability and the lipophilicity of the compounds was observed.

The *in vitro* anti-HIV tests of the *cyclo*Sal-d4TMP compounds **42e-h** exhibited similar antiviral activities in HIV-1 and HIV-2 infected cells as for the nucleoside d4T **2**. In HIV-2 infected and thymidine-kinase deficient cells, some of the *cyclo*Sal-d4TMP-triesters **42** showed an decrease in antiviral activity (**42e** „slow“, **42g**, **42g** „slow“, **42h**) and some showed an increased or remaining in antiviral activity (**42e**, **42e** „fast“, **42f**, **42g** „fast“). A successful thymidine kinase bypass could therefore not be observed. The loss of activity because of lower stability of the *cyclo*Sal-compounds **42e-h** cannot be the reason for this observation.

It can be concluded that the pro-nucleotide concept was successfully applied to the nucleosides ddA **7**, d4A **14**, 2‘-F-*ara*-ddA **16** and 2‘-F-*ribo*-ddA **18**. The *cyclo*Sal-phosphotriesters are suitable to selectively deliver the nucleotides intracellulary and therefore a marked improvement in antiviral activity can be observed. The metabolic blockade was successfully circumvented (ADA-Bypass). Due to the synthesis and the comparison of the antiviral data of the *cyclo*Sal-phosphotriesters **38c**, **39c**, **40c** and **41c** a second metabolic blockade within the four-step metabolism was proved.

Particulary remarkable is the conversion of an antivirally inactive nucleoside analogue (2‘-F-*ribo*-ddA **18**) into an active compound by means of the *cyclo*Sal concept. In contrast to the nucleoside **18,** the *cyclo*Sal-2‘-F-*ribo*-ddAMP-triesters **39a-c** showed good antiviral activities, which indicates that there must be a metabolic „bottleneck“. The synthesis of the hypoxanthine *cyclo*Sal-phosphotriesters **40c** and **41c** helped to localized the limitating enzymatic step. By comparison of the antiviral data of **38c**, **39c**, **40c** and **41c** it was found that the reamination of 2‘-F-*ribo*-ddIMP **49** into 2‘-F-*ribo*-ddAMP **47** as well as the conversion of 2‘-F-*ribo*-ddI **33** into 2‘-F-*ribo*-ddIMP **49** does not run efficiently. In summary, the *cyclo*Sal-pro-nucleotide concept helps to bypass the ADA-deamination reaction as well as set light in the metabolism of the nucleoside 2‘-F-*ribo*-ddA **18**. Therefore, an additional and particulary efficient ADA-bypass was presented in this work.

Since the goal was to bypass the deamination by ADA by 5‘-modification it was also necessary to study the stability of the *cyclo*Sal-nucleotides **34c**, **35c**, **38c**, and **39c** against adenosine-deaminase (ADA). In addition, we studied the enzymatic stability against adenosine-monophosphate-deaminase (AMPDA) to exclude the possiblility of the *cyclo*Sal-triesters being deaminated to give the corresponding hypoxanthine *cyclo*Sal-triesters **36c**, **37c**, **40c** and **41c**. However, a deamination reaction to the hypoxanthine *cyclo*Sal-triesters has not been detected in all cases. Additional experiments, to exclude an inhibitory effect of the enzymes ADA and AMPDA by the *cyclo*Sal-triesters, were carried out with the natural substrate

2‘-deoxyadenosine **58** and 2‘-deoxyadenosine-5‘-monophosphate. These experiments showed no inhibitory effects due to competetive interactions of the triester and the enzyme.

The 5‘-monophosphates of the nucleosides 2‘-F-*ara*-ddA **16**, 2‘-F-*ribo*-ddA **18**, 2‘-F-*ara*-ddI **32** and 2‘-F-*ribo*-ddI **33** were synthesized for conformational analysis *via* ^{1}H-NMR. The desired nucleotides were synthesized by base induced hydrolysis of the corresponding *cyclo*Sal-triesters on a preparative scale. The coupling constants of the 1H-NMR spectra showed that the 2‘-F-*ara* nucleosides **16** and **22** preferred a „south“ conformation and that the 2‘-F-*ribo* nucleosides **18** and **33** preferred a „north“ conformation. This goes confirm with the preferred conformations of the correspondent nucleotides **46-49**.

In cooperation with J.J. Barchi (NIH, Bethesda, USA) a pseudorotational analysis of the nucleotides 2‘-F-*ara*-ddAMP **46** and 2‘-F-*ribo*-ddAMP **47**, 2‘-F-*ara*-ddIMP **48** and 2‘-F-*ribo*-ddIMP **49** was carried out to calculate the conformational parameters and to compare them with those of the corresponding nucleosides and 5‘-triphosphates **17** and **19**. It was shown that the original conformation of the nucleosides 2‘-F-*ara*-ddA **16** and 2‘-F-*ara*-ddI **32** (south) or 2‘-F-*ribo*-ddA **18** and 2‘-F-*ribo*-ddI **33** (north), respectivly, are maintained by the nucleotides **46-49** as well as the corresponding 5‘-triphosphates. The 5‘-phosphate group does not affect the sugar conformation in comparison to the nucleoside and therefore the conformation of the nucleotide cannot be the reason of a poorer substrate property.

The *cyclo*Sal-triesters of the antiviral and antibacterial active nucleoside 3‘-deoxyadenosine (cordycepine) **15** were synthesized *via* method A and their chemical and biological properties were analyzed. The *cyclo*Sal-3‘-dAMP-triesters **43a-c** showed positive logP values and were higher than those of AZT **1** although there was the free hydroxyl group at the 2‘-position of the aglycon. The hydrolysis studies of the *cyclo*Sal-nucleotides **43a-c** obtained half-lifes, which showed a clear correlation between hydrolytic stability and the substituents on the aromatic ring. The *in vitro* antiviral tests showed an increase in activity in comparison to the nucleoside cordycepine **15**.

6. Experimenteller Teil

6.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

6.1.1 Chromatographie

6.1.1.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden Kieselgel 60 beschichtete Aluminiumfolien mit Fluorenzenzindikator (Merck; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Platten wurden auf eine Größe von 3-5 × 10 cm zugeschnitten; die Laufstrecke betrug 8-9 cm. Alle R_f-Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion UV-aktiver Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm. Desoxyribose-Zucker konnten mit Hilfe eines Sprühreagenzes nachgewiesen werden, das aus 90 ml 75 %igem Ethanol, 10 ml konzentrierter Essigsäure, 5.0 ml Anisaldehyd und 5.0 ml konzentrierter Schwefelsäure bestand. Dazu wurden DC-Karten mit dem Reagenz bestrichen und anschließend mit einem Heißluftfön erhitzt. Die Zuckerverbindungen färbten sich hierdurch braun. Weiterhin wurde ein Cer-Sprühreagenz bei der Identifizierung von Benzylalkoholen verwendet. Dieses Sprühreagenz setzte sich aus 2 g Molybdatophosphorsäure, 1 g Cer(IV)sulfat, 90 ml Wasser und 10 ml konzentrierter Schwefelsäure zusammen. Benzylalkohole färbten sich dadurch blau.

6.1.1.2 Präparative chromatographische Trennung

Substanzgemische mit Rohausbeuten bis zu 5.0 g wurden an einem Chromatotron der Firma Harrison Research, Modell 7924 T getrennt. Als Trennmaterial diente hierbei gipshaltiges Kieselgel 60 PF_{254} (Merck), das in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf entsprechende Glasplatten (∅ 20 cm) aufgetragen wurde. Die Detektion UV-aktiver Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

6.1.1.3 Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)

Substanzgemische mit mehr als 5.0 g Rohausbeute wurden über eine Säule mit leichtem Überdruck aufgereinigt.[279] Als Trennmaterial wurde Kieselgel mit einer Korngröße von 63-200 µm verwendet.

6.1.1.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an Merck-Hitachi-Anlagen durchgeführt.

Software:	Chromatographie Data Station Software HPLC Manager Version 2, HPLC System Manager Version 4.0
Interface:	Model D 6000, L-7000
Pumpe:	L-6200 Intelligent Pump, L-7100
Automatischer Probenwechsler:	AS 2000A, AS L-7200
Detektion:	UV, 260 nm, DAD L-7455
Analytische Säulen:	LiChroCART 250-3 mit LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) Füllmaterial, Flußgeschwindigkeit = 0.5 ml/min
	EcoCART 125-3 mit LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) Füllmaterial, Flußgeschwindigkeit = 0.5 ml/min
Semipräparative Säule:	LiChroCART 250-10 mit LiChrospher 100 RP-18 (10 µm) Füllmaterial, Flußgeschwindigkeit = 4 ml/min

6.1.2 Fourier-Transform- Infrarotspektroskopie (FT-IR)

Die Infrarotspektren wurden auf einem Perkin-Elmer 1600 Series FT-IR aufgenommen.

6.1.3 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

^{1}H-NMR

Bruker AMX 400 (400 MHz), Bruker DMX 600 (600 MHz), Bruker DRX 500 (500 MHz).

Die Standardisierung erfolgte gegen $CDCl_3$ (δ = 7.27 ppm), DMSO-d_6 (δ = 2.49 ppm) und D_2O (δ = 4.65 ppm) bzw. gegen das Referenzsignal des deuterierten Lösungsmittels. Die Feinstruktur der Protonensignale wurden mit "s" für Singulett, "d" für Dublett, "t" für Triplett, "q" für Quartett, "m" für Multiplett, "dd" für Doppeldublett, "ddd" für Dublett vom Doppeldublett, "dddd" Doppeldublett von Doppeldublett, "dq" Dublett von Quartett und "td" für Triplett von Dublett angegeben.

^{13}C-NMR

Bruker AMX 400 (100.9 MHz), Bruker DMX 600 (150.9 MHz), Bruker DRX 500 (125.8 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen $CDCl_3$ (δ = 77.0 ppm) und DMSO-d_6 (δ = 39.7 ppm) bzw. gegen das Referenzsignal des deuterierten Lösungsmittels.

^{31}P-NMR

Bruker AMX 400 (161.9 MHz), Bruker DRX 500 (202 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard (85 %ige Phosphorsäure, δ = 0.00 ppm) bzw. gegen das Referenzsignal des deuterierten Lösungsmittels.

^{19}F-NMR

Bruker AMX 400 (376.5 MHz), Bruker AMX 500 (470 MHz). Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard ($CFCl_3$, δ = 0.0 ppm) bzw. gegen das Referenzsignal des deuterierten Lösungsmittels.

Die chemischen Verschiebungen (δ) wurden in ppm angegeben. Die Kopplungen (J) wurden in Hertz (Hz) angegeben. Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur aufgenommen, Meßfrequenz und Lösungsmittel wurden in Klammern angegeben.

6.1.4 Ultraviolettspektroskopie (UV)

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

6.1.5 Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektren wurden auf einem Elektrospray-Gerät der Firma Finnigan MAT, TSQ 7000 gemessen und mit der Software ISIS 8.1 nachbearbeitet.

6.1.6 Geräte

Gefriertrocknung

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

Thermomixer

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

6.1.7 Verwendete Puffer und Reagenzien

Ammoniak gesättigte Methanollösung

In einem 1000 ml Rundkolben wurde Ammoniakgas in ca. 800 ml wasserfreies Methanol bei –15 °C für etwa 30 min eingeleitet. Der gasförmige Ammoniak wurde dabei durch zwei mit Kaliumhydroxidplätzchen vorgeschaltete Waschflaschen vorgetrocknet, die Kühlung der Methanollösung erfolgte durch eine externe Eis-Kochsalz-Kältemischung. Die fertige Ammonial-gesättigte Methanollösung wurde anschließend bei –20 °C gelagert

TBAP-Puffer

6.6 ml einer wässrigen Tetrabutyl-ammoniumhydroxid-Lösung (Fluka, ≈ 40 %ig) wurden in1000 ml Milli-Q-Wasser gelöst (Puffer I) und mit verdünnter Phosphorsäure auf einen pH Wert von 3.2 eingestellt. 80 ml dieses Puffers wurden nochmals in 1000 ml Milli-Q-Wasser verdünnt (Puffer II) und durch einen Membranfilter filtriert, um feste Partikel zu entfernen.

Lösungsmittel für die HPLC

Acetonitril gradient grade (für die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) der Firma Merck. Das Wasser wurde mit Hilfe der Reinstwasseranlage EASYpure® UV/UF der Firma Werner aufgereinigt.

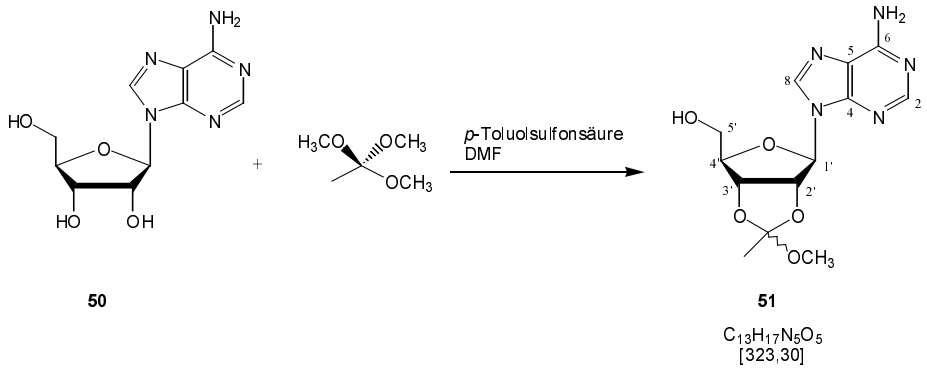
2%ige Benzolsulfonsäure-Lösung in Dichlormethan/Methanol (7:3)

In einer Mischung aus 686 ml Dichlormethan und 294 ml Methanol wurden 20.0 g Benzolsulfonsäure gelöst

6.2 Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) 14

In diesem Kapitel wird die Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** ausgehend von Adenosin **50** beschrieben.[179]

6.2.1 Darstellung von 2',3'-*O*-Methoxyethylidenadenosin 51



3.00 g (11.23 mmol, 1.0 Äquiv.) Adenosin **50**, 6.7 g (7.06 ml, 56.2 mmol, 5.0 Äquiv.) Trimethylorthoacetat und 0.64 g (3.37 mmol, 0.3 Äquiv.) *para*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat wurden zusammen in 9.00 ml Dimethylformamid suspendiert und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch auf vollständigen Umsatz des Eduktes kontrolliert. Anschließend wurde der pH-Wert der Reaktionslösung mit einer 1 M methanolischen Natriummethanolat-Lösung ($NaOCH_3$) auf 8 erhöht. Das Lösungsmittel, Methanol und überschüssiges Trimethylorthoacetat wurden am N_2(l)-gekühlten Rotationsverdampfer abdestilliert, wobei die Temperatur des Wasserbades 30 °C nicht überstieg. Das erhaltene Öl wird in Chloroform gelöst und vom verbleibenden Feststoff abfiltriert und mehrmals mit Chloroform nachgewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das gelbliche Öl wurde chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 2.8 g (8.8 mmol, 78 %) eines Diastereomerengemisches

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 2 Diastereomere (Verhältnis 1:1): 8.36 (s, 1H, H8); 8.34 (s, 1H, H8); 8.16 (s, 1H, H2); 8.15 (s, 1H, H2); 7.37 (s, 2H, NH_2); 7.36 (s, 2H, NH_2); 6.28 (d, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.1 Hz); 6.16 (d, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 2.7 Hz); 5.53 (dd, 1H, H2', $^3J_{HH1'}$ = 2.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 6.7 Hz); 5.42 (dd, 1H, H2', $^3J_{HH1'}$ = 3.0 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 7.3 Hz); 5.16 (t, 2H, OH, $^3J_{HH5'}$ = 6.4 Hz); 5.10 (dd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.7 Hz, $^3J_{HH4}$ = 2.7 Hz); 4.97 (dd, 1H, H3',

$^3J_{HH2'}$ = 7.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.2 Hz); 4.29 (m, 1H, H4'); 4.20 (m, 1H, H4'); 3.56-3.45 (m, 4H, H5', H5''); 3.34 (s, 3H, OCH_3); 3.17 (s, 3H, OCH_3); 1.63 (s, 3H, CH_3); 1.52 (s, 3H, CH_3);

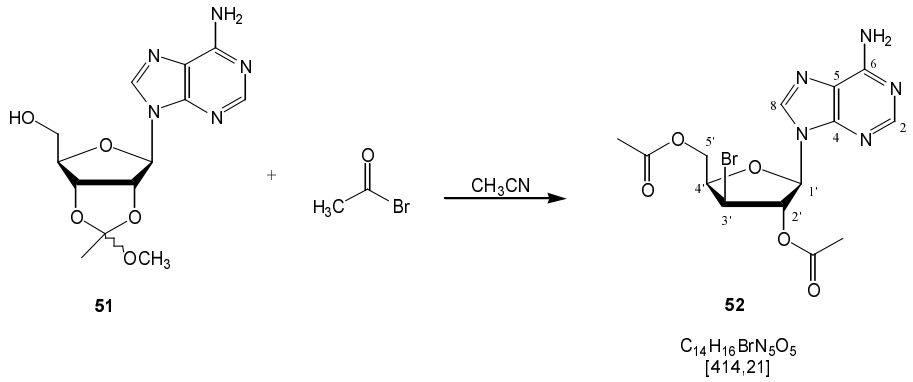
^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 2 Diastereomere (Verhältnis 1:1): 156.02 (C6); 152.60 (C8); 148.76, 148.70 (C4); 139.72, 139.54 (C2); 118.95, 118.92 (C5); 89.18 (C1'); 86.55 (C4'); 83.71, 83.47 (C2'); 81.95, 81.00 (C3'); 61.45, 61.27 (C5'); 49.75, 49.11 (OCH_3); 23.24, 21.24 (CH_3)

MS (ESI$^+$) m/z 324.7 (M+1)

Schmelzpunkt: 177-178 °C

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.43

6.2.2 Darstellung von 3'-Brom-3'-dexoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin 52



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 5.40 g (16.7 mmol, 1.0 Äquiv.) des 2',3'-*O*-Methoxyethylidenadenosin **51** in absolutem Acetonitril suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 4.11 g (2.5 ml, 33.4 mmol, 2.2 Äquiv.) Acetylbromid in 15.0 ml absolutem Acetonitril verdünnt und zu der Reaktionsmischung hinzugetropft. Nach einiger Zeit wurde die zunächst trübe Reaktionslösung klar und nach Beendigung der Zugabe fiel ein farbloser Feststoff aus. Es wurde im Anschluß 30 min unter Rückfluß erhitzt wobei sich der Niederschlag wieder löste. Nach Abkühlung der Reaktionsmischung wurde das Lösungsmittel am N_2(l)-gekühlten Rotationsverdampfer abdestilliert, wobei die Temperatur des Wasserbades 30 °C nicht überstieg. Der erhaltenen Feststoff wurde in Chloroform aufgenommen und mit 5 %iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Die leicht orangefarbene Lösung wurde dabei farblos. Die wäßrige Phase wird nochmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Im Anschluß wurden die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das

Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 4.2 g (9.4 mmol, 56 %)

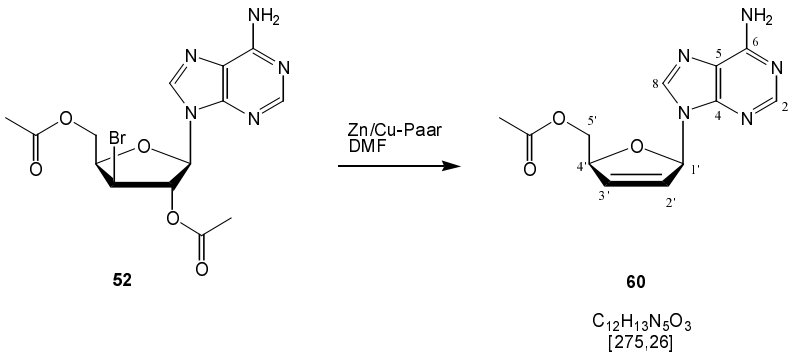
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 8.30 (s, 1H, H8); 8.16 (s, 1H, H2); 7.39 (s, br, 2H, NH_2); 6.17 (d, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.1 Hz); 5.90 (t, 1H, H2', $^3J_{HH}$ = 2.7 Hz); 4.91 (dd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 2.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.6 Hz); 4.53 (dt, 1H, H4', $^3J_{HH3'}$ = 4.6 Hz, $^3J_{HH}$ = 5.2 Hz); 4.45-4.30 (m, 2H, H5', H5''); 2.10 (s, 3H, 2'-CH_3); 2.05 (s, 3H, 5'-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 169.93 (C=O); 169.18 (C=O); 155.98 (C6); 152.85 (C8); 149.03 (C4); 138.31 (C2); 118.69 (C5); 86.46 (C1'); 81.27 (C2'); 77.58 (C4'); 64.85 (C5'); 54.80 (C3'); 20.45 (CH_3); 20.09 (CH_3)

MS (ESI$^+$) m/z 414.7

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.47

6.2.3 Darstellung von 5'-*O*-Acetyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin 60



Darstellung des Zink-Kupfer-Paares: Zu einer heißen Lösung von 169 mg (0.85 mmol, 1.0 Äquiv.) Kupfer(II)acetat-monohydrat in 15.0 ml Eisessig wurde 2.71 g (41.4 mmol, 50 Äquiv.) Zinkstaub hinzugegeben. Die zunächst tiefblaue Lösung entfärbte sich innerhalb weniger Minuten. Sofort nachdem sich die Lösung entfärbt hatte, wurde vom Lösungsmittel abdekantiert und das dunkelrot-graue Pulver mit Eisessig und abschließend dreimal mit Diethylether nachgewaschen. Das Zink-Kupfer-Paar wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet und danach in wasserfreiem DMF suspendiert.

Eine Lösung von 3'-Brom-3'-dexoxy-2',5'-di-*O*-acetyladenosin **52** in absolutem Dimethylformamid wurde bei 0°C zu der Suspension des Zink-Kupfer-Paares hinzugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde grün. Anschließend wurde über

Celite® abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abkondensiert. Die Aufreinigung erfolgte chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10 %. Dem Dichlormethan wurde zuvor 0.1 % Triethylamin zugesetzt, um einen Bruch der glycosidischen Bindung entgegenzuwirken. In einer Ausbeute von 85 % konnte 5'-*O*-Acetyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **60** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 1.95 g (7.18 mmol, 85 %)

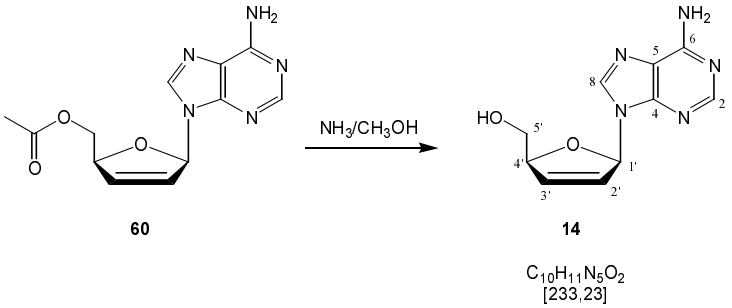
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 8.18 (s, 1H, H8); 8.08 (s, 1H, H2); 7.35 (s, 2H, NH2); 6.96 (dt, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 3.1 Hz); 6.49 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.1 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.8 Hz); 6.25 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 2.1 Hz); 5.09 (m, 1H, H4'); 4.23-4.12 (m, 2H, H5', H5''); 1.98 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 169.99 (C=O); 155.93 (C2); 152.73 (C6); 149.17 (C4); 138.68 (C8); 133.08 (C2'); 125.88 (C3'); 118.71 (C5); 87.61 (C1'); 84.36 (C4'); 64.58 (C5'); 20.44 (5'-CH_3)

MS (ESI$^+$) m/z 275.5

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.40

6.2.4 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) 14



Zu 0.40 g (1.45 mmol) 5'-*O*-Acetyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **60** wurden 5.00 ml einer kaltgesättigten ammoniakalischen Methanollösung hinzugegeben und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Es fällt ein farbloser Feststoff aus. Die Reaktionsmischung wurde vom Lösungsmittel am Rotationsverdampfer befreit und chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (10-30 %) aufgereinigt. Dem Dichlormethan wurde zuvor 0.1 % Triethylamin zugesetzt, um einen Bruch der glycosidischen Bindung entgegenzuwirken. In einer Ausbeute von 82 % konnte 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **14** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 0.27 g (1.19 mmol, 82 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.18 (s, 1H, H8); 8.16 (s, 1H, H2); 7.33 (s, br, 2H, NH2); 6.95 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 2.9 Hz); 6.46 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.7 Hz); 6.13 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.8 Hz); 5.08 (t, 1H, OH, $^3J_{HH}$ = 4.8 Hz); 4.93-4.82 (m, 1H, H4'); 3.64-3.52 (m, 2H, H5', H5'')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 155.93 (C2); 152.52 (C6); 149.05 (C4); 139.07 (C8); 134.25 (C2'); 125.39 (C3'); 118.68 (C5); 87.92 (C1'); 87.76 (C4'); 62.67 (C5');

MS (ESI$^+$) m/z 233.5

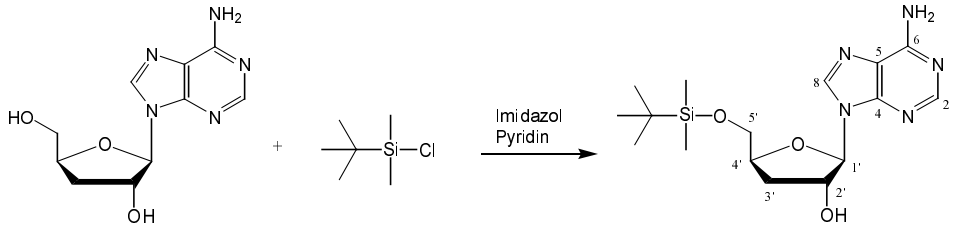
UV(CH_3CN): λ_{max} 258.96 nm, 193.95 nm; λ_{min} 226.98 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3403, 3172, 2976, 2938, 2738, 2677, 2604, 2494, 2359, 2343, 1654, 1602, 1475, 1397, 1171, 1071, 1036, 968, 851, 806, 722, 647

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.18

6.3 Synthese von 2',3'- Didesoxyadenosin (ddA)

6.3.1 Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin 63



$C_{16}H_{27}N_5O_3Si$
[365,50]

In einer Inertgasatmosphäre und unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 0.50 g (1.87 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-Desoxyadenosin **58** in 20.0 ml wasserfreiem Pyridin gelöst. Zu dieser Lösung wurden 0.28 g (1.88 mmol, 1.0 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und 0.28 g (4.10 mmol, 2.2 Äquiv.) Imidazol hinzugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abkondensiert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Der Rückstand wurde im 20.0 ml Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit je 20.0 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und

das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer abkondensiert. Das so gewonnene Rohprodukt wurde chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vom Lösungsmittel befreit und man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 0.51 g (1.31 mmol, 70 %)

Schmelzpunkt: 141-142 °C

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.34 (s, 1H, H8); 8.17 (s, 1H, H2); 6.51 (t, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 6.4 Hz); 5.74 (s, br, 2H, NH_2); 4.69 (m, 1H, H4'); 4.11 (dd, 1H, H3', $^3J_{HH4'}$ = 7.0 Hz); 3.91 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.0 Hz); 3.86 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.7 Hz); 3.49 (s, br, 1H, OH); 2.70 (m, 1H, H2'); 2.55 (m, 1H, H2'); 0.91 (s, 9H, *tert*-Bu); 0.09 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 155.53 (C6); 152.77 (C2); 149.25 (C4); 138.77 (C8); 107.72 (C5); 87.29 (C4'); 84.34 (C1'); 71.75 (C3'); 63.35 (C5'); 41.45 (C2'); 25.87 (CH_3-*tert*-Bu); 18.33 (C_{quart}-*tert*-Bu); -5.42 (CH_3); -5.54 (CH_3)

^{29}Si-NMR: δ [ppm] (40 MHz, $CDCl_3$) 22.21

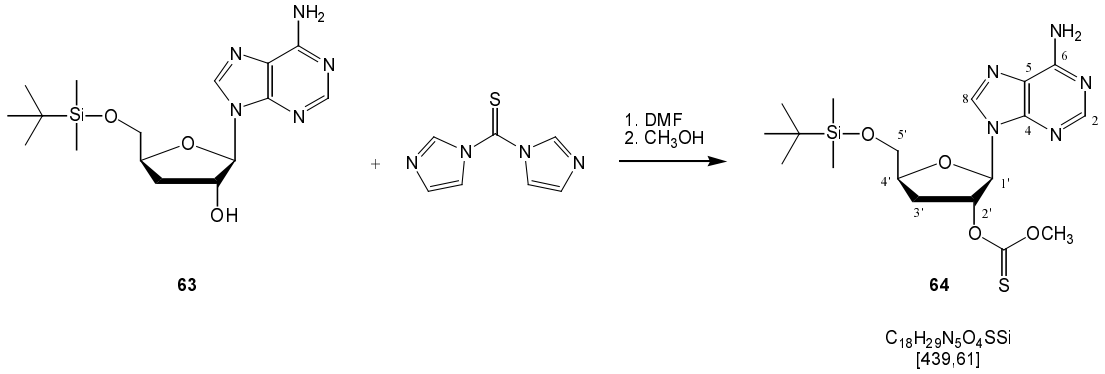
MS (ESI^+) m/z 366.4 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 258.4 nm, 211.6 nm; λ_{min} 226.5 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3182, 2929, 1649, 1598, 1571, 1472, 1416, 1361, 1330, 1298, 1255, 1210, 1176, 1101, 1003, 937, 909, 836, 787, 781, 727, 627, 650

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.40; (Essigsäureethylester/Methanol 7:3 v/v) 0.56

6.3.2 Darstellung von 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-3'-methylthiocarbonyl-2'-desoxyadenosin 64



In einer Inertgasatmosphäre und unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 4.62 g (12.6 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin **63** und 5.03 g (29.1 mmol, 2.3 Äquiv.) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol in 60.0 ml wasserfreiem Dimethylformamid gelöst. Nachdem die Reaktion 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abkondensiert. Nach Zugabe von 90.0 ml wasserfreiem Methanol wurde die Reaktion auf 60 °C erhitzt und 4 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel erneut am Rotationsverdampfer abkondensiert. Man erhielt ein braunes Öl, welches in Dichlormethan aufgenommen wurde und dreimal mit je 40.0 ml Wasser gewaschen wurde. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet das Lösungsmittel abkondensiert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde Säulenchromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-5 %) aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vom Lösungsmittel befreit und man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 2.98 g (6.77 mmol, 54 %)

Schmelzpunkt: 134 °C

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.36 s, 1H, H8); 8.22 (s, 1H, H2); 6.56 (t, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 6.4 Hz); 5.83(m, 1H, H3'); 5.74 (s, br, 2H, NH_2); 4.39 (m, 1H, H4'); 4.09 (s, 3H, OCH_3); 4.02 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 3.96 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 2.79 (m, 2H, H2', H2''); 2.55 (m, 1H, H2'); 0.93 (s, 9H, *tert*-Bu); 0.14 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 155.39 (C6); 153.09 (C2); 149.70 (C4); 138.47 (C8); 109.70 (C5); 85.28 (C4'); 84.19 (C1'); 83.73 (C3'); 63.91 (C5'); 59.79 (OCH_3); 39.11 (C2'); 25.92 (*tert*-Bu); 18.35 ($C_{quart.}$-*tert*-Bu); -5.38 (CH_3); -5.53 (CH_3)

^{29}Si-NMR: δ [ppm] (40 MHz, $CDCl_3$) 22.93

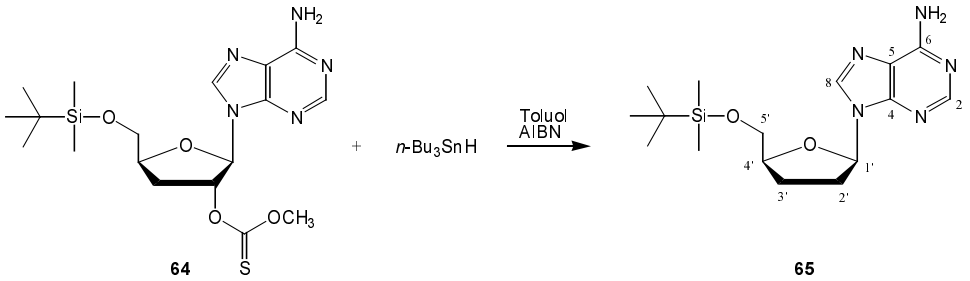
MS (ESI^+) m/z 440.2 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 257.7 nm, ε = 14039; λ_{min} = 211.55 nm, ε = 21399

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3319, 3159, 2953, 2929, 2857, 1647, 1601, 1576, 1507, 1472, 1452, 1420, 1369, 1277, 1239, 1165, 1127, 1101, 1074, 1045, 1002, 943, 876, 836, 813, 729, 688, 650

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.62; (Essigsäureethylester/Methanol 7:3 v/v) 0.71

6.3.3 Darstellung von 5'-*O-tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-didesoxyadenosin 65



$C_{16}H_{27}N_5O_2Si$
[349,50]

In einer Inertgasatmosphäre und unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 4.26 g (9.70 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-*O-tert*-Butyldimethylsilyl-3'-methylthiocarbonyl-2'-desoxyadenosin **64** in 70 ml wasserfreiem Toluol gelöst und nacheinander mit 615 mg (3.74 mmol, 0.4 Äquiv.) Azoisobutyronitril (AIBN) und 7.00 ml (22.0 mmol, 2.3 Äquiv.) tri-*n*-Butylzinnhydrid hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde mehrere Male entgast und im Anschluß unter Argonatmosphäre gesetzt. Die Lösung wurde dadurch zähflüssig, so daß noch weitere 20.0 ml wasserfreies Toluol hinzugegeben werden mußten. Die Reaktion wurde 5 h auf 75 °C erhitzt, wobei eine klare Lösung entstand. Die Reaktion wurde abgekühlt und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Der gelbe Rückstand wurde säulenchromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vom Lösungsmittel befreit und man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 3.12 g (8.50 mmol, 88 %)

Schmelzpunkt: 141-142 °C

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.36 (s, 1H, H8); 8.22 (s, 1H, H2); 6.56 (t, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 6.4 Hz); 5.83 (m, 1H, H3'); 5.74 (s, br, 2H, NH_2); 4.39 (m, 1H,

H4'); 4.09 (s, 3H, OCH3); 4.02 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 3.96 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 2.79 (m, 2H, H2', H2''); 0.93 (s, 9H, *tert*-Bu); 0.14 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 155.75 (C6); 153.27 (C2); 151.37 (C4); 139.11 (C8); 107.78 (C5); 85.43 (C1'); 82.12 (C4'); 64.19 (C5'); 33.47 (C3'); 25.98 (*tert*-Bu); 25.10 (C2'); 18.50 ($C_{quart.}$-*tert*-Bu); -5.44 ($Si(CH_3)_2$)

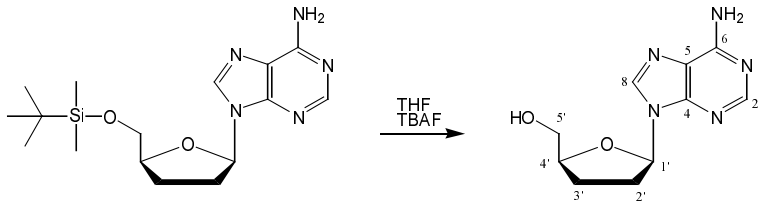
^{29}Si-NMR: δ [ppm] (40 MHz, $CDCl_3$) 21.71

UV(CH_3CN): λ_{max} 191.32 nm, ε = 20113, 208.36 nm ε = 17613, 258.41 nm ε = 12610; λ_{min} 197.71 nm, ε = 17375, 227.53 ε = 2143

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3307, 3141, 2955, 2927, 2897, 2858, 1671, 1602, 1567, 1470, 1412, 1369, 1327, 1302, 1255, 1212, 1184, 1130, 1079, 1053, 986, 936, 866, 837, 784, 724, 695, 675

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.54; (Essigsäureethylester/Methanol 7:3 v/v) 0.58

6.3.4 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) 7



$C_{10}H_{13}N_5O_2$
[235,24]

In einer Inertgasatmosphäre und unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 5.71 g (21.8 mmol, 3.0 Äquiv.) Tetra-butyl-ammoniumfluorid (TBAF) zu einer Lösung von 2.68 g (7.28 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-*O*-*tert*-Butyldimethylsilyl-2',3'-didesoxyadenosin **65** in 35.0 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran hinzugegeben. Es fiel ein farbloser Feststoff aus. Die Reaktion wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt und chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Dem Dichlormethan wurde zuvor 0.1 % Triethylamin zugesetzt, um einen Bruch der glycosidischen Bindung entgegenzuwirken. In einer Ausbeute von 97 % konnte 2',3'-Didesoxyadenosin **7** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 1.66 g (7.05 mmol, 97 %)

Schmelzpunkt: 148-150 °C (Zers.)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.36 (s, 1H, H8); 8.22 (s, 1H, H2); 6.34 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 3.1 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.4 Hz); 5.58 (s, br, 2H, NH_2); 4.25 (m, 1H, H4'); 4.01 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.4 Hz); 3.78 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.4 Hz); 2.49 (m, 2H, H2', H2''); 2.13 (m, 2H, H3', H3'')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 156.87 (C6); 153.26 (C2); 149.65 (C4); 139.88 (C8); 119.93 (C5); 85.25 (C1'); 82.54 (C4'); 63.78 (C5'); 32.60 (C3'); 26.55 (C2')

UV(CH_3CN): λ_{max} 191.52 nm ε = 27374, 209.42 nm ε = 23207, 259.48 nm ε = 17210; λ_{min} 196.64 nm ε = 19186, 226.46 nm ε = 2450

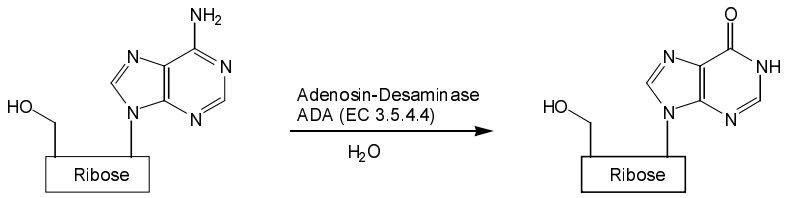
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3212, 3145, 2926, 2362, 2342, 1603, 1474, 1420, 1337, 1240, 1217, 1096, 1065, 1044, 827, 722, 695, 648

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.25; (Essigsäureethylester/Methanol 7:3 v/v) 0.29

6.4 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5 und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) 31 durch enzymatische Reaktion mit Adenosin-Desaminase (ADA)

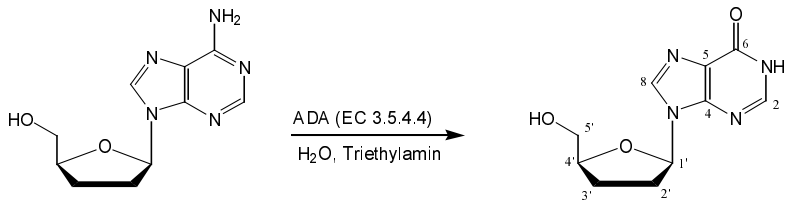
Die Hypoxanthin-Nucleoside 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** konnten durch enzymatische Desaminierung mit Adenosin-Desaminase aus Kälberdarmschleimhaut (EC 3.5.4.4) erfolgreich synthetisiert werden. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

6.4.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von Hypoxanthin-Nucleosiden aus den entsprechenden Adenin-Verbindungen durch enzymatische Desaminierung mit ADA



Es wurden 1.0 Äquiv. des Nucleosids in Wasser suspendiert und mit 10 U Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4) versetzt. Die Suspension mußte zusätzlich mit 30 µl Triethylamin (TEA) versetzt werden, um während der Reaktion eine Spaltung der glycosidischen Bindung zu verhindern. Es wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Enzym mit kaltem Methanol gefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen geeigneten Membranfilter (Sartorius, Minisart, 0.45 µ) filtriert, um restliches Enzym zu entfernen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels an der Lyophille konnte die Verbindung chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10 % oder durch Kristallisation aus einem Dichlormethan/Methanol-Gemisch rein erhalten werden. Man erhielt einen farblosen Feststoff in einer Ausbeute von 98-97 %.

6.4.2 Darstellung von 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) 5



$C_{10}H_{12}N_4O_3$
[236,23]

Die Darstellung von 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.4.1 durchgeführt. Eine Suspension von 100 mg (0.43 mmol, 1.0 Äquiv) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 5 ml Wasser wurde mit 30 µl Triethylamin versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält eine klare, farblose Lösung. Anschließend wurde die Lösung mit 5.00 ml eiskaltem Methanol zum Ausfällen des Enzyms versetzt und bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter der Firma Sartorius (Minisart, 0.45 µ) filtriert. Nach dem Lyophilisieren und chromatographischer Aufreinigung konnte 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 99.4 mg (0.42 mmol, 98 %)

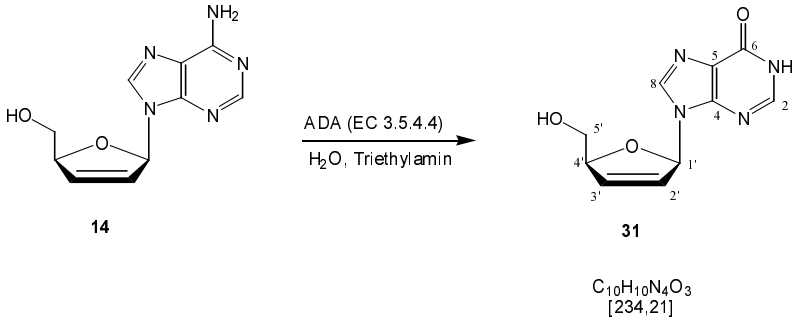
^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.33 (s, 1H, NH); 8.32 (s, 1H, H8); 8.04 (s, 1H, H2); 6.20 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.3 Hz); 4.96 (t, 1H, OH, $^3J_{HH}$ = 5.5 Hz); 4.11 (m, 1H, H4'); 3.62 (ddd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.0 Hz, $^3J_{HOH}$ = 5.4 Hz); 3.51 (dt, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.7 Hz, $^3J_{HH}$ = 5.0 Hz); 2.47-2-42 (m, 1H, H2'); 2.36-2.31 (m, 1H, H2'); 2.07-1.98 (m, 2H, H3', H3'')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150 MHz, DMSO-d_6) 156.56 (C6); 147.53 (C4); 145.55 (C2); 138.13 (C8); 124.23 (C5); 84.39 (C1'); 81.98 (C4'); 62.56 (C5'); 32.07 (C3'); 25.37 (C2')

UV(CH_3CN): λ_{max} 250.1 nm, 244.7 nm, 196.4 nm; λ_{min} 248.2 nm, 223.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3272, 2899, 1710, 1551, 1505, 1458, 1421, 1341, 1195, 1100, 1062, 984, 812

6.4.3 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) 31



Die Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.4.1 durchgeführt. Eine Suspension von 100 mg (0.43 mmol, 1.0 Äquiv) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** in 5.0 ml Wasser wurde mit 30 µl Triethylamin versetzt und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält eine klare, farblose Lösung. Anschließend wurde die Lösung mit 5.0 ml eiskaltem Methanol zum Ausfällen des Enzyms versetzt und bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter der Firma Sartorius (Minisart, 0.45 µ) filtriert. Nach dem Lyophilisieren und chromatographischer Aufreinigung konnte 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 98.4 mg (0.42 mmol, 97 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.37 (s, 1H, NH); 8.12 (s, 1H, H8); 8.07 (s, 1H, H2); 6.89 (dt, 1H, H1', $^{3}J_{HH}$ = 3.1 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 1.5 Hz); 6.48 (dt, 1H, H3', $^{3}J_{HH}$ = 1.6 Hz, $^{3}J_{HH2'}$ = 5.8 Hz); 6.13 (ddd, 1H, H2', $^{3}J_{HH3'}$ = 6.11 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 2.1 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 1.5 Hz); 4.94 (t, 1H, OH, $^{3}J_{HH}$ = 5.5 Hz); 4.00-4.85 (m, 1H, H4'); 3.55 (m, 2H, H5', H5")

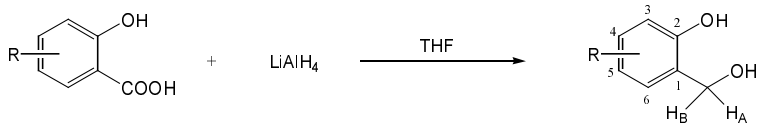
^{13}C-NMR: δ [ppm] (150 MHz, DMSO-d_6) 156.56 (C6); 147.53 (C4); 145.55 (C2); 138.13 (C8);134.25 (C2'); 125.39 (C3'); 124.23 (C5); 87.92 (C1'); 87.76 (C4'); 62.67 (C5')

UV(CH_3CN): λ_{max} 250.2 nm, 244.1 nm, 197.7 nm; λ_{min} 247.2 nm, 222.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3325, 3186, 1736, 1648, 1607, 1473, 1412, 1366, 1236, 1153, 1087, 1040, 974, 829, 796, 722, 648

6.5 Synthese der Salicylalkohole

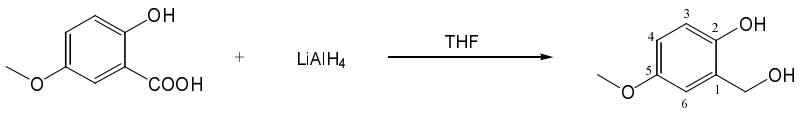
6.5.1 Allgemeine Methode zur Reduktion von 2-Hydroxybenzoesäuren 69 zu den jeweiligen Salicylalkoholen 29



69 29

In einer Inertgasatmosphäre wurde zu einer Suspension von 2.0 Äquiv. Lithiumaluminiumhydrid in trockenem Tetrahydrofuran unter Kühlung und Feuchtigkeitsausschluß eine Lösung von 1.0 Äquiv. der jeweiligen 2-Hydroxybenzoesäure in trockenem Tetrahydrofuran so hinzugetropft, daß die Reaktionsmischung nur schwach siedete. Anschließend rührte man 2 h bei Raumtemperatur und erhitzte 1 h auf 70 °C. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung durch Zugabe von Eiswasser hydrolysiert und mit 10 %iger Schwefelsäure auf pH 1 angesäuert. Die THF-Phase wurde abgetrennt und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Die wässrige Phase extrahierte man mit Essigsäureethylester und trocknete die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man Feststoffe oder Öle, die entweder umkristallisiert oder chromatographisch aufgereinigt wurden.

6.5.1.1 Darstellung von 5-Methoxysalicylalkohol 29b



69b 29b

$C_8H_{10}O_3$
[154,16]

Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.1 durchgeführt. 2-Hydroxy-5-methoxybenzoesäure **69b** wurde zuvor aus Dichlormethan/Petrolether umkristallisiert, um farbige Verunreinigungen zu entfernen. 12.1 g (71.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-Hydroxy-5-methoxybenzoesäure **69b** wurde mit 5.50 g (145 mmol, 2.0 Äquiv.) Lithiumaluminiumhydrid in 120 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran unter Kühlung und Feuchtigkeitsausschluß zu 5-

Methoxysalicylalkohol **29b** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man einen farblosen Feststoff, der aus Dichlormethan umkristallisiert wurde.

Ausbeute: 9.70 g (61.2 mmol, 87 %) farbloser kristalliner Feststoff, der aus Dichlormethan in Plättchen kristallisiert

Schmelzpunkt: 79 °C

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.80 (s, br, 1H, OH-aryl); 6.88 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = = 2.3 Hz); 6.57-6.69 (m, 2H, H3-aryl, H4-aryl); 4.95 (t, 1H, OH-benzyl, $^3J_{HH}$ = 5.5 Hz); 4.45 (d, 2H, CH_2-benzyl, $^3J_{HH}$ = 5.5 Hz); 3.65 (s, 3H, OCH_3)

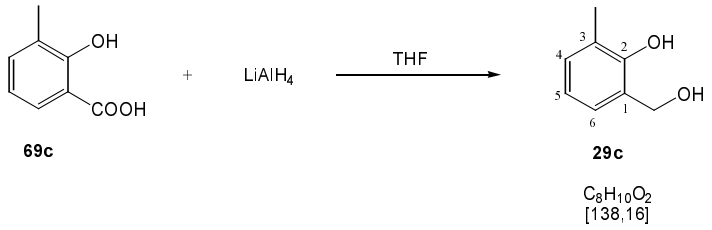
^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 152.16(C2-aryl); 147.75 (C5-aryl);129.55 (C1-aryl); 115.02 (C3-aryl); 112.72 (C4-aryl); 112.08 (C6-aryl); 58.24 (CH_2-benzyl); 55.23 (OCH_3)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3442, 3183, 1615, 1515, 1480, 1458, 1436, 1384, 1315, 1255, 1229, 1208, 1164, 1040, 1000, 999, 984, 930, 864, 818, 757, 701

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.54

CHN-Anal.: $C_8H_{10}O_3$ (154.2) berechnet: C 62.21; H 6.53; gefunden: C 62.44, H 6.68

6.5.1.2 Darstellung von 3-Methylsalicylalkohol 29c



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.1 durchgeführt. 20.1 g (132 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-Hydroxy-3-methylbenzoesäure **69c** wurden mit 10.0 g (262 mmol, 2.0 Äquiv.) Lithiumaluminiumhydrid in 150 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran unter Kühlung und Feuchtigkeitsausschluß zu 3-Methylsalicylalkohol **29c** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man ein hellgelbes Öl, welches aus Dichlormethan/Petrolether 60-40 kristallisiert wurde.

Ausbeute: 16.1 g (116.6 mmol, 88 %) farbloser kristalliner Feststoff

Schmelzpunkt: 73 °C

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.38 (s, br, 1H, OH-aryl); 7.05 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.96 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.70 (t, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 5.27 (s, br 1H, OH-benzyl); 4.55 (s, 2H, CH_2-benzyl); 2.14 (s, 3H, CH_3)

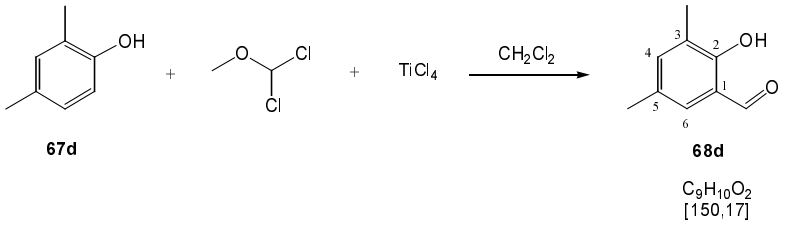
^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 152.72 (C2-aryl); 129.26 (C5-aryl); 128.22 (C4-aryl); 125.20 (C6-aryl); 124.2 (C1-aryl); 119.27 (C3-aryl); 60.09 (CH_2-benzyl); 16.35 (CH_3)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3320, 1595, 1469, 1438, 1343, 1212, 1086, 994, 779, 772, 679

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.69

CHN-Anal.: $C_8H_{10}O_2$ (138.2) berechnet: C 69.55; H 7.28; gefunden: C 69.64, H 7.37

6.5.2 Darstellung von 2-Hydroxy-3.5-dimethylbenzaldehyd 68d



Die Reaktion wurde unter Feuchtigkeitsauschluß in einer Intertgasatmosphäre durchgeführt. Zu einer Lösung von 10.0 g (81.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,4-Dimethylphenol **67d** in 100 ml wasserfreiem Dichlormethan wurden bei 0 °C langsam 77.6 g (409 mmol, 7.0 Äquiv.) Titantetrachlorid hinzugetropft. Dabei färbte sich die Lösung über orange nach tiefrot. Anschließend tropfte man bei weiterer Kühlung 32.0 g (278 mmol, 3.4 Äquiv.) *ortho*-Dichlormethylmethylether hinzu, wobei sich die Reaktionslösung dunkelgrün färbte. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion 3 h gerührt. Dabei konnte eine Gasentwicklung beobachtet werden. Im Anschluß wurde die Reaktionslösung zu einer Mischung aus Eis und 2 N Salzsäure gegeben. Die Phasen wurden getrennt und die wäßrige Phase mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Rohprodukt am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten aufgereinigt. Das Produkt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 7.54 g (50.2 mmol, 61.4 %) eines hellgelben Öls

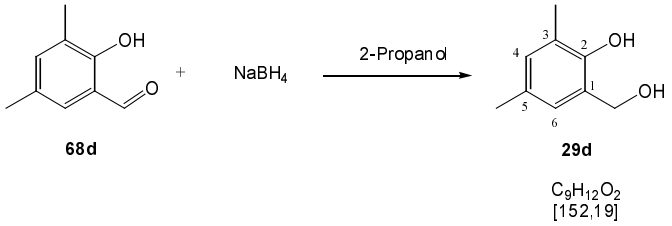
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 10.82 (s, 1H, CHO); 9.91 (s, br, 1H, OH-aryl); 7.30 (d, 1H, H4-aryl, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.22 (s, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 2.21 (s, 3H, C3-CH_3); 2.13 (s, 3H, C5-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 196.82 (CHO); 156.73 (C2-aryl); 138.55 (C4-aryl); 130.36 (C5-aryl); 128.15 (C6-aryl); 125.63 (C3-aryl); 120.19 (C1-aryl); 19.67 (C3-CH_3); 14.74 (C5-CH_3)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3394, 2920, 1469, 1486, 1213, 1085, 995, 853, 772, 679, 611

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.69

6.5.3 Darstellung von 3,5-Dimethylsalicylalkohol 29d



Zu einer Lösung aus 5.86 g (39.0 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-Hydroxy-3,5-dimethylbenzaldehyd **68d** in 100 ml *iso*-Propanol gab man portionsweise 740 mg (19.5 mmol, 0.5 Äquiv.) Natriumborhydrid hinzu, so daß die Lösung nur mäßig siedete. Die Reaktion wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 30 min auf 60 °C erhitzt. Nach Erkalten auf Raumtemperatur wurde mit verdünnter Salzsäure hydrolysiert. Dann entfernte man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer, nahm den Rückstand in Wasser auf und extrahierte mit Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt **29d** wurde am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten aufgereinigt.

Ausbeute: 4.13 g (27.2 mmol, 70 %) eines hellgelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 52 °C

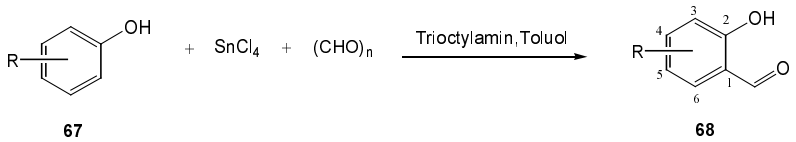
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 8.15 (s, br, 1H, OH-aryl); 6.84 (s, 1H, H6-aryl); 6.75 (s, 1H, H4-aryl); 5.23 (s, br, 1H, OH-benzyl); 4.53 (s, 2H, CH_2-benzyl); 2.15 (s, 3H, C3-CH_3); 2.10 (s, 3H, C5-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 150.27 (C2-aryl); 129.52 (C4-aryl); 127.74 (C5-aryl); 127.26(C1-aryl); 125.50 (C6-aryl); 123.84 (C3-aryl); 59.93 (CH_2-benzyl); 20.14 (C3-CH_3); 16.14 (C5-CH_3)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3394, 2920, 1469, 1486, 1213, 1085, 995, 853, 772, 679, 611

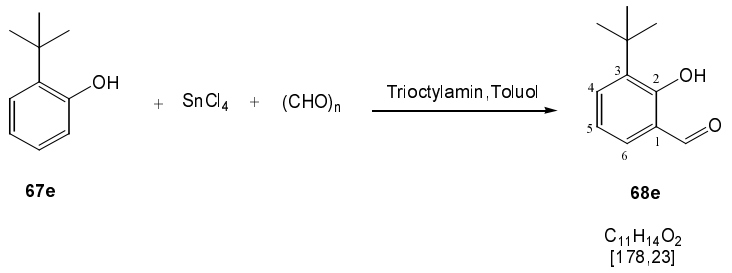
R_f-Wert: Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.60

6.5.4 Allgemeine Methode zur *ortho*-Formylierung von alkylsubstiuierten Phenolen zu den jeweiligen Salicylaldehyden nach Casiraghi[207]



Zu einer Lösung von 1.0 Äquiv. der jeweiligen Phenole **67** in wasserfreiem Toluol wurde bei Raumtemperatur 0.1 Äquiv. Zinntetrachlorid hinzugegeben. Die vorerst farblose Lösung verfärbte sich grün. Nach Zugabe von 0.4 Äquiv. Trioctylamin (TOA) zu dem Reaktionsgemisch verfärbte sich die Lösung von grün nach gelb. Anschließend rührte man 2 h bei Raumtemperatur und erhitzte nach Zugabe von 2.2 Äquiv. Paraformaldehyd die Suspension 8 h unter Rückfluß. Nach einiger Zeit wurde die gelbliche Suspension klar. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung in Wasser hydrolysiert und mit 2 N Salzsäure auf pH 2 angesäuert. Dann extrahierte man mit Diethylether und trocknete die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man grün-gelbe Öle, die zur vollständigen Abtrennung der Zinnsalze mittels Wasserdampfdestillation aufgereinigt wurden. Das Destillat wurde erneut mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden im Anschluß über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man gelbe Öle die noch Edukt enthielten. Zwecks Charakterisierung wurde ein kleiner Teil des Rohprodukts am Chromatotron mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten von 0-20 % aufgereinigt. Die Rohprodukte **68** wurden ohne weitere Aufreinigung für die anschließende Reduktion eingesetzt.

