

**Untersuchungen und mechanistische
Interpretationen zum Hydrolyseverhalten
Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-Nucleotide**

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Jürgen T. Renze

vorgelegt dem Fachbereich Chemie der
Universität Hamburg

Hamburg, im März 2002

1. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Francke

Meinen Eltern

*„Auch der größte Gelehrte, der nicht erkennt,
dass Gott ihn liebt und alle Menschen liebt,
bleibt am Ende nur ein Tor.“*

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. C. Meier am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg in der Zeit von März 1999 bis Dezember 2001 angefertigt.

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. C. Meier für die Überlassung des sehr interessanten und abwechslungsreichen Themas bedanken, vor allem für die Freiheiten, die er mir zur Bearbeitung desselben ließ. Daneben möchte ich ihm für die gute Betreuung während der Arbeit und für die hervorragenden experimentellen Bedingungen zu ihrer Durchführung danken, sowie für zahlreiche konstruktive Diskussionen und Anregungen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Schwerpunkts-Praktikanten Christian Ducho, Matthias Plath und Dalibor Vukadinovic, die mit ihrem experimentellen Geschick zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für das gute Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Arbeitskreises recht herzlich bedanken. Einen besonderen Dank möchte ich an unseren „Sysop“, Herrn Dipl.-Chem. Christian Müller, richten, der mir bei diversen PC-Problemen eine große Hilfe war. Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. W. Maison, der für mich stets ein guter und hilfreicher Ansprechpartner war.

Herrn Dr. V. Sinnwell und seinem Team verdanke ich die Messung der NMR-Spektren. Insbesondere Herr Dr. Sinnwell ermöglichte mir außerdem durch zahlreiche aufschlussreiche Diskussionen, die NMR-Spektroskopie zur Aufklärung von Fragestellungen zu nutzen, die sich aus meinen Arbeiten ergaben.

Für die Hilfe beim Erkunden so mancher „Geheimnisse“ von *Gaussian* möchte ich mich sehr bedanken bei Herrn Dr. M. Prosenc, Institut für Anorganische Chemie. Daneben verdanke ich ihm außerdem die kritische Durchsicht der DFT-Kapitel meiner Arbeit.

Frau Meiners und Herrn Dr. S. Franke, Institut für Organische Chemie, danke ich vielmals für die Messung zahlreicher Massenspektren.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern und meinem Bruder Thomas danken, deren Unterstützung ich mir in den Höhen und Tiefen, die der Forscheralltag so mit sich brachte, stets gewiss sein durfte.

Abkürzungen und Symbole

A	Adenin
Abb.	Abbildung
abs.	Absolut
ABC	Abacavir
ACV	Acyclovir
ADA	Adenosin-Desaminase
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AZT	2',3'-Dideoxy-3'-azidothymidin
BVDU	(<i>E</i>)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin
BVU	(<i>E</i>)-5-(2-Bromvinyl)-uracil
CC ₅₀	cytotoxische Konzentration
CEM	Lymphozytenzellstamm
CGF	Contracted Gaussian Functions
CMV	Cytomegalie Virus
d	chemische Verschiebung (NMR)
d	Dublett
dd	Dublett von Dubletts
ddd	Dublett von Dublett von Dubletts
DC	Dünnschichtchromatographie
ddA	2',3'-Dideoxyadenosin
ddC	2',3'-Dideoxycytidin
ddl	2',3'-Dideoxyinosin
DFT	Dichtefunktional-Theorie
d4T	2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin
DIPEA	Diisopropylethylamin („Hünig Base“)
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
dT	2'-Desoxythymidin
DP	Diphosphat
EC ₅₀	effektive Konzentration
ESI	Elektrosprayionisierung

EWG	Electron Withdrawing Group
FAB	Fat Atom Bombardment
FdU	5-Fluor-desoxyuridin
GCV	Ganciclovir
GGA	Generalized Gradient Approximation
GTO	Gaussian Type Orbitals
HF	Hartree Fock
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSV	Herpes Simplex Virus
IR	Infrarotspektroskopie
J	skalare Kern-Kern Kopplungskonstante (NMR)
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
KS	Kohn-Sham
LDA	Local Density Approximation
LSDA	Local Spin-Density Approximation
m	Multiplett
M	Molar
MO	Molekülorbital
MP	Monophosphat
MS	Massenspektrometrie
$\tilde{\nu}$	Wellenzahlen [cm^{-1}] (IR)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PCV	Penciclovir
POM	Pivaloyloxymethyl
POC	<i>iso</i> -Propyloxycarbonyloxymethyl
ppm	parts per million
q	Quartett
R_f	Retentionsfaktor
R_t	Retentionszeit
RNA	Ribonucleinsäure
mRNA	messenger RNA (Botenribonucleinsäure)

Rt	Raumtemperatur
RT	Reverse Transkriptase
s	Singulett
SATE	S-Acylthioethyl
SCF	Self-consistent Field
Sdp.	Siedepunkt
SDTE	S-(2-Hydroxyethylsulfidyl)-2-thioethyl
SGTE	S-(β -Glucopyranosidyl)-2-thioethyl
STO	Slater Type Orbitals
t	Triplett
T	Thymin
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
3TC	L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin
TES	Triethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TK	Thymin-Kinase
TK ⁻	Thymin-Kinase defizient
TP	Triphosphat
U	Uracil
UV	Ultraviolett
VZV	Varicella-Zoster Virus

1	Einleitung	1
2	Kenntnisstand	7
2.1	Das Prodrug-Konzept	7
2.2	Das <i>cycloSal</i> -Konzept	11
2.3	Computerchemische Methoden	21
2.3.1	Dichtefunktional-Theorie	21
2.3.2	Dichtefunktionale und Basissätze	25
3	Aufgabenstellung	29
4	Resultate und Diskussion	31
4.1	Synthese der Salicylalkohol-Derivate 63-72	32
4.1.1	Synthese der 7-Ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol-Derivate 63	33
4.1.2	Synthese der 7-Methansulfonylmethyl-salicylalkohol-Derivate 64	34
4.1.3	Synthese der 7-Methyl- und 7-Butyl-salicylalkohol-Derivate 65 und 66	35
4.1.4	Synthese von 7-Trichlormethyl-salicylalkohol 67	35
4.1.5	Synthese von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol 68	36
4.1.6	Synthese von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol 69	37
4.1.7	Synthese von 7-Cyanomethyl-salicylalkohol 70	37
4.1.8	Synthese von 7-Nitromethyl-salicylalkohol 71	38
4.1.9	Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol 15d	39
4.1.10	Versuch der Synthese von 7-Methancarbonylmethyl-salicylalkohol 72a	39
4.1.11	Synthese von 7,7-bis-Ethoxycarbonylmethyl-phthaldialkohol 109	42
4.2	Synthese der Saligenylchlorphosphate 93-101 und 113	46
4.2.1	Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten Phthalogenylchlorphosphans 114	47
4.3	Synthese der Benzyl-funktionalisierten <i>cycloSal</i> -NMPs	48
4.3.1	Synthese der <i>cycloSal</i> -d4TMPs 16d und 33-40	49
4.3.1.1	Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten <i>cycloPhthal</i> -d4TMP 115	51
4.3.2	Synthese der <i>cycloSal</i> -BVDUMPs 116	51
4.3.3	Synthese der <i>cycloSal</i> -ddAMPs 117 und <i>cycloSal</i> -F- <i>ara</i> -ddAMPs 118	52
4.4	Hydrolysestudien mit den Benzyl-substituierten <i>cycloSal</i> -d4TMPs 33-40	53

4.4.1	Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten in basischem Phosphat-Puffer	54
4.4.2	Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch HPLC-Chromatographie und UV-Spektroskopie	61
4.4.3	Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch Massenspektrometrie	64
4.4.4	Quantitative Bestimmung und Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch NMR-Spektroskopie	65
4.4.4.1	NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen von 33a-35a	66
4.4.4.2	NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von 3-Methyl- bzw. 5-Chlor-Substituenten am Aryl-Rest	73
4.4.4.3	NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von Butyl- und Cyanomethyl-Substituenten in Benzyl-Position	79
4.4.4.4	NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von Trichlor-, Dichlor- bzw. Monochlormethyl-Substituenten in Benzyl-Position	80
4.4.4.5	NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß des 6-Chlor-Substituenten am Aryl-Rest	85
4.5	Ergebnisse aus DFT-Rechnungen an Modellsystemen	90
4.5.1	Ergebnisse für 7-Me-, 6-Cl,7-Me-, 7-TM-, 7-DM- und 7-MM- <i>cycloSal</i> -MeMP	92
4.5.2	Ergebnisse für 7-Me-, 7-ECM- und 7-MSM- <i>cycloSal</i> -MeMP	103
4.6	Hydrolysestudien mit dem 7,7'-bis-ECM-substituierten <i>cycloPhthal</i> -d4TMP 115	108
4.7	Hydrolysestudien mit den Benzyl-substituierten <i>cycloSal</i> -BVDUMPs 116	110
4.8	Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Hydrolysestudien und mechanistische Interpretation	113
4.9	Antivirale <i>in vitro</i> Aktivität der Benzyl-substituierten <i>cycloSal</i> - und <i>cyclo-Phthal</i> -NMPs	120
5	Zusammenfassung	126
	Summary	135
6	Ausblick	137

7	Experimentalteil	141
7.1	Allgemeines	141
7.1.1	Lösungsmittel	141
7.1.2	Chromatographie	142
7.1.3	Spektroskopie	143
7.1.4	Geräte	144
7.2	Darstellung der Salicylalkoholderivate 15d sowie 63-72	145
7.2.1	Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol 15d	145
7.2.1.1	Synthese von 6-Chlor-salicylaldehyd 103d	145
7.2.1.2	Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol 15d	146
7.2.2	Synthese von 3-Methyl-salicylaldehyd und 5-Chlor-salicylaldehyd	147
7.2.2.1	Synthese von 3-Methyl-salicylaldehyd 103b	147
7.2.2.2	Synthese von 5-Chlor-salicylaldehyd 103c	148
7.2.3	Synthese von 3-(2'-Hydroxy-3'-methylphenyl)-3-hydroxy-propionsäureethylester 63b (3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)	149
7.2.4	Synthese von 3-(2'-Hydroxy-5'-chlor-phenyl)-3-hydroxy-propionsäureethylester 63c (5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)	150
7.2.5	Synthese von 3-(2'-Hydroxy-6'-chlor-phenyl)-3-hydroxy-propionsäureethylester 63d (6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)	151
7.2.6	Synthese von 6-Methyl-2-(1'-hydroxy-2'-methansulfonylethyl)-phenol (3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-salicylalkohol) 64b	152
7.2.7	Synthese von 4-Chlor-2-(1'-hydroxy-2'-methansulfonylethyl)-phenol (5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-salicylalkohol) 64c	153
7.2.8	Synthese von 6-Chlor-7-methyl-salicylalkohol 65d	154
7.2.9	Synthese von 1-(2'-Hydroxyphenyl)-pentan-1-ol 66a (7-Butyl-salicylalkohol)	155
7.2.10	Synthese von 1-(2'-Hydroxy-6'-chlor-phenyl)-pentan-1-ol 66d (6-Chlor-7-butyl-salicylalkohol)	156
7.2.11	Synthese von 7-Trichlormethyl-salicylalkohol 67	157
7.2.12	Synthese von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol 68	159
7.2.13	Synthese von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol 69	161
7.2.14	Synthese von 3-(2'-Hydroxyphenyl)-3-hydroxy-propionitril 70 (7-Cyanomethyl-salicylalkohol)	163

7.2.15	Synthese von 2-(2'-Hydroxyphenyl)-2-hydroxy-nitroethan 71 (7-Nitromethyl-salicylalkohol)	164
7.2.16	Versuch der Synthese von 4-(2'-hydroxyphenyl)-4-hydroxy-butan-2-on 72a (7-Methancarboxylmethyl-salicylalkohol)	165
7.2.16.1	Aldol-Additionen von Aceton an Salicylaldehyd 103a	165
7.2.16.2	Klassische Reformatsky-Reaktion	166
7.2.16.3	Variante der Reformatsky-Reaktion mit metallischem Indium	167
7.2.16.4	Synthese von 4-(2'-O-triethylsiloxophenyl)-4-hydroxy-butan-2-on 72b	167
7.2.16.5	Versuch der Entschützung von 4-(2'-O-triethylsiloxophenyl)-4-hydroxy-butan-2-on 72b	170
7.2.17	Synthese von 3-[2-(2-Ethoxycarbonyl-1-hydroxyethyl)-phenyl]-3-hydroxy-propionsäureethylester 109 (7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)-phthalalkohol)	171
7.2.17.1	Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten Phthalalkohols 109 : klassische Reformatsky-Reaktion	171
7.2.17.2	Versuch der Synthese des Phthalalkohols 21 : Indium-Variante der Reformatsky-Reaktion	174
7.2.17.3	Versuch der Synthese des Phthalalkohols 109 : Aldol-Reaktion von Phthaldialdehyd mit Ethylacetat	176
7.2.17.4	Versuch der Synthese des Phthalalkohols 109 : zweistufige Synthesansätze	178
7.3	Synthese der Saligenylchlorphosphate 93-101; 113 (AAV-1)	181
7.3.1	Synthese von (2-Chlor-8-methyl-4 <i>H</i> -benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester 93b (3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenylchlorphosphan)	182
7.3.2	Synthese von (2,6-Dichlor-4 <i>H</i> -benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester 93c (5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenylchlorphosphan)	183
7.3.3	Synthese von (2,5-Dichlor-4 <i>H</i> -benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester 93d (6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenylchlorphosphan)	184
7.3.4	Synthese von 2-Chlor-4-methansulfonylmethyl-8-methyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 94b (3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-saligenylchlorphosphan)	184

7.3.5	Synthese von 2,6-Dichlor-4-methansulfonylmethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 94c (5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-saligenylchlorphosphan)	185
7.3.6	Synthese von 2,5-Dichlor-4-methyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 95d (6-Chlor-7-methyl-saligenylchlorphosphan)	186
7.3.7	Synthese von 2-Chlor-4-butyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 96a (7-Butyl-saligenylchlorphosphan)	187
7.3.8	Synthese von 2,5-Dichlor-4-butyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 96d (6-Chlor-7-butyl-saligenylchlorphosphan)	187
7.3.9	Synthese von 2-Chlor-4-trichlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Trichlormethyl-saligenylchlorphosphan) 97	188
7.3.10	Synthese von 2-Chlor-4-dichlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Dichlormethyl-saligenylchlorphosphan) 98	189
7.3.11	Synthese von 2-Chlor-4-monochlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 99 (7-Monochlormethyl-saligenylchlorphosphan)	189
7.3.12	Synthese von 2-Chlor-4-cyanomethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Cyanomethyl-saligenylchlorphosphan) 100	190
7.3.13	Synthese von 2-Chlor-4-nitromethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Nitromethyl-saligenylchlorphosphan) 101	191
7.3.14	Synthese von 2,5-Dichlor-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 113 (6-Chlor-saligenylchlorphosphan)	191
7.3.15	Synthese von (3-Chlor-5-ethoxycarbonylmethyl-1,5-dihydrobenzo[e]-[1.3.2]dioxaphosphin-1-yl)-essigsäureethylester 114 (7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)-phthalogenylchlorphosphan)	192
7.4	Synthese der <i>cycloSal</i> -d4T-monophosphate 16d und 33-40 und des <i>cycloPhthal</i> -d4T-monophosphats 115 (AAV-2)	193
7.4.1	Synthese von 6-Chlor- <i>cycloSal</i> igenyl-d4T-monophosphat 16d (6-Cl- <i>cycloSal</i> -d4TMP)	194
7.4.2	Synthese von 3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl- <i>cycloSal</i> igenyl-d4T-monophosphat 33b (3-Me-7-ECM- <i>cycloSal</i> -d4TMP)	195
7.4.3	Synthese von 5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl- <i>cycloSal</i> igenyl-d4T-monophosphat 33c (5-Cl-7-ECM- <i>cycloSal</i> -d4TMP)	197
7.4.4	Synthese von 6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl- <i>cycloSal</i> igenyl-d4T-monophosphat 33d (6-Cl-7-ECM- <i>cycloSal</i> -d4TMP)	199

7.4.5	Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 34b (3-Me-7-MSM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	201
7.4.6	Synthese von 5-Chlor-7-methansulfonylmethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 34c (5-Cl-7-MSM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	203
7.4.7	Synthese von 6-Chlor-7-methyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 35d (6-Cl-7-Me- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	206
7.4.8	Synthese von 7-Butyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 36a (7-Bu- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	208
7.4.9	Synthese von 6-Chlor-7-butyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 36d (6-Cl,7-Bu- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	210
7.4.10	Synthese von 7-Trichlormethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 37 (7-TM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	212
7.4.11	Synthese von 7-Dichlormethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 38 (7-DM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	213
7.4.12	Synthese von 7-Monochlormethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 39 (7-MM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	215
7.4.13	Synthese von 7-Cyanomethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 40 (7-CM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	216
7.4.14	Versuch der Synthese von 7-Nitromethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-d4T-monophosphat 41 (7-NM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	218
7.4.15	Synthese von 7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)- <i>cyclo</i> phthalogenyl-d4T-monophosphat 115 (7,7'-bis-ECM- <i>cyclo</i> Phthal-d4TMP)	219
7.5	Synthese der <i>cyclo</i> Sal-BVDU-monophosphate 116 (AAV-3)	221
7.5.1	Synthese von 6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl- <i>cyclo</i> saligenyl-BVDU-monophosphat 116a (6-Cl-7-ECM- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	222
7.5.2	Synthese von 6-Chlor-7-methyl- <i>cyclo</i> saligenyl-BVDU-monophosphat 116b (6-Cl-7-Me- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	224
7.5.3	Synthese von 6-Chlor-7-butyl- <i>cyclo</i> saligenyl-BVDU-monophosphat 116c (6-Cl-7-Bu- <i>cyclo</i> Sal-d4TMP)	225
7.5.4	Synthese von 6-Chlor- <i>cyclo</i> saligenyl-BVDU-monophosphat 116d (6-Cl- <i>cyclo</i> Sal-BVDUMP)	227
7.6	Synthese der <i>cyclo</i> Sal-ddA-monophosphate 117a-c und des <i>cyclo</i> -Sal-F- <i>ara</i> -ddA-monophosphats 118 (AAV-4)	229

7.6.1	Synthese von 3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA-monophosphat 117a (3-Me-7-ECM-cycloSal-ddAMP)	230
7.6.2	Synthese von 5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA-monophosphat 117b (5-Cl-7-ECM-cycloSal-ddAMP)	232
7.6.3	Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA-monophosphat 117c (3-Me-7-MSM-cycloSal-ddAMP)	234
7.6.4	Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-F-ara-ddA-monophosphat 118 (3-Me-7-MSM-cycloSal-F-ara-ddAMP)	235
7.7	Hydrolyseexperimente	238
7.7.1	Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten	238
7.7.2	³¹ P-NMR-Hydrolysestudien	239
7.8	Dichtefunktionalrechnungen	240
8	Literaturverzeichnis	242
9	Gefahrstoffe	253
	Ausklapptafel	255
	Publikationsliste	257
	Lebenslauf	259

1 Einleitung

Vor 18 Jahren wurde der HI-Virus (**H**uman **I**mmunodeficiency **V**irus), der die Immunschwächekrankheit AIDS (**A**cquired **I**mmunodeficiency **S**yndrom) auslöst^[1], entdeckt und isoliert^{[2],[3]}.

Trotz erster Erfolge im Bereich der Chemotherapie musste die Wissenschaft in den vergangenen Jahren erkennen, daß HIV ein hochvariabler Virus ist. Er bildet zwei große Familien, HIV-1 (Vorkommen vor allem in Nordamerika, Europa und Nordafrika) und HIV-2 (wird meist in Asien gefunden), die ihrerseits weiter in Subtypen zerfallen. Genetisch unterscheiden sich die einzelnen Typen um etwa 30 % in ihren Erbinformationen^[4]. Deshalb ist es bis heute nicht gelungen, einen Impfstoff zu entwickeln, der vor einer Infektion mit allen Typen schützen kann. Zudem wird dies durch die ständigen Veränderungen (Mutationen) des HI-Virus nahezu unmöglich. Auch die ersten antiviralen Medikamente unterliegen diesen variablen Bedingungen und verlieren erwartungsgemäß nach einer gewissen Zeit ihre Wirksamkeit. Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht über Präparate zur HIV-Therapie^[5] auf Nucleosid-Basis.

