Design, Synthese und Eigenschaften neuer antiviral aktiver Nucleotid Prodrugs

Dissertation
zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Andreas Lomp

aus

Kassel

Hamburg
2002

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem

meiner Frau Kathleen

Nicht weil die Dinge schwer sind wagen wir sie nicht,
sondern weil wir sie nicht wagen sind sie schwer.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Meier am Institut für Organische Chemie der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg in der Zeit von Mai 1998 bis Februar 1999 und am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg in der Zeit von März 1999 bis Mai 2001 angefertigt.

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

Herrn Dr. Scheutzow und seinem Team vom Institut für Organische Chemie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg danke ich für die Messung der ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren. Herrn Dr. Buchner und Frau Schäfer vom Institut für Anorganische Chemie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg danke ich für die Messung der zahlreichen ^{31}P-NMR-Spektren. Herrn Dr. Sinnwell und seinem Team vom Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg danke ich für die Messung von ^{1}H-, ^{13}C-, ^{19}F- und ^{31}P-NMR-Spektren während meiner Zeit in Hamburg.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Herderich und seinen Mitarbeitern, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg danke ich für die Messung einiger Massenspektren. Herrn Dr. Franke und Frau Meiners danke vom Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg danke ich für die Messung zahlreicher Massenspektren.

Herrn Prof. Dr. P. Wutzler, Frau Dr. A. Meerbach und Frau Prof. Dr. R. Klöcking, Friedrich-Schiller-Universität-Jena, danke ich für die Bereitstellung der Nucleoside und für die antiviralen *in-vitro* Zelltests.

Für das sehr gute Arbeitsklima, stete Hilfsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit danke ich allen Mitarbeitern des Arbeitskreises.

Herrn Dipl.-Chem. Christian Müller danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskriptes. Frau Dr. M. Lorey und Frau Dipl.-Chem. Tina Knispel danke ich für die Überlassung einiger Synthesereagenzien.

Meinem Vater danke ich für seine Unterstützung während meines gesamten Studiums.

Meiner Frau Kathleen danke ich für ihre große Geduld und ihre fortwährende Unterstützung zu jeder Zeit meiner Promotion.

Inhaltsverzeichnis

1.	**Einleitung**	1
2.	**Kenntnisstand**	3
2.1.	Struktur und Lebenszyklus eines Virus	3
2.2.	Antivirale Chemotheraphie	7
2.2.1.	Virus-Adsorptionsinhibitoren	7
2.2.2.	Inhibitoren der Virus-Zell-Fusion	8
2.2.3.	Inhibierung des Eindringens und der Freisetzung des viralen Genoms	8
2.2.4.	Inhibierung der viralen DNA-Polymerase	8
2.2.5.	Die Blockierung von Transkription und Proteinbiosynthese	10
2.3.	Nucleosidische Therapeutika	10
2.3.1.	Acyclovir (ACV)	11
2.3.2.	Penciclovir (PCV)	12
2.3.3.	Ganciclovir (GCV)	13
2.3.4.	(*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin (BVDU)	14
2.4.	Prodrug-Konzept	15
2.4.1.	4-Acyloxybenzylphosphate als Prodrugs	18
2.4.2.	Das Pivaloyloxymethyl-System (POM)	19
2.4.3.	*S*-Acylthioethyl-Prodrugs (SATE)	20
2.4.4.	Aryloxyphosphoramidat-Prodrugs nach McGuigan	21
2.4.5.	Das *cyclo*Sal-Konzept	22
3.	**Aufgabenstellung**	26
4.	**Resultate und Diskussionen**	28
4.1.	Darstellung von *cyclo*Saligenyl-Nucleosidmonophosphaten	28
4.1.1.	Synthesestrategie	28
4.1.2.	Darstellung der Salicylalkohole	29
4.1.3.	Darstellung der *cyclo*Sal-chlorphosphite	30
4.1.3.1.	Variante A	30
4.1.3.2.	Variante B	30
4.1.4.	Darstellung der *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidite	31
4.1.5.	Synthese von *cyclo*Saligenyl-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMPs)	32
4.1.5.1.	*cyclo*Sal-chlorphosphit als Phosphitylierungsreagenz	32
4.1.5.2.	*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit als Phosphitylierungsreagenz	32
4.2.	*cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin	33
4.2.1.	Darstellung der 3‘-*O*-unmodifizierten *cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate	33
4.2.1.1.	Synthesestrategie	33

4.2.1.2.	Darstellung ohne Schutzgruppen	34
4.2.1.3.	Darstellung unter Verwendung von Schutzgruppen	35
4.2.2.	Synthese der 3‘-*O*-modifizierten BVDU-Verbindungen	36
4.2.2.1.	Darstellung der Ester	36
4.2.2.2.	Darstellung des Ethers	38
4.2.3.	Synthese der 3‘-*O*-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate	38
4.2.4.	Synthese der 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphate	39
4.2.4.1.	Darstellung mit *cyclo*Sal-chlorphosphit	39
4.2.4.2.	Darstellung mit *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit	40
4.2.4.3.	Vergleich beider Synthesewege	40
4.2.5.	Eigenschaften der *cyclo*Sal-BVDU Phosphattriester	41
4.2.5.1.	Bestimmung der Nernst‘schen Verteilungskoeffizienten	41
4.2.5.2.	Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25 mM, pH 7.3)	47
4.2.5.3.	Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25 mM, pH 6.8)	62
4.2.5.4.	Verhalten in RPMI-1640 Kulturmedium mit 10 % FCS	67
4.2.5.5.	Stabilität einiger *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester gegenüber Carboxyesterase	69
4.2.5.6.	Verhalten in CEM/0 Zellextrakt	70
4.2.5.7.	Verhalten in P3HR-1 Zellextrakt	78
4.2.5.8.	Verhalten in humanem Serum	82
4.2.5.9.	Antivirale Daten: anti-Herpes Simplex Virus Typ 1 Zelltests	86
4.2.5.10.	Antivirale Daten: anti-Epstein-Barr Virus Zelltests	88
4.3.	Synthese von Penciclovir (PCV)	93
4.3.1.	Synthesestrategie	93
4.3.2.	Darstellung von Penciclovir (PCV)	94
4.4.	*cyclo*Sal-Pro-Nucleotide der acyclische Nucleosidanaloga	95
4.4.1.	Verbesserung der Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP	95
4.4.1.1.	Synthesestrategie	95
4.4.1.2.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg A)	96
4.4.1.3.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg B)	97
4.4.2.	Synthese von *cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphates	98
4.4.2.1.	Synthesestrategie	98
4.4.2.2.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphat	98
4.4.3.	Synthese der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate	100
4.4.3.1.	Synthesestrategie	100
4.4.3.2.	Darstellung der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate ohne Schutzgruppen	100

4.4.3.3. Darstellung der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate unter Verwendung von Schutzgruppen 101
4.4.4. Eigenschaften der acyclischen *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphate 102
4.4.4.1. Bestimmung der Nernst‘schen Verteilungskoeffizienten 102
4.4.4.2. Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25 mM, pH 7.3) 104
4.4.4.3. Antivirale Daten: anti-Herpes Simplex Virus Typ 1 Zelltests 108
4.4.4.4. Antivirale Daten: anti-Epstein-Barr Virus Tests 111
5. Zusammenfassung 114
6. Summary 119
7. Ausblick 124
8. Experimentalteil 126
8.1. Allgemeines 126
8.1.1. Lösungsmittel 126
8.1.2. Verwendete Puffer und Reagenzien 127
8.1.3. Chromatographie 128
8.1.3.1. Dünnschichtchromatographie (DC) 128
8.1.3.2. Zirkulare, zentrifugale Dünnschichtchromatographie (CCTLC) 128
8.1.3.3. Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie) 128
8.1.3.4. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) 128
8.1.4. Kernresonanzspektroskopie (NMR) 130
8.1.5. Massenspektrometrie (ESI) 130
8.1.6. Ultraviolettspektroskopie (UV) 131
8.1.8. Infrarotspektroskopie (IR) 131
8.2. Geräte 131
8.2.1. Gefriertrocknung 131
8.2.2. Thermomixer 131
8.3. Darstellungen 132
8.3.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV) 132
8.3.1.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Reduktion von Salicylsäuren bzw. –aldehyden 132
8.3.1.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der *cyclo*Sal-chlorphosphite 132
8.3.1.3. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der *cyclo*Sal-Phosphoramidite 133
8.3.1.4. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von 3‘-veresterten BVDU 133
8.3.1.5. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphaten (Chlorphosphit Methode) 134
8.3.1.6. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphaten (Phosphoramidit Methode) 134
8.3.1.7. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 3‘-Levulinyl-Schutzgruppe 135

8.3.2.	Darstellung der Salicylalkohole	136
8.3.2.1.	Darstellung von 5-Chlorsalicylalkohol	136
8.3.2.2.	Darstellung von 3-Methylsalicylalkohol	136
8.3.2.3.	Darstellung von 3,5-Dimethylsalicylalkohol	137
8.3.2.4.	Darstellung von 5-Methylsalicylalkohol	137
8.3.3.	Darstellung der cyclischen Chlorphosphite	138
8.3.3.1	Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit	138
8.3.3.2.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit	139
8.3.3.3.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit	139
8.3.3.4.	Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit	140
8.3.3.5.	Darstellung von 5-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit	140
8.3.4.	Darstellung der cyclischen Phosphoramidite	141
8.3.4.1.	Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit	141
8.3.4.2.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit	142
8.3.4.3.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit	142
8.3.5.	Darstellung der *cyclo*Sal-Bromvinyldesoxyuridinphosphattriester	143
8.3.5.1.	Darstellung von 5‘-*O*-Dimethoxytrityl-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin	143
8.3.5.2.	Darstellung von 5‘-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin	144
8.3.5.3.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-methyl-2‘-desoxyuridin	145
8.3.5.4.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridin	146
8.3.5.5.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-propionyl-2‘-desoxyuridin	147
8.3.5.6.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridin	148
8.3.5.7.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-pivaloyl-2‘-desoxyuridin	149
8.3.5.8.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-hexanoyl-2‘-desoxyuridin	150
8.3.5.9.	Darstellung von (*E*)-5-(2-bromovinyl)-3‘-*O*-decanoyl-2‘-desoxyuridin	151
8.3.5.10.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin	152
8.3.5.11.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-glycinyl)-2‘-desoxyuridin	153
8.3.5.12.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-alaninyl)-2‘-desoxyuridin	154
8.3.5.13.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-alaninester)-2‘-desoxyuridin	155
8.3.5.14.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-valinyl)-2‘-desoxyuridin	156
8.3.5.15.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-valinyl)-2‘-desoxyuridin	157

8.3.5.16. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-leucinyl)-2‘-desoxyuridin 158
8.3.5.17. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-leucinyl)-2‘-desoxyuridin 159
8.3.5.18. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-isoleucinyl)-2‘-desoxyuridin 160
8.3.5.19. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-isoleucinyl)-2‘-desoxyuridin 161
8.3.5.20. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-phenylalaninyl)-2‘-desoxyuridin 162
8.3.5.21. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-phenylalaninyl)-2‘-desoxyuridin 163
8.3.5.22. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-prolinyl)-2‘-desoxyuridin 164
8.3.5.23. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-prolinyl)-2‘-desoxyuridin 165
8.3.5.24. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-methyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 166
8.3.5.25. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 167
8.3.5.26. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-propionyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 169
8.3.5.27. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 170
8.3.5.28. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-pivaloyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 172
8.3.5.29. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-hexanoyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 173
8.3.5.30. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-decanoyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 175
8.3.5.31. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 177
8.3.5.32. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 178
8.3.5.33. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromovinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 179
8.3.5.34. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromovinyl)-3‘-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 181

8.3.5.35. Darstellung von 5-Methoxy-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 182
8.3.5.36. Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 184
8.3.5.37. Darstellung von 3-*t*-Butyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 185
8.3.5.38. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat 186
8.3.5.39. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat 188
8.3.5.40. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat 189
8.3.5.41. Darstellung von 5-Methoxy-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat 191
8.3.5.42. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat 192
8.3.5.43. Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat
8.3.5.44. Darstellung von 3-*t*Butyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat 195
8.3.5.45. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-glycinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 197
8.3.5.46. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-alanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 198
8.3.5.47. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-alanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 200
8.3.5.48. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-valinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 202
8.3.5.49. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-valinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 204
8.3.5.50. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 205
8.3.5.51. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 207
8.3.5.52. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-iso-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 209
8.3.5.53. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-iso-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 211

8.3.5.54. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-phenylalanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 213
8.3.5.55. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-phenylalaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 214
8.3.5.56. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-prolinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 216
8.3.5.57. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-prolinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 217
8.3.5.58. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxy-uridinmonophosphat 219
8.3.5.59. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxy-uridinmonophosphat 220
8.3.5.60. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 222
8.3.5.61. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 223
8.3.5.62. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E)*-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 225
8.3.5.63. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 226
8.3.5.64. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 228
8.3.5.65. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat 229
8.3.6. Darstellung von Penciclovir 231
8.3.6.1. Darstellung von 3-Brompropan-1,1,1-tricarbonsäuretriethylester 231
8.3.6.2. Darstellung von 2-[2-(2-Amino-6-chlorpurin-9-yl)ethyl]malonsäuredimethylester 231
8.3.6.3. Darstellung von Penciclovir 232
8.3.7. Darstellung der *cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphate 233
8.3.7.1. Darstellung von Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)-penciclovir 233
8.3.7.2. Darstellung von *N*-(Dimethoxytrityl)penciclovir 234
8.3.7.3. Darstellung von Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir 235
8.3.7.4. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir-monophosphat 236
8.3.7.5. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphat 237
8.3.7.6. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-penciclovirmonophosphat 238
8.3.7.7. Darstellung von 9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin 239

8.3.7.8.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-penciclovirmonophosphat	240
8.3.8.	Darstellung der *cyclo*Sal-ganciclovirmonophosphate	241
8.3.8.1.	Darstellung von Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)ganciclovir	241
8.3.8.2.	Darstellung von Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)-ganciclovir	242
8.3.8.3.	Darstellung von *N*-(Dimethoxytrityl)ganciclovir	243
8.3.8.4.	Darstellung von Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir	243
8.3.8.5.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir-monophosphat	244
8.3.8.6.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-ganciclovirmonophosphat	245
8.3.8.7.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-ganciclovirmonophosphat	247
8.3.9.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-desoxythymidinmonophosphat	248
8.3.9.1.	Darstellung von 5‘-*O*-(4,4‘-Dimethoxytriphenylmethyl)-2‘-desoxy-thymidin	248
8.3.9.2.	Darstellung von 3‘-*O*-Levulinyl-2‘-desoxythymidin	249
8.3.9.3.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-3'-*O*-levulinyl-2‘-desoxythymidinmono-phosphat	250
8.3.9.4.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-desoxythymidinmonophosphat	251
8.3.10.	Darstellung der *cyclo*Sal-acyclovirmonophosphate	252
8.3.10.1.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat	252
8.3.10.2.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat	254
8.3.10.3.	Darstellung von Bis-*O,N*-dimethoxytritylacyclovir	255
8.3.10.4.	Darstellung von *N*-Dimethoxytritylacyclovir	256
8.3.10.5.	Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat	256
8.3.10.6.	Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat	258
8.3.11.	Darstellung der Nucleosidmonophosphate und Nucleosidcyclophosphate	259
8.3.11.1.	Darstellung von Penciclovircyclophosphat	259
8.3.11.2.	Darstellung von Penciclovirmonophosphat	260
8.3.11.3.	Darstellung von 2‘-Desoxythymidinmonophosphat	261
8.3.11.4.	Darstellung von 2‘-Desoxythymidincyclophosphat	262
8.3.11.5.	Darstellung von 2‘-Desoxy-5-fluoruridinmonophosphat	263
8.3.11.6.	Darstellung von 2‘-Desoxy-5-fluoruridincyclophosphat	264
8.3.11.7.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat	265
8.3.11.8.	Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridincyclophosphat	266
8.4.	Hydrolysekinetiken in Phosphatpuffer	267
8.5.	Esterasekinetiken	267
8.6.	Zellextraktkinetiken (CEM/0 bzw. P3HR-1-Zellen)	268
8.7.	Kinetiken in humanem Serum	268
8.8.	Bestimmung der Verteilungskoeffizienten	269

8.9.	Biologische Methoden und Zellkultur Assays	269
8.9.1.	anti-Herpes Simplex Virus Typ 1-Zelltest	269
8.9.1.1.	Zellen und Virenstämme	269
8.9.1.2.	Antiviral screening Assay	270
8.9.2.	anti-Epstein-Barr-Virus-Zelltests	270
8.9.2.1.	Zellen	270
8.9.2.2.	Slot blot Hybridisierung	270
8.9.2.3.	Bestimmung der Zytotoxizität	271
8.9.2.4.	Hemmung der EBV-VCA Expression	271
9.	**Literaturverzeichnis**	272
10.	**Gefahrstoffe**	284
11.	**Ausklapptafel**	285
12.	**Publikationsliste**	289
13.	**Lebenslauf**	290

Abkürzungsverzeichnis

3TC	2‘-Desoxy-3‘-thiacytidin
ACV	Acyclovir, Zovirax®
AIDS	Erworbene Immunschwäche Syndrom (Acquired Immunodeficiency Syndrom)
ar.	aromatisch
AZT	3‘-Azido-2‘,3‘-didesoxythymidin; Zidovudin; Retrovir®
BVDU	(*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyurdin
BVU	(*E*)-5-(2-Bromvinyl)uracil
CC_{50}	Zytotoxische Konzentration
$CDCl_3$	Deuterochloroform
CEM	Lymphozytenzellstamm
CH_2Cl_2	Dichlormethan
CH_3CN	Acetonitril
CMV	Cytomegalie Virus
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
D_2O	Deteriumoxid
d4A	2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydroadenin
d4T	2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin
ddA	2‘,3‘-Didesoxyadenin
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	*N*,*N‘*-Dicyclohexylcarbodiimid
DIPEA	Di*iso*propylethylamin
DMAP	4-*N*,*N*-Dimethylaminopyridin
DMF	*N*,*N*-Dimethylformamid
DMSO-d_6	Dimethylsulfoxid (sechsfach deuteriert)
DMTr	4,4‘-Dimethoxytriphenylmethyl
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DP	Diphosphat
dT	Desoxythymidin
EBV	Epstein-Barr Virus
EC_{50}	Effektive Konzentration

ESI	Elektrosprayionisierung
FAB	fast atom bombardment
FCS	fötales Kälberserum
FddA	2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-desoxyadenin
G	Guanin
GCV	Ganciclovir
HBV	Hepatitis-B Virus
HHV	humanes Herpes Virus
HIV	Humanes Immunschwäche Virus (Human immunodeficiency Virus)
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
HSV	Herpes Simplex Virus
J	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
M	Multiplett
MeOH-d_4	Methanol (vierfach deuteriert)
MP	Monophosphat
mRNA	messanger Ribonucleinsäure
MS	Massenspektrometrie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PCV	Penciclovir
PFA	Foscarnet, Foscarvir®,
POC	*Iso*propyloxycarbonyloxymethyl-Prodrugkonzept
POM	Pivaloyloxymethyl-Prodrugkonzept
ppm	parts per million
q	Quadruplett
quin	Quintett
R_f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
RNase H	Ribonuclease H
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
R_t	Retentionszeit
Rt	Raumtemperatur
S	Singulett
SATE	*S*-Acylthioethyl-Prodrugkonzept
SG	Schutzgruppe
t	Triplett

TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	*tert*-Butyldimethylsilyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TK^+	Thymidin Kinase kompetent
TK^-	Thymidin Kinase defizient
TP	Triphosphat
U	Uracil
UV	Ultraviolett
VCA	virale Capsid Antigen
VZV	Varicella-Zoster Virus

1. Einleitung

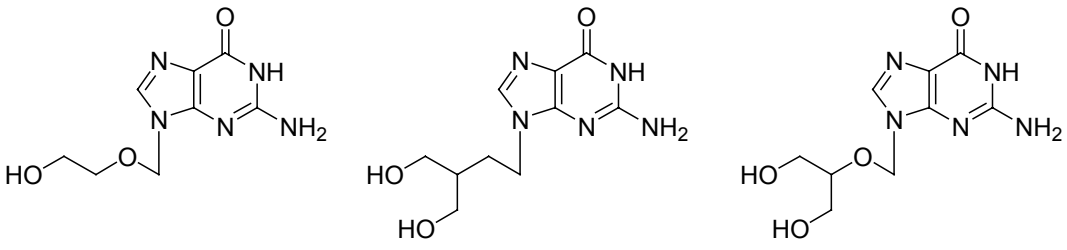
Einige Infektionskrankheiten werden durch human-pathogene Viren verursacht. Die Bandbreite dieser Krankheiten reicht von eher harmlosen Erscheinungsformen wie Mumps oder Schnupfen bis hin zu lebensbedrohenden Formen wie Pocken, Gelbfieber oder AIDS (**A**cquired **I**mmuno**d**eficiency **S**yndrom).[1,2,3,4,5,6,7] Einige Viren sind sogar an der Entstehung bestimmter Krebsarten beteiligt, beispielsweise Papillomaviren bei Gebärmutterhalskrebs oder Hepatitis-B-Viren bei Leberkrebs.[8]

Viele Viren, besonders die, die örtlich begrenzt im Atmungs- oder Verdauungstrakt bleiben, verursachen nur akute Infektionen, die selten zum Tod führen. Meist werden diese Viren nach der Heilung vollständig aus dem Organismus entfernt. Andere verursachen länger oder sogar lebenslänglich andauernde (chronische) Infektionen. Vermutlich bietet ein solches Verhalten diesen Viren einen evolutionären Vorteil, so daß sie den Wirt nicht töten. Bildung und Erhaltung einer chronischen Infektion lassen auf zwei offensichtliche Voraussetzungen schließen: Verhinderung der Eliminierung durch das Immunsystem und Limitierung der Expression des viralen Genoms. Im Fall einer wirklich latenten Infektion überdauert das Genom in Abwesenheit viraler Replikation in der Wirtszelle und wird irgendwann wieder reaktiviert, um erneut Viren zu replizieren. Ob dies zu einer Krankheit führt, ist für den Virus nicht relevant, für den Wirt hingegen von großen Interesse.

Das Wissen über langandauernde virale Infektionen ist aus verschiedenen Gründen wichtig. So sind sie oft von epidemiologischer Wichtigkeit, da die Virusträger als Infektionsquelle für andere Personen dienen können, wodurch solche Viren, auch wenn ihre Infektiösität nur gering ist in kleinen Populationen bestehen können. Das Virus könnte jederzeit reaktiviert werden und eine akute Episode der Krankheit verursachen. Latenz könnte zu immun-pathologischen Kranheiten führen. Einige Viren werden mit der Tumorbildung in Verbindung gebracht. Sie könnten geimpfte Personen infizieren, solange das Immunsystem noch nicht eine genügend hohe Anzahl von T-Gedächniszellen etabliert hat. Und nicht zuletzt können solche Viren nicht durch antivirale Chemotherapie bekämpft werden, da das virale Genom in der Latenzzeit nicht für antivirale Medikamente empfindlich ist.

Das Studium der Viren hat, insbesondere in jüngster Zeit, zu einem immer besseren Verständnis viraler Lebenszyklen geführt und es damit ermöglicht, nach Schwachpunkten in der Virusreplikation zu suchen. Es lassen sich erste Erfolge in der Chemotherapie von Krankheiten, die durch Viren verursacht werden, feststellen. Arzneimittel wie 9-[2-Hydroxy-ethoxymethyl]guanin (ACV, Acyclovir, Zovirax®, **1**),[9] 9-[4-Hydroxy-3-hydroxymethylbut-

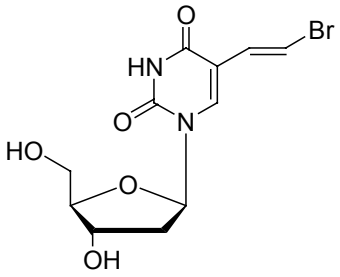
1-yl]guanin (PCV, Penciclovir, Vectavir®, **2**),[10] 9-[1,3-Dihydroxy-2-propoxymethyl]guanin (GCV, Ganciclovir, Cymevene®, **3**)[11] oder (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyurdin (BVDU, Brivudin®, **4**), ermutigen die chemische, pharmazeutische und medizinische Forschung erhebliche Anstrengungen zu unternehmen, auch in anderen, teilweise noch schwerer wiegenden Fällen, ähnlich wirksame Substanzen zu finden oder das Leistungsspektrum bekannter Verbindungen durch Variation voll auszuschöpfen bzw. zu erweitern.



Acyclovir
1

Penciclovir
2

Ganciclovir
3



Brivudin
4

Abbildung 1 Antivirale Chemotherapeutika

Die Synthese einer Vielzahl potentiell antiviral aktiver Verbindungen hat dazu geführt, daß auch der Verlauf von Krankheiten gemildert werden konnte, deren Behandlung sich bis dahin lediglich auf die Abschwächung äußerer Symtome beschränkte.

Insbesonders die Immunschwächekrankheit AIDS, ausgelöst durch das HI-Virus (**H**uman **I**mmunodeficiency Virus),[12] hat mit ihrer pandemischen Ausbreitung zu einem Entwicklungsschub bisher unbekannten Ausmaßes geführt. Auch 20 Jahre nach der Entdeckung und Isolierung des HI-Viruses[2,3] ist es weder gelungen, einen Impfstoff zu entwickeln, der vor der Infektion schützen kann und damit eine medikamentöse Behandlung infizierter Personen überflüssig macht, noch existieren Medikamente, die die virale Vermehrung vollständig unterbinden und somit Patienten heilen.

2. Kenntnisstand

2.1 Struktur und Lebenszyklus eines Virus

Viren bestehen im wesentlichen aus zwei Komponeneten: Erbinformation in Form von Nucleinsäure und Protein.[13] Die Nucleinsäure kann entweder DNA oder RNA sein und kommt in einigen Viren doppelsträngig, in anderen einzelsträngig vor. Viren sind in hohem Maße vom Stoffwechsel ihrer Wirtszelle abhängig, da sie nicht in der Lage sind, selbständig Energie zu erzeugen oder Proteine zu synthetisieren. Die Wirtszelle kann ein Bakterium (Bakteriophagen), eine Pflanzenzelle, eine tierische oder eine menschliche Zelle sein.
Die antivirale Therapie wird besonders dadurch erschwert, daß sich das Virus veränderten äußeren Bedingungen durch rasche Mutation anpassen kann. Durch ihren vergleichsweise einfachen Aufbau sind Viren unter den selbstreplizierenden intrazellulären Parasiten am effizientesten. Andererseits ist die Bandbreite der viralen Komplexität sehr groß. So besitzt beispielsweise Qβ, ein RNA-Bakteriophage, nur vier Gene, während das Pockenvirus etwa 250 Gene aufweist.
Allen Viren gemeinsam ist eine schützende Hülle aus Proteinen, das Capsid, die das virale Genom umgibt. Die Anzahl der Aminosäuren im Capsid übersteigt die Zahl der für sie codierenden Nucleotide im Genom bei weitem. Um trotz dieser Genarmut eine vollständige Hülle erzeugen zu können, wird diese aus einer Vielzahl identischer Untereinheiten aufgebaut. Eine Folge daraus ist die hohe Symmetrie der Viruspartikel, die zylindrische, kugelförmige oder ikosaedrische Gestalt annehmen können.
Obwohl ein Virus immer zelleigene Stoffwechselsysteme nutzt, bringt es auch einige entscheidende Schlüsselproteine mit, die der Wirt nicht zur Verfügung stellen kann. Dieses Wissen ist für die antivirale Therapie bedeutsam, da hierdurch nützliche und schädliche Metabolismen unterschieden werden können.

Herpes Viren (gr.: herpes = schleichen, kriechen) sind DNA-Viren mit einem gestreckten, doppelsträngigen Chromosom. Man unterscheidet die nah miteinander verwandten Stämme Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV-1) und Herpes Simplex Virus Typ 2 (HSV-2) und die „entfernteren Verwandten“ Epstein-Barr Virus (EBV), Varicella-Zoster Virus (VZV), Cytomegalie Virus (CMV) und die humanen Herpes Viren Typ 6, 7 und 8 (HHV-6, 7 bzw. 8).
Alle Viren der Herpes Virus Familie haben die gemeinsame Fähigkeit sich unbegrenzt in ihrer Wirtszelle in Form eines Episomes im Kern der Zelle aufhalten zu können. Dabei wird keine

Infektion oder deren Symptome ausgelöst, so daß die Viren für das Immunsystem nicht zu bekämpfen sind. Die Viren können jederzeit aus ihrer Latenz reaktiviert werden. Ist das Immunsystem zu diesem Zeitpunkt geschwächt, zum Beispiel bei AIDS-Patienten oder durch Organtransplantation, kann die Reaktivierung eines Herpes Viruses tödlich enden.

Der hauptsächliche Unterschied von HSV-1 zu HSV-2 ist der Wirkort, wobei sich HSV-1-Infektionen bevorzugt im Gesichtsbereich („Herpesbläschen“) und HSV-2-Infektionen meistens im Genitalbereich finden. Sie überleben nach der ersten Infektion in den Nervenknoten der Gesichts- oder Rückenmarksnerven.

In der dritten Welt werden die meisten Neugeborenen mit dem Epstein-Barr Virus durch Speichelaustausch mit ihren Müttern infiziert. In der westlichen Welt erkranken meist Jugendliche in Form von Pfeifferschen Drüsenfieber. Diese Krankheit ist auch als infektiöse Mononucleosis („Kisssyndrom“) bekannt. In einigen Teilen der Welt können EBV-Infektionen in der Kindheit Jahrzehnte später zu Krebs führen, entweder zu nasopharyngealem Krebs oder zu bösartigem B-Zellen Krebs, auch bekannt als Burkitt´s Lymphoma. Die Viren überleben in Immunzellen.

Ein einzelnes Herpes Virus, bekannt als Varicella-Zoster Virus (VZV), ist verantwortlich für zwei verbreitet auftretende menschliche Leiden: Windpocken, eine Kinderkrankheit und Gürtelrose, eine Krankheit meist älterer Personen oder auch Personen, deren Immunsystem geschwächt ist.[14]

Cytomegalie Virus-(CMV)-Infektionen können sich auf vielfältige Weise äußern. Eine Infektion in der Kindheit äußert sich in einer harmlosen, meist mit Fieber einhergehenden Erkrankung. In zivilisierten Ländern wird die Infektion mehr und mehr hin zu späteren Lebensabschnitten verschoben. So kann eine Infektion während der Schwangerschaft zu ernsten Schäden des Fötus führen. Auch ist diese Infektion der häufigste Grund für die Erblindung oder den Tod von AIDS Patienten. Aber auch bei Personen, die auf Bluttransfusionen angewiesen sind oder deren Immunsystem geschwächt ist, zum Beispiel wegen Organtransplantationen, können schwere Komplikationen verursacht werden.

Die humanen Herpesviren 6 und 7 (HHV-6, -7) wurden erst 1986 bzw. 1990 in humanen Lymphozyten entdeckt.[15] Das Virus infiziert meist Kinder im ersten oder zweiten Lebensjahr und verursacht bei ihnen eine harmlose fiebrige Erkrankung, die manchmal mit Ausschlag einhergeht (Dreitagefieber).[16,17] Außerdem scheint das HHV-6 eine Rolle im Krankheitsverlauf des chronischen Erschöpfungssyndroms (CFIDS = chronic fatigue immunodeficiency syndrome) zu spielen.[15]

Der Zusammenhang zwischen einer, hauptsächlich bei AIDS-Patienten auftretenden, Krebsart (Kaposi´s Sarcoma) und dem humanem Herpes Virus 8 (HHV-8) wurde erst 1994 festgestellt.[18]

Der zelluläre Angriffspunkt einiger Herpes Viren (HSV-1, HSV-2, VZV) sind Nervenzellen, in denen sie nach der Infektion oftmals jahrelang in einer Latenzphase verharren, andere (EBV, CMV, HHV-6) benutzen Lymphozyten als Wirt. In den jeweiligen Zellen sind sie vor Antikörpern geschützt, die die Plasmamembran nicht durchdringen können. Aus therapeutischer Sicht kommt erschwerend hinzu, daß T-Killerzellen eine Infektion nicht erkennen können, da die infizierten Zellen keine Herpesvirus-eigenen Glucoproteine auf ihrer Oberfläche präsentieren, die ihren Befall signalisieren würden.

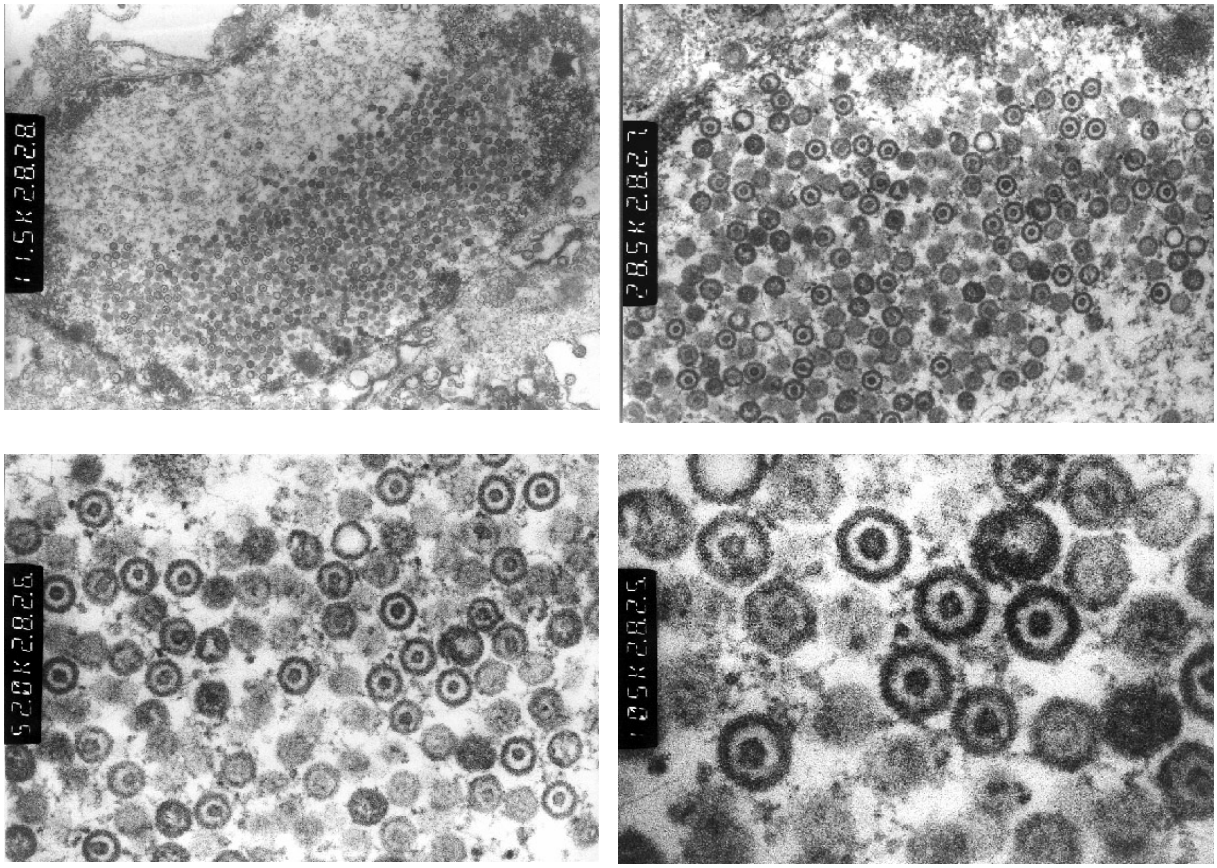


Abbildung 2 **Elektronenmikroskopische Aufnahmen des Herpes Simplex Virus Typ 1**

Das virale Genom besteht aus 125000-229000 Basenpaaren, die für ca. 70 Proteine kodieren und im Viruspartikel um einen ringförmigen Proteinkern gewickelt sind. Die Virushülle besteht aus einem ikosaederförmigen Proteincapsid von 100 nm Durchmesser und einer zusätzlichen Lipidhülle, die außerdem verschiedene Glycoproteine enthält (Abbildung 2).
Die virale Nucleinsäure kodiert für Virus-Strukturproteine und Enzyme, die für die Expression des Virusgenoms erforderlich sind. Für ihre Vermehrung nutzen Viren

Nucleotide, Aminosäuren, Enzyme und Energie der Wirtszelle, deren Makromolekülsynthese in dieser Zeit weitgehend abgeschaltet ist. Der virale Replikationsprozess kann in mehrere Schritte eingeteilt werden (Abbildung 3).

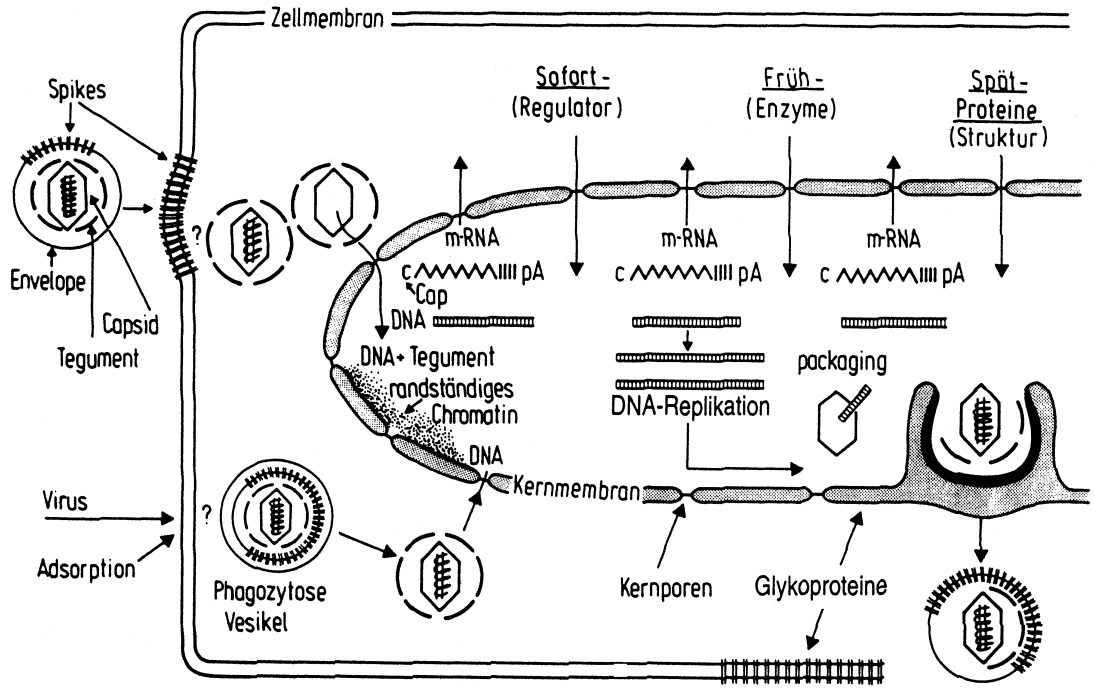


Abbildung 3 Replikationszyklus der Herpes Viren

Bei der Adsorption reagiert ein außen liegendes Strukturelement des Virus mit einem Rezeptor der Zellmembran. Nach dem Eindringen in die Zelle (Penetration) wird die DNA teilweise vom Protein befreit und das verbleibende Capsid zum Zellkern transportiert (Eklipse). Dort gelangt die freie Virus-DNA durch eine Kernpore in den Zellkern.[19] Mit der Beendigung des Uncoating beginnt die freigelegte Virusnucleinsäure mit der für die Synthese notwendigen Informationsabgabe. Bei Herpes Viren werden zuerst Sofortproteine transkribiert, die die Virussynthese einleiten. Es beginnt nun die Transkription und Translation der sogenannten Frühproteine. Zu dieser Kategorie rechnet man diejemigen Enzyme, welche zur Replikation der Virus-DNA unentbehrlich sind, wie z.B. Polymerase oder Thymidin Kinase.[20] Anschließend erfolgt die Expression der viralen Proteine. Die Replikation erfolgt nach Bildung der viralen DNA-Polymerase, Helicase und Primase nach dem Prinzip des „rolling-circle“, wobei hier die ursprüngliche Virus-DNA als Matrize dient. Dabei wird ein fortlaufend synthetisierter DNA-Strang über den zirkulären Einzelstrang „abgerollt“, in einen Doppelstrang überführt und dann in die Genomeinheiten geteilt.

Nachdem eine beträchtliche Anzahl viraler DNA hergestellt wurde, beginnt die Produktion viraler Strukturproteine zum Aufbau des vollständigen Virus, gefolgt vom Zusammenbau und

Ausknospung des neuen infektiösen Virus-Partikels aus der Zelle. Die Viren könne sich aber auch durch Zell-Zell-Kontakte oder Zellfusion ausbreiten.[21]

2.2 Antivirale Chemotherapie

Im folgenden sollen einige, prinzipielle Möglichkeiten zur antiviralen Therapie mit besonderem Augenmerk auf Herpesviren beschrieben werden. Viele der aufgezeigten Wirkmechanismen lassen sich auf die Bekämpfung anderer Virenarten übertragen.[22]

Das Ziel der antiviralen Chemotherapie ist die Unterbindung der Replikation pathogener Viren, ohne die Funktion der Wirtszelle zu beeinflussen. Als Angriffspunkte für Virustatika kommen die verschiedenen Phasen der Virusreplikation wie Adsorption, Penetration, Translation, Transkription der viralen Gene, Replikation der Nucleinsäure sowie der Zusammenbau der Viruspartikel infrage. Der Grad der Selektivität antiviraler Verbindungen ist wesentlich davon abhängig, inwieweit diese vorrangig durch virusspezifische Enzyme aktiviert werden.

2.2.1 Virus-Adsorptionsinhibitoren

Viren die eine Hüllmembran und darin enthaltene Glycoproteine besitzen (HIV, HSV, CMV usw.), sind Angriffspunkt für eine Reihe polyanionischer Verbindungen.[23,24,25] Diese können mit einer kationischen Region des viralen Hüllproteins wechselwirken und verhindern dadurch eine Assoziation mit den Rezeptoren der potentiellen Wirtszelle.

Die klinische Verwendbarkeit der Polyanionen ist durch einige pharmakokinetische und toxikologische Eigenschaften beschränkt. Sie werden oral nur sehr schlecht vom Organismus aufgenommen und können auch bei direkter Applikation in den Blutkreislauf von verschiedenen Plasmaproteinen sehr schnell abgebaut werden. Die unter anderem verwendeten Polysaccharidsulfate sind darüber hinaus für ihre antikoagulierende Aktivität bekannt.

2.2.2. Inhibitoren der Virus-Zell-Fusion

Virus-Zell-Fusionsinhibitoren verhindern im Gegensatz zu den Adsorptionsinhibitoren nicht schon die Anbindung der Viren, sondern erst deren Verschmelzung mit den Wirtszellen unter Bildung einer gemeinsamen Membran. Zusätzlich kann durch Virus-Zell-Fusionsinhibitoren auch die Neuinfektion nicht infizierter Zellen durch direkten Zellkontakt zu infizierten Zellen unterbunden werden. Chemisch sehr unterschiedliche Verbindungen sind in der Lage, die

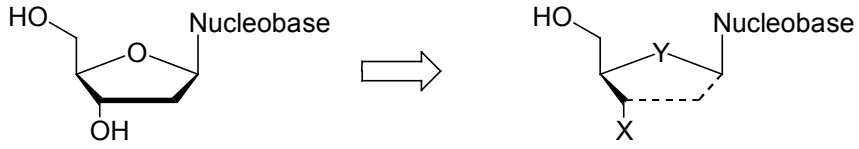
Fusion der Virushülle mit der Zellmembran zu verhindern. Gemeinsam ist diesen Verbindungen lediglich die Assoziation mit Glycoproteinen der Virushülle, allerdings kann die spezifische Angriffsstelle sehr verschieden sein.

2.2.3 Inhibierung des Eindringens und der Freisetzung des viralen Genoms

Die Entfernung des Capsids (Uncoating) ist ein weiterer Angriffspunkt im viralen Metabolismus. So existieren bereits nachweislich wirksame Substanzen gegen die Freisetzung des Genoms aus Picornaviren (z.B. Rhinoviren).[26] Die Übertragung dieser Wirkstoffsysteme auf andere Viren bereitet allerdings große Schwierigkeiten.[27] Man kann jedoch aus der Untersuchung anderer Substanzen schließen, daß sich der Freisetzungsprozess im Prinzip unterbinden läßt.[28]

2.2.4. Inhibierung der viralen DNA-Polymerase

Die Inhibierung der viralen DNA-Polymerase stellt einen zentralen Punkt in der anti-viralen Therapie gegen Viren der Herpes Virus Familie dar. Dieses von allen Herpes Viren mitgebrachte Enzym hat unterschiedliche Aufgaben: Es ist mitverantwortlich für die Einschleusung viraler Erbinformation in das Genom der Wirtszelle, für die RNA-abhängige DNA-Synthese, für die DNA-abhängige DNA-Synthese und es besitzt RNase H-Aktivität.[29]
Viele der heute bekannten erfolgreichen antiviralen Verbindungen sind Nucleosidanaloge Substanzen, die in ihrer antiviralen Aktivität auf Herpes Viren beschränkt sind.
Strukturell unterscheiden sich die Nucleosidanaloga von natürlichen Nucleosiden in einigen Merkmalen erheblich (Abbildung 4, Seite 9).[30] Die Analogie ist aber zumindest in zwei wesentlichen Punkten gegeben. Zum einen findet man immer eine – gegebenenfalls modifizierte – Nucleobase, die als Bindungsstelle zum komplementären viralen DNA-Mutterstrang nötig ist. Zum anderen muß eine funktionelle Gruppe in der vormaligen 5‘-Position vorhanden sein, welche die Erzeugung eines energiereichen Triphosphats (TP) aus dem Nucleosidanalogon zuläßt. Erst das Nucleosidtriphosphat kann im Kettenverlängerungs-prozeß verwendet werden. Eine direkte Gabe des letzlich aktiven Triphosphats als Wirkstoff ist nicht möglich, da diese im Blutplasma schnell durch unspezifische Phosphatasen zu den entsprechenden freien Nucleosidanaloga abgebaut werden. Zudem können Triphosphate aufgrund ihrer negativen Ladungen keine Zellmembran überwinden und so den Wirkort innerhalb der Zelle nicht erreichen.



Nucleoside Nucleosidanaloga

X = nicht OH
Y = O oder CH_2
--- = bevorzugte strukturelle Variationsstelle

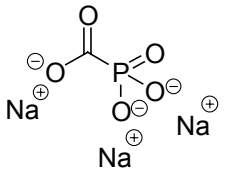
Abbildung 4 Wirkprinzip eines Nucleosidanalogons

Einige Herpes Viren bringen ihre eigene virale Thymidin Kinase mit, die solche Nucleosid-analoga in infizierten Zellen zum jeweiligen Nucleosidmonophosphat metabolisieren, das wiederum nun von zelleigenen Enzymen zum Triphosphat, dem eigentlich wirksamen Metaboliten, umgewandelt wird. Dieses Triphosphat konkurriert als alternatives Substrat mit dem natürlichen Substrat um den Einbau in die DNA. Durch das Fehlen einer 3‘-Hydroxyl-Funktion oder einer analogen Gruppe wird eine weitere Kettenverlängerung unterbunden.[31] Das Triphosphat kann aber auch als kompetetiver Inhibitor der viralen DNA-Polymerase wirken. Auf beiden Wegen wird die Replikation des Virus gestört oder sogar gänzlich unterbunden.

Die frühen Prototypen, wie zum Beispiel Adeninarabinosid, waren relativ unselektive Inhibitoren sowohl der viralen als auch der zellulären DNA Synthese. Dies führte zu toxischen Nebenwirkungen, speziel in sich teilenden Zellen im Knochenmark und im Magen-Darm Trakt.

Heute werden Verbindungen wie Acyclovir **1**, Penciclovir **2**, Ganciclovir **3** oder BVDU **4** in der anti-Herpesvirus Therapie eingesetzt (siehe dazu Kapitel 2.3., Seite 10).

Ein Beispiel für einen nicht-nucleosidischen DNA-Polymerase Inhibitor ist das Trinatriumsalz eines Phosphonsäure-Ameisensäure Derivats **5** (PFA, Foscarnet, Foscarvir®, Abbildung 5), das momentan bei Patienten mit Cytomegalie Virus Infektionen verwandt wird.[32] Im Gegensatz zu den nucleosidischen DNA-Polymerase Inhibitoren wirkt PFA als ein Pyrophosphatanalogon, das ohne weitere Metabolisierung die virale DNA-Polymerase inhibiert.[33,34]



5

Abbildung 5 Foscarnet, ein nicht-nucleosidischer DNA-Polymerase Inhibitor

2.2.5. Die Blockierung von Transkription und Proteinbiosynthese

Um aus der Vielzahl gleichzeitig ablaufender Proteinbiosynthesen selektiv in virale Mechanismen einzugreifen, ist ein spezifischer Erkennungsapparat erforderlich. Diese Bedingung ist besonders durch die Ausbildung sequenzspezifischer, stabiler Dublex-Komplexe von Oligonucleotiden mit der mRNA erfüllt. Der kritische Punkt auch dieses Ansatzes ist die gehemmte Zellaufnahme und die mangelnde Nucleaseresistenz von Oligonucleotiden, wodurch die Verwendung rückratmodifizierter Oligonucleotide notwendig wird. Als besonders nützliche Eigenschaft gilt die Fähigkeit der Oligonucleotide auf DNA-Basis, den gebildeten Dublex für die Spaltung durch die RNase H zu aktivieren. Dabei baut das Enzym selektiv den mRNA-Teil des Dublex ab.

2.3 Nucleosidische Therapeutika

Die Idee, mit Nucleosidanaloga in virale oder zelluläre Replikationsmechanismen einzugreifen, wird schon seit mehreren Jahrzehnten verfolgt. Der dabei ins Auge gefaßte Wirkmechanismus läßt sich naturgemäß sowohl auf die Replikation von DNA als auch auf DNA/RNA-Transkriptionsfolgen anwenden. So wurde das seit 1985 als HIV-aktiv bekannte AZT **6** (Abbildung 6) bereits 1964 als potentielles Krebschemotherapeutikum konzipiert.[35,36] Der therapeutische Durchbruch mit dieser Substanzklasse gelang allerdings erst mit dem anti-Herpes-Wirkstoff Acyclovir **1** (ACV, Zovirax®). Inzwischen sind noch weitere wirksame Vertreter dieser Substanzklasse hinzugekommen, die besonders gegen HSV, HBV oder HIV aktiv sind.

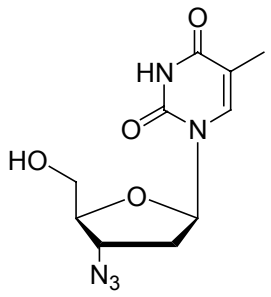


Abbildung 6 3‘-Azido-3‘-desoxythymidin (AZT) 6

Die strukturellen Variationen des Zuckerrestes reichen von einfachen 2‘,3‘-Didesoxy-nucleosiden oder 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydronucleosiden[37] über verschiedene Hetero-Substitutionen im Ribose-Ring,[38] offenkettige und zusätzlich verbrückte Zucker, verschiedene Substitutionen am Ring[39] (bzw. an der offenen Kette) bis zu Konfigurationsisomeren an den Zentren C1‘ und C4‘.[40] Zusätzlich finden sich noch eine

Vielzahl basenmodifizierter Nucleosidanaloga, besonders Fluorierungen, Carba-Substitution, Aza-Substitution, sowie eine Vielzahl von Kombinationen der genannten Varianten.[41]

2.3.1 Acyclovir (ACV)

Acyclovir **1** (ACV, Zovirax®) wurde von der Wellcome Foundation Ltd. 1974 als potenter und selektiver Inhibitor des Herpes Simplex Virus (HSV-1 und -2) entwickelt. Seine geringe Zytotoxizität kann der beschleunigten Aufnahme in Virus-infizierte Zellen zugeschrieben werden und der selektiven Phosphorylierung durch virale Thymidin Kinase. In nicht infizierten Zellen wird daher Acyclovir nicht zum Monophosphat metabolisiert. In infizierten Zellen wird das Monophosphat von zelleigenen Enzymen zu Acyclovirdiphosphat und schließlich zum Triphosphat umgewandelt. Dieses ist Substrat und gleichzeitig auch potenter Inhibitor der viralen, nicht der zelleigenen, DNA Polymerase.

Acyclovir ist auch gegen das Varicella-Zoster Virus (VZV) antiviral wirksam, sowohl gegen die primäre Infektion (varicella oder Windpocken), als auch gegen wiederkehrende Infektionen (zoster oder Gürtelrose). Nicht wirksam ist Acyclovir gegen das Cytomegalie Virus (CMV), obwohl Acyclovirtriphosphat ein Inhibitor der viralen DNA-Polymerase ist.[42] Das CM Virus besitzt keine virale Thymidin Kinase, so daß nur eine sehr schlechte Phosphorylierung zum Monophosphat beobachtet werden konnte.

Trotz der unbestrittenen Wirksamkeit ist die Pharmakokinetik von Acyclovir nicht ideal. Der größte Nachteil stellt seine schlechte, variable und dosisabhängige Zellaufnahme dar.[43] Außerdem ist Acyclovir nur schlecht in wässrigem Medium löslich und wird hauptsächlich (zu 67 %) im Urin ausgeschieden.

Auf der Suche nach einem Prodrug von Acyclovir mit verbesserter Bioverfügbarkeit wurde Valacyclovir **7** der L-Valylester von Acyclovir als die wichtigste Verbindung gefunden (Abbildung 7).[44,45]

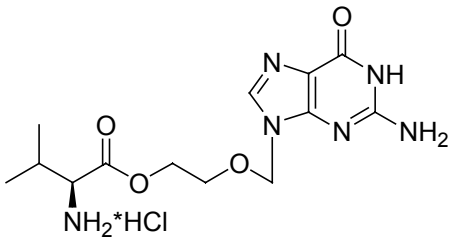


Abbildung 7 Valacyclovir 7, Prodrug des Acyclonucleosides Acyclovir

Nach oraler Gabe und Aufnahme im Magen-Darm Trakt wird Valacyclovir im Plasma schnell durch ein Enzym, die Valacyclovir Hydrolase, zu Acyclovir umgewandelt.[46]

Desweiteren wurde ACV als Nucleosidkomponente in allen weiter unten beschriebenen Pro-Nucleotid Konzepten verwendet.

2.3.2. Penciclovir (PCV)

Penciclovir **2** (PCV, Vectavir®) wurde erstmals 1985 von M.R. Harnden und R.L. Jarvest synthetisiert und für Beecham Pharmaceuticals Research Division patentiert.[47,48] Nachdem das antivirale Potential von Penciclovir erkannt worden war, wurde in der Folgezeit von diversen Gruppen dessen Wirkung und dessen Wirkmechanismus intensiv untersucht.[49,50,51]
Es zeigte sich, daß Penciclovir eine ähnliche anti-Herpesvirus Aktivität besitzt wie Acyclovir. Das gilt sowohl für die Aktivität gegen die verschiedenen Viren (HSV-1, HSV-2 und VZV), als auch für die 50 %ige Inhibierung der viralen Replikation (EC_{50}). Zusätzlich ist Penciclovir gegen CMV weniger aktiv, aber behält gute Aktivität gegen EBV.[52]
Mit ^{13}C-markiertem Penciclovir konnte gezeigt werden, daß die Monophosphorylierung durch die HSV-1 kodierte Thymidin Kinase hoch stereoselektiv zu 75 % das (*S*)-Enantiomer ergibt.[53]
Ein großes Problem bei der Anwendung als Medikament stellt die Polarität von PCV dar. Anders als im Fall von AZT **6**, ist es bereits dem freien, nicht-phosphorylierten Wirkstoff praktisch unmöglich, in die Zelle zu gelangen. Aus diesem Grund wurde schon von Anfang an nach lipophilen Modifikationen gesucht, um diese Einschränkung zu begegnen.[54] Das Resultat dieser Bemühungen war die Entwicklung von Famciclovir **8** (Abbildung 8).[55]

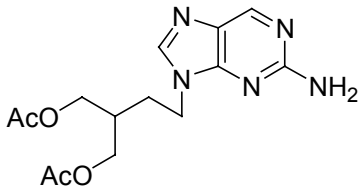


Abbildung 8 Famciclovir 8, Prodrug des Acyclonucleosides Penciclovir

In diesem Derivat sind die beiden Hydroxylgruppen des Penciclovirs als Acetylester maskiert. Es zeigte sich außerdem, daß der Sauerstoff an der 4-Position der Nucleobase nicht notwendigerweise im ursprünglichen Wirkstoff enthalten sein muß, sondern im zelleigenen Metabolismus eingebaut werden kann, wodurch die Lipophilie der verabreichten Verbindung zusätzlich gesteigert werden kann.[29,56]
Im Anschluß an die Resorption von Famciclovir innerhalb des Magen-Darm-Traktes findet die Deacetylierung durch Carboxyesterasen sowie die Oxidation durch Xanthin-Oxidasen zu PCV **2** statt. Famciclovir **8** ist damit eine Prodrug-Form von Penciclovir. Zur Aktivierung des

gewünschten Wirkstoffs innerhalb der Zelle sind allerdings drei zusätzliche Metabolisierungsschritte notwendig.

Außer dem bereits in früheren Arbeiten dargestelltem *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid[57] ist bis heute noch kein Prodrugsystem des Monophosphates von PCV **2** bekannt.

2.3.3. Ganciclovir (GCV)

Auf der Suche nach neuen Verbindungen, die bessere Aktivitäten als Acyclovir aufweisen, wurde Ganciclovir **3** (GCV, Cymevene®) 1983 entwickelt.[58] Diese Verbindung besitzt im Vergleich zu Acyclovir ein breiteres Spektrum antiviraler Aktivität.[59] So besitzt Ganciclovir zusätzlich zur Aktivität gegen HSV-1, HSV-2 und VZV eine beachtliche Aktivität gegen CMV und EBV. Dabei ist das Nucleosidanalogon nur zu etwa 6 % oral bioverfügbar und muß deshalb intravenös verabreicht werden.

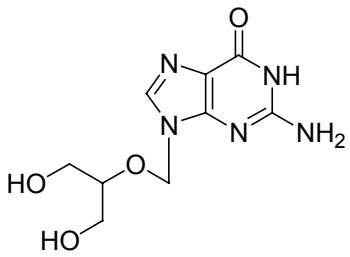


Abbildung 9 Ganciclovir 3

Die Art und Weise wie Ganciclovir in CMV infizierten Zellen zum Triphosphat metabolisiert wurde, blieb lange Zeit unklar, da in der CMV-DNA keine virale Thymidin Kinase kodiert wird. Erst 1992 fand man heraus, daß die geschwindigkeitsbestimmende Monophosphorylierung von Ganciclovir durch ein Genprodukt (Protein) katalysiert wird, das durch den UL97 open reading frame kodiert wird.[60,61] Das Monophosphat wird wiederum durch zelleigene Enzyme in das aktive Triphosphat metabolisiert, das die virale DNA-Polymerase inhibiert.

Ganciclovirresistenzen können entstehen, wenn die Mutation den open reading frame oder das DNA-Polymerase Gen betrifft.

Auch für GCV **3** ist außer dem *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid bis heute noch keine Prodrugsystem seines Monophosphates beschrieben worden.

2.3.4 (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin (BVDU)

Die Synthese von 5-Vinylpyrimidinbasen wurde von Fissekis et. al. 1973 erstmals beschrieben.[62] Die Kombination mit Ribose war das erste Beispiel von Thyminderivaten, die eine ungesättigte Funktion an der 5-Position trugen, so daß sich die delokalisierten Elektronen in Konjugation mit dem heterozyklischen aromatischen π-System befinden. Kurz danach wurden (*E*)-5-(2-Bromvinyl)uracil[63] (BVU) und (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin[64] **4** (BVDU; Abbildung 10) erstmals synthetisiert. Die Entdeckung der guten und selektiven antiviralen Eigenschaften 1979[65] hat das Interesse an diesen Verbindungen weiter stimuliert.[66]

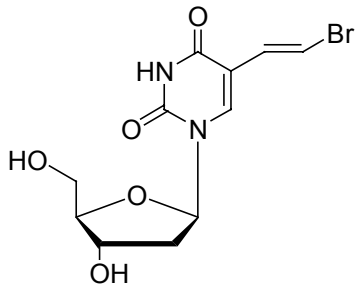


Abbildung 10 (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin 4 (BVDU, Brivudin®)

Antivirale Aktivität entfaltet BVDU gegen mehrere Viren der Herpesfamilie: insbesondere gegen Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV-1),[67] Herpes Simplex Virus Typ 2 (HSV-2),[67] Varicella-Zoster Virus (VZV)[67,68] und das Cytomegalie Virus (CMV).[69]

BVDU wird im Blut durch die Pyrimidin Nucleosid Phosphatase innerhalb von 2 – 3 Stunden in die freie Pyrimidinbase BVU und den Zucker gespalten. Die Base kann aber durch Gabe von 2‘-Desoxythymidin oder jedes anderen Desoxyribonucleosides wieder zurück in BVDU umgewandelt werden.[70]

Die antivirale Aktivität erlangt BVDU durch Metabolisierung in sein Triphosphat. Dies geschieht durch Phosphorylierung, erst zum Mono- dann zum Diphosphat durch viruseigene Thymidin Kinase und letztlich durch zelleigene Enzyme zum Triphosphat.[66,71] Dieses konkurriert mit dem natürlichem Substrat Desoxythymidintriphosphat (dTTP) und inhibiert entweder die virale DNA Polymerase oder wird an Stelle von dTTP in die DNA eingebaut und behindert die normale Funktion der DNA.

Zwei Prodrugsysteme des Monophosphates von BVDU wurden bis heute veröffentlicht, beide waren aber in der Freisetzung des Nucleotides nicht erfolgreich.[72,73]

2.4. Prodrug-Konzept

Die Ausnutzung der Endozytose für die zelluläre Wirkstoffaufnahme polarer Verbindungen ist zwar für wenige, langlebige Substanzen sehr wirkungsvoll, läßt sich aber nur schwer auf eine breite, allgemeine Anwendung übertragen.

Eine Alternative bietet die Verwendung von Prodrugs (Abbildung 11). Definitionsgemäß enthält ein Prodrug seinen Wirkstoff in Form eines nicht aktiven Vorläufer-Metaboliten.[74,75] Man kann zwischen (teilweise mehrteiligen)[76] Carrier-Prodrug-Systemen und Biotransformations-Systemen unterscheiden. Letztere enthalten den Wirkstoff in einer Form, die eine (bio-)chemische Metabolisierung erfordert. Ein solches Prodrug-System stellt sowohl Valacyclovir als Vorläufer von Acyclovir, als auch Famciclovir als Vorläufer von Penciclovir dar. Außerdem sind einfache Carbonsäureester von Ganciclovir bekannt.[77]

Carrier-Prodrug-Systeme enthalten den Wirkstoff als solchen, gebunden an eine Maskierungsgruppe, die sich durch einen möglichst einfachen, kontrollierbaren Mechanismus abspalten läßt. Die offensichtliche Funktion der Maskierungsgruppe bei Nucleotid-Prodrugs ist die Neutralisierung der negativen Ladung am Phosphatrest zur verbesserten Zellaufnahme.

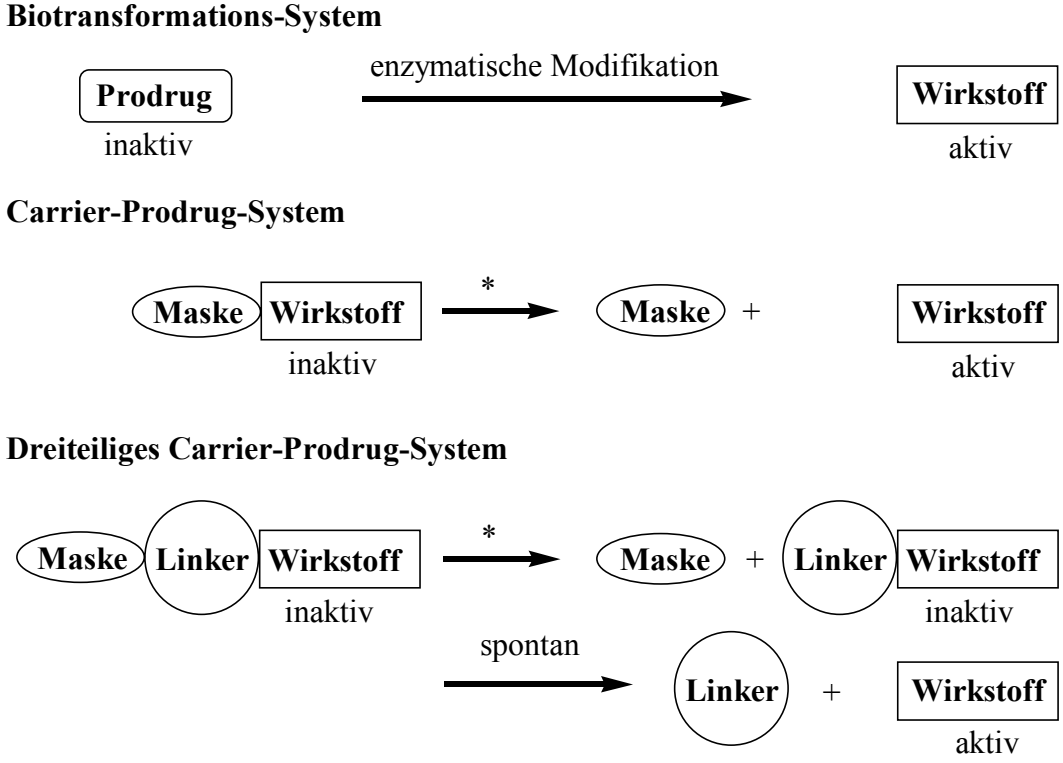
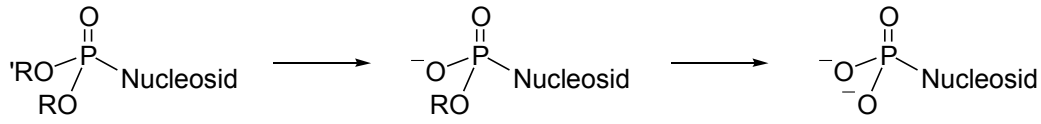


Abbildung 11 Prodrug-Systeme (* = chemische oder enzymatische Aktivierung)

Zusätzlich beeinflußt sie auch andere pharmakologische Parameter, nämlich die orale Bioverfügbarkeit, Gewebeverteilung und Pharmakokinetik sowie die Stabilität gegenüber unspezifischen Phosphatasen. Die verzögerte Freisetzung des Wirkstoffs kann außerdem einen Depoteffekt mit sich bringen. Ebenso kann eine veränderte Metabolisierung eintreten, wodurch eine höhere Wirkstoffeffizienz oder Organspezifität erreicht wird. Abschließend lassen sich die wesentlichen Anforderungen an ein Nucleotid-Prodrug wie folgt definieren:

- ausreichende Hydrophilie, um im Blutserum gelöst zu werden,
- ausreichende chemische und enzymatische Stabilität, um zum anvisierten Wirkort zu gelangen,
- ausreichende Lipophilie für diffusionskontrollierten Membrantransport,
- chemisch oder enzymatisch induzierte Freisetzung des Wirkstoffes innerhalb eines sinnvollen Zeitraums,
- Ungiftigkeit der freigesetzten Hilfskomponente(n).

Ein Phosphatester als Gegenstand eines Prodrug-Konzepts birgt verschiedene Komplikationen. Neben der durch die Nucleosylester-Bindung bereits zwangsläufig neutralisierten Ladung des Phosphats sind hier zwei weitere negative Ladungen zu kompensieren. Verestert man diese mit beliebigen Alkoholen erhält man einen Phosphattriester **9** (Abbildung 12), dessen Esterbindungen sich chemisch nicht wesentlich voneinander unterscheiden.
Es ist jedoch notwendig, die Stabilität der einzelnen Bindungen zu differenzieren. Die Hydrolyse der Nucleosylester-Bindung muß selektiv diskriminiert werden, um die Maskierungsgruppen bevorzugt freizusetzen. Als Instrument für die Unterscheidung dienen dabei die chemischen Eigenschaften der Alkohole, deren elektronische und sterische Beschaffenheit.



9 **10**

Abbildung 12 Phosphattriester-Prodrugs

Die Notwendigkeit der doppelten Maskierung birgt noch eine weitere gravierende Schwierigkeit. Die beiden Maskierungsgruppen können nicht voneinander unbeeinflußt abgespalten werden, da sich der Charakter des intermediären Phosphatdiesters **10** nach Abspaltung der ersten Maskierungsgruppe erheblich von der des ursprünglichen

Phosphattriesters **9** unterscheidet. Es gelten demzufolge völlig andere Voraussetzungen für die Beschaffenheit der beiden Gruppen.

Die mechanistischen Betrachtungen der chemischen Triesterhydrolyse im physiologischen, schwach basischen Medium enthält als ersten Schritt einen nucleophilen Angriff eines Sauerstoff-Nucleophils am Phosphor. In dessen Folge kann eine der Estergruppen substituiert werden und es entsteht in direkter Nachbarschaft zum Phosphor ein negativ geladenes Zentrum (deprotonierte Phosphorsäuregruppe). Während ein nucleophiler Angriff auf das Phosphoratom des Triesters noch begünstigt war, ist der Phosphatdiester dafür nicht mehr ohne weiteres zugänglich.[78] Folglich kann die Hydrolyse der zweiten Esterbindung auf dieser Stufe nur noch stattfinden, wenn die Maskierungsgruppe auf besondere Weise labilisiert ist oder sie auf einem anderen Mechanismus beruht.

Ähnliche Verhältnisse findet man, wenn zur Aktivierung zelleigene Enzymsysteme ausgenutzt werden. Auch Enzyme reagieren sehr empfindlich auf Änderungen der elektronischen Verhältnisse in der Nähe ihres aktiven Zentrums. Eine Verbindung, die im ersten Schritt noch als Substrat akzeptiert wurde, wird daraufhin im zweiten Schritt nicht mehr als solches erkannt und die Hydrolyse des Diesters unterbleibt.

In allen Fällen ist die Aufrechterhaltung der Selektivität der Phosphatesterspaltung während des pentavalenten Übergangszustandes ein Problem, das besonderer Beachtung bedarf. Während der alkalischen Hydrolyse kann Pseudorotation am Phosphor zu unspezifischen Brüchen der Phosphat-Sauerstoff-Bindung führen.[79]

Für die Bewertung dieser potentiellen Wirkstoffe werden üblicherweise *in vitro* Zelltests herangezogen. Hierbei lassen sich antivirale Effekte und toxische Nebenwirkungen in Abhängigkeit der Konzentration bestimmen und daraus gegebenenfalls die therapeutische Breite einer Substanz ermitteln. Die direkte Überprüfung der prinzipiellen Funktion eines postulierten Wirkmechanismus ist auf diese Weise allerdings nicht möglich.

Als Prüfstein für die Tauglichkeit eines Nucleotid-Prodrug-Konzepts dient deshalb in vielen Fällen eine vergleichende Untersuchung unter Verwendung mutanter Thymidin Kinase-defizienter Zellen (TK^--Zellen) oder Virusstämme. Diese sind nicht in der Lage, freie Nucleoside zu phosphorylieren. Die Wirksamkeit des ansonsten antiviral aktiven Nucleosids ist dadurch aufgehoben. Erst durch die Freisetzung des Nucleotids aus einer entsprechenden Prodrugverbindung wird die Wirkung wiederhergestellt. Man kann somit unterscheiden, ob die Wirkung in Wildtypzellen (TK^+) lediglich auf dem Effekt der nachträglichen rephosphorylierten Nucleosid-Komponente oder auf dem direkt aus dem Prodrug freigesetztem Nucleotid beruht.

Es zeigt sich, daß eine effektive Diskriminierung der Nucleosylesterspaltung gegenüber der Abspaltung der Maskierungsgruppe allein durch unterschiedliche Alkoholkomponenten in einfachen Phosphattriestern faktisch unmöglich ist. Solche Systeme bilden im allgemeinen lediglich eine Depotform der freien Nucleoside und sind weniger dazu geeignet die gewünschten Nucleotide freizusetzen.[80]

Im folgendem sollen deshalb kurz einige komplexe Systeme beschrieben werden, die auf die gezielte Freisetzung eines Nucleotids ausgelegt sind. Es kommen dabei alle der oben beschriebenen Konstruktionsprinzipien zur Anwendung.

2.4.1. 4-Acyloxybenzylphosphate als Prodrugs

In dem von S. Freeman verfolgten Konzept der Acyloxybenzylphosphate **11** wird ein benzylischer Spacer zwischen der Phosphatesterbindung und der primären Spaltstelle eingeschoben (Abbildung 13).[81,82,83]

Es handelt sich um ein dreiteiliges Prodrug-System. Die erhöhte Toxizität der untersuchten Verbindungen gegenüber dem freien Nucleosid kann wahrscheinlich der Wirkung eines intermediär auftretenden Kations innerhalb des Enzyms zugeschrieben werden.[81,82]

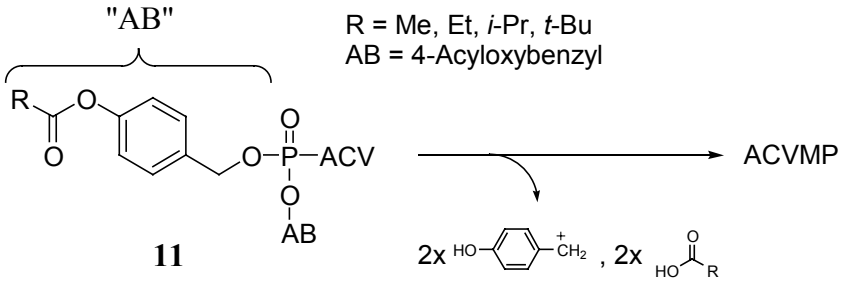


Abbildung 13 Acyloxybenzylester-Hydrolyse noch S. Freeman

Eine Variation des Konzepts stellt das von A. Glazier entwickelte Prodrug-System für Acyclovir **1** dar (Abbildung 14, Seite 19).[84] Pro Molekül Acyclovirmonophosphat entstehen zwei Äquivalente Carbonsäure, zwei Äquivalente Methanol und zwei Äquivalente *p*-Hydroxyzimtsäure. Im Gegensatz zum Konzept von Freeman et al. (Wirkstoff/Maske 1:4) ist hier das Verhältnis von Wirkstoff zu Maske 1:6.

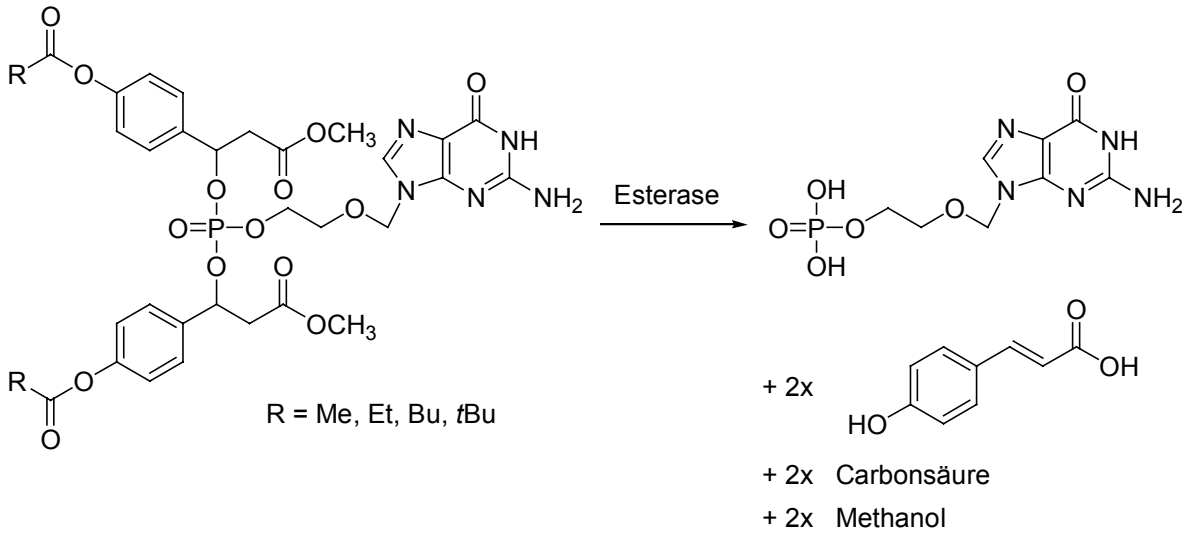


Abbildung 14 Glazier Prodrug Konzept für Acyclovir

2.4.2. Das Pivaloyloxymethyl-System (POM)

Ein weiteres Beispiel für carboxyesterasevermittelte Aktivierung findet sich in den von D. Farquhar und Mitarbeitern entwickelten Pivaloyloxymethylphosphaten **12** (POM, Abbildung 15).[85] Aufgrund ihrer Lipophilie werden diese Verbindungen vermutlich passiv durch die Zellmembran diffundieren, um dann unter Carboxyesterase-Katalyse zu hydrolysieren.

Als einschränkender Faktor für die Nutzung als Wirkstoff ist die relative Nähe der Carboxyesterase-Spaltstelle zum Phosphor-Zentrum und die damit verbundene Behinderung der Enzymaktivität für die Zweitspaltung zu bedenken. Außerdem werden mit jedem Nucleotid zwei Äquivalente Formaldehyds freigesetzt.

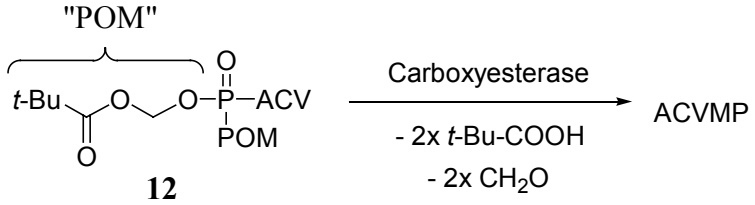
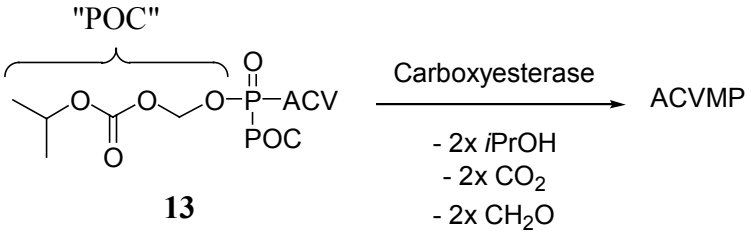


Abbildung 15 Hydrolyse von Bis(POM)ACVMP

Eine Modifikation des POM-Konzeptes stellt das *Iso*propyloxycarbonyloxymethyl-System (POC) **13** dar (Abbildung 16, Seite 20).[86,87] Dieses Konzept benutzt einen Carbonatdiester innerhalb der Maske und der Hydrolysemechanismus basiert wieder auf einer Carboxyesterase vermittelten Spaltung des *Iso*propylesters.



13

Abbildung 16 Hydrolyse von Bis(POC)ACVMP

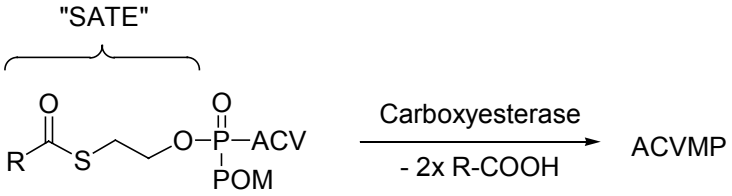
Im Gegensatz zum POM-Konzept vermeidet die POC-Modifikation die Freisetzung von zwei Äquivalenten Pivalinsäure, die sich in der Zelle akkumulieren und potentiell toxisch wirken.

2.4.3. *S*-Acylthioethyl-Prodrugs (SATE)

Die von J.-L. Imbach und Mitarbeitern vorgestellten *S*-Acetyl-2-thioethyl-Verbindungen **14** (SATE, Abbildung 17)[88,89] sind das Thema eines weiteren dreiteiligen und bioaktivierbaren Prodrug-Systems. Ähnlich den POM-Verbindungen wird die Carboxyesterase zur Aktivierung verwendet. Allerdings bildet hier ein Thiocarbonsäureester das Substrat für die Enzymreaktion.

Trotz der im Zelltest verglichen mit dem Nucleosid nur mäßig erhöhten Zytotoxizität bleibt die Frage nach der Auswirkung des freigesetzten Thiirans. Bei vollständiger Hydrolyse der Prodrug-Verbindung entstehen zwei Äquivalente Episulfid, das sowohl als akut als auch als chronisch toxisch bekannt ist.

Andererseits konnte der direkte Nachweis eines toxischen Effekts durch das Episulfid aus der Prodrug-Verbindung nicht erbracht werden.



14

R = Me, *i*-Pr, *t*-Bu, Ph

Abbildung 17 Metabolisierung eines SATE-Prodrugs am Beispiel von Bis(SATE)ACVMP

2.4.4. Aryloxyphosphoramidat-Prodrugs nach McGuigan

Die Aryloxyphosphoramidate **15** von C. McGuigan[90,91] sind ein Beispiel für das Zusammenspiel einer Phosphatester- und einer Phosphoramidatgruppe in einem Aktivierungssystem (Abbildung 18).

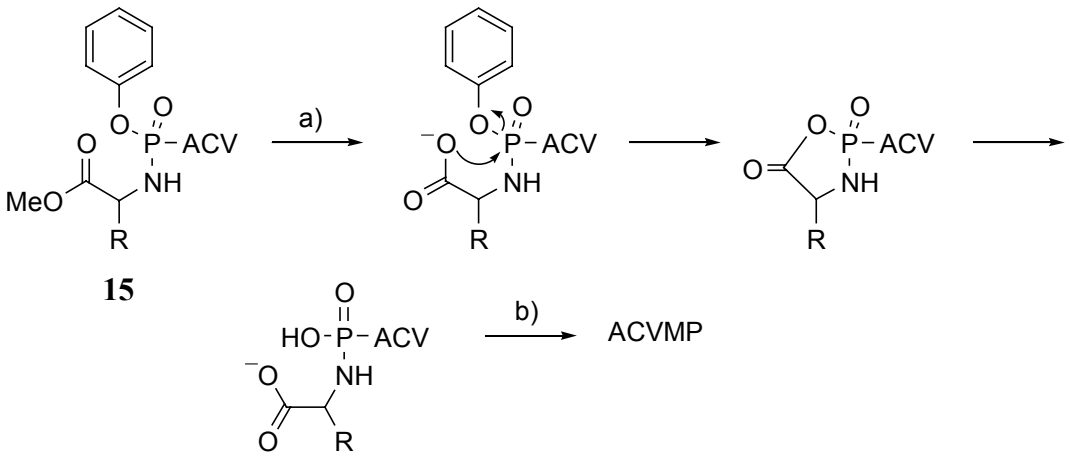


Abbildung 18 Strategie der Aryloxyphosphoramidatprodrugs nach McGuigan

Der Leitgedanke dieses Konzepts ist die Verwendung einer intramolekularen Substitutionsreaktion, in deren Verlauf ein labiler Substituent durch ein zuvor enzymatisch erzeugtes Nucleophil verdrängt wird. Für die Abspaltung der verbleibenden Phosphoramidatgruppe soll ein zweites Enzym, eine Phosphoramidase zur Wirkung kommen.

Der Aktivierungsschritt ist die enzymatische Spaltung eines α-Aminocarbonsäureesters, wodurch das verbleibende Carboxylat die Funktion des Nucleophils übernehmen kann.[92]

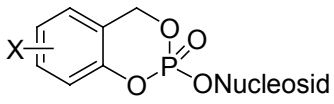
Auch die Auswahl der Aminosäurekomponente ist ein wichtiges Kriterium für die Funktion des Konzepts. Sie ist entscheidend für die Substratakzeptanz durch die Carboxyesterasen. Die besten Ergebnisse konnten mit Alaninmethylestern erzielt werden. Es zeigte sich außerdem, daß auch die Konfiguration am α-Kohlenstoff der Aminosäure für die Enzymreaktion von Bedeutung ist.[93]

Unter anderem wurden die Acyloxyphosphoramidate von AZT, d4T, 3TC, ddA, d4A und ACV als Nucleosidkomponente synthetisiert. Durch Zelltests gegen HIV konnte gezeigt werden, daß die in Wildtyp-Zellen vorhandene hohe Aktivität der zyklischen Verbindungen nicht wie im Fall des Nucleosids in TK^--Zellen verloren geht, sondern erhalten bleibt. In anti-Herpes Virus Zelltests konnte hingegen die acyclische Verbindung weder gegen den Wildtyp-Virus, noch gegen TK^--Stämme die Aktivität des Nucleosidanalogons erreichen.[94]

2.4.5. Das *cyclo*Sal-Konzept

1996 wurde von C. Meier ein neues, dreiteiliges Prodrug-Konzept für Nucleosidmonophosphate (Nucleotide) entwickelt, das ohne enzymatisch katalysierte Aktivierung und ohne einen zweiten Aktivierungsschritt auskommt (Abbildung 19).[95]

Diese Substanzklasse wird systematisch als *4H*-1.3.2.-Benzodioxophosphorin-2-nucleosyl-2-oxid **16**, nachfolgend aber kurz als *cyclo*Sal-Nucleotid bezeichnet.



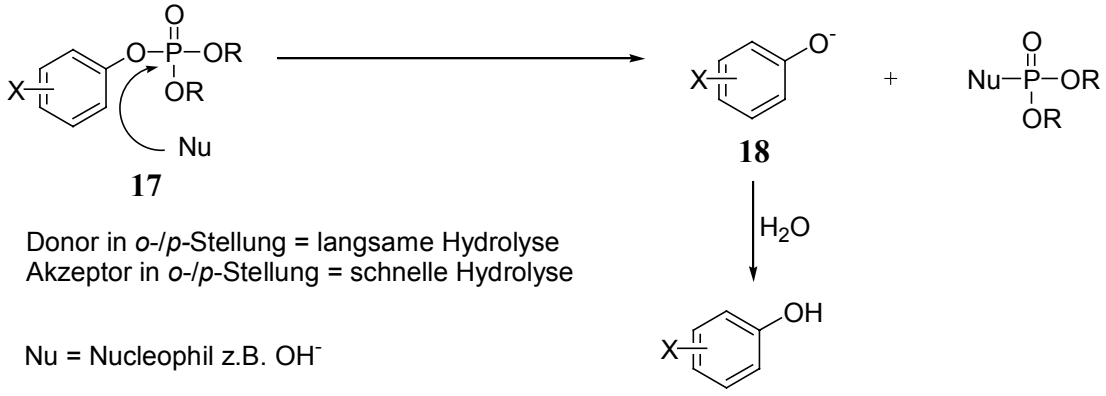
16

X = H; 3-Me; 5-Me; 3,5-Me; 3-OMe; 5-OMe;
5-NO_2; 5-Cl; 3-*t*Bu; 5-*t*Bu; 3-*i*Bu; 5-*i*Bu
Nucleosid = ddT; d4T, ddA, F-*ara*-ddA,
F-*ribo*-ddA, d4A, ACV, PCV

Abbildung 19 Allgemeine Struktur der *cyclo*Sal-Nucleotide

Die diesem Konzept zugrunde liegende Idee basiert auf den unterschiedlichen Labilitäten der beiden Esterbindungen zum Salicylalkohol sowie der Bindung zum Nucleosidanalogon. Bei den Bindungen zum Salicylalkohol handelt es sich um eine phenylische und eine benzylische Phosphatester-Bindung. Die unterschiedlichen Hydrolyseeigenschaften dieser beiden Phosphatester sind Voraussetzung für die unterschiedliche Labilität der Esterbindungen.

Bei der Hydrolyse des Phenol-Phosphatesters **17** greift ein Nucleophil (OH^-) am Phosphoratom an und das Phenolat-Anion **18** wird abgespalten (Abbildung 20).



Donor in *o*-/*p*-Stellung = langsame Hydrolyse
Akzeptor in *o*-/*p*-Stellung = schnelle Hydrolyse

Nu = Nucleophil z.B. OH^-

Abbildung 20 Phenylphosphattriester-Hydrolyse

Durch einen Akzeptor-Substituenten am aromatischen Ring in *para*- oder *ortho*-Stellung kann das Phenolatanion stabilisiert werden. Folglich erhöht sich die Reaktionsgeschwindigkeit.

Die Hydrolyse von Benzylestern **19** kann sowohl nach dem beschriebenen Mechanismus als auch durch spontane, ionische Spaltung mit nachfolgender Hydrolyse (Abbildung 21) erfolgen. Frühere Untersuchungen an Benzylphosphattriestern zeigten, daß beide Mechanismen möglich sind und durch Wahl der Substituenten gesteuert werden können.[96]

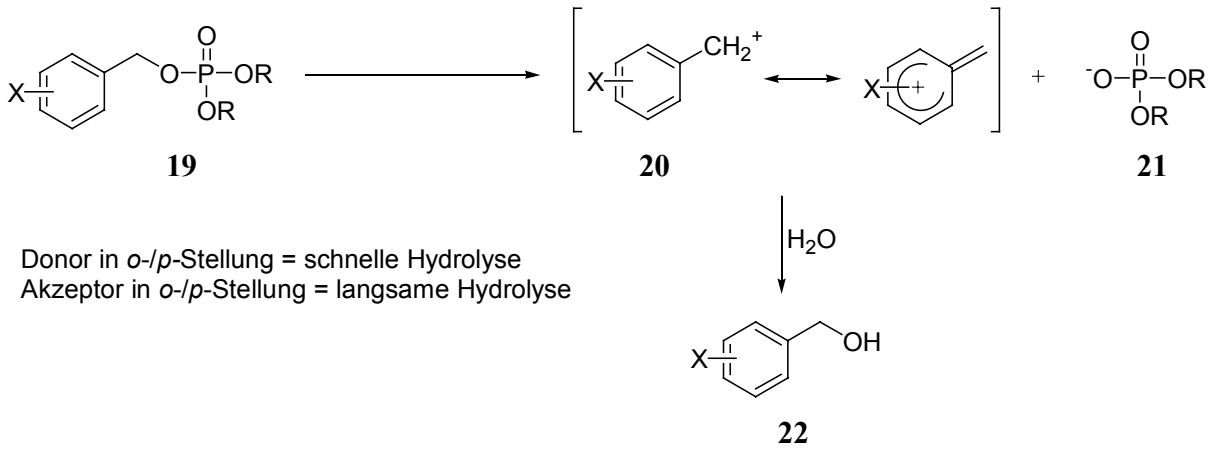


Abbildung 21 Benzylphosphattriesterspaltung

Im akzeptorsubstituierten Fall erfolgt die gleiche Spaltung wie bei den Phenylestern beschrieben.

Im donorsubstituierten Fall erfolgt die Spaltung der Benzylesterbindung heterolytisch zu einem Benzylkation **20** und einem Phosphatdiester **21** (S_N1-Mechanismus). Dabei findet kein nucleophiler Angriff am Phosphoratom statt; die Hydrolysegeschwindigkeit ist pH-unabhängig. Vielmehr kommt es zu einer spontanen Spaltung der C_{Benzyl}-O-Bindung, wobei formal zunächst ein Benzylkation **20** und ein Phosphatdiester-Anion **21** entstehen. Das Benzylkation wird anschließend schnell zum Benzylalkohol **22** hydrolysiert. Eine Geschwindigkeitserhöhung wird in diesem Fall durch eine Stabilisierung des Benzylkations bewirkt. Dies wird durch Donor-Substituenten im aromatischen Ring.

Im Fall des *cyclo*Sal-Nucleotides **16** ermöglicht die unterschiedliche Stabilität der beiden cyclischen Phosphatesterbindungen, ein dreiteiliges Prodrug-System zu "designen" (Abbildung 22, Seite 24).[95]

Die Freisetzung des Nucleotids aus dem Phosphattriester **16** wird durch eine selektive, unkatalysierte, hydrolytische Spaltung der phenylischen Phosphatesterbindung eingeleitet. Die Phenylphosphatester-Bindung ist die labilste der drei Phosphatester-Bindungen, da aufgrund der Stabilisierung der negativen Ladung am Sauerstoff hier die beste Austrittsgruppe vorliegt. Durch diese nicht-enzymatische Primärreaktion wird die Abspaltung der jetzt aktivierten Maske, dem 2-Hydroxy-substituierten Benzyl-Rest, induziert. Die elektronischen Eigenschaften des Benzylrestes werden durch die erste Esterspaltung stark

verändert: Stellt im Phosphattriester **16** der Phenylphosphatester noch einen Elektronen-Akzeptor dar, so ist im Phosphatdiester **23** die freie Hydroxygruppe ein starker Donor-Substituent. Der Substituent in der *ortho*-Position zur Benzylgruppe ist somit umgepolt worden. Durch den Elektronendonor wird der benzylische Phosphatester spontan über einen O-C_{Benzyl}-Bindungsbruch gespalten und das Nucleotid und das 2-Hydroxybenzylkation **24a** freigesetzt (Grob-Fragmentierung). Da die Sekundärspaltung im Gegensatz zur Primärreaktion nicht durch einen nucleophilen Angriff am Phosphoratom eingeleitet wird, sondern durch einen O-C_{Benzyl}-Bindungsbruch erfolgt, kann die bei Hydrolyse von Phosphatdiestern auftretende Pseudorotation am Phosphoratom vermieden werden.

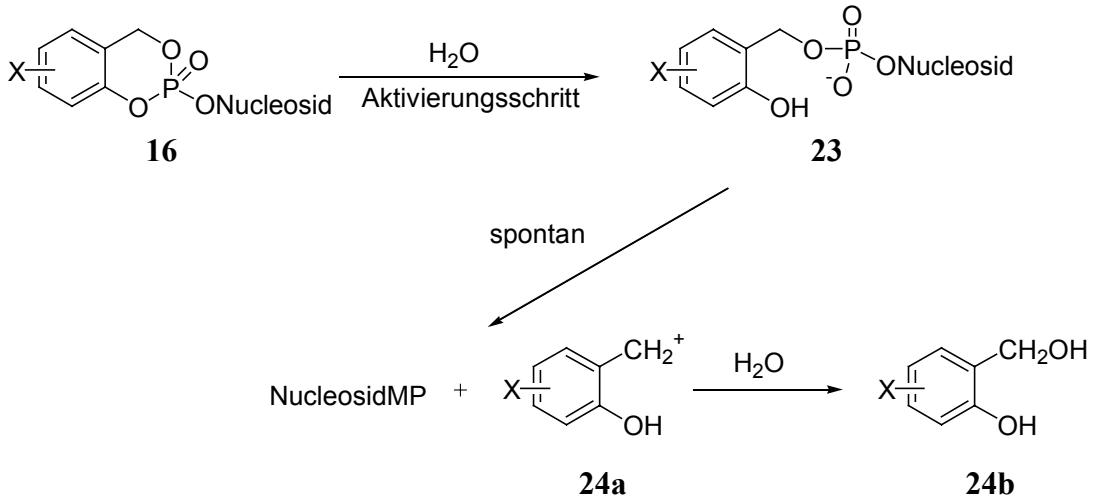


Abbildung 22 Hydrolyseweg von *cyclo*Sal-Phosphattriestern

Als lipophile Maske werden in diesem Prodrug-System Derivate der Salicylalkohole - Diole - eingesetzt. Da die beiden Esterbindungen von einem Diol ausgehen, kann von einer zusammengesetzten Maske gesprochen werden.

Zusammenfassend gilt, daß die verwendete Maske durch eine Tandem-Reaktion (eine Hydrolyse, gefolgt von einer induzierten, spontanen Fragmentierung mit nachfolgender Hydrolyse) aus dem Phosphattriester abgespalten wird.[95] Wichtig zu erwähnen ist, daß bei diesem Prodrug-System im Gegensatz zu allen anderen beschriebenen Prodrug-Systemen das Verhältnis von Wirkstoff zu Maske 1:1 ist.

Dieses Konzept wurde bereits erfolgreich für die intrazelluläre Freisetzung von d4TMP angewendet, was zum Thymidin-Kinase-(TK)-Bypass in TK-defizienten Lymphozyten führte.[97,98]

Zusätzlich wurde mit dem Konzept der Adenosin-Desaminase (ADA)-Bypass für die Nucleosidanaloga ddA,[99] d4A,[100,101] und 2‘-F-*ara*-ddA[102] verwirklicht. Interessanterweise war es mit der *cyclo*Sal-Technik möglich, ein inaktives Nucleosidanalogon, 2‘-F-*ribo*-ddA, in eine aktive Verbindung zu überführen.[102,103]

Andererseits war es mit dem *cyclo*Sal-Konzept nicht möglich, die antivirale Aktivität von AZT **6** in TK-defizienten CEM Lympozytenzellen zu erhalten, obwohl die Freisetzung von AZTMP in Hydrolysestudien bewiesen werden konnte.[104] Der Grund für das Versagen wurde in dem speziellen Metabolismus von AZTMP gefunden.[105] Das erste nicht auf HIV ausgerichtete Beispiel war die Anwendung des Konzepts auf Acyclovir **1**.[106] ACV wird nicht durch zelluläre Kinasen sondern durch die virale Herpes Simplex Thymidin Kinasen aktiviert. Durch die *cyclo*Sal-ACVMP Verbindungen konnte die antivirale Aktivität von ACV in Zellen, die mit Thymidin Kinase defizienten Viren infiziert wurden, erhalten werden.[106, 107]

Zur Zeit wird im Arbeitskreis Meier an der Weiterentwicklung des Konzeptes gearbeitet. So konnte gezeigt werden, daß mit der Einführung eines Benzylsubstituenten, der eine elektronenziehenden Gruppe enthält, die Entstehung des möglicherweise für Zytotoxizität verantwortliche 2-Hydroxybenzylkations verhindert werden kann.[108] Auch sollte die Ausnutzung des sogenannten „lock-in"-Mechanismus die Diffusion des Pro-Nucleotides aus der Zelle verhindern.[109}

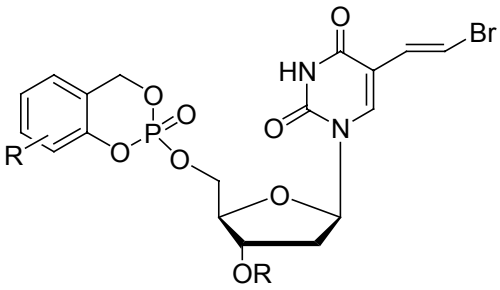
Die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide stellen zudem eine leicht zugängliche und unbegrenzt lagerfähige Depotform der entsprechenden Nucleotide dar, die leicht in präparativen Maßstab zugänglich sind.[110]

Bereits untersucht wurde auch, welchen Einfluß der Austausch des phenolischen Sauerstoffs durch Stickstoff auf Hydrolysehalbwertszeit, -mechanismus, Lipophilie sowie antivirale Aktivität besitzt.[111]

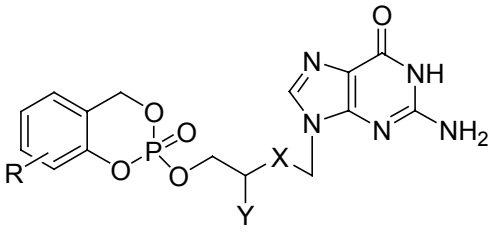
3. Aufgabenstellung

Design, Synthese und Eigenschaften neuer antiviral aktiver Nucleotid Prodrugs

Im Rahmen dieser Arbeit sollte das in der Arbeitsgruppe Meier entwickelte *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid-Konzept auf die Darstellung neuer, lipophiler Phosphat-Prodrugs anti-Herpes Virus aktiver Nucleosidanaloga angewendet werden, um deren Wirksamkeit zu verbessern oder das Anwendungsspektrum zu erweitern. (Abbildung 23).



*cyclo*Sal-BVDUMP **25**



X = CH_2 Y = CH_2OR *cyclo*Sal-PCVMP **26**
X = O Y = CH_2OR *cyclo*Sal-GCVMP **27**
X = O Y = H *cyclo*Sal-ACVMP **28**

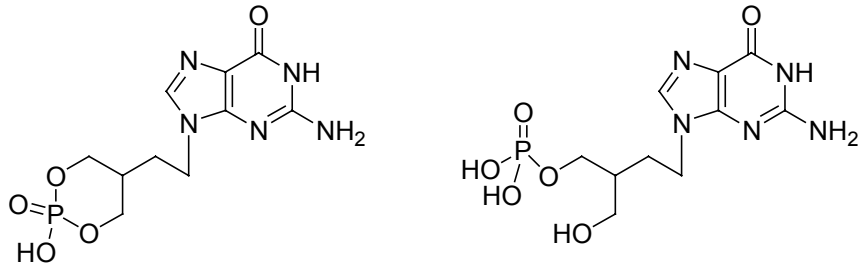
Abbildung 23 Grundstrukturen der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von ACV 1, GCV 2, PCV 3 und BVDU 4

Zunächst waren im Rahmen dieser Arbeit *cyclo*Sal-Triester von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin **4** (BVDU) darzustellen, die einerseits verschiedene Substituenten im aromatischen Ring tragen und andererseits die 3‘-Hydroxylfunktion mit Carbonsäuren unterschiedlicher Kettenlänge sowie mit α-Aminosäuren verestert sind, um den Einfluß auf die Lipophilie, die Hydrolyseeigenschaften in wässrigen Phosphatpuffern bei verschiedenen pH-Werten und in verschiedenen biologischen Medien zu untersuchen und Aufschluß über eine mögliche Struktur-Aktivitätsbeziehung zu erhalten.

Die Bestimmung der Verteilungskoeffizienten dient dabei als qualitativer Anhaltspunkt für die Lipophilie, während Hydrolysestudien in verschiedenen Medien und die Bestimmung der antiviralen Aktivität einen Beweis für die selektive, intrazelluläre Freisetztung des Nucleotides liefern sollten.

Zur weiteren Aufklärung des Hydrolyseverhaltens von *cyclo*Sal-Phosphattriestern mit einer freien Hydroxylfunktion sollten ferner die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von 2‘-Desoxythymidin **29** (dT) und 5-Fluor-2‘-desoxyuridin **30** (FdU) dargestellt werden und auf ihre biophysikalischen Eigenschaften untersucht werden.

Zusätzlich sollte die bekannte sehr kurze Hydrolysehalbwertszeit des 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMPs **28a** verifiziert und der Hydrolyseweg aufgeklärt werden.[57] Dazu sollten auch die möglichen Hydrolyseprodukte cPCVMP **31** und PCVMP **32** separat synthetisiert werden (Abbildung 24).



cPCVMP **31** PCVMP **32**

Abbildung 24 Mögliche Hydrolyseprodukte der *cyclo*Sal-PCVMP-Hydrolyse

Die Synthese des bereits früher dargestellten 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMPs **26b** sollte verbessert werden. Dazu sollte zuerst PCV **2** dargestellt werden und **26b** auf einem neuen, kürzeren Syntheseweg synthetisiert werden.

Desweiteren sollte überprüft werden, wie sich der *cyclo*Sal-Phosphattriester von Ganciclovir **3**, dessen chemische Struktur sich nur durch ein Sauerstoffatom anstelle der Methylengruppe in der 2‘-Position von PCV **2** unterscheidet, in der chemischen Hydrolyse verhält. Dabei sollten sowohl die Halbwertszeit als auch die Hydrolyseprodukte bestimmt werden.

Die *in-vitro* Zelltest auf antivirale Aktivität und Zytotoxizität sollten in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. P. Wutzler, Frau Dr. A. Meerbach und Frau Prof. Dr. R. Klöcking von der Friedrich-Schiller-Universität Jena erfolgen.

4. Resultate und Diskussionen

4.1. Darstellung von *cyclo*Saligenyl-Nucleosidmonophosphaten

Im folgenden sollen die Möglichkeiten für die Darstellung von *cyclo*Saligenyl-Nucleotide allgemein beschrieben werden.

4.1.1. Synthesestrategie

Ausgehend von einem, gegebenenfalls geschützten, Nucleosidanalogon gibt es mehrere Möglichkeiten für die Synthese der *cyclo*Saligenyl-Nucleotide. Nachfolgend werden diese Verbindungen kurz als *cyclo*Sal-NMP abgekürzt. Die Phosphatgruppe kann mit Hilfe von Salicylalkohol-Derivaten eingeführt werden (Abbildung 25).

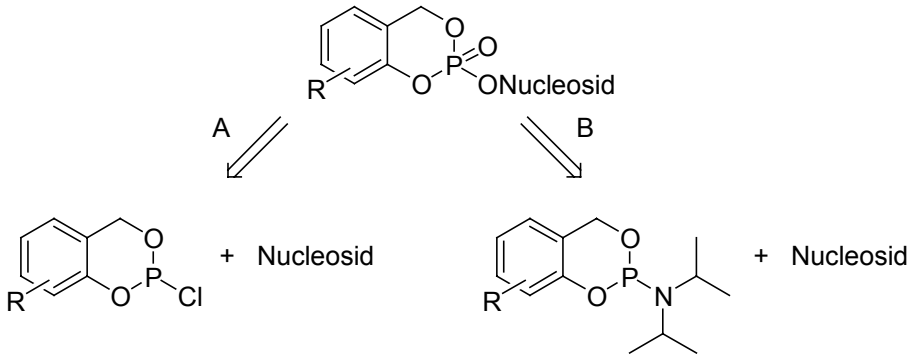


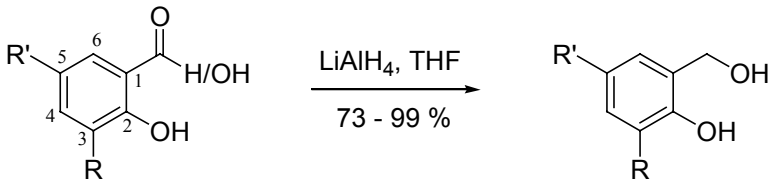
Abbildung 25 Synthesesstrategie für die Darstellung von *cyclo*Sal-NMPs

Geht man von einem Einbau der Phosphatgruppe über ein Salicylalkohol-Derivat aus, so hat man zwei Möglichkeiten: Die Einführung könnte über ein 2-Chlor-4*H*-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-Derivat (Chlorphosphit; Abbildung 25, Weg A), das anschließend zum gewünschten Phosphattriester oxidiert wird, oder alternativ dazu, über ein (4*H*-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-2-yl)di*iso*propylamin-Derivat (Phosphoramidit; Abbildung 25, Weg B) erfolgen, das anschließend ebenfalls zum gewünschten Phosphattriester oxidiert wird.[112,113]

4.1.2. Darstellung der Salicylalkohole

Die Salicylalkohohle sind die Grundbausteine der *cyclo*Sal-Nucleotide. Aus zuvor erwähnten Gründen (Kapitel 2.4.5, Seite 22) wurden eine Vielzahl von Akzeptor- und Donor-substituierten Verbindungen verwendet. Als Akzeptor-substituierter Salicylalkohol wurde die 5-Chlor-Verbindung eingesetzt. Für die Donor-substituierten Verbindungen wurden die 5-Methoxy-, 3-Methyl-, 5-Methyl-, 3,5-Dimethyl- und die 3-*tert*-Butyl-Verbindungen verwendet. Als neutrale Vergleichssubstanz diente Salicylalkohol. Die Numerierung der einzelnen Positionen orientiert sich an der entsprechenden Salicylsäure oder dem Salicylaldehyd (Abbildung 26).

Während der unsubstituierte Salicylalkohol käuflich zu erwerben war, mußten die anderen Derivate zunächst synthetisiert werden. 5-Chlor- bzw. 3,5-Dimethylsalicylalkohol **34a,e** konnten aus den entsprechenden Salicylaldehyden **33a,e** und 3-Methyl- bzw. 5-Methyl-salicylalkohol **34d,g** aus den entsprechenden Salicylsäuren **33d,g** durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel in 73 – 99 % Ausbeute erhalten werden.