6.5.4.1 Darstellung von 3-*tert*-Butyl-salicylaldehyd 68e



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.4 durchgeführt. 20.0 g (20.5 ml, 133 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-*tert*-Butylphenol **67e** wurde mit 3.5 g (1.6 ml, 13.3 mmol, 0.1 Äquiv.) Zinntetrachlorid und 18.8 g (23.2 ml, 53.2 mmol, 0.4 Äquiv.) Trioctylamin (TOA) und 8.80 g (293 mmol, 2.2 Äquiv.) Paraformaldehyd in 30 ml Toluol bei Raumtemperatur und Feuchtigkeitsauschluß zu 3-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **68e** *ortho*-selektiv formyliert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbes Öl, welches noch erhebliche Mengen des Edukts enthielt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: n.b.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, $CDCl_3$) 11.80 (s, 1H, CHO); 9.89 (s, 1H, OH); 7.55 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 7.41 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 6.96 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz); 1.44 (s, 9H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 197.51 (CHO); 161.61 (C2-aryl); 138.64 (C3-aryl); 134.48 (C6-aryl); 132.35 (C4-aryl); 121.05 (C1-aryl); 119.58 (C5-aryl); 35.23 (quart. C); 29.58 (CH_3)

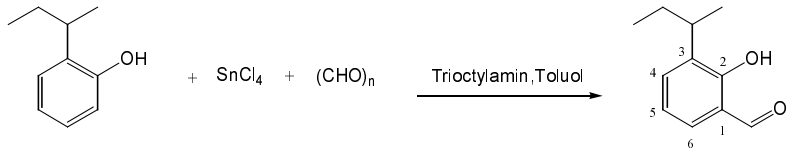
UV(CH_3CN): λ_{max} 333.7 nm, 260.5 nm, 215.0 nm; λ_{min} 236.2 nm, 203.9 nm, 283.2 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 2960, 2871, 1651, 1613, 1484, 1433, 1387, 1364, 1312, 1266, 1224, 1197, 1143, 1091, 1023, 948, 930, 854, 797, 753, 679

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.87

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.76

6.5.4.2 Darstellung von 3-*sek*-Butyl-salicylaldehyd 68f



67f **68f**

$C_{11}H_{14}O_2$
[178,23]

Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.4 durchgeführt. 20.0 g (20.5 ml, 133 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-*sek*-Butylphenol **67f** wurde mit 3.5 g (1.6 ml, 13.3 mmol, 0.1 Äquiv.) Zinntetrachlorid und 18.8 g (23.2 ml, 53.2 mmol, 0.4 Äquiv.) Trioctylamin und 8.8 g (293 mmol, 2.2 Äquiv.) Paraformaldehyd in 30 ml Toluol bei Raumtemperatur und Feuchtigkeitsauschluß zu 3-*sek*-Butyl-salicylaldehyd **68f** *ortho*-selektiv formyliert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbes Öl, welches noch erhebliche Mengen des Edukts enthielt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: n.b.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 11.37 (s, 1H, CHO); 9.89 (s, 1H, OH); 7.44 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.8 Hz); 7.40 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.7 Hz); 6.99 (t, 1H, H5-aryl); 3.18 (dq, 1H, CH, $^3J_{HCH2}$ = 7.1 Hz, $^3J_{HCH3}$ = 7.1 Hz); 1.67 (ddq, 1H, H_A-CH_2, $^2J_{HH}$ = 13.5 Hz, $^3J_{HCH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{HCH3}$ = 7.1 Hz); 1.61 (ddq, 1H, H_B-CH_2, $^2J_{HH}$ = 13.7 Hz, $^3J_{HCH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{HCH3}$ = 7.1 Hz); 1.23 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 0.87 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 196.84 (CHO); 159.45 (C2-aryl); 135.93 (C3-aryl); 134.36 (C6-aryl); 131.29 (C4-aryl); 120.19 (C1-aryl); 119.50 (C5-aryl); 32.92 (CH); 29.39 (CH_2); 20.05 (CH-CH_3); 11.97 (CH2-CH_3)

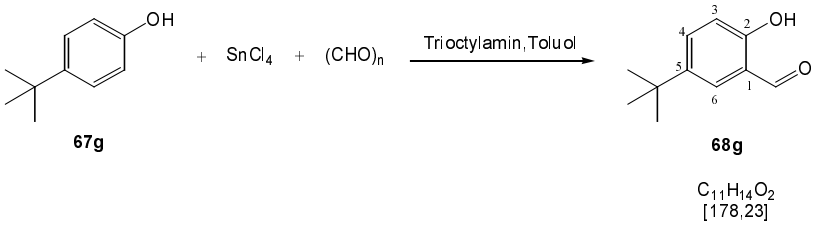
UV(CH_3CN): λ_{max} 333.6 nm, 259.9 nm, 214.4 nm; λ_{min} 283.1 nm, 234.5 nm, 199.8 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3047, 2963, 2932, 2874, 1656, 1615, 1440, 1389, 1313, 1267, 1218, 1171, 1151, 1094, 1004, 963, 944, 858, 821, 753, 694

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.83

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.76

6.5.4.3 Darstellung von 5-*tert*-Butyl-salicylaldehyd 68g



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.4 durchgeführt. 20.0 g (20.5 ml, 133 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-*tert*-Butylphenol **67g** wurde mit 3.5 g (1.6 ml, 13.3 mmol, 0.1 Äquiv.) Zinntetrachlorid und 18.8 g (23.2 ml, 53.2 mmol, 0.4 Äquiv.) Trioctylamin und 8.8 g (293 mmol, 2.2 Äquiv.) Paraformaldehyd in 30 ml Toluol bei Raumtemperatur und Feuchtigkeitsauschluß zu 5-*tert*-Butyl-salicylaldehyd **68g** *ortho*-selektiv formyliert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbes Öl, welches noch erhebliche Mengen des Edukts enthielt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: n.b.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, $CDCl_3$) 10.8 (s, 1H, CHO); 9.82 (s, 1H, OH); 7.51 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 7.44 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.0 Hz); 6.87 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz); 1.26 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d_6) 196.82 (CHO); 159.48 (C2-aryl); 142.74 (C-aryl); 134.70 (C-aryl); 129.75 (C-aryl); 117.22 (C-aryl); 114.71 (C-aryl); 31.51 (quart. C); 31.24 (*tert*-Bu)

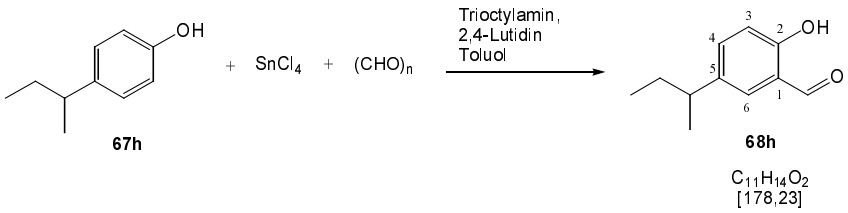
UV(CH_3CN): λ_{max} 333 nm, 259 nm, 214 nm; λ_{min} 283 nm, 234 nm, 199 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 30478, 2965, 2932, 2874, 1657, 1615, 1440, 1390, 1313, 1267, 1219, 1169, 1149, 1094, 1004, 965, 944, 858, 827, 753, 694

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.85

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.77

6.5.4.4 Darstellung von 5-*sek*-Butyl-salicylaldehyd 68h



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.4 durchgeführt. 25.0 g (166 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-*sek*-Butylphenol **67h** wurde mit 4.27 g (1.95 ml, 16.2 mmol, 0.1 Äquiv.) Zinntetrachlorid, 11.6 g (14.3 ml, 32.8 mmol, 0.25 Äquiv.) Trioctylamin und 15 ml (20.0 mmol, 0.15 Äquiv.) 2,4-Lutidin und 11.0 g (366 mmol, 2.2 Äquiv.) Paraformaldehyd in 30 ml Toluol bei Raumtemperatur und Feuchtigkeitsauschluß zu 5-*sek*-Butyl-salicylaldehyd **68h** *ortho*-selektiv formyliert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbes Öl, welches noch erhebliche Mengen des Edukts enthielt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: n.b.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 10.87 (s, 1H, CHO); 9.88 (s, 1H; OH); 7.37 (dd, 1H, H4-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.3 Hz, $^3J_{HH}$ = 8.6 Hz); 7.34 (d, 1H, H5-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.0 Hz); 6.94 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz); 2.61 (dq, 1H, CH, $^3J_{HCH3}$ = 7.1 Hz, $^3J_{HCH2}$ = 7.1 Hz); 1.65-1.51 (m, CH_2-benzyl); 1.24 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz); 0.83 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d_6) 197.08 (CHO); 160.23 (C2-aryl); 139.48 (C1-aryl); 136.48 (C4-aryl); 131.98 (C6-aryl); 120.78 (C5-aryl); 117.83 (C3-aryl); 41.01 (CH); 31.50 (CH_2); 22.17 (CH-CH_3); 12.50 (CH_2-CH_3)

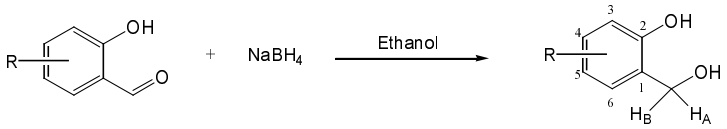
UV(CH_3CN): λ_{max} 334.6 nm, 260.0 nm, 215.4 nm; λ_{min} 283.1 nm, 235. nm, 199.8 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3045, 2963, 2931, 2870, 1656, 1615, 1440, 1389, 1313, 1267, 1216, 1170, 1151, 1094, 1004, 963, 944, 859, 821, 753, 694

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.86

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.76

6.5.5 Allgemeine Methode zur Reduktion von alkylsubstituierten Salicylaldehyden 68 zu den jeweiligen Salicylalkoholen 29

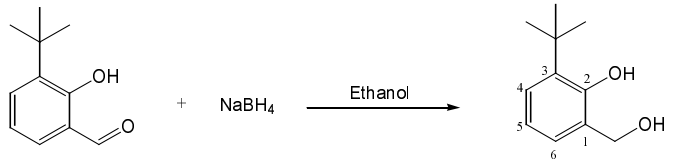


68 **29**

Zu einer Lösung aus 4.0 Äquiv. Natriumborhydrid in Ethanol wird bei Raumtemperatur eine Lösung von 1.0 Äquiv. des jeweiligen Salicylaldehyds **68** in Ethanol langsam hinzugetropft. Dabei konnte eine Gasentwicklung beobachtet werden. Die Reaktion wird dünnschicht-

chromatographisch verfolgt. Als kein Edukt mehr detektiert werden konnte, wurde mit Wasser vorsichtig hydrolysiert und mit 2 N Salzsäure angesäuert. Dabei konnte man eine heftige Schaumbildung beobachten! Es entstanden zwei klare Phasen, die im Scheidetrichter voneinander getrennt wurden. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer von Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet und mittels Säulenchromatographie mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten (50-100 %) aufgereinigt.

6.5.5.1 Darstellung von 3-*tert*-Butyl-salicylalkohol 29e



68e **29e**

$C_{11}H_{16}O_2$
[180,24]

Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.5 durchgeführt. 20.0 g des Rohproduktes **68e** wurde mit 16.9 g (449 mmol) Natriumborhydrid in 70 ml Ethanol bei Raumtemperatur zu 3-*tert*-Butyl-salicylalkohol **29e** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbliches Öl, welches säulenchromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten (50-100 %) aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 10.4 g (ausgehend vom 2-*tert*-Butylphenol **67e**, 58.2 mmol, 44 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, DMSO-d_6) 8.69 (s, br, 1H, OH); 7.08 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.5 Hz); 6.99 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.5 Hz); 6.72 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz); 5.87 (s, br, 1H, benzyl-OH); 4.63 (s, 2H, CH_2); 1.35 (s, 9H, CH_3)

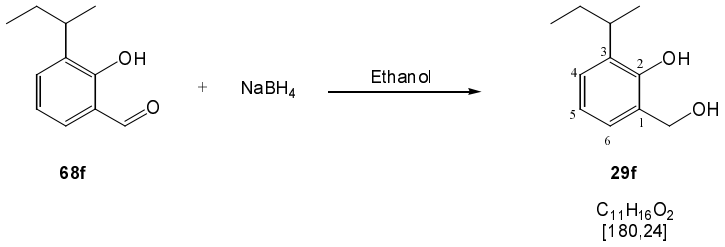
^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 154.60 (C2-aryl); 136.56 (C3-aryl); 127.73 (C1-aryl); 125.75 (C6-aryl); 125.49 (C4-aryl); 119.21 (C5-aryl); 62.00 (CH_2); 34.67 (quart. C); 29.94 (CH_3)

UV(CH_3CN): λ_{max} 276.4 nm, 208.9 nm; λ_{min} 248.2 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3270, 2960, 1591, 1441, 1391, 1279, 1228, 1141, 1089, 986, 845, 785, 753

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.75

6.5.5.2 Darstellung von 3-*sek*-Butyl-salicylalkohol 29f



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.5 durchgeführt. 12.0 g des Rohproduktes **68f** wurde mit 7.6 g (202 mmol) Natriumborhydrid in 70 ml Ethanol bei Raumtemperatur zu 3-*sek*-Butyl-salicylalkohol **29f** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbliches Öl, welches säulenchromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten (50-100 %) aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 10.5 g (ausgehend von 2-*sek*-Butylphenol **67f**, 58.2 mmol, 44 %)

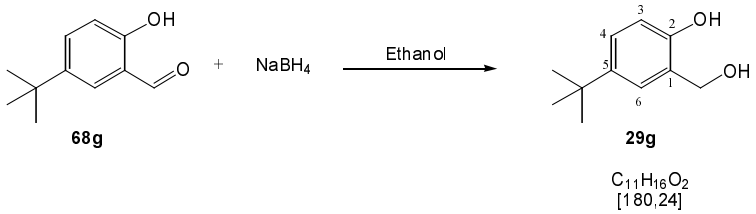
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, DMSO-d_6) 8.37 (s, br, 1H, OH); 7.00 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz); 6.98 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz); 6.76 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.5 Hz); 4.58 (s, 2H, CH_2-OH); 3.05 (dq, 1H, CH, $^3J_{HCH2}$ = 7.0 Hz, $^3J_{HCH3}$ = 7.0 Hz); 1.62-1.44 (m, 2H, CH_2); 1.11 (d, 3H, CH-CH_2, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz); 0.77 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 152.49 (C2-aryl); 134.00 (C3-aryl); 128.07 (C1-aryl); 125.37 (C4-aryl); 125.02 (C6-aryl); 119.62 (C5-aryl); 60.94 (CH_2-benzyl); 33.00 (CH); 29.69 (CH_2); 21.05 (CH-CH_3); 12.45 (CH_2-CH_3)

UV(CH_3CN): λ_{max} 276.0 nm, 202.2 nm; λ_{min} 248.0 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.74

6.5.5.3 Darstellung von Darstellung von 5-*tert*-Butyl-salicylalkohol 29g



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.5 durchgeführt. 8.90 g des Rohproduktes **68g** wurde mit 7.6 g (202 mmol) Natriumborhydrid in 70 ml Ethanol bei Raumtemperatur zu 5-*tert*-Butyl-salicylalkohol **29g** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbliches Öl, welches säulenchromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten (50-100 %) aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 8.56 g (ausgehend vom 4-*tert*-Butylphenol **67g**, 39.9 mmol, 30 %)

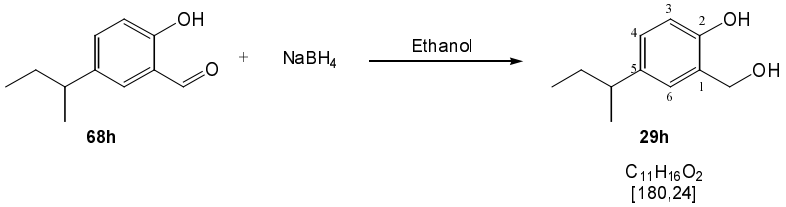
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, DMSO-d_6) 9.05 (s, 1H, OH); 7.29 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 7.02 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 6.65 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.6 Hz); 4.91 (t, 1H, OH-benzyl, $^3J_{HH}$ = 5.6 Hz); 4.45 (d, 2H, CH_2-benzyl, $^3J_{HH}$ = 5.6 Hz); 1.22 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d_6) 152.01 (C2-aryl); 140.85 (C1-aryl); 127.71 (C6-aryl); 124.28 (C6-aryl); 124.02 (C4-aryl); 114.25 (C3-aryl); 58.71 (CH_2-benzyl); 33.91 (quart. C); 31.71 (*tert*-Bu)

UV(CH_3CN): λ_{max} 276.9 nm, 202.0 nm; λ_{min} 248.6 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.75

6.5.5.4 Darstellung von 5-*sek*-Butyl-salicylalkohol 29h



Die Reaktion wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.5.5 durchgeführt. 3.88 g des Rohproduktes **68h** wurde mit 2.42 g (64.3 mmol) Natriumborhydrid in 10 ml Ethanol bei Raumtemperatur zu 5-*sek*-Butyl-salicylalkohol **29h** reduziert. Als Rohprodukt erhielt man ein gelbliches Öl, welches säulenchromatographisch mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gradienten (50-100 %) aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 3.77 g (ausgehend von 4-*sek*-Butyl-phenol **67h**, 18.2 mmol, 11 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, DMSO-d_6) 9.02 (s, 1H, OH); 7.08 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 6.83 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.6 Hz); 6.66 (d, H3-aryl, 1H, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz); 4.89 (s, br, 1H, OH-benzyl); 4.44 (s, 2H, CH_2-benzyl); 2.46-2.41 (m, 1H, CH); 1.53-1.42 (m, 2H, CH_2); 1.22 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz); 0.74 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz)

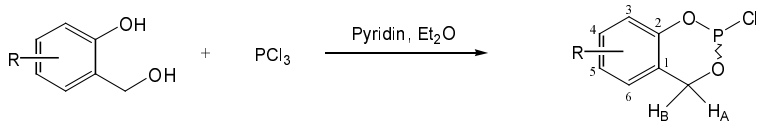
^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 152.48 (C-aryl); 137.36 (C-aryl); 128.39 (C-aryl); 125.99 (C-aryl); 125.80 (C-aryl); 114.68 (C-aryl); 58.77 (CH_2-OH); 40.68 (CH); 31.21 (CH_2); 22.52 (CH-CH_3); 12.54 (CH_2-CH_3)

UV(CH_3CN): λ_{max} 276.5 nm, 202.2 nm; λ_{min} 249.1 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.77

6.6 Synthese der cyclischen Saligenylchlorphosphane 70

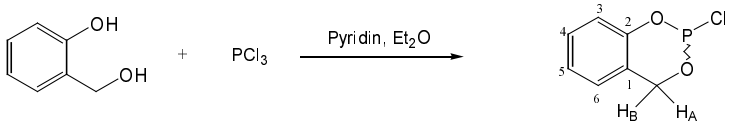
6.6.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von cyclischen Saligenylchlorphosphanen (4H-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-chlorid) 70



29 70

Die Reaktion wurde in einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt. Zu einer Lösung von 1.0 Äquiv. des jeweiligen Salicylalkohols **29** in wasserfreiem Diethylether wurden vorsichtig 1.1 Äquiv. Phosphortrichlorid hinzugegeben. Nach Abkühlung auf - 10 °C tropfte man über einen Zeitraum von 2 h eine Lösung von 2.2 Äquiv. Pyridin in trockenem Diethylether hinzu. Dabei fiel ein farbloser voluminösuer Niederschlag, Pyridinhydrochlorid, aus. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktionsmischung zur vollständigen Umsetzung auf Raumtemperatur erwärmt und 1 h gerührt bevor man sie für 18 h bei - 20 °C lagerte. Dies diente zur vollständigen Ausfällung des entstandenen Pyridinhydrochlorids. Im Anschluß wurde der Niederschlag unter Inertgas abfiltriert und das Lösungsmittel sowie überschüssiges Phosphortrichlorid und Pyridin im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Man erhielt gelbe Öle, die zum Teil durch Kugelrohrdestillation im Vakuum aufgereinigt wurden, oder aber als Rohprodukte zur weiteren Umsetzung eingesetzt wurden.

6.6.1.1 Darstellung von Saligenylchlorphosphan 70a



29a 70a

$C_7H_6ClO_2P$
[188,55]

Die Darstellung von Saligenylchlorphosphan **70a** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 6.00 g (48.0 mmol, 1.0 Äquiv.) Salicylalkohol **29a** in 120 ml absolutem Diethylether, 7.77 g (4.90 ml, 56 mmol, 1.2 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 9.00 g (9.20 ml, 112 mmol, 2.3 Äquiv.) Pyridin in 10.0 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70a** mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt.

Ausbeute: 5.16 g (27.4 mmol, 57 %) eines farblosen Öls, welches bei - 20 °C als Feststoff vorlag

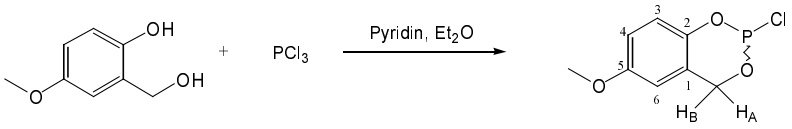
Siedepunkt: 160-170 °C (2.5 mbar)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 7.16 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 7.00 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.2 Hz); 6.88 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.3 Hz); 5.40 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 2.3 Hz); 4.98 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.6 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$) 144.68 (C2-aryl); 130.34 (C1-aryl); 129.31 (C5-aryl); 125.67 (C6-aryl); 122.79 (C4-aryl); 120.98 (C3-aryl); 65.95 (CH_2-benzyl)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) 140.65

6.6.1.2 Darstellung von 5-Methoxysaligenylchlorphosphan 70b



29b **70b**

$C_8H_8ClO_3P$
[218,57]

Die Darstellung von 5-Methoxysaligenylchlorphosphan **70b** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 6.00 g (38.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Methoxysalicylalkohol **29b** in 120 ml absolutem Diethylether, 5.87 g (3.70 ml, 42.8 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 6.77 g (6.90 ml, 85.6 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 10.0 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70b** mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt.

Ausbeute: 3.50 g (17.3 mmol, 61 %) eines farblosen Öls, welches bei - 20 °C als Feststoff vorlag

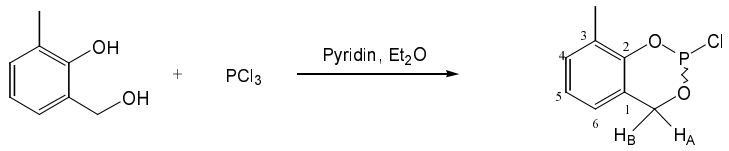
Siedepunkt: 160-170 °C (2.5 mbar)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 6.92 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 6.81 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.1 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.9 Hz); 6.49 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 2.9 Hz); 5.42 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 2.4 Hz); 5.00 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.7 Hz); 3.78 (s, 3H, OCH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, $CDCl_3$) 155.80 (C2-aryl); 122.10 (C1-aryl); 120.37 (C5-aryl); 114.80 (C6-aryl); 110.50 (C4-aryl); 107.85 (C3-aryl); 61.17 (CH_2-benzyl); 55.67 (OCH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) 139.0

6.6.1.3 Darstellung von 3-Methylsaligenylchlorphosphan 70c



29c **70c**

$C_8H_8ClO_2P$
[202,57]

Die Darstellung von 3-Methylsaligenylchlorphosphan **70c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 6.20 g (44.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 3-Methylsalicylalkohol **29c** in 120 ml absolutem Diethylether, 6.82 g (4.3 ml, 42.8 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 7.75 g (7.9 ml, 98.7 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 10.0 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70c** mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt.

Ausbeute: 3.62 g (17.8 mmol, 29 %) eines farblosen Öls, welches bei - 20 °C als Feststoff vorlag

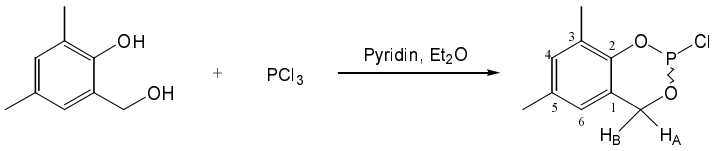
Siedepunkt: 165-175 °C (2.5 mbar)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 7.14 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.6 Hz); 7.01 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.82 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.6 Hz); 5.54 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 2.6 Hz); 5.02 (dd, 1H, , H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.4 Hz); 2.26 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, $CDCl_3$) 130.48 (C2-aryl); 123.35 (C5-aryl); 123.19 (C1-aryl); 123.20 (C4-aryl); 120.99 (C6-aryl); 119.06 (C3-aryl); 61.26 (CH_2-benzyl); 15.50 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) 141.0

6.6.1.4 Darstellung von 3,5-Dimethylsaligenylchlorphosphan 70d



29d **70d**

$C_9H_{10}ClO_2P$
[216,60]

Die Darstellung von 3,5-Dimethylsaligenylchlorphosphan **70d** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 2.75 g (18.1 mmol, 1.0 Äquiv.) 3,5-Dimethylsalicylalkohol **29d** in 70.0 ml absolutem Diethylether, 2.74 g (19.9 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 3.15 g (39.8 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 5.00 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70d** nicht weiter aufgereinigt.

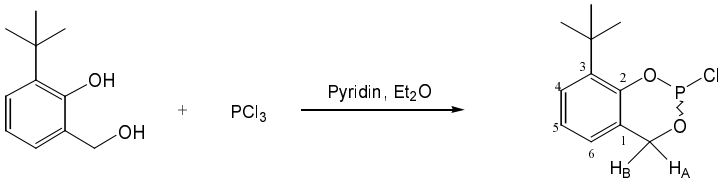
Ausbeute: 2.62 g (12.1 mmol, 67 %) eines gelben Öls

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 6.93 (s, 1H, H4-aryl); 6.60 (s, 1H, H6-aryl); 5.37 (s, br, 1H, H_A-benzyl); 4.97 (s, br, 1H, H_B-benzyl); 2.26 (s, 3H, CH_3); 2.20 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, $CDCl_3$) 142.34 (C2-aryl); 132.92 (C5-aryl); 132.81 (C1-aryl); 131.18 (C3-aryl); 129.42 (C4-aryl); 123.39 (C6-aryl); 61.28 (CH_2-benzyl); 20.61 (CH_3); 15.34 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) 141.58

6.6.1.5 Darstellung von 3-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan 70e



29e **70e**

$C_{11}H_{14}ClO_2P$
[244,65]

Die Darstellung von 3-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan **70e** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 4.00 g (22.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 3-*tert*-Butylsalicylalkohol **29e** in 80.0 ml absolutem Diethylether, 3.35 g (2.13 ml, 24.4 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 3.86 g (3.90 ml, 48.8 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 8.00 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70e** nicht weiter aufgereinigt.

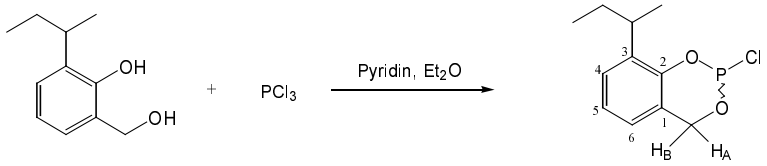
Ausbeute: 4.66 g (19.0 mmol, 86 %) eines gelben Öls

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, $CDCl_3$) 7.29 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.05 (t, 1H, H5 aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.84 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.0 Hz); 5.43-5.38 (m, 1H, CH_2-benzyl); 5.06-5.01 (m, 1H, CH_2-benzyl); 1.41 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, $CDCl_3$) 145.81 (d, C-aryl, *J* = 7.12 Hz); 140.45 (d, C-aryl, *J* = 2.0 Hz); 127.05 (C-aryl); 124.20 (d, C-aryl, *J* = 2.0 Hz); 123.94 (C-aryl); 122.52 (C-aryl); 61.95 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{HP}$ = 2.6 Hz); 35.14 (CH); 30.21 (*tert*-Bu)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, $CDCl_3$) 140.14

6.6.1.6 Darstellung von 3-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan 70f



29f **70f**

$C_{11}H_{14}ClO_2P$
[244,65]

Die Darstellung von 3-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan **70f** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 4.00 g (22.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 3-*sek*-Butylsalicylalkohol **29f** in 80.0 ml absolutem Diethylether, 3.35 g (2.13 ml, 24.4 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 3.86 g (3.90 ml, 48.8 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 8.00 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70f** nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: 5.1 g (20.8 mmol, 94 %) eines gelblichen Öls

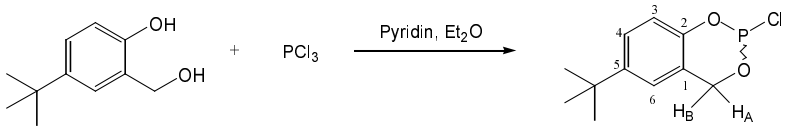
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, $CDCl_3$) 7.16 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 7.06 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.81 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 5.44-5.40 (m, 1H, CH_2-benzyl); 5.06-5.01 (m, 1H, CH_2-benzyl); 3.10-3.02 (m, 2H,

CH_2-benzyl); 1.65-1.57 (m, 1H, CH); 1.21 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 0.86 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.62 MHz, $CDCl_3$) 141.67 (C-aryl); 138.06 (C-aryl); 127.27 (C-aryl); 124.12 (C-aryl); 123.43 (C-aryl); 121.80 (C-aryl); 61.82 (CH_2-benzyl); 35.04, 33.72 (CH); 30.43, 29.85 (CH_2); 21.00, 20.66 (CH-CH_3); 12.48, 12.42 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$) 141.57, 141.36

6.6.1.7 Darstellung von 5-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan 70g



$C_{11}H_{14}ClO_2P$
[244,65]

Die Darstellung von 5-*tert*-Butylsaligenylchlorphosphan **70g** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 3.02 g (20.0 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-*tert*-Butylsalicylalkohol **29g** in 70.0 ml absolutem Diethylether, 3.35 g (1.92 ml, 22.0 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 3.50 g (3.54 ml, 44.1 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 7.00 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70g** nicht weiter aufgereinigt.

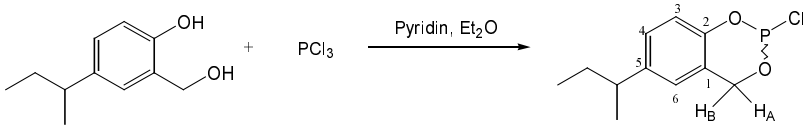
Ausbeute: 4.07 g (16.6 mmol, 83 %) eines gelblichen Öls

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, $CDCl_3$) 7.21 (s, 1H, H6-aryl); 6.83 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz); 6.78 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.6 Hz); 5.35-5.30 (m, br, 1H, CH_2-benzyl); 4.97-4.91 (m, br, 1H, CH_2-benzyl); 1.24 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, $CDCl_3$) 146.97 (C-aryl); 143.79 (C-aryl); 126.26 (C-aryl); 122.40 (C-aryl); 120.46 (C-aryl); 118.82 (C-aryl); 61.78 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 1.9 Hz); 31.32 (*tert*-Bu)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$) 141.44

6.6.1.8 Darstellung von 5-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan 70h



29h **70h**

$C_{11}H_{14}ClO_2P$
[244,65]

Die Darstellung von 5-*sek*-Butylsaligenylchlorphosphan **70h** wurde nach der Methode in Kapitel 6.6.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 3.77 g (20.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-*sek*-Butylsalicylalkohol **29h** in 70.0 ml absolutem Diethylether, 3.15 g (2.00 ml, 23.0 mmol, 1.1 Äquiv.) Phosphortrichlorid sowie 3.66 g (3.70 ml, 46.0 mmol, 2.2 Äquiv.) Pyridin in 7.00 ml absolutem Diethylether gelöst. Nach oben beschriebener Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt **70h** nicht weiter aufgereinigt.

Ausbeute: 4.09 (16.7 mmol, 80 %)

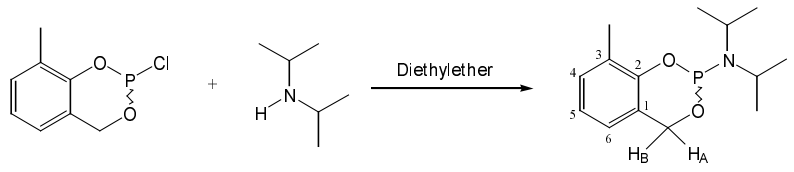
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, $CDCl_3$) 6.95 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 6.80 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz); 6.68 (d, H3-aryl, 1H, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz); 5.41-5.26 (m, br, 1H, CH_2-benzyl); 4.96-4.82 (m, br, 1H, CH_2-benzyl); 2.56-2.51 (m, 1H, CH); 1.53-1.42 (m, 2H, CH_2); 1.22 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz); 0.74 (t, 3H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, $CDCl_3$) 143.88 (C-aryl); 128.22 (C-aryl); 128.14 (C-aryl); 124.38 (C-aryl); 121.40 (C-aryl); 119.50 (C-aryl); 61.69 (d, CH_2-benzyl, $^3J_{CP}$ = 3.0 Hz); 41.43 (CH); 31.56 (CH_2); 22.20 (CH-CH_3); 12.57 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$) 141.48

6.7 Darstellung von cyclischen Saligenylphosphoramiditen 71

6.7.1 Darstellung von 1.3.2-(3'-Methyl)benzodioxa-2-*N*,*N*'-diisopropylaminophosphorinan) 71c



Unter Feuchtigkeitsausschluß wurde in einer Inertgasatmosphäre 0.71 g (2.65 mmol, 1.0 Äquiv.) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70c** in 3.00 ml Diethylether gelöst. Anschließend wurde eine Lösung aus 0.54 g (0.75 ml, 5.3 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropylamin (DIPA) in 1.00 ml Diethylether langsam bei Raumtemperatur hinzugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 18 h gerührt. Im Anschluß wurde der Niederschlag, Diisopropylammoniumchlorid, unter Inertgas abfiltriert und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Man erhielt ein gelbes Öl, die ohne weitere Aufreinigung für die weiteren Umsetzungen eingesetzt wurden.

Ausbeute: 0.67 g (2.52 mmol, 95 %)

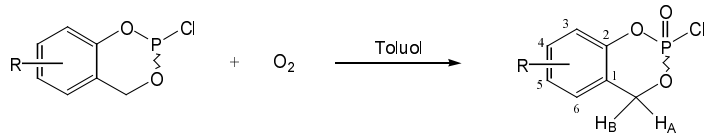
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$) 7.03 (m, 2H, H4-aryl, H6-aryl); 6.80 (t, 1H, H5-aryl); 5.10 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 2.9 Hz); 4.82 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.9 Hz); 3.61 (m, 2H, CH-*iso*-Pr); 2.21 (s, 3H, CH_3); 1.22 (dd, 12H, 4×CH_3-*iso*-Pr)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (67 MHz, $CDCl_3$) 151.39 (C2-aryl); 129.63 (C1-aryl); 127.74 (C3-aryl); 123.85 (C6-aryl); 122.67 (C4-aryl); 120.44 (C5-aryl); 64.22 (CH_2-benzyl); 44.14 (CH-*iso*-Pr); 24.59 (CH_3-*iso*-Pr); 15.50 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) 135.83

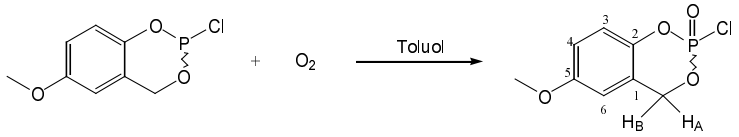
6.8 Darstellung von cyclischen Saligenylphosphorchloridaten 72

6.8.1 Allgemeine Methode zur Oxidation von cyclischen Saligenylchlorphosphanen zu den jeweiligen cyclischen Saligenylphosphorchloridaten 72



Die Reaktion wurde unter Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt. In eine Lösung des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70** in absolutem Toluol wurde mit Hilfe einer ausgezogenen Pasteutpipette ein über Phosphorpentoxid vorgetrockneter Sauerstoff-Gasstrom bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 48-72 h eingeleitet. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Das zurückgebliebene gelbliche Öl wurde nicht weiter aufgereinigt.

6.8.1.1 Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(5'-methoxybenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) 72b



$C_8H_8ClO_4P$
[234,57]

Die Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(5'-methoxybenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) **72b** wurde nach der Methode in Kapitel 6.8.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 2.62 g (12.0 mmol) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70b** in 8.00 ml absolutem Toluol. Der über Phosphorpentoxid vorgetrocknete Sauerstoffstrom wurde über einen Zeitraum von 72 h in die Lösung eingeleitet.

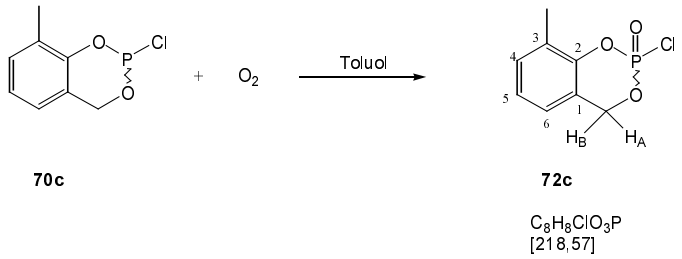
Ausbeute: 2.79 g (11.9 mmol, > 99 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 7.05 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.2 Hz); 6.89 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 3.1 Hz); 6.61 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 3.1 Hz); 5.46 (s, 1H, H_A-benzyl); 5.42 (d, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 8.2 Hz); 3.81 (s, 3H, OCH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, $CDCl_3$)156.8 (C2-aryl); 142.3 (C1-aryl); 120.1 (C5-aryl); 119.8 (C6-aryl); 115.5 (C4-aryl); 109.7 (C3-aryl); 70.2 (CH_2-benzyl); 55.7 (OCH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) -5.76

6.8.1.2 Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(3'-methylbenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) 72c



Die Darstellung von 2-Chlor-1.3.2-(3'-methylbenzo)-dioxaphosphinin-2-chlor-2-oxid) **72c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.8.1 durchgeführt. Man verwendete eine Lösung von 2.58 g (12.7 mmol) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70c** in 6.00 ml absolutem Toluol. Der über Phosphorpentoxid vorgetrocknete Sauerstoffstrom wurde über einen Zeitraum von 48 h in die Lösung eingeleitet.

Ausbeute: 2.78 g (12.7 mmol, > 99 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 7.24 (d, 1H, H4-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.12 (t, 1H, H3-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.96 (d, 1H, H6-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 5.52 (s, 1H, H_A-benzyl); 5.46 (d, 1H, H_B-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 4.3 Hz); 2.31 (s, 3H, OCH_3)

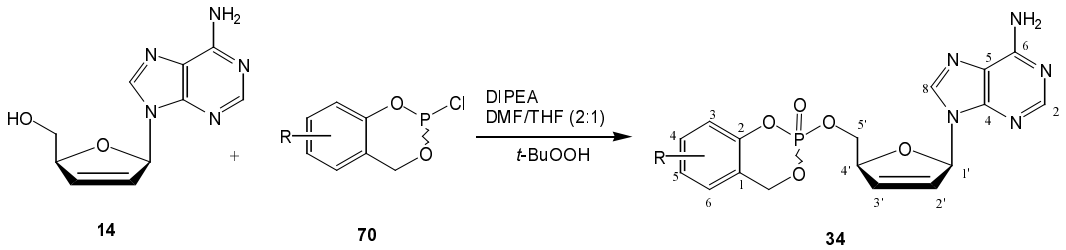
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, $CDCl_3$) 143.7 (C2-aryl) 132.1 (C5-aryl); 129.1 (C1-aryl); 125.5 (C4-aryl); 123.1 (C6-aryl); 119.7 (C3-aryl); 70.6 (CH_2-benzyl); 15.8 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$) -4.93

6.9 Synthese der *cyclo*Saligenyl-2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4AMP) 34

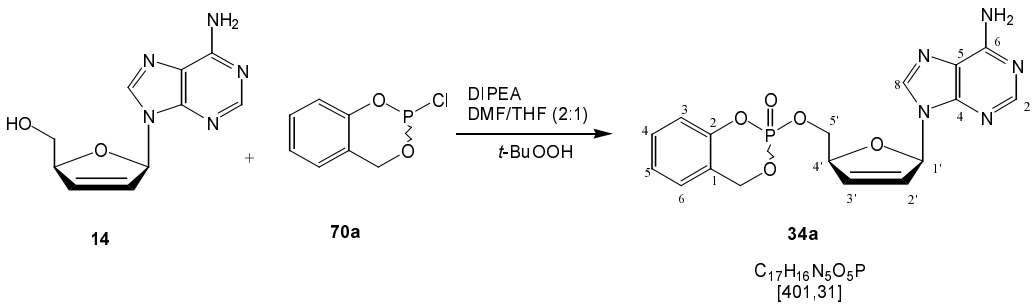
Die *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4AMPs) **34** wurden in allen Fällen mittels Phosphor(III)-Chemie dargestellt.

6.9.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphaten (*cyclo*Sal-d4AMP) 34a-d mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurde 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin **14** in einem Gemisch aus Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1) gelöst, mit 2.5 Äquiv. *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt und auf -40 °C gekühlt. 1.5-2.0 Äquiv. des entsprechenden cyclischen Chlorphosphans wurden in 1.00 ml Acetonitril verdünnt und langsam zu der Lösung getropft. Die Reaktions wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert und eventuell cyclisches Saligenylchlorphosphan **70** erneut hinzugetropft. Es wurde auf vollständigen Umsatz des Nucleosides **14** geachtet. Im Anschluß wurden 1.1 Äquiv. (bezogen auf die Menge an eingesetztem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70**) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan bei - 40 °C hinzugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde weitere 30 min gerührt bevor im Ölpumpenvakuum das Lösungsmittel abkondensiert wurde. Man erhielt ein gelbes Öl, welches chromatographisch Aufgereinigt wurde. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem lyophilisieren erhielt man einen farblosen Feststoff.

6.9.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)-phosphat (*cyclo*Sal-d4AMP) 34a



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4AMP) **34a** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.9.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 77.6 mg (0.10 ml, 0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.11 g (0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70a** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.12 ml (0.6 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 65.0 mg (0.16 mmol, 54 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.141 (s, 1H, H2); 8.143 (s, 1H, H2); 7.92 (s, 1H, H8); 7.93 (s, 1H, H8); 7.29 (s, 2H, NH_2); 7.28 (s, 2H, NH_2); 7.35 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7 Hz); 7.27 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7 Hz); 7.23 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.4 Hz); 7.19 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 7.16 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.5 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 7.15 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.5 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 7.11 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 6.97 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 6.94 (ddd, 1H, H1',$^3J_{HH2'}$ = 3.0 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 1.6 Hz, $^5J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 6.92 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.0 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 1.6 Hz, $^5J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 6.48 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.8 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.8 Hz) 6.43 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.8 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.8 Hz); 6.25 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.4 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.4 Hz); 6.22 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.4 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.4 Hz); 5.46 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.2 Hz); 5.38 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.5 Hz); 5.35 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.9 Hz); 5.32 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.2 Hz); 5.09-5.06 (m, 2H, H4'); 4.36-4.26 (m, 4H, H5')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.96 (C6); 152.64, 152.61 (C2); 149.28, 149.23 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 149.13, 149.12 (C4); 138.51, 138.44 (C8); 132.16, 132.09 (C3'); 129.67, 129.58 (C6-aryl), 126.64 (C2'); 125.93 (C4-aryl); 124.34, 124.28 (C5-aryl); 120.99, 120.81 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.4 Hz); 118.76 (C5); 118.08, 118.03 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 7.9 Hz); 87.79, 87.77 (C1'); 84.85, 84.83 (d, C4', $^3J_{CP}$ = 7.3 Hz); 68.39, 68.22 (d, C5', $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 68.29, 68.27 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 8.7 Hz)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.65; -9.84

MS (ESI$^+$): m/z 401.9, 423.9 (M+Na$^+$)

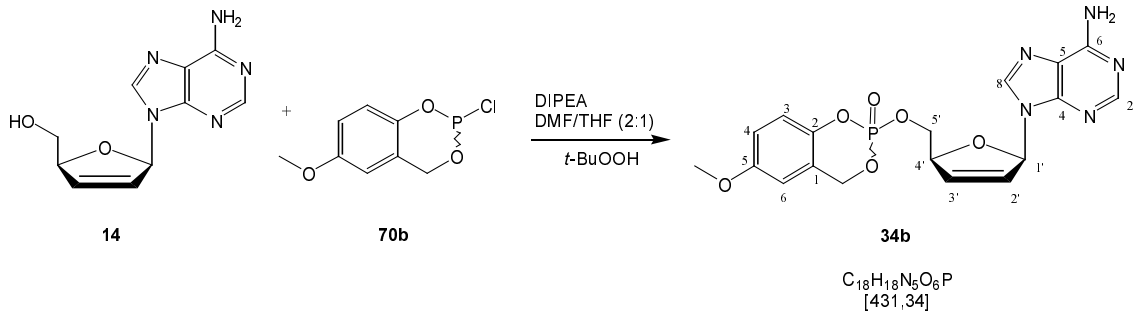
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.1 nm, 194.0 nm; λ_{min} 228.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3333, 3182, 1650, 1598, 1488, 1418, 1371, 1293, 1242, 1193, 1093, 1021, 949, 846, 828, 761, 720, 650, 578

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

analyt. HPLC: t_R: 15.72 min (98.6 %, Gradient I); 9.43 min, 9.87 min (98.5 %, Gradient II); 18.03 min (98.6 %, Gradient III)

6.9.3 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydro-adenosinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4AMP) 34b



Die Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydro-adenosinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4AMP) **34b** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.9.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 77.6 mg (0.10 ml, 0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.13 g (0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.12 ml (0.6 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 64.7 mg (0.15 mmol, 50 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereoisomer) 8.16 (s, 1H, H2); 7.99 (s,1H, H8); 7.31 (s, 2H, NH_2); 7.07 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.0 Hz); 6.96 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH3'}$ = 1.7 Hz, $^4J_{HH2'}$ = 3.0 Hz, $^5J_{HH4'}$ = 1.4 Hz); 6.92 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.7 Hz); 6.79 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 3.0 Hz); 6.50 (dt, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.7 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.7 Hz);

6.26 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.0 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 5.35 (ddd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.28 (ddd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.1 Hz); 5.08 (m, 1H, H4'); 4.30 (m, 2H, H5'); 3.74 (s, 3H, OCH_3)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereoisomer) 8.16 (s, 1H, H2); 7.97 (s, 1H, H8); 7.30 (s, 2H, NH_2); 6.94 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH3'}$ = 1.7 Hz, $^4J_{HH2'}$ = 3.1 Hz, $^5J_{HH4'}$ = 1.4 Hz); 6.91(dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.3 Hz); 6.82-6.81 (m, 2H, H3-aryl., H6-aryl); 6.45 (dt, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.7 Hz); 6.24 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.1 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.5 Hz); 5.43 (dd, 1H, H_A -benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.9 Hz); 5.31 (dd, 1H, H_B -benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.7 Hz); 5.08 (m, 1H, H4'); 4.33 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 4.29 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.5 Hz); 3.73 (s, 3H, OCH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.97 (C6); 155.50, 155.43 (C5-aryl); 152.69, 152.66 (C2); 149.15, 149.13 (C4); 142.85, 142.83 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 138.52, 138.48 (C8); 132.17, 132.10 (C3'); 126.64 (C2'); 121.68, 121.56 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.5 Hz); 118.95, 118.89 (C3-aryl); 118.74 (C5); 115.08, 114.85 (C6-aryl); 110.57, 110.42 (C4-aryl); 87.77, 87.75 (C1'); 84.88, 84.83 (C4'); 68.36, 68.23 (d, C5', $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 68.29, 68.19 (d, CH_2-benzyl., $^2J_{CP}$ = 5.8 Hz); 55.50, 55.47 (OCH_3)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereoisomer) -9.65

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereoisomer) -9.44

MS (ESI^+) m/z 431.9, 453.9 ($M+Na^+$)

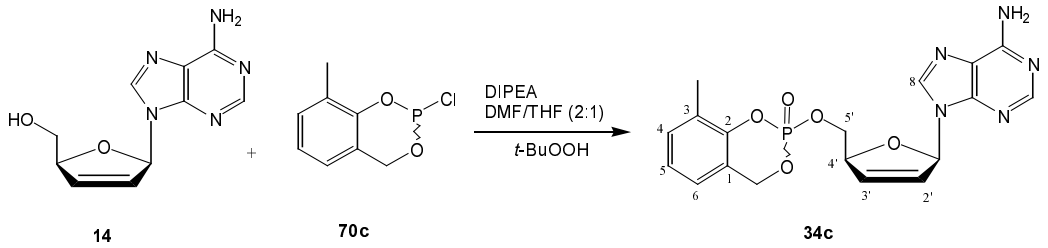
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 195.9 nm; λ_{min} 236.2 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3336, 3185, 2946, 1647, 1598, 1576, 1497, 1473, 1420, 1293, 1241, 1200, 1125, 1094, 1026, 994, 951, 911, 827, 799, 760, 721, 649

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

analyt. HPLC: t_R: 16.25min, 16.39 min (98.7 %, Gradient I); 11.88 min, 12.12 min (98.7 %, Gradient II); 18.44 min (98.7 %, Gradient III)

6.9.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydro-adenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) 34c



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydro-adenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) **34c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.9.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 77.6 mg (0.10 ml, 0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.12 g (0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.12 ml (0.6 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 70.6 mg (0.17 mmol, 56 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.133 (s, 1H, H2); 8.130 (s, 1H, H2); 7.96 (s, 1H, H8); 7.95 (s, 1H, H8); 7.26 (s, 2H, NH_2); 7.25 (s, 2H, NH_2); 7.22-7.01 (m, 6H, aryl. H); 6.94 (m, 2H, H1'); 6.48 (dt, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.75 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.75 Hz); 6.43 (dt, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.75 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.75 Hz); 6.24 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.4 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.4 Hz); 5.42 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.6 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.6 Hz); 5.33 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.0 Hz); 5.28 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.4 Hz); 5.08 (m, 2H, H4'); 4.31-4.26 (m, 4H, H5'); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.10 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.96 (C6); 152.65 (C2); 149.13 (C4); 147.83, 147.73 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.0 Hz); 138.48, 138.39 (C8); 132.14, 132.07 (C3'); 130.78 (C4-aryl); 126.82 (C3-aryl); 126.64 (C2'); 123.82 (C5-aryl); 123.43, 123.37 (C6-aryl); 120.92, 120.71 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.4 Hz); 118.77, 118.74 (C5); 87.80, 87.77 (C1'); 84.91, 84.84 (d, C4', $^3J_{CP}$ = 7.3

Hz); 68.44, 68.30 (d, C5', $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 68.24, 68.19 (d, CH_2-benz., $^2J_{CP}$ = 8.4 Hz); 14.83, 14.65 (C3-aryl CH_3)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.44; -9.65

MS (ESI$^+$) m/z 415.9, 437.9 (M+Na$^+$)

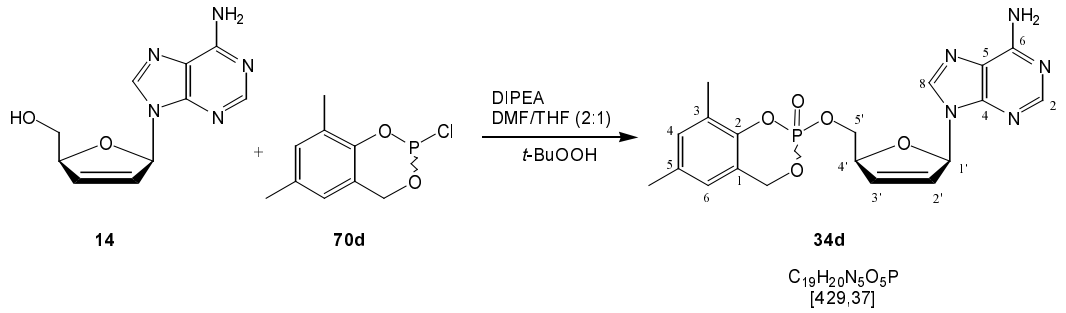
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 194.4 nm; λ_{min} 228.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3328, 3182, 2944, 2886, 1649, 1597, 1574, 1472, 1418, 1368, 1328, 1293, 1238, 1203, 1190, 1126, 1090, 1023, 993, 945, 880, 828, 775, 720, 648, 614, 583, 505

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

analyt. HPLC: t_R: 16.21 min, 16.32 min (97.1 %, Gradient I); 11.99 min, 12.35 min (97.2 %, Gradient II); 19.03 min (97.0 %, Gradient III)

6.9.5 Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) 34d



Die Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroadenosinyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-d4AMP) **34d** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.9.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroadenosin (d4A) **14** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 77.6 mg (0.10 ml, 0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropylethylamin und 0.13 g (0.60 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.12 ml (0.6 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 65.7 mg (15.3 mmol, 51 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.13 (s, 2H, H2); 7.96 (s, 1H, H2); 7.95 (s, 1H, H8); 7.27 (s, 2H, NH_2); 7.25 (s, 2H, NH_2); 7.00 (s, 1H, H4-aryl); 6.97

(s, 1H, H4-aryl); 6.92 (m, 2H, H1'); 6.82 (s, 1H, H6-aryl); 6.77 (s, 1H, H6-aryl); 6.47 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.8 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.8 Hz); 6.43 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH1'}$ = 6.0 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.8 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.8 Hz); 6.24 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.3 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.4 Hz); 6.22 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.3 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.4 Hz); 5.38 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.6 Hz), 5.28 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.5 Hz); 5.27 (dd, 2H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 13.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.1 Hz), 5.22 (dd, 2H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.2 Hz); 5.06 (m, 2H, H4'); 4.31 (ddd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.9 Hz); 4.28 (ddd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.9 Hz); 4.25 (ddd, 1H, H5", $^2J_{HH}$ = 10.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.7 Hz); 4.22 (ddd, 1H, H5", $^2J_{HH}$ = 10.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.7 Hz); 2.20 (s, 3H, CH_3-C5-aryl); 2.19 (s, 3H, CH_3-C5-aryl); 2.14 (s, 3H, CH_3-C3-aryl); 2.05 (s, 3H, CH_3-C3-aryl)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.95 (C6); 152.63 (C2); 149.11, 149.09 (C4); 145.63, 145.58 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.0 Hz); 138.47, 138.38 (C8); 132.94, 132.90 (C3'); 132.16, 132.05 (C5-aryl); 131.22 (C6-aryl); 126.62, 126.60 (C2'); 126.38, 126.35 (C4-aryl); 123.46, 123.40 (C3-aryl); 120.48, 120.30 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 10.2 Hz); 118.75, 118.73 (C5); 87.76 (C1'); 84.91, 84.82 (d, C4' $^3J_{CP}$ = 7.2 Hz); 68.30, 68.25 (d, C5', $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 68.35, 68.10 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 8.7 Hz); 20.05, 20.01 (CH_3-C5-aryl); 14.75, 14.59 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -8.96; -9.17

MS (ESI$^+$) m/z 430.2 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 197.3 nm; λ_{min} 231.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3334, 3177, 2917, 1642, 1597, 1573, 1483, 1417, 1364, 1328, 1287, 1238, 1202, 1150, 1125, 1094, 1028, 993, 970, 951, 932, 850, 828, 798, 721, 665, 583, 495

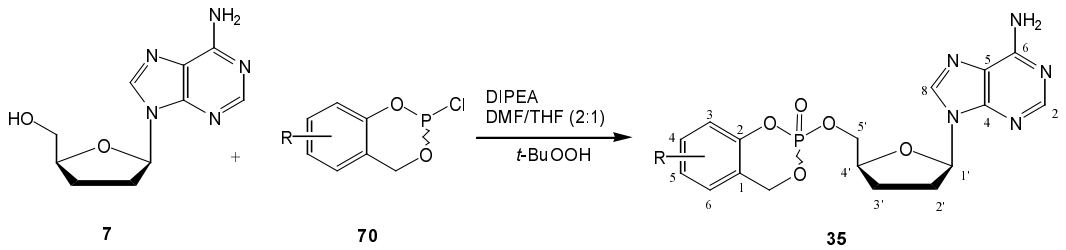
R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

analyt. HPLC: t_R: 17.48 min (98.0 %, Gradient I); 14.51 min (98.0 %, Gradient II); 20.03 min (98.1 %, Gradient III)

6.10 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphate (*cyclo*Sal-ddAMP) 35

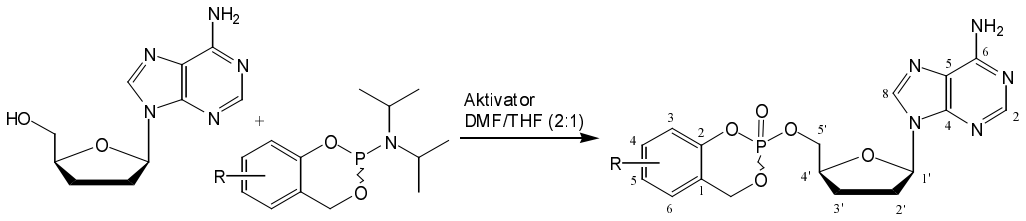
Die *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphate (*cyclo*Sal-ddAMP) **35** wurden über die Synthesevariante A, B und C dargestellt. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

6.10.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-ddAMP) 35a-h mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in einem Gemisch aus Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1) gelöst, mit 2.5 Äquiv. Diisopropylethylamin versetzt und auf -40 °C gekühlt. 1.5 Äquiv. des entsprechenden cyclischen Chlorphosphans wurden in 1.00 ml Acetonitril verdünnt und langsam zu der Lösung getropft. Die Reaktions wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert und eventuell cyclisches Saligenylchlorphosphan **70** erneut hinzugetropft. Es wurde auf vollständigen Umsatz des Nucleosides **7** geachtet. Im Anschluß wurden 1.1 Äquiv. (bezogen auf die Menge an eingesetztem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70**) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan bei -40 °C hinzugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde weitere 30 min gerührt bevor im Ölpumpenvakuum das Lösungsmittel abkondensiert wurde. Man erhielt ein gelbes Öl, welches chromatographisch aufgereinigt wurde. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhandenen Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem lyophilisieren erhielt man einen farblosen Feststoff.

6.10.2 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) 35c mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante B)

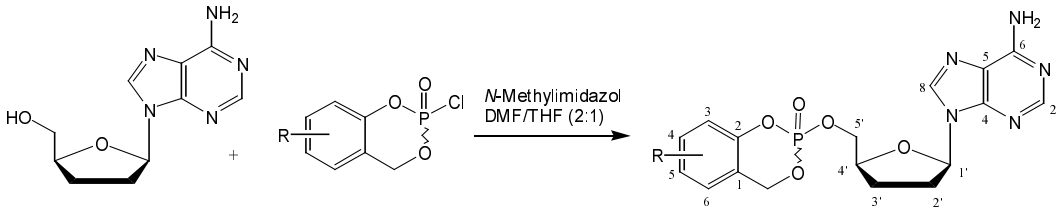


7 71 35

2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** und der Aktivator wurden zunächst mit wasserfreiem Toluol coevaporiert, um restliche Spuren von Wasser zu entfernen.

In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) und Dimethylformamid (DMF) gelöst, auf 0 °C gekühlt und der Aktivator hinzugegeben. Eine Lösung von 2.6 Äquiv. des cyclischen Saligenylphosphoramidts in wasserfreiem Acetonitril wurde hinzugegeben. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosids wurde bei 0 °C mit 1.1 Äquiv. (ausgehend vom cyclischen Saligenylphosphoramidit **71**) einer 5.0-6.0 M *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan oxidiert. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde weitere 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum abestilliert und das erhaltene Rohprodukt am Chromatotron aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (10-30 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-15 %) aufgereinigt.