Tabelle 1: Übersicht über Präparate zur HIV-Therapie auf Nucleosid-Basis
(Stand: Sommer 2001)

Handelsname	Wirkstoff	Hersteller
Retrovir [®]	2',3'-Dideoxy-3'-azidothymidin (AZT) 1	Glaxo Smith Kline
Videx [®]	2',3'-Dideoxyinosin (ddI) 2	Bristol-Myers Squibb
Hivid [®]	2',3'-Dideoxycytidin (ddC) 3	Hoffmann-La Roche
Zerit [®]	2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) 4	Bristol-Myers Squibb
Ziagen [®]	Abacavir (ABC) 5	Glaxo Smith Kline
Epivir [®]	L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC) 6	Glaxo Smith Kline

HIV gehört zur Familie der Retroviren, d. h. die genetische Information des Virus liegt in Form von RNA vor, die dann mit Hilfe des ebenfalls im Viruspartikel enthaltenen

Enzyms Reverse Transkriptase (RT) in komplementäre DNA transkribiert wird. Abb. 1 zeigt den typischen Replikationszyklus eines Retrovirus^[6].

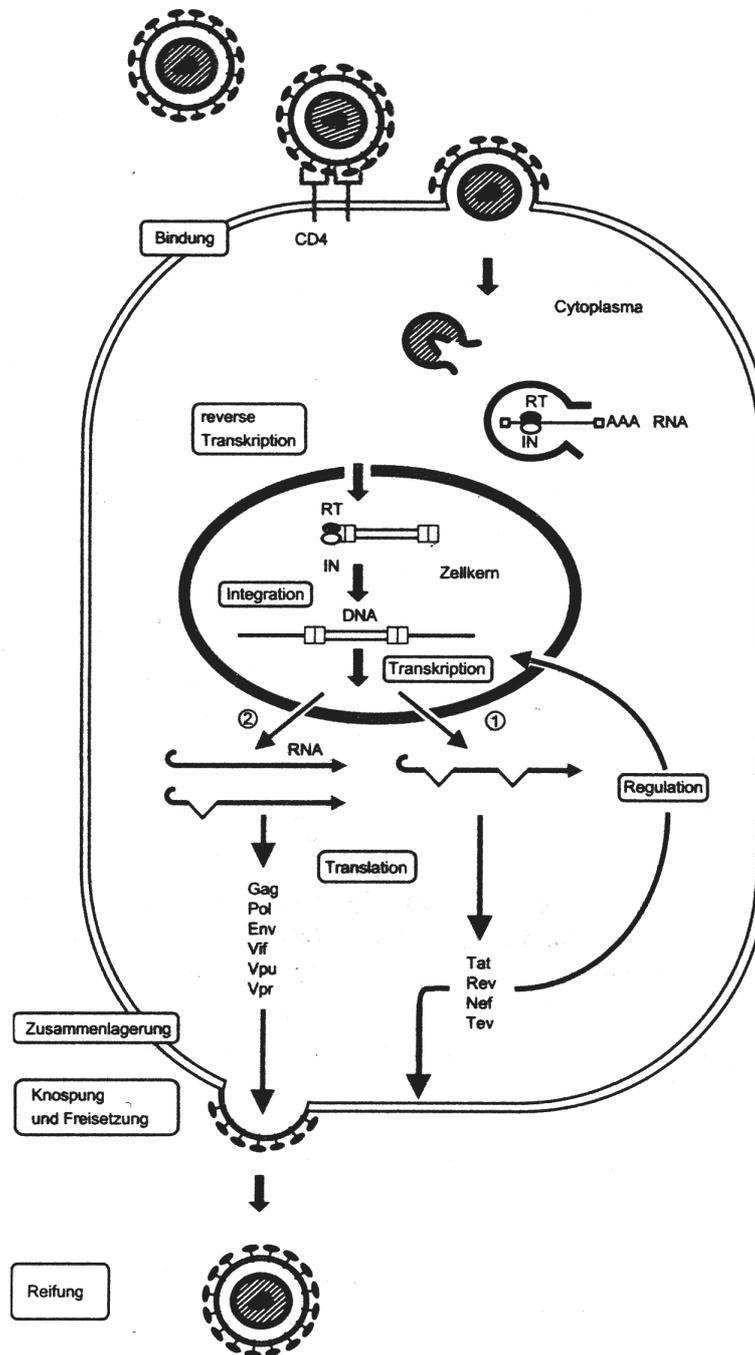


Abb. 1: Retroviraler Replikationszyklus^[6]

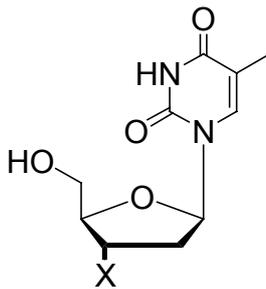
HIV befällt in der Regel CD4-positive Zellen, also Zellen, welche den Oberflächenrezeptor CD4 tragen (z. B. die T-Helferzellen des Immunsystems). In einem ersten Schritt bindet der Virus über den äußeren Teil seines Glycoproteinkomplexes an CD4, woraufhin die Virushülle mit der Zellmembran verschmilzt. Das freiwerdende

RNA-Genom des Virus (in Abb. 1 mit dem typischen Poly-A-Tail dargestellt) wird durch die RT in doppelsträngige komplementäre DNA transkribiert. Nach Eindringen des Transkripts in den Zellkern wird dieses mit Hilfe der viralen Integrase (IN) in das Genom der Wirtszelle integriert. Es folgt die Transkription der proviralen DNA durch die RNA-Polymerase II der Wirtszelle, die zunächst zur Bildung mehrfach gespleißter mRNA führt (Schritt 1 in Abb. 1). Die Translation dieser mRNA liefert die regulatorischen Proteine Tat, Rev, Nef und Tef, deren Import in den Zellkern eine Amplifikation der Transkription und die Bildung ungespleißter und einfach gespleißter mRNA bewirkt (Schritt 2 in Abb. 1). Die Translation dieser mRNA-Stränge im Cytosol führt nunmehr zur Bildung der viralen Strukturproteine, welche sich an der Cytoplasmamembran mit den als Virusgenom dienenden mRNA zusammenlagern. Auf diese Weise kommt es zur Knospung und Freisetzung noch unreifer Viruspartikel von der Zelloberfläche. Die Reifung zu infektiösen Partikeln erfolgt anschließend durch die Spaltung der Gag- und Gag/Pol-Vorläuferproteine durch die virale Protease^[6]. Da die RT des HI-Virus verhältnismäßig fehlerhaft arbeitet (ca. 1 Fehler auf 2000 Nucleotide), zeigt HIV eine stark erhöhte Mutationsrate, welche die Therapie zusätzlich erschwert^[7].

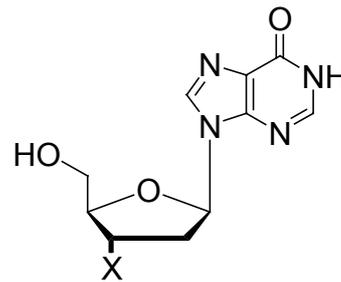
Zur Bekämpfung des HI-Virus erscheint es am aussichtsreichsten, in den Replikationszyklus einzugreifen, da hier die meisten Angriffspunkte liegen. Der retrovirale Replikationszyklus legt sechs Ansatzpunkte zur HIV-Therapie nahe^[8]:

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

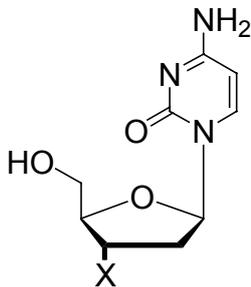
Von den genannten Angriffspunkten ist vor allem der der Reversen Transkription von besonderem Interesse, weil dieser Vorgang für Retroviren charakteristisch, aber gleichzeitig für die Wirtszelle bedeutungslos ist. Hemmstoffe der RT waren die ersten AIDS-Medikamente und sind bis heute am weitesten in der Entwicklung fortgeschritten. Die in Tabelle 1 (S. 1) vorgestellten Präparate sind allesamt RT-Inhibitoren. Abb. 2 gibt die Strukturformeln dieser Wirkstoffe zusammen mit ihren natürlichen Stammverbindungen wieder.



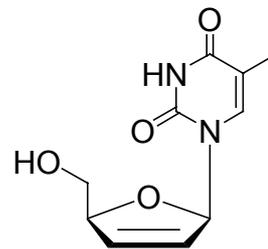
X = N₃: 2',3'-Dideoxy-3'-azidothymidin (AZT) **1**
X = OH: 2'-Desoxythymidin (dT) **7**



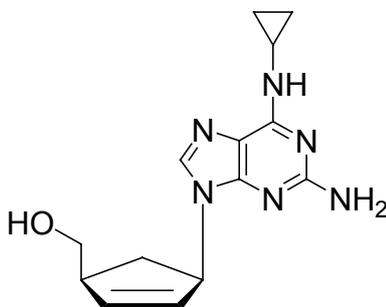
X = H: 2',3'-Dideoxyinosin (ddI) **2**
X = OH: 2'-Desoxyinosin (dI) **8**



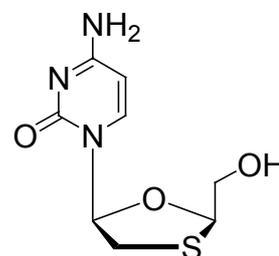
X = H: 2',3'-Dideoxycytidin (ddC) **3**
X = OH: 2'-Desoxycytidin (dC) **9**



2',3'-Dideoxy-2',3'-dideoxythymidin (d4T) **4**



Abacavir (ABC) **5**



L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC) **6**

Abb. 2: Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (**1-6**) und ihre natürlichen Stammverbindungen (**7-9**)

Bei den RT-Inhibitoren handelt es sich in der Regel um Nucleosid-Analoga. So leiten sich beispielsweise 2',3'-Didesoxy-3'-azidothymidin (AZT) **1** sowie 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) **4** vom natürlichen 2'-Desoxythymidin (dT) **7** ab, 2',3'-Dideoxyinosin (ddI) **2** ist ein Analogon des 2'-Desoxyinosins (dI) **8**, 2',3'-Dideoxycytidin (ddC) **3** hingegen ein Analogon des 2'-Desoxycytidins (dC) **9**. Abacavir (ABC) **5** stellt ein Basen-modifiziertes carbocyclisches Purin-Nucleosid dar, L-2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC) **6** ein Glycon-modifiziertes L-Cytidin. Allen RT-inhibierenden Nucleosid-Analoga ist gemein, daß sie keine 3'-Hydroxygruppe besitzen. Werden sie also in einen entstehenden DNA-Strang eingebaut, so kann keine weitere Elongation in 3'-Richtung erfolgen, so daß die reverse Transkription an dieser Stelle abbricht. Im Gegensatz zur Reversen Transkriptase besitzen die körpereigenen DNA-Polymerasen ein "Proof-reading"-System (verwirklicht unter anderem durch die 3'→5'-Exonucleaseaktivität der δ - und ε -DNA-Polymerasen), welches die in den DNA-Strang eingebauten Nucleosid-Analoga erkennt und eliminiert. Der Replikationszyklus der Wirtszelle sollte somit durch die Applikation der beschriebenen RT-Inhibitoren nicht negativ tangiert werden. Es handelt sich also um selektive antiretrovirale Wirkstoffe.

Andere Virusarten tragen ihre Erbinformation nicht in Form von RNA, sondern in Form von DNA (DNA-Viren). Dies trifft für den Herpes-Simplex-Virus (HSV), den Epstein-Barr-Virus (EBV), den Hepatitis-B-Virus (HBV) sowie den Varizella-Zoster-Virus (VZV) und den Cytomegalie-Virus (CMV) zu, die allesamt zur Familie der Herpes-Viren gehören. Da die virale DNA-Polymerase der Herpes-Viren eine zentrale Funktion im Replikationszyklus besitzt, stellt sie einen vielversprechenden Angriffspunkt in der antiviralen Herpes-Therapie dar. Zur Inhibition dieses Schlüssel-Enzyms werden vor allem acyclische Nucleosid-Analoga wie Acyclovir (ACV) **10**, Penciclovir (PCV) **11** und Ganciclovir (GCV) **12** eingesetzt (Abb. 3).

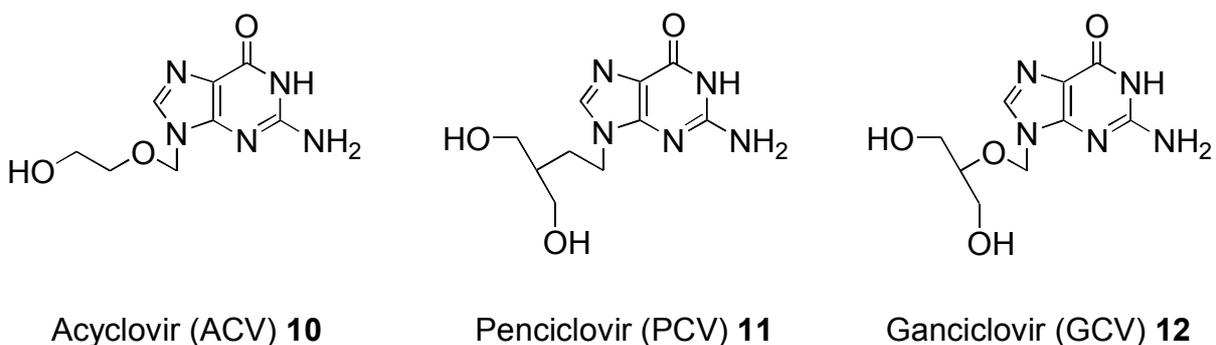


Abb. 3: Antiviral aktive acyclische Nucleosid-Analoga

Ein neuartiges Herpes-Therapeutikum stellt das cyclische Nucleosid-Analogon (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin (BVDU) **13** dar. Die Synthese der modifizierten Nucleobase (*E*)-5-(2-Bromvinyl)-uracil (BVU) **14**^[9] sowie des entsprechenden Desoxyribonucleosids BVDU **13** gelang erstmals in den 1970er Jahren und folgte unmittelbar auf die von Fissekis et al. berichtete Darstellung von 5-Vinyluracil^[10] (Abb. 4).

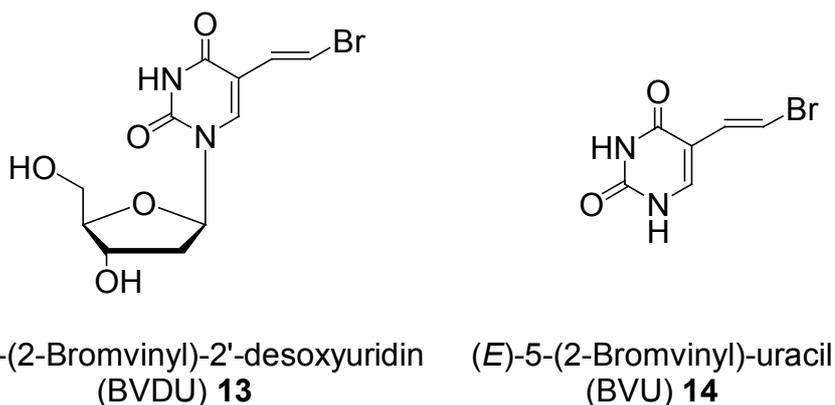


Abb. 4: Das neuartige Herpes-Therapeutikum BVDU **13** und seine modifizierte Nucleobase BVU **14**

Nach der Entdeckung der guten antiviralen Eigenschaften von BVDU **13** im Jahre 1979 durch De Clercq et al.^[11] erfolgten weitere Untersuchungen, in deren Verlauf die Wirksamkeit von **13** gegenüber VZV, CMV sowie gegen HSV-1 nachgewiesen werden konnte^[12-14]. Als problematisch erwies sich jedoch die in humanem Blut erfolgende enzymatische Spaltung von **13** zu BVU **14** und 2'-Desoxyribose^[15]. Die antivirale Wirkung von **13** beruht zum einen auf der kompetitiven Inhibition der viralen DNA-Polymerase durch das BVDU-Triphosphat, welches intrazellulär durch enzymatische Phosphorylierung von **14** gebildet werden muss. Andererseits kommt es zum Einbau in die DNA, wonach die Bromvinyl-Funktion unter anderem durch Ausbildung sogenannter "cross links" mit anderen DNA-Strängen die Ausbildung der nativen DNA-Struktur stört und so die Funktion der synthetisierten DNA behindert.

Gegenwärtig findet BVDU **13** unter dem Handelsnamen Brivudin[®] medizinische Anwendung als Virustatikum und lässt sich beispielsweise bei Herpes-Zoster-Erkrankungen deutlich niedriger dosieren als die acyclischen Nucleosid-Analoga **10-12**^[16].

2 Kenntnisstand

2.1 Das Prodrug-Konzept

Da Nucleotide stets in der Form ihrer Nucleosid-Triphosphate als aktivierte Vorstufen in DNA-Stränge eingebaut werden, müssen auch die therapeutisch eingesetzten Nucleosid-Analoga zu Triphosphaten metabolisiert werden^[17]. Dies geschieht in der Regel durch die zelleigenen Kinasen, welche auch die natürlichen Nucleoside phosphorylieren^[18]. Im Fall von BVDU **13** sind darüber hinaus auch virale Kinasen am Metabolismus beteiligt. Insgesamt müssen drei Phosphorylierungsreaktionen katalysiert werden (Abb. 5): d4T **4** beispielsweise wird von der zellulären Thymidin-Kinase (TK), einem Enzym des "salvage pathways" für Thymidin, zunächst zum 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidylat (d4TMP) phosphoryliert. Dieses wird nun wiederum durch die Thymidylat-Kinase zum 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin-diphosphat (d4TDP) umgesetzt. Die Nucleosiddiphosphat-Kinase katalysiert schließlich die Reaktion von d4TDP zum biologisch aktiven 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin-triphosphat (d4TTP).

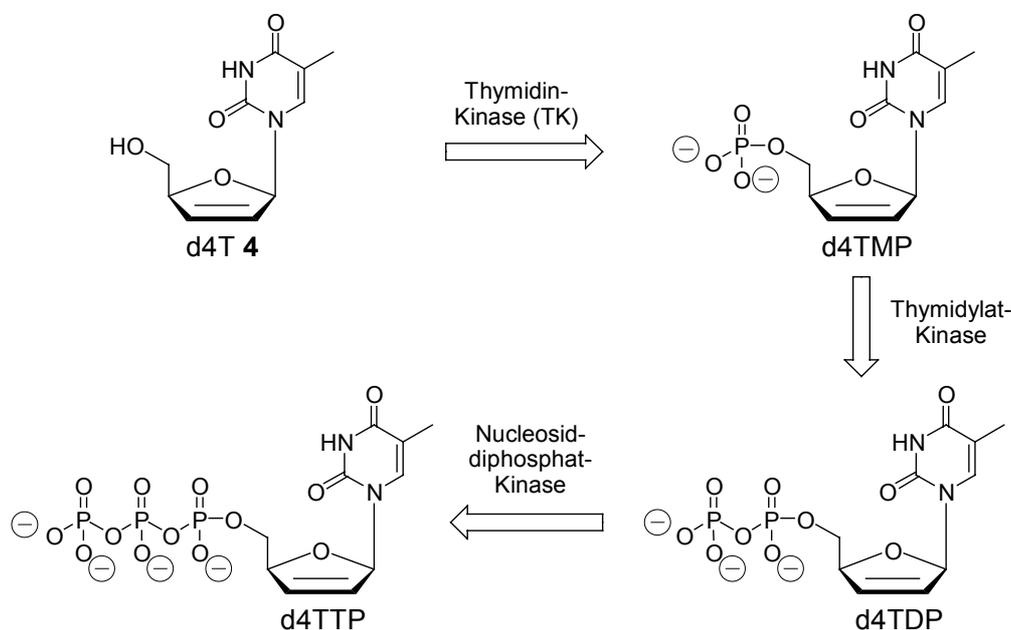


Abb. 5: Metabolisierung von d4T **4**

Aufgrund der Substratspezifität der beteiligten Kinasen können die Phosphorylierungsschritte für die Nucleosid-Analoga gehemmt sein^[17]. Für d4T **4** lässt sich feststellen, daß insbesondere die erste Phosphorylierung durch die Thymidin-Kinase nur sehr langsam abläuft, wohingegen die nachfolgenden Reaktionen praktisch keine

Beeinträchtigung der enzymkinetischen Parameter aufweisen. Somit sollte die direkte Applikation von d4TMP die therapeutische Wirksamkeit der d4T-basierten Medikamente entscheidend verbessern (TK-Bypass, Abb. 6).