33a,d,e,g **34a,d,e,g**

R = H, CH_3
R' = Cl, H, CH_3

Abbildung 26 Synthese der Salicyclalkohole

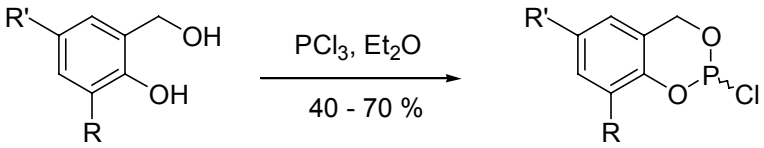
Die Umsetzung erfolgte nach Standardbedingungen[114] bei Raumtemperatur mit Lithiumaluminiumhydrid als Reduktionsmittel. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde eine Stunde unter Rückfluß erhitzt. Nach vorsichtiger Hydrolyse und Ansäuern mit 10 %iger Schwefelsäure auf pH 3 konnten die Salicylalkohole durch Extraktion mit Essigsäure-ethylester als Rohprodukt isoliert werden. Alle Salicylalkohole, bis auf den 3-Methyl-salicylalkohol **34d**, wurden aus Dichlormethan/Petrolethergemischen umkristallisiert. Der 3-Methylsalicylalkohol wurde chromatographisch aufgereinigt.

4.1.3. Darstellung der *cyclo*Sal-chlorphosphite

Ausgehend von den zuvor dargestellten Salicylalkoholen ließen sich die cyclischen Saligenylchlorphosphite (4*H*-1.3.2-Benzodioxaphosphinin-2-chlorid) in guten Ausbeuten darstellen.

4.2.3.1. Variante A

In einer Reaktion der Salicylalkohole mit Phosphortrichlorid in Diethylether unter Feuchtigkeitsausschluß konnten die *cyclo*Sal-chlorphosphite **35b**,**d**,**e**,**g** in 40 – 70 % Ausbeute synthetisiert werden (Abbildung 27).



34b,d,e,g **35b,d,e,g**

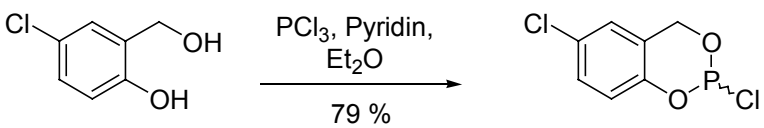
R = H, CH_3
R' = H, CH_3

Abbildung 27 Darstellung der *cyclo*Sal-chlorphosphite

Dazu wurden die Salicylalkohole **34b**,**d**,**e**,**g** unter Argonatmosphäre in Diethylether gelöst und zu einer Lösung aus Phosportrichlorid in Diethylether langsam zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktion zunächst 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Die cyclische Saligenylchlorphosphite wurden als leicht gelbe Öle erhalten. Diese wurde mittels Kugelrohrdesillation aufgereinigt. Es wurden farblose Öle erhalten, die während der Lagerung bei - 20 °C erstarrten.

4.1.3.2. Variante B

In einer Reaktion mit Phosphortrichlorid in Gegenwart von Pyridin in Diethylether unter Feuchtigkeitsausschluß konnte das 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35a** synthetisiert werden (Abbildung 28).[115] Dabei war die Reihenfolge der Zugabe der Reagenzien zu beachten.



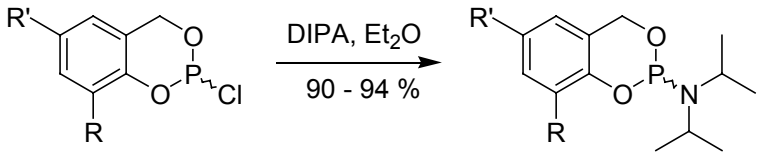
34a **35a**

Abbildung 28 Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit

Entsprechend der Reaktionsführung in der Literatur[115] wurde der Salicylalkohol unter Argonatmosphäre in Diethylether gelöst und auf - 10 °C gekühlt. Nach Zugabe von Phosphortrichlorid wurde über einen Zeitraum von zwei Stunden eine Lösung von Pyridin in Diethylether langsam zugetropft. Dabei fiel ein farbloser, flockiger Niederschlag, Pyridiniumchlorid, aus. Nach Beendigung der Zugabe wurde die Reaktion zunächst eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Nacht bei 4 °C gelagert. Der Niederschlag wurde unter Argonatmosphäre abfiltriert und nach destillativer Entfernung des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erhielt man das cyclische Saligenylchlorphosphit als leicht gelbes Öl. Dieses wurde mittels Kugelrohrdesillation aufgereinigt. Es wurde ein farbloses Öl erhalten, das während der Lagerung bei - 20 °C erstarrte.

4.1.4. Darstellung der *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidite

Die *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidite **36a**,**b**,**d** konnten durch Umsetzung der *cyclo*Sal-chlorphosphite mit Di*iso*propylamin in Diethylether in 90 – 94 % Ausbeute erhalten werden (Abbildung 29).



35a,b,d **36a,b,d**

R = H, CH_3
R' = Cl, H

Abbildung 29 Darstellung der *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidite

Zu einer Lösung des entsprechenden *cyclo*Sal-chlorphosphites in Diethylether wurde unter Schutzgasatmosphäre eine Lösung von Di*iso*propylamin in wenig Diethylether langsam zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Di*iso*propyl-ammoniumchlorid wurde unter Schutzgasatmosphäre abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidite wurden in nahezu quantitativen Ausbeuten erhalten und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

4.1.5. Synthese von *cyclo*Saligenyl-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMPs)

Die *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphate konnten prinzipiell entweder durch Umsetzung des Nucleosidanalogons mit einem *cyclo*Sal-chlorphosphit oder durch Umsetzung mit einem *cyclo*Sal-phosphoramidit in akzeptablen Ausbeuten erhalten werden. Die Vorgehensweise hing von den verwandten Schutzgruppen und der Löslichkeit des Nucleosidanalogons in Acetonitril ab.

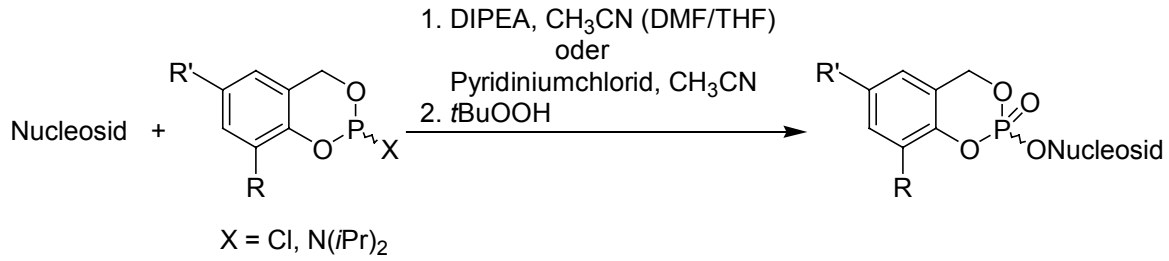


Abbildung 30 Synthese von *cyclo*Sal-NMPs

4.1.5.1. *cyclo*Sal-chlorphosphit als Phosphitylierungsreagenz

Bei Verwendung von *cyclo*Sal-chlorphosphit als Phosphitylierungsreagenz wurde das gegebenenfalls geschützte Nucleosidanalogon und Hünigs Base (Di*iso*propylethylamin) in Acetonitril gelöst und nach Abkühlung auf - 10 °C langsam mit dem jeweiligen *cyclo*Sal-chlorphospit versetzt. Danach ließ man auf Raumtemperatur erwärmen und überprüfte dünnschichtchromatographisch auf vollständigen Umsatz. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und mit einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan zum Phosphattriester oxidiert. Nach zweimaliger chromatographischer Aufreinigung wurden die jeweiligen Phosphattriester als farblose Öle bzw. nach Gefriertrocknung als farblose Watten erhalten.
Für in Acetonitril schlecht oder nicht lösliche Nucleosidanaloga wurde eine Mischung aus Dimethylformamid und Tetrahydrofuran (2:1 v/v) als Lösungsmittel verwendet.

4.1.5.2. *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit als Phosphitylierungsreagenz

Verwendete man *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit als Phosphitylierungsreagenz wurde das gegebenenfalls geschützte Nucleosidanalogon und zuvor getrocknetes Pyridiniumchlorid in Acetonitril gelöst und nach Abkühlung auf 0 °C langsam mit dem jeweiligen *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit versetzt. Danach ließ man auf Raumtemperatur erwärmen und überprüfte dünnschichtchromatographisch auf vollständigen Umsatz. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und mit einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan zum Phosphattriester oxidiert. Nach zweimaliger chromatographischer Aufreinigung

wurden die jeweiligen Phosphattriester als farblose Öle bzw. nach Gefriertrocknung als farblose Watten erhalten.

Für in Acetonitril schlecht oder nicht lösliche Nucleosidanaloga ist diese Methode nicht geeignet, da in früheren Arbeiten gezeigt werden konnte, daß Reaktionen in einer Dimethylformamid/Tetrahydrofuran-Mischung nicht zu den gewünschten Produkten führen.[113]

4.2. *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin

Es sollten verschiedene *cyclo*Sal-Monophosphate des Nucleosidanalogons (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin (BVDU) **4** dargestellt werden. Zusätzlich sollten *cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate synthetisiert werden, die an der 3‘-Hydroxylfunktion eine Estermodifikation tragen.

4.2.1. Darstellung der 3‘-*O*-unmodifizierten *cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate

4.2.1.1. Synthesestrategie

Bei der Synthese der 3‘-*O*-unmodifizierten *cyclo*Sal-Verbindungen von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin (BVDU) **4** muß beachtet werden, daß im Nucleosid, BVDU, zwei Hydroxylfunktionen vorhanden sind, die beide in einer Phosphitylierungreaktion reagieren könnten. Wird nur mit einem geringen Überschuß an Phosphitylierungsreagenz gearbeitet, erhält man nach Oxidation das gewünschte 5‘-substituierte Pro-Nucleotid, da die 5‘-Hydroxygruppe reaktiver ist als die 3‘-Hydroxygruppe (Abbildung 31A, Seite 34).

Alternativ könnte durch eine geeignete Schutzgruppenstrategie zuerst nur die 5‘-Position blockiert werden (Abbildung 31B, Seite 34). Anschließend kann die 3‘-Hydroxygruppe mit einer anderen Schutzgruppe geschützt und die 5‘-Position entschützt werden. Durch Reaktion mit dem Phospitylierungsreagenz, Oxidation und Entschützung der 3‘-Position erhält man das gewünschte 5‘-substituierte Pro-Nucleotid. Gegenüber der direkten Umsetzung benötigt man auf diesem Weg vier Reaktionsschritte mehr, kann aber mit einem Überschuß an Phosphitylierungsreagenz arbeiten.

Die Synthese wurde im Rahmen dieser Arbeit für 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** sowohl ohne, als auch unter Verwendung von Schutzgruppen durchgeführt.

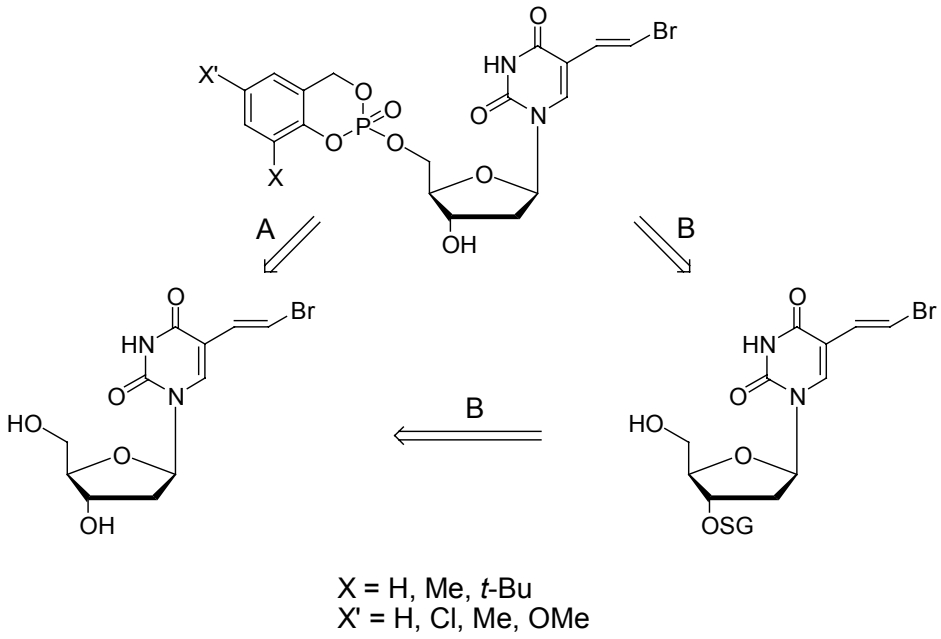
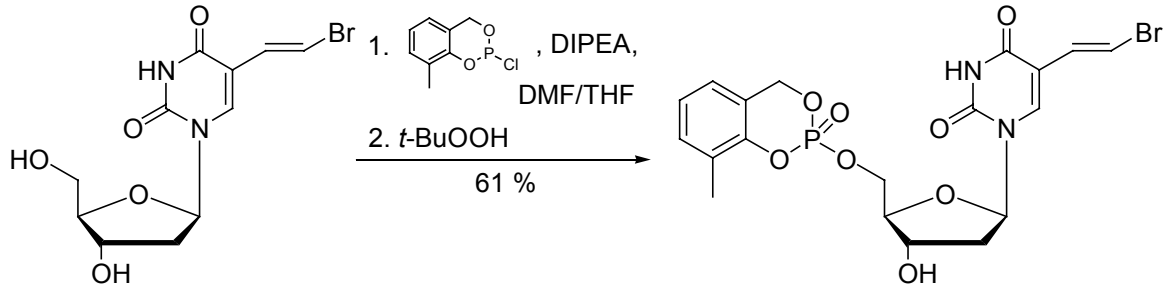


Abbildung 31 **Retrosynthese der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate**

4.2.1.2. Darstellung ohne Schutzgruppen

Zur Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat wurde BVDU **4**, wie in Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35d** zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-Phosphattriester **25d** in 61 % Ausbeute umgesetzt. Dabei wurde *N*,*N*-Dimethylformamid/Tetrahydrofuran (2:1 v/v) als Lösungsmittel verwendet (Abbildung 32). Das entsprechend an 5‘- und 3‘-phosphorylierte Produkt konnte nicht isoliert werden, obwohl es dünnschichtchromatografisch beobachtet wurde.



4 **25d**

Abbildung 32 **Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP**

4.2.1.3. Darstellung unter Verwendung von Schutzgruppen

Alternativ wurde 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** unter Verwendung von Schutzgruppen dargestellt. Es wurde sich für die Verwendung einer 5‘-Silylschutzgruppe und für eine 3‘-Levulinylschutzgruppe entschieden, da sich Silyl-blockierte Funktion leicht mit Fluorid-reagenzien entschützen lassen, während der 3‘-Levulinylester unter diesen Bedingungen stabil bleibt. Der 3‘-Ester kann am Ende der Reaktionssequenz durch sehr kurze Reaktion mit Hydrazinhydrat gespalten werden.

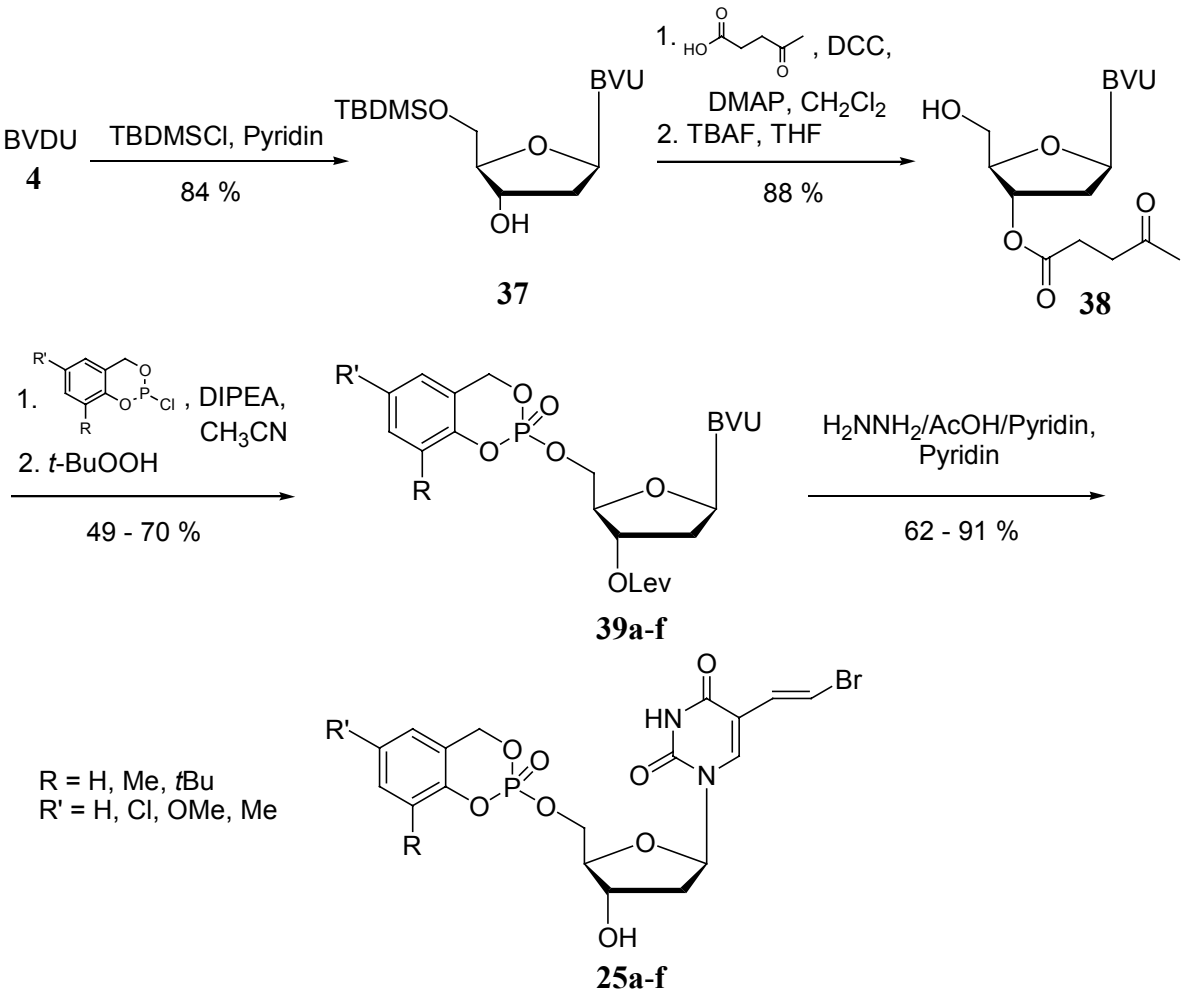


Abbildung 33 **Synthese der *cyclo*Sal-BVDUMPs unter Verwendung von Schutzgruppen**

Im ersten Syntheseschritt wurde BVDU **4** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid in Pyridin umgesetzt (Abbildung 33). Nach Aufreinigung konnte das 5‘-*O*-geschützte Nucleosid **37** in 84 % Ausbeute erhalten werden. Das Produkt wurde mit Levulinsäure in Gegenwart von *N*,*N*-Dicyclohexylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin bei Raumtemperatur zum 3‘,5‘-*O*-geschützten Nucleosid umgesetzt, das nach chromatographischer Aufreinigung direkt mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung bei Raumtemperatur zum 3‘-*O*-geschützten

Nucleosid **38** entschützt wurde. Die Ausbeute über beide Reaktionsschritte betrug 88 %. Das Reaktionsprodukt wurde, wie Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit den *cyclo*Sal-chlorphosphiten **35a-f** zu den jeweiligen 3‘-*O*-geschützten *cyclo*Sal-Phosphattriestern **39a-f** in 49 - 70 % Ausbeute umgesetzt. Nach Entschützung der 3‘-Hydroxylgruppe mittels Hydrazinhydrat (24 % in Wasser) in einem Pyridin/Essigsäure-Gemisch (3:2 v/v) innerhalb von fünf Minuten bei Raumtemperatur[116] wurden die *cyclo*Sal-monophosphate **25a-f** in 62 - 91 % Ausbeute erhalten. Die Ausbeute über alle Reaktionsschritte betrug 23 - 47 %.
Die Verwendung von Schutzgruppen kann hier die Nachteile einer Syntheseroute mit mehr Reaktionsschritten nicht durch die Vorteile der Löslichkeit in Acetonitril und Verwendung eines Überschusses von Phosphitylierungsreagenz aufwiegen. Allerdings könnten die Ausbeuten der einzelnen Reaktionschritte deutlich optimiert werden. Bedenkt man noch, daß in den ersten beiden Reaktionschritten das Nucleosid BVDU **4** leicht recycelt werden kann, fällt die Bilanz nicht so negativ aus.

4.2.2. Darstellung der 3‘-*O*-modifizierten BVDU-Verbindungen

Zusätzlich zu den 3‘-unsubstituierten Pro-Nucleotiden sollten 3‘-*O*-modifizierte BVDU-Verbindungen dargestellt werden, die mit Carbonsäuren unterschiedlicher Kettenlänge und α-Aminosäuren verestert sind, sowie ein 3‘-*O*-Methylether. Später soll untersucht werden welchen Einfluß die Kettenlänge der Carbonsäureester auf Lipophilie und Hydrolyseverhalten hat. α-Aminosäuren wurden verwendet, da zum einen die Einführung einer polaren Gruppe die Löslichkeit in wässrigen Medien erhöhen sollte. Zum anderen könnte der aktive Zellmembrantransport durch Aminosäurecarrier ermöglicht werden.
Als Referenzverbindung sollte der 3‘-*O*-Methylether dargestellt werden, da Ether unter physiologischen Bedingungen nicht gespalten werden können.

4.2.2.1. Darstellung der Ester

Für die Darstellung der 3‘-*O*-veresterten Verbindungen wurde entweder von dem, zuvor beschriebenen, 5‘-TBDMS-geschützten BVDU **37** oder von 5‘-*O*-DMTr-geschütztem BVDU **40** ausgegangen. Dazu wurde BVDU **4** mit 4,4‘-Dimethoxytritylchlorid in Pyridin in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin und Triethylamin bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach Aufreinigung konnte das 5‘-*O*-geschützte Nucleosid **40** in 84 % Ausbeute erhalten werden (Abbildung 34, Seite 37).

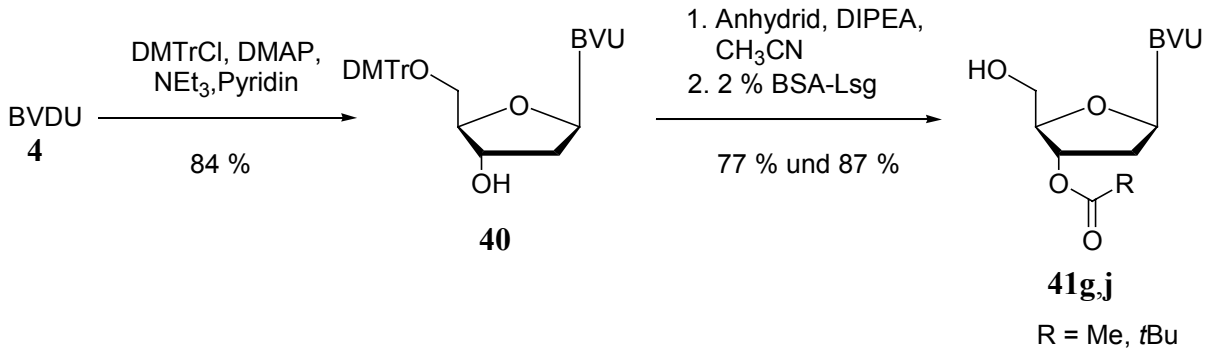


Abbildung 34 Synthese der 3‘-*O*-modifizierten BVDUs (I)

Das 5‘-*O*-DMTr-geschützte Nucleosid **40** wurde mit einem Carbonsäureanhydrid in Acetonitril in Gegenwart von Di*iso*propylethylamin als Base zum doppeltgeschützten Nucleosid umgesetzt und wiederum mit 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung zu den 3‘-veresterten Verbindungen **41g**,**j** in Ausbeuten von 77 % (**41g**) und 87 % (**41j**) entschützt.

Das 5‘-*O*-TBDMS geschützte Nucleosid **37** wurde mit der Carbonsäure oder der α-Aminosäure (*N*-BOC-geschützt) in Gegenwart von *N*,*N*-Dicyclohexylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin bei Raumtemperatur zum 3‘,5‘-geschützten Nucleosid umgesetzt, das nach chromatographischer Aufreinigung direkt mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung bei Raumtemperatur zu den 3‘-*O*-modifizierten Nucleosiden **41g-m** entschützt wurde. Die Ausbeute über beide Reaktionsschritte betrug 54 - 99 % (Abbildung 35).

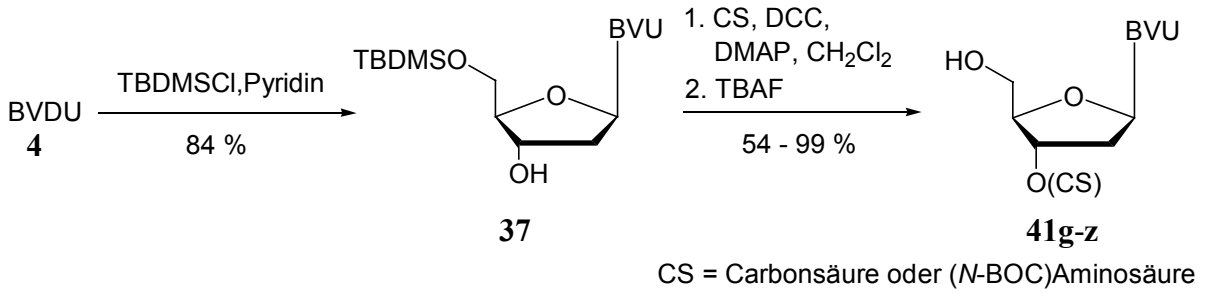


Abbildung 35 Synthese der 3‘-*O*-modifizierten BVDUs (II)

Die *N*,*N*-Dicyclohexylcarbodiimid-vermittelte Veresterung besitzt verschiedene Vorteile gegenüber der Anhydridmethode. Die Reaktion verläuft sehr viel schneller (ca. 30 min vs. 2 - 8 d), sie ist sehr einfach aufzuarbeiten (filtrieren und chromatographieren) und man erhält in der Regel höhere Ausbeuten als unter Verwendung von Carbonsäureanhydriden. Zusätzlich müssten die meisten verwendeten Carbonsäureanhydride erst selbst synthetisiert und gereinigt werden.

4.2.2.2. Darstellung des Ethers

Um den 3‘-*O*-Methylether zu erhalten, wurde das 5‘-*O*-DMTr geschützte BVDU **40** in Tetrahydrofuran gelöst, mit Natriumhydrid deprotoniert und mit Methyliodid bei Raumtemperatur umgesetzt (Abbildung 36).[117] Ohne weitere Aufreinigung wurde 3‘-*O*-Methyl-BVDU **42** nach Umsetzung mit 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung in 66 % Ausbeute erhalten (Abbildung 36).

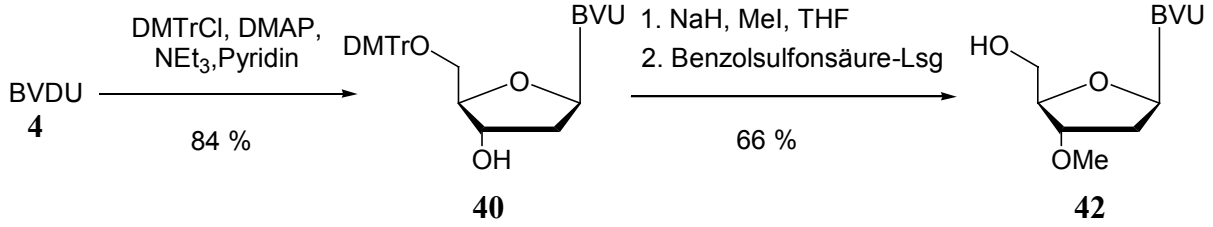


Abbildung 36 **Synthese von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxy-3‘-*O*-methyl-uridin**

4.2.3. Synthese der 3‘-*O*-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate

Alle Verbindungen wurden nach der in Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschriebenen Methode mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35d** zu den 3‘-*O*-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-Phosphattriestern **25g-z** und **43** in 30 - 73 % Ausbeute umgesetzt (Abbildung 37).

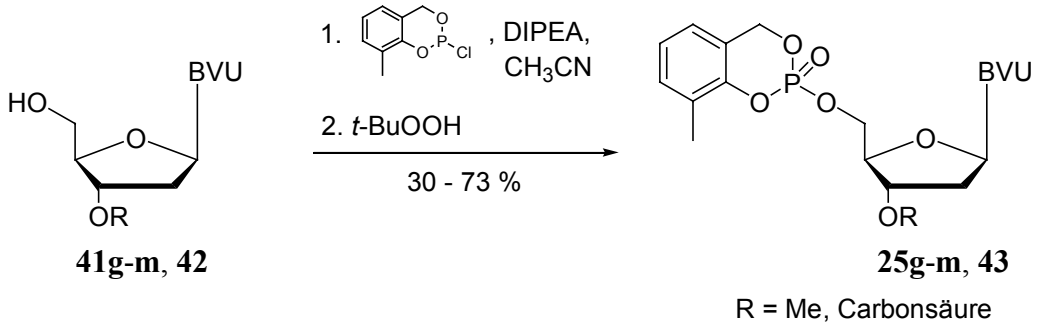
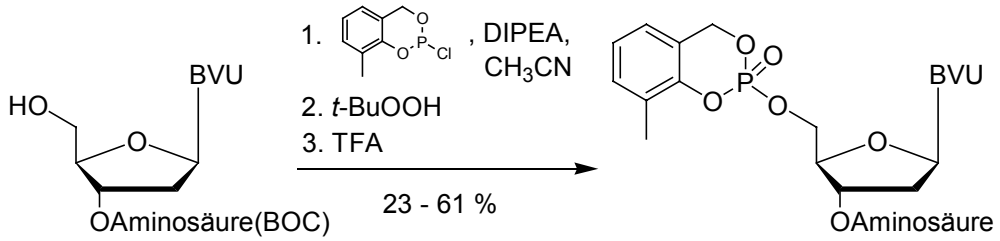


Abbildung 37 **Darstellung der 3‘-*O*-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate**

Im Fall der Aminosäureester wurde die *N*-BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure entfernt und es konnten nach Aufreinigung die Pro-Nucleotide in 23 - 61 % Ausbeute über alle drei Reaktionsschritte erhalten werden (Abbildung 38, Seite 39).



41n-z **25n-z**

Abbildung 38 Darstellung der 3‘-*O*-Aminosäureester von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphate

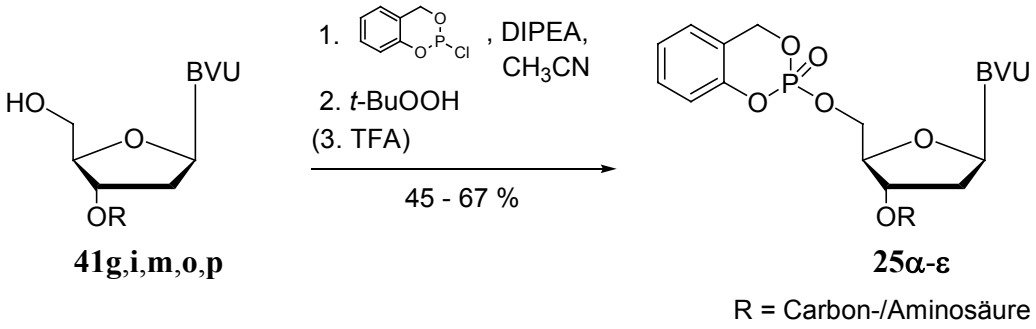
Über alle fünf Reaktionsschritte wurden die 3‘-veresterten Pro-Nucleotide ausgehend von BVDU **4** als Mono-Trifluoressigsäuresalz in mäßigen 11 % bis zu sehr guten 61 % Ausbeute erhalten. Die schwankenden Ausbeuten können mit unterschiedlicher Stabilität der verschiedenen 3‘-Ester bei den verwendeten Reaktionsbedingungen erklärt werden. Die Reaktionsbedingungen der BOC-Schutzgruppenspaltung sollten optimiert werden, da der Verlust bei den 3‘-*O*-Aminosäure-modifizierten Triestern **25n-z** in diesem Reaktionsschritt besonders groß war.

4.2.4. Darstellung der 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphate

Wie schon in Kapitel 4.1., Seite 28 beschrieben, können die *cyclo*Sal-Phosphattriester auf zwei unterschiedlichen Wegen dargestellt werden. Es wurden auf beiden Varianten jeweils drei verschiedene 3‘-Carbonsäureester bzw 3‘-Aminosäureester synthetisiert und die Ausbeuten verglichen.

4.2.4.1. Darstellung mit *cyclo*Sal-chlorphosphit

Alle Verbindungen wurden nach der in Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschriebenen Methode mit 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35b** zu den 3‘-Carbonsäureester von 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP **25α-χ** in 61 - 67 % Ausbeute umgesetzt (Abbildung 39, Seite 40). Im Fall der Aminosäureester wurde mit Trifluoressigsäure die BOC-Schutzgruppe entfernt und nach Aufreinigung die Pro-Nucleotide **25δ,ε** in 45 bzw. 47 % Ausbeute über alle drei Reaktionsschritte erhalten.



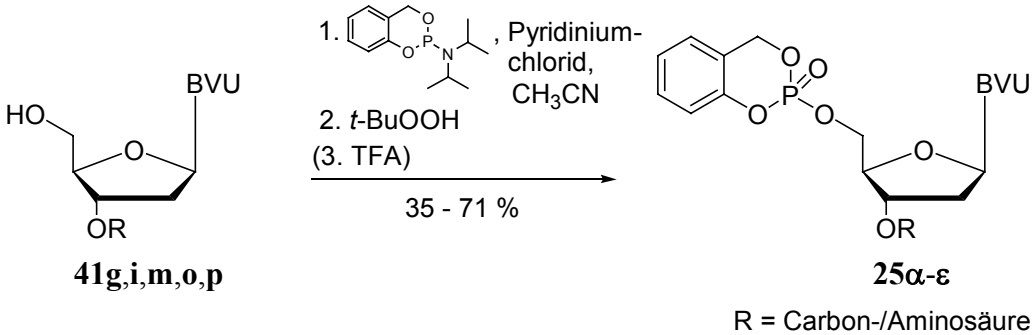
41g,**i**,**m**,**o**,**p** **25α-ε**

R = Carbon-/Aminosäure

Abbildung 39 **Darstellung der 3'-*O*-Carbon-/Aminosäureester von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridinmonophosphat (I)**

4.2.4.2. Darstellung mit dem *cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit

Die Verbindungen wurden nach der in Kapitel 4.1.5.2., Seite 32 beschriebenen Methode mit dem 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit **36b** zu den 3'-Carbonsäureester von 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP **25α-ε** in 35 - 71 % Ausbeute umgesetzt (Abbildung 40). Im Fall der Aminosäureester wurde mit Trifluoressigsäure die *N*-BOC-Schutzgruppe entfernt und nach Aufreinigung die Pro-Nucleotide **25δ**,**ε** in 50 bzw. 52 % Ausbeute über alle Reaktionsschritte erhalten.



41g,**i**,**m**,**o**,**p** **25α-ε**

R = Carbon-/Aminosäure

Abbildung 40 **Darstellung der 3'-*O*-Carbon-/Aminosäureester von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridinmonophosphate (II)**

4.2.4.3. Vergleich beider Synthesewege

Die Ausbeuten der Synthesen der 3'-*O*-modifizierten 5-H-*cyclo*Sal-BVDU Phosphattriester **25α-ε** sind in Tabelle 1 gegenübergestellt. Es läßt sich leider keine generelle Aussage treffen, welche Synthesevariante hier die bessere ist, da in drei Synthesen mit *cyclo*Sal-phosphoramidit die geringfügig höhere Ausbeute erzielt wurde, und in den anderen zwei Versuchen mit *cyclo*Sal-chlorphosphit die höhere Ausbeute erzielt wurde. Die Ausbeuten mit *cyclo*Sal-chlorphosphit scheinen insgesamt wesentlich weniger zu streuen, als die mit *cyclo*Sal-Phosphoramidit.

Tabelle 1 Vergleich der Ausbeuten

Verbindung		Chlorphosphit-Weg [%]	Phosphoramidit-Weg [%]
5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Ac-BVDUMP	**25α**	67	71
5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-*i*Bu-BVDUMP	**25β**	61	35
5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Lev-BVDUMP	**25χ**	65	39
5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP	**25δ**	45	50
5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-D-Ala-BVDUMP	**25ε**	47	52

In Arbeiten mit d4T war bekannt, daß bei der Verwendung von Phosphoramiditen als Reagenz die Ausbeuten in der Regel höher sind als bei Verwendung der Chlorphosphite.[113] Allerdings muß darauf geachtet werden, wasserfrei zu arbeiten, da sonst die Ausbeute sehr viel niedriger ausfällt. Bei der Verwendung von Pyridiniumchlorid als Aktivator ist dies besonders schwierig, da dieses Reagenz sehr hygroskopisch ist und vor der Verwendung mehrmals mit Pyridin oder Toluol koevaporiert werden muß. Die unterschiedliche Trockene und die hohe Hygroskopie des Aktivatorreagenzes könnte die Schwankungen der Ausbeuten erklären.

4.2.5. Eigenschaften der *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester

4.2.5.1. Bestimmung der Nernst‘schen Verteilungskoeffizienten

Die Bestimmung der Nernst’schen Verteilungskoeffizienten (log*P*) in einem 1-Octanol/ Wasser-Gemisch (1:1 v/v) hat sich als eine gängige Möglichkeit zur Voraussage über die Lipophilie einer Verbindung etabliert. Dieses rein empirische Verfahren erlaubt die Abschätzung der Lipophilie einer Verbindung anhand von Vergleichsdaten anderer relevanter Verbindungen.[118] Die so erhaltenen Lipophiliedaten können als Rückschluß über die Möglichkeit eines passiven Membrantransport dienen.

Man verwendet AZT **6** als Referenz zur Abschätzung eines passiven Zellmembrantransports, da dieses Nucleosidanalogon über einfache passive Diffusion die Zellmembran durchquert. Verteilungkoeffizienten im gleichem oder größeren Ausmaß können ein Indiz für einen passiven Membrantransport sein. Die Verteilungskoeffizienten verschiedener Nucleoside und Nucleosidanaloga können der Literatur entnommen werden.[119,120]

Für die Bestimmung der Verteilungskoeffizienten wurde eine Substanzprobe in 500 µl 1-Octanol gelöst, mit 500 µl Wasser versetzt und 10 Minuten intensiv durchmischt. Im

Anschluß wurde das Zweiphasengemisch 10 Minuten bei 13000 U/min zentrifugiert. Die Substanzmenge in den getrennten Phasen wurde HPLC-analytisch quantifiziert. Das Verhältnis der Absolutwerte der Peakflächen von 1-Octanol zu Wasser ergibt den Verteilungkoeffizient (PC-Wert). Voraussetzung für diese Bestimmung ist die Stabilität der zu untersuchenden Substanzen unter diesen Bedingungen.

Von allen *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern wurde wie zuvor beschrieben der Verteilungskoeffizienten (log*P*) zwischen 1-Octanol und Wasser bestimmt und mit BVDU **4** und AZT **6** verglichen.

Die synthetisierten *cyclo*Sal-BVDU Phosphattriester können in Gruppen ähnlicher Verbindungen zusammengefaßt werden: 3‘-*O*-unmodifizierte *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester, 3‘-*O*-Acyl- bzw. 3‘-*O*-Aminoacyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs und Derivate des 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMPs. Als erstes sollen hier die Nernst´schen Verteilungskoeffizienten der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester diskutiert werden (Tabelle 2 und Abbildung 41, Seite 43).

Tabelle 2 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3’-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs**

Substituent	5-Cl **25a**	5-H **25b**	5-OMe **25c**	3-Me **25d**	3,5-DiMe **25e**	3-*t*Bu **25f**	BVDU **4**
PC-Wert	60	30	38	81	158	794	2.14
log*P*	1.8	1.5	1.6	1.9	2.2	2.9	0.33

Alle 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester sind sehr viel lipophiler als das Nucleosidanalogon BVDU **4**. Das lipophilste Derivat ist erwartungsgemäß das 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25f** mit einem sehr hohem PC-Wert von 794, gefolgt von der 3,5-Dimethyl-substituierten Verbindung **25e**. Am wenigsten lipophil ist der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25b**. Man erhielt für die Substituenten eine Reihung der Lipophilie von 3-*t*Bu > 3,5-DiMe > 3-Me > 5-Cl > 5-OMe > 5-H. Alle 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester weisen positive log*P*-Werte auf. Sie sind zwischen 14 und 370 mal lipophiler als BVDU **4** selbst. Wird davon ausgegangen, daß AZT **6** mit einem log*P*-Wert von 0.04 passiv durch die Zellmembran diffundiert, so sollte unter diesem Gesichtspunkt für alle 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester ein passiver Transport möglich sein.

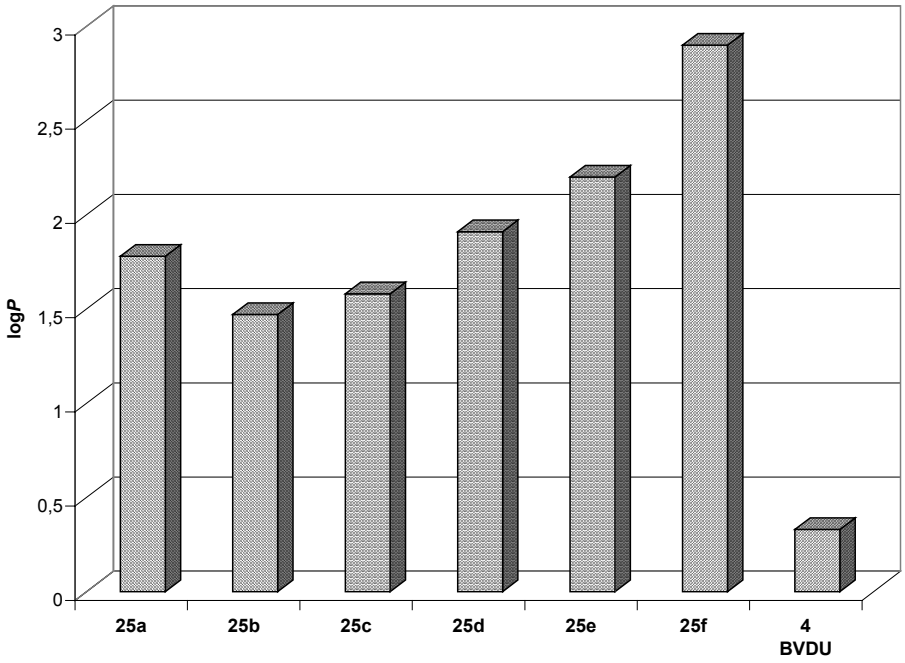


Abbildung 41 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs**

Betrachtet man die PC- und log*P*-Werte der 3'-*O*-Acyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs (Tabelle 3 und Abbildung 42, Seite 44) so fällt auf, daß alle Werte der untersuchten Verbindungen sehr hoch sind. Sie sind zwischen 1.86 und 12.6 mal lipophiler als 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** und zwischen 70 und 480 mal lipophiler als BVDU **4**. Besonders die Werte der 3'-*O*-Pivaloyl, 3'-*O*-Hexanoyl und 3'-*O*-Decanoyl modifizierten Verbindungen (**25j**, **25k** und **25l**) liegen in einem Bereich, in dem man die Bildung von Micellen oder eines Lipidfilmes in wässriger Lösung nicht ausschließen kann. Dies hätte einen großen Einfluß auf das hydrolytische Verhalten dieser Verbindungen.

Tabelle 3 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3'-*O*-Acyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Substituent	H **25d**	Ac **25g**	Prop **25h**	*i*Bu **25i**	Piv **25j**	Hex **25k**	Dec **25l**	Lev **25m**	BVDU **4**
PC-Wert	81	151	191	263	1023	398	631	182	2.14
log*P*	1.9	2.18	2.28	2.42	3.01	2.60	2.80	2.26	0.33

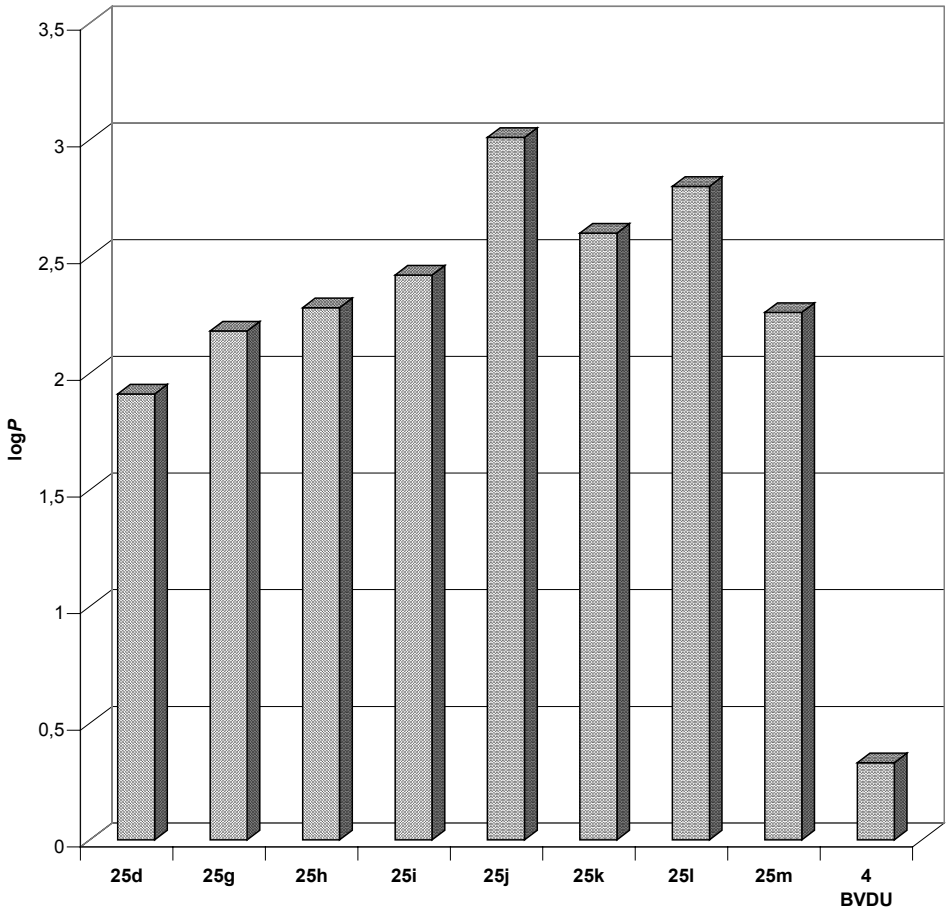


Abbildung 42 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3‘-*O*-Acyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Die Nernst`schen Verteilungskoeffizenten der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25n-z** sind in Tabelle 4 und Abbildung 43, Seite 45 dargestellt. Alle Aminoacylverbindungen besitzten, im Gegensatz zu den vorher diskutierten Verbindungen, eine sehr geringe Lipophilie und sind sehr gut wasserlöslich. Dieses Verhalten wird durch die sehr polare, freie Aminogruppe hervorgerufen.

Tabelle 4 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3‘-*O*-Aminoacyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Subst.	H **25d**	Gly **25n**	L/D-Ala **25o,p**	L/D-Pro **25y,z**	L/D-Val **25q,r**	L/D-Ile **25u,v**	L/D-Leu **25s,t**	L/D-Phe **25w,x**	BVDU **4**
PC-Wert	81	0.17	0.28	0.42	0.78	0.95	2.45	3.24	2.14
log*P*	1.9	-0.76	-0.56	-0.38	-0.11	-0.02	0.39	0.51	0.33

Die Verbindungen besitzen log*P*-Werte zwischen - 0.76 und 0.51, d.h. sie sind zwischen 12.6 mal weniger lipophil und 1.51 mal lipophiler als BVDU **4**. Verglichen mit AZT **6** wurde der Wert (log*P* 0.04) zum Teil deutlich unterschritten. Damit wurde die postulierten Bedingung für einen passiven Membrantransport für einige Verbindungen nicht erfüllt. Da es sich bei den PC-Werten um Abschätzungen handelt, kann nicht genau geklärt werden inwieweit ein passiver Zellmembrantransport dennoch möglich sein könnte. Durch die Aminosäurekomponente könnten die Verbindungen **25n-z** möglicherweise Substrat für Aminosäure-Carrier sein und durch aktiven Transport die Zellmembran überwinden.

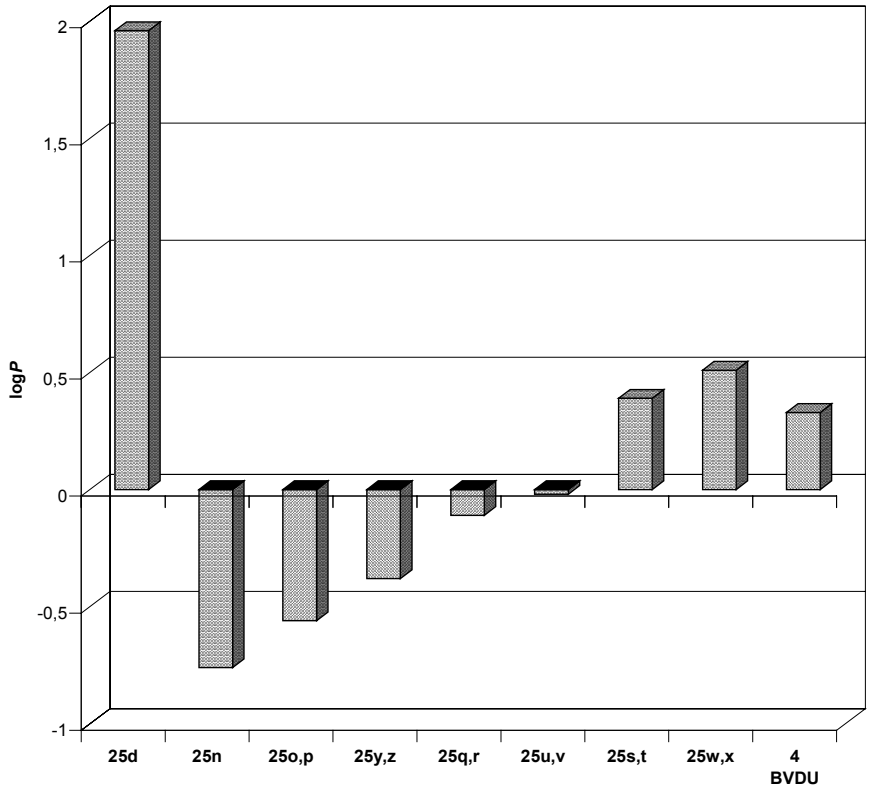


Abbildung 43 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 3'-*O*-Aminoacyl-Derivate des 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Die PC-Werte der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25α-ε** sind in ihren Werten nicht ganz so hoch wie die der entsprechenden 3-Methyl-*cyclo*Sal-Verbindungen (Tabelle 5 und Abbildung 44, Seite 46). Sie verhalten sich aber in der Tendenz gleich.

Tabelle 5 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Substituent	H **25b**	Ac **25α**	*i*Bu **25β**	Lev **25χ**	L/D-Ala **25δ,ε**	BVDU **4**
PC-Wert	30	76	> 130	54	0.09	2.14
log*P*	1.5	1.9	> 2.11	1.7	-1.03	0.33

Die 3‘-*O*-unmodifizierte Verbindung und die 3‘-*O*-Carbonsäureester sind 13.8 bis 60 mal lipophiler und die beiden 3‘-*O*-Alaninester sind fast 24 mal weniger lipophil als das Nucleosid BVDU **4**. Verglichen mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** ist der entsprechende 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25b** 2.7 mal weniger lipophil. Die Verbindungen **25α** und **25β** sind jeweils nur halb so lipophil, der Levulinylester **25χ** und die Aminosäure-veresterten Verbindungen **25δ** und **25ε** sind sogar um den Faktor 3.4 bzw. 3.0 weniger lipophil als die entsprechenden 3-Methyl-*cyclo*Sal-Verbindungen.

Wie schon im Fall der 3-Methyl-*cyclo*Sal-Verbindungen gilt es für die Aminosäure-veresterten Phosphattriester zu beachten, daß ein Carrier den aktiven Zellmembrantransport ermöglichen könnte.

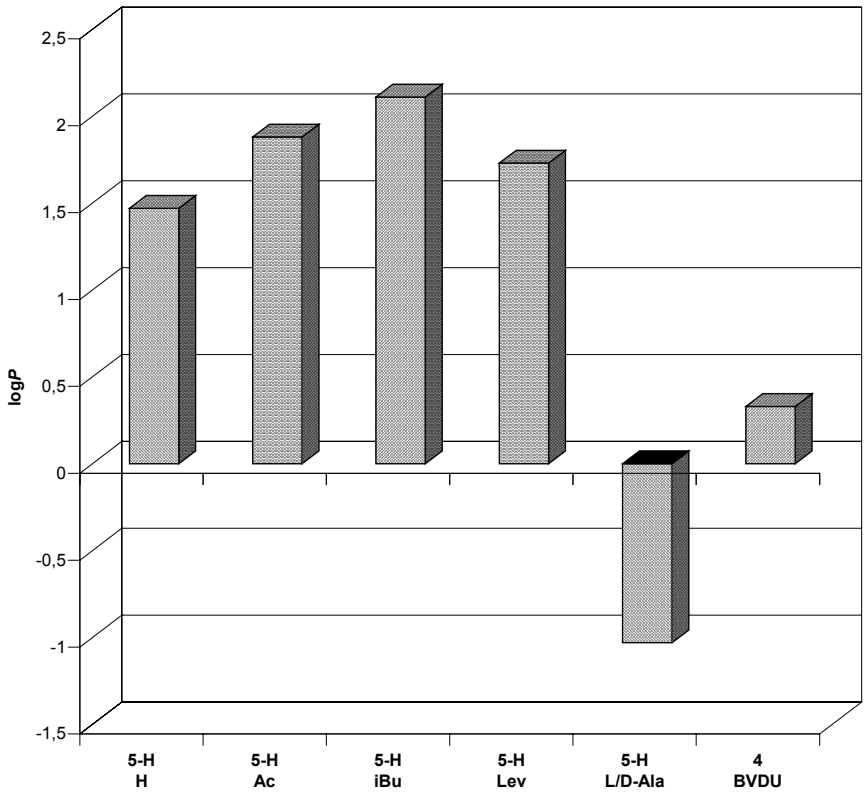


Abbildung 44 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

4.2.5.2. Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25 mM, pH 7.3)

Um die selektive Freisetzung der Nucleotide aus den *cyclo*Sal-Derivaten unter rein chemischen Hydrolysebedingungen zu überprüfen und somit ihre Eignung als Pro-Nucleotide zu beweisen, wurden Hydrolysekinetiken unter simulierten physiologischen Bedingungen durchgeführt. Der Hydrolyseweg der *cyclo*Sal-Phosphattriester ist in Abbildung 45 nochmals dargestellt.

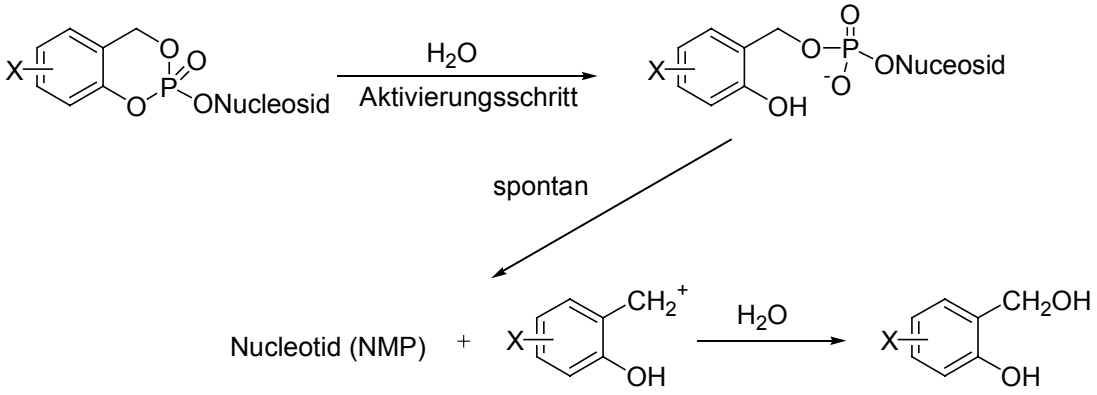


Abbildung 45 Hydrolyseweg der *cyclo*Sal-Phosphattriester

Die Hydrolysegeschwindigkeit der Phosphattriester kann, wie in Kapitel 2.4.5., Seite 22 beschrieben, über die Substituenten des aromatischen Ringes beeinflußt werden. Akzeptorsubstituenten in *para*-Stellung zur phenylischen Esterbindung (z.B. Chlor oder Nitro) sollten eine schnelle Hydrolyse bewirken. Dies wurde im Fall der *cyclo*Sal-d4TMP Derivate auch nachgewiesen.[97,112]

Ausreichend lange Hydrolysehalbwertszeiten sind für den passiven Membrantransport unbedingt notwendig, da sonst das Pro-Nucleotid schon im extrazellulären Bereich hydrolysiert und durch Phosphatester-spaltende Enzyme anschließend abgebaut würde.

Für die Hydrolyseuntersuchungen wurde ein Phosphatpuffer (25 mM; pH 7.3) verwendet, dessen pH-Wert dem des Bluts entspricht. Die Hydrolysekinetiken wurden bei 37 °C in einem Thermomixer durchgeführt. Für die Kinetiken wurde der Puffer vorgelegt, mit einem internen Standard (AZT) versetzt und auf 37 °C temperiert. Von dem zu untersuchenden *cyclo*Sal-Phosphattriester wurde eine Stammlösung (50 mM in DMSO) hergestellt. Diese wurde für die Hydrolyseuntersuchungen mit der Phosphatpuffer-/AZT-Lösung versetzt, kurz durchmischt, sofort das erste Aliquot entnommen (t_0) und die Reaktion durch einen Tropfen konzentrierte Essigsäure abgebrochen. Um den Reaktionsverlauf der Hydrolyse zu beobachten, wurden weitere Proben entnommen. Zur Bestimmung der Produkte wurden die Aliquote anschließend HPLC-analytisch untersucht.

Zur Auswertung der Chromatogramme wurden die Peakflächenintegrale mit Hilfe des internen Standards normiert und in Abhängigkeit der Zeit aufgetragen. Für jede untersuchte Verbindung wurde die Hydrolyse zweimal unter den identischen Bedingungen durchgeführt, um eine erste Fehlerbetrachtung zu ermöglichen.

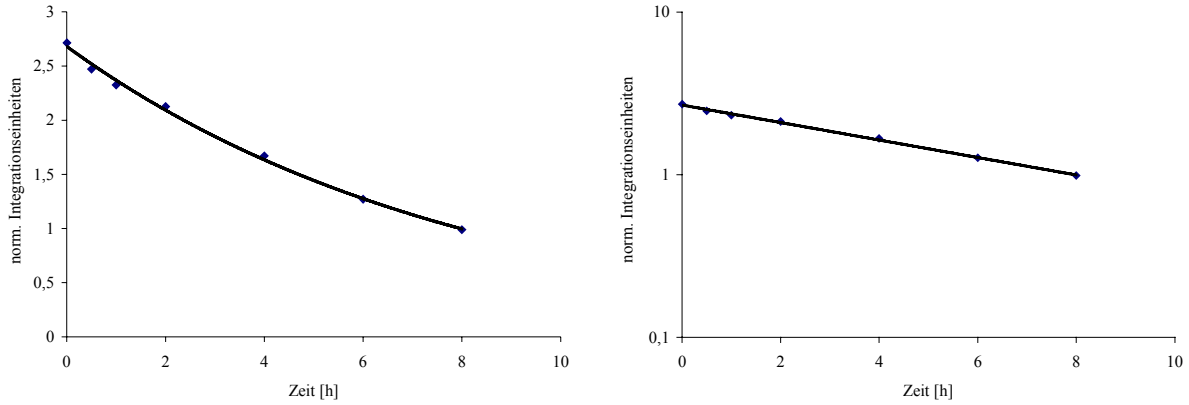


Abbildung 46 Dezimale und halblogarithmische Darstellung der Hydrolysegeschwindigkeit (exemplarisch für 3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP)

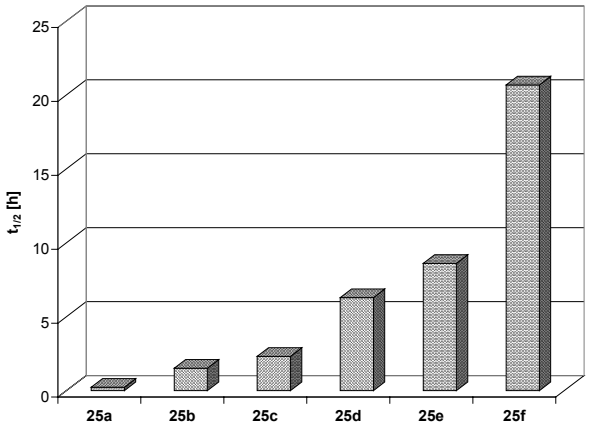
Aus exponentiellem Kurvenverlauf sowie aus halblogarithmischer Auftragung war ersichtlich, daß es sich hier um Kinetiken *pseudo-erster* Ordnung handelte ($[A]_t = [A]_0 e^{-kt}$, Abbildung 46). Zum Vergleich der Stabilitäten der untersuchten Verbindungen wurden die Geschwindigkeitskonstante k und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ ermittelt. Die Geschwindigkeitskonstante k wurde mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogrammes „Excel®“ aus den exponentiellen Ausgleichskurven bestimmt. Die Halbwertszeiten $t_{1/2}$ der Hydrolysen wurden mit Hilfe der Meßdaten über die Geschwindigkeitskonstante k und folgender Gleichung ermittelt:

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

Zur besseren Diskussion der Hydrolysedaten sollen die synthetisierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester wiederum in Gruppen ähnlicher Verbindungen eingeteilt werden.
Begonnen wird mit den 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs, deren Hydrolysehalbwertszeiten $t_{1/2}$ in Tabelle 6, Seite 49 zusammengefaßt wurden. Die Stabilität der Derivate läßt sich mit Hilfe der Halbwertszeiten vergleichen.

Tabelle 6 **Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Derivate in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

*cyclo*Sal-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]
5-Cl-	**25a**	0.23
5-H-	**25b**	1.5
5-OMe-	**25c**	2.3
3-Me-	**25d**	6.3
3,5-DiMe-	**25e**	8.6
3-*t*Bu-	**25f**	20.7



Es konnte der in Kapitel 2.4.5., Seite 22 diskutierte Substituenteneinfluß im aromatischen System der Maske auf die Halbwertszeit gefunden werden. Es zeigte sich ein Anstieg der Halbwertszeit mit steigender Elektronendonorstärke in *ortho*- und *para*-Position zum phenylischen Phosphatester. Dabei wurde für die hydrolytisch labilste Verbindung der 5-Chlor-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25a** eine Halbwertszeit von 0.23 Stunden bestimmt. Der Chlorsubstituent an der 5-Position im Aromaten stellt einen Elektronenakzeptor dar, während für den Elektronendonor, die *tert*-Butylgruppe an der 3-Position, eine lange Halbwertszeit von 20.7 Stunden bestimmt wurde.

Verglichen mit den Halbwertzeiten von *cyclo*Sal-Phosphattriestern der Nucleosidanaloga 2‘,3‘-Didesoxy-2‘,3‘-didehydrothymidin (d4T),[112] 2‘,3‘-Didesoxyadenosin (ddA)[121] und 2‘-Fluor-*ara*-2‘,3‘-didesoxyadenosin (F-*ara*-ddA)[121] in Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 7.3 hydrolysieren die BVDUMP Pro-Nucleotide zum Teil deutlich schneller (Tabelle 7).

Tabelle 7 **Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten**

	$t_{1/2}$ [h]		
Substituent	*cyclo*Sal-d4TMP	*cyclo*Sal-ddAMP	*cyclo*Sal-F-*ara*-ddAMP
5-Cl-	0.7	---	---
5-H-	4.5	17.0	5.4
5-OMe-	7.2	23.4	7.5
3-Me-	10.2	44.3	11.4
3,5-DiMe-	16.1	58.2	---
3-*t*Bu-	96.0	---	---

Aus den innerhalb einer Zeile zum Teil deutlich unterschiedlichen Halbwertszeiten kann man schließen, daß nicht nur der Substituent im aromatischen Ring einen Einfluß auf die Hydrolysegeschwindigkeit besitzt, sondern auch das verwendete Nucleosidanalogon.
Betrachtet man den ersten Schritt des Hydrolysemechanismus – Angriff eines Sauerstoff-Nucleophils auf den Phosphatphosphor – so könnten die unterschiedlichen Halbwertszeiten bei Verwendung verschiedenen Nucleosidanaloga durch die unterschiedliche chemische Umgebung der Phosphatester erklärt werden: Je weniger polare oder polarisierende Gruppen ein Nucleosid in räumlicher Nachbarschaft des Phosphatesters besitzt, desto schlechter kann das Nucleophil zum Phosphatphosphor gelangen und desto langsamer hydrolysiert es in wässriger Phosphatpufferlösung.
Das bedeutet, die BVDUMP Phosphattriester besitzen durch die polare 3‘-Hydroxygruppe im Vergleich zu der schwach polarisierenden Doppelbindung der d4TMP Phosphattriester und der nicht polaren 2‘- und 3‘-Methylengruppe der ddAMP Phosphattriester eine Umgebung die den nucleophilen Angriff auf den Phosphatphosphor begünstigt und damit die Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigt.

Durch die 3‘-Hydroxygruppe sind außerdem bei den 3‘-unmodifizierten BVDUMP Phosphattriestern prinzipiell zwei unterschiedliche Hydrolysewege denkbar. Zum einen führt die „normale“ Hydrolyse durch Angriff eines Nucleophils am Phosphatphosphor zur Bildung des gewünschten BVDUMP **44** (Abbildung 47a). Zum anderen wäre ein intramolekularer Angriff der freien Hydroxygruppe auf das Phosphoratom denkbar. Ergebnis wäre dann der cyclischer Phosphatdiester **45**, der möglicherweise unter diesen Bedingungen nicht zum Monophosphat hydrolysieren kann (Abbildung 47b).

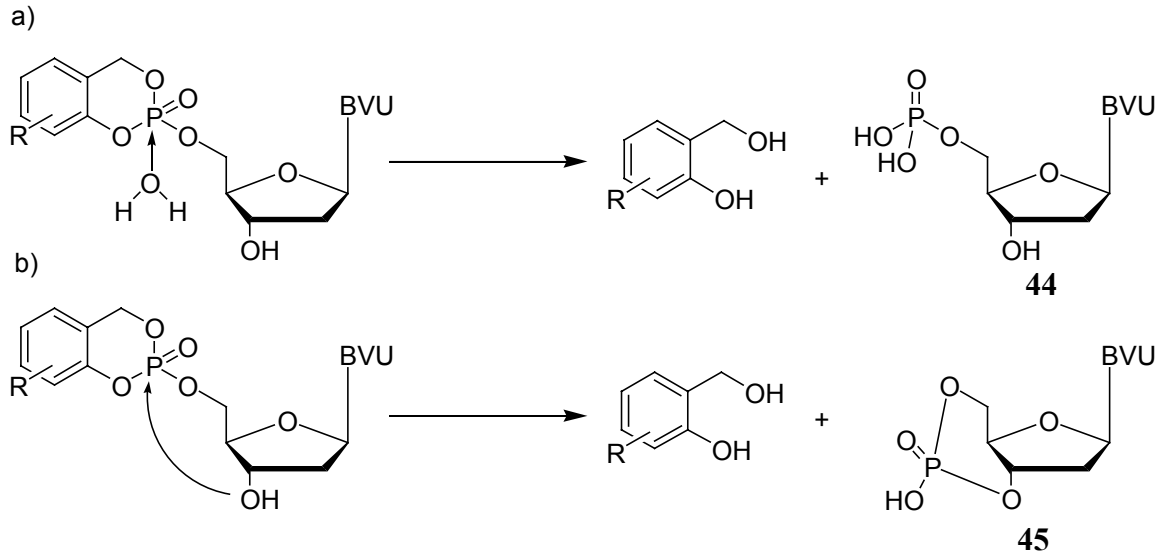
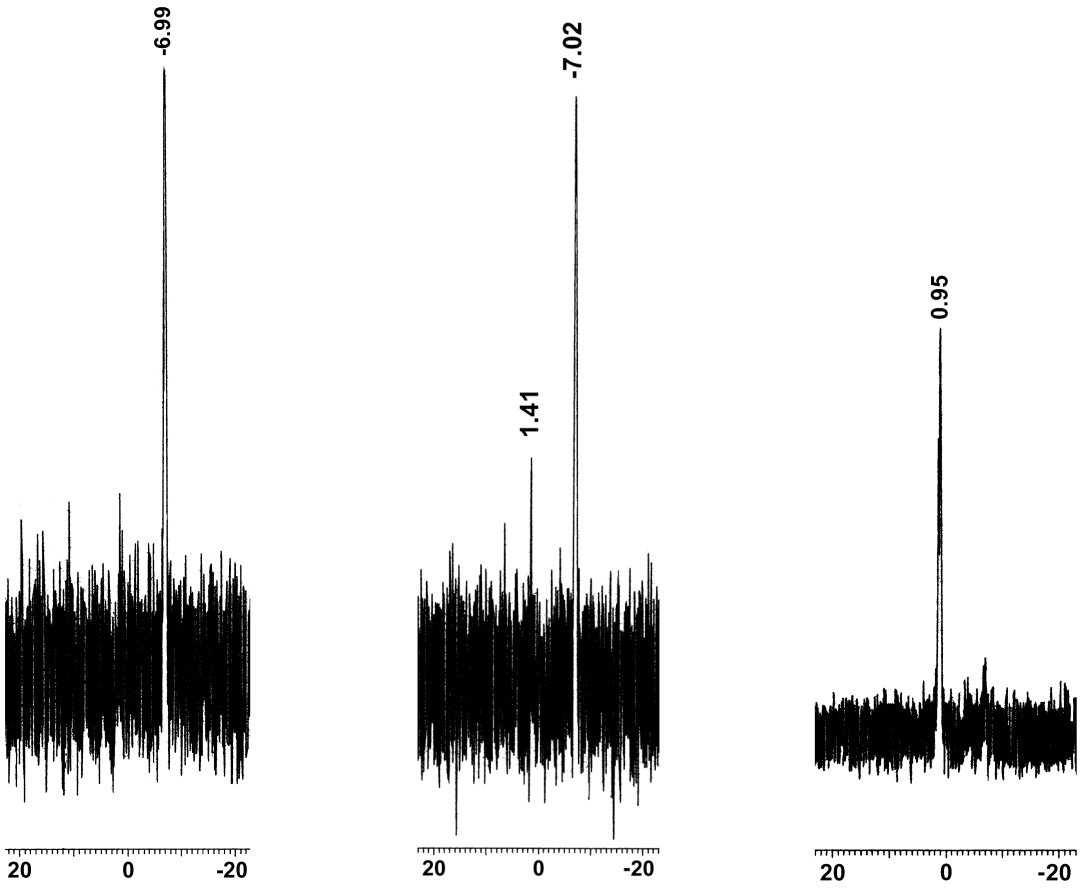


Abbildung 47 **Mögliche Hydrolysemechanismen der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs**

Prinzipiell können bei der Hydrolyse der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester folgende Produkte entstehen:

1. Das Monophosphat **44** mit einem Molekulargewicht von 413.1 g/mol, dessen chemische Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum ähnlich der von Phosphorsäure ist und im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu einem Triplett aufspalten sollte;
2. Das Cyclophosphat **45** mit der Masse von 394.1 g/mol, dessen Signal im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu Dupletts von Tripletts aufspalten sollte;
3. Der Bruch der benzylischen Sauerstoffbindung würde zum stabilen Phenylphosphatdiester mit der Masse von 517.2 g/mol führen, dessen Signal im Protonen gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu einem Triplett aufspalten sollte.



t = 0 Stunden t = 1 Stunde t = 7 Tage

Abbildung 48 ^{31}P-NMR-spektroskopische Untersuchung der Hydrolyse von 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester

Um den Hydrolyseweg aufzuklären, wurde eine Probe von 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP **25b**, als Referenzverbindung in einem NMR-Probengefäß mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer, pH 7.3 bei 37 °C versetzt und ^{31}P-NMR-spektroskopisch untersucht. Kurz nach Beginn des

Versuchs konnte ^{31}P-NMR-spektroskopisch das Signal des 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP **25b** bei -6.99 ppm detektiert werden, das im Verlauf der Untersuchung zugunsten eines Signals bei 0.95 ppm verschwand. Zwischen den NMR-spektroskopischen Messungen wurde das Probengefäß bei 37 °C aufbewahrt. Der Verlauf der Hydrolyse ist in Abbildung 48, Seite 51 dargestellt. Die chemische Verschiebung des entstandenen Hydrolyseproduktes liegt mit einem Wert von 0.95 ppm in einem Bereich der für Monophosphate typisch ist.

Die vollständig hydrolysierte Probe wurde anschließend gefriergetrocknet und mittels ESI$^-$ massenspektrometrisch die Massenverteilung bestimmt (Abbildung 49).

Das abgebildete Massenspektrum zeigt eindeutig, daß als hauptsächliches Hydrolyseprodukt BVDUMP **44** mit einer Masse von 413 g/mol ($M+H^+$) entstanden ist. Die Isotopenverteilung des Broms im Nucleotid ist vergrößert dargestellt.

Mit einer Masse von 517 g/mol konnte als Nebenprodukt der Phenylphosphatdiester detektiert werden, dieser war im ^{31}P-NMR-Spektrum nicht sichtbar.

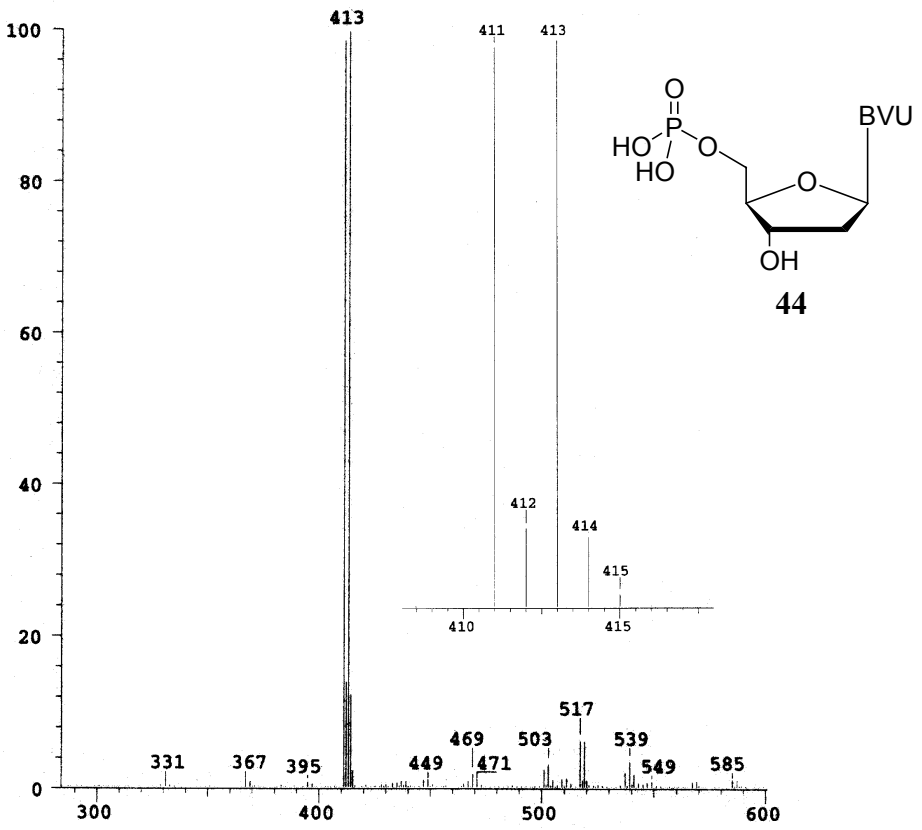


Abbildung 49 **ESI$^-$ Massenspektrum des Hydrolyseproduktes des 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriesters**

Zusätzlich wurde 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** mit 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3 bei 37 °C hydrolysiert und HPLC analytisch die Hydrolyseprodukte bestimmt. Dazu wurden die wie oben beschrieben separat synthetisierten BVDUMP **44** und cBVDUMP **45** verwendet (Abbildung 50, Seite 53).

Nur bei Zugabe von BVDUMP **44** entstand kein neuer Peak im HPLC-Chromatogramm. Durch Vergleich der Peakflächenverhältnisse (vor und nach Beimischung) konnte zusätzlich die Vergrößerung des Monophosphatpeaks bestättigt werden.

Aus allen gesammelten Informationen kann geschlossen werden, daß bei der chemischen Hydrolyse der 3‘-unmodifizierten BVDUMP Phosphattriester nur das gewünschte BVDUMP **44** entsteht.

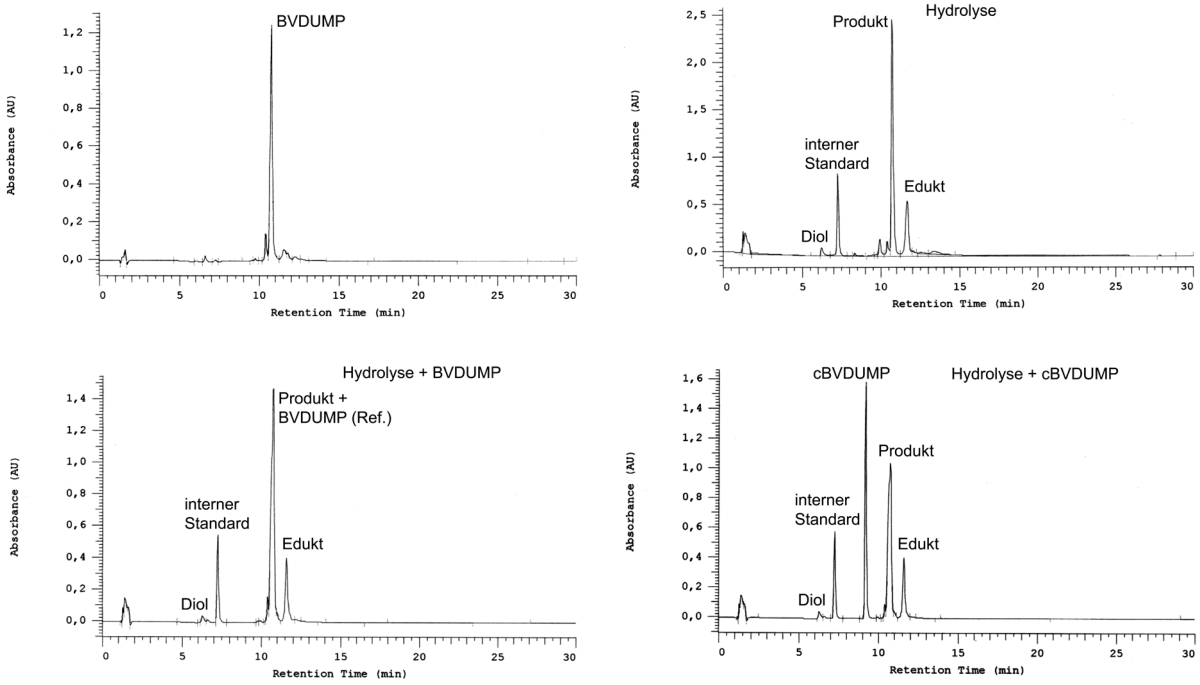


Abbildung 50 Coinjektionsversuche zum Nachweis des Hydrolyseproduktes

Als Prototypverbindung der *cyclo*Sal-Phosphattriester für Nucleosidanaloga mit einer 3‘-Hydroxylfunktion im Ribose- oder Desoxyribosezucker wurde der *cyclo*Sal-Phosphattriester von 2‘-Desoxythymidin **29** dargestellt. Dazu wurde im ersten Syntheseschritt die 5‘-Hydroxylfunktion mit 4,4‘-Dimethoxytriphenylmethylchlorid in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin und Triethylamin in Pyridin bei Raumtemperatur blockiert. Nach Umkristallisation aus Benzol konnte das 5‘-*O*-geschützte Nucleosid **46** in 90 % Ausbeute erhalten werden (Abbildung 51, Seite 54).[122] Das Produkt wurde mit Levulinsäure in Gegenwart von *N*,*N*-Dicyclohexylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin bei Raumtemperatur zum 3‘,5‘-*O*-geschützten Nucleosid umgesetzt, das nach chromatographischer Aufreinigung direkt mit 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung bei Raumtemperatur zum 3‘-*O*-Lev-geschützten Nucleosid **47** umgesetzt wurde. Die Ausbeute über beide Reaktionsschritte betrug 83 %. Das 3‘-*O*-geschützte Nucleosid **47** wurde, wie Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit *cyclo*Sal-chlorphosphit **35b** zum geschütztem *cyclo*Sal-Phosphattriester **48** in 51 % Ausbeute umgesetzt. Die Levunlinylgruppe wurde mittels

Hydrazinhydrat (24 % in Wasser) in einem Pyridin/Essigsäure-Gemisch (3:2) innerhalb von fünf Minuten bei Raumtemperatur[116] entfernt und *cyclo*Sal-2‘-Desoxythymidinmonophosphat **49** in 70 % Ausbeute erhalten.

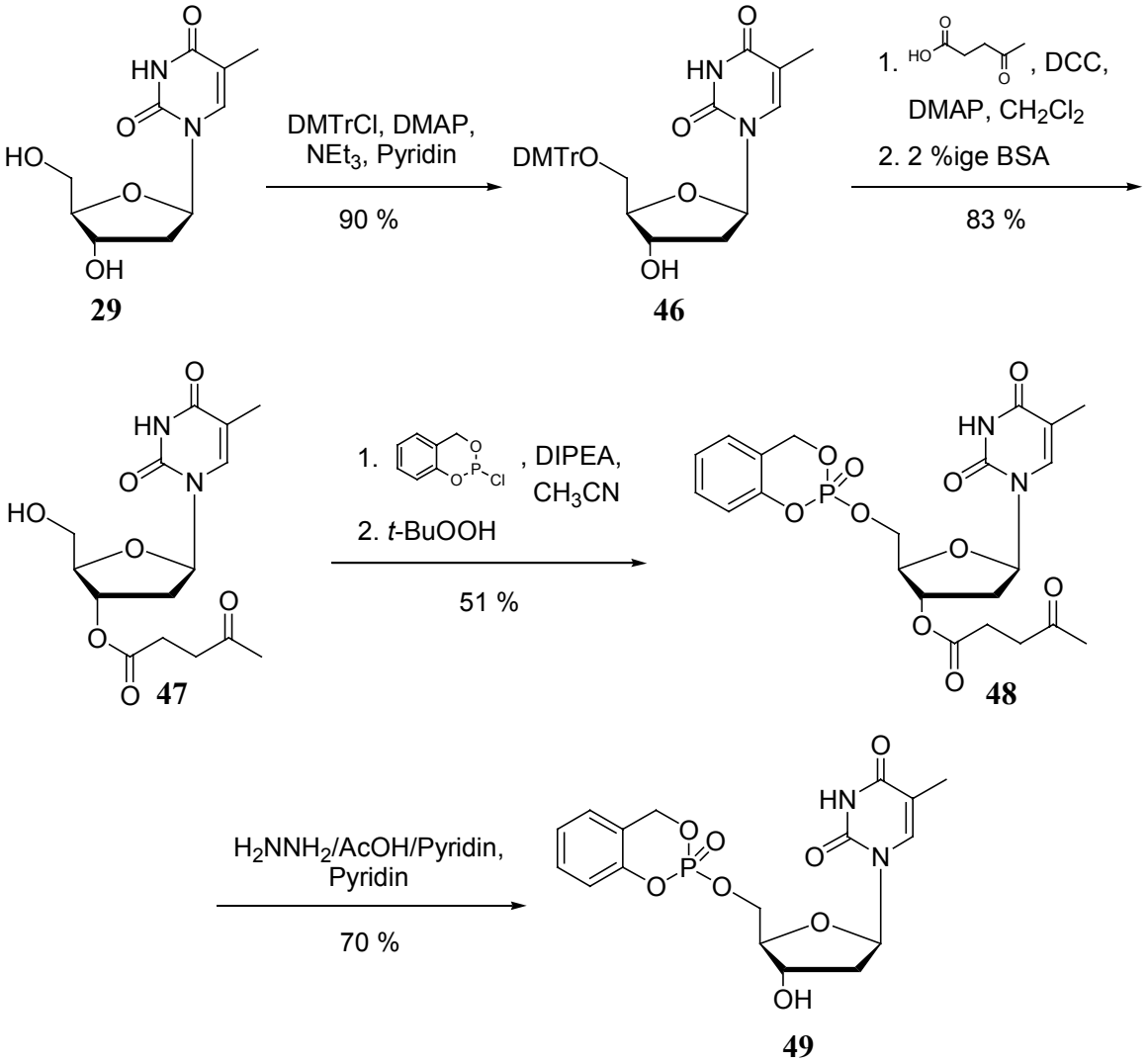
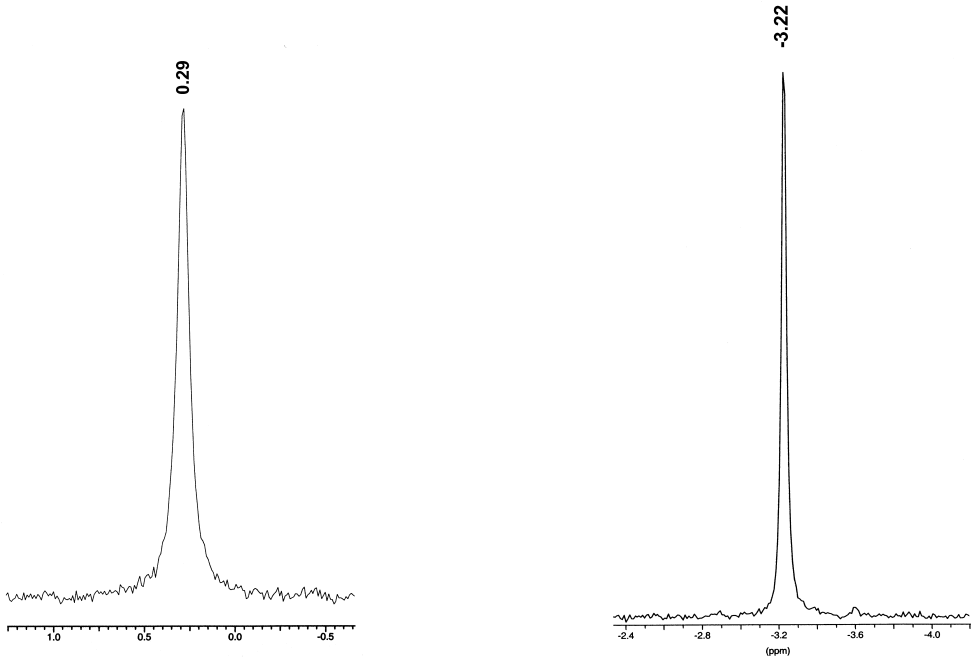


Abbildung 51 Synthese von *cyclo*Sal-2‘-desoxythymidinmonophosphat

Um das Hydrolyseverhalten aufzuklären, wurden 5-H-*cyclo*Sal-2‘-desoxythymidinmonophosphat **49** (5-H-*cyclo*Sal-dTMP) sowie das im Arbeitskreis vorhandene 5-Chlor-*cyclo*Sal-2‘-desoxy-5-fluoruridinmonophosphat **50** (5-Cl-*cyclo*Sal-FdUMP) hydrolysiert.

Ausgehend von dT **29** bzw. FdU **30** konnte in separaten Synthesen die cyclischen 3‘,5‘-Monophosphate durch Umsetzung der Nucleoside mit Phosphorylchlorid in Pyridin und anschließender wässriger Aufarbeitung als Referenzen dargestellt werden. Im protonenentkoppelten ^{31}P-NMR Spektrum erschienen die Signale der 5‘-Monophosphate (dTMP und FdUMP) mit einer chemischen Verschiebung von + 3.24 bzw. 0.29 ppm. Die entsprechenden Signale des cyclischen 3‘,5‘-dTMP und des cyclischen 3‘,5‘-FdUMP konnten bei - 2.5 und - 3.2 ppm detektiert werden. Sowohl massenspektrometrisch als auch HPLC-analytisch

konnten in allen untersuchten Hydrolysen nur die entsprechenden Monophosphate nachgewiesen werden.



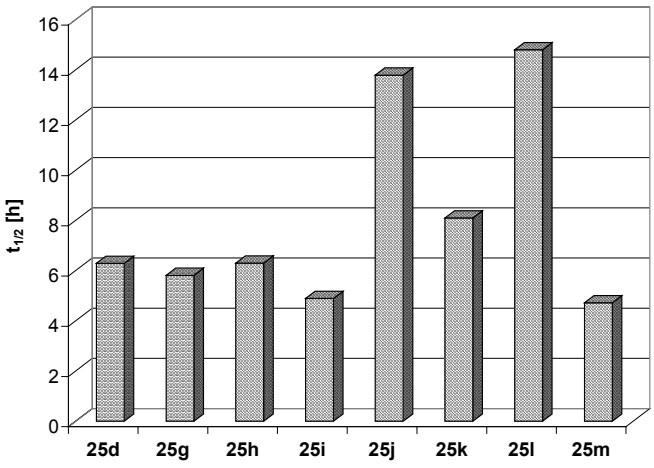
FdUMP cFdUMP

Abbildung 52 **^{31}P-NMR Spektren (protonenentkoppelt) von FdUMP und cFDUMP**

Die Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten BVDUMP Phosphattriester sind in Tabelle 8 aufgelistet. Die Hydrolysen folgen wie die der 3‘-unmodifizierten Verbindungen **25a-f** einer Reaktionskinetik pseudo-erster-Ordnung.

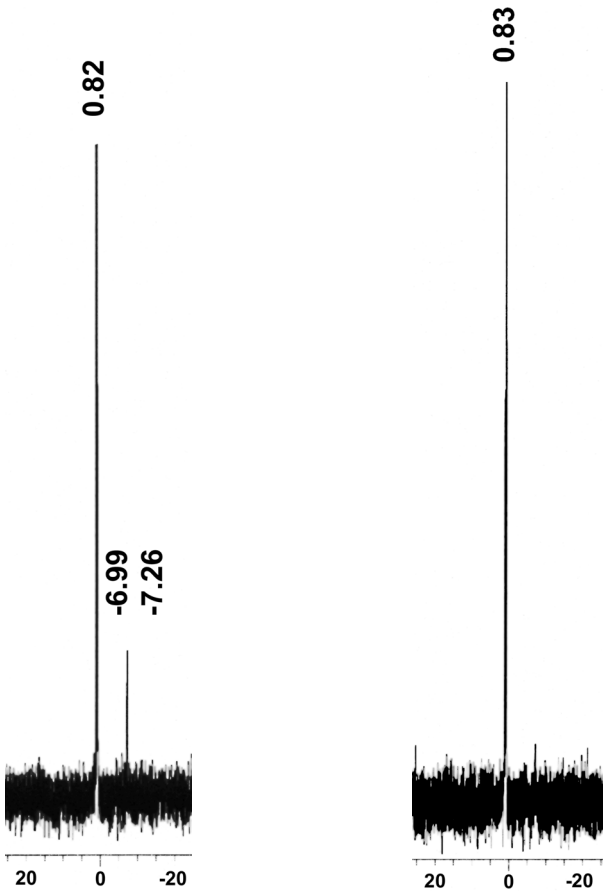
Tabelle 8 **Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]
H	**25d**	6.7
Ac	**25g**	5.8
Prop	**25h**	6.3
*i*Bu	**25i**	4.9
Piv	**25j**	13.8
Hex	**25k**	8.1
Dec	**25l**	14.8
Lev	**25m**	4.7



Die Halbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl modifizierten BVDUMP Phosphattriester liegen im Bereich von 4.7 bis 14.8 Stunden. Je länger die Kohlenstoffkette der verwendeten Carbonsäuren ist, desto langsamer verläuft die Hydrolyse. Das könnte durch Interaktion des angreifenden OH^--Nucleophiles mit dem lipophilen Rest der 3‘-*O*-Acyl Funktion begründet werden, der einen polaren Angriff auf das Phosphoratom behindern könnte. Die Verwendung einer nicht linearen Carbonsäure (*i*Bu, **25i**) erhöhte zwar die Lipophilie des Triesters, führte aber zu einer Halbwertszeitverkürzung, die nicht erklärt werden kann. Erst die Verwendung von Pivalinsäure (**25j**) führte zur deutlichen Erhöhung der Lipophilie und der Halbwertszeit. Wird hingegen eine weitere polare Carbonylfunktionalität in die Kohlenstoffkette eingeführt (**25m**), verringert man sowohl die Lipophilie, als auch die Halbwertszeit.

Wie bereits für die 3‘-*O*-unmodifizierten Phosphattriester beschrieben, wurde 5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Ac-BVDUMP **25α**, als Referenzverbindung mit Ammoniumacetatpuffer, pH 7.3 versetzt und ^{31}P-NMR-spektroskopisch untersucht (Abbildung 53).



t = 6 Stunden t = 7 Tage

Abbildung 53 **^{31}P-NMR-spektroskopische Untersuchung der Hydrolyse von 5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Ac-BVDUMP**

Die Messung eines Spektrums zu Beginn der Untersuchung war nicht möglich, da sich die Verbindung auch nach Zugabe einiger Tropfen von DMSO-d_6 nicht vollständig löste. Nach 6 Stunden bei 37 °C konnten Signale bei - 6.99 und - 7.26 ppm für den Phosphattriester **25α** und ein Signal bei + 0.82 ppm für das Hydrolyseprodukt detektiert werden. Die Messung nach 7 Tagen zeigt nur noch das Hydrolyseproduktsignal bei + 0.83 ppm.

Um nachzuweisen, ob es sich bei dem Hydrolyseprodukt um BVDUMP **44** oder das 3‘-*O*-acetylierte BVDUMP handelt, wurde die vollständig hydrolysierte Probe gefriergetrocknet und mittels ESI^- massenspektrometrisch die Masse bestimmt (Abbildung 54).

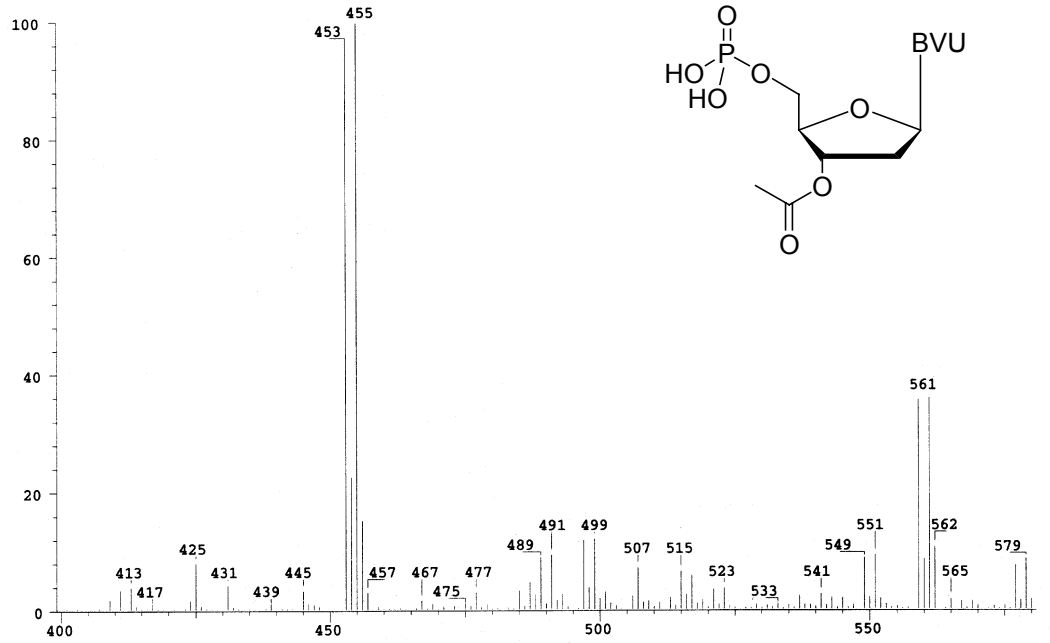


Abbildung 54 **ESI^- Massenspektrum des Hydrolyseproduktes von 5-*H-cyclo*Sal-3‘-*O*-Ac-BVDUMP**

Mit einer detektierten Masse von 455 g/mol wurde als Haupthydrolyseprodukt das 3‘-*O*-acetylierte BVDUMP detektiert. Wieder zeigte sich das Isotopenmuster des Broms im Massenspektrum. Als Nebenprodukt mit einer Masse von 561 g/mol wurde wiederum der 3‘-*O*-acetylierte Phenylphosphatdiester gefunden, der nicht im Phosphor-NMR sichtbar war.

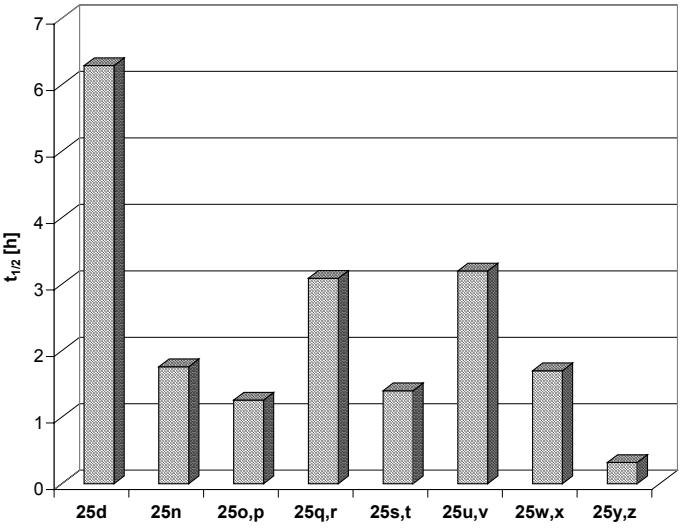
Zusätzlich zeigten die Hydrolyseprodukte in allen Kinetikuntersuchungen der 3‘-*O*-acetylierten BVDUMP Phosphattriester untereinander und verglichen mit BVDUMP **44** verschiedene Retentionszeiten.

Aus allen gesammelten Daten kann man schließen, daß bei der chemischen Hydrolyse der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten BVDUMP Phosphattriester als Haupthydrolyseprodukt jeweils das 3‘-*O*-acylierte BVDUMP entsteht.

Im Gegensatz zu den 3‘-unmodifizierten und den 3‘-*O*-Acyl-modifizierten BVDUMP Phosphattriestern **25a-m** konnte für die 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25n-z** eine deutlich geringere Hydrolysehalbwertszeit, das heißt, eine deutlich geringere Hydrolysestabilität im schwach basischen Phosphatpuffer bestimmt werden (Tabelle 9). Trotz der höheren Hydrolysegeschwindigkeit folgen auch diese Verbindungen einer Kinetik pseudo-erster Ordnung.

Tabelle 9 **Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

3-Me-*cyclo*Sal-3‘*O*R-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]
H	**25d**	6.7
Gly	**25n**	1.76
L/D-Ala	**25o,p**	1.26
L/D-Val	**25q,r**	3.09
L/D-Leu	**25s,t**	1.40
L/D-Ile	**25u,v**	3.20
L/D-Phe	**25w,x**	1.70
L/D-Pro	**25y,z**	0.32



Im Gegensatz zu den zuvor diskutierten Verbindungen tragen die Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester eine polare freie Amino-Gruppe, die unter physiologischen Bedingungen protoniert vorliegt und somit eine polarere Umgebung in der Nähe des Phosphatesters erzeugen wird. Dies könnte den Angriff eines polaren Nucleophiles stark erleichtern und damit die Reaktionsgeschwindigkeit erhöhen (Abbildung 55).

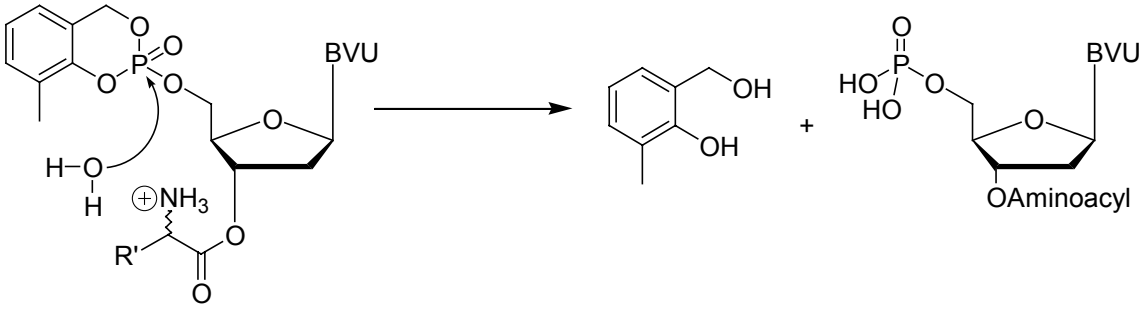
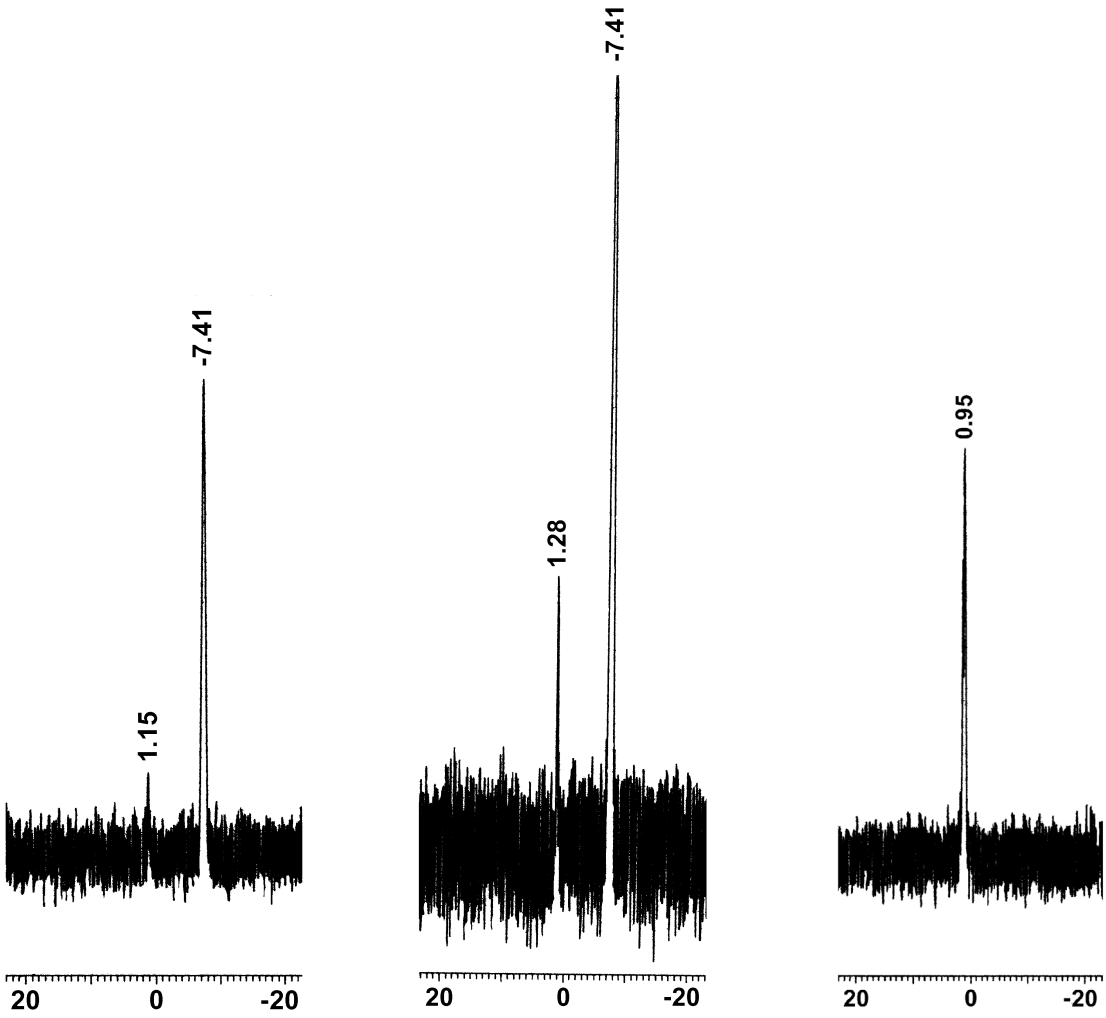


Abbildung 55 **Möglicher Hydrolysemechanismus der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs**

Um den Hydrolyseweg der Aminosäureester aufzuklären, wurde 5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP **25δ** als Referenzverbindung wie oben beschrieben in einem NMR-Probengefäß hydrolysiert und dabei ^{31}P-NMR-spektroskopisch untersucht (Abbildung 56).



t = 0 Stunden t = 1 Stunde t = 7 Tage

Abbildung 56 **^{31}P-NMR-spektroskopische Untersuchung der Hydrolyse von 5-*H*-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP Phosphattriester**

Schon in dem ersten ^{31}P-NMR-Spektrum konnte neben dem Eduktsignal bei einer chemischen Verschiebung von - 7.41 ppm ein zweites Signal bei + 1.15 ppm detektiert werden. Dieses Signal vergrößerte sich und nach 7 Tagen konnte nur noch ein Signal bei einer chemischen Verschiebung von 0.95 ppm gefunden werden. Die chemische Verschiebung des entstandenen Hydrolyseproduktes liegt im selben Bereich, wie in den vorangegangenen Untersuchungen.

Um nachzuweisen, ob es sich bei dem Hydrolyseprodukt um BVDUMP **44** oder 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierte BVDUMP handelte, wurde wie oben beschrieben, verfahren. Die Masse wurde mittels ESI^- massenspektrometrisch bestimmt (Abbildung 57). Das abgebildete Massenspektrum zeigt eindeutig, daß als Hydrolyseprodukt das BVDUMP **44** mit einer Masse von 413 g/mol entstanden ist.

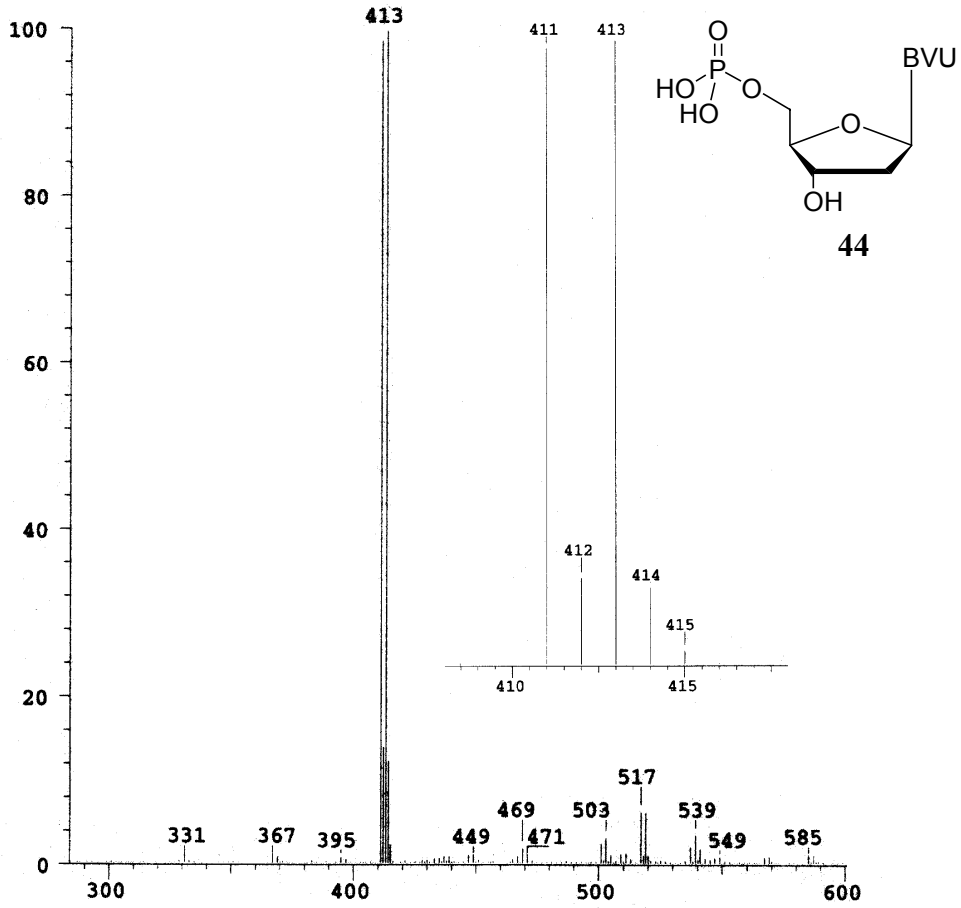


Abbildung 57 **ESI^- Massenspektrum des Hydrolyseproduktes des 5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP Phosphattriesters**

Durch grafische Auftragung des HPLC-analytisch beobachteten Hydrolyseverlaufs (Abbildung 58, Seite 61) konnte ein dritter, bisher noch nicht diskutierter, Hydrolyseweg bestätigt werden.