6.10.3 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-ddAMP) 35 mittels Phosphor(V)-Chemie (Synthesevariante C)

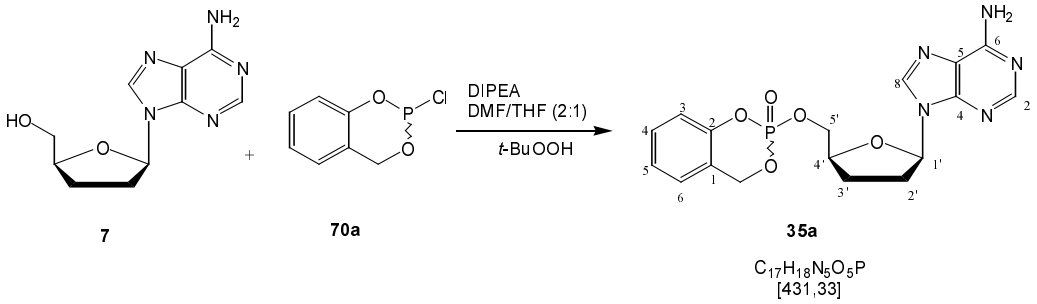


7 72 35

In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in wasserfreiem Dimethylformamid und wasserfreiem Tetrahydrofuran im

Verhältnis 2:1 (v/v) gelöst und mit 6.0 Äquiv. *N*-Methylimidazol (NMI) hinzugegeben. Anschließend wurden innerhalb von 15 min 3.0 Äquiv. des cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72** unverdünnt hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 18 h lang bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktion danach mit einigen Tropfen Methanol abgebrochen, bevor das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abkondensiert wurde. Das erhaltene gelbliche Öl wurde am Chromatotron aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (10-30 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-15 %) aufgereinigt.

6.10.4 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) 35a



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) **35a** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.43 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 4.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 2.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.11 g (146 µl, 0.85 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 122.5 mg (0.65 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70a** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 81.5 mg (0.20 mmol, 47 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.31 (s, 1H, H8); 8.27 (s, 1H, H8); 8.19 (s, 1H, H2); 8.18 (s, 1H, H2); 7.41 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.37 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.31 (s, 2H, NH_2); 7.30 (s, 2H, NH_2); 7.27 (d, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 7.26 (d, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 7.23 (d, 2H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz); 7.16 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz); 7.08 (d, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 6.29 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 4.4 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.8 Hz);

6.28 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 4.7 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.7 Hz); 5.51 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 17.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.45 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 17.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.43 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 9.1 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz); 5.39 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 9.1 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 4.44-4.27 (m, 6H, H4', H5'); 2.61-2.45 (m, 2H, H2'); 2.22-2.10 (m, 2H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 156.03 (C6); 152.53 (C2); 149.34, 149.29 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 148.93 (C4); 138.98, 138.92 (C8); 129.68 (C6-aryl); 125.97 (C4-aryl); 124.34 (C5-aryl); 121.02, 120.86 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.3 Hz); 119.08 (C5); 118.18, 118.04 (C3-aryl); 84.35, 84.28 (C1'); 78.50, 78.46 (C4'); 69.15, 69.05 (C5'); 68.40, 68.30 (t, CH_2-benzyl, $^3J_{CP}$ = 6.9 Hz); 30.65 (C3'); 25.80 (C2')

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.77; -9.83

MS (ESI$^+$) m/z 404.1 (M+1)

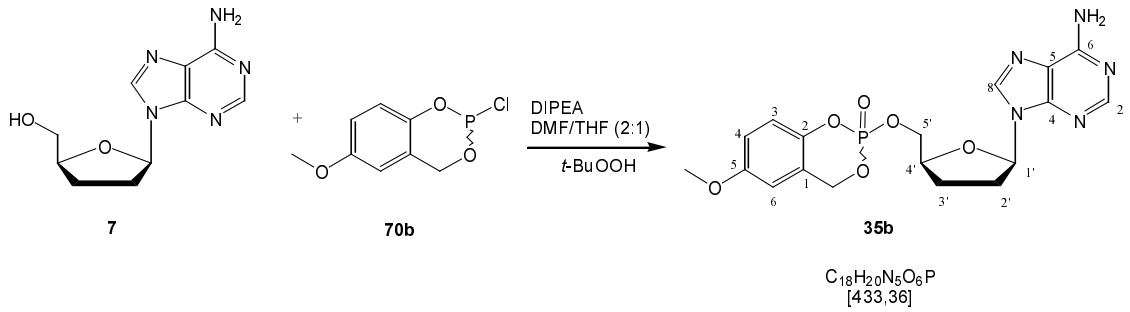
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.6 nm, 210.1 nm; λ_{min} 230.2 nm, 203.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3325, 3175, 2954, 1651, 1598, 1574, 1488, 1459, 1415, 1370, 1296, 1245, 1222, 1192, 1093, 1043, 1019, 991, 938, 881, 842, 799, 760, 724, 696, 652, 579, 533

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

Anal. HPLC t_R: 17.11 min (99.6 %, Gradient I); 13.51 min (99.6 %, Gradient II); 19.49 min (99.5 %, Gradient III)

6.10.5 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-ddAMP) 35b



Die Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-ddAMP) **35b** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.43 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in

4.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 2.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.11 g (146 µl, 0.85 mmol, 2.0 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin und 141 mg (0.65 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 124.85 mg (0.29 mmol, 67 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.33 (s, 1H, H8);, 8.30 (s, 1H, H8); 8.23 (s, 1H, H2); 8.21 (s, 1H, H2); 7.34 (s, 2H, NH_2); 7.33 (s, 2H, NH_2); 7.12 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.1 Hz); 7.04 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.1 Hz); 6.98 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.3 Hz); 6.93 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.3 Hz); 6.89 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.9 Hz); 6.87 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.9 Hz); 6.32 (m, 2H, H1'), 5.50 (dd, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.4 Hz); 5.43 (dd, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.2 Hz); 5.41 (dd, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.8 Hz); 5.37 (dd, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.1 Hz); 4.44-4.27 (m, 6H, H4', H5'); 3.81 (s, 3H, OCH_3); 3.41 (s, 3H, OCH_3); 2.61-2.49 (m, 4H, H2'); 2.27-2.11 (m, 4H, H2')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 156.02 (C6); 155.51 (C5-aryl); 152.55 (C2); 148.93 (C4); 142.92, 142.85 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 138.94 (C8); 121.75, 121.71 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.4 Hz); 119.07 (C3-aryl); 118.98 (C5); 115.09, 115.00 (C6-aryl); 110.54, 110.46 (C4-aryl); 84.28 (C1'); 78.62, 78.52 (C4'); 69.13 (C5'), 68.37, 68.25 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 55.55 (OCH_3), 30.73 (C3'); 25.80 (C2')

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.57; -9.63

MS (ESI$^+$) m/z 434.1 (M+1)

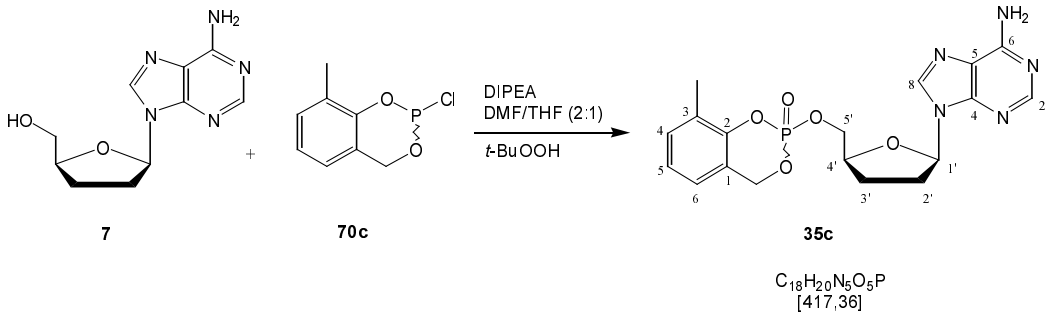
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.4 nm, 195.0 nm; λ_{min} 236.2 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3331, 3177, 2954, 2837, 1647, 1598, 1575, 1497, 1472, 1431, 1364, 1297, 1244.1, 1198, 1159, 1094, 1024, 948, 914, 866, 798, 759, 726, 695, 650, 568, 524, 480

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

Anal. HPLC t_R: 16.53 min, 16.75 min (98.6 %, Gradient I); 12.33 min, 12.79 min (98.6 %, Gradient II); 19.01 min, 19.21 min (98.6 %, Gradient III)

6.10.6 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) 35c (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.43 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 4.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 2.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.11 g (146 µl, 0.85 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 132 mg (0.65 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 104 mg (0.25 mmol, 58 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.24 (s, 1H, H8); 8.21 (s, 1H, H8); 8.14 (s, 1H, H2); 8.13 (s, 1H, H2); 7.27 (s, 2H, NH_2); 7.26 (s, 2H, NH_2); 7.21-7.16 (m, 2H, H-aryl); 7.07-7.00 (m, 4H, H-aryl); 6.26-6.21 (m, 2H, H1'); 5.43 (dd, 1H, H_A-benzyl., $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.36 (dd, 1H, H_A-benzyl., $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.33 (dd, 1H, H_B-benzyl., $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.6 Hz); 5.30 (dd, 1H, H_B-benzyl., $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.6 Hz); 4.39-4.19 (m, 6H, H4', H5'); 2.50-2.42 (m, 4H, H2'); 2.18 (s, 3H, CH_3); 2.12 (s, 3H, CH_3), 2.20-2.06 (m, 4H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 155.98 (C6); 152.46 (C2); 148.86 (C4); 147.87, 147.77 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 138.91, 138.82 (C8); 130.75 (C4-aryl); 126.84, 126.72 (C3-aryl); 123.81 (C5-aryl); 123.40 (C6-aryl); 120.90, 120.84 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.4 Hz); 119.07 (C5); 84.31, 84.21 (C1'); 78.60, 78.49 (C4'); 69.23, 69.14 (C5'); 68.38, 68.27 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 30.71, 30.63 (C3'); 25.81, 25.73 (C2'); 14.81, 14.72 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] -9.11; -9.21

MS (ESI^+) m/z 418.1 (M+1)

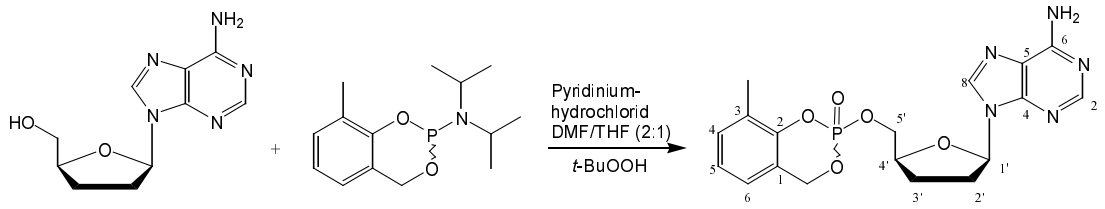
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.9 nm, 196.0 nm; λ_{min} 230.6 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3332, 3179, 2955, 1647, 1598, 1575, 1473, 1415, 1367, 1296, 1190, 1090, 1017, 939, 883, 823, 774, 723, 696, 651, 532

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.38

Anal. HPLC t_R: 16.15 min, 16.29 min (99.4 %, Gradient I); 12.09 min, 12.48 min (99.4 %, Gradient II); 18.59 min, 18.77 min (99.4 %, Gradient III)

6.10.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) 35c (Synthesevariante B)



7 **71c** **35c**

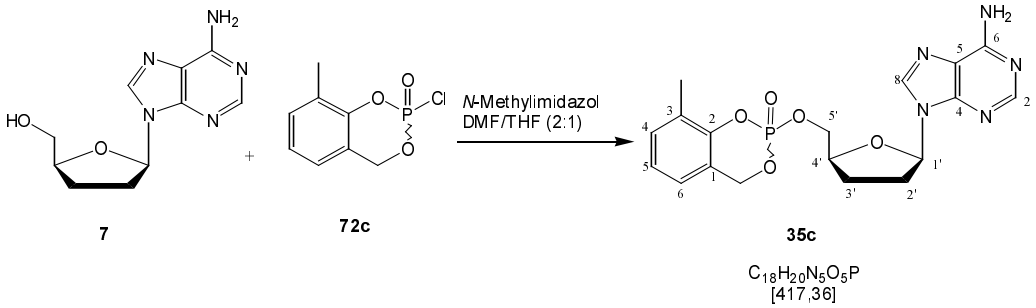
$C_{18}H_{20}N_5O_5P$
[417,36]

Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.10.2 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 20.0 mg (0.08 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran und 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid mit 0.13 g (0.72 mmol, 4.0 Äquiv.) Pyridinium-hydrochlorid versetzt und 56 mg (0.21 mmol, 2.6 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c** versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluß wurde mit 52.0 µl (0.23 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclische Saligenylphosphoramidit **71c)** oxidiert.

Ausbeute: 3.6 mg (0.009 mmol, 12 %)

Die erhaltenen spektroskopischen Daten entsprachen denen in Kapitel 6.10.6 beschriebenen

6.10.8 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) 35c (Synthesevariante C)

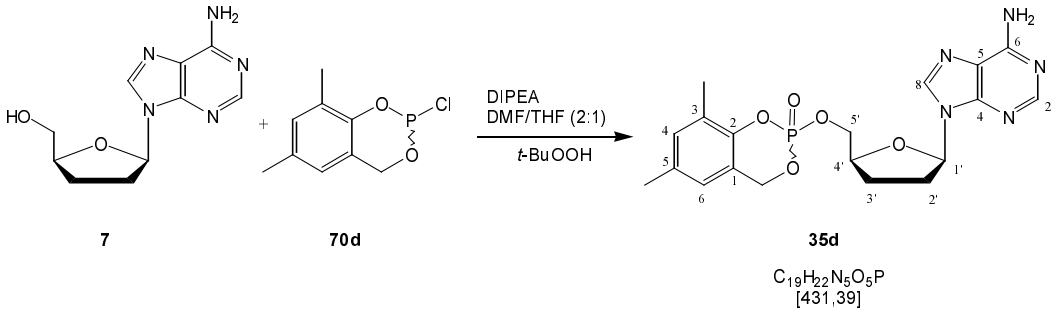


Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.10.3 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 36.0 mg (0.15 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 0.70 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran und 1.4 ml Dimethylformamid mit 73.0 µl (0.92 mmol, 6.0 Äquiv.) *N*-Methylimidazol (NMI) und 0.10 g (0.46 mmol, 3.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72c** umgesetzt.

Ausbeute: 13 mg (0.03 mmol, 20 %)

Die erhaltenen spektroskopischen Daten entsprachen denen in Kapitel 6.10.6 beschriebenen

6.10.9 Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) 35d



Die Darstellung von *cyclo*(3,5-Dimethylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenyl)phosphat (3,5-Di-Me-*cyclo*Sal-ddAMP) **35d** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 70 mg (0.3 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 77.6 mg (0.10 ml, 0.6 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 96.0 mg (0.45 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70d** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 64.7 mg (0.15 mmol, 50 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.22 (s, 1H, H2); 8.19 (s, 1H, H2); 8.11 (s, 1H, H8); 8.10 (s, 1H, H8); 7.24 (s, 2H, NH_2); 7.22 (s, 1H, NH_2); 7.00 (s, 1H, H4-aryl); 6.96 (s, 1H, H4-aryl); 6.81 (s, 1H, H6-aryl); 6.78 (s, 1H, H6-aryl); 6.22 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH}$ = 4.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 6.9 Hz); 6.20 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH}$ = 4.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 6.9 Hz); 5.36 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 17.2 Hz); 5.29 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 17.2 Hz); 5.28 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 9.7 Hz); 5.23 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz); 4.34-4.15 (m, 6H, H4', H5'); 2.48-2.43 (m, 2H, H2'); 2.20 (s, 6H, CH_3-C5-aryl); 2.12 (s, 6H, CH_3-C3-aryl); 2.13-2.08 (m, 4H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.92 (C6); 152.41, 152.39 (C2); 148.82, 148.78 (C4); 145.67, 145.63 (d, C2-aryl, $^{2}J_{CP}$ = 7.3 Hz); 138.86, 138.78 (C8); 132.89, 132.85 (C5-aryl); 131.17, 131.15 (C6-aryl); 126.39, 126.34 (C4-aryl); 123.41, 123.39 (C3-aryl); 120.37, 120.32 (d, C1-aryl, $^{3}J_{CP}$ = 10.3 Hz); 119.00, 118.96 (C5); 84.22, 84.13 (C1'); 78.51, 78.46 (d, C4', $^{3}J_{CP}$ = 7.3); 69.04, 69.01 (C5'); 68.32, 68.20 (d, CH_2-benzyl, $^{2}J_{CP}$ = 7.3 Hz)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.076; -9.18

MS (ESI$^+$) m/z 432.4 (M+1); 453.9 (M+Na$^+$)

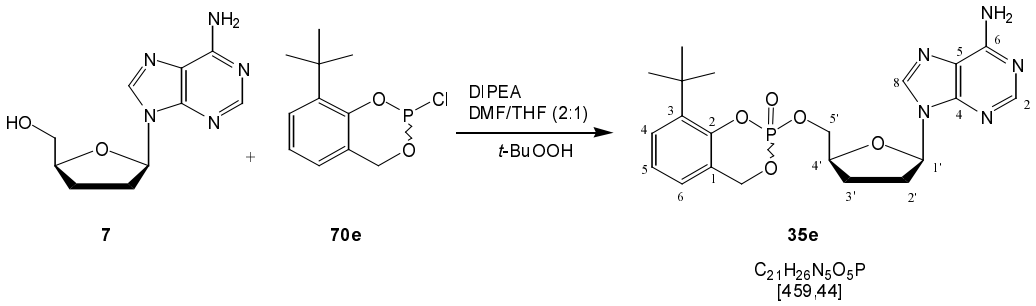
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.2 nm, 198.0 nm; λ_{min} 231.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3329, 3185, 2927, 1647, 1600, 1573, 1483, 1415, 1363, 1331, 1299, 1245, 1202, 1150, 1096, 1045, 993, 931, 858, 799, 698, 665, 582, 487

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.39

Anal. HPLC: t_R: 117.95 min, 18.09 min (98.8 %, Gradient I); 15.16 min, 15.40 min (98.8 %, Gradient II); 20.53 min, 20.69 min (98.9 %, Gradient III)

6.10.10 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) 35e



Die Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35e** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 70 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 97.0 mg (130 µl, 0.75 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 130 mg (0.54 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70e** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 63 mg (0.14 mmol, 41 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.22 (s, 1H, H8); 8.20 (s, 1H, H8); 8.10 (s, 1H, H2); 8.09 (s, 1H, H2); 7.31-7.28 (m, 2H, H4-aryl); 7.21 (s, br, 4H, NH_2); 7.12-7.09 (m, 4H, H6-aryl, H5-aryl); 6.23 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 4.4 Hz); 6.21 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 4.4 Hz); 5.39-5.29 (m, 4H, H-benzyl); 4.39-4.21 (m, 6H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.50-2.40 (m, 4H, H2‘, H2‘‘); 2.20-2.06 (m, 4H, H3‘, H3‘‘); 1.30, 1.26 (2x s, 18 H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.19 (C6); 152.68 (C2); 149.07 (C4); 148.82, 148.75 (C2-aryl); 139.13, 139.07 (C8); 138.52, 138.45 (C3-aryl); 127.26 (C4-aryl); 124.54, 124.49 (C6-aryl); 124.20 (C5-aryl); 122.76, 122.67 (C1-aryl); 119.28 (C5); 84.54, 84.48 (C1‘); 78.86, 78.79 (C4‘); 69.77, 69.73, 69.67 (C5‘); 68.42, 68.35 (CH_2-benzyl); 34.49, 34.45 (CH); 30.98, 30.88 (C3‘); 29.69, 29.66 (*tert*-Bu); 26.04, 25.99 (C2‘)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -7.60, -7.97

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 8.72,- 9.09

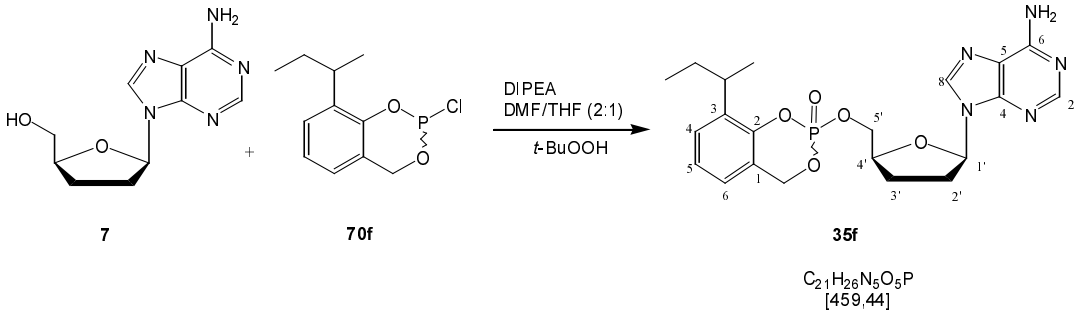
MS (MALDI): m/z 460.4 ($M+H^+$), 482.3 ($M+Na^+$), 498.2 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 258.4 nm, 208.4 nm, 196.9 nm; λ_{min} 229.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3439, 2957, 1700, 1646, 1600, 1477, 1440, 1364, 1331, 1299, 1217, 1181, 1093, 1019, 997, 942, 880, 835, 799, 743, 663, 536, 467, 419

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.10.11 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) 35f



Die Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35f** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 2.0 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 97.0 mg (130 µl, 0.75 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 130 mg (0.54 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70f** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 60 mg (0.13 mmol, 39 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.22 (s, 2H, H8); 8.19 (s, 2H, H8); 8.10 (s, 2H, H2); 8.09 (s, 2H, H2); 7.22-7.21 (m, 12H, aryl-H, NH_2); 7.14-7.10 (m, 4H, aryl-H); 7.05 (m, 2H, H5-aryl); 7.02 (m, 2H, aryl-H); 6.23-6.20 (m, 4H, H1‘); 5.4-5.26 (m, 8H, benzyl-H); 4.37-4.18 (m, 12H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.89-2.86 (m, 4H, CH); 2.50-2.40 (m, 8H, H2‘, H2‘‘); 2.13-2.05 (m, 8H, H3‘, H3‘‘); 1.57-1.44 (m, 8H, CH_2); 1.13 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 1.11 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 5.1 Hz); 1.09 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 1.04 (d, 3H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 0.75-0.66 (m, 12 H, CH_2-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.19 (C6); 152.67 (C2); 149.06 (C4); 147.47, 147.40 (C2-aryl); 139.12, 139.05 (C8); 136.05, 136.02, 136.00,

135.95 (4×d, C3-aryl, $^4J_{CP}$ = 2 Hz); 127.45 (C4-aryl); 124.39 (C6-aryl); 123.69, 123.64 (C5-aryl); 121.51, 121.47, 121.38, 121.34 (d, C1-aryl, $^2J_{CP}$ = 9.2 Hz); 119.28, 119.24 (C5); 84.58, 84.56, 84.49 (C1‘); 78.81, 78.74 (C4‘); 69.52, 69.47 (C5‘); 68.52, 68.46 (CH_2-benzyl); 33.25, 33.22, 33.12, 33.05 (CH); 31.01, 30.97, 30.86 (C3‘); 29.27, 29.11, 29.03 (CH_2); 26.05, 25.98 (C2‘); 20.62, 20.59, 20.37, 20.31 (CH-CH_3); 12.07, 12.03, 11.98 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -7.48, -7.50, -7.75

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 8.60,- 8.62,- 8.87

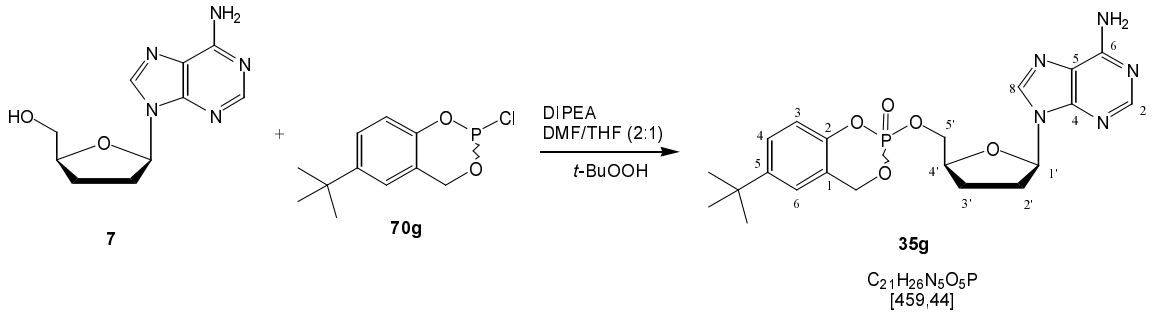
MS (MALDI): m/z 460.4 ($M+H^+$), 482.3 ($M+Na^+$), 4498.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 258.1 nm, 196.0 nm; λ_{min} 230.67

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3451, 2961, 2926, 1645, 1600, 1464, 1417, 1373, 1298, 1185, 1094, 1022, 943, 883, 799, 653, 587, 492, 411

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.10.12 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) 35g



Die Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35g** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 70 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 97.0 mg (130 µl, 0.75 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 130 mg (0.54 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70g** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 75 mg (0.16 mmol, 49 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.13 MHz, DMSO-d_6) 8.25 (s, 1H, H8); 8.22 (s, 1H, H8); 8.11 (s, 1H, H2); 8.10 (s, 1H, H2); 7.36-7.17 (m, 8H, NH_2, H4-aryl, H6-aryl); 7.00 (d, 1H, H3-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 8.6 Hz); 6.91 (d, 1H, H3-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 8.6 Hz); 6.23-6.19 (m, 2H, H2‘); 5.48-5.27 (m, 4H, benzyl. H); 4.35-4.18 (m, 6H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.13-2.02 (m, 4H, H3‘, H3‘‘); 1.23, 1.22 (2× s, 18 H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.19 (C6); 152.69 (C2); 149.09, 149.07 (C4); 147.38, 147.36 (d, C2-aryl, $^{2}J_{CP}$ = 7.2 Hz); 147.05, 146.98 (C5-aryl); 139.14, 139.11 (C8); 126.70, 126.63 (C4-aryl); 122.77, 122.73 (C6-aryl); 120.33, 120.25 (d, C1-aryl, $^{3}J_{CP}$ = 9.7 Hz); 119.26, 119.23 (C5); 117.82, 117.79, 117.77, 117.73, 117.71, 117.67 (C3-aryl); 84.56, 84.47 (C1‘); 78.74, 78.71 (C4‘); 69.44, 6938, 69.35, 69.32, 69.30 (C5‘); 68.92, 68.75 (d, CH_2-benzyl, $^{2}J_{CP}$ = 7.3 Hz); 34.32 (CH); 31.24, 31.19 (*tert*-Bu); 30.88, 30.80 (C3‘); 26.01, 26.99 (C2‘)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -8.40, -8.45

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 9.52,- 9.57

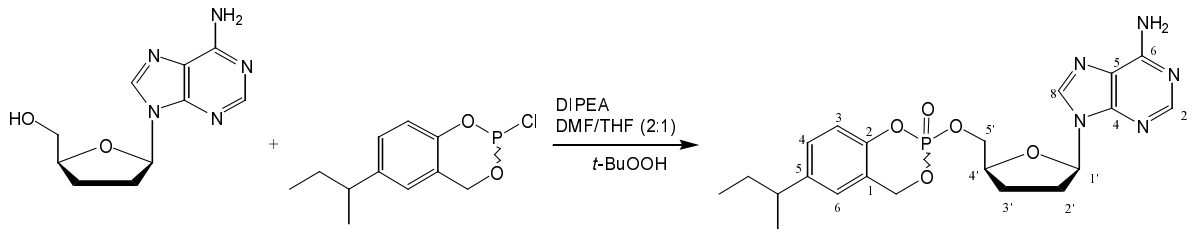
MS (MALDI): m/z 460.4 ($M+H^+$), 482.3 ($M+Na^+$), 498.2 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 258.4 nm, 196.0 nm; λ_{min} 231.4 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3435, 2959, 1645, 1600, 1502, 1475, 1416, 1369, 1300, 1246, 1223, 1191, 1126, 1100, 1034, 948, 906, 878, 827, 799, 726, 698, 650, 593, 550, 504, 419

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.10.13 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) 35h



$C_{21}H_{26}N_5O_5P$
[459,44]

Die Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-ddAMP) **35h** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 70 mg (0.30 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyadenosin (ddA) **7** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 97.0 mg (130 µl, 0.75 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 130 mg (0.54 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70h** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 69 mg (0.15 mmol, 50 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.24 (s, 2H, H8); 8.21 (s, 2H, H8); 8.11 (s, 2H, H2); 8.10 (s, 2H, H2); 7.24 (s, br, 4H, NH_2); 7.23 (s, br, 4H, NH_2); 7.15 (d, 2H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 7.10 (d, 2H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz); 7.03 (s, 2H, H6-aryl); 7.00 (s, 2H, H6-aryl); 7.01-6.99 (m, 2H, H4-aryl), 6.92 (dd, 2H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.2 Hz); 6.23-6.19 (m, 4H, H1‘); 5.45-5.27 (m, 8H, benzyl. H); 4.34-4.19 (m, 12H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.55-2.50 (m, 4H, CH); 2.47-2.38 (m, 8H, H2‘, H2‘‘); 2.15-2.00 (m, 8H, H3‘, H3‘‘); 1.53-1.42 (m, 8H, CH_2); 1.12 (d, 12H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.8 Hz); 0.73-0.69 (m, 12H, CH_2-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.18 (C6); 152.68, 152.65 (C2); 149.09, 149.07 (C4); 147.68, 147.61 (C2-aryl); 143.51, 143.45 (C5-aryl); 139.16, 139.09 (C8); 128.30, 128.25, 128.18 (C4-aryl); 124.28, 124.19 (C6-aryl); 120.89, 120.82, 120.72 (d, C1-aryl, $^2J_{CP}$ = 10.2 Hz); 119.24 (C5); 118.07, 118.05 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.2 Hz); 84.53, 84.51, 84.45 (C1‘); 78.76, 78.70 (C4‘); 69.36, 69.34 (C5‘); 68.82, 68.74 (CH_2-benzyl); 30.92, 30.81 (C3‘) 30.65, 30.59 (CH_2); 26.01, 25.96 (C2‘); 21.83, 21.81, 21.77 (CH-CH_3); 12.16 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -8.42, -8.46, -8.48

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 9.54,- 9.58,- 9.60

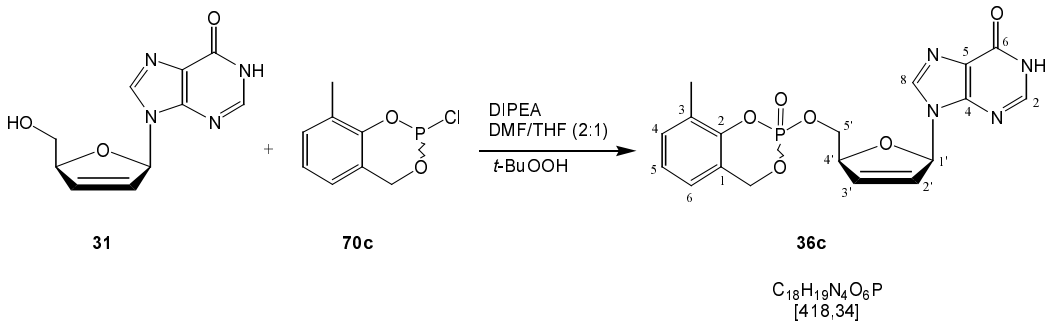
UV(CH_3CN): λ_{max} 258.53 nm, 196.1 nm; λ_{min} 232.5 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3445, 2961, 1645, 1600, 1498, 1471, 1417, 1373, 1300, 1251, 1208, 1167, 1096, 1037, 948, 909, 880, 800, 700, 651, 596, 529, 492, 475, 418

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.11 Synthese der *cyclo*Saligenyl-Phosphattriester mit der Nucleobase Hypoxanthin

6.11.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydro-inosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP) 36c



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydroinosinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4IMP) **36c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.21 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydroinosin (d4I) **31** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydro-furan gelöst und mit 68.5 mg (91 µl, 0.53 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 58.6 mg (0.32 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.42 mmol, 2.00 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 30.8 mg (0.074 mmol, 35 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.36 (s, 2H, NH); 8.05 (s, 1H, H2); 8.04 (s, 1H, H2); 7.87 (s, 1H, H8); 7.86 (s, 1H, H8); 7.23-7.12 (m, 2H, H-aryl); 7.07-7.02 (m, 4H, H-aryl); 6.91-6.88 (m, 2H, H1'); 6.50 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.8 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.6 Hz); 6.45 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.8 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.6 Hz); 6.24-6.21 (m, 2H, H2'); 5.45 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.0 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.7 Hz); 5.41 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.4 Hz); 5.29 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 13.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.0 Hz); 5.28 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.0 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.9 Hz); 4.33-4.22 (m, 4H, H5')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.1 MHz, DMSO-d_6) 156.46, 156.44 (C6); 147.88 (C4); 147.71, 147.68 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 6.9 Hz); 145.86 (C2); 137.80, 137.74 (C8);

132.41, 132.36 (C3'): 130.76, 130.75 (C4-aryl); 126.79, 126.72 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 8.0 Hz); 126.37, 126.35 (C2'); 124.13, 124.11 (C5); 123.80 (C6-aryl); 123.41, 123.36 (C5-aryl); 120.78, 120.58 (d, C1-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.2 Hz); 88.07, 88.06 (C1'); 85.14, 85.06 (d, C4', $^3J_{CP}$ = 7.5 Hz); 68.29. 68.22 (C5'); 68.18, 68.03 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 6.3 Hz); 14.79, 14.64 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.01; -9.23

MS (ESI$^+$) m/z 417.1

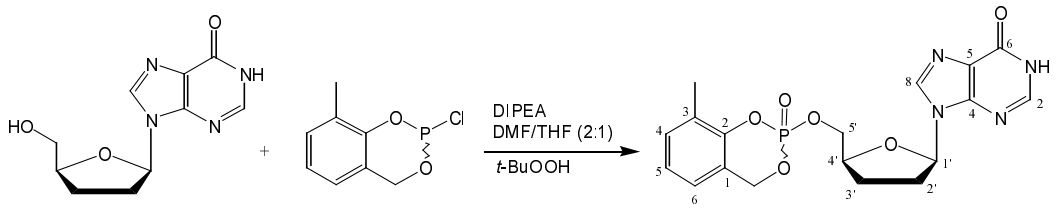
UV(CH_3CN): λ_{max} 250.0 nm, 245.0 nm; 203.0 nm; λ_{min} 248.6 nm; 226.8 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3447, 1686, 1588, 1544, 1474, 1289, 1207, 1189, 1090, 1025, 998, 954, 827, 784, 649

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.33

analyt. HPLC: t_R: 16.20 min, 16.07 min (95.7 %, Gradient I); 10.80 min, 11.29 min (95.7 %, Gradient II); 18.47 min, 18.57 min (95.8 %, Gradient III)

6.11.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxyinosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP) 37c



5 70c 37c

$C_{18}H_{19}N_4O_6P$
[418,34]

Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxyinosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddIMP) **37c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.10.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.21 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxyinosin (ddI) **5** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 68.5 mg (91 µl, 0.53 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 58.6 mg (0.32 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.42 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 30.9 mg (0.074 mmol, 35 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.33 (s, 2H, NH); 8.17 (s, 1H, H2); 8.14 (s, 1H, H2); 8.01 (s, 1H, H8); 8.00 (s, 1H, H8); 7.20 (t, 1H, H4-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz); 7.18 (m, 1H, H4-aryl); 7.06-7.02 (m, 4H, H5-aryl, H6-aryl); 6.20 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz); 6.19 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz); 5.43 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 17.5 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.2 Hz); 5.38 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 17.6 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.2 Hz); 5.33 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 9.8 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 16.3 Hz); 5.31 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 9.7 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.6 Hz); 4.35-4.17 (m, 6H, H5', H4'); 2.48-2.37 (m 4H, H2'); 2.18 (s, 3H, CH_3); 2.16 (s, 3H, CH_3); 2.12-2.01 (m, 4H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6 156.48 (C6); 147.82, 147.78 (C2-aryl); 147.62 (C4); 145.55 (C2); 138.01, 137.96 (C8); 130.74 (C4-aryl); 126.81, 126.73 (C3-aryl); 12441, 124.37 (C5), 123.79 (C5-aryl); 123.40 (C6-aryl); 120.81, 120.74 (d, C1-aryl, $^{2}J_{CP}$ = 7.6 Hz); 84.47, 84.38 (C1'); 78.87, 78.79 (C4'); 69.06, 69.00 (C5'); 68.31, 68.22 (d, CH_2-benzyl, $^{2}J_{CP}$ = 7.6 Hz); 31.10, 31.07 (C3'); 25.59, 25.56 (C2'); 14.78, 14.70 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.14; -9.20

MS (ESI^+) m/z 419.3 (M+1); 441.1 ($M+Na^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 250.5 nm, 196.0 nm; λ_{min} 226.0 nm

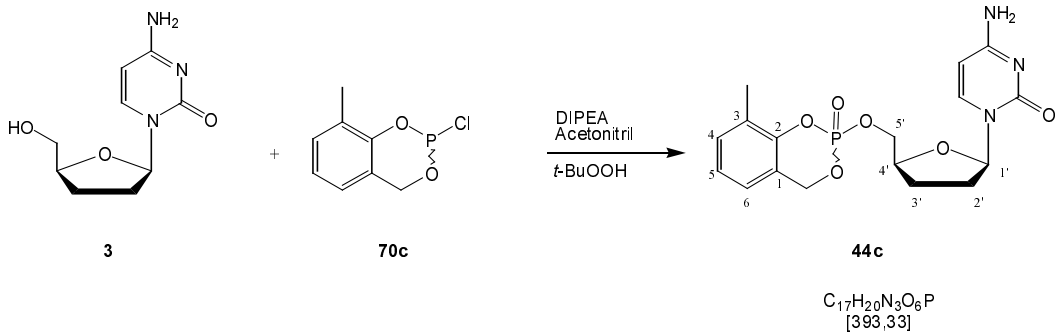
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3437, 3055, 2955, 1697, 1622, 1586, 1545, 1511, 1471, 1412, 1370, 1346, 1295, 1213, 1190, 1125, 1090, 1025, 1028, 990, 939, 881, 818, 789, 719, 688, 651, 606, 528

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.29

Anal. HPLC t_R: 16.35 min (96.7 %, Gradient I); 12.21 min (96.7 %, Gradient II); 18.92 min (96.7 %, Gradient III)

6.12 Synthese von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxycytidinyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) 44c und *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(3'-thiacytidinyl)phosphate (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) 45c

6.12.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) 44c (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **44c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. In einer Intert-gasatmospäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurde eine Lösung von 40 mg (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxycytidin (ddC) **3** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril vorgelegt und mit 51.6 mg (68.4 µl, 0.40 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Nach Abkühlen auf 0 °C tropfte man eine Lösung von 72 mg (0.40 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Chlorphosphan **70c** in 1.00 ml wasserfreiem Acetonitril hinzu. Im Anschluß wurde mit 104 µl (0.56 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclischen Saligenylchlorphosphan **70c**) einer 5.0-6.0 M *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 30 mg (0.076 mmol, 76 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 7.53 (2 × d, $^3J_{HH6}$ = 7.3 Hz, 1H, H5); 7.25 (m, 2H, NH und H5-aryl); 7.14 (s, 1H, NH); 7.09 (m, 2H, H4-aryl, H6-aryl); 5.95 (2 × d, 1H, $^3J_{HH2'}$ = 6.8 Hz, H1'); 5.60 (2 × d, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, 1H, H6); 5.43 (m, 2H, CH_2-benzyl); 4.30 (m, 2H, H5'); 4.18 (m, 1H, H4'); 2.16-2.32 2 × s + m, 4H, CH_3, C3-aryl, H3''); 1.91-2-02 (m, 1H, H3'); 1.64-1.85 (2 × m, 2H, H2', H2'')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.1 MHz, DMSO-d_6) 165.14 (C2); 154.53 (C4); 147.85 (C2-aryl); 140.53 (C6); 130.86 (C4-arom); 126.86 (C3-arom); 123.95 (C5-arom); 123.52 (C6-arom); 120.91 (C1-arom); 93.60 (C5); 85.86 (C4'); 78.02 (C5'); 68.40 (CH_2-benzyl); 31.35 (C3'); 25.00 (C2'); 14.85 (CH_3)

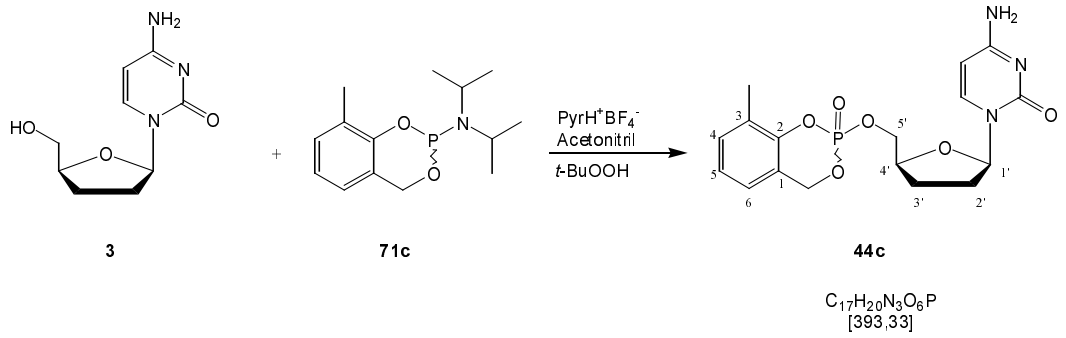
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -8.91; -9.08

UV(CH_3CN): λ_{max} 195 nm, 274 nm; λ_{min} 252 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3190, 3070, 2950, 2820, 1694, 1470, 1400, 1366, 1291, 1247, 1189, 1112, 1088, 1016, 945, 881, 846, 778, 694, 653, 578

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35
(Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v) 0.63

6.12.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) 44c (Synthesevariante B)

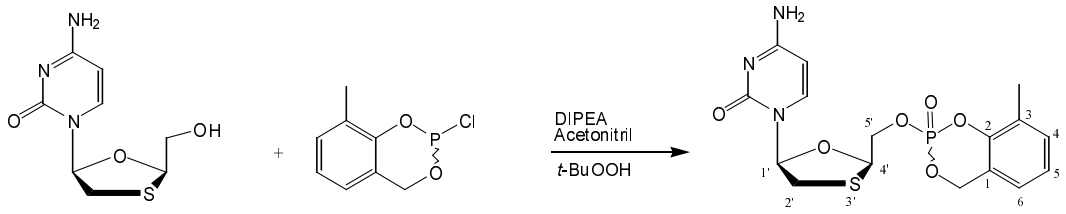


Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **44c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.2 durchgeführt. Es wurde eine Lösung von 40 mg (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) 2‘,3‘-Didesoxycytidin (ddC) **3** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril und 134 mg (0.80 mmol, 4.0 Äquiv) Pyridinium-tetrafluoroborat und 133.6 mg (0.5 mmol, 2.5 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c** umgesetzt. Nach 40 min Reaktionszeit wurde mit 104 µl (0.56 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c**) einer 5.0-6.0 M Lösung von tert-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 35.8 mg (0.09 mmol, 91 %)

Die weiteren spektroskopischen Daten (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR etc.) entsprachen denen in Kapitel 6.12.1 beschriebenen.

6.12.3 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(3'-thiacytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) 45c (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **44c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurde eine Lösung von 40 mg (0.17 mmol, 1.0 Äquiv.) β-L-(-)-3‘-Thiacytidin (3TC) **3** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril vorgelegt und mit 44 mg (60 µl, 0.34 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Nach Abkühlen auf 0 °C tropfte man eine Lösung von 61 mg (0.34 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Chlorphosphan **70c** in 0.5 ml wasserfreiem Acetonitril hinzu. Im Anschluß wurde mit 70 µl (0.37 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclischen Saligenylchlorphosphan **70c**) einer 5.0-6.0 M *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 16.5 mg (0.04 mmol, 23 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 7.61 (2 × d, $^3J_{HH6}$ =7.3 Hz, 1H, H5); 7.35 (s, 1H, NH); 7.24 (m, 2H, NH und H5-aryl); 7.08 (m, 2H, H4-aryl, H6-aryl); 6.21 (2 × d, 1H, $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, H1‘); 5.66 (2 × d, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, 1H, H6); 5.44 (m, 2H, CH_2-benzyl); 5.36 (m, 1H, H4‘); 4.41 (m, 2H, H5‘); 3.37 m, 1H, H2‘‘ überlagert von Wasser); 3.30 (2 × dd, $^3J_{HH1'}$ = 6.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, 1H, H2‘); 2.02 (2 × s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.1 MHz, DMSO-d_6) 165.23 (C2); 153.15 (C4); 147.99 (C2-aryl); 140.88 (C6); 131.15 (C4-arom); 127.20 (C3-arom); 124.25 (C5-arom); 123.76 (C6-arom); 120.99 (C1-arom); 94.57 (C5); 87.19 (C4‘); 81.21 (C5‘); 68.64 (CH_2-benzyl); 34.53 (C2‘); 25.00 (C3‘); 15.11 (CH_3)

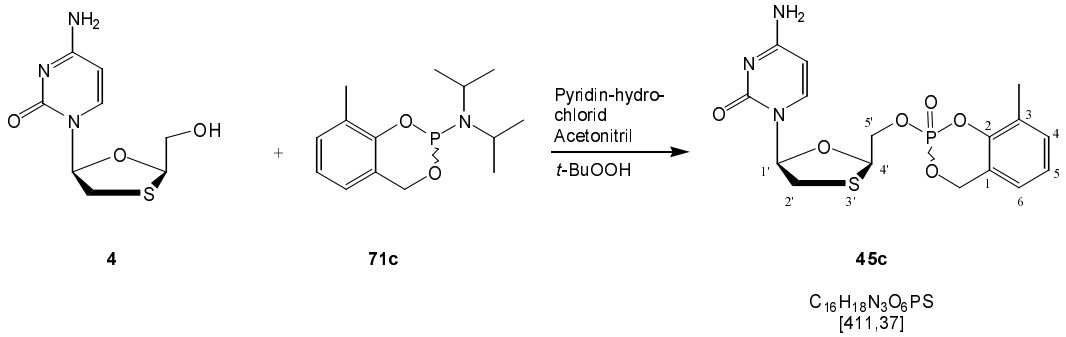
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) –9.34; -9.36

UV(CH_3CN): λ_{max} 195 nm, 256 nm; λ_{min} 232 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3419, 3200, 2926, 1717, 1652, 1611, 1525, 1488, 1286, 1191, 1094, 1010, 947, 820, 780, 653

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v) 0.63

6.12.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(3'-thiacytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3TCMP) 45c (Synthesevariante B)



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxycytidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-ddCMP) **45c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.2 durchgeführt. Es wurde eine Lösung von 40 mg (0.17 mmol, 1.0 Äquiv.) β-L-(-)-3'-Thiacytidin (3TC) **3** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril und 78.3 mg (0.68 mmol, 4.0 Äquiv) Pyridin-hydrochlorid und 47.6 mg (0.43 mmol, 2.5 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c** umgesetzt. Nach 40 min Reaktionszeit wurde mit 90 µl (0.47 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclischen Saligenyl-phosphoramidit **71c**) einer 5.0-6.0 M Lösung von tert-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

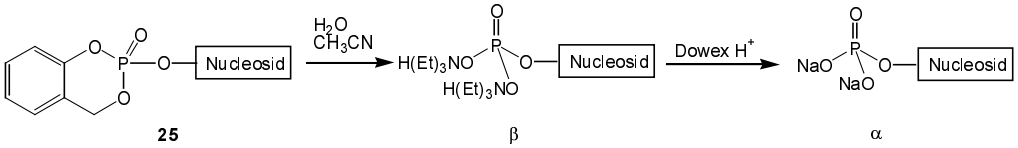
Ausbeute: 56 mg (0.14 mmol, 80 %)

Die weiteren spektroskopischen Daten (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR etc.) entsprachen denen in Kapitel 6.12.3 beschriebenen.

6.13 Synthese von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat-Dinatriumsalz (ddAMP+2Na$^+$)

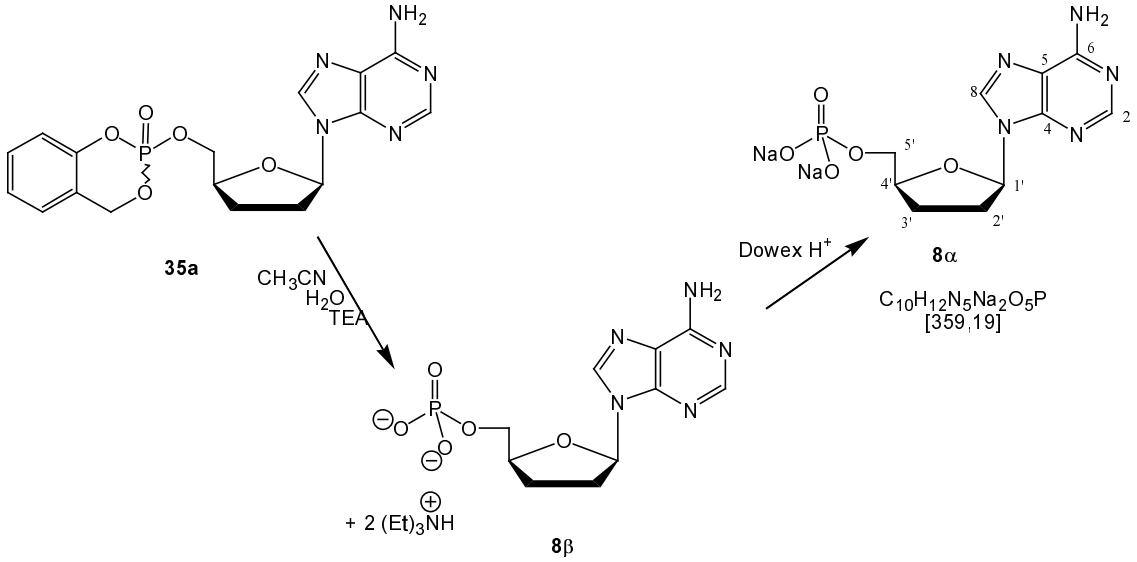
Das 5'-Monophosphat des Nucleosids ddA **7** konnten durch baseninduzierte Hydrolyse aus den zuvor synthetisierten *cyclo*Sal-Verbindungen erhalten werden. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

6.13.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von 5'-Nucleosidmonophosphaten α aus *cyclo*Sal-Phosphattriestern 25



Zu einer Lösung des *cyclo*Sal-Phosphattriesters **25** in einem Acetonitril/Wasser-Gemisch wurden einige Tropfen Triethylamin hinzugegeben. Der pH-Wert der Lösung lag bei 10. Die Reaktionsmischung wird solange bei Raumtemperatur gerührt, bis keinerlei Edukt mehr detektiert werden kann. Während der Reaktion ist auf einen konstant basischen pH-Wert zu achten. Die Reaktionslösung wird lyophilisiert, in wenig Wasser gelöst und säulenchromatographisch (RP-18, 5µm) mit einem Wasser/Acetonitril-Gradienten von 0-5 % aufgereinigt. Die Produktfraktionen, welche das Bis(triethylammoniumsalz) der 5'-Nucleosidmonophosphate β enthielten, wurden vereinigt und lyophilisiert. Man erhielt farblose, wattige Feststoffe. Um die Dinatriumsalze zu erhalten wurde das Bis(triethylammoniumsalz) in wenig Wasser gelöst und mit Hilfe einer kleinen, mit Natriumionen beladenen Dowex Säule, die Triethylammonium-Kationen gegen Natriumionen ausgetauscht. Die vereinigten Produktfraktionen wurden wiederum lyophilisiert. Man erhielt farblose, wattige Feststoffe bzw. farblose, glasige Feststoffe.

6.13.1.1 Darstellung von 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat-Dinatriumsalz (ddAMP+2Na$^+$) 8α



Zu einer Lösung von 70 mg (0.17 mmol, 1.0 Äquiv.) *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-ddAMP) **35a** in 4.0 ml Acetonitril und 10 ml Wasser wurden

drei Tropfen Triethylamin hinzupipettiert und bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von drei Tagen konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden. Nach dem Lyophilisieren wurde chromatographisch mit einer RP-18-Säule aufgereinigt, wiederum lyophilisiert. Im Anschluß daran wurde mit Hilfe einer Dowex-Ionentauschersäule 2',3'-Didesoxyadenosin-5'-Monophosphat-Dinatriumsalz (ddAMP+2Na$^+$) **8**α als farbloser, glasiger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 25.1 mg (0.07 mmol, 40 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, D_2O) 8.27 (s, br, 1H, H8); 7.89 (s, 1H, H2); 6.15-6.00 (m, 1H, H1'); 4.40-4.30 (m, 1H, H4'); 4.00-3.90 (m, 1H, H5'$_A$); 3.90-3.81 (m, 1H, H5'$_B$); 2.59-1.87 (m, 4H, H2', H2'', H3', H3'')

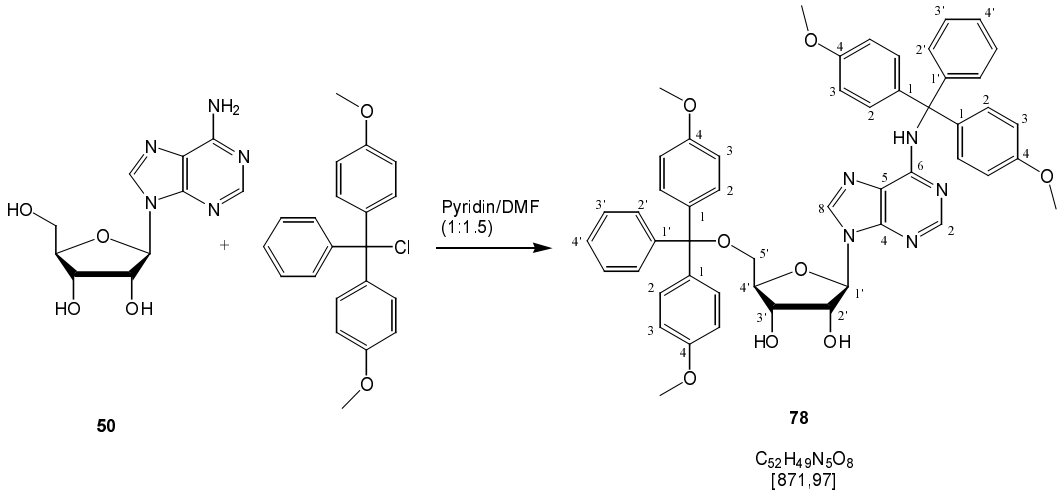
^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, D_2O) 3.13

MS (ESI$^+$) m/z 316.08 (M-2Na$^+$+3); 336.19 (M-Na$^+$+2)

6.14 Synthese von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'- didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) 18

N^6,*O*$^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **85** konnte aus Adenosin **50** nach der Methode von M. Kawana et al. synthetisiert werden.[229] Die Substitution der 2'-OH-Gruppe von **80** durch Fluor erfolgte nach einer Methode von T.J Tewson.[231] Außerdem wurde versucht die relativ labile und teure Schutzgruppe 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid (DMTr-Cl) durch Triphenylmethylchlorid (Tr-Cl) zu ersetzen.

6.14.1 Darstellung von *N*^{6},*O*$^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)adenosin 78



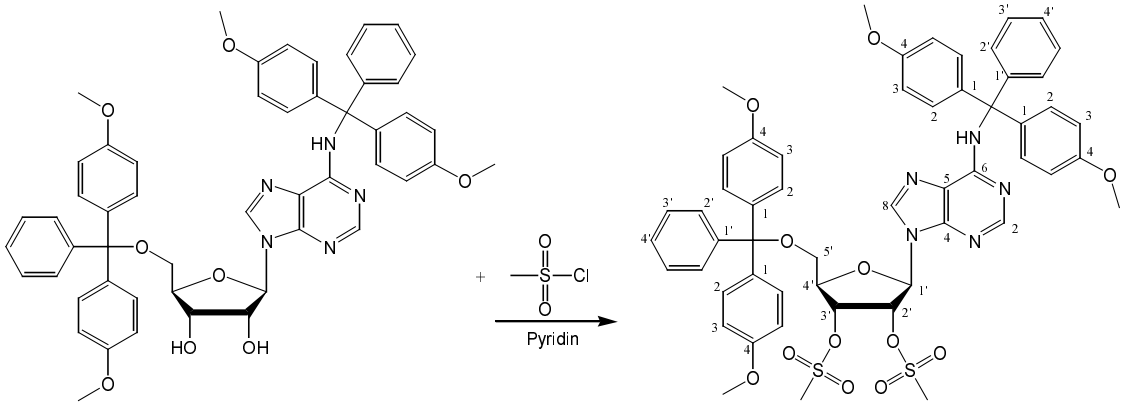
In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurde 1.00 g (3.80 mmol, 1.0 Äquiv.) Adenosin **50** in einem Lösungsmittelgemisch aus 7.4 ml Pyridin und 11.2 ml Dimethylformamid (DMF) suspendiert und auf 80 °C solange erhitzt, bis sich eine klare Lösung gebildet hat. Die Lösung ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und gab im Anschluß 1.55 g (4.46 mmol, 2.5 Äquiv.) 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid hinzu und rührte 18 h bei Raumtemperatur. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von 6 ml einer 50 %igen wässrigen Pyridin-Lösung abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wiederum Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Reste an Pyridin wurden durch Coevaporieren mit Toluol am Rotationsverdampfer aus dem Rohprodukt entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-5 %). Man erhielt einen gelblichen Schaum.