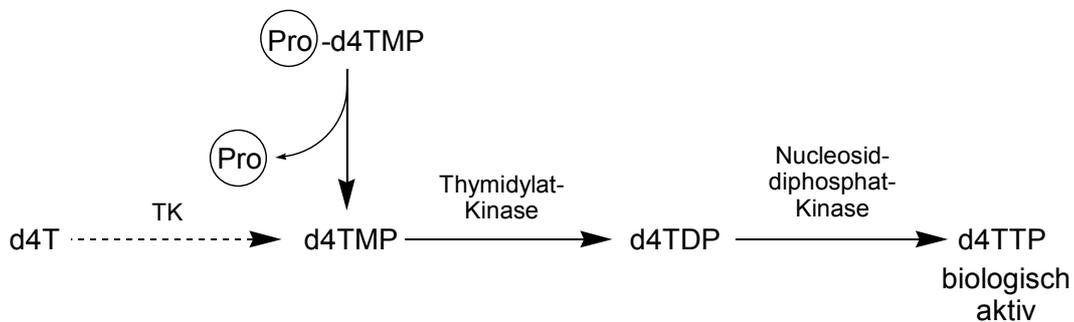


Abb. 6: Schematische Darstellung des TK-Bypass-Konzeptes

Allerdings stellen phosphorylierte Nucleosid-Analoga biochemisch höchst problematische Substanzen dar: Zum einen sind sie als geladene Moleküle nicht ausreichend lipophil für einen passiven Transport durch die selektiv permeable Zellmembran; ein aktiver Transportmechanismus existiert nicht^[19]. Darüber hinaus werden derartige Verbindungen im Blut durch nichtspezifische Phosphatasen schnell dephosphoryliert, was ihre Verfügbarkeit im Organismus stark einschränkt^[20]. Ein Lösungsansatz für das geschilderte Problem besteht in der intrazellulären Freisetzung der Nucleosid-5'-Monophosphate (Nucleotide) aus Wirkstoff-Vorläufern, sogenannten "Prodrugs" (hier: Pro-Nucleotide). An ein Prodrug werden generell drei Anforderungen gestellt:

- Es muss lipophil genug sein, um passiv durch die Zellmembranen und die Blut-Hirn-Schranke diffundieren zu können.
- Der Wirkstoff muss durch enzymatische oder hydrolytische Abspaltung einer sogenannten "Maske" freigesetzt werden.
- Die Maske darf nicht toxisch sein.

In den letzten Jahren wurden einige mögliche Prodrug-Systeme entwickelt^[21]. Man unterscheidet allgemein zwischen zwei- und dreiteiligen Prodrugs (Abb. 7, S. 9). Im Fall des zweiteiligen Prodrug-Konzeptes liegt der Wirkstoff in einer durch eine Ein-Komponenten-Maske geschützten, biologisch inaktiven Form vor. Die Abspaltung der Maske führt zur Freisetzung des aktiven Wirkstoffes. Beim dreiteiligen Prodrug-Konzept hingegen wird der Wirkstoff durch eine Zwei-Komponenten-Maske geschützt. Die Abspaltung eines Teils der Maske führt zur Aktivierung des verbliebenen Teils der Maske (in Abb. 7, S. 9 durch ein " * " gekennzeichnet), so daß die spontane Freisetzung des biologisch aktiven Wirkstoffes erfolgt.

Zweiteiliges Prodrug-Konzept:



Dreiteiliges Prodrug-Konzept:

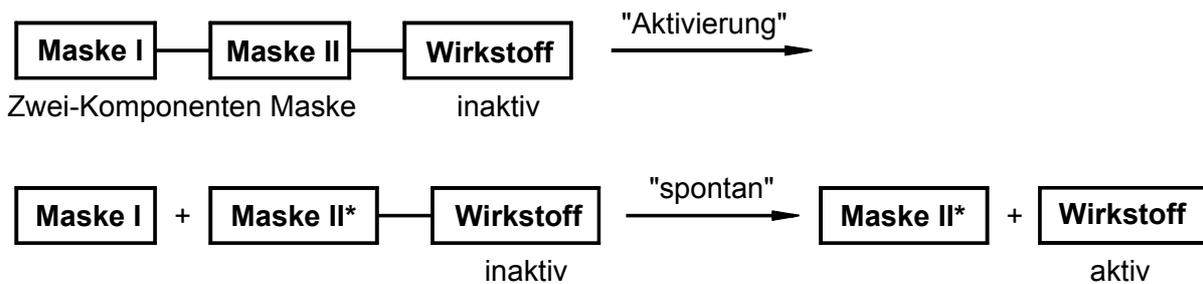


Abb. 7: Schema zum zweiteiligen und dreiteiligen Prodrug-Konzept

Im Fall der Pro-Nucleotide muss man berücksichtigen, daß zwei Sauerstoffatome anwesend sind, die unter physiologischen Bedingungen negativ geladen sein können. Sie müssen maskiert und in neutrale, lipophile Phosphatester verwandelt werden (Abb. 8).

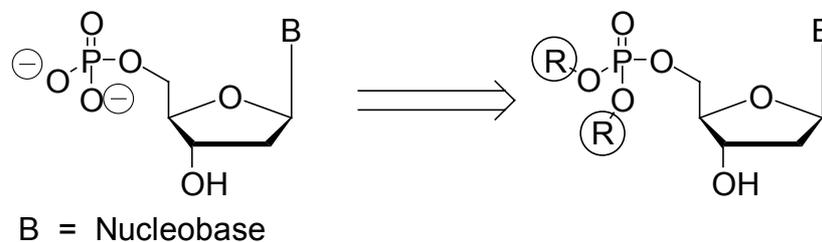


Abb. 8: Vom Nucleotid zum Pro-Nucleotid

Notwendigerweise benötigt man für ein Nucleotid zwei Masken, die entweder einen spezifischen Freisetzungsmechanismus oder intrazellulär gegen extrazellulär differenzierende Umsetzungsraten des Prodrugs zum Wirkstoff besitzen müssen, um eine effiziente, intrazelluläre Freisetzung des Nucleotids aus dem Prodrug zu gewährleisten. Erste Versuche mit Dialkylphosphatestern (zweiteiliges Prodrug-Konzept) zeigten, daß die Abspaltung einer Maske durch nucleophile Reaktion am Phosphorzentrum sehr wohl möglich ist. Die negative Ladung des entstehenden Phosphatdiesters verhinderte jedoch eine weitere Hydrolyse, so daß es nicht zur Freisetzung des Wirkstoffes kam^[22]. Neuere dreiteilige Ansätze gehen von Masken aus, bei denen

eine erste selektive chemische oder enzymatische Reaktion innerhalb der Maske zu einer zweiten spontanen Reaktion führt, die schließlich das biologisch aktive Nucleotid liefert. Als Beispiele für enzymgesteuerte Systeme seien hier genannt:

- Bis-(POM)-Nucleotide [Bis-(**P**ivaloyloxymethyl)-]^[23-27]
- Bis-(POC)-Nucleotide [Bis-(*iso*-**P**ropyloxycarbonyloxymethyl)-]^[28]
- Bis-(SDTE)-Nucleotide [Bis-(**S**-(2-Hydroxyethylsulfidyl)-2-thioethyl)-]^[29]
- Bis-(SATE)-Nucleotide [Bis-(**S**-Acyl-2-thioethyl)-]^[30-33]
- Bis-(SGTE)-Nucleotide [Bis-(**S**-(β -**G**lucopyranosidyl)-2-thioethyl)-]^[34]
- Phosphoramidat-Nucleoside^[35-42]

Für all diese enzymatisch gesteuerten Systeme konnte erfolgreich die intramolekulare Freisetzung von Nucleotiden demonstriert werden. Ein Pro-Nucleotid aus der Bis-(POC)-Serie hat vor kurzem unter dem Handelsnamen Viread™ die klinische Zulassung erhalten^[43]. Doch sind diese Systeme in ihrem Anwendungsbereich auf solche Zellen beschränkt, die das entsprechende Enzym enthalten. Ein optimaler und effektiver Wirkstoff sollte aber von solchen Einschränkungen befreit sein, um den Virus im Organismus schnell und vollständig zu eliminieren, ohne den Viren die Möglichkeit zur Resistenzbildung zu geben. C. Meier et al. haben einen neuen, ebenfalls dreiteiligen Prodrug-Typus entworfen und synthetisiert: die **cycloSaligenyl-Nucleosidmonophosphate** (*cycloSal-NMP*, vgl. Kap. 2.2). Das *cycloSal*-Konzept verwendet, im Unterschied zu fast allen anderen Pro-Nucleotid-Systemen, nur eine cyclische Maske, so dass sich ein das günstigere Verhältnis Wirkstoff/Maske von 1:1 ergibt. Darüber hinaus wird die Abspaltung der Maske ausschließlich durch chemische Hydrolyse induziert, so daß die Anwendung der *cycloSal*-Pro-Nucleotide nicht auf Zellen beschränkt ist, welche die zur Abspaltung der Maske notwendigen Enzyme enthalten.

Auch in der Herpes-Therapie ist eine Applikation von BVDU-Monophosphat (BVDUMP) in Form eines geeigneten Pro-Nucleotids überaus wünschenswert, da beispielsweise für EBV im Gegensatz zu HSV-1 und VZV keine virale TK existiert, die eine Metabolisierung von BVDU **13** zu BVDUMP bewirkt^[44]. Für das BVDUMP wurden bisher zwei Prodrug-Systeme erprobt, die jedoch beide nicht das gewünschte Nucleosidmonophosphat freisetzen:

- Phenylester von 5',5'-Bis-Nucleotiden^[45]
- Trimere 2',5'-Oligonucleotide mit BVDU am 2'-Ende^[46]

Zur Bereitstellung von BVDUMP erscheint daher eine Applikation des *cycloSal*-Konzepts ebenfalls aussichtsreich.

2.2 Das *cycloSal*-Konzept

Bei der selektiven Freisetzung der Nucleosidmonophosphate aus den *cycloSal*-NMPs ist die Kopplung der zwei Esterhydrolyse-Schritte von entscheidender Bedeutung, da die chemische^[47] bzw. oft auch die enzymatische Hydrolyse^[48] der intermediär gebildeten Phosphatdiester extreme Schwierigkeiten bereitet. Durch die Einführung der unterschiedlich stabilen Phenyl-^[49,50], Benzyl-^[51] und Alkyl-Phosphatester in der *cycloSal*-Grundstruktur gelingt es jedoch, chemisch zwischen den einzelnen Phosphatester-Bindungen zu diskriminieren und so eine kontrollierte Hydrolyse des dreiteiligen Prodrug-Systems zu ermöglichen^[22]. So konnte für Bis-Phenyl-^[49,50] und Bis-Benzylphosphatdiester^[51] gezeigt werden, dass diese selektiv zu Phenyl- bzw. Benzylphosphatdiestern hydrolysieren.

Allerdings unterscheiden sich die jeweiligen Hydrolysemechanismen. So wird die Spaltung der Bis-Phenylphosphatdiester durch nucleophilen Angriff eines Hydroxid-Anions auf das Phosphoratom eingeleitet. Spaltung einer der Phenylphosphatester-Bindungen liefert dann einen Phenylphosphatdiester. Die dabei entstandene negative Ladung am Phosphoratom verhindert jedoch einen weiteren nucleophilen Angriff, so daß die weitere Hydrolyse des Phenylphosphatdiesters unterbunden wird^[52]. Im Fall der Bis-Benzylphosphatdiester wird die Hydrolyse durch einen spontanen Benzyl-C-O-Bindungsbruch eingeleitet. Das dabei entstehende Benzyl-Kation wird dann durch Wasser abgefangen und liefert Benzylalkohol. Auch hier findet keine Spaltung der zweiten Benzylphosphatester-Bindung mehr statt. Hier verhindert die durch die erste Esterspaltung entstandene negative Ladung am Phosphoratom die Fähigkeit des 5'-Nucleosidphosphat-Fragments, als Austrittsgruppe zu fungieren^[51].

Weiterhin konnte in Experimenten mit Bis-Phenylphosphatdiestern die Abhängigkeit der Hydrolysestabilität vom Substitutionsmuster am Aromaten demonstriert werden. So nimmt die Stabilität der Bis-Phenylphosphatdiester umso mehr ab, je stärker Elektronen-ziehend die Substituenten am Aromaten sind^[49,50]. Umgekehrt zeigten sich die Verhältnisse für Bis-Benzylphosphatdiester: Ihre Stabilität nahm umso mehr ab, je stärker die Elektronen-liefernden Eigenschaften der Aryl-Substituenten waren^[51].

Auf diesen Ergebnissen basierend schien es aussichtsreich, eine bifunktionelle Maske zu entwickeln, die zur Phosphat-Gruppe eines Nucleotids sowohl eine Phenyl- als auch eine Benzyl-Ester-Bindung ausbildet und die unterschiedlichen Spaltungsmechanismen dieser Ester zur selektiven und kontrollierten Freisetzung des Nucleotids ausnutzt. Die Abbildung 9 zeigt Salicylalkohol **15a** (X = H) als idealen Prototypen für eine solche bifunktionelle Maske, zusammen mit der allgemeinen Grundstruktur eines *cycloSal*-Nucleotids.

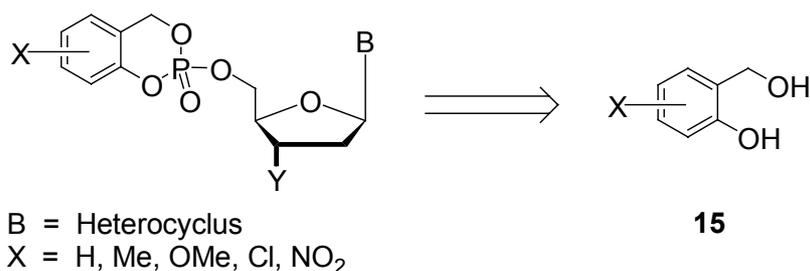


Abb. 9: Allgemeine Struktur der *cycloSal*-Nucleotide und der Salicylalkohole **15**

Die *cycloSal*-NMPs (Abb. 9) werden synthetisiert, um eine selektive und ausschließlich pH-gesteuerte, chemische Freisetzung von Nucleosid-Analoga zu realisieren^[53]. Der labilste Ester in den *cycloSal*-NMPs (z.B. *cycloSal*-d4TMP **16a**, X = H, Abb. 10) ist der Phenylester, da nach seiner Spaltung zum 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **17** (Schritt a, Abb. 10) die negative Ladung am Sauerstoff durch den aromatischen Ring Mesomerie-stabilisiert werden kann.

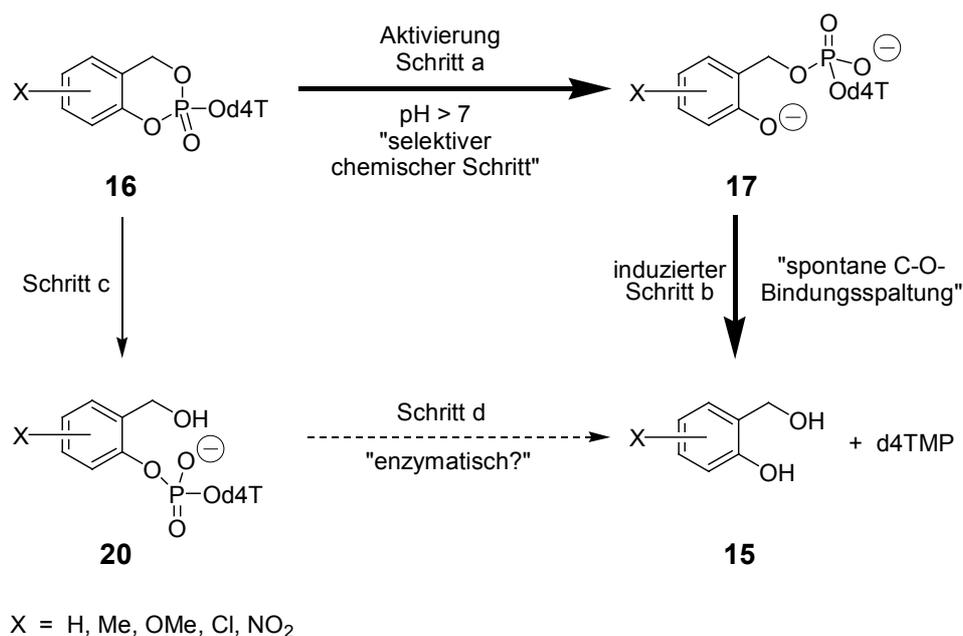


Abb. 10: Selektive Freisetzung von d4TMP aus *cycloSal*-d4TMPs **16**

Die alternative Spaltung des Benzylesters in **16**, die zum 2-Hydroxymethylphenylphosphatdiester **20** führt (Schritt c, Abb. 10, S. 12), ist wegen des Phosphatrestes (Akzeptor-Substituent) in *ortho*-Position zum Benzylester unwahrscheinlich, da Akzeptor-Substituenten am Aromaten die Hydrolyse von Benzylestern stark verlangsamen^[51]. Daher wird im ersten Schritt der Phenylester selektiv gespalten, wodurch der zur Benzylgruppe *ortho*-stehende Akzeptor-Substituent (Phosphat) in einen Donor-Substituenten (Hydroxylat) verwandelt wird. Das Ergebnis dieser Umpolung des *ortho*-Substituenten der Benzylgruppe ist die Aktivierung zur spontanen Spaltung des Diesters **17** (Donor-Substituenten am Aromaten ermöglichen eine schnelle Hydrolyse von Benzylestern^[51]), um in das Nucleotid d4TMP und, wahrscheinlich über ein zwitterionisches Intermediat, in das Diol **15** zu zerfallen (Tandem-Reaktion; Schritt b, Abb. 10, S. 12).

Der Hydrolysemechanismus wurde mittlerweile durch die Verwendung multinuklearer NMR-Spektroskopie (¹H-, ¹³C-, ³¹P-NMR)^[53] und Massenspektrometrie genau aufgeklärt. Auch die chemische Hydrolyse von *cycloSal*-d4TMP-Derivaten **16** hat die Bildung des Nucleotids und des Salicylalkohols **15**^[54] bestätigt. Erfolgreich verliefen Tests mit den anti-HIV Nucleosiden d4T **4**^[53,54] für den TK-Bypass sowie mit 2',3'-Dideoxyadenin^[55-57] (ddA **21**, Abb. 11, S. 14) und weiteren Adenosin-Derivaten^[56,58,59] für den Adenosin-Desaminase- (ADA-) Bypass. Der Hauptunterschied zu enzymatisch aktivierten Pro-Nucleotid-Konzepten (vgl. Kap. 2.1) liegt in der Notwendigkeit nur eines einzelnen Aktivierungsschritts, um bereits das Nucleotid bereitzustellen. Bei enzymatischer Aktivierung hingegen sind oft Aktivierungsschritte für beide Esterspaltungen nötig. Außerdem wird im Gegensatz zu fast allen anderen Pro-Nucleotid-Systemen nur eine Maskengruppe freigesetzt, was auf das bidente Verhalten der *cycloSal*-Maske zurückzuführen ist.

Die Effektivität der *cycloSal*-Nucleotide wurde bei antiviralen *in-vitro* Tests demonstriert. Bei Hydrolysestudien wurde für die *cycloSal*-d4TMPs **16** eine Korrelation zwischen ihrer Struktur und der biologischen Aktivität gefunden: Je stärker die Elektronendonorfähigkeit des Substituenten am Aromaten ist, desto besser ist die antivirale Aktivität gegen HIV-1 und HIV-2 in CEM/O Zellen. Die 3- und 5-Methyl- genauso wie 3,5-Dimethyl-*cycloSal*-d4TMP weisen in Wildtyp-Zelllinien sogar eine höhere antivirale Wirksamkeit (0.09 μ M) als d4T **4** (0.18 μ M) auf^[54]. Der überzeugendste Befund ist die Beibehaltung der biologischen Aktivität der meisten Verbindungen in Thymidin Kinase-defizienten CEM/TK⁻ Zellen. Nur das extrem labile 5-Nitro-*cycloSal*-

d4TMP zeigt hierbei einen völligen Verlust der biologischen Aktivität. Darüber hinaus wurden Metabolismus-Studien mit Tritium-markierten *cycloSal*-Nucleotiden durchgeführt^[60,61]. Diese Ergebnisse bestärken die selektive intrazelluläre Freisetzung von d4TMP und sind ein weiterer Beweis für die Effizienz des TK-Bypasses.