In den 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriestern wird im ersten Hydrolyseschritt die 3‘-Esterbindung zur freien Aminosäure und der Prototyp Verbindung **25b** oder **25d** gespalten, die anschleißend unter rein chemischer Hydrolyse zum BVDUMP **44** hydrolysiert. Durch Vergleich der HPLC-analytisch bestimmten Retentionszeiten konnte für alle 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Derivate dieser Mechanismus bestätigt werden.

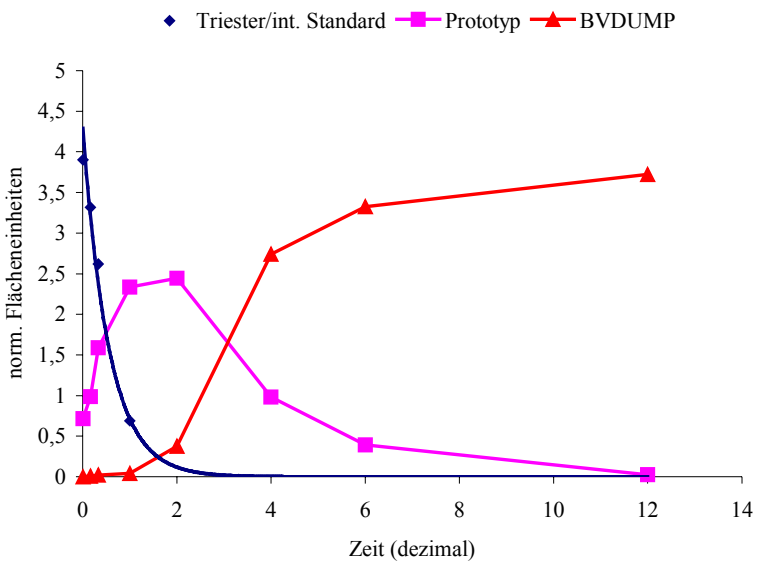


Abbildung 58 **Dezimale Darstellung der Hydrolyse des 5-H-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP Phosphattriesters in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

Die Aminogruppe der Aminosäure liegt bis zu einem pH-Wert von 9 protoniert vor und zieht durch die positive Ladung des Stickstoffs Elektronendichte von der Carbonylesterfunktion ab. Dadurch hydrolysiert der, stärker als in normalen Carbonsäureestern polarisierte Carbonylkohlenstoff möglicherweise nach einem nucleophilen Angriff leichter die 3‘-Esterbindung, als unter basischeren Bedingungen und ergibt so die Prototyp Verbindungen **25δ** und **25ε** (Abbildung 59).

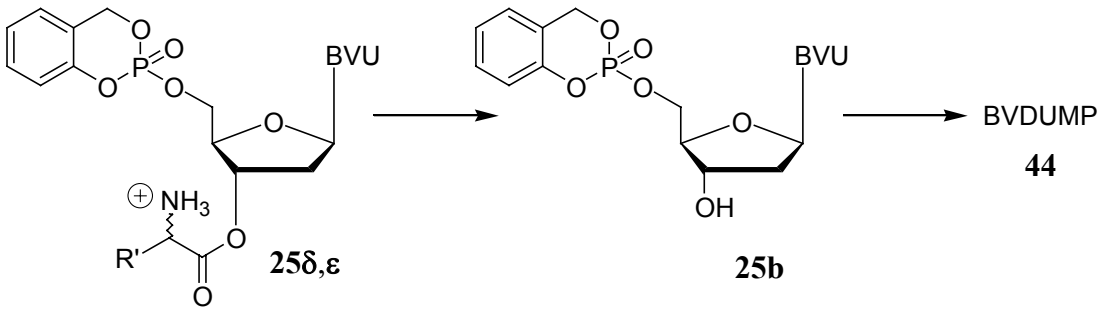


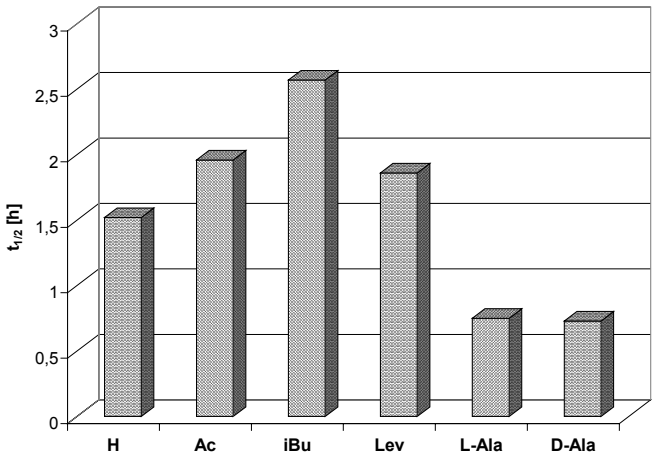
Abbildung 59 **Nachgewiesener Hydrolyseweg der 3’-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

Die Hydrolysehalbwertszeiten der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25α-ε** in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3 bei 37 °C sind in Tabelle 10, Seite 62 zusammengefaßt. Alle Verbindungen hydrolysieren deutlich schneller im Vergleich zu den entsprechenden 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern. Der Trend der Halbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Verbindungen ist der gleiche, wie bereits oben für die 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester diskutiert, da die unsubstituierte *cyclo*Sal-Maskierungsgruppe

instabiler ist als die 3-Methyl-*cyclo*Sal-Maskierungsgruppe (vgl. Kapitel 2.4.5., Seite 22). Die 3‘-*O*-Alanin modifizierten Derivate hydrolysieren unter diesen Hydrolysebedingungen doppelt so schnell wie die Prototypverbindung **25b**. Die Halbwertzeit repräsentiert dabei, wie schon oben gezeigt, die chemische Hydrolyse des Aminosäureesters zum 3‘-OH-freien 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25b**.

Tabelle 10 Hydrolysehalbwertszeiten der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3

5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]
H	**25b**	1.52
Ac	**25α**	1.96
*i*Bu	**25β**	2.57
Lev	**25χ**	1.86
L-Ala	**25δ**	0.75
D-Ala	**25ε**	0.73



4.2.5.3. Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25 mM, pH 6.8)

Die später verwendeten Zellextrakte, der für die *in vitro* Zelltests benutzten Zellen, wurden mit einem Phosphatpuffer, pH 6.8 verdünnt. Um den Einfluß des pH-Wertes zuuntersuchen wurden daher Hydrolyseuntersuchungen mit den *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern in 25 mM Phosphatpuffer bei pH 6.8 und 37 °C durchgeführt. Wie oben praktiziert, sollen auch hier die Ergebnisse in Gruppen ähnlicher Verbindungen diskutiert werden.

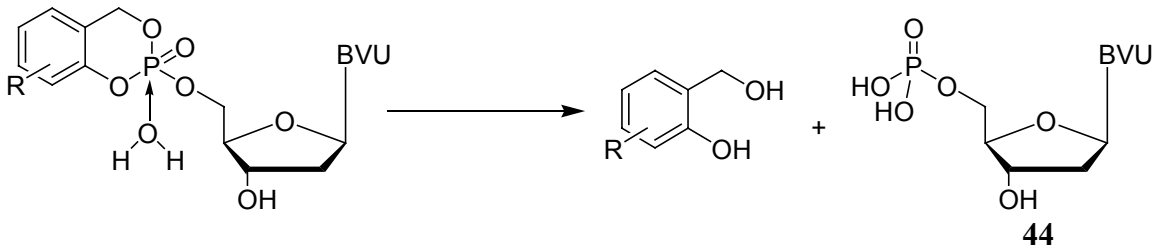
Die Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-unmodifizierten Verbindungen sind in Tabelle 11, Seite 63 dargestellt. Alle Verbindungen zeigen eine um etwa eindrittel höhere Halbwertszeit, d.h. eine höhere Stabilität im Vergleich zu den bei pH 7.3 bestimmten Werten. Dieses Verhalten steht im Einklang mit dem Hydrolysekonzept der *cyclo*Sal-Phosphattriester. Bei einer rein chemisch induzierten Hydrolyse sollten diese Verbindungen im schwach sauren Medium stabiler sein, d.h. eine höhere Halbwertszeit besitzen als im schwach basischen Medium.

Tabelle 11 **Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer**

*cyclo*Sal-BVDUMP		pH 6.8 $t_{1/2}$ [h]	pH 7.3 $t_{1/2}$ [h]
5-Cl-	**25a**	0.33	0.23
5-H-	**25b**	1.8	1.5
5-OMe-	**25c**	2.8	2.3
3-Me-	**25d**	7.8	6.3
3,5-DiMe-	**25e**	12.5	8.6
3-*t*Bu-	**25f**	33.7	20.7

Es konnte wiederum der in Kapitel 2.4.5., Seite 22 diskutierte Substituenteneinfluß im aromatischen System der Maske auf die Halbwertszeit gefunden werden. Dabei besaß das 5-Chlor substituierte *cyclo*Sal-BVDUMP Derivat **25a** mit 0.33 Stunden die kürzeste und das 3-*t*Butyl substituierte *cyclo*Sal-BVDUMP Derivat **25f** mit fast 34 Stunden die längste Halbwertszeit. Für die Verwendung in den Zelltests sind sehr kurze Halbwertszeiten unvorteilhaft, da die Verbindungen dann möglicherweise schon extrazellulär hydrolysieren ohne an den vorgesehenen Wirkort zu gelangen.

Wie schon oben diskutiert, könnten bei der Hydrolyse der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester theoretisch zwei Produkte entstehen, das nicht gewünschte cBVDUMP **45** oder das gewünschte BVDUMP **44**. Um den Hydrolyseweg aufzuklären, wurden die Hydrolyseprodukte, genau wie bereits oben für die Hydrolysen bei pH 7.3 beschrieben, HPLC-analytisch durch Vergleich der Retentionszeiten und Coinjektionsexperimente ermittelt. Dabei konnte neben dem entsprechenden modifizierten Salicylalkohol jeweils nur das gewünschte BVDUMP **44** gefunden werden (Abbildung 60).



44

Abbildung 60 **Hydrolyseprodukte der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8 und 37 °C**

Die Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester sind in Tabelle 12, Seite 64 aufgelistet. Alle 3‘-*O*-Acyl modifizierten

Verbindungen zeigen, genauso wie die 3‘-unmodifizierten Verbindungen, eine höhere Halbwertszeit, d.h. eine höhere Stabilität im Vergleich zu den bei pH 7.3 bestimmten Werten.

Tabelle 12 **Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP in 25 mM Phosphatpuffer**

Verbindung 3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP		pH 6.8 $t_{1/2}$ [h]	pH 7.3 $t_{1/2}$ [h]
H	**25d**	7.8	6.7
Ac	**25g**	7.6	5.8
Prop	**25h**	7.8	6.3
*i*Bu	**25i**	9.0	4.9
Piv	**25j**	14.6	13.8
Hex	**25k**	10.9	8.1
Dec	**25l**	16.0	14.8
Lev	**25m**	7.0	4.7

Die Halbwertszeiten liegen zwischen 7.0 Stunden für den Levuninyl-modifizierten und 16 Stunden für den Decanoyl-modifizierten Phosphattriester. Wiederum findet man eine gute Korrelation der Hydrolysehalbwertszeiten mit den Verteilungskoeffizienten, d.h. je lipophiler die Verbindung ist, desto stabiler ist sie in den Hydrolyseuntersuchungen. Der Unterschied in den Hydrolysehalbwertszeiten bei verschiedenen pH-Werten der beiden sehr lipophilen Verbindungen **25j** und **25l** fällt nur sehr gering aus. Alle anderen Verbindungen hydrolysieren hingegen bei pH 6.8 zwischen 20 % und 45 % langsamer als bei pH 7.3.

Zur Bestimmung der Hydrolyseprodukte wurden, wie schon oben diskutiert, HPLC-analytische Coinjektionsuntersuchungen durchgeführt und einige Hydrolyseproben massenspektrometrisch untersucht. Bei der Hydrolyse der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester wird neben dem 3-Methylsalicylalkohol das entsprechende 3‘-*O*-Acyl-substituierte BVDUMP gebildet (Abbildung 61, Seite 65). Für die Hydrolyseprodukte wurden HPLC-analytisch untereinander und verglichen mit BVDUMP **44** verschiedene Retentionszeiten bestimmt.

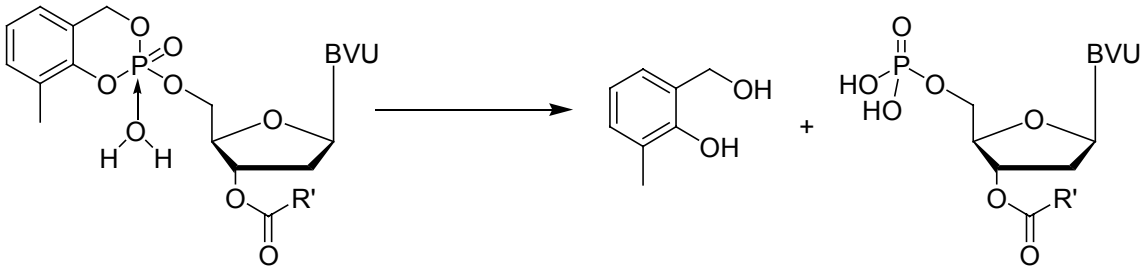


Abbildung 61 **Hydrolyseprodukte der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8**

Wie schon in den Hydrolysen in 25 mM Phosphatpuffer bei pH 7.3 und 37 °C gefunden, waren die Halbwertszeiten der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester bei pH 6.8 sehr viel niedriger als die der 3‘-unmodifizierten oder der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester (Tabelle 13).

Tabelle 13 **Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten der 3‘-*O*-Aminosäure modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer**

3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]	$t_{1/2}$ [h]
H	**25d**	7.8	6.7
Gly	**25n**	1.9	1.7
L/D-Ala	**25o,p**	1.4	1.3
L/D-Val	**25q,r**	3.4	3.1
L/D-Leu	**25s,t**	1.5	1.4
L/D-Ile	**25u,v**	3.7	3.2
L/D-Phe	**25w,x**	3.5	1.7
L/D-Pro	**25y,z**	0.35	0.32

Die Halbwertszeiten lagen zwischen 0.35 Stunden für die 3‘-*O*-Prolin-modifizierten Derivate und 3.7 Stunden für die 3‘-*O*-Isoleucin-modifizierten Derivate. Im Vergleich zu den Hydrolysehalbwertszeiten bei pH 7.3 waren die Verbindungen bei pH 6.8 zwischen 7 % und 16 % stabiler. Nur die beiden Phenylalanin-modifizierten Derivate **25w**,**x** waren bei pH 6.8 doppelt so stabil als bei pH 7.3. Dieses abweichende Verhalten kann nicht erklärt werden. Im Hydrolyseverhalten unterschieden sich die 3‘-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester bei pH 6.8 nicht von dem Verhalten bei pH 7.3, d.h. es konnte HPLC analytisch nur BVDUMP **44** gefunden werden. Daher wird angenommen, daß die Verbindungen, wie oben bereits nachgewiesen, auf demselben Weg hydrolysieren (Abbildung 62, Seite 66).

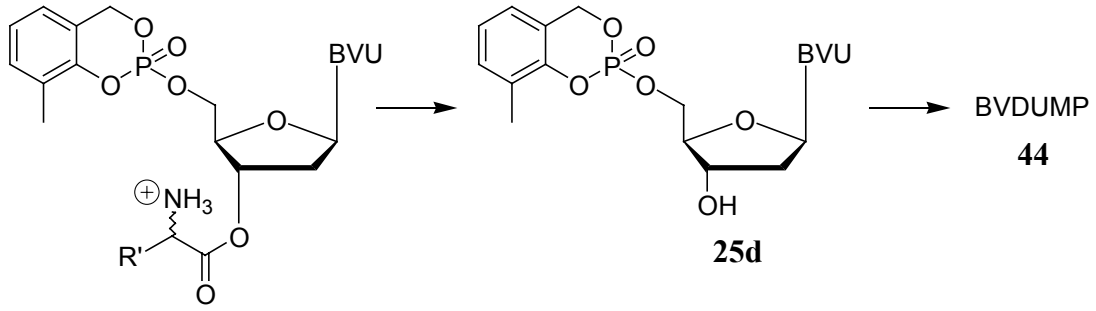


Abbildung 62 **Hydrolyseprodukte der 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8**

Auch die 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMPs hydrolysierten in 25 mM Phosphatpuffer bei pH 6.8 19 % bis 26 % langsamer als bei einem pH-Wert von 7.3. Allerdings waren alle Verbindungen mit Halbwertszeiten von 0.9 bis 3.1 Stunden immer noch deutlich instabiler als die entsprechenden 3-Methyl-Derivate (Tabelle 14). Der Trend der Halbwertszeiten bestätigte wiederum, daß die 3'-*O*-Acyl-modifizierten Derivate genauso bzw. stabiler und daß die 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten wesentlich instabiler als die 3'-unmodifizierte Prototypverbindung waren.

Tabelle 14 **Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer**

5-H-*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP		pH 6.8 $t_{1/2}$ [h]	pH 7.3 $t_{1/2}$ [h]
H	**25b**	1.8	1.5
Ac	**25α**	2.0	1.9
*i*Bu	**25β**	3.1	2.6
Lev	**25χ**	2.4	1.9
L-Ala	**25δ**	0.9	0.75
D-Ala	**25ε**	0.9	0.73

4.2.5.4. Verhalten in RPMI-1640 Kulturmedium mit 10 % FCS

Um das Hydrolyseverhalten in den *in vitro* Zelltests zu simulieren, wurden weitere Hydrolysekinetiken in dem für diese Tests verwendeten Kulturmedium durchgeführt. Es handelt sich dabei um RPMI-1640 Kulturmedium (RPMI = Roswell Park Memorial Institute). In den *in vitro* Zelltests wurde diesem Medium 10 % hitzedesaktiviertes fötales Kälberserum (10 % FCS) zugesetzt. Bei dem hitzedesaktivierten fötalen Kälberserum handelt es sich um eine abgeschwächte Form des Serums, welche die extrazelluläre Umgebung von Zellen wiederspiegeln soll. Um einen Einfluß dieses Serums auf die Hydrolysen auszuschließen, wurden Reaktionsverfolgungen einiger *cyclo*Sal-Verbindungen in RPMI-Kulturmedium mit 10 % FCS bei 37 °C entsprechend denen mit wässrigen Puffern durchgeführt. Die wässrigen Puffer wurden dabei durch das RPMI-Kulturmedium substituiert.

Wie die Ergebnisse in Tabelle 15 zeigen, sind die Halbwertszeiten der getesteten *cyclo*Sal-Verbindungen im Kulturmedium (pH 7.1) zum Teil deutlich länger, als die zuvor im Phosphatpuffer bei pH 7.3 ermittelten Werte (vgl. Kapitel 4.4.5.2., Seite 47ff).

Tabelle 15 **Vergleich der Hydrolysehalbwertzeiten einiger *cyclo*Sal-BVDUMPs in RPMI-1640 Kulturmedium mit 10 % FCS**

*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP			RPMI	pH 6.8	pH 7.3
	R		$t_{1/2}$ [h]	$t_{1/2}$ [h]	$t_{1/2}$ [h]
3-Me	H	**25d**	12.3	7.8	6.3
3,5-DiMe	H	**25e**	15.0	12.5	8.6
3-Me	Ac	**25g**	11.8	7.6	5.8
3-Me	Hex	**25k**	12.0	10.9	8.1
3-Me	L-Ala	**25o**	0.45	1.4	1.3
3-Me	D-Ala	**25p**	0.65	1.4	1.3
3-Me	L-Pro	**25y**	0.38	0.35	0.3
3-Me	D-Pro	**25z**	0.45	0.35	0.3

Eine Erklärung für diese höhere Stabilität könnte die Zusammensetzung des Mediums sein. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß das verwendete Puffersalz einen Einfluß auf die Halbwertszeit besitzt.[112] Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Hydrolyseuntersuchungen in Phosphatpuffer hydrolysieren die Triester **25g** und **25k** bei Verwendung des Kulturmediums geringfügig schneller als die Prototypverbindung **25d**. Als Hydrolyseprodukte wurden die entsprechend 3'-*O*-modifizierten BVDUMPs detektiert, die

nicht weiter zu BVDUMP **44** metabolisiert werden. Die 3‘-*O*-Alanin-modifizierten Phosphattriester **25o** und **25p** hydrolysieren im RPMI-Kulturmedium etwa zweienhalbmal schneller als im leicht basischen Phosphatpuffer. Die Hydrolysegeschwindigkeit der 3‘-*O*-Prolin-modifizierten Phosphattriester liegt in RPMI-Kulturmedium in der gleichen Größenordnung wie bei Benutzung von Phosphatpuffer. Für einen enzymatischer Einfluß auf die Hydrolyse der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester sprechen die unterschiedlichen Halbwertszeiten der enantiomeren Aminosäureestergruppen. Die Halbwertszeiten der 3‘-unmodifizierten Triester sollten mit 12.3 und 15 Stunden ausreichend lang sein, um als intrazelluläre Quelle für BVDUMP **44** zu dienen.

Die zuvor in Phosphatpuffer nachgewiesenen Hydrolysewege der 3‘-*O*-modifizierten und unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester blieben auch im RPMI-1640 Kulturmedium gleich. Sie sind nochmals in Abbildung 63 dargestellt.

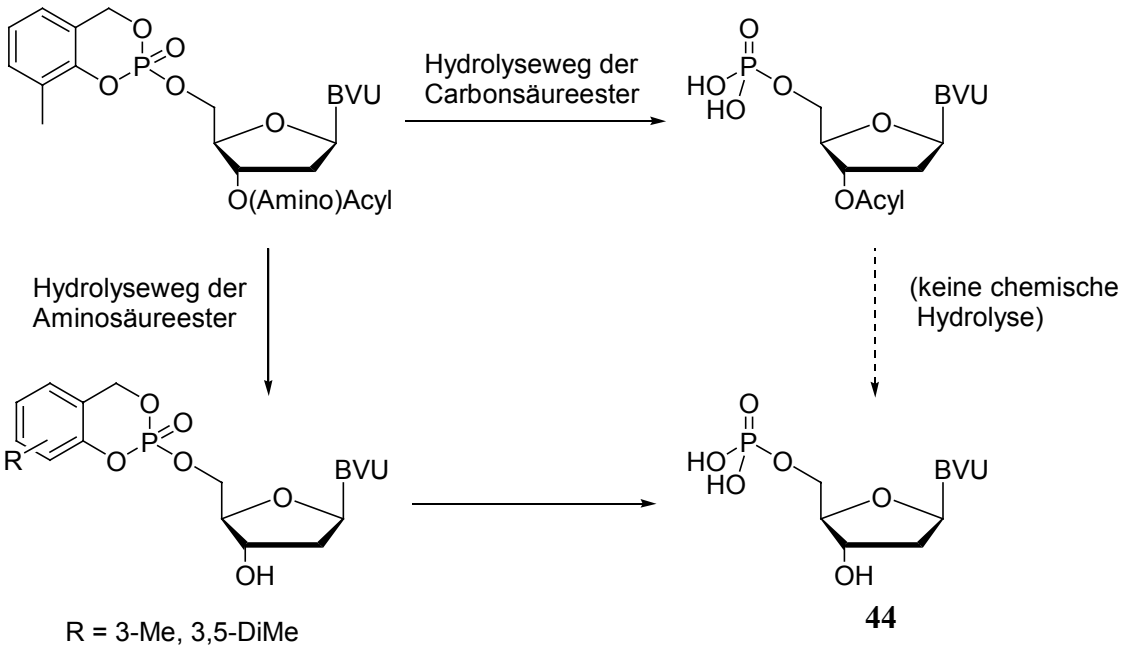


Abbildung 63 **Hydrolysewege der *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in RPMI-1640 Kulturmedium mit 10 % FCS**

4.2.5.5. Stabilität einiger *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester gegenüber Carboxyesterase

Einige *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester wurden mit einem 50 Units Schweine Leber Esterase (PLE, Sigma EC 3.1.1.1.) enthaltenden 25 mM Phosphatpuffer bei pH 6.8 und 37 °C inkubiert. Sowohl die Hydrolysehalbwertszeiten als auch die entstehenden Produkte wurden mittels Coinjektion separat synthetisierter Proben der erwarteten Hydrolyseprodukte bestimmt, um einen möglichen enzymatischen Beitrag von intrazellulär vorhandenen (Carboxy-) Esterasen zu studieren. In allen untersuchten Fällen konnten als Hydrolyseprodukt das unmodifizierte 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d**, das BVDUMP **44** und BVDU **4** HPLC-analytisch detektiert werden (Abbildung 64). Der Abbau vom Nucleotid zum Nucleosid kann nur durch Verunreinigung der Esterase mit Phosphatasen/Nucleotidasen erklärt werden.

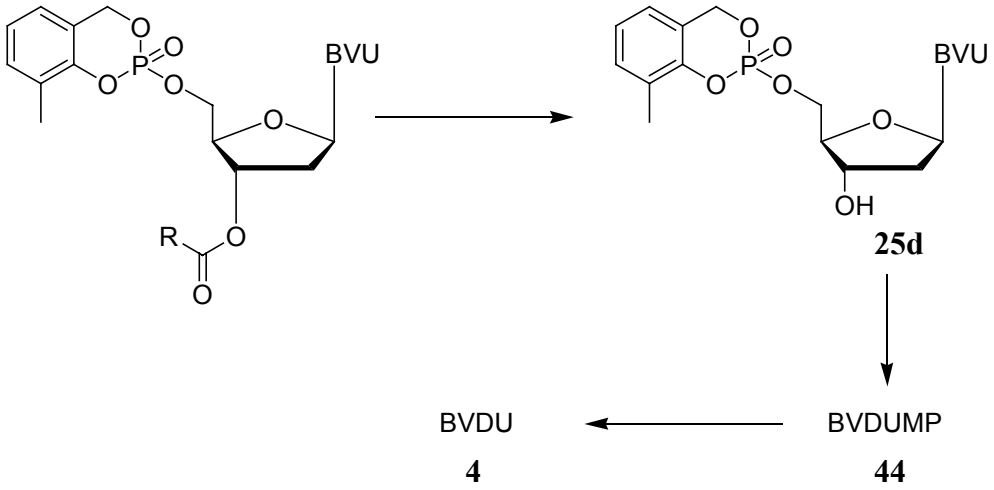


Abbildung 64 **Hydrolyseweg der 3‘-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8 und 50 Units PLE**

Die Halbwertszeiten sind in Tabelle 16, Seite 70 zusammengestellt und geben den esterasekatalysierten Abbau der 3‘-*O*-modifizierten Verbindungen zum 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** wieder. Auffällig ist, daß die 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Verbindungen bei hoher Esterasekonzentration schnell zur Prototypverbindung **25d** hydrolisieren, während sie bei Verwendung von RPMI-1640 Kulturmedium mit 10 % hitzedesaktiviertem FCS zum entsprechend veresterten Nucleotid umgesetzt werden. In separaten Tests konnte gezeigt werden, daß diese veresterten Nucleotide nicht von (Schweineleber-) Carboxyesterase zu BVDUMP **44** umgesetzt werden. Die 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester hydrolysierten ähnlich schnell wie in RPMI-Kulturmedium. Auch hier wurde die

Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit von der Konfiguration des Aminosäureesters gefunden. Der Ester mit der natürlich vorkommende L-Konfiguration (**25o**) wurde etwa doppelt so schnell hydrolysiert als der mit D-Konfiguration (**25p**).

Tabelle 16 **Hydrolysehalbwertszeiten und –produkte der getesteten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8 mit 50 Units PLE**

		ohne	mit PLE	
3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP		$t_{1/2}$ [h]	$t_{1/2}$ [h]	Hydrolyseprodukte
Ac	**25g**	7.6	3.62	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU
Prop	**25h**	7.8	2.86	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU
Piv	**25j**	14.6	3.21	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU
Dec	**25l**	16.0	7.53	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU
L-Ala	**25o**	1.4	0.34	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU
D-Ala	**25p**	1.4	0.61	3-Me-*cyclo*Sal-3‘-OH-BVDUMP, BVDUMP, BVDU

4.2.5.6. Verhalten in CEM/0 Zellextrakt

Ferner wurden Hydrolysestudien der *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in CEM/0-Zellextrakt durchgeführt. Diese Zelllinie wird für *in vitro* anti-HIV Zelltests verwendet. Die Verbindungen wurden acht Stunden in CEM/0 Zellextrakt bei 37 °C inkubiert und anschließend die Hydrolyse mit essigsaurer Methanollösung gestoppt. Nach Zentrifugieren wurde der Überstand mittels reversed-phase HPLC analysiert. Die nucleosidhaltigen Peaks konnten durch ihr charakteristisches UV-Spektrum (Abbildung 65, Seite 71) bestimmt und durch Coinjektionsversuche zugeordnet werden.

Die in den Tabellen verwendeten Prozentangaben wurden nach der Formel:

$$X\,\% = \frac{\text{nucleosidhaltige Peakfläche}}{\sum(\text{nucleosidhaltigen Peakflächen})} \bullet 100$$ bestimmt.

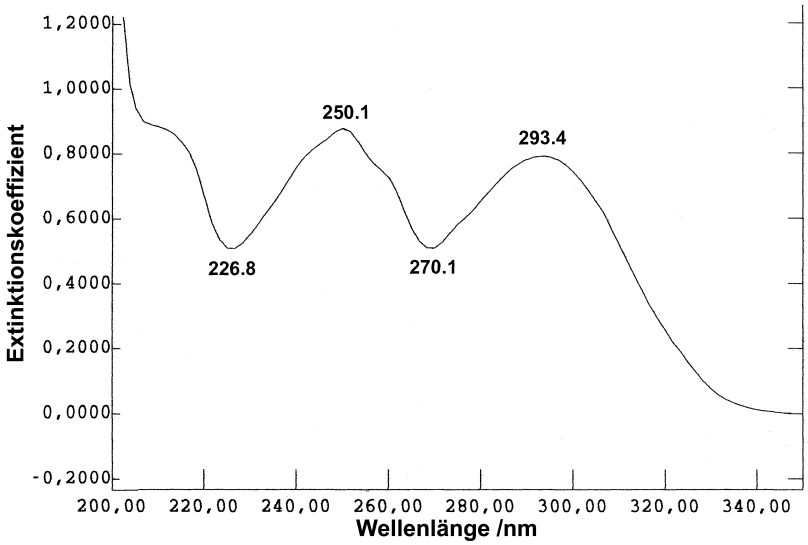


Abbildung 65 UV-Spektrum einer BVDU-haltigen Verbindung

Auch hier sollen die Ergebnisse in Gruppen ähnlicher Verbindungen diskutiert werden. Die Produktverteilung der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester ist in Tabelle 17 und Abbildung 66, Seite 72 dargestellt.

Tabelle 17 Produktverteilung der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt

Verbindung		Edukt [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
5-Cl-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25a**	---	83	17
5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25b**	---	82	18
5-OMe-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25c**	32	58	10
3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25d**	42	50	8
3,5-DiMe-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25e**	52	38	10
3-*t*Bu-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25f**	90	9	<1

Bei der Auswertung der Chromatogramme fiel auf, daß die Prototypverbindungen wie in der rein chemischen Hydrolyse jeweils zum gewünschten BVDUMP **44** metabolisiert werden. Die exemplarisch für den 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25d** ermittelte Halbwertszeit liegt mit 7.5 Stunden in dem Bereich, der in den Hydrolysestudien mit Phosphatpuffer, pH 6.8 gefunden wurde. Das heißt, die Hydrolyse ist auch im Zellextrakt eine rein chemisch induzierte und nicht enzymatisch katalysierte. Bei diesen Studien wurde, genauso wie bei den in Phosphatpuffer durchgeführten, kein cBVDUMP **45** detektiert.

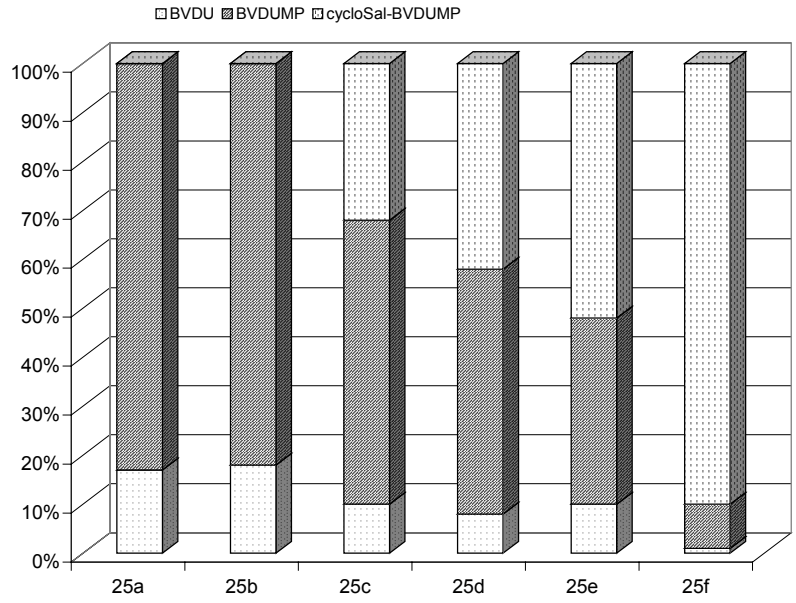


Abbildung 66 **Produktverteilung der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

Allerdings entstehen nach 8 Stunden Inkubationszeit auch beträchtliche Mengen an BVDU **4**. Das kann nur mit einer enzymatischen Dephosphorylierung durch Phosphatasen/ Nucleotidasen von BVDUMP **44** zu BVDU **4** begründet werden. In einem separaten Test wurde BVDUMP **44** innerhalb von 4 Stunden zu ca. 13 % in BVDU **4** metabolisiert. Somit kann angenommen werden, daß BVDU nicht direkt aus dem Triester entsteht. Der Hydrolyseweg der 3’-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in CEM/0 Zellextrakt ist in Abbildung 67 dargestellt.

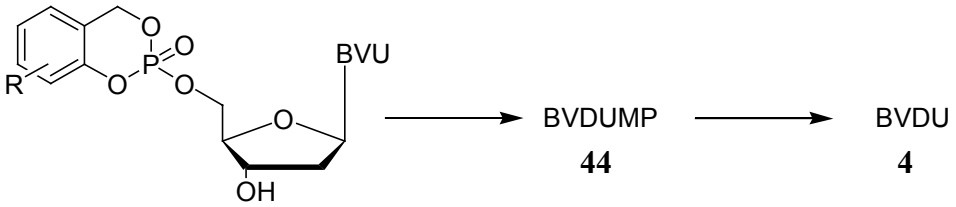


Abbildung 67 **Hydrolyseweg der 3’-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in CEM/0 Zellextrakt**

Mit den 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern wurde genau wie oben beschrieben verfahren. Die Produktverteilung für jede dieser Verbindungen ist in Tabelle 18 und in Abbildung 68, Seite 73 zusammengefaßt. Als Vergleich ist der 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25d** als Prototyp mitaufgeführt.

Tabelle 18 **Produktverteilung der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP		Edukt [%]	Prototyp [%]	3‘-*O*R-BVDUMP [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25d**	42	---	---	50	8
Ac	**25g**	33	24	17	22	4
Prop	**25h**	75	3	18	3	1
*i*Bu	**25i**	50	6	37	6	1
Piv	**25j**	86	2	10	1	1
Hex	**25k**	90	3	2	5	0
Dec	**25l**	95	2	1	2	0
Lev	**25m**	22	18	22	31	7

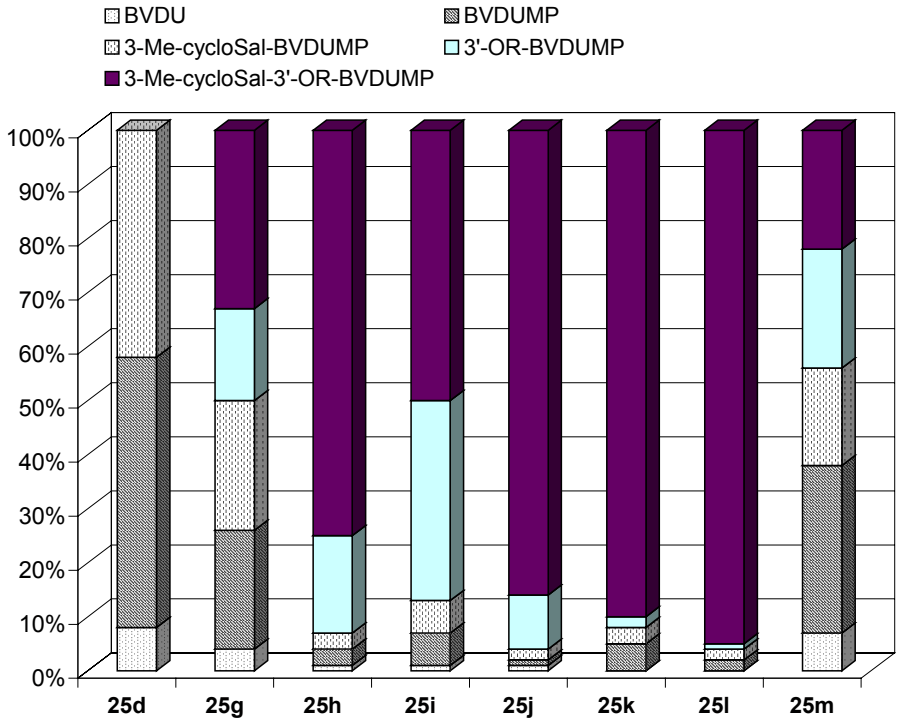


Abbildung 68 **Produktverteilung der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

Für alle 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Verbindungen konkurrieren zwei verschiedene Hydrolysewege miteinander. Im Zellextrakt vorhandene Carboxyesterasen können die Spaltung der

3‘-*O*-Esterbindung aktivieren/katalysieren und damit zur Prototypverbindung **25d** umwandeln, die in einem rein chemischem Hydrolyseschritt die Maskierungsgruppe zu BVDUMP **44** abspaltet (Abbildung 69). Dieses kann, wie schon oben erwähnt, durch unspezifische Phosphatasen/Nucleotidasen zu BVDU **4** dephosphoryliert werden. Auf der anderen Seite führt die rein chemische Hydrolyse der Phosphatmaskierungsgruppe zum entsprechend 3‘-veresterten BVDUMP. In separaten Studien mit 3‘-*O*-Piv- und 3‘-*O*-Dec-BVDUMP konnte gezeigt werden, daß die Esterbindung weder chemisch noch enzymatisch gespalten wird. Das bedeutet, dieser Hydrolyseweg führt in eine „Sackgasse“, sodaß sich die 3‘-*O*-modifizierten BVDU Monophosphate im Hydrolysat akkumulieren.

Der Hauptweg der Hydrolyse der 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Verbindungen hing von der verwendeten Carbonsäure ab. Die Prototypverbindung 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** war im Fall der 3‘-*O*-Ac-, 3‘-*O*-Hex- und 3‘-*O*-Lev-Derivate durch enzymatische Esterspaltung das Hydrolysehauptprodukt (Abbildung 69 (a)), das innerhalb der Inkubationszeit von acht Stunden weiter zu BVDUMP **44** hydrolysiert wurde. Bei den restlichen Verbindungen war die chemische Hydrolyse der *cyclo*Sal-Maske der Hauptreaktionsweg. Die 3‘-*O*-veresterten Monophosphate wurden nicht weiter umgesetzt (Abbildung 69 (b)).

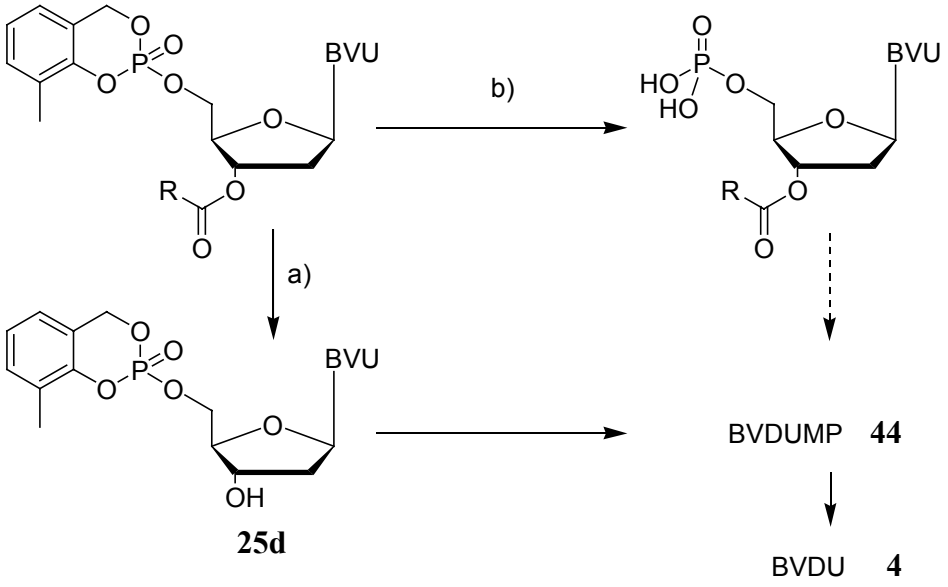


Abbildung 69 **Hydrolyseweg der 3’-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in CEM/0 Zellextrakt**

Die Situation stellte sich gänzlich anders dar für die Produktverteilung der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester nach acht Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt. In allen Verbindungen wurde sehr schnell der 3‘-Aminosäureester gespalten. Für den 3-Methyl-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Ala-BVDUMP Phosphattriester **25o** konnte exemplarisch eine Halbwertszeit von 0.08 Stunden bestimmt werden, sehr viel schneller als schon für die Hydrolyse in

Phosphatpuffer (pH 6.8, $t_{1/2}$ = 1.4 h) ermittelt wurde. Da der Unterschied in der Produktverteilung zwischen den verschieden konfigurierten (D-/L-) 3‘-*O*-Aminsäure-modifizierten BVDUMP Phosphattriestern sehr gering ausfällt, kann keine Aussage über eine ausschließlich enzymatische Esterspaltung unter Beteiligung einer Carboxyesterase getroffen werden.
Betrachtet man Tabelle 19 und Abbildung 70, Seite 76 so fällt auf, daß die Produktverteilung der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten Verbindungen **25n**-**z** sehr ähnlich der der 3‘-unmodifizierten Referenzverbindung **25d** ist. Dies ist ein weiterer Hinweis für eine sehr schnelle Esterverseifung und anschließender rein chemisch induzierter Metabolisierung zu BVDUMP **44** (Abbildung 71, Seite 76)

Tabelle 19 **Produktverteilung der 3‘-*O*-Aminosäure modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellhydrolysat**

3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP		Prototyp [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25d**	42	50	8
Gly	**25n**	40	49	11
L-Ala	**25o**	37	53	10
D-Ala	**25p**	38	52	10
L-Val	**25q**	34	55	11
D-Val	**25r**	42	53	5
L-Leu	**25s**	42	51	7
D-Leu	**25t**	35	57	8
L-Ile	**25u**	35	53	12
D-Ile	**25v**	35	50	15
L-Phe	**25w**	39	47	14
D-Phe	**25x**	35	53	12
L-Pro	**25y**	36	49	15
D-Pro	**25z**	39	47	14

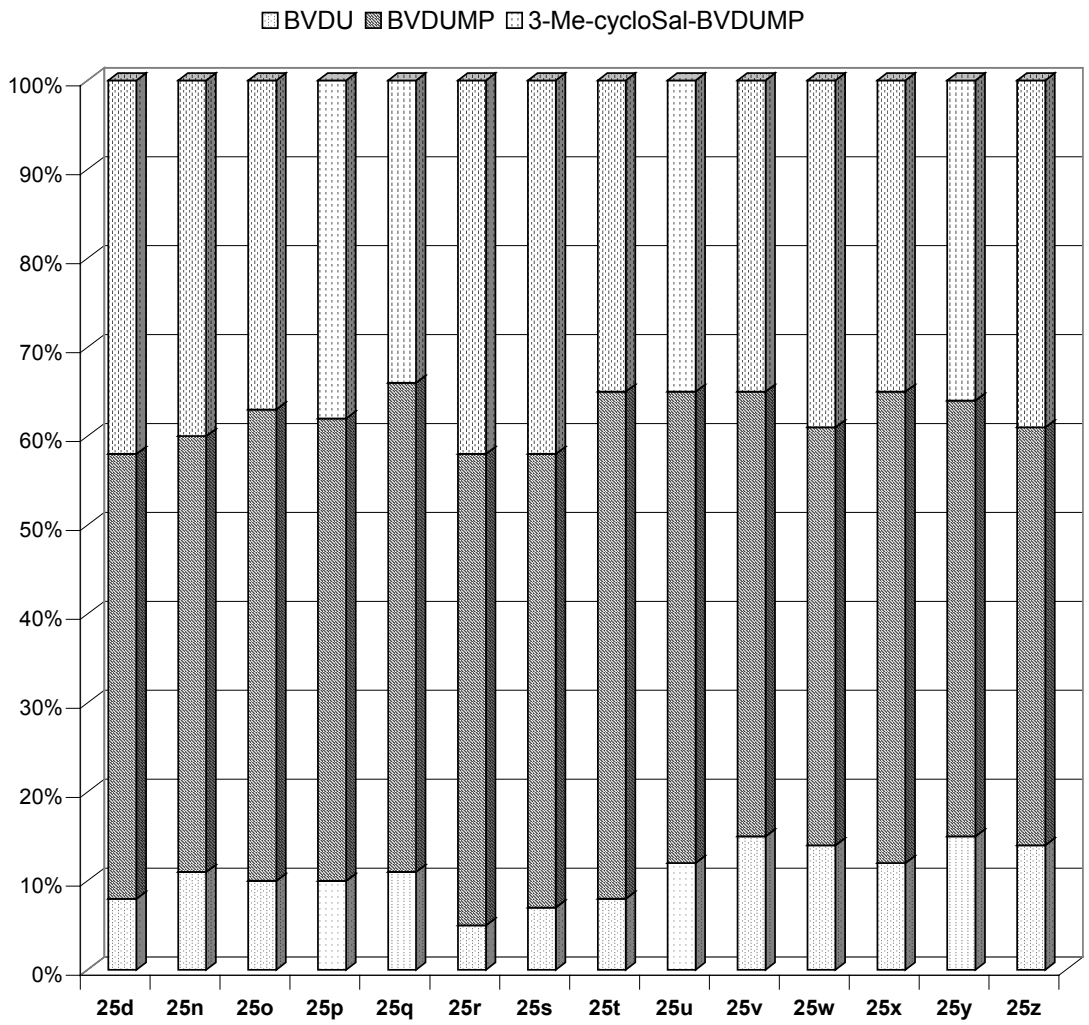


Abbildung 70 **Produktverteilung der 3‘-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

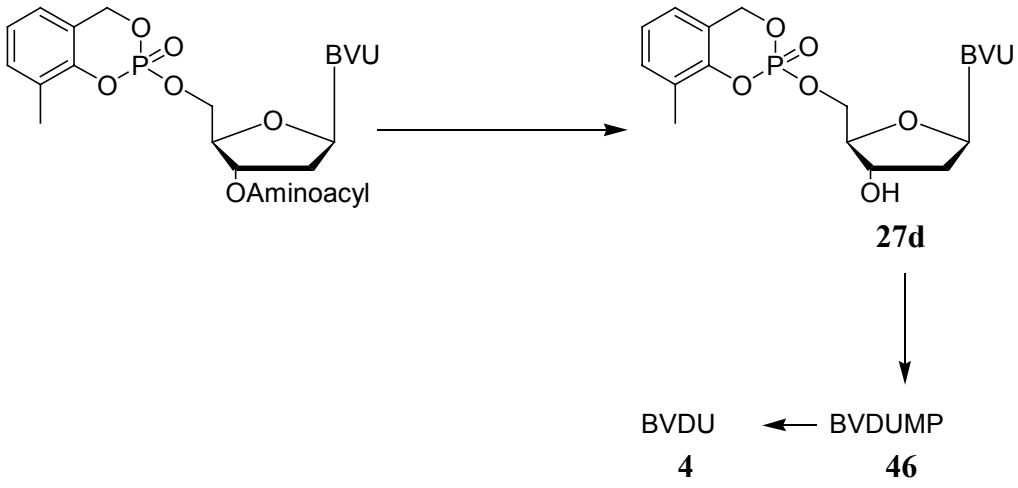


Abbildung 71 **Hydrolyseweg der 3’-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in CEM/0 Zellextrakt**

Für die Produktverteilung der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt wurde die gleiche Situation gefunden, wie schon bei den entsprechenden 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester diskutiert.

Im Unterschied zu den 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-Verbindungen hydrolysieren alle 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 5-H-*cyclo*Sal-Verbindungen zuerst die Maskierungsgruppe. Dies wird wahrscheinlich durch die geringere chemische Stabilität der Maske hervorgerufen. Die 3‘-*O*-Alanin modifizierten Verbindungen lieferten als erstes Hydrolyseprodukt die 5-H-*cyclo*Sal-Prototypverbindung **25b**, die erst dann chemisch zu BVDUMP **44** und schließlich enzymatisch teilweise zum Nucleosidanalogon **4** umgewandelt wurde (Tabelle 20).

Tabelle 20 **Produktverteilung der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP		Edukt [%]	Prototyp [%]	3‘-*O*R-BVDUMP [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25b**	---	---	---	82	18
Ac	**25α**	4	3	64	24	5
*i*Bu	**25β**	7	2	66	4	1
Lev	**25χ**	6	12	72	9	1
L-Ala	**25δ**	---	24	---	65	11
D-Ala	**25ε**	---	21	---	67	12

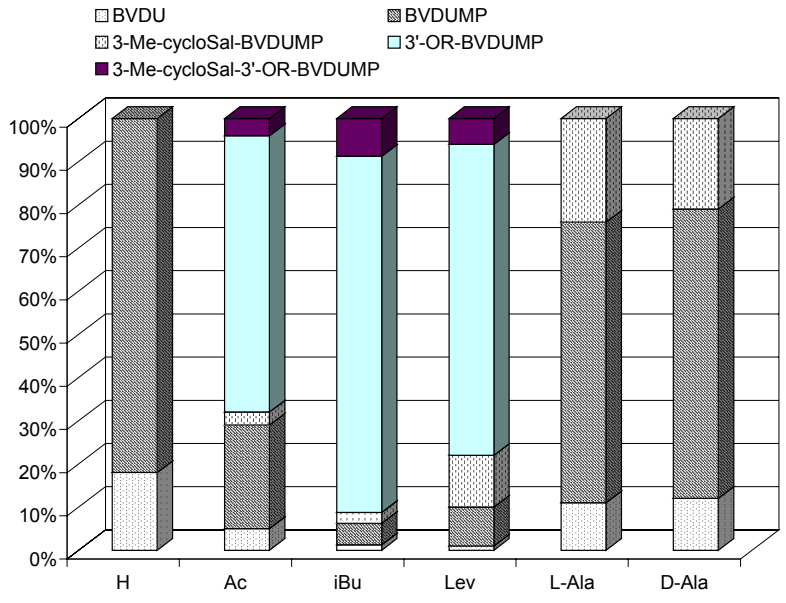


Abbildung 72 **Produktverteilung der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in CEM/0 Zellextrakt**

4.2.5.7. Verhalten in P3HR-1 Zellextrakt

P3HR-1 Zellextrakt wurde für Hydrolysestudien benutzt, da dieser Zelltyp für die *in vitro* Zelltests gegen das Epstein-Barr-Virus verwendet wurde. Die Verbindungen wurden acht Stunden in P3HR-1 Zellextrakt bei 37 °C inkubiert und anschließend die Hydrolyse mit essigsaurer Methanollösung gestoppt. Nach Zentrifugieren wurde der Überstand mittels reversed-phase HPLC analysiert. Die nucleosidhaltigen Peaks konnten durch ihr charakteristisches UV-Spektrum bestimmt und durch Coinjektionsversuche zugeordnet werden. Die in den Tabellen verwendeten Prozentangaben wurden nach der Formel:

$$X\,\% = \frac{\text{nucleosidhaltige Peakfläche}}{\sum(\text{nucleosidhaltigen Peakflächen})} \bullet 100$$ bestimmt.

Die Ergebnisse sind im Trend der Hydrolyseprodukte mit denen in CEM/0 Zellextrakt vergleichbar. Die Ergebnisse sollen wieder in Gruppen ähnlicher Verbindungen diskutiert werden. Die Produktverteilung der 3‘-unmodifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester ist in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21 **Produktverteilung der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in P3HR-1 Zellextrakt**

*cyclo*Sal-BVDUMP		Edukt [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
5-Cl-	**25a**	---	59	41
5-H-	**25b**	---	51	49
5-OMe-	**25c**	34	42	24
3-Me-	**25d**	51	31	18
3,5-DiMe-	**25e**	63	22	15
3-*t*Bu-	**25f**	90	9	<1

Die Hydrolyseprodukte wurden durch Vergleich der Retentionszeiten und Coinjektionsversuche identifiziert.

Auffällig ist der höhere Anteil an dephosphoryliertem Produkt (BVDU **4**) im Vergleich zu dem BVDU-Anteil, der in den CEM/0 Hydrolysestudien beobachtet wurde. Das bedeutet, die Phosphatasen/Nucleotidasen sind offensichtlich im P3HR-1 Zellextrakt aktiver, sodaß aus der chemischen Hydrolyse gebildetes BVDUMP **44** schneller zu BVDU **4** dephosphoryliert wird.

Auch bei Verwendung von P3HR-1 Zellextrakt werden also die 3‘-unmodifizierten Phosphattriester auf dem schon in den CEM/0 Hydrolysestudien vorgeschlagenen Metabo-

lisierungsweg erst durch rein chemische Hydrolyse der *cyclo*Sal-Maske zu BVDUMP **44** mit anschließender Dephosphorylierung zum Nucleosidanalogon umgewandelt (Abbildung 73).

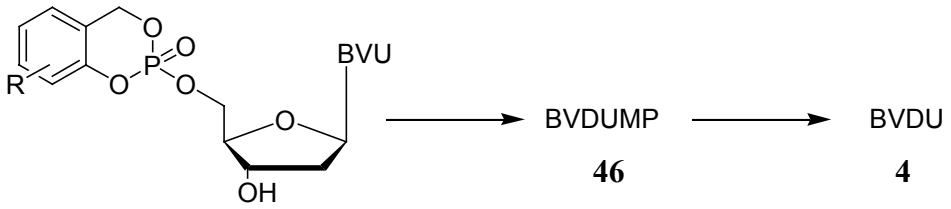


Abbildung 73 **Hydrolyseweg der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in P3HR-1 Zellextrakt**

Die Hydrolysestudien der 3'-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25a-f** spiegelten in der Produktverteilung der einzelnen Verbindungen den schon in den Untersuchungen mit CEM/0 Zellextrakt gefundenen Trend wieder (Tabelle 22). Der Hydrolyseweg in P3HR-1 Zellextrakt stimmte ebenso mit dem bereits in CEM/0 Zellextrakt gefundenen überein. Die Prototypverbindung 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** war wieder im Fall der 3'-*O*-Ac-, 3'-*O*-Hex- und 3'-*O*-Lev-Derivate durch Esterspaltung das Hauptprodukt (Abbildung 74a, Seite 80). Für alle anderen Verbindungen wurde das entsprechend 3'-*O*-substituierte BVDU Monophosphat als Hauptprodukt detektiert (Abbildung 74b, Seite 80).

Tabelle 22 **Produktverteilung der 3'-*O*-Acyl modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in P3HR-1 Zellextrakt**

3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP		Edukt [%]	Prototyp [%]	3'-*O*R-BVDUMP [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25d**	51	---	---	31	18
Ac	**25g**	29	29	16	16	10
Prop	**25h**	77	4	14	3	2
*i*Bu	**25i**	45	10	35	7	3
Piv	**25j**	82	2	14	1	<1
Hex	**25k**	77	8	3	7	5
Dec	**25l**	84	6	3	5	2
Lev	**25m**	19	30	11	23	17

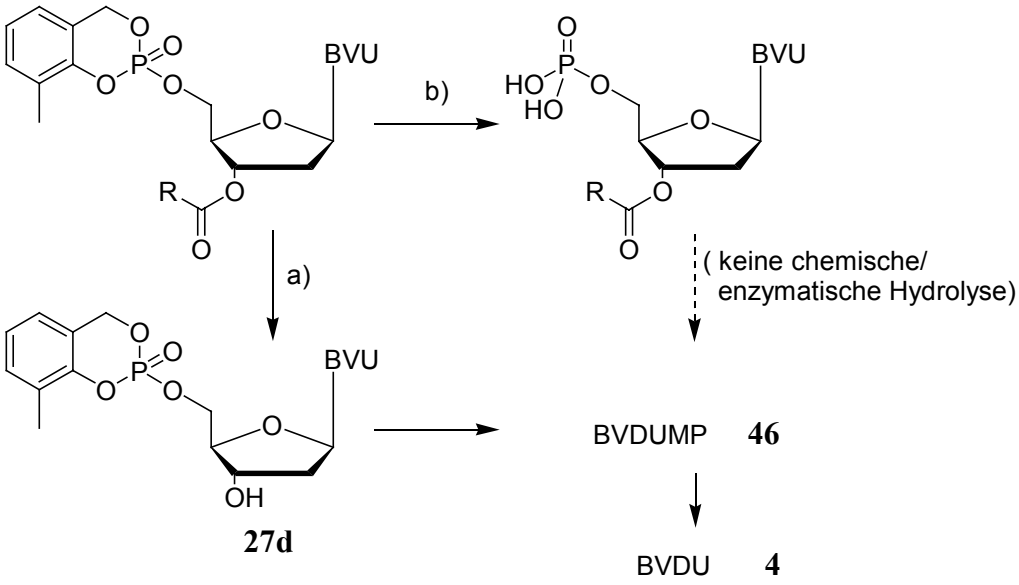


Abbildung 74 **Hydrolyseweg der 3'-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in P3HR-1 Zellextrakt**

Die 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten Derivate verhielten sich auch im P3HR-1 Zellextrakt ähnlich wie bereits im CEM/0 Zellextrakt gefunden (Tabelle 23, Seite 81). Der Hydrolyseweg konnte ebenfalls geklärt werden und entspricht dem der CEM/0 Hydrolysestudien (Abbildung 75). Alle Verbindungen wurden sehr schnell durch Esterspaltung zur Prototypverbindung **25d** hydrolysiert, die wiederum durch rein chemische Hydrolyse zu BVDUMP **44** umgewandelt wurde. Dieses Monophosphat wurde, wie schon oben beschrieben, durch Phosphatasen oder Nucleotidasen dephosphoryliert.

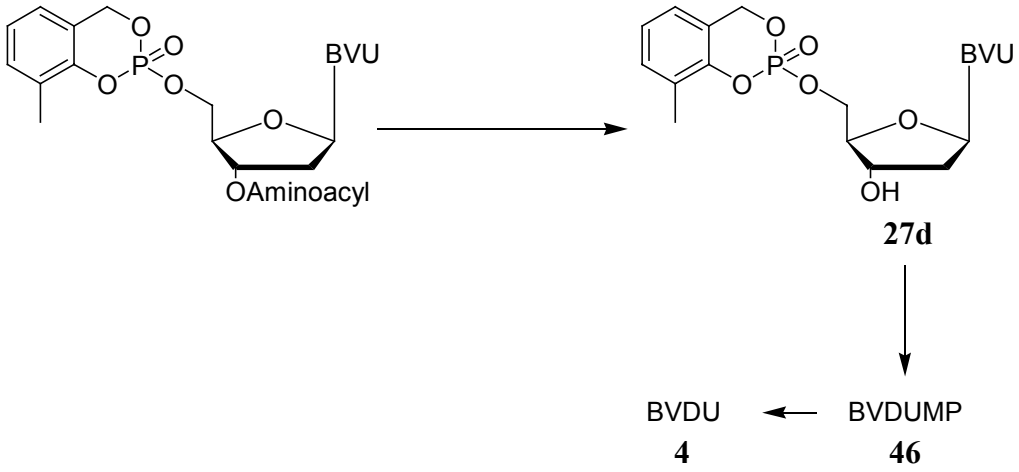


Abbildung 75 **Hydrolyseweg der 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in P3HR-1 Zellextrakt**

Tabelle 23 **Produktverteilung der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in P3HR-1 Zellextrakt**

3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP		Prototyp [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25d**	51	31	18
3‘-*O*-Gly-	**25n**	49	32	19
3‘-*O*-L-Ala-	**25o**	44	30	26
3‘-*O*-D-Ala-	**25p**	43	33	24
3‘-*O*-L-Val-	**25q**	46	31	23
3‘-*O*-D-Val-	**25r**	42	33	25
3‘-*O*-L-Leu-	**25s**	43	34	22
3‘-*O*-D-Leu-	**25t**	37	35	28
3‘-*O*-L-Ile-	**25u**	44	34	22
3‘-*O*-D-Ile-	**25v**	42	33	25
3‘-*O*-L-Phe-	**25w**	46	29	25
3‘-*O*-D-Phe-	**25x**	40	35	25
3‘-*O*-L-Pro-	**25y**	44	29	27
3‘-*O*-D-Pro-	**25z**	42	30	28

Für die Produktverteilung der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25α-ε** nach 8 Stunden Inkubation in P3HR-1 Zellextrakt wurde die gleiche Situation gefunden, wie bei den entsprechenden 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern diskutiert (Tabelle 24, Seite 82).

Die 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Verbindungen lieferten dabei das entsprechend 3‘-*O*-Acyl-modifizierte BVDUMP als Hauptprodukt, und die 3‘-*O*-Alanin-modifizierten Verbindungen lieferten als erstes Hydrolyseprodukt die 5-H-*cyclo*Sal-Prototypverbindung **25b**, die dann erst chemisch zu BVDUMP **44** und schließlich enzymatisch zum Nucleosidanalogon umgewandelt wurde.

Tabelle 24 **Produktverteilung der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 8 Stunden Inkubation in P3HR-1 Zellextrakt**

5-*H*-*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP		Edukt [%]	Prototyp [%]	3'-*O*R-BVDUMP [%]	BVDUMP [%]	BVDU [%]
H	**25b**	---	---	---	51	49
Ac	**25α**	---	5	65	16	14
*i*Bu	**25β**	6	6	79	5	4
Lev	**25χ**	6	9	70	10	5
L-Ala	**25δ**	---	14	---	52	34
D-Ala	**25ε**	---	12	---	51	37

4.2.5.8. Verhalten in humanem Serum

Da im menschlichen Blut zusätzlich zu verschiedenen Puffersystemen und Salzen auch Enzyme vorhanden sind, wurde die Stabilität der *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester gegenüber humanem Serum überprüft. Dazu wurden Hydrolyseuntersuchungen in diesem Medium durchgeführt. In Voruntersuchungen wurde die Halbwertszeit exemplarisch ausgewählter Triester in unterschiedliche Konzentrationen an Serum enthaltenden 25 mM Phosphatpuffer (pH 6.8) bestimmt (Tabelle 25, Seite 83). Als Refernzverbindungen wurden BVDUMP **44** und BVDU **4** mitgetestet.

Bis zu einer Beimischung von 10 % Blutserum lagen die Hydrolysehalbwertszeiten ungefähr in der gleichen Größenordnung, wie die in Kapitel 4.2.5.3., Seite 62ff in reinem Phosphatpuffer bei pH 6.8 bestimmten. Erst bei einer 1:1 Mischung von Puffer und Serum wurde eine deutliche Abnahme der Halbwertszeit der entsprechenden Verbindungen beobachtet. Die Bestimmung des pH-Werts des verwendeten Serums und der verschiedenen Puffermischungen zeigten überraschend einen pH-Wert von 8.0 für das reine Serum und einen pH-Wert von 7.1 für die 50 %ige Mischung. Für die drei anderen Mischungen blieb der pH-Wert des Phosphatpuffers (6.8) erhalten. Mit der Abweichung des pH-Wertes der Hydrolysemischung kann die beschleunigte Hydrolysehalbwertszeit erklärt werden.

Tabelle 25 **Hydrolysehalbwertszeiten verschiedener *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 6.8 mit unterschiedlichen Konzentrationen an humanem Serum**

Verbindung		$t_{1/2}$ [h]			
		0.1 % Serum	1 % Serum	10 % Serum	50 % Serum
3-*t*Bu-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25f**	---	---	50.0	---
3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25d**	6.7	8.7	6.4	4.2
5-Cl-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25a**	---	---	0.47	---
3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Ac-BVDUMP	**25g**	8.5	9.25	8.43	6.00
3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*-Gly-BVDUMP	**25n**	1.13	1.10	1.10	0.96
3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*-L-Phe-BVDUMP	**25w**	---	---	2.9	---
3-Me-*cyclo*Sal-3‘-*O*-D-Phe-BVDUMP	**25x**	---	---	3.9	---
BVDUMP	**44**	---	---	50.4	---
BVDU	**4**	---	---	Kein Abbau	---

In Hydrolyseuntersuchungen in 100 % humanem Serum sollte für die 3‘-unmodifizierten und für vier exemplarisch ausgewählte 3‘-*O*-Aminoacyl modifizierte *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester die Halbwertszeit und die Produktverteilung nach zwei Stunden Inkubation bei 37 °C ermittelt werden (Tabelle 26, Seite 83). Wiederum wurden das Monophosphat **44** und BVDU **4** als Referenzen mitgetestet.

Aus den erhaltenen Daten lassen sich außerdem Aussagen über die Hydrolysewege der Verbindungen treffen. Alle 3‘-unmodifizierten Verbindungen **25a-f** bilden zuerst durch chemische und/oder enzymatische Hydrolyse BVDUMP **44**, das anschließend enzymatisch durch Phosphatasen/Nucleotidasen zu BVDU **4** umgesetzt wird (Abbildung 76, Seite 84).

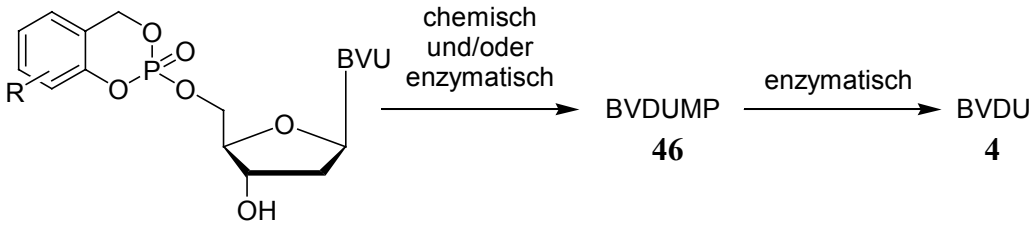


Abbildung 76 **Hydrolyseweg der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs**

Tabelle 26 **Hydrolysehalbwertszeit und Produktverteilung einiger *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester nach 2 Stunden Inkubation in 100 % humanem Serum**

Verbindung		$t_{1/2}$	Produktverteilung [%]			
		[h]	Edukt	Prototyp	BVDUMP	BVDU
5-*H*-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25b**	0.52	9	---	28	63
3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25d**	0.98	24	---	14	43
3,5-DiMe-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25e**	0.95	21	---	15	45
3-*t*Bu-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25f**	1.10	31	---	12	46
5-OMe-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25c**	0.59	11	---	26	63
5-Cl-*cyclo*Sal-BVDUMP	**25a**	< 0.01	0	---	21	61
3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*-L-Ala-BVDUMP	**25o**	< 0.01	0	15	27	39
3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*-D-Ala-BVDUMP	**25p**	< 0.01	0	21	25	36
3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*-L-Phe-BVDUMP	**25w**	< 0.01	0	15	31	54
3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*-D-Phe-BVDUMP	**25x**	< 0.01	0	30	35	35
BVDUMP	**44**	0.8	---	---	18	82
BVDU	**4**	Kein Abbau	---	---	---	100

Die 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25o**,**p**,**w**,**x** hydrolysieren zunächst chemisch oder enzymatisch sehr schnell zum 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d**, der wiederum chemisch und/oder enzymatisch zum Nucleotid **44** hydrolysiert. BVDUMP wird, wie bereits oben beschrieben, von Phosphatasen oder Nucleotidasen zu BVDU **4** abgebaut (Abbildung 77). Die Halbwertszeit der Metabolisierung vom Nucleotid zum Nucleosid konnte in einer separaten Studie mit 0.8 Stunden in humanem Serum bestimmt werden. Die in der Literatur[70] erwähnte Spaltung von BVDU **4** durch die Pyrimidin Nucleosid Phosphatase in die freie Nucleobase BVU und 2‘-Desoxyribose innerhalb von 2 - 3 Stunden konnte nicht beobachtet werden.

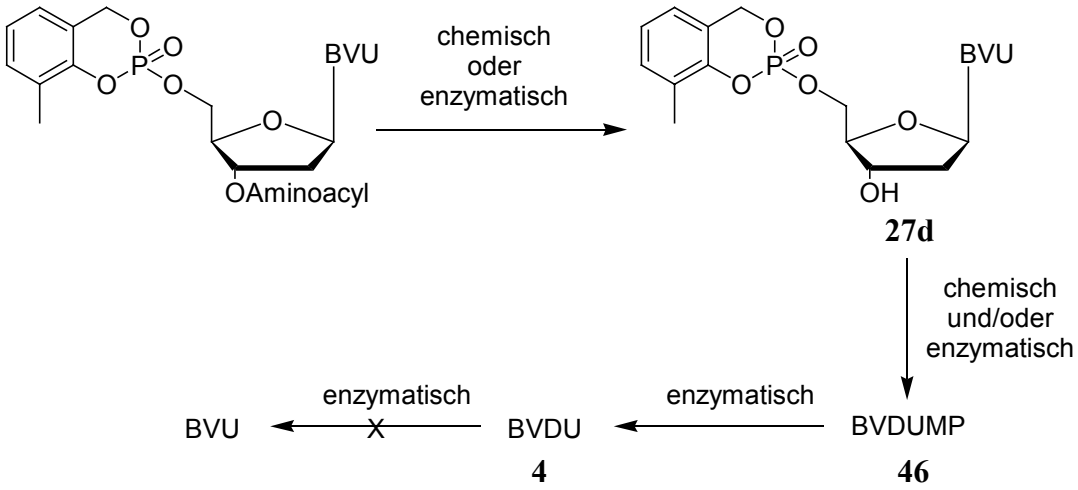


Abbildung 77 **Hydrolyseweg der 3’-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester**

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß alle 3‘-unmodifizierten BVDUMP Phosphattriester setzten in den durchgeführten Hydrolysestudien unabhängig vom verwendeten Medium BVDUMP **44** frei. Eine Einschränkung zur Benutzung als Pro-Nucleotid könnte die sehr schlechte Wasserlöslichkeit der lipophilsten Verbindungen **25e** bzw. **25f** und die sehr kurze Halbwertzeit der Verbindungen **25a** bzw. **25b** darstellen.

Bei den 3‘-O-acylierten Verbindungen konkurrierten unabhängig vom Medium zwei verschiedene Hydrolysewege abhängig von der veresterten Carbonsäure miteinander. In den Fällen in denen zuerst die Maske hydrolysiert wurde, führte das jeweils zum 3‘-modifizierten Monophosphat als Hauptprodukt, das nicht weiter metabolisiert wurde. Durch Hydrolyse des Carbonsäureesters entstand bei einigen Verbindungen hingegen der 3‘-unmodifizierte Prototyp, der wiederum als BVDUMP-Quelle dienen kann.

Unabhängig vom verwendeten Medium und auch unabhängig von der veresterten Aminosäure hydrolysierten die 3‘-O-Aminoacyl-modifizierten Verbindungen zuerst den Carbonsäureester

und lieferten alle somit die Prototypverbindung **25d** bzw. **25b**. Diese setzte anschließend in allen Hydrolyseuntersuchungen BVDUMP **44** frei.
In antiviralen *in vitro* Zelltests soll überprüft werden, ob die freigesetzten BVDUMP-Mengen der jeweiligen Verbindungen ausreichend für eine antivirale Wirkung sind.

4.2.5.9. Antivirale Daten: anti-Herpes Simplex Virus Typ 1 Zelltests

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. P. Wutzler und Prof. Dr. R. Klöcking, Friedrich-Schiller-Universität Jena, wurden einige wenige Pro-Nucleotide von BVDU **4** gegen HSV-1 getestet. Vor den Tests wurde mittels HPLC-Analytik sichergestellt, daß die zu untersuchende Verbindung kein freies Nucleosid enthielt. Als Referenzverbindungen wurde BVDU **4** mitgetestet.
Alle getesteten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester besitzen antivirale Aktivität gegen den Wildtyp Virusstamm (Tabelle 27, HSV-1 Kupka).

Tabelle 27 **Anti-HSV-1 Aktivität einiger 3-Methyl-*cyclo*Sal-Verbindungen von BVDU 4**

3-Me-*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP		EC_{50} [µM]		CC_{50} [µM]	SI
		HSV-1 (Kupka)	HSV-1/TK$^-$ (Cheng)		
H	**25d**	1.34	> 240	> 240	> 170
Ac	**25g**	1.78	> 180	> 230	> 130
Piv	**25j**	10.4	40.0	56.2	5.4
Me	**43**	31.6	52.9	63.3	2.0
BVDU	**4**	0.45	> 380	> 380	> 840

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird
CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.
SI = Selektivitätsindex ($SI = CC_{50}/EC_{50}$)

Die Verbindungen **25d** und **25g** verfehlen die Effektivität der Referenzverbindung BVDU **4** nur knapp (Abbildung 78, Seite 87). Die Prodrug-Verbindungen **25j** und **43** besitzen neunfach bzw. 24-fach verminderte antivirale Wirkung im Vergleich zum nicht modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d**. Das acetylierte Derivat **25g** unterscheidet sich in seiner Wirkung dagegen nicht von der Ausgangsverbindung **25d**.
Die Korrelation der antiviralen Daten mit den Ergebnissen der Hydrolysestudien in Zellextrakt zeigt, daß die aktivsten Pro-Nucleotide **25d** und **25g** im Zellextrakt große Mengen

(40 - 50 %) BVDUMP **44** freisetzen. Die verminderte antivirale Wirkung der 3‘-*O*-Pivaloyl-modifizierte Verbindung **25j** kann mit Freisetzung von nur geringer Mengen (3 %) BVDUMP **44** erklärt werden.

Der 3‘-Methylether **43** kann unter den Testbedingungen nur zu 3‘-*O*-Me-BVDUMP hydrolysieren. Die geringe antivirale Wirkung muß deshalb auf 3‘-O-Me-BVDUTP zurückzuführen sein.

Gegen den Thymidin-Kinase-defizienten Virusstamm zeigten alle Verbindungen eine allenfalls als gering zu bezeichnende antivirale Aktivität. Im Herpes Simplex Virus Typ 1 ist der viralen Thymidin Kinase auch Thymidylat Kinase Aktivität assoziiert. In TK^--Virusstämmen wird deshalb trotz Freisetzung des Nucleotides aus den *cyclo*Sal-BVDUMPs das Monophosphat nicht zum Diphosphat metabolisiert, da BVDUMP kein Substrat für zelleigene Thymidylat Kinasen ist. Aus diesen Gründen kann die Aktivität von BVDU **4** in HSV-1 TK^--Virusstämmen nicht durch Einsatz eines Pro-Nucleotid-Konzeptes erhalten werden.

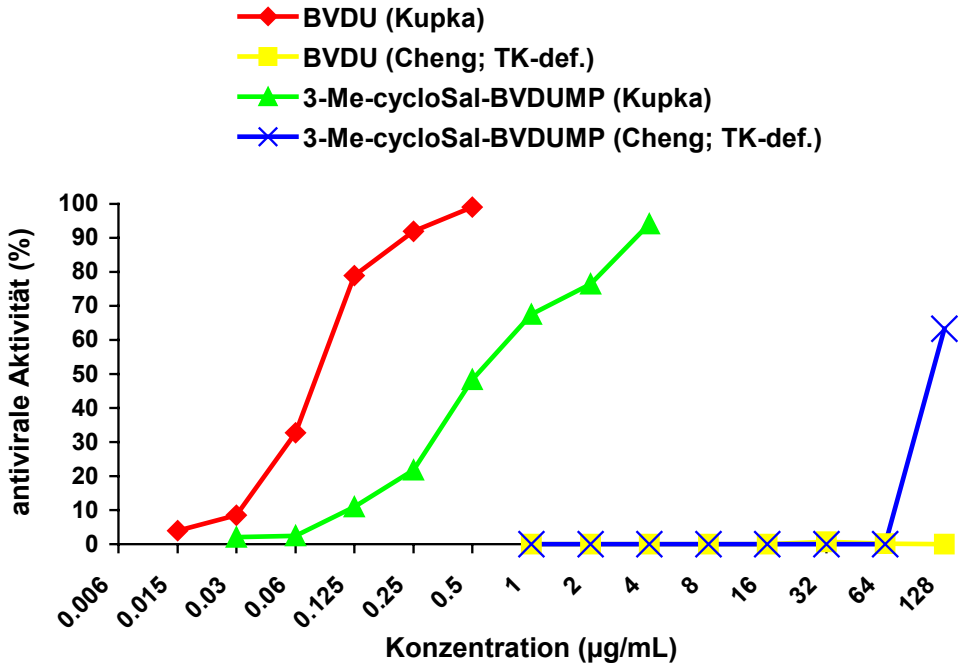


Abbildung 78 **Dosis-Wirkungskurve von 3-Me-*cyclo*Sal-BVDUMP 25d und BVDU 4 gegen HSV-1 Kupka (TK^+) und HSV-1 Cheng (TK^-) in Verozellen**

4.2.5.10. Antivirale Daten: anti-Epstein-Barr Virus Zelltests

Die *cyclo*Sal-BVDUMP Prodrug-Verbindungen wurden von Frau Dr. A. Meerbach, Institut für Antivirale Chemotherapie, Friedrich-Schiller-Universität Jena auf ihre antivirale Aktivität gegen EBV in menschlichen Lymphoblastoiden P3HR-1 Zellen getestet.[123]

Wie schon bei der Diskussion der Hydrolyseeigenschaften der *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester praktiziert, sollen auch die anti-EBV Daten in Gruppen ähnlicher Verbindungen diskutiert werden.

Überraschenderweise zeigten alle getesteten 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25a-f** im Gegensatz zu BVDU **4** anti-EBV Aktivität (Tabelle 28).

Tabelle 28 **Anti-EBV Aktivität der 3'-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester**

*cyclo*Sal-BVDUMP			EC_{50} [μM]		CC_{50} [μM]	SI
X	R		DNA Synthese	VCA Expression		
5-Cl	H	**25a**	36	n.d.	80	2.2
5-H	H	**25b**	6.0	n.d.	92	15
5-OMe	**H**	**25c**	**1.8**	**n.d.**	**137**	**76**
3-Me	H	**25d**	4.1	23.3	122	30
3,5-DiMe	H	**25e**	11	n.d.	143	13
3-*t*Bu	H	**25f**	34	n.d.	80	2.4
ACV		**1**	7.2	23.9	422	58
BVDU		**4**	> 300	> 300	225	---

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex (SI = CC_{50}/EC_{50}(DNA Synthese))

n.d. = nicht getestet

Die aktivste Verbindung in dem *in vitro* Zelltest war der 5-OMe-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25c**. Der Triester war mehr als 166 mal aktiver als das komplett inaktiven Nucleosid BVDU **4** und sogar viermal aktiver als die Refernzverbindung Acyclovir **1**. Der 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25d** besaß noch mehr als 73 mal so hohe anti-EBV Aktivität als BVDU **4** und war etwa zweimal so aktiv wie ACV **1**.

Bei diesen 3'-unmodifizierten Verbindungen **25a-f**, die alle zu BVDU Monophosphat hydrolysieren, kann ein Zusammenhang zwischen der Hydrolysehalbwertszeit und der

Aktivität gefunden werden. Verbindungen mit sehr kurzer (5-Chlor-*cyclo*Sal-BVDUMP **25a**) oder sehr langer Hydrolysehalbwertszeit (3-*t*Butyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25f**) besaßen nur geringe antivirale Aktivität. Die dazwischen liegenden Derivate zeigten einen Anstieg der Aktivität bis zu einem Maximalwert (5-Methoxy-*cyclo*Sal-BVDUMP **25c**) und einem anschließendem Abfall der Aktivität (Abbildung 79).

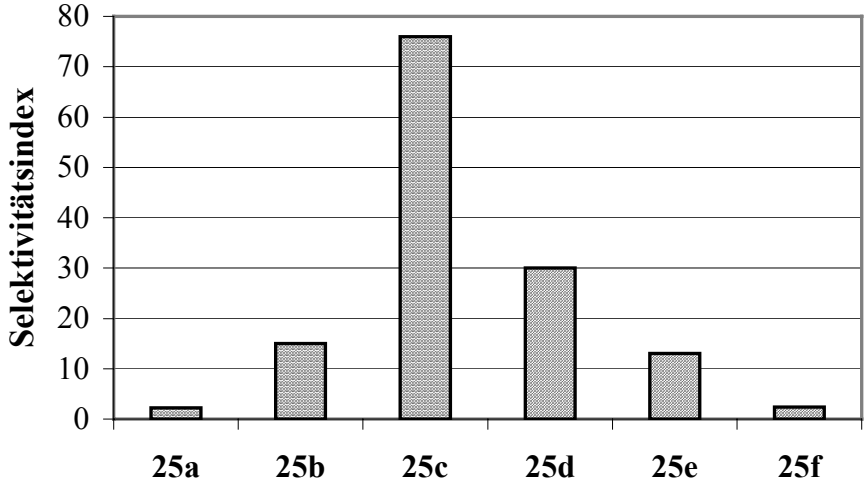


Abbildung 79 **SI-Werte der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester**

Die hohe Zytotoxizität der Verbindungen **25a-f** könnte durch Inhibierung der zelleigenen Thymidylat Synthase durch BVDUMP **44** erklärt werden.[124] Die *de novo* Synthese von dTMP aus dUMP würde unterbunden, was letztlich zum „Thymidinless death“ der Zelle führen kann.

Überraschenderweise besaßen alle 3‘-*O*-Acyl-modifizierte 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs **25g-m** in den anti-EBV Zelltest keine antivirale Aktivität (Tabelle 29, Seite 90). Obwohl in Hydrolysestudien mit Zellextrakt alle Derivate zu einem geringen Teil BVDUMP **44** bildeten, kann die mangelnde Aktivität mit der Stabilität der 3‘-Ester begründet werden. Zusätzlich besaßen alle 3‘-*O*-Acyl-modifizierte Derivate höhere Nernst’sche Verteilungskoeffizienten als der der Prototypverbindung 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25d** bzw. als der des aktivsten Triesters, 5-Methoxy-*cyclo*Sal-BVDUMP **25c** (vgl. Kapitel 4.2.5.1., Seite 41). Deshalb kann nicht ausgeschlossen werden, daß sich die 3‘-*O*-Acyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25g-m** bevor sie durch die Zellmembran diffundieren zu Micellen assoziieren oder aber in der Zellmembran steckenbleiben und somit nicht zum eigentlichen Wirkort gelangen können.

Tabelle 29 **Anti-EBV Aktivität der 3‘-*O*-Acyl modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester**

*cyclo*Sal-BVDUMP			EC_{50} [μM]		CC_{50} [μM]	SI
X	R		DNA Synthese	VCA Expression		
3-Me	Ac	**25g**	> 85	> 85	> 100	---
3-Me	Prop	**25h**	> 150	> 150	> 300	---
3-Me	*i*Bu	**25i**	> 150	n.d.	> 100	---
3-Me	Piv	**25j**	> 85	> 85	> 85	---
3-Me	Hex	**25k**	> 150	> 150	> 300	---
3-Me	Dec	**25l**	> 150	> 150	> 300	---
3-Me	Lev	**25m**	> 150	n.d.	> 150	---
ACV		**1**	7.2	23.9	422	58
BVDU		**4**	> 300	> 300	225	---

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex (SI = CC_{50}/EC_{50}(DNA Synthese))

n.d. = nicht getestet

Bei den 3‘-*O*-aminoacylveresterten Phosphattriestern **25n**-**z** ist aus den *in vitro* anti-EBV Testdaten kein allgemeiner Trend erkennbar (Tabelle 30, Seite 90). Obwohl alle Verbindungen in den Zellhydrolysat-Experimenten zu vergleichbaren Prozentsätzen die Prototypverbindung **25d**, BVDUMP **44** und BVDU **4** bildeten, zeigten nur die Glycin-, die L- bzw. D-Alanin-, die L-Leucin- und die D-Phenylalanin-veresterten Derivate Aktivität, die deutlich geringer als die der Prototypverbindung war.

Die 3‘-*O*-Glycin veresterte Verbindung **25n** war 18 mal weniger aktiv als der Prototyp **25d** und 10 mal weniger als Acyclovir **1**. Die beiden 3‘-*O*-Alaninyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25o** und **25p** zeigten antivirale Aktivität die 3-fach (D-Ala) bzw. 4-fach (L-Ala) geringer war als die der Prototypverbindung **25d**. Die 3‘-*O*-D-Phenylalanin Verbindung war im Vergleich zur Prototypverbindung **25d** halb so aktiv im verwendeten DNA-Synthese Assay, aber immer noch genauso aktiv wie die Referenzverbindung ACV **1**. Trotzdem waren alle erwähnten Phosphattriester immer noch signifikant potenter als BVDU **4**.

Tabelle 30 **Anti-EBV Aktivität der 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester**

*cyclo*Sal-3‘-*O*R-BVDUMP			EC_{50} [µM]		CC_{50} [µM]	SI
X	R		DNA Synthese	VCA Expression		
3-Me	Gly	**25n**	75	n.d.	93	1.2
3-Me	L-Ala	**25o**	18	114.2	92	5
3-Me	D-Ala	**25p**	11	57.1	38	3.4
3-Me	L-Val	**25q**	> 100	n.d.	47	---
3-Me	D-Val	**25r**	> 100	n.d.	79	---
3-Me	L-Leu	**25s**	18	n.d.	45	2.5
3-Me	D-Leu	**25t**	> 100	n.d.	65	---
3-Me	L-Ile	**25u**	> 100	n.d.	78	---
3-Me	D-Ile	**25v**	> 100	n.d.	37	---
3-Me	L-Phe	**25w**	> 100	109.5	35	---
3-Me	D-Phe	**25x**	7.6	n.d.	66	9
3-Me	L-Pro	**25y**	> 100	n.d.	36	---
3-Me	D-Pro	**25z**	> 100	n.d.	38	---
ACV		**1**	7.2	23.9	422	58
BVDU		**4**	> 300	> 300	225	---

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex (SI = CC_{50}/EC_{50}(DNA Synthese))

n.d. = nicht getestet

Die 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester zeigten in der Tendenz das gleiche Verhalten wie schon für die 3-Methyl-*cyclo*Sal-Derivate diskutiert wurde (Tabelle 31, Seite 92).

Die 3‘-acylierten Verbindungen waren alle im Vergleich zur Prototyp Verbindung **25b** völlig inaktiv in dem Testassay, obwohl auch sie in den Hydrolyseversuchen zu einem kleinen Teil BVDUMP **44** bildeten.

Beide 3‘-*O*-Alanin veresterten Derivaten zeigte wesentlich höhere Aktivität als das Nucleosidanalogon BVDU **4**. Die Verbindung mit der natürlichen Konfiguration des α-Kohlenstoffs der Aminosäure (L-Ala) war dabei fast 6-fach weniger aktiv als die Referenzverbindung ACV **1**. Überraschenderweise zeigte das 3‘-*O*-D-Alanin modifizierte Derivat **25ε** 5-fach höhere Aktivität als das mit der natürlichen Aminosäure modifizierte **25δ** und war damit in der gleichen Größenordnung gegen EBV aktiv wie ACV **1** und die Prototyp Verbindung **25b**.

Tabelle 31 Anti-EBV Aktivität der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester

*cyclo*Sal-3'-*O*R-BVDUMP			EC_{50} [μM]		CC_{50} [μM]	SI
X	R		DNA Synthese	VCA Expression		
5-H	H	**25b**	6.0	n.d.	92	15
5-H	Ac	**25α**	> 150	n.d.	44	---
5-H	*i*Bu	**25β**	> 150	n.d.	96	---
5-H	Lev	**25χ**	> 150	n.d.	> 150	---
5-H	L-Ala	**25δ**	40.5	n.d.	55	---
5-H	D-Ala	**25ε**	8.1	n.d.	27	3
ACV		**1**	7.2	23.9	422	58
BVDU		**4**	> 300	> 300	225	---

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex (SI = CC_{50}/EC_{50}(DNA Synthese))

n.d. = nicht getestet

Die hohe Aktivität der 3'-unmodifizierten Verbindungen zeigt, daß in den Zellen aus den Verbindungen BVDUMP **44** freigesetzt und weiter in die aktive Form BVDUTP metabolisiert wird. Diese Daten bestätigen auch die Ergebnisse der Hydrolysestudien in verschiedenen Medien und die Annahme, daß es Verbindungen mit erhöhter Lipophilie möglich sein sollte die Zellmembran passiv zu durchqueren.

Weitere Erhöhung der Lipophilie durch Veresterung der 3'-Hydroxygruppe mit Carbonsäuren unterschiedlicher Kettenlänge führte nicht zum Erfolg. Es muß davon ausgegangen werden, daß die 3'-Esterbindung dieser Derivate zu stabil ist bzw. daß nach Abspaltung der Maskierungsgruppe die geladenen Verbindungen kein Substrat für Carboxyesterasen sind. Daher wird offensichtlich kein BVBDUMP in der Zelle freigesetzt.

Die Verwendung von 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten BVDUMP Phosphattriestern führte zu verbesserten Wasserlöslichkeit und in den Hydrolysestudien konnte die Freisetzung von BVDUMP **44** aus allen Derivaten beobachtet werden. Allerdings zeigten nur einige Verbindungen in den *in vitro* Zelltests anti-EBV Aktivität. Zukünftige Untersuchungen müssen klären, aus welchem Grund nicht bei allen 3'-*O*-Aminoacyl-modifizierten BVDUMP Phosphattriestern intrazellulär BVDUMP **44** freigesetzt wird.

Es kann abschließend festgestellt werden, daß die Anwendung des *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid-konzepts auf (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin (BVDU) **4** zu einer Umwandlung eines

gegen EBV inaktivem Nucleosids in eine aktive Verbindung führte. Dabei scheint eine freie 3‘-Hydroxygruppe für die Interaktion mit der viralen DNA-Polymerase des später gebildeten Triphosphates essentiell zu sein.

4.3. Synthese von Penciclovir (PCV)

Zusätzlich zu den vorangegangenen Synthesen und Untersuchungen sollte die bekannte sehr kurze Hydrolysehalbwertszeit des 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMPs **26a** verifiziert und der Hydrolyseweg aufgeklärt werden.[57] Dazu sollten auch die möglichen Hydrolyseprodukte cPCVMP **31** und PCVMP **32** separat synthetisiert werden. Zunächst wird die Synthese von 9-[4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl]guanin (Penciclovir, PCV) **2** beschrieben.

4.3.1. Synthesestrategie

Aus der Literatur sind einige Synthesewege für die Darstellung von Penciclovir **2** bekannt.[48,125] In jedem Fall wird zuerst die Seitenkette synthetisiert, bevor die Nucleobase eingeführt wird. Als Vorläufer verwendet man entweder 6-Chlor-2-aminopurin oder ein doppelt geschütztes Guanosin-Derivat (*N*-2-Acetyl-7-benzylguanosin), mit dem auch das Problem der *N*-7/*N*-9-Regioisomere vermieden werden kann (Abbildung 80, Seite 94).

Für die Synthese über den Weg A benötigt man sechs Reaktionsschritte und zusätzlich müssen anschließend die Regioisomeren des *N*-9- und des *N*-7-alkylierten Produktes chromatographisch getrennt werden.[126] In der Synthese über Weg B erhielt man zwar nur das gewünschte Regioisomer, aber es würden sieben Reaktionsschritte benötigt.[125] Auf der Syntheseroute C erhielt man auch ein Gemisch des *N*-9- und *N*-7-alkylierten Produktes, das aber leicht chromatographisch getrennt werden konnte.[127] Daher wurde sich für diesen Syntheseweg entschieden. Zusätzlich war diese Route mit nur drei Schritten die kürzeste.

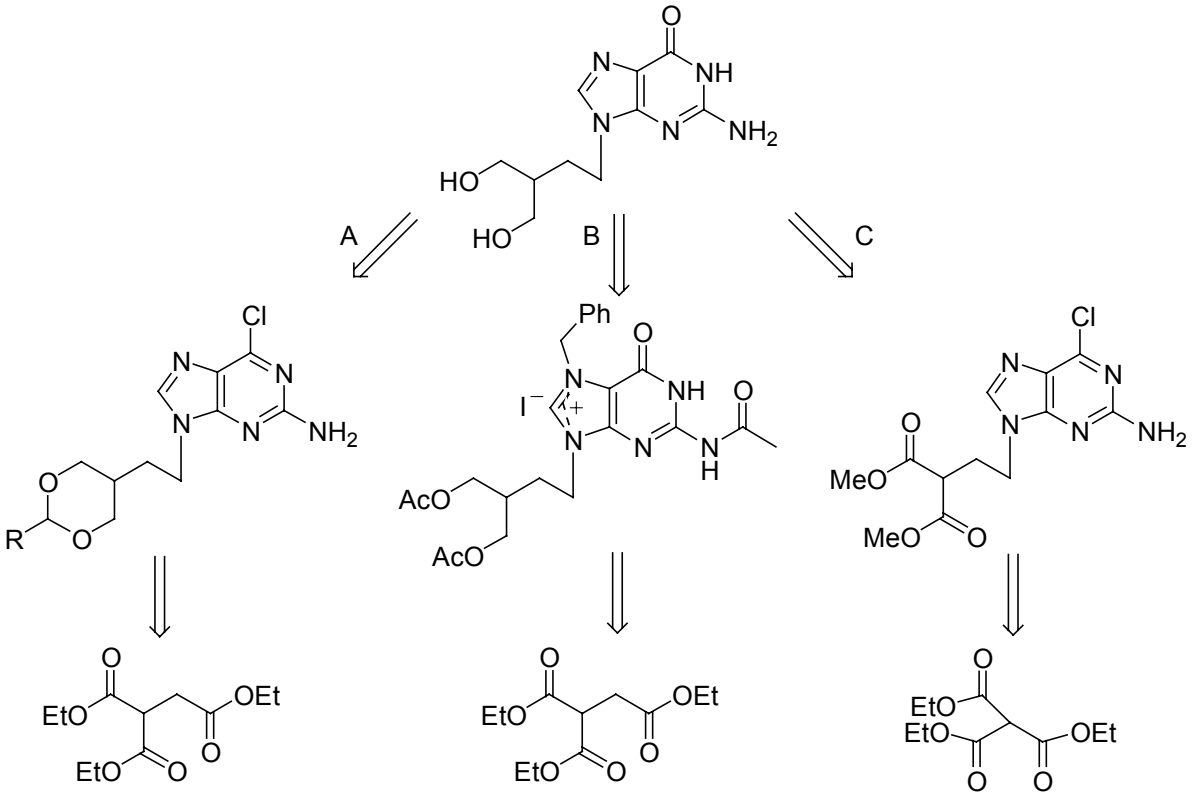


Abbildung 80 Retrosynthesestrategie von Penciclovir 2

4.3.2. Darstellung von Penciclovir (PCV)

Für die Synthese von Penciclovir **2** wurde Methantricarbonsäuretriethylester **51** verwendet, der mit Natriumethanolat deprotoniert und mit Dibromethan zu 3-Brompropan-1,1,1-tricarbonsäuretriethylester alkyliert wurde. Nach Kugelrohrdestillation konnte **52** in 79 % Ausbeute isoliert werden (Abbildung 81, Seite 95).[128] Die anschließende Reaktion von 3-Brompropan-1,1,1-tricarbonsäuretriethylester mit 2-Amino-6-chlorpurin und wasserfreiem Kaliumcarbonat in *N*,*N*-Dimethylformamid bei 70 °C und anschließender Decarboxylierung mit Natriummethanolat lieferte nach Umkristallisation aus Methanol reinen 2-[2-(2-Amino-6-chloropurin-9-yl)ethyl]malonsäuredimethylester **53** in 69 % Ausbeute.[127]

Der Malonsäuredimethylester **53** wurde im letzten Schritt zunächst mit Natriumborhydrid in Dichlormethan zum Diol reduziert. Nach dreistündigem Erhitzen unter Rückfluß mit 2N Salzsäure, anschließender Behandlung mit Natronlauge und eineinhalbstündigem Rühren bei pH 13 und Raumtemperatur und letztlichem Neutralisieren mit konzentrierter Salzsäure konnte Penciclovir **2** in 80 % Ausbeute als isomerenreiner, farbloser Feststoff erhalten werden. Ausgehend von Methantricarbonsäuretriethylester **51** wurde Penciclovir **2** in einer Gesamtausbeute von 44 % erhalten. Dies stellt im Vergleich zur Synthese über Syntheseweg A eine Steigerung um 32 Prozentpunkte dar.

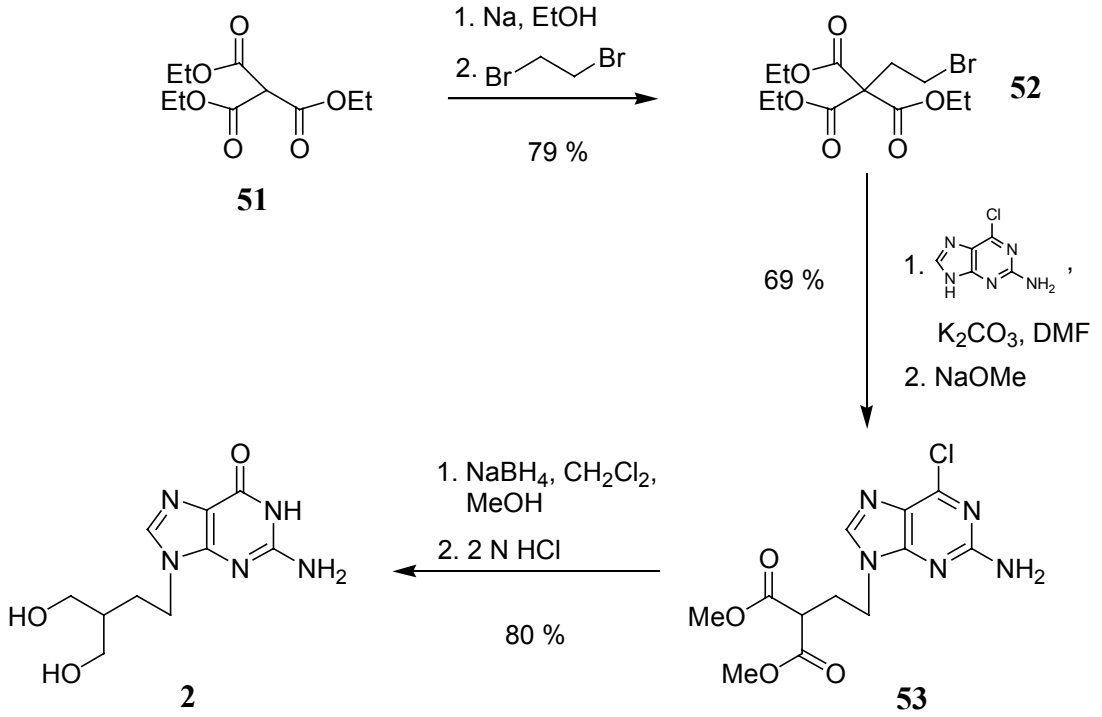


Abbildung 81 Synthese von Penciclovir 2

4.4. *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide der acyclische Nucleosidanaloga

Zusätzlich zur Verbesserung der Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP **26b** sollten die *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von Ganciclovir **3** und Acyclovir **1** dargestellt werden und ihre biophysikalischen Eigenschaften verglichen werden.

4.4.1. Verbesserung der Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP

Die Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-Penciclovirmonophosphat **26b** wurde bereits in früheren Arbeiten durchgeführt.[57,106] Die zuvor erhaltene Ausbeute von 9 % im letzten Acetylierungsschritt sollte verbessert werden.

4.4.1.1. Synthesestrategie

Ausgehend von Penciclovir **2** kann, wie bereits in der Diplomarbeit durchgeführt, über eine sechsstufige Synthese zuerst 3-Methyl-*cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphat **26a** dargestellt werden, das im letzten Reaktionsschritt acetyliert wird (Abbildung 82, Seite 96, Weg A). Oder aber man acetyliert in einem einzigen Schritt von Penciclovir **2** zu 4‘-*O*-Acetyl-Penciclovir **54** und setzt das erhaltene Enantiomerengemisch in einer Eintopf-Reaktion zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP **26b** um (Abbildung 82, Seite 96, Weg B).

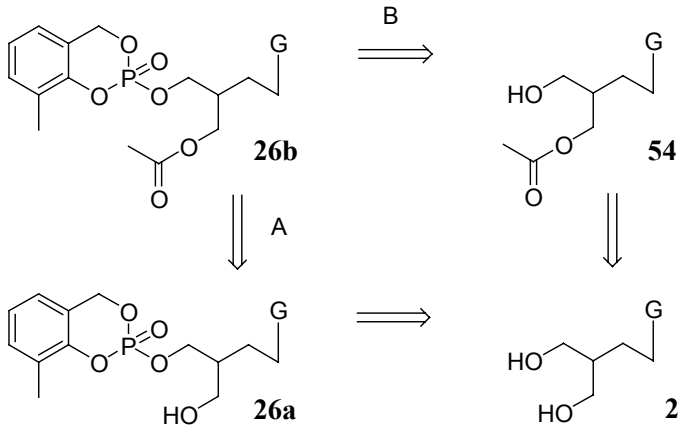


Abbildung 82 Retrosynthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP

4.4.1.2. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg A)

Um die Ausbeute des letzten Reaktionsschrittes, die 4'-*O*-Acetylierung, zu verbessern, musste zuerst 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** dargestellt werden. Dies wurde wie bereits in der Diplomarbeit beschrieben durchgeführt.[57] Man erhielt **26a** über sechs Reaktionsschritte in 14 % Ausbeute (Abbildung 83).

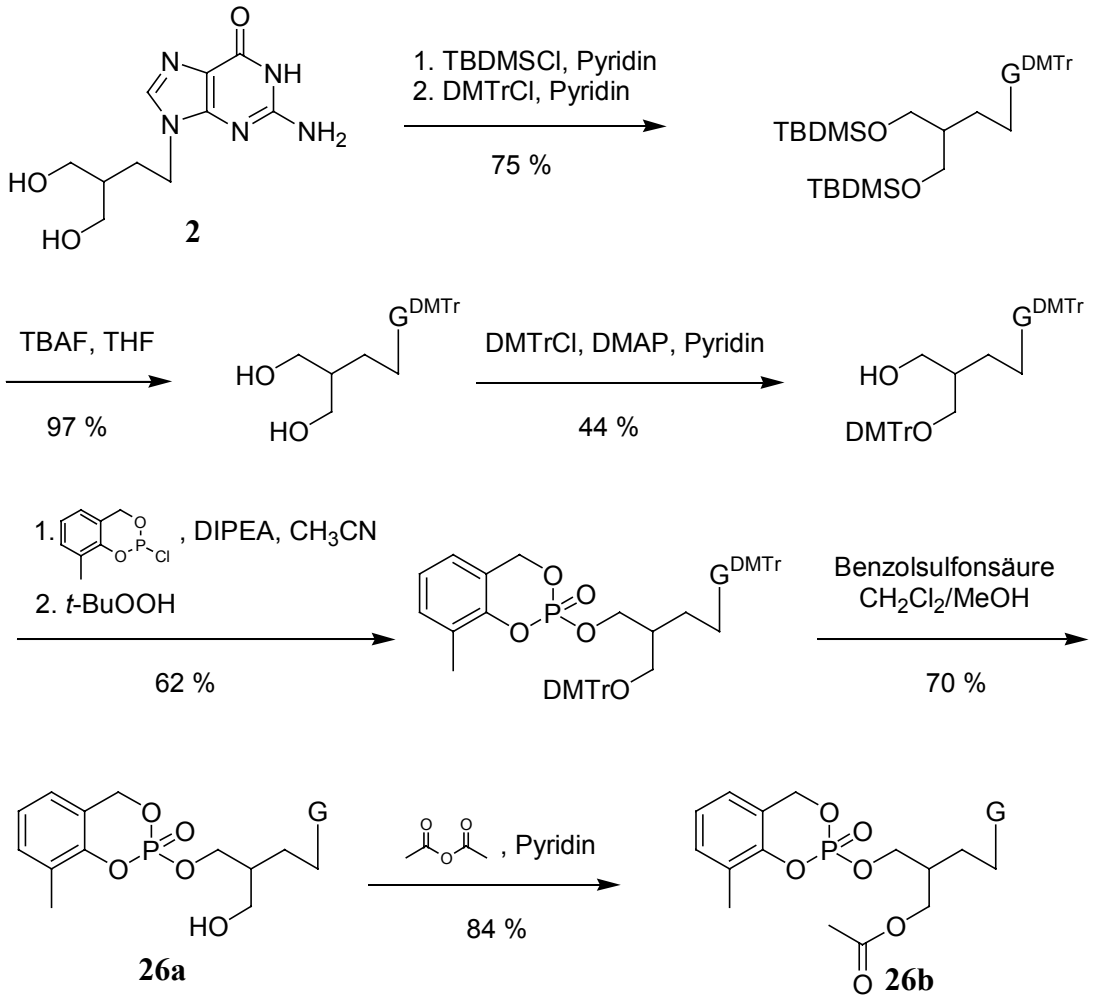


Abbildung 83 Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg A)

3-Methyl-*cyclo*Sal-penciclovirmonophosphat **26a** wurde nun in Pyridin gelöst, mit Essigsäureanhydrid versetzt und innerhalb von einer Stunden bei Raumtemperatur zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-Penciclovirmonophosphat **26b** umgesetzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels konnte das Rohprodukt am Chromatotron gereinigt und in 84 % Ausbeute isoliert werden. Man erhielt **26b** als ein 1:1 Gemisch zweier zueinander diastereomere Enantiomerenpaare, welche durch herkömmliche chromatographische Verfahren nicht getrennt werden konnten. Durch ^{1}H-, ^{13}C- und ^{31}P-NMR-Spektroskopie sowie anhand von UV-Spektren konnte die Zielverbindung identifiziert werden. Das berechnete Molekulargewicht wurde durch Elektrospray-Massenspektrometrie (ESI^{+}) verifiziert. Die Reinheit wurde mittels analytischer HPLC überprüft.

Der letzte Schritt dieser Synthese, die Acetylierung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphat **26a** zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-Penciclovirmonophosphat **26b** mit Essigsäureanhydrid, konnte durch Wechsel des Lösungsmittels von Acetonitril auf Pyridin von vormals 9 % auf 84 % verbessert werden und damit die Gesamtausbeute von 1 % auf 12 % erhöht werden.