Ausbeute: 2.25 g (2.50 mmol, 68 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.07 (s, 1H, H8); 8.02 (s, 1H, H2); 7.37-7.13 (m, 18 H, DMTr); 7.04 (s, br, 1H, NH); 6.83-6.74 (m, 8H, DMTr); 6.74-6.60 (s, br, OH); 5.91 (d, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 6.1 Hz); 4.74 (dd, 1H, H2', $^3J_{HH1'}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.2 Hz); 4.43-4.42 (m, 1H, H4'); 4.35 (dd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 5.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.2 Hz); 3.78 (s, 6H, 2×OCH_3); 3.77 (s, 6H, 2×OCH_3); 3.46 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.7 Hz); 3.45-3.32 (s, br, OH); 3.22 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.4 Hz)

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.78

6.14.2 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin 79



78 **79**

$C_{54}H_{53}N_5O_{12}S_2$
[1028,16]

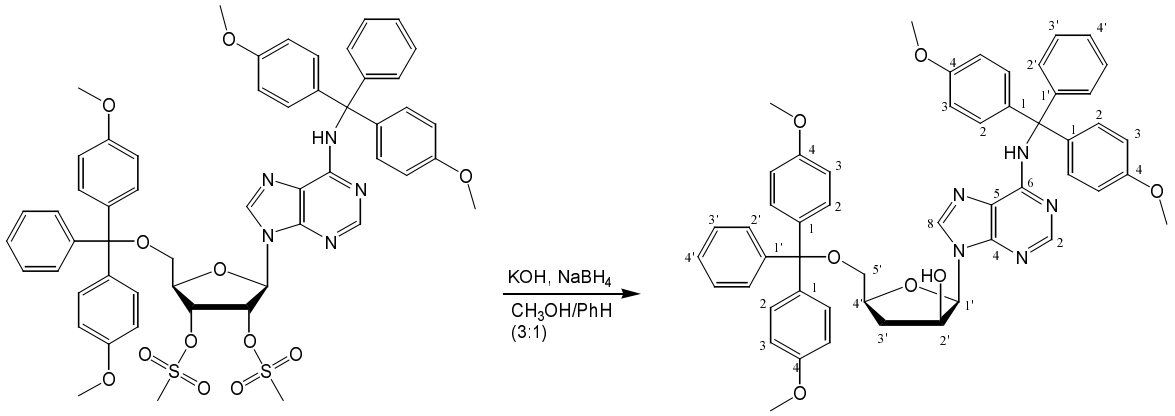
In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 2.25 g (2.58 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)adenosin **78** in 15.0 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu der Lösung wurden 0.89 g (0.60 ml, 7.74 mmol, 3.0 Äquiv.) Mesylchlorid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wird bei Raumtemperatur 18 h gerührt. Die rot-braune und klare Lösung wird durch Zugabe von 5.00 ml einer 50 %igen wässrigen Pyridin-Lösung abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wiederum Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Reste an Pyridin wurden durch Co-evaporieren mit Toluol am Rotationsverdampfer aus dem Rohprodukt entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-3 %). Man erhielt einen gelblichen Schaum.

Ausbeute: 2.38 g (2.32 mmol, 90 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 7.96 (s, 1H, H8); 7.89 (s, 1H, H2); 7.36-7.18 (m, 18H, DMTr); 6.93 (s, br, 1H, NH); 6.82-6.76 (m, 8H, DMTr); 6.21 (d, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 4.9 Hz); 6.13 (t, 1H, H2', $^3J_{HH}$ = 4.9 Hz); 5.74 (t, 1H, H3', $^3J_{HH}$ = 4.9 Hz); 4.46-4.42 (m, 1H, H4'); 3.77, 3.76 (2×s, 12H, 4×OCH_3); 3.61 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.1 Hz); 3.35 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz); 3.07 (s, 3H, CH_3); 3.05 (s, 3H, CH_3)

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.82

6.14.3 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin 80



79

80

$C_{52}H_{49}N_5O_7$
[855,97]

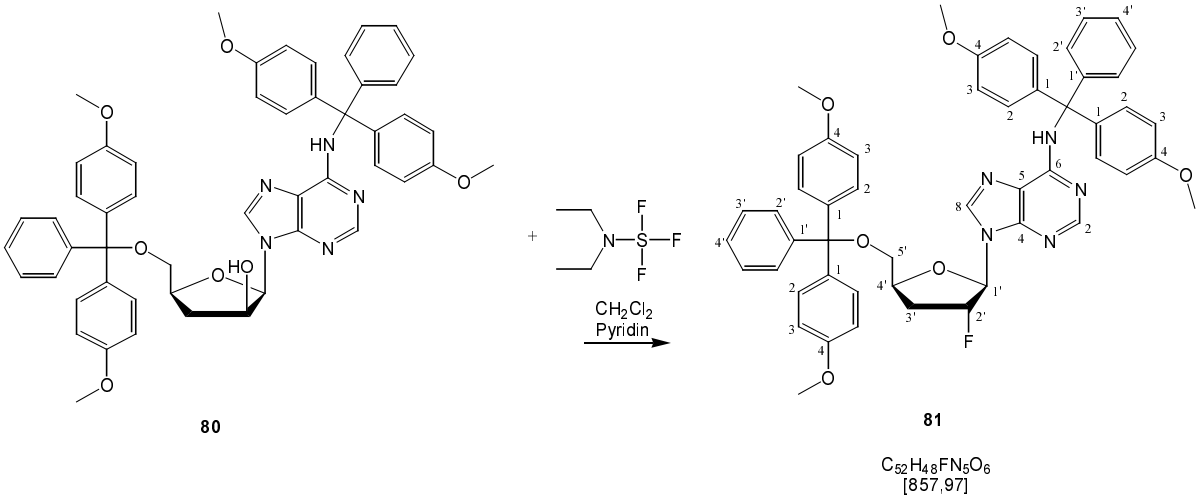
In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 2.23 g (2.17 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **79** in einem Gemisch aus 6.30 ml Benzol und 19.0 ml Methanol gelöst. 1.20 g (21.7 mmol, 10 Äquiv.) Kaliumhydroxid wurden in 10 ml Methanol gelöst und zu der Lösung des Nucleosids hinzugegeben. Die Lösung wurde trüb. Anschließend wurden 0.41 g (10.8 mmol, 5.0 Äquiv.) Natriumborhydrid hinzugegeben, wobei ein schleimiger Niederschlag entstand. Die Reaktion wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend unter Eiskühlung mit Aceton abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Als Rohprodukt erhielt man einen farblosen Schaum. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %). Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1.58 g (1.84 mmol, 85 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.24 (s, 1H, H8); 8.03 (s, 1H, H2); 7.35-7.19 (m, 18H, DMTr); 6.95 (s, br, NH); 6.85-6.76 (m, 8H, DMTr); 6.06 (d, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 2.8 Hz); 4.45-4.57 (m, 2H, OH, H2'); 4.38-4.30 (m, 1H, H4'); 3.78 (s, 12H, 4×OCH_3); 3.56 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.7 Hz, $^3J_{HH}$ = 2.8 Hz); 3.20 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.4 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.5 Hz); 2.52-2.40 (m, 1H, H3'); 2.18-2.09 (m, 1H, H3')

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.70

6.14.4 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin 81



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 62.1 mg (51 µl, 0.385 mmol, 1.1 Äquiv.) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) in 1.00 ml Dichlormethan und 80 µl Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung von 0.30 g (0.35 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **80** in 0.50 ml Dichlormethan wird langsam hinzugetropft. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur erwärmt und eine Stunde gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wird das Rohprodukt chromatographisch zunächst isokratisch mit Dichlormethan/Petrolether (1:1) dann mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-2 %) aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 0.2 g (0.23 mmol, 67 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 8.31 (s, 1H, H8); 7.90 (s, 1H, H2); 7.28-7.15 (m, 19H, DMTr, NH); 6.87-6.78 (m, 8H, DMTr); 6.37 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 20.1 Hz); 5.79 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.9 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.6 Hz); 4.57-4.46 (m, 1H, H4'); 3.70 (s, 6H, 2×OCH_3); 3.69 (s, 6H, 2×OCH_3); 3.23-3.15 (m, 2H, H5', H5''); 2.80-2.50 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 43.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 4.5 Hz); 2.40-2.19 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 20.9 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 5.3 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 158.21 (C4-$O^{5'}$-DMTr); 157.87 (C4-N^6-DMTr); 153.77 (C6); 151.58 (C2); 148.01 (C4); 145.46 (C1'-N^6-DMTr); 144.91 (C1'-$O^{5'}$-DMTr); 140.12 (C8); 135.73 (C1-$O^{5'}$-DMTr); 135.50 (C1-N^6-DMTr); 129.90 (C2-$O^{5'}$-DMTr); 129.78(C2-N^6-DMTr); 128.53 (C3'-$O^{5'}$-

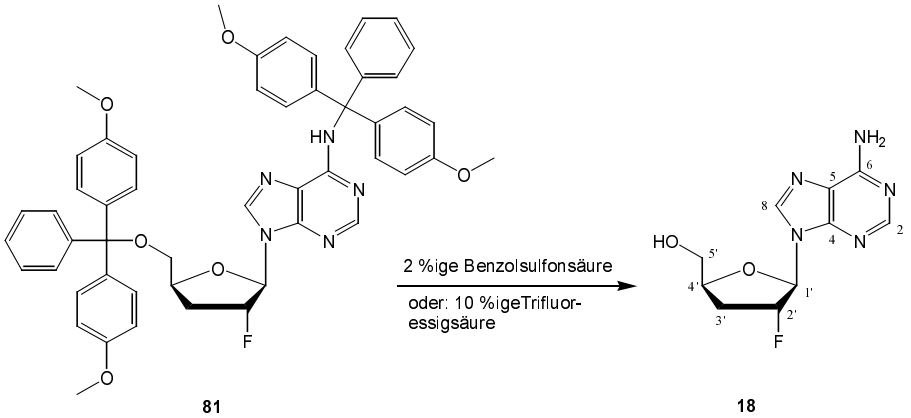
DMTr); 127.89 (C3'-N^6-DMTr); 127.83 (C2'-$O^{5'}$-DMTr); 127.79 (C2'-N^6-DMTr); 126.77 (C4'-$O^{5'}$-DMTr); 126.62 (C4'-N^6-DMTr); 120.99 (C5); 113.31 (C3-$O^{5'}$-DMTr); 113.15 (C3-N^6-DMTr); 96.64 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 176.4 Hz); 89.15 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 37.2 Hz); 85.62 (quart. C-$O^{5'}$-DMTr); 79.82 (C4'); 69.82 (quart. C-N^6-DMTr); 64.53 (C5'); 55.19 (OCH_3); 33.30 (d, C3', $^3J_{CF}$ = 19.1 Hz)

^{19}F-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) -178.09

^{19}F-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) ^{1}H-gekoppelt -178.07 (dddd, $^2J_{FH}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 22.8 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 43.0 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 19.1 Hz

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.54

6.14.5 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin 18



$C_{10}H_{12}FN_5O_2$
[253,23]

Zu einer Löung von 0.44 g (0.51 mmol) N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **81** in wenig Dichlormethan wurden 5.00 ml einer 2 %igen Lösung von Benzolsulfonsäure in Dichlormethan/Methanol (7:3) hinzugegeben und bei Raumtemperatur 1 h lang gerührt. Die Lösung verfärbte sich orange. Die vollständige Abspaltung beider Schutzgruppen wurde dünschichtchromatographisch kontrolliert. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das orangefarbene Rohprodukt chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10 % aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum der allerdings noch mit Benzolsulfonsäure verunreinigt war. Diese kann man mit chromatographischen Methoden nur sehr schlecht abtrennen. Eine weitere Möglichkeit ist die Abspaltung der Schutzgruppen mit einer 10 %igen Trifluor-

essigsäure. Die Reaktion dauerte in diesem Fall 7 Tage, man erhält nach einmaliger chromatographischer Aufarbeitung 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **18** ohne Verunreinigung.

Ausbeute: 116 mg (0.46 mmol, 90 %) eines farblosen, kristallinen Feststoffs

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.34 (s, 1H. H2); 8.14 (s, 1H, H8); 7.29 (s, br, NH2); 6.23 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 18.2 Hz); 5.60 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.9 Hz; $^3J_{HH3'}$ = 4.2 Hz); 5.13 (t, 1H, OH, $^3J_{HH}$ = 4.4 Hz); 4.42-4.35 (m, 1H, H4'); 3.74 (dt, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 12.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.7 Hz); 3.56 (ddd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HOH}$ = 4.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.6 Hz); 2.47 (dddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 42.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 15.0 Hz; $^3J_{HH2'}$ = 4.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 10.5 Hz); 2.24 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 20.8 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.9 Hz; $^3J_{HH2'}$ = 5.3 Hz)

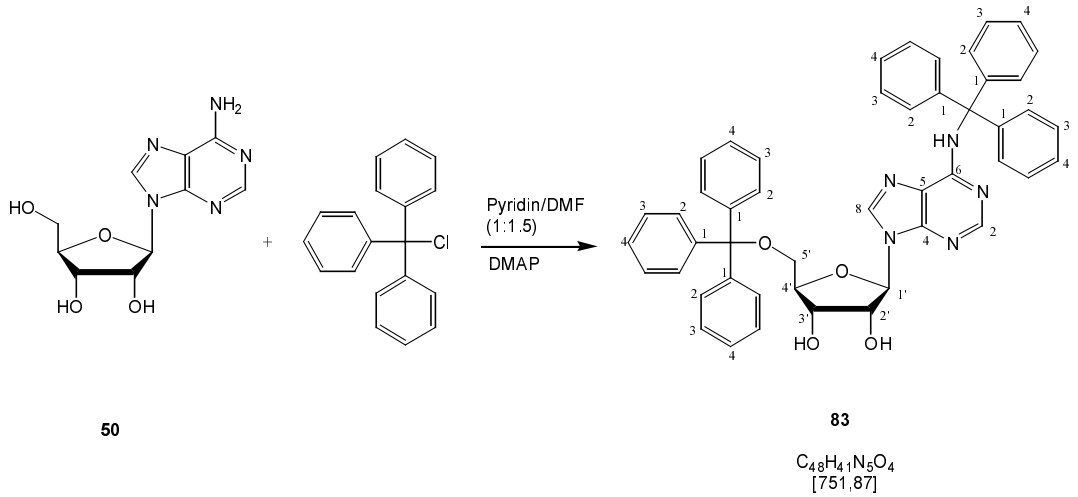
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 155.95 (C6); 152.55 (C2); 148.55 (C4); 138.60 (C8); 118.87 (C5); 96.67 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 177 Hz); 88.35 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 36.2 Hz); 81.27 (C4'); 61.47 (C5'); 31.95 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.6 Hz)

^{19}F-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) - 178.76

^{19}F-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) ^{1}H-gekoppelt - 178.76 (dddd, $^2J_{FH}$ = 51.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 18.3 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 42.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 21.4 Hz

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.08; (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.22

6.14.6 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)adenosin 83



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurde 1.50 g (5.61 mmol, 1.0 Äquiv.) Adenosin **50** in einem Lösungsmittelgemisch aus 11.0 ml Pyridin und 15.0 ml Dimethylformamid (DMF) suspendiert und auf 80 °C solange erhitzt, bis sich eine klare

Lösung gebildet hat. Die Lösung ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und gab im Anschluß 10.2 g (35.9 mmol, 6.4 Äquiv.) Triphenylmethylchlorid hinzu und rührte 18 h bei 40 °C. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von 10 ml einer 50 %igen wässrigen Pyridin-Lösung abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wiederum Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Reste an Pyridin wurden durch Coevaporieren mit Toluol am Rotationsverdampfer aus dem Rohprodukt entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-5 %). Man erhielt einen gelblichen Schaum.

Ausbeute: 3.30 g (4.38 mmol, 78 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.37 (s, 1H, H8); 7.84 (s, 1H, H2); 7.50 (s, 1H, NH); 7.36-7.19 (m, 30H, Trityl); 5.91 (d, 1H, H1‘, $^{3}J_{HH2'}$ = 4.8 Hz); 5.53 (d, 1H, 2‘OH, $^{2}J_{HH}$ = 5.6 Hz); 5.21 (d, 1H, 3‘OH, $^{2}J_{HH}$ = 5.6 Hz); 4.73 (q, 1H, H2‘, ^{3}J = 5.3 Hz); 4.29 (q, 1H, H3‘, ^{3}J = 5.3 Hz); 4.06 (q, 1H, H4‘, ^{3}J = 4.6 Hz); 3.21 (m, 2H, H5‘, H5‘‘)

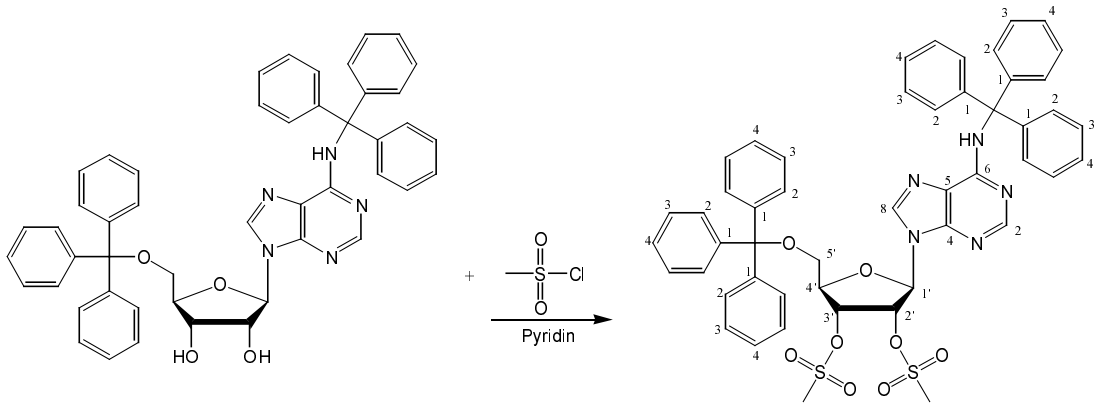
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 153.98 (C2); 151.59 (C6); 149.97 (C4), 145.27 (*y*-5‘O-Trityl); 143.98 (C1-N6-Trityl); 141.01 (C8); 128.98 (C3-5‘O-Trityl); 128.61 (C3-N6-Trityl); 128.20 (C2-5‘O-Trityl); 128.07 (C2-N6-Trityl); 127.38 (C4-5‘O-Trityl); 126.98 (C4-N6-Trityl); 121.40 (C5); 88.68 (C1‘); 86.40 (quart.-5‘O-Trityl); 83.46 (C4‘); 73.14 (C2‘); 70.75 (C3‘); 64.26 (C5‘)

MS (MALDI) m/z 752.3 ($M+H^+$), 774.3 ($M+Na^+$), 790.2 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 271.5 nm, 205.0 nm; λ_{min} 245.2 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.34

6.14.7 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin 84



83 **84**

$C_{50}H_{45}N_5O_8S_2$
[908,05]

In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 6.50 g (8.64 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6,$O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)adenosin **83** in 40.0 ml wasserfreiem Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Die Lösung verfärbte sich gelb. Zu der Lösung wurden 3.00 g (2.02 ml, 25.9 mmol, 3.0 Äquiv.) Mesylchlorid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wird bei Raumtemperatur 18 h gerührt. Die rot-braune und klare Lösung wird durch Zugabe von 5.00 ml einer 50 %igen wässrigen Pyridin-Lösung abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wiederum Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Reste an Pyridin wurden durch Coevaporieren mit Toluol am Rotationsverdampfer aus dem Rohprodukt entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-3 %). Man erhielt einen gelblichen Schaum.

Ausbeute: 7.00 g (7.69 mmol, 89 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.43 (s, 1H, H2); 7.77 (s, 1H, H8); 7.63 (s, 1H, NH); 7.34-7.19 (m, 30 H, Trityl); 6.39 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH2'}$ = 4.6 Hz); 6.19 (t, 1H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 5.1 Hz); 5.80 (t, 1H, H3‘, $^3J_{HH}$ = 5.2 Hz); 4.43-4.39 (m, 1H, H4‘); 3.41 (dd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 10.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.1 Hz); 3.35-3.31 (m, 1H, H5‘‘); 3.30 (s, 3H, CH_3); 3.27 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 154.09 (C2); 151.70 (C6); 148.55 (C4); 145.19 (C1-5‘O-Trityl); 143.62 (C1-N6-Trityl); 141.39 (C8); 128.99 (C3-5‘O-Trityl); 128.59 (C3-N6-Trityl); 128.19 (C2-5‘O-Trityl); 128.06 (C2-N6-Trityl); 127.47 (C4-5‘O-Trityl); 126.99 (C4-N6-Trityl); 121.43 (C5);

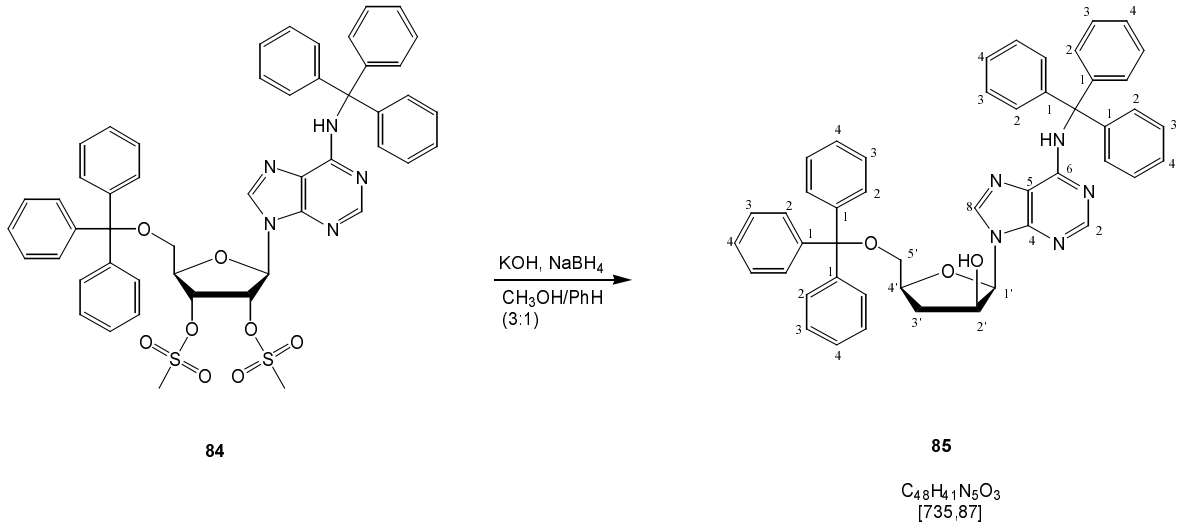
86.75 (C1‘); 86.26 (quart.-5‘O-Trityl); 81 14 (C2‘); 76.61 (C4‘); 75.48 (C3‘); 70.81 (quart.-N6-Trityl); 62.37 (C5‘); 38.32 (CH_3); 38.29 (CH_3)

MS (MALDI) m/z 908.5 ($M+H^+$), 930.5 ($M+Na^+$), 946.47 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 270.47 nm, 204.4 nm; λ_{min} 245.2 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.78

6.14.8 Darstellung von *N*⁶,*O*⁵'-Bis(triphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin 85



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 6.70 g (7.39 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*⁶,*O*⁵'-Bis(triphenylmethyl)-2',3'-di-*O*-mesyladenosin **84** in einem Gemisch aus 19.0 ml Benzol und 30.0 ml Methanol gelöst. 4.14 g (73.9 mmol, 10 Äquiv.) Kaliumhydroxid wurden in 30.0 ml Methanol gelöst und zu der Lösung des Nucleosids hinzugegeben. Die Lösung wurde trüb. Anschließend wurden 1.40 g (37.0 mmol, 5.0 Äquiv.) Natriumborhydrid hinzugegeben, wobei ein schleimiger, gelblicher Niederschlag entstand. Die Reaktion wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend unter Eiskühlung vorsichtig mit Aceton abgebrochen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Als Rohprodukt erhielt man einen farblosen Schaum. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte am Chromatotron mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %). Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 4.46 g (6.06 mmol, 82 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.16 (s, 1H, H8); 7.88 (s, 1H, H2); 7.42-7.18 (m, 31H, Trityl-H, NH); 6.19 (d, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 5.1 Hz); 5.46 (d, 1H, OH, $^3J_{HH2'}$ = 4.6 Hz); 4.48 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 5.1 Hz, $^3J_{HOH}$ = 4.6 Hz); 4.29-4.23 (m, 1H, H4'); 3.40-3.35 (m, 1H, H5'$_A$); 3.08 (dd, 1H, H5'$_B$, $^2J_{HH}$ = 10.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.1 Hz); 2.34 (ddd, 1H, H3'A, $^2J_{HH}$ = 13.2 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.6 Hz); 1.98 (ddd, 1H, H3'B, $^2J_{HH}$ = 13.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 7.3 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz)

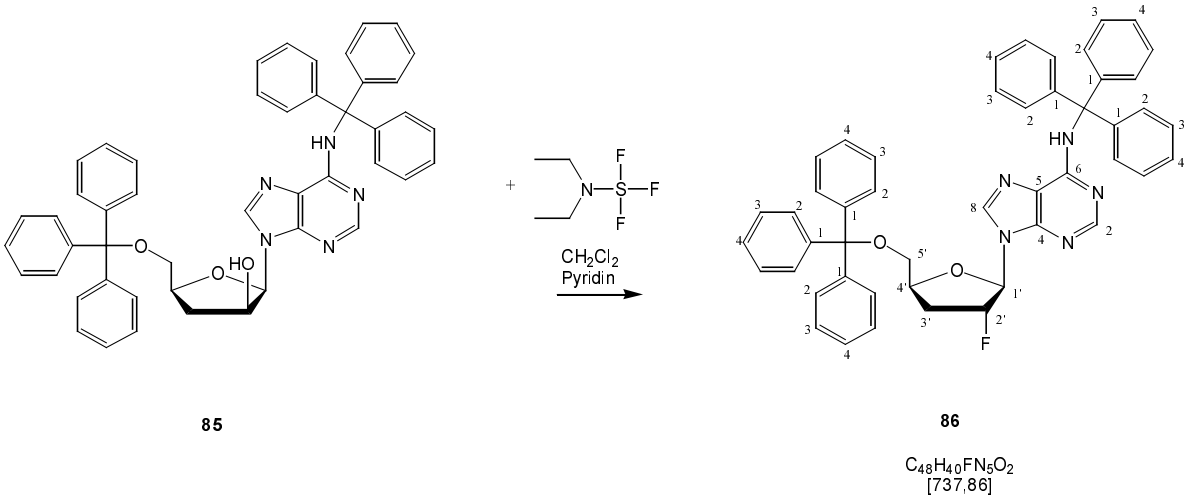
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 153.77 (C2); 151.44 (C6); 149.15 (C4); 145.35 (C1-5‘O-Trityl); 144.05 (C1-N6-Trityl); 141.01 (C8); 128.99 (C3-5‘O-Trityl); 128.63 (C3-N6-Trityl); 128.22 (C2-5‘O-Trityl); 128.06 (C2-N6-Trityl); 127.40 (C4-5‘O-Trityl); 126.96 (C4-N6-Trityl); 120.38 (C5); 86.28 (quart.-5‘O-Trityl); 84.90 (C1‘); 76.48 (C4‘); 70.70 (C2‘); 70.08 (quart.-N6-Trityl); 66.37 (C5‘); 35.12 (C3‘)

MS (MALDI) m/z 736.3 (M+H$^+$), 758.4 (M+Na$^+$), 774.3 (M+K$^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 271.4 nm, 203.9 nm; λ_{min} 245.2 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.64

6.14.9 Darstellung von *N*^{6},*O*$^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin 86



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.01 g (830 µl, 6.29 mmol, 1.1 Äquiv.) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) in 12.0 ml Dichlormethan und 1.40 ml Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung von 4.00 g (5.70 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*^{6},*O*$^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-9-(3-desoxy-β-D-threo-pentofuranosyl)adenin **85** in 4.00 ml Dichlor-

methan wird langsam hinzugetropft. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur erwärmt und eine Stunde gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wird das Rohprodukt chromatographisch zunächst isokratisch mit Dichlormethan/Petrolether (1:1) dann mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-2 %) aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 3.32 g (4.50 mmol, 79 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6) 8.31 (s, 1H, H2); 7.86 (s, 1H, H8); 7.48 (s, 1H, NH); 7.32-7.17 (m, 30 H, Trityl); 6.30 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 20.2 Hz); 5.80 (d, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH}$ = 4.4 Hz); 4.54-4.48 (m, 1H, H4‘); 3.22 (dd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 10.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.5 Hz); 3.18 (H5‘, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 10.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.2 Hz); 2.69 (dddd, 1H, H3‘, $^2J_{HH}$ = 15.1 Hz, $^3J_{HF}$ = 43.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 11.0 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 4.2 Hz); 2.29 (ddd, 1H, H3‘‘, $^2J_{HH}$ = 14.5, $^3J_{HF}$ = 20.5 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 5.6 Hz)

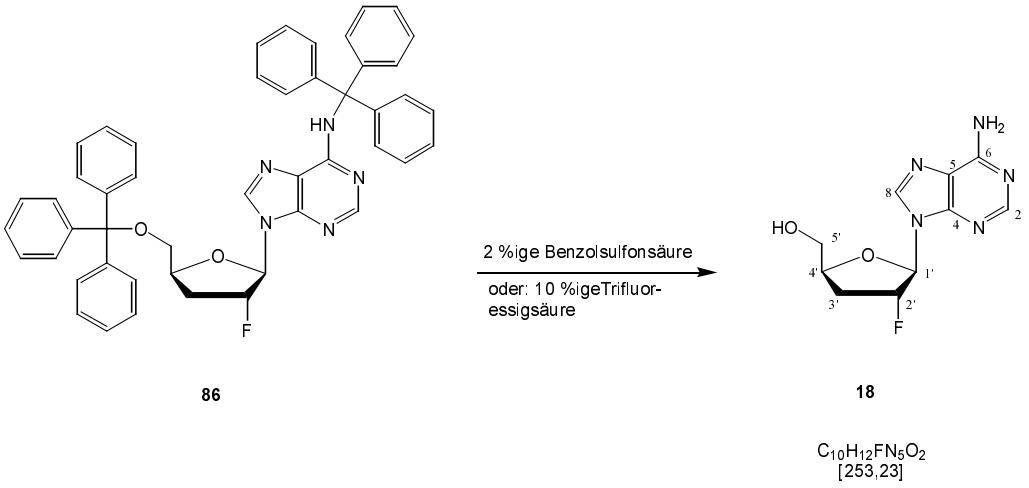
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 153.94 (C2); 151.65 (C6); 148.26 (C4); 145.23 (C1-5‘O-Trityl); 143.86 (C1-N6-Trityl); 140.44 (C5); 128.96 (C3-5‘O-Trityl); 128.55 (C3-N6-Trityl); 128.17 (C2-5‘O-Trityl); 128.04 (C2-N6-Trityl); 127.36 (C4-5‘O-Trityl); 126.96 (C4-N6-Trityl); 121.25 (C5); 89.62 (C2‘); 89.25 (quart.-5‘O-Trityl); 86.33 (C1‘); 79.91 (C4‘); 70.70 (quart.-N6-Trityl); 64.83 (C5‘); 33.59, 33.37 (C3‘)

MS (MALDI) m/z 738.5 ($M+H^+$), 760.5 ($M+Na^+$), 776.5 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 271.5 nm, 204.0 nm; λ_{min} 245.4 nm

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v) 0.81

6.14.10 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin 18



Zu einer Löung von 1.00 g (1.36 mmol) $N^6,O^{5'}$-Bis(triphenylmethyl)-2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **86** in wenig Dichlormethan wurden 3.00 ml einer 2 %igen Lösung von Benzolsulfonsäure in Dichlormethan/Methanol (7:3) hinzugegeben und bei Raumtemperatur 1 h lang gerührt. Die vollständige Abspaltung beider Schutzgruppen wurde dünschichtchromatographisch kontrolliert. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10 % aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Schaum der allerdings noch mit Benzolsulfonsäure verunreinigt war. Diese kann man mit chromatographischen Methoden nur sehr schlecht abtrennen. Eine weitere Möglichkeit ist die Abspaltung der Schutzgruppen mit einer 10 %igen Trifluoressigsäure. Die Reaktion dauerte in diesem Fall 7 Tage, man erhält nach einmaliger chromatographischer Aufarbeitung 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin **18** ohne Verunreinigung.

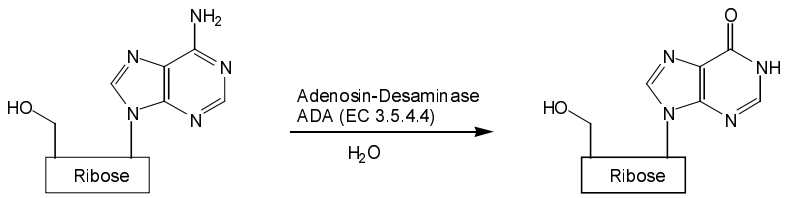
Ausbeute: 310 mg (1.22 mmol, 90 %)

Die hierbei erhaltenen spektroskopischen Daten (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{19}F-NMR) entsprachen denen der in Kapitel 6.14.5 auf Seite 200 zusammengefaßten Daten.

6.15 Synthese der Hypoxanthin-Nucleoside 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) 32 und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadensonin (2'-F-*ribo*-ddI) 33 durch enzymatische Reaktion mit Adenosin-Desaminase

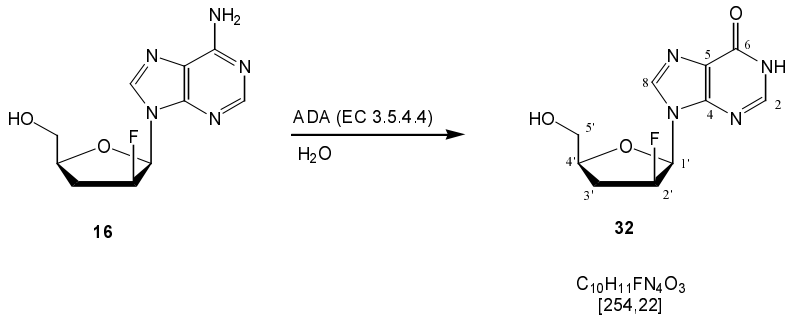
Die Hypoxanthin-Nucleoside 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** und 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadensonin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** konnten durch enzymatische Desaminierung mit Adenosin-Desaminase aus Kälberdarmschleimhaut (EC 3.5.4.4) erfolgreich synthetisiert werden. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

6.15.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von Hypoxanthin-Nucleosiden aus den entsprechenden Adenin-Verbindungen durch enzymatische Desaminierung mit ADA



Es wurden 1.0 Äquiv. des Nucleosids in Wasser suspendiert und mit 10 U Adenosin-Desaminase (EC 3.5.4.4) versetzt. Es wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Enzym mit kaltem Methanol gefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen geeigneten Membranfilter (Sartorius, Minisart, 0.45 µ) filtriert, um restliches Enzym zu entfernen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels an der Lyophille konnte die Verbindung chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten von 0-10 % oder durch Kristallisation aus einem Dichlormethan/Methanol-Gemisch rein erhalten werden. Man erhielt einen farblosen Feststoff in einer Ausbeute von 97-98 %.

6.15.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) 32



Die Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ara*-ddI) **32** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.15.1 durchgeführt. Eine Suspension von 100 mg (0.39 mmol, 1.0 Äquiv) 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16** in 5.00 ml Wasser wurde 18 h mit 10 U Adenosin-Desaminase (ADA, EC 3.5.4.4) bei Raumtemperatur gerührt. Man erhält eine klare, farblose Lösung. Anschließend wurde die Lösung mit 5 ml eiskaltem Methanol zum Ausfällen des Enzyms versetzt und bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter der Firma Sartorius (Minisart, 0.45 µ) filtriert. Nach dem Lyophilisieren wurde der Feststoff in einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan und Methanol gelöst. Durch langsames Verdampfen lassen des Lösungsmittels und gleichzeitiger Kühlung im Eisbad fällt 2'-F-*ara*-ddI **32** als farblose Kristalle aus.

Ausbeute: 96.6 mg (0.38 mmol, 97 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 12.4 (s, br, 1H, NH); 8.24 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 1.8 Hz); 8.07 (s, 1H, H2); 6.27 (dd, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 15.0 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 4.0 Hz); 5.42 (ddt, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 54.3 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 4.0 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.0 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.8 Hz); 5.06 (t, 1H, OH, $^3J_{HH}$ = 5.9 Hz); 4.15 (m, 1H, H4'); 3.64-3.55 (m, 2H, H5', H5''); 2.52 (dddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 27.5 Hz, $^2J_{HH}$ = 13.7

Hz, $^3J_{HH2'}$ = 6.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 7.3 Hz); 2.23 (dddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 26.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 13.9 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 4.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.4 Hz);

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 156.7 (C6); 148.1 (C4); 146.3 (C6); 139.06 (C8); 123.83 (C5); 91.55 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 187.6 Hz); 84.02 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 15.9 Hz); 78.22 (d, C4', $^3J_{CF}$ = 2.6 Hz); 62.95 (C5'); 32.34 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 19.7 Hz);

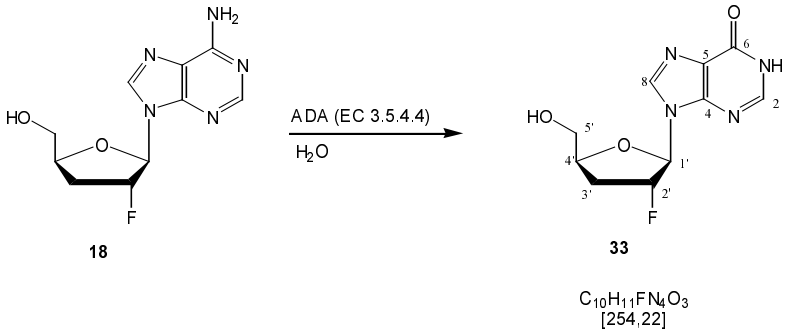
^{19}F-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) - 188.16

^{19}F-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H-gekoppelt) -188.19 (dddd, $^2J_{FH}$ = 54.5 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 15.3 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 28.3 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.2 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 255.0 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 248.9 nm, 243.0 nm, 196.9 nm; λ_{min} 246.9 nm, 220.9 nm

6.15.3 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) 33



Die Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.15.1 durchgeführt. Eine Suspension von 100 mg (0.39 mmol, 1.0 Äquiv) 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ribo*-ddA) **18** in 5.00 ml Wasser wurde 18 h mit 10 U Adenosin-Desaminase (ADA, EC 3.5.4.4) bei Raumtemperatur gerührt. Im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen enzymatischen Desaminierungen erhält man im diesem Fall auch durch Erhöhen der ADA-Menge auf 30 U keine klare Lösung. Anschließend wurde die Lösung mit 5 ml eiskaltem Methanol zum Ausfällen des Enzyms versetzt und bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen Membranfilter der Firma Sartorius (Minisart, 0.45 µ) filtriert. Nach dem Lyophilisieren und chromatographischer Aufreinigung konnte 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin (2'-F-*ribo*-ddI) **33** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 96.7 mg (0.38 mmol, 98 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.14 MHz, DMSO-d_6) 12.36 (s, br, 1H, NH); 8.31 (s, 1H, H2); 8.07 (s, 1H, H8); 6.21 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 17.9 Hz); 5.56 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.7, $^3J_{HF}$ = 4.2 Hz); 6.60 (dddd, 1H, H4', $^3J_{HH3'}$ = 10.4 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{HH5'}$ = 3.6 Hz, $^3J_{HH5'}$ = 3.4 Hz); 3.76 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 12.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.1 Hz); 3.57 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 12.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.9 Hz); 2.41 (dddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 43.0 Hz, $^2J_{HH3'}$ = 14.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 10.5 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 4.4 Hz); 2.24 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HF}$ = 21.0 Hz, $^2J_{HH3'}$ = 14.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.6 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 156.88 (C6); 147.42 (C4); 146.26 (C2); 137.70 (C8); 124.35 (C5); 96.98 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 177.6 Hz); 88.46 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 35.8 Hz); 81.52 (C4'); 61.26 (C5'); 31.54 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.4 Hz)

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.43 MHz, DMSO-d_6) -178.79

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.43 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H-gekoppelt) -178.76 (dddd, $^2J_{FH}$ = 51.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 18.3 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 42.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 21.4 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 255.0 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 250.0 nm, 224.1 nm, 197.0 nm; λ_{min} 220.9 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3421 2923, 1656, 1597, 1446, 1370, 1185, 1117, 1024, 818, 752, 698

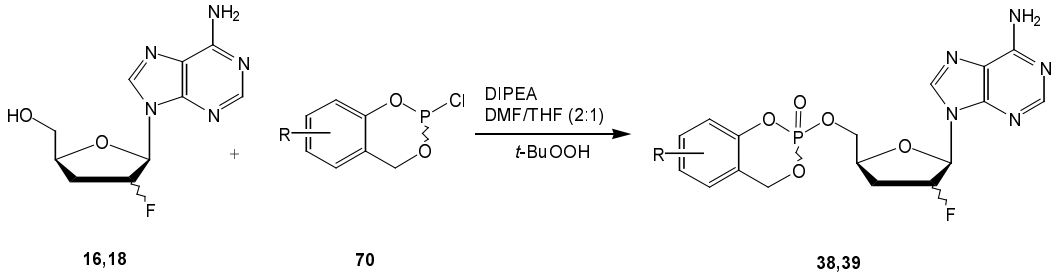
R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.19

analyt. HPLC: t_R: 9.49 min (97.4 %, Gradient I); 5.02 min (97.4 %, Gradient II); 11.65 min (97.5 %, Gradient III)

6.16 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38a-c,e-h und *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) 39a-c

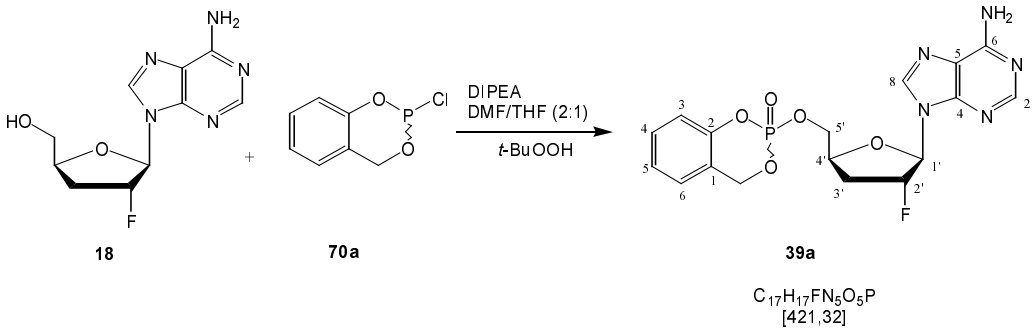
Die *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a-c,e-h** und *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphate (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a-c** wurden mittles Phosphor(III)-Chemie über die Synthesevariante A dargestellt. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

6.16.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38a-c,e-h und *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphaten (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) 39a-c mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. des Nucleosids **16** bzw. **18** in einem Gemisch aus Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1) gelöst, mit 2.5 Äquiv. Diisopropylethylamin versetzt und auf - 40 °C gekühlt. 1.5 Äquiv. des entsprechenden cyclischen Chlorphosphans wurden in 1 ml Acetonitril verdünnt und langsam zu der Lösung getropft. Die Reaktions wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert und eventuell cyclisches Saligenylchlorphosphan **70** erneut hinzugetropft. Es wurde auf vollständigen Umsatz des Nucleosides geachtet. Im Anschluß wurden 1.1 Äquiv. (bezogen auf die Menge an eingesetztem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70**) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan bei - 40 °C hinzugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde weitere 30 min gerührt bevor im Ölpumpenvakuum das Lösungsmittel abkondensiert wurde. Mam erhielt ein gelbes Öl, welches chromatographisch Aufgereinigt wurde. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem lyophilisieren erhielt man einen farblosen Feststoff.

6.16.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) 39a



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ribo*-ddA **18** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 63.3 mg (85.0 µl, 0.49 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 55.8 mg (0.30 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70a** umgesetzt. Da nach 1 h dünnschichtchromatographisch noch Edukt detektiert werden konnte, wurden weitere 40 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) des cyclischen Saligenylchlorphosphan **70a** hinzugetropft. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.55 mmol, 2.75 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 47.2 mg (0.11 mmol, 56 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.19 (s, 1H, H2); 8.17 (s, 1H, H2); 8.12 (s, 1H, H8); 8.11 (s, 1H, H8); 7.34 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.32 (s, 2H, NH_2); 7.31 (s, 2H, NH_2); 7.30 (t, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 7.21 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.20 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.5 Hz); 7.16 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 7.15 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.5 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.08 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 7.01 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.9 Hz); 6.26 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.9 Hz); 6.25 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.9 Hz); 5.74 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 52.6 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.8 Hz); 5.72 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.9 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.6 Hz); 5.44 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 18.4 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.42 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 18.4 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 8.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 13.8 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 8.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz); 4.58-4.54 (m, 2H, H4'); 4.45 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.40 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.9 Hz,

$^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.33 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.3 Hz); 4.29 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.1 Hz); 2.65-2.62 (m, 4H, H2'); 2.41-2.99 (m, 4H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6) 155.97 (C6); 155.55 (C2); 149.17, 147.11 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 148.54 (C4); 138.86 (C8); 129.52 (C4-aryl); 125.83 (C5-aryl); 124.22 (C6-aryl); 120.69 (C1-aryl); 118.95 (C5); 117.94, 117.89 (C3-aryl); 96.14 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 177.2 Hz); 88.66 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 36.4 Hz); 78.39, 78.33 (d, C4', $^3J_{CP}$ = 5.9 Hz); 68.30 (C5'); 68.15, 68.08 (CH_2-benzyl); 32.46 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.8 Hz)

^{31}P-NMR (162 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] -9.832; -9.845

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -178.08; -178.16

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -178.08 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 42.0 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 22.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.1 Hz); -178.16 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 42.0 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 22.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.1 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 422.4 (M+1); 443.9 (M+Na)

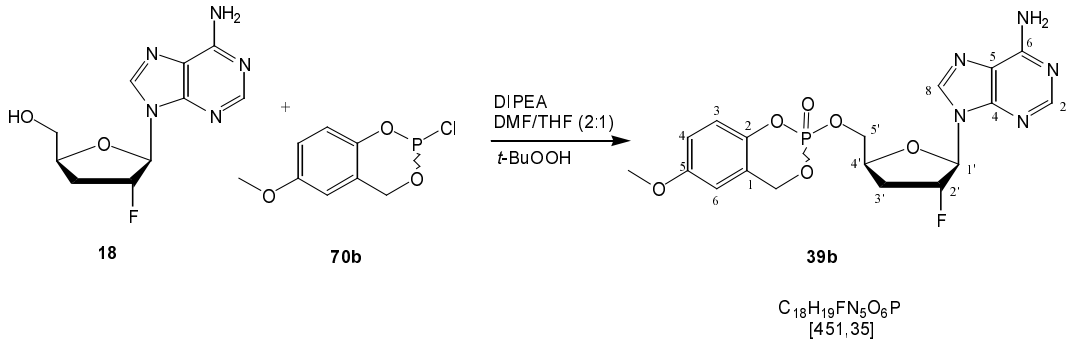
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 209.0 nm, 193.0 nm; λ_{min} 227.4 nm, 203.2 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3331, 3189, 1645, 1600, 1488, 1460, 1417, 1371, 1298, 1244, 1192, 1106, 1021, 949, 842, 798, 758, 720, 651, 581, 532

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.40

Anal. HPLC t_R 18.31 min (94.0 %, Gradient I); 16.45 min (94.0 %, Gradient II); 19.52 min (94.2 %, Gradient III)

6.16.3 Darstellung von *cyclo(*5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyl-adenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) 39b



Die Darstellung von *cyclo(*5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)-phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39b** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ribo*-ddA **18** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 64.6 mg (85 µl, 0.49 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 55.8 mg (0.30 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.40 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 53.5 mg (0.12 mmol, 59 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.19 (s, 1H, H2); 8.17 (s, 1H, H2); 8.13 (s, 1H; H8); 8.11 (s, 1H, H8); 7.32 (s, 2H, NH_2); 7.31 (s, 2H, NH_2); 7.01 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.95 Hz); 6.94 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.95 Hz); 6.88 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5); 6.83 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.4); 6.79 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.2 Hz); 6.78 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.2 Hz); 6.27 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.8 Hz); 6.25 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.8 Hz); 5.73 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.5 Hz); 5.72 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.5 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.6 Hz); 5.39 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 18.0 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.9 Hz); 5.31 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.6 Hz); 5.32 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.6 Hz); 4.57-4.53 (m, 2H, H4'); 4.42 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 4.37 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.8 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 4.31 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.2 Hz); 4.26 (ddd, 1H, H_A5',

$^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.2 Hz); 3.72 (s, 3H, OCH_3); 3.71 (s, 3H, OCH_3); 2.62-2.53 (m, 2H, H3'); 2.39-2.30 (m, 2H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6) 156.01 (C6); 155.46 (C5-aryl); 152.60 (C2); 148.59 (C4); 142.87 (C2-aryl); 138.89 (C8); 121.59, 121.50 (C1-aryl); 118.97, 118.87 (C3-aryl); 115.03, 114.94 (C6-aryl); 110.48 (C4-aryl); 96.19 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 178.1 Hz); 88.70 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 36.5 Hz); 78.41 (C4'); 68.35, 68.28 (d, C5', $^2J_{CP}$ = 7.6 Hz); 67.99 (CH_2-benzyl); 55.59, 55.50 (OCH_3); 32.90 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.9 Hz)

^{31}P-NMR: (162 MHz, DMSO-d_6) -9.63; -9.65

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -178.05; -178.19

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -178.05 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 40.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 22.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 20.4 Hz); -178.19 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 40.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 22.9 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 20.4 Hz)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereomer) 8.18 (s, 1H, H2); 8.12 (s, 1H; H8); 7.31 (s, 2H, NH_2); 7.00 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 6.87 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.1 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5); 6.77 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.8 Hz); 6.26 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.5 Hz); 5.72 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.5 Hz); 5.36 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.8 Hz); 5.29 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.6 Hz); 4.56-4.51 (m, 1H, H4'); 4.37 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 4.29 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.6 Hz); 3.71 (s, 3H, OCH_3); 2.56 (dddd, 1H, H_A3', $^3J_{HF}$ = 41.9 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 10.4 Hz; $^3J_{HH2'}$ = 4.4 Hz); 2.36 (ddd, 1H, H_B3', $^3J_{HF}$ = 21.2 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.4 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereomer) 156.47 (C6); 155.91 (C5-aryl); 153.08 (C2); 149.01 (C4); 143.33 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.1 Hz); 139.35 (C8); 121.96 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.16 Hz); 119.39 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 8.14 Hz); 119.41 (C5); 115.46 (C6-aryl); 110.88 (C4-aryl); 96.67 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 178.0 Hz); 89.15 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 36.6 Hz); 78.91 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 7.1); 68.73 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 5.1 Hz); 68.61 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 55.94 (OCH_3); 32.96 (d, C3‘; $^2J_{CF}$ = 20.3 Hz)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereomer) -8.50

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470.5 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereomer) -178.72

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470.5 MHz, DMSO-d_6, slow Diastereomer, ^{1}H gekoppelt) -178.72 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 51.9 Hz, $^3J_{FHA3'}$ = 40.2 Hz, $^3J_{FHB3'}$ = 21.4 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.8 Hz)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereomer) 8.16 (s, 1H, H2); 8.10 (s, 1H; H8); 7.30 (s, 2H, NH_2); 6.93 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 6.82 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5); 6.77 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 3.2 Hz); 6.24 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 20.2 Hz); 5.71 (dd, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.5 Hz); 5.38 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.6 Hz); 5.30 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.8 Hz); 4.57-4.52 (m, 1H, H4'); 4.42 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 4.26 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.7 Hz); 3.70 (s, 3H, OCH_3); 2.54 (dddd, 1H, H_A3', $^3J_{HF}$ = 41.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 10.7 Hz; $^3J_{HH2'}$ = 4.4 Hz); 2.32 (ddd, 1H, H_B3', $^3J_{HF}$ = 20.8 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.7 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereomer) 156.48 (C6); 155.88 (C5-aryl); 153.06 (C2); 149.01 (C4); 143.26 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.1 Hz); 139.35 (C8); 121.98 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 10.2 Hz); 119.39 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 3.1 Hz); 119.28 (C5); 115.38 (C6-aryl); 110.90 (C4-aryl); 96.69 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 177.0 Hz); 89.12 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 36.6 Hz); 78.85 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 7.11); 68.82 (d, C5‘, $^3J_{CP}$ = 7.1 Hz); 68.45 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 55.92 (OCH_3); 32.91 (d, C3‘; $^2J_{CF}$ = 21.4 Hz)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereomer) -8.52

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470.5 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereomer) -178.57

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470.5 MHz, DMSO-d_6, fast Diastereomer, ^{1}H gekoppelt) -178.57 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 51.9 Hz, $^3J_{FHA3'}$ = 41.2 Hz, $^3J_{FHB3'}$ = 21.4 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.8 Hz)

MS (ESI^+) m/z 452.2 (M^++1); 474.4 (M+Na)

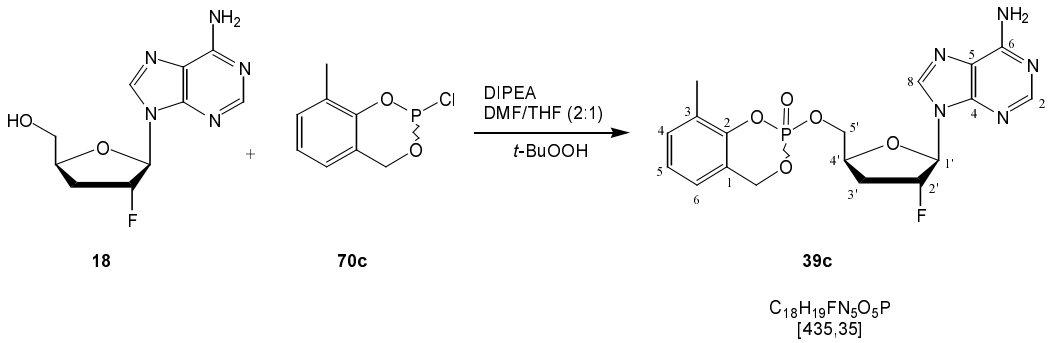
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 195.5 nm; λ_{min} 236.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3448 3190, 2938, 1647, 1600, 1498, 1477, 1433, 1364, 1329, 1297, 1241, 1199, 1104, 1025, 952, 916, 868, 820, 759, 726, 646, 528

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.40

analyt. HPLC: t_R 18.41 min, 18.51 min (96.0 %, Gradient I); 16.32 min, 16.48 min (96.1 %, Gradient II); 20.08 min, 20.23 min (96.0 %, Gradient III)

6.16.4 Darstellung von *cyclo(*3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyl-adenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) 39c



Die Darstellung von *cyclo(*3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosyladenyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ribo*-ddA **18** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 64.6 mg (85 µl, 0.49 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 55.8 mg (0.30 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.40 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 56.6 mg (0.13 mmol, 65 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 8.18 (s, 1H, H2); 8.17 (s, 1H, H2); 8.103 (s, 1H, H8); 8.100 (s, 1H, H8); 7.31 (s, 4H, NH_2); 7.20-7.17 (m, 2H, aryl H); 7.05-7.01 (m, 4H, aryl H); 6.26 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.8 Hz); 6.25 (d, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.9 Hz); 5.72 (dd, 1H, H2'; $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.0 Hz); 5.71 (dd, 1H, H2'; $^2J_{HF}$ = 51.7 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 4.0 Hz); 5.41 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.5 Hz); 5.39 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.4 Hz); 5.33 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.3 Hz); 5.32 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 8.2 Hz); 4.58-4.53 (m, 2H, H4'); 4.44 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.38 (ddd, 1H, H_B5', $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.6 Hz); 4.31 (ddd, 1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.5 Hz); 4.27 (ddd,

1H, H_A5', $^2J_{HH}$ = 11.8 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.3 Hz); 2.62-2.53 (m, 2H, H3'); 2.39-2.30 (m, 2H, H3'); 2.15 (s, 3H, CH_3); 2.11 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6) 156.02 (C6); 152.57 (C2); 148.59 (C4); 147.78, 147.72 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 138.91 (C8); 130.71 (C4-aryl); 126.76, 126.69 (C3-aryl); 123.78 (C5-aryl); 123.35 (C6-aryl); 120.79, 120.70 (C1-aryl); 119.01 (C5); 96.34 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 177.0 Hz); 88.72 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 38.1 Hz); 78.48, 78.44 (C4'); 68.31 (C5'); 68.22 (CH_2-benzyl); 32.64, 32.43 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.6 Hz) 14.72, 14.63 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.23; -9.24

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.43 MHz, DMSO-d_6) -178.06; -178.08

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -178.05 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 52.1 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 40.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 21.6 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 20.4 Hz); -178.16 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.1 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 40.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 21.6 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 20.4 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 435.9 (M+1); 457.9 (M+Na)

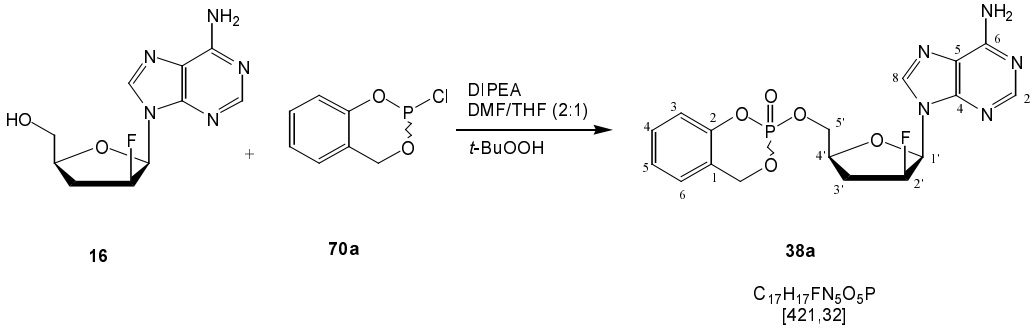
UV(CH_3CN): λ_{max} 259.0 nm, 209.5 nm, 195.9 nm, λ_{min} 229.1 nm, 206.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3331, 3186, 1646, 1598, 1473, 1418, 1369, 1330, 1296, 1190, 1091, 1015, 942, 822, 775, 649, 532

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.40

analyt. HPLC t_R: 18.89 min (96.1 %, Gradient I); 16.99 min (96.2 %, Gradient II); 20.63 min (96.1 %, Gradient III)

6.16.5 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)-phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38a