Das *cycloSal*-Konzept wurde auch erfolgreich mit dem Nucleosid ddA **21** (Abb. 11) zur Bereitstellung von ddAMP angewendet.

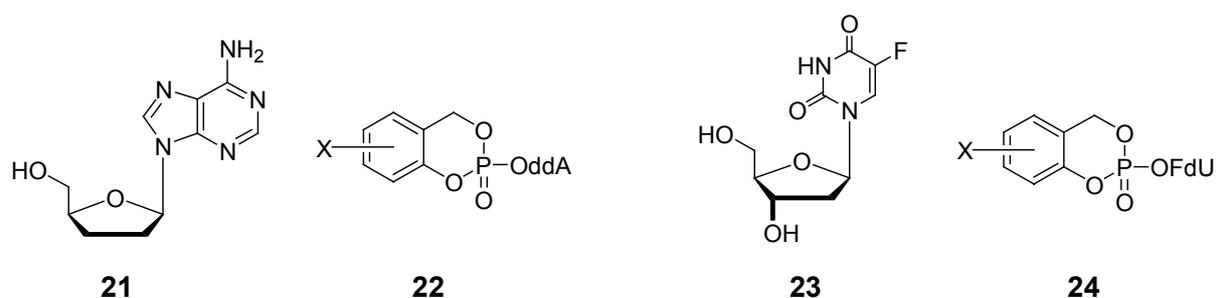


Abb. 11: Strukturformeln für 2',3'-Dideoxyadenin (ddA **21**), 5-Fluor-desoxyuridin (FdU **23**), *cycloSal*-ddAMPs **22** und *cycloSal*-FdUMPs **24**

Die *cycloSal*-ddAMPs **22** besitzen eine sehr hohe antivirale Aktivität in CEM/O-Zellen (0.03 μM , das ist eine Steigerung um das 100-fache verglichen mit ddA **21** (3.17 μM))^[55]. Neben der hohen Aktivität wurde eine Steigerung des Selektivitätsindex um das 15-fache festgestellt. Wieder sind die Ergebnisse ein Beweis für die effiziente Bereitstellung des Nucleotids ddAMP. Hervorzuheben ist weiter, daß die *cycloSal*-ddAMP-Triester **22** vollkommen stabil gegen enzymatische Desaminierung durch die Adenosin-Desaminase (ADA) oder die Adenosin-Monophosphat-Desaminase (AMPDA) sind^[56].

Neben den Dideoxynucleosiden d4T **4** und ddA **21** wurde das *cycloSal*-System auch auf AZT **1** angewendet^[62]. Erstaunlicherweise verloren die entsprechenden *cycloSal*-AZTMP-Derivate beinahe die gesamte antivirale Aktivität in mutierten CEM/TK⁻ Zellen, obwohl die *in-vitro*-Aktivität in den Wildtyp-CEM-Zelllinien identisch mit der vom Nucleosid AZT **1** war. Anscheinend gibt es eine besondere metabolische Limitierung, die gegen die Beibehaltung der Aktivität in TK⁻-Zellen agiert^[63].

Ein vergleichbarer Verlust der biologischen Aktivität wurde ebenfalls bei verschiedenen *cycloSal*-5-FdUMP-Phosphatrestern^[64] **24** (Abb. 11) beobachtet. In diesen Fällen war sogar die anti-Tumor-Aktivität der Phosphatrestriester niedriger als die des entsprechenden 5-FdUs **23** (Abb. 11).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das *cycloSal*-System das erste Beispiel für ein erfolgreiches Nucleotid-freisetzendes Pronucleotidsystem ist, welches

nicht enzymatisch gestartet werden muss, sondern durch einfache chemische Hydrolyse mittels einer Tandem-Reaktion den Wirkstoff freisetzt. Die Vorteile des *cycloSal*-Konzepts liegen in der vergleichsweise einfachen synthetischen Verfügbarkeit und in der befriedigenden Löslichkeit der Verbindungen im wässrigen Medium.

Unter Berücksichtigung der potentiellen Toxizität der abgespaltenen Masken ergibt sich ein weiterer Vorteil des *cycloSal*-Konzepts aus dem günstigen Verhältnis Wirkstoff/Maske (1:1), das bei anderen Pronucleotid-Systemen, die eine enzymatische Aktivierung benötigen, 1:4 beträgt (vgl. Imbach^[29], Farquhar^[23], McGuigan^[35]).

Die Ursache für die in Zelltests gemessene Cytotoxizität (CC_{50}) der *cycloSal*-Phosphatriester von d4T **4**, AZT **1** und ddA **21** ist jedoch noch ungeklärt. Betrachtet man den Hydrolysemechanismus, besonders den zweiten Schritt (Abb. 10, S. 12; induzierter Schritt b) genauer, so kann als Intermediat das reaktive Chinonmethid **18** nach Abspaltung der *cycloSal*-Maske von den *cycloSal*-Phosphatriestern auftreten (Abb. 12).

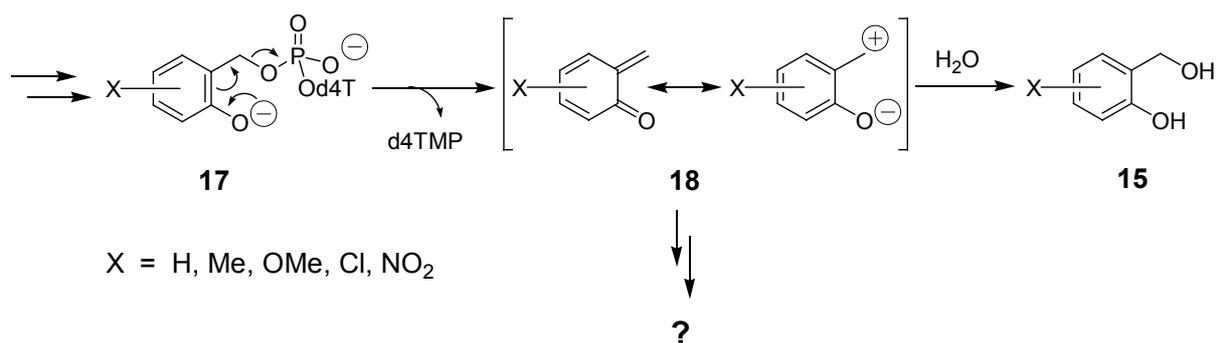


Abb. 12: Potentielles Intermediat **18** bei der Hydrolyse von *cycloSal*-d4TMPs **16**

Die Reaktion dieses Intermediates **18** mit Wasser liefert das Salicylalkoholderivat **15**, doch sind neben dem nucleophilen Angriff von Wasser auch Reaktionen mit anderen in der Zelle vorhandenen Nucleophilen denkbar (z. B. nucleophile Stellen in der DNA, in Proteinen, in Aminosäuren u. a.). Diese Nebenprodukte bzw. deren Metabolite könnten dann für toxische Nebenwirkungen verantwortlich sein.

Glazier et al. stellten ähnliche Überlegungen^[65] an. Sie nahmen an, dass die Solvolyse der *para*-Hydroxybenzyl-Derivate **25** über das reaktive Chinonmethid-Intermediat **26** verläuft (Abb. 13, S. 16). Dieses liefert nach nucleophilem Angriff durch Wasser den *para*-Hydroxybenzylalkohol **27**, doch kann es auch mit anderen Nucleophilen aus der Zellumgebung reagieren^[66] und auf diese Weise potentiell toxische Nebenprodukte verursachen.

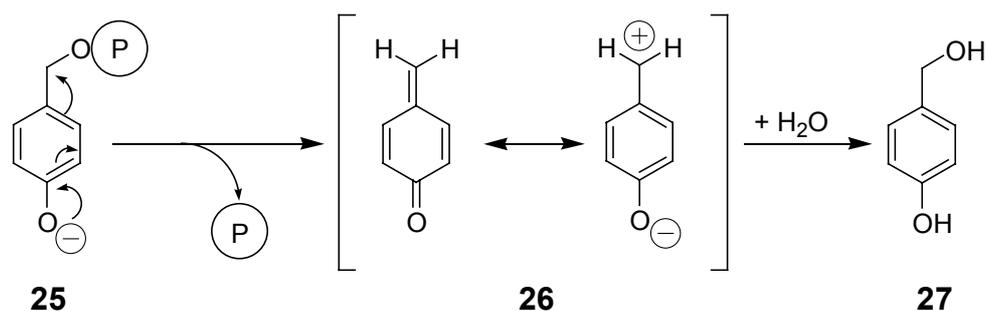


Abb. 13: Intermediat **26** bei der Solvolyse von *para*-Hydroxybenzyl-Derivaten **25**

Um diese potentielle Quelle toxischer Nebenreaktionen auszuschließen, versuchten Glazier et al. Benzyl-derivate zu entwerfen, die statt durch eine nucleophile Abfangreaktion (S_N1 -Reaktion) durch eine intramolekulare Eliminierungsreaktion ($E1$ -Reaktion) abgebaut werden. Bei der Hydrolyse von 1-Chlor-1-phenylethan **28** wurde neben der Bildung von 1-Phenylethanol **29** auch ein kleiner Anteil Styrol **29'** (Eliminierungsprodukt) beobachtet^[67] (Abb. 14).

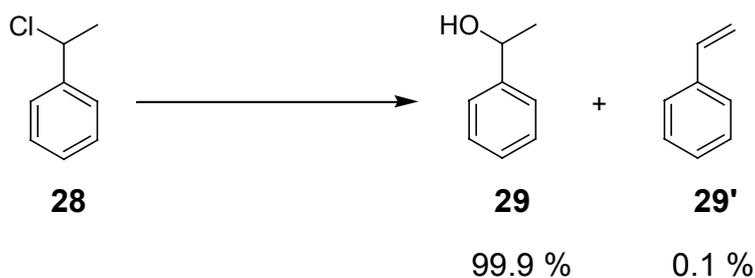


Abb. 14: Produktverteilung bei der Hydrolyse von 1-Chlor-1-phenylethan **28**

Um bei Freisetzung von Acyclovirmonophosphat aus den Prodrugs **30** (Abb. 15) den Reaktionsmechanismus in Richtung einer Eliminierung zu verschieben, haben Glazier et al. die Energiebarriere für eine Protonenabstraktion durch Einführen der Methoxycarbonylgruppe als einer Elektronen-ziehenden Gruppe (EWG) in der Nachbarstellung zum Carbokation gesenkt.

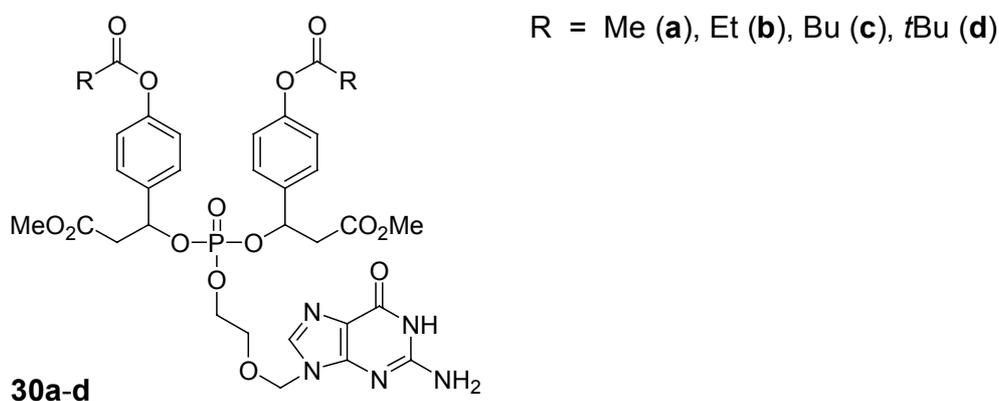


Abb. 15: Benzyl-substituierte Acyclovirmonophosphat Prodrugs **30**

In einem durch das Enzym Carboxyesterase ausgelösten Hydrolyse-Experiment^[65] mit **30a** konnten sie die Bildung von Essigsäure, Methanol, Acyclovirmonophosphat und des Eliminierungsproduktes *para*-Hydroxycimtsäure **32'** (Abb. 16) ¹H- bzw. ³¹P-NMR-spektroskopisch eindeutig nachweisen. Das Enzym Carboxyesterase diente dabei zur Auslösung der Freisetzung des Nucleotides durch enzymatische Hydrolyse der mit Essigsäure veresterten *para*-Hydroxy-Gruppen in **30a**. Den Hydrolysemechanismus stellt man sich wie folgt vor^[65] (Abb. 16):

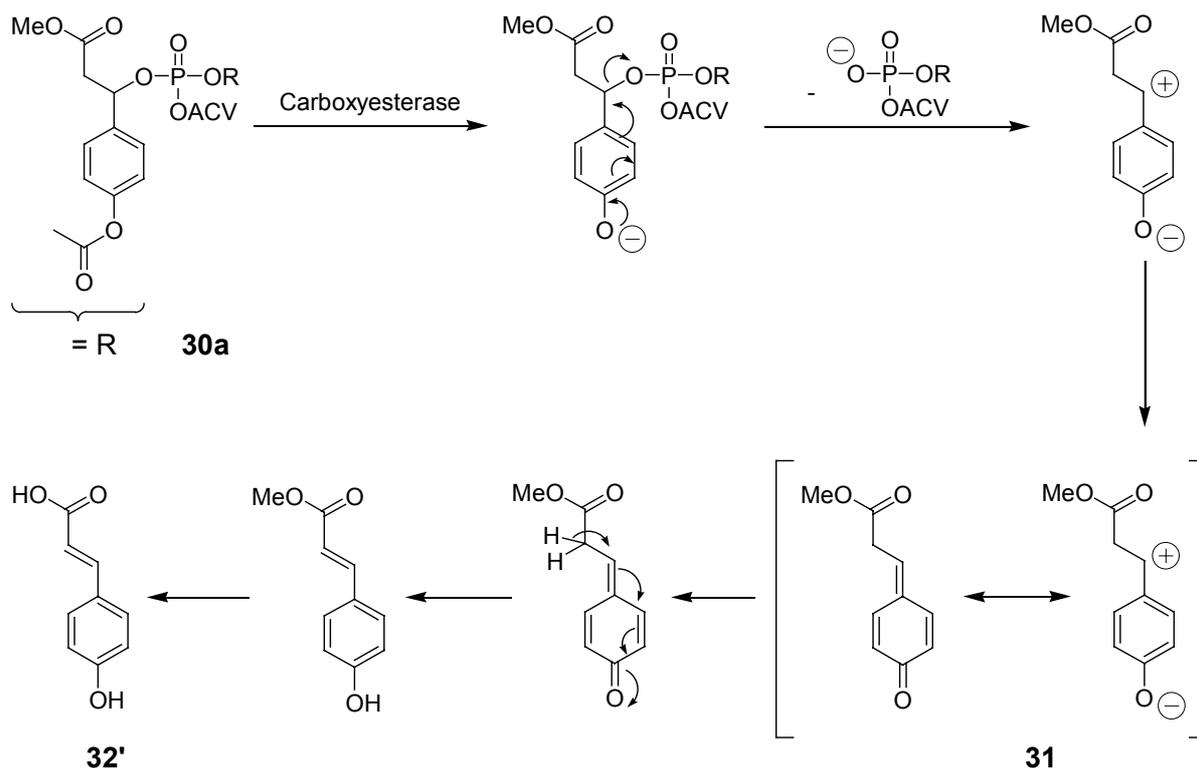


Abb. 16: Vorgeschlagener Mechanismus für die Eliminierung^[65]

Nach Freisetzen der *para*-Hydroxy-Gruppe in **30a** löst dies die Spaltung des Benzylphosphatesters unter Bildung des Chinonmethid-Intermediates **31** aus. Dieses Intermediat wird durch Resonanz mit dem aromatischen System stabilisiert. Durch die der Benzylposition benachbarte elektronenziehende Gruppe (Methoxycarbonylgruppe) ist dann die Geschwindigkeit der Eliminierung eines der Benzylposition benachbarten Protons sehr viel höher als die Geschwindigkeit eines nucleophilen Angriffs durch das Lösungsmittel oder andere Nucleophile. Außerdem kann auch die Methoxycarbonylgruppe in einer allgemeinen Basenkatalyse diese Eliminierung auslösen.

In *in vivo*-Experimenten konnten Glazier et al. zeigen, daß die neu entworfenen Prodrugs **30** eine sehr niedrige Toxizität besitzen. So liegt die maximal tolerierte Dosis bei Mäusen über 100 mg/kg Körpergewicht. Diese Dosis überschreitet die Menge an

Wirkstoff, die in therapeutischen Tests örtlich aufgenommen wird, um mindestens das 1000-fache^[65].

Im Rahmen meiner Diplomarbeit wurden zu den Arbeiten von Glazier analoge Untersuchungen mit Benzyl-substituierten *cycloSal*-Nucleotiden durchgeführt^[68]. Abbildung 17 zeigt die zu diesem Zweck erstmalig synthetisierten Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33a** und **34a**.

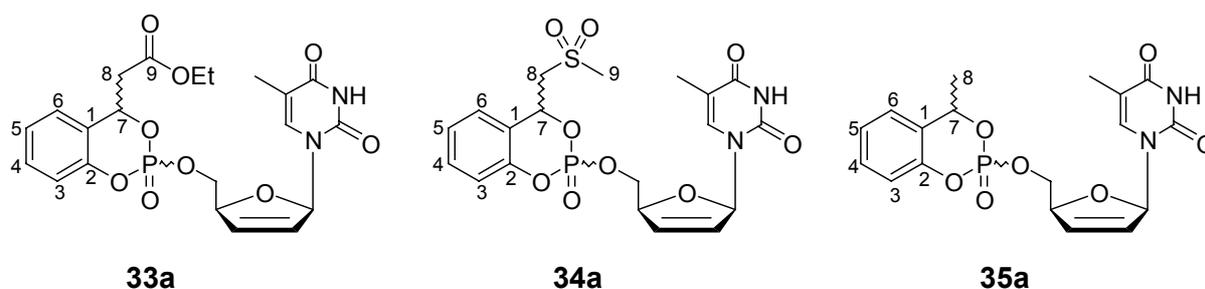


Abb. 17: Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a**

Dabei stellte sich die Frage, ob es durch Anbringen von Substituenten mit Elektronen-ziehenden Gruppen in der Benzylposition (Verbindungen **33a** und **34a**, Abb. 17) analog zu Glazier^[65] et al. gelingt, die nucleophile Abfangreaktion des Chinonmethid-Intermediats zugunsten einer Eliminierungsreaktion zurückzudrängen (Abb. 18).

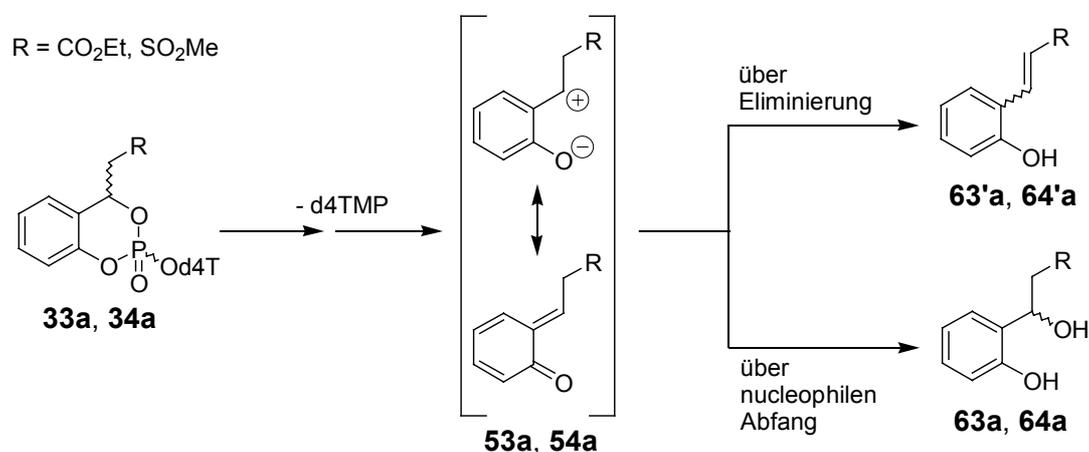


Abb. 18: Denkbare Hydrolyseprodukte Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-d4TMPs

Zu Vergleichszwecken wurde ebenfalls Verbindung **35a** dargestellt, die einen Benzyl-Substituenten ohne zusätzliche EWG enthält.