4.4.1.3. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg B)

3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-Penciclovirmonophosphat **26b** konnte auch über einen wesentlich kürzeren, zweistufigen Syntheseweg ohne Verwendung von Schutzgruppen dargestellt werden (Abbildung 84).

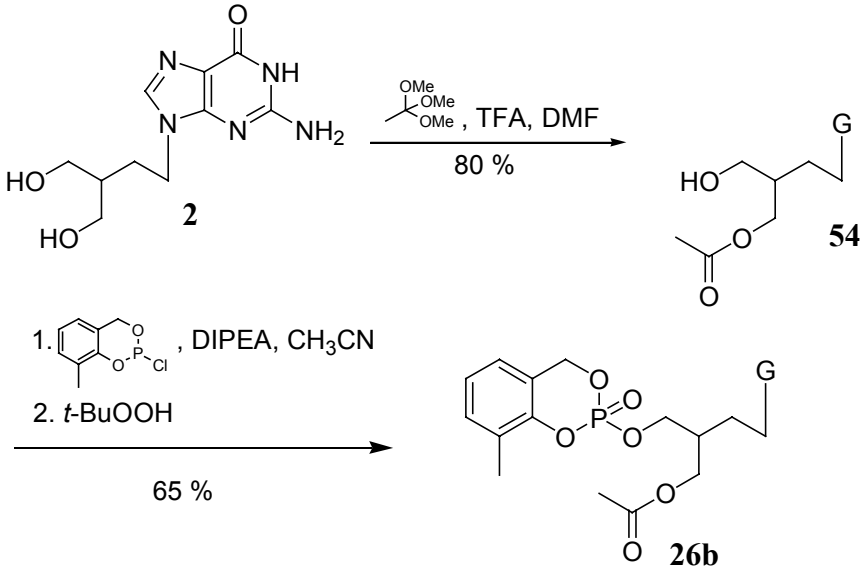


Abbildung 84 Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP (Weg B)

Zu einer Lösung aus Penciclovir **2** in *N*,*N*-Dimethylformamid wurde Trimethylorthoacetat und Trifluoressigsäure gegeben und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach

chromatographischer Aufreinigung konnte 9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin **54** als Hauptprodukt in 80 % Ausbeute und 9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)-(*N*-acetyl)guanin als Nebenprodukt in 19 % Ausbeute isoliert werden. Das Hauptprodukt wurde, wie in Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35d** zum geschütztem *cyclo*Sal-Phosphattriester **26b** in 65 % Ausbeute umgesetzt.

Die Gesamtausbeute über alle Schritte betrug 52 %. Das entspricht einer Erhöhung um 40 Prozentpunkte, bezogen auf die schon verbesserte Synthese (Weg A).

4.4.2. Synthese von *cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphates

Um zu überprüfen, ob sich das 3-Methyl-*cyclo*Sal-Derivat des mit Penciclovir **2** nahe verwandten Ganciclovir **3** in Hydrolyseuntersuchungen ähnlich verhält, wurde es ausgehend von Ganciclovir **3** dargestellt.

4.4.2.1. Synthesestrategie

Für die Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphat **27** wurde derselbe Syntheseweg gewählt, der schon bei der Synthese des entsprechenden Penciclovirderivates erfolgreich beschritten wurde. Ausgehend von Ganciclovir **3** kann über eine sechsstufige Synthese das 3-Methyl-*cyclo*Sal-GCVMP **27** dargestellt werden (Abbildung 85).

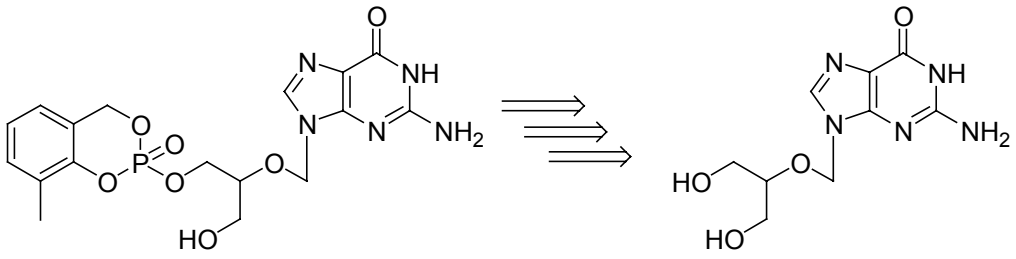
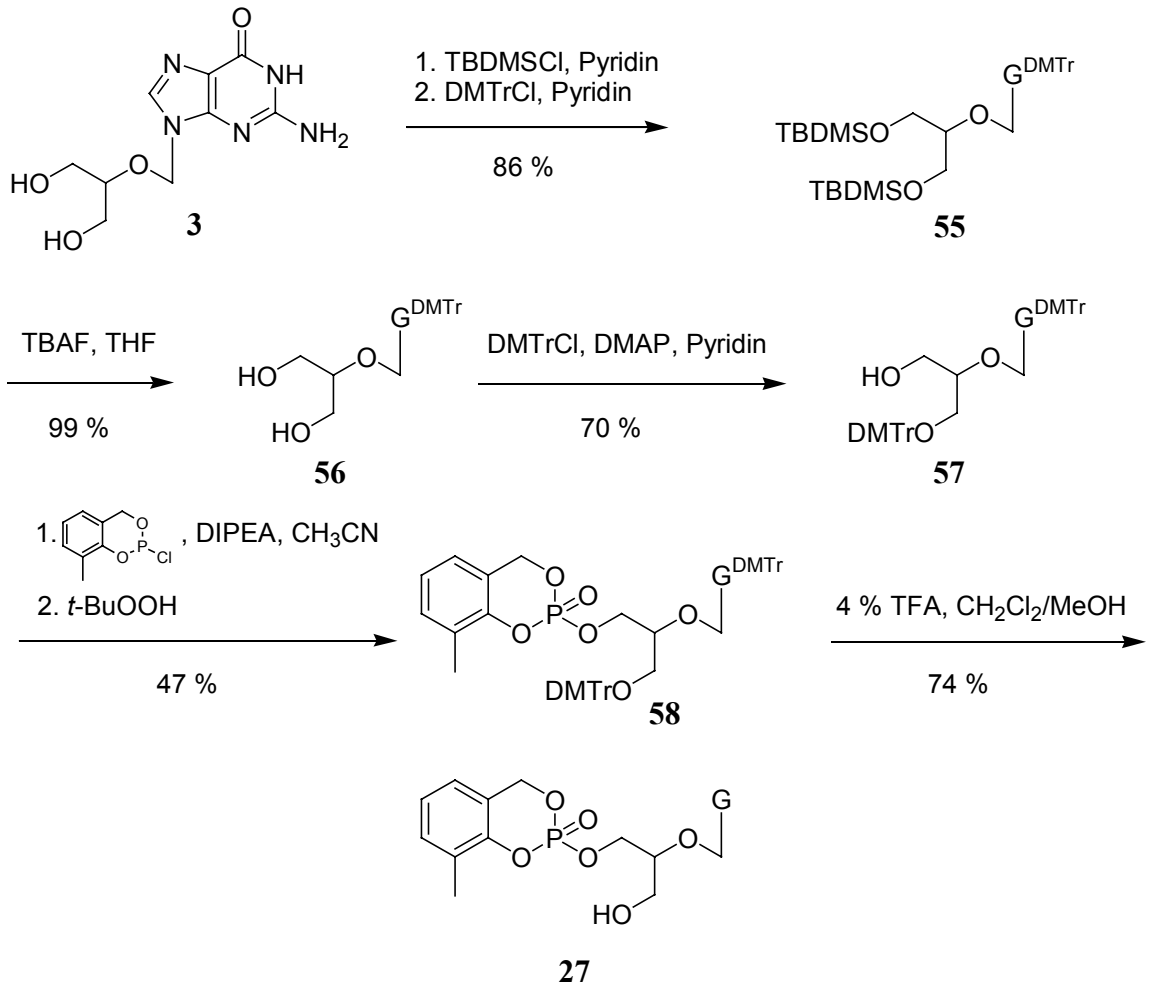


Abbildung 85 Retrosynthese des *cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphats

4.4.2.2. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-GCVMP

Im ersten Syntheseschritt ist wiederum die Blockade der beiden 4´-Hydroxylfunktionen im acyclischen Nucleosidanalogon GCV **3** notwendig. Dazu wurde Ganciclovir **3** in Pyridin 48 h bei Raumtemperatur mit TBDMSCl umgesetzt. Nach Aufarbeitung konnte das Bis-*O*-TBDMS-geschützte Intermediat in 95 % Ausbeute isoliert werden (Abbildung 86, Seite 99). Dieses wurde in Pyridin aufgenommen und mit einem Überschuß 4,4‘-Dimethoxytritylchlorid über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Man erhielt nach Aufarbeitung in 90 % Ausbeute das gewünschte Produkt **55**. Die Silylschutzgruppen wurden mit Tetrabutylammoniumfluorid

in Tetrahydrofuran abgespalten. Man erhielt das *N*-DMTr-geschützte Produkt **56** in 99 % Ausbeute. Für den folgenden Schritt, die selektive Blockierung nur einer 4´-Hydroxylfunktion, wurde das Diol in Pyridin gelöst und mit 4,4‘-Dimethoxytritylchlorid in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin umgesetzt. Man erhielt das gewünschte Produkt **57** als Enantiomerenpaar in 70 % Ausbeute.



3 **55** **56** **57** **58** **27**

Abbildung 86 Synthese von 3-Methyl-*cyclo*Sal-GCVMP

Dieses wurde, wie Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit **35d** zum geschütztem *cyclo*Sal-Phosphattriester **58** in 47 % Ausbeute umgesetzt. Die Schutzgruppe wurde mit 4 %iger Trifluoressigsäurelösung innerhalb von einer Stunde bei Raumtemperatur zum 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphat **27** abgespalten. Nach chromatographischer Reinigung konnte das Produkt in 74 % Ausbeute erhalten werden. Man erhielt **27** als ein 1:1 Gemisch zweier zueinander enantiomere Diastereomerenpaare, welche durch chromatographische Verfahren getrennt werden konnten. Da beide Diastereomerenpaare im ^{31}P-NMR-Spektrum jeweils zwei Singuletts enthielten, wurde angenommen, daß es sich um ein (R_P/R_C) + (S_P/S_C)- und ein (R_P/S_C) + (S_P/R_C)-Paar (*like* bzw.

unlike) handelte. Durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektroskopie sowie anhand von UV-Spektren konnten die Zielverbindungen identifiziert werden. Das berechnete Molekulargewichte wurde durch Elektrospray-Massenspektrometrie (ESI^{+}) verifiziert. Die Reinheit wurde mittels analytischer HPLC überprüft.

4.4.3. Synthese der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate

4.4.3.1. Synthesestrategie

Bei der Verwendung von Acyclovir **1** in der Synthese der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate **28a** bzw. **28b** hat man die Wahl zwischen zwei Synthesewegen. In Variante A (Abbildung 87) wird das Nucleosidanalogon direkt phosphoryliert. Hervorgerufen durch die hohe Polarität des Nucleosides muß die Reaktion in einem Lösungsmittelgemisch aus *N*,*N*-Dimethylformamid und Tetrahydrofuran durchgeführt werden.

In der Variante B wird das Problem der Unlöslichkeit dadurch umgangen, daß die exocyclische Aminogruppe mit einer lipophile Schutzgruppe versehen wird, die die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln erhöht. Die Zielverbindungen wurden über beide Synthesewege im Rahmen dieser Arbeit dargestellt.

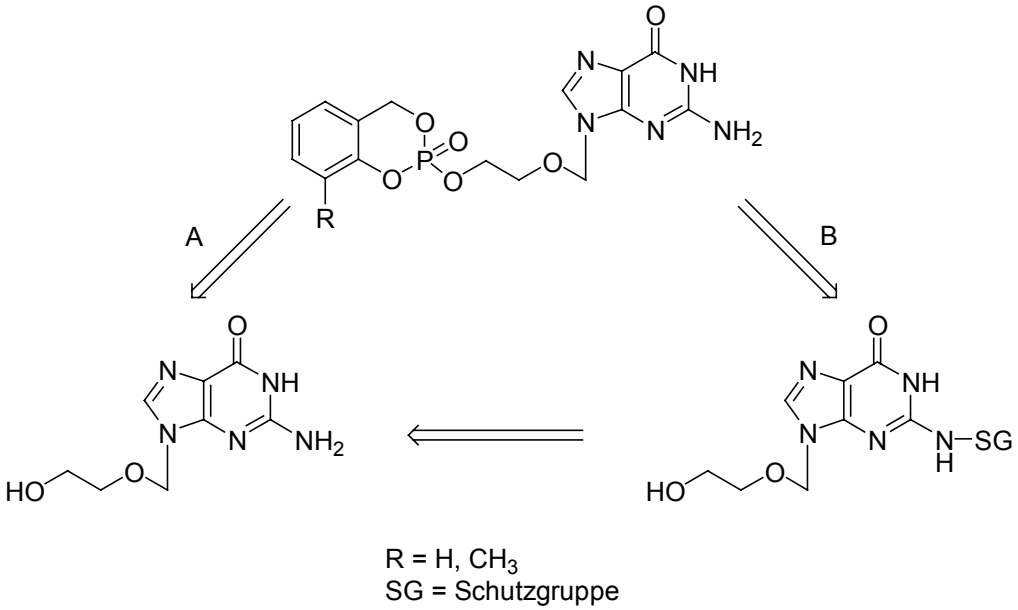


Abbildung 87 Retrosynthese der *cyclo*Sal-acyclovirmonophosphate

4.4.3.2. Darstellung der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate ohne Schutzgruppen

Schon in der Diplomarbeit wurde Acyclovir **1**, wie Kapitel 4.1.5.1., Seite 32 beschrieben, mit dem jeweiligen *cyclo*Sal-chlorphosphit zu den *cyclo*Sal-Phosphattriestern **28a** oder **28b** in

55 - 64 % Ausbeute umgesetzt.[57] Dabei wurde *N*,*N*-Dimethylformamid/Tetrahydrofuran (2:1 v/v) als Lösungsmittel verwendet (Abbildung 88).

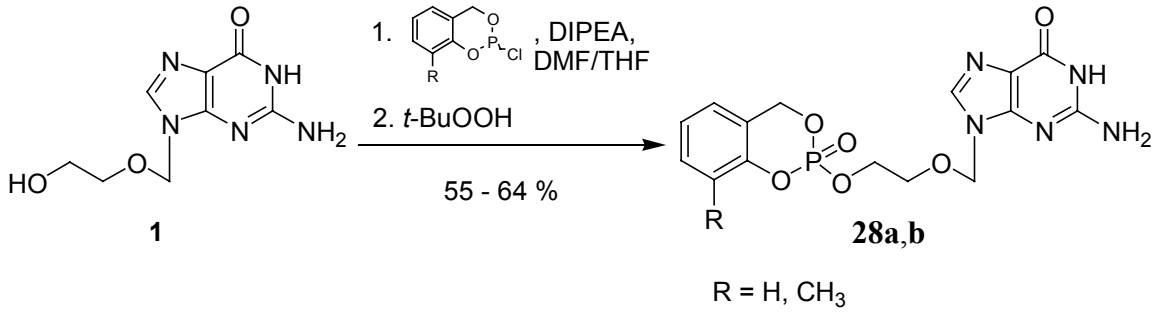


Abbildung 88 Synthese der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate

Es sei angemerkt, daß auf eine Blockierung der Aminofunktion der Purinbase in **1** hierbei bewußt verzichtet wurde, obwohl sie prinzipell ein weiteres Reaktionszentrum darstellen könnte. Aus Untersuchungen in früheren Arbeiten an acyclischen Guaninhaltigen Derivaten war bekannt, daß man bei der Reaktion mit dem Phosphor-(III)-Reagenz weder das an *O*- und *N*-diphosphorylierte Produkt noch das an *N*-phosphorylierte Produkt erhält.[57]

4.4.3.3. Darstellung der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate unter Verwendung von Schutzgruppen

Um zu überprüfen, ob die Verwendung einer Schutzgruppe der exocyclischen Aminofunktion eine Steigerung der Ausbeute in der Synthese der Phosphattriester bewirken kann, wurden die *cyclo*Sal-Phosphattriester von Acyclovir unter Verwendung der unter sauren Reaktionsbedingungen abspaltbare 4,4‘-Dimethoxytriphenylmethyl-Schutzgruppe synthetisiert.

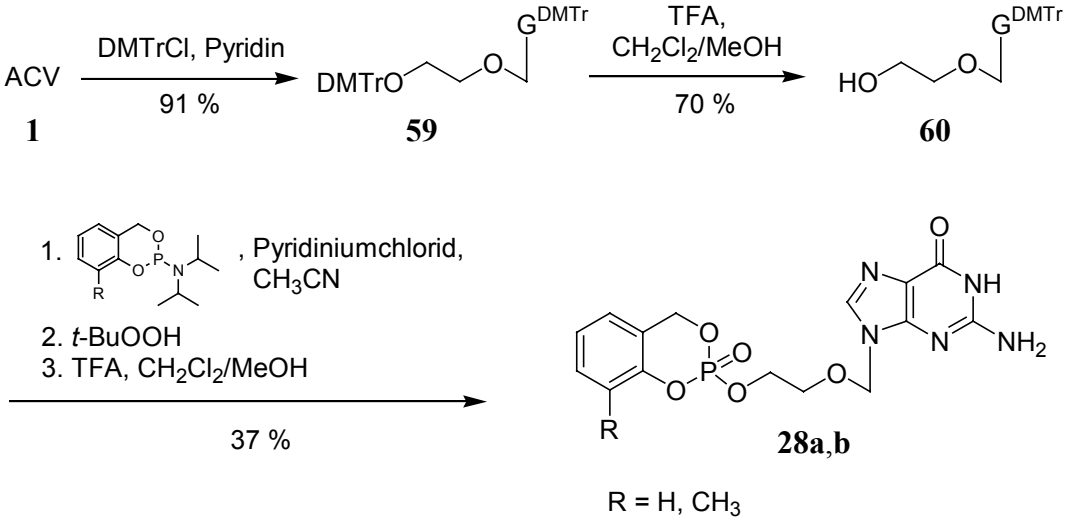


Abbildung 89 Synthese der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate

Zunächst wurde Acyclovir **1** vollständig geschützt. Dazu wurde das Nucleosid in Pyridin gelöst und 14 Stunden bei Raumtemperatur in Gegenwart von 4,4‘-Dimethoxytriphenyl-

methylchlorid gerührt. Nach Chromatographie wurde das bis-tritylierte Produkt **59** in 91 % Ausbeute erhalten. Dieses wurde mit 6 %igen Trifluoressigsäurelösung innerhalb von 5 Minuten bei Raumtemperatur selektiv zum *N*-geschützten Acyclovir **60** umgesetzt (Abbildung 89, Seite 101). Man erhielt *N*-Dimethoxytritylacyclovir nach Aufarbeitung in 70 % Ausbeute. Das geschützte Nucleosid wurde nun, wie in Kapitel 4.1.5.2., Seite 32 beschrieben, mit 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit **36b** bzw. 3-Methyl-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit **36d** zum geschützten Pro-Nucleotid umgesetzt. Die Schutzgruppe wurde nach 14 stündigem Rühren in einer 6 %iger Trifluoressigsäurelösung abgespalten und nach chromatographischer Reinigung wurden die *cyclo*Sal-Acyclovir-monophosphate **28a** bzw. **28b** in jeweils 37 % Ausbeute über beide Reaktionsschritte erhalten.

Die Ausbeute über alle Reaktionschritte betrug jeweils 24 %. Der Vorteil dieses Reaktionsweges, die Verwendung des leichter abkondensierbaren Lösungsmittels Acetonitril statt einer Mischung aus *N*,*N*-Dimethylformamid und Tetrahydrofuran, wird durch die geringere Ausbeute stark gemindert.

Unter Verwendung dieser Methodik konnte die Ansatzgröße bis in den Gramm-Bereich erhöht werden und so Substanz für *in-vivo* Versuche an Hamstern zur Verfügung gestellt werden.

4.4.4. Eigenschaften der acyclischen *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphate

Um die Löslichkeit in wässrigem Medium und die selektive Freisetzung der Nucleotide aus den Pro-Nucleotiden zu überprüfen, wurde der Nernst'sche Verteilungskoeffizient der Verbindungen und Hydrolysestudien durchgeführt.

4.4.4.1. Bestimmung der Nernst'schen Verteilungskoeffizienten

Mit allen acyclischen *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden wurden, wie in Kapitel 4.2.5.1., Seite 41 beschrieben, Untersuchungen zur Lipophilie durchgeführt. Die ermittelten Verteilungskoeffizienten (log*P*) sind in Tabelle 32 und in Abbildung 90, Seite 103 dargestellt. Die Nucleosidanaloga besitzen PC-Werte, die sehr viel kleiner sind als eins bzw. log*P*-Werte mit negativem Vorzeichen, während die PC-Werte der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide **26a** bzw. **26b**, **27** und **28a** bzw. **28b** im positivem Bereich bzw. die log*P*-Werte ein positives Vorzeichen besitzen oder sehr nahe bei Null liegen. Nach diesen Untersuchungen besitzen beide *cyclo*Sal-ACVMP-Derivate **28a** und **28b** einen mindestens 13 mal höheren Verteilungskoeffizienten, beide *cyclo*Sal-PCVMP-Derivate **26a** und **26b** einen mindestens 55 mal höheren Verteilungskoeffizienten und das *cyclo*Sal-GCVMP-Derivat **27** einen mindestens 16 mal höheren Ver-

teilungskoeffizienten im Vergleich zu dem jeweiligen acyclischen Nucleosid. Der Einfluß der freien Hydroxygruppe in **26a** auf den PC-Wert fällt gering aus: Das acetylierte 3-Me-*cyclo*Sal-PCVMP **26b** besitzt lediglich einen um den Faktor 1.3 höheren Wert, d. h. ist 1.3 mal lipophiler, als das nicht veresterte Derivat **26a**.

Tabelle 32 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der acyclischen *cyclo*Sal-Verbindungen**

Verbindung		**PC-Wert**	**log*P***
Acyclovir	**1**	0.03	-1.56
5-H-*cyclo*Sal-ACVMP	**28a**	0.40	-0.40
3-Me-*cyclo*Sal-ACVMP	**28b**	0.96	-0.02
Penciclovir	**2**	< 0.02	> -1.70
3-Me-*cyclo*Sal-PCVMP	**26a**	1.1	0.04
3-Me-*cyclo*Sal-*O*Ac-PCVMP	**26b**	1.4	0.15
Ganciclovir	**3**	0.02	-1.66
3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP	**27fast**	0.33	-0.48
3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP	**27slow**	0.49	-0.31

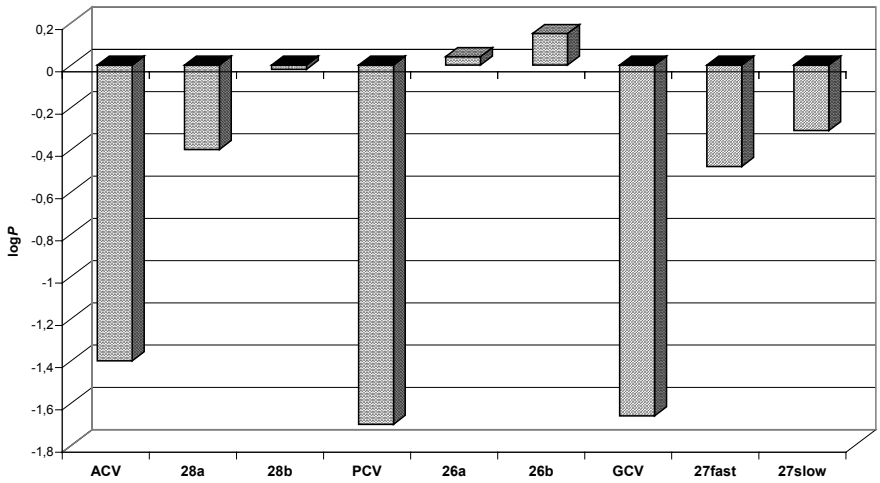


Abbildung 90 **Nernst`sche Verteilungskoeffizienten der acyclischen *cyclo*Sal-Phosphattriester**

Geht man davon aus, daß AZT **6** mit einem PC-Wert von 1.09 (log*P* 0.04) passiv durch die Zellmembran diffundiert, sollte der Membrantransport der Triester **26a** bzw. **26b**, **27fast** bzw.

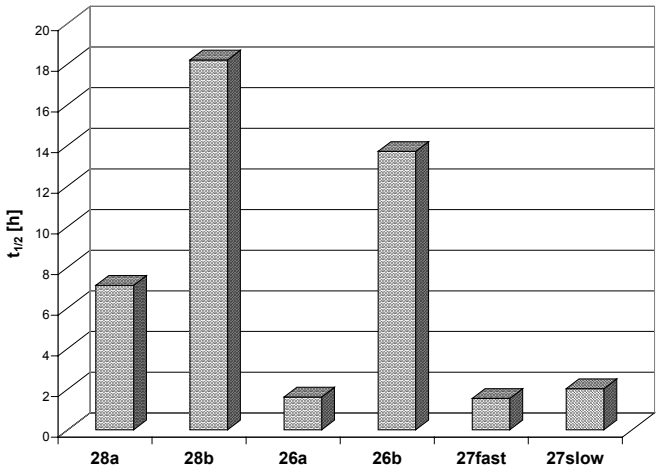
27slow und **28a** bzw. **28b** gegenüber den Nucleosiden Acyclovir **1**, Penciclovir **2** und Ganciclovir **3** deutlich erleichtert sein sollte.

4.4.4.2. Hydrolysen in wässrigem Phosphatpuffer (25mM, pH 7.3)

Wie in Kapitel 4.2.5.2., Seite 47 beschrieben, wurden auch mit den acyclischen *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden Hydrolysekinetiken in wässrigem Phosphatpuffer bei pH 7.3 durchgeführt.
Die Halbwertszeiten $t_{1/2}$ sind in Tabelle 34, Seite 104 zusammengefaßt und anhand eines Balkendiagrammes graphisch dargestellt. Zur Identifizierung der Abbauprodukte wurden Coinjektionen mit den Salicylalkoholen und den entsprechenden Nucleotiden durchgeführt. Zusätzlich wurden vollständig hydrolysierte Proben massenspektrometrisch untersucht.

Tabelle 34 **Hydrolysehalbwertszeiten der acyclischen *cyclo*Sal-Phosphattriester in 25 mM Phosphatpuffer, pH 7.3**

Verbindung		$t_{1/2}$ [h]
5-H-*cyclo*Sal-ACVMP	**28a**	7.1
3-Me-*cyclo*Sal-ACVMP	**28b**	18.0
3-Me-*cyclo*Sal-PCVMP	**26a**	1.6
3-Me-*cyclo*Sal-*O*-Ac-PCVMP	**26b**	14.0
3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP	**27fast**	1.5
3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP	**27slow**	2.0



Die hydrolytisch labilste Verbindung stellt 3-Methyl-*cyclo*Sal-GCVMP **27fast** mit einer Halbwertszeit von 1.54 Stunden dar. Weiter erkennt man den enormen Einfluß der freien Hydroxygruppe in 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** auf die Halbwertszeit im Vergleich zu **26b**. Mit $t_{1/2}$ = 18.0 Stunden ist 3-Methyl-*cyclo*Sal-ACVMP **27b** die stabilste Verbindung.
Aus den Halbwertszeiten der ACVMP-Derivate ist auch der Einfluß der Substituenten auf die Hydrolysestabilität erkennbar: Die unsubstituierte *cyclo*Sal-Verbindung **28a** hat eine Halbwertszeit von 7.1 Stunden, während durch Einführung einer Methylgruppe in 3-Position am Saligenylrest die Hydrolysestabilität um den Faktor 2.5 erhöht wird.
Auf Hydrolysestudien in verschiedenen Puffersystemen bei unterschiedlichen pH-Werten wurde verzichtet, da schon entsprechende Untersuchungen der d4T- und AZT-Phosphattriester die erwartet starke pH-Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit ergeben haben.[129] Man muß deshalb davon ausgehen, daß auch im Falle der ACV-, PCV- und GCV-

Phosphattriester **28a** bzw. **28b**, **26a** bzw. **26b** und **27fast** bzw. **27slow** dieser Effekt zu beobachten ist, da die Nucleosidanaloga den Hydrolysemechanismus nicht beeinflussen.

Auffällig sind die wesentlich schnelleren Hydrolysen der Verbindungen **26a** und **27fast** bzw. **27slow**. Im Vergleich zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-Ac-PCVMP **26b** besitzen sie alle eine freie Hydroxygruppe, die durch einen assistierenden Effekt den Angriff von Wasser beschleunigen könnte. In diesem Fall sollten der Salicylalkohol und das Monophosphat **32** entstehen und als Hydrolyseprodukte detektiert werden (Abbildung 92a). Auch könnte der Unterschied in der Hydrolysehalbwertszeit der getrennten Diastereomerenpaare **27fast** und **27slow** von 0.5 h erklärt werden. Bei der *like* Anordnung (R_P,R_C bzw. S_P,S_C) steht der doppelt gebundene Phosphatsauerstoff auf der selben Seite im Molekül wie die frei Hydroxygruppe. Durch diesen negativ polarisierten Sauerstoff könnte ein elektrophiler Angriff auf den Phosphor erschwert werden. In der *unlike* Anordnung (R_P,S_C bzw. R_P,S_C) hingegen stehen der doppelt gebunden Phosphatsauerstoff und die freie Hydroxygruppe auf verschiedenen Seiten des Moleküls.

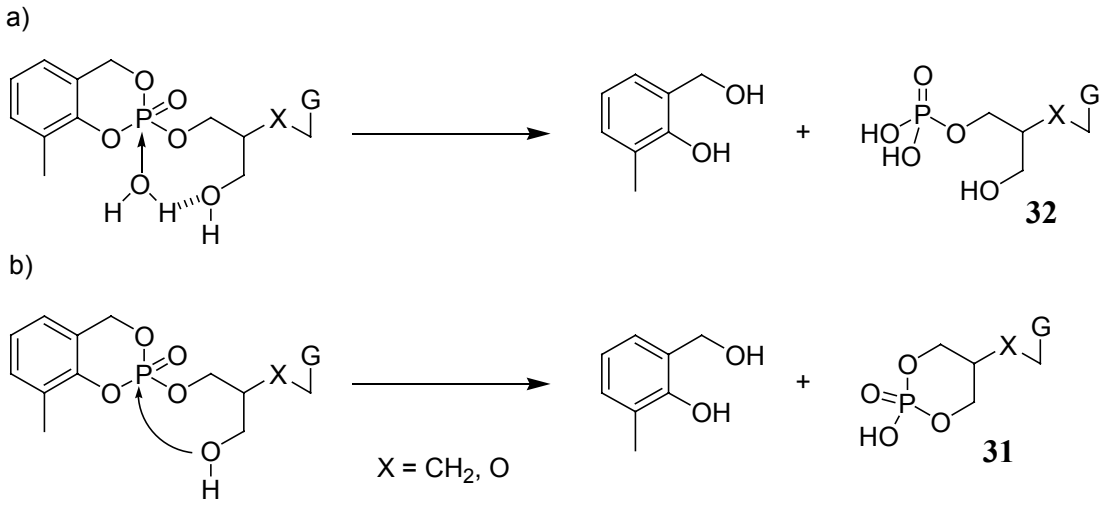


Abbildung 92 **Mögliche Hydrolysemechanismen der *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide von PCV und GCV**

Alternativ wäre ein schneller intramolekularer Angriff der freien Hydroxygruppe auf das Phosphoratom denkbar. Ergebnis wäre dann der cyclischer Phosphatdiester **31**, der unter den Hydrolysebedingungen nicht zum Monophosphat hydrolysiert (Abbildung 92b).

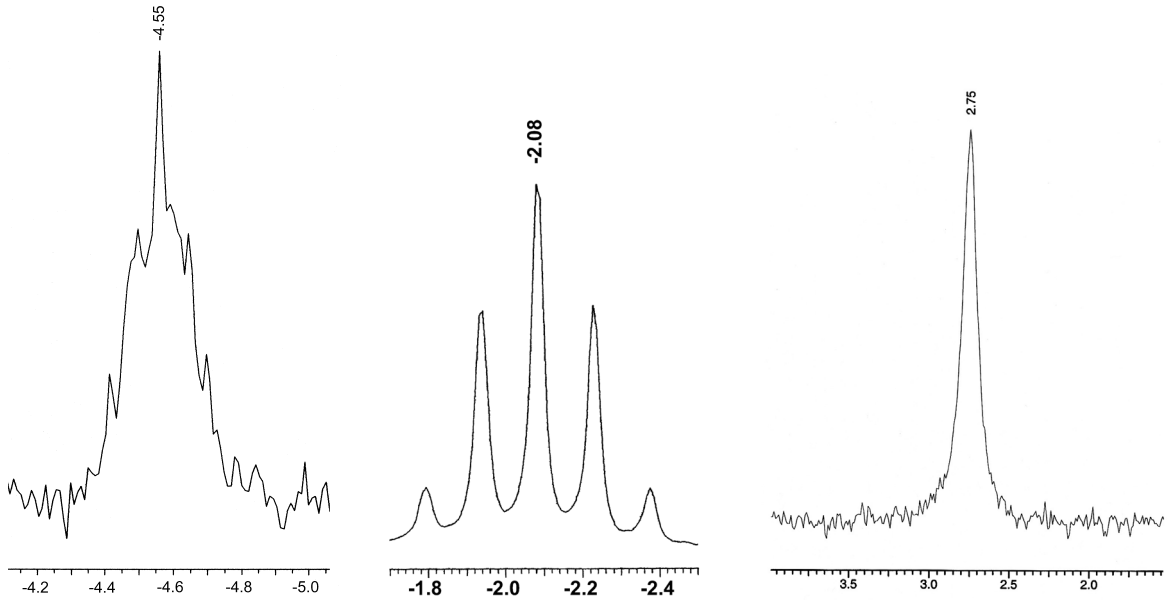
Um den Hydrolyseweg für 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** aufzuklären, wurden die möglichen Hydrolyseprodukte separat synthetisiert. Dazu wurde 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)-PCVMP unter Zusatz von Ammoniak zum doppelt geschützten Monophosphat hydrolysiert. Anschließend mit Salzsäure die beiden DMTr-Schutzgruppen abgespalten. PCVMP **32** konnte nach waschen mit Dichlormethan und säulenchromatographisch (RP-18 Kieselgel) in 51 % Ausbeute erhalten werden.

Penciclovircyclophosphat (cPCVMP) **31** konnte durch Umsetzung von PCV **2** mit Phosphorylchlorid in Pyridin und anschließender wässriger Aufarbeitung in einer Ausbeute von ebenfalls 51 % erhalten werden.[130]

Mit vollständig hydrolysierten Proben wurden ^{31}P-NMR-spektroskopische, ESI$^-$ massenspektrometrische und HPLC Coinjektionsuntersuchungen durchgeführt. Prinzipiell können bei der Hydrolyse von 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** folgende Produkte entstehen:

1. Das Monophosphat **32** mit einem Molekulargewicht von 333.2 g/mol, dessen chemische Verschiebung im ^{31}P-NMR-Spektrum ähnlich der von Phosphorsäure ist und im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu einem Triplett aufspalten sollte;
2. Das Cyclophosphat **31** mit der Masse von 315.1 g/mol, dessen Signal im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu einem pseudo-Quintett aufspalten sollte;
3. Der Bruch der benzylischen Sauerstoffbindung würde zum stabilen Phenylphosphatdiester mit der Masse von 453.4 g/mol führen, dessen Signal im Protonen gekoppelten ^{31}P-NMR-Spektrum zu einem Triplett aufspalten sollte.

Das ^{31}P-NMR-Signal des Hydrolyseproduktes hat eine chemische Verschiebung von - 4.6 ppm und spaltet im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR in ein Multiplett auf (Abbildung 93a; Lösundsmittel: DMSO-d_6, D_2O, TRIS-Puffer). Das separat synthetisierte cPCVMP **31** besitzt ebenfalls eine negative chemische Verschiebung von - 2.1 ppm und spaltet im Protonen-gekoppelten ^{31}P-NMR zu einem Quintett auf (Abbildung 93b; Lösungsmittel: D_2O).



a) Hydrolyseprodukt b) cPCVMP **31** c) PCVMP **32**

Abbildung 93 Hydrolyseprodukte im protonengekoppeltem ^{31}P-NMR

Das separat synthetisierte PCVMP **32** besitzt hingegen eine positive chemische Verschiebung von + 2.8 ppm im ^{31}P-NMR (Abbildung 93c, Seite 106; Lösungsmittel D_2O) und spaltet im

Protonen-gekoppelten Modus zu einem breitem Singulett (eigentlich Triplett) auf. Andere Nucleosidmonophosphate besitzen eine chemische Verschiebung im Bereich von + 1.5 bis + 3 ppm[131] und zeigen ein Triplett als Kopplungsmuster. Das gemessene Kopplungsmuster spricht auch gegen den Phenylphosphatdiester. Folglich deuten die NMR-Untersuchungen auf die Struktur des Cyclophosphates **31** hin.In der massenspektrometrischen Untersuchung (ESI^-) des Hydrolysates konnte als einziges Signal die Masse von 314.5 g/mol detektiert werden (Abbildung 94). Im MS/MS-Messmodus konnte für dieses Signal bestätigt werden, daß die zugehörige Verbindung phosphorhaltig war.

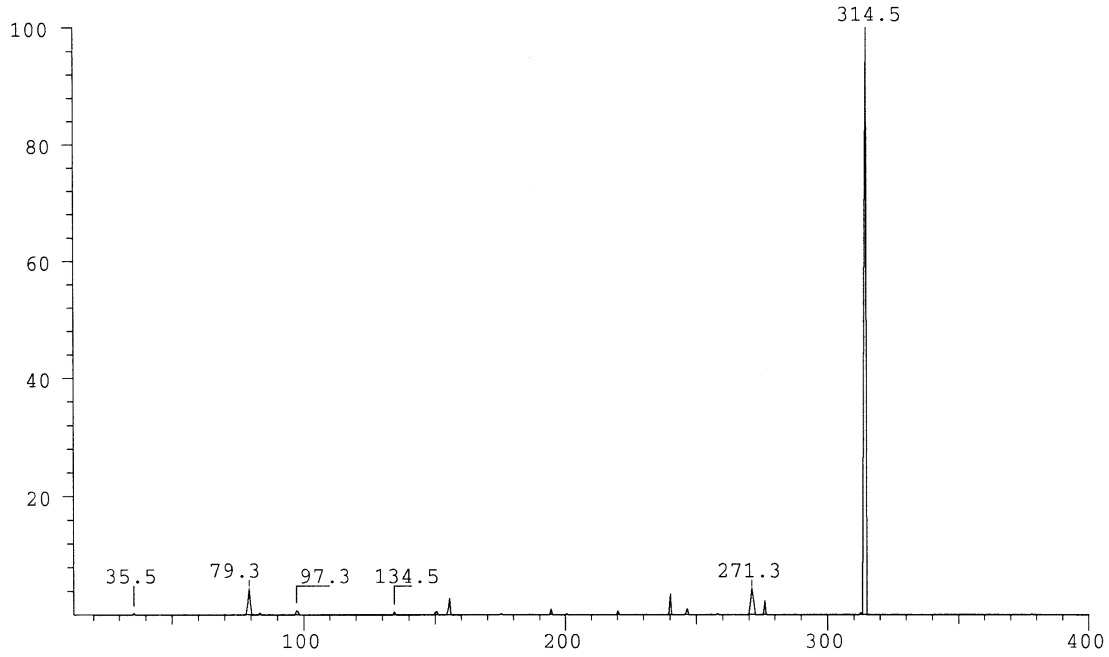


Abbildung 94 Hydrolyseprodukt im ESI^--Massenspektrum

Im negativen Messmodus werden massenspektrometrisch nur negativ geladene Verbindungen detektiert. Deshalb wurde die um eine Masseneinheit verminderte Masse des Cyclophosphats **31** ($M\text{-}H^+$) als einziges Produkt gemessen. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den NMR-Studien.

Desweiteren wurden HPLC analytische Coinjektionsuntersuchungen mit Ionen-haltigen Puffer durchgeführt. Die Ergebnisse bestätigen die Entstehung des cPCVMPs **31**.[132]

Da auch die *cyclo*Sal-Phosphattriester des acyclischen Nucleosidanalogons Ganciclovir **3** bei der chemischen Hydrolyse sehr kurze Halbwertszeiten besaßen, stellt sich die Frage, ob auch diese Verbindungen das cyclische Ganciclovirmonophosphat (cGCVMP) bilden.

Um das Hydrolyseverhalten aufzuklären, wurden die oben beschriebenen 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphate **27fast** bzw. **27slow** (3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP) hydrolysiert.

Im protonengekoppelten ^{31}P-NMR Spektrum erschien das Signal des GCVMP mit einer chemischen Verschiebung im Bereich von + 2.0 ppm jeweils zu einem Triplett aufgespalten. Sowohl massenspektrometrisch als auch HPLC-analytisch konnten in beiden Hydrolysen nur die entsprechenden Monophosphate nachgewiesen werden.

Als Ergebnis läßt sich zusammenfassen, daß in der chemischen Hydrolyse des *cyclo*Sal-PCVMP das cyclische Monophosphat gebildet wird, während bei allen anderen untersuchten Substanzen (vgl. Kapitel 4.2.5.2., Seite 47ff) nur das entsprechende 5'-Monophosphat neben dem Salicylalkohol entsteht. Die getrennten Diastereomerenpaare des *cyclo*Sal-GCVMPs verhielten sich dabei gleich. Die schlechten antiviralen Daten dieser Verbindungen (Kapitel 4.4.4.3.) lassen somit nicht auf die Bildung eines cyclischen Monophosphates zurückführen.

Es ist anzumerken, daß unter den antiviralen Testbedingungen neben der chemischen Hydrolyse eine bislang unbekannte, zusätzliche enzymatische Hydrolyse nicht ausgeschlossen werden kann.

4.4.4.3. Antivirale Daten: anti-Herpes Simplex Virus Typ 1 Zelltests

Nachdem die Stabilitäten der Verbindungen und die Hydrolysewege aufgeklärt wurden, sollten die in anti-Herpes Simplex Virus Typ 1 Zelltests hinsichtlich ihrer antivirale Aktivität getestet werden. Dies erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. P. Wutzler und Prof. Dr. R. Klöcking, Friedrich-Schiller-Universität Jena. Vor den Tests wurde mittels HPLC-Analytik sichergestellt, daß die zu untersuchende Verbindung kein freies Nucleosid enthielt. Als Referenzverbindungen wurden jeweils die Nucleosidanaloga ACV **1**, PCV **2** und GCV **3** getestet.

Das wichtigste Resultat der biologischen Bewertung der *cyclo*Sal-Verbindungen der acyclischen Nucleosidanaloga ACV **1**, PCV **2** und GCV **3** ist die hohe biologische Aktivität der Acyclovirphosphattriester **28a** bzw. **28b**, besonders gegen den Thymidin-Kinase-defizienten Virusstamm.[106]

Als gegen Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV-1 (Kupka)) wirksamstes *cyclo*Sal-ACVMP-Derivat erwies sich 3-Methyl-*cyclo*Sal-ACVMP **28b** (Tabelle 36, Seite 109). Seine Wirkung entspricht der der Vergleichsverbindung ACV **1**. 5-H-*cyclo*Sal-ACVMP **28a** war ebenfalls antiviral wirksam, erreicht aber nicht ganz die Aktivität der Referenzverbindung. Im Gegensatz zu ACV **1** entfalteten die beiden *cyclo*Sal-ACVMP-Derivate **28a** bzw. **28b** auch gegenüber dem Thymidin-Kinase-defizienten Herpes Simplex Virus Typ 1 Virenstamm (HSV-1/TK$^-$ (Cheng)) eine deutliche antivirale Wirkung. Hier erwies sich **28b** als 113-fach stärker wirksam als ACV **1**. 5-H-*cyclo*Sal-ACVMP **28a** übertraf die ACV-Aktivität immer noch um das 36-fache (Tabelle 36). Beide Derivate **28a** und **28b** beweisen, daß sie gänzlich

unabhängig von intrazellulärer Aktivierung durch die virale Thymidin Kinase zu sein scheinen (viraler Thymidin Kinase Bypass) und daß aus den Phosphattriestern selektiv intrazellulär in Verozellen ACVMP freigesetzt wird. Zusätzlich zeigen die *cyclo*Sal-Verbindungen keinen Anstieg in der zytotoxischen Wirkung im Vergleich zum Nucleosid ACV **1**.

Überraschenderweise zeigten 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** und 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-Ac-PCVMP **26b** gegenüber HSV-1 keinerlei antivirale Wirkung. Sowohl im Test gegen HSV-1 (Kupka) als auch gegen HSV-1 (TK^-, Cheng) erwiesen sich beide Substanzen als mindestens um den Faktor 90 weniger aktiv als Penciclovir **2**. Das Fehlen der antiviralen Aktivität kann durch intra- oder extrazelluläre Freisetzung von cPCVMP **31** erklärt werden (Kap. 4.3.4.2.). Nimmt man an, daß es extra- oder intrazellulär durch ubiquitär vorhandene Carboxyesterasen zu einer Hydrolyse der Acetyl-Funktion in **26b** kommt, würde dies zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** führen. Das Resultat wäre dann das gleiche wie oben.

Tabelle 36 **Anti-HSV-1 Aktivität der *cyclo*Sal-Verbindungen der acyclischen Nucleosidanaloga ACV 1, PCV 2 und GCV 3**

Verbindung		EC_{50} [µM]		CC_{50} [µM]	SI
		HSV-1 (Kupka)	HSV-1/TK^- (Cheng)		
5-H-*cyclo*Sal-ACVMP	**28a**	1.02	1.62	> 325	> 319
3-Me-*cyclo*Sal-ACVMP	**28b**	0.47	0.51	> 314	> 668
ACV	**1**	0.62	57.7	> 568	> 916
3-Me-*cyclo*Sal-PCVMP	**26a**	91.6	108	> 294	---
3-Me-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP	**26b**	113.1	119.8	> 268	---
PCV	**2**	1.15	n.d.	> 505	> 439
3-Me-*cyclo*Sal-GCVMP	**27**	7.52	6.97	> 200	> 27
GCV	**3**	0.39	71.7	> 1000	> 2500

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex ($SI = CC_{50}/EC_{50}$)

n.d. = nicht getestet

Die antivirale Aktivität von 3-Methyl-*cyclo*Sal-GCVMP **27** ist in dem Wildtyp-Virusstamm (TK kompetent) etwa um den Faktor 19 schlechter als das Nucleosid, aber die Aktivität bleibt

im Gegensatz zu GCV **3** vollständig in dem Thymidin-Kinase-defizienten Virusstamm erhalten. In letztem Fall ist das Pro-Nucleotid um den Faktor 10 aktiver als GCV **3**. Daher kann angenommen werden, daß aus dem Pro-Nucleotid **27** intracellulär das Nucleotid freigesetzt wurde und dieses nach Metabolisierung zum GCV-Triphosphat antiviral wirksam ist.

In antiviralen Untersuchungen des von Imbach et al. entwickelten "SATE"-Prodrug-Systems gegen Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV-1) konnte ermittelt werden, daß sowohl Bis-(*S*-acetyl-2-thioethyl)-acyclovirmonophosphat (Bis(MeSATE)ACVMP)[133] als auch Bis-(*S*-pivaloyl-2-thioethyl)-acyclovirmonophosphat (Bis(*t*BuSATE)ACVMP) mit einem EC_{50} von 1.25 µM bzw. 2.5 µM gegen den Wildtyp Virusstamm (HSV-1) Aktivität zeigten. Diese Aktivität liegt in vergleichbarer Größenordnung wie die der untersuchten *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate **28a** bzw. **28b** (Tabelle 38). Bei Untersuchungen mit dem Thymidin-Kinase-defizienten Virus Stamm (HSV-1 (TK^-)) veringert sich die Aktivität um den Faktor vier bei Bis(*t*BuSATE)ACVMP und sogar um den Faktor 80 im Fall des Bis(MeSATE)ACVMPs. Dagegen behielten die in dieser Arbeit dargestellten *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate **28a** und **28b** ihre antivirale Wirkung gegen Thymidin-Kinase-defiziente Viren bei und übertrafen die Wirksamkeit der SATE-Prodrugs im günstigsten Fall um den Faktor 60.

Tabelle 38 **Ergebnisse des anti-HSV-1 Tests von Bis(MeSATE)ACVMP und Bis(*t*BuSATE)ACVMP**

Verbindung	EC_{50} (µM)	
	HSV-1	HSV-1(TK^-)
Bis(MeSATE)ACVMP	1.25	100
Bis(*t*BuSATE)ACVMP	2.5	10

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

Die Aminosäurephosphormonoesteramidate von Acyclovir nach C. Wagner besaßen weder gegen den Wildtyp Virusstamm noch gegen den Thymidin-Kinase-defizienten Virusstamm antivirale Aktivität. Deshalb wird vermutet, daß aus diesen Verbindungen Acyclovirmonophosphat nicht freigesetzt wird.[134]

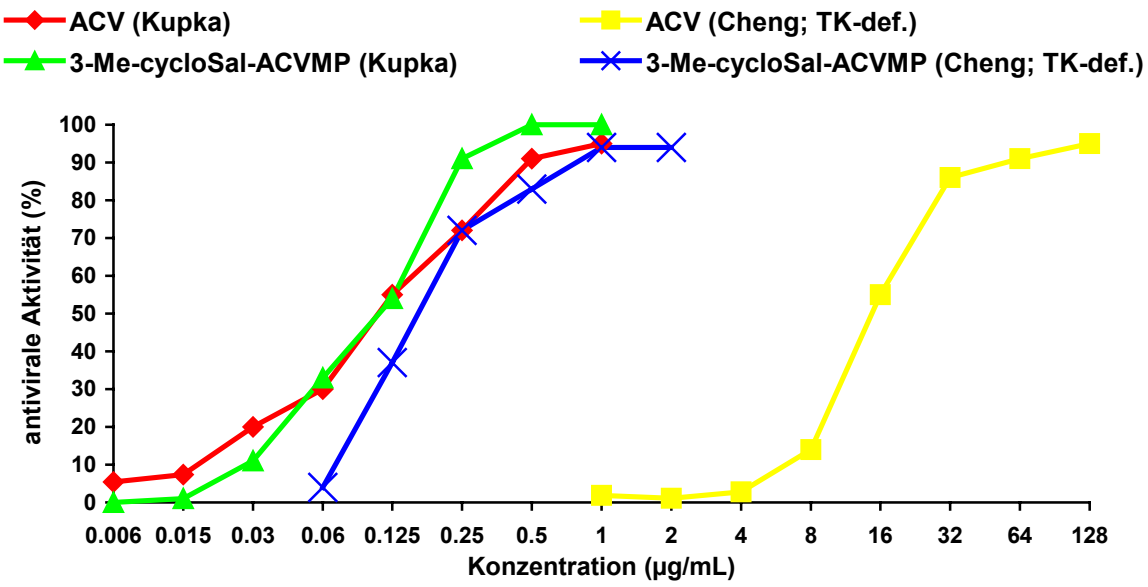


Abbildung 95 **Dosis-Wirkungskurve von 3-Methyl-*cyclo*Sal-ACVMP 28b und ACV 1 gegen HSV-1 Kupka (TK^+) und HSV-1 Cheng (TK^-) in Verozellen**

Mit 3-Methyl-*cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphat **28b** wurde eine Untersuchung zur Dosis-Wirkungsbeziehung durchgeführt (Abbildung 95). Auch aus diesem Test wird deutlich, daß aus dem *cyclo*Sal-Phosphattriester **28b** Acyclovirmonophosphat freigesetzt werden muß, da die Aktivität des *cyclo*Sal-Phosphattriesters **28b** in den mit Thymidin-Kinase-defizienten Viren infizierten Zellen (Cheng) im Vergleich zu den mit Thymidin-Kinase-kompetenten Viren infizierten Zellen (Kupka), im Gegensatz zum Nucleosid Acyclovir **1** nahezu beibehalten wird.

4.4.4.4. Antivirale Daten: anti-Epstein-Barr Virus Tests

Die Prodrug-Verbindungen wurden von Frau Dr. A. Meerbach, Institut für Antivirale Chemotherapie, Friedrich-Schiller-Universität Jena auf ihre antivirale Aktivität gegen EBV in menschlichen Lymphoblastoiden P3HR-1 Zellen getestet.[135]

Unter den getesteten *cyclo*Sal-Phosphattriestern befanden sich mit den Acyclovirderivaten **28a** und **28b** zwei selektive Inhibitoren des EBV Replikationszykluses (Tabelle 39, Seite 112).

Die Aktivität beider *cyclo*Sal-Acyclovirderivate liegt in derselben Größenordnung, wie die des Nucleosidanalogons Acyclovir **1**. Das gilt sowohl für die Inhibierung der DNA Synthese als auch für die Inhibierung der Virus Capsid Antigen (VCA) Expression.

Tabelle 39 **Anti-EBV Aktivität der *cyclo*Sal-Verbindungen der acyclischen Nucleosidanaloga ACV 1 und PCV 2**

Verbindung		EC_{50} [µM]		CC_{50} [µM]	SI
		DNA-Synthese	VCA Expression		
5-H-*cyclo*Sal-ACVMP	**28a**	10.4	23.2	149	12
3-Me-*cyclo*Sal-ACVMP	**28b**	5.85	22.5	> 245	> 42
ACV	**1**	7.2	23.9	422	58
3-Me-*cyclo*Sal-PCVMP	**26a**	49.9	80.4	155	3
3-Me-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP	**26b**	> 100	> 100	> 200	---
PCV	**2**	12.6	23.7	> 395	> 31

EC_{50} = Effektive Konzentration, bei der 50 % der Virusreplikation unterdrückt wird

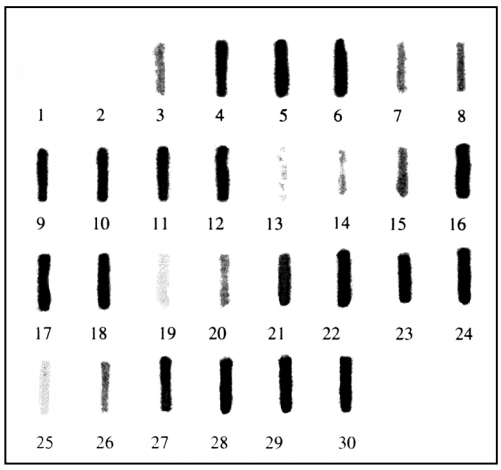
CC_{50} = Zytotoxische Konzentration, bei der 50 % der Zellen sterben.

SI = Selektivitätsindex ($SI = CC_{50}/EC_{50}$(DNA Synthese))

Wie schon im antiviralen Zelltest gegen HSV-1 zeigten die beiden *cyclo*Sal-PCVMP Derivate **26a** und **26b** keine oder nur sehr schlechte Aktivität gegen EBV. Im Test erwiesen sich beide Substanzen als mindestens um den Faktor 4 schlechter als Penciclovir **2**. Das Fehlen der antiviralen Aktivität kann auch in diesem Fall durch intra- oder extrazelluläre Freisetzung des cPCVMP **31** erklärt werden. Auch die Hydrolyse der Acetyl-Funktion in **26b** würde sowohl intra- als auch extrazellulär zu 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** führen.

In Abbildung 96, Seite 113 sind Inhibierungsexperimente der EBV-DNA Synthese bei verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen dargestellt (Slot blot Hybridisierung). Für die Bestimmung des EBV-DNA Gehaltes wurden 10 µg gesamtzelluläre DNA von Substanz-behandelten P3HR-1 Zellen und Kontrollzellen (Ramos, Raji und Namalwa) verwendet.[136] Der Slot blot Assay wurde unter Verwendung von 30 ng/ml einer Digoxigenin-markierenden Sonde, die für das BamH1-W-Fragment des EBV spezifisch ist durchgeführt. Nach Hybridisierung erfolgte die Chemiluminiszenzdetektion mit nachfolgender ca. zweistündiger Exposition der Membran auf einem Film. Die densitometrische Analyse erfolgte mittels eines Durchsicht-Scan-Verfahrens und anschließender Auswertung mittels Software. Die ermittelten optischen Dichtewerte wurden zum unbehandelten Kontrollsatz in ein prozentuales Verhältnis gesetzt und aus den Dichtewerten bei 50 % auf der Grundlage einer

logarithmischen Regression die 50 %ige Hemmkonzentration (EC_{50} in µg/ml) für die Hemmung der viralen DNA-Synthese bestimmt.



1 = Ramos (EBV negativ)
2 = Namalwa (Zwei EBV Genom Kopien pro Zelle)
3 = Raji (ca 50 EBV Genom Kopien pro Zelle)
4 – 6 = P3HR-1 (TPA-induziert, > 100 EBV Genom Kopien pro Zelle)
7 – 12 = 5-Me-*cyclo*Sal-ACVMP: 7(50); 8(10); 9(2); 10(0.4); 11(0.08); 12(0.016)
13 – 18 = ACV **1**: 13(50); 14(10); 15(2); 16(0.4); 17(0.08); 18(0.016)
19 – 24 = 3-Me-*cyclo*Sal-ACVMP **28b**: 19(50); 20(10); 21(2); 22(0.4); 23(0.08); 24(0.016)
25 – 30 = 5-H-*cyclo*Sal-ACVMP **28a**: 25(50); 26(10); 27(2); 28(0.4); 29(0.08); 30(0.016)

Werte in Klammern geben die Konzentration der Verbindung in µg/ml an.

Abbildung 96 **Inhibierung der EBV-DNA Synthese in P3HR-1 Zellen durch verschiedene *cyclo*Sal-Phosphattriester von Acyclovir.**

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Synthese neuer, antiviral aktiver Nucleotid Prodrugs und die Charakterisierung ihrer Eigenschaften mit der Aufgabe die Wirksamkeit bereits etablierter, antiviral aktiver Nucleosidanaloga zu erhöhen oder das Anwendungspektrum dieser Verbindungen zu erweitern.

Ausgangsverbindungen für die Synthese aller *cyclo*Sal-Derivate waren die entsprechenden Salicylalkohole **34a-f** und verschiedene, gegen Herpes Viren aktive Nucleosidanaloga. Als Salicylalkohol-Derivate wurden die Akzeptor-substituierte Verbindung **34a** (5-Cl) und die Donor-modifizierten Verbindungen **34c** (5-OMe), **34d** (3-Me), **34e** (3,5-DiMe) und **34f** (3-*t*Bu) sowie das unsubstituierte Derivat **34b** verwendet. Diese waren aus den jeweiligen Salicylsäuren oder -aldehyden in guten Ausbeuten von 73 - 99 % darstellbar (Kapitel 4.1.2., Seite 29). Aus den Alkoholen konnten in 40 - 79 % Ausbeute die für die spätere Synthese der *cyclo*Sal-Derivate benutzten Chlorphosphite **35a**,**b**,**d**,**e** dargestellt werden.

Ein Beispiel eines Nucleosids mit 3‘-Hydroxylfunktion ist das gegen die Herpes-Virus-Familie aktive BVDU **4**. Im Rahmen dieser Arbeit gelang erstmals sowohl die Darstellung einiger 3‘-unmodifizierten als auch einer Serie von 3‘-*O*-modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester. Die Synthese der 3‘-unmodifizierten Derivate **25a-f** gelang sowohl über die direkte Umsetzung mit dem Phosphitylierungsreagens (Kapitel 4.2.1.2., Seite 34) als auch unter Verwendung einer 3‘-Schutzgruppe (Kapitel 4.2.1.3., Seite 35). Die Vorteile der Schutzgruppenstrategie wurden allerdings durch die Notwendigkeit dreier weiterer Reaktionsschritte aufgewogen.

Die 3‘-modifizierte 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP **25g-z** konnte dargestellt werden, indem Carbonsäuren unterschiedlicher Kettenlänge (Lipophilie) und α-Aminosäuren mittels Dicyclohexylcarbodiimid-Kupplung mit der 3‘-Hydroxyfunktion des zuvor 5‘-*O*-TBDMS geschützten Nucleosidanalogons BVDU in 45 - 83 % Ausbeute verestert wurden (Kapitel 4.2.2.1., Seite 36). Aus den so synthetisierten Vorstufen konnten die Zielverbindungen mittels der bekannten „Ein-Topf“-Reaktion in 23 - 73 % Ausbeute erhalten werden (Kapitel 4.2.3., Seite 38). Es wurden Diastereomerenpaare im Verhältnis von nahezu 1:1 erhalten, die auch HPLC chromatographisch nicht getrennt werden konnten.

Die Synthese der 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP-Derivate **25α-ε** gelang sowohl durch Umsetzung der 3‘-*O*-modifizierten Nucleoside **41g**,**i**,**m**,**o**,**p** mit dem cyclischen Chlorphosphit **35b** als auch durch Umsetzung mit dem cyclischen Phosphoramidit **36b**, das durch Umsetzung des Chlorophosphites **35b** mit Di*iso*propylamin in guten Ausbeuten zu erhalten war. Eine Präferenz hinsichtlich Ausbeute der Reaktion konnte im Gegensatz zu früheren Untersuchungen mit dem Nucleosidanalogon d4T nicht gefunden werden (Kapitel 4.2.4, Seite 39ff).[113]

Als qualitativer Anhaltspunkt für die Lipophilie der *cyclo*Sal-Derivate dienten die Nernst’schen Verteilungskoeffizienten (PC-, log*P*-Werte). Der Verteilungskoeffizient von AZT **6** (PC-Wert = 1.09, log*P* = 0.04) diente in diesen Untersuchungen als Richtwert für einen möglichen passiven Membrantransport. Die Verteilungskoeffiziente der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDU Phosphattriester **25a-f** waren 27 - 728 mal höher (Kapitel 4.2.5.1., Seite 41ff), die der 3‘-Acyl-modifizierten Phosphattriester **25g-m** waren 138 - 939 mal höher und die der 3‘-Aminoacyl-modifizierten Phosphattriester **25n-z** waren 0.16 - 3 mal höher als der von AZT **6**. Bedacht werden sollte, daß bei sehr hohen PC-Werten wie sie hier gemessen wurden die Bildung von Micellen oder einer Lipidähnlichen Struktur nicht ausgeschlossen werden kann, diese können das Hydrolyseverhalten maßgeblich beeinflussen. Durch die polare Aminogruppe der 3‘-Aminoacyl-modifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25n-z** wird die Lipophilie kompensiert und die Verbindungen sind wieder sehr gut wasserlöslich. Die 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP-Derivate **25α-ε** verhielten sich analog zu den 3-Methyl-modifizierten Triestern.

Das Hydrolyseverhalten aller *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25a-z** wurde in wässrigem Phosphatpuffer mit verschiedenen pH-Werten, in unterschiedlichen biologischen Medien und in humanem Serum untersucht (Kapitel 4.2.5.2., Seite 47ff). Bei diesen Untersuchungen lag ein besonderes Augenmerk auf der Detektion der Hydrolyseprodukte mittels ^{31}P-NMR Spektroskopie, ESI-Massenspektrometrie und durch HPLC-analytische Coinjektionsuntersuchungen mit separat synthetisierten Referenzverbindungen. Es konnte gezeigt werden, daß alle unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25a-f** unabhängig vom benutztem Medium selektiv zu BVDUMP **44** und den ensprechenden Salicylalkoholen **34a-f** hydroysierten. Dabei konnte eine eindeutige Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit vom jeweiligen Substituenten im aromatischen Ring beobachtet werden. Außerdem konnte eine Abhängigkeit der Hydrolysegeschwindigkeit vom pH-Wert beobachtet werden. Die Phosphattriester **25d-f** zeigten sowohl im leicht saurem (pH 6.8) als auch im leicht basischen

Phosphatpuffer (pH 7.3) ausreichende Stabilität, während die Verbindungen **25a-c** sehr schnell hydrolysierten.

Für die 3‘-*O*-Acyl-modifizierten Derivate **25g-m** konnte eine Korrelation des Hydrolyseverhaltens mit der Lipophilie der Verbindungen gefunden werden: Je lipophiler die Verbindung, desto stabiler war der Triester in den Hydrolyseuntersuchungen. Zusätzlich wurde beobachtet, daß alle Verbindungen **25g-m** unabhängig vom Medium zuerst die Maske hydrolysieren und im folgenden stabil waren. Das bedeutet, die Hydrolyse dieser Verbindungen führt in eine Sackgasse, da sie sowohl im Zellextrakt als auch im Serum nicht BVDUMP **44** freisetzten.

Die 3‘-*O*-Aminoacyl-modifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs **25n-z** verhielten sich in allen Untersuchungen in verschiedenen Medien gleich ungewöhnlich. Die Halbwertszeiten waren in allen Fällen sehr kurz. Die in den HPLC Chromatogrammen detektierten Produkte zeigten, daß zuerst die 3‘-Esterbindung gebrochen wurde bevor die gebildete Prototypverbindung **25d** zum 3-Methylsalicylalkohol **34d** und zu BVDUMP **44** hydrolysiert. Dies könnte durch die Tatsache erklärt werden, daß die Aminogruppe der Aminosäure bis zu pH = 9 protoniert vorliegt. Durch die positive Ladung wird zusätzlich Elektronendichte von der Carbonylgruppe abgezogen und dadurch der Carbonsäureester leichter hydrolysiert.

Die 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriester **25α-ε** verhielten sich in allen Hydrolyseuntersuchungen mit verschiedenen Medien analog zu den entsprechend modifizierten 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP Phosphattriestern. Die Halbwertszeiten der Verbindungen **25α-ε** waren dabei in jedem Fall niedriger als die der 3-Methyl-*cyclo*Sal-Derivate.

In den antiviralen Zelltests gegen HSV-1 erwiesen sich die *cyclo*Sal-BVDUMPs als selektive Inhibitoren des Wildtyp Virus (Kapitel 4.2.5.9., Seite 86). In dem Thymidin Kinase-defizienten Virusstamm wurde für die *cyclo*Sal-Derivate genau wie für BVDU **4** keine Aktivität gefunden. Da der viralen HSV-1 Thymidin Kinase Thymidylat Kinase Funktion assoziert ist, kann das aus den *cyclo*Sal-Phosphattriestern freigesetzte BVDUMP nicht zu BVDUDP metabolisiert werden.

In den antiviralen Zelltests gegen EBV zeigten alle 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs **25a-f** sowohl im DNA Synthese Assay als auch im VCA Expressions Assay hohe Aktivität (Kapiel 4.2.5.10., Seite 88). Dabei wurde die Effektivität der Referenzverbindung ACV von den aktivsten Verbindungen **25c** und **25d** übertroffen. Alle 3‘-*O*-acylierten *cyclo*Sal-BVDUMPs **25g-m** besaßen genauso wie BVDU **4** keine Aktivität. Nur einige der

3‘-aminoacylierten *cyclo*Sal-BVDUMPs zeigten in dem Test Aktivität, die im besten Fall genauso hoch war, wie die der Referenzverbindung.

Um Ergebnisse aus der Diplomarbeit zu verifizieren, wurde das acyclische Nucleosid-analogon Penciclovir **2** in einer nur drei Schritte umfassenden Reaktionsfolge in sehr guter Ausbeute von 44 % synthetisiert (Kapitel 4.3.2., Seite 94). Anschließend wurde 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP **26b** sowohl über die Acetylierung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** mit Essigsäureanhydrid (Kapitel 4.4.1.2., Seite 96), als auch in einer kürzeren Synthese über 9-(4-*O*-Acetoxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin **54** als Zwischenprodukt dargestellt (Kapitel 4.4.1.3., Seite 97). Im Vergleich der Synthesewege ist die Darstellung des Zwischenproduktes **54** mit anschließender Phosphitylierung/Oxidation dem sechsstufigem Reaktionsweg mit Acetylierung im letztem Schritt sowohl in der Ausbeute als auch im zeitlichem Anspruch überlegen.

Zusätzlich wurde 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphat **27**, das sich nur durch einen 2‘-Sauerstoff von der Penciclovirverbindung **26a**, auf dem selben Reaktionsweg unter Verwendung der schon bei **26a** verwendeten Schutzgruppenstrategie in 19 % Ausbeute über fünf Reaktionsschritte dargestellt (Kapitel 4.4.2.2., Seite 98). In allen Synthesen wurden die *cyclo*Sal-Derivate als 1:1 Gemische zweier Diastereomere erhalten.

Ebenfalls wurde für alle acyclischen *cyclo*Sal-Derivate die Verteilungskoeffizienten bestimmt. Sie waren etwas kleiner oder lagen im gleichen Bereich wie der von AZT **6** (Kapitel 4.4.4.1., Seite 102). Die passive Zellmembrandurchquerung sollte gegenüber den acyclischen Nucleosiden deutlich erleichtert sein.

In Hydrolysestudien konnte mittels ^{31}P-NMR Spektroskopie und ESI Massenspektrometrie nachgewiesen werden, daß die sehr kurze Hydrolysehalbwertszeit ($t_{1/2}$ = 1.62 h) von 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** in wässrigem Phosphatpuffer durch einen intramolekularen Angriff der freien 4‘-Hydroxylgruppe am Phosphatphosphor hervorgerufen wurde. Das resultierende cPCVMP **33** konnte auch in HPLC analytischen Coinjektionversuchen einer separat synthetisierten Referenz detektiert werden.

Das Hydrolyseverhalten der beiden GCV-Triester **27fast** und **27slow** wurde in wässrigem Phosphatpuffer bei pH 7.3 untersucht (Kapitel 4.4.4.2., Seite 104). Dabei konnten für die GCV-Verbindungen **27fast** und **27slow** genauso wie im Fall des PCV-Triesters **26a** eine sehr schnelle Hydrolyse festgestellt werden. Im Gegensatz zum PCV-Triester **26a** hydrolysieren beide acyclische Verbindungen selektiv zum entsprechenden Nucleosidmonophosphat.

In den antiviralen Zelltests gegen HSV-1 erwiesen sich die *cyclo*Sal-ACVMPs **28a** bzw. **28b** als selektive Inhibitoren sowohl des Wildtyp Virus als auch des Thymidin Kinase-defizienten Virusstammes. Das Ganciclovir-Derivat **27** erreichte zwar nicht ganz die Aktivität des Nucleosides GCV **3**, erhielt diese aber im TK^--Stamm. Beide Penciclovir Prodrugs waren gegen HSV-1 inaktiv (Kapitel 4.4.4.3., Seite 108).

Auch in den Zelltests gegen EBV zeigten die *cyclo*Sal-ACVMPs **28a** bzw. **28b** antivirale Aktivität, die in der gleichen Größenordnung lag wie die des gegen EBV aktiven Acyclovirs **1**. Die *cyclo*Sal-PCVMPs **26a** und **26b** waren wiederum inaktiv. Dies kann mit der Bildung des cPCVMPs **31** erklärt werden, das intrazellulär nicht metabolisiert wird (Kapitel 4.4.4.4., Seite 111).

Die 3‘-unmodifizierten BVDUMP Phosphattriester sind, soweit es bekannt ist, die ersten Beispiele für eine erfolgreiche Anwendung der Pro-Nucleotid Strategie auf ein Nucleosidanalogon, das eine freie 3‘-Hydroxyl Funktion aufweist. Besonders erwähnt werden muß, daß hier das zuvor gegen EBV vollständig inaktive Nucleosid BVDU **4** in eine jetzt aktive Form überführt wurde und somit das Anwendungsspektrum erweitert werden konnte.

Die BVDUMP-, ACVMP- und GCVMP-Verbindungen sind die ersten Beispiele für die erfolgreiche Anwendung des *cyclo*Sal-Konzeptes auf den viralen Thymidin Kinase Bypaß.

6. Summary

Target of this work was the synthesis of new, anti-viral activ nucleotide prodrugs and charcterization of its properties with respect to raise the effectiveness or widen the application of established anti-viral active nucleoside analogues.

Startpoint of the synthesis of all *cyclo*Sal-compounds were the corresponding salicylic alcohols **34a-f** and different, against herpes viruses active nucleoside analogues. As salicyclic alcohol-derivatives one acceptor-substituted compound **34a** (5-Cl) and donor-substituted compounds **34c** (5-OMe), **34d** (3-Me), **34e** (3,5-DiMe) and **34f** (3-*t*Bu) as well as the non-substituted derivative **34b** (5-H) were used. All were synthesized from corresponding salicylic acids or aldehydes in good yields of 73 – 99 % (chapter 4.1.2., page 29). From the alcohols the *cyclo*Sal-chlorophophites **37a**,**b**,**d**,**e** were synthesized in 40 – 79 % yield, the compounds were later used in the synthesis of the *cyclo*Sal-derivatives.

An example for a nucleoside containing a 3‘-hydroxyl function is BVDU **4**, which is active against some members of the herpes-virus-family. Some 3‘-unmodified and a series of 3‘-*O*-modified 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMP phosphotriesters were prepared in this work for the first time. The synthesis of the 3‘-unmodified derivatives **25a-f** suceeded by direct reaction with the phosphitilating agents (chapter 4.2.1.2., page 34) as well by use of a 3‘-protecting group (chapter 4.2.1.3., page 35). The advantage of the protecting group strategy was certainly overturned by the necessity of three further reaction steps.

The 3‘-modified 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDUMPs **25g-z** were prepared by esterification of carboxylic acids with different chain length (lipophilicity) and α-amino acids using dicyclohexylcarbodiimid with the 3‘-hydroxyl function of shortly before 5‘-*O*-TBDMS protected nucleoside analogue BVDU in 45 - 83 % yield (chapter 4.2.2.1., page 36). The synthesized precursors were converted to the target compounds by the known „Ein-Topf“-reaction in 23 - 73 % yield (chapter 4.4.3., page 38). One received pairs of diastereomers with a ratio of nearly 1:1, which could not be separeted.

The synthesis of 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP-derivatives **25α-ε** suceeded by direct reaction of the 3‘-modified nucleosides **41g**,**i**,**m**,**o**,**p** with the cyclic chlorophosphit **35b** as well by reaction with the cyclic phosphoramidite **36b**, which could be prepared by rection of chlorophosphite **35b** with di*iso*propylamine in good yields. A preference in regard to yield or

time needed could not be found in contrast to earlier examinations with the nucleoside analogue d4T (chapter 4.2.4., page 39ff).[113]

Qualitative clues for lipophilicity of the *cyclo*Sal-derivatives were the Nernst‘s partition coeffizients (PC-, log*P*-value). The partition coeffizient of AZT **6** (PC-value = 1.09, log*P* = 0.04) serve in these studies as a reverence for a possible passive membrane transport. The partition coefficients of the 3‘-unmodified *cyclo*Sal-BVDU phosphotriesters **25a-f** were 27 – 728 times higher (chapter 4.2.5.1., page 41), the ones of the 3‘-acyl-modified phosphotriesters **25g-m** were 138 – 939 times higher and the ones of the 3‘-aminoacyl-modified phosphotriesters **25n-z** were 0.16 – 2.97 times higher compared with AZT **6**. One should take into consideration, that in some cases of such high PC-values the formation of micelles or lipidfilm could not be excluded. This would influence the hydrolytic behavior markedly. By means of the polare aminogroup of the 3‘-aminoacyl-modified *cyclo*Sal-BVDU phospho-triesters **25n-z** the lipophilicity was turned back and the compounds were again very good watersoluble. All 5-H-*cyclo*Sal-BVDUMP-derivatives **25α-ε** behaved analogues to the corresponding 3-Methyl-modified triesters.

The hydrolysis behaviour of all *cyclo*Sal-BVDU phosphotriesters **25a-z** were examined in aqueous phosphate buffer with different pH-values, in different biological media and in human sera (chapter 4.2.5.2., page 47ff). Here were particularly all hydrolysis products detected by ^{31}P-NMR spektroskopy, ESI-mass spectrometry and by HPLC analytical coinjection tests with separatly synthesized reference compounds. One could show that unmodified *cyclo*Sal-BVDU phosphotriester **25a-f** hydrolysed independent of the used medium selectively to give BVDUMP **44** and corresponding salicylic alcohol **34a-f**. A clear subordination of the hydrolysis speed to the substituent in the aromatic ring could be noticed. However, a dependence of the speed from the pH-value could be noticed. Phosphotriesters **25d-f** showed in slightly acetical (pH 6.8) as well as in slightly basical phosphat buffer (pH 7.3) sufficient stability, while compounds **25a-c** hydrolysed very rapid.

The 3‘-*O*-acyl-modified derivatives **25g-m** showed a correlation between the hydrolysis behaviour and the lipophilicity. The more lipophilic, the more stable the triester was. Additionally we found out that independent from used medium all compounds **25g-m** hydrolysed the masking unit and were afterwards stabil. That meaned, hydrolysis of these compounds led to a dead end, because they did not set BVDUMP **44** free as well in cell hydrolysat as, both in human sera.

In all examinations with different media all 3‘-*O*-aminoacyl-modified *cyclo*Sal-BVDU phosphotriesters **25n-z** behaved in the same way. Halflife of all compounds was very short and the distribution of products in HPLC chromatogram showed, that first of all the 3‘-esterbond were broken befor the arised prototype **25d** hydrolysed to 3-methyl-salicylic alcohol **34d** and BVDUMP **44**. This might happen as, the aminogroup of the amino acid will be protonated till a pH-value of 9. By means of the positive charge electron density will be additionally withdrawn from the carbonylfunction and by that the ester bond will be cleaved easyly.

All 5-H-*cyclo*Sal-BVDU phosphotriesters **25α-ε** behaved in every hydrolysis examination with different media analog to corresponding modified 3-Methyl-*cyclo*Sal-BVDU phosphotriesters. Halflifes were in every case lower as determined for the 3-Methyl-*cyclo*Sal-derivatives.

In antiviral HSV-1 celltests the *cyclo*Sal-BVDUMPs proved to be selective inhibitors of the wild typ virus (chapter 4.2.5.9., page 86). In case of the thymidine kinase deficient virus no aktivity was detected as well as for BVDU **4**. Because viral HSV-1 thymidine kinase is thymidylate kinase functionality associated BVDUMP will not be metabolised to BVDUDP.

In antiviral EBV celltests all 3‘-unmodified *cyclo*Sal-BVDUMPs **25a-f** showed in the DNA synthese assay as well as in the VCA expression assay high aktivity (chapter 4.2.5.10., page 88). The effectivness of the reference compound ACV were exceeded by the most active compounds **25c** and **25d**. All 3‘-*O*-acylated *cyclo*Sal-BVDUMPs **25g-m** possessed no aktivity as the parent nucleoside BVDU **4**. Only view of the 3‘-aminoacylated *cyclo*Sal-BVDUMPs **25n-z** showed in the test assay aktivity, which was in the best case exactly in the same range as for the reference compound detected.

To verify results of the diploma thesis the acyclic nucleosid analogue Penciclovir **2** was prepared by a three step procedure in good 44 % yield overall (chapter 4.3.2., page 94). After that 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-PCVMP **26b** were synthesized by acetylating 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** with acetic acid anhydride (chapter 4.4.1.2., page 96) as well by a shorter synthesis with use of 9-(4-*O*-Acetoxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin **54** as intermediate (chapter 4.4.1.3., page 97). In comparison of both reactions the preparation of intermediate **54** with following phosphilation/oxidation was superior to the six step reaction with acetylation in the last reactionstep with respect to the overall yield.

Additionally 3-Methyl-*cyclo*Sal-ganciclovirmonophosphate **27**, which differs at 2‘-position in oxygen from the Penciclovir derivative **26a**, was synthesized by using the same protection group strategy that was used by preparation of **26a** in 19 % yield over five reaction steps (chapter 4.4.2.2., page 98). In all synthesis the *cyclo*Sal-derivatives were received as 1:1 mixture of two diastereomeres.

As well were for the acyclic *cyclo*Sal-derivatives the partition coeffizients detected. They were slightly smaller or were in the same range compared to AZT **6** (chapter 4.4.4.1., page 102). In all cases passive cellmembrane crossing should be much easier compared to the parent nucleosides.

In hydrolysis studies in aqueous phosphate buffer one could certify with ^{31}P-NMR spectroscopy and ESI-mass spectrometry, that the very short halflife ($t_{1/2}$ = 1.62 h) of 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP **26a** were caused by an intramolecular attack of the free 4‘-hydroxyl group at the phosphatphosphorus. The resulting cPCVMP **31** were detected by HPLC analytical coinjection experiments with separatly synthesized references, too.

The hydrolysis behavior of both GCV-Triester **27fast** and **27slow** were examined in aqueous phosphate buffer by pH 7.3 (chapter 4.4.4.2, page 104). The GCV-compounds **27fast** and **27slow** possessed as well as the PCV-triester **26a** a very short halflife. Certainly both acyclic derivitives **27** hydrolized selectively to the corresponding nucleoside monophosphate.

In antiviral HSV-1 celltests the *cyclo*Sal-ACVMPs **28a** and **28b** proved to be selective inhibitors of both the wild typ virus and the thymidine kinase deficient virus (chapter 4.4.4.3., page 108). The ganciclovir-derivative **27** did not reach the activity of the parent nucleoside GCV **3** at all, but kept it against the TK$^-$-virus. Both penciclovir prodrugs proved to be inactive against HSV-1.

Again in antiviral celltests against EBV both *cyclo*Sal-ACVMPs **28a** and **28b** showed activity, which was in the same magnitude compared to the anti-EBV active acyclovir **1** (chapter 4.4.4.4., page 111). Both *cyclo*Sal-PCVMPs **26a** and **26b** were again inactive. This could be explained with formation of cPCVMP **31**, that will be probably not intracellular metabolised.

To the best of our knowledge the 3‘-unmodified BVDUMP Phosphotriester represent the first examples of successful application of a pro-nucleotide strategy to a nucleotide analogue that contains a free 3‘-hydroxyl group. Particularly should be mentioned, that in this work the

against EBV completely inactive nucleoside BVDU **4** is converted in a now active form and consequently the application spectrum is widened.

The *cyclo*Sal-BVDUMP-, ACVMP- and GCVMP-compounds are the first examples for the successful application of the *cyclo*Sal-conzept to the viral thymidine kinase bypass.

7. Ausblick

Weiterführende Untersuchungen des *cyclo*Sal-Pro-Nucleotid-Konzeptes werden zunächst darauf zielen, dieses Konzept auf weitere antiviral oder antitumor wirksame Nucleosidanaloga anzuwenden. Interessant wäre in diesem Zusammenhang die *cyclo*Sal-Verbindung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-1-β-D-arabinofuranosyluracil (BVaraU, sorivudine®). Dieses BVDU-verwandte Nucleosidanalogon besitzt sehr hohe Aktivität gegen VZV und HSV-1 in *in vitro* Zelltests[137] und ist außerdem noch resistent gegen enzymatische Spaltung der glycosidischen Bindung.[138]
Desweiteren ist bis heute die Übertragung des *cyclo*Sal-Prodrug-Konzeptes auf antiviral aktive acyclische Nucleosidphosphonate wie PMEA nicht gelungen. Dieses besitzt sehr gute antivirale Aktivität gegen HIV-1 und HIV-2 sowie eine Reihe von DNA-Viren (HSV, CMV und VZV). Aufgrund seiner zweifachen negativen Ladung besitzt PMEA eine schlechte Bioverfügbarkeit. Der Einbau der *cyclo*Sal-Maske könnte dies entscheident verbessern.

Ermutigt durch die sehr guten Daten in den anti-EBV Zelltests der 3‘-unmodifizierten *cyclo*Sal-BVDUMPs sollten Verbindungen synthetisiert und getestet werden, die andere Substituenten im aromatischen System der Maskierungseinheit tragen. Mögliche Ansätze wurden für andere Nucleoside schon in der Arbeitsgruppe verfolgt. Zum Beispiel stellt das Konzept des „lock-in“ eine interessante Möglichkeit dar, lipophile Substanzen nach Zellmembrandurchquerung in die Zelle hinein den Weg heraus zu versperren (vgl. Kapitel 2.4.5., Seite 22ff). Andere Beispiele wären statt einer Methylgruppe am Aromaten zu substituieren, eine noch lipophilere Phenylgruppe zu benutzen oder einen oder mehrere aromatische Ringsysteme zu annelieren.

Obwohl der Einbau der α-Aminosäuren nur zum Teil erfolgreich war, sollte mit weiteren funktionalisierten Aminosäuren mit natürlicher oder unnatürlicher Konfiguration am asymmetrischen Zentrum mehr Anhaltspunkte für eine Struktur-Wirkungsbeziehung gefunden werden. Zusätzlich sollte mit der Verwendung von β- oder γ-Aminosäuren die These für die Instabilität der Esterbindung unter physiologischen Bedingungen überprüft werden, da in solchen Derivaten der elektronenziehende Einfluß der protonierten Aminogruppe auf den Carbonylkohlenstoff stark reduziert sein sollte.
Die Synthese von 3‘-Peptidkonjugaten wäre ein weiterer Schritt den in dieser Arbeit begonnenen Weg fortzuführen. Diese neue Verbindungsklasse könnte zum einen von einem aktivem Zellmembrantransport durch Peptid-Carrier profitieren, zum anderen könnte auf

diese Weise eine zweite Wirkstoffkomponente oder zwei Wirkstoffvorläufer in einem Molekül in die Zelle gebracht werden.

In früheren Arbeiten wurde ein großer Einfluß der Konfiguration des Phosphors auf die Hydrolysehalbwertszeit als auch auf die antivirale Aktivität der Verbindungen gefunden.[97,112,131] Deshalb sollte weiterhin versucht werden, die Diastereomere der *cyclo*Sal-BVDUMPs zu trennen oder eine diastereoselektive Synthese zu entwickeln.

8. Experimentalteil

8.1. Allgemeines

8.1.1. Lösungsmittel

Acetonitril; C_2H_3N [41.05]; Sdp.: 81-82 °C; d = 0.78

a) puriss. absolut, über Molsieb, $H_2O \leq 0.001$ %; Fluka Nr. 0069.
b) zur Synthese; Merck Nr. 800015.

Benzol; C_6H_6 [78.11]; Sdp.: 79-81 °C; d = 0.879; min. 99.7 %; Riedel-de-Haën Nr. 32212.

Dichlormethan; CH_2Cl_2 [84.93]; Sdp.: 39-40 °C; d =1.325

a) technische Qualität; über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.
b) puriss. absolut, über Molsieb, $H_2O \leq 50$ ppm; Fluka Nr. 66749.

Diethylether; $C_4H_{10}O$ [74.12]; technische Qualität; Sdp.: 35 °C;

a) bei Normaldruck destilliert und über Kaliumhydroxid aufbewahrt.
b) über Natrium refluxiert und bei Normaldruck destilliert.

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

Methanol; CH_4O [32.04]; Sdp.: 64 °C; d = 0.791

a) technische Qualität; bei Normaldruck destilliert.
b) puriss. absolut, über Molsieb, Fluka Nr. 65542.

Petrolether (45-60); technische Qualität; Sdp.: 45-60 °C; im Vakuum destilliert.

Tetrahydrofuran; C_4H_8O [72.11]; puriss. absolut über Molsieb, $H_2O \leq 50$ ppm; Fluka Nr. 87371.

Pyridin; C_5H_5N [79.10]; puriss. absolut über Molsieb, $H_2O \leq 50$ ppm; Fluka Nr. 82704.

Toluol; C_7H_8 [92.14]; technische Qualität; Sdp.: 110 °C; bei Normaldruck destilliert.

8.1.2. 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 27 min eingeleite. Das Ammoniakgas wurde dabei durch zwei mit Kalium-hydroxid-Plätzchen gefüllte Gaswaschflaschen vorgetrocknet, die Kühlung der Methanollösung erfolgte durch eine Eis-Kochsalz-Kältemischung. Die fertige Ammoniak-gesättigte Methanollösung wurde anschließend bei -20 °C gelagert.

Ionenpaarungspuffer für die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)
Es wurden 1000 ml Wasser und 6.6 ml Tetrabutylammoniumhydroxid gemischt und mit konzentrierter Phosphorsäure der pH-Wert auf 3.8 eingestellt (Puffer I). Zu 60 ml der Puffer I-Lösung wurden wiederum 1000 ml Wasser gegeben, um den eigentlichen Ionenpaarungspuffer zu erhalten (Puffer II).

50 mM Phosphatpuffer (PBS, pH 6.8) für die Hydrolysekinetiken
In 1000 ml Wasser wurden 8 g (137 mmol) Natriumchlorid, 0.2 g (2.68 mmol) Kaliumchlorid, 7.2 g (41.5 mmol) Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat ($Na_2HPO_4*2H_2O$) und 1.4 g (8.8 mmol) Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) gelöst und falls nötig der pH-Wert mittels verdünnter Salzsäure oder verdünnter Natronlauge auf 6.8 eingestellt.

50 mM Phosphatpuffer (pH 7.3) für die Hydrolysekinetiken
In 1000 ml Wasser wurden 6.85 g (38.5 mmol) Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat ($Na_2HPO_4*2H_2O$) und 1.55 g (11.4 mmol) Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) gelöst und falls nötig der pH-Wert mittels verdünnter Phosphorsäure oder verdünnter Natronlauge auf 7.3 eingestellt.

8.1.3. Chromatographie

8.1.3.1. Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr. 5554; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Platten wurden auf eine Größe von 2 - 4 x 10 cm zugeschnitten; die Laufstrecke betrug 8 - 9 cm. Alle R_f-Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm.

8.1.3.2. Zirkulare, zentrifugale Dünnschichtchromatographie (CCTLC)

Mittels eines Chromatotrons der Firma Harrison Research, Modell 7924 T, wurden Substanzgemische mit Rohausbeuten von maximal 4 g getrennt. Als Trennmaterial diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF_{254} (Merck Nr. 7749) in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Durchmesser: 20 cm). Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

8.1.3.3. Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)

Substanzgemische mit mehr als 4 g Rohausbeute wurden über eine Säule mit leichtem Überdruck aufgereinigt.[139] Als Trennmaterial wurde Kieselgel mit einer Korngröße von 63-200 µm (Baker Nr. 0253) verwendet.

8.1.3.4. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC):

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an zwei Merck-Hitachi-Anlagen durchgeführt.

Software:	Chromatography Data Station Software HPLC-Manager Version 2
Interface:	Model D 6000
Pumpe:	Model L 6200 A Intelligent Pump
Automatischer Probenwechsler:	Model AS 2000 A
Detektion	UV, 260 nm
Analytische Säule:	LiChroCART 250-3 mit Lichrospher 100-3 RP 18 (5 µm) Füllmaterial
Semipräparative Säule:	LiChroCART 250-10 mit Lichrospher 100-10 RP 18 (10 µm) Füllmaterial
Software:	Chromatography Data Station Software

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

HPLC-Methoden:

1. Analytische Reinheitskontrollen

Gradient A:

Acetonitril-Gradient in Wasser von 12-80 % in 20 min, dann 15 min isokratisch 12 % Acetonitril mit einer Flußrate von 0.6 ml/min.

Gradient B:

Acetonitril-Gradient in Wasser von 5-95 % in 20 min, dann 13 min isokratisch 5 % Acetonitril mit einer Flußrate von 0.5 ml/min.

Gradient C:

Isokratisch 100 % Ionenpuffer (Tetrabutylammoniumphosphat, pH 3.8) bis 2 min, Acetonitril-Gradient von 0-50 % in 21 min, 5 min 100 % Acetonitril und anschließend 12 min isokratisch 100 % Laufpuffer mit einer Flußrate von 0.5 ml/min.

Gradient D:

Acetonitril-Gradient in Wasser von 8-100 % Acetonitril in 22 min, 5 min 100 % Acetonitril, dann 6 min isokratisch 8 % Acetonitril mit einer Flußrate von 0.6 ml/min.

Gradient E:

Acetonitril-Gradient in Ionenpaarungspuffer von 8-100 % Acetonitril in 22 min, 5 min 100 % Acetonitril, dann 6 min isokratisch 8 % Acetonitril mit einer Flußrate von 0.6 ml/min.

2. Semipräparative Trennungen

Isokratisch mit 17 % Acetonitril und 63 % Wasser bei einer Flußrate von 4 ml/min und UV-Detektion bei 260 nm.

3. Verteilungskoeffizient

Zur Bestimmung der Verteilungskoeffizienten (PC-Werte) wurde ein Acetonitril-Gradient in Wasser oder Ionenpaarungspuffer von 0-100 % in 20 min bei einer Flußrate von 0.5 ml/min und einer UV-Detektion bei 260 nm verwendet.

8.1.4. Kernresonanzspektroskopie (NMR)

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

^{1}H-NMR:

Bruker AC 250 (250 MHz), Bruker WM 400 (400 MHz), Bruker AMX 400 (400 MHz), Bruker DMX 500 (500 MHz), Bruker DMX 600 (600 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).

^{13}C-NMR:

Bruker AC 250 (63 MHz), Bruker WM 400 (101 MHz), Bruker AMX 400 (101 MHz), Bruker DMX 500 (123 MHz).

Die Standardisierung erfolgte gegen $CDCl_3$ (δ = 77.0 ppm) und DMSO-d_6 (δ = 39.7 ppm).

^{19}F-NMR:

Bruker DMX 500 (471 MHz).

Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard ($CFCl_3$).

^{31}P-NMR:

Bruker AC 250 (81 MHz), Bruker AMX 400 (162 MHz), Bruker DMX 500 (202 MHz).

Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard (85% Phosphorsäure).

Zur Wiedergabe der Multiplizitäten in den ^{1}H-, ^{13}C- ^{19}F- und ^{31}P-NMR-Spektren finden folgende Abkürzungen Verwendung:

br. = breit, s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, quin = Quintett, sept = Septett, m = Multiplett, ar. = aromatisch.

8.1.5. Massenspektrometrie (ESI)

Die ESI-Massenspektren wurden an der Universität Würzburg mit einem Elektrospray-Gerät (TSQ 7000, Finnegan MAT, Bremen) und an der Universität Hamburg mit einem Elektrospray-Gerät (Finnegan MAT 95 Trap XL) gemessen und mit der Software ISIS 8.1 nachbearbeitet. Als Fließmittel wurde Acetonitril mit 0.1 % Essigsäure benutzt.

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

8.1.6. Ultraviolettspektroskopie (UV)

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

8.1.7. Infrarotspektroskopie (IR)

Die IR-Spektren wurden an der Universität Würzburg auf einem Perkin Elmer 1600 Series FTIR und an der Universität Hamburg auf einem ATI Mattson Genesis Series FTIR aufgenommen.

8.2. Geräte

8.2.1. Gefriertrocknung

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

8.2.2. Thermomixer

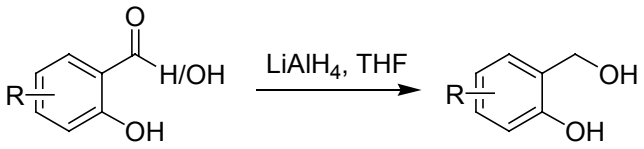
Die Hydrolysestudien wurden bei 37 °C in einem Eppendorf Thermomixer 5436 durchgeführt.

8.3. Darstellungen

Alle Reaktionen wurden in vorher ausgeheizten Rundkolben, unter Argonatmosphäre und mit trockenen Lösungsmitteln durchgeführt.

8.3.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

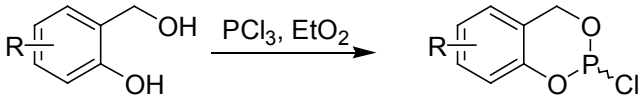
8.3.1.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Reduktion von Salicylsäuren bzw. –aldehyden



33a,**d**,**e**,**g** **34a**,**d**,**e**,**g**

Zu 1.25 Äquivalenten Lithiumaluminiumhydrid suspendiert in Tetrahydrofuran wurden 1.0 Äquivalenten der Salicylsäure oder des Salicylaldehyds gelöst in Tetrahydrofuran so zugetropft, daß die Reaktionsmischung gerade siedete. Nach beendeter Zugabe ließ man zwei Stunden bei Raumtemperatur und anschließend eine Stunde unter Rückfluß rühren. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde überschüssiges Lithiumaluminiumhydrid mit Wasser hydrolysiert und die Reaktionsmischung mittels 10 %iger Schwefelsäure auf pH 3 eingestellt. Es wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und eingeengt.

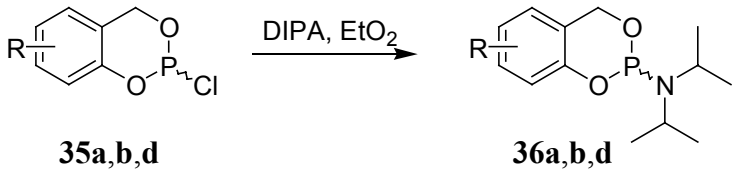
8.3.1.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der *cyclo*Sal-chlorphosphite



34a,**b**,**d**,**e**,**g** **35a**,**b**,**d**,**e**,**g**

1.0 Äquivalente Salicylalkohol wurde in Diethylether gelöst und zu einer Lösung aus 1.1 Äquivalenten Phosphortrichlorid in Diethylether langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde bei Raumtemperatur 10 Minuten gerührt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Öl wurde mittels einer Kugelrohrdestille destilliert.

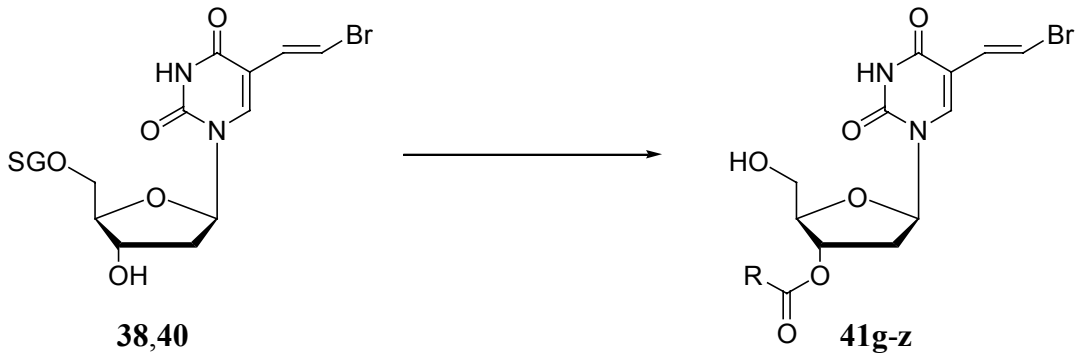
8.3.1.3. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der *cyclo*Sal-Phosphoramidite



35a,**b**,**d** **36a**,**b**,**d**

Zu einer Lösung aus 1.0 Äquivalenten des *cyclo*Sal-chlorphosphites gelöst in Diethylether wurden unter Schutzgasatmosphäre eine Lösung aus 2.0 Äquivalenten Di*iso*propylamin gelöst, in wenig Diethylether langsam zugetropft und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Di*iso*propylammoniumchlorid wurde unter Schutzgasatmosphäre abfiltriert. Das Lösungsmittels wurde im Vakuum entfernt.

8.3.1.4. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von 3‘-veresterten BVDU



38,**40** **41g-z**

Zu einer Lösung aus 1.0 Äquivalenten 5‘-geschütztem (*E*)-5-(2-bromovinyl)-2‘-desoxyuridin, 2.0 Äquivalenten Dimethylaminopyridin und 1.10 Äquivalenten der Carbonsäure oder der *N*-BOC geschützten Aminosäure in Dichlormethan wurden unter Schutzgasatmosphäre und bei Raumtemperatur 1.10 Äquivalente Dicyclohexylcarbodiimid gelöst in Dichlormethan zugetropft. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, bis kein Edukt mehr sichtbar war. Die Reaktionsmischung wurde filtriert, das Filtrat im Vakuum eingeengt und anschließend chromatographiert (Dichlormethan mit Methanolgradient). Die Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit.

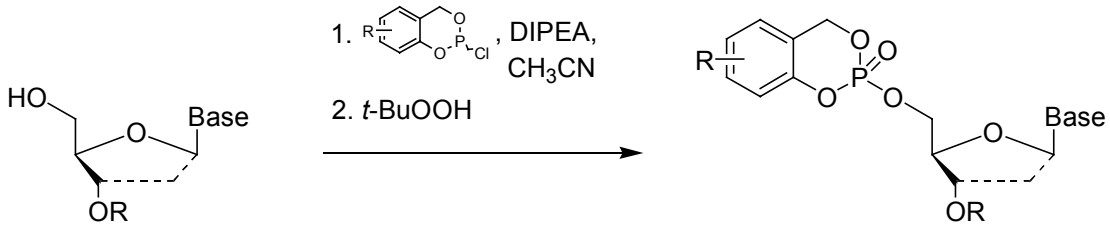
DMTr-Schutzgruppe:

Das erhaltene Produkt wurde in 10 ml 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v) aufgenommen und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

TBDMS-Schutzgruppe:

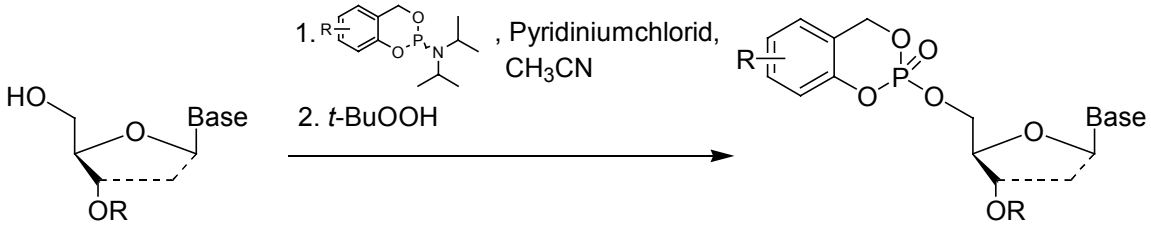
Das erhaltene Produkt wurde in Tetrahydrofuran aufgenommen und 0.5 ml einer ca. 1 M Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran zugegeben. Die Reaktionslösung wurde vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

8.3.1.5. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphaten (Chlorphosphit Methode)



Zu 1.0 Äquivalenten Nucleosid, gelöst in Acetonitril wurden unter Schutzgasatmosphäre Di*iso*propylethylamin zugegeben und die Reaktionslösung auf -20 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur wurde das *cyclo*Sal-chlorphosphit langsam zugetropft und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem die Reaktionslösung auf -5 °C gebracht worden war, wurde eine Lösung aus *tert*-Butylhydroperoxid in Decan zugetropft und wiederum zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde am Chromatotron gereinigt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient von 0 bis 20 %; 2. Essigsäureethylester mit Methanol-Gradient von 0 bis 10 %).

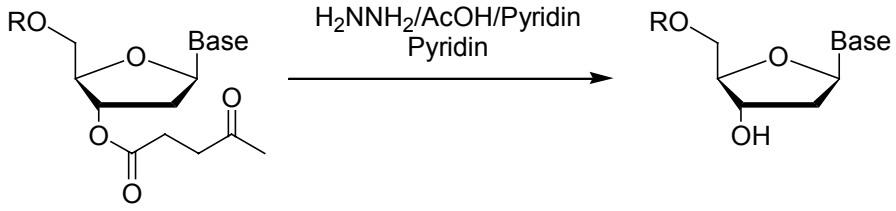
8.3.1.6. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphaten (Phosphoramidit Methode)



Zu einer Lösung aus 1.0 Äquivalenten Nucleosid in Acetonitril wurden bei 0 °C 4.0 Äquivalente Pyridiniumchlorid und 2.5 Äquivalente *cyclo*Sal-phosphoramidit gelöst in wenig Acetonitril zugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Mit 2.5 Äquivalenten einer *tert*-Butyl-hydroperoxidlösung in Decan wurde bei 0 °C versetzt und wiederum auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert

und der Rückstand in Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde dreimal mit Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden einmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde dreimal am Chromatotron aufgereinigt (1. Ethylacetat (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. und 3. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient).

8.3.1.7. Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 3‘-Levulinyl-Schutzgruppe

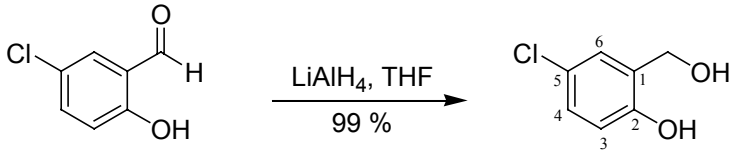


38 **39a-f**

1.0 Äquivalente des *cyclo*Sal-3‘-Levulinylnucleosidmonophosphats wurde in Pyridin gelöst und mit einer Lösung aus 2.0 Äquivalenten Hydrazinhydrat (24 %), 4.0 Äquivalenten Pyridin und 3.0 Äquivalenten Essigsäure versetzt. Nach 5 min. wurde auf 0 °C gekühlt und die Reaktionslösung mit gleichen Mengen an Ethylacetat und Wasser verdünnt. Nach der Phasentrennung wurde die organische Phase mit 5 %iger Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungmittel unter verminderten Druck abkondensiert. Der Reaktionsrückstand wurde chromatographisch aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

8.3.2. Darstellung der Salicylalkohole

8.3.2.1. Darstellung von 5-Chlorsalicylalkohol



33a **34a**

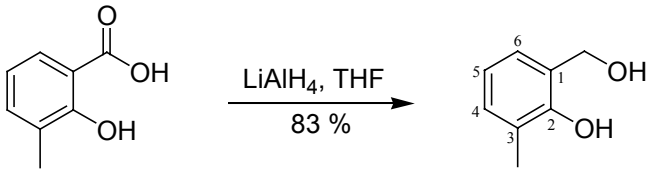
Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.1. durchgeführt. Es wurden 1.20 g (32.0 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, 40 ml trockenes Tetrahydrofuran und 5.00 g (31.9 mmol) 5-Chlorsalicylaldehyd verwendet.

Ausbeute: 5.30 g (31.6 mmol, 99 %) eines farblosen Feststoffes.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 9.62 (s, 1H, phenol. OH); 7.25 (d, 1H, $^4J_{H6,H4}$ = 3.2 Hz, H6); 7.04 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3}$ = 8.7 Hz, $^4J_{H4,H6}$ = 3.2 Hz, H4); 6.74 (d, $^3J_{H3,H4}$ = 8.2 Hz, H3); 5.08 (t, 1H, $^3J_{OH,H(benzyl)}$ = 5.6 Hz, benzyl. OH); 4.43 (d, 2H, $^3J_{H(benzyl),OH}$ = 5.6 Hz, benzyl. H).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 152.99 (C2); 131.22 (C1); 126.87 (C4); 126.66 (C6); 122.56 (C5); 116.14 (C3); 57.86 (C_{benzyl}).

8.3.2.2. Darstellung von 3-Methylsalicylalkohol



33d **34d**

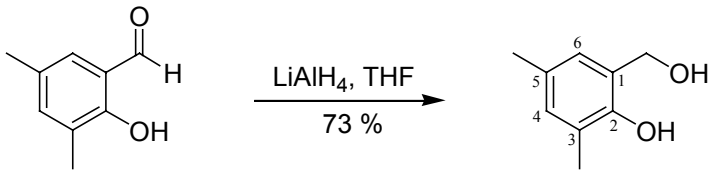
Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.1. durchgeführt. Es wurden 6.20 g (164 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, 200 ml trockenes Tetrahydrofuran und 20.0 g (131 mmol) 3-Methylsalicylsäure verwendet.

Ausbeute: 15.2 g (110 mmol, 83 %) eines farblosen kristallinen Feststoffs.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6): 8.38 (s, 1H, phenol. OH); 7.04 (d, 1H, $^3J_{H6,H5}$ = 7.6 Hz, H6); 6.95 (d, 1H, $^3J_{H4,H5}$ = 7.6 Hz, H4); 6.71 (dd, 1H, $^3J_{H5,H4}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H5,H6}$ = 7.6 Hz, H5); 5.27 (s, 1H, benzyl. OH); 4.56 (s, 2H, benzyl. H); 2.15 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6): 152.57 (C2); 129.01 (C5); 127.95 (C4); 125.01 (C6); 124.07 (C1); 118.97 (C3); 59.87 (C_{benzyl}); 16.14 (CH_3).