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1

durchgeführt. Es wurden 222 mg (0.88 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 6.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 3.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 284 mg (0.38 ml, 2.2 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.30 g (1.58 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70a** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.35 ml (1.76 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 197 mg (0.47 mmol, 53 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400.1 MHz, DMSO-d_6) 8.15 (s, 2H, H2); 8.13 (d, 1H, H8 $^5J_{HF}$ = 2.9 Hz); 8.11 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.9 Hz); 7.37-7.30 (m, 6H, NH_2, H4-aryl); 7.26 (t, 1H, H6-aryl); 7.24 (t, 1H, H6-aryl); 7.18 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.17 (dt, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 7.13 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 0.6 Hz); 7.07 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 6.36 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH2''}$ = 5.3 Hz, $^3J_{HF}$ = 19.4 Hz); 6.35 (dd, 1H, H1', $^3J_{HH2''}$ = 5.3 Hz, $^3J_{HF}$ = 19.1 Hz); 5.55-5.40 (m, 5H, H2', CH_2-benzyl); 4.45-4.27 (m, 5H, H4', H5', H5‘‘); 2.77-2.60 (m, 2H, H3''); 2.31-2.17 (m, 2H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (67.9 MHz, DMSO-d_6) 155.98 (C6); 152.80 (C2); 149.49 (C2-aryl); 149.10 (C4); 139.29 (d, C8, $^5J_{CF}$ = 4.5 Hz); 129.70 (C6-aryl); 126.00 (C4-aryl); 124.36 (C5-aryl); 121.00 (C1-aryl); 118.19 (C5); 118.07 (C3-aryl); 90.92 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 186.5 Hz); 84.16 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 15.8 Hz); 75.07 (d, C4', $^3J_{CF}$ = 6.5 Hz); 69.37 (C5'); 68.51 (CH_2-benzyl); 32.56 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 19.9 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.55, -9.66

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -187.08; -187.21

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -187.11 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.6 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.5 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 46.4 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.1 Hz); -187.21 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 54.1 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 46.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.9 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 422.0 (M+1)

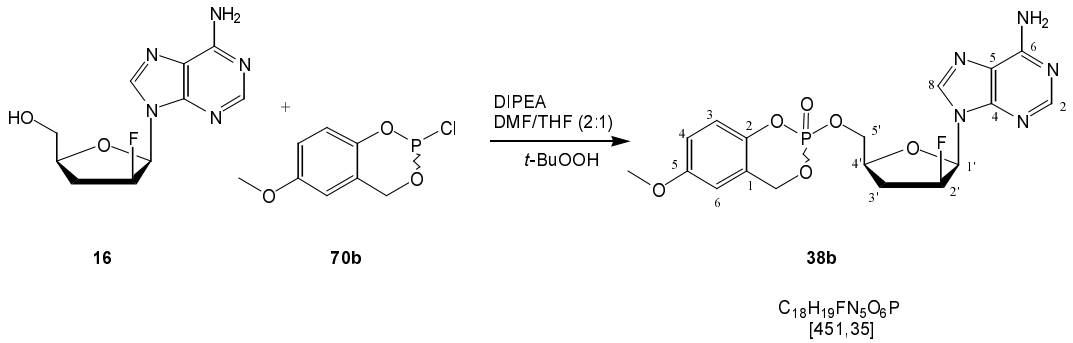
UV(CH_3CN): λ_{max} 257.4 nm, 209.0 nm, 193.0 nm; λ_{min} 226.2 nm, 202.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3330, 3184, 1648, 1599, 1489, 1296, 1247, 1192, 1052, 947, 759, 651, 579

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.42

analyt. HPLC t_R: 18.03 min (95.0 %, Gradient I); 16.13 min (95.1 %, Gradient II); 20.24 min (95.0 %, Gradient III)

6.16.6 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38b



Die Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38b** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.40 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 4.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 2.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 103 mg (0.14 ml, 0.79 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.17 g (0.79 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70b** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.16 ml (0.80 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 108.3 mg (0.24 mmol, 60 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.14 (s, 2H, H2); 8.12 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.6 Hz); 8.10 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.6 Hz); 7.30 (s, 4H, NH_2); 7.05 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.1 Hz); 6.98 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 6.89 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.4 Hz); 6.84 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.4 Hz); 6.83 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.9 Hz); 6.82 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.9 Hz); 6.35 (dd, 1H, H1'; $^3J_{HF}$ = 19.4 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 6.3 Hz); 6.34 (dd, 1H, H1'; $^3J_{HF}$ = 19.1 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz); 5.44 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.40 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^3J_{HP}$ = 17.4 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 10.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^3J_{HP}$ = 10.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.40-5.28 (m, 2H,

H2'); 4.43-4.24 (m, 6H, H4', H5', H5''); 3.70 (s, 3H, OCH_3); 3.69 (s, 3H, OCH_3); 2.76-2.58 (m, 2H, H3'); 2.32-2.15 (m, 2H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 156.00 (C6); 155.59 (C5-aryl); 152.83 (C2); 149.13 (C4); 143.12 (C2-aryl); 139.33 (d, C8, $^5J_{CF}$ = 4.7 Hz); 121.77 (C1-aryl); 119.14 (C3-aryl); 118.12 (C5); 116.14 (C6-aryl); 110.61 (C4-aryl); 90.96 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 187.4 Hz); 84.15 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 15.8 Hz); 75.08 (d, C4', $^3J_{CF}$ = 6.5 Hz); 69.25 (C5'); 68.47 (CH_2-benzyl); 55.57 (OCH_3); 32.59 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 19.7 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -9.38; -9.48

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -187.07; -187.19

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -187.09 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 52.7 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.9 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.6 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 46.3 Hz); -187.19 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 54.1 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 19.0 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 47.0 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 27.1 Hz)

MS (ESI$^+$) m/z 452.4 (M+1)

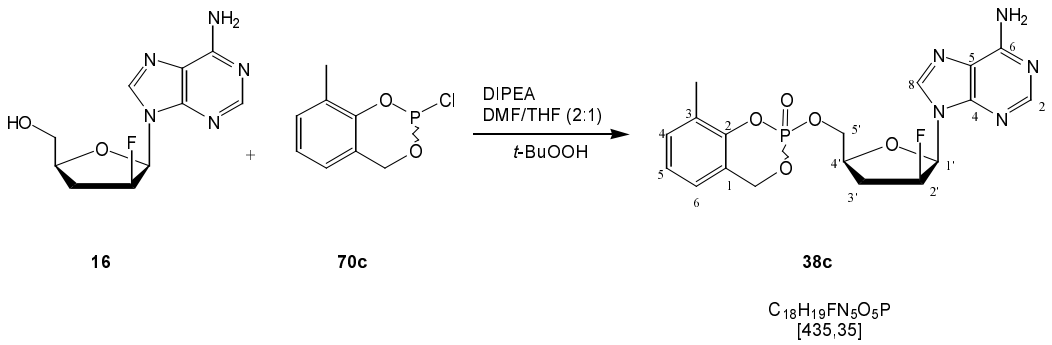
UV(CH_3CN): λ_{max} 257.1 nm, 195.9 nm; λ_{min} 235.6 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3393, 1621, 1551, 1456, 1396, 1328, 1182, 970, 849, 744

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.42

analyt. HPLC: t_R: 18.44 min (99.0 %, Gradient I); 16.21 min (99.0 %, Gradient II); 20.16 min (99.0 %, Gradient III)

6.16.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38c



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)-phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38c** wurde nach der allgemeinen Methode in

Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 600 mg (2.37 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 18.0 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 9.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 766 mg (1.02 ml, 5.93 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 0.85 g (4.20 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.95 ml (4.74 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 598 mg (1.37 mmol, 58 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.14 (s, 2H, H2); 8.11 (d, 1H, H8, $^{5}J_{HF}$ = 2.6 Hz); 8.10 (d, 1H, H8, $^{5}J_{HF}$ = 2.6 Hz); 7.31 (s, 4H, NH_2); 7.24-7.20 (m, 2H, H5-aryl); 7.08-7.03 (m, 4H, H4-aryl, H6-aryl); 6.35 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH2'}$ = 3.2 Hz, $^{3}J_{HF}$ = 19.1 Hz); 6.34 (dd, 1H, H1', $^{3}J_{HH2'}$ = 3.2 Hz, $^{3}J_{HF}$ = 18.8 Hz); 5.46 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 17.0 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.44 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 17.2 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.40 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 10.5 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.4 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{3}J_{HP}$ = 10.4 Hz, $^{2}J_{HH}$ = 14.6 Hz); 5.44-5.36 (m, 2H, H2'); 4.42-4.27 (m, 6H, H4', H5', H5''); 2.77-2.60 (m, 2H, H3'); 2.31-2.19 (m, 2H, H3'); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.12 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.98 (C6); 152.80 (C2); 149.11 (C4); 147.8 (C2-aryl); 139.38 (d, C8, $^{5}J_{CF}$ = 4.7 Hz); 130.84 (C4-aryl); 126.94 (C3-aryl); 123.91 (C5-aryl); 123.51 (C6-aryl); 120.96 (C1-aryl); 118.12 (C5); 90.96 (d, C2', $^{1}J_{CF}$ = 186.0 Hz); 84.17 (d, C1', $^{2}J_{CF}$ = 15.9 Hz); 75.07 (C4'); 69.79 (C5'); 68.44 (CH_2-benzyl); 32.52 (d, C3', $^{2}J_{CF}$ = 19.9 Hz) 14.90 (CH_3)

^{31}P-NMR δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -8.92; -8.96

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -187.08; -187.28

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -187.18 (dddd, $^{2}J_{FH2'}$ = 54.5 Hz, $^{3}J_{FH1'}$ = 19.2 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 47.8 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 26.5 Hz); -187.27 (dddd, $^{2}J_{FH2'}$ = 53.2 Hz, $^{3}J_{FH1'}$ = 19.3 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 45.5 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 27.1 Hz)

MS (ESI^+) m/z 436.1(M+1)

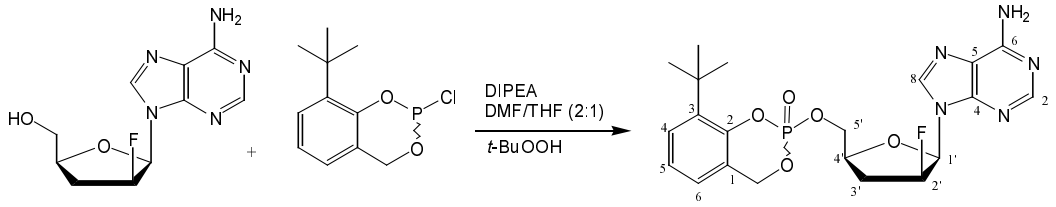
UV(CH_3CN): λ_{max} 257.7 nm, 209.8 nm, 195.0 nm; λ_{min} 228.1 nm, 205.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3331, 3213, 2954, 1644, 1602, 1474, 1292, 1191, 1089, 943, 819, 651

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.42

analyt. HPLC: t_R: 18.59 min (96.8 %, Gradient I); 16.89 min (96.8 %, Gradient II); 21.72 min (96.8 %, Gradient III)

6.16.8 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38e



16 **70e** **38e**

$C_{21}H_{25}FN_5O_5P$
[477,43]

Die Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38e** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 70 mg (0.28 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 90.5 mg (120 µl, 0.69 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 122 mg (0.50 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70e** umgesetzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 81.2 mg (0.17 mmol, 60 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.15 (s, 1H, H2); 8.14 (s, 1H, H8); 8.31 (d, 1H, H2, $^5J_{HF}$ = 2.8 Hz); 8.12 (d, 1H, H2, $^5J_{HF}$ = 2.8 Hz); 7.33-7.30 (m, 6H, NH_2, H4-aryl); 7.18-7.09 (m, 4H, H6-aryl, H5-aryl); 6.39-6-32 (m, 2H, H1‘); 5.45-5.30 (m, 6H, benzyl. H, H2‘); 4.46-4.31 (m, 6H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.77-2.63 (m, 2H, H3‘); 2.31-2.21 (m, 2H, H3‘); 1.35, 1.27 (2×s, 18H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6) 156.18 (C6); 152.99 (C2); 149.31, 149.28 (C4); 148.88, 148.81 (C2-aryl); 139.54, 139.48 (C8); 138.58, 138.51 (C3-aryl); 127.29 (C4-aryl); 124.57 (C6-aryl); 124.24, 124.18 (C5-aryl); 122.86,

122.77 (C1-aryl); 118.26 (C5); 91.17, 91.14 (d, C2‘, $^2J_{CF}$ =); 84.36, 84.20 (d, C1‘); 75.29, 75.24 (d, C4‘); 69.80, 69.76 (d, C5‘); 68.45, 68.38 (d, CH_2-benzyl); 34.54, 34.46 (quart. C); 32.82, 32.61 (C3‘); 29.73, 29.64 (*tert*-Bu)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 7.34, - 7.62

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 8.46,- 8.74

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470 MHz, DMSO-d_6) -187.57, -187.78

^{19}F-NMR: δ [ppm] (470 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H-gekoppelt) -187.61 (ddddd, $^2J_{FH2‘}$ = 54.0 Hz, $^3J_{FH3‘}$ = 34.5 Hz, $^3J_{FH3‘}$ = 26.2 Hz, $^3J_{FH1‘}$ = 19.4 Hz, $^5J_{FH2}$ = 2.8 Hz); -187.82 (ddddd, $^2J_{FH2‘}$ = 54.0 Hz, $^3J_{FH3‘}$ = 34.5 Hz, $^3J_{FH3‘}$ = 26.2 Hz, $^3J_{FH1‘}$ = 19.4 Hz, $^5J_{FH2}$ = 2.8 Hz)

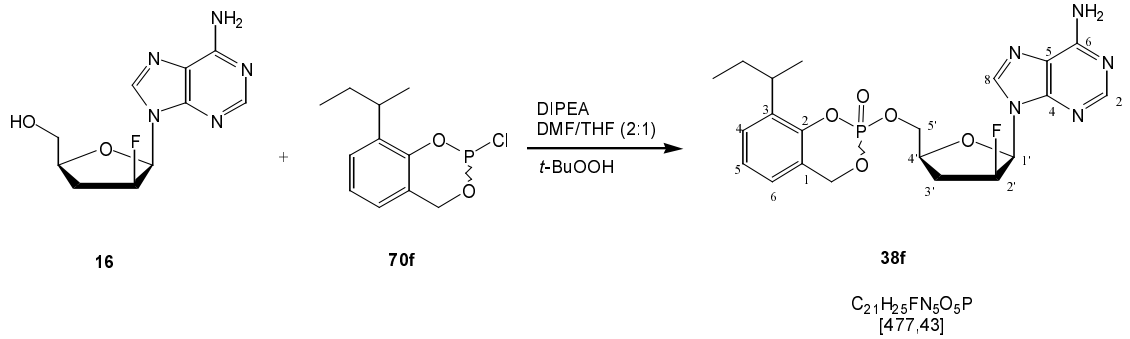
MS (MALDI): m/z 478.4 ($M+H^+$), 500.3 ($M+Na^+$), 516.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 256.5 nm, 196.2 nm; λ_{min} 230.3 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3449, 2956, 1648, 1603, 1478, 1440, 1300, 1218, 1180, 1095, 1056, 1028, 946, 809, 669

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.33

6.16.9 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38f



Die Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38f** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.28 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 90.5 mg (120 µl, 0.69 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 122 mg (0.50 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70f** umge-

setzt. Das intermediär gebildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 70 mg (0.15 mmol, 54 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.15 (s, 1H, H2); 8.14 (s, 1H, H2); 8.13-8.10 (m, 4H, H8); 7.31 (s, br, 8H, NH_2); 7.27-7.22 (m, 4H, H4-aryl); 7.15-7.07 (m, 8H, H6-aryl, H5-aryl); 6.37 (dd, 2H, H1‘, $^{3}J_{HH}$ = 3.2 Hz, $^{3}J_{HF}$ = 19.6 Hz); 5.50-5.30 (m, 12 H, benzyl. H, H2‘); 4.45-4.28 (m, 12H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 3.01-2.82 (m, 4H, H3‘); 2.73 (ddd, 2H, H3‘, $^{2}J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 5.7 Hz); 2.66 (ddd, 2H, H3‘, $^{2}J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 5.7 Hz); 2.30-2.19 (m, 4H, CH); 1.59-1.37 (m, 8H, CH_2); 1.16 (d, 1H, CH-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 6.9 Hz); 1.13 (d, 1H, CH-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 6.9 Hz); 1.05 (d, 1H, CH-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 6.9 Hz); 1.03 (d, 1H, CH-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 6.3 Hz); 0.77 (t, 1H, CH_2-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 0.74 (t, 1H, CH_2-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 0.66 (t, 1H, CH_2-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz); 0.65 (t, 1H, CH_2-CH_3, $^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.16 (C6); 152.97 (C2); 149.31, 149.27 (C4); 147.51, 147.48 (d, C2-aryl, $^{2}J_{CP}$ = 8.5 Hz); 139.55, 139.52, 139.47, 139.42 (C8); 136.11, 136.09, 136.06, 136.01 (C3-aryl); 127.49, 127.43 (C4-aryl); 124.42, 124.36 (C6-aryl); 123.69, 123.65, 123.62 (C5-aryl); 121.54, 121.52, 121.50 121.45, 121.43 (C1-aryl); 118.28, 118.26 (C5); 91.92, 91.10 (d, C2‘, $^{1}J_{CF}$ = 186.5 Hz); 84.43, 84.30, 84.20 (d, C1‘, $^{2}J_{CF}$ = 15.7 Hz); 75.30, 75.24, 75.20, 75.18 (C4‘) 69.61, 69.58 (C5‘); 68.59, 68.57, 68.53, 68.49 (CH_2-benzyl); 33.28, 33.19, 33.11, 32.92 (CH); 32.82, 32.80, 32.66, 32.63 (C3‘); 29.25, 29.21, 29.13, 28.98 (CH_2); 20.57, 20.51, 20.39, 20.33 (CH-CH_3); 12.03, 11.92, 11.87 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -7.22, -7.26, -7.46, -7.48

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 8.34,- 8.38,- 8.58,- 8.60

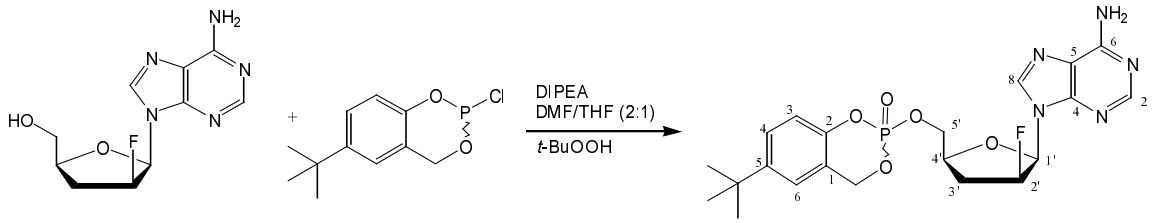
MS (MALDI): m/z 478.4 ($M+H^+$), 500.3 ($M+Na^+$), 516.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 256.5 nm, 199.0 nm; λ_{min} 229.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3420, 2962, 1645, 1603, 1464, 1424, 1372, 1337, 1298, 1254, 1184, 1095, 1056, 1023, 946, 902, 816, 681, 668, 650, 595, 534, 495, 482

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.34

6.16.10 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38g



$C_{21}H_{25}FN_5O_5P$
[477,43]

Die Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38g** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.28 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 2.0 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 72.4 mg (95.8 µl, 0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 137 mg (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70g** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 25.6 mg (0.053 mmol, 19 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.18 (s, 1H, H2); 8.17 (s, 1H, H2); 8.16 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.5 Hz); 8.15 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.5 Hz); 7.31 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz); 7.34 (s, 4H, NH_2); 7.30 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz); 7.26 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 7.25 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz); 7.04 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz); 6.96 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.6 Hz); 6.36 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 19.3 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.3 Hz); 6.39 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 19.1 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.3 Hz); 5.53-5.39 (m, 5H, benzyl. H, H2‘); 5.30-5.29 (m, 1H, H2‘); 4.44-4.26 (m, 6H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.77-2.60 (m, 2H, H3‘); 2.32-2.19 (m, 2H, H3‘); 1.23 (s, 3H, *tert*-Bu); 1.22 (s, 3H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.18 (C6); 152.98 (C2); 149.29 (C4); 147.42, 147.38 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 147.09, 147.04 (C5-aryl); 139.53 (C8); 126.72, 126.66 (C4-aryl); 122.86, 122.84 (C6-aryl); 120.35, 120.27 (C1-aryl); 118.28, 118.26 (C5); 117.80, 117.73 (C3-aryl); 91.12 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 186.5 Hz); 84.27, 84.24 (C1‘); 75.31, 75.26, 75.20, 75.15 (C4‘);

69.61, 69.48 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 4.8 Hz); 68.97, 68.87 (d, CH_2-benzyl, $^3J_{CP}$ = 7.3 Hz); 34.35 (quart. C); 32.76 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 20.6 Hz); 31.20 (*tert*-Bu)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 8.18, - 8.29

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 9.30,- 9.41

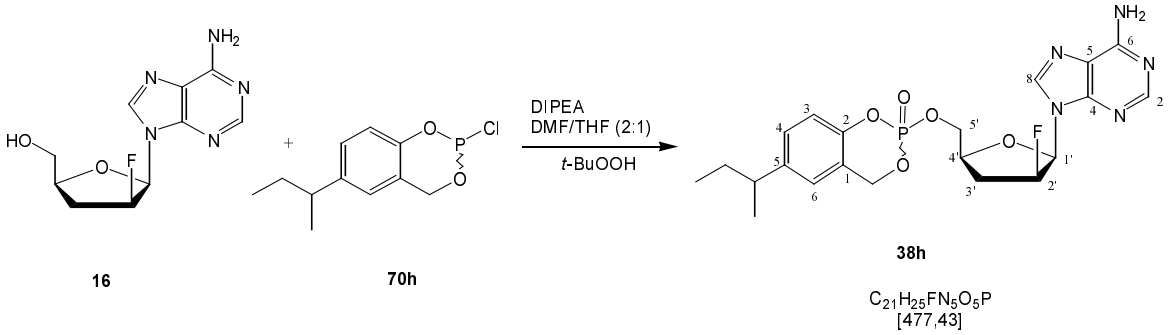
MS (MALDI): m/z 478.4 ($M+H^+$), 500.2 ($M+Na^+$), 416.1 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 255.5 nm, 195.0 nm; λ_{min} 233.6 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3430, 2965, 1649, 1603, 1501, 1424, 1369, 1301, 1126, 1035, 950, 903, 825, 727, 651, 553, 417

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.16.11 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) 38h



Die Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosyladenyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38h** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 70.0 mg (0.28 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddA **16** in 2.0 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.0 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 90.5 mg (120 µl, 0.69 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 122 mg (0.50 mmol, 1.8 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70h** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.11 ml (0.56 mmol, 2.0 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 50 mg (0.10 mmol, 37 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 8.17 (s, 1H, H2); 8.16 (s, 1H, H2); 8.15-8.14 (m, 2H, H8); 7.32 (s, 8H, NH_2); 7.16 (d, 2H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 7.12 (d, 2H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 7.07-7.06 (m, 4H, H6-aryl); 7.03 (d, 2H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 6.97 (d, 2H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.2 Hz); 6.36 (dd,

2H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 19.6 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.2 Hz); 6.34 (dd, 2H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 19.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.2 Hz);5.50-5.39 (m, 6H, benzyl. H, H2‘); 5.31-5.30 (m, 2H, H2‘); 4.44-4.27 (m, 12H, H4‘, H5‘, H5‘‘); 2.75-2.61 (m, 4H, H3‘); 2.56-2.50 (m, 4H, H3‘); 2.30-2.17 (m, 4H, CH); 1.53-1.43 (m, 8H, CH_2); 1.13 (d, 6H, $^3J_{HH}$ = 2.5 Hz); 1.12 (d, 6H, $^3J_{HH}$ = 2.5 Hz); 0.73-0.69 (m, 12H, CH_2-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 156.38 (C6); 153.18 (C2); 149.47 (C4); 147.93, 147.89, 147.86, 147.82 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.1 Hz); 143.73, 143.69 (C5-aryl); 139.74, 139.69 (C8); 128.52, 128.46, 128.39 (C4-aryl); 124.54, 124.51, 124.47 (C6-aryl); 120.97, 120.87 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.8 Hz); 118.47, 118.45 (C5); 118.26, 118.24 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.2); 91.31 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 186.2 Hz); 84.51, 84.35 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 15 Hz); 74.50, 75.44, 75.38, 75.32 (C4‘); 69.83, 69.78, 69.67, 69.61 (C5‘); 69.05, 68.99, 68.94, 68.87 (CH_2-benzyl); 33.06, 32.84 (C3‘); 30.82, 30.78 (CH_2); 22.01, 21.96 (CH-CH_3); 12.33 (CH_2-CH_3)

^{31}P-NMR (HH): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -8.20, -8.31

^{31}P-NMR (Wü): δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) - 9.32,- 9.43

MS (MALDI): m/z 478.38 ($M+H^+$), 500.3 ($M+Na^+$), 516.2 ($M+K^+$)

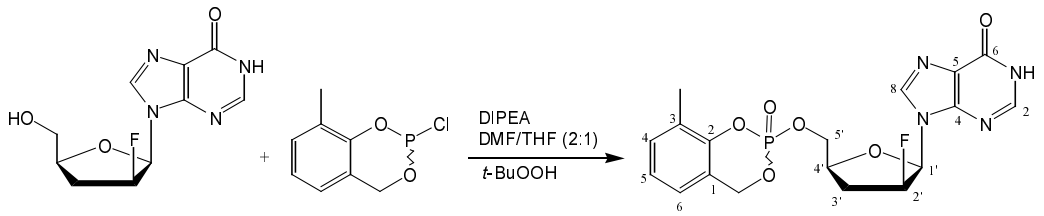
UV(CH_3CN): λ_{max} 256.1 nm, 198.3 nm; λ_{min} 231.1 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3446, 2926, 1651, 1603, 1498, 1301, 1208, 1168, 1033, 949, 908, 819, 723, 649, 593, 499, 442, 415

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.35

6.17 Synthese der 2'-Fluor-*cyclo*Saligenyl-Phosphattriester mit der Base Hypoxanthin

6.17.1 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosylinosyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP) 40c



32 **70c** **40c**

$C_{18}H_{18}FN_4O_6P$
[436,33]

Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluorarabinosylinosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP) **40c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ara*-ddI **32** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 64.6 mg (85 µl, 0.49 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 55.8 mg (0.30 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.4 mmol, 2.00 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 56.7 mg (0.13 mmol, 67 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.44 (s, 2H, NH); 8.09 (s, 1H, H2); 8.08 (s, 1H, H2); 8.06 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.7 Hz); 8.05 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.7 Hz); 7.25-7.22 (m, 2H, H5-aryl); 7.10-7.06 (m, 4H, H4-aryl, H6-aryl); 6.37 (dd, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 19.0 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 3.3 Hz); 6.38 (dd, 1H, H1, $^3J_{HF}$ = 19.0 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 3.3 Hz); 5.49 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.5 Hz); 5.44 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.8 Hz); 5.41 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.9 Hz); 5.40 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.0 Hz); 5.43 (m, 1H, H2'); 5.32 (m, 1H, H2'); 4.43-4.31 (m, 6H, H4', H5'); 3.34 (s, 3H, CH_3); 3.31 (s, 3H, CH_3); 2.74-2.66 (m, 2H, H3'); 2.27-2.19 (m, 2H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 155.47 (C6); 147.93 (C2-aryl); 147.88, 147.85 (C4); 146.22 (C2); 138.80, 138.76 (d, C8, $^5J_{CF}$ = 5.1 Hz); 130.87,

130.85 (C4-aryl); 126.90, 126.85 (C3-aryl); 123.95 (C5-aryl); 123.59 (C5), 123.55, 123.53 (C6-aryl); 120.90 (C1-aryl); 90.93 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 187.0 Hz); 84.39, 84.28 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 16.1 Hz); 75.38, 75.31 (d, C4', $^3J_{CF}$ = 6.3 Hz); 69.28, 69.24 (C5'); 68.44, 68.39 (CH_2-benzyl); 32.50 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 19.9 Hz); 14.93, 14.77 (CH_3-C3-aryl)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -8.93; -8.96

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -187.41; -187.51

MS (ESI$^+$) m/z 437.4 (M+1)

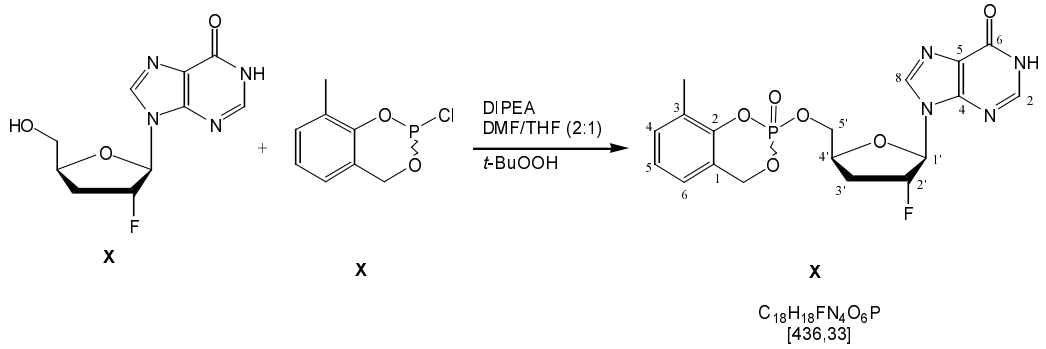
UV(CH_3CN): λ_{max} 249.0 nm, 243.2 nm, 197.0 nm; λ_{min} 246.8 nm, 225.3 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3466, 3120, 2956, 2904, 1702, 1587, 1548, 1512, 1472, 1377, 1293, 1191, 1124, 1025, 942, 817, 650, 602, 528

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.33

analyt. HPLC: t_R: 17.88 min (99.3 %, Gradient I); 16.44 min (99.3 %, Gradient II); 19.87 min (99.3 %, Gradient III)

6.17.2 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosylinosyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP) 41c



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-O-(2',3'-didesoxy-2'-fluorribosylinosinyl)-phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP) **41c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.16.1 durchgeführt. Es wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-F-*ribo*-ddI **33** in 2.00 ml wasserfreiem Dimethylformamid und 1.00 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst und mit 64.6 mg (85 µl, 0.49 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin und 55.8 mg (0.30 mmol, 1.5 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.08 ml (0.4 mmol, 2.00 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 52.4 mg (0.12 mmol, 58 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6) 12.37 (s, 2H, NH); 8.10 (s, 1H, H2); 8.09 (s, 1H, H2); 8.01 (d, 1H, H8, $^{5}J_{HF}$ = 1.6 Hz); 8.00 (d, 1H, H8, $^{5}J_{HF}$ = 1.6 Hz); 7.20-7.18 (m, 2H, H5-aryl); 7.05 (dd, 2H, H6-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 7.7 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.1 Hz); 7.02 (dd, 2H, H6-aryl, $^{3}J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.8 Hz); 6.24 (d, 1H, H1', $^{3}J_{HF}$ = 19.4 Hz); 6.23 (d, 1H, H1', $^{3}J_{HF}$ = 19.6 Hz); 5.67 (dd, 2H, H2', $^{2}J_{HH}$ = 51.8 Hz, $^{3}J_{HH3'}$ = 4.3 Hz); 5.43 (dd, 2H, H_A-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 17.6 Hz); 5.35 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 13.8 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 9.9 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^{2}J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 10.4 Hz); 4.58-4.53 (m, 2H, H4'); 4.44 (ddd, 1H, H_B5', $^{2}J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 7.0 Hz, $^{3}J_{HH4'}$ = 2.8 Hz); 4.39 (ddd, 1H, H_B5', $^{2}J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 6.4 Hz, $^{3}J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.31 (ddd, 1H, H_A5', $^{2}J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 7.3 Hz, $^{3}J_{HH4'}$ = 6.1 Hz); 4.27 (ddd, 1H, H_A5', $^{2}J_{HH}$ = 11.7 Hz, $^{3}J_{HP}$ = 7.5 Hz, $^{3}J_{HH4'}$ = 6.2 Hz); 2.47-2.30 (m, 4H, H3')

^{13}C-NMR: δ [ppm] (150.9 MHz, DMSO-d_6) 156.39, 156.37 (C6); 147.79 (C2-aryl); 147.37 (C4); 145.88 (C2); 138.06, 138.01 (C8); 130.72 (C4-aryl); 126.87 (C3-aryl); 124.48 (C5); 123.80 (C5-aryl); 123.36, 123.35 (C6-aryl); 120.90 (C1-aryl); 96.36 (d, C2', $^{1}J_{CF}$ = 177.6 Hz); 88.73 (d, C1', $^{2}J_{CF}$ = 32.0 Hz); 78.70, 78.66 (d, C4', $^{3}J_{CF}$ = 6.3 Hz); 68.31 (C5'); 68.26 (CH_2-benzyl); 32.29, 32.15 (d, C3', $^{2}J_{CF}$ = 20.8 Hz) 14.74, 14.68 (CH_3)

^{31}P-NMR (162 MHz, DMSO-d_6) -9.16; -9.20

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6) -178.03; -178.16

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -178.04 (dddd, $^{2}J_{FH2'}$ = 52.0 Hz, $^{3}J_{FH1'}$ = 22.2 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 40.9 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 20.1 Hz); -187. (dddd, $^{2}J_{FH2'}$ = 50.6 Hz, $^{3}J_{FH1'}$ = 22.2 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 40.9 Hz, $^{3}J_{FH3'}$ = 20.0 Hz)

MS (ESI^{+}) m/z 437.4 (M+1)

UV(CH_3CN): λ_{max} 250.6 nm, 249.2 nm; λ_{min} 249.2 nm, 226.5 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3418, 1692, 1584, 1446, 1290, 1190, 1090, 1024, 949, 814, 643

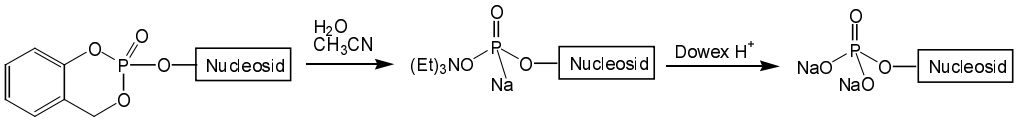
R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.39

analyt. HPLC: t_R: 18.04 min (97.4 %, Gradient I); 15.39 min (97.4 %, Gradient II); 19.37 min (97.5 %, Gradient III)

6.18 Synthese der 2'-Fluor-5'-Nucleosidmonophosphate (Dinatriumsalze)

Die 5'-Monophosphate der Nucleoside 2'-F-*ara*-ddA **16**, 2'-F-*ribo*-ddA **18**, 2'-F-*ara*-ddI **32** und 2'-F-*ribo*-ddI **33** konnten durch baseninduzierte Hydrolyse aus den zuvor synthetisierten *cyclo*Sal-Verbindungen erhalten werden. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

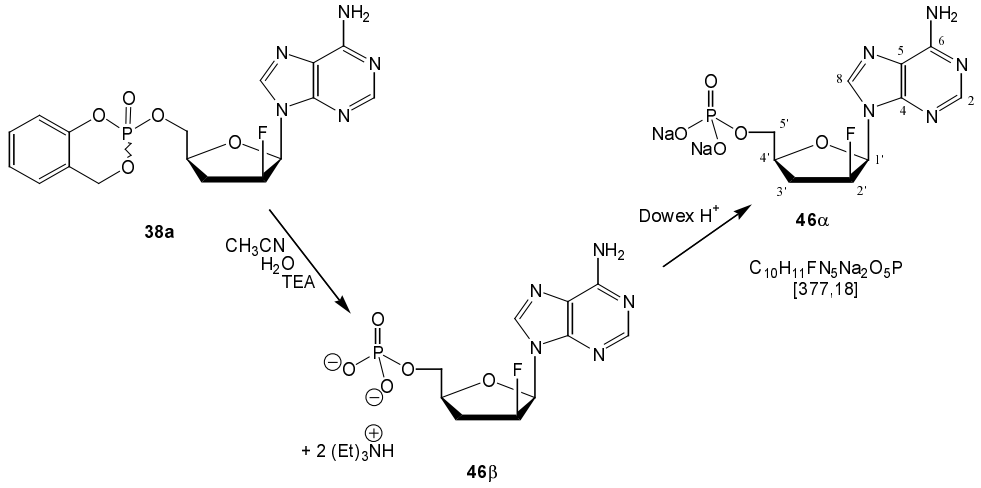
6.18.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von 2'-Fluor-5'-Nucleosidmonophosphaten aus *cyclo*Sal-2'-Fluor-Phosphattriestern



38a, 39a, 40a, 41a **46β, 47β, 48β,49β** **46α, 47α, 48α, 49α**

Zu einer Lösung des *cyclo*Sal-Phosphattriesters in einem Acetonitril/Wasser-Gemisch wurden einige Tropfen Triethylamin hinzugegeben. Der pH-Wert der Lösung lag bei 10. Die Reaktionsmischung wird solange bei Raumtemperatur gerührt, bis keinerlei Edukt mehr detektiert werden kann. Während der Reaktion ist auf einen konstant basischen pH-Wert zu achten. Die Reaktionslösung wird lyophilisiert, in wenig Wasser gelöst und säulenchromatographisch (RP-18, 5µm) mit einem Wasser/Acetonitril-Gradienten von 0-5 % aufgereinigt. Die Produktfraktionen, welche das Bis(triethylammoniumsalz) der 5'-Nucleosidmonophosphate enthielten, wurden vereinigt und lyophilisiert. Man erhielt farblose, wattige Feststoffe. Um die Dinatriumsalze zu erhalten wurde das Bis(triethylammoniumsalz) in wenig Wasser gelöst und mit Hilfe einer kleinen, mit Natriumionen beladenen Dowex Säule, die Triethylammonium-Kationen gegen Natriumionen ausgetauscht. Die vereinigten Produktfraktionen wurden wiederum lyophilisiert. Man erhielt farblose, wattige Feststoffe bzw. farblose, glasige Feststoffe in einer Ausbeute von 21-46 %

6.18.1.1 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddAMP+2Na$^+$) 46α



Zu einer Lösung von 71 mg (0.17 mmol, 1.0 Äquiv.) *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddAMP) **38a** in 6.0 ml Acetonitril und 12 ml Wasser wurden vier Tropfen Triethylamin hinzupipettiert und bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung verfärbte sich braun und es fiel ein bräunlich gelber Feststoff aus. Nach einer Reaktionszeit von vier Tagen konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden. Nach dem Lyophilisieren wurde chromatographisch mit einer RP-18-Säule aufgereinigt, wiederum lyophilisiert. Im Anschluß daran wurde mit Hilfe einer Dowex-Ionentauschersäule das 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddAMP+2Na$^+$) **46**α als farbloser, glasiger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 24.5 mg (0.065 mmol, 38 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D_2O) 8.37 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.2 Hz); 8.12 (s, 1H, H2); 6.29 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 17.8 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 3.2 Hz); 5.41 (dddd, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 53.4 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.6 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 5.6 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 2.8 Hz); 4.51 (m, 1H, H4‘), 4.02 (m, 2H, H5‘, H5‘‘); 2.70 (dddd, 1H, H3‘, $^3J_{HF}$ = 33.7 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 8.4 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 5.5 Hz); 2.36 (dddd, 1H, H3‘‘, $^3J_{HF}$ = 26.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 15.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.3 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 2.5 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, D_2O) 158.31 (C6); 155.53 (C2); 151.42 (C4); 144.21 (d, C8, $^5J_{CF}$ = 6.6 Hz); 120.87 (C5); 94.19 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 187.2 Hz); 87.61 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 16.3 Hz); 79.96 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 8.1 Hz); 69.37 (d, C5‘, $^4J_{CP}$ = 4.6 Hz); 35.33 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 20.4 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (202.5 MHz, D_2O) 2.36

MS (ESI^+) m/z 334.11 ($M-2Na^+$+3); 356.10 ($M-Na^+$+2)

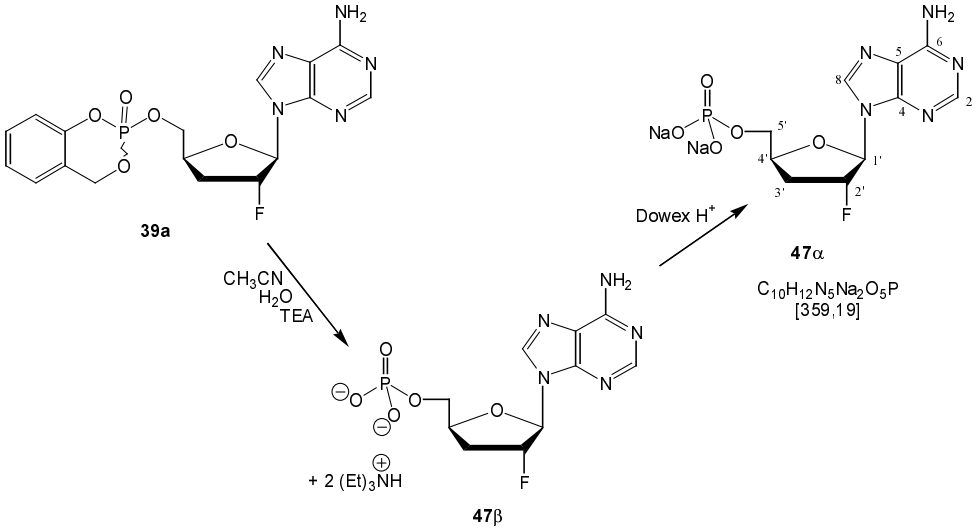
UV(H_2O): λ_{max} 257.2 nm; λ_{min} 234.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3435, 2927, 1651, 1487, 1426, 1337, 1305, 1251, 1093, 923, 812, 726, 536

R_f-Wert: (*i*-PrOH/H_2O/25%ige NH_3 14:7:1 v/v) 0.39

analyt. HPLC: t_R: 17.99 min (95.9 %, Gradient IV)

6.18.1.2 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddAMP+2Na^+) 47α



Zu einer Lösung von 44 mg (0.104 mmol, 1.0 Äquiv.) *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddAMP) **39a** in 4.00 ml Acetonitril und 5.00 ml Wasser wurden drei Tropfen Triethylamin hinzupipettiert und bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von drei Tagen konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden. Die Lösung verfärbte sich braun und es fiel ein gelber Feststoff aus. Nach dem Lyophilisieren wurde chromatographisch mit einer RP-18-Säule aufgereinigt, wiederum lyophilisiert. Im Anschluß daran wurde mit Hilfe einer Dowex-Ionentauschersäule das 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyadenosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddAMP+2Na^+) **47**α als farbloser, wattiger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 18 mg (0.048 mmol, 46 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D_2O) 8.36 (s, 1H, H8); 8.15 (s, 1H, H2); 6.32 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 16.4 Hz); 5.50 (dd, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 52.5 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 2.5 Hz); 4.22 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 12.0 Hz, $^3J_{HP}$ = 4.5 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.4 Hz); 4.00

(ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 4.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.6 Hz); 2.40 (m, 2H, H3‘, H3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, D_2O) 155.81 (C6); 152.87 (C2); 139.98 (C8); 119.15 (C5); 97.03 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 179.0 Hz); 89.24 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 36.6 Hz); 81.09 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 9.2 Hz); 64.88 (d, C5‘, $^3J_{CP}$ = 4.6 Hz); 31.52 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 20.9 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (202.5 MHz, D_2O) 2.50

MS (ESI$^+$) m/z 334.11 (M-2Na$^+$+3); 356.10 (M-Na$^+$+2)

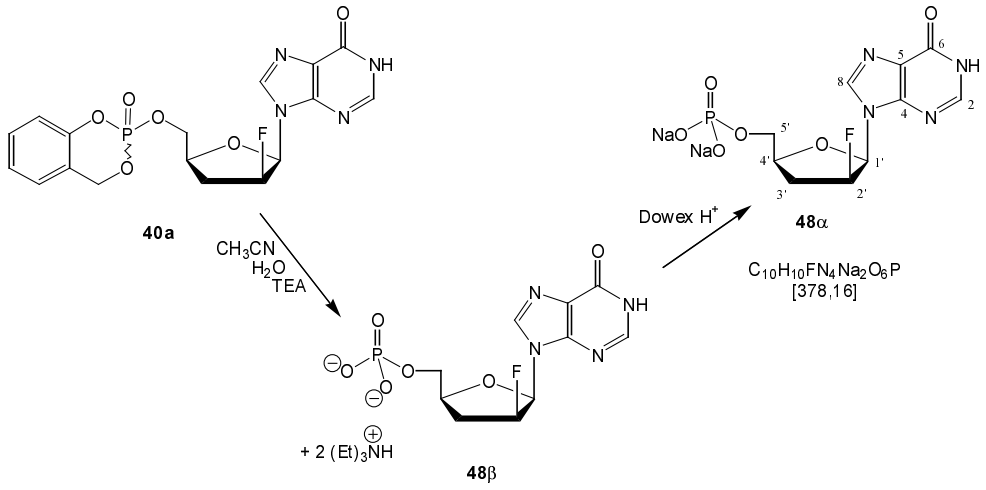
UV(H_2O): λ_{max} 258.7 nm; λ_{min} 232.6 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3435, 2927, 1651, 1487, 1426, 1337, 1305, 1251, 1093, 923, 812, 726, 536

R_f-Wert: (*i*-PrOH/H_2O/25%ige NH_3 14:7:1 v/v) 0.40

analyt. HPLC: t_R: 18.9 min (92.7 %, Gradient IV)

6.18.1.3 Darstellung von 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddIMP+2Na$^+$) 48α



Zu einer Lösung von 110 mg (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ara*-ddIMP) **40a** in 7.0 ml Acetonitril und 7.0 ml Wasser wurden sechs Tropfen Triethylamin hinzupipettiert und bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von drei Tagen konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden. Die Lösung verfärbte sich nach hellbraun und es fiel ein bräunlicher Feststoff aus. Nach dem Lyophilisieren wurde chromatographisch mit einer RP-

18-Säule aufgereinigt, wiederum lyophilisiert. Im Anschluß daran wurde mit Hilfe einer Dowex-Ionentauschersäule das 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ara*-ddIMP+2Na$^+$) **48**α als farbloser, wattiger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 22 mg (57.5 µmol, 23 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D_2O) 8.40 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.2 Hz); 8.15 (s, 1H, H2); 6.37 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 17.5 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 3.4 Hz); 5.44 (dddd, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 53.4 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 2.8 Hz); 4.51 (m, 1H, H4‘), 4.04 (dd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 12.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.5 Hz); 4.00 (dd, 1H, H5‘‘, $^2J_{HH}$ = 11.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.2 Hz) 2.69 (dddd, 1H, H3‘, $^3J_{HF}$ = 33.1 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 8.3 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 5.6 Hz); 2.37 (dddd, 1H, H3‘‘, $^3J_{HF}$ = 26.6 Hz, $^2J_{HH}$ = 15.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 2.7 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, D_2O) 158.94 (C6); 148.84 (C4); 146.54 (C2); 123.48 (C5); 141.72 (d, C8, $^5J_{CF}$ = 4.9 Hz); 91.63 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 187.2 Hz); 85.27 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 16.3 Hz); 77.64 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 8.1 Hz); 66.72 (d, C5‘, $^3J_{CP}$ = 6.1 Hz); 32.74 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 20.34 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (202.5 MHz, D_2O) 2.56

MS (ESI$^+$) m/z 335.13 (M-2Na$^+$+3)

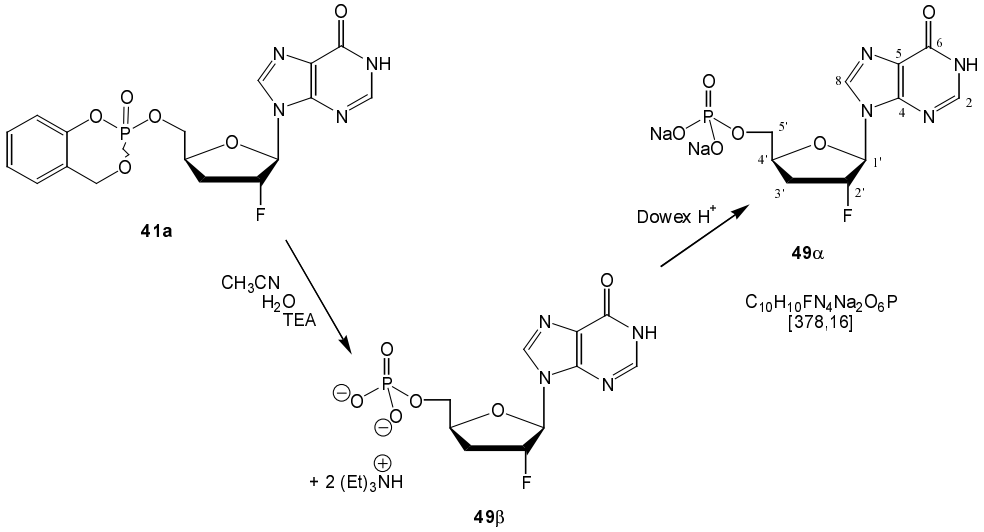
UV(H_2O): λ_{max} 247.9 nm, 197.0 nm; λ_{min} 222.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3430, 1689, 1588, 1551, 1513, 1459, 1421, 1376, 1344, 1315, 1216, 1121, 1097, 1061, 1002, 935, 844, 806, 715, 647, 606, 532

R_f-Wert: (*i*-PrOH/H_2O/25%ige NH_3 14:7:1 v/v) 0.28

analyt. HPLC: t_R: 17.01 min (95.9 %, Gradient IV)

6.18.1.4 Darstellung von 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddIMP+2Na$^+$) 49α



Zu einer Lösung von 90 mg (0.20 mmol, 1.0 Äquiv.) *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2'-fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-2'-F-*ribo*-ddIMP) **41a** in 6.0 ml Acetonitril und 6.0 ml Wasser wurden fünf Tropfen Triethylamin (TEA) hinzupipettiert und bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Reaktionszeit von drei Tagen konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr detektiert werden. Die Lösung verfärbte sich nach hellbraun und es fiel ein bräunlicher Feststoff aus. Nach dem Lyophilisieren wurde chromatographisch mit einer RP-18-Säule aufgereinigt, wiederum lyophilisiert. Im Anschluß daran wurde mit Hilfe einer Dowex-Ionentauschersäule das 2'-Fluor-*ribo*-2',3'-didesoxyinosin-5'-monophosphat-Dinatriumsalz (2'-F-*ribo*-ddIMP+2Na$^+$) **49**α als farbloser, glasiger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 21 mg (42 µmol, 21 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, D_2O) 8.36 (s, 1H, H8); 8.15 (s, 1H, H2); 6.37 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 16.7 Hz); 5.55 (dd, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 52.6 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 3.8 Hz); 4.19 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.8 Hz, $^3J_{HP}$ = 4.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 3.98 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 4.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 5.7 Hz); 2.46 (m, 2H, H3‘, H3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, D_2O) 158.98 (C6); 148.30 (C4); 146.38 (C2); 139.97 (C8); 124.28 (C5); 97.21 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 179.0 Hz); 89.57 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 36.62 Hz); 81.35 (d, C4‘, $^3J_{CF}$ = 9.2 Hz); 64.91 (d, C5‘, $^3J_{CP}$ = 5.1 Hz); 31.69 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 21.4 Hz)

^{31}P-NMR δ [ppm] (202.5 MHz, D_2O) 2.76

MS (ESI^+) m/z 335.13 ($M-2Na^+$+3); 357.10 ($M-Na^+$+2)

UV(H_2O): λ_{max} 248.2 nm; λ_{min} 227.3.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3430, 1689, 1588, 1551, 1513, 1459, 1421, 1376, 1344, 1315, 1216, 1121, 1097, 1061, 1002, 935, 844, 806, 715, 647, 606, 532

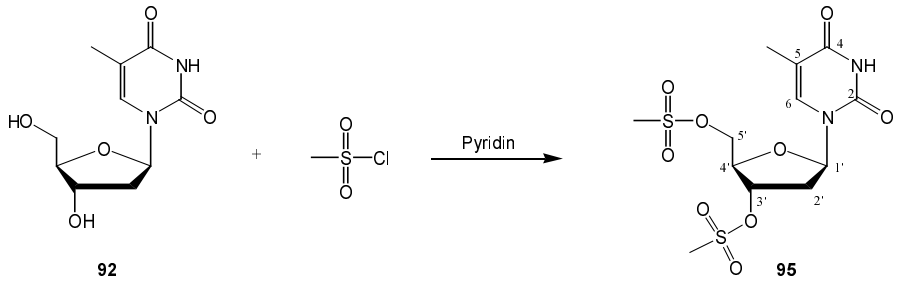
R_f-Wert: (*i*-PrOH/H_2O/25%ige NH_3 14:7:1 v/v) 0.31

analyt. HPLC: t_R: 17.77 min (97.7 %, Gradient IV)

6.19 Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T)

In diesem Kapitel wird die Synthese von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** ausgehend von Thymidin **93** beschrieben.[269]

6.19.1 Darstellung von 3',5'-Di-*O*-mesylthymidin 96



$C_{12}H_{18}N_2O_9S_2$
[398,41]

In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 15.0 g (61.9 mmol, 1.0 Äquiv.) Thymidin **93** in 50.0 ml wasserfreiem Pyridin suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung tropfte man langsam 18.6 g (12.6 ml, 162 mmol, 2.5 Äquiv.) Mesylchlorid hinzu, wobei sich die Lösung über gelb nach braun verfärbte. Die Reaktion wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Die klare Lösung wurde auf 200 ml Eiswasser gegeben. Es fiel dabei ein farbloser Niederschlag aus, den man nach 30 min abfiltrierte. Nach dreimaligem Waschen mit Eiswasser wurde der farblose Feststoff zunächst im Ölpumpenvakuum und dann im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Aceton umkristallisiert. Man erhielt farblose Kristalle.

Ausbeute: 24.2 g (60.7 mmol, 98 %) eines farblosen, kristallinen Feststoffs

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 11.39 (s, 1H, NH); 7.49 (d, 1H, H6, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 6.20 (t, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 7.0 Hz); 5.29 (dd, 1H, H3', $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz); 4.45 (m, 2H, H5', H5''); 4.36 (dt, 1H, H4', $^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.0 Hz);

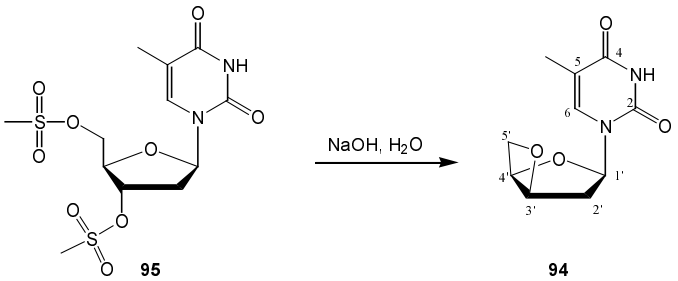
3.31 (s, 3H, CH_3-Mesyl); 3.24 (s, 3H, CH_3-Mesyl); 2.48 (m, 2H, H2', H2''); 1.77 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^3J_{HH}$ = 1.0 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 163.87 (C4); 150.63 (C2); 136.04 (C6); 110.34 (C5); 84.29 (C1'); 80.79 (C4'); 79.62 (C3'); 68.72 (C5'); 37.92 (CH_3-Mesyl); 37.06 (CH3-Mesyl); 36.26 (C2'); 12.26 (CH_3-Thymin)

Schmelzpunkt: 171 °C

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.45

6.19.2 Darstellung von 3',5'-Anhydrothymidin 95



$C_{10}H_{12}N_2O_4$
[224,21]

Zu einer Lösung von 7.24 g (181 mmol, 3.0 Äquiv.) Natriumhydroxid in 160 ml Wasser gab man portionsweise 24.0 g (60.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 3',5'-Di-*O*-mesylthymidin **96** hinzu. Die Lösung färbte sich dabei über gelb nach orange. Anschließend erhitzte man die Reaktion 45 min unter Rückfluß. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert. Anschließend wurden ca. 100 ml Wasser am Rotationsverdampfer abdestilliert. Dabei fiel ein weißer Feststoff aus. Die Kristallisation wurde im Eisbad vervollständigt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und mit wenig Eiswasser gewaschen. Die braune Mutterlauge wurde zusätzlich mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel am Rotationsverdampfer befreit. Der erhaltene farblose Feststoff wurde zusammen mit dem durch Filtration gewonnenen Feststoff vereinigt und aus Ethanol umkristallisiert. Man erhielt farblose Kristalle.

Ausbeute: 11.4 g (50 8 mmol, 84 %) eines farblosen, kristallinen Feststoffs

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 9.90 (s, 1H, NH); 8.01 (d, 1H, H6, $^4J_{HH}$ = 1.2 Hz); 6.70 (t, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 5.5 Hz); 5.53 (dt, 1H, H3', $^3J_{HH}$ = 6.5 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.5 Hz); 4.94 (dd, 1H, H_A5', $^3J_{HH}$ = 8.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.9 Hz); 4.80 (dd, 1H, H_B5', $^3J_{HH}$ = 8.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.9 Hz); 4.16 (dd, 1H, H4', $^3J_{HH}$ = 8.0 Hz,

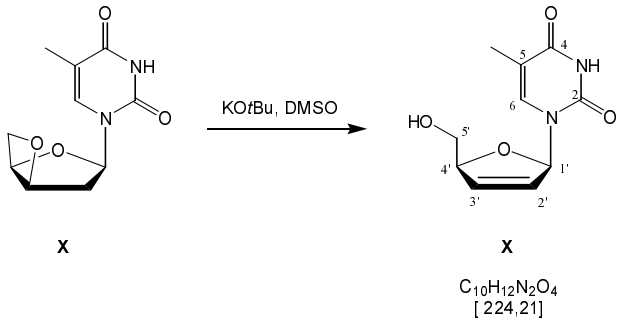
$^4J_{HH}$ = 1.5 Hz); 2.49 (dd, 2H, H2', $^3J_{HH}$ =5.5 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.5 Hz); 1.91 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.2 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 163.96 (C4); 151.51 (C2); 136.26 (C6); 111.62 (C5); 88.58 (C1'); 87.14 (C4'); 80.39 (C3'); 75.82 (C5'); 37.94 (C2'); 12.51 (CH_3-Thymin)

Schmelzpunkt: 190 °C

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.55

6.19.3 Darstellung von 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) 2



Die Reaktion wurde in einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt. Zu einer Lösung von 11.2 g (50.0 mmol, 1.0 Äquiv.) 3',5'-Anhydrothymidin **95** in 45.0 ml wasserfreiem Dimethylsulfoxid (DMSO) gab man bei 15 °C portionsweise 10.3 g (80.0 mmol, 1.6 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat hinzu, welches sich nur langsam löste. Die Temperatur überstieg dabei 20 °C nicht. Die Lösung wurde zähflüssig und verfärbte sich ins orange-grüne. Nach 15 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung in 300 ml 4 °C kaltes Toluol gegeben, wobei ein gelblicher Niederschlag entstand. Die Mischung wurde 20 min gerührt, anschließend abfiltriert und einmal mit kaltem Toluol gewaschen. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, in einen Scheidetrichter überführt und die organische Phase (restliches Toluol) abgetrennt. Die wässrige Phase wurde in ein Becherglas überführt und auf 4 °C gekühlt. Mit verdünnter Salzsäure wurde die Lösung neutralisiert und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die Extraktion wurde mittels DC-Kontrolle verfolgt und war extrem langwierig (gähn !). Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten aufgereinigt. Man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 9.87 g (44.0 mmol, 88 %) eines farblosen, kristallinen Feststoffs

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 11.28 (s, 1H, NH); 7.63 (d, 1H, H6, $^4J_{HH}$ = 1.2 Hz); 6.81 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 6.38 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 5.90 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 5.00 (t, 1H, OH, $^3J_{HH}$ = 5.2 Hz); 4.76 (m, 1H, H4'); 3.58 (dd, 2H, H5', H5'', $^3J_{HH}$ = 5.2 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz); 1.71 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.2 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 164.09 (C4); 151.02 (C2); 136.99 (C6); 135.16 (C3'); 126.18 (C2'); 109.21 (C5); 89.09 (C1'); 87.52 (C4'); 62.47 (C5'); 12.39 (CH_3-Thymin)

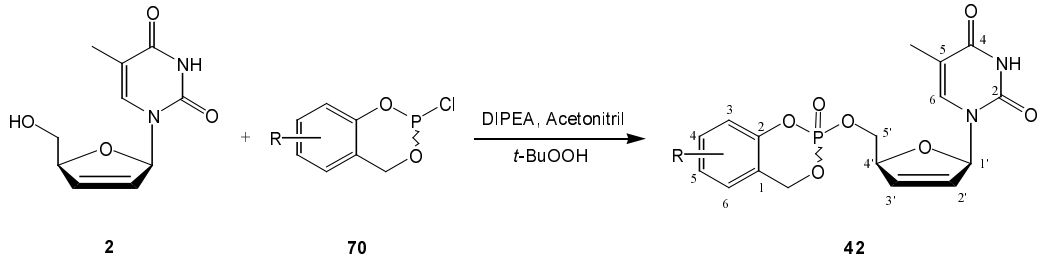
Schmelzpunkt: 172 °C

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.38

6.20 Synthese der *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4TMP) 42

Die *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphate (*cyclo*Sal-d4TMPs) **42** wurden mittels Phosphor(III)-Chemie sowie über Phosphor(V)-Chemie dargestellt. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, werden zunächst die drei möglichen Synthesevarianten vorgestellt.