Verglichen mit den Prototypen *cycloSal*-d4TMP **16a** ohne weitere Substituenten in der Benzyl-Position deuteten Hydrolyseexperimente mit den Verbindungen **33a-35a** einen starken Einfluß der Benzyl-Substitution auf das Hydrolyseverhalten an. Dieser machte sich zum einen in einer deutlichen Verkürzung der Hydrolysehalbwertszeit,

zum anderen in der Bildung von Konkurrenzprodukten bemerkbar. Es stellte sich heraus, dass es im ersten Reaktionsschritt nicht mehr ausschließlich zur Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung durch einen nucleophilen Angriff auf das Phosphor-Atom kam (Weg **A**, Abb. 19).

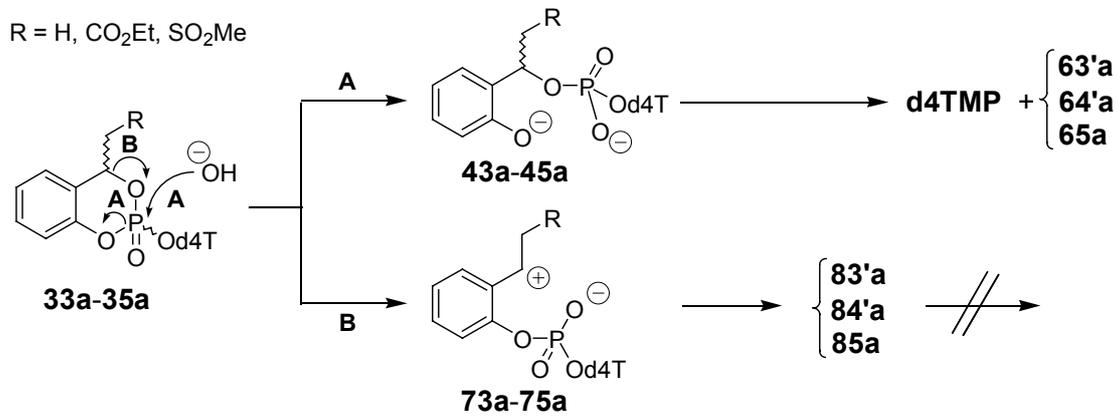


Abb. 19: Konkurrierende Reaktionen **A** und **B** bei der Hydrolyse von **33a-35a**

In Konkurrenz dazu muss für die Benzyl-funktionalisierten Prodrugs **33a-35a** die Spaltung der Benzylphosphatester-Bindung als erster Schritt angenommen werden (Weg **B**, Abb. 19). Die dabei gebildeten Phenylphosphatdiester **83'a**, **84'a** bzw. **85a** (Abb. 20) werden im folgenden auch kurz als "falsche Diester" bezeichnet, da sie nicht zur Freisetzung von d4TMP führen, sondern unter den schwach basischen Hydrolysebedingungen (pH 7.3, 37 °C) stabil sind. Hingegen werden die Benzylphosphatdiester **43a-45a** (Weg **A**, Abb. 19) im folgenden auch als "richtige Diester" bezeichnet, da sie die Freisetzung von d4TMP ermöglichen.

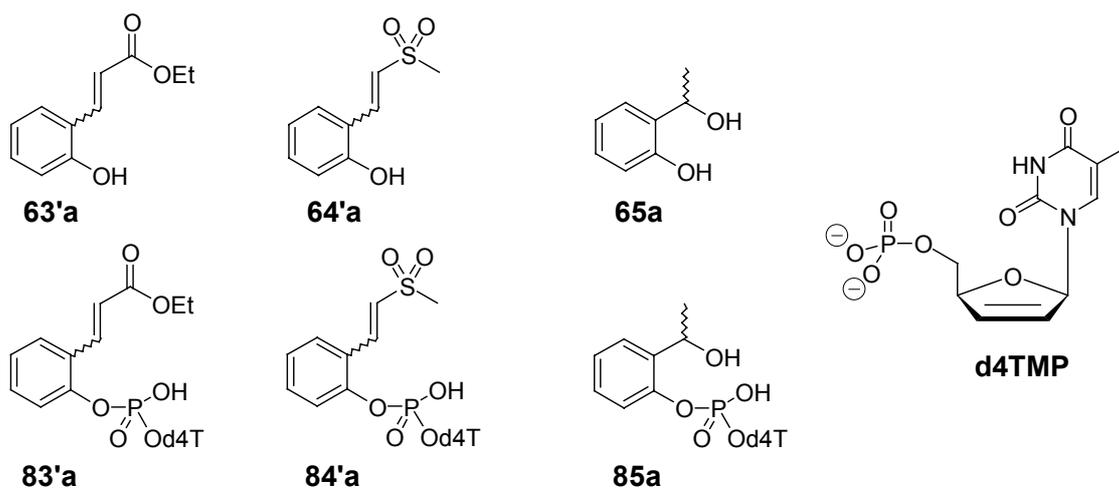


Abb. 20: Produkte d4TMP, **63'a**, **64'a** bzw. **65a** und **83'a**, **84'a** bzw. **85a** bei der Hydrolyse der Prodrugs **33a-35a**

Erste Hinweise auf dieses Hydrolyseverhalten der Benzyl-funktionalisierten Phosphatriester **33a-35a** konnten aus den entsprechenden HPLC-Chromatogrammen der Hydrolyselösungen sowie den UV-Spektren der Hydrolyseprodukte erhalten werden. So konnte in allen Fällen die Bildung von d4TMP sowie der Abbauprodukte **63'a**, **64'a** und **65a** (Abb. 20, S. 19) als Beleg für Hydrolyse nach Weg **A** (Abb. 19, S. 19) gewonnen werden. Gleichzeitig erschien die Bildung der "falschen Diester" **83'a**, **84'a** bzw. **85a** (Abb. 20, S. 19) als Erklärung für die unerwarteten Hydrolyseprodukte und somit als erster Beleg für Konkurrenzreaktion **B** (Abb. 19, S. 19) plausibel.

Zwei Aufgaben bzw. Fragestellungen leiten sich aus meiner Diplomarbeit ab:

1. Die genaue mechanistische Klärung des Hydrolyseverhaltens Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-Pro-Nucleotide sowie
2. die Frage, wie die unerwünschte Konkurrenzreaktion **B** zum „falschen Diester“ (Abb. 19, S. 19) unterbunden werden kann.

Diese beiden Fragestellungen sind Gegenstand der nun vorliegenden Arbeit.

2.3 Computerchemische Methoden

In Hydrolysestudien mit den Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a** konnte neben der Proliferation von d4TMP über die intermediär auftretenden Benzylphosphatdiester **43a-45a** ("richtige Diester", Weg **A**, Abb. 19, S. 19) erstmals auch die Bildung von Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester", Weg **B**) beobachtet werden. Diese unerwünschten Nebenprodukte zeichneten sich u.a. dadurch aus, dass sie in schwach basischer wässriger Lösung (pH 7.3) nicht mehr zur Bereitstellung von d4TMP in der Lage waren. Offensichtlich hängt die Entstehung dieser "falschen Diester" entscheidend mit der Anwesenheit der Benzyl-Substituenten zusammen. Ergänzend zu experimentellen Arbeiten sollten zur Klärung dieses Einflusses erstmals in unserer Arbeitsgruppe auch quantenchemische Rechnungen mit Hilfe der Dichtefunktional-Theorie durchgeführt werden.

2.3.1 Dichtefunktional-Theorie

Die moderne Dichtefunktional-Theorie (DFT) geht zurück auf Hohenberg und Kohn, die 1964 die beiden nach ihnen benannten und für die DFT zentralen Theoreme bewiesen haben^[69].

Das erste Hohenberg-Kohn-Theorem sagt vorher, dass die Grundzustandsenergie E_0 eines Systems ein Funktional der Grundzustandsdichte $\rho_0(\vec{r})$ ist (Gl. 1).

$$E_0 = E_0[\rho_0(\vec{r})] \quad (\text{Gl. 1})$$

Da durch ein gegebenes externes Coulomb-Potential $V_{\text{ext}}(\vec{r})$ zwischen Elektronen und raumfesten Kernen (Born-Oppenheimer-Näherung) die Wellenfunktion $\Psi_0(\vec{r})$ und auch die Grundzustandsdichte $\rho_0(\vec{r})$ eindeutig bestimmt sind (Gl. 2), enthält die Grundzustandsdichte alle Informationen über die das externe Potential bestimmenden Größen: die Elektronenzahl N , die Kernladungszahl Z_A und die Kernabstände R_A .

$$\Psi_0(\vec{r}) \leftrightarrow V_{\text{ext}}(\vec{r}) \leftrightarrow \rho_0(\vec{r}) \quad (\text{Gl. 2})$$

Dieses externe Potential $V_{\text{ext}}(\vec{r})$ geht als System-spezifischer Anteil in den Hamilton-Operator \hat{H} ein. Wendet man diesen auf die Grundzustandswellenfunktion an, so erhält man Informationen über alle Observablen, also auch die Grundzustandsener-

gie. Dieser Sachverhalt lässt sich auch in Form einer Kausalkette^[70] (Gl. 3) darstellen. Durch die Kausalkette kann somit die Verknüpfung der Energie des Grundzustands mit der Grundzustandsdichte veranschaulicht werden (Gl. 1).

$$\rho_0 \Rightarrow \{N, Z_A, R_A\} \Rightarrow \hat{H} \Rightarrow \Psi_0 \Rightarrow E_0 \quad (\text{Gl. 3})$$

Das zweite Theorem besagt, dass das Funktional (Gl. 1) die Grundzustandsenergie E_0 nur dann liefert, wenn als Zustandsdichte die tatsächliche Grundzustandsdichte $\rho_0(\vec{r})$ eingesetzt wird:

$$E_0[\rho_0(\vec{r})] \leq E_0[\rho(\vec{r})] \quad (\text{Gl. 4})$$

Es bezieht sich somit auf die Anwendbarkeit des Variations- oder Minimierungsprinzip von Rayleigh und Ritz, wonach die wahre oder exakte Grundzustandsenergie E_0 eines Systems die untere Grenze ist, die durch Einsetzen normierter Testwellenfunktionen erhalten werden kann:

$$\langle \Psi_0 | \hat{H} | \Psi_0 \rangle = E_0 \leq \tilde{E} = \langle \tilde{\Psi} | \hat{H} | \tilde{\Psi} \rangle \quad (\text{Gl. 5})$$

Die soeben beschriebenen Hohenberg-Kohn-Theoreme sind von grundlegender Bedeutung für die DFT, doch allein genügen sie zur Auffindung des universellen Funktionals noch nicht. 1965 haben Kohn und Sham einen Weg zu seiner Auffindung vorgeschlagen^[71]. Dabei floss die Erkenntnis ein, dass die größten Probleme bei der Verwendung direkter Dichtefunktionale aus der Behandlung der kinetischen Energie der Elektronen resultieren. Bei Orbital-basierten Methoden wie der Hartree-Fock (HF)-Methode gelingt die Behandlung der kinetischen Energie der Elektronen bereits sehr genau. Die zentrale Idee von Kohn und Sham war es daher, ein wechselwirkungsfreies Referenz-System über einen Satz von Orbitalen (d.h. Eielektronen-Wellenfunktionen) zu konstruieren, das dieselbe Dichte $\rho_s(\vec{r})$ wie auch das reale System ($\rho_0(\vec{r})$) besitzt. Damit lässt sich ein Großteil der kinetischen Energie der Elektronen mit hoher Genauigkeit berechnen. Der verbleibende Anteil wird mit den nicht-klassischen Beiträgen aufgrund von Austauscheffekten (d.h. der Antisymmetrie der Wellenfunktion) und Elektronen-Korrelationseffekten zusammen zur Elektron-Elektron-Abstoßung verschmolzen. Diese Vorgehensweise ermöglicht es, soviel wie irgend möglich an Information direkt zu berechnen. Lediglich ein kleiner Teil der Gesamtenergie wird noch in Form eines Austausch-Korrelations-Funktional behandelt.

Im folgenden wird die Vorgehensweise gemäß des Kohn-Sham (KS)-Formalismus gegeben.

Die exakte Wellenfunktion für den Grundzustand des von Kohn und Sham angenommenen Referenzsystems kann in Form einer einzelnen Slater-Determinanten wiedergegeben werden (Gl. 6). Diese Determinante ist als exakte Wellenfunktion eines Systems aus N nicht-wechselwirkenden Elektronen, d.h. "hypothetischen Elektronen" (mit Spin $\frac{1}{2}$, aber keiner Ladung) zu verstehen. Diese "hypothetischen Elektronen" wechselwirken nicht über Coulomb-Abstoßungskräfte und bewegen sich in einem effektiven Potential V_S . Die KS-Orbitale φ_i , welche Eingang in die Slater-Determinante Φ_S finden, sind ihrerseits Lösungen der KS-Gleichungen (Gl. 7; insgesamt N an der Zahl) für das jeweilige Einzelteilchenproblem. Der darin auftretende Einteilchen-Operator ist der KS-Operator, in den das effektive Potential V_S eingeht (Gl. 8).

$$\Phi_S = \frac{1}{\sqrt{N!}} \det \{ \varphi_1(\vec{x}_1) \varphi_2(\vec{x}_2) \dots \varphi_N(\vec{x}_N) \} \quad (\text{Gl. 6})$$

$$\hat{f}_{\text{KS}} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad (\text{Gl. 7})$$

$$\hat{f}_{\text{KS}} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + V_S(\vec{r}) \quad (\text{Gl. 8})$$

Die Verknüpfung dieses hypothetischen (nicht wechselwirkenden) Systems mit dem realen System erfolgt über das effektive Potential V_S , das über den KS-Operator (Gl. 8) in die KS-Gleichungen (Gl. 7) und damit in die KS-Orbitale eingeht. V_S muss gerade so gewählt werden, dass die sich daraus ableitende Dichte ρ_S , die man durch Summation der Betragsquadrate der KS-Orbitale erhält, gleich der Dichte ρ_0 des realen Systems ist:

$$\rho_S(\vec{r}) = \sum_i^N \sum_s |\varphi_i(\vec{r}, s)|^2 = \rho_0(\vec{r}) \quad (\text{Gl. 9})$$

Der nächste Schritt besteht darin, eben dieses effektive Potential V_S zu finden. Dazu separiert man die Gesamtenergie des wechselwirkenden Systems in den kinetischen Beitrag T_S aus dem nicht-wechselwirkenden System, die klassische elektrostatische Elektron-Elektron-Abstoßung J , den Energiebeitrag E_{NE} aufgrund der Wechselwirkung der Elektronen mit den Kernen und einen verbleibenden Anteil, der zur Austausch-Korrelationsenergie E_{XC} ($X = \text{Exchange}$, $C = \text{Correlation}$) zusammengefasst

wird (Gl. 10). Für alle Terme, mit Ausnahme des Terms für den Beitrag E_{XC} , sind die analytischen Ausdrücke bekannt. Dieser letzte Beitrag E_{XC} , der gewissermaßen als die große Unbekannte in der DFT angesehen werden kann, enthält den quantenmechanischen Beitrag zur potentiellen Energie (Austausch und Korrelation) und auch denjenigen Anteil der exakten kinetischen Energie, der nicht über den Ausdruck T_S für das nicht-wechselwirkende System abgedeckt wird.

$$E[\rho(\vec{r})] = T_S[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{NE}[\rho(\vec{r})] + E_{XC}[\rho(\vec{r})] \quad (\text{Gl. 10})$$

Unter Anwendung des Variationsprinzips müssen nun die KS-Orbitale ϕ_i derart optimiert werden, dass der durch Gleichung 10 repräsentierte Energieausdruck minimal wird. Dazu wird zunächst die Summe aus den Einteilchen-Gleichungen 7 für das nicht-wechselwirkende System mit dem durch Gleichung 10 dargestellten Ausdruck für das reale System verglichen. Dabei stellt sich heraus, dass das effektive Potential V_S , das man benötigt, um die korrekten Wellenfunktionen des nicht-wechselwirkenden Systems zu erhalten (Gl. 7), genau gleich der Summe der folgenden Beiträge ist: die potentielle Energie V_{NE} , das klassische Coulomb-Potential V_C und das durch E_{XC} generierte Potential, d.h. V_{XC} ^[72].

Da das effektive Potential V_S selbst schon über den Coulomb-Term in Gleichung 10 von der Dichte und damit von den KS-Orbitalen abhängt, handelt es sich nicht um ein gewöhnliches Eigenwertproblem, das in geschlossener Form analytisch gelöst werden kann. Vielmehr stellt es ein Pseudo-Eigenwertproblem dar, das iterativ behandelt werden muss. Die Lösungsstrategie wird als Methode des selbstkonsistenten Feldes (*self-consistent field*: SCF) bezeichnet, da die Orbitale über ihr eigenes effektives Potential V_S berechnet werden.

Es muss betont werden, dass es sich bei der Kohn-Sham-Theorie um eine echte Molekülorbital (MO)-Theorie handelt, da die KS-Orbitale (Gl. 7) nach Gleichung 10 die Elektronendichte aus reinen Orbitalrechnungen liefern. Im Rahmen der HF-Theorie hingegen wird bereits ganz zu Anfang die Näherung gemacht, dass sich die Gesamtwellenfunktion des realen Systems als einzelne Slater-Determinante darstellen lässt, was offensichtlich falsch ist, da hierbei die Korrelationsenergie vernachlässigt wird. Im Gegensatz dazu ist die KS-Theorie exakt, denn die KS-Gleichungen stellen echte Einteilchen-Gleichungen dar, mit der Einschränkung, dass man die exakten Ausdrücke für E_{XC} bzw. V_{XC} nicht kennt. Ein zentrales Ziel der modernen DFT ist es daher, immer bessere Näherungen für diese Größen zu finden, um mit Hilfe

geeigneter analytischer Ausdrücke diese Beiträge im Rahmen des SCF-Verfahrens berechnen zu können. Zu diesem Zweck wurden Dichtefunktionale sowohl für den Austausch- als auch den Korrelationsbeitrag entwickelt.

Um eine anschauliche Vorstellung des Austausch-Korrelations-Terms zu gewinnen, muss man sich das für die DFT wichtige Konzept der Lochfunktionen oder kurz Löchern vergegenwärtigen. Unter einem Loch versteht man in der DFT ein durch die Anwesenheit eines Elektrons reduzierte Wahrscheinlichkeit, eben an diesem Ort bzw. in unmittelbarer Nachbarschaft ein zweites Elektron anzutreffen. Das sogenannte Austausch- oder Fermi-Loch ist auf das Pauli-Prinzip zurückzuführen. Als Folgerung aus letzterem, d.h. der Antisymmetrie der Wellenfunktionen, ergibt sich das Pauli-Verbot. Besitzen zwei Elektronen denselben Spin, so können sie sich nicht gleichzeitig an einem Ort aufhalten. Neben ihrer Eigenschaft Fermionen zu sein, weichen Elektronen auch aufgrund ihrer Ladung einander aus. Die aus der repulsiven Elektron-Elektron-Wechselwirkung resultierende reduzierte Wahrscheinlichkeitsdichte in Nachbarschaft eines Elektrons wird als Korrelations- oder Coulomb-Loch bezeichnet. Im Allgemeinen sind die Austausch-Beiträge sehr viel größer als der betreffende Korrelationsanteil. Man muss betonen, dass nur die Summe aus Austausch- und Korrelations-Loch eine anschauliche physikalische Bedeutung besitzt.

2.3.2 Dichtefunktionale und Basissätze

Die einzigen beiden variablen Größen bei Dichtefunktional-Rechnungen sind das Austausch-Korrelations-Funktional und der verwendete Basissatz. Im folgenden Abschnitt werden das in dieser Arbeit verwendete HF/DFT-Hybridfunktional B3LYP und die Basissätze 6-31G* und 6-311G** vorgestellt.