8.3.2.3. Darstellung von 3,5-Dimethylsalicylalkohol



33e **34e**

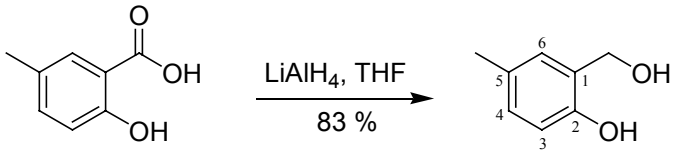
Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.1. durchgeführt. Es wurden 1.80 g (48.8 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, 50 ml trockenes Tetrahydrofuran und 5.90 g (39.0 mmol) 3,5-Dimethylsalicylaldehyd verwendet.

Ausbeute: 4.30 g (28.3 mmol, 73 %) eines farblosen Feststoffs.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6): 8.15 (s, 1H, phenol. OH); 6.84 (s, 1H, H6); 6.75 (s, 1H, H4); 5.23 (br. s, 1H, benzyl. OH); 4.53 (s, 2H, benzyl. H); 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); 129.52 (C4); 127.74 (C5); 127.26 (C1); 125.50 (C6); 123.84 (C3); 59.93 (C_{benzyl}); 20.14 (C3-CH_3); 16.14 (C5-CH_3).

8.3.2.4. Darstellung von 5-Methylsalicylalkohol



33g **34g**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.1. durchgeführt. Es wurden 6.20 g (164 mmol) Lithiumaluminiumhydrid, 200 ml trockenes Tetrahydrofuran und 20.0 g (131 mmol) 5-Methylsalicylsäure verwendet.

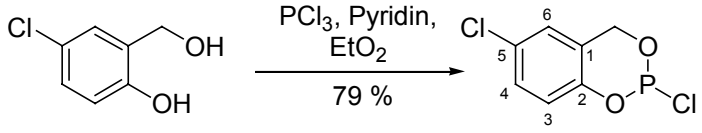
Ausbeute: 15.2 g (110 mmol, 83 %) eines farblosen kristallinen Feststoffs.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 8.99 (s, 1H, phenol. OH); 7.08 (d, 1H, $^{4}J_{H6,H4}$ = 2.9 Hz, H6); 6.82 (dd, 1H, $^{3}J_{H4,H3}$ = 10.0 Hz, $^{4}J_{H4,H6}$ = 2.9 Hz, H4); 6.71 (d, 1H, $^{3}J_{H3,H4}$ = 10.0 Hz, H3); 4.87 (s, 1H, benzyl. OH); 4.46 (s, 2H, benzyl. H); 2.19 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 152.09 (C2); 128.37 (C5); 128.15 (C4); 127.78 (C6); 127.15 (C1); 114.66 (C3); 58.55 (C_{benzyl}); 20.53 (CH_3).

8.3.3. Darstellung der cyclischen Chlorphosphite

8.3.3.1. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit



34a **35a**

Zu einer Lösung aus 5.00 g (31.5 mmol) Salicylalkohol in 15 ml Diethylether wurden 4.76 g (34.7 mmol) Phosphortrichlorid und anschließend 1.24 g (1.27 ml, 15.6 mmol) Pyridin, gelöst in wenig trockenem Diethylether, langsam zugetropft. 1.5 Stunden wurde bei -10 °C und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man ließ 14 Stunden bei 4 °C stehen. Der gebildete Niederschlag wurde unter Schutzgasatmosphäre abgetrennt und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Das erhaltene Öl wurde destilliert.

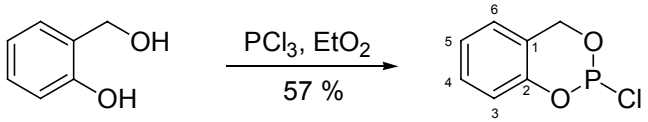
Ausbeute: 5.70 g (25.1 mmol; 79 %) eines farblosen Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.21 (dd, 1H, $^{3}J_{H4,H3}$ = 8.7 Hz, $^{4}J_{H4,H6}$ = 2.5 Hz, H4); 6.97 (d, 1H, $^{4}J_{H6,H4}$ = 2.5 Hz, H6); 6.91 (d, 1H, $^{3}J_{H3,H4}$ = 8.7 Hz, H3); 5.40 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^{3}J_{H(a)benzyl,P}$ = 2.3 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 4.98 (dd, 1H, $^{2}J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^{3}J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.6 Hz, $H_{(b)benzyl}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 144.68 (C2); 130.34 (C1); 129.31 (C5); 125.67 (C6); 122.79 (C4); 120.98 (C3); 65.95 (C_{benzyl}).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 139.83 (s).

8.3.3.2. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit



34b **35b**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.2. durchgeführt. Es wurden 10.0 g (80.6 mmol) Salicylalkohol, 40 ml Diethylether und 7.70 ml (88.6 mmol) Phosphortrichlorid verwendet.

Ausbeute: 8.50 g (45.0 mmol; 57 %) eines farblosen Öls.

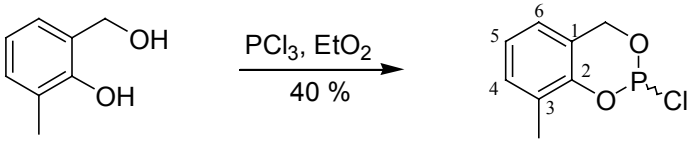
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 7.29 (dd, 1H, $^{3}J_{H4,H3}$ = 8.2 Hz, $^{3}J_{H4,H5}$ = 8.2 Hz, H4); 7.13 (dd, 1H, $^{3}J_{H5,H4}$ = 7.6 Hz, $^{3}J_{H5,H6}$ = 7.6 Hz, H5); 7.00 (dd, 2H, $^{3}J_{H3,H4}$ = 8.2 Hz, $^{3}J_{H6,H5}$ = 8.2 Hz, H3, H6); 5.48 (dd, 1H,

$^{2}J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 13.8 Hz, $^{3}J_{H(benzyl),P}$ = 13.8 Hz, H_{benzyl}); 5.06 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 10.1 Hz, $^{3}J_{H(benzyl),P}$ = 13.9 Hz, H_{benzyl}).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 144.6 (d, $^{2}J_{C2,P}$ = 6.7 Hz, C2); 130.5 (d, $^{4}J_{C4,P}$ = 5.7 Hz, C4); 128.4 (d, $^{3}J_{C1,P}$ = 1.9 Hz, C1); 123.2 (t, $^{5}J_{C5,P}$ = 17.2 Hz, $^{3}J_{C6,P}$ = 19.1 Hz, C5+C6); 121.2 (d, $^{3}J_{C3,P}$ = 12.4 Hz, C3); 61.2 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 1.9 Hz, C_{benzyl}).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 141.26 (s).

8.3.3.2. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit



34d **35d**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.2. durchgeführt. Es wurden 2.00 g (14.4 mmol) 3-Methylsalicylalkohol, 15 ml Diethylether und 2.30 g (1.45 ml; 16.6 mmol) Phosphortrichlorid verwendet.

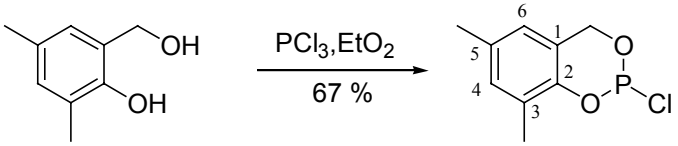
Ausbeute: 1.16 g (5.73 mmol; 40 %) eines farblosen Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.14 (d, 1H, $^{3}J_{H4,H5}$ = 7.4 Hz, H4); 7.00 (dd, 1H, $^{3}J_{H5,H4}$ = 7.5 Hz, $^{3}J_{H5,H6}$ = 7.5 Hz, H5); 6.81 (d, 1H, $^{3}J_{H6,H5}$ = 7.4 Hz, H6); 5.23 (dd, 2H, $^{3}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 11.6 Hz, $^{2}J_{H(benzyl),P}$ = 11.6 Hz, H_{benzyl}); 2.26 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 144.6 (d, $^{2}J_{C2,P}$ = 6.7 Hz, C2); 130.5 (d, $^{4}J_{C4,P}$ = 5.7 Hz, C4); 128.4 (d, $^{3}J_{C1,P}$ = 1.9 Hz, C1); 123.3 (d, $^{5}J_{C5,P}$ = 17.2 Hz, C5); 123.1 (d, $^{4}J_{C6,P}$ = 19.1 Hz, C6); 121.2 (d, $^{3}J_{C3,P}$ = 12.4 Hz, C3); 61.2 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 1.9 Hz, C_{benzyl}); 15.6 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 140.95 (s).

8.3.3.4. Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit



34e **35e**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.2. durchgeführt. Es wurden 2.75 g (18.1 mmol) 3,5-Dimethylsalicylalkohol, 30 ml Diethylether und 2.74 g (19.9 mmol) Phosphortrichlorid verwendet.

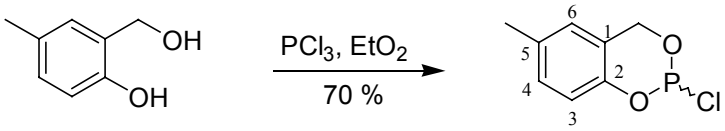
Ausbeute: 2.60 g (12.1 mmol; 67 %) eines farblosen Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 6.93 (s, 1H, H4); 6.60 (s, 1H, H6); 5.37 (br. s, 1H, $H_{benzyl(a)}$); 4.97 (br. s, 1H, $H_{benzyl(b)}$); 2.26 (s, 3H, CH_3); 2.20 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 142.34 (C2); 132.92 (C5); 132.81 (C1); 131. 18 (C3); 129.42 (C4); 123.42 (C6); 61.28 (C_{benzyl}); 20.61 (CH_3); 15.34 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 141.58 (s).

8.3.3.5. Darstellung von 5-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit



34g **35g**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.2. durchgeführt. Es wurden 2.00 g (14.4 mmol) 5-Methylsalicylalkohol, 15 ml Diethylether und 2.30 g (1.45 ml; 16.6 mmol) Phosphortrichlorid verwendet.

Ausbeute: 2.04 g (10.1 mmol; 70 %) eines farblosen Öls.

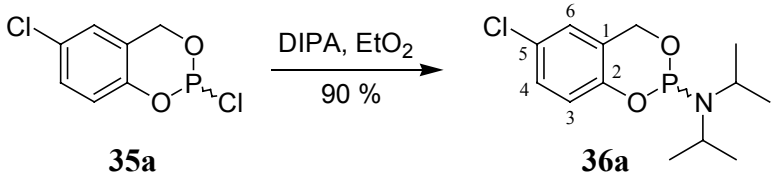
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 7.20 (d, 1H, $^{3}J_{H4,H3}$ = 8.0 Hz, H4); 7.01 (d, 1H, $^{3}J_{H3,H5}$ = 8.0 Hz, H3); 6.92 (s, 1H, H6); 5.55 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.3 Hz, $^{3}J_{H(a)benzyl,P}$ = 2.3 Hz, $H_{a\ benzyl}$); 5.12 (dd, 1H, $^{2}J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^{3}J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.6 Hz, $H_{b\ benzyl}$); 2.45 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 147.05 (C2); 134.06 (C4); 130.19 (C1); 126.41 (C5); 125.87 (C6); 119.23 (C3); 61.52 (d, $^{2}J_{Cbenzyl,P}$ = 1.9 Hz, C_{benzyl}); 21.16 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): 140.92 (s).

8.3.4. Darstellung der cyclischen Phosphoramidite

8.3.4.1. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit



35a **36a**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.3. durchgeführt. Es wurden 1.00 g (4.90 mmol) 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit, 7 ml Diethylether und 0.99 g (1.39 ml, 9.80 mmol) Di*iso*propylamin verwendet.

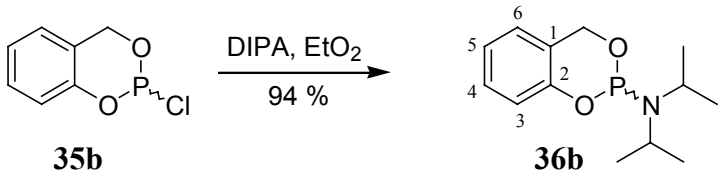
Ausbeute: 1.20 g (4.4 mmol; 90 %) eines gelblichem Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.01 (d, 1H, $^{3}J_{H4,H3}$ = 8.4 Hz, H4); 6.83-6.79 (m, 2H, H3, H6); 5.10 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.0 Hz, $^{3}J_{H(a)benzyl,P}$ = 5.9 Hz, $H_{a\ benzyl}$); 4.84 (dd, 1H, $^{2}J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.1 Hz, $^{3}J_{H(b)benzyl,P}$ = 20.1 Hz, $H_{b\ benzyl}$); 3.71-3.58 (m, 2H, H1$_{i\text{Pr}}$); 1.26 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$); 1.24 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 150.85 (C2); 130.32 (C1); 129.07 (C3); 125.61 (C6); 118.77 (C4); 64.22 (C_{benzyl}); 44.14 (CH$_{i\text{Pr}}$); 24.60 ($CH_{3\ i\text{Pr}}$).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 135.83 (s).

8.3.4.2. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphospharamidit



35b **36b**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.3. durchgeführt. Es wurden 1.00 g (5.3 mmol) 5-*H*-*cyclo*Sal-chlorphosphit, 7 ml Diethylether und 1.00 g (1.46 ml, 10.3 mmol) Di*iso*propylamin verwendet.

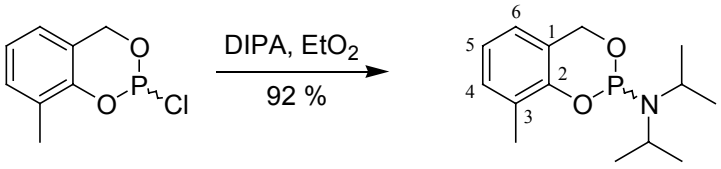
Ausbeute: 1.26 g (4.99 mmol; 94 %) eines gelblichem Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.02 (m, 2H, $H6_{ar}$, $H4_{ar}$); 6.75 (dd, 1H, $^{3}J_{H5,H6}$ = 8.2 Hz, $^{3}J_{H5,H4}$ = 8.2 Hz, $H5_{ar}$); 6.66 (d, 1H, $^{3}J_{H3,H4}$ = 8.2 Hz, $H3_{ar}$); 4.79 (m, 2H, H_{benzyl}); 3.61 (m, 2H, H1$_{i\text{Pr}}$); 1.24 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$); 1.20 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, $CDCl_3$): 156.11 (C2); 128.72 (C6); 128.63 (C1); 128.45 (C5); 128.33 (C4); 115.92 (C3); 61.78 (C_{benzyl}); 44.14 ($CH_{i\text{Pr}}$); 24.59; ($CH_{3\ i\text{Pr}}$); 15.5 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161 MHz, $CDCl_3$): 167.61 (s).

8.3.4.3. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit



35d **36d**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.3. durchgeführt. Es wurden 1.00 g (4.90 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit, 7 ml Diethylether und 0.99 g (1.39 ml, 9.80 mmol) Di*iso*propylamin verwendet.

Ausbeute: 1.20 g (4.50 mmol; 92 %) eines gelblichem Öls.

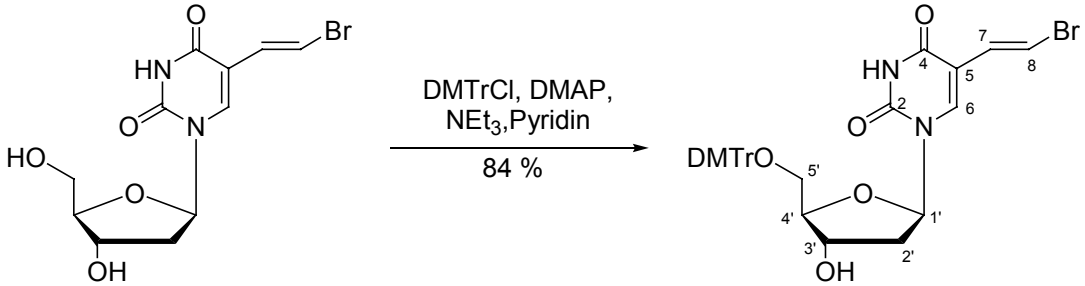
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.03 (m, 1H, H4); 6.80 (dd, 2H, $^{3}J_{H4,H5}$ = 7.5 Hz, $^{3}J_{H6,H5}$ = 7.5 Hz, H5, H6); 5.10 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.1 Hz, $^{3}J_{H(benzyl),P}$ = 168.0 Hz, H_{benzyl}); 4.82 (dd, 1H, $^{3}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.1 Hz, $^{3}J_{H(a/b)benzyl,P}$ = 168.0 Hz, H_{benzyl}); 3.61 (m, 2H, $H1_{i\text{Pr}}$); 2.21 (s, 3H, CH_3); 1.24 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$); 1.20 (d, 6H, $^{3}J_{H,H}$ = 2.3 Hz, $CH_{3\ i\text{Pr}}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 151.39 (C2); 129.63 (C1); 127.74 (C3); 123.85 (C6); 122.67 (C4); 120.44 (C5); 64.22 (C_{benzyl}); 44.14 ($CH_{i\text{Pr}}$); 24.59; ($CH_{3\ i\text{Pr}}$); 15.5 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 135.83 (s).

8.3.5. Darstellung der *cyclo*Sal-Bromvinyldesoxyuridinphosphattriester

8.3.5.1. Darstellung von 5‘-*O*-Dimethoxytrityl-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin



4 **40**

Zu 850 mg (2.55 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin gelöst in 10 ml Pyridin wurden 1.30 g (3.83 mmol) Dimethoxytriphenylmethylchlorid (DMTrCl), 15.6 mg (0.13 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 0.54 ml (388 mg; 3.83 mmol) Triethylamin zugegeben und unter Schutzgasatmosphäre 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 2 ml Methanol zugegeben und bis zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und wiederum vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Es wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 1.33 g (2.13 mmol; 84 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.59

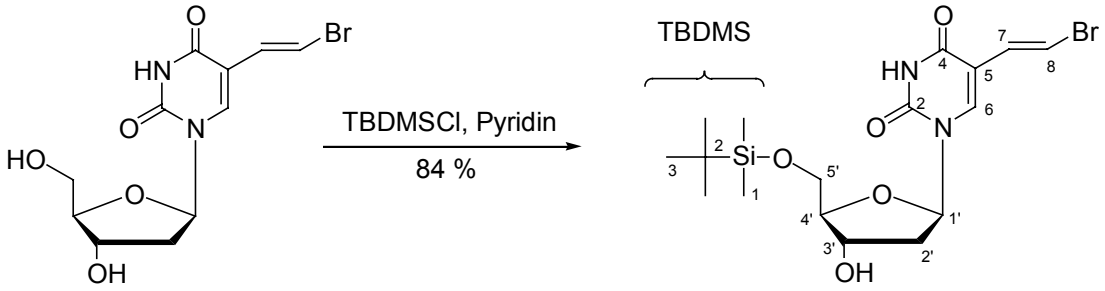
^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, $CDCl_3$): 8.50 (s, 1H, NH); 7.68 (s, 1H, H6); 7.40-7.27 (m, 9H, $H2_{DMTr}$, $H2‘_{DMTr}$, $H3‘_{DMTr}$, $H4‘_{DMTr}$); 7.26 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.88-6.85 (m, 4H, $H3_{DMTr}$); 6.37 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.5 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.0 Hz, H1‘); 5.94 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8);4.61-4.57 (m, 1H, H3‘); 4.10 (dt, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 3.1 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘/H5‘‘}$ = 3.1 Hz, H4‘); 3.81 (s, 6H, OMe); 3.47 (dd, 1H, $^3J_{H5‘,H5‘‘}$ = 10.6 Hz, $^3J_{H5‘,H4‘}$ = 3.2 Hz, H5‘); 3.42 (dd, 1H, $^3J_{H5‘‘,H5‘}$ = 10.6 Hz, $^3J_{H5‘‘,H4‘}$ = 3.2 Hz, H5‘‘); 2.47 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.0 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 3.0 Hz, H2‘‘); 2.36-2.31 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.1 Hz, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, $CDCl_3$): 160.96 (C4); 158.81 ($C4_{DMTr}$); 148.91 (C2); 143.91 ($C1‘_{DMTr}$); 137.48 (C6); 135.27 ($C1_{DMTr}$); 129.99 ($C2‘_{DMTr}$); 128.15 ($C2_{DMTr}$); 127.77 (C7); 126.12 ($C4‘_{DMTr}$); 113. 44 ($C3_{DMTR}$); 111.56 (C5); 110.21 (C8); 87.09 ($C_{q\ DMTr}$); 86.38 (C4‘); 85.29 (C1‘); 72.43 (C3‘); 55.29 (OMe); 41.30 (C2‘).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 236.0; 284.0 nm λ_{min}: 222.0; 269.0 nm

MS (FAB, m/z): ber.: 634.1 (M) gef.: 635.5 (M+H)

8.3.5.2. Darstellung von 5‘-*O*-*t*-Butyldimethylsilyl-(*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin



4 **37**

Zu 1.00 g (3.00 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin gelöst in 25 ml Pyridin wurden 566 mg (3.75 mmol) *t*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) zugegeben und unter Schutzgasatmosphäre 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 2 ml Methanol zugegeben und bis zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und wiederum vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Es wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 1.13 g (2.52 mmol; 84 %) eines farblosen Feststoffs

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.53

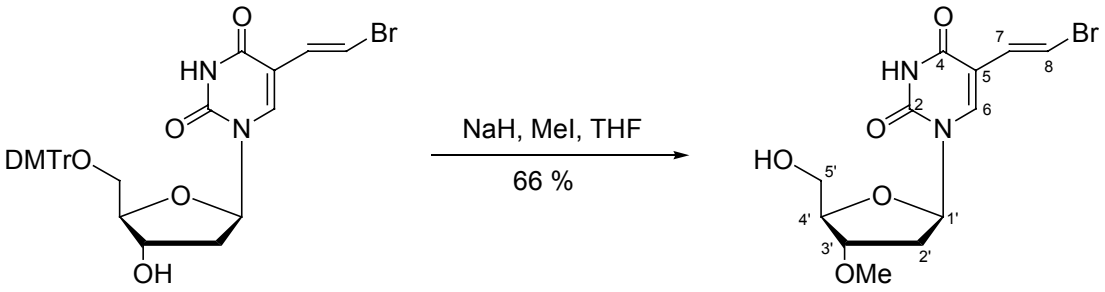
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.60 (s, 1H, NH); 7.78 (s, 1H, H6); 7.26 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.10 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.30 (d, 1H, $^3J_{OH,H3‘}$ = 4.6 Hz, OH); 4.19-4.17 (m, 1H, H3‘); 3.76-3.74 (m, 3H, H4‘, H5‘); 2.20-2.09 (m, 2H, H2‘); 0.86 (s, 9H, $H3_{TBDMS}$); 0.05 (s, 6H, $H1_{TBDMS}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 161.86 (C4); 149.41 (C2); 139.43 (C6); 130.09 (C7); 109.91 (C5); 107.11 (C8); 87.38 (C4‘); 84.98 (C1‘); 70.39 (C3‘); 63.34 (C2‘); 26.01 ($C3_{TBDMS}$); 18.27 ($C2_{TBDMS}$); -5.15 ($C1_{TBDMS}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 251.0; 295.0 nm λ_{min}: 216.0; 270.0 nm

MS (FAB, m/z): ber.: 446.1 (M) gef.: 447.2 ($M+H^+$)

8.3.5.3. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-methyl-2‘-desoxyuridin[140]



40 **42**

Zu 400 mg (0.64 mmol) (*E*)-5-(2-bromvinyl)-5‘-*O*-dimethoxytrityl-2‘-desoxyuridin gelöst in 10 ml Tetrahydrofuran wurden 34.0 mg (1.40 mmol) Natriumhydrid (NaH) und 91.0 mg (40.0 µl; 0.64 mmol) Methyliodid (MeI) zugegeben und unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt bis vollständiger Umsatz mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet wurde. Anschließend wurde vom Lösungsmittel im Vakuum befreit, in Methanol und Eisessig aufgenommen und nach 5 min wiederum eingeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v) aufgenommen und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 146 mg (0.42 mmol; 66 %) eines farblosen Feststoffs.

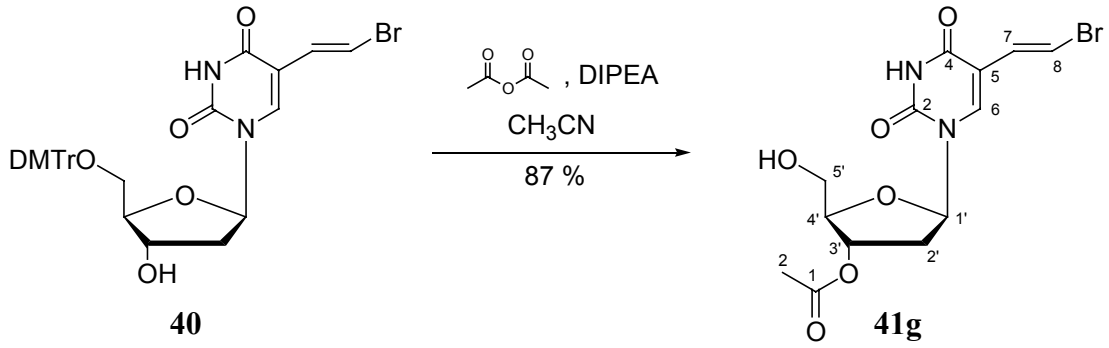
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.57

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6): 11.59 (s, 1H, NH); 8.04 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.4 Hz, H8); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.05 (dd, 1H, $3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.8 Hz, H1‘); 5.15 (t, 1H, $^3J_{OH,H5‘}$ = 5.2 Hz, OH-5‘); 3.99-3.91 (m, 2H, H3‘, H4‘); 3.67-3-51 (m, 2H, H5‘); 3.26 (s, 3H, OMe); 2.28 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.4 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 2.8 Hz, H2‘‘); 2.14 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 13.4 Hz, $^3J_{H2‘H1‘}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 5.8 Hz, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6): 161.82 (C4); 149.45 (C2); 139.52 (C6); 130.04 (C7); 109.99 (C5); 106.84 (C8); 84.95 (C4‘); 84.75 (C1‘); 80.47 (C3‘); 61.52 (C5‘); 56.41 (OMe); 36.52 (C2‘).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 252.0; 285.0 nm λ_{min}: 216.0; 268.0 nm

8.3.5.4. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridin



40 **41g**

Zu 400 mg (0.64 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-dimethoxytrityl-2‘-desoxyuridin gelöst in 10 ml Acetonitril wurden 196 mg (181 µl; 1.90 mmol) Essigsäureanhydrid und 332 µl (1.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) zugegeben und unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 Stunden wurden nochmals 196 mg (181 µl; 1.90 mmol) Essigsäureanhydrid und 332 µl (1.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) zugegeben und 24 Stunden gerührt. Es wurden 3 ml Methanol zugegeben und vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Der Rückstand wurde in 10 ml 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v) aufgenommen und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 210 mg (0.6 mmol; 87 %) eines farblosen Feststoffs.

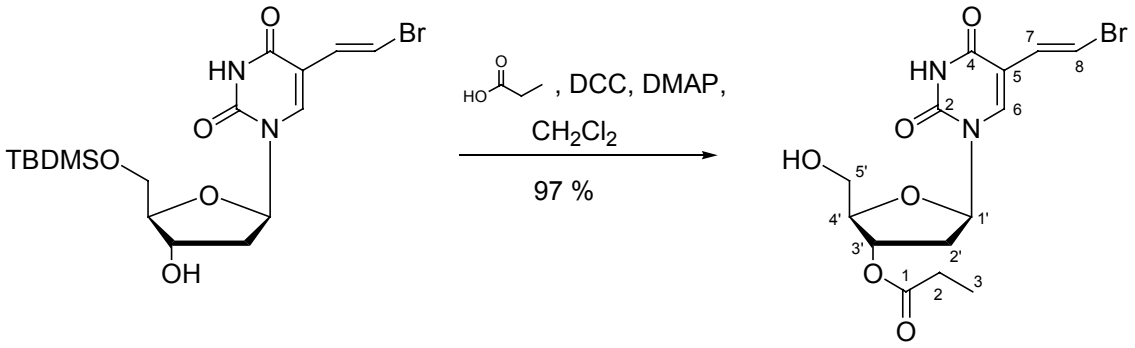
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.66

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$) 8.52 (s, 1H, NH); 7.90 (s, 1H, H6); 7.38 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.4 Hz, H8); 6.68 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 8.6 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.9 Hz, H1‘); 5.39-5.33 (m, 1H, H3‘); 4.15 (dt, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 2.4 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.4 Hz, H4‘); 3.99-3.97 (m, 2H, H5‘); 2.49 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 5.8 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 2.4 Hz, H2‘‘); 2.35 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 8.2 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.1 Hz, H2‘); 2.12 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 170.69 ($C1_{Ac}$); 160.86 (C4); 149.01 (C2); 137.94 (C6); 128.23 (C7); 111.72 (C5); 109.98 (C8); 85.95 (C4‘); 85.34 (C1‘); 74.54 (C3‘); 62.55 (C5‘); 38.00 (C2‘); 20.97 ($C2_{Ac}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 251.0; 287.0 nm λ_{min}: 214.0; 268.0 nm

8.3.5.5. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-propionyl-2‘-desoxyuridin



37 **41h**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 30.0 µl (27.0 mg, 0.37 mmol) Propionsäure, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

Ausbeute: 125 mg (0.32 mmol, 97 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.59

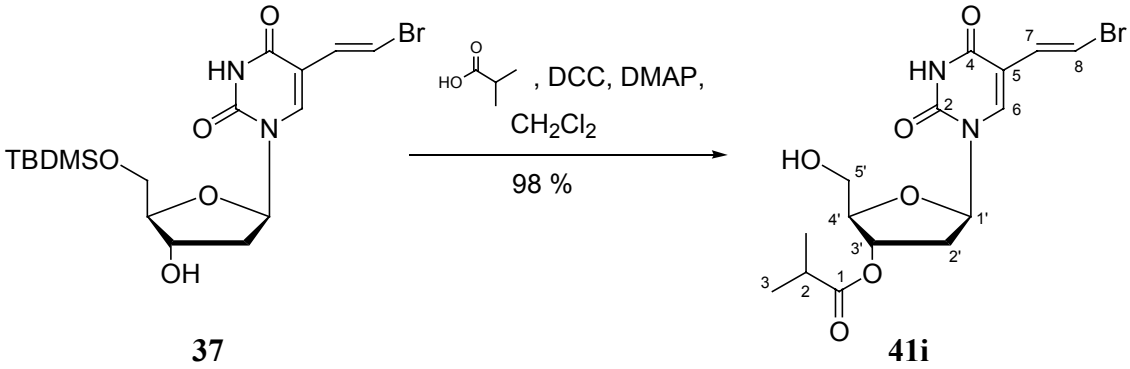
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 8.07 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.14 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.35-5.10 (m, 2H, H3‘, OH); 4.00 (br. s, 1H, H4‘); 3.66-3.58 (m, 2H, H5‘); 2.35-2.27 (m, 4H, H2‘, $H2_{Prop}$); 1.02 (t, 3H, $^3J_{H3(Prop),H2(Prop)}$ = 7.6 Hz, $H3_{Prop}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 173.52 ($C1_{Prop}$); 161.84 (C4); 149.52 (C2); 139.36 (C6); 129.98 (C7); 110.26 (C5); 107.07 (C8); 85.27 (C4‘); 84.71 (C1‘); 74.63 (C3‘); 61.42 (C5‘); 37.30 (C2‘); 27.03 ($C2_{Prop}$); 9.03 ($C3_{Prop}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 250.0; 291.0 nm λ_{min}: 215.0; 268.0 nm

MS (FAB, m/z): ber.: 388.0 (M) gef.: 389.2 ($M+H^+$)

8.3.5.6. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridin



37 **41i**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 300 mg (0.66 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 164 mg (0.73 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 70.0 µl (64 mg, 0.73 mmol) *iso*-Buttersäure, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.73 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

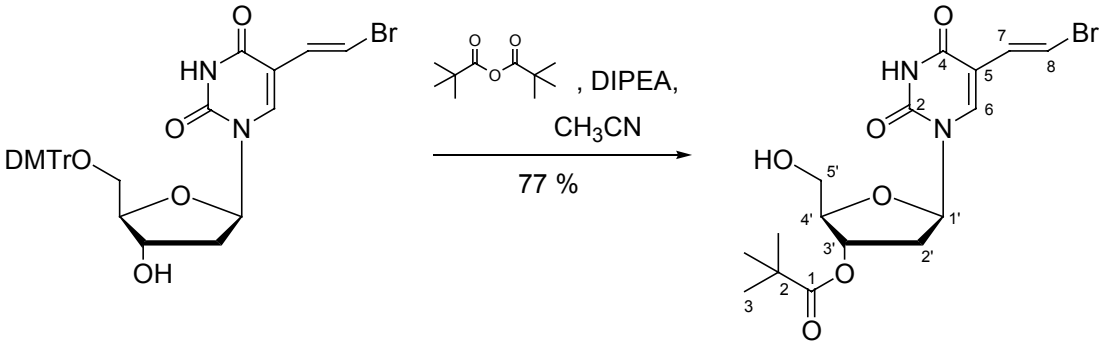
Ausbeute: 307 mg (0.62 mmol; 98 %) eines gelblichen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 8.02 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 6.66 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.25 (dd, 1H, $^3J_{H1,H2‘}$ = 8.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.1 Hz, H1‘); 5.24-5.22 (m, 1H, H3‘); 4.01 (dt, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 2.4 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.4 Hz, H4‘); 3.80-3.78 (m, 2H, H5‘); 2.49 (sept, 1H, $^3J_{H2,H3}$ = 7.1 Hz, $H2_{Iso}$); 2.35 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 2.0 Hz, H2‘‘); 2.23 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 8.6 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.1 Hz, H2‘); 1.10 (d, 6H, $^3J_{H3,H2}$ = 7.1 Hz, 2x CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 177.01 ($C1_{Iso}$); 161.81 (C4); 149.49 (C2); 138.07 (C6); 128.34 (C7); 111.53 (C5); 108.94 (C8); 85.69 (C4‘); 85.25 (C1‘); 74.85 (C3‘); 61.73 (C5‘); 38.07 (C2‘); 33.69 ($C2_{Iso}$); 18.52 ($C3_{Iso}$); 18.50 ($C3_{Iso}$).

8.3.5.7. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-pivaloyl-2‘-desoxyuridin



40 **41j**

Zu 400 mg (0.64 mmol) (*E*)-5-(2-bromvinyl)-5‘-*O*-dimethoxytrityl-2‘-desoxyuridin gelöst in 10 ml Acetonitril wurden 358 mg (390 µl; 1.90 mmol) Pivalinsäureanhydrid und 332 µl (1.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) zugegeben und unter Schutzgasatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stunden wurden nochmals 358 mg (390 µl; 1.90 mmol) Pivalinsäureanhydrid und 332 µl (1.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) zugegeben. Es wurde 96 Stunden bei Raumtemperatur und 7 Tage bei 50 °C gerührt. Anschließend wurden 3 ml Methanol zugegeben und vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Der Rückstand wurde in 10 ml 2 %iger Benzolsulfonsäurelösung (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v) aufgenommen und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 200 mg (0.49 mmol; 77 %) eines farblosen Feststoffs.

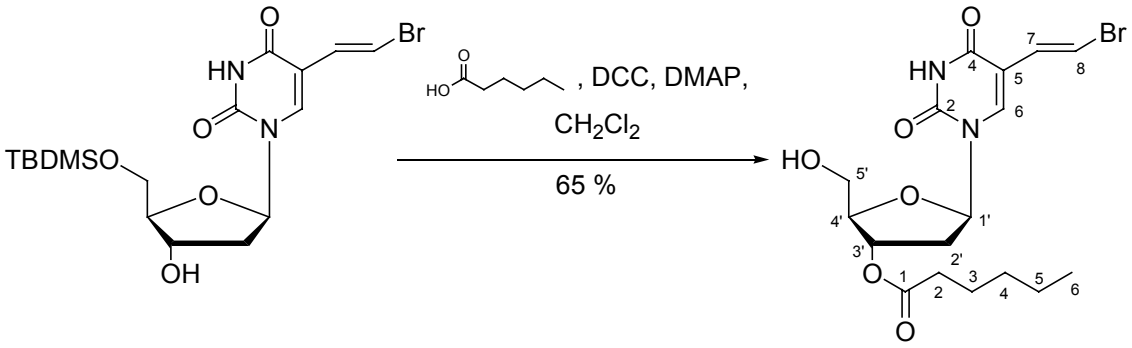
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.68

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 9.12 (s, 1H, NH); 7.93 (s, 1H, H6); 7.39; 7.33 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.71-6.66 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.31 (dd, 1H, $^3J_{H1,H2‘}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.9 Hz, H1‘); 5.37-5.32 (m, 1H, H3‘); 4.08 (dt, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 2.4 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.4 Hz, H4‘); 3.98 (m, 2H, H5‘); 2.49 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 2.8 Hz, H2‘‘); 2.37 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 7.9 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.1 Hz, H2‘); 1.23 (s, 9H, 3x CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 178.44 ($C1_{Piv}$); 161.26 (C4); 149.20 (C2); 138.08 (C6); 128.23 (C7); 111.69 (C5); 109.89 (C8); 85.96 (C4‘); 85.60 (C1‘); 74.32 (C3‘); 62.49 (C5‘); 38.68 ($C2_{Piv}$); 38.00 (C2‘); 26.99 ($C3_{Piv}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 250.0; 291.0 nm λ_{min}: 215.0; 269.0nm

8.3.5.8. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-hexanoyl-2‘-desoxyuridin



37 **41k**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 50.0 µl (43.0 mg, 0.37 mmol) Hexansäure, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

Ausbeute: 95.0 mg (0.22 mmol; 65 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.68

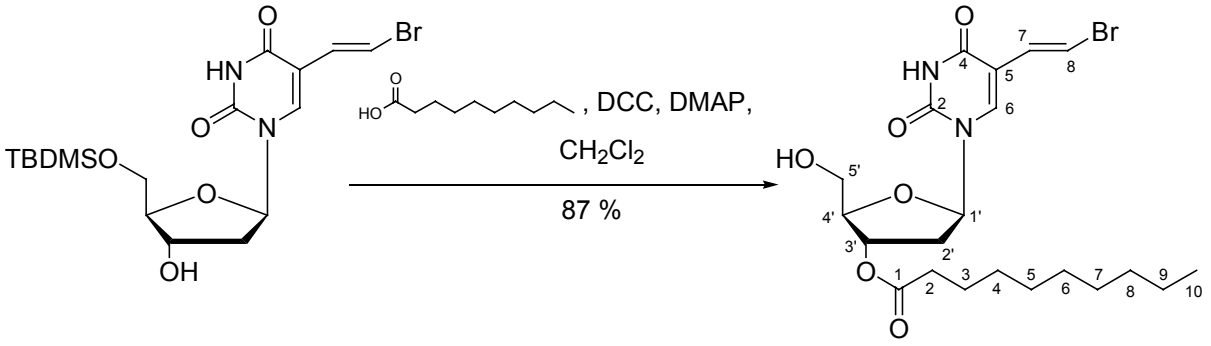
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.60 (s, 1H, NH); 8.06 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.14 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.22 (t, 2H, $^3J_{H3‘,H4‘/H2‘}$ = 4.8 Hz, H3‘,OH); 3.99 (br. s, 1H, H4‘); 3.68-3.61 (m, 2H, H5‘); 2.34-2.26 (m, 4H, H2‘,$H2_{Hex}$); 1.54 (quin, 2H, $^3J_{H3(Hex),H2(Hex)/H4(Hex)}$ = 7.2 Hz, $H3_{Hex}$); 1.28-1.25 (m, 4H, $H4_{Hex}$, $H5_{Hex}$); 0.85 (t, 3H, $^3J_{H6(Hex),H5(Hex)}$ = 6.7 Hz, $H6_{Hex}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 172.75 ($C1_{Hex}$); 161.80 (C4); 149.47 (C2); 139.33 (C6); 129.96 (C7); 110.21 (C5); 107.00 (C8); 85.19 (C4‘); 84.64 (C1‘); 74.52 (C3‘); 61.37 (C5‘); 37.24 (C2‘); 33.58 ($C2_{Hex}$); 30.79 ($C4_{Hex}$); 24.19 ($C3_{Hex}$); 21.96 ($C5_{Hex}$); 13.97 ($C6_{Hex}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 250.0; 291.0 nm λ_{min}: 214.0; 268.0 nm

MS (FAB, m/z): ber.: 430.1 (M) gef.: 431.3 ($M+H^+$)

8.3.5.9. Darstellung von (*E*)-5-(2-bromovinyl)-3‘-*O*-decanoyl-2‘-desoxyuridin



37 **411**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 64.0 mg (0.37 mmol) Decansäure, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

Ausbeute: 140 mg (0.29 mmol; 87 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.69

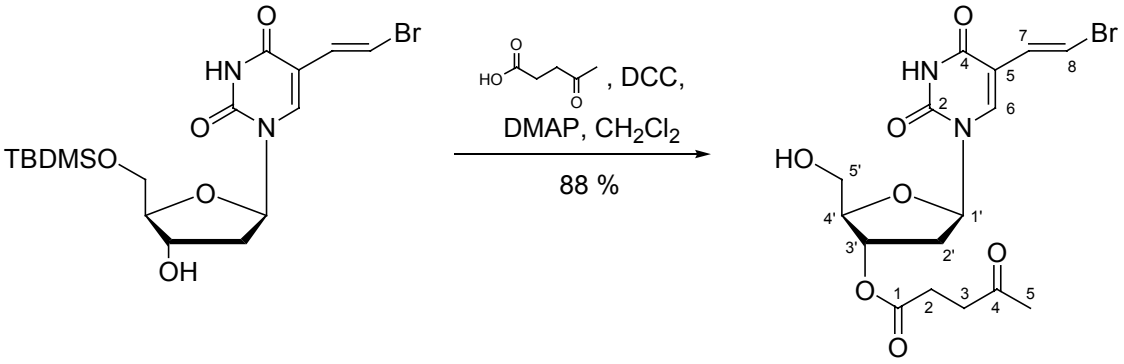
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.61 (s, 1H, NH); 8.06 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.14 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.1 Hz, H1‘); 5.25-5.20 (m, 2H, H3‘,OH); 3.99 (dt, 1H, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 3.6 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.0 Hz, H4‘); 3.70-3.57 (m, 2H, H5‘); 2.37-2.22 (m, 4H, H2‘,$H2_{Dec}$); 1.55-1.45 (m, 2H, $H3_{Dec}$); 1.30-1.20 (m, 12H, $H4_{Dec}$ – $H9_{Dec}$); 0.85 (t, 3H, $^3J_{H10(Dec),H9(Dec)}$ = 6.6 Hz, $H10_{Dec}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 172.78 ($C1_{Dec}$); 161.83 (C4); 149.50 (C2); 139.35 (C6); 129.98 (C7); 110.24 (C5); 107.03 (C8); 85.23 (C4‘); 84.67 (C1‘); 74.54 (C3‘); 61.39 (C5‘); 37.26 (C2‘); 33.64 ($C2_{Dec}$); 31.47 ($C3_{Dec}$); 29.04; 28.85; 28.61 ($C4_{Deca}$ – $C8_{Dec}$); 22.31 ($C9_{Dec}$); 14.15 ($C10_{Dec}$).

UV (CH_3CN): λ_{max}: 250.0; 292.0 nm λ_{min}: 214.0; 269.0 nm

MS (FAB, m/z): ber.: 486.1 (M) gef.: 487.3 ($M+H^+$)

8.3.5.10. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin



37 **38**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 900 mg (2.06 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 307 mg (2.51 mmol) 4-Dimethylaminopyridin, 292 mg (2.51 mmol) Levulinsäure, 10 ml Dichlormethan und 519 mg (2.51 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid verwendet.

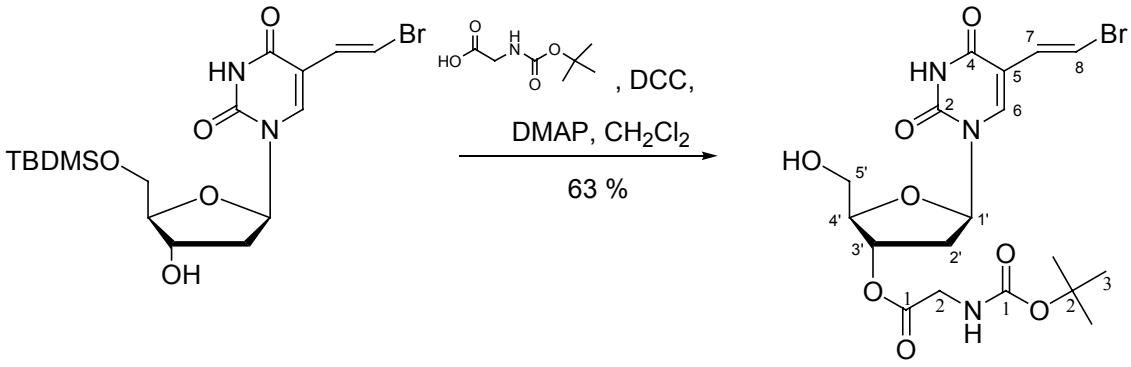
Ausbeute: 780 mg (1.80 mmol; 88 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.44

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 8.06 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.13 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.9 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.1 Hz, H1‘); 5.22 (br. s, 1H, OH); 5.19 (dt, 1H, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 5.9 Hz, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 2.2 Hz, H3‘); 3.98 (dt, 1H, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 2.2 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 3.6 Hz, H4‘); 3.61 (m, 2H, H5‘); 2.72 (t, 2H, $^3J_{H2(Lev),H3(Lev)}$ = 6.2 Hz, $H2_{Lev}$); 2.48 (m, 2H, $H3_{Lev}$); 2.31 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 8.2 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.0 Hz,); 2.25 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 4.2 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 2.4 Hz, H2‘); 2.09 (s, 3H, $H5_{Lev}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 207.08 ($C4_{Lev}$); 172.17 ($C1_{Lev}$); 161.81 (C4); 149.49 (C2); 139.35 (C6); 129.95 (C7); 110.21 (C5); 106.99 (C8); 85.09 (C4‘); 84.65 (C1‘); 74.75 (C3‘); 61.36 (C5‘); 37.62 ($C3_{Lev}$); 37.11 (C2‘); 29.70 ($C5_{Lev}$); 27.92 ($C2_{Lev}$).

8.3.5.11. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-glycinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41n**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 65.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-glycin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

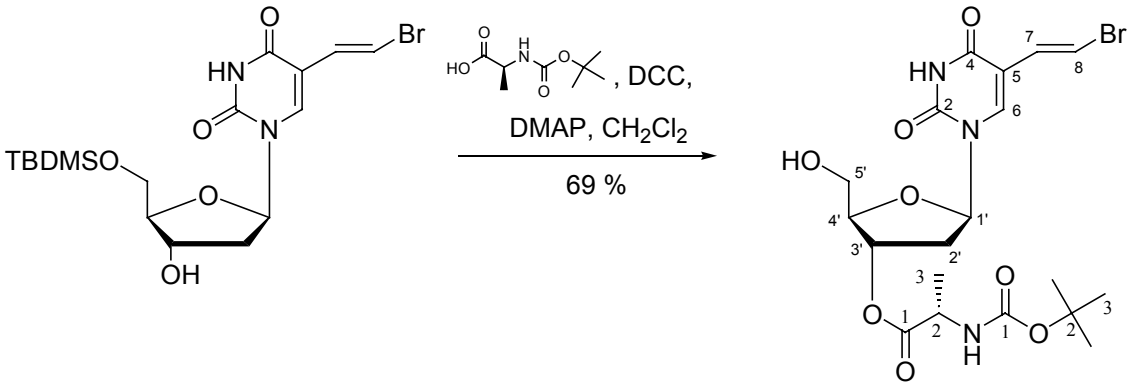
Ausbeute: 100 mg (0.21 mmol, 63 %) eines farblosen Feststoffes.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.48

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 8.06 (s, 1H, H6); 7.24 (d, 2H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8, NH_{Gly}); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.16 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.6 Hz, H1‘); 5.35-5.10 (m, 2H, H3‘, OH); 4.00 (s, 1H, H4‘); 3.75-3.55 (m, 4H, H5‘, $H2_{Gly}$); 2.36-2.23 (m, 2H, H2‘); 1.38 (s, 9H, $H3_{BOC}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 170.21 ($C1_{Gly}$); 161.82 (C4); 156.09 ($C1_{BOC}$); 149.48 (C2); 139.32 (C6); 129.97 (C7); 110.25 (C5); 107.03 (C8); 85.12 (C4‘); 84.62 (C1‘); 78.54 ($C2_{BOC}$); 75.21 (C3‘); 61.36 (C5‘); 42.38 ($C2_{Gly}$); 37.16 (C2‘); 28.33 ($C3_{BOC}$).

8.3.5.12. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-alaninyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41o**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 70.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-L-alanin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

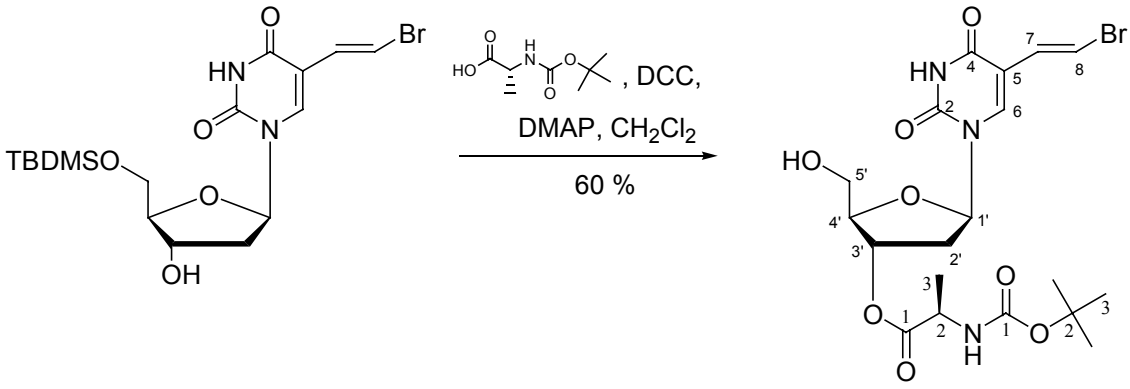
Ausbeute: 112 mg (0.23 mmol; 69 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.62 (s, 1H, NH); 8.06 (s, 1H, H6); 7.37 (d, 1H, $^3J_{NH,H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, NH_{Ala}); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.8 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.3 Hz, H7); 6.17 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.30-5.20 (m, 2H, H3‘, OH); 4.02-3.95 (m, 2H, H4‘, $H2_{Ala}$); 3.67-3.59 (m, 2H, H5‘); 2.36-2.07 (m, 2H, H2‘); 1.37 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 1.24 (d, 3H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 172.89 ($C1_{Ala}$); 161.80 (C4); 155.53 ($C1_{BOC}$); 149.46 (C2); 139.32 (C6); 129.95 (C7); 110.24 (C5); 107.00 (C8); 85.18 (C4‘); 84.54 (C1‘); 78.46 ($C2_{BOC}$); 75.12 (C3‘); 61.38 (C5‘); 49.44 ($C2_{Ala}$); 37.06 (C2‘); 28.31 ($C3_{BOC}$); 16.70 ($C3_{Ala}$).

8.3.5.13. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-alaninester)-2‘-desoxyuridin



37 **41p**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 70.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-alanin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

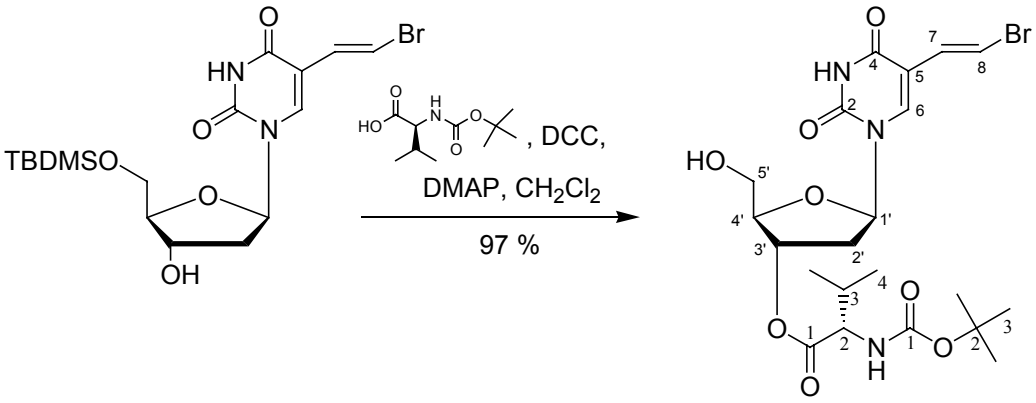
Ausbeute: 98 mg (0.2 mmol; 60 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.57

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 11.62 (s, 1H, NH); 8.06 (s, 1H, H6); 7. 37 (d, 1H, $^3J_{NH,H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, NH_{Ala}); 7.24 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.8 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.3 Hz, H7); 6.17 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.26-5.21 (m, 2H, H3‘, OH); 4.02-3.96 (m, 2H, H4‘, $H2_{Ala}$); 3.68-3.59 (m, 2H, H5‘); 2.36-2.20 (m, 2H, H2‘); 1.37 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 1.24 (d, 3H, $^3J_{H3(Aa),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 172.89 ($C1_{Ala}$); 161.80 (C4); 155.53 ($C1_{BOC}$); 149.46 (C2); 139.32 (C6); 129.95 (C7); 110.24 (C5); 107.00 (C8); 85.18 (C4‘); 84.54 (C1‘); 78.46 ($C2_{BOC}$); 75.12 (C3‘); 61.38 (C5‘); 49.44 ($C2_{Ala}$); 37.06 (C2‘); 28.31 ($C3_{BOC}$); 16.70 ($C3_{Ala}$).

8.3.5.14. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-valinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41q**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.9.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 81.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-L-valin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

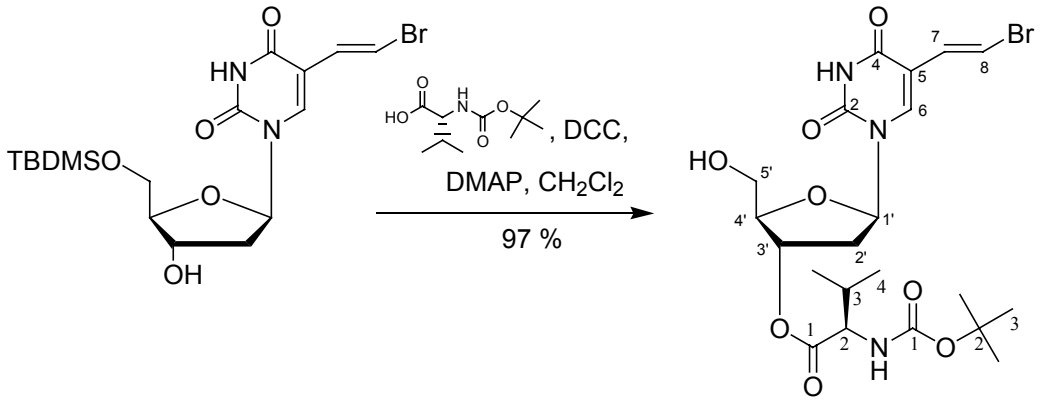
Ausbeute: 170 mg (0.32 mmol; 97 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.56

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 9.64 (s, 1H, NH); 7.94 (s, 1H, H6); 7.33 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.66 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.28 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 7.7 Hz, H1‘); 5.43 (dt, 2H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 2.1 Hz, H3‘); 5.11 (d, 1H, $^3J_{OH,H5‘}$ = 8.7 Hz, OH); 4.19 (dd, 1H, $^3J_{H2(Val),NH}$ = 4.9 Hz, $^3J_{H2(Val),H3(Val)}$ = 8.5 Hz, $H2_{Val}$); 4.11 (dt, 1H, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.2 Hz, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 2.2 Hz, H4‘); 3.94 (ddd, 1H, $^3J_{H5‘,H5‘‘}$ = 12.0 Hz, $^3J_{H5‘,OH}$ = 12.0 Hz, $^3J_{H5‘,H4‘}$ = 14.0 Hz, H5‘); 3.93 (ddd, 1H, $^3J_{H5‘‘,H5‘}$ = 11.8 Hz, $^3J_{H5‘‘,OH}$ = 11.8 Hz, $^3J_{H5‘‘,H4‘}$ = 9.8 Hz, H5‘‘); 2.52 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 5.8 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 2.1 Hz, H2‘); 2.42 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.4 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.8 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.8 Hz, H2‘‘); 2.18-2.10 (m, 2H, $H3_{Val}$); 1.45 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 0.99 (d, 3H, $^3J_{H4(Val),H(3)Val}$ = 6.8 Hz, $H4_{Val}$); 0.91 (d, 3H, $^3J_{H4‘(Val),H(3)Val}$ = 7.0 Hz, $H4‘_{Val}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 172.21 ($C1_{Val}$); 161.62 (C4); 155.81 ($C1_{BOC}$); 149.34 (C2); 138.26 (C6); 128.25 (C7); 111.59 (C5); 109.72 (C8); 86.07 (C1‘); 85.43 (C4‘); 80.23 ($C2_{BOC}$); 75.29 (C3‘); 62.23 (C5‘); 58.39 ($C2_{Val}$); 37.89 (C2‘); 30.83 ($C3_{Val}$); 28.25 ($C3_{BOC}$); 19.09; 17.62 ($C4_{Val}$).

8.3.5.15. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-valinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41r**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 81.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-valin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

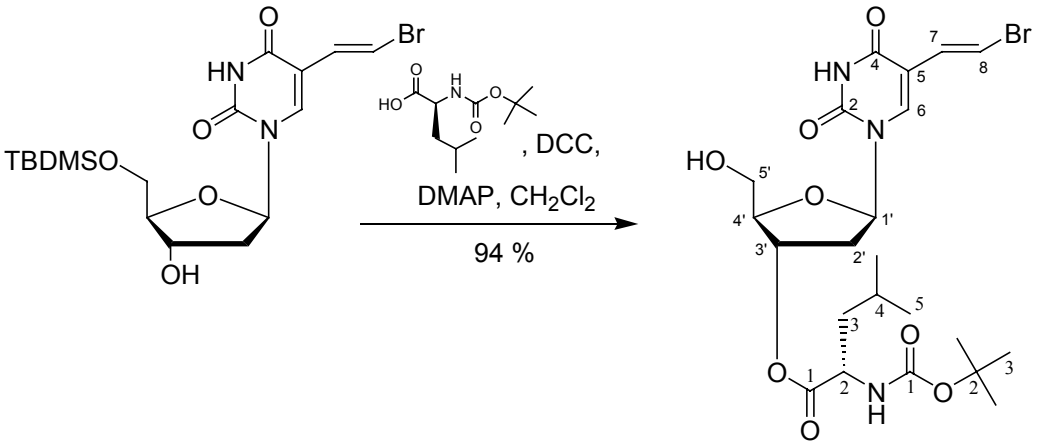
Ausbeute: 170 mg (0.32 mmol; 97 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.64

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 9.00 (br. s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.28 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.5 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 7.0 Hz, H1‘); 5.43-5.40 (m, 2H, H3‘); 5.07-5.00 (m, 1H, OH); 4.21-4.16 (m, 2H, H4‘, $H2_{Val}$); 4.01-3.93 (m, 2H, H5‘); 2.48 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 6.0 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 2.8 Hz, H2‘); 2.41 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 7.1 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 7.1 Hz, H2‘‘); 2.18-2.10 (m, 2H, $H3_{Val}$); 1.46 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 1.00 (d, 3H, $^3J_{H4(Val),H(3)Val}$ = 6.8 Hz, $H4_{Val}$); 0.93 (d, 3H, $^3J_{H4‘(Val),H(3)Val}$ = 6.9 Hz, $H4‘_{Val}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 172.40 ($C1_{Val}$); 161.36 (C4); 155.79 ($C1_{BOC}$); 149.21 (C2); 138.02 (C6); 128.28 (C7); 111.63 (C5); 109.81 (C8); 85.97 (C1‘); 85.29 (C4‘); 80.21 ($C2_{BOC}$); 74.98 (C3‘); 62.17 (C5‘); 58.69 ($C2_{Val}$); 38.04 (C2‘); 30.94 ($C3_{Val}$); 28.28 ($C3_{BOC}$); 19.09; 17.64 ($C4_{Val}$).

8.3.5.16. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-leucinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41s**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-L-leucin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

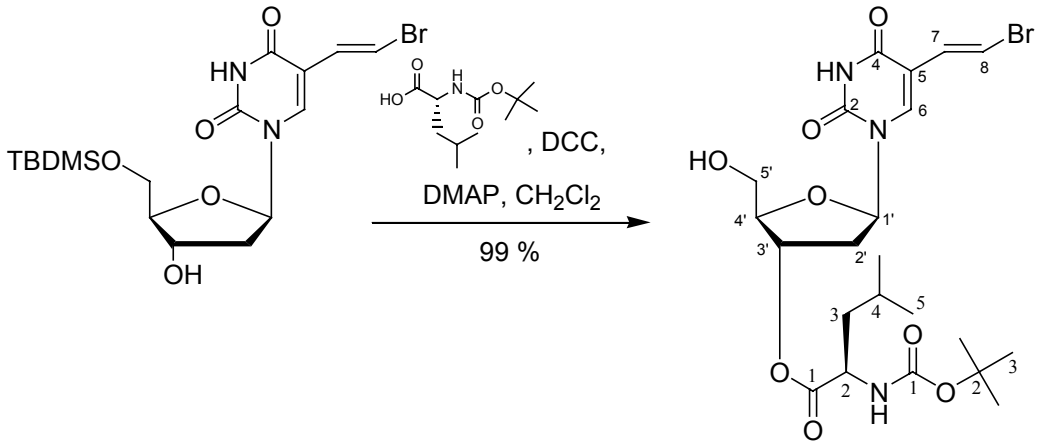
Ausbeute: 170 mg (0.31 mmol; 94 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.42

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 9.38 (s, 1H, NH); 7.94 (s, 1H, H6); 7.34 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 7.6 Hz, H1‘); 5.45-5.40 (m, 2H, H3‘); 4.98 (br. s, 1H, OH); 4.43 (dt, 1H, $^3J_{H2(Leu),H3(Leu)}$ = 8.6 Hz, $^3J_{H2(Leu),NH}$ = 5.1 Hz, $H2_{Leu}$); 4.15-4.05 (m, 1H, H4‘); 3.98-3.87 (m, 2H, H5‘); 2.55-2.35 (m, 2H, H2‘); 1.80-1.66 (m, 1H, $H4_{Leu}$); 1.65-1.49 (m,2H, $H3_{Leu}$); 1.45 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 0.96 (d, 6H, $^3J_{H5(Leu),H(4)Leu}$ = 6.1 Hz, $H5_{Leu}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 173.29 ($C1_{Leu}$); 161.38 (C4); 155.57 ($C1_{BOC}$); 149.28 (C2); 138.25 (C6); 128.26 (C7); 111.65 (C5); 109.78 (C8); 86.09 (C1‘); 85.42 (C4‘); 80.29 ($C2_{BOC}$); 75.29 (C3‘); 62.32 (C5‘); 52.30 ($C2_{Leu}$); 40.98 ($C3_{Leu}$); 37.86 (C2‘); 28.27 ($C3_{BOC}$); 24.84 ($C4_{Leu}$); 22.84; 21.67 ($C5_{Leu}$).

8.3.5.17. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-leucinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41t**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-leucin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

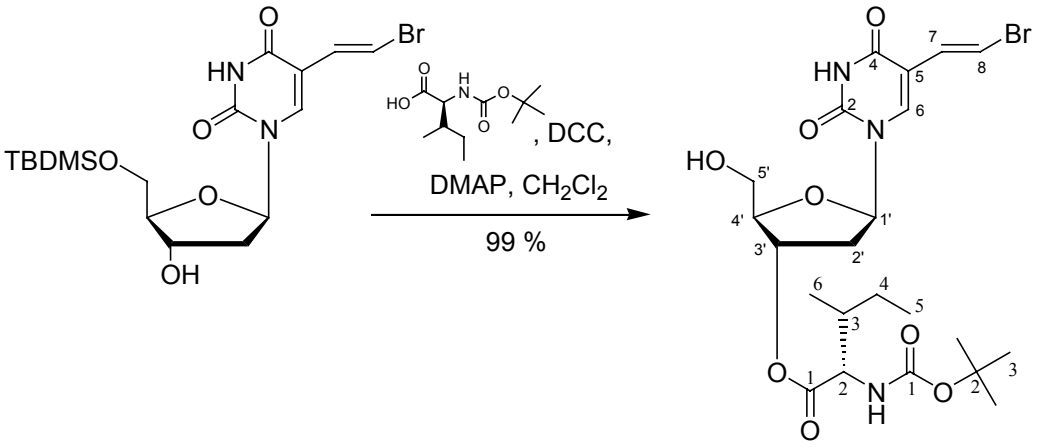
Ausbeute: 190 mg (0.33 mmol; 99 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.42

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 9.22 (s, 1H, NH); 7.94 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 6.68 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.29 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.6 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 6.6 Hz, H1‘); 5.45-5.40 (m, 2H, H3‘); 4.98 (d, 1H, $^3J_{OH,H5‘}$ = 7.9 Hz, OH); 4.27 (m, 1H, $H2_{Leu}$); 4.19-4.13 (m, 1H, H4‘); 4.00-3.92 (m, 2H, H5‘); 2.49 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.4 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 2.8 Hz, H2‘); 2.39 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.8 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.6 Hz, H2‘‘); 1.76-1.68 (m, 1H, $H4_{Leu}$); 1.64-1.50 (m, 2H, $H3_{Leu}$); 1.44 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 0.97 (d, 6H, $^3J_{H5(Leu),H(4)Leu}$ = 6.6 Hz, $H4_{Leu}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 173.50 ($C1_{Leu}$); 161.40 (C4); 155.55 ($C1_{BOC}$); 149.22 (C2); 138.14 (C6); 128.27 (C7); 111.61 (C5); 109.81 (C8); 85.97 (C1‘); 85.32 (C4‘); 80.27 ($C2_{BOC}$); 74.97 (C3‘); 62.20 (C5‘); 52.25 ($C2_{Leu}$); 41.07 ($C3_{Leu}$); 37.99 (C2‘); 28.28 ($C3_{BOC}$); 24.86 ($C4_{Leu}$); 22.83; 21.73 ($C5_{Leu}$).

8.3.5.18. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-isoleucinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41u**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-L-isoleucin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

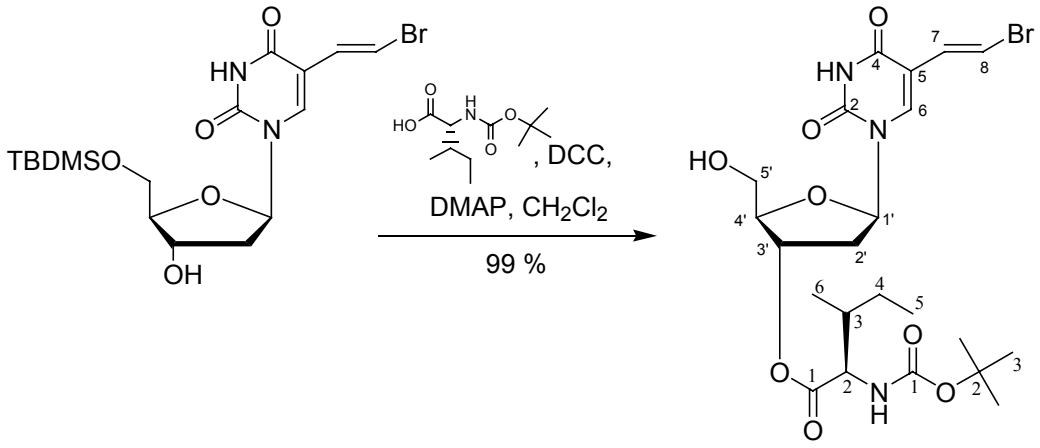
Ausbeute: 176 mg (0.30 mmol; 99 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.60

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.30 (s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 6.67 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.28 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 7.6 Hz, H1‘); 5.42 (m, 2H, H3‘); 5.06 (d, 1H, $^3J_{NH(Ile),H2(Ile)}$ = 8.0 Hz, NH_{Ile}); 4.23 (dd, 1H, $^3J_{H2(Ile),H3(Ile)}$ = 5.2 Hz, $^3J_{H2(Ile),NH}$ = 8.0 Hz, $H2_{Ile}$); 4.12 (m, 1H, H4‘); 3.95 (m, 2H, H5‘); 2.45 (m, 2H, H2‘); 1.88 (m, 1H, $H3_{Ile}$); 1.45 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 1.17 (m, 1H, $H5_{Ile}$); 0.95 (m, 6H, $H4_{Ile}$, $H6_{Ile}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 172.199 ($C1_{Ile}$); 161.36 (C4); 155.68 ($C1_{BOC}$); 149.20 (C2); 138.19 (C6); 128.25 (C7); 111.63 (C5); 109.84 (C8); 86.15 (C1‘); 85.34 (C4‘); 80.24 ($C2_{BOC}$); 75.18 (C3‘); 62.30 (C5‘); 58.06 ($C2_{Ile}$); 37.89 (C2‘); 37.53 ($C3_{Ile}$); 28.28 ($C3_{BOC}$); 25.16 ($C5_{Ile}$); 15.69 ($C6_{Ile}$); 11.57 ($C4_{Ile}$).

8.3.5.19. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-isoleucinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41v**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-isoleucin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

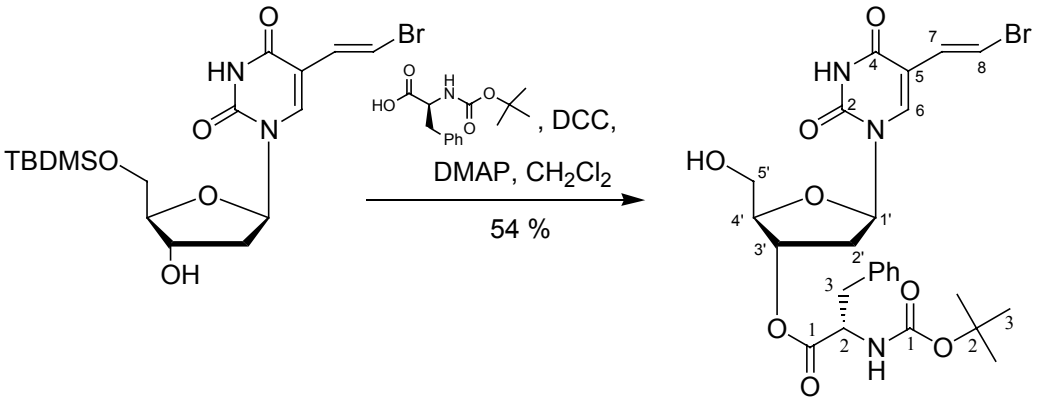
Ausbeute: 177 mg (0.32 mmol; 99 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.60

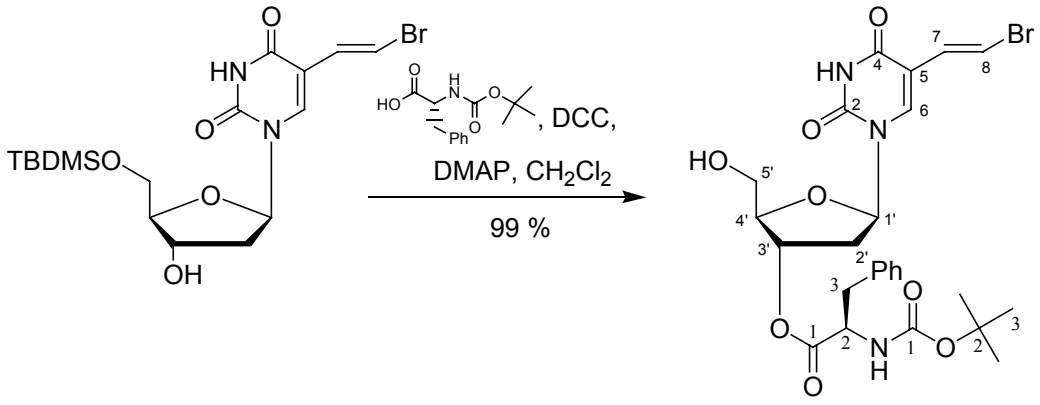
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.30 (s, 1H, NH); 7.94 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 6.67 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.28 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1,H2‘‘}$ = 7.6 Hz, H1‘); 5.42 (m, 2H, H3‘); 5.08 (d, 1H, $^3J_{NH(Ile),H2(Ile)}$ = 8.0 Hz, NH_{Ile}); 4.25 (dd, 1H, $^3J_{H2(Ile),H3(Ile)}$ = 5.3 Hz, $^3J_{H2(Ile),NH}$ = 8.0 Hz, $H2_{Ile}$); 4.17 (m, 1H, H4‘); 3.97 (m, 2H, H5‘); 2.48 (m, 2H, H2‘); 1.88 (m, 1H, $H3_{Ile}$); 1.45 (s, 9H, $H3_{BOC}$); 1.17 (m, 1H, $H5_{Ile}$); 0.95 (m, 6H, $H4_{Ile}$, $H6_{Ile}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 172.40 ($C1_{Ile}$); 161.44 (C4); 155.70 ($C1_{BOC}$); 149.21 (C2); 138.13 (C6); 128.27 (C7); 111.57 (C5); 109.80 (C8); 85.93 (C1‘); 85.26 (C4‘); 80.21 ($C2_{BOC}$); 74.95 (C3‘); 62.16 (C5‘); 58.01 ($C2_{Ile}$); 38.03 (C2‘); 37.63 ($C3_{Ile}$); 28.28 ($C3_{BOC}$); 25.10 ($C5_{Ile}$); 15.65 ($C6_{Ile}$); 11.56 ($C4_{Ile}$).

8.3.5.20. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-phenylalaninyl)-2‘-desoxyuridin


TBDMSO
OH
HO
Ph
, DCC,
DMAP, CH2Cl2
54 %
HO
Br
HN
N
O
Ph
NH
O
O
O

8.3.5.21. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-phenylalaninyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41x**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 98.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-phenylalanin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

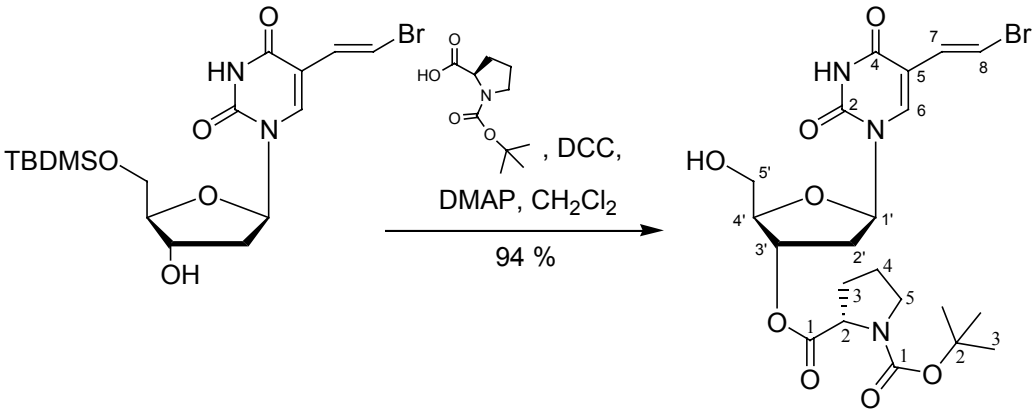
Ausbeute: 195 mg (0.32 mmol; 99 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.76

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 9.25 (s, 1H, NH); 7.79 (s, 1H, H6); 7.27 (m, 6H, H8, $H_{ar\ Phe}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.06 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.6 Hz, H1‘); 5.25-5.15 (m, 2H, H3‘); 5.05-4.92 (m, 1H, OH); 4.43 (dt, 1H, $^3J_{H2(Phe),H3(Phe)}$ = 6.6 Hz, $^3J_{H2(Phe),NH}$ = 7.1 Hz, $H2_{Phe}$); 3.98-3.95 (m, 1H, H4‘); 3.86-3.74 (m, 2H, H5‘); 2.25-2.08 (m, 2H, H2‘); 1.32 (s, 9H, $H3_{BOC}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 171.92 ($C1_{Phe}$); 161.38 (C4); 155.15 ($C1_{BOC}$); 149.19 (C2); 138.21 (C6); 135.60 ($C4_{Phe}$); 129.18 (C7); 128.73 ($C5_{Ph3}$); 128.26 ($C4_{Phe}$); 127.30 ($C6_{Phe}$); 111.59 (C5); 109.80 (C8); 86.04 (C1‘); 85.19 (C4‘); 80.39 ($C2_{BOC}$); 75.22 (C3‘); 62.15 (C5‘); 54.63 ($C2_{Phe}$); 38.24 (C2‘); 37.73 ($C3_{Phe}$); 28.23 ($C3_{BOC}$).

8.3.5.22. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-L-prolinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41y**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-L-prolin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

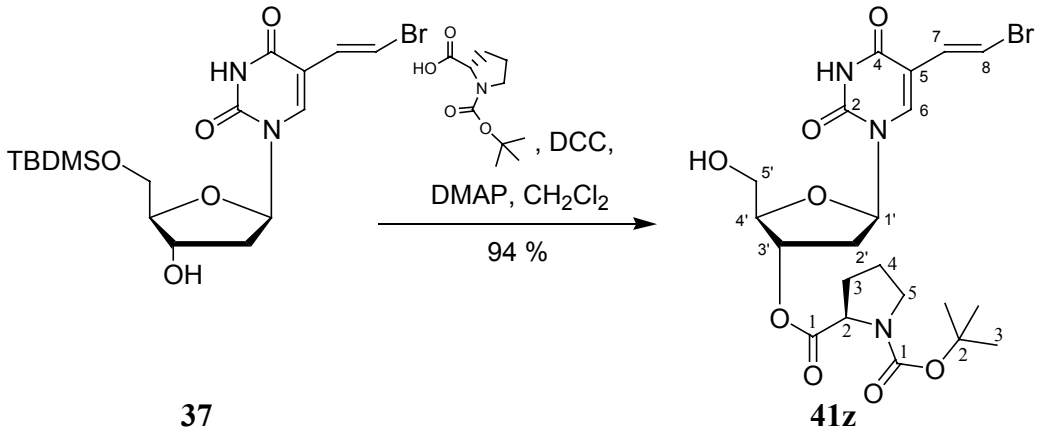
Ausbeute: 164 mg (0.31 mmol; 94 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.71

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.00 (s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.30 (m, 1H, H1‘); 5.42 (m, 1H, H3‘); 4.32 (dd, 1H, $^3J_{H2(Pro),H3a(Pro)}$ = 8.8 Hz, $^3J_{H2(Pro),H3b(Pro)}$ = 4.0 Hz, $H2_{Pro}$); 4.25 (m, 1H, H4‘); 3.95 (m, 2H, H5‘); 3.50 (m, 2H, $H5_{Pro}$); 2.45 (m, 2H, H2‘); 1.94 (m, 4H, $H3_{Pro}$, $H4_{Pro}$); 1.46 (s, 9H, $H3_{BOC}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$) 172.77 ($C1_{Pro}$); 161.36 (C4); 154.53 ($C1_{BOC}$); 149.21 (C2); 138.25 (C6); 128.26 (C7); 111.63 (C5); 109.75 (C8); 85.91 (C1‘); 85.50 (C4‘); 80.31 ($C2_{BOC}$); 75.27 (C3‘); 62.40 (C5‘); 58.93 ($C2_{Pro}$); 46.66 (C); 37.93 (C2‘); 30.88 ($C3_{Pro}$); 29.89 ($C5_{Pro}$); 28.36 ($C3_{BOC}$); 24.50 ($C4_{Pro}$).

8.3.5.23. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC-D-prolinyl)-2‘-desoxyuridin



37 **41z**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.4. durchgeführt. Es wurden 150 mg (0.33 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-5‘-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-2‘-desoxyuridin, 82.0 mg (0.66 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), 92.0 mg (0.37 mmol) *N*-BOC-D-prolin, 5 ml Dichlormethan und 76.0 mg (0.37 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet.

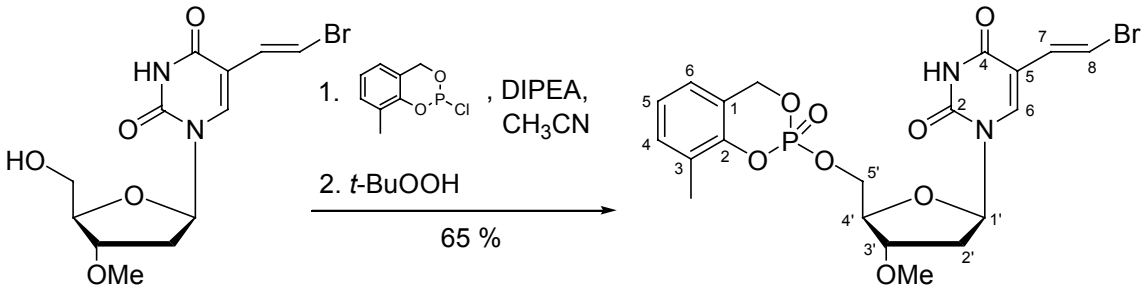
Ausbeute: 164 mg (0.31 mmol; 94 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.71

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$) 9.00 (s, 1H, NH); 7.92 (s, 1H, H6); 7.35 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.30 (m, 1H, H1‘); 5.42 (m, 1H, H3‘); 4.32 (dd, 1H, $^3J_{H2(Pro),H3a(Pro)}$ = 8.8 Hz, $^3J_{H2(Pro),H3b(Pro)}$ = 4.0 Hz, $H2_{Pro}$); 4.25 (m, 1H, H4‘); 3.95 (m, 2H, H5‘); 3.50 (m, 2H, $H5_{Pro}$); 2.45 (m, 2H, H2‘); 1.94 (m, 4H, $H3_{Pro}$, $H4_{Pro}$); 1.46 (s, 9H, $H3_{BOC}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 172.77 ($C1_{Pro}$); 161.36 (C4); 154.53 ($C1_{BOC}$); 149.21 (C2); 138.25 (C6); 128.26 (C7); 111.63 (C5); 109.75 (C8); 85.91 (C1‘); 85.50 (C4‘); 80.31 ($C2_{BOC}$); 75.27 (C3‘); 62.40 (C5‘); 58.93 ($C2_{Pro}$); 46.66 (C); 37.93 (C2‘); 30.88 ($C3_{Pro}$); 29.89 ($C5_{Pro}$); 28.36 ($C3_{BOC}$); 24.50 ($C4_{Pro}$).

8.3.5.24. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-methyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



42 **43**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.29 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-methyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 75.0 mg (100 µl; 0.58 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 66.0 mg (0.35 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 100 µl (0.58 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 100 mg (0.19 mmol; 65 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.74

HPLC t_R = 17.64; 17.73 min (>99 %, Gradient A)

log*P* (PC) 2.13 (134.9)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6) 11.6 (s, 2H, NH); 7.81 (s, 1H, H6); 7.79 (s, 1H, H6); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.26 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.23 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.4 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.4 Hz, $H5_{ar}$); 7.22 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.4 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.4 Hz, $H5_{ar}$); 7.07-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.85 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.09 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 2.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.2 Hz, H1‘); 6.06 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 2.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.2 Hz, H1‘); 5.50-5.38 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.38-4.27 (m, 4H, H5‘); 4.11-4.07 (m, 2H, H4‘); 3.96-3.92 (m, 2H, H3‘); 3.22 (s, 3H, OMe); 3.21 (s, 3H, OMe); 2.29 (ddd, 2H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.0 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 2.8 Hz, H2‘‘); 2.23-2.13 (m, 2H, H2‘); 2.20 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.19 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 161.74; (2xC4); 149.34 (2xC2); 148.05 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.7 Hz, $C2_{ar}$); 147.99 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 4.8 Hz, $C2_{ar}$); 139.34 (C6); 139.25 (C6); 131.09 ($C4_{ar}$); 131.06 ($C4_{ar}$); 129.82 (2xC7); 127.07 ($C3_{ar}$); 126.99 ($C3_{ar}$); 124.18 ($2xC5_{ar}$); 123.72 ($2xC6_{ar}$); 121.11 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 121.09 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 110.37 (C5);

110.33 (C5); 107.33 (2xC8); 85.17 (C1‘); 85.08 (C1‘); 82.08 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 5.7 Hz, C4‘); 82.01 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 6.7 Hz, C4‘); 79.96 (C3‘); 79.93 (C3‘); 68.72 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 7.6 Hz, C5‘); 68.65 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 7.6 Hz, C5‘); 67.91 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 12.3 Hz, C_{benzyl}); 67.86 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 11.5 Hz, C_{benzyl}); 56.57 (OMe); 56.54 (OMe); 35.82 (C2‘); 35.65 (C2‘); 15.05 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -8.91 (s); -8.99 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

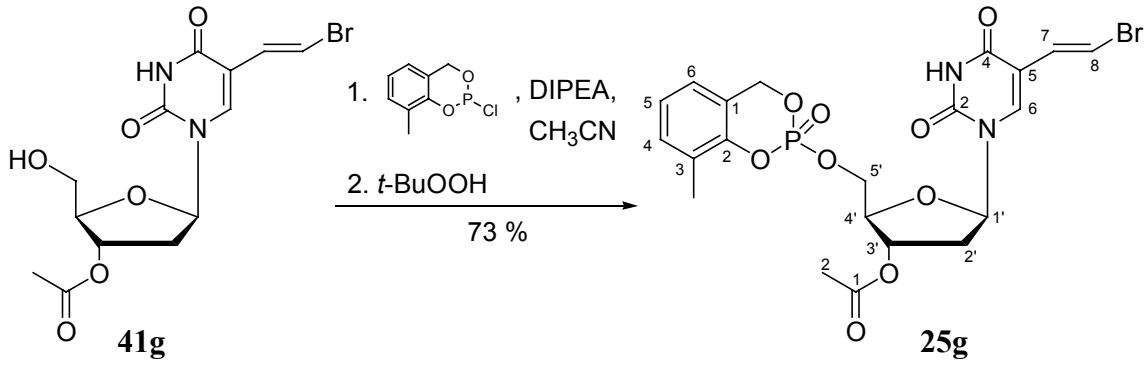
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3455, 2346, 1701, 1466, 1364, 1290, 1190, 1089, 1018, 942, 654, 532.

UV: λ_{max} (CH_3CN): 291.73, 250.10, 195.15 nm

λ_{min} (CH_3CN): 268.42, 226.79 nm

MS: (FAB; m/z): 529.2 (M)

8.3.5.25. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 50.0 mg (0.13 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 34.0 mg (45.0 µl; 0.26 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 32.0 mg (0.16 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 60.0 µl (0.26 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 53.0 mg (0.095 mmol; 73 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 95:5 v/v): 0.37

HPLC: t_R = 17.85 min (98.63 %, Gradient A)

log*P* (PC) 2.18 (151.4)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 7.84 (s, 1H, H6); 7.83 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.24 (dd, 1H, $^{3}J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 5.0 Hz, $^{3}J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 5.0 Hz, $H5_{ar}$); 7.23 (dd, 1H,

$^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 5.0 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 5.0 Hz, $H5_{ar}$); 7.08-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.14 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.2 Hz, H1'); 6.13 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.2 Hz, H1'); 5.20-5.15 (m, 2H, H3'); 5.49-5.38 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.43-4.31 (m, 4H, H5'); 4.20-4.15 (m, 2H, H4'); 2.43-2.30 (m, 4H, H2'); 2.19 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.18 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.04 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 2.03 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 170.13 ($2xC1_{Ac}$); 161.74 (C4); 161.72 (C4); 149.34 (C2); 148.01 (C2); 148.05 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 14.3 Hz, $2xC2_{ar}$);139.29 (C6); 139.24 (C6); 131.09($C4_{ar}$); 131.04 ($C4_{ar}$); 129.73 (2xC7); 127.04 ($C3_{ar}$); 126.96 ($C3_{ar}$); 124.15 ($2xC5_{ar}$); 123.70 ($2xC6_{ar}$); 121.12 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 5.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.03 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 5.7 Hz, $C1_{ar}$); 110.47 (C5); 110.43 (C5); 107.30 (2xC8); 85.05 (C1'); 84.98 (C1'); 82.08 (d, $3J_{C4',P}$ = 7.6 Hz, C4'); 82.02 (d, $^3J_{C4',P}$ = 6.7 Hz, C4'); 73.36 (C3'); 73.31 (C3'); 68.65 (d, $^2J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 68.60 (d, $^2J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 67.67 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 67.62 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 36.18 (C2'); 36.05 (C2'); 20.88 ($2xC2_{Ac}$); 15.02 ($CH_{3\ ar}$); 14.97 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -8.95 (s); -9.06 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

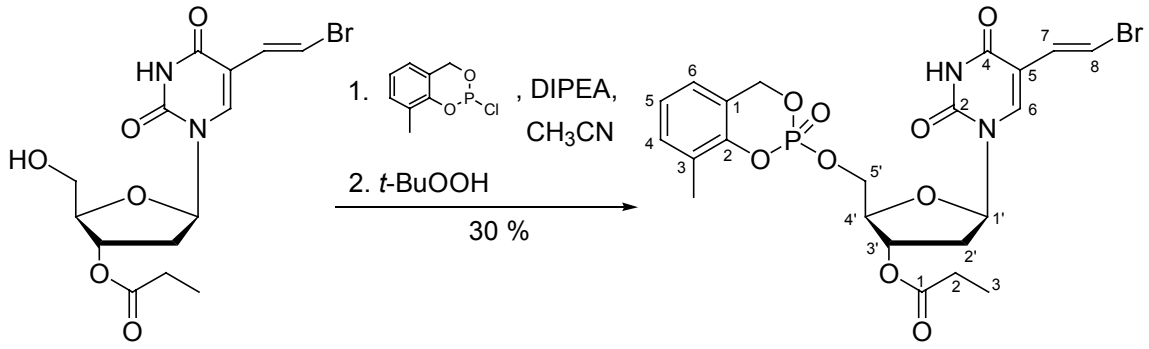
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3430, 2346, 1718, 1708, 1654, 1637, 1560, 1474, 1291, 1023, 574, 484, 455

UV: λ_{max} (CH_3CN): 293.39, 250.10, 196.82 nm

λ_{min}(CH_3CN): 268.42, 226.79 nm,

MS: (ESI^+; m/z): 558.9 (M+H)

8.3.5.26. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-propionyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41h **25h**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 108 mg (0.28 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-propionyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 72.0 mg (96.0 µl; 0.56 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 113 mg (0.56 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 100 µl (0.56 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan.

Ausbeute: 40.0 mg (0.08 mmol, 30 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.79

HPLC t_R = 13.60 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.28 (190.5)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.85 (s, 2H, NH); 7.75 (s, 1H, H6), 7.74 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.22 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.3 Hz, $H4_{ar}$); 7.08 (dd, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.6 Hz, $H5_{ar}$); 6.98 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H5(ar)}$ = 7.5 Hz, $H3_{ar}$); 6.75 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.73 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.34 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.3 Hz, H1‘); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.3 Hz, H1‘); 5.46 (dt, 2H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 13.6 Hz, H3‘); 5.35-5.24 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.57-4.41 (m, 4H, H5‘); 4.21 (m, 1H, H4‘); 2.52 (dd, 2H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 5.3 Hz, H2‘); 2.37 (q, 2H, $^3J_{H2(Prop),H3(Prop)}$ = 7.5 Hz, $H2_{Prop}$); 2.36 (q, 2H, $^3J_{H2(Prop),H3(Prop)}$ = 7.5 Hz, $H2_{Prop}$); 2.30 (s, 6H, $CH_{3\ ar}$); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 8.2 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.3 Hz, H2‘‘); 1.17 (t, 3H, $^3J_{H3(Prop),H2(Prop)}$ = 7.5 Hz, $H3_{Prop}$); 1.16 (t, 3H, $^3J_{H3(Prop),H2(Prop)}$ = 7.5 Hz, $H3_{Prop}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 174.00 ($2xC1_{Prop}$); 160.62 (2xC4); 148.78 (2xC2); 136.72 (2xC6); 131.65 ($2xC4_{ar}$); 128.02 (2xC7, $2xC3_{ar}$); 124.39

(2xC5$_{ar}$); 123.08 (2xC6$_{ar}$); 112.11 (2xC8); 110.54 (2xC5); 85.25 (2xC4‘), 83.33 (C1‘); 83.27 (C1‘); 74.09 (C3‘); 74.03 (C3‘), 68.72 (2xC5‘); 37.92 (2xC2‘); 27.36 (2xC2$_{Prop}$); 15.33 (2xCH$_{3\ ar}$); 8.84 (2xC3$_{Prop}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): - 6.78 (s); -6.92 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

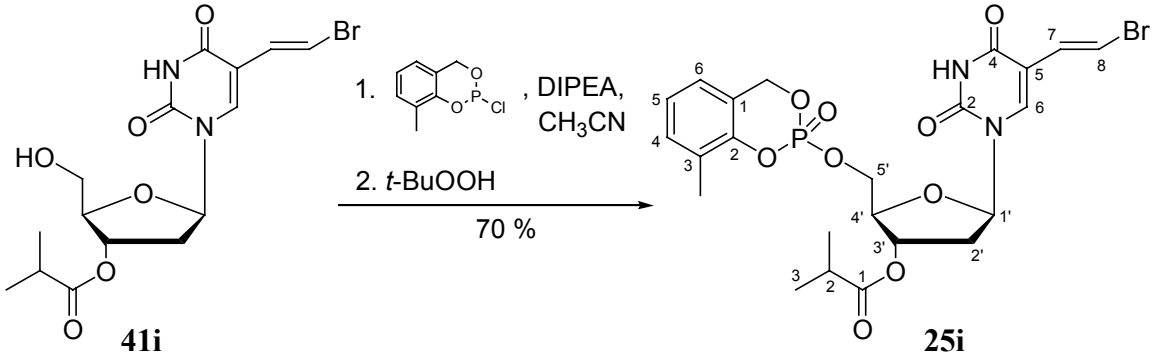
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3417, 3407, 3386, 3361, 3193, 3106, 3070, 2952, 2925, 2854, 1714, 1594, 1465, 1417, 1365, 1294, 1191, 1164, 1110, 1062, 1020, 941, 869, 852, 819, 769, 651, 530, 430.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 266.6, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z):571.4 (M)

8.3.5.27. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 50.0 mg (0.13 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-*iso*butyryl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 34.0 mg (45.0 µl; 0.26 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 32.0 mg (0.16 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 60.0 µl (0.26 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan.

Ausbeute: 150 mg (0.26 mmol; 70 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.86

HPLC t_R = 13.99 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.42 (263.0)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.72 (s, 2H, NH); 7.76 (s, 1H, H6), 7.75 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.21 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.3 Hz, H4$_{ar}$); 7.07 (dd, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.6 Hz, H5$_{ar}$); 6.97 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H5(ar)}$

= 7.5 Hz, $H3_{ar}$); 6.73 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.72 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.3 Hz, H1'); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.3 Hz, H1'); 5.45 (dt, 2H, $^3J_{H3',H4'}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H3',H2'}$ = 13.6 Hz, H3'); 5.35-5.23 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.55-4.42 (m, 4H, H5'); 4.20-4.16 (m, 2H, H4'); 2.64 (m, 3H, H2', $H2_{iBu}$); 2.29 (s, 6H, $CH_{3\ ar}$); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 8.2 Hz, $^3J_{H2'',H3'}$ = 6.3 Hz, H2''); 1.19 (d, 3H, $^3J_{H3(iBu),H2(iBu)}$ = 3.5 Hz, $H3_{iBu}$); 1.18 (t, 3H, $^3J_{H3(iBu),H2(iBu)}$ = 3.5 Hz, $H3_{iBu}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 176.74 ($2xC1_{iBu}$); 160.95 (2xC4); 148.99 (2xC2); 148.47 ($C2_{ar}$); 148.40 ($C2_{ar}$); 136.80 (C6); 136.76 (C6); 131.63 ($C4_{ar}$); 131.60 ($C4_{ar}$); 128.04 (2xC7); 127.89 ($C3_{ar}$); 127.80 ($C3_{ar}$); 124.37 ($C5_{ar}$); 124.33 ($C5_{ar}$); 123.07 ($2xC6_{ar}$); 120.65 ($C1_{ar}$); 120.57 ($C1_{ar}$); 112.11 (C8); 112.06 (C8); 110.50 (C5); 110.42 (C5); 85.33 (C4'), 85.15 (C4'); 83.40 (C1'); 83.33 (C1'); 74.04 (C3'); 73.99 (C3'), 68.81 (C5'); 68.75 (C5'); 67.95 (C_{benzyl}); 67.76 (C_{bezyl}); 37.89 (C2'); 37.81 (C2'); 33.68 ($2xC2_{iBu}$); 18.75 ($2xC3_{iBu}$); 15.32 ($CH_{3\ ar}$); 15.28 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): - 6.79 (s); -6.94 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

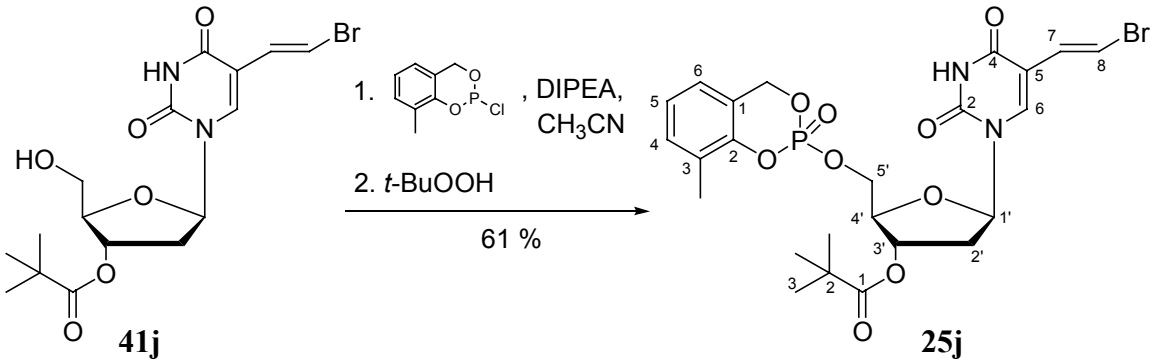
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3440, 3424, 3197, 3104, 3070, 2975, 2933, 2881, 1714, 1631, 1594, 1467, 1367, 1294, 1189, 1155, 1116, 1062, 1018, 943, 819, 771, 659, 532, 431.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 266.6, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 585.0; 587.0 ($M+H^+$)

8.3.5.28. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-pivaloyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 50.0 mg (0.13 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-pivaloyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 34.0 mg (45.0 µl; 0.26 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 32.0 mg (0.16 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 60.0 µl (0.26 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 44.0 mg (0.07 mmol; 61 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.86

HPLC: t_R = 20.77 min (>99 %, Gradient A)

log*P* (PC): 3.01 (1023.3)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.62 (s, 2H, NH); 7.84 (s, 1H, H6); 7.83 (s, 1H, H6); 7.29 d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8);7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.23 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4ar)}$ = 5.2 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 5.2 Hz, $H5_{ar}$); 7.22 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4ar)}$ = 5.2 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 5.2 Hz, $H5_{ar}$); 7.07-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.16-6.11 (m, 2H, H1‘); 5.49-5.38 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.19-5.14 (m, 2H, H3‘); 4.43-4.31 (m, 4H, H5‘); 4.15-4.11 (m, 2H, H4‘); 2.44-2.27 (m, 4H, H2‘); 2.19 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.18 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 1.14 (s, 9H, $CH_{3\ Piv}$); 1.13 (s, 9H, $CH_{3\ Piv}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 177.13 ($2xC1_{Piv}$); 161.72 (2xC4); 149.34 (2xC2); 148.06 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.7 Hz, $C2_{ar}$); 147.99 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.7 Hz, $C2_{ar}$); 139.37 (C6); 139.26 (C6); 131.08 ($C4_{ar}$); 131.04 ($C4_{ar}$); 129.72 (2xC7); 127.02 ($C3_{ar}$); 126.95 ($C3_{ar}$); 124.16 ($2xC5_{ar}$); 123.70 ($2xC6_{ar}$); 121.08 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 120.52 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 110.49 (C5); 110.45 (C5); 107.33 (2xC8); 85.13 (C1‘); 85.06 (C1‘); 82.19 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.7 Hz, C4‘); 82.12 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.7 Hz, C4‘);

73.50 (C3‘); 73.45 (C3‘); 68.71 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 9.5 Hz, C5‘); 68.64 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 9.5 Hz, C5‘); 67.70 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 9.5 Hz, C_{benzyl}); 67.64 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 10.5 Hz, C_{benzyl}); 38.25 (2x$C2_{Piv}$); 36.29 (C2‘); 36.15 (C2‘); 26.78 (2x$C3_{Piv}$); 15.03 ($CH_{3\ ar}$); 14.97 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -8.99 (s); -9.04 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

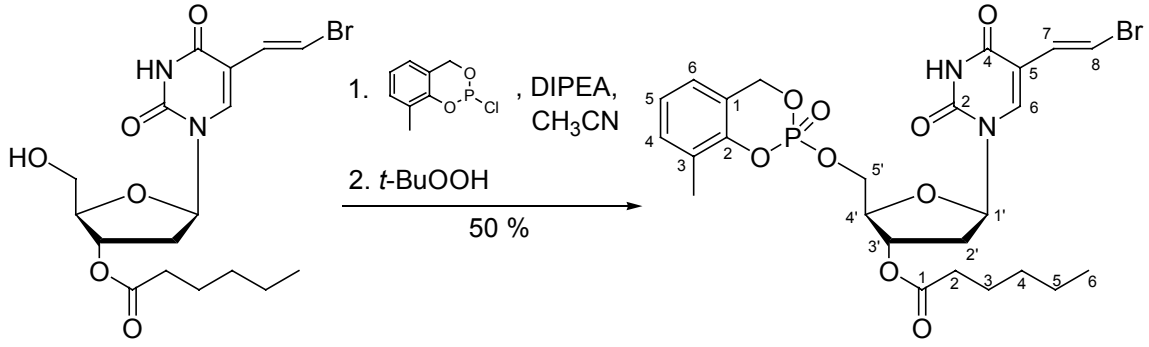
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3447, 2346, 1718, 1654, 1560, 1458, 1364,, 1281, 1191, 1157, 1017, 940, 776.