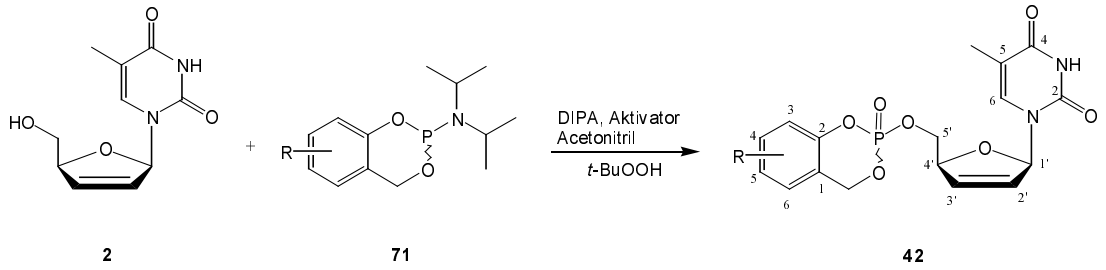
6.20.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) 42 mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)



In einer Intertgasatmospäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in wasserfreiem Acetonitril vorgelegt und mit 2.0 Äquiv. Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Nach Abkühlen auf 0 °C tropfte man eine Lösung von 2.0 Äquiv. cyclischem Chlorphosphan **70** in wasserfreiem Acetonitril hinzu und rührte weitere 30 min bei 0 °C. Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosids wurde bei 0 °C mit 2.1 Äquiv. einer 5.0-6.0 M *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan oxidiert. Nach Er-

wärmen auf Raumtemperatur wurde weitere 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum abestilliert und das erhaltene Rohprodukt am Chromatotron aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt.

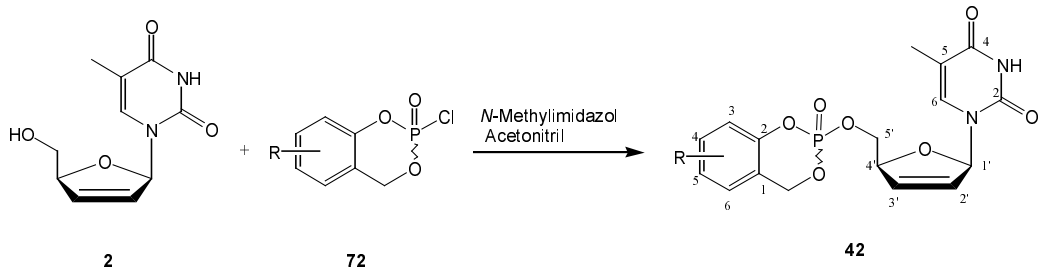
6.20.2 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) 42 mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante B)



2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** und der Aktivator wurden zunächst mit wasserfreiem Toluol coevaporiert, um restliche Spuren von Wasser zu entfernen.

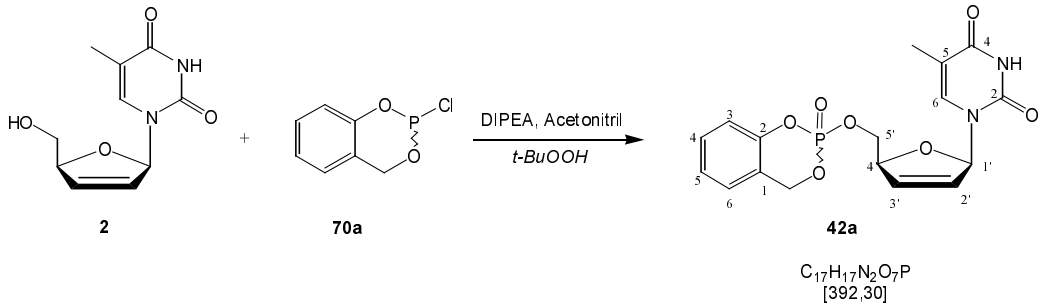
In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in wasserfreiem Acetonitril gelöst auf 0 °C gekühlt und der Aktivator hinzugegeben. Eine Lösung von 2.6 Äquiv. des cyclischen Saligenylphosphoramidits in wasserfreiem Acetonitril wurde hinzugegeben. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosids wurde bei 0 °C mit 1.1 Äquiv. (ausgehend vom cyclischen Saligenylphosphoramidit **71**) einer 5.0-6.0 M *tert*-Butylhydroperoxid-Lösung in *n*-Decan oxidiert. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde weitere 30 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum abestilliert und das erhaltene Rohprodukt am Chromatotron aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (10-30 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-15 %) aufgereinigt.

6.20.3 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-monophosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) 42 mittels Phosphor(V)-Chemie (Synthesevariante C)



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in wasserfreiem Acetonitril gelöst und mit 6.0 Äquiv. *N*-Methylimidazol (NMI) versetzt. Anschließend wurden innerhalb von 15 min 3.0 Äquiv. des cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72** unverdünnt hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 18 h lang bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abkondensiert wurde. Das erhaltene gelbliche Öl wurde am Chromatotron aufgereinigt. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (10-30 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-15 %) aufgereinigt.

6.20.4 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)-phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) 42a (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **Xa** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 120 mg (0.54 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 6.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 142 mg (0.19 µl, 1.1 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 0.20 g (1.1 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylchlorphosphan **70a** umgesetzt.

Ausbeute: 118 mg (0.30 mmol, 56 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 11.23 (s, 1H, NH); 7.36 (m, 1H, H4-aryl); 7.27 (d, 1H, H6, $^4J_{HCH3}$ = 1.6 Hz); 7.18 (m, 2H, H5-aryl, H6-aryl); 7.10 (m, 1H, H3-aryl); 6.78 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 1.9 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 6.37 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.9 Hz); 6.00 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 5.43 (ddd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.8 Hz); 5.41 (ddd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 5,5 Hz); 4.94 (m, 1H, H4'); 4.29 (ddd, 1H, H5'$_A$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.25 (ddd, 1H, H5'$_B$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 1.64 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH6}$ = 1.6 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 163.74 (C4); 150.74 (C2); 149.54 (C2-aryl); 135.71 (C6); 132.82 (C3'); 129.91 (C6-aryl); 127.34 (C4-aryl); 126.20 (C2'); 124.49 (C5-aryl); 121.32 (C1-aryl); 118.12 (C3-aryl); 109.68 (C5); 89.20 (C1'); 84.12 (C4'); 68.39 (C5'); 68.28 (CH_2-benzyl); 11.94 (CH_3-Thymin)

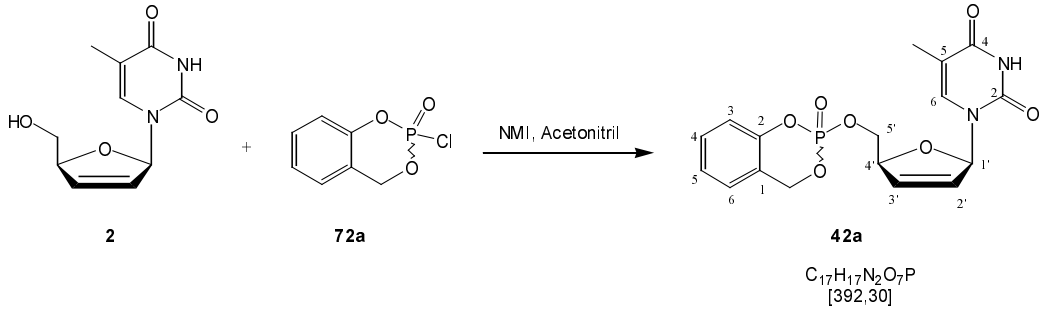
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) - 9.23, -9.25

UV(CH_3CN): λ_{max} 265 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3448, 3191, 3067, 1690, 1490, 1459, 1293, 1246, 1109, 1019

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.52

6.20.5 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)-phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) 42a (Synthesevariante C)



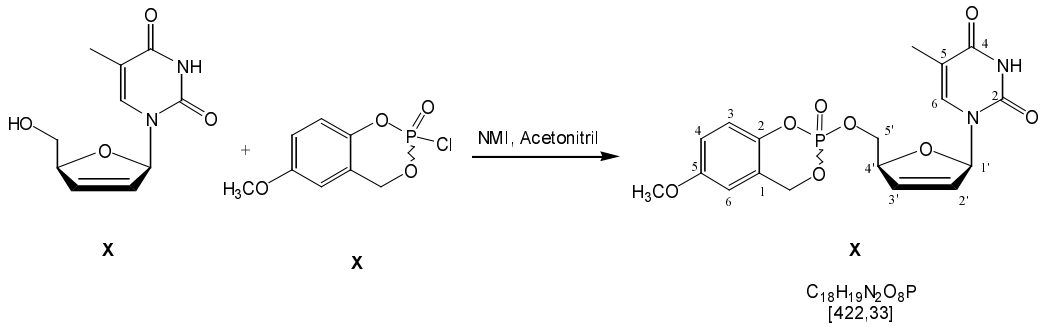
Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (*cyclo*Sal-d4TMP) **42a** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.3 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 36.0 mg (0.16 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 77.0 µl (0.97 mmol, 6.0 Äquiv.) *N*-

Methylimidazol (NMI) und 0.10 g (0.48 mmol, 3.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72a** umgesetzt.

Ausbeute: 12 mg (0.03 mmol, 19 %)

Die spektroskopischen Daten entsprachen denen in Kapitel 6.20.4 beschriebenen

6.20.6 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4TMP) 42b (Synthesevariante C)



Die Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-d4TMP) **42b** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.3 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 40.0 mg (0.18 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 85.0 µl (1.1 mmol, 6.0 Äquiv.) *N*-Methylimidazol und 0.13 g (0.54 mmol, 3.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72b** umgesetzt.

Ausbeute: 33 mg (0.08 mmol, 44 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 11.27 (s, 1H, NH); 7.11 (d, 1H, H6, $^4J_{HCH3}$ = 1.6 Hz); 6.97 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.3 Hz); 6.84 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 9.3 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.7 Hz); 6.80 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.7 Hz); 6.72 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 1.9 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 6.30 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.9 Hz); 5.94 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 5.32 (ddd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.8 Hz); 5.30 (ddd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 5.5 Hz); 4.87 (m, 1H, H4'); 4.20 (ddd, 1H, H5'$_A$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.15 (ddd, 1H, H5'$_B$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 3.66 (s, 3H, OCH_3); 1.59 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH6}$ = 1.6 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 163.75 (C4); 155.63 (C5-aryl); 150.73 (C2); 143.03 (C2-aryl); 135.71 (C6); 132.89 (C3'); 127.30 (C2'); 122.08 (C1-aryl); 119.07 (C3-aryl); 115.20 (C6-aryl); 110.81 (C4-aryl); 109.68 (C5-aryl); 89.18 (C1'); 84.13 (C4'); 68.29 (C5'); 68.27 (CH_2-benzyl); 55.59 (OCH_3); 11.94 (CH_3-Thymin)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) - 9.06 (die chemische Verschiebung der beiden Diastereomeren ist identisch. Das Vorhandensein eines Diastereomerengemisches geht aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum hervor!)

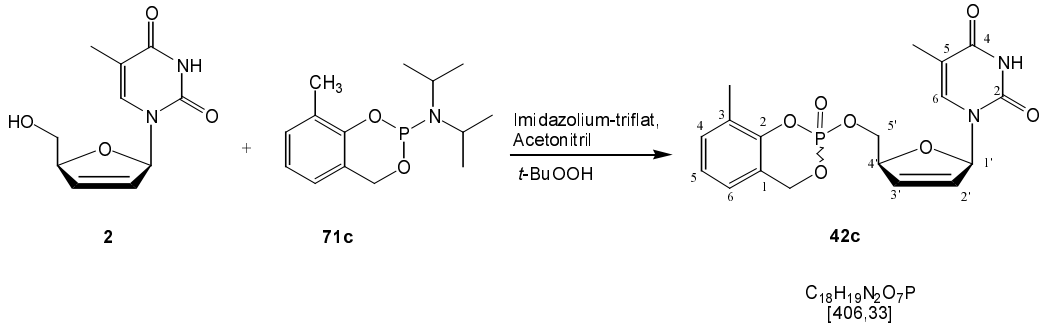
MS (ESI$^+$) m/z 421.5

UV(CH_3CN): λ_{max} 266 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3448, 3164, 3036, 1685, 1498, 1458, 1288, 1198, 1115, 1027

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.51

6.20.7 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) 42c (Synthesevariante B)



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) **42c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.2 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 40.0 mg (0.18 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril und 0.13 g (0.72 mmol, 4.0 Äquiv.) Immidazolium-triflat und 0.12 g (0.45 mmol, 2.5 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphoramidit **71c** umgesetzt. Im Anschluß wurde mit 112 µl (0.5 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf das cyclische Saligenylphosphoramidit **71c)** einer 5.0-6.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 72.3 mg (0.178 mmol, 99 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 11.33 (s, 1H, NH); 7.25 (m, 1H, H4-aryl); 7.18 (d, 1H, H6, $^4J_{HCH3}$ = 1.2 Hz); 7.16 (m, 2H, H5-aryl, H6-aryl); 6.78 (ddd, 1H, H1', $^3J_{HH2'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH3'}$ = 1.8 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 6.37 (ddd, 1H, H3', $^3J_{HH2'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.8 Hz); 6.01 (ddd, 1H, H2', $^3J_{HH3'}$ = 5.9 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 3.5 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.6 Hz); 5.40 (ddd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.5 Hz); 5.30 (ddd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 5.9 Hz); 4.94 (m, 1H, H4'); 4.28 (ddd, 1H, H5'$_A$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 4.20 (ddd, 1H, H5'$_B$, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.7 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.7 Hz); 2.25 (s, 3H, CH_3-C5-aryl); 1.64 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH6}$ = 1.3 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6) 163.96 (C4); 150.93 (C2); 148.17 (C2-aryl); 135.91 (C6); 133.01 (C3'); 131.22 (C5-aryl); 127.52 (C6-aryl); 127.06 (C2'); 124.22 (C4-aryl); 121.58 (C1-aryl); 117.83 (C3-aryl); 109.67 (C5); 89.18 (C1'); 84.28 (C4'); 68.72 (C5'); 68.41 (CH_2-benzyl); 20.14 (CH_3-C3-aryl); 12.00 (CH_3-Thymin)

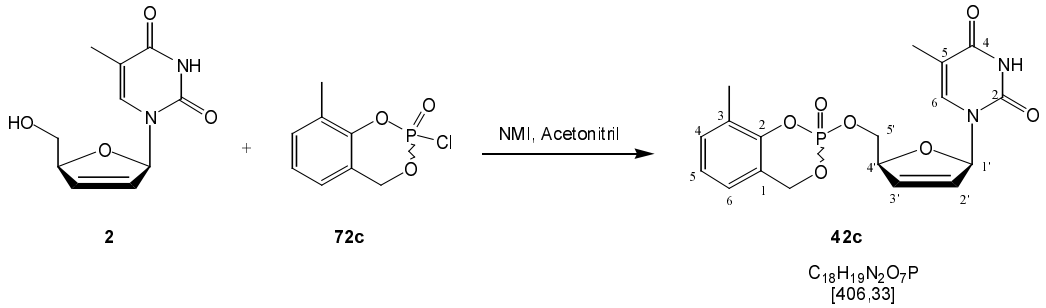
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6) -8.46, -8.66

UV(CH_3CN): λ_{max} 194.5 nm, 263.7 nm; λ_{min} 233.9 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3448, 3187, 3049, 2969, 2754, 1722, 1653, 1605, 1531, 1474, 1373, 1287, 1189, 1054, 943, 877, 779, 654

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.51

6.20.8 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) 42c (Synthesevariante C)



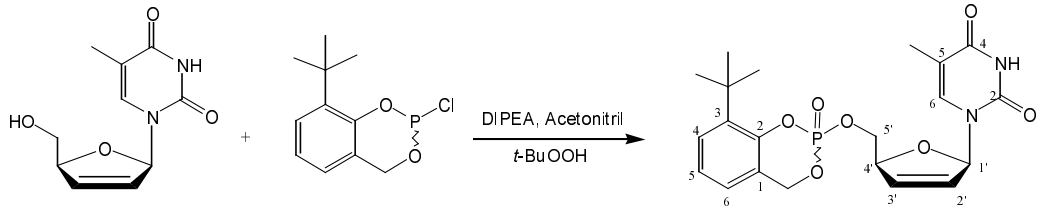
Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-d4TMP) **42c** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.3 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 35.0 mg (0.16 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-

2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 2.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 74.0 µl (0.94 mmol, 6.0 Äquiv.) *N*-Methylimidazol (NMI) und 0.10 g (0.47 mmol, 3.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylphosphorchloridates **72c** umgesetzt.

Ausbeute: 37 mg (0.09 mmol, 59 %)

Die spektroskopischen Daten entsprachen denen in Kapitel 6.20.7 beschriebenen

6.20.9 Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) 42e (Synthesevariante A)



$C_{21}H_{25}N_2O_7P$
[448,41]

Die Darstellung von *cyclo*(3-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42e** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 50.0 mg (0.23 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 2.5 ml wasserfreiem Acetonitril mit 60.0 mg (78.7 µl, 0.46 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 0.11 g (0.46 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylchlorphosphan **70e** umgesetzt. Es wurde mit 0.20 ml (0.48 mmol, 2.1 Äquiv.) einer 5.0-6.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 92.0 mg (0.21 mmol, 91 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6, fast-Diastereomer) 11.33 (s, 1H, NH); 7.33 (d, 1H, H4-aryl-H, $^3J_{HH}$ = 7.7 Hz); 7.22 (d, 1H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 7.17 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 7.13 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.81 (dt, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 3.6 Hz, J = 1.6 Hz); 6.40 (dt, 1H, H3‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, J = 1.7 Hz); 6.01 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, J = 2.2 Hz, J = 1.3 Hz); 5.41 (dd, 2H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.2 Hz); 5.37 (t, 1H, $^2J_{HH}$ = 13.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 13.5 Hz); 4.98-4.94 (m, 4H, H4‘); 4.33-4-27 (m, 1H, H5‘, H5‘‘); 1.58 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 1.30 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6, slow-Diastereomer) 11.31 (s, 1H, NH); 7.33 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.19 (d, 1H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.3 Hz); 7.18 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 7.12 (t, 1H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 6.79 (dt, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 3.3 Hz, J = 1.6 Hz); 6.40 (dt, 1H, H3‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, J = 1.7 Hz); 6.02 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, J = 2.2 Hz, J = 1.4 Hz); 5.41 (dd, 2H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.0 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.36 (t, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 13.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 13.5 Hz); 4.96-4.91 (m, 4H, H4‘); 4.33 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.3 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.3 Hz); 4.30 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.6 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 3.0 Hz); 1.57 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 1.33 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6, Diastereomerengemisch) 163.94, 163.90 (C4); 150.92, 150.89 (C2); 148.90, 148.87 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.1 Hz); 138.56, 138.49 (C3-aryl); 135.94, 135.88 (C6); 133.08, 133.00 (C3‘); 127.50, 127.47 (C4-aryl); 124.72 (C6-aryl); 124.34 (C5-aryl); 123.26, 123.20 (C1-aryl); 109.89, 109.83 (C5); 89.39, 89.25 (C1‘); 84.37, 84.33 (C4‘); 69.06, 69.00 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 5.5 Hz); 68.40, 68.34 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 6.5 Hz); 34.51, 34.45 (quart. C); 29.74,29.70 (*tert*-Bu); 11.98, 11.96 (CH_3-Thymin)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6, fast-Diastereomer) δ [ppm] 163.92 (C4); 150.90 (C2); 148.89 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 138.52 (d, C3-aryl, $^4J_{CP}$ = 7.3 Hz); 135.92 (C6); 133.06 (C3‘); 127.50 (C4-aryl); 127.47 (C2‘); 124.70 (C6-aryl); 124.33 (C5-aryl); 123.23 (d, C1-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.8 Hz); 109.87 (C5); 89.26, 89.23 (C1‘); 84.35, 84.29 (C4‘); 69.05 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 3.6 Hz); 68.35 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 34.44 (quart.C); 29.69 (*tert*-Bu); 11.95, 11.98 (CH_3-Thymin)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6, slow-Diastereomer) 163.87 (C4); 150.87 (C2); 148.85 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.5 Hz); 138.52 (d, C3-aryl, $^4J_{CP}$ = 7.3 Hz); 135.79 (C6); 133.06, 132.92 (C3‘); 127.52 (d, C4-aryl, $^3J_{CP}$ = 8.5 Hz); 127.69 (C2‘); 124.49 (C6-aryl); 124.31 (C5-aryl); 123.17 (d, C1-aryl, $^2J_{CP}$ = 8.5 Hz); 109.80 (C5); 89.42, 89.31 (C1‘); 84.35 (d, C4‘, $^3J_{CP}$ = 8.5 Hz); 69.00 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 3.6 Hz); 68.38 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 4.8 Hz); 34.49 (quart.C); 29.72 (*tert*-Bu); 11.98, 11.92 (CH_3-Thymin)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -7.24, -7.48

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6, fast-Diastereomer) -7.48

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6, slow-Diastereomer) -7.24

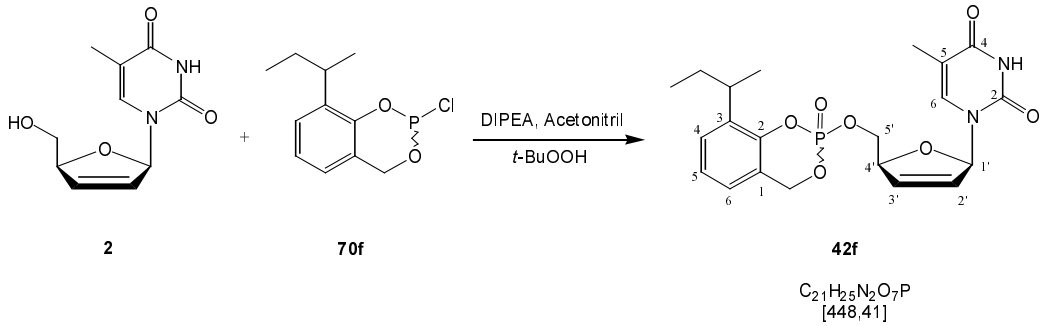
MS (MALDI): m/z 471.4 (M+Na$^+$), 487.3 (M+K$^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 263.5 nm, 198.0 nm; λ_{min} 237.00

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3426, 2963, 1686, 1465, 1289, 1089, 1019, 949, 786, 539, 446, 421

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.20.10 Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) 42f (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*(3-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (3-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42f** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 100 mg (0.46 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 5.0 ml wasserfreiem Acetonitril mit 116 mg (154 µl, 0.92 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 0.22 g (0.92 mmol, 2.0 Äquiv.) cyclischen Saligenylchlorphosphan **70f** umgesetzt. Es wurde mit 0.40 ml (0.96 mmol, 2.1 Äquiv.) einer 5.0-6.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 117 mg (0.26 mmol, 56 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 11.34 (s, 2H, NH); 11.31 (s, 2H, NH); 7.27 (d, 4H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.6 Hz); 7.22 (d, 2H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 0.7 Hz); 7.18 (d, 2H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 0.7 Hz); 7.17-7.09 (m, 8H, H6-aryl, H5-aryl); 6.82-6.77 (m, 4H, H1‘); 6.41-6.36 (m, 4H, H3‘); 6.03-6.00 (m, 4H, H2‘); 5.48-5.32 (m, 8H, benzyl. H); 4.96-4.91 (m, 4H, H4‘); 4.35-4.21 (m, 8H, H5‘, H5‘‘); 3.00-2.88 (m, 4H, CH); 1.61, 1.60 (d, 12 H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 0.7 Hz); 1.58-1.50 (m, 8H, CH_2); 1.15 (d, 6H, CH-CH_3,

$^3J_{HH}$ = 7.1 Hz); 1.12 (d, 6H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 0.77-0.71 (m, 12 H, CH_2-CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.61 MHz, DMSO-d_6) 163.94, 163.90 (C4); 150.92, 150.88 (C2); 147.79, 147.77 (C2-aryl); 136.00, 135.91, 135.87 (C3-aryl); 133.06, 133.03, 132.99 (C3‘); 127.72, 127.64 (C4-aryl); 127.55, 127.52 (C2‘); 124.52 (C6-aryl); 123.90 (C5-aryl); 122.05, 121.97, 121.88 (C1-aryl); 109.93, 109.80 (C5); 89.37, 89.24 (C1‘); 84.39, 84.34, 84.32, 84.26 (C4‘); 68.95, 68.92, 68.87, 68.86, 68.73, 68.67, 68.63 (C5‘); 68.46, 68.42, 68.40, 68.38 (CH_2-benzyl); 3.43, 33.31, 33.15, 33.12 (CH); 29.40, 29.37, 29.06, 28.89 (CH_2); 20.70,20.62, 20.31 (CH-CH_3); 12.09, 12.05 (CH_2-CH_3); 11.98 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -6.80, -6.89, -7.21, -7.24

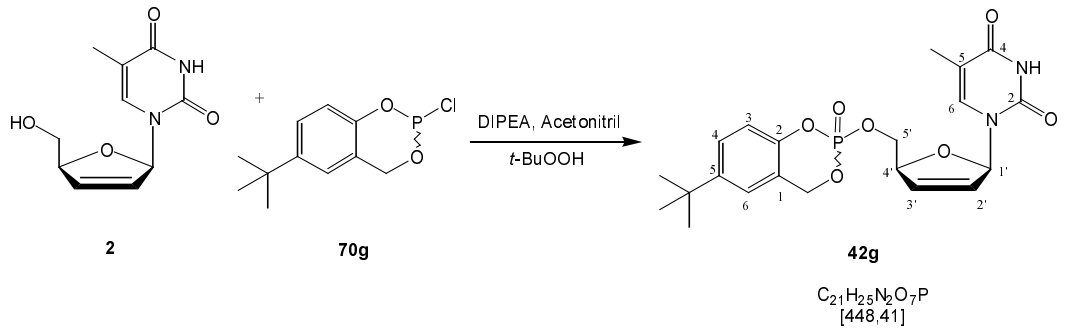
MS (MALDI): m/z 471.4 ($M+Na^+$), 487.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 263.5 nm, 198.0 nm; λ_{min} 237.00

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3435, 2963, 1692, 1465, 1293, 1271, 1184, 1091, 1019, 947, 849, 785, 577, 491

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.20.11 Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) 42g (Synthesevariante A)



Die Darstellung von *cyclo*(5-*tert*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*tert*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42g** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 70.0 mg (0.32 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 5.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 103 mg (137 µl, 0.80 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 0.19 g (0.80 mmol, 2.5 Äquiv.) cyclischen Saligenylchlorphosphan **70g** umgesetzt. Es wurde mit 0.31 ml

(0.80 mmol, 2.5 Äquiv.) einer 5.0-6.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 49.3 mg (0.11 mmol, 34 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6, Diastereomerengemisch) 11.31 (s, 2H, NH); 7.38 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 7.35 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.8 Hz); 7.29 (s, 2H, H6-aryl); 7.18 (d, 1H, H6, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.15 (d, 1H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.04 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 7.01 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 6.80 (ddd, 1H, H1‘, J = 3.5 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.9 Hz, J = 1.6 Hz); 6.78 (ddd, 1H, H1‘, J = 3.5 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.9 Hz, J = 1.6 Hz); 6.40 (ddd, 1H, H3‘, $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.6 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.9 Hz); 6.34 (ddd, 1H, H3‘, $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.6 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.9 Hz); 6.01 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.9 Hz; $^4J_{HH4'}$ = 1.3 Hz); 5.99 01 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 1.9 Hz; $^4J_{HH4'}$ = 1.3 Hz); 5.47 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.46 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.5 Hz); 4.97-4.93 (m, 2H, H4‘); 4.32 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 4.29 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 4.28 (ddd, 1H, H5‘‘, $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.1 Hz); 4.26 (ddd, 1H, H5‘‘, $^2J_{HH}$ = 11.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.9 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.1 Hz); 1.65 (d, 3H, CH_3, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 1.58 (d, 3H, CH_3, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 1.25 (s, 9H, *tert*-Bu); 1.24 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6, fast-Diastereomer) 11.33 (s, 1H, NH); 7.38 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 7.29 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.4 Hz); 7.18 (d, 1H, H6-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.3 Hz); 7.04 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.7 Hz); 6.79 (dt, 1H, H1‘, J = 3.5 Hz, J = 1.7 Hz); 6.41 (dt, 1H, H3‘, $^3J_{HH2'}$ = 6 Hz, J = 1.7 Hz); 6.01 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 5.8 Hz, J = 2 Hz, J = 1.4 Hz); 5.45 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.4 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.8 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.6 Hz); 4.96-4.92 (m, 1H, H4‘); 4.30 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.4 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.1 Hz); 4.26 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 1.66 (d, 3H, CH_3-Thymin, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 1.25 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6, slow-Diastereomer) 11.32 (s, 1H, NH); 7.35 (d, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 7.28 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 2.2 Hz),

7.14 (d, 1H, H6-tymin, $^4J_{HH}$ = 1.1 Hz); 7.01 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz); 6.77 (dt, 1H, H1‘, $^3J_{HH2'}$ = 3.6 Hz, J = 1.7 Hz); 6.34 (dt, 1H, H3‘, $^3J_{HH2'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 1.7 Hz, $^4J_{HH1'}$ = 1.7 Hz); 5.99 (ddd, 1H, H2‘, $^3J_{HH3'}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.2 Hz, $^4J_{HH4'}$ = 1.3 Hz); 5.47 (dd, 1H, benzyl. H, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 16.7 Hz); 5.37 (dd, 1H, benzyl. H, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 10.5 Hz); 4.96-4.92 (m, 1H, H4‘); 4.32 (ddd, 1H, H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.7 Hz, $^3J_{HP}$ = 6.6 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 2.5 Hz); 4.25 (ddd, 1H H5‘, $^2J_{HH}$ = 11.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 7.2 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.4 Hz); 1.58 (d, 3H, CH_3-tymin, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 1.24 (s, 9H, *tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6, fast-Diastereomer) 163.86 (C4); 150.85 (C2); 147.46 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 147.17 (C5-aryl); 135.78 (C5); 133.02 (C3‘); 127.49, 127.46 (C2‘); 126.74 (C4-aryl); 123.02 (C6-aryl), 120.64 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.7 Hz); 117.75 (C3-aryl); 109.83 (C5); 89.35, 89.33 (C1‘); 84.31, 84.24 (C4‘); 68.81 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 68.39 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 4.9 Hz); 34.37 (CH); 31.23, 31.21 (*tert*-Bu)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6, slow-Diastereomer) 163.88 (C4); 150.87 (C2); 147.49 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 147.16 (C5-aryl); 135.83 (C5); 132.99 (C3‘); 127.53, 127.48 (C2‘); 126.85 (C4-aryl); 123.04 (C6-aryl), 120.57 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.7 Hz); 117.57 (C3-aryl); 109.83 (C5); 89.38, 89.30 (C1‘); 84.33, 84.27 (C4‘); 68.65 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 6.1 Hz); 68.46 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 4.9 Hz); 34.37 (CH); 31.24, 31.21 (*tert*-Bu)

^{31}P-NMR: (202 MHz, DMSO-d_6) -7.83, -7.85

^{31}P-NMR: (202 MHz, DMSO-d_6) -7.85 fast

^{31}P-NMR: (202 MHz, DMSO-d_6) -7.83 slow

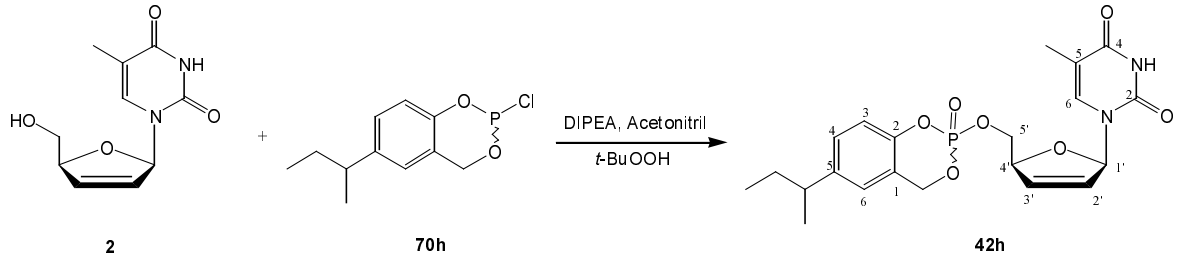
MS (MALDI): m/z 471.4 ($M+Na^+$), 487.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 263.5 nm, 194.3 nm; λ_{min} 236.5 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3442, 2963, 1692, 1500, 1467, 1398, 1368, 1300, 1271, 1191, 1114, 1031, 995, 951, 902, 850, 801, 784, 697, 592, 514, 491, 417

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.20.12 Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) 42h Synthesevariante A



Die Darstellung von *cyclo*(5-*sek*-Butylsaligenyl)-5'-*O*-(2',3'-didesoxy-2',3'-didehydrothymidinyl)phosphat (5-*sek*-Bu-*cyclo*Sal-d4TMP) **42f** wurde nach der Methode in Kapitel 6.20.1 durchgeführt. Es wurden eine Lösung von 70.0 mg (0.32 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **2** in 5.00 ml wasserfreiem Acetonitril mit 104 mg (137 µl, 0.80 mmol, 2.5 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 0.19 g (0.80 mmol, 2.5 Äquiv.) cyclischen Saligenylchlorphosphan **70f** umgesetzt. Es wurde im Anschluß mit 0.31 ml einer 5.0-6.0 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 38.1mg (0.085 mmol, 27 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500.13 MHz, DMSO-d_6) 11.34 (s, 4H, NH); 7.22-7.19 (m, 4H, H4-aryl); 7.17 (s, 4H, H6); 7.12 (s, 4H, H6-aryl); 7.04 (t, 4H, H3-aryl); 6.82-6.79 (m, 4H, H1‘); 6.43 (dt, 2H, H3‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 6.36 (dt, 2H, H3‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.6 Hz); 6.02 (ddd, 2H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.3 Hz); 6.00 (ddd, 2H, H2‘, $^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 2.2 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.3 Hz); 5.51-5.35 (m, 8H, CH_2-benzyl); 4.98-4.95 (m, 4H, H4‘); 4.35-4.26 (m, 8H, H5‘, H5‘‘); 2.62-2.55 (m, 4H, CH); 1.67 (s, 6H, CH_3-Thymin); 1.60 (s, 6H, CH_3-Thymin); 1.57-1.48 (m, 8H, CH_2); 1.17 (d, 12H, CH-CH_3, $^3J_{HH}$ = 6.9 Hz); 0.76 (t, 6H, CH_2-CH_3, 3JHH = 7.4 Hz); 0.75 (t, 6H, CH_2-CH_3, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (125.75 MHz, DMSO-d_6) 164.58, 164.56 (C4); 151.58, 151.55 (C2); 148.50, 148.44 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 7.0 Hz); 144.32 (C5-aryl); 136.56, 136.51 (C6); 133.74, 133.68 (C3‘); 129.19, 129.19, 129.07 (C4-aryl); 128.21, 128.17 (C2‘); 125.21, 125.16, 125.14, 125.13 (C6-aryl); 121.82, 121.74, 121.71 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.7 Hz); 118.71 (C3-aryl); 110.54, 110.53 (C5); 90.03, 90.00 (C1‘); 85.03, 85.96 (C4‘); 69.34, 69.32 (d, CH_2-benzyl,

$^3J_{CP}$ = 7.0 Hz); 69.19, 69.10 (d, C5‘, $^3J_{CP}$ = 7.0 Hz); 41.03, 41.02 (CH); 31.35, 31.33, 31.32, 31.30 (CH_2); 22.52, 22.51, 22.49, 22.48 (CH-CH_3); 12.85, 12.84 (-CH_2-CH_3) 12.76, 12.68 (CH_3-Thymin)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6) -7.77, -7.78, -7.80

MS (MALDI): m/z 471.3 ($M+Na^+$), 487.2 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 263.6 nm, 198.1 nm; λ_{min} 235.0 nm

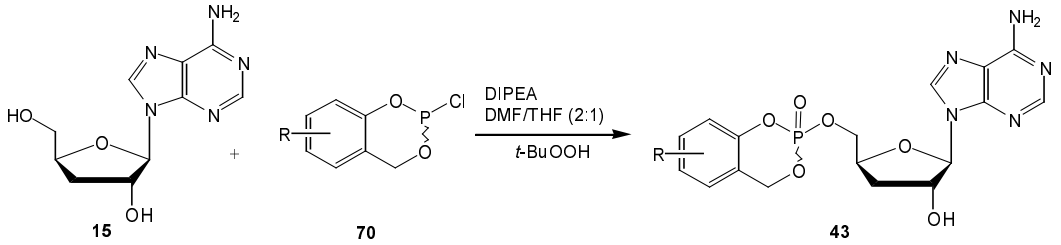
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3452, 3191, 3065, 2962, 1693, 1498, 1466, 1367, 1298, 1250, 1207, 1167, 1114, 1090, 1030, 995, 950, 906, 850, 827, 783, 695, 649, 576, 486, 422

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.36

6.21 Synthese der *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphate (*cyclo*Sal-3'-dAMP) 43a-c

Die *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphate (*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43a-c** wurden mittles Phosphor(III)-Chemie über die Synthesevariante A dargestellt. Bevor auf die Synthese der einzelnen Verbindungen eingegangen wird, soll zunächst die allgemeine Methode zur Darstellung dieser Verbindungen vorgestellt werden.

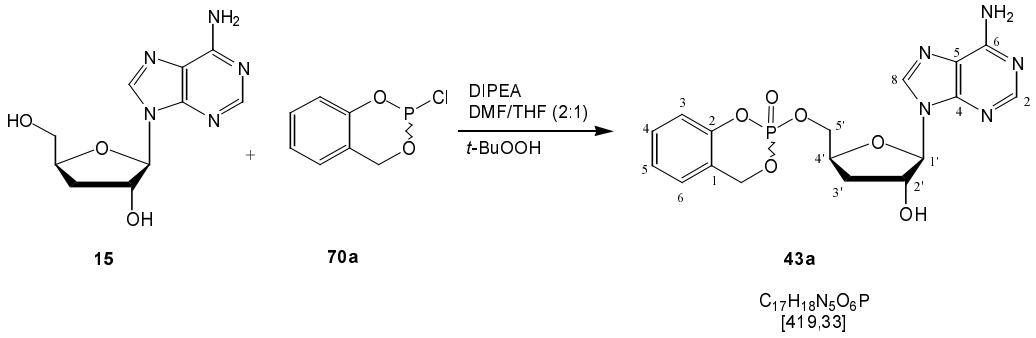
6.21.1 Allgemeine Methode zur Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphate (*cyclo*Sal-3'-dAMP) 43a-c mittels Phosphor(III)-Chemie (Synthesevariante A)



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 1.0 Äquiv. 3'-Desoxyadenosin (3'-dA, Cordycepin) **15** in einem Gemisch aus wasserfreiem Dimethylformamid und wasserfreiem Tetrahydrofuran (2:1) gelöst, mit 3.0 Äquiv. Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt und mit einem Ethanol-Kältebad auf -40 °C gekühlt. 2.0 Äquiv. des entsprechenden cyclischen Chlorphosphans **70** wurden in 1 ml Acetonitril verdünnt und langsam zu der Lösung getropft. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert und eventuell

N,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und cyclisches Saligenylchlorphosphan **70** erneut hinzugetropft. Es wurde auf vollständigen Umsatz des Cordycepins **15** geachtet. Im Anschluß wurden 1.1 Äquiv. (bezogen auf die Menge an eingesetztem cyclischen Saligenylchlorphosphan **70**) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan bei - 40 °C hinzugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde weitere 30 min gerührt bevor im Ölpumpenvakuum das Lösungsmittel abkondensiert wurde. Man erhielt ein gelbes Öl, welches chromatographisch aufgereinigt wurde. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem lyophilisieren erhielt man einen farblosen, wattigen Feststoff.

6.21.2 Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-3'-dAMP) 43a



Die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43a** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.21.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.40 mmol, 1.0 Äquiv.) 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) in einem Gemisch aus 3.00 ml Dimethylformamid und 1.50 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 155 mg (205 µl, 1.20 mmol, 3.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 200 mg (1.0 mmol, 2.6 Äquiv.) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70a** bei - 40 °C umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.23 ml (1.14 mmol, 2.9 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 33.5 mg (0.08 mmol, 20 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.20 (s, 1H, H8); 8.17 (s, 1H, H8); 8.12 (s, 1H, H2); 8.11 (s, 1H, H2); 7.35-7.27 (m, 6H, NH_2, H4-aryl); 7.21 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.5 Hz); 7.19 (dd, 1H, H6-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4

Hz, $^4J_{HH}$ = 1.8 Hz); 7.14 (t, 2H, H5-aryl, $^3J_{HH}$ = 7.4 Hz); 7.08 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 7.01 (dd, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 1.0 Hz); 5.87 (d, 1H, H1‘,$^3J_{HH2'}$ = 4.0 Hz); 5.86 (d, 1H, $^3J_{HH}$ = 3.8 Hz); 5.80 (t, 2H, OH, $^3J_{HH2'}$ = 2.8 Hz); 5.45 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.7 Hz); 5.41 (dd, 1H, H_A-benzyl, H, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.7 Hz); 5.37 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.3 Hz); 5.35 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.1 Hz); 4.68-4.62 (m, 2H, H2‘); 4.53-4.45 (m, 2H, H4‘); 4.40-4.22 (m, 4H, H5‘, H5‘‘); 2.32-2.22 (m, 2H, H3‘); 2.04-1.94 (m, 2H, H3‘‘)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 156.38 (C6); 152.92 (C2); 149.78, 149.70 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 3.0 Hz); 149.43 (C4); 139.28, 139.23 (C8); 130.07, 130.02 (C6-aryl); 126.34 (C4-aryl); 124.73, 124.71 (C5-aryl); 121.30, 121.21 (d, C1-aryl, , $^3J_{CP}$ = 3.5 Hz); 119.37 (C5); 118.53, 118.45 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 4.1 Hz); 91.13, 91.09 (C1‘); 78.25, 78.16 (d, C4‘, $^3J_{CP}$ = 4.0 Hz); 74.39, 74.36 (C2‘); 69.48, 69.37 (d, CH_2-benzyl, $^3J_{CP}$ = 5.5 Hz); 68.78, 68.70 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 7.0 Hz); 34.71, 34.67 (C3‘)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6) -8.62 (die chemische Verschiebung der beiden Diastereomeren ist identisch. Das Vorhandensein eines Diastereomerengemisches geht aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum hervor!)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -8.52 - -8.73 (m)

MS (MALDI): m/z 420.6 ($M+H^+$), 442.4 ($M+Na^+$), 458.4 ($M+K^+$)

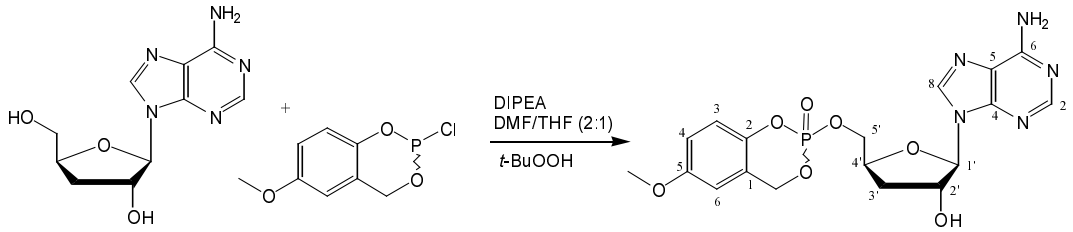
UV(CH_3CN): λ_{max} 258.1 nm, 196.0 nm; λ_{min} 231.7 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3337, 1648, 1601, 1489, 1459, 1419, 1374, 1293, 1245, 1192, 1105, 1022, 950, 844, 761, 721, 649, 578

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.26

analyt. HPLC: t_R: 11.88 min (99 %, Gradient III)

6.21.3 Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-3'-dAMP) 43b



15 70b 43b

$C_{18}H_{20}N_5O_7P$
[449,35]

Die Darstellung von *cyclo*(5-Methoxysaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (5-OMe-*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43b** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.21.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.40 mmol, 1.0 Äquiv.) 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) **15** in einem Gemisch aus 3.00 ml Dimethylformamid und 1.50 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 155 mg (205 µl, 1.20 mmol, 3.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 175 mg (0.8 mmol, 2.0 Äquiv.) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70b** bei - 40 °C umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.2 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 90 mg (0.20 mmol, 50 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.18 (s, 1H, H8); 8.16 (s, 1H, H8); 8.12 (s, 1H, H2); 8.11 (s, 1H, H2); 7.27 (s, 4H, NH_2); 7.02 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz); 6.94 (d, 1H, H3-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz); 6.87 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 3.0 Hz); 6.82 (dd, 1H, H4-aryl, $^3J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.8 Hz); 6.78 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 3.5 Hz); 6.77 (d, 1H, H6-aryl, $^4J_{HH}$ = 3.4 Hz); 5.87 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH2'}$ = 2.3 Hz); 5.86 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 2.3 Hz); 5.73 (s, br, OH,); 5.40 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.5 Hz); 5.36 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.3 Hz); 5.32 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.2 Hz); 5.30 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.5 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.2 Hz); 4.68-4.62 (m, 2H, H2‘); 4.53-4.44 (m, 2H, H4‘); 4.39-4.20 (m, 4H, H5‘, H5‘‘); 3.70 (s, 6H, OCH_3); 2.30-2.21 (m, 2H, H3‘); 2.03-1.94 (m, 2H, H3‘‘)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 156.40 (C6); 155.90, 155.87 (C5-aryl); 152.96 (C2); 149.36 (C4); 143.38, 143.31 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 4.1 Hz); 139.26, 139.22 (C8); 122.06, 121.97 (d,C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 2.5 Hz); 119.46

(C5); 119.40, 119.36 (d, C3-aryl, $^3J_{CP}$ = 5.1 Hz); 115.49, 115.39 (C6-aryl); 110.92, 110.88 (C4-aryl); 91.13, 91.08 (C1‘); 78.25, 78.18 (d, C4‘, $^3J_{CP}$ = 3.1 Hz); 74.40, 74.36 (C2‘); 69.38, 69.27 (CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 5.1 Hz); 68.80, 68.70 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 7.1 Hz); 55.92 (OCH_3); 34.73, 34.68 (C3‘)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6) -8.43 (die chemische Verschiebung der beiden Diastereomeren ist identisch. Das Vorhandensein eines Diastereomerengemisches geht aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum hervor!)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -8.33 - -8.54 (m)

MS (MALDI): m/z 450.4 ($M+H^+$), 472.2 ($M+Na^+$), 488.2 ($M+K^+$)

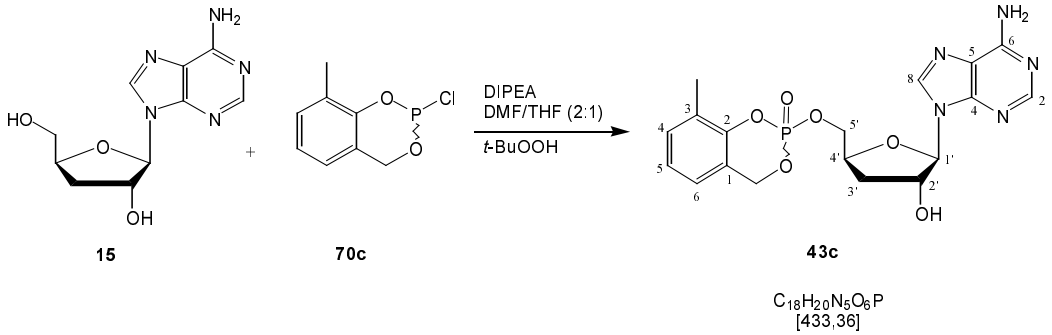
UV(CH_3CN): λ_{max} 257.4 nm, 194.5 nm; λ_{min} 237.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3425, 1645, 1497, 1286, 1200, 1025, 955, 919, 820, 724, 648

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.28

analyt. HPLC: t_R: 12.13 min, 12.25 min (97 %, Gradient III)

6.21.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3'-dAMP) 43c



Die Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(3'-desoxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-3'-dAMP) **43c** wurde nach der allgemeinen Methode in Kapitel 6.21.1 durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.40 mmol, 1.0 Äquiv.) 3'-Desoxyadenosin (Cordycepin) in einem Gemisch aus 3.00 ml Dimethylformamid und 1.50 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 155 mg (205 µl, 1.20 mmol, 3.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) und 160 mg (0.8 mmol, 2.0 Äquiv.) des cyclischen Saligenylchlorphosphans **70c** bei -40 °C umgesetzt. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit 0.17 ml (0.86 mmol, 2.2 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan oxidiert.

Ausbeute: 60.7 mg (0.14 mmol, 35 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.17 (s, H8); 8.15 (s, 1H, H8); 8.106 (s, 1H, H2); 8.102 (s, 1H, H2); 7.27 (s, 4H, NH_2); 7.20-7.16 (m, 2H, H5-aryl); 7.05-7.00 (m, 4H, H4-aryl, H6-aryl); 5.87 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 2.6 Hz); 5.86 (d, 1H, H1‘, $^3J_{HH}$ = 2.8 Hz); 5.74-5-73 (m, 2H, OH); 5.42 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.2 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.38 (dd, 1H, H_A-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.0 Hz, $^3J_{HP}$ = 17.0 Hz); 5.34 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.9 Hz); 5.31 (dd, 1H, H_B-benzyl, $^2J_{HH}$ = 14.3 Hz, $^3J_{HP}$ = 9.8 Hz); 4.69-4.61 (m, 2H, H2‘); 4.25-4-46 (m, 2H, H4‘); 4.40-4.21 (m, 4H, H5‘, H5‘‘); 2.31-2.22 (m, 2H, H3‘); 2.17 (s, 3H, CH_3); 2.11 (s, 3H; CH_3); 2.03-1.94 (m, 2H, H3‘‘)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 156.39 (C6); 152.92 (C2); 149.33 (C4); 148.23, 148.16 (d, C2-aryl, $^2J_{CP}$ = 5.2 Hz); 139.22, 139.15 (C8); 131.14, 131.12 (C4-aryl); 127.20, 127.14 (C3-aryl); 124.20 (C5-aryl): 123.78 (C6-aryl); 121.19, 121.12 (C1-aryl); 119.36 (C5); 91.15, 91.11 (C1‘); 78.27, 78.21 (C4‘); 74.43, 74.39 (C2‘); 69.44, 69.39 (d, CH_2-benzyl, $^2J_{CP}$ = 4.8 Hz); 68.74, 68.64 (d, C5‘, $^2J_{CP}$ = 7.3 Hz); 34.73, 34.67 (C3‘); 15.22, 15.11 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6) -7.99, -8.03

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202.5 MHz, DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -7.88 - -8.13 (m)

MS (MALDI): m/z 434.5 ($M+H^+$), 456.4 ($M+Na^+$), 472.3 ($M+K^+$)

UV(CH_3CN): λ_{max} 258.0 nm 197.1 nm; λ_{min} 233.0 nm

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] 3398, 2926, 1731, 1646, 1602, 1474, 1418, 1373, 1294, 1190, 1010, 946, 821, 776, 721, 649

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.28

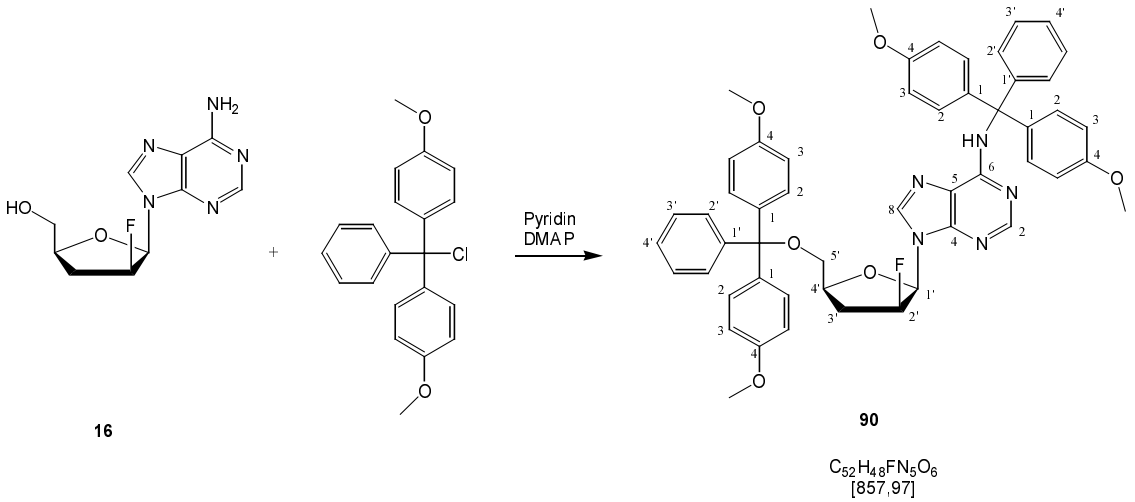
analyt. HPLC: t_R: 12.59 min (98 %, Gradient III)

6.22 Synthese von *cyclo*Sal-(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat (3-Me-*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP) 38c unter Verwendung von 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid als Schutzgruppe

Durch die für nucleophile Substitutionen sehr reaktive exocyclische Aminogruppe des Adenins kommt es während der Reaktion zu Nebenprodukten, die durch eine geeignete

Schutzgruppenstrategie verhindert werden können. Es wurde hierfür die säurelabile Schutzgruppe 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid gewählt.