Wie bereits im vorigen Unterkapitel angesprochen, ist eine der zentralen Fragen der modernen DFT das Auffinden von guten Näherungen für das Austausch-Korrelations-Funktional E_{XC} (vgl. Gl. 10, S. 24). Im Rahmen der *Local Density Approximation* (LDA), die auf Originalarbeiten von Kohn und Sham zurückgeht^[71] bedient man sich des Modellsystems eines homogenen Elektronengases. In diesem bewegen sich die Elektronen vor einem gleichförmigen positiven Hintergrund, so dass das Gesamtsystem elektrisch neutral bleibt. Physikalisch entspricht das homogene Elektronengas einem idealisierten Metall, das aus einem perfekten Kristall mit Valenzelektronen und positiven Atomkernen besteht.

E_{XC} wird dann aufgeteilt in den Austausch-Anteil E_X und den Korrelations-Anteil E_C :

$$E_{XC}[\rho(\vec{r})] = E_X[\rho(\vec{r})] + E_C[\rho(\vec{r})] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_X[\rho(\vec{r})] d\vec{r} + \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_C[\rho(\vec{r})] d\vec{r} \quad (\text{Gl. 11})$$

wobei ε_X bzw. ε_C die Austausch- bzw. Korrelationsenergiedichten beschreiben, d.h. letztlich die jeweiligen Energiebeiträge pro Teilchen. Diese Beiträge werden in Gleichung 11 dann mit der jeweiligen Wahrscheinlichkeit $\rho(\vec{r}) d\vec{r}$ gewichtet, mit der sich tatsächlich ein Elektron an der betreffenden Raumposition befindet. Während für den Austausch-Anteil E_X ein expliziter analytischer Ausdruck angegeben werden kann, ist der Korrelations-Anteil E_C für die LDA durch Quanten-Monte-Carlo-Simulationen numerisch bestimmt worden^[73-75].

Während die LDA den Elektronenspin noch unberücksichtigt lässt, setzt die *Local Spin-Density Approximation* (LSDA) für Elektronen mit entgegengesetztem Spin verschiedene Spindichten $\rho_\alpha(\vec{r})$ und $\rho_\beta(\vec{r})$ ein.

Um den Einfluß der Inhomogenität der Elektronendichte zu berücksichtigen, wurden Funktionale entwickelt, die außer der Elektronendichte $\rho(\vec{r})$ an einem bestimmten Punkt \vec{r} zusätzlich noch die Information über den Gradienten der Ladungsdichte $\nabla\rho(\vec{r})$ enthalten. Solche Funktionale bezeichnet man als verallgemeinerte Gradienten-Näherungen (*Generalized Gradient Approximation: GGA*). Ein Beispiel für ein nach dieser Methode bestimmtes Funktional ist das BLYP-Funktional. Es setzt sich zusammen aus dem Austausch-Funktional E_X^B von Becke^[76] und dem Korrelationsfunktional E_C^{LYP} von Lee, Yang und Parr^[77].

Wie bereits bei der Diskussion des Fermi- bzw. Coulomb-Lochs angesprochen, sind gewöhnlich die absoluten Austausch-Beiträge deutlich größer als die betreffenden Korrelations-Effekte. Das Auffinden eines möglichst präzisen Ausdrucks für das Austausch-Funktional ist somit ganz zentral, um sinnvolle Resultate mittels der DFT zu erhalten. Da die HF-Theorie im Gegensatz zur DFT den Austausch exakt behandelt, werden auch DFT/HF-Hybrid-Funktionale verwendet, die eine Mischung aus reinen Dichtefunktionalen für den Austausch und dem exakten HF-Austausch darstellen. Das z.Zt. am häufigsten anzutreffende und von Stevens *et al.*^[78] vorgeschlagene Hybrid-Funktional B3LYP, welches wiederum das Korrelationsfunktional E_C^{LYP} von Lee, Yang und Parr^[77] verwendet. Das Akronym B3 repräsentiert die in diesem Funktional auftretenden drei empirischen Parameter, die so gewählt wurden, dass sie die Atomisierungs- und Ionisierungs-Energien, die Protonenaffinitäten und auch

einige Gesamtenergien des sog. G2-Datensatzes optimal reproduzieren. Letzter ist eine häufig benutzte und zitierte Referenz-Sammlung an thermochemischen Daten, die ursprünglich von Curtiss *et al.*^[79] zusammengestellt wurde.

Im allgemeinen reproduzieren Hybrid-Funktionale wie das auch im Rahmen dieser Arbeit verwendete Hybrid-Funktional B3LYP viele Moleküleigenschaften besser als ihre reinen DFT-Analoga (in diesem Fall BLYP). Dazu zählen neben Geometrien, harmonischen Wellenzahlen und Dipolmomenten auch Bindungs-Dissoziations-Kurven. Dies hat F. Jensen in seinem modernen Lehrbuch der Computerchemie exemplarisch für das Wasser-Molekül demonstriert^[80].

Die zweite variable Größe in der DFT ist der Basissatz^[80,81], der die Eielektronen-Wellenfunktionen (Atomorbitale) eines Systems repräsentiert. Für ein einzelnes Elektron haben die Wasserstoff-ähnlichen Atomorbitale, die sog. *Slater Type Orbitals* (STO), folgende Form:

$$\eta^{\text{STO}} = N r^{n-1} \exp[-\zeta r] Y_{l,m}(\Theta, \Phi) \quad (\text{Gl. 12})$$

Analog zur Wellenfunktion für das 1s-Atomorbital des H-Atoms enthalten STO (Gl. 12) einen Normierungsfaktor N, eine radiale Eigenfunktion $r^{n-1} \exp[-\zeta r]$ sowie eine Kugelflächenfunktion $Y_{l,m}$, wobei die Größen n, l, und m die Haupt-, die Drehimpuls- und die Magnet- oder auch Orientierungs-Quantenzahl darstellen. Der Orbital-Exponent (ζ) ist die Größe, die bestimmt, ob es sich bei dem entsprechenden STO um ein kompaktes (große Werte für ζ) oder ein diffuses (kleines ζ) Orbital handelt. Numerisch deutlich einfacher als STO zu handhaben sind allerdings Gauß-Funktionen (*Gaussian Type Orbitals*: GTO) der allgemeinen Form:

$$\eta^{\text{GTO}} = N x^l y^m z^n \exp[-\alpha r^2] \quad (\text{Gl. 13})$$

Die GTO weisen den Orbital-Exponenten α auf, der die entsprechende Bedeutung hat wie der Orbital-Exponent ζ für die STO. Die Gesamtdrehimpuls-Quantenzahl $L = l+m+n$ gibt an, ob es sich um ein s-Orbital ($L = 0$), p-Orbital ($L = 1$) bzw. d-Orbital ($L = 2$) handelt. Um sinnvolle Näherungen für den Verlauf der Wellenfunktion in molekularen Systemen zu erhalten, werden pro Elektron mehrere GTO über Linearkombination zu als *Contracted Gaussian Functions* (CGF) bezeichneten Funktionen zusammengefasst, die einzelnen Gauß-Funktionen heißen auch *Primitive Gaussian*:

$$\eta^{\text{CGF}} = \sum_a^A d_{aT} \eta_a^{\text{GTO}} \quad (\text{Gl. 14})$$

Nimmt man pro Atomorbital zwei oder drei CGF an, handelt es sich entsprechend auch um sog. *Double-* bzw. *Triple-zeta*-Basissätze. Führt man dies nur für die Elektronen in Valenzorbitalen durch, d.h. diejenigen Elektronen, die für die chemische Reaktivität maßgeblich verantwortlich sind und nimmt für die abgeschlossenen inneren Schalen weiter nur eine einzige CGF an, so spricht man von den sehr häufig verwendeten *Split-Valence*-Basissätzen.

In dieser Arbeit wurden ausschließlich Standard-Basissätze von Pople *et al.*^[82-84] verwendet. Die Bezeichnung 6-31G* – oder gleichbedeutend auch 6-31G(d) – bringt gemäß der Pople-Nomenklatur zum Ausdruck, dass für das Rumpforbital eine CGF verwendet wird, die zuvor aus 6 *Primitive Gaussians* kontrahiert wurde. Für die Valenzorbitale hingegen werden zwei CGF verwendet (*Double-zeta*-Basissatz), die aus 3 bzw. 1 *Primitive Gaussians* kontrahiert sind.

Das Kürzel 6-311G** bzw. 6-311G(d,p) bedeutet entsprechend einerseits wieder die Verwendung einer aus 6 primitiven Gauß-Funktionen kontrahierten CGF für die Rumpforbitale. Für jedes der Valenzorbitale hingegen wird ein *Triple-zeta*-Basissatz verwendet, d.h. also drei CGF, die aus 3 bzw. 1 bzw. 1 *Primitive Gaussians* zusammengefasst wurden.

Die Verwendung zusätzlicher Polarisationsfunktionen, charakterisiert durch die Drehimpuls-Quantenzahl l , wird hinter den übrigen Parametern angegeben. So bedeuten die Bezeichnungen 6-31G(d) und 6-311G(d,p), dass für die Elemente schwerer als Helium noch zusätzliche d-Funktionen bzw. dass für die Elemente Helium und Wasserstoff auch p-Funktionen verwendet werden.

Die im Rahmen dieser Arbeit berechneten Strukturen enthalten Atome mit freien Elektronenpaaren bzw. Atome mit anionischem/ kationischem Charakter. Aus diesem Grund wurde nach der Literaturempfehlung^[80] zunächst der Basissatz 6-31G(d) mit zusätzlichen d-Funktionen (Polarisationsfunktionen) für Elemente schwerer als Helium verwendet. Aufgrund der zur Verfügung stehenden Rechnerkapazität wurde in einem zweiten Ansatz auch der größere Basissatz 6-311G(d,p) mit zusätzlichen Polarisationsfunktionen für Wasserstoffatome verwendet.

3 Aufgabenstellung

Aus vorangegangenen Arbeiten zu meiner Diplomarbeit^[68] sind bereits erste Synthesen Benzyl-funktionalisierter *cycloSal-d4T*MPs **33a-35a** bekannt (Abb. 21).

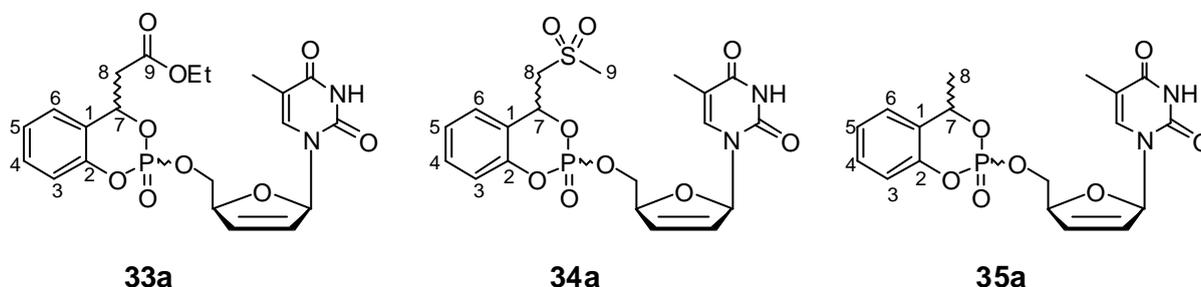


Abb. 21: Benzyl-funktionalisierte *cycloSal-d4T*-Monophosphate **33a-35a**

Um den Einfluß der Benzyl-Substituenten auf das Hydrolyseverhalten der *cycloSal-d4T*MPs zu studieren und das Auftreten der unerwünschten Phenylphosphatdiester, der sog. "falschen Diester" **83'a**, **84'a** bzw. **85a** zu unterbinden (Weg **B**, Abb. 19, S. 19; Abb. 20, S. 19), erscheinen zwei Ansatzpunkte aussichtsreich (vgl. Abb. 22):

- Untersuchungen mit weiteren funktionellen Substituenten **R** in Benzyl-Position
- Untersuchung des Einflusses von zusätzlichen Substituenten **X** am Aryl-System auf die konkurrierenden Reaktionswege

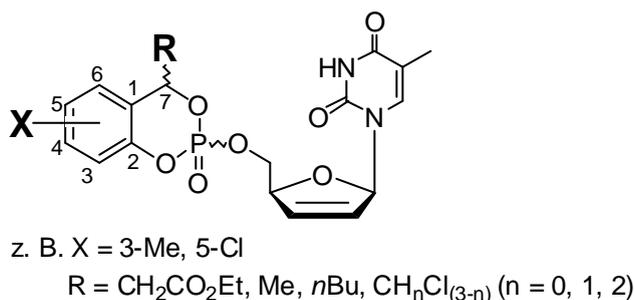


Abb. 22: Untersuchte Ansatzpunkte **R** und **X** zur Einflussnahme auf das Hydrolyseverhalten Benzyl-funktionalisierter *cycloSal-d4T*MPs

Durch Variation des Substituenten **R**, insbesondere durch Vergleich des Einflusses von Donor- (**R** = Me, *n*Bu) vs. Akzeptor-Substituenten (**R** = CCl₃, CHCl₂, CH₂Cl), sollten hilfreiche Erkenntnisse zur mechanistischen Interpretation der Hydrolyse Benzyl-funktionalisierter *cycloSal-d4T*MPs zu gewinnen sein.

Das ursprüngliche Ziel, in Analogie zu den Ergebnissen von Glazier et al. ein im Verlauf der Hydrolyse von **33a** intermediär entstehendes Chinonmethid **53a** durch eine intramolekular ablaufende Eliminierungsreaktion abzufangen, wurde bereits erreicht (Weg **A**, Abb. 23). Allerdings kam es auch in diesem Fall zur Bildung von "falschem Diester" (Weg **B**, Abb. 23). Aus diesem Grunde scheint es ebenfalls interessant, den Einfluss von zusätzlichen Substituenten **X** am Aryl-System (Abb. 22, S.21) auf die konkurrierenden Reaktionswege **A** und **B** (Abb. 23) zu untersuchen, mit dem Ziel, Weg **B** möglichst zu unterbinden.

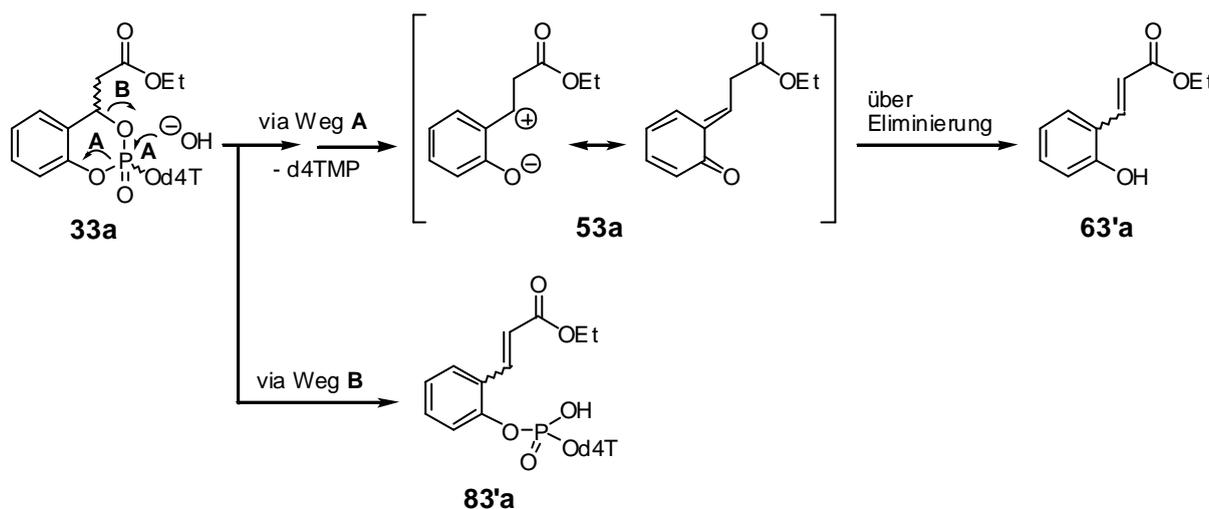


Abb. 23: Konkurrierende Reaktionswege **A** und **B** bei der Hydrolyse von **33a**

Potentielle Zielmoleküle sollten analog zu vorangegangenen Synthesen^[68] erster Benzyl-substituierter *cycloSal*-d4TMPs in 3- bzw. 4-stufigen Synthesen, ausgehend von Salicylalkohol- bzw. Phenol-Derivaten, darstellbar sein.

Nach vollständiger Charakterisierung sollen die Hydrolysehalbwertszeiten der neuen *cycloSal*-d4TMPs in isotonischem Phosphatpuffer bei pH 7.3 gemessen und die Hydrolyseprodukte identifiziert werden. Dies soll durch ³¹P-NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse geschehen. Weitere Unterstützung für mechanistische Interpretationen sollte sich aus *ab initio* Rechnungen mit *Gaussian '98* ergeben. In Zelltests schließlich sollten die anti-HIV-Aktivität und der Einfluß der Hydrolyseeigenschaften auf die Wirksamkeit der Prodrugs untersucht werden.

Ausgewählte Benzyl-funktionalisierte Masken sollen schließlich auch für weitere antiviral aktive Nucleoside wie z.B. BVDU **13** verwendet werden.

4 Resultate und Diskussion

Um den Einfluss der Benzyl-Substituenten auf das Hydrolyseverhalten der *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a** besser zu verstehen und das Auftreten der unerwünschten Phenylphosphatdiester, der sog. "falschen Diester" zu unterbinden, wurden zwei Ansatzpunkte im Rahmen dieser Arbeit verfolgt. Durch Variation des Substituenten R, insbesondere durch Vergleich des Einflusses von Donor- (R = Me, *n*-Bu) vs. Akzeptor-Substituenten (R = CCl₃, CHCl₂, CH₂Cl), sowie durch das Einführen von zusätzlichen Substituenten am Aryl-System (X = 3-Me, 5-Cl, 6-Cl, Abb. 24) bei gleichzeitiger Anwesenheit von Benzyl-Substituenten (R = Me, CH₂CO₂Et, CH₂SO₂Me) konnten hilfreiche Erkenntnisse zur mechanistischen Interpretation der Hydrolyse Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-d4TMPs gewonnen werden. Ferner gelang es, die Konkurrenzreaktion, die zum "falschen Diester" führt, zu unterbinden und die nucleophile Abfangreaktion des im Verlauf der Hydrolyse auftretenden Chinonmethids zugunsten einer Eliminierungsreaktion zurückzudrängen, sobald der Benzyl-Substituent noch eine C-H-acidifizierende Gruppe enthält (R = CH₂CO₂Et, CH₂SO₂Me, CN).

Potentielle Zielmoleküle sollten analog zu vorangegangenen Synthesen^[68] erster Benzyl-substituierter *cycloSal*-d4TMPs in 3- bzw. 4-stufigen Synthesen, ausgehend von Salicylalkohol- **103** bzw. Phenol-Derivaten **104**, synthetisiert werden (Abb. 24).

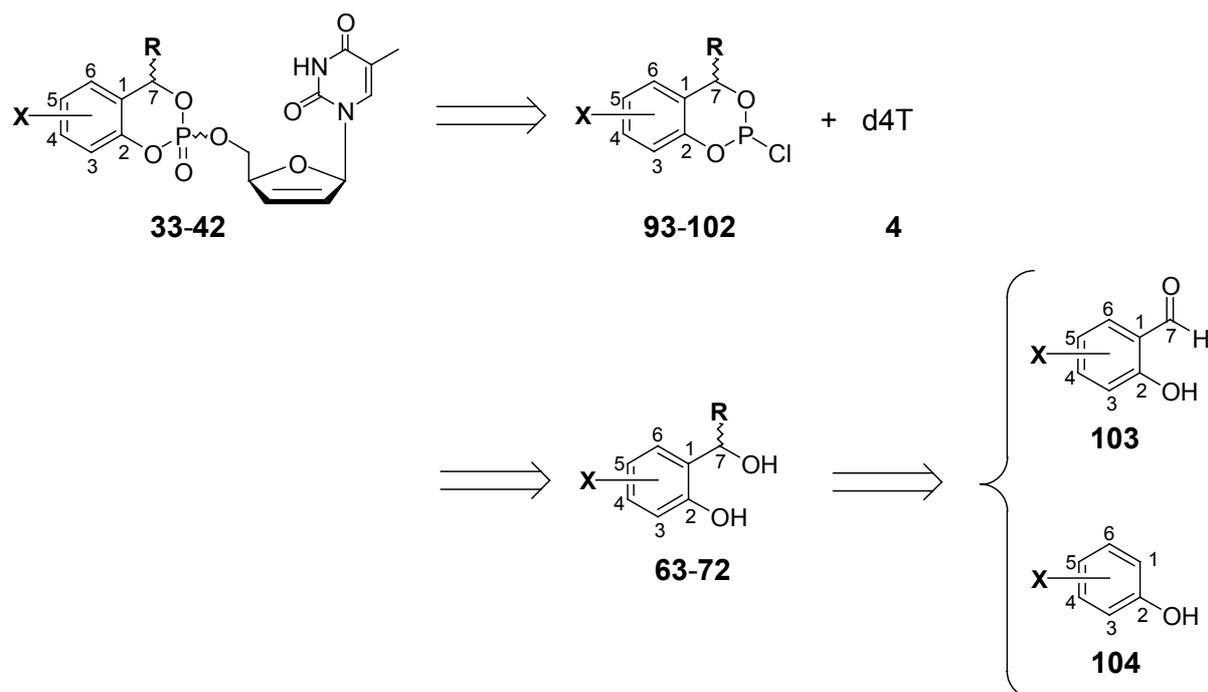


Abb. 24: Syntheseweg zu Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-42**

Die Darstellungen der Zielverbindungen **33-42** wurden dementsprechend mit der Synthese der korrespondierenden Salicylalkohole **63-72** begonnen.