UV: λ_{max} (CH_3CN): 291.73, 250.10, 195.15 nm

λ_{min} (CH_3CN): 268.42, 226.79 nm

MS: (FAB; m/z):598.0 ($M\text{-}H^+$); 621.0 ($M\text{-}H^+ + Na^+$)

8.3.5.29. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-hexanoyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41k **25k**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 90.0 mg (0.21 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl) -3‘-*O*-hexanoyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 60.0 mg (72.0 µl; 0.42 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 85.0 mg (0.42 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 85.0 µl (0.42 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 60.0 mg (0.10 mmol; 50 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.80

HPLC t_R = 16.61 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.60 (398.1)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.28 (br. s, 2H, NH); 7.76 (s, 1H, H6); 7.75 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.8 Hz, H8); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ =

13.8 Hz, H8); 7.22 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.3 Hz, $H4_{ar}$); 7.08 (dd, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.6 Hz, $H5_{ar}$); 6.98 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H5(ar)}$ = 7.5 Hz, $H3_{ar}$); 6.75 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.73 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.8 Hz, H1'); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.8 Hz, H1'); 5.46 (dt, 2H, $^3J_{H3',H2'}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H3',H4'}$ = 14.5 Hz, H3'); 5.35-5.22 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.55-4.42 (m, 4H, H5'); 4.23-4.17 (m, 2H, H4'); 2.53 (dd, 1H, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.5 Hz, H2'); 2.49 (dd, 1H, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.5 Hz, H2'); 2.35 (q, 2H, $^3J_{H2(Hex),H3(Hex)}$ = 7.0 Hz, $H2_{Hex}$); 2.34 (q, 2H, $^3J_{H2(Hex),H3(Hex)}$ = 7.0 Hz, $H2_{Hex}$); 2.28 (s, 6H, $CH_{3\ ar}$); 2.13 (ddd, 1H, $^3J_{H2'',H3'}$ = 6.9 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 9.4 Hz, $^3J_{H2'',H2'}$ = 15.7 Hz, H2''); 2.04 (ddd, 1H, $^3J_{H2'',H3'}$ = 6.9 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 9.4 Hz, $^3J_{H2'',H2'}$ = 15.7 Hz, H2''); 1.68-1.60 (m, 4H, $H3_{Hex}$); 1.38-1.25 (m, 8H, $H4_{Hex}$, $H5_{Hex}$); 0.97 (t, 6H, $^3J_{H6(Hex),H5(Hex)}$ = 6.9 Hz, $H6_{Hex}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 173.43 ($C1_{Hex}$); 173.41 ($C1_{Hex}$); 160.69 (2xC4); 148.83 (2xC2); 136.77 (C6); 136.73 (C6); 131.65 ($C4_{ar}$); 131.63 ($C4_{ar}$); 128.03 (2xC7, $2xC3_{ar}$); 124.38 ($C5_{ar}$); 124.34 ($C5_{ar}$); 123.09 ($2xC6_{ar}$); 112.11 (C8); 112.06 (C8); 110.54 (C5); 110.45 (C5); 85.34 (C4'), 85.17 (C4'); 83.35 (C1'); 83.30 (C1'); 74.03 (C3'); 73.98 (C3'), 68.82 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.0 Hz, C5'); 68.82 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.0 Hz, C5'); 67.95 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 18.1 Hz, C_{benzyl}); 67.76 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 18.1 Hz, C_{benzyl}); 37.92 (C2'); 37.84 (C2'); 33.97 ($2xC2_{Hex}$); 31.20 ($2xC4_{Hex}$); 24.41 ($2xC3_{Hex}$); 22.25 ($2xC5_{Hex}$); 15.33 ($CH_{3\ ar}$); 15.28 ($CH_{3\ ar}$); 13.86 ($2xC6_{Hex}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): - 6.80 (s); - 6.93 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

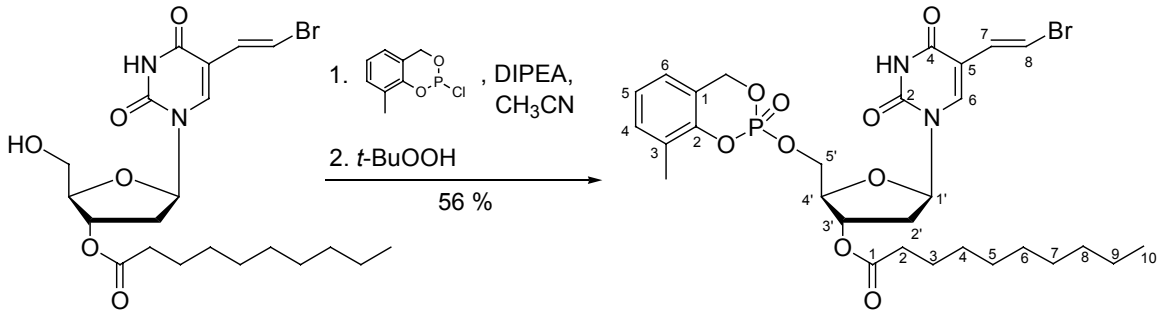
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3447, 2346, 1718, 1654, 1560, 1458, 1364,, 1281, 1191, 1157, 1017, 940, 776.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 288.1, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 266.6, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 613.5 (M)

8.3.5.30. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-decanoyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41l **25l**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 158 mg (0.32 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-decanoyl-2‘-desoxyuridin, 20 ml Acetonitril, 95.0 mg (111 µl; 0.64 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 129 mg (0.64 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 128 µl (0.64 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 115 mg (0.18 mmol; 56 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.77

HPLC t_R = 21.01 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.80 (630.9)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.96 (br. s, 2H, NH); 7.75 (s, 1H, H6); 7.74 (s, 1H, H6); 7.47(d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.9 Hz, H8); 7.22 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 6.9 Hz, $H4_{ar}$); 7.08 (dd, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.6 Hz, $H5_{ar}$); 6.98 (d, 1H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $H6_{ar}$); 6.73 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.72 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.34 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.0 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.8 Hz, H1‘); 6.35 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.8 Hz, H1‘); 5.46 (dt, 2H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 14.5 Hz, H3‘); 5.35-5.22 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.55-4.40 (m, 4H, H5‘); 4.23-4.15 (m, 2H, H4‘); 2.54 (dd, 1H, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.5 Hz, H2‘); 2.48 (dd, 1H, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.5 Hz, H2‘); 2.35 (q, 2H, $^3J_{H2(Dec),H3(Dec)}$ = 7.0 Hz, $H2_{Dec}$); 2.34 (q, 2H, $^3J_{H2(Dec),H3(Dec)}$ = 7.0 Hz, $H2_{Dec}$); 2.28 (s, 6H, CH_3); 2.14 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.9 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 9.4 Hz, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 15.7 Hz, H2‘‘); 2.04 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 6.9 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 9.4 Hz, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 15.7 Hz, H2‘‘); 1.65-1.58 (m, 4H, $H3_{Dec}$); 1.28 (m, 24H, $H4_{Dec}$ - $H9_{Dec}$); 0.88 (t, 6H, $^3J_{H10(Dec),H9(Dec)}$ = 6.9 Hz, $H10_{Dec}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, $CDCl_3$): 173.40 ($C1_{Dec}$); 173.38 ($C1_{Dec}$); 161.03 (C4); 161.02 (C4); 149.07 (2xC2); 148.55 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C2_{ar}$); 148.45 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C2_{ar}$); 136.79 (C6); 136.75 (C6); 131.62 ($C4_{ar}$); 131.60 ($C4_{ar}$); 128.07 (2xC7); 127.85 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 8.2 Hz, $C3_{ar}$); 127.82 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 8.2 Hz, $C3_{ar}$); 124.32 ($C5_{ar}$); 124.30 ($C5_{ar}$); 123.07 ($2xC6_{ar}$); 112.11 (C5); 112.06 (C5); 110.47 (C8); 110.38 (C8); 85.35 (C4‘); 85.18 (C4‘); 83.35 (C1‘); 83.30 (C1‘); 74.03 (C3‘), 74.01 (C3‘); 67.95 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 23.3 Hz, C5‘); 67.90 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 23.3 Hz, C5‘); 37.90 (C2‘); 37.82 (C2‘); 33.99 ($2xC2_{Dec}$); 31.80 ($2xC4_{Dec}$); 29.34 ($2xC5_{Dec}$); 29.20 ($2xC7_{Dec}$); 29.18 ($2xC6_{Dec}$); 29.05 ($2xC8_{Dec}$); 24.72 ($2xC3_{Dec}$); 22.62 ($2xC9_{Dec}$); 15.26 ($CH_{3\ ar}$); 15.25 ($CH_{3\ ar}$); 13.85 ($2xC10_{Dec}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): - 6.80 (s); - 6.94 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

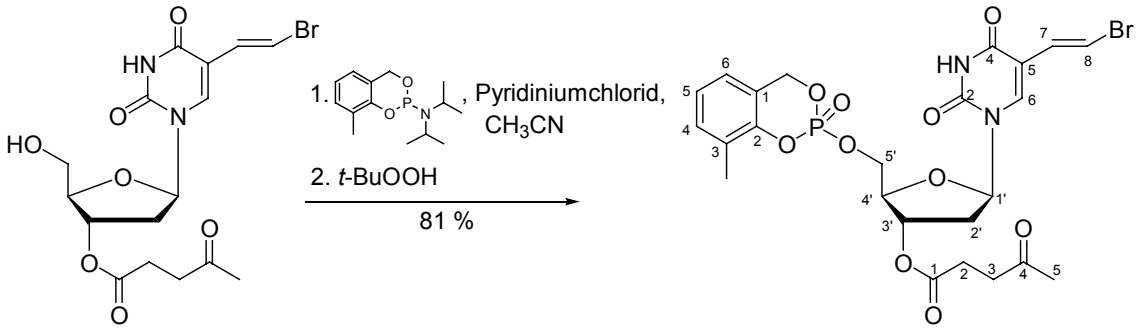
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3417, 3407, 3386, 3361, 3193, 3106, 3070, 2952, 2925, 2854, 1714, 1594, 1465, 1417, 1365, 1294, 1191, 1164, 1110, 1062, 1020, 941, 869, 852, 819, 769, 651, 530, 430.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 288.1, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 266.6, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 668.9 ($M\text{-}H^+$)

8.3.5.31. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



38 **25m**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 400 mg (0.93 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 375 mg (3.72 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 645 mg (2.41 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-phosphoramidit und 500 µl (2.66 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 460 mg (0.75 mmol; 81 %) eines farblosen Schaumes.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.63

HPLC t_R = 12.56 min (> 97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.26 (181.9)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 8.93 (s, 2H, NH); 7.76 (s, 1H, H6); 7.75 (s, 1H, H6); 7.46 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.44 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.21 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.3 Hz, $H4_{ar}$); 7.08 (dd, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.6 Hz, $H5_{ar}$); 6.96 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.5 Hz, $H6_{ar}$); 6.73 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.71 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.6 Hz, H1‘); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 8.6 Hz, H1‘); 5.46 (dt, 2H, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 13.7 Hz, H3‘); 5.35-5.22 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.55-4.40 (m, 4H, H5‘); 4.25-4.17 (m, 2H, H4‘); 2.81-2.75 (m, 4H, $H3_{Lev}$); 2.23 (s, 6H, $CH_{3\ ar}$); 2.21 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.20 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.20-2.00 (m, 4H, H2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.34 ($2xC4_{Lev}$); 172.40 ($2xC1_{Lev}$); 161.03 (2xC4); 149.03 (2xC2); 136.81 (2xC6); 131.62 ($C4_{ar}$); 131.58 ($C4_{ar}$); 128.07 (2xC7); 127.89 ($C3_{ar}$); 127.78 ($C3_{ar}$); 124.35 ($C5_{ar}$); 124.31 ($C5_{ar}$); 123.06 ($2xC6_{ar}$); 112.05 (C8); 112.02 (C8); 110.42 (C5); 110.32 (C5); 85.32 (C4‘), 85.14 (C4‘); 83.13 (C1‘); 83.07 (C1‘); 74.39 (C3‘);

74.31 (C3‘), 68.78 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.0 Hz, C5‘); 68.71 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.0 Hz, C5‘); 67.95 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 18.1 Hz, C_{benzyl}); 67.76 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 18.1 Hz, C_{benzyl}); 37.75 (2xC2‘, 2x$C3_{Lev}$); 29.71 (2x$C5_{Lev}$); 27.79 (2x$C4_{Lev}$) ; 15.31 ($CH_{3\ ar}$); 15.26 ($CH_{3\ ar}$) . (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): - 6.80 (s); - 6.94 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

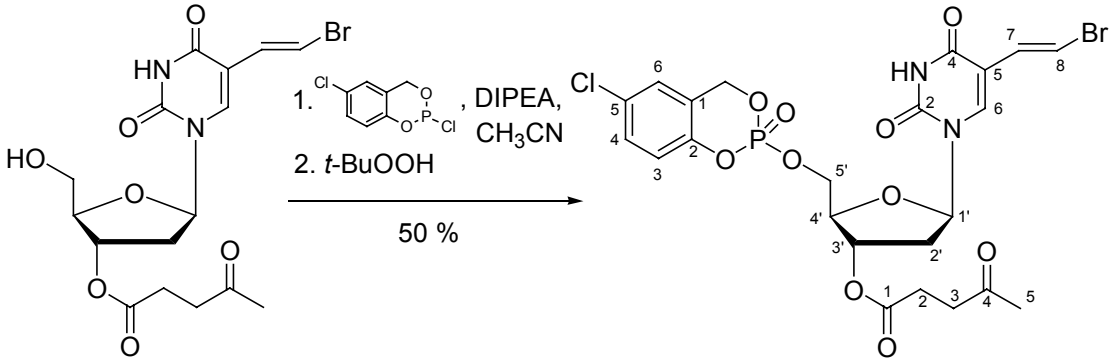
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3199, 3104, 3070, 2969, 2927, 1714, 1594, 1467, 1409, 1365, 1294, 1189, 1159, 1122, 1058, 1018, 943, 819, 773, 657, 433.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 288.1, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 266.6, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 611.03 ($M\text{-}H^+$)

8.3.5.32. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



38 **39a**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 250 mg (0.58 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 300 mg (397 µl; 2.32 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 324 mg (1.45 mmol) 5-Chlor-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 320 µl (1.60 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 200 mg (0.32 mmol; 54 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.53

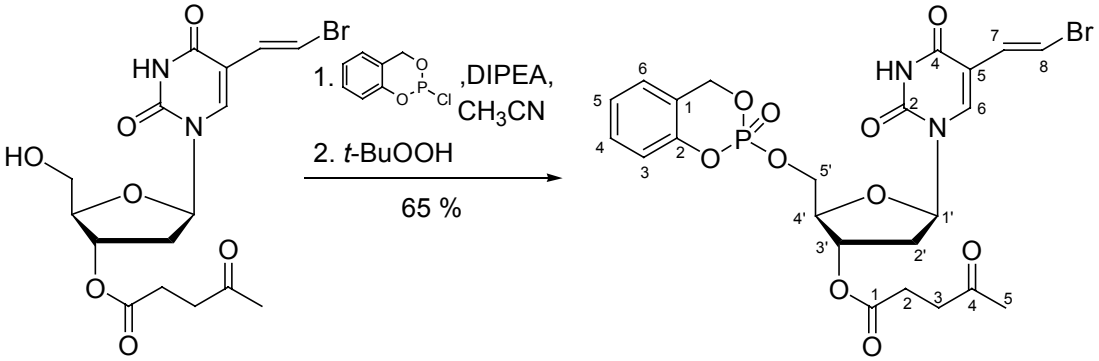
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$) 9.02 (s, 2H, 2xNH); 7.72 (s, 2H, 2xH6); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.33 (br.s, 1H, $H4_{ar}$); 7.31 (br.s, 1H, $H4_{ar}$); 7.14 (d, 1H, $^3J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 2.5 Hz, $H6_{ar}$); 7.13 (d, 1H, $^3J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 2.5 Hz, $H6_{ar}$); 7.04 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ =

9.8 Hz, $H3_{ar}$); 7.03 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 9.8 Hz, $H3_{ar}$); 6.75 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.71 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.31 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.3 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 2.8 Hz, H1'); 6.29 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 3.2 Hz, H1'); 5.47-5.27 (m, 6H, $2xH_{benzyl}$, 2xH3'); 4.56-4.45 (m, 4H, 2xH5'); 4.23 (m, 2H, H4'); 2.84-2.72 (m, 4H, $2xH2_{Lev}$); 2.63-2.51 (m, 4H, $2xH3_{Lev}$); 2.21 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.20 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.14-2.05 (m, 4H, 2xH2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.47 ($2xC4_{Lev}$); 172.41 ($C1_{Lev}$); 172.38 ($C1_{Lev}$); 161.67 (C4); 161.63 (C4); 156.27 ($C5_{ar}$); 156.24 ($C5_{ar}$); 149.18 (2xC2); 143.50 ($C2_{ar}$); 143.42 ($C2_{ar}$); 137.08 ($2xC4_{ar}$); 128.09 (2xC7); 121.47 ($C1_{ar}$); 121.32 ($C1_{ar}$); 119.39 ($C3_{ar}$); 119.30 ($C3_{ar}$); 111.89 (C8); 111.82 (C8); 110.41 ($2xC5_{ar}$); 110.29 (C5); 110.16 (C5); 85.27 (C1'), 85.23 (C1'); 83.10 (C4'); 83.04 (C4'); 74.35 (C3'); 74.22 (C3'), 68.75 (C5'); 68.63 (C5'); 67.96 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.79 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 37.79 (C2'); 37.72 ($C3_{Lev}$); 37.70 (C2'); 29.69 ($C5_{Lev}$); 27.76 ($C2_{Lev}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.90 (s); -7.97 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.33. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromovinyl)-3'-levuninyl-2'-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 72.8 mg (0.17 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3'-*O*-levuninyl-2'-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 87 µl (0.51 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 80.0 mg (0.43 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorophosphit und 94 µl (0.71 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 62.6 mg (0.11 mmol, 65 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

HPLC t_R = 14.00 min (98 %, Gradient D)

log *P* (PC) 1.73 (53.7)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.75 (s, 1H, NH); 8.74 (s, 1H, NH); 7.73 (s, 1H, H6); 7.72 (s, 1H, H6); 7.46 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.35 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.9 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.9 Hz, $H4_{ar}$); 7.19-7.08 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.76 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 5.4 Hz, H1'); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 5.4 Hz, H1'); 5.49 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 13.9 Hz, $H_{benzyl(a)'}$); 5.45 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 13.9 Hz, $H_{benzyl(b)'}$); 5.36 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.3 Hz, $H_{benzyl(a)''}$); 5.34 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.3 Hz, $H_{benzyl(b)''}$); 5.29 (m, 2H, H3'); 4.55-4.46 (m, 4H, H5'); 4.25-4.22 (m, 2H, H4'); 2.84-2.72 (m, 4H, $H3_{Lev}$); 2.63-2.49 (m, 4H, $H2_{Lev}$); 2.21 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.53 (ddd, 2H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 1.3 Hz, $^3J_{H2'',H3'}$ = 5.4 Hz, H2''); 2.20 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.6 Hz, H2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

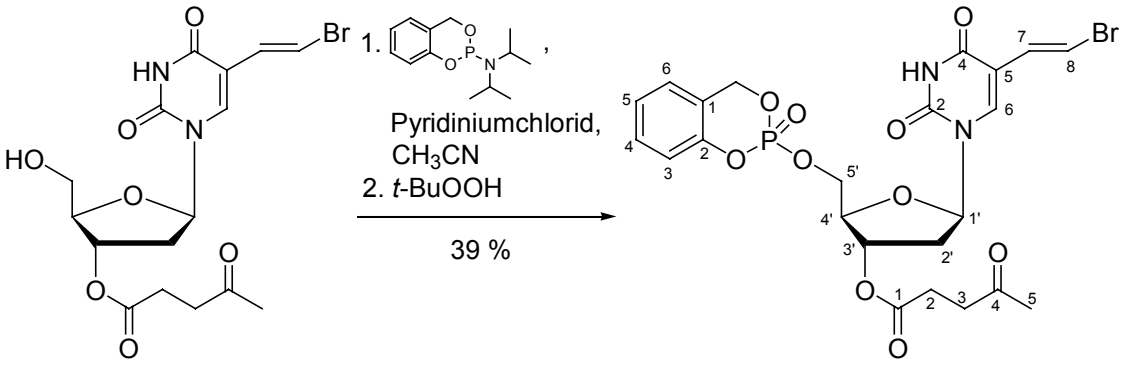
^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.32 ($2xC4_{Lev}$); 172.43 ($C1_{Lev}$); 172.40 ($C1_{Lev}$); 160.96 (C4); 160.94 (C4); 149.96 (d, $^2J_{C2',P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$); 149.93 (d, $^2J_{C2',P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$); 148.96 (2xC2); 136.84 (C6); 136.83 (C6); 130.27 ($2xC4_{ar}$); 128.10 (2xC7); 125.55 ($2xC5_{ar}$); 124.81 ($C6_{ar}$); 124.77 ($C6_{ar}$); 118.63 ($C3_{ar}$); 118.55 ($C3_{ar}$); 112.02 (C8); 111.98 (C8); 110.44 (C5); 110.30 (C5); 85.26 (C1'), 85.15 (C1'); 83.11 (d, $^2J_{C4',P}$ = 3.0 Hz, C4'); 83.04 (d, $^2J_{C4',P}$ = 6.0 Hz, C4'); 74.34 (C3'); 74.24 (C3'), 68.71 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.62 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.04 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.88 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 37.82 (2xC2'); 37.75 ($2xC3_{Lev}$); 29.72 ($2xC5_{Lev}$); 27.79 ($2xC4_{Lev}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.90 (s); -7.97 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3473, 3453, 3424, 3311, 3195, 3104, 3070, 2958, 2923, 1714, 1594, 1488, 1459, 1411, 1365, 1292, 1247, 1224, 1191, 1157, 1106, 1058, 1020, 946, 844, 759, 435.

MS: (FAB; m/z): 599.2; 601.2 ($M+H^+$)

8.3.5.34. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromovinyl)-2‘-desoxy-3‘-levuninyluridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 77.2 mg (0.18 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 83.0 mg (0.72 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 114 mg (0.45 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-phosphoramidit und 101 µl (0.50 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 44.0 mg (0.07 mmol, 39 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

HPLC t_R = 14.00 min (98 %, Gradient D)

log *P* (PC) 1.73 (53.7)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.75 (s, 1H, NH); 8.74 (s, 1H, NH); 7.73 (s, 1H, H6); 7.72 (s, 1H, H6); 7.46 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.35 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.9 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.9 Hz, $H4_{ar}$); 7.19-7.08 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.76 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.4 Hz, H1‘); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.4 Hz, H1‘); 5.49 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 13.9 Hz, $H_{benzyl(a)‘}$); 5.45 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 13.9 Hz, $H_{benzyl(b)‘}$); 5.36 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘‘,H(benzyl)‘}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘‘,P}$ = 6.3 Hz, $H_{benzyl(a)‘‘}$); 5.34 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘‘,H(benzyl)‘}$ = 13.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘‘,P}$ = 6.3 Hz, $H_{benzyl(b)‘‘}$); 5.29 (m, 2H, H3‘); 4.55-4.46 (m, 4H, H5‘); 4.25-4.22 (m, 2H, H4‘); 2.84-2.72 (m, 4H, $H3_{Lev}$); 2.63-2.49 (m, 4H, $H2_{Lev}$); 2.21 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 2.53 (ddd, 2H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 1.3 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 5.4 Hz, H2‘‘); 2.20 (s,

3H, $H5_{Lev}$); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.6 Hz, H2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

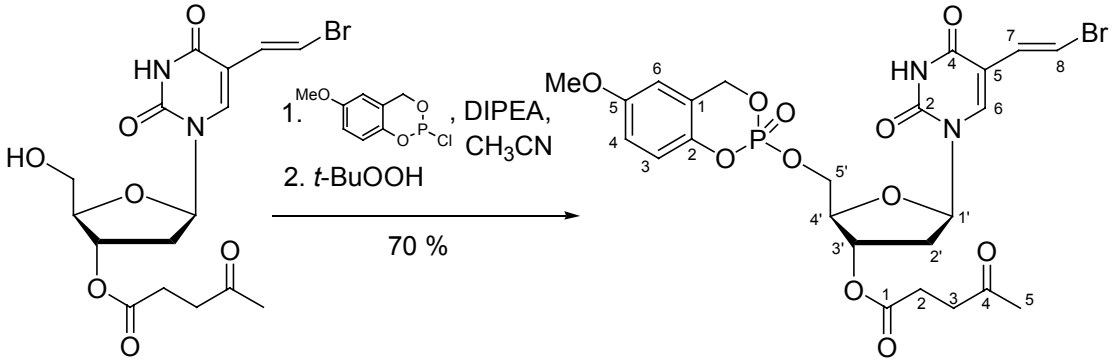
^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.32 ($2xC4_{Lev}$); 172.43 ($C1_{Lev}$); 172.40 ($C1_{Lev}$); 160.96 (C4); 160.94 (C4); 149.96 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$); 149.93 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$); 148.96 (2xC2); 136.84 (C6); 136.83 (C6); 130.27 ($2xC4_{ar}$); 128.10 (2xC7); 125.55 ($2xC5_{ar}$); 124.81 ($C6_{ar}$); 124.77 ($C6_{ar}$); 118.63 ($C3_{ar}$); 118.55 ($C3_{ar}$); 112.02 (C8); 111.98 (C8); 110.44 (C5); 110.30 (C5); 85.26 (C1'), 85.15 (C1'); 83.11 (d, $^3J_{C4',P}$ = 3.0 Hz, C4'); 83.04 (d, $^3J_{C4',P}$ = 6.0 Hz, C4'); 74.34 (C3'); 74.24 (C3'), 68.71 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.62 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.04 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.88 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 37.82 (2xC2'); 37.75 ($2xC3_{Lev}$); 29.72 ($2xC5_{Lev}$); 27.79 ($2xC4_{Lev}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.90 (s); -7.97 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3473, 3453, 3424, 3311, 3195, 3104, 3070, 2958, 2923, 1714, 1594, 1488, 1459, 1411, 1365, 1292, 1247, 1224, 1191, 1157, 1106, 1058, 1020, 946, 844, 759, 435.

MS: (FAB; m/z): 599.2; 601.2 ($M+H^+$)

8.3.5.35. Darstellung von 5-Methoxy-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3'-*O*-levuninyl-2'-desoxyuridinmonophosphat



38 **39c**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.23 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3'-*O*-levuninyl-2'-desoxyuridin, 8 ml Acetonitril, 160 µl (0.92 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 126 mg (0.58 mmol) 5-Methoxy-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 120 µl (0.66 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 100 mg (0.16 mmol; 70 %) einer farblosen Watte.

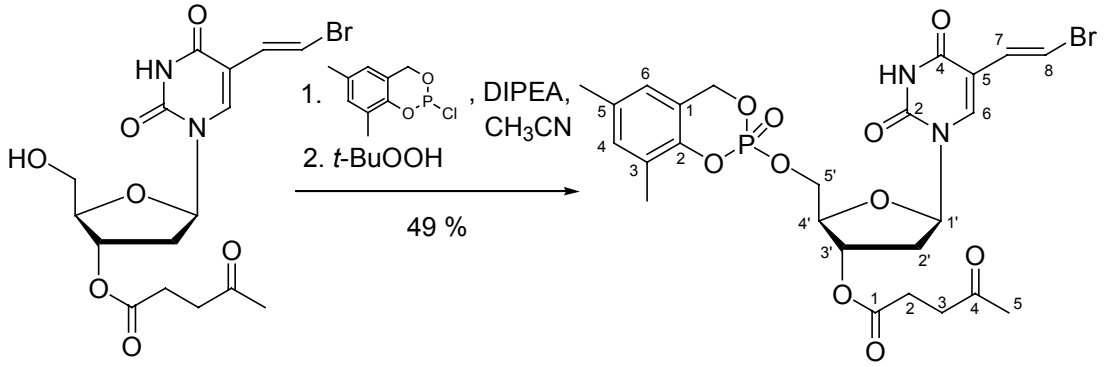
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.61

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 9.71 (s, 2H, 2xNH); 7.73 (s, 1H, H6); 7.72 (s, 1H, H6); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.39 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.00 (d, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 2.5 Hz, $H4_{ar}$); 6.99 (d, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 2.5 Hz, $H4_{ar}$); 6.85 (d, 1H, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 0.5 Hz, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 0.5 Hz, $H6_{ar}$); 6.75 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.62 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 2.5 Hz, $H3_{ar}$); 6.61 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 2.5 Hz, $H3_{ar}$); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 5.7 Hz, H1'); 6.29 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 5.7 Hz, H1'); 5.46-5.24 (m, 6H, $2xH_{benzyl}$, 2xH3'); 4.52-4.44 (m, 4H, 2xH5'); 4.23-4.20 (m, 2H, 2xH4'); 3.77 (s, 6H, 2xOMe); 2.79-2.75 (m, 4H, $H3_{Lev}$); 2.59-2.48 (m, 6H, $2xH2_{Lev,}$ 2xH3'); 2.19 (s, 6H, $H5_{Lev}$); 2.12-2.02 (m, 4H, 2xH2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.47 ($2xC4_{Lev}$); 172.41 ($C1_{Lev}$); 172.38 ($C1_{Lev}$); 161.67 (C4); 161.63 (C4); 156.27 ($C5_{ar}$); 156.24 ($C5_{ar}$); 149.18 (2xC2); 143.50 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 143.42 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 137.08 ($2xC4_{ar}$); 128.09 (2xC7); 121.47 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$); 121.32 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$); 119.39 ($C3_{ar}$); 119.30 ($C3_{ar}$); 111.89 (C8); 111.82 (C8); 110.41 ($2xC5_{ar}$); 110.29 (C5); 110.16 (C5); 85.27 (C1'), 85.23 (C1'); 83.10 (d, $^2J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 83.04 (d, $^2J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 74.35 (C3'); 74.22 (C3'), 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.63 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 67.96 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.79 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 55.73 (OMe); 37.79 (C2'); 37.72 ($C3_{Lev}$); 37.70 (C2'); 29.69 ($C5_{Lev}$); 27.76 ($C2_{Lev}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.24 (s); -7.36 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.36. Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



38 **39e**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.23 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 120 mg (160 µl; 0.93 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 126 mg (0.59 mmol) 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 140 µl (0.59 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 70.0 mg (0.11 mmol; 49 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49

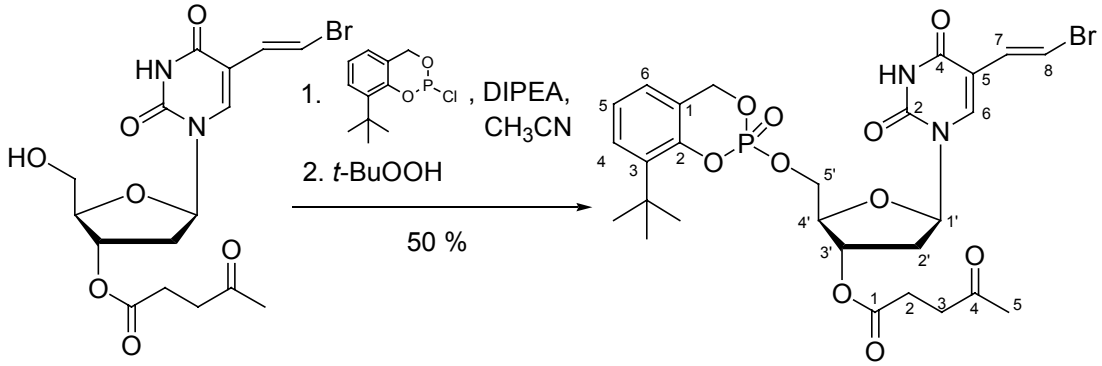
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.41 (s, 2H, NH); 7.75 (s, 1H, H6); 7.74 (s, 1H, H6); 7.45 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.00 (br. s, 2H, 2x$H4_{ar}$); 6.75 (m, 2H, 2x$H6_{ar}$); 6.72 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.71 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.32 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.1 Hz, H1‘); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.1 Hz, H1‘); 5.46-5.19 (m, 6H, 2xH_{benzyl}, 2xH3‘); 4.53-4.38 (m, 4H, 2xH5‘); 4.23 (dt, 1H, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.5 Hz, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 5.1 Hz, H4‘); 4.21 (dt, 1H, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 2.5 Hz, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 5.1 Hz, H4‘); 2.83-2.71 (m, 4H, 2x$H2_{Lev}$); 2.61-2.55 (m, 4H, 2x$H3_{Lev}$); 2.28 (s, 6H, 2x$H5_{Lev}$); 2.23 (s, 6H, 2x$H5_{ar}$); 2.19 (s, 6H, 2x$H3_{ar}$); 2.22-2.00 (m, 4H, 2xH2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.37 (2x$C4_{Lev}$); 175.71 (2x$C1_{ar}$); 172.39 ($C1_{Lev}$); 172.37 ($C1_{Lev}$); 161.41 (2xC4); 149.10 (2xC2); 136.98 (C6); 136.96 (C6); 134.03 ($C5_{ar}$); 133.97 ($C5_{ar}$); 132.18 ($C4_{ar}$); 132.14 ($C4_{ar}$); 128.07 (2xC7); 127.42 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 3.0 Hz, $C3_{ar}$); 127.34 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 3.0 Hz, $C3_{ar}$); 123.33 (2x$C6_{ar}$); 120.25 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 120.18 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 111.99 (C8); 111.92 (C8); 110.37 (C5);

110.28 (C5); 85.32 (C4‘), 85.20 (C4‘); 83.16 (C1‘); 83.10 (C1‘); 74.47 (C3‘); 74.36 (C3‘), 68.87 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.5 Hz, C5‘); 68.81 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.5 Hz, C5‘); 67.89 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.67 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 37.80 (C2‘); 37.74 (2x$C3_{Lev}$);37.70 (C2‘); 29.70 (2x$C5_{Lev}$); 27.78 (2x$C4_{Lev}$); 20.61 ($CH_{3\ ar5}$); 20.57 ($CH_{3\ ar5}$); 15.31 ($CH_{3\ ar3}$); 15.26 ($CH_{3\ ar3}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -5.61 (s); -5.91 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.37. Darstellung von 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.23 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-levuninyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 120 mg (160 µl; 0.93 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 142 mg (0.58 mmol) 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 140 µl (0.60 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 75.0 mg (0.11 mmol; 50 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.67

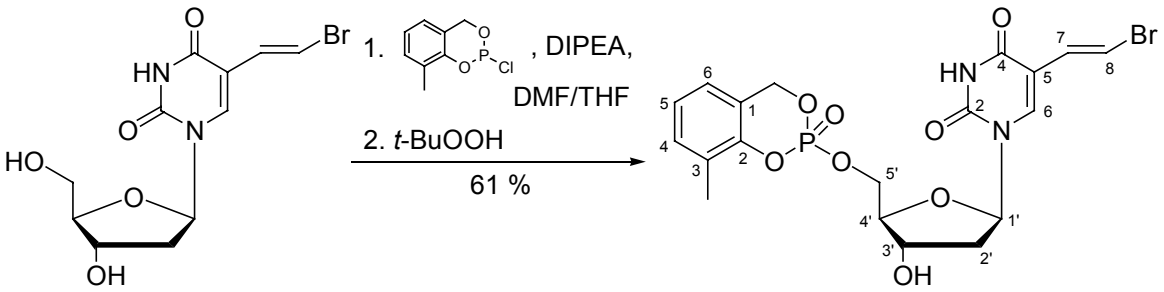
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.98 (s, 2H, NH); 7.78 (s, 2H, H6); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.42 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.35 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.7 Hz, 2x$H4_{ar}$); 7.10 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.7 Hz, $H5_{ar}$); 7.00 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.7 Hz, 2x$H6_{ar}$); 6.72 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.72 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.31 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 3.6 Hz, H1‘); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 3.6 Hz, H1‘); 5.46-5.23 (m, 6H, 2xH_{benzyl}, 2xH3‘); 4.59-4.39 (m, 4H, 2xH5‘); 4.22 (m, 2H, H4‘); 2.84-2.70 (m, 4H, 2x$H2_{Lev}$); 2.61-2.55 (m, 4H, 2x$H3_{Lev}$); 2.18 (s, 6H, 2x$H5_{Lev}$); 2.22-2.00

(m, 4H, 2xH2‘); 1.39 (s, 9H, 3xCH_3); 1.38 (s, 9H, 3xCH_3). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 206.49 ($C4_{Lev}$); 206.46 ($C4_{Lev}$); 176.36 (2x$C1_{ar}$); 172.36 (2x$C1_{Lev}$); 161.88 (C4); 161.85 (C4); 149.24 (2xC2); 139.49 (C); 139.42 (C); 137.17 (C6); 137.11 (C6); 128.02 (C7); 127.89 (C7); 124.46 (C); 124.38 (C); 123.81 ($C6_{ar}$); 123.79 ($C6_{ar}$); 122.10 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 15.2 Hz, $C2_{ar}$); 122.01 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 16.2 Hz, $C2_{ar}$); 111.93 (C8); 111.89 (C8); 110.35 (C5); 110.24 (C5); 85.34 (C4‘), 85.04 (C4‘); 83.11 (C1‘); 83.01 (C1‘); 74.29 (C3‘); 74.23 (C3‘), 68.80 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.5 Hz, C5‘); 68.73 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.5 Hz, C5‘); 68.19 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.88 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 53.39 (2x$C7_{ar}$); 37.71 (C2‘); 37.70 (2x$C3_{Lev}$); 37.63 (C2‘); 29.75 (2x$C8_{ar}$); 27.74 (2x$C2_{Lev}$); 20.69 (2x$C5_{Lev}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -6.67 (s); -7.21 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.38. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat



4 **25d**

130 mg (0.39 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin wurden zweimal mit Pyridin coevaporiert, anschließend in 3 ml Dimethylformamid/Tetrahydrofuran (2:1; v/v) gelöst und auf -20 °C abgekühlt. Nun gab man 78.0 mg (103 µl; 0.78 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) und 95.0 mg (0.47 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit zu und ließ auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Es wurde mit 160 µl (0.78 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in Decan bei -20 °C versetzt und wiederum auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert und dreimal mittels Chromatotron aufgereinigt (1. Ethylacetat (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. und 3. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 112 mg (0.22 mmol; 61 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

HPLC t_R = 12.69 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.98 (95.5)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.56 (s, 2H, NH); 7.76 (s, 1H, H6); 7.75 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.23 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.6 Hz, $H5_{ar}$); 7.22 (dd, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.6 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.6 Hz, $H5_{ar}$); 7.07-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.86 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.15 (d, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.5 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 6.8 Hz, H1'); 6.14 (d, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.5 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 6.8 Hz, H1'); 5.48-5.36 (m, 6H, H_{benzyl}, OH); 4.38-4.22 (m, 6H, H5', H3'); 3.94-3.90 (m, 2H, H4'); 2.20-2.13 (m, 2H, H2'); 2.20 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.18 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 161.81 (C4); 161.79 (C4); 149.39 (2xC2); 148.12 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.6 Hz, $C2_{ar}$); 148.07 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.6 Hz, $C2_{ar}$); 139.48 (C6); 139.41 (C6); 131.10 ($C4_{ar}$); 131.08 ($C4_{ar}$); 129.94 (2xC7); 127.07 ($C3_{ar}$); 126.99 ($C3_{ar}$); 124.15 (2x$C5_{ar}$); 123.74 ($C6_{ar}$); 123.71 ($C6_{ar}$); 121.14 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 121.09 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 110.37 (C5); 110.34 (C5); 107.19 (2xC8); 84.87 (C1'); 84.80 (C1'); 84.67; (d, $^3J_{C4',P}$ = 5.7 Hz, C4'); 84.63 (d, $^3J_{C4',P}$ = 6.7 Hz, C4'); 69.89 (C3'); 69.83 (C3'); 68.66 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.7 Hz, C5'); 68.59 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.6 Hz, C5'); 67.97 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 11.4 Hz, C_{benzyl}); 67.91 (d, $^2J_{C(benzyl)P}$ = 11.4 Hz, C_{benzyl}); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 15.04 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -8.82 (s); -8.90 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

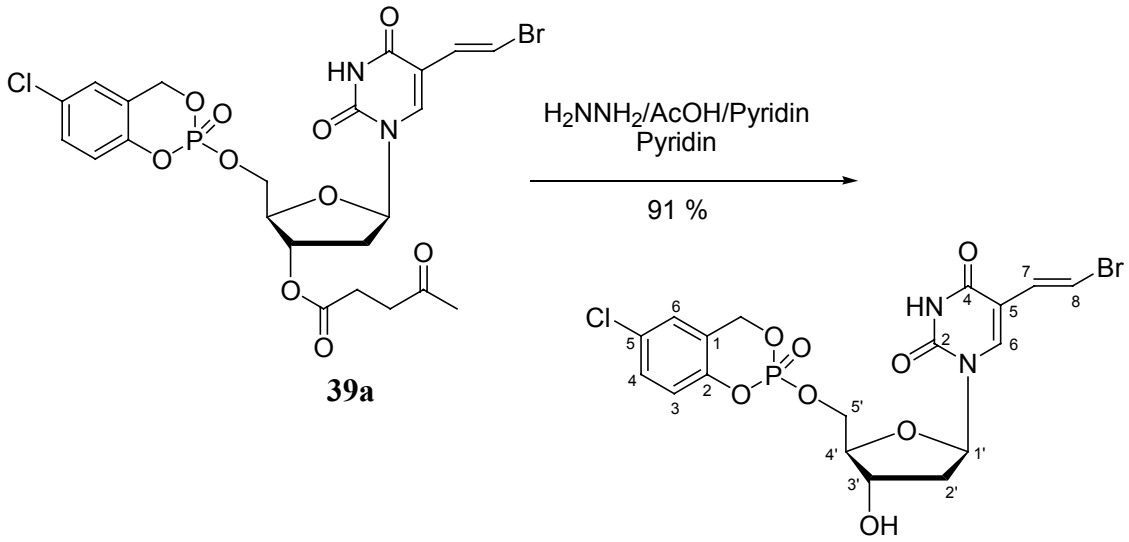
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3423, 2346, 1701, 1560, 1466, 1364, 1286, 1187, 1086, 1023, 955, 869, 526, 478

UV: λ_{max} (CH_3CN): 293.39, 250.10, 196.82 nm

λ_{min} (CH_3CN): 270.08, 226.79 nm

MS: (FAB; m/z):515.3 (M)

8.3.5.39. Darstellung von 5-Chlor-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat



39a **25a**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 180.0 mg (0.28 mmol) 5-Chlor-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat, 10 ml Pyridin, 2.8 ml Hydrazinhydrat (24 %); 6.4 ml Pyridin; 4.1 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 137.0 mg (0.26 mmol; 91 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.23

HPLC t_R = 13.36 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.78 (60.3)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 11.57 (s, 2H, NH); 7.77 (s, 1H, H6); 7.74 (s, 1H, H6); 7.40-7.37 (m, 4H, $H3_{ar}$, $H6_{ar}$); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.3 Hz, H8); 7.27 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.3 Hz, H8); 7.14 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 8.8 Hz, $^3J_{H4(ar),H6(ar)}$ = 5.7 Hz, $H4_{ar}$); 6.86 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.3 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.3 Hz, H7); 6.15 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.4 Hz, H1‘); 6.13 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.4 Hz, H1‘); 5.52-5-38 (m, 4H, H_{benzyl}); 4.40-4.25 (m, 4H, H5‘); 4.23-4.20 (m, 2H, H4‘); 3.93-3.91 (m, 2H, H3‘); 2.20-2.11 (m, 4H, H2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 156.21 (2xC4); 156.19 ($2xC5_{ar}$); 149.21 (2xC2); 143.20 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 143.19 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 137.29 ($C4_{ar}$); 137.18 ($C4_{ar}$); 128.31 (C7); 128.24 (C7); 121.20 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$); 121.19 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$);

119.20 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C3_{ar}$); 119.10 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C3_{ar}$); 111.31 (C8); 111.26 (C8); 110.33 ($C5_{ar}$); 110.31 ($C5_{ar}$); 109.40 (C5); 109.33 (C5); 85.30 (C1‘), 85.20 (C1‘); 84.75 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.1 Hz, C4‘); 84.52 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.1 Hz, C4‘); 69.72 (C3‘); 69.35 (C3‘), 68.74 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.1 Hz, C5‘); 68.64 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.1 Hz, C5‘); 67.37 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.03 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 40.31 (C2‘); 40.19 (C2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

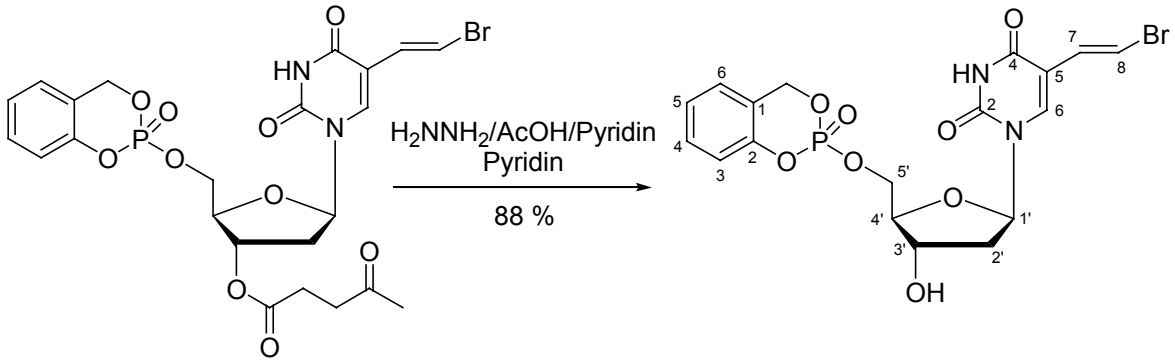
^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -8.79 (s); -8.89 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 535.0; 537.0 ($M+H^+$)

8.3.5.40. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat



39b **25b**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 143 mg (0.24 mmol) 5-*H*-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat, 3 ml Pyridin, 3 ml Hydrazinhydrat (24 %); 6.9 ml Pyridin; 4.6 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 105 mg (0.21 mmol; 88 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.28

HPLC t_R = 12.19 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.47 (29.51)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$/MeOD): 7.55 (s, 1H, H6); 7.52 (s, 1H, H6); 7.39 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.34 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.37-7.33 (m, 2H, $H4_{ar}$); 7.21-7.14 (m, 4H, $H3_{ar}$, $H6_{ar}$); 7.10 (t, 2H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)/H6(ar)}$ = 8.8 Hz, $H5_{ar}$); 6.66 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.56

(d, 1H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.23 (dd, 4H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 6.3 Hz, H1'); 5.47 (dd, 1H, $^{2}J_{H(benzyl)a,H(benzyl)b}$ = 13.9 Hz, $^{3}J_{H(benzyl)a,P}$ = 14.5 Hz, $H_{benzyl(a)}$); 5.46 (dd, 1H, $^{2}J_{H(benzyl)a,H(benzyl)b}$ = 13.9 Hz, $^{3}J_{H(benzyl)a,P}$ = 14.5 Hz, $H_{benzyl(a)}$); 5.39 (dd, 2H, $^{2}J_{H(benzyl)b,H(benzyl)a}$ = 13.9 Hz, $^{3}J_{H(benzyl)b,P}$ = 14.5 Hz, $H_{benzyl(b)}$); 4.49-4.40 (m, 6H, H5', H4'); 4.09-4.06 (m, 2H, H3'); 2.43 (ddd, 1H, $^{3}J_{H2',H1'}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{H2',H3'}$ = 5.0 Hz, $^{3}J_{H2',H2''}$ = 13.9 Hz, H2'); 2.40 (ddd, 1H, $^{3}J_{H2',H1'}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{H2',H3'}$ = 5.0 Hz, $^{3}J_{H2',H2''}$ = 13.9 Hz, H2'); 2.14 (ddd, 1H, $^{3}J_{H2'',H1'}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{H2'',H3'}$ = 6.9 Hz, $^{3}J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, H2''); 2.09 (ddd, 1H, $^{3}J_{H2'',H1'}$ = 6.3 Hz, $^{3}J_{H2'',H3'}$ = 6.9 Hz, $^{3}J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, H2''). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 161.42 (2xC4); 149.11 (C2); 149.07 (C2); 146.24 ($C2_{ar}$); 146.18 ($C2_{ar}$); 137.42 (C6); 137.27 (C6); 134.19 ($C5_{ar}$); 134.12 ($C5_{ar}$); 132.27 ($C4_{ar}$); 132.22 ($C4_{ar}$); 128.26 (C7); 128.09 (C7); 127.42 (d, $^{2}J_{C3(ar),P}$ = 8.1 Hz, $C3_{ar}$); 127.34 (d, $^{2}J_{C3(ar),P}$ = 8.1 Hz, $C3_{ar}$); 123.52 ($C6_{ar}$); 123.39 ($C6_{ar}$); 120.35 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 120.07 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 111.45 (C8); 111.43 (C8); 110.09 (C5); 110.05 (C5); 85.55 (C1'), 85.28 (C1'); 84.98 (d, $^{2}J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 84.65 (d, $^{2}J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 70.54 (C3'); 69.59 (C3'), 69.17 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.88 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 66.64 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 66.65 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 40.62 (C2'); 40.34 (C2'); 20.61 ($2xCH_{3\ ar5}$); 15.19 ($2xCH_{3\ ar3}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -2.95 (br. s) . (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

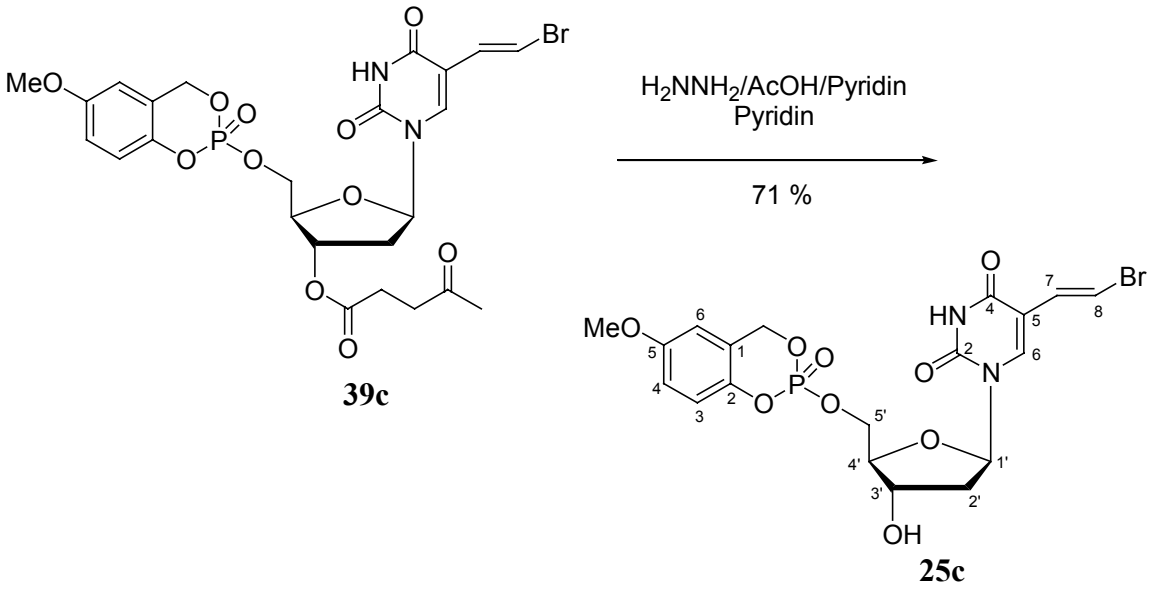
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3471, 3453, 3424, 3311, 3195, 3104, 3070, 2958, 2923, 1714, 1594, 1488, 1459, 1411, 1365, 1292, 1247, 1224, 1191, 1157, 1106, 1058, 1020, 946, 844, 759, 435.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 501.0; 502.9 ($M+H^+$)

8.3.5.41. Darstellung von 5-Methoxy-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridin-monophosphat



39c **25c**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 100.0 mg (0.16 mmol) 5-Methoxy-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat, 10 ml Pyridin, 2.2 ml Hydrazinhydrat (24 %); 5.0 ml Pyridin; 3.2 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 60.0 mg (0.11 mmol; 71 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.30

HPLC t_R = 12.32 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.58 (38.0)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 9.11 (s, 2H, 2xNH); 7.58 (s, 1H, H6); 7.56 (s, 1H, H6); 7.40 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.36 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.02 (d, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 9.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.00 (d, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 9.1 Hz, $H4_{ar}$); 6.85 (m, 2H, $H3_{ar}$); 6.65 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.64 (d, 1H, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 3.0 Hz, $H6_{ar}$); 6.63 (d, 1H, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 3.0 Hz, $H6_{ar}$); 6.54 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.25 (m, 2H, H1‘); 5.46-5.24 (m, 4H, $2xH_{benzyl}$); 4.57-4.39 (m, 6H, 2xH3‘, 2xH5‘); 4.13-4.09 (m, 2H, 2xH4‘); 3.79 (s, 3H, OMe); 3.78 (s, 3H, OMe); 2.53-2.45 (m, 2H, 2xH2‘); 2.23-2.12 (m, 2H, 2xH2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 156.21 (2xC4); 156.19 ($2xC5_{ar}$); 149.21 (2xC2); 143.20 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 143.19 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 137.29 ($C4_{ar}$); 137.18 ($C4_{ar}$); 128.31 (C7); 128.24 (C7);

121.20 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$); 121.19 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C1_{ar}$); 119.20 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C3_{ar}$); 119.10 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 9.1 Hz, $C3_{ar}$); 111.31 (C8); 111.26 (C8); 110.33 ($C5_{ar}$); 110.31 ($C5_{ar}$); 109.40 (C5); 109.33 (C5); 85.30 (C1‘), 85.20 (C1‘); 84.75 (d, $^3J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4‘); 84.52 (d, $^3J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4‘); 69.72 (C3‘); 69.35 (C3‘), 68.74 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5‘); 68.64 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5‘); 67.37 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.03 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 55.56 (OMe); 55.53 (OMe); 40.31 (C2‘); 40.19 (C2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -6.40 (s); -6.54 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

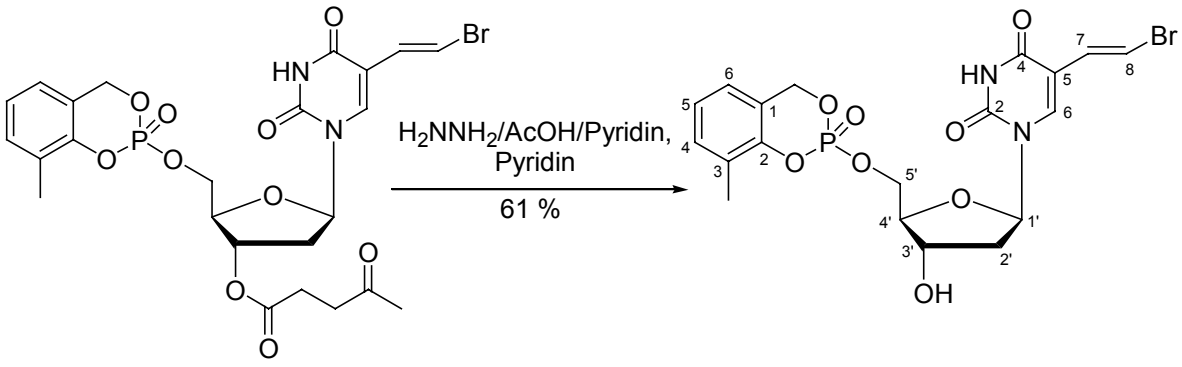
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3423, 3193, 3102, 3068, 2948, 2836, 1708, 1594, 1496 , 1465, 1432, 1363, 1284, 1197, 1159, 1085, 1024, 950, 914, 865, 848, 804, 665, 530, 431.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 531.4; 533.4 ($M+H^+$)

8.3.5.42. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat



25m **25d**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 500.0 mg (0.82 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat, 10 ml Pyridin, 7.9 ml Hydrazinhydrat (24 %); 18.2 ml Pyridin; 12.1 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 418 mg (0.81 mmol; 99 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

HPLC t_R = 12.69 min (>97 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.98 (95.5)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.56 (s, 2H, NH); 7.76 (s, 1H, H6); 7.75 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.23 (dd, 1H, $^{3}J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.6 Hz, $^{3}J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.6 Hz, $H5_{ar}$); 7.22 (dd, 1H, $^{3}J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 4.6 Hz, $^{3}J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 4.6 Hz, $H5_{ar}$); 7.07-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.86 (d, 1H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.84 (d, 1H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.15 (d, 1H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 6.5 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 6.8 Hz, H1'); 6.14 (d, 1H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 6.5 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 6.8 Hz, H1'); 5.48-5.36 (m, 6H, H_{benzyl}, OH); 4.38-4.22 (m, 6H, H5', H3'); 3.94-3.90 (m, 2H, H4'); 2.20-2.13 (m, 2H, H2'); 2.20 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$); 2.18 (s, 3H, $CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 161.81 (C4); 161.79 (C4); 149.39 (2xC2); 148.12 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 7.6 Hz, $C2_{ar}$); 148.07 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 7.6 Hz, $C2_{ar}$); 139.48 (C6); 139.41 (C6); 131.10 ($C4_{ar}$); 131.08 ($C4_{ar}$); 129.94 (2xC7); 127.07 ($C3_{ar}$); 126.99 ($C3_{ar}$); 124.15 (2x$C5_{ar}$); 123.74 ($C6_{ar}$); 123.71 ($C6_{ar}$); 121.14 (d, $^{2}J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 121.09 (d, $^{2}J_{C1(ar),P}$ = 9.5 Hz, $C1_{ar}$); 110.37 (C5); 110.34 (C5); 107.19 (2xC8); 84.87 (C1'); 84.80 (C1'); 84.67; (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 5.7 Hz, C4'); 84.63 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 6.7 Hz, C4'); 69.89 (C3'); 69.83 (C3'); 68.66 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.7 Hz, C5'); 68.59 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 7.6 Hz, C5'); 67.97 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 11.4 Hz, C_{benzyl}); 67.91 (d, $^{2}J_{C(benzyl)P}$ = 11.4 Hz, C_{benzyl}); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 15.04 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -8.82 (s); -8.90 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

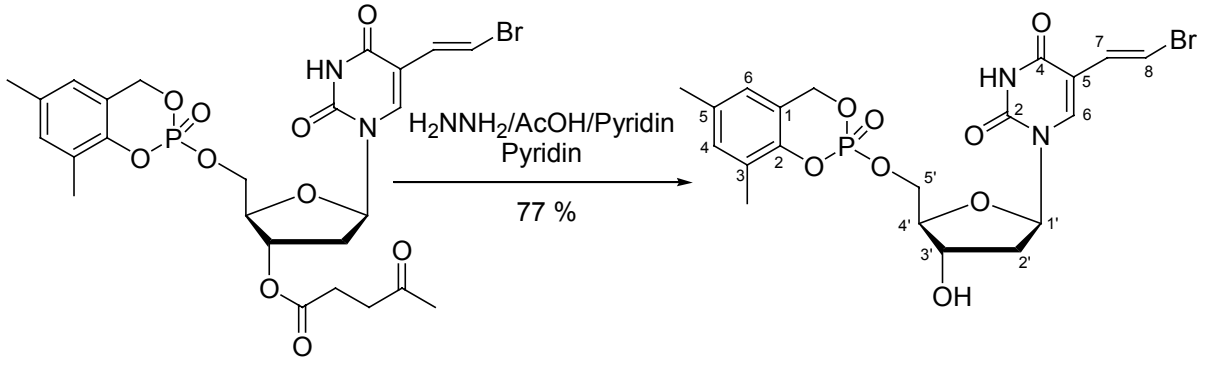
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3423, 2346, 1701, 1560, 1466, 1364, 1286, 1187, 1086, 1023, 955, 869, 526, 478

UV: λ_{max} (CH_3CN): 293.39, 250.10, 196.82 nm

λ_{min} (CH_3CN): 270.08, 226.79 nm

MS: (FAB; m/z):515.3 (M)

8.3.5.43. Darstellung von 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2‘-desoxyuridinmonophosphat



39e **25e**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 100.0 mg (0.16 mmol) 3,5-Dimethyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat, 20 ml Pyridin, 2.2 ml Hydrazinhydrat (24 %); 5 ml Pyridin; 3.2 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 65.0 mg (0.12 mmol; 77 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49

HPLC t_R = 13.65 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.20 (158.5)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 9.34 (s, 2H, NH); 7.59 (s, 1H, H6); 7.57 (s, 1H, H6); 7.38 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.36 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.00 (d, 2H, $^3J_{H4(ar),H6(ar)}$ = Hz, 2x$H4_{ar}$); 6.77 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H4(ar)}$ = Hz, 2x$H6_{ar}$); 6.61 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.55 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.26 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.1 Hz, H1‘); 6.24 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 5.1 Hz, H1‘); 5.45-5.26 (m, 6H, 2xH_{benzyl}, 2xH3‘); 4.58-4.36 (m, 4H, 2xH5‘); 4.14 (m, 1H, H4‘); 4.09 (m, 1H, H4‘); 2.28 (s, 6H, 2x$H5_{ar}$); 2.27 (s, 6H, 2x$H3_{ar}$); 2.22-2.00 (m, 4H, 2xH2‘). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 161.42 (2xC4); 149.11 (C2); 149.07 (C2); 146.24 ($C2_{ar}$); 146.18 ($C2_{ar}$); 137.42 (C6); 137.27 (C6); 134.19 ($C5_{ar}$); 134.12 ($C5_{ar}$); 132.27 ($C4_{ar}$); 132.22 ($C4_{ar}$); 128.26 (C7); 128.09 (C7); 127.42 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 8.1 Hz, $C3_{ar}$); 127.34 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 8.1 Hz, $C3_{ar}$); 123.52 ($C6_{ar}$); 123.39 ($C6_{ar}$); 120.35 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 120.07 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C2_{ar}$); 111.45 (C8); 111.43 (C8); 110.09 (C5); 110.05 (C5); 85.55 (C1‘), 85.28 (C1‘); 84.98 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.1 Hz, C4‘);

84.65 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 70.54 (C3'); 69.59 (C3'), 69.17 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.88 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 66.64 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 66.65 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 40.62 (C2'); 40.34 (C2'); 20.61 (2x$CH_{3\ ar5}$); 15.19 (2x$CH_{3\ ar3}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -5.55 (s); -5.98 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

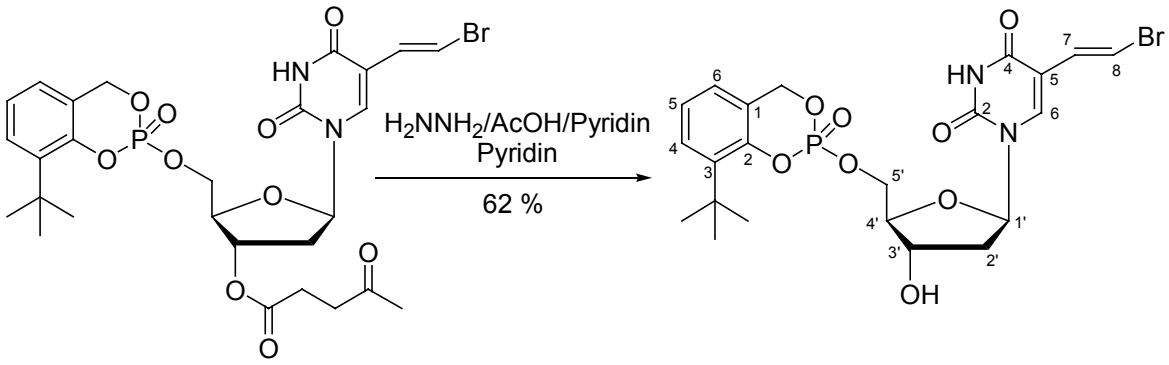
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3195, 3102, 3066, 2950, 2923, 2832, 1704, 1594, 1481, 1463, 1363, 1284, 1199, 1149, 1108, 1085, 1025, 995, 950, 856, 802, 665, 532, 430.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 529.1; 531.5 ($M+H^+$)

8.3.5.44. Darstellung von 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2'-desoxyuridinmonophosphat



39f **25f**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.7. durchgeführt. Es wurden 125.0 mg (0.19 mmol) 3-*tert*-Butyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3'-*O*-levulinyl-2'-desoxyuridinmonophosphat, 5 ml Pyridin, 2.2 ml Hydrazinhydrat (24 %); 5.0 ml Pyridin; 3.2 ml Essigsäure und je 50 ml Ethylacetat und Wasser verwendet.

Ausbeute: 65.0 mg (0.12 mmol; 62 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49

HPLC t_R = 14.77; 14.96 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.90 (794.3)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 9.63 (s, 1H, NH); 9.59 (s, 1H, NH); 7.63 (s, 1H, H6); 7.59 (s, 1H, H6); 7.41 (d, 1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.36 (d,

1H, $^{3}J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.36 (d, 2H, $^{3}J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.7 Hz, 2xH4$_{ar}$); 7.12 (dd, 1H, $^{3}J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $^{3}J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.7 Hz, H5$_{ar}$); 7.11 (dd, 1H, $^{3}J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $^{3}J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.7 Hz, H5$_{ar}$); 7.06 (d, 1H, $^{3}J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.7 Hz, H6$_{ar}$); 7.01 (d, 1H, $^{3}J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.7 Hz, H6$_{ar}$); 6.60 (d, 2H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, 2xH7); 6.28 (dd, 1H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 3.6 Hz, H1'); 6.25 (dd, 1H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 3.6 Hz, H1'); 5.47-5.28 (m, 4H, 2xH$_{benzyl}$); 4.59-4.52 (m, 4H, 2xH5'); 4.48-4.38 (m, 2H, 2xH4'); 2.54-2.45 (m, 2H, 2x H3'); 2.24-2.09 (m, 4H, 2xH2'); 1.43 (s, 9H, 3xCH$_3$); 1.40 (s, 9H, 3xCH$_3$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 161.61 (2xC4); 149.25 (C2); 149.16 (C2); 149.10 (C3$_{ar}$); 149.01 (C3$_{ar}$); 139.54 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, C2$_{ar}$); 139.44 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, C2$_{ar}$); 137.48 (C6); 137.38 (C6); 128.24 (C7); 128.13 (C7); 128.04 (C4$_{ar}$); 127.99 (C4$_{ar}$); 124.65 (C5$_{ar}$); 124.51 (C5$_{ar}$); 124.05 (C6$_{ar}$); 123.92 (C6$_{ar}$); 122.24 (d, $^{2}J_{C1(ar),P}$ = 6.1 Hz, C1$_{ar}$); 122.16 (d, $^{2}J_{C1(ar),P}$ = 6.1 Hz, C1$_{ar}$); 111.58 (C8); 111.43 (C8); 110.14 (2xC5); 85.42 (C1'), 85.27 (C1'); 84.89 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 84.70 (d, $^{3}J_{C4',P}$ = 6.1 Hz, C4'); 70.63 (C3'); 69.52 (C3'), 69.10 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.77 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 67.84 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C$_{benzyl}$); 67.05 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C$_{benzyl}$); 40.65 (C2'); 40.28 (C2'); 34.80 (C7$_{ar}$); 34.78 (C7$_{ar}$); 29.85 (C8$_{ar}$); 29.80 (C8$_{ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$) -5.68 (s), -6.08 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

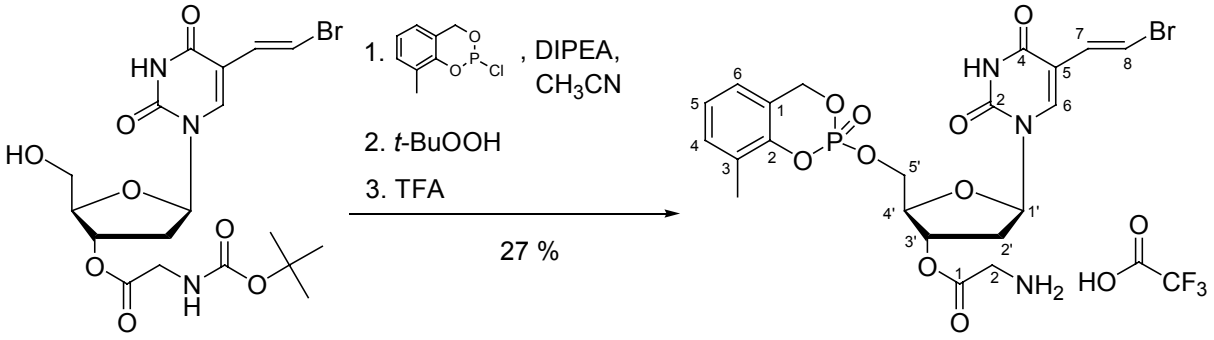
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3262, 3249, 3232, 3216, 3205, 3068, 2996, 2960, 2884, 1708, 1693, 1594, 1463, 1440, 1365, 1284, 1214, 1199, 1180, 1145, 1087, 1018, 997, 944, 802, 784, 742, 665, 530, 428.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 557.4 ($M+H^+$)

8.3.5.45. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-glycinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41n **25n**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 60.0 mg (0.13 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-glycinyl-2‘-desoxyuridin, 20 ml Acetonitril, 34.0 mg (44.0 µl; 0.25 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 51.0 mg (0.25 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 51.0 µl (0.25 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 97.0 mg (0.17 mmol; 27 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.6

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.76 (0.17)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.65 (br. s, 2H, NH); 8.28 (br.s, 4H, $NH_{2\ Gly}$); 7.84 (s, 1H, H6); 7.83 (s, 1H, H6); 7.30 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.2 Hz, H8); 7.22 (m, 2H, 2x$H5_{ar}$); 7.05 (m, 4H, 2x$H4_{ar}$, 2x$H6_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.2 Hz, H7); 6.19 (dd, 2H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.3 Hz, H1‘); 6.18 (dd, 2H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 6.3 Hz, H1‘); 5.45 (m, 4H, 2xH_{benzyl}); 5.33 (m, 2H, 2xH3‘); 4.40 (m, 4H, 2xH5‘); 4.26 (m, 2H, 2xH4‘); 3.86 (s, 4H $H2_{Gly}$); 2.40 (m, 4H, 2xH2‘); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 167.33 (2x$C1_{Gly}$); 161.76 (C4); 161.74 (C4); 149.37 (2xC2); 148.07 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 148.01 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.1 Hz, $C2_{ar}$); 139.35 (C6); 139.27 (C6); 131.14 ($C4_{ar}$); 131.11 ($C4_{ar}$);

129.74 (C7); 129.72 (C7); 127.06 ($C3_{ar}$); 126.98 ($C3_{ar}$); 124.24 ($C5_{ar}$); 124.22 ($C5_{ar}$); 123.77 ($C6_{ar}$); 123.74 ($C6_{ar}$); 121.05 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C1_{ar}$); 121.06 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.2 Hz, $C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.49 (C5); 107.40 (2xC8); 85.09 (2xC4‘); 85.04 (2xC1‘); 75.02 (C3‘); 74.90 (C3‘); 68.72 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 12.2 Hz, C5‘); 68.66 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 12.2 Hz, C5‘); 67.58 (C_{benzyl}); 67.38 (C_{benzyl}); 45.89 (2x$C2_{Gly}$); 35.98 (C2‘); 35.83 (C2‘); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 15.00 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, $CDCl_3$) -73.86 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.76 (s); -7.81 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

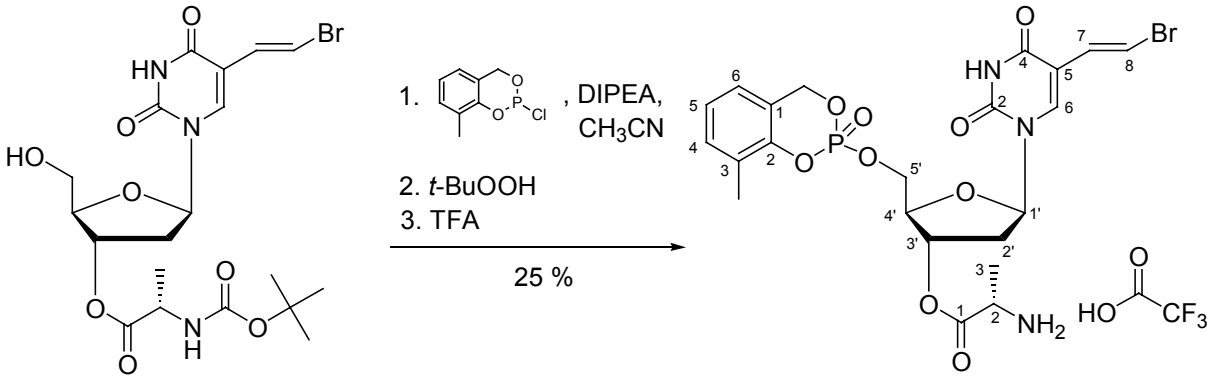
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3442, 3421, 3158, 3066, 3031, 2964, 2933, 2854, 2829, 1756, 1681, 1596, 1469, 1432, 1292, 1232, 1199, 1130, 1052, 1024, 1006, 944, 829, 800, 721.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 291.73, 250.10, 195.15 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.42, 226.79 nm

MS: (FAB; m/z): 572.2; 574.2 ($M+H^+$)

8.3.5.46. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-alanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41o **25o**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.20 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-L-alanyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 52.0 mg (69.0 µl, 0.40 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 81.0 mg (0.4 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 80.0 µl (0.40 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron

aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 32 mg (0.05 mmol; 25 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.15

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.56 (0.28)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6) 11.68 (br. s, 2H, NH); 8.45 (br. s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.30 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.20 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.12-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.2 Hz, H1'); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.8 Hz, H1'); 5.52-5.36 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.34-5.28 (m, 2H, H3'); 4.48-4.33 (m, 4H, H5'); 4.29-4.23 (m, 2H, H4'); 4.14 (q, 2H, $^3J_{H2(Ala),HH3(Ala)}$ = 11.7 Hz, $H2_{Ala}$); 4.13 (q, 2H, $^3J_{H2(Ala),HH3(Ala)}$ = 11.7 Hz, $H2_{Ala}$); 2.52-2.17 (m, 4H, H2'); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.38 (d, 3H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$); 1.37 (d, 3H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.43 (2x$C1_{Ala}$); 161.73 (C4); 161.71 (C4); 149.35 (C2); 149.34 (C2); 139.27 (C6); 139.18 (C6); 131.12 ($C4_{ar}$); 131.09 ($C4_{ar}$); 129.70 (C7); 129.68 (C7); 126.99 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 127.98 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 124.22 ($C5_{ar}$); 124.21 ($C5_{ar}$); 123.74 ($C6_{ar}$); 123.72 ($C6_{ar}$); 121.09 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.06 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 110.51 (C5); 110.46 (C5); 107.37 (2xC8); 85.15 (2xC4'); 85.01 (2xC1'); 75.29 (C3'); 75.20 (C3'); 68.70 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.7 Hz, C5'); 68.65 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.5 Hz, C5'); 48.14 (2x$C2_{Ala}$); 36.14 (C2'); 35.98 (C2'); 15.68 (2x$C3_{Ala}$); 15.04 ($CH_{3\ ar}$); 14.96 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (461 MHz, DMSO-d_6): -73.94. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.75 (s), -7.80 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

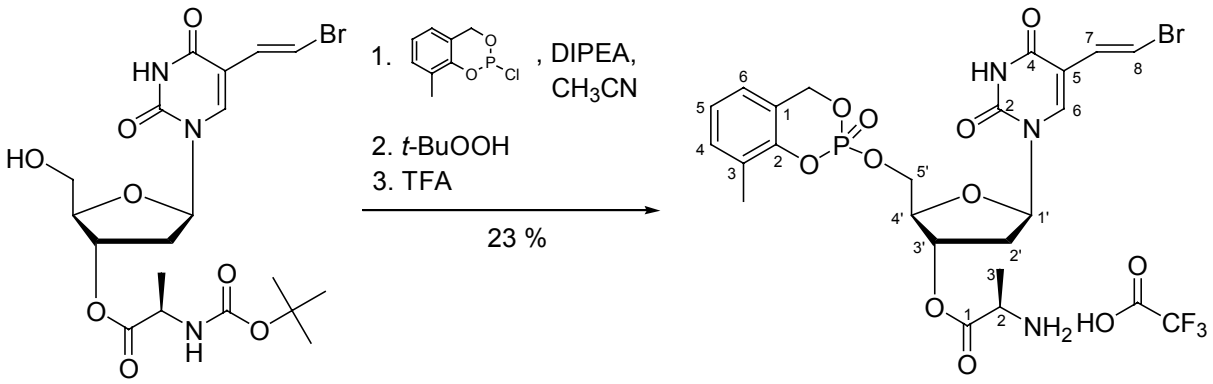
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3178, 3075, 3029, 3018, 2956, 2854, 2827, 1752, 1681, 1596, 1465, 1436, 1367, 1290, 1236, 1199, 1132, 1052, 1024, 1002, 956, 946, 831, 800, 775, 721, 659, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 586.5; 588.6 ($M+H^+$)

8.3.5.47. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-alanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41p **25p**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 120 mg (0.24 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-D-alanyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 62.0 mg (82.0 µl, 0.48 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 97.0 mg (0.48 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 100 µl (0.49 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 32 mg (0.05 mmol; 23 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v): 0.51

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.56 (0.28)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.68 (br. s, 2H, NH); 8.55 (br. s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.30 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.20 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.22-6.17 (m, 2H, H1‘); 5.51-5.36 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.30-5.26 (m, 2H, H3‘); 4.45-4.33 (m, 4H, H5‘); 4.28-4.25 (m, 2H, H4‘); 4.10-4.05 (m, 2H, $H2_{Ala}$); 2.52-2.32 (m, 4H, H2‘);

2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.40 (d, 3H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$); 1.39 (d, 3H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 7.1 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.43 (2x$C1_{Ala}$); 161.71 (2xC4); 149.34 (C2); 149.33 (C2); 139.36 (C6); 139.28 (C6); 131.10 ($C4_{ar}$); 131.05 ($C4_{ar}$); 129.70 (C7); 129.69 (C7); 126.98 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 127.97 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 124.19 ($C5_{ar}$); 124.17 ($C5_{ar}$); 124.12 ($C6_{ar}$); 123.72 ($C6_{ar}$); 121.09 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.06 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 110.49 (C5); 110.46 (C5); 107.34 (2xC8); 85.12 (2xC4‘); 85.05 (2xC1‘); 74.95 (C3‘); 74.86 (C3‘); 68.70 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 12.7 Hz, C5‘); 68.63 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 12.5 Hz, C5‘); 48.07 (2x$C2_{Ala}$); 35.95 (C2‘); 35.80 (C2‘); 15.95 (2x$C3_{Ala}$); 15.04 ($CH_{3\ ar}$); 14.97 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (461 MHz, DMSO-d_6): -73.93. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.78 (s), -7.84 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

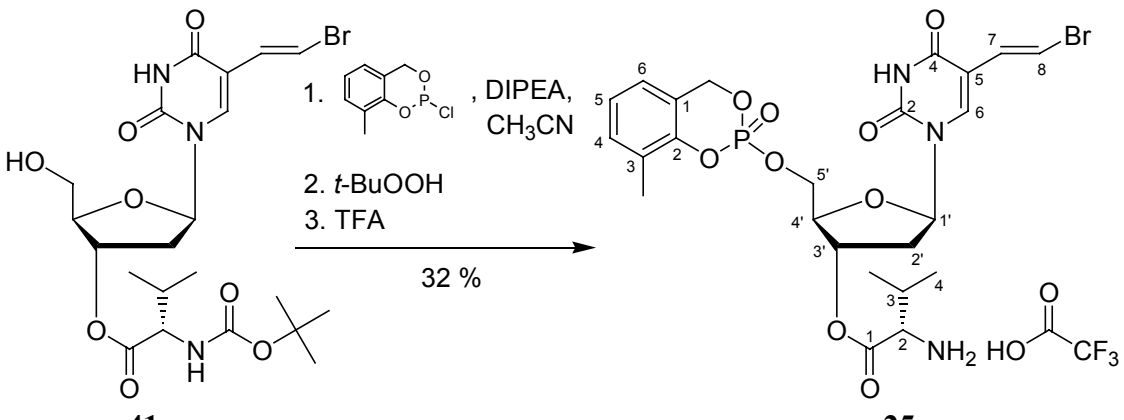
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3178, 3075, 3029, 3018, 2956, 2854, 2827, 1752, 1681, 1596, 1465, 1436, 1367, 1290, 1236, 1199, 1132, 1052, 1024, 1002, 956, 946, 831, 800, 775, 721, 659, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 586.5; 588.6 ($M+H^+$)

8.3.5.48. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-valinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41q **25q**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 165 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-L-valinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (0.20 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 73.0 mg (0.10 mmol; 32 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.37

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.11 (0.78)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.68 (s, 2H, NH); 8.28 (br.s, 4H, NH_2); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.21 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.20 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 6.18 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 5.52-5.38 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.36-5.33 (m, 2H, H3‘); 4.45-4.33 (m, 4H, H5‘); 4.27-4.24 (m, 2H, H4‘); 3.93 (d, 2H, $^3J_{H2(Val),H3(Val)}$ = 4.6 Hz, $H2_{Val}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2‘); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 2.17-2.10 (m, 2H, $H3_{Val}$); 0.96 (d, $^3J_{H4(Val),H3(Val)}$ = 7.1 Hz, $H4_{Val}$); 0.93 (d, $^3J_{H4(Val),H3(Val)}$ = 7.1 Hz, $H4_{Val}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 168.49 ($2xC1_{Val}$); 161.74 (2xC4); 149.37 (2xC2); 139.32 (C6); 139.23 (C6); 131.14 ($C4_{ar}$); 131.11 ($C4_{ar}$); 129.74 (2xC7); 127.03 ($C3_{ar}$); 126.95 ($C3_{ar}$); 124.24 ($2xC5_{ar}$); 123.74 ($2xC6_{ar}$); 121.11 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 121.02 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.47 (C5); 107.41 (2xC8); 85.13 (2xC4‘); 85.09 (2xC1‘); 75.28 (C3‘); 75.22 (C3‘); 68.75 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.68 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.53 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 67.31 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 36.25 (C2‘); 36.07 (C2‘); 29.61 ($C3_{Val}$); 29.54 ($C3_{Val}$); 18.35 ($C4_{Val}$); 17.80($C4_{Val}$); 15.06 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.94 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.77 (s); -7.83 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

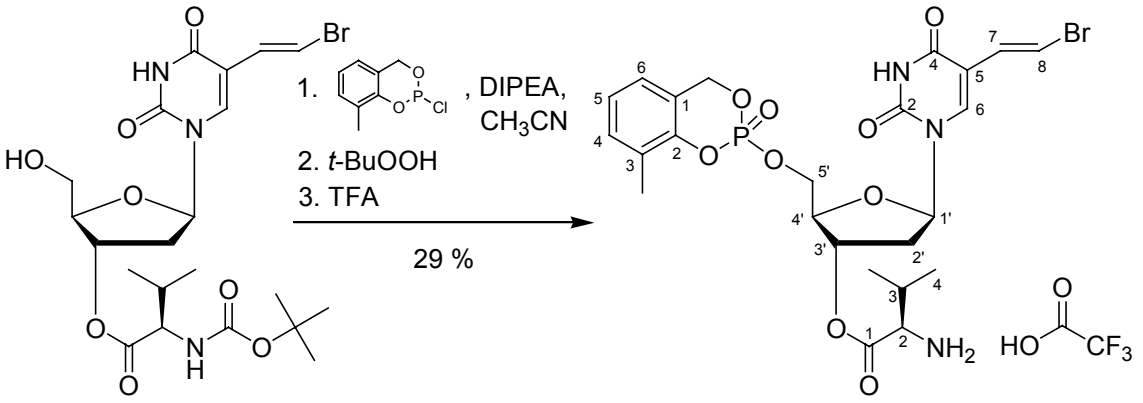
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3432, 3424, 3168, 3068, 2971, 2854, 2829, 1749, 1687, 1631, 1596, 1467, 1432, 1369, 1288, 1199, 1132, 1051, 1024, 1004, 944, 829, 800, 721, 657, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 614.6; 616.6 ($M+H^+$)

8.3.5.49. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-valinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 165 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-D-valinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (0.20 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 0.66 mg (0.09 mmol; 29 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.37

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.11 (0.78)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.67 (s, 2H, NH); 8.36 (br.s, 4H, NH_2); 7.87 (s, 1H, H6); 7.86 (s, 1H, H6); 7.31 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.30 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.26-7.23 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.10-7.08 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.85 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.22 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 5.53-5.40 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.39-5.34 (m, 2H, H3‘); 4.49-4.36 (m, 4H, H5‘); 4.29-4.26 (m, 2H, H4‘); 3.95 (d, 1H, $^3J_{H2(Val),H3(Val)}$ = 4.6 Hz, $H2_{Val}$); 3.94 (d, 1H, $^3J_{H2(Val),H3(Val)}$ = 4.6 Hz, $H2_{Val}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2‘); 2.22 (s, 3H, CH_3); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.19-2.16 (m, 2H, $H3_{Val}$); 0.99 (d, $^3J_{H4(Val),H3(Val)}$

= 7.1 Hz, $H4_{Val}$); 0.97 (d, $^3J_{H4(Val),H3(Val)}$ = 7.1 Hz, $H4_{Val}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 168.43 (2x$C1_{Val}$); 161.73 (2xC4); 149.38 (2xC2); 139.33 (C6); 139.25 (C6); 131.14 ($C4_{ar}$); 131.10 ($C4_{ar}$); 129.74 (2xC7); 127.04 ($C3_{ar}$); 126.96 ($C3_{ar}$); 124.24 (2x$C5_{ar}$); 123.74 (2x$C6_{ar}$); 121.11 ($C1_{ar}$); 121.01 ($C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.49 (C5); 107.41 (2xC8); 85.04 (2xC4‘); 84.99 (2xC1‘); 75.22 (C3‘); 75.12 (C3‘); 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.65 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.51 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 67.28 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 35.92 (C2‘); 35.76 (C2‘); 29.56 (2x$C3_{Val}$); 18.34 ($C4_{Val}$); 17.78($C4_{Val}$); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 15.00 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, $CDCl_3$): -73.96. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7-78; -7.85. (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

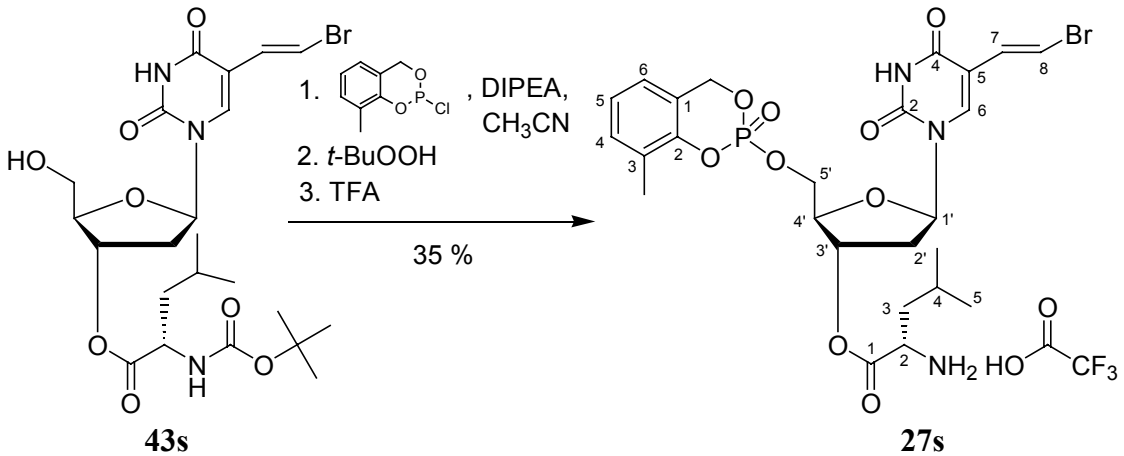
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3432, 3424, 3168, 3068, 2971, 2854, 2829, 1749, 1687, 1631, 1596, 1467, 1432, 1369, 1288, 1199, 1132, 1051, 1024, 1004, 944, 829, 800, 721, 657, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 614.6; 616.6 ($M+H^+$)

8.3.5.50. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



43s **27s**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 170 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-L-leucinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl;

1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (2.0 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 80.0 mg (0,11 mmol; 35 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.27

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) 0.39 (2.45)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 8.09 (br.s, 2x2H, NH_2); 7.84 (s, 1H, H6); 7.83 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.20 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.05 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.2 Hz, H1'); 6.18 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.2 Hz, H1'); 5.51-5.36 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.33-5.29 (m, 2H, H3'); 4.45-4.33 (m, 4H, H5'); 4.27-4.24 (m, 2H, H4'); 3.98 (t, 2H, $^3J_{H2(Leu),H3(Leu)}$ = 7.25 Hz, $H2_{Leu}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2'); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.74-1.53 (m, 6H, $H3_{Leu}$, $H4_{Leu}$); 0.91-0.87 (m, 12H, $H5_{Leu}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 168.93 (2x$C1_{Leu}$); 161.75 (2xC4); 149.39 (2xC2); 139.32 (C6); 139.23 (C6); 131.14 (2x$C4_{ar}$); 129.74 (2xC7); 127.65 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 127.25 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C3_{ar}$); 124.25 ($C5_{ar}$); 124.23 ($C5_{ar}$); 123.78 ($C6_{ar}$); 123.75 ($C6_{ar}$); 121.12 (2x$C1_{ar}$); 110.47 (2xC5); 107.41 (2xC8); 85.15 (2xC4'); 85.12 (2xC1'); 75.29 (C3'); 75.20 (C3'); 68.79 (2xC5'); 68.47 (2xC_{benzyl}); 50.89 (2x$C2_{Leu}$); 36.23 (C2'); 35.95 (C2'); 31.38 (2x$C3_{Leu}$); 24.01 (2x$C4_{Leu}$); 22.25 ($C5_{Leu}$); 22.15 ($C5_{Leu}$); 15.08 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, $CDCl_3$): -73.89. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.77; -7.81. (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

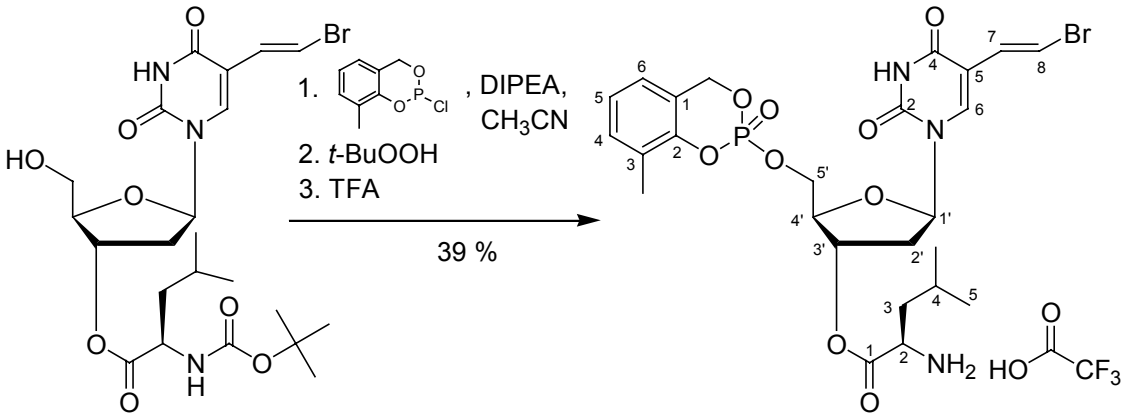
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3436, 3424, 3320, 3168, 3160, 3070, 2964, 2877, 1687, 1596, 1471, 1434, 1369, 1290, 1201, 1135, 1052, 1024, 1006, 944, 833, 798, 721.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 628.3; 630.3 ($M+H^+$)

8.3.5.51. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-leucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41t **25t**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 180 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-D-leucinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 89.0 mg (0.12 mmol; 39 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.27

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) 0.39 (2.45)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6) 8.31 (br.s, 2x2H, NH_2); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.20 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$);

6.83 (d, 1H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.82 (d, 1H, $^{3}J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.22-6.17 (m, 2H, H1‘); 5.52-5.36 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.33-5.29 (m, 2H, H3‘); 4.48-4.32 (m, 4H, H5‘); 4.26-4.24 (m, 2H, H4‘); 4.00 (t, 2H, $^{3}J_{H2(Leu),H3(Leu)}$ = 7.25 Hz, $H2_{Leu}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2‘); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.74-1.53 (m, 6H, $H3_{Leu}$, $H4_{Leu}$); 0.91-0.87 (m, 12H, $H5_{Leu}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 169.47 (2x$C1_{Leu}$); 161.75 (C4); 161.73 (C4); 149.37 (2xC2); 139.32 (C6); 139.24 (C6); 131.14 ($C4_{ar}$); 131.09 ($C4_{ar}$); 129.69 (2xC7); 127.04 ($C3_{ar}$); 126.96 ($C3_{ar}$); 124.23 ($C5_{ar}$); 124.21 ($C5_{ar}$); 123.78 (2x$C6_{ar}$); 121.04 ($C1_{ar}$); 121.02 ($C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.49 (C5); 107.41 (2xC8); 85.05 (2xC4‘); 84.99 (2xC1‘); 75.29 (C3‘); 75.16 (C3‘); 68.75 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.63 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.53 (C_{benzyl}); 67.36 (C_{benzyl}); 50.79 (2x$C2_{Leu}$); 36.70 (C2‘); 35.70 (C2‘); 30.87 (2x$C3_{Leu}$); 24.00 (2x$C4_{Leu}$); 22.21 ($C5_{Leu}$); 22.19 ($C5_{Leu}$); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, $CDCl_3$): -73.94. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.78; -7.84. (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

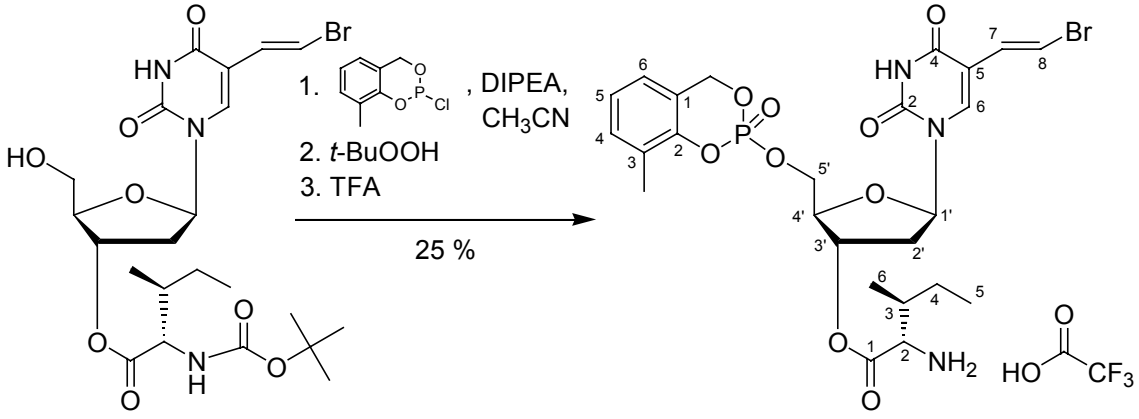
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3436, 3424, 3320, 3168, 3160, 3070, 2964, 2877, 1687, 1596, 1471, 1434, 1369, 1290, 1201, 1135, 1052, 1024, 1006, 944, 833, 798, 721.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 628.3; 630.3($M+H^+$)

8.3.5.52. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-isoleucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 176 mg (0.32 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-L-isoleucinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 60.0 mg (0.80 mmol, 25 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.32

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.02 (0.95)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.65 (s, 2H, NH); 8.01 (br.s, 4H, NH_2); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.22 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 6.18 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 5.51-5.36 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.35-5.30 (m, 2H, H3‘); 4.44-4.33 (m, 4H, H5‘); 4.27-4.24 (m, 2H, H4‘); 3.94 (d, 2H, $^3J_{H2(Ile),H3(Ile)}$ = 3.2 Hz, $H2_{Ile}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2‘); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.87-1.82 (m, 2H, $H3_{Ile}$); 1.48-1.40 (m, 2H, $H4a_{Ile}$); 1.29-1.20 (m, 2H, $H4b_{Ile}$); 0.90-0.86 (m, 12H, $H5_{Ile}$, $H6_{Ile}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 168.72 (2xC1$_{Ile}$); 161.72 (2xC4); 149.33 (2xC2); 139.30 (C6); 139.20 (C6); 131.10 (2xC4$_{ar}$); 129.70 (2xC7); 127.02 (C3$_{ar}$); 126.96 (C3$_{ar}$); 124.23 (C5$_{ar}$); 124.22 (C5$_{ar}$); 123.74 (C6$_{ar}$); 123.72 (C6$_{ar}$); 121.10 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, C1$_{ar}$); 121.02 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, C1$_{ar}$); 110.53 (C5); 110.47 (C5); 107.39 (2xC8); 85.13 (2xC4‘); 85.09 (2xC1‘); 75.18 (C3‘); 75.11 (C3‘); 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.71 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.51 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C$_{benzyl}$); 67.30 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C$_{benzyl}$); 56.52 (2xC2$_{Ile}$); 36.35 (C2‘); 36.24 (C2‘); 25.34 (2xC4$_{Ile}$); 22.25 (C5$_{Leu}$); 22.15 (C5$_{Leu}$); 15.08 (CH$_{3\ ar}$); 14.99 (CH$_{3\ ar}$); 14.48 (2xC4$_{Ile}$); 11.61 (2xC5$_{Ile}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, $CDCl_3$): -73.93. (TFA)

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.77; -7.84 (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

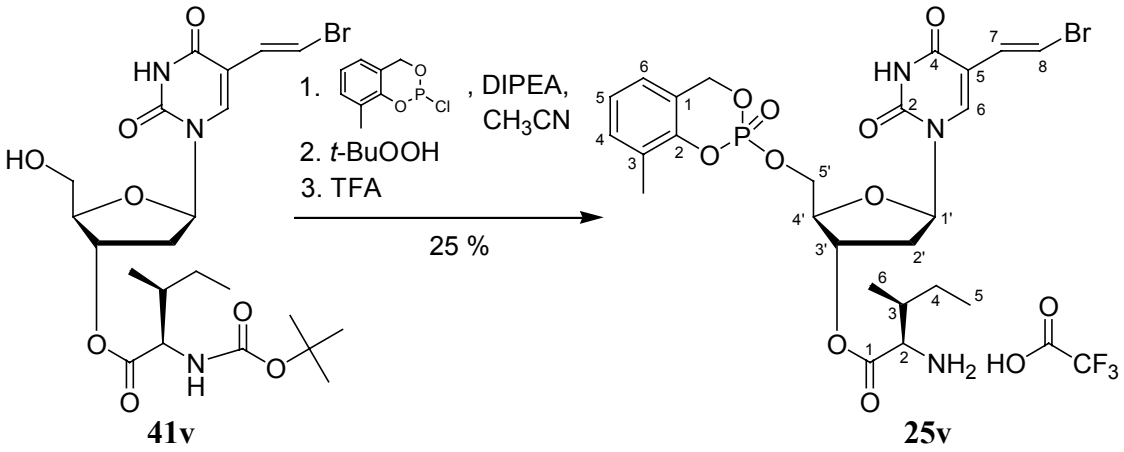
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr):3436, 3261, 3249, 3180, 3068, 2967, 2931, 2884, 2854, 1685, 1639, 1596, 1467, 1284, 1201, 1132, 1056, 1024, 944, 800, 721, 657, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 628.5; 630.5(M+H$^+$)

8.3.5.53. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-isoleucinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 176 mg (0.32 mmol) (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-D-isoleucinyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 60.0 mg (0.80 mmol; 25 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.32

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.02 (0.95)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.65 (s, 2H, NH); 8.03 (br.s, 4H, NH_2); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.21 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 6.18 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 5.52-5.38 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.35-5.30 (m, 2H, H3‘); 4.47-4.33 (m, 4H, H5‘); 4.27-4.24 (m, 2H, H4‘); 3.97-3.93 (m, 2H, $H2_{Ile}$); 2.45-2.35 (m, 4H, H2‘); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.86-1.84 (m, 2H, $H3_{Ile}$); 1.50-1.40 (m,

2H, $H4a_{Ile}$); 1.29-1.20 (m, 2H, $H4b_{Ile}$); 0.91-0.86 (m, 12H, $H5_{Ile}$, $H6_{Ile}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 168.72 ($2xC1_{Ile}$); 161.72 (2xC4); 149.33 (2xC2); 139.30 (C6); 139.20 (C6); 131.10 ($2xC4_{ar}$); 129.70 (2xC7); 127.02 ($C3_{ar}$); 126.96 ($C3_{ar}$); 124.23 ($C5_{ar}$); 124.22 ($C5_{ar}$); 123.74 ($C6_{ar}$); 123.72 ($C6_{ar}$); 121.10 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 121.02 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.47 (C5); 107.39 (2xC8); 85.13 (2xC4‘); 85.09 (2xC1‘); 75.18 (C3‘); 75.11 (C3‘); 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.71 (d, $^2J_{C5',P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.51 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 67.30 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 56.52 ($2xC2_{Ile}$); 36.35 (C2‘); 36.24 (C2‘); 25.34 ($2xC4_{Ile}$); 15.08 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$); 14.48 ($2xC4_{Ile}$); 11.61 ($2xC5_{Ile}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.97 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.79 (s); -7.87 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1)

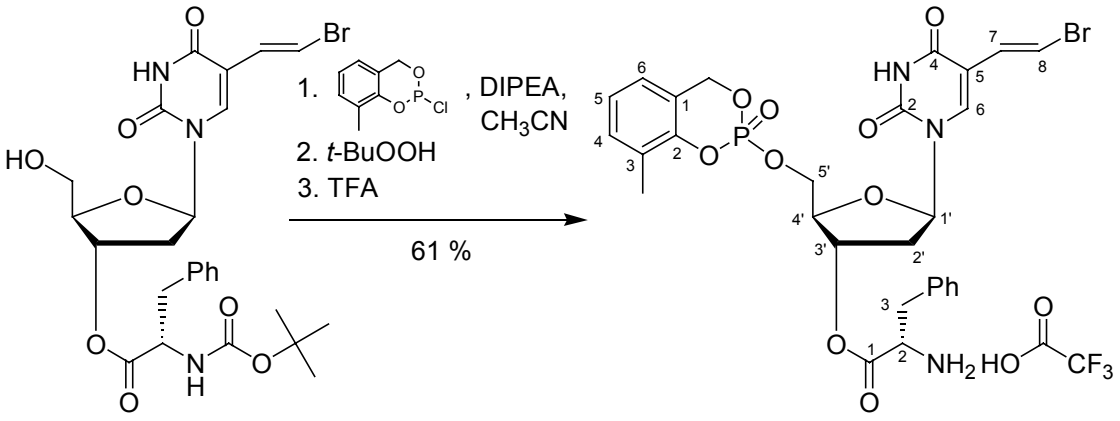
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr):3436, 3261, 3249, 3180, 3068, 2967, 2931, 2884, 2854, 1685, 1639, 1596, 1467, 1284, 1201, 1132, 1056, 1024, 944, 800, 721, 657, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 628.5; 630.5($M+H^+$)

8.3.5.54. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-phenylalanyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.18 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-L-phenylalanyl-2‘-desoxyuridin, 5 ml Acetonitril, 47.0 mg (62.0 µl, 0.36 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 73.0 mg (0.36 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 100 µl (0.50 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 85.0 mg (0.11 mmol; 61 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v): 0.51

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) 0.51 (3.24)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.30-7.0 (m, 18H, H8, $H4_{ar}$, $H5_{ar}$,$H6_{ar}$, $H_{ar\ Phe}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.07-6.03 (m, 2H, H1‘); 5.51-5.32 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.14-5.08 (m, 2H, H3‘); 4.32-4.22 (m, 4H, H5‘); 3.91-3.88 (m, 2H, $H2_{Phe}$); 3.77-3.73 (m, 2H, H4‘); 2.92-2.83 (m, 4H, $H3_{Phe}$); 2.41-2.23 (m, 4H, H2‘); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 168.15 (2x$C1_{Phe}$); 160.96 (2xC4); 148.23 (2xC2); 139.26 (C6); 139.12 (C6); 131.14 ($C4_{ar}$); 131.08 ($C4_{ar}$); 130.12 ($C4_{Phe}$); 129.73 (2xC7); 129.42 ($C5_{Phe}$); 128.43 ($C6_{Phe}$); 126.98 ($C3_{ar}$);

126.76 ($C3_{ar}$); 124.21 ($2xC5_{ar}$); 123.73 ($2xC6_{ar}$); 121.16 ($2xC1_{ar}$); 110.47 (C5); 110.43 (C5); 107.33 (2xC8); 84.97 (2xC4‘, 2xC1‘); 73.69 (2xC3‘); 68.83 (C5‘); 68.71 (C5‘); 49.02 ($2xC2_{Phe}$); 35.67 (2xC2‘); 30.78 ($C3_{Phe}$); 15.08 ($2xCH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.93 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.83 (s), -7.85 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

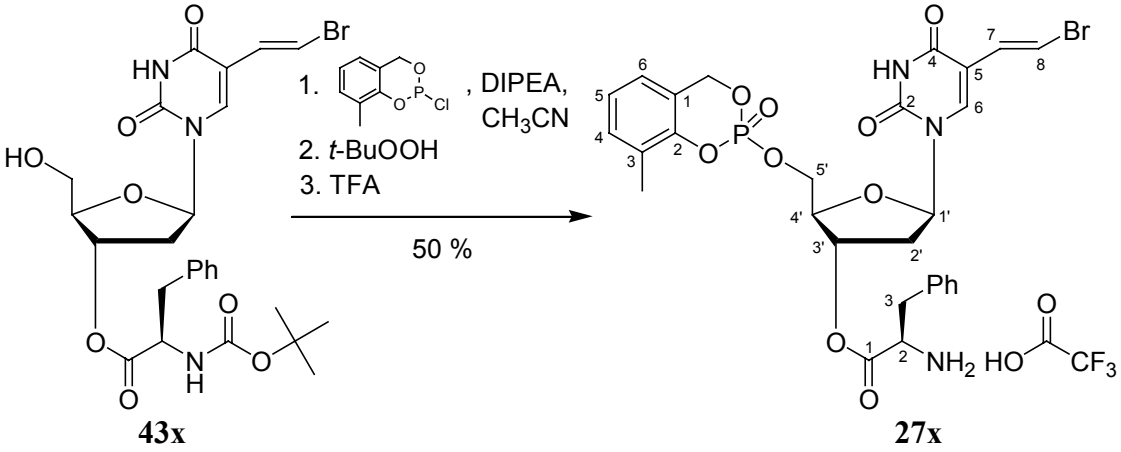
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3434, 3261, 3228, 3208, 3197, 3185, 3170, 3062, 3029, 2985, 2964, 2937, 2854, 2832, 1752, 1687, 1631, 1596, 1467, 1286, 1230, 1199, 1132, 1054, 1024, 1004, 944, 800, 759, 721, 659, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 662.7; 630.7($M+H^+$)

8.3.5.55. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-phenylalaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 180 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-(*N*-BOC)-D-phenylalaninyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 120 mg (0.15 mmol; 50 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.51

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) 0.51 (3.24)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6) 11.65 (br. s, 2H, 2xNH); 9.24 (br. s, 4H, 2xNH_2); 7.80 (s, 2H, 2xH6); 7.30-7.0 (m, 18H, 2xH8, 2x$H4_{ar}$, 2x$H5_{ar}$, 2x$H6_{ar}$, 2x$H_{ar\ Phe}$); 6.82 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.80 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.05 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 13.7 Hz, H1'); 6.04 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 13.7 Hz, H1'); 5.43 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.19 (m, 2H, 2xH3'); 4.32 (m, 4H, 2xH5'); 4.27 (m, 2H, 2xH4'); 4.11 (s, 2H, 2x$H2_{Phe}$); 3.61 (m, 4H, 2x$H3_{Phe}$); 2.25 (m, 4H, 2xH2'); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.17 (s, 3H, CH_3). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 168.15 (2x$C1_{Phe}$); 161.77 (2xC4); 149.34 (2xC2); 139.34 (C6); 139.23 (C6); 131.15 ($C4_{ar}$); 131.10 ($C4_{ar}$); 129.74 (2x$C4_{Phe}$); 129.73 (2xC7); 129.74 (2x$C5_{Phe}$); 128.82 (2x$C6_{Phe}$); 127.06 ($C3_{ar}$); 126.98 ($C3_{ar}$); 124.22 (2x$C5_{ar}$); 123.75 (2x$C6_{ar}$); 121.12 (2x$C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.49 (C5); 107.40 (2xC8); 85.02 (2xC4'); 84.95 (2xC1'); 75.08 (C_{benzyl}); 74.83 (C_{benzyl}); 73.50 (C3'); 73.18 (C3'); 68.81 (C5'); 68.68 (C5'); 53.69 ($C2_{Phe}$); 53.45 ($C2_{Phe}$); 36.17 (C2'); 35.71 (C2'); 35.68 ($C3_{Phe}$); 35.53 ($C3_{Phe}$); 15.08 ($CH_{3\ ar}$); 15.00 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.93 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -7.84; -7.91. (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

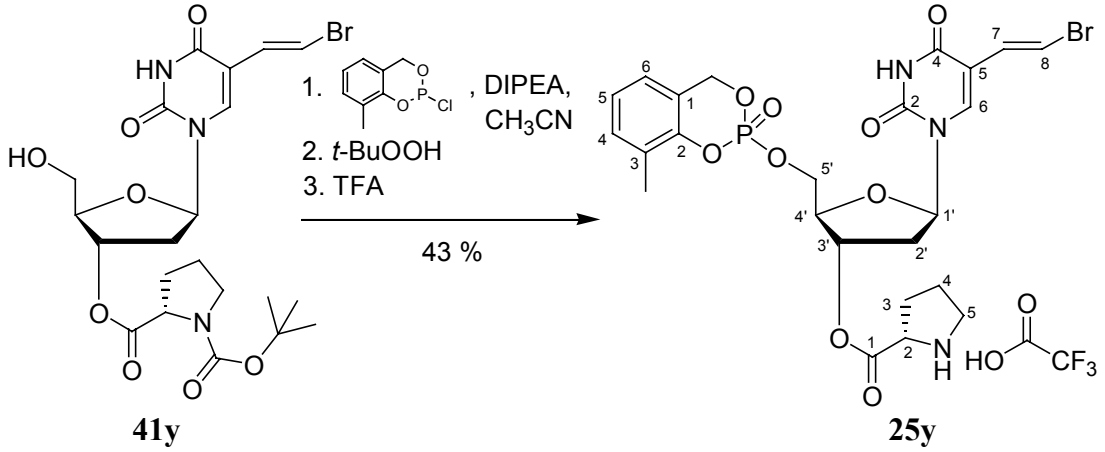
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3434, 3261, 3228, 3208, 3197, 3185, 3170, 3062, 3029, 2985, 2964, 2937, 2854, 2832, 1752, 1687, 1631, 1596, 1467, 1286, 1230, 1199, 1132, 1054, 1024, 1004, 944, 800, 759, 721, 659, 532.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 662.7; 630.7($M+H^+$)

8.3.5.56. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-prolinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41y **25y**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 169 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-(*N*-BOC)-L-prolinyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 100 mg (0.14 mmol; 43 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.70

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.39 (0.41)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.65 (s, 2H, NH_{BVU}); 9.25 (br.s, 2H, NH_{Pro}); 7.85 (s, 1H, H6); 7.84 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.21 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 6.17 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.3 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.2 Hz, H1‘); 5.53-5.35 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.32-5.30 (m, 2H, H3‘); 4.47-4.33 (m, 6H, H5‘, $H2_{Pro}$); 4.27-4.24 (m, 2H, H4‘); 3.25-3.19 (m, 4H, $H5_{Pro}$); 2.45-2.39 (m, 4H, H2‘); 2.28-2.17 (m, 4H, $H3_{Pro}$); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.93-1.86 (m, 2H, $H4_{Pro}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, $CDCl_3$): 168.40 (2x$C1_{Pro}$); 161.70 (2xC4); 149.33 (2xC2); 139.31 (C6); 139.21 (C6); 131.12 ($C4_{ar}$); 131.08 ($C4_{ar}$); 129.67 (2xC7); 127.03 ($C3_{ar}$); 127.00 ($C3_{ar}$); 124.21 (2x$C5_{ar}$); 123.73 ($C6_{ar}$); 123.71 ($C6_{ar}$); 121.11 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 121.04 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 110.50 (C5); 110.44 (C5); 107.37 (2xC8); 85.19 (C4‘); 85.15 (C4‘); 81.82 (C1‘); 81.70 (C1‘); 75.55 (C3‘); 75.45 (C3‘); 68.72 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 68.63 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 7.9 Hz, C5‘); 67.64 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 67.46 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.9 Hz, C_{benzyl}); 58.83 (2x$C2_{Pro}$); 45.85 ($C5_{Pro}$); 36.07 (C2‘); 35.90 (C2‘); 27.76 (2x$C3_{Pro}$); 23.18 (2x$C4_{Pro}$); 15.08 ($CH_{3\ ar}$); 14.99 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.88 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.77 (s); -7.80 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

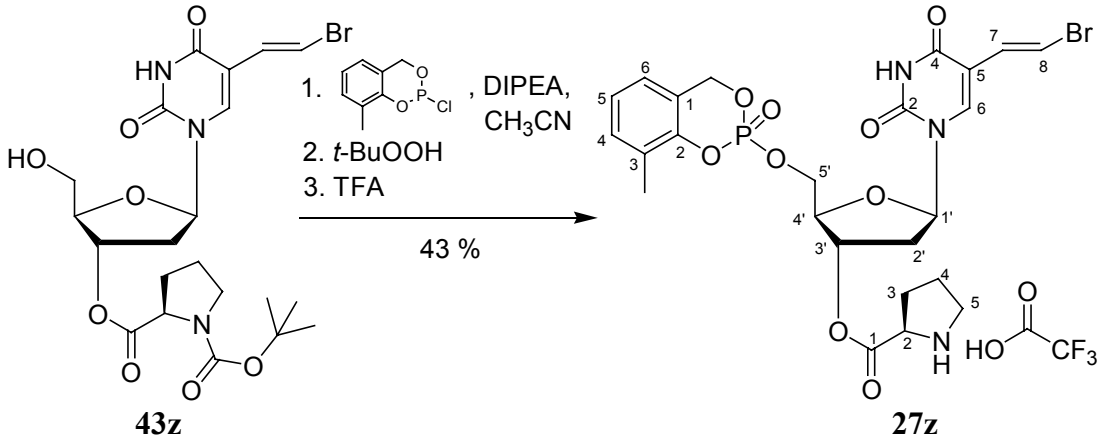
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3178, 3066, 3029, 2992, 2962, 2823, 1749, 1687, 1594, 1467, 1367, 1292, 1232, 1197, 1130, 1052,1024, 1006, 944, 827, 798, 773, 719, 659, 430.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 612.1; 614.1($M+H^+$)

8.3.5.57. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-prolinyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



43z **27z**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 169 mg (0.31 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-(*N*-BOC)-D-prolinyl-2‘-desoxyuridin, 10 ml Acetonitril, 161 mg (212 µl; 1.24 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 157 mg (0.77 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-

chlorphosphit und 200 µl (1.00 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der erhaltene farblose Feststoff wurde in 5 ml Acetonitril gelöst, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 20 ml Wasser verdünnt, tiefgefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan/Methanol (+ 0.1 % Essigsäure) 9:1 v/v) und anschließend über eine Sephadexsäule (Methanol) gelfiltriert.