6.22.1 Darstellung von N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin 90



In einer Inertgasatmosphäre unter Feuchtigkeitsausschluß wurden 50 mg (0.2 mmol, 1.0 Äquiv.) 2'-Fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin (2'-F-*ara*-ddA) **16** in 2.00 ml wasserfreiem Pyridin suspendiert und mit 2.5 mg (0.02 mmol, 0.1 Äquiv.) Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt. Anschließend wurden 200 mg (0.59 mmol, 3.0 Äquiv.) 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid (DMTrCl) hinzugegeben. Die Suspension verfärbte sich gelb und wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Reaktionsmischung wurde 4.0 ml einer 50 %igen wässrigen Lösung von Pyridin hinzugegeben und im Anschluß zweimal mit je 10 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Wasser, gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wiederum Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und restliches Pyridin mit Toluol coevapoiert. Nach Trocknung im Ölpumpenvakuum erhielt man einen hellgelben Schaum. Die Aufreinigung erfolgte chromatographisch zunächst mit einem Petrolether/Dichlormethan-Gemisch (50-100 % Dichlormethan), anschließend wurde ein Methanol-Gradient von 1-3 % verwendet. Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 161 mg (0.19 mmol, 95 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.06 (s, 1H, H2); 8.02 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 3.1 Hz); 7.40-7.24 (m, 18 H, DMTr); 6.91 (s, br, 1H, NH); 6.87-6.78 (m, 8H, DMTr); 6.27 (dd, 1H, H1', $^3J_{HF}$ = 20.4 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 2.7 Hz); 5.17 (d, 1H, H2', $^2J_{HF}$ = 52.8 Hz); 4.41-4.30 (m, 1H, H4'); 3.80 (s, 3H, OCH_3); 3.79 (s,

3H, OCH_3); 3.78 (s, 6H, OCH_3); 3.43 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.0 Hz); 3.27 (dd, 1H, H5', $^2J_{HH}$ = 10.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 4.0 Hz); 2.63-2.21 (m, 2H, H3', H3")

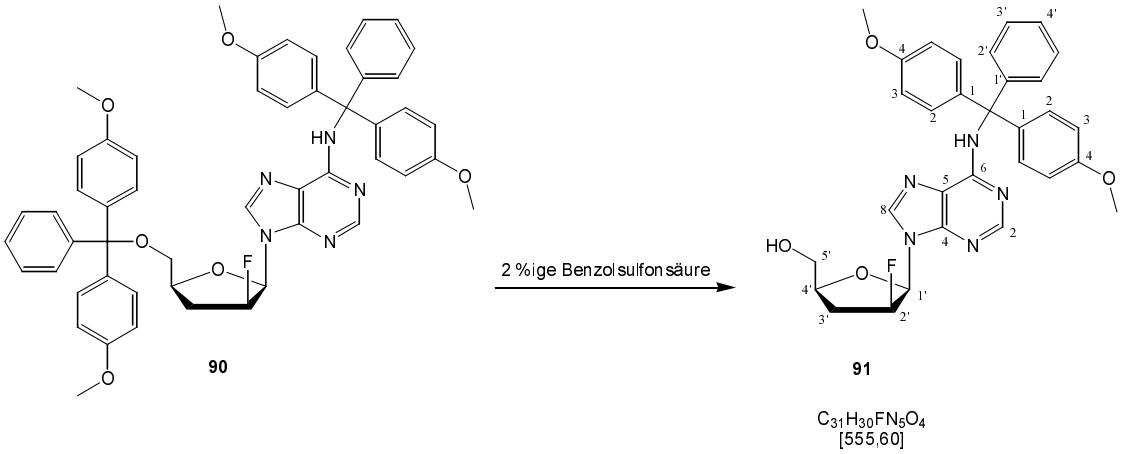
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 158.32, 158.31 (C4-5'O-DMTr); 157.90 (C4-N6-DMTr); 153.80 (C2); 151.81 (C6); 148.51 (C4); 145.53 (C1'-N6-DMTr); 145.00 (C1'-5'O-DMTr); 139.82 (d, C8, $^4J_{CF}$ = 5.7 Hz); 137.46 (C1-N6-DMTr); 135.87 (C1-5'O-DMTr); 129.96 (C2-5'O-DMTr); 129.85 (C2-N6-DMTr); 128.59 (C3'-5'O-DMTr); 128.02 (C3'-N6-DMTr); 127.89 (C2'-5'O-DMTr); 127.85 (C2'-N6-DMTr); 126.91 (C4'-5'O-DMTr); 126.63 (C4'-N6-DMTr); 120.07 (C5); 113.40 (C3-5'O-DMTr); 113.18 (C3-N6-DMTr); 91.36 (d, C2', $^1J_{CF}$ = 186.0 Hz); 85.64 (quart. C, 5'O-DMTr); 83.92 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 16.2 Hz); 76.09 (C4'); 69.86 (quart. C, N6-DMTr); 55.22 (OCH_3); 55.17 (OCH_3); 65.68 (C5'); 33.33 (d, C3', $^1J_{CF}$ = 20.0 Hz)

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.50 MHz DMSO-d_6) - 186.77

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.50 MHz DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) - 186.6 - - 186.9

UV(CH_3CN): λ_{max} 272.9 nm, 232.6 nm, 204.0 nm; λ_{min} 254.1 nm

6.22.2 Darstellung von N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin 91



Zu einer Lösung aus 100 mg (0.12 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6,$O^{5'}$-Bis(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **90** in wenig Dichlormethan wurden mit 3.0 ml einer 2 %igen Benzolsulfonsäure-Lösung in einem Dichlormethan/Methaonl-Gemisch (7:3) versetzt. Nach genau 2.5 Minuten Reaktionszeit wurde die Reaktionsmischung sofort chromatographisch mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-20 %) aufgereinigt. Die

Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 57 mg (0.10 mmol, 85 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 8.34 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 2.0 Hz); 7.94 (s, 1H, H2); 7.31 (s, br, 1H, NH); 7.30-7.17 (m, 9H, DMTr); 6.85-6.81 (m, 4H, DMTr); 6.29 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 15.6 Hz, , $^3J_{HH2'}$ = 3.8 Hz); 5.40 (dddd, 1H, H2‘, $^2J_{HF}$ = 54.6 Hz, $^3J_{HH1'}$ = 3.8 Hz, $^3J_{HH3'}$ = 3.8 Hz, $^3J_{HH3''}$ = 5.8 Hz); 5.03 (s, br, 1H, OH); 4.20-4.14 (m, 1H, H4‘); 3.71 (s, 6H, OCH_3); 2.56 (dddd, 1H, H3‘, $^3J_{HF}$ = 27.9 Hz, $^2J_{HH}$ = 13.8 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 7.2 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 6.1 Hz); 2.26 (dddd, 1H, H3‘‘, $^3J_{HF}$ = 27.3 Hz, $^2J_{HH}$ = 14.1 Hz, $^3J_{HH4'}$ = 6.2 Hz, $^3J_{HH2'}$ = 3.8 Hz)

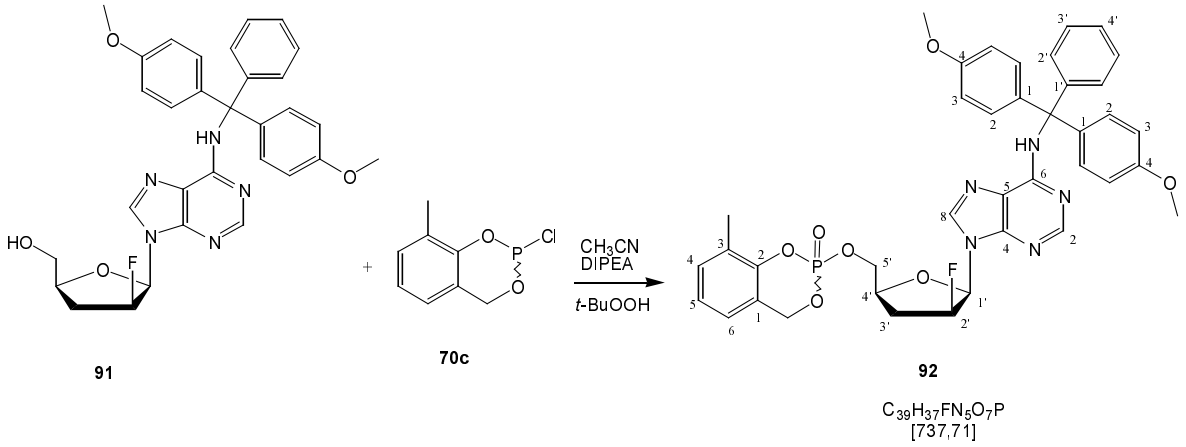
^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 157.89 (C4-DMTr); 153.76 (C2); 151.66 (C6); 148.47 (C4); 145.53 (C1‘-DMTr); 140.25 (C8); 137.47 (C1-DMTr); 129.95 (C2-DMTr); 128.57 (C3‘-DMTr); 127.86 (C2‘-DMTr); 126.63 (C4‘-DMTr); 120.15 (C5); 113.18 (C3-DMTr); 91.50 (d, C2‘, $^1J_{CF}$ = 187.1 Hz); 83.96 (d, C1‘, $^2J_{CF}$ = 16.1 Hz); 78.07 (C4‘); 69.83 (quart. C, DMTr); 63.06 (C5‘); 55.18 (OCH_3); 32.52 (d, C3‘, $^2J_{CF}$ = 19.9 Hz)

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.4 MHz DMSO-d_6) -187.6

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.4 MHz DMSO-d_6, ^{1}H gekoppelt) -187.58 (dddd, $^2J_{FH2'}$ = 53.4 Hz, $^3J_{FH1'}$ = 15.3 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.7 Hz, $^3J_{FH3'}$ = 26.7 Hz)

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.52

6.22.3 Darstellung von *N*^{6}-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-*cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat 92



50 mg (0.09 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **91** wurden zweimal mit wasserfreiem Pyridin coevapoiert, in 1.0 ml wasserfreiem Acetonitril gelöst und 23 mg (31 µl, 0.18 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*,*N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) hinzugegeben. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und eine Lösung aus 55 mg (0.27 mmol, 3.0 Äquiv.) cyclischem Saligenylchlorphosphan **70c** in 0.5 ml wasserfreiem Acetonitril hinzugetropft. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert. Es wurde auf einen vollständigen Umsatz des N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosin **91** geachtet. Das intermediär gelbildete Phosphit wurde mit it 0.06 ml (0.30 mmol, 3.3 Äquiv.) einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan bei 0 °C oxidiert und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach dem Abkondensieren des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erhielt man ein gelbes Öl, welches chromatographisch aufgereinigt wurde. Dazu wurde das Rohprodukt in wenig Dichlormethan aufgenommen und zuerst mit einem Essigsäureethylester/Methanol-Gradienten (5-20 %) von vorhanden Salzen befreit. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und anschließendem lyophilisieren erhielt man einen farblosen, wattigen Feststoff.

Ausbeute: 31.5 mg (0.045 mmol, 50 %)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6) 8.25 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 3.1 Hz); 8.23 (d, 1H, H8, $^5J_{HF}$ = 3.1 Hz); 7.95 (s, 1H, H2); 7.93 (s, 1H, H2); 7.38 (s, 1H, NH); 7.37 (s, 1H, NH); 7.33-7.22 (m, 24H, DMTr, H-aryl); 7.07-7.05 (m, 4H, H-aryl); 6.87-6.81 (m, 8H, DMTr); 6.37 (dd, 1H, H1‘, $^3J_{HF}$ = 18.3 Hz, , $^3J_{HH2‘}$ = 3.1 Hz); 6.35 (dd, 1H, H1‘;$^3J_{HF}$ = 18.3 Hz, , $^3J_{HH2‘}$ = 3.1 Hz); 5.55-5.38 (m, 5H, H-benzyl, H2‘); 5.31-5.27 (m, 1H, H2‘); 4.42-4.32 (m, 6H, H5‘, H4‘); 3.70 (s, 12H, OCH_3); 2.72-2.57 (m, 2H, H3‘); 2.37-2.15 (m, 2H, H3‘‘); 2.19 (s, 1.5H, CH_3); 2.41 (s, 1.5H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100.6 MHz, DMSO-d_6) 158.06 (C4-N^6-DMTr); 153.93 (C6); 151.92 (C2); 150.72, 150.69 (C4); 150.40, 150.33 (d, C2-aryl, $^3J_{CP}$ = 3.8 Hz); 145.69 (C1'-N^6-DMTr); 142.43 (C8); 139.71 (C1-N^6-DMTr); 133.31, 133.27 (C4-aryl); 130.13 (C2-N^6-DMTr); 128.74 (C3'-N^6-DMTr); 128.03 (C2'-N^6-DMTr); 129.35. 129.27 (C3-aryl); 128.90 (C4'-N^6-DMTr); 126.37, 126.35 (C5-aryl); 125.97, 125.95 (C6-aryl); 123.41, 123.30 (d, C1-aryl, $^3J_{CP}$ = 9.5 Hz); 122,33, 122,30 (C5); 115.44 (C3-N^6-DMTr); 91.50 (d, C2', $^2J_{CF}$ = 187.1 Hz); 86.72, 86.57 (d, C1', $^2J_{CF}$ = 15.2 Hz); 77.75, 77.64 (C4'); 72.09

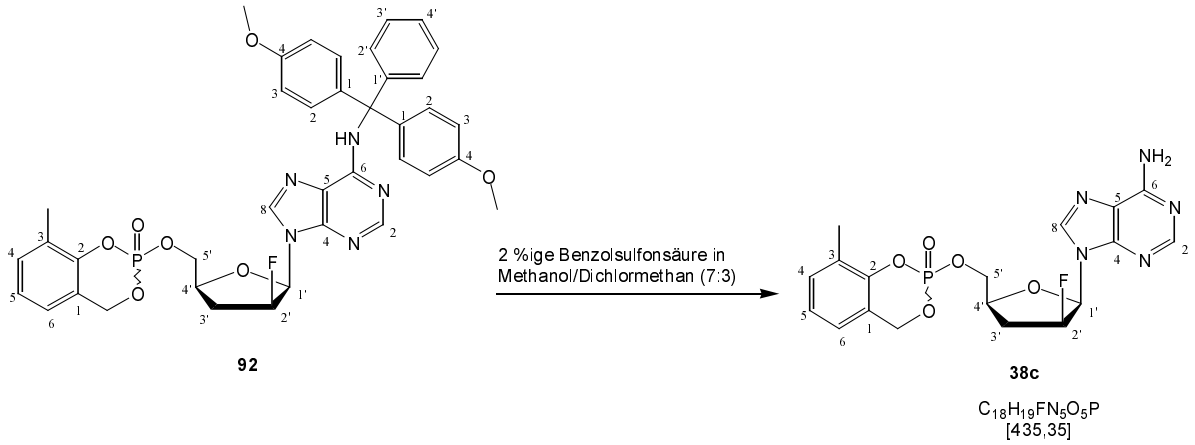
(quart. C, DMTr); 71.85 (CH_2-benzyl.); 70.88, 70.82 (d, C5', $^3J_{CP}$ = 6.7 Hz); 57.44 (OCH_3); 57.35 (OCH_3); 34.98 (d, C3', $^2J_{CF}$ = 20.0 Hz); 17.34, 17.18 (CH_3)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161.97 MHz, DMSO-d_6) -8.90, -8.92

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz DMSO-d_6) -187.1, -187.3

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.54

6.22.4 Darstellung von *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat 38c



31 mg (0.044 mmol, 1.0 Äquiv.) N^6-(4,4'-dimethoxytriphenylmethyl)-*cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat **92** wurden in wenig Dichlormethan gelöst und anschließend mit 3.00 ml einer 2 %igen Lösung Benzolsulfonsäure in Methanol/Dichlormethan (7:3) gelöst. In kurzen Abständen (2, 5, 8 und 10 Minuten) Reaktionszeit wurde die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie konntrolliert und nach 10 Minuten ohne weitere Aufarbeitung sofort chromatographisch aufgereinigt. In einer zweiten Trennung wurde mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (0-10 %) aufgereinigt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels der erhaltenen Produktfraktionen am Rotationsverdampfer und anschließendem Lyophilisieren konnte *cyclo*(3-Methylsaligenyl)-5'-*O*-(2'-fluor-*ara*-2',3'-didesoxyadenosinyl)phosphat **38c** als ein farbloser, wattiger Feststoff in einer Ausbeute von 91 % isoliert werden.

Ausbeute: 17.3 mg (0.04 mmol, 91 %)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161.97 MHz, DMSO-d_6) -8.90, -8.94

^{19}F-NMR: δ [ppm] (376.5 MHz DMSO-d_6) -187.2, -187.3

R_f-Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v) 0.42

Die weiteren spektroskopischen Daten (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR etc.) entsprachen denen in Kapitel 6.16.7 auf Seite 221 beschriebenen.

R & S-Sätze der verwendeten Chemikalien

	Chemikalien	**R-Sätze** (Gefahren-hinweise)	**S-Sätze** (Sicherheits-ratschläge)	**F-Sätze** (Stoffeigen-schaften & Handhabung)	**Gefahren-symbole**
A	Acetonitril	11-23/24/25	16-17-45		F, T
	Acetylbromid	14-24	26-36/37/39-45		C
	Adenosin		22-24/25	10-23	
	Ammoniak	10-23	7/9-16-38-45		T
	Argon (Qualität 4.8)				
	□,□‘-Azoisobutyronitril	2-11-20/22	39-41-47	4	E, Xn
B	Benzol	45-11-48/23/24/25	53-45		F, T
	Benzolsulfonsäure	34	26-36/37/39-45		C
	tert-Butyldimethylsilylchlorid	10-34-37	26-36/37/39-45	10-21	C
	*t*ert-Butylhydroperoxid	7-10-21/22-23-34	3/7-14-26-36/37/39-45	10-21	O, C
	2-*sek*-Butylphenol	22-36/37/38	26-36/39		Xn
	4-*sek*-Butylphenol	22-36/37/38	26-36/39		Xn
	2-*tert*-Butylphenol	22-36/37/38	26-36/39		Xn
	4-*tert*-Butylphenol	22-36/37/38	26-36/39		Xn
C	Chloroform	22-38-40-48/20/22	36/37		Xn
D	2‘-Desoxyadenosin			10-23	
	3‘-Desoxyadenosin			10-21	
	2‘-Desoxyadenosin-monophosphat		22-24/25	10-21	
	Dichlormethan	40	23-24/25-36/37		Xn
	ortho-Dichlormethyl-methylether	10-20/21/22-36/37/38-40	26-36/37/39-45	21	Xn
	Diethylaminoschwefeltrifluorid	14-23-34	26-36/37/39-45	3-10-21	T, C
	Diethylether	12-19	9-16-29-33		F+
	N,*N*-Diisopropylamin	11-36/37/38	9-16		F, Xi

	Chemikalien	R-Sätze (Gefahren-hinweise)	S-Sätze (Sicherheits-ratschläge)	F-Sätze (Stoffeigen-schaften & Handhabung)	Gefahren-symbole
	N,*N*-Diisopropylethylamin	11-20/21/22-34	16-26-36/37/39-45	9-34	F, C
	4,4‘-Dimethoxytriphenyl-methylchlorid		22-24/25	10-21	
	4,4‘-Dimethylaminopyridin	24/25-36/37/38	26-36/37/39-45		T
	Dimethylformamid	61-20/21-36	53-45		T
	2,4-Dimethylphenol	24/25-34	28-45		T
	Dimethylsulfoxid		24/25	3	
E	Essigsäure	10-35	23-26-45		C
	Essigsäureethylester	11	16-23-29-33		F
	Ethanol	11	7-16		F
G	Glycin				
H	2-Hydroxy-benzylalkohol		22-24/25		
	2-Hydroxy-5-methoxybenzoesäure	22-37/38-41	26-36/39		Xn
	2-Hydroxy-3-methylbenzoesäure	22-37/38-41	26-36/39		Xn
I	Imidazol	22-34	26-36/37/39-45		C
K	Kalium-*tert*-butylat	11-14-22-34	7/8-16-26-36/37/39-43-43-45	21	F, C
	di-Kaliumhydrogenphosphat				
	Kaliumhydroxid	35	26-37/39-45		C
	Kupfer(II)acetat	22	22-24/25		Xn
L	Lithiumaluminiumhydrid	15	7/8-24/25-43		F+
	2,4-Lutidin	10-20/21/22	36/37	8	Xn
M	Magnesiumsulfat		22-24/25	3-10	
	Mesylchlorid	26-35-37	26-36/37/39-45		T
	Methanol	11-23/25	7-16-24-45		F, T
	N-Methylimidazol	21/22-34	26-36-45		C
N	Natriumborhydrid	15-25-34	26-36/37/39-43-43-45		F, T

	Chemikalien	R-Sätze (Gefahren-hinweise)	S-Sätze (Sicherheits-ratschläge)	F-Sätze (Stoffeigen-schaften & Handhabung)	Gefahren-symbole
	Natriumchlorid				
	Natriumdihydrogenphosphat			3	
	Natriumhydrogencarbonat		22-24/25		
	Natriumhydroxid	35	26-37/39-45		C
	Natriumsulfat		22-24/25		
O	1-Octanol	22-36/38	26-36		Xn
P	Paraformaldehyd	23/24/25-34-40-43	26-36/37-45-51		T
	Petrolether	12	9-16-29-33		F
	Phosphoroxychlorid	34-37	7/8-26-45	19-21	C
	ortho-Phosphorsäure	34	26-45		C
	Phosphortrichlorid	34-37	7/8-26-45	21	C
	2-Propanol	11	7-16		F
	Pyridin	11-20/21/22	26-28		F, Xn
	Pyridin-hydrochlorid	20/21/22-36/37/38	26-36	3-10	Xn
S	Salzsäure	34-37	26-45		C
	Sauerstoff	8	17	4	O
	Schwefelsäure	35	26-30-45	3	C
T	Tetrabutylammoniumfluorid	23/24/25-34	26-36/37/39-45	3-10	T, C
	Tetrabutylammoniumhydroxid	34	26-36/37/39-45	4-10-34	C
	Tetrahydrofuran (THF)	11-19-36/37	16-29-33		F, Xi
	1H-Tetrazol	5-11	16-22-24/25	4 (90 °C)	
	Thymidin			10	
	Titantetrachlorid	34	26-45		C
	Toluol	11-20	16-25-29-33		F, Xn
	Toluol-4-sulfonsäure-monohydrat	36/37/38	26-37	3	Xi
	Tributylzinnhydrid	14-21-25-36/38-48/23/25	35-36/37/39-45	1-10	T+
	Triethylamin (TEA)	11-36/37	16-26-29	10-34	F, Xi

	Chemikalien	**R-Sätze** (Gefahren-hinweise)	**S-Sätze** (Sicherheits-ratschläge)	**F-Sätze** (Stoffeigen-schaften & Handhabung)	**Gefahren-symbole**
	Trifluoressigsäure (TFA)	20-35	9-26-27-28-45	3	C
	Trimethylorthoacetat	11	16		F
	Trioctylamin	36/38	26-36	10-23	Xi
	Triphenylmethylchlorid	34	26-36/37/39-45	9-19-21	C
Z	Zink	15-17	7-8-43-43		F
	Zinntetrachlorid	34-37	7/8-26-45	10-21	C

7. Literaturverzeichnis

[1] F. Barré-Sinoussi, J.C. Cherman, F. Rey, M.T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruset, C. Dauget, 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

[2] M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Reed, R.C. Gallo; Detection, isolation and continious production of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS; *Science* **1984**, *224*, 497-499

[3] Report to the global HIV/AIDS epidemic, June **2000** UNAIDS/00.13, http://www.unaids.org/epidemic_update/report_dec00/index_dec.html

[4] Report to the global HIV/AIDS epidemic, June **2000** UNAIDS/00.13, http://www.unaids.org/epidemic_update/report/Table_E.htm

[5] S. Vella, L. Palmisano; Antiretroviral therapy: state of the HAART; *Antiviral Research* **2000**, *45*, 1-7

[6] V. Kak, R.D. MacArthur, L.R. Crane L; Treatment of HIV disease in the new millennium; *Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg*. **2000,** *12*(2), 140-144

[7] U. Dietrich, H. von Briesen; HIV ≠ HIV: Ein Virus mit extremer Mutationsrate; in *Forschung Frankfurt* **1999**, *17*(1), 6-17

[8] K.E. Nye, J.M. Parkin; *HIV und AIDS - Die molekularbiologischen Grundlagen*; Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford, **1995**

[9] E. De Clercq; Chemotherapeutic approaches of the treatment of the acquired immuno-deficiency syndrome; *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1561-1569

[10] E. De Clercq; Toward improved anti-HIV chemotherapy: therapeutic strategies for intervention with HIV infections; *J. Med. Chem.* **1995**, *39*, 2491-2514

[11] H. Mitsuya, S. Broder; Strategies for antiviral therapy in AIDS; *Nature* **1987**, *325*, 773-778

[12] E. De Clercq; HIV resistance to reverse transkriptase inhibitors; *Biochem. Pharmacol*. **1994**, *47*, 155-169

[13] *Deutsches Ärzteblatt* **1999,** *96*, Heft 24, Seite A-1600

[14] J.M. Kilby, S. Hopkins, T.M. Venetta, B. DiMassimo, G.A. Cloud, J.Y. Lee, L. Alldredge, E. Hunter, D. Lambert, D. Bolognesi, T. Matthews, M.R. Johnson, M.A. Nowak; Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry; *Nat. Med.* **1998**, *4*, 1302-1307

[15] J. Lalezari, J. Eron, M. Carlson; Safety, pharmocokinetics, and antiviral activity of T-20 as a single agent in heavily pre-treated patients; [Abstract LB13] *6th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, Chicago,**1999**

[16] E. DeClercq; The emerging role of fusion inhibitors in HIV-infection Drugs; **1999**, *2*(5), 347-349

[17] Phase II begins for T-20, *Aids Patient Care STDS* **1999**, *13*(9), 567-568

[18] P.A. Furman, J.A. Fyfe, M.H. St. Clair, K. Weinhold, J.L. Rideout, G.A. Freeman, S.N. Lehrmann, D. Bolognesi, S. Broder; Phosphorylation of 3‘-azido-3‘-deoxythymidine and selective interaction of the triphosphat with human immunodeficiency virus reverse transcriptase; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1986**, *83*, 8333-8337

[19] Z. Hao, D.A. Cooney, N.R. Hartman, C.-F. Perno, A. Fridland, A.L. DeVico, M.G. Sarngadharan, S. Broder, D.G. Johns; Factors determining the activity of 2‘,3‘-dideoxy-nucleosides in suppressing human immunodeficiency virus in vitro; *Mol. Pharmacol.* **1989**, *34*, 431-435

[20] H. Mitsuya, S. Broder; Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/Lymphaadenopathy-associated virus (HTLV-III/LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1986**, *83*, 1911-1915

[21] D.A. Cooney, G. Ahluwalia, J. Mitsuya, A. Friedland, M. Johnson, Z. Hao, M. Dalal, J. Balzarini, S. Broder, D.G. Johns; Initial Studies of the Cellular Pharmacology of 2',3'-Dideoxyadenosine, an Inhibitor of HTLV-III Infection; *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *26*, 1765-1768

[22] D.A. Carson, T. Haertle, D.B. Wasson, D.D. Richman; Biochemical Genetic Analysis of 2',3'-Dideoxyadenosine Metabolism in Human T-Lymphocytes; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *151*, 788-793

[23] P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clercq, *Advances in antiviral Drug Design* (Ed.: E. De Clercq) Vol. 1 **1993** S. 233-318; JAI. Press Inc., Greenwich, Conneticut; London, England

[24] Z. Hao, D.A. Cooney, N.R. Hartman, C.-F. Perno, A. Friedland, A.L. DeVico, M.G. Sarngadharan, S. Broder, D.G. Johns; Factors Determining the Activity of 2',3'-Dideoxynucleosides in Suppressing Human Immunodeficiency Virus in vitro; *Mol. Pharmacol.* **1988**, *34*, 431-435

[25] G. Ahluwalia, D.A. Cooney, H. Mitsuya, A. Fridland, K.P. Flora, Z. Hao, M. Dalal, S. Broder, D.G. Johns; Inital Studies on the Cellular Pharmacology of 2',3'-Dideoxyinosine, an Inhibitor of HIV Infectivity; *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*, 3797-3800

[26] M.A. Johnson, G.Ahluwalia, M.C. Connelly, D.A. Cooney, S. Broder, D.G. Johns, A. Friedland; Metabolic Pathways for the Activation of the Antiretroviral Agent 2',3'-Dideoxyadenosine in Human Lymphoid Cells; *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 15354-15357.

[27] M.A. Johnson, A. Fridland; Phosphorylation of 2',3'-Dideoxyinosine by Cytosolic 5'-Nucleotidase of Human Lymphoid Cells; *Mol. Pharmacol.* **1989**, *36*, 291-295

[28] J.P. Sommadossi; Nucleoside Analogues: Similarities and Differences; *Clin. Infect. Dis.* **1993**, *16*, S7-S15

[29] W.Y. Gao, T. Shirasaka, D.G. Johns, S. Broder, H. Mitsuya; Differential Phosphorylation of Azidothymidine, Dideoxycytidine, and Dideoxyinosine in Resting and Activated Peripheral Blood Mononuclear Cells; *J. Clin. Invest.* **1993**, *91*, 2326-2333

[30] V. Nair, T.B. Sells; Interpretation of the Roles of Adenylosuccinate Lyase and of AMP Deaminase in the Anti-HIV Activity of 2',3'-Dideoxyadenosine and 2',3'-Dideoxyinosine; *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1119*, 201-204

[31] A. Fridland, M.A. Johnson, D.A. Cooney, G. Ahluwalia, V.E. Marquez, J.S. Driscoll, D.G. Johns; Metabolism in Human Leukocytes of Anti-HIV Dideoxypurine Nucleosides; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1990**, *616*, 205-216

[32] J.L. York; Effect of the Structure of the Glycon on the Acid-Catalyzed Hydrolysis of Adenine Nucleosides; *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 2171-2173

[33] C. Perigaud, A.-M. Aubertin, S. Benzaria, H. Pélicano, J.-L. Giradet, G. Maury, G. Gosselin, A. Kirn, J.-L. Imbach; Equal Inhibition of the Replication of Human Immunodeficiency Virus in Human T-Cell Culture by ddA Bis(Sate)phosphotriester and 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 11-14

[34] E.R. Garrett, P.J. Mehta; Solvolysis of Adenine Nucleosides. I. Effects of Sugars and Adenine Substituents on Acid Solvolysis; *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*(24), 8532-8541

[35] V.E. Marquez, C.K.-H. Tseng, H. Mitsuya, S. Aoki, J.A. Kelley, J. Ford, Jr., J.S. Roth, S. Broder, D.G. Johns, J.S. Driscoll; Acid-Stable 2'-Fluoro Purine Dideoxynucleosides as Active Agents against HIV; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*(3), 978-985

[36] V.E. Marquez, C. K.-H. Tseng, J.A. Kelley, H. Mitsuya, S. Broder, J.S. Roth, J.S. Driscoll; 2',3'-Dideoxy-2'-Fluoro-*ara*-A. An Acid-Stable Purine Nucleoside Active Against Human Immunodeficiency Virus (HIV); *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*(17), 2719-2772

[37] C.K. Chu, R.F. Schinazi, B.H. Arnold, D.L. Cannon, B. Doboszewski, V.B. Bhadti, Z. Gu; Comparative Activity of 2',3'-Saturated and Unsaturated Pyrimidine and Purine Nucleosides Against Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Peripheral Blood Mononuclear Cells; *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*(19), 3543-3548

[38] S. Aquaro, O. Wedgwood, C. Yarnold, D. Cahard, R. Pathinara, C. McGuigan, R. Calio, E. De Clercq, J. Balzarini, C.-F. Perno; Activities of Masked 2',3'-Dideoxy-nucleoside Monophosphate Derivatives against Human Immunodeficiency Virus in Resting Macrophages; *Antimicrob. Agents & Chemother.* **2000**, *44*(1), 173-177

[39] A. Q. Siddiqui, C. McGuigan, C. Ballatore, O. Wedgwood, E. De Clercq, J. Balzarini; Simple Mono-Derivatisation of the Aryl Moiety of d4A and ddA-Based Phosphor-amidate Prodrugs Significantly Enhances their Anti-HIV Potency in Cell Culture; *Bioorg. & Med. Chem. Lett*. **1999**, *9*, 2555-2560

[40] M. Baba, R. Pauwels, P. Herdewijn, E. De Clercq, J. Desmyter, M. Vandeputte; Both 2',3'-dideoxythymidine and its 2',3'-unsaturated derivative (2',3'-dideoxythymidinene) are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus replication in vitro; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *142*(1), 128-134

[41] J. Balzarini, R. Pauwels, M. Baba, M.J. Robins, R. Zou, P. Herdewijn, E. De Clercq; The 2',3'-Dideoxyriboside of 2,6-Diaminopurine Selectively Inhibits Human Immunodeficiency Virus (HIV) Replication *in vitro*; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *145*, 269-276

[42] J. Balzarini, G.-J. Kang, M. Dalal, P. Herdewijn, E. De Clercq, S. Broder, D.G. Johns; The Anti-HTLV-III (Anti-HIV) and Cytotoxic Activity of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyribonucleosides: A comparison with their parental 2',3'-Dideoxyribonucleosides; *Mol. Pharmacol*. **1987**, *32*, 162-167

[43] P. Herdewijn, J. Balzarini, M. Baba, R. Pauwels, A. Van Aerschot, G. Janssen, E. De Clercq; Synthesis and anti-HIV activity of different sugar-modified pyrimidine and purine nucleosides; *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 2040-2048

[44] H. Mitsuya, M. Matsukura, S. Broder; *AIDS. Modern Concepts and Therapeutic Challanges* (Ed.: S. Broder), Marcel Dekker, New York and Basel, **1987**, Seite 303

[45] J. Balzarini, J. Kruining, O. Wedgwood, C. Pannecouque, S. Aquaro, C.-F. Perno, L. Naesens, M. Witvrouw, R. Heijtink, 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

[46] R.J. Suhadolink; *Nucleosides as Biological Probes*; Wiley-Interscience & Sons: New York, **1979**, 119-135

[47] K.G. Cunningham, S.A. Hutchinson, W. Manson, F.S. Spring; Cordycepin, a Metabolic Product from Cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. Part I. Isolation and Characterisation; *J. Chem. Soc.* **1951**, 2299-2300

[48] P.I. Trigg, W.E. Gutteridge, J. Williamson; A rapid method for the complete removal of white cells from large batches of monkey blood infected with the trophozoite- and schizont-Stages of Plasmodium Knowlesi; *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1971**, *65*, 418

[49] J. Williamson; *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1966**, *60*, 8

[50] J. Williamson; *Parasitology* **1969**, *59*, 9

[51] D.V. Jagger, N.M. Kredich, A.J. Guarino; Inhibition of Ehrlich Mouse Ascites Tumor Growth by Cordycepin; *Cancer Res.* **1961**, *21*, 216-220

[52] E.A. Kaczka, E.L. Dulaney, C.O. Gitterman, H.B. Woodruff, K. Folkers; Isolation and inhibitory effects of KB cell cultures of 3‘-deoxyadenosine from Aspergillus nidulans (Eidam) Wint.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1964**, *14*, 452-455

[53] A. Block, C.A. Nichol; *Antimirob. Agents Chemotherapy* **1969**, 530

[54] R.J. Suhadolnik; Naturally occurring nucleoside and nucleotide antibiotics; *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **1979**, *22*, 193-291

[55] H.R. Bentley, D.G. Cunningham, F.S. Spring; Cordycepin, A Metabolic Product from Cultures of Cordyceps militaris (Linn.) Link. Part II. The Structure of Cordycepin; *J. Chem. Soc.* **1951**, 2301-2305

[56] M.M. Radwan, H.R. Wilson; The Structure of Cordycepin; *Acta. Cryst.* **1980**, *B36*, 2185-2187

[57] E. Westhof, H. Plach, I. Cuno, H.-D. Lüdermann; Proton magnetic resonance studies of 2'-, 3'-, and 5'-deoxyadenosine conformations in solution; *Nucleic Acids Research* **1977**, *4*, 939-953

[58] D. Bergstrom, D.J. Swartling; Fluorine Substituted Analogs of Nucleic Acid Components in *Fluorine-Containing Molecules. Structure, Reactivity, Synthesis and Applications*; Ed.: J.F. Liebman, A. Greenberg, W. R. Dolbier Jr., VCH, New York, **1988**, S. 259-308

[59] W.E. Barnette; *Crit. Rev. Biochem*. **1984**, *15*, 201

[60] R.D. Chambers; *Fluorine in Organic Chemistry*; Wiley, New York, **1973**, S. 65

[61] H. Ford Jr., F. Dai, L. Mu, M.A. Siddiqui, M.C. Nicklaus, L. Anderson, V.E. Marquez, J.J. Barchi Jr.; Adenosin Deaminase Prefers a Distinct Sugar Ring Conformation for Binding and Catalysis: Kinetic and Structural Studies; *Biochemistry* **2000**, *39*, 2581-2592

[62] J.D. Stoeckler, C.A. Bell, R.E. Parks, Jr., C.K. Chu, J.J. Fox, M. Ikehara; C(2')-Substituted Purine Nucleoside Analogs. Interactions with Adenosine Deaminase and Purine Nucleoside Phosphorylase and Formation of Analog Nucleotides; *Biochem. Pharmacol.* **1982**, *31*, 1723-1728

[63] R. Masood, G.S. Ahluwalia, D.A. Cooney, A. Fridland, V.E. Marquez, J.S. Driscoll, Z. Hao, H. Mitsuya, C.-F. Perno, S. Broder, D.G. Johns; 2'-Fluoro-2',3'-didesoxyadenosine: A Metabolic Stable Analogue of the Antiretroviral Agent 2',3'-Dideoxyadenosine; *Mol. Pharmacol.* **1989**, *37*, 590-596

[64] P. Herdewijn, R. Pauwels, M. Baba, J. Balzarini, E. De Clercq; Synthesis and anti-HIV Activity of Various 2'- and 3'-Substituted 2',3'-Dideoxyadenosines: A Structure-Activity Analysis; *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 2131-2137

[65] C. Meier, T. Knispel, V.E. Marquez, M.A. Siddiqui, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-Pronucleotides of 2'-Fluoro-*ara*- and 2'-Fluoro-*ribo*-2',3'-dideoxyadenosine as a Strategy to Bypass Metabolic Blockade; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624

[66] M.J. Boyle, M.E. Flanigan, H. Ford, M. Baseler, J. Adelsberger, R.T. Davey, H.C. Lane; The Hu-HIV/PBL-SCID Mouse: A Modified Hu-PBL-SCID Model for the Study of HIV Pathogenesis and Therapy; *J. Immunol.* **1995**, *154*, 6212-6223

[67] K. Ruxrungtham, E. Boone, H. Ford, J.S. Driscoll, R.T. Davey, H.C. Lane; Potent Activity of 2'-b-Fluoro-2',3'-dideoxyadenosine Against Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Hu-PBL-SCID mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40*, 2369-2374

[68] M.J.M. Hitchcock, D. Woods, H. De Boeck, H.-T. Ho; Biochemical Pharmacology of 2'-Fluoro-2',3'-dideoxyarabinosyladenine an Inhibitor of HIV with Improved Metabolic an Chemical Stability Over 2',3'-Dideoxyadenosine; *Antiviral Chem. Chemother.* **1990**, *1*, 319-327

[69] C.H. Tsai, S.-L. Doong, D.G. Johns, J.S. Driscoll, Y.-C. Cheng; Effect of Anti HIV 2'-β-Fluoro-2',3'-dideoxynucleoside Analogs on the Cellular Content of Mitochondrial DNA and on Lactate Production; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1477-1481

[70] H. Zhang, D.A. Cooney, A. Sreenath, Q. Zhan, R. Agbaria, E.E. Stowe, A.J. Fornace, Jr., D.G. Johns; Quantitation of Mitochondrial DNA in Human Lymphoblasts by a Competitive Polymerase Chain Reaction Method: Application to the Study of Inhibitors of Mitochondrial DANN Content; *Mol. Pharmacol.* **1994**, *46*, 1063-1069

[71] J.S. Driscoll, D.L. Mayers, J.P. Bader O.S. Weislow, D.G. Johns, R.W. Buckheit; 2'-Fluoro-2',3'-dideoxyadenosine (F-ddA): Activity Against Drug-Resistant Human Immunodeficiency Virus Strains and Clades A-E; *Antiviral Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 107-111

[72] R. Yarchoan; 12th World AIDS Conference, 28. Juni-3. Juli 1998, Genf, Abstr. No. 22281; J.A. Kelley; 12th World AIDS Conference, 28. Juni-3. Juli 1998, Genf, Abstr. No. 42263

[73] persönliche Mitteilung von H. Mitsuya **1997**

[74] A. Albert; Chemical Aspects of Selective Toxicity; *Nature* **1958**, *182*, 421-423

[75] R.B. Silverman; *Medizinische Chemie*; Kapitel 8, Seite 361-411, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1995**

[76] A.A. Sinkula, S.H. Yalkowsky; Rationale for Design of Biologically Reversible Drug Derivatives: Prodrugs; *J. Pharm. Sci.* **1975**, *64*, 181-210

[77] V.J. Stella, K.J. Himmelstein; Prodrugs and Site-specific Drug Delivery; *J. Med. Chem*. **1980**, *23*, 1275-1282

[78] H. Bundgaard; Novel chemical approaches in prodrug design; *Drugs of the Future* **1991**, *16*, 443.458

[79] P.L. Carl, P.K. Chakravarty, J.A. Katzenellenbogen; A novel connector linkage applicable in prodrug design; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 479-480

[80] E. Mutschler; Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 7. Aufl., Wiss. Verl.-Ges. Stuttgart, **1996**, Seite 206-207

[81] A.J. Kirby, M. Younas; The reactivity of Phosphate esters. Diester hydrolysis; *J. Chem. Soc. (B)* **1970**, 510-513

[82] C.A. Bunton, M.M. Mhala, K.G. Oldham, C.A. Vernon; The reaction of organic phosphates. Part III. The hydrolysis of dimethylphosphate; *J. Chem. Soc.* **1960**, 3293-3301

[83] F.H. Westheimer; Pseudorotation in the Hydrolysis of Phosphate Esters; *Acc. Chem. Res.* **1989**, *22*, 387-392

[84] R.J. Jones, N. Bischofsberger, Nucleotide prodrugs; *Antiviral Res.* **1995**, *27*, 1-17

[85] C. Perigaud, J.-L. Giradet, G. Gosselin, J.-L. Imbach*; Comments on nucleotide delivery forms*; In "Advances in Antiviral Drug Design", Vol. 2, 147-172, **1996**

[86] C. Meier; Pro-Nucleotides - Recent advances in the design of efficient tools for the desivery of biologically active nucleoside monophosphates; *Synlett* **1998**, 233-242

[87] D. Farquhar, J.K. Sastry, P.N. Nehete, S. Khan, B.J. Nowak, W. Plunkett, R.B. Arlinghaus; Membrane-Permeable Dideoxyuridine 5'-Monophosphate Analogues inhibits human immunodeficiency virus infections; *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 441-445

[88] A. Pompon, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, S. Khan, D. Farquhar; Decomposition pathways of the mono- and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine 5'-monophosphate in cell extract and in tussues culture medium: an application of the "on-line ISRP-cleaning" HPLC; *Antiviral Chem. & Chemother.* **1994**, *5*, 91-98

[89] R.V. Srinivas, B.L. Robins, M.C. Connelly, Y.-F. Gang, N. Bischofsberger; Metabolism and *in vitro* antiretroviral activities of bis(pivaloyloxymethyl) prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2247-2250

[90] D. Farquhar, S. Khan, D.N. Srivastva, P. P. Saunders; Synthesis and antitumor evaluation of bis[(pivaloyloxy)methyl]2'-deoxy-5-fluoruridine 5'-monophosphate (FdUMP): A strategy to introduce nucleotides into cells; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3902-3909

[91] W. Thomson, D. Nicholls, A.G. Mitchell, J.A. Corner, W.J. Irwin, S. Freeman; Synthesis and bioactivation of bis(aryloxymethyl) and mono(4-aryloxymethyl) esters of benzylphosphonate and phosphonoacetate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 2303-2308

[92] A.-M. Vandamme, K. Van Vaerenbergh, E. De Clercq; Anti-human immunodeficiency virus drug combination strategies; *Antiviral Chem. & Chemother.* **1998**, *9*, 187-203

[93] F. Puech, G. Gosselin, I. Lefebvre, A. Pompon, A.-M. Aubertin, A. Kirn, J.-L. Imbach; Intracellular delivery of nucleoside monophosphates through a reductase-mediated activation process; *Antiviral Res.* **1993**, *22*, 155-174

[94] I. Lefebvre, C. Perigaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Giradet, A. Kirn, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Mononucleoside phosphotriester derivatives 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

[95] M. Lannuzel, D. Egron, J.-L. Imbach, G. Gosselin; Synthesis of the *t*BuSATE of AZT by two different synthetic approaches; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 1001-1002

[96] J.-L Giradet, C. Perigaud, A.-M. Aubertin, G. Gosselin, A. Kirn, 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

[97] C. Périgaud, G. Gosselin, S. Benzaria, J.-L. Giradet, G. Maury, H. Pélicano, A.-M. Aubertin, A. Kirn, J.-L. Imbach; Bis(S-acyl-2-thioethyl)esters of 2',3'-Dideoxyadenosine 5'-Monophosphate are Potent Anti-HIV Agents in Cell Culture; *Nucl. & Nucl.* **1995**, *14*, 789-791

[98] A. Faraj, L. Placidi, C. Périgaud, E. Cretton-Scott, G. Gosselin, L.T. Martin, C. Pierra, R.F. Schinazi, J.-L. Imbach, J.-P. Somadossi; Intracellular Metabolism of beta-L-ddAMP-bis(*t*butylSATE), a Potent Inhibitor of Hepatitis B Virus Replication; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 987-988

[99] G. Valette, A. Pompon, J.-L. Giradet, L. Cappellacci, P. Franchetti, M. Grifantini, P. La Colla, A.G. Loi, G. Périgaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Decomposition Pathways and *in Vitro* HIV Inhibitory Effects of IsoddA Pronucleotides: Toward a Rational Approach for Intracellular Delivery of Nucleoside 5'-Monophosphates; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1981-1990

[100] L.T. Martin, E. Cretton-Scott, L. Placidi, A. Faraj, A.G. Loi, R.F. Schinazi, H.M. McClure, G. Gosselin, J.-L. Imbach, J.P. Somadossi; In Vitro and In Vivo Metabolism and Pharmacokinetics of Bis[(*t*-Butyl)-S-Acyl-2-thioethyl]-β-L-2',3'-dideoxy-5-Fluorocytidine Monophosphate; *Nucl., Nucl. & Nucl. Acids* **2000**, *19*, 481-499

[101] X. Li, E. Carmichel, M. Feng, I. King, T.W. Doyle, S.-H. Chen; Bis-S-Acyl-2-thioethyl (SATE)-bearing Monophosphate Prodrug of β-L-FD4C as Potent Anti-HBV Agent; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 57-62

[102] J.-L. Giradet, G. Gosselin, C. Périgaud, J. Balzarini, E. De Clercq, J.-L. Imbach; Synthesis and Antitumor Properties of Some Neutral Triesters of 5-Fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate and 3',5'-Cyclic Monophosphate; *Nucl. & Nucl*. **1995**, *14*, 645-647

[103] C. Périgaud, G. Gosselin, I. Lefèbvre, J.-L. Giradet, S. Benzaria, I. Barber, J.-L. Imbach; Rational Design for Cytosolic Delivery of Nucleoside Monophosphates: "SATE" and "DTE" as Enzyme-Lable Transient Phosphate Protecting Groups; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 2521-2526

[104] B. Gröschel, N. Himmel, J. Cinatl, C. Périgaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach, H.W. Doerr, J. Cinatl Jr.; ddC- and 3TC-bis(SATE) monophosphate prodrugs overcome cellular resistance mechanisms to HIV-1 associeated with cytidine kinase deficiency; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 921-926

[105] C. Périgaud, G. Gosselin, J.-L. Giradet, B.E. Korba, J.-L. Imbach; The S-acyl-2-thioethyl Pronucleotide Approach Applied to Acyclovir: Part I. Synthesis and *in vitro* Anti-Hepatitis B Virus Activity of Bis(S-acyl-3-thioethyl)phosphotrieter derivatives of Acyclovir; *Antiviral Res.* **1999**, *40*, 167-178

[106] O. Hantz, C. Périgaud, C. Borel, C. Jamard, F. Zoulim, C. Trepo, J.-L. Imbach, G. Gosselin; The SATE Pronucleotide Approach Applied to Acyclovir: Part II. Effects of Bis(SATE)phosphotriester Derivatives of Acyclovir on Duck Hepatitis B Virus Replication *in vitro* and *in vivo*; *Antiviral Res.* **1999**, *40*, 179-187

[107] S. Benzaria, H. Pélicano, R. Johnson, G. Maury, J.-L. Imbach, A.-M. Aubertin, G. Obert, G. Gosselin; Synthesis, in Vitro Antiviral Evaluation, and Stability Studies of Bis(S-acyl-2-thioethyl) Ester Derivatives of 9-[2-(Phosphonomethoxy)ethyl]adenine (PMEA) as Potential PMEA Prodrugs with Improved Oral Bioavailability; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4958-4965

[108] I. Lefebvre, C. Périgaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Giradet, A. Kirn, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Mononucleoside phosphotriester derivatives with *S*-Acyl-2-thioethyl bioreversible phosphate protecting groups. Intracellular delivery of 2'-azido-2',3'-dideoxythymidine 5'-monophosphate; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950

[109] L.T. Martin, E. Cretton-Scott, L. Placidi, A. Faraj, A.G. Loi, R.F. Schinazi, H. McClure, G. Gosselin, J.-L. Imbach, J.-P. Sommadossi; *In vitro* and *in vivo* metabolism and pharmacokinetics of bis-[(*tert*-butyl)-*S*-Acyl-2-ThioEtyl]-β-L-2',3'-dideoxy-5-fluorocytidine monophosphate; *Nucl., Nucl. & Nucleic Acids* **2000**, *19*, 481-499

[110] C. Périgaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Minireview: from the pronucleotide concept to the SATE phosphate protecting group; In: J.C. Alexander, (Ed.), Current Topics in Medical Chemistry, vol. 2. Blackwell Science, Oxford, S. 15-29

[111] V.P. Pugaeva, S.I. Kochkeva, F.D. Mashbits, R.S. Eizengart; Toxicological assessment and health standard ratings for ethylene silfide in industrial atmosphere; *Gig. T. Prof. Zabol.* **1969**, *13*, 47-48

[112] N. Schlienger, T. Beltran, C. Périgaud, I. Lefebvre, A. Pompon, A.-M. Aubertin, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Rational design of a new series of mixed anti-HIV pronucleotides; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3003-3006

[113] N. Schlienger, S. Peyrottes, T. Kassem, J.-L. Imbach, G. Gosselin, A.-M. Aubertin; C. Périgaud; *S*-Acetyl-thioethyl Aryl Phosphotriester Derivatives as Mononucleotide Prodrugs; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4570-4574

[114] N. Schlienger, S. Peyrottes A.-M. Aubertin, G. Gosselin, J.-L. Imbach, C. Périgaud; New series of mixed pronucleotides. Synthesis and anti-HIV activities of mononucleoside phenyl SATE phosphotriesters; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 1025-1026

[115] T. Beltran, D. Egron, I. Lefebvre, C. Périgaud, A. Pompon, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, J.-L. Imbach; Anti-HIV Pronucleotides: SATE *versus* Phenyl as a Protecting Group of AZT Phosphoramidate Derivatives; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 973-975

[116] D. Egron, C. Périgaud, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, J.-L.Imbach; Synthesis and Anti-HIV Activity of Some S-Acyl-2-Thioethyl (SATE) Phosphoramidate Derivatives of 3‘-Azido-2‘,3‘-Dideoxythymidine; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 981-982

[117] T. Beltran, D. Egron, A. Pompon, I. Lefebvre, C. Périgaud, G. Gosselin, A.-M. Aubertin, J.-L. Imbach; Rational Design of a New Series of Pronucleotides; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1775-1777

[118] M. Shafiee, S. Deferme, A.-L. Villard, D. Egron, G. Gosselin, J.-L. Imbach, T. Lioux, A. Pompon, S. Varray, A.-M. Aubertin, G. van den Mooter, R. Kinget, C. Périgaud, P. Augustijns; New bis(SATE) Prodrug of AZT 5‘-Monophosphate: *In Vitro* Anti-HIV Activity, Stability and Potential Oral Absorption; *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 448-463

[119] W. Thomson, D. Nicholls, A.G. Mitchell, J.A. Corner, W.J. Irwin, S. Freeman; Synthesis and bioactivation of bis(aryloxymethyl) and mono(4-aryloxymethyl) esters of benzylphosphonate and phosphonoacetate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 2303-2308

[120] A. Routledge, I. Walker, S. Freeman, A. Hay, N. Mahmood; Synthesis, bioactivation and anti-HIV activity of 4-acyloxybenzyl bis(nuceosid-5'-yl) phosphates; *Nucl. & Nucl.* **1995**, *14*, 1545-1558

[121] A.G. Mitchell, D. Nicholls, W.J. Irwin, S. Freeman; The effect of para-substituents on the products, kinetics and mechanism of the hydrolysis of dibenzylmethoxycarbonyl-phosphonate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1992**, 1145-1150

[122] 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. 1* **1992**, 2345-2353

[123] C. McGuigan, R.N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq; Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphat deriviatives of AZT; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048-1052

[124] C. McGuigan, D. Cahard, H.M. Sheeka, E. De Clercq, J. Balzarini; Aryl phosphoramidate derivatives of d4T have improved anti-HIV efficacy in tissue culture and may act by the generation of a novel intracellular metabolite; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1748-1753

[125] J. Balzarini, O.M. Wedgwood, J. Kruining, H. Pelemans, R. Heijtink, E. De Clercq, C. McGuigan; Anti-HIV and anti-HBV activity and resistance profile of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine (3TC) and ist arylphosphoramidate derivative Cfl 109; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *225*, 363-369

[126] C. McGuigan, O.M. Wedgwood, E. De Clercq, J. Balzarini; Phosphoramidate derivatives of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) have markedly improved anti-HIV potency and selectivity; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2359-2362

[127] C. McGuigan, M.J. Slater, N. R. Parry, A. Perry, S. Harris; Synthesis and Antiviral Acitvity of Acyclovir-5'-(Phenyl Methoxy Alaninyl) Phosphate as a Possible Membrane-Soluble Nucleotide Prodrug; *Bioorg. & Med. Chem. Letters* **2000**, *10*, 645-647

[128] C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini; Synthesis and Evalutation of Novel Amidate Prodrugs of PMEA and PMPA; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1053-1056

[129] J. Balzarini, A. Karlsson, S. Aquaro, C.-F. Perno, D. Cahard, L. Naesens; E. De Clercq, C. McGuigan; Mechanism of anti-HIV action of masked alaninyl d4TMP derivatives; *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* **1996**, *93*, 7295-7299

[130] D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini; Characterisation of the Activiation Pathway of Phosphoramidate Triester Prodrugs of Stavudine and Zidovudine; *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 693-704

[131] J. Balzarini, H. Egberink, K. Hartmann, D. Cahard, T. Vahlenkamp, E. Thormar, E. De Clercq, C. McGuigan; Antiretrovirus specific and intracellular metabolism of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine (Stavudine) and ist 5'-monophosphate triester prodrug So324; *Mol. Pharmacol.* **1996**, *50*, 1207-1213

[132] C. McGuigan, D. Cahard, A. Salgado, E. De Clercq, J. Balzarini; Phosphoramidates as potent prodrugs of anti-HIV nucleotides: studies in the amino region; *Antiviral Chem. & Chemother*. **1996**, *7*, 31-36

[133] D. Curley, C. McGuigan, D.G. Devine, T.J. O'Connor, D.J. Jeffries, D. Kinchington; Synthesis and anti-HIV evaluation of some phosphoramidate derivatives of AZT: studies on the effect of chain elongation on biological activity; *Antiviral Res.* **1990**, *14*, 345-356

[134] C. McGuigan, H.-W. Tsang, D. Cahard, K. Turner, S. Velazquez, A. Salgado, L. Bidois, L. Naesens, E. De Clercq, J. Balzarini; Phosphoramidate derivatives of d4T as inhibitors of HIV: The effect of amino acid variation; *Antiviral Res.* **1997**, *35*, 195-204

[135] C. McGuigan, A. Salgado, C. Yarnold, T.Y. Harries, E. De Clercq, J. Balzarini; Novel nucleoside phosphoramidates as inhibitors of HIV: Studies on the stereochemical requirements of phosphoramidate amino acid; *Antiviral Chem. & Chemother.* **1996**, *7*, 184-188

[136] L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, L. Bidois, E. De Clercq, C. McGuigan, J. Balzarini; Metabolism and anti-HIV activity of phosphoramidate derivatisation of D4T-MP with variations in the amino acid moiety; *J. Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, *431*, 753-757

[137] C. McGuigan, L. Bidois, A. Hiouni, C. Ballatore, E. De Clercq, J.Balzarini; Phosphoramidate derivatives of stavudine as inhibitors of HIV: unnatural amino acids may substitute for alanine; *Antiviral Chem. & Chemother*. **2000**, *11*, 111-116

[138] C. McGuigan, P.W. Sutton, D. Cahard, G. O'Leary, Y. Wang, M. Gumbleton, E. De Clercq, J. Balzarini; Synthesis, anti-human immunodeficiency virus activity and esterase lability of some novel carboxylic ester-modified phosphoramidate derivatives of stavudine (d4T); *Antiviral Chem. & Chemother.* **1998**, *9*, 473-479

[139] A.Q. Siddiqui, C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini; The Presence of Substituents on the Aryl Moiety of the Aryl Phosphoramidate Derivative of d4T Enhances Anti-HIV Efficacy in Cell Culture: A Structure-Activity Relationship; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 393-399

[140] A. Siddiqui, C. McGuigan, C. Ballatore, S. Srinivasan, E. De Clercq, J. Balzarini; Enhancing the Aqueous Solubility of d4T-based Phosphoramidate Prodrugs; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 381-384

[141] A.Q. Siddiqui, C. McGuigan, C. Ballatore, F. Zuccotto, I.H. Gilbert, E. De Clercq, J. Balzarini; Design and Synthesis of Lipophilic Phosphoramidate d4T-MP Prodrugs Expressing High Potency Against HIV in Cell Culture: Structural Determinants for in Vitro Activity and QSAR; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4122-4128

[142] M.H. Knaggs, C. McGuigan, S.A. Harris, P. Heshmati, D. Cahard, I.H. Gilbert, J. Balzarini; A QSAR Study Investigation the Effect of L-Alanine Ester Variation on the Anti-HIV Activity of Some Phosphoramidate Derivatives of d4T; *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2075-2078

[143] T.W. Abraham, C.R. Wagner; Phosphoramidite-Based Synthesis of Phosphoramidate Amino-Acid-Diesters of Antiviral Nucleosides; *Nucl. & Nucl.* **1994**, *13*, 1891-1903

[144] C.R. Wagner, E.J. McIntee, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, Aromatic Amino Acid Phosphoramidate Di- and Triesters of 3'-Azido-3'-deoxythymidne (AZT) are Non-Toxic Inhibitors of HIV-1 Replication; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 1819-1824

[145] E.J. McIntee, R.P. Remmel, R.F. Schinazi, T.W. Abraham, C.R. Wagner; Probing the Mechanism of Action and Decomposition of Amino Acid Phosphomonoester Amidates of Antiviral Nucleoside Prodrugs; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3323-3331

[146] C.R. Wagner, E.J. McIntee, V.V. Iyer, R.F. Schinazi; Synthesis and Biological-Activity of Aromatic Amino Acid Phosphoramidates of 5-Fluoro-2'-deoxyuridine and 1-β-Arabinofuranosylcytosine: Evidence of Phosphoramidase Activity; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3300-3306

[147] H. Winter, Y. Maeda, H. Mitsuya, J. Zemlicka; Phosphodiester amidates of allenic nucleoside analogues: anti HIV activity and possible mechanism of action; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3300-3306

[148] H. Winter, Y. Maeda, H. Uchida, H. Mitsuya, J. Zemlicka; Phosphodiester amidates of unsaturated nucleoside analogues: synthesis and anti-HIV activity; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2191-2195

[149] C. McGuigan, M.-J. Camarassa, H. Egberink, K. Hartmann, A. Karlsson, C.-F. Perno, J. Balzarini; Desing, synthesis and biological evaluation of novel nucleotide prodrugs as inhibitors of HIV replication; *Int. Antiviral News* **1997**, *5*, 19-21

[150] A. Lavie, I. Schichtling, I.R. Vetter, M. Konrad, J. Reinstein, R.S. Goody; The bottleneck in AZT activation; *Nature Medicine* **1997**, *3*, 922-924

[151] A. Lavie, I.R. Vetter, M. Konrad, R.S. Goody, J. Reinstein, I. Schichtling; Structure of thymidylate kinase reveals the cause behind the limiting step in AZT activation; *Nature Structural Biology* **1997**, *4*, 601-604

[152] D. Hazuda, L. Kuo; Failure of AZT: A molecular perspective; *Nature Medicine* **1997**, *3*, 836-837

[153] unveröffentlichte Ergebnisse, J. Balzarini, C.Meier

[154] J. Engels, J. Schläger; Synthesis, structure and reactivity of adenosine cyclic 3',5'-phosphate benzyl triesters. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 907-911

[155] L. Habel; Syntese und Eigenschaften von Benzyl-α-hydroxyphosphonsäurediestern und Benzylphosphotriestern des Nucleosidanalogon 3'-Azido-3'-desoxythymidin als potentielle Prodrugs; *Diplomarbeit*, Universität Frankfurt/Main, **1994**