4.1 Synthese der Salicylalkohol-Derivate **63-72**

Die Synthesen der Salicylalkohol-Derivate **63-66**, **68** und **70** wurden realisiert durch Angriff geeigneter Nucleophile auf die Carbonylgruppe in entsprechenden Salicylaldehyd-Derivaten **103** (Abb. 25).

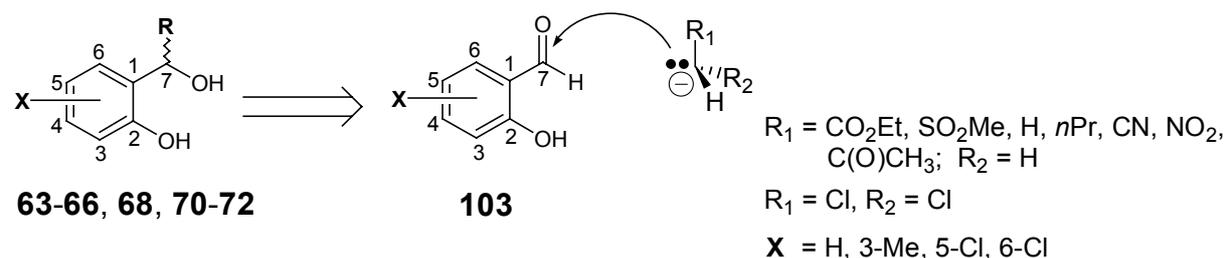


Abb. 25: Allgemeines Schema zur Synthese der Salicylalkohole **63-66**, **68**, **70-72**

Die Darstellung des Salicylalkohol-Derivates **67** gelang analog zu einer Variante der Synthese von Salicylalkoholen nach Nagata^[85] (Abb. 26).

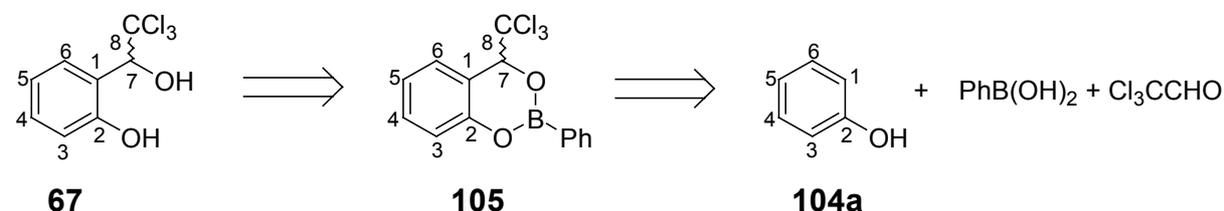


Abb. 26: Darstellung von Salicylalkoholen nach der Variante von Nagata^[85]

Der Salicylalkohol **69** konnte nach Reduktion des korrespondierenden α -Chlorketons **107** mit Lithiumaluminiumhydrid erhalten werden. Die vorherige α -Monochlorierung von *ortho*-Hydroxy-acetophenon **106** gelang durch Umsetzung mit 2,3,4,5,6,6-Hexachlor-2,4-cyclohexadien-1-on^[86] (Abb. 27).

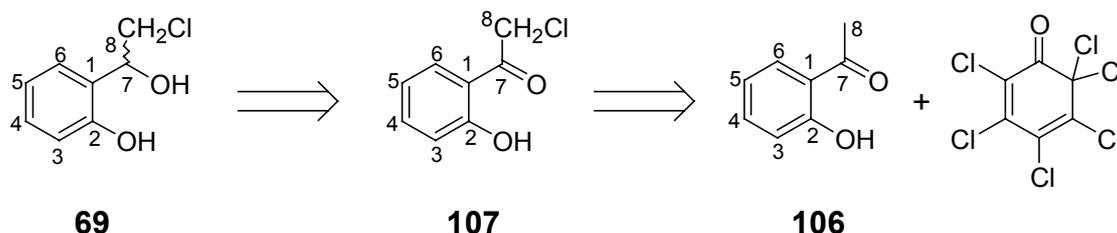


Abb. 27: Darstellung von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69**

4.1.1 Synthese der 7-Ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol-Derivate **63**

Analog zu der in meiner Diplomarbeit^[68] beschriebenen Synthese von 7-Ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol **63a** konnten auch die korrespondierenden 3-Methyl-, 5-Chlor- und 6-Chlor-Derivate **63b-d** nach einer Variante der Reformatsky-Reaktion von α -Iod-ethylacetat und Indium mit entsprechenden Salicylaldehyd-Derivaten **103** dargestellt werden (Abb. 28). Der Versuch, den Salicylaldehyd **103a** unter den klassischen Bedingungen der Reformatsky-Reaktion mit metallischem Zink und α -Brom-ethylacetat zum Salicylalkohol **63a** umzusetzen, war zuvor gescheitert^[68]. Als Ursache kommt die geringere Elektrophilie des Carbonylzentrums im Salicylaldehyd **103a** in Betracht, was eine Reaktion unter klassischer Reaktionsführung mit dem Zink-Nucleophil verhindert. Dagegen gelang die klassische Reformatsky-Reaktion mit Benzaldehyd. Auf einen erneuten Versuch mit den Salicylaldehyden **103b-d** wurde daher verzichtet.

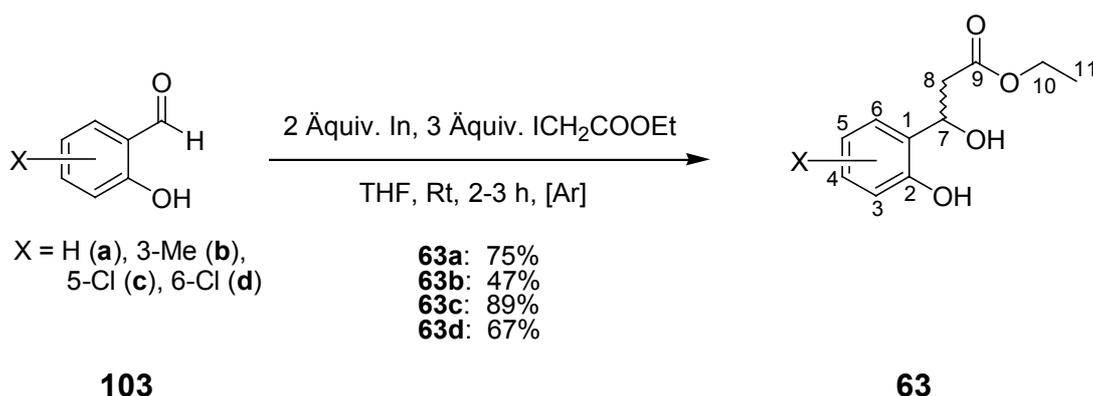


Abb. 28: Darstellung der 7-Ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohole **63b-d**

Die Salicylalkohole **63** konnten nach der modifizierten Reformatsky-Reaktion alleamt in zufriedenstellenden bis guten Ausbeuten erhalten werden (Abb. 28). Der für die Umsetzung benötigte Salicylaldehyd **103a** war kommerziell erhältlich. Die Salicylaldehyde **103b** und **103c** konnten nach *ortho*-Formylierungen von *ortho*-Kresol **104b** bzw. *para*-Chlorphenol **104c** nach Casiraghi^[87] erhalten werden (Abb. 29).

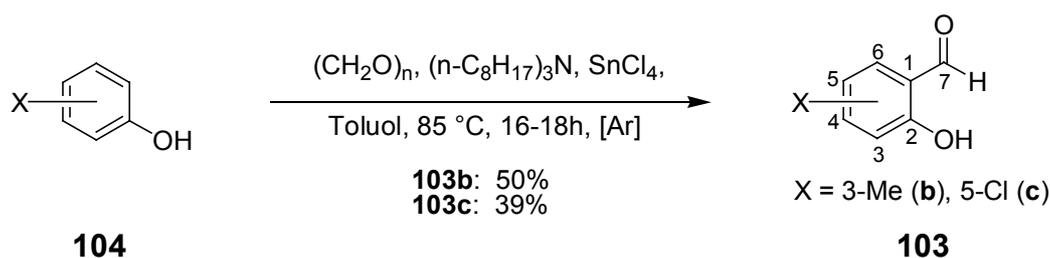


Abb. 29: Darstellung von 3-Methyl-salicylaldehyd **103b**

Der Salicylaldehyd **103d** wurde nach nucleophiler aromatischen Substitution zweiter Ordnung (S_N2 -Aryl) des Fluorid-Anions in 2-Chlor-6-fluor-benzaldehyd **108** durch ein Hydroxid-Anion erhalten^[68] (Abb. 30).

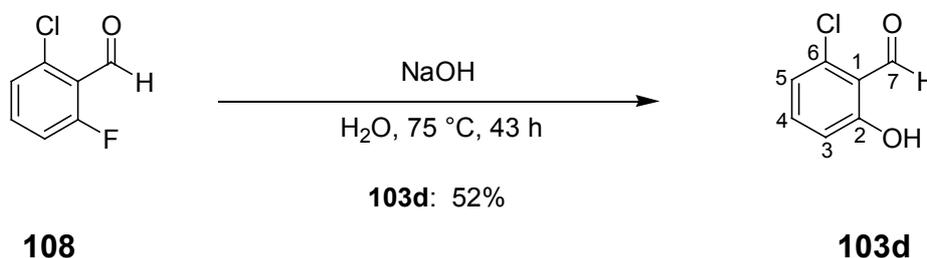


Abb. 30: Darstellung von 6-Chlor-salicylaldehyd **103d**

4.1.2 Synthese der 7-Methansulfonylmethyl-salicylalkohol-Derivate **64**

Die Synthese der Salicylalkohole **64b** und **64c** gelang analog der für 7-Methansulfonylmethyl-salicylalkohol **64a** bereits beschriebenen Methode^[68] (Abb. 31). Danach wird zunächst mit Methyllithium das Lithiumsalz des Dimethylsulfons generiert. Nach anschließender Zugabe der jeweiligen Salicylaldehyd-Derivate **103** wird ein Äquivalent des Lithiumsalzes des Dimethylsulfons zunächst durch Deprotonierung der freien Hydroxy-Gruppen in **103** verbraucht. Durch diese Deprotonierung wird allerdings die Elektrophilie der Carbonyl-Kohlenstoff-Atome in **103** herabgesetzt. Das erzeugte Methansulfonylmethylithium-Reagenz wird jedoch in dreifachem Überschuss eingesetzt und ist zudem ein sehr starkes Nucleophil, so dass ein Angriff auf das Carbonyl-Zentrum in **103** erfolgt. Trotzdem konnte auf diese Weise lediglich der Salicylalkohol **64a** in sehr guter Ausbeute erhalten werden^[68]. Die Salicylalkohole **64b-c** hingegen ließen sich nach dieser Methode nur in befriedigenden Ausbeuten darstellen (Abb. 31).

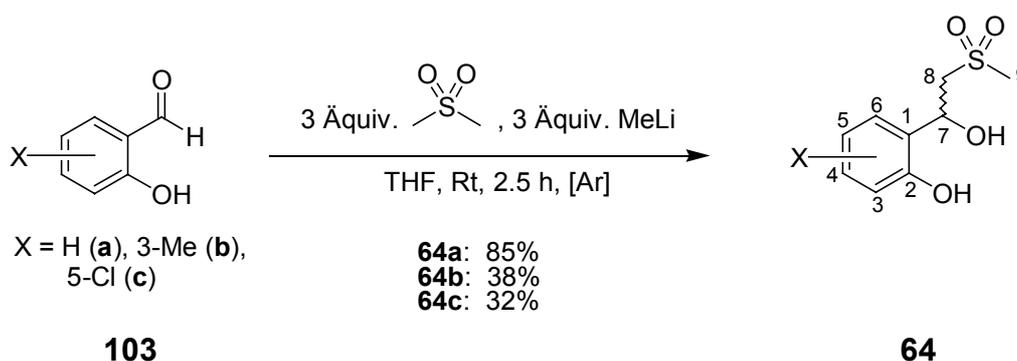


Abb. 31: Darstellung der 7-Methansulfonylmethyl-salicylalkohole **64a-c**

4.1.3 Synthese der 7-Methyl- und 7-Butyl-salicylalkohol-Derivate **65** und **66**

Die Darstellung der Salicylalkohole **65d**, **66a** und **66d** gelang entsprechend der für 7-Methyl-salicylalkohol **65a** beschriebenen Durchführung^[68], ausgehend von den Salicylaldehyden **103a** bzw. **103d**. Als Alkylierungsreagenzien wurden Lösungen von Methyllithium bzw. *n*-Butyllithium in Diethylether verwendet (Abb. 32).

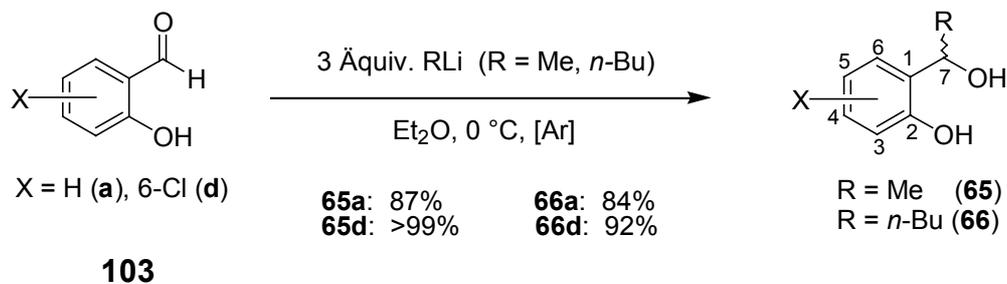


Abb. 32: Darstellung der 7-Methyl- und 7-Butyl-salicylalkohole **65-66**

Da die verwendeten Alkylierungsreagenzien gleichzeitig auch starke Basen sind, wird zunächst jeweils ein Äquivalent durch Deprotonierung der Hydroxy-Gruppe von **103a** bzw. **103d** verbraucht. Gleichzeitig wird durch diese Deprotonierung jedoch auch die Elektrophilie der Carbonylzentren in **103a** bzw. **103d** herabgesetzt, doch stellen die im Überschuss eingesetzten Alkylierungsreagenzien ausreichend starke Nucleophile dar, um auch die schwächer elektrophilen Carbonyl-Kohlenstoffe der entstandenen Alkoholat-Anionen von **103a** bzw. **103d** anzugreifen.

Nach dieser Methode konnten der 6-Chlor-7-methyl-salicylalkohol **65d** und die 7-Butyl-salicylalkohole **66a** und **66d** in guten Ausbeuten erhalten werden (Abb. 32).

4.1.4 Synthese von 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67**

Nagata^[85] *et al.* beschreiben eine Methode zur Darstellung von Salicylalkoholen durch *ortho*-Hydroxymethylierung der korrespondierenden Phenole mit Aldehyden in Gegenwart von Phenylboronsäure. Dabei erhält man die Salicylalkohole zunächst in Form ihrer Phenylboronsäurediester, die auch isoliert werden können. Im nächsten Schritt werden diese mit Hilfe einer Wasserstoffperoxid-Lösung oxidativ gespalten und man erhält die gewünschten Salicylalkohole.

Nach dieser von Nagata^[85] *et al.* beschriebenen Methode konnte auch der 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67** dargestellt werden (Abb. 33, S. 36). Zunächst konnte nach Umsetzung von Phenol **104a** mit Trichlormethyl-acetaldehyd (Chloral) in

Gegenwart von Phenylboronsäure der Phenylboronsäurediester **105** in 30% Ausbeute erhalten werden (Abb. 33).

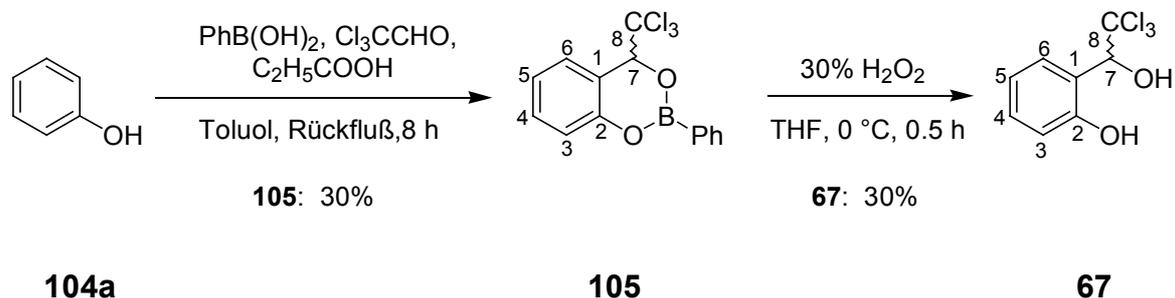


Abb. 33: Darstellung von 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67**

Oxidative Spaltung von **105** mit Wasserstoffperoxid-Lösung lieferte dann 7-Trichlormethyl-salicylaldehyd **67** in 30% Ausbeute.

4.1.5 Synthese von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68**

Zur Darstellung von **68** sollte eine der Synthese der Salicylalkohole **64** entsprechende Strategie angewendet werden (vgl. Kap. 4.1.2). Dementsprechend musste zunächst ein geeignetes Dichlormethylierungsreagenz generiert werden. Bei der Erzeugung von Dichlormethylithium aus Dichlormethan mit starken Lithium-Basen besteht die Gefahr, hochreaktive Carbene zu erzeugen. In der Literatur wird die Darstellung von Dichlormethylithium aus Dichlormethan deshalb mit LDA als starker Base bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ beschrieben^[89]. Es gelang daneben auch, dieses Reagenz aus Dichlormethan mit der Base Methyllithium bei $-78\text{ }^\circ\text{C}$ zu erzeugen (Abb. 34).

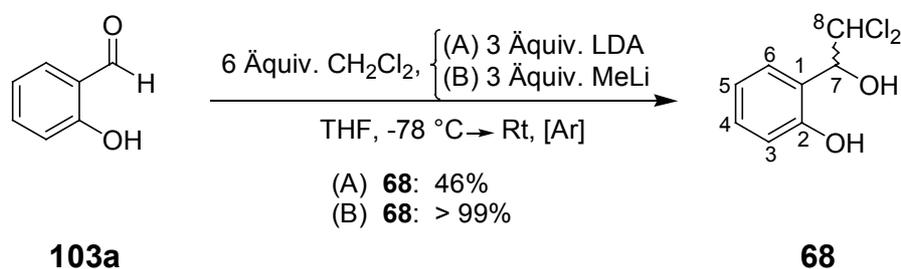


Abb. 34: Darstellung von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68**

Anschließende Reaktion von Dichlormethylithium mit Salicylaldehyd **103a** lieferte 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68** in befriedigender Ausbeute bei Verwendung der Base LDA und in quantitativer Ausbeute bei Verwendung der Base Methyllithium.