Ausbeute: 100 mg (0.14 mmol; 43 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.70

HPLC t_R = 12.03 min (94 %, Gradient E)

log*P* (PC) -0.39 (0.41)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 11.65 (s, 2H, NH_{BVU}); 9.25 (br.s, 2H, NH_{Pro}); 7.86 (s, 1H, H6); 7.85 (s, 1H, H6); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.25-7.21 (m, 2H, $H5_{ar}$); 7.08-7.06 (m, 4H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.83 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.20-6.16 (m, 2H, H1‘); 5.52-5.35 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.32-5.27 (m, 2H, H3‘); 4.47-4.33 (m, 6H, H5‘, $H2_{Pro}$); 4.27-4.24 (m, 2H, H4‘); 3.25-3.16 (m, 4H, $H5_{Pro}$); 2.45-2.39 (m, 4H, H2‘); 2.28-2.17 (m, 4H, $H3_{Pro}$); 2.20 (s, 3H, CH_3); 2.18 (s, 3H, CH_3); 1.93-1.86 (m, 2H, $H4_{Pro}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, $CDCl_3$): 168.53 ($2xC1_{Pro}$); 161.78 (C4); 161.75 (C4); 149.41 (C2); 149.37 (C2); 148.05 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 8.2 Hz, $C2_{ar}$); 147.90 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 8.2 Hz, $C2_{ar}$); 139.35 (C6); 139.27 (C6); 131.13 ($C4_{ar}$); 131.09 ($C4_{ar}$); 129.70 (2xC7); 127.05 ($C3_{ar}$); 126.97 ($C3_{ar}$); 124.22 ($2xC5_{ar}$); 123.75 ($C6_{ar}$); 123.73 ($C6_{ar}$); 121.14 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 121.03 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 7.9 Hz, $C1_{ar}$); 110.53 (C5); 110.48 (C5); 107.41 (2xC8); 85.10 (C4‘); 85.05 (C4‘); 81.82 (C1‘); 81.70 (C1‘); 75.45 (C3‘); 75.37 (C3‘); 69.79 (2xC5‘); 68.67 (C_{benzyl}); 68.60 (C_{benzyl}); 58.87 ($C2_{Pro}$); 58.81 ($C2_{Pro}$); 45.88 ($C5_{Pro}$); 45.74 ($C5_{Pro}$); 35.95 (2xC2‘); 27.86 ($C3_{Pro}$); 27.82 ($C3_{Pro}$); 23.26 ($2xC4_{Pro}$); 15.07 ($CH_{3\ ar}$); 14.98 ($CH_{3\ ar}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR: δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -73.96 (s).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.89 (s); -7.83 (s).

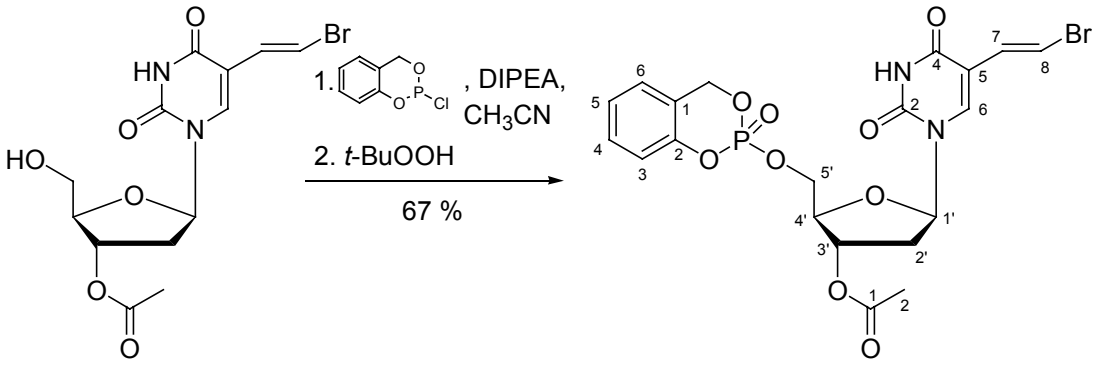
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3424, 3178, 3066, 3029, 2992, 2962, 2823, 1749, 1687, 1594, 1467, 1367, 1292, 1232, 1197, 1130, 1052,1024, 1006, 944, 827, 798, 773, 719, 659, 430.

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 289.6, 248.0 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (FAB; m/z): 612.1; 614.1($M+H^+$)

8.3.5.58. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxy-uridinmonophosphat



43g **27α**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 53.8 mg (0.14 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-acetyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 72.0 µl (0.42 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 66.0 mg (0.35 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 77.0 µl (0.39 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 50.8 mg (0.09 mmol; 67 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.67

HPLC t_R = 13.95 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.88 (75.9)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.98 (br.s, 1H, NH); 8.60 (br.s, 1H, NH); 7.73 (s, 1H, H6); 7.72 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.36 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.9 Hz, $H4_{ar}$); 7.20-7.09 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.76 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 4.7 Hz, H1‘); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 4.7 Hz, H1‘); 5.50 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 13.6 Hz, $H_{benzyl(a)‘}$); 5.46 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 14.2 Hz, $H_{benzyl(b)‘}$); 5.37 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘‘,H(benzyl)‘}$ =

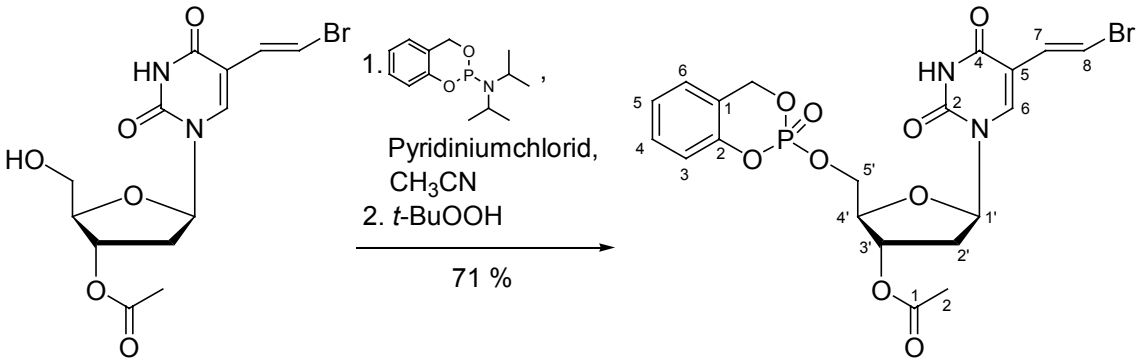
13.3 Hz, $^{3}J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(a)}$''); 5.35 (dd, 1H, $^{3}J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.3 Hz, $^{3}J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(b)}$''); 5.27 (m, 2H, H3'); 4.56-4.49 (m, 4H, H5'); 4.24-4.21 (m, 2H, H4'); 2.51 (ddd, 2H, $^{3}J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, $^{3}J_{H2'',H1'}$ = 1.3 Hz, $^{3}J_{H2'',H3'}$ = 5.4 Hz, H2''); 2.12 (s, 3H, $H2_{Ac}$); 2.11 (s, 3H, $H2_{Ac}$); 2.08 (ddd, 2H, $^{3}J_{H2',H2''}$ = 14.2 Hz, $^{3}J_{H2',H1'}$ = 5.4 Hz, $^{3}J_{H2',H3'}$ = 6.6 Hz, H2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 170.52 ($C1_{Ac}$); 170.48 ($C1_{Ac}$); 160.99 (C4); 160.96 (C4); 150.02 (2xC2); 148.98 ($2xC2_{ar}$); 136.80 (C6); 136.78 (C6); 130.31 ($2xC4_{ar}$); 128.06 (2xC7); 125.59 ($C5_{ar}$); 125.57 ($C5_{ar}$); 124.85 ($C6_{ar}$); 124.80 ($C6_{ar}$); 118.63 ($C3_{ar}$); 118.55 ($C3_{ar}$); 112.06 (C5); 112.01 (C5); 110.52 (C8); 110.38 (C8); 85.26 (C1'); 85.16 (C1'); 83.19 (C4'); 83.12 (C4'); 74.14 (C3'); 74.07 (C3'); 68.75 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 68.65 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 67.99 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 67.86 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 37.91 (C2'); 37.84 (C2'); 20.84 ($2xC2_{Ac}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.43 (s); -7.54 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

MS: (FAB; m/z): 543.2; 545.1 ($M+H^+$)

8.3.5.59. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyuridinmonophosphat



41g **25α**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 63.0 mg (0.17 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 79.0 mg (0.68 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 108 mg (0.43 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit und 95.0 µl (0.48 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 65.5 mg (0.12 mmol; 71 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.67

HPLC t_R = 13.95 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 1.88 (75.9)

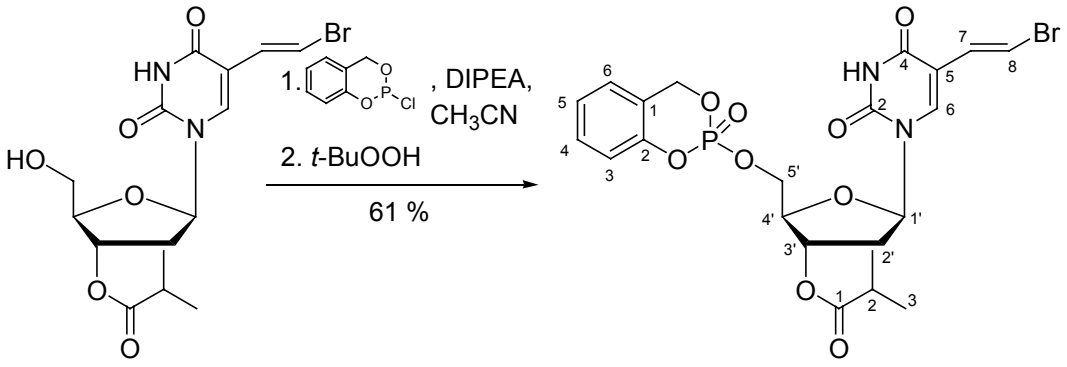
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.98 (br.s, 1H, NH); 8.60 (br.s, 1H, NH); 7.73 (s, 1H, H6); 7.72 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.6 Hz, H8); 7.36 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.9 Hz, $H4_{ar}$); 7.20-7.09 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.76 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.6 Hz, H7); 6.69 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.9 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 4.7 Hz, H1'); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 5.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 4.7 Hz, H1'); 5.50 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 13.6 Hz, $H_{benzyl(a)'}$); 5.46 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 14.2 Hz, $H_{benzyl(b)'}$); 5.37 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(a)''}$); 5.35 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(b)''}$); 5.27 (m, 2H, H3'); 4.56-4.49 (m, 4H, H5'); 4.24-4.21 (m, 2H, H4'); 2.51 (ddd, 2H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 1.3 Hz, $^3J_{H2'',H3'}$ = 5.4 Hz, H2''); 2.12 (s, 3H, $H2_{Ac}$); 2.11 (s, 3H, $H2_{Ac}$); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.6 Hz, H2'). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 170.52 ($C1_{Ac}$); 170.48 ($C1_{Ac}$); 160.99 (C4); 160.96 (C4); 150.02 (2xC2); 148.98 ($2xC2_{ar}$); 136.80 (C6); 136.78 (C6); 130.31 ($2xC4_{ar}$); 128.06 (2xC7); 125.59 ($C5_{ar}$); 125.57 ($C5_{ar}$); 124.85 ($C6_{ar}$); 124.80 ($C6_{ar}$); 118.63 ($C3_{ar}$); 118.55 ($C3_{ar}$); 112.06 (C5); 112.01 (C5); 110.52 (C8); 110.38 (C8); 85.26 (C1'); 85.16 (C1'); 83.19 (C4'); 83.12 (C4'); 74.14 (C3'); 74.07 (C3'); 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 68.65 (d, $^2J_{C5',P}$ = 11.5 Hz, C5'); 67.99 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 67.86 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.4 Hz, C_{benzyl}); 37.91 (C2'); 37.84 (C2'); 20.84 ($2xC2_{Ac}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.43 (s); -7.54 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

MS: (FAB; m/z): 543.2; 545.1 ($M+H^+$)

8.3.5.60. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41i **25β**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 64.0 mg (0.16 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 82.0 mg (0.48 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 75.0 mg (0.40 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 88 µl (0.44 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 55.7 mg (0.10 mmol; 61 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.69

HPLC t_R = 15.65 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.11 (128.8)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$): 8.55 (br.s, 2H, NH); 7.74 (s, 1H, H6); 7.73 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.36 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.6 Hz, $H4_{ar}$); 7.20-7.09 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.77 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.70 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 4.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 4.7 Hz, H1‘); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 4.7 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 4.7 Hz, H1‘); 5.50 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 13.6 Hz, $H_{benzyl(a)‘}$); 5.46 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘,H(benzyl)‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘,P}$ = 14.2 Hz, $H_{benzyl(b)‘}$); 5.37 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘‘,H(benzyl)‘}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘‘,P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(a)‘‘}$); 5.35 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)‘‘,H(benzyl)‘}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)‘‘,P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(b)‘‘}$); 5.27 (m, 2H, H3‘); 4.56-4.49 (m, 4H, H5‘); 4.19-4.17 (m, 2H, H4‘); 2.59 (sept, 1H, $^3J_{H2(iBu),H3(iBu)}$ = 6.9 Hz, $H2_{iBu}$); 2.51 (ddd, 2H, $^3J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 1.3 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 5.4 Hz, H2‘‘); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.6 Hz, H2‘); 1.19 (d, 6H, $^3J_{H3(iBu),H2(iBu)}$ = 6.9 Hz,

H3$_{i\text{Bu}}$); 1.18 (d, 6H, $^{3}J_{\text{H3}(i\text{Bu}),\text{H2}(i\text{Bu})}$ = 6.9 Hz, H3$_{i\text{Bu}}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

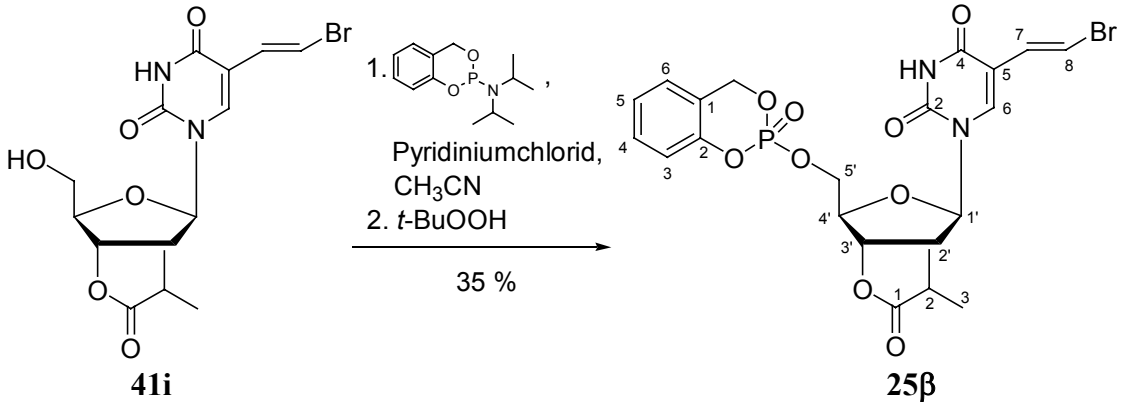
^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 176.77 (C1$_{i\text{Bu}}$); 176.74 (C1$_{i\text{Bu}}$); 160.87 (C4); 160.85 (C4); 149.95 (d, $^{2}J_{\text{C2‘,P}}$ = 5.1 Hz, C2$_{\text{ar}}$); 149.93 (d, $^{2}J_{\text{C2‘,P}}$ = 5.1 Hz, C2$_{\text{ar}}$); 148.92 (2xC2); 136.80 (C6); 136.77 (C6); 130.30 (2xC4$_{\text{ar}}$); 128.08 (2xC7); 125.58 (C5$_{\text{ar}}$); 125.56 (C5$_{\text{ar}}$); 124.84 (C6$_{\text{ar}}$); 124.80 (C6$_{\text{ar}}$); 118.63 (d, $^{3}J_{\text{C3(ar),P}}$ = 2.0 Hz, C3$_{\text{ar}}$); 118.56 (d, $^{3}J_{\text{C3(ar),P}}$ = 2.0 Hz, C3$_{\text{ar}}$); 112.08 (C8); 112.03 (C8); 110.52 (C5); 110.37 (C5); 85.28 (C1‘), 85.18 (C1‘); 83.39 (C4‘); 83.33 (C4‘); 73.99 (C3‘); 73.93 (C3‘), 68.75 (d, $^{2}J_{\text{C5‘,P}}$ = 6.1 Hz, C5‘); 68.64 (d, $^{2}J_{\text{C5‘,P}}$ = 6.1 Hz, C5‘); 68.04 (d, $^{2}J_{\text{C(benzyl),P}}$ = 6.1 Hz, C$_{\text{benzyl}}$); 67.91 (d, $^{2}J_{\text{C(benzyl),P}}$ = 6.1 Hz, C$_{\text{benzyl}}$); 37.97 (C2‘); 37.88 (C2‘); 33.70 (2xC2$_{i\text{Bu}}$); 18.76 (2xC3$_{i\text{Bu}}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.45 (s); -7.57 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3451, 3438, 3423, 3195, 3104, 3070, 2975, 2937, 2879, 1712, 1631, 1592, 1488, 1459, 1367, 1294, 1247, 1224, 1191, 1155, 1106, 1062, 1039, 1020, 946, 860, 842, 802, 757, 530, 433.

MS: (FAB; m/z): 571.3; 573.3 (M+H^{+})

8.3.5.61. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 69.0 mg (0.17 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-*i*-butyryl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 79.0 mg (0.68 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 107 mg (0.43 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit und 95 µl (0.48 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 33.2 mg (0.06 mmol; 35 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.69

HPLC t_R = 15.65 min (98 %, Gradient D)

log*P* (PC) 2.11 (128.8)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, $CDCl_3$) 8.55 (br.s, 2H, NH); 7.74 (s, 1H, H6); 7.73 (s, 1H, H6); 7.47 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.43 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.5 Hz, H8); 7.36 (dd, 2H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $^3J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.6 Hz, $H4_{ar}$); 7.20-7.09 (m, 6H, $H3_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.77 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.70 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.5 Hz, H7); 6.33 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 4.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 4.7 Hz, H1'); 6.30 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 4.7 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 4.7 Hz, H1'); 5.50 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 13.6 Hz, $H_{benzyl(a)}$'); 5.46 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)',H(benzyl)''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H(benzyl)',P}$ = 14.2 Hz, $H_{benzyl(b)}$'); 5.37 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(a)}$''); 5.35 (dd, 1H, $^3J_{H(benzyl)'',H(benzyl)'}$ = 13.3 Hz, $^3J_{H(benzyl)'',P}$ = 6.0 Hz, $H_{benzyl(b)}$''); 5.27 (m, 2H, H3'); 4.56-4.49 (m, 4H, H5'); 4.19-4.17 (m, 2H, H4'); 2.59 (sept, 1H, $^3J_{H2(i\text{Bu}),H3(i\text{Bu})}$ = 6.9 Hz, $H2_{i\text{Bu}}$); 2.51 (ddd, 2H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 13.9 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 1.3 Hz, $^3J_{H2'',H3'}$ = 5.4 Hz, H2''); 2.08 (ddd, 2H, $^3J_{H2',H2''}$ = 14.2 Hz, $^3J_{H2',H1'}$ = 5.4 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.6 Hz, H2'); 1.19 (d, 6H, $^3J_{H3(i\text{Bu}),H2(i\text{Bu})}$ = 6.9 Hz, $H3_{i\text{Bu}}$); 1.18 (d, 6H, $^3J_{H3(i\text{Bu}),H2(i\text{Bu})}$ = 6.9 Hz, $H3_{i\text{Bu}}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

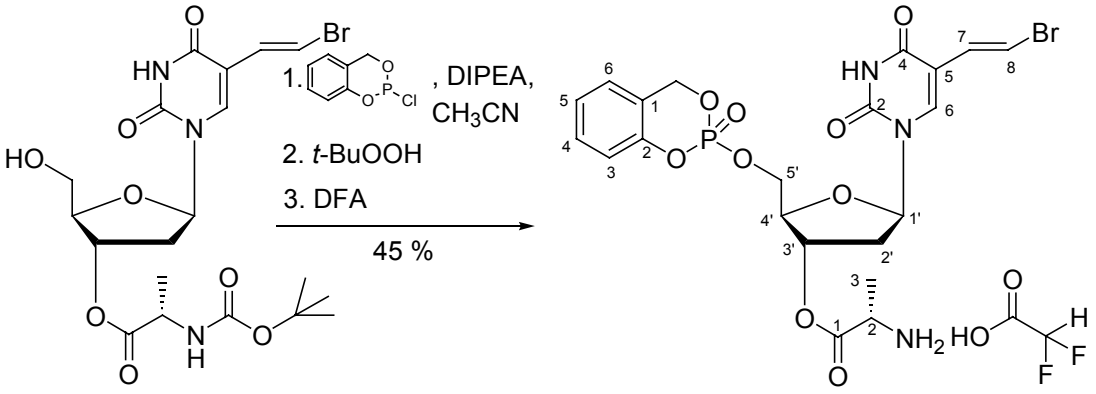
^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 176.77 ($C1_{i\text{Bu}}$); 176.74 ($C1_{i\text{Bu}}$); 160.87 (C4); 160.85 (C4); 149.95 (d, $^2J_{C2',P}$ = 5.1 Hz, $C2_{ar}$); 149.93 (d, $^2J_{C2',P}$ = 5.1 Hz, $C2_{ar}$); 148.92 (2xC2); 136.80 (C6); 136.77 (C6); 130.30 ($2xC4_{ar}$); 128.08 (2xC7); 125.58 ($C5_{ar}$); 125.56 ($C5_{ar}$); 124.84 ($C6_{ar}$); 124.80 ($C6_{ar}$); 118.63 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 2.0 Hz, $C3_{ar}$); 118.56 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 2.0 Hz, $C3_{ar}$); 112.08 (C8); 112.03 (C8); 110.52 (C5); 110.37 (C5); 85.28 (C1'), 85.18 (C1'); 83.39 (C4'); 83.33 (C4'); 73.99 (C3'); 73.93 (C3'), 68.75 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.64 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5'); 68.04 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 67.91 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 6.1 Hz, C_{benzyl}); 37.97 (C2'); 37.88 (C2'); 33.70 ($2xC2_{i\text{Bu}}$); 18.76 ($2xC3_{i\text{Bu}}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, $CDCl_3$): -7.45 (s); -7.57 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3451, 3438, 3423, 3195, 3104, 3070, 2975, 2937, 2879, 1712, 1631, 1592, 1488, 1459, 1367, 1294, 1247, 1224, 1191, 1155, 1106, 1062, 1039, 1020, 946, 860, 842, 802, 757, 530, 433.

MS: (FAB; m/z): 571.3; 573.3 (M+H$^+$)

8.3.5.62. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E)*-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-L-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41o **25δ**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 55.6 mg (0.11 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-L-alaninyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 58.0 µl (0.34 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 53.0 mg (0.28 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 62.0 µl (0.31 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der resultierende Feststoff wurde in 1 ml Acetonitril gelöst. Zu dieser Lösung wurde 1 ml Difluoressigsäure gegeben und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 5 ml Acetonitril und 20 ml Wasser verdünnt und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron (Dichlormethan (+ 0.1% Essigsäure)/Methanol 9:1 v/v) und anschließender Gelfiltration an Sephadex LH-20 aufgereinigt

Ausbeute: 33.2 mg (0.05 mmol; 45 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.12

log*P* (PC) -1.03 (0.09)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d$_6$): 8.43 (br.s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.87 (s, 1H, H6); 7.85 (s, 1H, H6); 7.37 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.35 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.26 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.1 Hz, $H3_{ar}$); 7.19 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $H6_{ar}$); 7.18 (t, 2H, $^2J_{H(TFA),F}$ = 7.6 Hz, H_{TFA}); 7.11 (t, 2H, $^3J_{H5(ar),H6(ar)/H4(ar)}$ = 7.1 Hz, $H5_{ar}$);

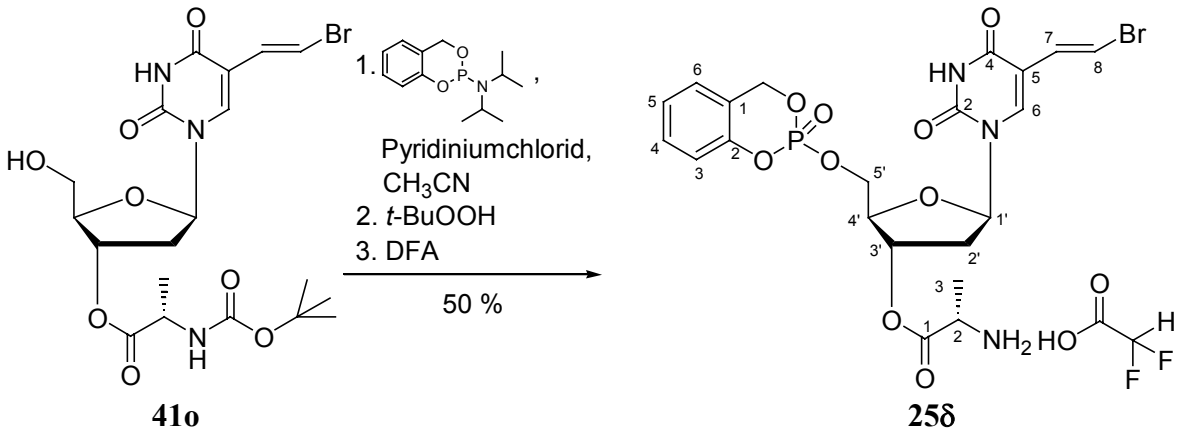
6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 5.55-5.41 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.30-5.28 (m, 2H, H3'); 4.48-4.33 (m, 4H, H5'); 4.29-4.23 (m, 2H, H4'); 4.11-4.05 (m, 2H, $H2_{Ala}$); 2.44-2.31 (m, 4H, H2'); 1.38 (d, 6H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.80 (2x$C1_{Ala}$); 161.72 (2xC4); 149.59 (C2); 149.54 (C2); 149.46 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 149.35 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 139.38 (C6); 139.30 (C6); 129.99 ($C4_{ar}$); 129.93 ($C4_{ar}$); 129.71 (2xC7); 126.27 ($C5_{ar}$); 124.70 ($C5_{ar}$); 124.68 ($C6_{ar}$); 121.37 ($C6_{ar}$); 121.23 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.15 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 118.34 ($C3_{ar}$); 118.26 ($C3_{ar}$); 110.51 (C5); 110.47 (C5); 107.37 (2xC8); 85.07 (2xC4'); 81.79 (C1'); 81.65 (C1'); 75.03 (C3'); 74.92 (C3'); 68.78 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.7 Hz, C5'); 68.64 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.5 Hz, C5'); 67.50 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 67.43 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 48.12 (2x$C2_{Ala}$); 35.91 (C2'); 35.75 (C2'); 15.90 (2x$C3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -122.28 (d).

^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.41(s); -8.48 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.63. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3'-*O*-L-alaninyl-2'-desoxyuridinmonophosphat



41o **25δ**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 42.0 mg (0.09 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3'-*O*-(*N*-BOC)-L-alaninyl-2'-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 39.0 mg (0.34 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 54.0 mg (0.21 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propyl-

phosphoramidit und 48.0 µl (0.24 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der resultierende Feststoff wurde in 1 ml Acetonitril gelöst. Zu dieser Lösung wurde 1 ml Difluoressigsäure gegeben und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 5 ml Acetonitril und 20 ml Wasser verdünnt und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron (Dichlormethan (+ 0.1% Essigsäure)/Methanol 9:1 v/v) und anschließender Gelfiltration an Sephadex LH-20 aufgereinigt

Ausbeute: 33.4 mg (0.05 mmol; 50 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.12

log*P* (PC) -1.03 (0.09)

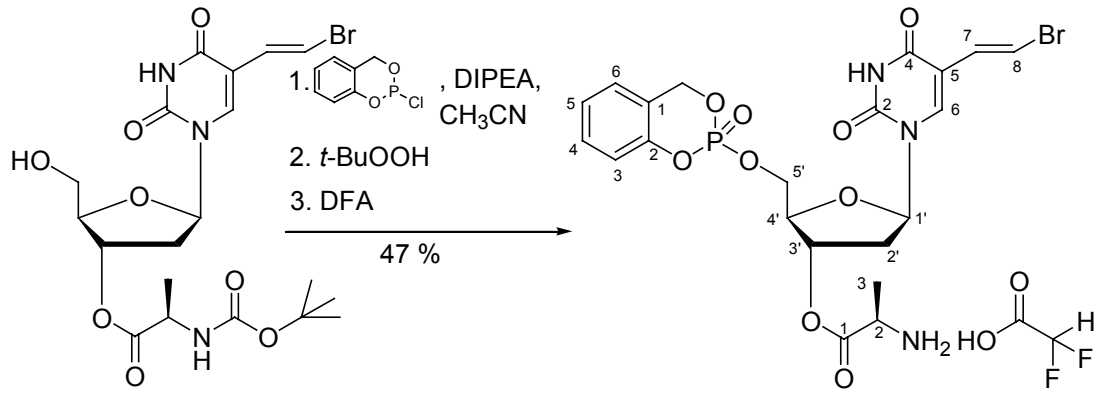
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 8.43 (br.s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.87 (s, 1H, H6); 7.85 (s, 1H, H6); 7.37 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.35 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.26 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.1 Hz, $H3_{ar}$); 7.19 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $H6_{ar}$); 7.18 (t, 2H, $^2J_{H(TFA),F}$ = 7.6 Hz, H_{TFA}); 7.11 (t, 2H, $^3J_{H5(ar),H6(ar)/H4(ar)}$ = 7.1 Hz, $H5_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 5.55-5.41 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.30-5.28 (m, 2H, H3'); 4.48-4.33 (m, 4H, H5'); 4.29-4.23 (m, 2H, H4'); 4.11-4.05 (m, 2H, $H2_{Ala}$); 2.44-2.31 (m, 4H, H2'); 1.38 (d, 6H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.80 (2x$C1_{Ala}$); 161.72 (2xC4); 149.59 (C2); 149.54 (C2); 149.46 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 149.35 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 139.38 (C6); 139.30 (C6); 129.99 ($C4_{ar}$); 129.93 ($C4_{ar}$); 129.71 (2xC7); 126.27 ($C5_{ar}$); 124.70 ($C5_{ar}$); 124.68 ($C6_{ar}$); 121.37 ($C6_{ar}$); 121.23 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.15 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 118.34 ($C3_{ar}$); 118.26 ($C3_{ar}$); 110.51 (C5); 110.47 (C5); 107.37 (2xC8); 85.07 (2xC4'); 81.79 (C1'); 81.65 (C1'); 75.03 (C3'); 74.92 (C3'); 68.78 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.7 Hz, C5'); 68.64 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.5 Hz, C5'); 67.50 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 67.43 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 48.12 (2x$C2_{Ala}$); 35.91 (C2'); 35.75 (C2'); 15.90 (2x$C3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -122.28 (d).

^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.41(s); -8.48 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.64. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3‘-*O*-D-alaninyl-2‘-desoxyuridinmonophosphat



41p **25ε**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 47.0 mg (0.10 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3‘-*O*-(*N*-BOC)-D-alaninyl-2‘-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 49.0 µl (0.29 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 45.0 mg (0.24 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 53.0 µl (0.26 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der resultierende Feststoff wurde in 1 ml Acetonitril gelöst. Zu dieser Lösung wurde 1 ml Difluoressigsäure gegeben und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 5 ml Acetonitril und 20 ml Wasser verdünnt und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron (Dichlormethan (+ 0.1% Essigsäure)/Methanol 9:1 v/v) und anschließender Gelfiltration an Sephadex LH-20 aufgereinigt

Ausbeute: 31.4 mg (0.05 mmol; 47 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.12

log*P* (PC) -1.03 (0.09)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 8.43 (br.s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.87 (s, 1H, H6); 7.85 (s, 1H, H6); 7.37 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.35 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.26 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.1 Hz, $H3_{ar}$); 7.19 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $H6_{ar}$); 7.18 (t, 2H, $^2J_{H(TFA),F}$ = 7.6 Hz, H_{TFA}); 7.11 (t, 2H, $^3J_{H5(ar),H6(ar)/H4(ar)}$ = 7.1 Hz, $H5_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1‘,H2‘‘}$ = 7.6 Hz, H1‘); 6.19 (dd, 1H,

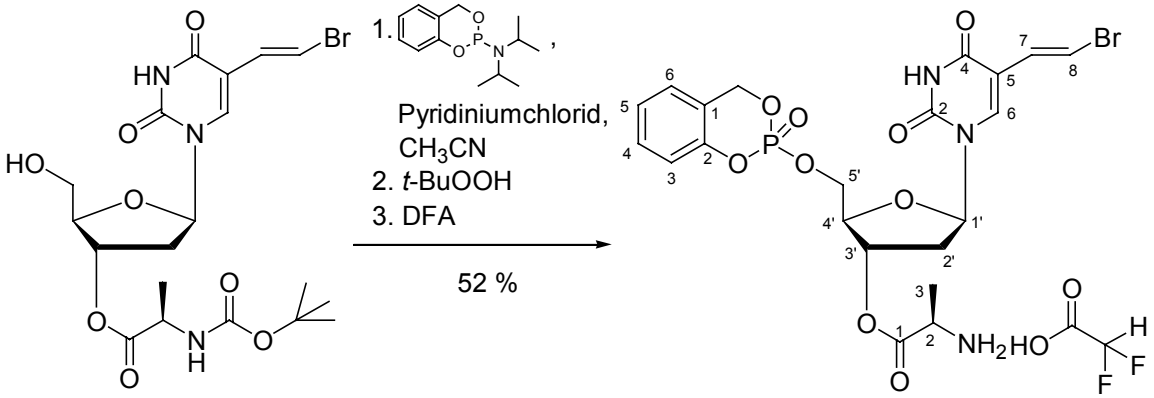
$^{3}J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^{3}J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 5.55-5.41 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.30-5.28 (m, 2H, H3'); 4.48-4.33 (m, 4H, H5'); 4.29-4.23 (m, 2H, H4'); 4.11-4.05 (m, 2H, $H2_{Ala}$); 2.44-2.31 (m, 4H, H2'); 1.38 (d, 6H, $^{3}J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.80 (2x$C1_{Ala}$); 161.72 (2xC4); 149.59 (C2); 149.54 (C2); 149.46 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 149.35 (d, $^{2}J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 139.38 (C6); 139.30 (C6); 129.99 ($C4_{ar}$); 129.93 ($C4_{ar}$); 129.71 (2xC7); 126.27 ($C5_{ar}$); 124.70 ($C5_{ar}$); 124.68 ($C6_{ar}$); 121.37 ($C6_{ar}$); 121.23 (d, $^{3}J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.15 (d, $^{3}J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 118.34 ($C3_{ar}$); 118.26 ($C3_{ar}$); 110.51 (C5); 110.47 (C5); 107.37 (2xC8); 85.07 (2xC4'); 81.79 (C1'); 81.65 (C1'); 75.03 (C3'); 74.92 (C3'); 68.78 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 12.7 Hz, C5'); 68.64 (d, $^{2}J_{C5',P}$ = 12.5 Hz, C5'); 67.50 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 67.43 (d, $^{2}J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 48.12 (2x$C2_{Ala}$); 35.91 (C2'); 35.75 (C2'); 15.90 (2x$C3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -122.38 (d).

^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.41 (s); -8.49 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.5.65. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-3'-*O*-D-alaninyl-2'-desoxyuridinmonophosphat



41p **25ε**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.6. durchgeführt. Es wurden 50.0 mg (0.10 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-3'-*O*-(*N*-BOC)-D-alaninyl-2'-desoxyuridin, 3 ml Acetonitril, 46.0 mg (0.40 mmol) Pyridiniumhydrochlorid, 63.0 mg (0.25 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propyl-phosphoramidit und 56.0 µl (0.28 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet. Der resultierende Feststoff wurde in 1 ml Acetonitril gelöst wurde. Zu dieser

Lösung wurde 1 ml Difluoressigsäure gegeben und vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 5 ml Acetonitril und 20 ml Wasser verdünnt und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde mittels Chromatotron (Dichlormethan (+ 0.1% Essigsäure)/Methanol 9:1 v/v) und anschließender Gelfiltration an Sephadex LH-20 aufgereinigt

Ausbeute: 34.8 mg (0.05 mmol; 52 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.12

log*P* (PC) -1.03 (0.09)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 8.43 (br.s, 4H, $NH_{2\ Ala}$); 7.87 (s, 1H, H6); 7.85 (s, 1H, H6); 7.37 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.35 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)/H5(ar)}$ = 8.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.29 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.28 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 13.7 Hz, H8); 7.26 (d, 2H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.1 Hz, $H3_{ar}$); 7.19 (d, 2H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.6 Hz, $H6_{ar}$); 7.18 (t, 2H, $^2J_{H(TFA),F}$ = 7.6 Hz, H_{TFA}); 7.11 (t, 2H, $^3J_{H5(ar),H6(ar)/H4(ar)}$ = 7.1 Hz, $H5_{ar}$); 6.84 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.81 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 13.7 Hz, H7); 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 6.19 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 7.6 Hz, H1'); 5.55-5.41 (m, 4H, H_{benzyl}); 5.30-5.28 (m, 2H, H3'); 4.48-4.33 (m, 4H, H5'); 4.29-4.23 (m, 2H, H4'); 4.11-4.05 (m, 2H, $H2_{Ala}$); 2.44-2.31 (m, 4H, H2'); 1.38 (d, 6H, $^3J_{H3(Ala),H2(Ala)}$ = 6.6 Hz, $H3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

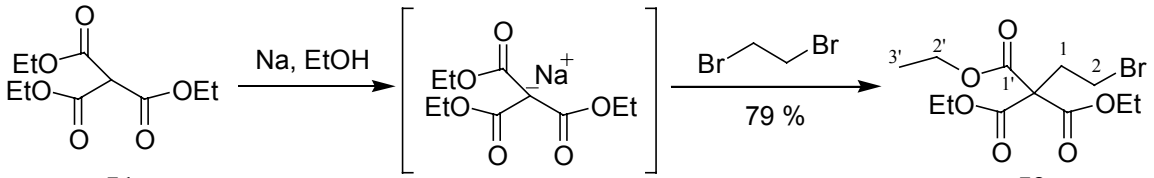
^{13}C-NMR δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 169.80 (2x$C1_{Ala}$); 161.72 (2xC4); 149.59 (C2); 149.54 (C2); 149.46 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 149.35 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 5.5 Hz, $C2_{ar}$); 139.38 (C6); 139.30 (C6); 129.99 ($C4_{ar}$); 129.93 ($C4_{ar}$); 129.71 (2xC7); 126.27 ($C5_{ar}$); 124.70 ($C5_{ar}$); 124.68 ($C6_{ar}$); 121.37 ($C6_{ar}$); 121.23 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 121.15 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 9.7 Hz, $C1_{ar}$); 118.34 ($C3_{ar}$); 118.26 ($C3_{ar}$); 110.51 (C5); 110.47 (C5); 107.37 (2xC8); 85.07 (2xC4'); 81.79 (C1'); 81.65 (C1'); 75.03 (C3'); 74.92 (C3'); 68.78 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.7 Hz, C5'); 68.64 (d, $^2J_{C5',P}$ = 12.5 Hz, C5'); 67.50 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 67.43 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 12.7 Hz, C_{benzyl}); 48.12 (2x$C2_{Ala}$); 35.91 (C2'); 35.75 (C2'); 15.90 (2x$C3_{Ala}$). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{19}F-NMR δ [ppm] (471 MHz, DMSO-d_6): -122.38 (d).

^{31}P-NMR δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.41 (s); -8.49 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.6. Darstellung von Penciclovir

8.3.6.1. Darstellung von 3-Brompropan-1,1,1-tricarbonsäuretriethylester



51 **52**

Zu einer Lösung aus 12.7 g (11.5 ml, 54.7 mmol) Methantricarbonsäuretriethylester in 40 ml Diethylether wurde eine Lösung aus 1.26 g (54.8 mmol) Natrium in 15 ml Ethanol zugetropft und im Eisbad gekühlt. Der farblose Niederschlag wurde abfiltriert (12.3 g, 48.2 mmol, 88 %), in 60 ml Benzol/DMF (1:1 v/v) gelöst, 18.1 g (8.3 ml, 90.8 mmol) Dibromethan zugetropft und 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit wenig Benzol verdünnt, durch eine Filterfritte filtriert und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der flüssige Rückstand wurde im Vakuum mittels einer Kugelrohrdestille destilliert (Sdp. 110-120 °C, 0.3 mbar).

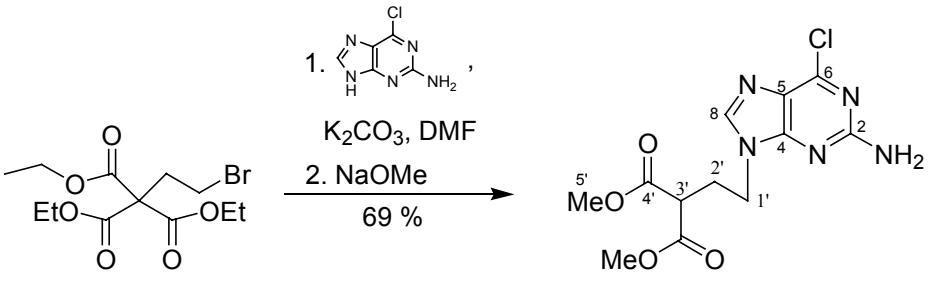
Ausbeute: 14.6 g (43.1 mmol, 79 %) eines farblosen Öls.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6): 4.21 (q, 6H, $^3J_{H2',H3'}$ = 7.3 Hz, H2'); 3.54-3.47 (m, 2H, H1); 2.67-2.59 (m, 2H, H2); 1.23 (t, 9H, $^3J_{H3',H2'}$ = 7.3 Hz, H3').

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 165.98 (3x C1'); 65.52 (C_q); 62.34 (3x C2'); 36.20 (C1); 26.84 (C2); 13.71 (3x C3').

MS: (FAB, m/z): 339.4 (M+H)

8.3.6.2. Darstellung von 2-[2-(2-Amino-6-chlorpurin-9-yl)ethyl]malonsäuredimethylester



52 **53**

Eine Suspension aus 500 mg (2.90 mmol) 2-Amino-6-chlorpurin, 1.10 g (3.20 mmol) 3-Brompropan-1,1,1-tricarbonsäuretriethylester und 622 mg (4.51 mmol) wasserfreiem

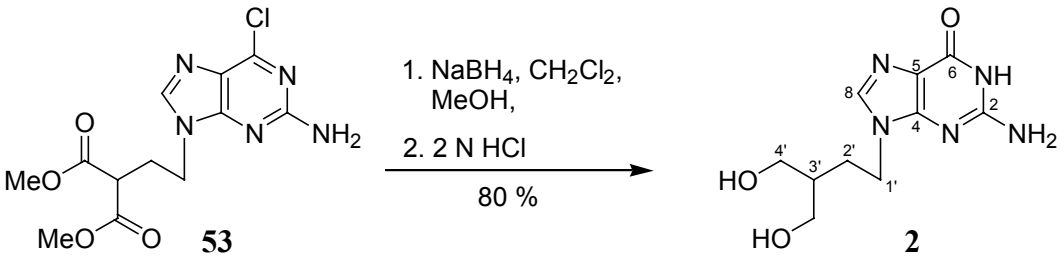
Kaliumcarbonat in 11 ml Dimethylformamid wurde 52 Stunden bei ca. 70 °C unter Schutzgas gerührt und anschließend heiß filtriert. Der Filterrückstand wurde mit wenig Dimethylformamid nachgewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert. Der Rückstand wurde in 7.8 ml Methanol aufgenommen und eine Suspension aus 67.0 mg (1.24 mmol) Natriummethanolat in 2.2 ml Methanol zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur und 30 min bei 0 °C gerührt, der entstande Feststoff abfiltriert und mit Methanol nachgewaschen. Der gelbliche Feststoff wurde aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 660 mg (2.0 mmol, 69 %) eines farblosen Feststoffs.

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, DMSO-d_6): 8.07 (s, 1H, H8); 6.89 (br. s, 2H, NH_2); 4.11 (t, 2H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.9 Hz, H1'); 3.59 (s, 6H, H5'); (t, 1H, $^3J_{H3',H2'}$ = 7.2 Hz, H3'); 2.32 (dt, 2H, $^3J_{H2',H1'}$ = 7.0 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 7.0 Hz, H2').

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, DMSO-d_6): 168.98 (C4'); 159.92 (C2); 154.33 (C4); 149.49 (C6); 143.32 (C8); 52.07 (C5'); 48.63 (C3'); 41.14 (C1'); 27.84 (C2').

8.3.6.3. Darstellung von Penciclovir **2**



Eine Suspension aus 660 mg (2.02 mmol) 2-[2-(2-Amino-6-chlorpurin-9-yl)ethyl]-malonsäuredimethylester und 300 mg (6.06 mmol) Natriumborhydrid in 3 ml Dichlormethan wurde bei 20 °C gerührt. Innerhalb von fünf Minuten wurden 1.5 ml Methanol so zugetropft, daß die Temperatur nicht über 22 °C stieg und anschließend noch 3 Stunden nachgerührt. Zu der Reaktionsmischung wurden 2 ml Wasser zugegeben, mit konzentrierter Salzsäure neutralisiert und im Vakuum eingeengt. Die verbleibende Mischung wurde auf ca. 0 °C abgekühlt, 30 min gerührt und der Feststoff abfiltriert. Der Rückstand wurde in 10 ml 2 N Salzsäure gelöst und drei Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 40 %iger Natriumhydroxidlösung auf pH 13 Gebracht und 90 min bei Raumtemperatur gerührt. Mit konzentrierter Salzsäure wurde neutralisiert und der Feststoff abfiltriert.

Ausbeute: 409 mg (1.60 mmol, 80 %) eines farblosen Feststoffs.

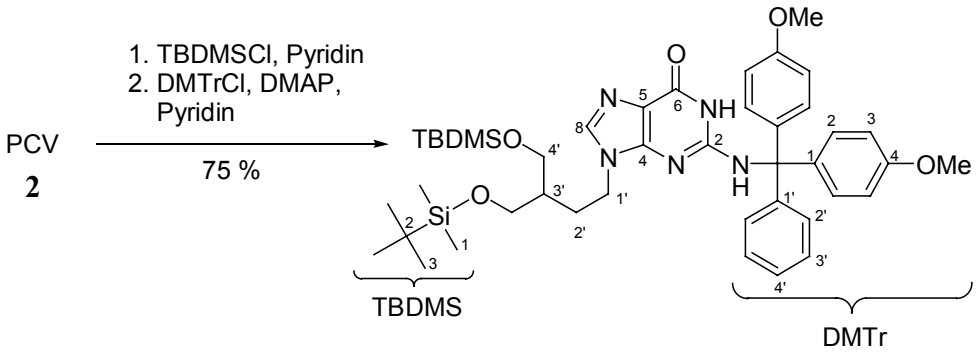
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 8.40 (s, 1H, H8); 7.78 (s, 1H, NH); 4.10 (t, 2H, $^3J_{H1',H2'}$ = 7.3 Hz, H1'); 3.59-3.52 (m, 4H, H4'); 1.81 (dt, 2H,

$^3J_{H2',H1'}$ = 7.2 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 7.0 Hz, H2‘); 1.61 (tquin, 1H, $^3J_{H3',H2'}$ = 7.0 Hz, $^3J_{H3',H4'}$ = 7.0 Hz, H3‘).

MS: (FAB, m/z): 254.0 (M+H)

8.3.7. Darstellung der *cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphate

8.3.7.1. Darstellung von Bis-*O,O‘*-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)-penciclovir



Unter Schutzgasatmosphäre wurde bei Raumtemperatur zu einer Suspension aus 285 mg (1.10 mmol) Penciclovir **2** in 20 ml Pyridin 350 mg (2.30 mmol) *t*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) zugegeben und 48 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert. Man erhielt 396 mg eines farblosen Feststoffes (0.82 mmol, 75 %, R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.31). Der Rückstand wurde in Pyridin aufgenommen, 402 mg (1.20 mmol) Dimethoxytritylchlorid (DMTrCl), 12.5 mg (0.12 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zugegeben und bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt. Die Reaktionslösung wurde gegen gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bis zur Trockene eingeengt. Der erhaltene Feststoff wurde am Chromatotron gereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient von 0 bis 10 %).

Ausbeute: 636 mg (0.81 mmol, 75 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.59

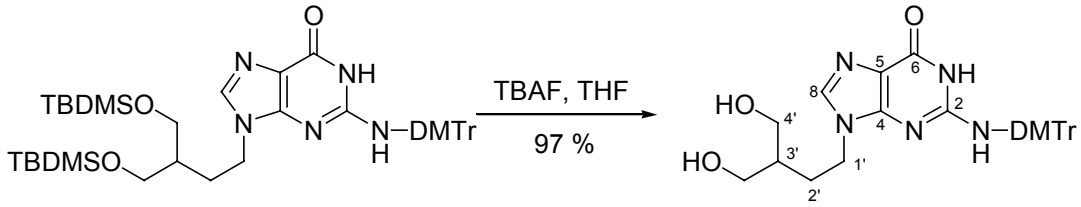
^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.34-7.15 (m, 10H, H8, $H2_{DMTr}$, $H2'_{DMTr}$, $H3'_{DMTr}$, $H4'_{DMTr}$); 6.85-6.73 (m, 4H, $H3_{DMTr}$); 3.75 (s, 8H, H1‘, 2xOCH_3); 3.55-3.40 (m, 4H, H4‘); 1.90-1.73 (m, 1H, H3‘); 1.59-1.47 (m, 2H, H2‘); 0.88 (s, 18H, $H3_{TBDMS}$); 0.04 (s, 12H, $H1_{TBDMS}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 158.33 (C6, $C4_{DMTr}$); 151.05 (C2), 150.72 (C4); 142.40 ($C1'_{DMTr}$); 137.41 (C8); 136.64 ($C1_{DMTr}$); 130.01 ($C1_{DMTr}$); 128.56 ($C3'_{DMTr}$); 127.89 ($C2'_{DMTr}$); 126.70 ($C4'_{DMTr}$); 117.47 (C5); 113.27 ($C3_{DMTr}$); 70.09 ($C_{q\text{-}DMTr}$); 62.66 (C4'); 55.14 (OCH_3); 41.84 (C1'); 40.91 (C3'); 28.78 (C2'); 25.90 ($C3_{TBDMS}$); 18.23 ($C2_{TBDMS}$); -5.44 ($C1_{TBDMS}$).

UV: λ_{max} (CH_3CN): 203.5, 235.0, 277.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 226.0, 270.5 nm

8.3.7.2. Darstellung von *N*-(Dimethoxytrityl)penciclovir



Zu 600 mg (0.78 mmol) Bis-*O,O'*-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)penciclovir, gelöst in 2 ml THF wurden 525 mg (2.30 mmol) einer Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) in THF gegeben und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerühren. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abkondensiert und der erhaltene Feststoff am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient von 0 bis 20 %).

Ausbeute: 420 mg (0.76 mmol, 97 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.12

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.34 (s, 1H, H8); 7.23-7.14 (m, 5H, $H2'_{DMTr}$, $H3'_{DMTr}$, $H4'_{DMTr}$); 7.12 (dt, 4H, $^3J_{H2(DMTr),H3(DMTr)}$ = 8.9 Hz, $^4J_{H3(DMTr),H3(DMTr)}$ = 3.4 Hz, $H2_{DMTr}$); 6.72 (dt, 4H, $^3J_{H3(DMTr),H2(DMTr)}$ = 8.8 Hz, $^4J_{H3(DMTr),H3(DMTr)}$ = 3.4 Hz, $H3_{DMTr}$); 3.70 (s, 6H, OCH_3); 3.55 (t, 2H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.8 Hz, H1'); 3.43-3.27 (m, 4H, H4'); 1.37-1.25 (m, 1H, H3', H2').

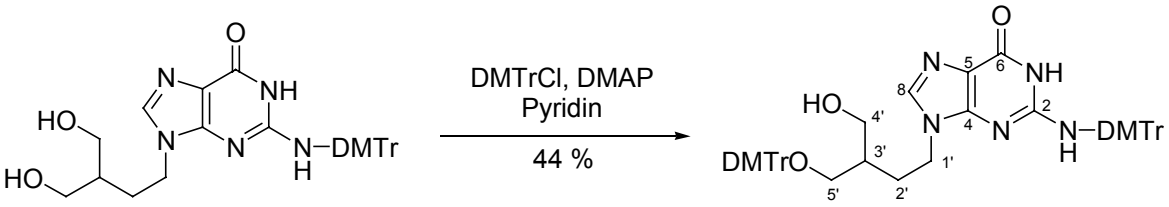
^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 158.04 (C6, $C3_{DMTr}$); 150.54 (C2); 144.70 (C4; $C2_{DMTr}$); 137.77 (C8); 136.82 ($C1_{DMTr}$); 129.83 ($C2_{DMTr}$); 128.45 ($C3'_{DMTr}$); 127.55 ($C2'_{DMTr}$); 126.64 ($C4'_{DMTr}$); 112.84 ($C3_{DMTr}$); 69.93 ($C_{q\text{-}DMTr}$); 63.43 (C4'); 55.01 (OCH_3); 41.64 (C3'); 39.47 (C1'); 27.88 (C2').

UV: λ_{max} (CH_3CN): 200.5; 236.0, 271.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 226.0 nm

MS: (FAB, m/z): 556.7 (M+H)

8.3.7.3. Darstellung von Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir



In 5 ml Pyridin wurden unter Schutzgasatmosphäre zu 415 mg (0.75 mmol) *N*-(Dimethoxytrityl)penciclovir 304 mg (0.92 mmol) Dimethoxytritylchlorid (DMTrCl) und 40.0 mg (0.09 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) gegeben und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient von 0 bis 10 %).

Ausbeute: 280 mg (0.32 mmol, 44 %) eines gelblichen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 7.77 (s, 1H, NH); 7.45-6.98 (m, 19H, $H2_{DMTr}$, $H2'_{DMTr}$, $H3'_{DMTr}$, $H4'_{DMTr}$, H8); 6.92 (s, 1H, NH); 6.85 (d, 4H, $^3J_{H3(DMTr),H2(DMTr)}$ = 8.9 Hz, $H3_{DMTr}$); 6.62 (d, 4H, $^3J_{H3(DMTr),H2(DMTr)}$ = 8.9 Hz, $H3_{DMTr}$); 3.77 (s, 6H, OCH_3); 3.61 (s, 6H, OCH_3); 3.47 (s, 2H, H1'); 3.44 (d, 2H, $^3J_{H4',H3'}$ = 7.9 Hz, H4'); 3.21-2.97 (m, 2H, H5'); 2.20 (s, 1H, OH); 1.61-1.34 (m, 3H, H3', H2').

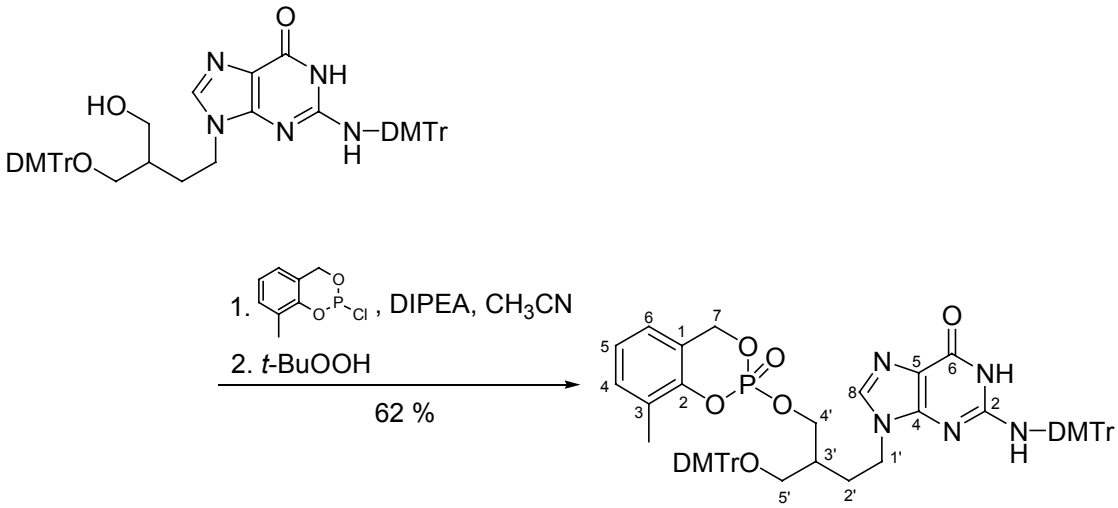
^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 158.85 (C6); 158.44 ($C4_{DMTr}$); 157.79 ($C4_{DMTr}$); 150.95 (C2); 150.39 (C4); 145.05 ($C1'_{DMTr}$); 144.63 ($C1'_{DMTr}$); 137.19 (C8); 135.86 ($C1_{DMTr}$); 135.77 ($C1_{DMTr}$); 130.05 ($C2'_{DMTr}$); 129.86 ($C2'_{DMTr}$); 128.61 ($C3'_{DMTr}$); 127.98 ($C2'_{DMTr}$); 127.84 ($C2'_{DMTr}$); 127.34 ($C4'_{DMTr}$); 126.82 ($C4'_{DMTr}$); 117.25 (C5); 113.12 ($C3_{DMTr}$); 112.67 ($C3_{DMTr}$); 86.35 ($C_{q\text{-}DMTr(O)}$); 69.86 ($C_{q\text{-}DMTr(N)}$); 64.46 (C4', C5'); 55.12 (OCH_3); 54.92 (OCH_3); 41.61 (C1'); 38.58 (C3'); 28.40 (C2').

UV: λ_{max} (CH_3CN): 203.0, 236.0, 275.0 nm

λ_{min} (CH_3CN): 225.0 nm

MS: (FAB, m/z): 858.9 (M+H)

8.3.7.4. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir-monophosphat



Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 400 mg (0.47 mmol) Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir, 9 ml Acetonitril, 200 µl (0.94 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), (0.94 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 200 µl (0.94 mmol) *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 300 mg (0.29 mmol, 62 %) eines gelblichen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.54

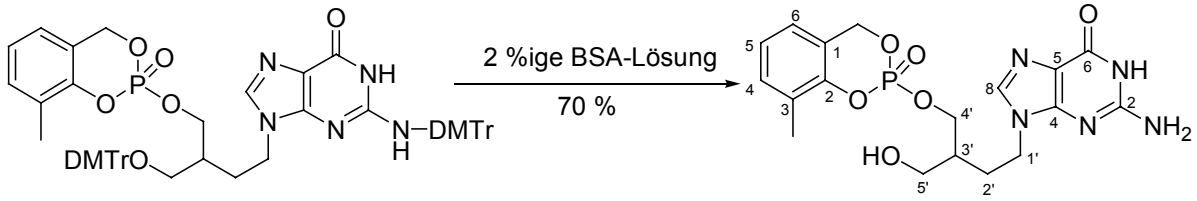
^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6): 10.49 (s, 2x1H, NH); 7.51 (s, 2x1H, NH); 7.38 (s, 1H, H8); 7.37 (s, 1H, H8); 7.29-6.72 (m, 2x41H, $H2_{DMTr}$, $H3_{DMTr}$, $H2'_{DMTr}$, $H3'_{DMTr}$, $H4'_{DMTr}$, $H4_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 5.43 (dd, 1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl)}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.3 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.42 (dd, 1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl)}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.3 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.18 (dd, 2x1H, $^3J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl)}$ = 14.3 Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 10.3 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.0-3.8 (m, 2x2H, H4'); 3.72 (s, 2x6H, OCH_3 (*O*-DMTr)); 3.63 (s, 6H, OCH_3 (*N*-DMTr)); 3.40-3.29 (m, 2x2H, H1'); 2.78-2.64 (m, 2x2H, H5'); 2.15 (s, 3H, CH_3); 2.13 (s, 3H, CH_3); 1.59-1.49 (m, 2x1H, H3'); 1.25-1.14 (m, 2x2H, H2'); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 158.46($2xC4_{DMTr}$); 158.13 (2xC6); 151.01 (2xC2); 150.52 (2xC4); 148.58 ($C2_{ar}$); 148.52 ($C2_{ar}$); 144.60 ($2xC1'_{DMTr}$); 137.29 (C8); 136.80 (C8); 135.85 ($C1_{DMTr}$); 135.75 ($C1_{DMTr}$); 131.11 (2x $C4_{ar}$); 129.86 ($2xC2_{DMTr}$); 128.56 ($2xC3'_{DMTr}$); 128.02 ($2xC2'_{DMTr}$); 127.77 ($2xC4'_{DMTr}$); 127.64 ($2xC3_{DMTr}$); 126.51 (2x $C3_{ar}$); 123.81 (2x $C5_{ar}$); 122.83 (2x $C6_{ar}$); 120.46 ($C1_{ar}$); 120.4 ($C1_{ar}$);

117.17 (2xC5); 113.08 ($C3_{DMTr}$) 112.97 ($C3_{DMTr}$); 86.08 ($C_{q\text{-}O\text{-}DMTr}$); 86.00 ($C_{q\text{-}O\text{-}DMTr}$); 70.01 ($2xC_{q\text{-}N\text{-}DMTr}$); 68.48 (2xC4‘); 68.41 (2xC5‘); 55.15 (OCH_3); 55.04 (OCH_3); 41.22 (2xC1‘); 37.39 (C3‘); 37.33 (C3‘); 27.90 (2xC2‘); 15.29 ($2xCH_3$); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -8.63 (s), -8.66 (s); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.7.5. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Penciclovirmonophosphat



26a

Zu 290 mg (0.28 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)penciclovir-monophosphat wurden 5 ml 2 %ige Benzolsulfonsäurelösung (BSA; Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v) gegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde erst am Chromatotron isokratisch (Dichlormethan/Methanol 85:15 v/v) und anschließend semipräparativ an der HPLC gereinigt. Die erhaltene wässrige Lösung wurde lyophilisiert.

Ausbeute: 85.0 mg (0.20 mmol, 70 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.31

log*P* (PC): 0.04 (1.1)

HPLC: t_R = 14.16, 14.27 min (Reinheit: 98 %; Gradient A)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 10.53 (s, 2x1H, NH); 7.61 (s, 1H, H8); 7.59 (s, 1H, H8); 7.21 (t, 2x1H, $^3J_{H5(ar),H3(ar)+H6(ar)}$ = 4.7 Hz, $H5_{ar}$); 7.07-7.02 (m, 2x2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.39 (s, 2x2H, NH_2); 5.44 (dd, 2x1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl)}$ = 14.4 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 16.5 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.36 (dd, 2x1H, $^3J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl)}$ = 14.3, Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 10.0 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.65 (t, 1H, $^3J_{OH,H5‘}$ = 5.3 Hz, OH); 4.63 (t, 1H, $^3J_{OH,H5‘}$ = 5.3 Hz, OH); 4.18-3.85 (m, 2x4H, H4´, H1‘); 3.40-3.30 (m, 2x2H, H5‘); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.17 (s, 3H, CH_3); 1.72-1.60 (m, 2x3H, H3‘, H2‘); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 156.94 (2xC6); 153.62 (2xC2); 151.23 (2xC4); 148.08 ($C1_{ar}$); 148.02 ($C1_{ar}$); 137.33 (2xC8); 130.95 (2x $C4_{ar}$); 127.04 ($C3_{ar}$); 126.96 ($C3_{ar}$); 124.00 ($2xC5_{ar}$); 123.64 ($2xC6_{ar}$); 116.74

(2xC5); 68.55 (C_{benzyl}); 68.48 (C_{benzyl}); 68.08 (2xC4‘); 59.94 (C4‘); 59.77 (C5‘); 41.20 (2xC1‘); 38.86 (C3‘); 38.79 (C3‘); 28.04 (C2‘); 27.96 (C2‘); 15.06 (CH_3); 15.03 (CH_3); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -9.09 (s).

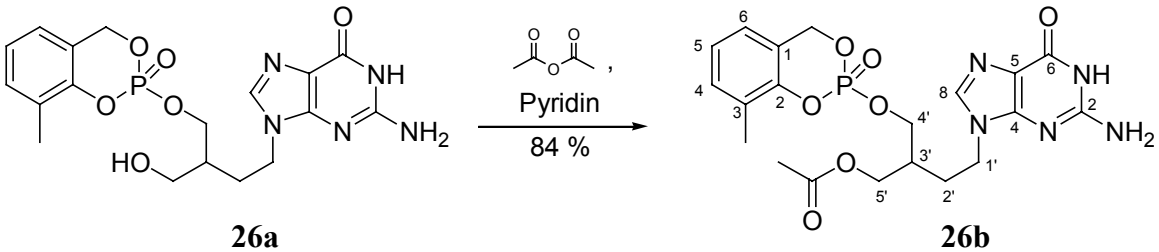
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3448.1, 1718.3, 1685.9, 1654.3, 1636.7, 1560.2, 1474.5, 1364.1, 1289.8, 1189.8, 1021.3

UV: λ_{max} (CH_3CN): 196.03, 260.0 nm

λ_{min} (CH_3CN): 240.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 436.3 ($M+H^+$)

8.3.7.6. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-penciclovirmonophosphat



26a **26b**

Zu 30.0 mg (0.07 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-penciclovirmonophosphat wurden 21.4 mg (0.21 mmol) Essigsäureanhydrid und 5 ml Pyridin gegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerühren. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradient von 0 bis 30 %) gereinigt.

Ausbeute: 28.0 mg (0.06 mmol, 84 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.58

log*P* (PC): 0.15 (1.4)

HPLC: t_R = 16.76, 16.87 min (Reinheit: 98 %; Gradient A)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 10.52 (s, 2x1H, NH); 7.63 (s, 1H, H8); 7.61 (s, 1H, H8); 7.22 (m, 2x1H, $H5_{ar}$); 7.07-7.02 (m, 2x2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.39 (s, 2x2H, NH_2); 5.44 (dd, 2x1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl)}$ = 14.6 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 16.6 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.36 (dd, 2x1H, $^3J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl)}$ = 14.3, Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 8.7 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.21-3.85 (m, 2x6H, H4‘, H5‘, H1‘); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.17 (s, 3H, CH_3); 1.94 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 1.93 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 1.92 (m, 2x1H, H3‘); 1.72 (dt, 2x2H, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 6.7 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 6.7 Hz, H2‘); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 170.23 (2xC1$_{Ac}$); 156.82 (2xC6); 153.55 (2xC2); 151.17 (2xC4); 147.97 (C1$_{ar}$); 147.89 (C1$_{ar}$); 137.21 (2xC8); 130.91 (2x C4$_{ar}$); 126.95 (C3$_{ar}$); 126.86 (C3$_{ar}$); 123.99 (2x C5$_{ar}$); 123.56 (2x C6$_{ar}$); 121.05 (C2$_{ar}$); 120.96 (C2$_{ar}$); 116.74 (2xC5); 68.49 (2xC4‘); 67.71 (C5‘); 67.64 (C5‘); 62.81 (C$_{benzyl}$); 62.76 (C$_{benzyl}$); 41.20 (2xC1‘); 35.62 (C3‘); 35.59 (C3‘); 27.86 (C2‘); 27.83 (C2‘); 20.52 (2x CH$_{3\ Ac}$); 15.2 (CH$_3$); 14.89 (CH$_3$); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

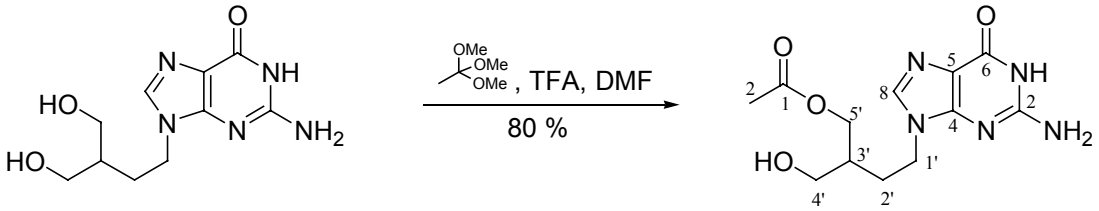
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -9.19 (s), -9.26 (s); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

UV: λ_{max} (CH_3CN): 198.0, 254.5, 271.5, 307.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 231.5, 299.0 nm

MS: (ESI$^+$, m/z): 478.3 (M+H$^+$)

8.3.7.7. Darstellung von 9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin



2 **54**

Zu 100 mg (0.39 mmol) Penciclovir **2** suspendiert in 1 ml Dimethylformamid wurden 34.0 µl (49.0 mg, 0.43 mmol) Trifluoressigsäure und 89.0 µl (85.0 mg, 0.71 mmol) Trimethylorthoacetat gegeben und bei Raumtemperatur unter Schutzgasatmosphäre zwei Stunden gerührt. Es wurden 100 µl Wasser zugegeben und nach 10 min das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert. Der Rückstand wurde dreimal mit Ethanol/Toluol (1:1 v/v) coevaporiert und anschließend am Chromatotron aufgereinigt (Chloroform mit Ethanolgradient)

Hauptprodukt (9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin):

Ausbeute: 92 mg (0.31 mmol, 80 %) eines farblosen Feststoffs Lit.: 79 %[117]

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v): 0.29

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 10.53 (s, 1H, NH); 7.69 (s, 1H, H8); 6.41 (s, 2H, NH_2); 4.63 (t, 2H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 5.2 Hz, H1‘); 3.97 (m, 4H, H4‘, H5‘); 1.70 (m, 3H, H3‘, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 170.66 (C1$_{Ac}$); 157.00 (C6); 153.62 (C2); 151.31 (C4); 137.53 (C8); 116.77 (C5); 64.19 (C5‘); 60.68 (C4‘); 40.91 (C1‘); 37.66 (C3‘); 28.61 (C2‘); 20.86 (C2$_{Ac}$).

Nebenprodukt (9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)-(*N*-acetyl-)guanin)

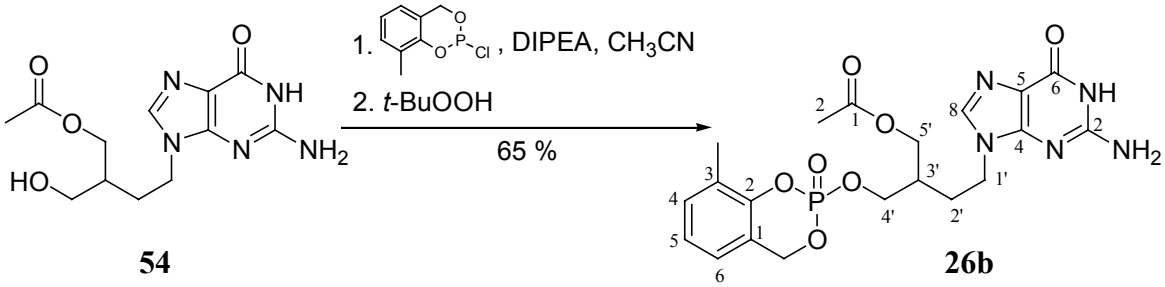
Ausbeute: 25 mg (0.07 mmol, 19 %) eines farblosen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v): 0.55

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 12.01 (NH); 11.69 (s, 1H, NH); 8.00 (s, 1H, H8); 4.65 (br. s, 1H, OH); 4.12 (t, 2H, $^3J_{H1',H2'}$ = 7.3 Hz, H1'); 4.00-3.93 (m, 2H, H4', H5'); 1.86-1.70 (m, 2H, H2'); 1.68-1.62 (m, 1H, H3').

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 173.68 ($C1_{Ac}$(N)); 170.67 ($C1_{Ac}$(O)); 155.11 (C6); 148.78 (C2); 147.79 (C4); 139.93 (C8); 120.27 (C5); 64.18 (C5'); 60.66 (C4'); 41.56 (C1'); 37.70 (C3'); 28.70 (C2'); 23.96 ($C2_{Ac}$(N)); 20.86 ($C2_{Ac}$(O)).

8.3.7.8. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-penciclovirmonophosphat



54 **26b**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 100 mg (0.34 mmol) 9-(4-*O*-Acetyl-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin, 5 ml Acetonitril, 66.0 mg (0.51 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 103 mg (0.51 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 110 µl (0.51 mmol) einer Lösung aus *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 105 mg (0.22 mmol, 65 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 7:3 v/v): 0.55

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 10.52 (s, 2x1H, NH); 7.63 (s, 1H, H8); 7.61 (s, 1H, H8); 7.22 (m, 2x1H, $H5_{ar}$); 7.07-7.02 (m, 2x2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.39 (s, 2x2H, NH_2); 5.44 (dd, 2x1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl)}$ = 14.6 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 16.6 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.36 (dd, 2x1H, $^3J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl)}$ = 14.3, Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 8.7 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.21-3.85 (m, 2x6H, H4', H5', H1'); 2.19 (s, 3H, CH_3); 2.17 (s, 3H, CH_3); 1.94 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 1.93 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 1.92 (m, 2x1H, H3'); 1.72 (dt, 2x2H, $^3J_{H2',H1'}$ = 6.7 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.7 Hz, H2'); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 170.44 ($C1_{Ac}$); 170.42 ($C1_{Ac}$); 156.97 (2xC6); 153.84 (2xC2); 151.27 (2xC4); 148.04 ($C1_{ar}$); 147.97 ($C1_{ar}$);

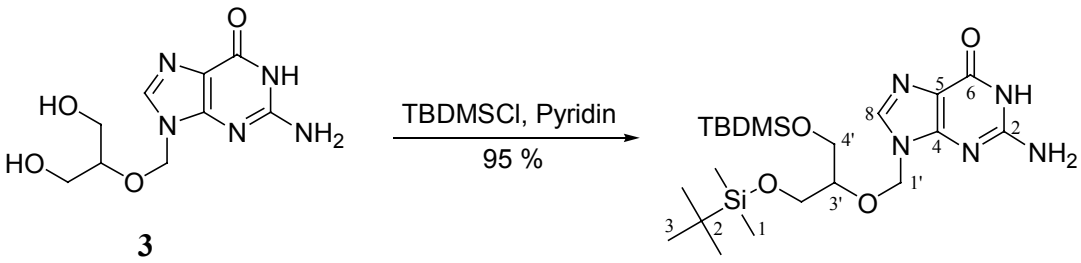
137.37 (2xC8); 131.01 (2x$C4_{ar}$); 127.05 (2x$C3_{ar}$); 126.97 (2x$C5_{ar}$); 124.12 (2x$C6_{ar}$); 121.10 ($C2_{ar}$); 121.01 ($C2_{ar}$); 116.75 (2xC5); 68.72 (C5‘); 68.65 (C5‘); 67.72 (C4‘); 67.68 (C4‘); 62.87 (C_{benzyl}); 62.82 (C_{benzyl}); 41.78 (2xC1‘); 35.70 (C3‘); 35.62 (C3‘); 27.91 (C2‘); 27.88 (C2‘); 20.67 (2x$C2_{Ac}$); 15.06 (CH_3); 15.04 (CH_3) (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.07 (s); -8.14 (s). (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1)

MS: (FAB, m/z): 478.5 ($M+H^+$)

8.3.8. Darstellung der *cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphate

8.3.8.1. Darstellung von Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)ganciclovir



3

Unter Schutzgasatmosphäre wurde bei Raumtemperatur zu einer Suspension aus 485 mg (1.90 mmol) Ganciclovir **3** in 50 ml Pyridin 603 mg (4.00 mmol) *t*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) zugegeben und 72 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum eingeengt, mit Dichlormethan verdünnt, mit Wasser gewaschen und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert.

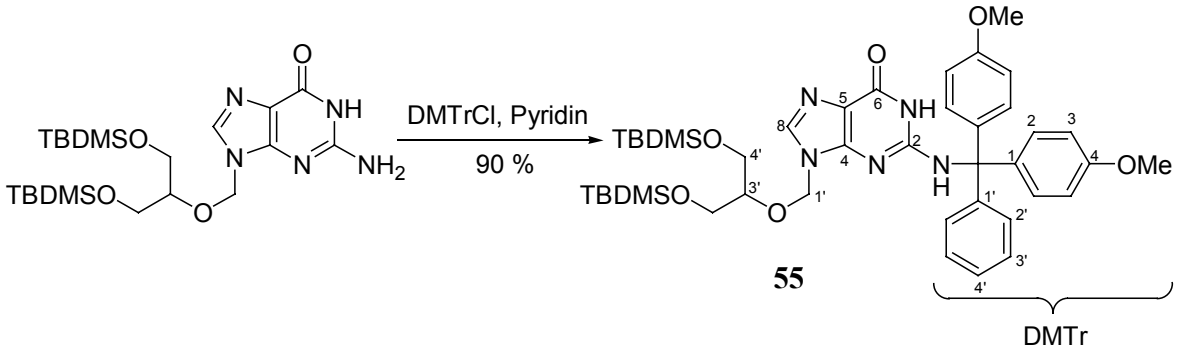
Ausbeute: 870 mg (1.80 mmol, 95 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.29

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.69 (s, 1H, H8); 6.29 (br. s, 2H, NH_2); 5.57 (s, 2H, H1‘); 3.78-3.55 (m, 5H, H3‘, H4‘); 0.87 (s, 18H, $H3_{TBDMS}$); 0.03 (s, 12H, $H1_{TBDMS}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, $CDCl_3$): 159.13 (C6); 153.90 (C2), 152.00 (C4); 137.74 (C8); 116.97 (C5); 80.06 (C3‘); 72.28 (C1‘); 63.09 (C4‘); 25.86 ($C3_{TBDMS}$); 18.26 ($C2_{TBDMS}$); -5.4 ($C1_{TBDMS}$).

8.3.8.2. Darstellung von Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)-ganciclovir



55

Unter Schutzgasatmosphäre wurde bei Raumtemperatur zu einer Lösung aus 870 mg (1.80 mmol) Bis-*O,O*‘-(*t*-butyldimethylsilyl)ganciclovir in 30 ml Pyridin, 712 mg (2.10 mmol) Dimethoxytritylchlorid (DMTrCl) und 26.0 mg (0.20 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zugegeben und bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bis zur Trockene eingeengt. Der erhaltene Feststoff wurde am Chromatotron gereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

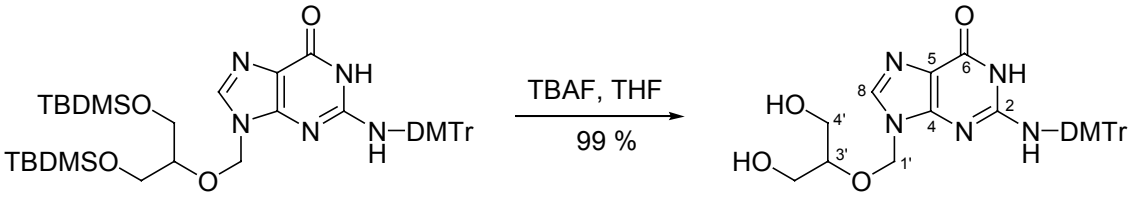
Ausbeute: 1.30 g (1.71 mmol, 90 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.41 (s, 1H, H8); 7.29-7.16 (m, 9H, DMTr-H); 6.97 (br.s, 1H, NH); 6.79-6.75 (m, 4H, DMTr-H); 5.17 (s, 2H, H1‘); 3.74 (s, 6H, OMe); 3.49-3.38 (m, 5H, H3‘, H4‘); 0.86 (s, 18H, $H3_{TBDMS}$); 0.00 (s, 12H, $H1_{TBDMS}$).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, $CDCl_3$): 158.47 (C6, $C4_{DMTr}$); 151.57 (C2), 150.79 (C4); 137.63 (C8, $C1_{DMTr}$); 129.93 ($C2_{DMTr}$); 128.79 ($C4‘_{DMTr}$); 128.46 ($C3‘_{DMTr}$); 128.10 ($C2‘_{DMTr}$); 113.44 (C5); 113.41 ($C3_{DMTr}$); 79.85 (C3‘); 71.80 (C1‘); 70.16 ($C_{q\text{-}DMTr}$); 62.77 (C4‘); 55.14 (OMe); 25.87 ($C3_{TBDMS}$); 18.27 ($C2_{TBDMS}$); -5.4 ($C1_{TBDMS}$).

8.3.8.3. Darstellung von *N*-(Dimethoxytrityl)ganciclovir



55 **56**

Zu 1.30 g (1.71 mmol) Bis-*O,O'*-(*t*-butyldimethylsilyl)-*N*-(dimethoxytrityl)ganciclovir, gelöst in 5 ml THF wurden 5.10 ml (5.10 mmol) einer Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) in THF gegeben und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerühren. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abkondensiert und der erhaltener Feststoff am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

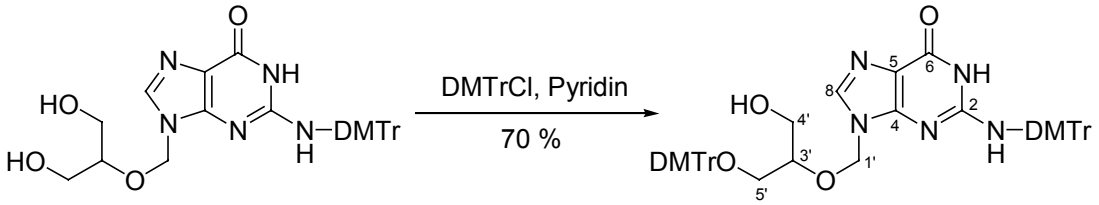
Ausbeute: 990 mg (1.70 mmol, 99 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.17

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.42 (s, 1H, H8); 7.31-7.07 (m, 9H, DMTr-H); 6.71-6.67 (m, 4H, DMTr-H); 5.05 (s, 2H, H1'); 3.67 (s, 6H, OMe); 3.45-3.27 (m, 5H, H3', H4').

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 158.15 (C6, $C4_{DMTr}$); 151.96 (C2); 150.89 (C4); 137.51 (C8); 136.90 ($C1_{DMTr}$); 129.99 ($C2_{DMTr}$); 128.69 ($C3'_{DMTr}$); 127.76 ($C2'_{DMTr}$); 126.66 ($C4'_{DMTr}$); 116.52 (C5); 113.05 ($C3_{DMTr}$); 79.24 (C3'); 71.41 (C1'); 70.15 ($C_{q\text{-}DMTr}$); 62.39 (C4'); 55.13 (OCH_3).

8.3.8.4. Darstellung von Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir



56 **57**

Unter Schutzgasatmosphäre wurden zu 892 mg (1.6 mmol) *N*-(Dimethoxytrityl)ganciclovir gelöst in 20 ml Pyridin, 645 mg (1.92 mmol) Dimethoxytritylchlorid (DMTrCl) gelöst in 5 ml Pyridin und 20.0 mg (0.19 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) gegeben und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde am Chromatotron gereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

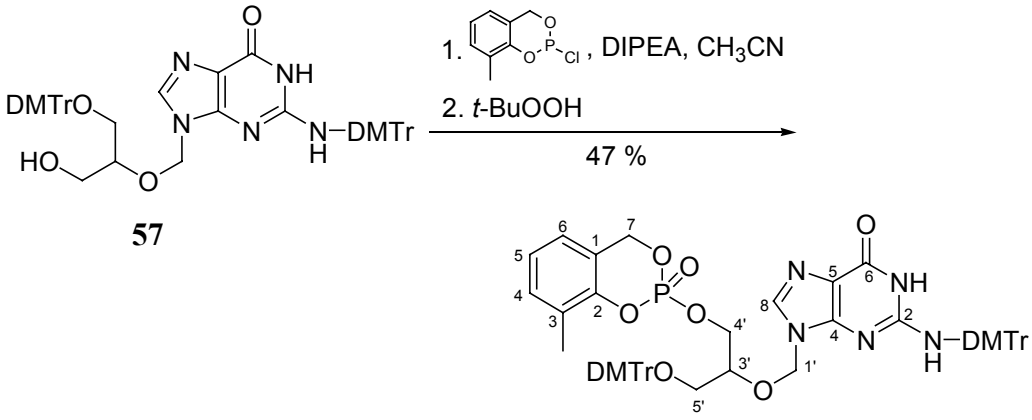
Ausbeute: 1.03 g (1.20 mmol, 70 %) eines gelblichen Schaums

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.39

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.40 (s, 1H, NH); 7.40-7.00 (m, 19H, 2xDMTr-H, H8); 6.83-6.81 (m, 4H, $H3_{DMTr}$); 6.65-6.63 (m, 4H, $H3_{DMTr}$); 5.10 (s, 2H, H1‘); 3.76 (s, 6H, OCH_3); 3.62 (s, 6H, OCH_3); 3.52-3.42 (m, 1H, H3‘); 3.40-3.3 (m, 2H, H5‘); 2.91-2.87 (m, 2H, H4‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 158.61 (C6); 158.46 ($C4_{DMTr}$); 158.18 ($C4_{DMTr}$); 151.83 (C2); 150.53 (C4); 144.66 ($C1‘_{DMTr}$); 144.53 ($C1‘_{DMTr}$); 136.57 (C8); 135.84 ($C1_{DMTr}$); 135.80 ($C1_{DMTr}$); 129.97 ($C2‘_{DMTr}$); 129.11 ($C2‘_{DMTr}$); 128.53 ($C3‘_{DMTr}$); 128.07 ($C2‘_{DMTr}$); 127.82 ($C2‘_{DMTr}$); 127.74 ($C4‘_{DMTr}$); 126.79 ($C4‘_{DMTr}$); 113.12 (C5, $C3_{DMTr}$); 86.11 ($C_{q\text{-}DMTr(O)}$); 78.84 (C3‘); 71.71 (C1‘); 70.11 ($C_{q\text{-}DMTr(N)}$); 63.36 (C4‘); 62.80 (C5‘); 55.19 (OCH_3); 55.09 (OCH_3).

8.3.8.5. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir-monophosphat



57 **58**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 300 mg (0.35 mmol) Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir, 5 ml Acetonitril, 90 µl (0.52 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA), 106 mg (0.52 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit und 110 µl (0.52 mmol) einer Lösung aus einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 192 mg (0.16 mmol, 47 %) eines gelblichen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.49

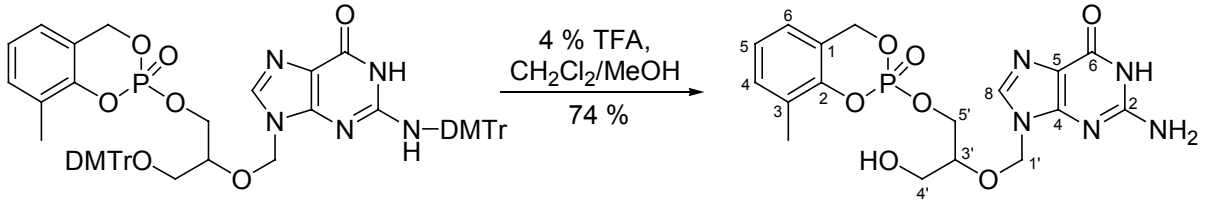
^{1}H-NMR: δ [ppm] (600 MHz, DMSO-d_6): 7.37-6.60 (m, 31H, NH, H8, $H2_{DMTr}$, $H3_{DMTr}$, $H4_{DMTr}$, $H2‘_{DMTr}$, $H3‘_{DMTr}$, $H4_{ar}$, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$); 5.19-4.90 (m, 4H, H1‘, H_{benzyl}); 4.02-3.92 (m, 2H, H5‘); 3.77 (s, 6H, OCH_3 (*O*-DMTr));

3.63 (s, 6H, OCH_3 (*N*-DMTr)); 2.93-2.75 (m, 2H, H4‘); 2.23 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 158.49 (2x$C4_{DMTr}$); 158.31 (2xC6); 144.42 (2x$C1‘_{DMTr}$); 135.56 (2x$C1_{DMTr}$); 131.11 (2x$C4_{ar}$); 129.87 (2x$C2_{DMTr}$); 128.40 (2x$C3‘_{DMTr}$); 127.99 (2x$C2‘_{DMTr}$); 127.89 (2x$C4‘_{DMTr}$); 127.82 (2x$C3_{DMTr}$);126.85 (2x$C3_{ar}$); 123.93 (2x$C5_{ar}$); 123.92 (2x$C6_{ar}$); 120.49 (2x$C1_{ar}$); 113.12 (2x$C3_{DMTr}$); 86.00 (2x$C_{q\text{-}O\text{-}DMTr}$); 70.09 (2x$C_{q\text{-}N\text{-}DMTr}$); 68.78 (2xC4‘); 68.53 (2xC5‘); 67.64 (2xC_{benzyl}); 55.20 (OCH_3); 55.10 (OCH_3); 15.34 (2xCH_3); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -8.63 (s), -8.66 (s); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

8.3.8.6. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Ganciclovirmonophosphat



58 **27**

Zu 300 mg (0.25 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-Bis-(*N,O*-dimethoxytrityl)ganciclovir-monophosphat wurden 5 ml einer 4 %igen Trifluoressigsäurelösung (Dichlormethan/ Methanol 7:3 v/v) gegeben und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde erst am Chromatotron isokratisch (Dichlormethan/Methanol 85:15 v/v) und anschließend semipräparativ an der HPLC gereinigt. Die erhaltene wässrige Lösung wurde lyophilisiert.

Fast-Isomer

Ausbeute: 35.0 mg (0.08 mmol, 32 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:2 v/v): 0.18

log*P* (PC): -0.48 (0.33)

HPLC: t_R = 6.73 min (Reinheit: 98 %; Gradient A)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.61 (s, 1H, NH); 7.72 (s, 1H, H8); 7.24-7.20 (m, 1H, $H5_{ar}$); 7.09-7.02 (m, 2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.45 (s, 2H, NH_2); 5.40 (dd, 1H, $^3J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.7 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.37 (s, 2H, H1‘); 5.28 (dd, 1H, $^3J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.3, Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.5 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.82 (t, 1H, $^3J_{OH,H4‘}$ = 5.4 Hz, OH); 4.17 (ddd, 1H, $^2J_{H5‘,H5‘‘}$ = 6.6 Hz, $^3J_{H5‘,H3‘}$ = 3.2 Hz, $^3J_{H5‘,P}$ = 10.7 Hz,

H5‘); 4.05 (ddd, 1H, $^{2}J_{H5‘‘,H5‘}$ = 6.0 Hz, $^{3}J_{H5‘‘,H3‘}$ = 7.4 Hz, $^{3}J_{H5‘‘,P}$ = 11.0 Hz, H5‘‘); 3.75 (ddd, 1H, $^{3}J_{H4‘,H4‘‘}$ = 11.4 Hz, $^{3}J_{H4‘,H3‘}$ = 3.5 Hz, $^{3}J_{H4‘,OH}$ = 5.4 Hz, H4‘); 3.34 (dd, 1H, $^{3}J_{H4‘‘,H4‘}$ = 11.4 Hz, $^{3}J_{H4‘‘,OH}$ = 5.4 Hz, H4‘‘); 3.28 (dd, 1H, $^{3}J_{H3‘,H4‘‘}$ = 5.4 Hz, $^{3}J_{H3‘,H5‘}$ = 11.4 Hz, H3‘); 2.19 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 156.92 (C6); 154.04 (C2); 151.44 (C4); 148.05 ($C2_{ar}$); 137.66 (C8); 131.01 ($C4_{ar}$); 127.05 ($C3_{ar}$); 124.05 ($C5_{ar}$); 123.64 ($C6_{ar}$); 116.61 (C5); 77.35 (C3‘); 71.24 (C1‘); 68.43 (C_{benzyl}); 67.20 (C5‘); 59.66 (C4‘); 15.07 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.89 (s).

MS: (FAB, m/z): 438.4 ($M+H^+$)

Slow-Isomer

Ausbeute: 46.0 mg (0.11 mmol, 42%) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:2 v/v): 0.18

log*P* (PC): -0.37 (0.42)

HPLC: t_R = 6.99 min (Reinheit: 98 %; Gradient A)

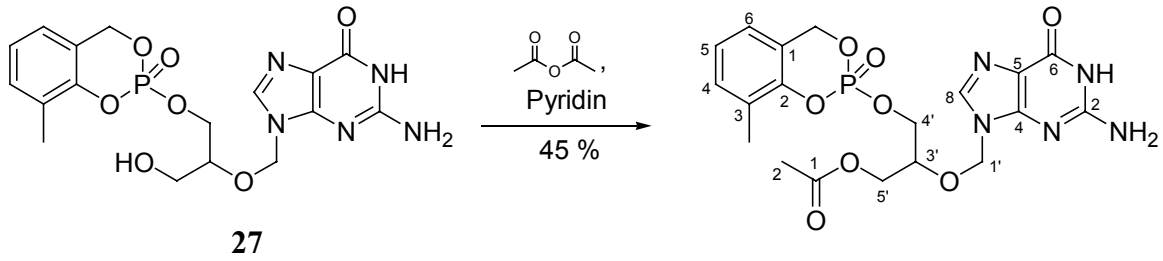
^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.59 (s, 1H, NH); 7.72 (s, 1H, H8); 7.24-7.20 (m, 1H, $H5_{ar}$); 7.09-7.02 (m, 2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.45 (s, 2H, NH_2); 5.40 (dd, 1H, $^{2}J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^{3}J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.9 Hz, $H_{(a)benzyl}$); 5.36 (s, 2H, H1‘); 5.29 (dd, 1H, $^{2}J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.4, Hz, $^{3}J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.3 Hz, $H_{(b)benzyl}$); 4.82 (t, 1H, $^{3}J_{OH,H4‘}$ = 5.4 Hz, OH); 4.17 (ddd, 1H, $^{3}J_{H5‘,H5‘‘}$ = 6.7 Hz, $^{3}J_{H5‘,H3‘}$ = 3.3 Hz, $^{3}J_{H5‘,P}$ = 10.7 Hz, H5‘); 4.01 (ddd, 1H, $^{3}J_{H5‘‘,H5‘}$ = 5.7 Hz, $^{3}J_{H5‘‘,H3‘}$ = 7.6 Hz, $^{3}J_{H5‘‘,P}$ = 11.0 Hz, H5‘‘); 3.78 (ddd, 1H, $^{3}J_{H4‘,H4‘‘}$ = 11.1 Hz, $^{3}J_{H4‘,H3‘}$ = 3.5 Hz, $^{3}J_{H4‘,OH}$ = 5.4 Hz, H4‘); 3.34 (dd, 1H, $^{3}J_{H4‘‘,H4‘}$ = 11.4 Hz, $^{3}J_{H4‘‘,OH}$ = 5.4 Hz, H4‘‘); 3.28 (dd, 1H, $^{3}J_{H3‘,H4‘‘}$ = 5.4 Hz, $^{3}J_{H3‘,H5‘}$ = 11.4 Hz, H3‘); 2.19 (s, 3H, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 156.93 (C6); 154.04 (C2); 151.45 (C4); 148.10 ($C2_{ar}$); 137.64 (C8); 131.01 ($C4_{ar}$); 127.05 ($C3_{ar}$); 124.05 ($C5_{ar}$); 123.67 ($C6_{ar}$); 116.62 (C5); 77.35 (C3‘); 71.26 (C1‘); 68.46 (C_{benzyl}); 67.12 (C5‘); 59.68 (C4‘); 15.09 (CH_3).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.90 (s).

MS: (FAB, m/z): 438.4 ($M+H^+$)

8.3.8.7. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-*O*-acetyl-ganciclovirmonophosphat



27

Zu 30.0 mg (0.07 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-ganciclovirmonophosphat wurden 21.4 mg (20.0 µl, 0.21 mmol) Essigsäureanhydrid und 5 ml Pyridin gegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerühren. Nach Abkondensieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradient von 0 - 30 %) gereinigt.

Ausbeute: 15.0 mg (0.03 mmol, 45 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:2 v/v): 0.36

HPLC: t_R = 8.32 min (Reinheit: 98 %; Gradient A)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 7.73 (s, 2x1H, H8); 7.27-7.21 (m, 2x1H, $H5_{ar}$); 7.10-7.05 (m, 2x2H, $H4_{ar}$, $H6_{ar}$); 6.49 (s, 2x2H, NH_2); 5.48-5.12 (m, 2x3H, H_{benzyl}, H1‘); 4.20-3.85 (m, 2x6H, H4‘, H5‘, H3‘); 2.19 (s, 3x3H, CH_3); 1.83 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); 1.81 (s, 3H, $CH_{3\ Ac}$); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

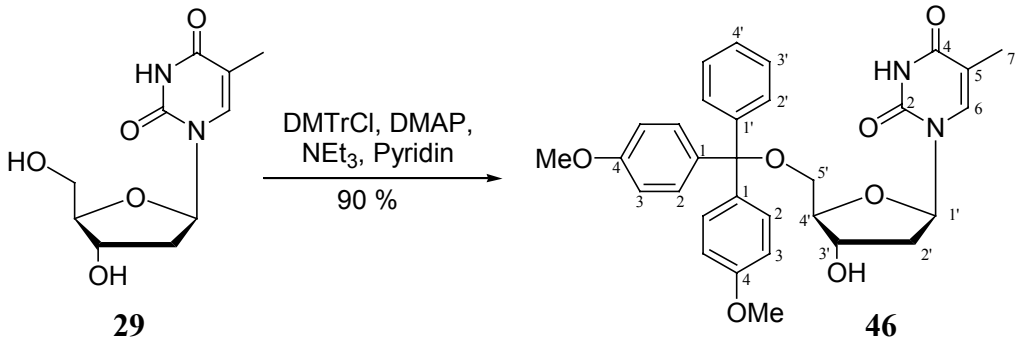
^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 161.24 (2x$C1_{Ac}$); 157.05 (2xC6); 154.15 (2xC2); 151.54 (2xC4); 148.02 (2x$C2_{ar}$); 137.72 (2xC8); 131.12 (2x$C4_{ar}$); 127.15 (2x$C3_{ar}$); 124.21 (2x$C5_{ar}$); 123.75 (2x$C6_{ar}$); 121.02 (2x$C1_{ar}$); 116.69 (2xC5); 74.50 (2xC3‘); 71.32 (C1‘); 68.63 (C_{benzyl}); 66.79 (C5‘); 62.27 (C4‘); 20.45 ($CH_{3\ Ac}$); 20.42 ($CH_{3\ Ac}$); 15.12 (CH_3); 15.10 (CH_3); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): -7.41 (s).

MS: (FAB, m/z): 480.5 ($M+2H^+$)

8.3.9. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-desoxythymidinmonophosphat

8.3.9.1. Darstellung von 5‘-*O*-(4,4‘-Dimethoxytriphenylmethyl)-2‘-desoxythymidin



29 **46**

In 240 ml trockenem Pyridin wurden 12.0 g (49.1 mmol) 2‘-Desoxythymidin und 144.0 mg (1.20 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) vorgelegt, mit 25.0 g (73.7 mmol) 4,4‘-Dimethoxytritylchlorid versetzt und tropfenweise 10.3 ml (73.7 mmol) Triethylamin zugegebe. Es wurde bei Raumtemperatur gerührt und der Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach ca. 6 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von 200 ml Methanol abgebrochen und das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert. Der Rückstand wurde in 300 ml Dichlormethan (+ 0.1 % Triethylamin) aufgenommen und zweimal mit je 120 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde bis zur Trockne eingeengt. Das Rohprodukt wurde in Benzol (+ wenig Ethylacetat) umkristallisiert.

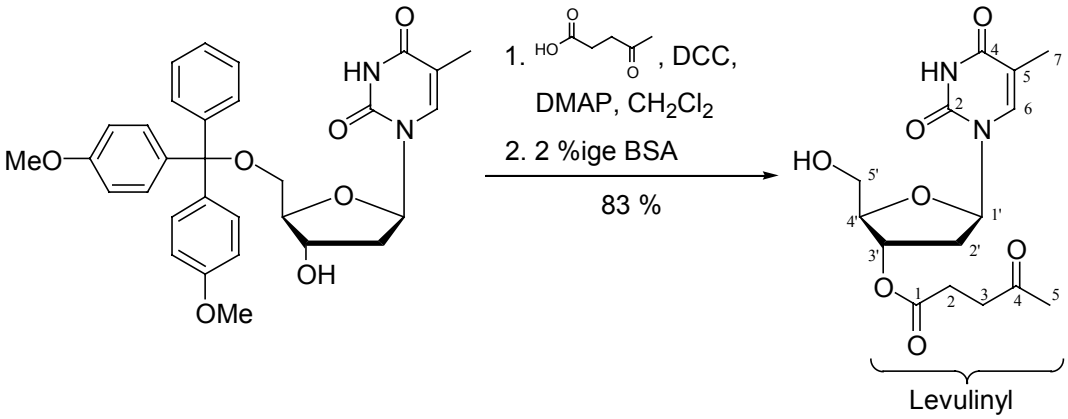
Ausbeute: 24.1 g (44.3 mmol, 90 %) eines blaß gelben Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.58

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 9.24 (s, 1H, NH); 7.60 (d, 1H, $^3J_{H6,H7}$ = 0.91 Hz, H6); 7.43-7.41 (m, 1H, H3‘$_{DMTr}$); 7.40-7.39 (m, 1H, H3‘$_{DMTr}$); 7.32-7.23 (m, 7H, H2$_{DMTr}$, H2‘$_{DMTr}$, H4‘$_{DMTr}$); 6.86-6.82 (m, 4H, H3$_{DMTr}$); 6.47-6.41 (dd, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, H1‘); 4.58-4.57 (m, 1H, H3‘); 4.08-4.07 (m, 1H, H4‘); 3.79 (s, 6H, 2x $OCH_{3\ DMTr}$); 3.50-3.34 (m, 2H, H5‘); 2.49-2.26 (m, 2H, H2‘); 1.46 (s, 3H, C7).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 163.82 (C4); 158.67 (C4$_{DMTr}$); 150.51 (C2); 144.28 (C1‘$_{DMTr}$); 135.66 (C6); 135.36 (C1$_{DMTr}$); 135.30 (C1$_{DMTr}$); 130.04 (C2$_{DMTr}$); 128.08 (C3‘$_{DMTr}$); 127.97 (C2‘$_{DMTr}$);127.11 (C4‘$_{DMTr}$); 113.24 (C3$_{DMTr}$); 111.27 (C5); 86.90 (C4‘); 86.21 (C$_{q\text{-}DMTr}$); 84.72 (C1‘); 72.48 (C3‘); 63.56 (C5‘); 55.23 ($OCH_{3\ DMTr}$); 40.93 (C2‘); 11.79 (C7).

8.3.9.2 Darstellung von 3‘-*O*-Levulinyl-2‘-desoxythymidin



46 **47**

Zu einer Lösung aus 4.10 g (7.50 mmol) 5‘-*O*-(4,4‘-Dimethoxytriphenylmethyl)-2‘-desoxythymidin in 20 ml Dichlormethan wurden 1.09 g (9.38 mmol) Levulinsäure, 1.93 g (9.38 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.15 g (9.38 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) gegeben. Nach mehrstündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde der Niederschlag abfiltriert und verworfen. Das Filtrat wurde eingengt und chromatographisch gereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient). Produkt enthaltende Fraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mit einer 2 %igen Benzolsulfonsäure-Lösung in einem Dichlormethan/Methanol-Gemisch (7:3 v/v) versetzt und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit kaltgesättigter ammoniakalischen Methanollösung neutralisiert und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mittels Flash-Chromatographie auf Kieselgel (Dichlormethan mit Methanol-Gradient) gereinigt.

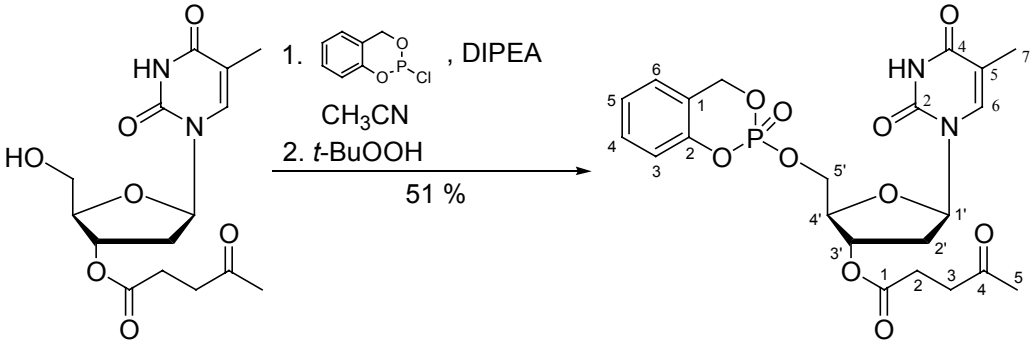
Ausbeute: 2.13 g (6.26 mmol, 83 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.50

^{1}H-NMR: δ [ppm] (250 MHz, $CDCl_3$): 9.44 (s, 1H, NH); 7.55 (d, 1H, $^3J_{H6,H7}$ = 1.22 Hz, H6); 6.24 (t; 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.4 Hz, H1‘); 5.37-5.33 (m, 1H, H3‘); 4.10-4.07 (m, 1H, H4‘); 3.89-3.88 (m, 2H, H5‘); 3.17-3.14 (m, 1H, OH); 2.78 (t, 2H, $H2_{Lev}$); 2.58 (t, 2H, $H3_{Lev}$); 2.42-2.36 (m, 2H, H2‘); 2.20 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 1.89 (d, 3H, $^3J_{H7,H6}$ = 1.22 Hz, H7).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (63 MHz, $CDCl_3$): 206.69 ($C4_{Lev}$); 172.51 ($C1_{Lev}$); 163.93 (C4); 150.54 (C2); 136.45 (C6); 111.24 (C5); 85.93 (C1‘); 85.02 (C4‘); 74.92 (C3‘); 62.41 (C5‘); 37.74 ($C2_{Lev}$); 37.06 (C2‘); 29.74 ($C5_{Lev}$); 27.87 ($C3_{Lev}$); 12.48 (C7).

8.3.9.3. Darstellung *cyclo*Sal-3'-*O*-levulinyl-2‘-desoxythymidinmonophosphat



47 **48**

Die Reaktion wurde nach AAV 6.3.1.5. durchgeführt. Es wurden 105 mg (0.30 mmol) 3'-Levulinyldesoxythymidin, 5 ml Acetonitril, 103 µl (0.60 mmol) Di*iso*propylethylamin, 113 mg (0.60 mmol) 5-H-*cyclo*salchlorphosphit und 109 µl (0.60 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan verwendet.