[156] C. Meier, E. De Clercq, J. Balzarini; Nucleotide Delivery from *cyclo*Saligenyl-3'-azido-3'-deoxythymidine Monophosphates (*cyclo*Sal-AZTMP); *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 837-846

[157] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-thymidine Monophosphate (*cyclo*Sal-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427

[158] C. Meier; 2-Nucleos-5'-*O*-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphinin-2-oxide - ein neues Konzept für lipophile, potentielle Prodrugs biologisch aktiver Nucleosid-Monophosphate; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79

[159] M. Lorey; *cyclo*Saligenyl-Nucleosid-Monophosphat, ein neues Pro-Nucleotid-Konzept für antiviral und antitumor aktive Nucleosid-Analoga; *Dissertation*, Universität Würzburg, **1999**

[160] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; ADA-Bypass by lipophilic *cyclo*Sal-ddAMP Pro-Nucleotides. A second Example of the Efficiency of the *cyclo*Sal-Concept; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1577-1582

[161] C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cyclo*Saligenyl-5-[(E)-2-bromovinyl]-2'-deoxyuridine Monophosphate (*cyclo*Sal-BVDUMP) Pronucleotides Active against Epstein-Barr Virus; *ChemBioChem* **2001**, *4*, 283-285

[162] C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P.Wutzler; Synthesis, hydrolysis and anti-EBV activity of a series of 3‘-modified *cyclo*Sal-BVDUMP pronucleotides; *Nucl. & Nucl.* **2001**, im Druck

[163] C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cyclo*Sal-BVDUMP triesters – Synthesis, properties and anti-EBV activity of new potential pronucleotides; *Antiviral Res.* **2001**, *50*, A60

[164] 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 *cyclo*Sal-nucleotides of acyclic nucleoside analogues; *Antiviral Chem. & Chemother.* **1998**, *9*, 389-402

[165] A. Lomp, C. Meier, M. Herderich, P. Wutzler; Evidence for Cyclophosphate Formation During Hydrolysis of 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP; *Nucl. & Nucl*. **1999**, *18*, 943-944

[166] C. Müller; *Synthese und Charakterisierung acyclischer Nucleosidanaloga und ihrer cycloSal-Pro-Nucleotide*; Diplomarbeit **1998**, Universität Würzburg

[167] J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular Metabolism of *Cyclo*Sal-3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine Monophosphate, a Prodrug of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine (Zidovudine); *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 1354-1361

[168] 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

[169] J. Renze, M. Plath, C. Ducho, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Meier; Benzylfunctionalized *cyclo*Sal-d4T monophosphates; *Nucl. & Nucl.* **2001**, im Druck

[170] J. Renze, M. Plath, C. Ducho, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Meier; Hydrolysis behavior of Benzyl-functionalized *cyclo*Sal-d4TMPs; *Antiviral Res.* **2001**, *50*, A47

[171] M. Ruppel; *Arbeiten zum „lock-in"-Mechanismus von cycloSal-Pro-Nucleotiden*; Diplomarbeit **1998**, Universität Würzburg

[172] C. Müller, C. Meier, J. Balzarini, E. De Clercq, J. Reinstein; Novel synthetic route towards cyclic and acyclic analogues of AZT Monophosphate (AZTMP); Antiviral Res. **2001**, *50*, A46

[173] R.L. Carr, T.A. Donovan Jr.; *J. Org. Prep. Proced. Int.* **1990**, *22*, 245

[174] E.J. Corey, P.B. Hopkins; A Mild Procedure for the Conversion of 1,2-Diols to Olefins; *Tetrahedron Lett.* **1982**, 1979-1982

[175] H. Maer; *Eur. Pat. Appl*. EP 342 422. C.A. 112, 158842s (**1989**)

[176] C.K. Chu, V.S. Bhadti, B. Doboszewski, Z.P. Gu; General Syntheses of 2',3'-Dideoxynucleosides and 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxynucleosides; *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2217-2225

[177] H.P.M. Fromageot, B.E. Griffin, C.B. Reese, J.E. Sulston; The Synthesis of Oligoribonucleotides - III. Monoacylation of Ribonucleosides and Derivatives *via* Orthoester Exchange; *Tetrahedron* **1967**, *23*, 2315-2331

[178] D.G. Norman, C.B. Reese; A Convenient Preparation of 3'-Deoxyadenosine; *Synthesis* **1983**, 304-306

[179] R.R. Talekar, P.L. Coe, R.T. Walker; An Efficient and General Synthesis of 5'-Esters of 2',3'-Didehydro-2',3'-Dideoxynucleosides: A Facile Opening of 2',3'-Orthoacetates of Ribonucleosides Followed by Reductive Elimination of the Haloacetates; *Synthesis* **1993**, 303-306

[180] A.F. Russel, S. Greenberg, J.G. Moffatt; Reactions of 2-Acyloxyisobutyryl Halides with Nucleosides. II. Reactions of Adenosine; *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 4025-4030

[181] M.J. Robins, F. Hansske, H.N. Low, J.I. Park; A Mild Conversion of Vicinal Diols to Alkenes. Efficient Transformation of Ribonucleosides into 2'-Ene and 2',3'-dideoxynucleosides; *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 367-370

[182] D.L.J. Clive, P.L. Wickens, P.W.M. Sgarbi; Synthesis of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxynucleosides by Reaction of 5'-Protected Nucleoside 2'-3'-Dimesylates with Telluride-Dianion: A General Route from Cis Vicinal Diols to Olefins; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7426-7437

[183] D.L.J. Clive, P.C. Anderson, N. Moss, A. Singh; New Method for Coupling Allylic Halides: Use of Te^{2-} Species; *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1641-1647

[184] J.P. Horwitz, J. Chua, I.L. Klundt, M.A. DaRooge, M. Noel; Nucleosides. VI. The Introduction of a Pyrimidine Nucleoside via 2,3'-Anhydro Bond; *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1896- 1899

[185] J.P. Horwitz, J. Chua, M.A. DaRooge, M. Noel, I.L. Klundt; Nucleosides: IX. The Formation of 2',3'-Unsaturated Pyrimidine Nucleosides via a Novel β-Elimination Reaction; *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 205-211

[186] J.R. McCarthy Jr., M.J. Robins, L.B. Townsend, R.K. Robins; Purine Nucleosides. XIV. Unsaturated furanosyl adenine nucleosides prepared via base-catalyzed elimination reactions of 2'-deoxyadenosine derivatives; *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1549-1553

[187] J.P. Horwitz, J. Chua, M. Noel; Nucleosides. X. The Action of Sodium Ethoxide on 3'-*O*-tosyl-2'-deoxyadenosine; *Tetrahedron Lett.* **1966**, 1343-1346

[188] K. Nützel; *Metallorganische Verbindungen Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Zn, Cd*; In Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weil), Ed.: E. Müller, Band XIII/2a Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1973**, Seite 570-574

[189] A.G.M. Barrett, D.H.R. Barton, R. Bielski, S.W. McCombie; Conversion of Vicinal Diols into Olefins *via* the Derived Bisdithiocarbonates; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 866-868

[190] D.H.R. Barton, R. Subramanian; Synthesis of Deoxysugars and of Deoxynucleosides from Diol Thiocarbonates; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 867-868

[191] D.H.R. Barton, R. Subramanian; Reactions of Relevance to the Chemistry of Aminoglycoside Antibiotics. Part 7. Conversion of Thiocarbonates into Deoxy-sugars; *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1977**, 1718-1723

[192] A.G.M. Barrett, D.H.R. Barton, R. Bielski; Reaction of Relevance to the Chemistry of Aminoglycoside Antibiotics. Part 11. Preparation of Olefins from Vicinal Diols; *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1979**, 2378-2381

[193] E.J. Prisbe, J.C. Martin; A Novel and Efficient Preparation of 2',3'-Dideoxynucleosides; *Synthetic Commun.* **1985**, *15*(5), 401-409

[194] V.V. Samukov, V.I. Ofitserov; *Bioorg. Chem*. **1983**, *9*, 52

[195] R.R. Webb II., J.A. Wos, J.C. Martin, P.R. Brodfuehrer; *Nucl. & Nucl.* **1988**, *7*, 147

[196] H. Shiragami, Y. Tanaka, Y. Uchida, H. Iwagami, K. Izawa, T. Yukawa; A novel method for the synthesis of ddA and F-ddA *via* regioselective 2'-*O*-deacetylation of 9-(2,5-di-*O*-acetyl-3-bromo-3-deoxy-β-xylofuranosyl)adenine; *Nucl. & Nucl.* **1992**, 11, 391-400

[197] I. Saito, H. Ikehira, R. Kasatani, M. Watanabe, T. Matsuura; Selective Deoxygenation of Secondary Alcohols by Photosensitized Electron Transfer Reaction. A General Procedure for Deoxygenation of Ribonucleosides; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3115-3117

[198] K. K. Ogilvie, D.J. Douglas; Use of the *tert*-Butyldimethylsilyl Group for Protecting the Hydroxy Functions of Nucleosides; *Tetrahedron Lett*. **1973**, 317-319

[199] K.K. Ogilvie; The *tert*-Butyldimethylsilyl Group as a Protecting Group in Deoxynucleosides; *Can. J. Chem*. **1973**, *51*, 3799-3807

[200] T. Knispel; *Cyclo*Saligenyl-(2'-fluor-*ara*)-2',3'-didesoxyadenosinmonophosphate (*cyclo*Sal-(F)ddAMP) - effiziente Pro-Nucleotide zum ADA-Bypass; *Diplomarbeit*, Universität Frankfurt/Main, **1997**

[201] A. Liguori, E. Perri, G. Sidona, N. Uccella; Chemo and Regioselective Acylation of Deoxyribonucleosides by means of N,N-Bis(2-oxo-oxazolidin-3-yl)phosphoramidic chloride (BOPDC); *Tetrahedron* **1988**, *44*, 229-234

[202] S.L. Beaucage, R.P. Iyer; Advances in the Synthesis of Oligonucleotides by the Phosphoramidite Approach; *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311

[203] S. Daluge, C. Meier; persönliche Mitteilung, **1998**

[204] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin, *16. Aufl.*, **1986**, 492-495

[205] A. Rieche, H. Gross, E. Höft; Synthesen aromatischer Aldehyde mit Dichlormethylalkyläthern; *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 88-94

[206] H. Gross, A. Rieche, G. Matthey; Neue Verfahren zur Darstellung von Phenolaldehyden; *Chem. Ber.* **1963**, *96*, 308-313

[207] G. Casiraghi, G. Casnati, G. Puglia, G. Sartori, G. Terenghi; Selective Reactions between Phenols and Formaldehyde. A Novel Route to Salicylaldehydes; *J. Am. Chem. Soc. Perkin I* **1980**, 1862-1865

[208] A. Wissner, M.L. Caroll; Analogues of Platelet activation factor 6. Mono- and bisaryl phosphate antagonists of platelet activation factor; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1650-1662

[209] F. Mugnier; A New Preparative Method towards *cyclo*Sal-Nucleoside Monophosphates: Cyclic Phosphoramidites as Phosphitylating Agents; *P.F.E. Report*; Chimie Physique Electronique - Lyon, **1998**

[210] S.L. Beaucage, R.P. Iyer; Advances in the Synthesis of Oligonucleotides by the Phosphoramidite Approach; *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311

[211] F. Mugnier; C. Meier; Phosphoramidite Chemistry for the Synthesis of *Cyclo*Sal-Pro-Nucleotides; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 941-942

[212] M. Yoshikawa, T. Kato, T. Takenishi; A Novel Method for Phosphorylation of Nucleosides to 5‘-Nucleotides; *Tetrahedron Lett.* **1967**, *50*, 5065-5068

[213] K. Kusashio, M. Yoshikawa; Studies of Phosphorylation. II. Reaction of 2‘,3‘-*O*-Isopropylidene-inosine and –guanosine with Phosphoryl Chlorid; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1968**, *41*, 142-149

[214] M. Yoshikawa, T. Kato, T. Takenishi; Studies of Phosphorylation. II. Selective Phosphorylation of Unprotected Nucleosides; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1969**, *42*, 3505-3508

[215] T. Sowa, S. Ouchi; The Facile Synthesis of 5‘-Nucleotides by the Selective Phosphorylation of a Primary Hydroxyl Group of Nucleosides with Phosphoryl Chloride; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1975**, *48*, 2084-2090

[216] I.A. Kozlov, L.E. Orgel; *Nucl. & Nucl.* **1998**, *17*, 2249-2254

[217] C. Sund, P. Agback, L.H. Leo, A. Sandstroem, J. Chattopadhyaya; ???, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 695-718

[218] T.A. Khwaja, C.B. Reese, J.C.M. Stewart; A Convenient General Procedure for the Conversion of Alcohols into their Monophosphate Esters; *J. Chem. Soc. (C)* **1970**, 2092-2100

[219] E. Mutschler; Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 7. Aufl., Wiss. Verl.-Ges. Stuttgart, **1996**, Kap. 2.2, Seite 9-11

[220] P. Alexander, A. Holy; Prodrugs of Analogs of Nucleic Acid Components. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1994**, *56*, 2127-2165

[221] T.P. Zimmermann, W.B. Mahony, K.L. Prus; 3'-Azido-3'-desoxythymidin, an unusual nucleoside analogue that permeates the membrane of human erythrocytes an lymphocytes by nonfacilitated diffusion; *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 5748-5754

[222] S. Rim, K.L. Audus, R.T. Borchaardt; Relationship of octanol/buffer and octanol/water partition coefficients to tanscellular diffusion across brain microvessel endothelial cell monolayers; *Int. J. Pharm.* **1986**, *32*, 79-84

[223] E.J. Lien, H. Gao, H. Prabhakar; Pysical Factors Contributing to the Partition Coefficient and Retention Time of 2',3'-Dideoxynucleoside Analogues; *J. Pharm. Sci.* **1991**, *80*, 517-521

[224] J. Balzarini, J.M. Cools, E. De Clercq; Estimation of the Lipophilicity of Anti-HIV Nucleoside Analogues by Determination of the Partition Coefficients and Retention Time on a Lichrosphere 60 RP-8 HPLC Column; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *158*, 413-422

[225] Fa. Merck, *Tabellen*, Puffersysteme

[226] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; cycloSal-Pronucleotides of 2‘,3‘-Dideoxyadenosine and 2‘,3‘-Dideoxy-2‘,3‘-didehydroadenosine: Synthesis and Antiviral Evaluation of Highly Efficient Nucleotide Delivery System; *J. Med. Chem*. **1999**, *42*, 1604-1614

[227] A. Bloch, M.J. Robins, J.R. McCarthy Jr.; The Role of the 5'-Hydroxyl Group of Adenosine in Determining Substrate Specificity for Adenosine Deaminase; *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 908-912

[228] F. Hansske, D. Madej, M.R. Robins; 2' and 3'-Ketonucleosides and their *arabino* and *xylo* Reduction Products; *Tetrahedron* **1984**, *40*, 125-135

[229] M. Kawana, J. Kuzuhara; Synthesis of 2'- and 3'-Azido-2',3'-Dideoxyadenosines. Preparative Applications of the Deoxygenative [1,2]-Hydride Shift and β-Elimination Reactions of *O*-Sulfonylated Adenosines; *Carbohydrate Res.* **1989**, *189*, 87-101

[230] P. Herdewijn; Reaction of Adenine Nucleosides, Tosylated in the Carbonhydrate Moiety, with Lithium Triethylboronhydride; *Tetrahedron* **1989**, *45*, 6563-6580

[231] T.J. Tewson, M.J. Welch; New Approaches to the Synthesis of 3-Deoxy-3-fluoro-D-glucose; *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1090-1092

[232] M. Hudlický; Fluorination with Diethylaminosulfur Trifluoride and Related Amino-fluorosulfuranes; *Organic Reactions* **1988**, *35*, 513-636

[233] W.J. Middleton; New Fluorination Reagents. Dialkylaminosulfur Fluorides; *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 574-578

[234] Kein Author; Lodenosine; *Drugs of the Future* **1998**, *23*, 1176-1189

[235] J.J. Barchi, V.E. Marquez, J.S. Driscoll, H. Ford Jr., H. Mitsuya, T. Shirasaka, S. Aoki, J.A. Kelley; Potential Anti-AIDS Drugs. Lipophilic, Adenosine Deaminase-acitvated Prodrugs; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 1647-1655

[236] unveröffentlichte Ergebnisse, W. Laux, C. Meier

[237] L. Mu, S.G. Sarafianos, M.C. Nicklaus, P. Russ, M.A. Siddiqui, J. Ford Jr., H. Mitsuya, R. Le, E. Kodama, C. Meier, T. Knispel, L. Anderson, J.J. Barchi, V.E. Marquez; Interactions of Conformationally Biased North and South 2'-Fluoro-2',3'-dideoxy-nucleoside 5'-Triphosphates with the Active Site of HIV-1 Reverse Transkriptase, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11205-11215

[238] W. Saenger; *Principles of Nucleic Acid Structure*; Springer-Verlag, New York **1984**

[239] C. Altona, M. Sundaranlingam; Conformational Analysis of the sugar ring in nucleosides and nucleotides. A new description using the concept of pseudorotation; *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 8205-8212

[240] F.E. Hruska, A.A. Smith, J.G. Dalton; A Correlationof Some Structural Parameters of Pyrimidine Nucleosides. A Nuclear Magnetic Resonance Study; *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4334-4336

[241] C. Altona, M. Sundaralingam; Conformational Analysis of the Sugar Ring in Nucleosides and Nucleotides. Improved Method for the Interpretation of Proton Magnetic Resonance Coupling Constants; *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 2333-2344

[242] M. Sundaralingam; *Structure and Conformation of Nucleic Acid and Protein-Nucleic Acid Interactions*; Ed.: M. Sundaralingam, S.T. Rao, University Park Press, Baltimore, MD, **1975**, 487-536

[243] D. Pearlman, S.-H. Kim; Conformational studies of nucleic acids. II. The conformational energetics of commonly occuring nucleosides; *J. Biomol. Ster. Dynam.* **1985**, *3*, 99-125

[244] G.I. Birnbaum, D. Shugar; *Biologically active nucleosides and nucleotides: conformational features and interactions with enzymes*; in: "Nucleic Acid Structure" Ed.: S. Neidle; Part 3, 1, VCH, New York, **1987**

[245] M. Karplus; Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments; *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11-15

[246] M. Karplus; Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance; *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871

[247] J. Plavec, L.H. Koole, A. Sandström, J. Chattopadhyaya; Structural Studies of Anti-HIV 3'-α-Fluorothymidine and 3'-α-Azidothymidine By 500 MHz ^{1}H-NMR-Spectroscopy and Molecular Mechanics (MM2) Calculations; *Tetrahedron* **1991**, *47*, 7363-7376

[248] F.A.A.M de Leeuw, C. Altona; Conformational Analysis of β-D-Ribo-, β-D-Deoxyribo-, β-D-Arabino-, β-D-Xylo-, β-D-Lyxo-nucleosides from Proton-Proton-Coupling Constants; *J. Am. Chem. Soc., Perkin II* **1982**, 375-384

[249] M. Blandin, T.-D. Son, J.C. Catlin, W. Guschlbauer; Nucleoside Conformations 16. Nuclear Magnetic Resonance and Circular Dichroism Studies on Pyrimidine-2'-Fluor-Deoxyribonucleosides; *Biochimica et Biophysica Acta* **1974**, *361*, 249-256

[250] J. Plavec, J. Tong, J. Chattopadhyaya; How do the gauche and anomeric effect drive the pseudorotational equilibrium of the pentofuranose moiety of nucleosides ?; *J. Am. Chem. Soc*. **1993**, *115*, 9734-9746

[251] J. Plavec, L.H. Koole, J. Chattopadhyaya; Structural analysis of 2',3'-dideoxyinosine, 2',3'-dideoxyadenosine, 2',3'-dideoxyguanosine and 2',3'-dideoxycytidine by 500-MHz ^{1}H-NMR spectroscopy and ab-initio molecular orbital calculations; *J. Biochem. & Biophys. Methods* **1992**, *25*, 253-272

[252] J.J. Barchi Jr., L.-S. Jeong, M.A. Siddiqui, V.E. Marquez; Conformational analysis of the complete series of 2' and 3' monofluorinated dideoxyuridines; *J. Biochem. Biophys Methods* **1997**, *34*, 11-29

[253] F.A.A.M. De Leeuw, C. Altona; *J. Comp. Chem*. **1983**, *4*, 438

[254] W. Guschlbauer, K. Jankowski; Nucleoside conformationis determined by the electronegativity of the sugar substituent; *Nucleic Acids Res.* **1980**, *8*, 1421-1433

[255] H. Beyer, W. Walter; *Lehrbuch der Organischen Chemie*; 21. Auflage, S. Hirzel Verlag, Stuttgart **1988**, Kapitel 4.1.6.4, Seite 441

[256] A.J. Kirby; *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen. Reactivity and Structure, Concepts in Organic Chemistry 15*, Springer-Verlag, Berlin **1983**

[257] K.B. Wiberg, M.A. Murcko, K.E. Laidig, P.J. MacDougall; Origin of the 'gauche effect' in substituted ethanes and ethenes; *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 6956-6959

[258] L.H. Koole, H.M. Buck, A. Nyilas, J. Chattopadhyaya; Structural properties of modified deoxyadenosine structures in solution. Impact of the *gauche* and anomeric effects on the furanose conformation; *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 2089-2094

[259] L. Pauling; *The Nature of the Chemical Bond*, 3rd Ed., Cornell University Press, Ithaca, NY, **1960**, Seite 93

[260] V.E. Marquez, B.B. Lim, J.J. Barchi Jr., M.C. Nicklaus; *Conformational studies and anti-HIV activity of mono- and difluorodideoxy nucleosides*. In "Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents" Ed.: C.K. Chu and D.C. Baker, Plenum Press, New York, **1993**, Seite 265-284

[261] J. Plavec, L.H. Koole, A. Sandstrom, J. Chattopadhyaya, Structural studies of anti-HIV 3'-α-fluorothymidine and 3'-α-azidothymidine by 500 MHz 1H-NMR spectroscopy and molecular mechanics (MM2) calculations, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 7363-7376

[262] D.E. Bergstrom, D.J. Swartling, A. Wisor, M.R. Hoffmann; Evaluation of thymidine, dideoxythymidine and fluorine substituted deoxyribonucleosides geometry by the MINDO/3 technique: The effect of fluorine stubstutution on nucleoside geometry and biological activity; *Nucleosides & Nucleotides* **1991**, *10*, 693-697

[263] J.E. Van Den Boogaart, E.N. Kalinichenko, T.L. Podkopaeva, I.A. Mikhailopulo, C. Altona, Conformational analysis of 3'-fluorinated A(2'-5')A(2'-5')A fragments. Relation between conformation and biological activity; *Eur. J. Biochem.* **1994**, *221*, 759-768

[264] A. Ezzitouni, V.E. Marquez; Conformationally locked carbocyclic nucleosides build on an bicyclo[3.1.0]hexane template with a fixed Southern conformation. Synthesis and antiviral activity; *J. Chem. Soc., Perkin Tans I* **1997**, 1073-1078

[265] V.E. Marquez, A. Ezzitouni, P. Russ, M.A. Siddiqui, H. Ford Jr., R.J. Feldman, H. Mitsuya, C. George, J.J. Barchi Jr.; HIV-1 Reverse Transcriptase Can Discriminate between Two Conformationally Locked Carbocyclic AZT Triphosphate Analogues; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2780-2789 und darin zitierte Literatur

[266] J. J.Barchi Jr., L. Anderson, M.C. Nicklaus, V.E. Marquez, H. Ford Jr.; *The Effect of Furanose Ring Pucker on the Biological Activity of Nucleoside Analogues*; 20th International Carbohydrate Symposium **2000**, Hamburg, Poster C-800

[267] J. Balzarini; Metabolsim and mechanism of antiretroviral action of purine and pyrimidine derivatives; *Pharm. World Sci*. **1994**, *16*, 113-126

[268] 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**, *267*, 6127-6133

[269] M.M. Mansuri, J.E. Starrett Jr., I. Ghazzouli, J.M. Hichcock, R.Z. Sterzycki, V. Brankovan, L. Tai-Shun E.M. August, W.H. Prusoff, J.-P. Sommadossi, J.C. Martin; 1-(2,3-Dideoxy-β-D-gycero-pent-2-enofuranosyl)thymine. A Highly Potent Selective Anti-HIV Agent; *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 461-466

[270] S.L. Beaucage, R.P. Iyer; Advances in the Synthesis of Oligonucleotides by the Phosphoramidite Approach; *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311

[271] P. Schell; Untersuchungen zur diastereoselektiven Synthese von Methylphosphonaten nach der Phosphoramiditmethode; Dissertation **1998**, Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt/Main

[272] P. Schell, J.W. Engels; 5-(2-(2-Methoxy)bornyl)tetrazole as Catalyst for Diastereoselective Synthesis of 2‘-Deoxy Dinucleoside(3‘,5‘)-Methylphosphonates; *Nucl. & Nucl.* **1997**, *16*, 769-772

[273] P. Schell, J.W. Engels; Rp-Diastereoselective Synthesis of Dinucleoside Methylphosphonates by the Phosphoramidite Approach; *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8629-8632

[274] J. Balzarini, Z. Hao, P. Herdewijn, D.G. Johns, E. De Clercq; Intracellular metabolism and mechanism of anti-retrovirus action of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine, a potent anti-human immunodeficiency virus compound; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1991**, 88, 1499-1503

[275] L. Naesens, R. Snoeck, G. Andrei, J. Balzarini, J. Neyts, E. De Clercq; HMPC (cidofovir), PMEA (adefovir) and related acyclic nucleoside phosphonate analogues: a review of their pharmacology and clinical potential in the treatment of viral infections; *Antiviral Chem. & Chemother*. **1997**, *8*, 1-23

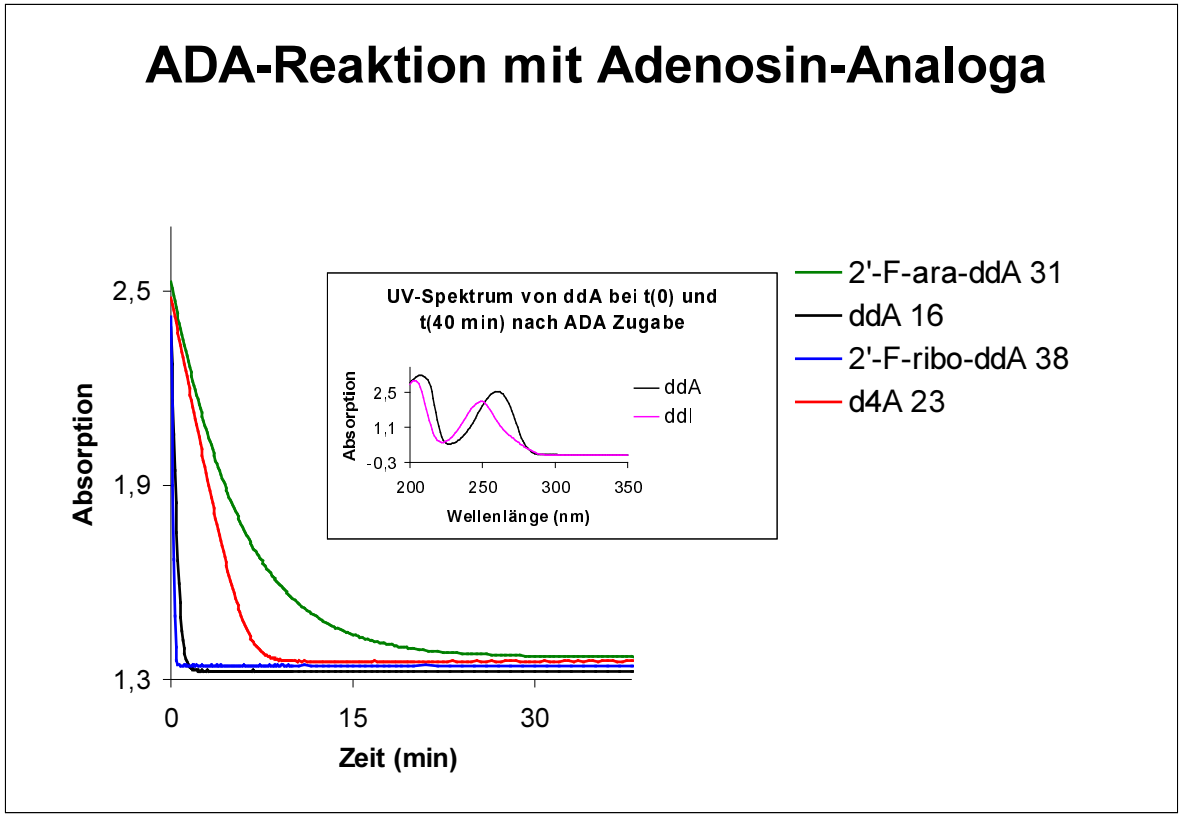
[276] R. Fonné-Pfister, P. Chemla, E. Ward, M. Giradet, K.E. Kreuz, R.B. Honzatko, H.J. Fromm, H.-P. Schär, M.G. Grütter, S.W. Cowan-Jacob; The mode of action and the structure of a herbicide in complex with its target: Binding of activated hydanocidin to the feedback regulation site of adenylosuccinate synthetase; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 9431-9436

[277] J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular metabolism of *cyclo*Saligenyl-3'-azido-2',3'-dideoxythymidinemonophosphate, a prodrug of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (zidovudine); *Mol. Pharmacol*. **1999**, *56*, 1354-1361

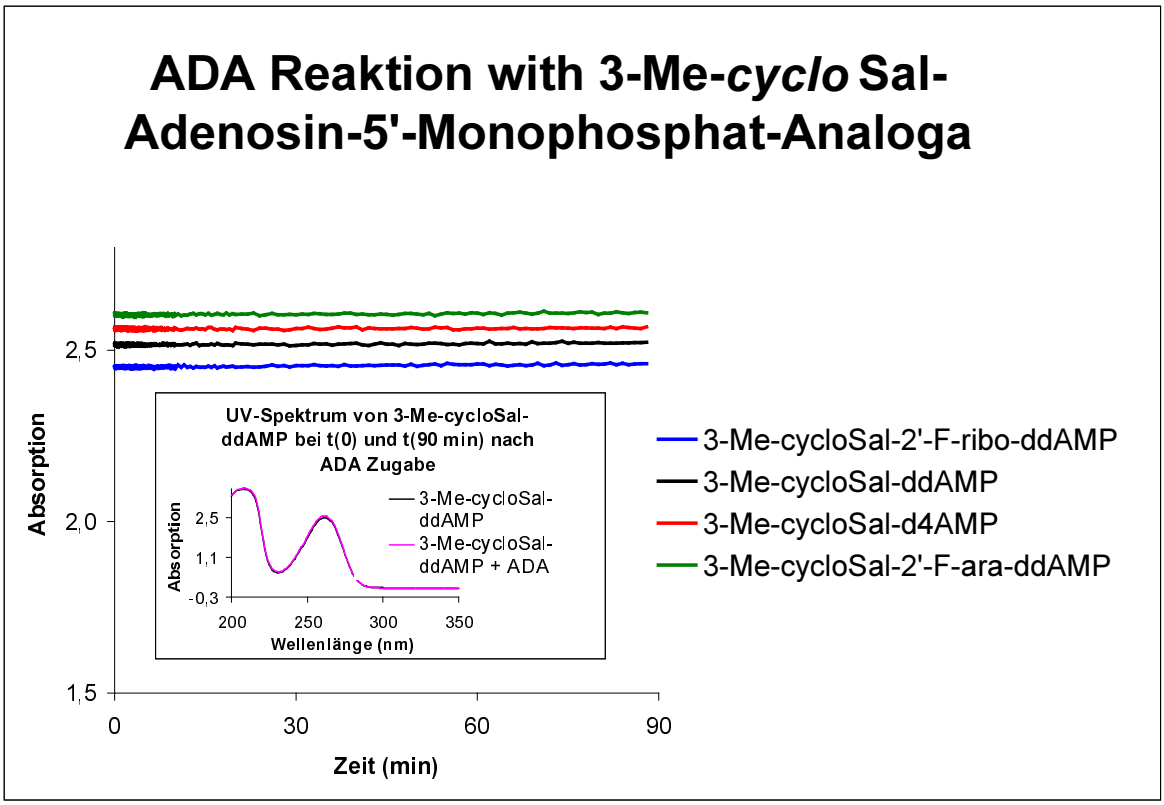
[278] J. Balzarini, S. Aquaro, T. Knispel, C. Ramoazzo, V. Bianchi, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; *Cyclo*Saligenyl-2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine monophosphate (*Cyclo*Sal-d4TMP): Efficient intracellular delivery of d4TMP; *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58*, 928-935

[279] W.C. Still, M. Kahn, A. Mitra; Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution; *J. Org. Chem.* **1987**, *43*, 2923-2925

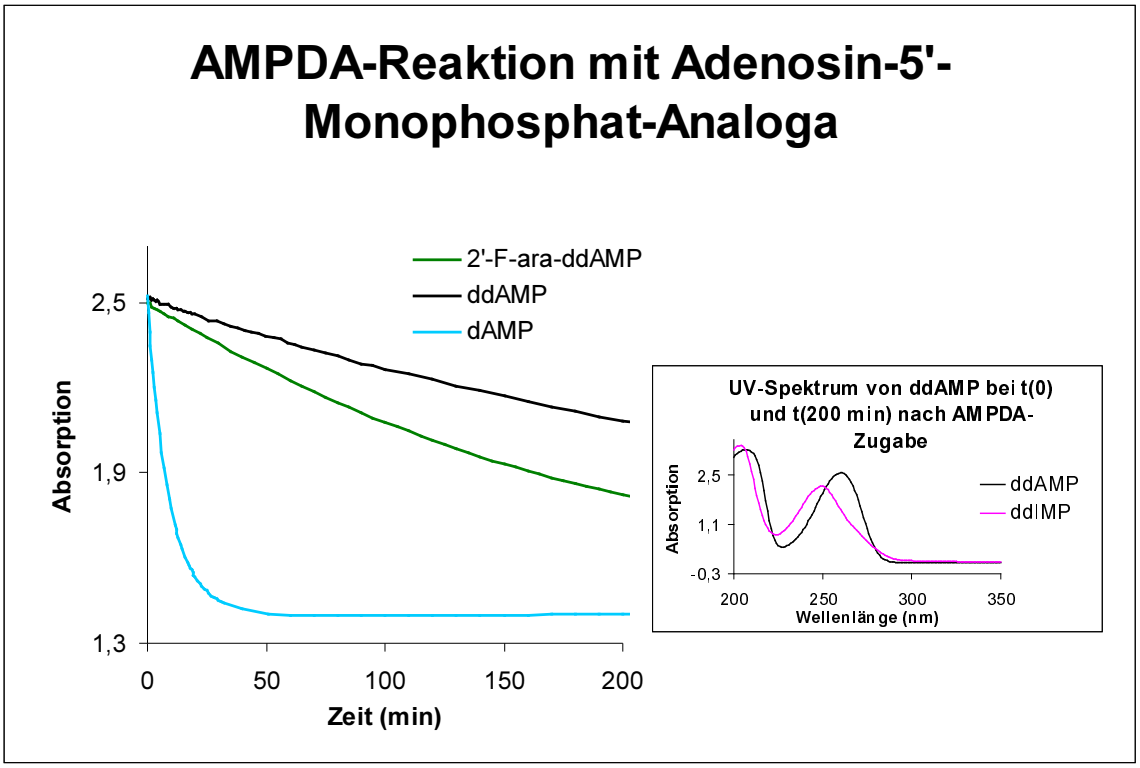
8. Anhang



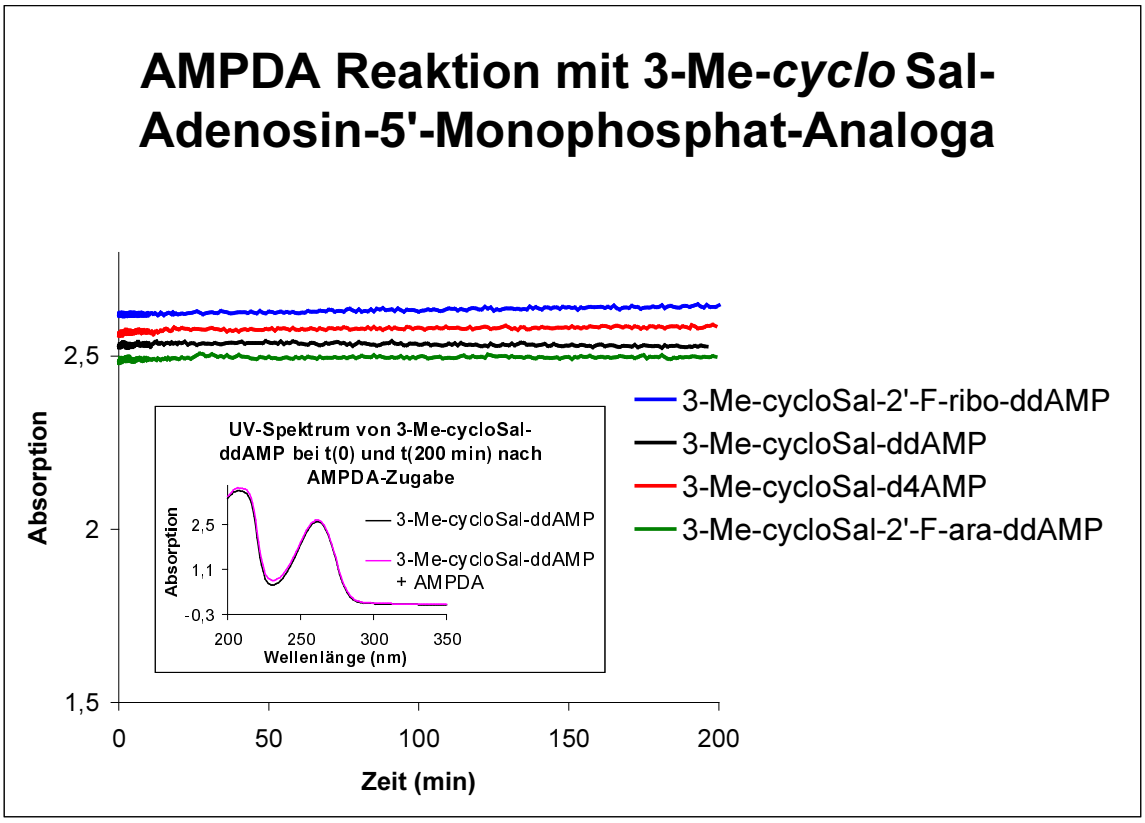
Experimentelle Bedingungen: 10mM Phosphat-Puffer pH 7.3; Substratkonzentration 185 mM; Enzym ADA (EC 3.5.4.4) aus Kälberdarmschleimhaut: 0.25 U; Temperatur 37 °C



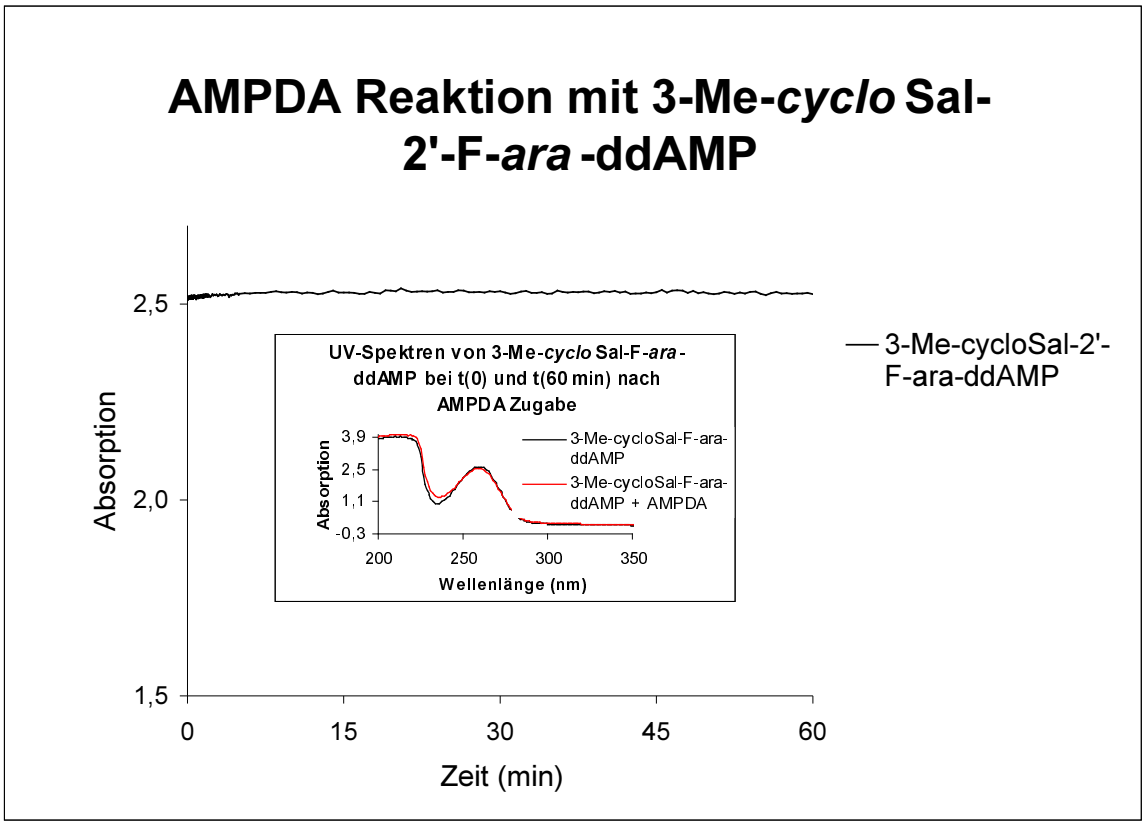
Experimentelle Bedingungen: 10mM Phosphat-Puffer pH 6.8; Substratkonzentration 185 mM; Enzym ADA (EC 3.5.4.4) aus Kälberdarmschleimhaut: 0.5 U; Temperatur 37 °C



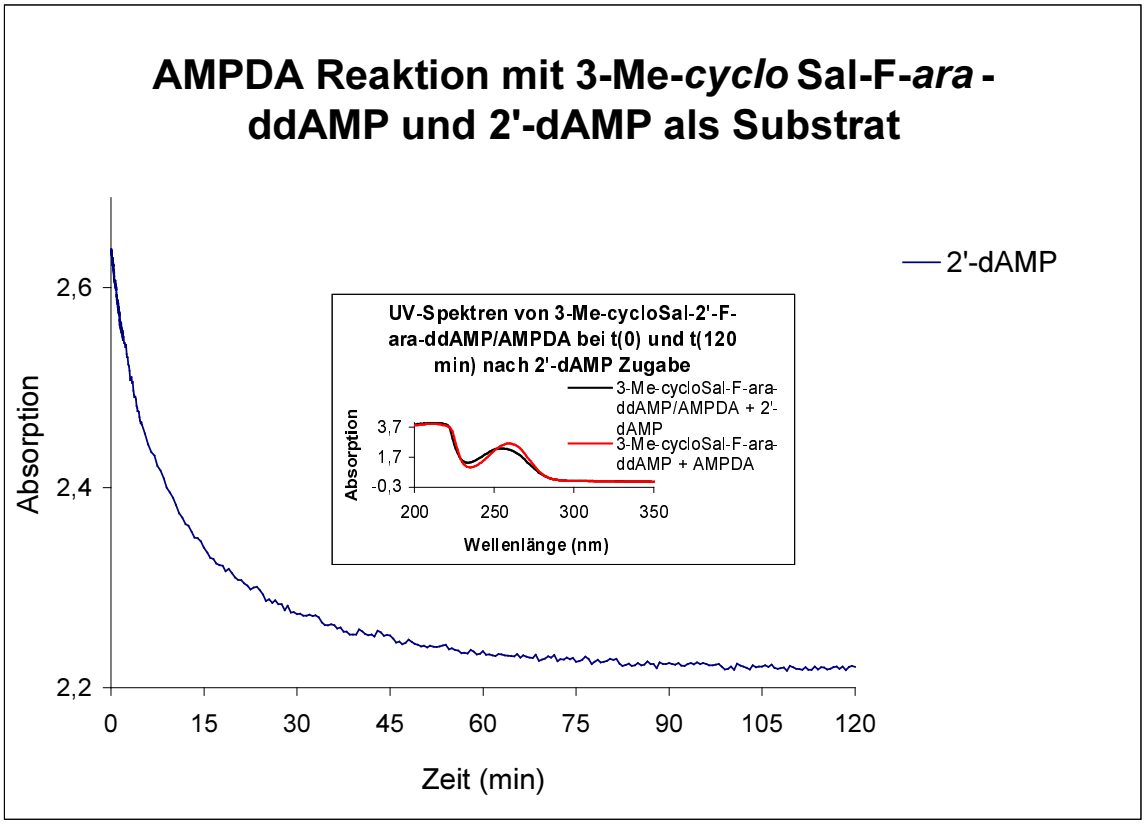
Experimentelle Bedingungen: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6.8; Substratkonzentration 185 mM; Enzym AMPDA (EC 3.5.4.6) aus Hasenmuskel: 2 U (1U bei dAMP); Temperatur 37 °C



Experimentelle Bedingungen: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6.8; Substratkonzentration185 mM; Enzym AMPDA (EC 3.5.4.6) aus Hasenmuskel; 2 U; Temperatur 37 °C

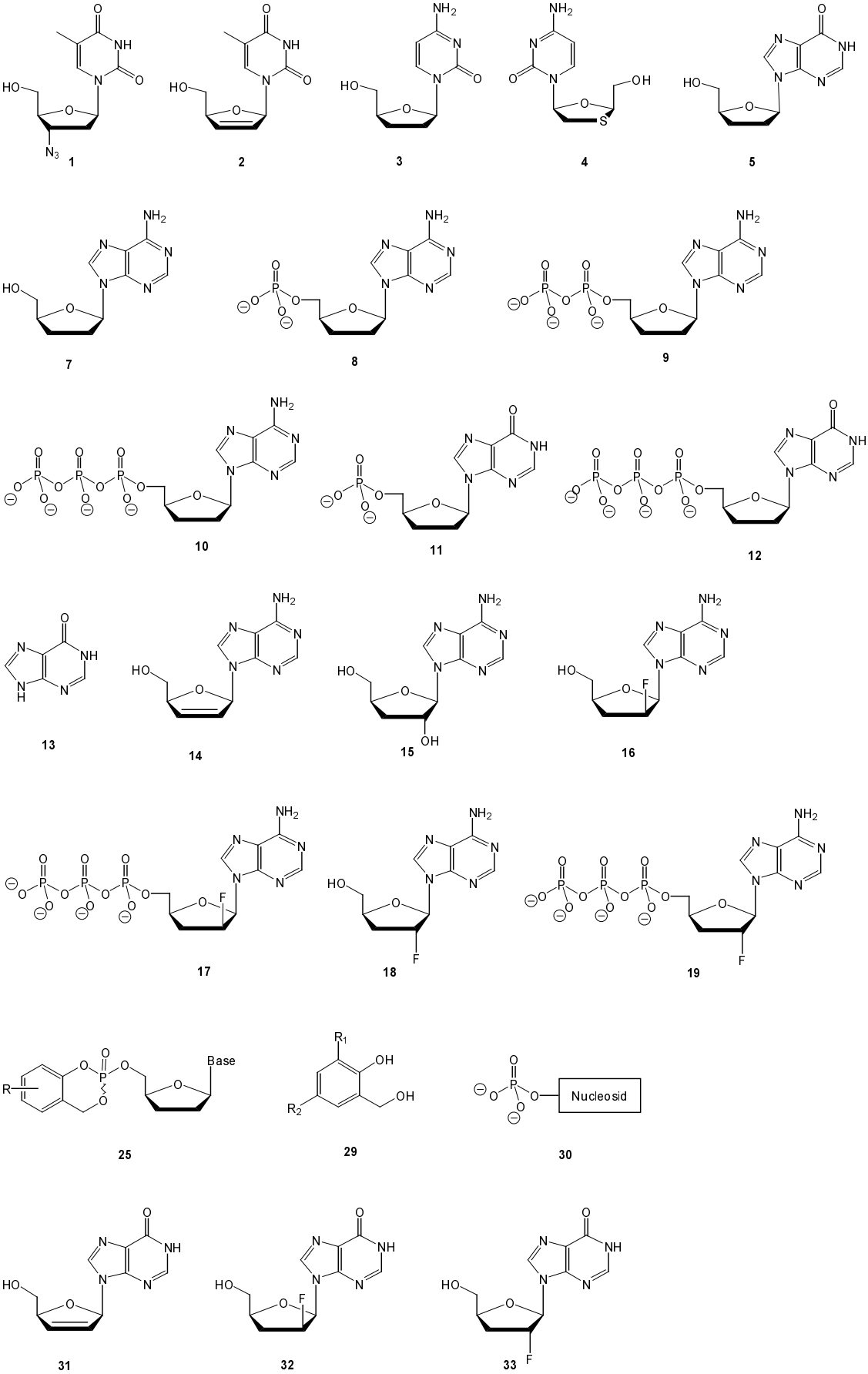


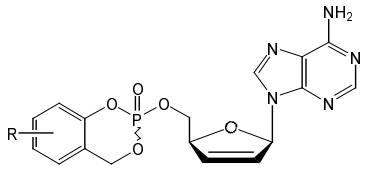
Experimentelle Bedingungen: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6.8; Substratkonzentration 185 mM; Enzym AMPDA (EC 3.5.4.6) aus Hasenmuskel: 2 U; Temperatur 37 °C



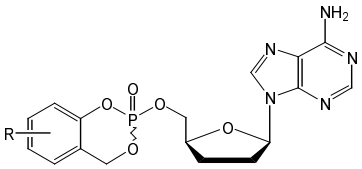
Experimentelle Bedingungen: 10 mM Phosphat-Puffer pH 6.8; Substratkonzentration 185 mM; Enzym AMPDA (EC 3.5.4.6) aus Hasenmuskel: 2 U; Temperatur 37 °C

9. Verbindungsliste

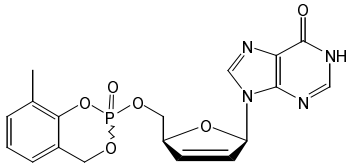




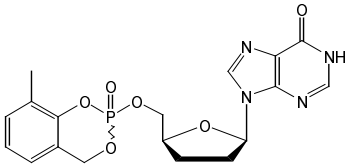
34



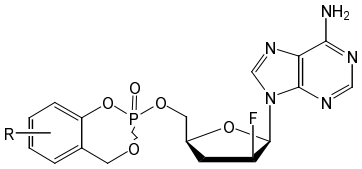
35



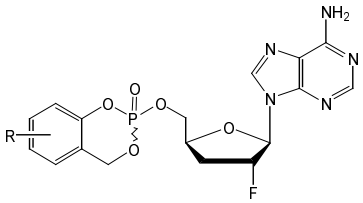
36



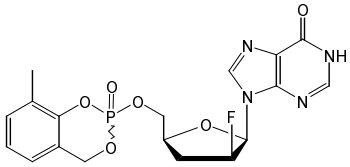
37



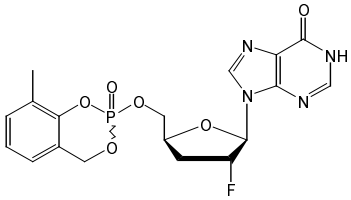
38



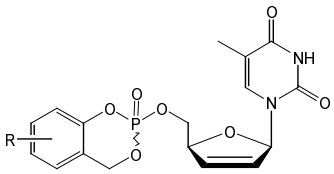
39



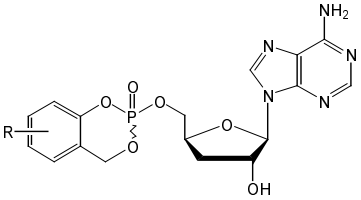
40



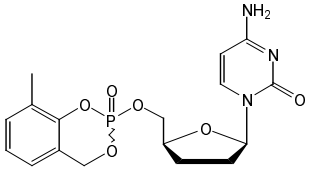
41



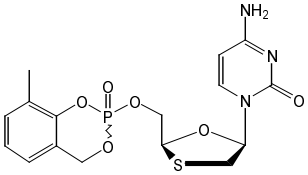
42



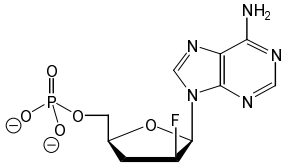
43



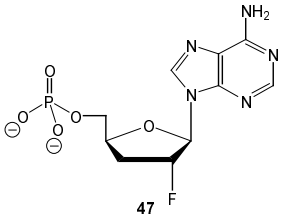
44



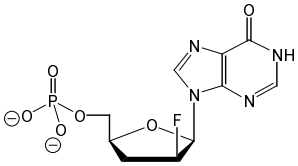
45



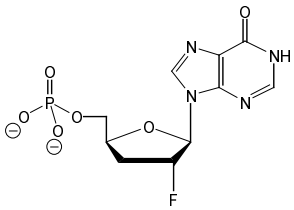
46



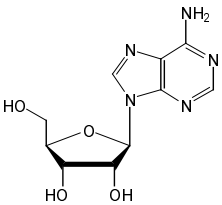
47



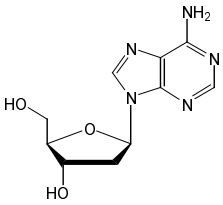
48



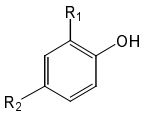
49



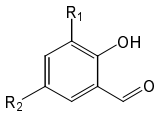
50



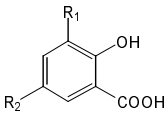
58



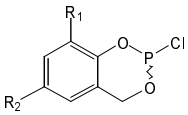
67



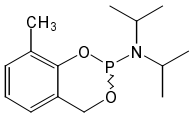
68



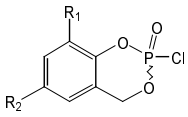
69



70



71c



72

Publikationsliste

C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; ADA-Bypass by lipophilic *cyclo*Sal-ddAMP Pro-Nucleotides - A second Example of the Efficiency of the *cyclo*Sal-Concept
Bioorg. Med. Chem. Letters **1997**, *7*, 1577-1582

C. Meier, M. Lorey, T. Knispel; Auf dem Weg zu neuen nicht-enzymatisch spaltbaren Pro-Nucleotiden
GIT Laborfachzeitschrift, GIT-Verlag, Darmstadt **1997**, *10*, 965-967

C. Meier, T. Knispel, M. Lorey, J. Balzarini; *Cyclo*Sal-Pro-Nucleotides: Design and biological evaluation of a new class of lipophilic prodrugs
International Antiviral News **1997**, *5*, 183-185

C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, E. De Clercq, J. Balzarini; *Cyclo*Sal-Nucleotides of 2',3'-dideoxyadenosine derivatives as efficient Nucleotide delivery systems
Antiviral Res. **1998**, *37*, A63

C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, E. De Clercq, J. Balzarini; *Cyclo*Sal-2'-*ara*(*ribo*)-Fluoro-2',3'-Dideoxyadenosine Monophosphates. Effort to Solve the Structure-Activity Relationship of 2'-Fluoro-ddA
Nucleosides & Nucleotides **1999**, *18*, 907-912

T. Knispel, C. Meier; *N*,*O*-Selectivity in the Synthesis of 3-Methyl-*cyclo*Sal-ddAMP
Nucleosides & Nucleotides **1999**, *18*, 945-946

C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *Cyclo*Sal-Pro-Nucleotides (*cyclo*Sal-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

C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, M. A. Siddiqui, E. De Clercq, J. Balzarini; *Cyclo*Sal-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

J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular metabolism of *cyclo*Saligenyl-3'-azido-2',3'-dideoxythymidinemonophosphate, a prodrug of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (ziduvudine)
Mol. Pharmacol. **1999**, *56*, 1354-1361

L. Mu, S.G. Sarafianos, M. C. Nicklaus, P. Russ, M. A. Siddiqui, H. Ford. Jr., H. Mitsuya, R. Le, E. Kodama, C. Meier, T. Knispel, L. Anderson, J.J. Barchi Jr., V.E. Marquez; Interactions of Conformationally Biased North and South 2‘-Fluoro-2‘,3‘-dideoxynucleoside 5‘-Triphosphates with the Active Site of HIV-1 Reverse Transkriptase
Biochemistry **2000**, 39, 11205-11215

J. Balzarini, S. Aquaro, T. Knispel, C. Ramoazzo, V. Bianchi, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; *Cyclo*Saligenyl-2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine monophosphate (*Cyclo*Sal-d4TMP): Efficient intracellular delivery of d4TMP
Mol. Pharmacol. **2000**, *58*(5), 928-93

L e b e n s l a u f

Persönliche Daten:	Tina Knispel
	geboren am 31.12.1972 in Frankfurt/M.
Schulbildung:	
1979 - 1983	Grundschule in Schwalbach/Ts.
1983 - 1988	Leibniz-Gymnasium Frankfurt/M.
1988 - 1989	Friedrich-Ebert Gesamtschule Schwalbach/Ts.
1989 - 1992	Albert-Einstein-Gymnasium Schwalbach/Ts.
02.06.1992	Allgemeine Hochschulreife (Note: 2,7)
Ausbildung:	
Okt. 1992 - Okt. 1994	Studium der Lebensmittelchemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main
28.10.1994	Diplom-Chemiker Vorprüfung (Note: sehr gut)
Okt. 1994 - März 1997	Chemiestudium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main
	Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Privatdozent Dr. C. Meier
	Thema: "*Cyclo*Saligenyl-(2'-fluor-*ara*)-2',3'-didesoxyadenosin-monophosphate (*cyclo*Sal-(F)ddAMP) - effiziente Pro-Nucleotide zum ADA-Bypass"
17.03.1997	Abschluss: Diplom-Chemikerin (Note: sehr gut)
Promotion:	
Mai 1997 - März 1999	Promotion an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. C. Meier zum Thema: "Synthese, Eigenschaften und biologische Wirkung von *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden"
März 1999 – März 2001	Fortführung der Promotion an der Universität Hamburg ebenfalls in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. C. Meier
Berufstätigkeit:	
Mai 1997 - März 1999	Wissenschaftliche Angestellte am Institut für Organische Chemie der Julius-Maximilians Universität Würzburg
März 1999 - März 2001	Wissenschaftliche Angestellte am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

Erklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, daß ich die Dissertation „*Cyclo*Saligenyl-Nucleotide: Untersuchungen zum TK- und ADA-Bypass antiviral aktiver Pro-Nucleotide“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, daß diese Dissertation weder in gleicher oder anderer Form bereits einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt habe.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademische Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den

(Tina Knispel)