Ausbeute: 77.8 mg (0.15 mmol, 51 %) eines farblosen Schaums.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.55

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.36 (s, 1H, NH); 7.47 (d, 1H, $^4J_{H6,H7}$ = 15.8, H6); 7.36 (dd, 1H, $^3J_{H4(ar),H5(ar)}$ = 7.1 Hz, $^4J_{H4(ar),H3(ar)}$ = 7.1 Hz, $H4_{ar}$); 7.27-7.26 (m, 1H, $H6_{ar}$); 7.19 (t, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $^3J_{H5(ar),H6(ar)}$ = 7.7 Hz, $H5_{ar}$); 7.11 (dd, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 7.6 Hz, $^4J_{H3(ar),H5(ar)}$ = 3.0 Hz, $H3_{ar}$); 6.15-6.13 (m, 1H, H1‘); 5.48 (m, 2H, H_{benzyl}); 5.15 (ddd, 1H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘‘}$ = 3.6 Hz, H3‘); 4.36-4.34 (m, 2H, H5‘); 4.12 (br. s, 1H, H4‘); 2.72 (dt, 2H, $^3J_{H2(Lev),H3(Lev)}$ = 6.1 Hz, $^2J_{H2(Lev),H3‘}$ = 2.1 Hz, $H2_{Lev}$); 2.48 (m, 2H, $H3_{Lev}$); 2.28 (m, 2H, H2‘); 2.10 (s, 3H, $H5_{Lev}$); 1.73 (d, 3H, $^3J_{H7,H6}$ = 16.0 Hz, H7); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 207.1 ($C4_{Lev}$); 172.24 ($C1_{Lev}$); 163.84 (C4); 150.59 (C2); 149.68; 149.61 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.0 Hz, $C2_{ar}$); 135.93 (C6); 130.04 ($C4_{ar}$); 126.34 ($C6_{ar}$); 124.71 ($C5_{ar}$); 121.20 ($C1_{ar}$); 118.42; 118.32 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 10.0 Hz, $C3_{ar}$); 110.22 (C5); 84.36 (C1‘); 81.70; 81.62 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 8.0 Hz, C4‘); 73.72 (C3‘); 68.84; 68.69 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 15.0 Hz, C_{benzyl}); 67.70 (C5‘); 37.62 ($C2_{Lev}$); 35.62 (C2‘); 29.69 ($C3_{Lev}$); 28.73 ($C5_{Lev}$); 12.22 (C7); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

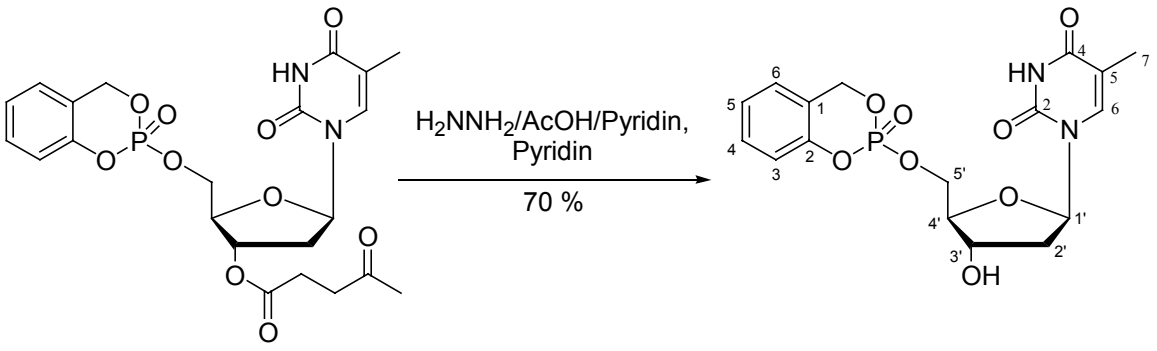
^{31}P-NMR: δ [ppm] (161 MHz, DMSO-d_6): -8.73 (s); -8.78 (s); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

UV: λ_{max} (CH_3CN): 265.0 nm

λ_{min} (CH_3CN): 235.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 509.4 (M+H), 5531.5 ($M+Na^+$)

8.3.8.4. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-2‘-desoxythymidinmonophosphat



48 **49**

Zu einer Lösung aus 50.0 mg (0.10 mmol) *cyclo*Sal-3‘-*O*-levulinyl-2‘-desoxythymidin-monophosphat wurden 14.5 ml einer Hydrazinhydratlösung (3 ml Hydrazinhydrat (24 %); 6.9 ml Pyridin; 4.6 ml Essigsäure) zugegeben. Nach 3 min. wurde auf 0 °C gekühlt und die Reaktionslösung mit je 50 ml Ethylacetat und Wasser verdünnt. Nach der Phasentrennung wurde die organische Phase mit einer 5 %igen Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungmittel unter verminderten Druck abkondensiert. Der Reaktionsrückstand wurde chromatographisch aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 28.0 mg (0.07 mmol, 70 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.41

HPLC: t_R = 17.79 min (97.9 %, Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 11.30 (s, 1H, NH); 7.41 (d, 1H, $^3J_{H6,H7}$ = 15.3 Hz, H6); 7.35 (m, 1H, $H4_{ar}$); 7.27-7.26 (m, 1H, $H6_{ar}$); 7.19 (t, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)}$ = 7.7 Hz, $H5_{ar}$); 7.12 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.1 Hz, $H3_{ar}$); 6.16 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 5.48-5-46 (m, 2H, H_{benzyl}); 4.28-4.27 (m, 3H, H3‘, H5‘); 3.89-3.88 (m, 1H, H4‘); 2.10-2.08 (m, 2H, H2‘); 1.73 (d, 3H, $^3J_{H7,H6}$ = 15.3 Hz, H7); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 163.86 (2x C4); 150.57 (2x C2); 149.65 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.0 Hz, $C2_{ar}$); 149.62 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 7.0 Hz, $C2_{ar}$); 136.03 (C6); 135.91 (C6); 130.00 (2x $C4_{ar}$); 126.32 (2x $C6_{ar}$); 124.67 (2x $C5_{ar}$); 121.21 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 11.1 Hz, 2x $C1_{ar}$); 118.40 ($C3_{ar}$); 118.31 ($C3_{ar}$); 110.00 (2x C5); 84.35 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 6.0 Hz, C4‘); 84.28 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 7.0 Hz,

C4‘); 84.18 (C1‘); 84.09 (C1‘); 70.08 (2x C3‘); 68.67 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.0 Hz, C_{benzyl}); 68.57 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.0 Hz, C_{benzyl}); 67.92 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 4.0 Hz, C5‘); 67.88 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 4.0 Hz, C5‘); 38.78 (C2‘); 38.60 (C2‘); 12.24 (2x C7); (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161 MHz, DMSO-d_6): -8.39 (s).

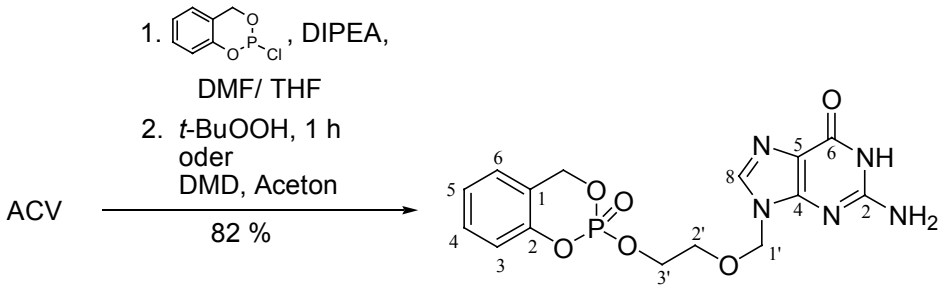
UV: λ_{max} (CH_3CN): 264.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 233.6 nm

MS: (FAB, m/z): 411.2 ($M+H^+$)

8.3.10. Darstellung der *cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphate

8.3.10.1. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphat



300 mg (1.30 mmol) Acyclovir wurde zweimal mit Pyridin codestilliert, anschließend in 45 ml DMF/THF (2:1 v/v) aufgenommen und auf -20 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 570 µl (3.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) wurden 800 mg (3.90 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-chlorphosphit langsam zugetropft. Nach ca. 10 min wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, bis kein Edukt mehr nachgewiesen werden konnte.

Oxidation nach Methode A:

Es wurden 600 µl (3.90 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan bei Raumtemperatur zugetropft. Man ließ zur Vervollständigung der Reaktion eine Stunde bei Raumtemperatur nachrühren (DC-Kontrolle). Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand am Chromatotron gereingt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. Essigsäureethylester mit Methanol-Gradient, 3. Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Oxidation nach Methode B:

Es wurden 20 ml (3.90 mmol) einer Dimethyldioxiranlösung in Aceton bei Raumtemperatur zugetropft. Man ließ zur Vervollständigung der Reaktion ca. eine Stunde bei Raumtemperatur nachrühren (DC-Kontrolle). Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand am Chromatotron gereingt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. Essigsäureethylester mit Methanol-Gradient, 3. Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 412 mg (1.05 mmol, 82 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.54

log*P* (PC): -0.4 (0.40)

HPLC: t_R = 16.31 min (Reinheit: >99 %; Gradient B)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.6 (s, 1H, NH), 7.8 (s, 1H, H8), 7.4 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)+H5(ar)}$ = 7.8 Hz, $H4_{ar}$), 7.23 (dd, 1H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.9 Hz, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 1.6 Hz, $H6_{ar}$), 7.18 (dt, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)+H6(ar)}$ = 7.4 Hz, $^4J_{H5(ar),H3(ar)}$ = 1.2 Hz, $H5_{ar}$), 7.13 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.2 Hz, $H3_{ar}$), 6.52 (s, 2H, NH_2), 5.43 (dd, 1H, $^2J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 18.4 Hz, $H_{(a)benzyl}$), 5.35 (dd, 1H, $^2J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 8.4 Hz, $H_{(b)benzyl}$), 5.32 (s, 2H, H1‘), 4.2 (m, 2H, H5‘), 3.7 (dt, 2H, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 3.9 Hz, $^4J_{H4‘,P}$ = 1.2 Hz, H4‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 156.98 (C6), 154.10 (C2), 151.58 (C4), 149.62 ($C2_{ar}$), 137.83 (C8), 129.92 ($C5_{ar}$), 126.20 ($C4_{ar}$), 124.53 ($C6_{ar}$), 121.12 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 10.7 Hz, $C1_{ar}$), 118.43 ($C3_{ar}$), 116.69 (C5), 71.96 (C1‘), 68.51 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.6 Hz, C_{benzyl}), 67.50 (C5‘), 67.09 (C4‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.64 (s).

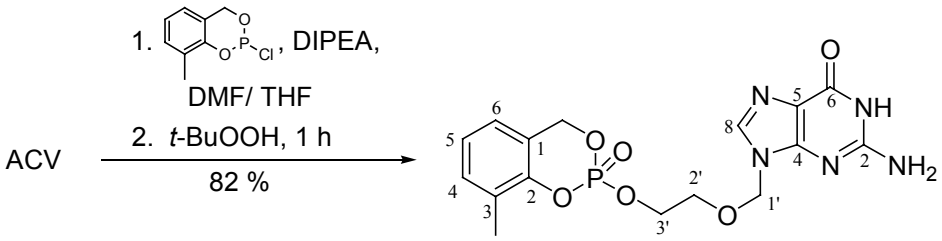
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3448.2, 1686.1, 1654.2, 1629.6, 1560.3, 1541.9, 1508.3, 1498.8, 1458.6, 1376.1, 1290.6, 1191.4, 1106.6, 1044.9, 1022.0, 950.3, 850.3, 758.6

UV: λ_{max} (CH_3CN): 192.0, 254.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 225.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 394.1 ($M+H^+$)

8.3.10.2. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-Acyclovirmonophosphat



1 **28b**

300 mg (1.30 mmol) Acyclovir wurde zweimal mit Pyridin codestilliert, anschließend in 45 ml DMF/THF (2:1 v/v) aufgenommen und auf -20 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 600 µl (3.90 mmol) Di*iso*propylethylamin (DIPEA) wurden 790 mg (3.90 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-chlorphosphit langsam zugetropft. Nach ca. 10 min wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, bis kein Edukt mehr nachgewiesen werden konnte.

Es wurden 600 µl (3.90 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan bei Raumtemperatur zugetropft. Man ließ zur Vervollständigung der Reaktion eine Stunde bei Raumtemperatur nachrühren (DC-Kontrolle). Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand am Chromatotron gereingt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. Essigsäureethylester mit Methanol-Gradient, 3. Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 412 mg (1.05 mmol, 82 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.54

log*P* (PC): -0.4 (0.40)

HPLC: t_R = 16.31 min (Reinheit: >99 %; Gradient B)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.61 (s, 1H, NH), 7.76 (s, 1H, H8), 7.22-7.20 (m, 1H, $H4_{ar}$), 7.09-7.03 (m, 2H, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$), 6.48 (s, 2H, NH_2), 5.42 (dd, 1H, $^2J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.7 Hz, $H_{(a)benzyl}$), 5.34 (dd, 1H, $^2J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.7 Hz, $H_{(b)benzyl}$), 5.34 (s, 2H, H1‘), 4.26-4.14 (m, 2H, H5‘), 3.71-3.63 (m, 2H, H4‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 156.7 (C6), 153.9 (C2), 151.3 (C4), 149.5 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$), 137.5 (C8), 129.7 ($C5_{ar}$), 125.9 ($C4_{ar}$), 124.3 ($C6_{ar}$), 120.9 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 10.7 Hz, $C1_{ar}$), 118.1 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ = 7.6 Hz, $C3_{ar}$), 116.5 (C5), 71.8 (C1‘), 68.3 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.6 Hz, C_{benzyl}), 67.3 (d, $^2J_{C5‘,P}$ = 6.1 Hz, C5‘), 66.9 (d, $^3J_{C4‘,P}$ = 5.4 Hz, C4‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -7.97 (s).

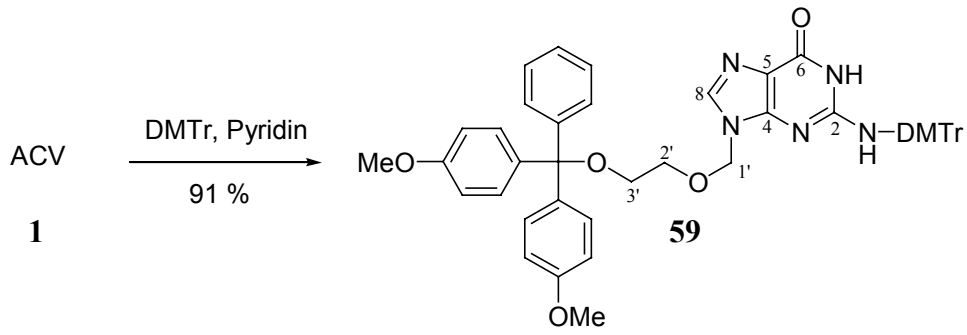
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3448.2, 1686.1, 1654.2, 1629.6, 1560.3, 1541.9, 1508.3, 1498.8, 1458.6, 1376.1, 1290.6, 1191.4, 1106.6, 1044.9, 1022.0, 950.3, 850.3, 758.6

UV: λ_{max} (CH_3CN): 192.0, 254.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 225.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 394.1 ($M+H^+$)

8.3.10.3. Darstellung von Bis-*O*,*N*-dimethoxytritylacyclovir



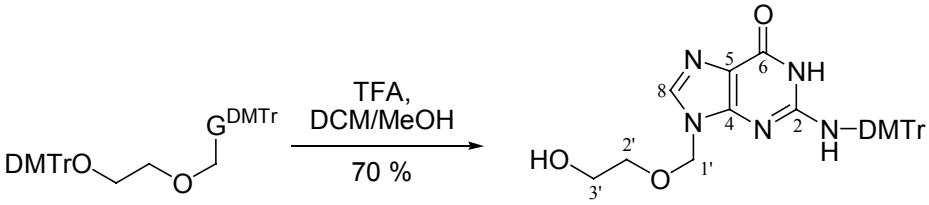
In 30 ml Pyridin wurden 380 mg (1.82 mmol) Acyclovir **1** vorgelegt und mit 1.53 g (4.54 mmol) 4,4‘-Dimethoxytritylchlorid versetzt. Es wurde bei Raumtemperatur gerührt und der Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach ca. 14 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von 10 ml Methanol abgebrochen und das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert. Der Rückstand wurde in 50 ml Dichlormethan (+ 1 % Triethylamin) aufgenommen und zweimal mit je 500 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde bis zur Trockne eingeengt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 1.30 (1.65 mmol, 91 %) eines blaß gelben Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.53

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO): 10.64 (s, 1H, NH); 7.69 (s, 1H, NH); 7.61 (s, 1H, H8); 7.36-7.13 (m, 18H, DMTr-H); 6.88-6.80 (m, 8H, DMTr-H); 4.85 (s, 2H, H1‘); 3.73 (s, 12H, OMe); 3.27-3.14 (m, 2H, H3‘); 2.95-2.87 (m, 2H, H2‘).

8.3.10.4. Darstellung von *N*-Dimethoxytritylacyclovir



59 **60**

1.30 g (1.65 mmol) Bis-*O*,*N*-dimethoxytritylacyclovir wurden in einer 6 %igen Trifluoressigsäurelösung in Dichlormethan/Methanol (7:3 v/v) aufgenommen und bei Raumtemperatur 5 Minuten gerührt. Anschließend wurde mit einer ammoniakalischen Methanollösung neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert. Der Rückstand wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

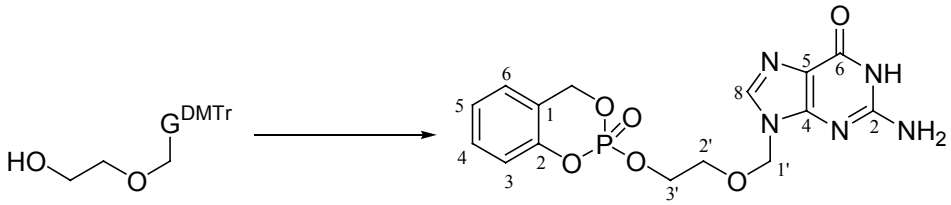
Ausbeute: 580 mg (1.13 mmol, 70 %) eines blaß gelben Feststoffs.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.29

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO): 10.62 (s, 1H, NH); 7.69 (s, 1H, H8); 7.62 (s, 1H, NH); 7.31-7.18 (m, 9H, DMTr-H); 6.89-6.86 (m, 4H, DMTr-H); 4.88 (s, 2H, H1‘); 4.49 (t, 1H, $^3J_{OH,H3'}$ = 5.5 Hz, OH); 3.73 (s, 6H, OMe); 3.24-3.18 (m, 2H, H3‘); 2.95 (t, 2H, $^3J_{H2',H3'}$ = 4.5 Hz, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO): 160.33 (C6); 158.02 ($C4_{DMTr}$); 151.42 (C2); 150.47 (C4); 138.19 (C8); 137.32 ($C1_{DMTr}$); 130.11 ($C2_{DMTr}$); 128.69 ($C3'_{DMTr}$); 127.93 ($C2'_{DMTr}$); 126.77 ($C4'_{DMTr}$); 116.84 (C5); 113.24 ($C3_{DMTr}$); 71.85 (C2‘); 71.45 (C1‘); 69.59 ($C_{q\text{-}DMTr}$); 60.19 (C3‘); 55.25 (OCH_3).

8.3.10.5. Darstellung von 5-H-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat



60 **28a**

100 mg (0.20 mmol) *N*-Dimethoxytritylacyclovir wurde zweimal mit Toluol codestilliert, in 6 ml Acetonitril aufgenommen und mit 92.0 mg (0.80 mmol) Pyridiniumhydrochlorid versetzt. Bei 0 °C wurden 139 mg (0.52 mmol) 5-H-*cyclo*Sal-*N*,*N*-di*iso*propylphosphoramidit, gelöst in Acetonitril, zugegeben. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, bis kein Edukt mehr nachgewiesen werden konnte. Es wurden 114 µl (0.57 mmol)

einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan bei 0 °C zugetropft. Man ließ zur Vervollständigung der Reaktion eine halbe Stunde bei Raumtemperatur nachrühren (DC-Kontrolle). Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand am Chromatotron gereingt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. Essigsäure-ethylester mit Methanol-Gradient, 3. Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

69.6 mg (0.1 mmol) 5-*H*-*cyclo*Sal-*N*-dimethoxytritylacyclovirmonophosphat wurden in 10 ml einer 6 %igen Trifluoressigsäurelösung in Dichlormethan/Methanol (7:3 v/v) aufgenommen und bei Raumtemperatur 2.5 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 29.1 mg (0.07 mmol, 37 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:2 v/v): 0.30

PC (log PC): 0.40 (-0.4)

HPLC: t_R = 16.31 min (Reinheit: >99 %; Gradient B)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.6 (s, 1H, NH), 7.8 (s, 1H, H8), 7.4 (t, 1H, $^3J_{H4(ar),H3(ar)+H5(ar)}$ = 7.8 Hz, $H4_{ar}$), 7.23 (dd, 1H, $^3J_{H6(ar),H5(ar)}$ = 7.9 Hz, $^4J_{H6(ar),H4(ar)}$ = 1.6 Hz, $H6_{ar}$), 7.18 (dt, 1H, $^3J_{H5(ar),H4(ar)+H6(ar)}$ = 7.4 Hz, $^4J_{H5(ar),H3(ar)}$ = 1.2 Hz, $H5_{ar}$), 7.13 (d, 1H, $^3J_{H3(ar),H4(ar)}$ = 8.2 Hz, $H3_{ar}$), 6.52 (s, 2H, NH_2), 5.43 (dd, 1H, $^2J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 18.4 Hz, $H_{(a)benzyl}$), 5.35 (dd, 1H, $^2J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 8.4 Hz, $H_{(b)benzyl}$), 5.32 (s, 2H, H1‘), 4.2 (m, 2H, H5‘), 3.7 (dt, 2H, $^3J_{H4',H3'}$ = 3.9 Hz, $^4J_{H4',P}$ = 1.2 Hz, H4‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 156.98 (C6), 154.10 (C2), 151.58 (C4), 149.62 ($C2_{ar}$), 137.83 (C8), 129.92 ($C5_{ar}$), 126.20 ($C4_{ar}$), 124.53 ($C6_{ar}$), 121.12 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 10.7 Hz, $C1_{ar}$), 118.43 ($C3_{ar}$), 116.69 (C5), 71.96 (C1‘), 68.51 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.6 Hz, C_{benzyl}), 67.50 (C5‘), 67.09 (C4‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -8.64 (s).

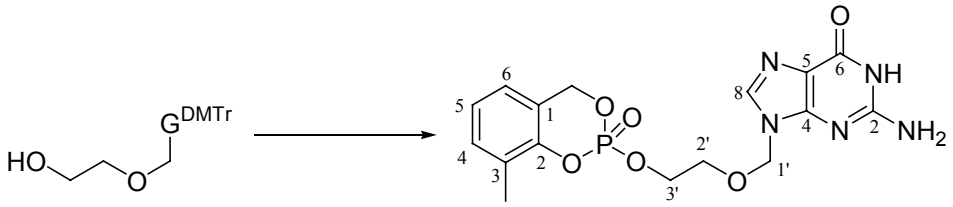
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3448.2, 1686.1, 1654.2, 1629.6, 1560.3, 1541.9, 1508.3, 1498.8, 1458.6, 1376.1, 1290.6, 1191.4, 1106.6, 1044.9, 1022.0, 950.3, 850.3, 758.6

UV: λ_{max} (CH_3CN): 192.0, 254.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 225.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 394.1 ($M+H^+$)

8.3.9.6. Darstellung von 3-Methyl-*cyclo*Sal-acyclovirmonophosphat



60 **28b**

100 mg (0.20 mmol) *N*-Dimethoxytritylacyclovir wurde zweimal mit Toluol codestilliert, in 6 ml Acetonitril aufgenommen und mit 92.0 mg (0.80 mmol) Pyridiniumhydrochlorid versetzt. Bei 0 °C wurden 139 mg (0.52 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-*N*,*N*-diisopropyl-phosphoramidit, gelöst in Acetonitril, zugegeben. Der Reaktionsverlauf wurde dünn-schichtchromatographisch verfolgt, bis kein Edukt mehr nachgewiesen werden konnte. Es wurden 114 µl (0.57 mmol) einer *tert*-Butylhydroperoxidlösung in *n*-Decan bei 0 °C zugetropft. Man ließ zur Vervollständigung der Reaktion eine halbe Stunde bei Raumtemperatur nachrühren (DC-Kontrolle). Nach Abkondensieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand am Chromatotron gereingt (1. Dichlormethan (+ 0.1 % Essigsäure) mit Methanol-Gradient, 2. Essigsäureethylester mit Methanol-Gradient, 3. Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

71.0 mg (0.10 mmol) 3-Me-*cyclo*Sal-*N*-dimethoxytritylacyclovirmonophosphat wurden in 10 ml einer 6 %igen Trifluoressigsäurelösung in Dichlormethan/Methanol (7:3 v/v) aufgenommen und bei Raumtemperatur 2.5 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradient).

Ausbeute: 30.1 mg (0.07 mmol, 37 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 8:2 v/v): 0.54

log*P* (PC): -0.4 (0.40)

HPLC: t_R = 16.31 min (>99 %; Gradient B)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 10.61 (s, 1H, NH), 7.76 (s, 1H, H8), 7.22-7.20 (m, 1H, $H4_{ar}$), 7.09-7.03 (m, 2H, $H5_{ar}$, $H6_{ar}$), 6.48 (s, 2H, NH_2), 5.42 (dd, 1H, $^2J_{H(a)benzyl,H(b)benzyl}$ = 14.4 Hz, $^3J_{H(a)benzyl,P}$ = 17.7 Hz, $H_{(a)benzyl}$), 5.34 (dd, 1H, $^2J_{H(b)benzyl,H(a)benzyl}$ = 14.5 Hz, $^3J_{H(b)benzyl,P}$ = 9.7 Hz, $H_{(b)benzyl}$), 5.34 (s, 2H, H1‘), 4.26-4.14 (m, 2H, H5‘), 3.71-3.63 (m, 2H, H4‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 156.7 (C6), 153.9 (C2), 151.3 (C4), 149.5 (d, $^2J_{C2(ar),P}$ = 6.1 Hz, $C2_{ar}$), 137.5 (C8), 129.7 ($C5_{ar}$), 125.9 ($C4_{ar}$), 124.3 ($C6_{ar}$), 120.9 (d, $^3J_{C1(ar),P}$ = 10.7 Hz, $C1_{ar}$), 118.1 (d, $^3J_{C3(ar),P}$ =

7.6 Hz, $C3_{ar}$), 116.5 (C5), 71.8 (C1‘), 68.3 (d, $^2J_{C(benzyl),P}$ = 7.6 Hz, C_{benzyl}), 67.3 (d, $^2J_{C5',P}$ = 6.1 Hz, C5‘), 66.9 (d, $^3J_{C4',P}$ = 5.4 Hz, C4‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d_6): -7.97 (s).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] (KBr): 3448.2, 1686.1, 1654.2, 1629.6, 1560.3, 1541.9, 1508.3, 1498.8, 1458.6, 1376.1, 1290.6, 1191.4, 1106.6, 1044.9, 1022.0, 950.3, 850.3, 758.6

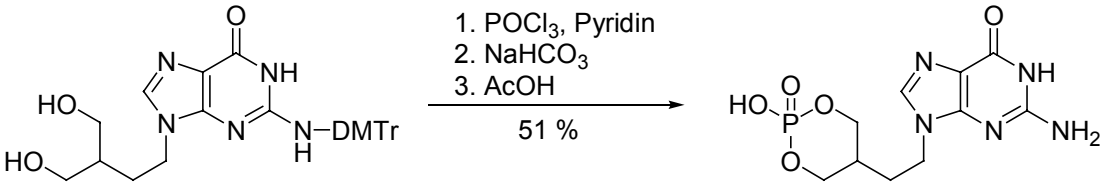
UV: λ_{max} (CH_3CN): 192.0, 254.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 225.0 nm

MS: (ESI^+, m/z): 394.1 ($M+H^+$)

8.3.11. Darstellung der Nucleosidmonophosphate und Nucleosidcyclophosphate

8.3.11.1. Darstellung von Penciclovircyclophosphat[130]



31

Zu einer Lösung aus 18.4 µl (30.7 mg, 0.20 mmol) Phosphorylchlorid in 0.4 ml Pyridin wurde bei 0 °C 100 mg (0.18 mmol) *N*-Dimethoxytrityl-penciclovir, gelöst in 0.8 ml Pyridin zugetropft und 20 min. bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 68.0 mg (0.80 mmol) Natriumhydrogencarbonat, gelöst in 1.2 ml Wasser zugegeben und die Reaktionsmischung nach 5 min. im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in 1.8 ml Eisessig aufgenommen und 25 Minuten bei 70 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abkondensiert, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und mit konz. Ammoniumhydroxidlösung auf pH 6 gebracht. Die Lösung wurde zweimal mit Chloroform extrahiert und im Anschluß das Lösungsmittel im Vakuum abdestillert. Der Reaktionsrückstand wurde säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und lyophilisiert.

Ausbeute: 29.0 mg (0.09 mmol; 51 %) eines farblosen, hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.49

HPLC: t_R = 15.71 min (97.4 %, Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 7.64 (s, 1H, H8); 4.14 (dd, 2H, $^{3}J_{H4',H3'}$ = 11.2 Hz, $^{3}J_{H4',P}$ = 11.2 Hz, H4‘); 3.91 (m, 4H, H1‘, H4‘); 1.75 (m, 3H, H2‘, H3‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 158.94 (C6); 153.91 (C2); 151.63 (C4); 139.90 (C8); 115.93 (C5); 70.64; 70.59 (d, $^{2}J_{C4',P}$ = 5.6 Hz, C4‘); 41.63 (C1‘); 33.22; 33.17 (d, $^{3}J_{C3',P}$ = 4.5 Hz, C3‘); 27.41 (C2‘).

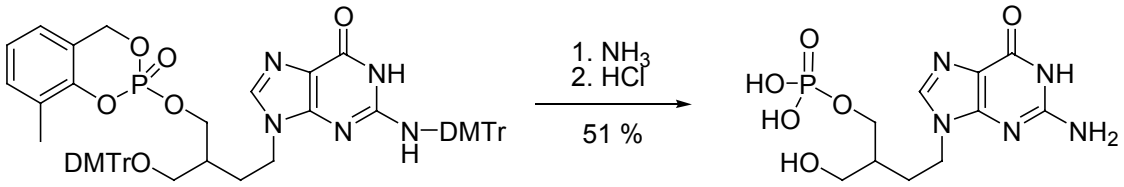
^{31}P-NMR: δ [ppm] (81 MHz, D_2O): -2.08 (s).

UV: λ_{max} (CH_3CN): 251.4 nm

λ_{min} (CH_3CN): 224.7 nm

MS: (ESI^-, m/z): 314 (M^-), 360 (M^-+HCOOH)

8.3.11.2. Darstellung von Penciclovirmonophosphat



32

Zu einer Lösung aus 114 mg (0.11 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-*N*,*O*-di-(dimethoxytrityl)-penciclovir in 1 ml Acetonitril und 0.5 ml Wasser wurden 6 Tropfen konz. Ammoniumhydroxidlösung geben und die Reaktionslösung über Nacht bei 40 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abkondensiert, der Rückstand in 2 ml Wasser aufgenommen, 0.5 ml konz. Salzsäure zugegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit 10 ml Wasser verdünnt und zweimal mit je 10 ml Dichlormethan extrahiert. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert. Der Reaktionsrückstand wurde säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und lyophilisiert.

Ausbeute: 19.0 mg (0.06 mmol, 51 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.5

HPLC: t_R = 16.48 min (94 %, Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 7.86 (s, 1H, NH); 4.18 (t, 2H, $^{3}J_{H1',H2'}$ = 7.6 Hz, H1‘); 3.89 (dd, 2H, $^{3}J_{H4',OH}$ = 5.6 Hz, $^{3}J_{H4',H3'}$ = 5.6 Hz, H4‘); 3.63 (m, 2H, H5‘); 1.89 (m, 2H, H2‘); 1.80 (m, 1H, H3‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 160.78 (C6); 155.48 (C2); 141.91 (C8); 66.35 (C4‘); 63.32 (C5‘); 43.50 (C1‘); 29.65 (C2‘).

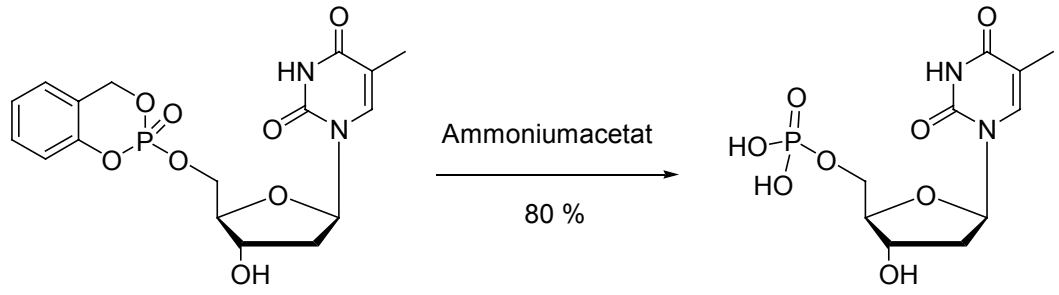
^{31}P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, D_2O): 2.75 (s).

UV: λ_{max} (CH_3CN): 251.4 nm

λ_{min} (CH_3CN): 224.7 nm

MS: (ESI^+, m/z): 332 ($M^{2-}+H^+$)

8.3.11.3. Darstellung von 2‘-Desoxythymidinmonophosphat



49

13.0 mg (0.03 mmol) 5-*H-cyclo*Sal-2‘-desoxythymidinmonophosphat wurden in 4 ml 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 7.4) gelöst und bei 37 °C 48 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit Dichlormethan gewaschen. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert.

Ausbeute: 10.0 mg (0.02 mmol, 80 %) einer farblosen Watte.

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.41

HPLC: t_R = 16.35 min (97 %; Gradient C)

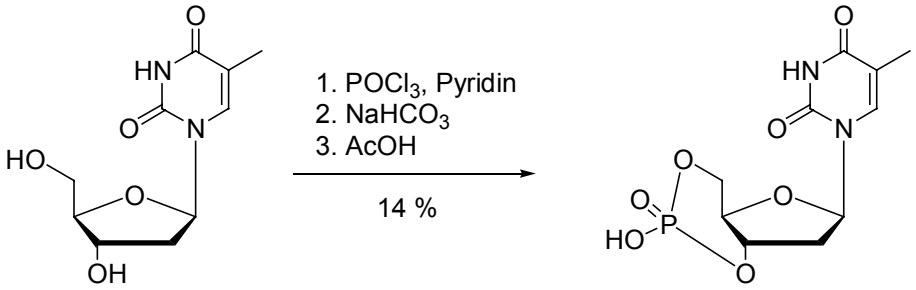
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 7.81 (s, 1H, H6); 6.36 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.6 Hz, H1‘); 4.59 (dt, 1H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 6.2 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 3.1 Hz, H3‘); 4.16 (m, 1H, H4‘); 4.02 (m, 2H, H5‘); 2.38 (ddd, 1H, $^2J_{H2‘,H2‘‘}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 7.6 Hz, H2‘); 2.37 (ddd, 1H, $^2J_{H2‘‘,H2‘}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H2‘‘,H1‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2‘‘,H3‘}$ = 3.7 Hz, H2‘‘); 1.94 (s, 3H, H7).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161 MHz, D_2O): 3.24 (br. s)

UV: λ_{max} (CH_3CN): 264.5 nm

λ_{min} (CH_3CN): 233.6 nm

8.3.11.4. Darstellung von 2‘-Desoxythymidincyclophosphat



29

Zu einer Lösung aus 84.0 µl (141 mg, 0.92 mmol) Phosphorylchlorid in 2 ml Pyridin wurde bei 0 °C 200 mg (0.83 mmol) 2‘-Desoxythymidin, gelöst in 4 ml Pyridin, zugetropft und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 311 mg (3.70 mmol) Natriumhydrogencarbonat, gelöst in 4.8 ml Wasser, zugegeben und die Reaktionsmischung nach 5 Minuten im Vakuum eingeengt. Der Reaktionsrückstand wurde säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und lyophilisiert.

Ausbeute: 34.0 mg (0.11 mmol; 14 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.35

HPLC: t_R = 18.40 min (Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 7.33 (s, 1H, H6); 6.14 (m, 1H, H1‘); 4.52 (m, 1H, H3‘); 4.08-3.98 (m, 1H, H5‘); 2.38-2.21 (m, 2H, H2‘); 1.74 (br. s, 3H, H7).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (203 MHz, DMSO-d_6): - 2.56 (s).

Nebenprodukt (3‘-dTMP)

Ausbeute: 36 mg (0.11 mmol; 14 %)

DC: R_f-Wert (*i*Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.4

HPLC: t_R = 16.97 min (Gradient C)

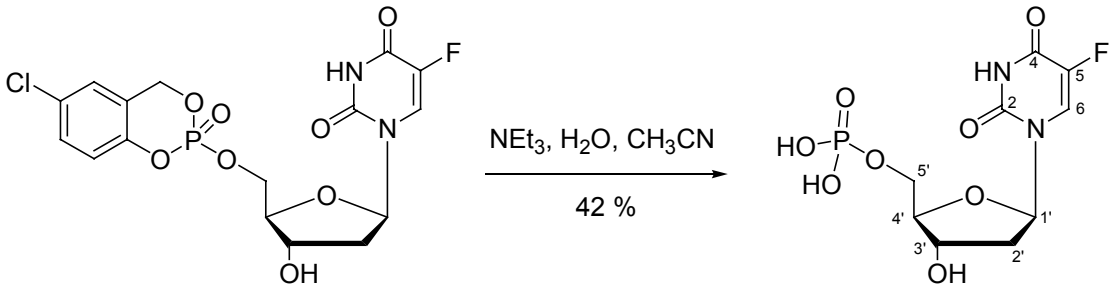
^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 7.46 (s, 1H, H6); 6.11 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, H1‘); 4.55 (ddt, 1H, $^3J_{H3‘,H4‘}$ = 3.1 Hz, $^3J_{H3‘,H2‘}$ = 7.1 Hz, $^3J_{H3‘,P}$ = 10.1 Hz, H3‘); 4.15 (dd, 1H, $^3J_{H4‘,H3‘}$ = 3.1 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘‘}$ = 3.0 Hz, $^3J_{H4‘,H5‘}$ = 6.2 Hz, H4‘); 3.86 (dd, 1H, $^3J_{H5‘,H5‘‘}$ = 12.0 Hz, $^3J_{H5‘,H4‘}$ = 3.1 Hz, H5‘); 3.77 (dd, 1H, $^3J_{H5‘‘,H5‘}$ = 12.0 Hz, $^3J_{H5‘‘,H4‘}$ = 6.1 Hz, H5‘‘); 2.27 (ddd, 1H, $^3J_{H2‘,H2‘‘}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2‘,H1‘}$ = 6.1 Hz, $^3J_{H2‘,H3‘}$ = 3.0 Hz, H2‘); 2.22 (ddd,

1H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 14.0 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 7.0 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 7.1 Hz, H2''); 1.66 (s, 3H, H7).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 165.29 (C4); 151.58 (C2); 137.33 (C6); 111.30 (C5); 85.18 (C4'); 84.94 (C1'); 74.98 (C3'); 46.26 (C5'); 38.32 (C2'); 13.05 (C7).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (203 MHz, DMSO-d_6): 0.25 (br. s).

8.3.11.5. Darstellung von 2'-Desoxy-5-fluoruridinmonophosphat



50

30.0 mg (0.07 mmol) 5-Chlor-*cyclo*Sal-2'-desoxy-5-fluoruridinmonophosphat wurden in 4 ml Acetonitril und 0.5 ml Wasser gelöst. Es wurden 5 Tropfen Triethylamin zugegeben und bei 37 °C 48 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Dichlormethan gewaschen. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert und anschließend säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und wiederum lyophilisiert.

Ausbeute: 10.0 mg (0.06 mmol; 42 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.51

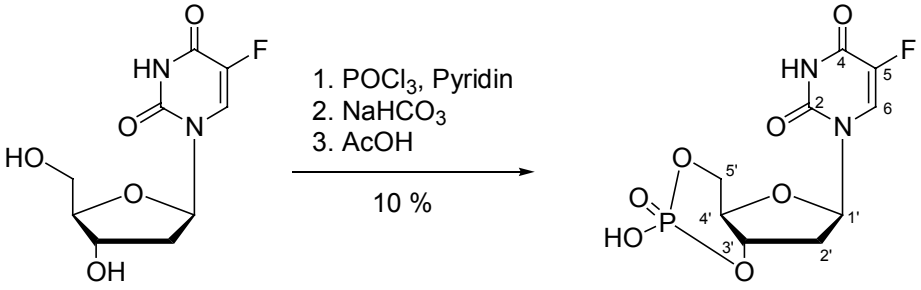
HPLC: t_R = 19.60 min (Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D_2O): 8.01 (d, 1H, $^3J_{H6,F}$ = 6.9 Hz, H6); 6.11 (t, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 6.6 Hz, H1'); 4.28 (m, 1H, H3'); 3.87 (m, 1H, H4'); 3.80-3.76 (m, 2H, H5'); 3.00 (q, 2H, $^3J_{H1',H2'}$ = 7.4 Hz, CH_2); 2.11 (ddd, 1H, $^3J_{H2',H2''}$ = 13.7 Hz, $^3J_{H2',H1'}$ = 7.8 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 6.1 Hz, H2'); 2.05 (ddd, 1H, $^3J_{H2'',H2'}$ = 13.6 Hz, $^3J_{H2'',H1'}$ = 5.8 Hz, $^3J_{H2',H3'}$ = 2.8 Hz, H2''); 1.12 (t, 3H, $^3J_{H1',H2'}$ = 7.4 Hz, CH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D_2O): 158.70 (C4); 150.20 (C2); 142.17 (C5); 125.94 (C6); 87.02 (C4'); 85.66 (C1'); 71.75 (C3'); 65.00 (C5'); 46.01 ($2xCH_2$); 42.01 (C2'); 9.47 ($2xCH_3$).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (161 MHz, DMSO-d_6): -0.29 (s)

8.3.11.6. Darstellung von 2‘-Desoxy-5-fluoruridincyclophosphat



30

Zu einer Lösung aus 121 µl (202 mg, 1.32 mmol) Phosphorylchlorid in 3 ml Pyridin wurde bei 0 °C 290 mg (1.19 mmol) Desoxyfluoruridin, gelöst in 6 ml Pyridin, zugetropft und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 446 mg (5.3 mmol) Natriumhydrogencarbonat, gelöst in 10 ml Wasser, zugegeben und die Reaktionsmischung nach 5 Minuten im Vakuum eingeengt. Der Reaktionsrückstand wurde säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und lyophilisiert.

Ausbeute: 36 mg (0.12 mmol; 10 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.57

HPLC: t_R = 18.69 min (Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 7.86 (d, 1H, $^3J_{H6,F}$ = 6.6 Hz, H6); 6.14 (m, 1H, H1‘); 4.47 (m, 1H, H3‘); 4.08-3.98 (m, 1H, H5‘); 3.54-3.49 (m, 1H, H4‘); 2.31-2.17 (m, 2H, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 157.42 (d, $^2J_{C4,F}$ = 26.2 Hz, C4); 149.18 (C2); 140.50 (d, $^1J_{C5,F}$ = 231.4 Hz, C5); 125.74 (d, $^2J_{C6,F}$ = 34.3 Hz, C6); 84.59 (C1‘, C4‘); 75.40 (C3‘); 65.65 (C5‘); 35.05 (C2‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (203 MHz, DMSO-d_6): - 3.22 (br. s).

MS: (ESI$^-$, m/z): 307 (M^-); 353 (M^-+HCOOH)

Nebenprodukt (3‘-FdUMP)

Ausbeute: 58 mg (0.18 mmol; 15 %)

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.43

HPLC: t_R = 16.36 min (Gradient cycloPCVMP mit Laufpuffer)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 7.90 (d, 1H, $^3J_{H6,F}$ = 6.9 Hz, H6); 6.14 (t, 1H, $^3J_{H1‘,H2‘}$ = 6.6 Hz, H1‘); 4.55 (br. s, 1H, H3‘); 4.15 (m, 1H, H4‘);

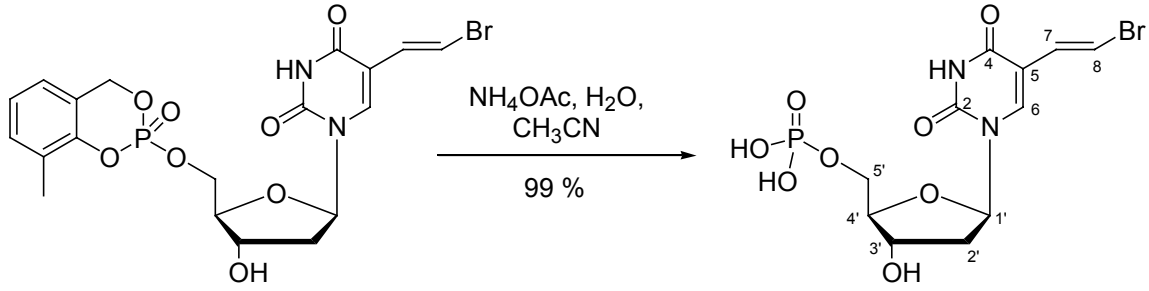
3.93 (dd, 1H, $^3J_{H5',H5''}$ = 3.8 Hz, $^3J_{H5',P}$ = 11.8 Hz, H5'); 3.85 (dd, 1H, $^3J_{H5'',H5'}$ = 3.8 Hz, $^3J_{H5'',P}$ = 6.6 Hz, H5''); 2.32-2.19 (m, 2H, H2').

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 157.10 (d, $^2J_{C4,F}$ = 25.4 Hz, C4); 149.21 (C2); 140.29 (d, $^1J_{C5,F}$ = 230.9 Hz, C5); 124.84 (d, $^2J_{C6,F}$ = 35.6 Hz, C6); 84.67 (C1', C4'); 74.43 (C3'); 45.10 (C5'); 37.18 (C2').

^{31}P-NMR: δ [ppm] (203 MHz, DMSO-d_6): - 0.33 (br. s).

MS: (ESI$^-$, m/z): 343 (M^{2-}+H^++H_2O)

8.3.11.7. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridinmonophosphat



25d

29.0 mg (0.06 mmol) 3-Methyl-*cyclo*Sal-(*E*)-5-(2-bromvinyl)-2'-desoxyuridinmonophosphat wurden in 5 ml Ammoniumacetatpuffer Lösung (50 mM, pH 7.3) und 3 ml Acetonitril gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 7 Tage bei 37 °C gerührt und anschließend lyophilisiert. Der Rückstand wurde in 0.5 ml Wasser aufgenommen und chromatographisch gereinigt (reversed-phase Kieselgel, Wasser mit Acetonitril-Gradient).

Ausbeute: 34 mg (0.06 mmol; 99 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

HPLC t_R = 23.92 min (96 %, Gradient C)

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.51

^{1}H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 7.89 (s, 1H, H6); 7.22 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 16.0 Hz, H8); 6.88 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 16.0 Hz, H7); 6.18 (dd, 1H, $^3J_{H1',H2'}$ = 8.0 Hz, $^3J_{H1',H2''}$ = 8.0 Hz, H1'); 4.43 (br.s, 1H, H3'); 4.01 (br.s, H, H4'); 3.87 (br.s, 2H, H5'); 2.30-2.23 (m, 2H, H2'); 1.77 (s, 3H, NH_3).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (126 MHz, DMSO-d_6): 164.61 (C4); 151.81 (C2); 140.86 (C6); 130.40 (C7); 112.89 (C5); 110.42 (C8); 87.54 (C4'); 86.81 (C1'); 72.48 (C3'); 65.49 (C5'); 40.46 (C2').

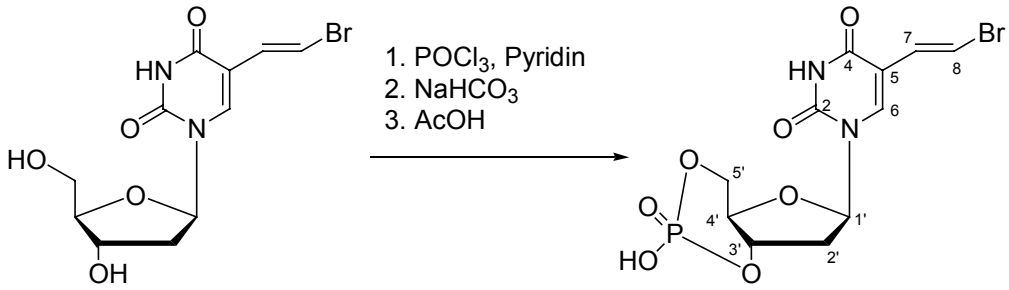
^{31}P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, DMSO-d_6): 3.28 (s).

UV: λ_{max} (H_2O/CH_3CN): 291.0, 249.7 nm

λ_{min} (H_2O/CH_3CN): 268.8, 224.7 nm

MS: (ESI$^-$; m/z): 413 (M+H)

8.3.11.8. Darstellung von (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridincyclophosphat



4

Zu einer Lösung aus 121 µl (202 mg, 1.32 mmol) Phosphorylchlorid in 3 ml Pyridin wurde bei 0 °C 395 mg (1.19 mmol) (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2‘-desoxyuridin, gelöst in 6 ml Pyridin, zugetropft und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 446 mg (5.3 mmol) Natriumhydrogencarbonat, gelöst in 10 ml Wasser, zugegeben und die Reaktionsmischung nach 5 Minuten im Vakuum eingeengt. Der Reaktionsrückstand wurde säulenchromatographisch an reversed-phase Kieselgel (RP-18) mit einem 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH 4.5) als Laufpuffer aufgereinigt. Die Produkt enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt und lyophilisiert.

Ausbeute: 36 mg (0.12 mmol; 10 %) eines hygroskopischen Feststoffs.

DC: R_f-Wert (*i*-Propanol/Wasser/Ammoniak 14:7:1 v/v/v): 0.57

HPLC: t_R = 21.69 min (97 %, Gradient C)

^{1}H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 7.81 (s, 1H, H6); 7.12 (d, 1H, $^3J_{H8,H7}$ = 16.0 Hz, H8); 6.75 (d, 1H, $^3J_{H7,H8}$ = 16.0 Hz, H7); 5.85 (m, 1H, H1‘); 4.21 (m, 1H, H4‘); 4.08-3.84 (m, 3H, H5‘, H3‘); 2.31-2.17 (m, 2H, H2‘).

^{13}C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d_6): 164.42 (C4); 152.51 (C2); 140.80 (C6); 136.74 (C7); 113.92 (C5); 109.89 (C8); 82.59 (C4‘); 77.03 (C1‘); 75.40 (C3‘); 69.65 (C5‘); 35.05 (C2‘).

^{31}P-NMR: δ [ppm] (203 MHz, DMSO-d_6): - 3.22 (br. s).

8.4. Hydrolysekinetiken in Phosphatpuffer

Die Hydrolysestudien wurden in einer 50.0 mM Phosphatpufferlösung (pH 7.3) durchgeführt. Diese wurde durch Lösen von 430 mg (2.47 mmol) wasserfreiem Kaliumdihydrogenphosphat und 3.10 g (21.8 mmol) wasserfreiem Dinatriumhydrogenphosphat in 500 ml Wasser bereitet und anschließend mit Phosphorsäure auf den pH-Wert von 7.3 eingestellt. Von den Prodrug-Verbindungen wurde eine 50 mM Stammlösung in Dimethylsulfoxid angesetzt. 12 µl dieser Stammlösung wurden mit 300 µl Wasser (oder einem Wasser-Dimethylsulfoxidgemisch für die schwerlöslichen Verbindungen) vermischt. Von dieser Mischung wurden 300 µl zu einer auf 37 °C temperierten Mischung aus 300 µl der Pufferlösung und 5 µl einer AZT-Lösung (10 mg/ml; interner Standard) in ein Eppendorf-Cap gegeben (Pufferkonzentration im Cap: 25 mM; Triesterkonzentration: 1 mM). Durch kurzes Durchmischen (Vortex) wurde die Hydrolyse gestartet (t_0).

In verschiedenen Zeitabständen wurden Aliquote entnommen, zum Stoppen der Hydrolyse in ein Eppendorf-Cap zu einem Tropfen konz. Essigsäure pipettiert und sofort auf -196 °C (flüssiger Stickstoff) abgekühlt. Die Proben wurden HPLC-analytisch untersucht. Auswertung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® indem der Quotient der Peakflächen des Triesters und des internen Standards (AZT) (normierte Integrationseinheiten) gegen die Reaktionszeit (h) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ der Phosphortriester konnten berechnet werden, indem eine exponentielle Ausgleichskurve durch die experimentell bestimmten Punkte gelegt wurde.

8.5. Esterasekinetiken

Die Esterasestudien wurden in einer 50.0 mM Phosphatpufferlösung (pH 7.3) durchgeführt. Diese wurde wie oben beschrieben hergestellt. Von den Prodrug-Verbindungen wurde eine 50 mM Stammlösung in Dimethylsulfoxid angesetzt. 12 µl dieser Stammlösung wurden mit 300 µl Wasser (oder einem Wasser-Dimethylsulfoxidgemisch für die schwerlöslichen Verbindungen) vermischt. Von dieser Mischung wurden 300 µl zu einer auf 37 °C temperierten Mischung aus 300 µl der Pufferlösung, 5 µl einer AZT-Lösung (10 mg/ml; interner Standard) und 300 µl einer 50 Units Esterase enthaltenden Phosphatpufferlösung in ein Eppendorf-Cap gegeben (Pufferkonzentration im Cap: 25 mM; Triesterkonzentration: 1 mM). Durch kurzes Durchmischen (Vortex) wurde die Hydrolyse gestartet (t_0).

In verschiedenen Zeitabständen wurden Aliquote entnommen, zum Stoppen der Hydrolyse in ein Eppendorf-Cap zu einem Tropfen konz. Essigsäure und jeweils 40 µl Acetonitril pipettiert und sofort auf -196 °C (flüssiger Stickstoff) abgekühlt. Die Proben wurden HPLC-analytisch untersucht. Auswertung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® indem der Quotient der Peakflächen des Triesters und des internen Standards (AZT) (normierte Integrationseinheiten) gegen die Reaktionszeit (h) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ der Phosphortriester konnten berechnet werden, indem eine exponentielle Ausgleichskurve durch die experimentell bestimmten Punkte gelegt wurde.

8.6. Zellextraktkinetiken (CEM/0 bzw. P3HR-1-Zellen)

Das CEM/0 Zellhydrolysat wurde von Herrn Prof. J. Balzarini, Rega Institut, Uni Leuven und das P3HR-1 Zellhydrolysat wurde von Frau Dr. A. Meerbach, Friedrich-Schiller-Universität Jena zur Verfügung gestellt. Die Studien wurden bei einer konstanten Temperatur von 37 °C in einem Thermomixer durchgeführt. Von den Prodrug-Verbindungen wurde eine 1.5 mM Stammlösung in Dimethylsulfoxid angesetzt. 20 µl dieser Stammlösung wurden zu 100 µl Zellextrakt und 20 µl einer 70 mM Magnesiumchloridlösung gegeben. Durch kurzes Durchmischen (Vortex) wurde die Hydrolyse gestartet (t_0). Um die Hydrolyse zu stoppen, wurden 300 µl einer essigsauren Methanollösung zugegeben, durchmischt und 5 Minuten bei 0 °C aufbewahrt. Das Eppendorf Cap wurde bei 13000 Umdrehungen pro Minute 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand mittels reversed-phase HPLC analysiert. Für jeden zu untersuchenden Zeitpunkt der Kinetik wurde ein seperates Cap bereitet um Kontamination des Mediums zu verhindern.

Die Auswertung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® indem die Absolutwerte der Peakflächen des Triesters gegen die Reaktionszeit (h) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ der Phosphortriester konnten berechnet werden indem eine exponentielle Ausgleichskurve durch die experimentell bestimmten Punkte gelegt wurde.

8.7. Kinetiken in humanem Serum

Die Studien wurden bei einer konstanten Temperatur von 37 °C in einem Thermomixer durchgeführt. Von den Prodrug-Verbindungen wurde eine 1.5 mM Stammlösung in Dimethylsulfoxid angesetzt. 20 µl dieser Stammlösung wurden zu 100 µl humanem Serum

oder einer Mischung aus Phosphatpuffer (pH 6.8) und humanem Serum und 20 µl einer 70 mM Magnesiumchloridlösung gegeben. Durch kurzes Durchmischen (Vortex) wurde die Hydrolyse gestartet (t_0). Um die Hydrolyse zu stoppen, wurden 300 µl einer essigsauren Methanollösung zugegeben, durchmischt und 5 Minuten bei 0 °C aufbewahrt. Das Eppendorf Cap wurde bei 13000 Umdrehungen pro Minute 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand mittels reversed-phase HPLC analysiert. Für jeden zu untersuchenden Zeitpunkt der Kinetik wurde ein seperates Cap bereitet, um Kontamination des Mediums zu verhindern.
Die Auswertung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® indem die Absolutwerte der Peakflächen des Triesters gegen die Reaktionszeit (h) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k und die Halbwertszeit $t_{1/2}$ der Phosphortriester konnten berechnet werden, indem eine exponentielle Ausgleichskurve durch die experimentell bestimmten Punkte gelegt wurde.

8.8. Bestimmung der Verteilungskoeffizienten

Zur Bestimmung der Verteilungskoeffizienten wurde eine kleine Substanzprobe in 500 µl *n*-Octanol gelöst und im Anschluß daran mit 500 µl Wasser versetzt. Die beiden Phasen wurden 10 min intensiv durchmischt und anschließend 5 min. bei 13000 rpm zentrifugiert. Von beiden Phasen wurden Proben entnommen und HPLC-analytisch untersucht (LiChroCART 250-3 Säule mit Lichrospher 100-3 RP 18 (5 µm) Füllmaterial, Acetonitril-Gradient in Wasser von 0 bis 100 % in 20 min mit 0.5 ml/min Fluß und UV-Detektion bei 260 nm).
Der Verteilungskoeffizient wurde aus dem Verhältnis der Peakflächen (1-Octanol/Wasser) berechnet.

8.9. Biologische Methoden und Zellkultur Assays

8.9.1. anti-Herpes Simplex Virus Typ 1-Zelltest

8.9.1.1. Zellen und Virenstämme

Vero Zellen (ATCC, CRL 1587) wurden in modifiziertem Minimum Essential Medium (MEM) kultiviert, ergänzt wurde mit 10 % Hitze-inaktiviertem, fötalem Rinder Serum und Antibiotika. Herpes Simplex Virus Typ 1 (HSV-1) Kupka wurde 1962 von Dr. R. Benda, Prag, Tschechische Republik von einem Patienten mit Herpes Labialis isoliert[141] und

freundlicherweise von Dr. J. Rajcani, Bratislava zur Verfügung gestellt. Für die Experimente wurden Vero Zellen mit dem Virus infiziert. Der $TCID_{50}$ der zell-freien Virussuspension betrug 10^7-10^8/ml. Der Thymidin Kinase (TK) Virusstamm HSV-1/TK^- mit der Referenznummer B2006[142] wurde von Dr. E. De Clercq, Leuven , Belgien zur Verfügung gestellt. Für den Test wurden Hasen Hoden Stammzellen mit dem Virus infiziert und der $TCID_{50}$ betrug $10^{6,5}$/ml in zell-freiem Überstand.

8.9.1.2. Antiviral screening Assay

Die anti-virale Wirkung der *cyclo*Sal-Verbindungen wurde mit dem XTT-basierenden Tetrazolium Reduktionsassay EZ4U (Biomedica GmbH, Wien, Österreich) bestimmt.[143] Die Methode erlaubt die Detektion sowohl der viralen Cytopathogenität als auch der durch die Testverbindungen induzierte cytotoxischen Effekte.
Jedes Experiment wurde dreifach durchgeführt. Der Mittelwert wurde aus Werten zweier oder dreier unabhängiger Experimente gebildet. Substanzkonzentrationen der EC_{50}- und CC_{50}-Werte wurden anhand von Dosis-Wirkungs-Kurven durch Regressionsanalyse berechnet.

8.9.2. anti-Epstein-Barr-Virus-Zelltests

8.9.2.1. Zellen

Die Epstein-Barr-Virus (EBV) produzierende Zelllinie, die EBV Genom tragende Zelllinien Raja und Namalwa und die EBV negative Zellline Ramos wurden in RPMI 1640 Medium kultiviert, dem 10 % Hitze-inaktiviertes, föteles Kälberserum, L-Glutamin und Antibiotika zugesetzt wurden.

8.9.2.2. Slot blot Hybridisierung

Für die Bestimmung des EBV DNA Gehaltes wurden 10 µg gesamtzelluläre DNA von Substanz-behandelten P3HR-1 Zellen und Kontrollzellen (Ramos, Raji und Namalwa) verwendet.[136] Der Slot blot Assay wurde unter Verwendung von 30 ng/ml einer Digoxigenin-markierenden Sonde, die für das BamH1-W-Fragment des EBV spezifisch ist durchgeführt. Nach Hybridisierung erfolgte die Chemiluminiszenzdetektion mit nachfolgender ca. zweistündiger Exposition der Membran auf einem Film (Kodak, X-Omat LS, Sigma). Die densitometrische Analyse erfolgte mittels eines Durchsicht-Scan-Verfahrens (SHARP JX-330) und anschließender Auswertung mittels der Software „Zero-Decan“. Die ermittelten optischen Dichtewerte wurden zum unbehandelten Kontrollsatz in ein prozentuales Verhältnis gesetzt und aus den Dichtewerten bei 50 % auf der Grundlage einer

logarithmischen Regression die 50 %ige Hemmkonzentration (EC_{50} in μg/ml) für die Hemmung der viralen DNA-Synthese bestimmt.

8.9.2.3. Bestimmung der Zytotoxizität

Nach Einsaat der P3HR-1 Zellen in einer Dichte von $2*10^5$ Zellen/ml in 96-well-Mikrotitterplatten folgte über sieben Tage die Inkubation mit den verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanzen. Die Zellzahl wurde mikroskopisch unter Verwendung von Neubauer-Zählkammern ermittelt und die 50 %ige Hemmkonzentration (CC_{50} in μg/ml) berechnet.

8.9.2.4. Hemmung der EBV-VCA Expression

Exponentiell wachsende P3HR-1 Zellen wurden in einer Dichte von 10^6 Zellen/ml in Gegenwart des Tumorpromotors 12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA, Sigma) kultiviert und sieben Tage mit unterschiedlichen Konzentrationen der Testverbindungen behandelt. Nach Dem Waschen der Zellen wurden das Zellpallet in PBS suspendiert und Tropfpräparate auf einen Objektträger gegeben, luftgetrocknet und mit aceton bei - 20 °C eine Stunde lang fixiert. VCA wurde durch indirekte Immunofluoreszenz detectiert. Dabei benutzte man humanes Serum mit hohen Titern gegen VCA (≥ 1:2500) und monoclonale Antikörper gegen VCA-gp125 (Chemicon International, Temecula, Californien, USA). Die VCA-positiven Zellen wurden unter dem Fluorescenzmikroskop gezählt und die EC_{50}-Werte berechnet.

9. Literaturverzeichnis

[1] B.J. Poisz, F.W. Ruscetti, M.S. Reitz, V.S. Kalyanaraman, R.C. Gallo; Isolation of a New Type C Retrovirus (HTLV) in Primary Uncultured Cells of a Patient with Sézary T-Cell Leukaemia; *Nature* **1981**, *294*, 268-271.

[2] M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Read, R. Gallo; Detection, Isolation, and Continuous Production of Cytopatic retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and Pre-AIDS; *Science* **1984**, 497-500.

[3] F. Barré-Sinoussi, J.C. Chermann, F. Rey, M.T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vézinet-Brun, C. Rouzuoux, W. Rozenbaum, L. Montagnier; Isolation of T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) *Science* **1983**, *220*, 868-871.

[4] R.C. Gallo, S.Z. Salahuddin, M. Popovic, G.M. Shearer, M. Kaplan, B.F. Haynes, T.J. Palxer, R. Redfield; Frequent Detection and Isolation of Cytopthic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and the Risk for AIDS; *Science* **1984**, *221*, 500-503.

[5] J. Schüpbach, M. Popovic, R.V. Gilden, M.A. Gonda, M.G. Sarngadharan, R.C. Gallo; Serological Analysis of a Subgroup of Human T-Lymphotronic Retroviruses (HTLV-III) Associated with AIDS; *Science* **1984**, *221*, 503-505.

[6] M.G. Sarngadharan, M. Popovic, L. Bruch, J. Schüpbach, R.C. Gallo; Antibodies Reactive with Human T-Lymphotronic Retroviruses (HTLV-III) in the Serum of Patients with AIDS; *Science* **1984**, *221*, 506-508.

[7] F. Wong-Staal, R.C. Gallo; Human T-Lymphotronic Retroviruses; *Nature* **1985**, *317*, 395-403.

[8] D.O. White, F.J. Fenner; *Medical Virology*, 4th Edition, Academic Press, San Diego, London, **1994**, 184-186.

[9] Drugs for non-HIV viral infections; *The Medical Letter* **1997**, *39*, 69-76.

[10] S.L. Sacks; B. Wilson; Famciclovir/Penciclovir; *Adv. exp. med. biol.* **1999**, *458*, 135-147.

[11] S.A. Spector; Oral Ganciclovir; *Adv. exp. med. biol.* **1999**, *458*, 121-127.

[12] H. Brandis, H.J. Eggers, W. Koehler, G. Pulverer; *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1994**.

[13] L. Stryer; *Biochemie*; 3, Spektrum der Wissenschaft Verlag GmbH, Heidelberg, 1990.

[14] R. Snoeck, G. Andrei, E. De Clercq; Current Pharmacological Approaches to the Therapy of Varicella Zoster Virus Infections; *Drugs* **1999**, *57*, 187-206.

[15] S. Dewhurst, D. Skrincosky, N. van Loon; Human Herpesvirus 7; *Exp. Rev. Mol. Medicine* **1997**, txt002sdr.

[16] G. Campadelli-Fiume, P. Mirandola, L. Menotti; Human Herpes Virus 6: An Emerging Pathogen; *Synopsis* **1999**, *5*, 353-364.

[17] Y. Zhang, D. Schols, E. De Clercq; Selective activity of various antiviral compounds against HHV-7 infections; *Antivir. Res.* **1999**, *43*, 23-35.

[18] Y. Chang, E. Cesarman, M. Pessin; Identification of herpesvirus.like DNA sequences in AIDS-assiciated Kaposi´s sarcoma: *Science* **1994**, *266*, 1865-1869.

[19] D.O. White, F.J. Fenner; *Medical Virology*, 4th Edition, Academic Press, San Diego, London, **1994**, 320-323.

[20] H. Hahn, D. Falke, P. Klein; *Medizinische Mikrobiologie*; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 626-633.

[21] S. Modrow, D. Falke; *Molekulare Virologie*; Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxcord, **1997**, 442-443.

[22] E.-C. Mar, C.K. Chu, J.-C. Lin; Some Nucleoside analogs with anti-human immunodeficiency virus avtivity inhibit replication of Epstein-Barr virus; *Antiviral Res.* **1995**, *28*, 1-11.

[23] A. Leydet, P. Barthelemy, B. Boyer, G. Lamaty, J.P. Roque; Polyanion Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus and Other Viruses. 1. Polymerized Anionic Surfactants; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2433-2440.

[24] A. Leydet, H. El Hachemi, B. Boyer, G. Lamaty, J.P. Roque, D. Schols, R. Snoeck, G. Andrei, S. Ikeda, J. Neyts, D. Reymen, J. Este, M. Witvrouw, E. De Clercq; Polyanion Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus and Other Viruses. Part 1. Polymerized Anionic Surfactants Derived from Amino Acids and Dipeptides; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1626-1634.

[25] Y.-W. Yang, J.-C. Yang; Inhibitory Effect of Polyionic Compounds on the Adsorption of Herpes Simplex Type 1 (KOS); *Antiviral Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 32-37.

[26] M.G. Rossmann; Antiviral Agents Targeted to interact with Viral Capsid Proteins and a Possible Application to Humman Immunodeficiency Virus; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**,*85*, 4625-4627.

[27] H. Mitsuya, R. Yarchoan, S. Broder; Molecular Targets for AIDS Therapy; *Science* **1990**, *249*, 1533-1544.

[28] D. Meruelo, G. Lavie, D. Lavie; Therapeutic Agents with Dramatic Antiviral Activity and Little Toxicity at Effective Doses: Aromatic Polycyclic Diones Hypericin and Pseudohypericin; *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1989**, *85*, 5230-5234.

[29] R.A. Vere Hodge; Famciclovir and Penciclovir. The Mode of Action of Famciclovir Including ist Conversion to Penciclovir; *Antiviral Chem. Chemother.* **1993**, *4*, 67-84.

[30] E. De Clercq; In Search of a Selective Antiviral Chemotherapy; *Clin. Microbiol. Rev.* **1997**, *10*, 674-693.

[31] A. Meerbach, A. Holý, P. Wutzler, J. Neyts; Inhibitory effects of novel nucleoside and nucleotide analogues on Epstein-Barr virus replication; *Antiviral Chem. Chemother.* **1998**, *9*, 275-282.

[32] L. Gérard, D. Salmon-Cérmon; Pharmacology and clinical use of foscarnet; *Int. J. Antimicrob. Agents* **1995**, *5*, 209-217.

[33] Y.Y. Li, H. Minagawa, S. Tanaka, R. Mori; Suppresion of infectious virus spread to the liver by foscarnet following lethal infection of acyclovir-resistant herpes simplex virus type 2 in mice; *Antivir. Res.* **1995**, *27*, 111-121.

[34] P. Chrisp, S.P. Clissold; Foscarnet. A review of ist antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunocompromised patients with cytomegalovirus retinitis; *Drugs* **1991**, *41*, 104-129.

[35] J.J. Fox, N.C. Miller; Nucleosides. XVI. Further Studies of Anhydronucleosides; *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 936-941.

[36] J.P. Fox, J. Chua, M. Noel; Nucleosides. V. The Monomesylates of 1-(2‘-Deoxy-b-D-lyxofuranosyl)thymine; *J. Med. Chem.* **1964**, *29*, 2076-2078.

[37] K.B. Mullah, T.S. Rao, J. Balzarini, E. De Clercq, W.G. Bentrude; Potential Prodrug Derivatives of 2‘,3‘-Didehydro-2‘,3‘-dideoxynucleosides. Prepartion and Antiviral Aktivities; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2728-2735.

[38] H. Soudeyns, Q. Yao, B. Belleau, J.L. Kraus, N. Nguyen-Ba, B. Spira, M. Wainberg; Anti-Human Immunodeficiency Virus Type I. Activity and *in vitro* Toxity of 2‘,3‘-Dideoxy-3‘-thiacytidine (BCH-189) a Novel Heterocyclic Nucleoside Analog; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 1386-1390.

[39] P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clercq, R. Pauwels, M. Baba, S. Broder, H. Vanderhaeghe; 3‘-Substituted 2‘,3‘-Dideoxynucleoside Analogues as Potential Anti-HIV (HTLV-III/LAV) Agents; *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1270-1278.

[40] T.-S. Lin, M.-Z. Luo, M.-C. Liu, Y.-L. Zhu, E. Gullen, G.E. Dutschman, Y.-G. Cheng; Design And Synthesis of 2‘,3‘-Dideoxy-2‘,3‘-didehydro-β-L-cytidine (β-L-d4C) and

2‘,3‘-Dideoxy-2‘,3‘-didehydro-β-L-5-fluorocytidine ((β-L-Fd4C), Two Exceptionally Potent Inhibitors of Human Hepatitis B Virus (HBV) and Potent Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in Vitro; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1757-1759.

[41] A. Gueiffier, M. Lhassani, A. Elhakmaouni, R. Snoek, G. Andrei, O. Chavignon, J.C. Teulade, A. Kerbal, E.M. Essassi, J.C. Debouzy, M. Witvrouw, Y. Blache, J. Bazarini, E. De Clercq, J.-P. Chapat; Synthesis of Acyclo-*C*-Nucleosides in the imidazol[1,2-α]pyridine and Pyrimidine Series as Antiviral Agents; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2856-2859.

[42] H. Ochiai, K. Kumura, Y. Minamishima; Murine Cytomegalovirus DNA polymerase: purification, characterization and role in the antiviral activity of acyclovir; *Antiviral Res.* **1992**, *17*, 1-16.

[43] J.J. O`Brien, D.M. Campoli-Richards; Acyclovir; an updates review of ist antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy; *Drugs* **1989**, *37*, 233-309.

[44] L.M. Beauchamp, G.F. Orr, P. de Miranda; Amino acid ester prodrugs of acyclovir; *Antivir. Chem. Chemother.* **1992**, *3*, 157-164.

[45] A.R. Bell; Valaciclovir update; *Adv. exp. med. biol.* **1999**, *458*, 149-157.

[46] P. Rolan; Pharmacokinetics of New Antiherpetic Agents; *Clin. Pharmacokinet.* **1995**, *29*, 333-340.

[47] M.R. Harnden, R.L. Jarvest; An Improved Synthesis of the Antiviral Acyclonucleoside 9-(4-Hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanine; *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4265-4268.

[48] M.R. Harnden, R.L. Jarvest, T.H. Bacon, M.R. Boyd; Synthesis and Antiviral Activity of 9-[4-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)but-1-yl]purines; *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1636-1642.

[49] T.H. Bacon, J. Gilbart, B.A. Howard, R. Standring-Cox; Inhibition of Varicella-zoster Virus by Penciclovir in Cell Culture and Mechanismus of Action; *Antiviral Chem. Chemother.* **1996**, *7*, 71-78.

[50] N. Borg, L. Ståhle; Penciclovir Pharmakokinetics and Distribution to the Brain and Muscle of Rats, Studied by Mikroanalysis; *Antiviral Chem Chemother.* **1997**, *8*, 275-279.

[51] E. Dannaoui, C. Trépo, F. Zoulim; Inhibitory effects of penciclovirtriphosphate on duck hepatitis B virus reverse transcription; *Antiviral Chem Chemother.* **1997**, *8*, 38-46.

[52] J.W. Gnann, Jr.; New antivirals with activity against varicella-zoster virus; *Ann. Neurol.* **1994**, *34*, 569-572.

[53] R.A. Vere Hodge, S.J. Darlison, D.L. Earnshaw; S.A. Readshaw; Use of isotopically chiral [4'-^{13}C]penciclovir and ^{13}C NMR to determine the specificity and absolute configuration of penciclovir phosphate esters formed in HSV-1- and HSV-2-infected cells by HSV-1-encoded thymidine kinase; *Chirality* **1993**, *5*, 583-588.

[54] M.R. Harnden, R.L. Jarvest, A.M.Z. Slawin, D.J. Williams; Crystal and Molecular Structure of the Antiviral Acyclonucleoside 9-[4-Hydroxy-3-(hydroxymethyl]butyl]guanine (BRL 39123, Penciclovir) and ist Prodrug 9-[4-Acetoxy-3-(actoxymethyl)butyl]-2-aminopurine (BRL 42810, Famciclovir); *Nucleosides & Nucleotides.* **1990**, *9*, 499-513.

[55] R.A. Vere Hodge; Famciclovir and penciclovir. The mode of action of famciclovir including ist conversation to penciclovir; *Antiviral Chem. Chemother.* **1993**, *4*, 67-84.

[56] C.L. Young; Famciclovir update; *Adv. exp. med. biol.* **1999**, *458*, 23-27.

[57] A. Lomp, Diplomarbeit, Würzburg **1998**, *cyclo*Saligenyl-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMP) acyclischer Nucleosidanaloga als potentielle anti-virale Wirkstoffe.

[58] J.C. Martin, C.A. Dvorak, D.F. Smee, T.R. Matthews, P.H. Julien, J.P.H. Verheyden; 9-[(1,3-Dihydroxy-2-propyloxy)-methyl]guanine: A New Potent and Selective Antiherpes Agent; *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 759-761.

[59] E.K. Field, M.E. Davies, C. De Witt, H.C. Perry, R. Liou, J. Germershausen, J.D. Karkas, W.T. Ashton, D.B. Johnston, R.L. Tolman; 9-[(1,3-Dihydroxy-2-propyloxy)-methyl]guanine: A Selective Inhibitor of Herpes Group Virus Replication; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1983**, *80*, 4139-4143.

[60] E. Littler, A.D. Stuart, M.S. Chee; Human cytomegalovirus UL 97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir; *Nature* **1992**, 160-162.

[61] A. Zimmermann, D. Michel, I. Pavic, W. Hampel, A. Lüske, J. Neyts, E. De Clercq, T. Mertens; Phosphorylation of aciclovir, ganciclovir, penciclovir and S2242 by cytomegalovirus UL97 protein: a quantitative analysis using recombinant vaccinia viruses; *Antivir. Res.* **1997**, *36*, 35-42.

[62] J.D. Fissekis, F. Sweet; The chemistry of some 5-(2-hydroxyalkyl)uracil derivatives and a synthesis of 5-vinyluracil; *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1963-1970.

[63] R.C. Blackley, A.S. Jones, R.T. Walker; Incorporation of 5-substituted uracil derivatives into nucleic acides. III. Synthesis of 5-substituted uracils derived from 5-acetyluracil; *Tetrahedron*, **1976**, *32*, 2795-2797.

[64] R.T. Walker, P.J. Barr, E. De Clerq, J. Descamps, A.S. Jones, P. Serafinowski; The synthesis and properties of some antiviral Nucleosides; *Nucleic Acids Res. Publ.* **1978**, *4*, 103-105.

[65] E. De Clerq, J. Descamps, P. De Somer, P.J. Barr, A.S. Jones, R.T. Walker; (*E*)-5-(2-bromovinyl)-2‘-desoxyuridin: a potent and selective anti-herpes agent; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1979**, *76*, 2947-2951.

[66] E. De Clerq, R.T. Walker; Synthesis and antiviral properties of 5-vinylpyrimidine Nucleoside analogs; *Pharmac. Ther.* **1984**, *26*, 1-44.

[67] E. De Clerq, J. Descamp, G. Verhelst, R.T. Walker, A.S. Jones, P.F. Torrence, D. Shugar; Comparative efficacy of antiherpes drugs against defferent strains of herpes simplex virus; *J. Infect. Dis.* **1980**, *141*, 563-574.

[68] S. Shigeta, T. Yokota, T. Iwabuchi, M. Baba, K. Konno, M. Ogata, E. De Clerq; Comparative efficacy of antiherpes drugs against various strains of varicella-zoster virus; *J. Infect. Dis.* **1983**, *147*, 576-584.

[69] C.A. Smith, B. Wigdahl, F. Rapp; Synergistic antiviral activity of acyclovir and interveron on human cytomegalovirus; *Antimicrobiol. Agents Chemother.* **1983**, *24*, 325-332.

[70] E. De Clerq; Potential of Bromovinyldeoxyuridin in Anticancer Chemotheraphy; *Anticancer Res.* **1986**, *6*, 549-556.

[71] E. De Clerq; Biochemical aspects of the selective antiherpes activity of Nucleoside analogues; *Biochem. Parmacol.* **1984**, *33*, 2159-2169.

[72] S.N. Farrow, A.S. Jones, A. Kumar, R.T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq; Synthesis and Biological Properties af novel Phosphortriester: A new approach to the indtroduction of biologically active Nucleotides into cells; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1400-1406.

[73] P. Herdewijn, R. Charubala, E. De Clercq, W. Pfleiderer; Synthesis of 2‘-5‘ Connected Oligonucleotides. Prodrugs for Antiviral and Antitumoral Nucleosides; *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1739-1748.

[74] A.A. Sinkula, S.H. Yalkowski; Rationale Design of Biologically Reversible Drug Derivatives: Prodrugs; *J. Pharm. Sci.* **1975**, *64*, 181-210.

[75] V.J. Stella; Prodrugs and Site-Specific Drug Delivery; *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1275-1282.

[76] P.L. Carl, P.K. Chakravarty, J.A. Katzenellenbogen; A Novel Connector Linkage Applicable in Prodrug Design; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 479-480.

[77] G. Andrei, R. Snoeck, J. Neyts, M.L. Sandvold, F. Myhren, E. De Clercq; Antiviral activity of ganciclovir elaidic acid ester against herpesviruses; *Antivir. Res.* **2000**, *45*, 157-167.

[78] A.J. Kirby, M. Younas; The Reactivity of Phosphate Esers. Diester Hydrolysis; *J. Chem. Soc.* **1970**, *Section B*, 510-513.

[79] F.H. Westheimer; Pseudorotation in the Hydrolysis of Phosphate Esters; *Acc. Chem. Res.* **1968**, *1*, 70-78.

[80] C. McGuigan, M.J. Camarasa, H. Egberink, K. Hartmann, A. Karlsson, C.-F. Perno, J. Balzarini; Design, synthesis and biological evaluation of novel nucleotide prodrugs as inhibitors of HIV replication; *Int. Antivir. News* **1997**, *5*, 19-21.

[81] A.G. Mitchel, W. Thomson, D. Nicholls, W.J. Irwin, S. Freeman; Bioreversible Protection for Phospho Group: Bioactivation of the Di(4-acyloxybenzyl) and Mono(4-acyloxybenzyl) Phosphoesters of Methylphosphonates and Phosphonoacetate; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 2345-2353.

[82] W. Thomson, D. Nicholis, W.J. Irwin, J.S. Al-Mushadani, S. Freeman, A. Karpas, J. Petrik, N. Mahmood, A.J. Hay; Synthesis, Bioactivation and Anti-HIV Activity of Bis(4-acyloxybenzyl) and Mono(4-acyloxybenzyl) Esters of the 5‘-Monophosphate of AZT; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 1239-1245.

[83] A. Routledge, I. Walker, S. Freeman, A. Hay, N. Mahmood; Synthesis, Bioactivation, and Anti-HIV Activity of 4-Acyloxybenzyl bis(nucleosid-5‘-yl) phosphates; *Nucleosides & Nucleotides* **1995**, *14*, 1545-1558.

[84] A. Glazier, M. Yanachkova, I. Yanakov, G.E. Wright, E. Kern, R. Sidewell, D. Smee, M. McKeough, S.L. Spruance; The Metabolism and Antiviral Activity of a Novel Group of Anti-Herpes Prodrugs; *Antivir. Res.* **1996**; Posterpräsentation auf der 9th International Conference on Antiviral Research, Mai 1996, Fukushima, Japan.

[85] D. Farquhar, D.N. Srivasta, N.J. Kuttesch, P.P. Saunders; Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups; *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 324-325.

[86] A. Fridland, B.L. Robbins, R.V. Srinivas, M. Arimilli, C. Kim, N. Bischofberger; *Antivir. Res.* **1997**, *34*, A49, 27; Posterpräsentation auf der 10th International Conference on Antiviral Research, 6-11. April, 1997, Atlanta, Georgia, USA.

[87] L. Naesens, N. Bischofsberger, M. Arimilli, C. Kim, E. De Clercq; *Antivir. Res.* **1997**, *34*, A50, 28; Posterpräsentation auf der 10th International Conference on Antiviral Research, 6-11. April, 1997, Atlanta Gorgia, USA.

[88] I. Lefebvre, C. Périgaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Girardet, A. Kirn, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Mononucleosid Phosphotriester Derivatives with *S*-Acycl-2-thioethyl Bioreversible Phosphate-Protecting Groups: Intrcellular Delivery of 3‘-Azido-2‘,3‘-dideoxythymidine 5‘-Monophosphate; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950.

[89] C. Périgaud, G. Gosselin, I. Lefebvre, J.-L. Girardet, S. Benzaria, I. Barber, J.-L. Imbach; Rational Design for Cytosolic Delivery of Nucleoside Monophosphates: „SATE“ and „DTE“ as Enzyme-labile Transient Phosphate Protecting Groups; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *12*, 2521-2526.

[90] G. Valette, A. Pompon, J.-L. Giradet, L. Cappellacci, P. Franchetti, M. Grifantini, P. La Colla, A.G. Loi, C. Périgaud, D. Gosselin, J.-L. Imbach; Decomposition Pathways and *in Vitro* HIV Inhibitory Effects if IsoddA Pronucleotides: Toward a Rational Approach for Intracellular Delivery of Nucleoside 5‘-Monophosphates; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1981-1990.

[91] C. McGuigan, K.G. Devine, T.J. O’Connor, S.A. Galpin, D.J. Jeffries, D. Kinchington; Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3‘-azido-3‘deoxythymidine (AZT) as anti-HIV compounds; *Antiviral Chem. Chemother.* **1990**, *1*, 107-113.

[92] 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.

[93] C. McGuigan, R.N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq; Intracellular Delivery of Bioacitve AZT Nucleosides by Aryl Phosphate Derivatives of AZT; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048-1052.

[94] C. McGuigan, M.J. Slater, N.R. Parry, A. Perry, S. Harris; Synthesis and antiviral activity of Acyclovir-5‘-(Phenyl Methoxy Alanyl) Phosphate as a possible membrane-soluble nucleotide prodrug; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 645-647.

[95] C. Meier; 2-Nucleos-5´-*O*-yl-*4H*-1.3.2-benzodioxaphosphorin-2-nucleosyl-2-oxide - A new concept for lipophilic, potential Prodrugs of biologically active Nucleoside Monophosphates; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79.

[96] L. Habel, Diplom-Arbeit, Frankfurt am Main **1994**; Synthese und Eigenschaften von Benzyl-α-hydroxyphosphorsäurediestern und Benzylphosphotriestern des Nucleosidanalogons 3´-Azido-3´-desoxythymidin als potentielle Prodrugs.

[97] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-2‘,3‘-dideoxy-2‘,3‘-didehydrothymidine Monophosphate (*cyclo*Sal-d4TMP): Synthesis and antiviral Evaluation of a new d4tMP delivery system; *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.

[98] J. Balzarini, S. Aquaro, T. Knispel, C. Rampazzo, V. Bianchi, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; *Cyclo*saligenyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine monophosphate: efficient intracellular delivery of d4TMP; *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58(5)*, 928-935.

[99] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-Pronucleotides of 2‘,3‘-Dideoxyadenosine and 2‘,3‘-Dideoxy-2‘,3‘-didehydroadenosine: Synthesis and antiviral Evaluation of a highly efficient Nucleotide delivery system; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604-1614.

[100] 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.

[101] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-Pronucleotides of 2‘,3‘-Dideoxyadenosine and 2‘,3‘-Dideoxy-2‘,3‘-didehydroadenosine: Synthesis and Antiviral Evaluation of a Highly Efficient Nucleotide Delivery System; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604-1614.

[102] C. Meier, T. Knispel, V.E. Marquez, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-2'-*ara*(*ribo*)-Fluoro-2',3'-Dideoxyadenosine Monophosphate - an Effort to Solve the Structure-Activity Relationship of 2'-Fluoro-ddA; *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 907-912.

[103] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *cyclo*Sal-Pronucleotides of 2‘-Fluoro-*ara*- and 2‘-Fluoro-*ribo*-2‘,3‘-Dideoxyadenosine as a Strategy to Bypass a metabolic Blockade; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624.

[104] 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.

[105] J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Pern, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular metabolism of *cyclo*Saligenyl-3'-azido-2',3'-dideoxythymidine monophosphate, a prodrug of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (zidovudine); *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 1354-1361.

[106] 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; *Antivir. Chem. Chemother.* **1998**, *9*, 389-402.

[107] A. Meerbach, R. Klöcking, C. Meier, A. Lomp, B. Helbig, P. Wutzler; Inhibitory effect of *cyclo*Saligenyl-nucleoside monophosphates (*cyclo*Sal-NMP) of acyclic nucleoside analogues on HSV-1 and EBV; *Antiviral Res.* **2000**, *45*, 69-77.

[108] J.T. Renze, Diplomarbeit, Würzburg **1998**; *cyclo*Sal-Pronucleotide: Variationen in der Benzylposition.

[109] M. Ruppel, Diplomarbeit, Würzburg **1998**; Arbeiten zum „lock-in"-Mechanismus von *cyclo*Sal-Pro-Nucleotiden.

[110] C. Müller, Diplomarbeit, Würzburg **1998**; Synthese und Charakterisierung acyclischer Nucleosidanaloga und ihrer *cyclo*Sal-Pro-Nucleotide.

[111] M. Lorey, C. Meier; A new cyclic Phosphoramidate d4T Prodrug approach: *cyclo*Amb-d4T-Phosphoramidates; *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 947-948.

[112] M. Lorey, Dissertation, Würzburg **1999**; *cyclo*Saligenyl-Nucleosidmonophosphat, ein neues Pro-Nucleotid-Konzept für antiviral und antitumor aktive Nucleosidanaloga.

[113] F. Mugnier, Diplomarbeit, Würzburg **1998**; A new Preparative Method towards *cyclo*Sal-Nucleosid Monophosphates: Cyclic Phosphoramidites as Phosphitylating Agents.

[114] Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum; VEB Deutscher Verlag der Wissenschaft Berlin; *16. Auflage*, **1986**, 492-495.

[115] A. Wissner, M.L. Carroll; Analogues of platelet activation factor 6. Mono- and bis-aryl phosphate antagonists of platelet activating factor; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1650-1662.

[116] J.H. van Boom, P.M.J. Burgers; Use of levulinic acid in the protection of oligonucleotides via the modified phosphotriester method: synthesis of deca-ribonucleotide U-A-U-A-U-A-U-A-U-A; *Tetrahydron Letters* **1976**, *52*, 4875-4878.

[117] M.R. Harnden, H.T. Serafinowska; Synthesis and Properties of S-Phosphates of some antiviral Acyclonucleosides; *Nucleosides & Nucleotides* **1994**, *13*, 903-913.

[118] S. Rim, K.L. Audus, R.T. Borchardt; Relationship of octanol/buffer and octanol/water partition coefficients to transcellular diffusion across brain microvessel endothelia cell monolayers; *Int. J. Pharm.* **1986**, *32*, 79-84.

[119] E.J. Lien, H. Gao, H. Prabhaker; Physical Factors Contributing to the Partition Coefficient and Retention Time of 2',3'-Dideoxynucleoside Analogues; *J. Pharm. Sci.* **1991**, *80*, 517-521.

[120] J. Balzarini, J.M. Cools, E. De Clercq; Estimation of the lipophilicity of anti-HIV nucleoside analogues by determination of partition coefficients and retention time on Lichrosphere 60 RP-8 HPLC columne; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *158*, 413-422.

[121] T. Knispel, Diplomarbeit, Frankfurt/Main **1997**; *Cyclo*Saligenyl-(2‘-fluor-*ara*)-2‘,3‘-didesoxyadenosinmonophosphate (*cyclo*Sal-(F)ddAMP) – effiziente Pro-Nucleotide zum ADA-Bypass.

[122] S.K. Chaudhary, O. Hernandez; A simplified procedure for preparation of triphenylmethylethers; *Tetrahedron Letters* **1979**, *2*, 95-98.

[123] C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; Synthesis, hydrolysis and anti-EBV activity of a series of 3'-modified *cyclo*Sal-BVDUMP pronucleotides *Nucleosides, Nucleotides & Nuclic Acids* **2001**, *20*, 4-7.

[124] Q. Li, C. Boyer, J.Y. Lee, M. Shepard; A Novel Approach to Thymidylate Synthase as a Target for Cancer Chemotherapy; *Mol. Phamacol.* **2001**, *59*, 446-452.

[125] K. Izawa, H. Shiragami; Practical syntheses of antiviral nucleosides; *Pure & Appl. Chem.* **1998**, *70*, 313-318.

[126] G.R. Geen, T.J. Grinter, P.M. Kincey, R.L. Jarvest; The effect of the C-6 substituent on the regioselectivity of N-alkylation of 2-Aminopurines; *Tetrahedron* **1990**, *46*, 6903-6914.

[127] B.M. Choudary, G.R. Geen, P.M. Kincey, M.J. Parratt; A direct approach to the synthesis of Famciclovir and Penciclovir; *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, *15*, 981-994.

[128] H.C. Padgett, I.G. Csendes, H. Rapoport; The Alkoxycarbonyl Moity as a Blocking Group. A Generally Useful Variation of the Malonic Ester Synthesis; *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3492-3496.

[129] 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.

[130] M.R. Handen, R.L. Jarvest, M.R. Boyd, D. Sutton, R.A. Vere Hodge; Prodrugs of the Selective Antiherpesvirus Agent 9-[4-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)but-1-yl]guanine (BRL 39123) with Improved Gastrointestinal Absorption Properties; *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1738-1743.

[131] T. Knispel, Dissertation in Vorbereitung, Universität Hamburg

[132] A. Lomp, C. Meier, M. Herderich, P. Wutzler; Evidence for Cyclophosphate Formation during Hydrolysis of 3-Methyl-*cyclo*Sal-PCVMP; *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 943-944.

[133] J.-L. Girardet, Dissertation, Montpellier **1995**; Prodrugues Mononucléotidiques: Concept, Synthèse et Potentialités en Chimiothérapies Antitumorale et Antivirale.

[134] T.W. Abrahams, E.J. McIntee, V.V. Iyer, R.F. Schinazi, C.R. Wagner; Synthesis, biological activity and decomposition studies of amino acid phosphomonoester amidates of aciclovir; *Nucleosides & Nucleotides* **1997**, *16*, 2079-2092.

[135] C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; Synthesis, hydrolysis and anti-EBV activity of a series of 3'-modified *cyclo*Sal-BVDUMP pronucleotides *Nucleosides, Nucleotides & Nuclic Acids* **2001**, *20*, 307-314.

[136] A. Meerbach, A. Holý, P. Wutzler, E. De Clercq, J. Neyts; Inhibitory effects of novel nucleoside and nucleotide analogues on Epstein-Barr virus replication; *Antivir. Chem. Chemother.* **1998**, *9*, 275-282.

[137] C. Grignet-Debrus, V. Cool, N. Baudson, B. Degrève, J. Balzarini, L. De Leval, S. Debrus, T. Velu, C.-M. Calberg-Bacq; Comparative *in vitro* and *in vivo* cytotoxic activity of (E)-5-(2-bromovinyl)-2‘-deoxyuridine (BVDU) and ist arabinosyl derivative, (E)-5-(2-bromovinyl)-1-β-D-arabinofuranosyluracil (BVaraU), against tumor cells expressing either the *Varicella zoster* or the *Herpes simplex* virus thymidine kinase; *Cancer Gene Ther.* **2000**, *7*, 215-223.

[138] N. Ashida, S. Sakata, F. Kano; *In vitro* and *in vivo* anti-herpes viral activities and biological properties of CV-araU; *Antiviral Res.* **1994**, *25*, 179-184.

[139] W.C. Still, M. Kahn, A. Mitra; Rapid chromatographic technique for preparative separation with moderate resolution; *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

[140] M. Ashwell, A.S. Jones, A. Kumar, J.R. Sayers, R:T: Walker, T. Sakuma, E. De Clercq; The synthesis and antiviral properties of (*E*)-5-(2-bromovinyl)-2‘-deoxyuridine-related compounds; *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4601-4608.

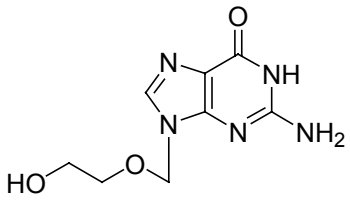
[141] R. Benda, S. Petrvic, V. Rychterova; Transmission of herpes viruses along the trigeminal nerve in rabbits; *Acta Virologica* **1972**, *16*, 459-465.

[142] E. De Clercq, A. Holý, I. Rosenberg, T. Sakuma, J. Balzarini; A novel selectiv broad-spectrum anti-DNA-virus agent; *Virology* **1986**, *22*, 464-467.

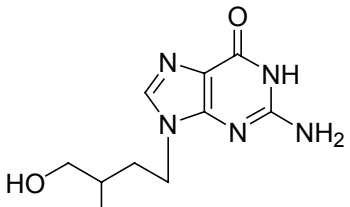
[143] R. Klöcking, M. Schacke, P. Wutzler; Primärscreening antiherpetischer Verbindungen mit EZ4U; *Chemotherapie Journal* **1995**, *4*, 141-147.

10. Gefahrstoffe

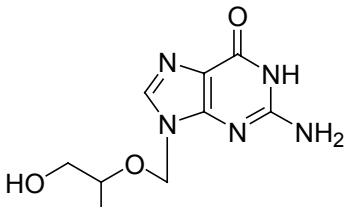
Verbindung	R-Sätze	S-Sätze
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45
Benzol	20/21/22-40-52/53	36/37-61
Benzolsulfonsäure	22-34	26-36/37/39-45
Chloroform	22-38-40-48/20/22	36/37
1,2-Dibromethan	45-E23/24/25-36/37/38-51/53	53-45-61
Dichlormethan	40	23.2-24/25-36/37
Dicyclohexylcarbodiimid	22-24-41-43	24-26-37/39-45
Diethylether	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Di*iso*propylethylamin	11-22-34-52/53	16-26-36/37-39-45-61
Dimethoxytritylchlorid	---	22-24/25
4-Dimethylaminopyridin	25-36/38	37-45
Dimethylformamid	61-E20/21-36	53-45
Dimethylsulfoxid	36/38	26
Essigsäure	10-20/22-34	26-36/37/39-45
Essigsäureethylester	11-36-66-67	16-26-33
Lithiumaluminiumhydrid	15	7/8-24/25-43.6
Methanol	23/24/25-39/23/24/25-40-43	26-36/37/39-45-51
Methyliodid	21-23/25-37/38-40	36/37-38-45
Natrium	14/15-34	5.1-8-43.12-45
Natriumhydrid	15-34	7/8-26-36/37/39-43.6-45
Natriummethanolat	11-14-34	8-16-26-43.6-45
Natronlauge	34	26-36/37/39-45
Phosphorsäure	11-36/38-67	7-16-23.3-24-26-51
Phosphortrichlorid	14-26/28-35-48/20	7/8-26-36/37/39-45
Pyridin	25-26-36/37/38-50/53	26-28.1-36/37-45-61
Salzsäure	34-37	26-36/37/39-45
*tert*Butyldimethylsilylchlorid	10-34	26-36/37/39-45
*tert*Butylhydroperoxid	7-21/22-23-34-44-52/53	3/7-14.11-26-36/37/39-45
Tetrabutylammoniumfluorid	11-23/24/25-34	16-26-36/37/39-45
Tetrabutylammoniumhydroxid	34	26-36/37/39-45
Tetrahydrofuran	11-19-36/37	16-29-33
Toluol	22-43-50/53	24-37-60-61
Triethylamin	11-20/21/22-35	3-16-26-29-36/37/39-45
Trifluoressigsäure	20-35-52/53	9-26-27-28.1-45-61



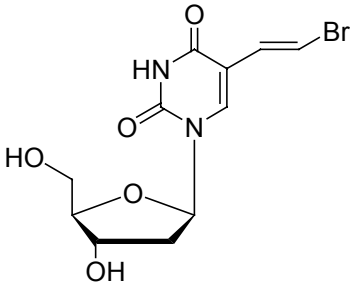
1



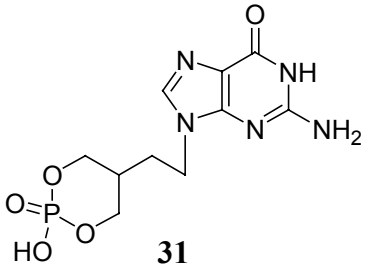
2



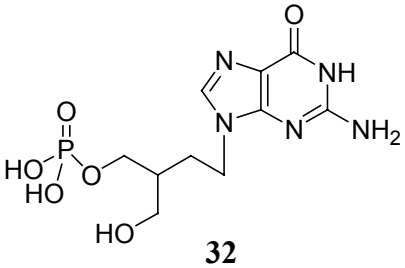
3



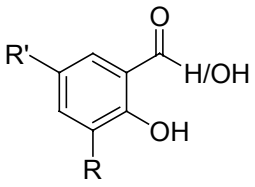
4



31

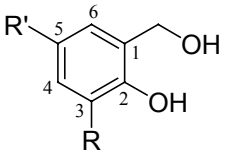


32



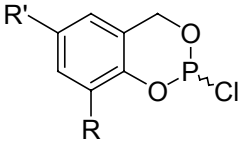
33a,d,e,g

R = H, CH_3
R' = Cl, H, CH_3



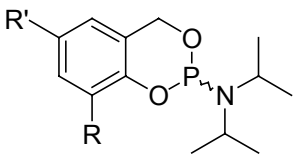
34a,d,e,g

R = H, CH_3
R' = Cl, H, CH_3



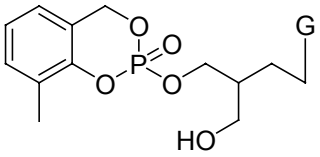
35b,d,e,g

R = H, CH_3
R' = Cl, H, CH_3

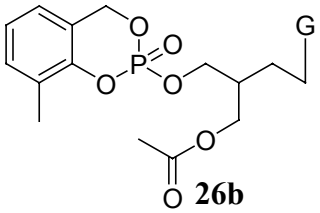


36a,b,d

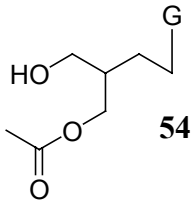
R = H, CH_3
R' = Cl, H



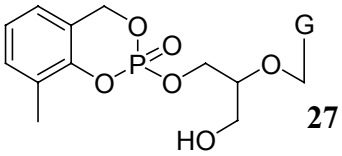
26a



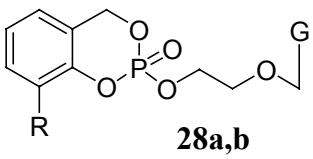
26b



54

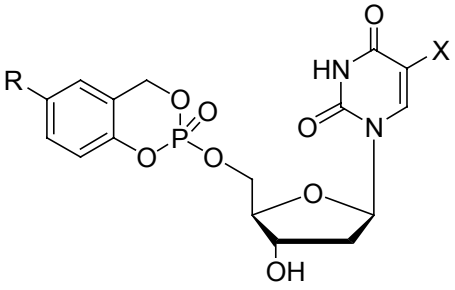


27



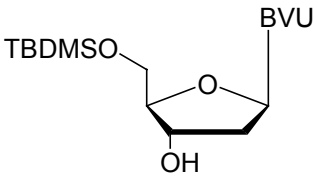
28a,b

R = H, CH_3

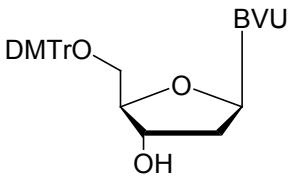


R = H; X = CH_3 **49**

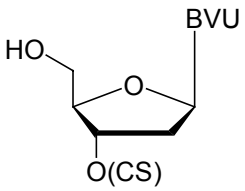
R = Cl; X = F **50**



37



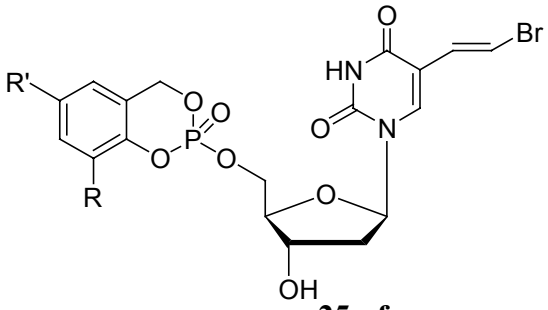
40



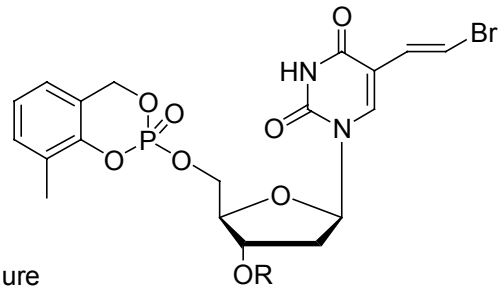
41g-z

CS = Carbonsäure oder (BOC)Aminosäure

R = H, Me, *t*Bu
R' = H, Cl, OMe, Me

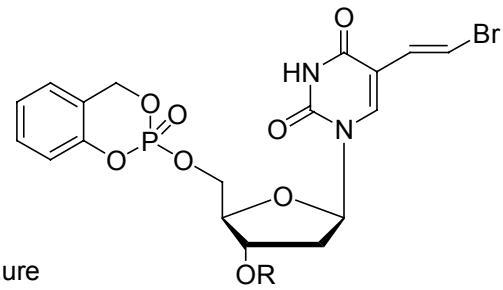


25a-f



R = Carbonsäure, Aminosäure

25g-z



R = Carbonsäure, Aminosäure

25α-ε

12. Publikationsliste

C. Meier, L. Habel, F. Haller, A. Lomp, P. Wutzler; Chemistry and properties of *cyclo*Saligenyl-nucleotides (*cyclo*Sal-NMP) of acyclic nucleoside analogues as potential anti-HSV agents; *Antiviral Res.* **1998**, *37*, A75.

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.

C. Meier, A. Lomp, F. Haller-Meier, L. Habel, P. Wutzler, A. Meerbach, R. Klöcking; Chemistry and anti-HSV activity of acyclic Nucleoside analogues; *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, *18*, 943-944.

A. Meerbach, P. Wutzler, A. Lomp, C. Meier; Synthesis, Properties and anti-EBV Activity of a new Series of 3‘-modified *cyclo*Sal-BVDUMP Pronucleotides; A*ntiviral Res.* **2000**, *46*, A82.

A. Meerbach, R. Klöcking, C. Meier, A. Lomp, B. Helbig, P. Wutzler; Inhibitory effect of *cyclo*Saligenyl-nucleoside monophosphates of acyclic nucleoside analogues on HSV-1 and EBV; *Antiviral Res.* **2000**, *45(1)*, 69-77.

C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; *cyclo*Sal-BVDUMP Pronucleotides – from an Antivirally Inactive Nucleoside Analogue to an Potential anti-EBV-Active Drug; *ChemBioChem* **2001**, *2(4)*, 283-285.

C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P. Wutzler; Synthesis, Hydrolysis and Anti-EBV Activity of a new Series of 3‘-modified *cyclo*Sal-BVDUMP Pronucleotides*; Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2001**, *20*, 307-314.

A. Lomp, C. Meier, A. Meerbach, P. Wutzler; *Cyclo*Sal-BVDUMP triesters – Synthesis, properties and anti-EBV activity of new potential pronucleotides; *Antiviral Res.* **2001**, *50*, A60.

R. Klöcking, A. Meerbach, A. Lomp, C. Meier, P. Wutzler; Effectiveness of 3-Methyl-*cyclo*Saligenylnucleotides (3-Me-*cyclo*Sal-NMP) of acyclovir, ganciclovir and brivudine against thymidine kinase (TK) positive and TK-deficient HSV-1 strains; *Antiviral Res.* **2001**, *50*, A62.

Lebenslauf

Persönliche Daten

	Andreas Lomp
	Geboren am 31.03.1972 in Kassel

Schulausbildung

1978 – 1982	Hupfeldschule (Grund-, Haupt- und Realschule), Kassel
1982 – 1988	Heinrich-Schütz-Schule (Mittelstufengymnasium), Kassel
1988 – 1991	Jakob-Grimm-Schule (Oberstufengymnasium), Kassel
10. Juni 1991	Allgemeine Hochschulreife (Note 2,2)

Hochschulausbildung

November 1992 – Mai 1995	Studium der Chemie an der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
02.Mai 1995	Diplom-Vorprüfung Chemie (Note gut)
Mai 1995 – März 1998	Hauptstudium Chemie Diplomarbeit bei Prof. Dr. C. Meier Thema: *cyclo*Saligenyl-Nucleotide (*cyclo*Sal-NMP) acyclischer Nucleosidanaloga als potentielle anti-virale Wirkstoffe
16. März 1998	Diplom der Chemie (Note gut)

Promotion

ab Mai 1998	Beginn der Promotion im Fachbereich Organische Chemie der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg bei Prof. Dr. C. Meier
März 1999	Wechsel mit Prof. Dr. C. Meier an die Universität Hamburg

Berufstätigkeit

Oktober 1997 – Februar 1999	Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Organische Chemie der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
März 1999 – März 2001	Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, daß ich die Dissertation „Design, Synthese und Eigenschaften neuer antiviral aktiver Nucleotid Prodrugs“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ich erkläre außerdem, daß diese Dissertation werder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den