4.1.6 Synthese von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69**

7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69** konnte ausgehend von *ortho*-Hydroxyacetophenon **106** in zwei Stufen dargestellt werden (Abb. 35). In einer ersten Stufe konnte **106** unter Verwendung von Hexachlor-2,4-cyclohexadien-1-on in der α -Position monochloriert werden^[86]. Das Hexachlor-2,4-cyclohexadien-1-on überträgt dabei unter Rearomatisierung zu Pentachlorphenol ein elektrophiles Chloratom auf die α -Position der Enolform von **106**. ¹H-NMR-spektroskopische Analyse des erhaltenen Rohprodukts ergab ein Produkt-Edukt-Verhältnis von ca. 2 : 1 (Umsatz: 66%, Lit.^[86]: 66%). Entgegen der Literaturvorschrift gelang es jedoch nicht, durch Umkristallisation (Heptan/Dichlormethan = 1 : 1 v/v) des Rohproduktes auch 66% Ausbeute zu erhalten. Es fielen zunächst nur Produkt-Edukt-Mischfraktionen an, die zudem noch Pentachlorphenol enthielten. Das Produkt **107** konnte auf diese Weise nur in 21% rein isoliert werden (Lit.^[86]: 66%).

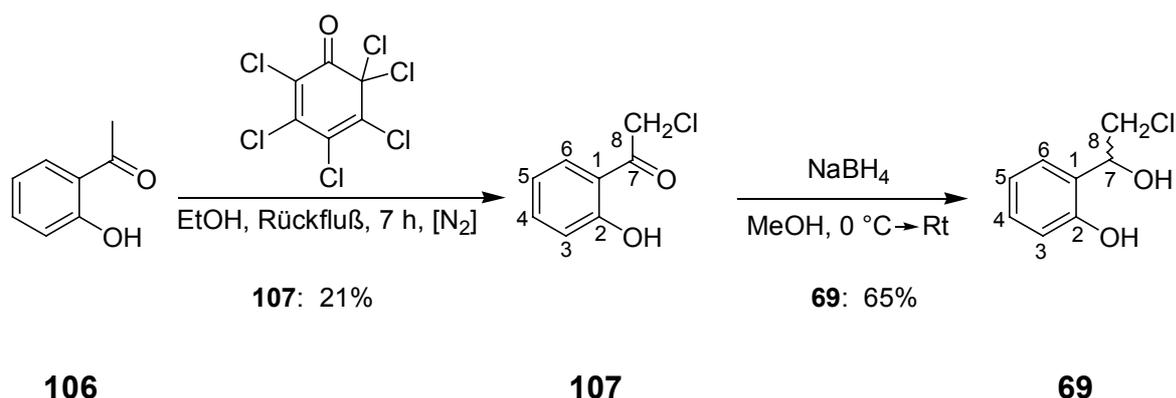


Abb. 35: Darstellung von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69**

Ausgehend von **107** konnte der Salicylalkohol **69** dann durch Reduktion der Carbonylgruppe mit Natriumborhydrid in befriedigender Ausbeute erhalten werden (Abb. 35).

4.1.7 Synthese von 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70**

In Anlehnung an die in Kapitel 4.1.1 beschriebene Variante der Reformatsky-Reaktion konnte auch 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70** aus Salicylaldehyd **103a** durch Umsetzung mit zwei Äquivalenten Bromacetonitril in Gegenwart von zwei Äquivalenten metallischen Indiums dargestellt werden. Außerdem wurden noch drei Äquivalente Trimethylsilylchlorid (TMSCl) zugegeben^[90], um die freie Hydroxy-Gruppe in

103a zu schützen und gleichzeitig die Carbonylgruppe für den nucleophilen Angriff zu aktivieren. (Abb. 36).

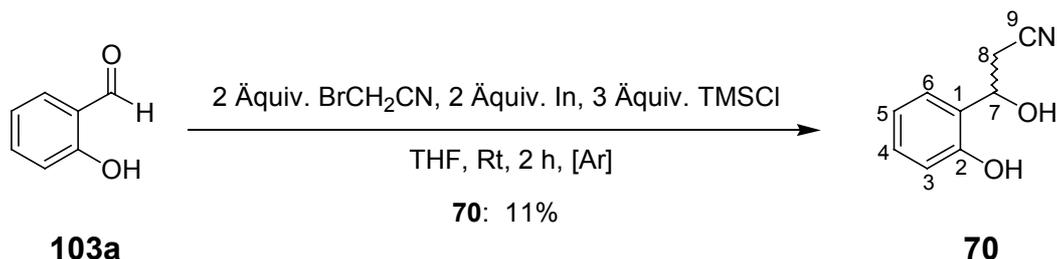


Abb. 36: Darstellung von 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70**

Bei der anschließenden wässrigen Aufarbeitung wurden dann die zwischenzeitlich als TMS-Ether geschützten Benzyl- und Phenyl-Hydroxy-Gruppen in **70** wieder entschützt. 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70** konnte so in 11 % Ausbeute erhalten werden (Ausbeute Lit.^[90]: 27 %).

4.1.8 Synthese von 7-Nitromethyl-salicylalkohol **71**

Die Synthese von 7-Nitromethyl-salicylalkohol **71** gelang ebenfalls durch nucleophile Addition an Salicylaldehyd **103a**. Aufgrund der relativ hohen C-H-Acidität von Nitromethan genügte es, zur Erzeugung des Nucleophils aus Nitromethan durch Deprotonierung die Base Triethylamin in nur katalytischen Mengen zuzugeben (Abb. 37).

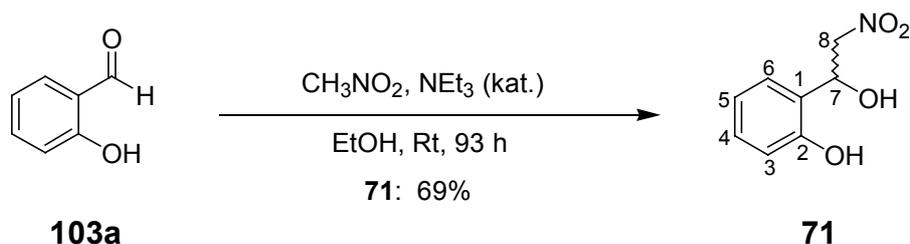


Abb. 37: Darstellung von 7-Nitromethyl-salicylalkohol **71**

Das Produkt **71** konnte nach wurde 93 stündigem Rühren der Reaktionslösung bei Raumtemperatur in guter Ausbeute erhalten werden.

4.1.9 Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol **15d**

Zu Vergleichszwecken sollte das 6-Chlor-*cycloSal*-d4TMP **16d** synthetisiert werden. In der ersten Stufe wurde 6-Chlor-salicylaldehyd **103d** zum 6-Chlor-salicylalkohol **15d** reduziert. Dies gelang bei Raumtemperatur mit Lithiumaluminiumhydrid in sehr guter Ausbeute (Abb. 38).

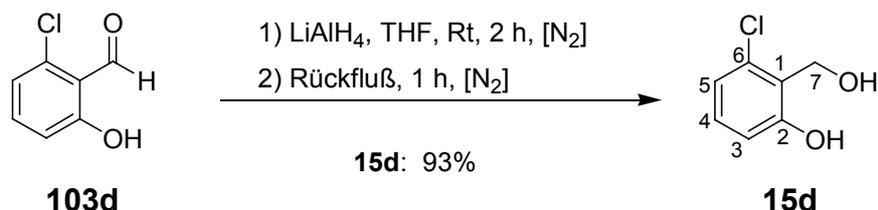


Abb. 38: Darstellung von 6-Chlor-salicylalkohol **15d**

Zur Vervollständigung der Reduktion wurde die Reaktionslösung vor der Aufarbeitung noch für 1 Stunde unter Rückfluß erhitzt.

4.1.10 Versuch der Synthese von 7-Methancarbonylmethyl-salicylalkohol **72a**

Um die Reihe der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-34** mit C-H-acidifizierenden Gruppen in der Benzyl-Seitenkette (CO₂Et, SO₂Me) um die Verbindung **42** mit der Methancarbonyl-Gruppe (C(O)Me) als C-H-acidifizierendem Substituenten zu erweitern, sollte zunächst 7-Methancarbonylmethyl-salicylalkohol **72a** synthetisiert werden.

In einer in der Literatur beschriebenen mehrstufigen Synthese wird **72a** als Zwischenprodukt postuliert, das jedoch nicht weiter aufgearbeitet wurde^[91]. Gemäß dieser Vorschrift wurde Salicylaldehyd **103a** in einer Aldol-Addition mit Aceton umgesetzt. Als Base wurde Ammoniumacetat verwendet (Reaktion (A), Abb. 39, S. 40). Das Produkt **72a** konnte jedoch in einem vom Rohprodukt aufgenommenen ¹H-NMR-Spektrum nur in geringer Menge nachgewiesen werden. Es entstand ein Gemisch aus nicht weiter identifizierten Produkten. Der Versuch, **72a** durch Aldol-Addition von Aceton an Salicylaldehyd zu erhalten, wurde noch zweimal unter Verwendung von Triethylamin bzw. wässriger NaOH als Basen wiederholt (Reaktion (B) bzw. (C), Abb. 39). In beiden Fällen konnten jedoch nach dünnschichtchromatographischer Reaktionskontrolle keine Hinweise auf erfolgte Umsetzungen gewonnen werden.

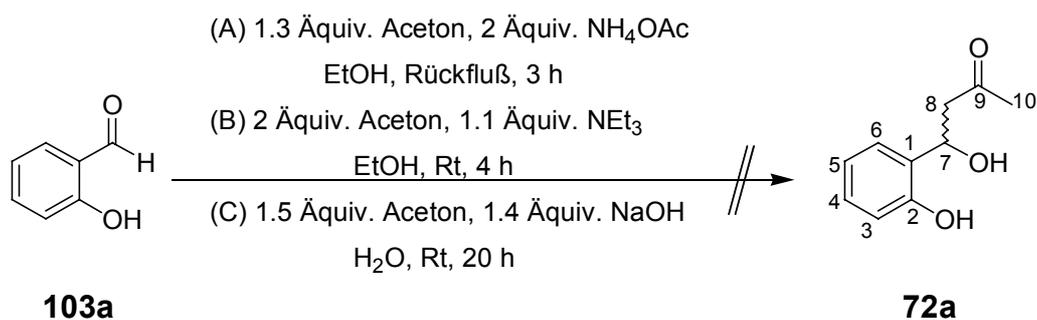


Abb. 39: Versuch der Darstellung von 7-Methanocarbonylmethyl-salicylalkohol **72a** durch Aldol-Additionen von Aceton an Salicylaldehyd **103a**

Es wurde außerdem versucht, das Diol **72a** aus **103a** durch Aldol-Addition von *O*-Trichlorsilyl-2-hydroxypropen darzustellen^[92] (Abb. 40). Die Reaktion des *O*-Triethylsilyl-geschützten Salicylaldehyds **103e** mit *O*-Trichlor-silyl-2-hydroxypropen führte zur Bildung des Triethylsilyl-geschützten Salicylalkohols **72b** in 85 % Ausbeute. Bei der analogen Durchführung mit ungeschütztem Salicylaldehyd **103a** konnte das gewünschte Produkt **72a** jedoch nicht isoliert werden.

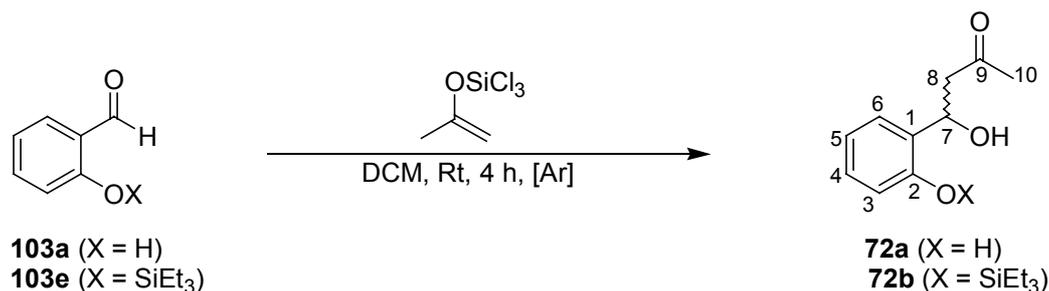


Abb. 40: Aldol-Addition von *O*-Trichlorsilyl-2-hydroxypropen an **103a** und **103e**

Es wurden anschließend Versuche unternommen, den 2'-*O*-Triethylsilylether im Salicylalkohol **72b** zu entschützen (Abb. 41, S. 41). Dabei wurden drei Verfahren angewendet, die in der Literatur zur Spaltung von Phenyltriethylsilylethern beschrieben sind. Bei der versuchten Entschützung mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) in THF^[93] (Reaktion (A), Abb. 41, S. 33) konnte das Eliminierungsprodukt (*E*)-4-(2'-Hydroxy-phenyl)but-3-en-2-on **72'a** isoliert werden, jedoch kein Produkt. Hier war offensichtlich zusammen mit der gewünschten Silyletherspaltung eine Kondensationsreaktion abgelaufen.

Im Fall des Versuch der Entschützung mit Ammoniumfluorid in Methanol^[94] (Reaktion (B), Abb. 41) konnte kein Produkt in einem ¹H-NMR-Rohproduktspektrum nachgewiesen werden.

Auch der Versuch den O-Triethylsilylether im Benzylalkohol sauer mit Essigsäure in wässrigem THF^[95] zu spalten, führte nicht zum gewünschten Diol **72a**.

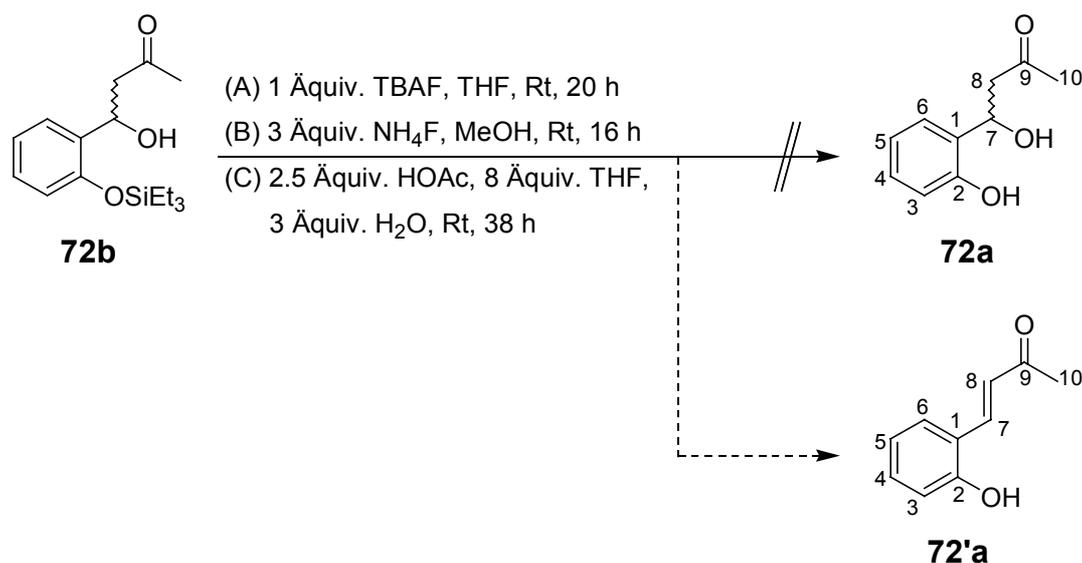


Abb. 41: Versuche zur Spaltung des O-Triethylsilylethers in **72b**

Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, dass die freie Hydroxy-Gruppe in **103a** die Umsetzung des Trichlorsilylenolates mit der Carbonylgruppe verhindert. Dagegen verläuft die Reaktion mit dem Triethylsilyl-geschützten Salicylaldehyd **103e** mit guten Ausbeuten zum ebenfalls Triethylsilyl-geschützten Diol **72b**. Allerdings gelang die selektive Entschützung der Phenyl-OH-Gruppe nicht. Offensichtlich führen die zur Entschützung von Triethylsilylethern gängigen Reagenzien aufgrund ihrer Säureeigenschaften auch zur Bildung des Enol-Tautomers von **72b** bzw. **72a**, das anschließend zum Kondensationsprodukt **72'b** bzw. **72'a** weiterreagieren kann.

Außer den Versuchen, 7-Methanocarbonylmethyl-salicylalkohol **72a** nach Aldol-Addition zu erhalten, war eine weitere Strategie, **72a** durch Reformatsky-Reaktion darzustellen. Ein erster Ansatz war, **72a** durch Umsetzung von Salicylaldehyd **103a** mit α -Chloraceton in Gegenwart von Zinkpulver in Wasser herzustellen (Abb. 42).

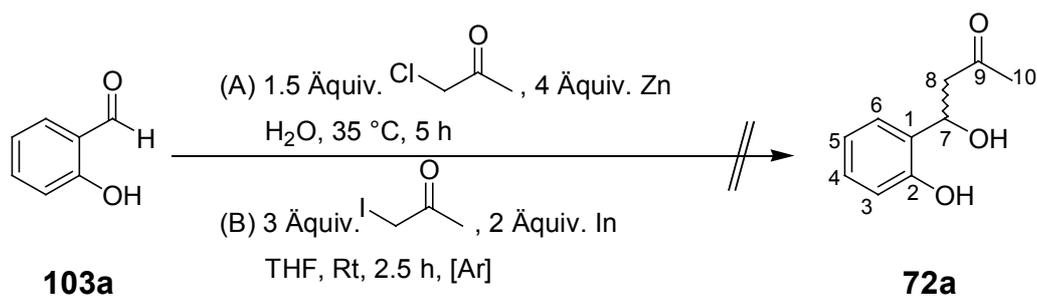


Abb. 42: Versuche zur Darstellung von **72a** in einer Reformatsky-Synthese

Nach Aufarbeitung und Analyse des $^1\text{H-NMR}$ -Rohproduktspektrums konnte jedoch Produkt **72a** nur in Spuren nachgewiesen werden.

In Anlehnung an die zur Darstellung der Salicylalkohole **63** erfolgreich angewendete Variante der Reformatsky-Reaktion mit Indium wurde auch versucht, **72a** durch Umsetzung von Salicylaldehyd **103a** mit α -Iodaceton und metallischem Indium in THF unter Inertgas bei Raumtemperatur zu erhalten (Abb. 42, S. 41). Nach Aufarbeitung wurde vom Rohprodukt ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgenommen. In diesem waren jedoch nur Eduktsignale zu erkennen.

4.1.11 Synthese von 7,7-bis-Ethoxycarbonylmethyl-Phthaldialkohol **109**

Das Phthaldialkohol-Derivat **109** sollte sich in einer klassischen Reformatsky-Synthese aus Phthaldialdehyd **108** darstellen lassen, da in diesem keine anderen Funktionalitäten die Reaktion beeinträchtigen können. Andererseits ergeben sich durch die *ortho*-Ständigkeit der Aldehyd-Gruppen in **108** potentiell Effekte wie z. B. eine starke sterische Hinderung, die vermutlich dafür verantwortlich waren, dass die Synthese von **109** nur mühsam gelang. Sie glückte schließlich unter Anwendung der klassischen Reformatsky-Reaktion mit THF/Trimethylborat als Solvens. Die Variante der Reformatsky-Reaktion mit Indium führte nicht zu dem gewünschten Produkt. Auch der Versuch einer Aldol-Reaktion von **108** mit Ethylacetat sowie ein zweistufiger Syntheseansatz blieb erfolglos.

Die klassische Variante der Reformatsky-Reaktion wird für die Umsetzung von Benzaldehyd mit Ethylbromacetat und Zink beschrieben^[96]. Sie wurde auf die Umsetzung von Phthaldialdehyd **108** übertragen (Reaktion (A), Abb. 43, S. 43). Als Mengenverhältnisse wurden ein Äquivalent **108** und je drei Äquivalente Ethylbromacetat und Zink gewählt. Die Aufarbeitung führte zu einem öligen braunen Rohprodukt, dessen dünnschichtchromatographische Untersuchung ergab, dass es aus mindestens zehn verschiedenen Substanzen bestand. Auf eine chromatographische Aufreinigung wurde daher verzichtet.

Da die klassische Reformatsky-Synthese nicht den gewünschten Erfolg brachte, wurde zur Darstellung von **109** eine neuere Variante dieser Reaktion in fester Phase erprobt^[97]. Zu diesem Zweck wurden die Edukte Phthaldialdehyd **108** (ein Äquivalent), Ethylbromacetat (sechs Äquivalente) und Zink (30 Äquivalente) zusammen mit Ammoniumchlorid, welches die Reaktionsmischung "verdünnen" sollte, bei Raum-

temperatur verrieben (Reaktion (B), Abb. 43). Nachdem die beträchtliche Wärmeentwicklung beim Verreiben der Substanzen bereits auf das Stattfinden einer Reaktion hingewiesen hatte, wurde die Reaktionsmischung noch einige Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt.

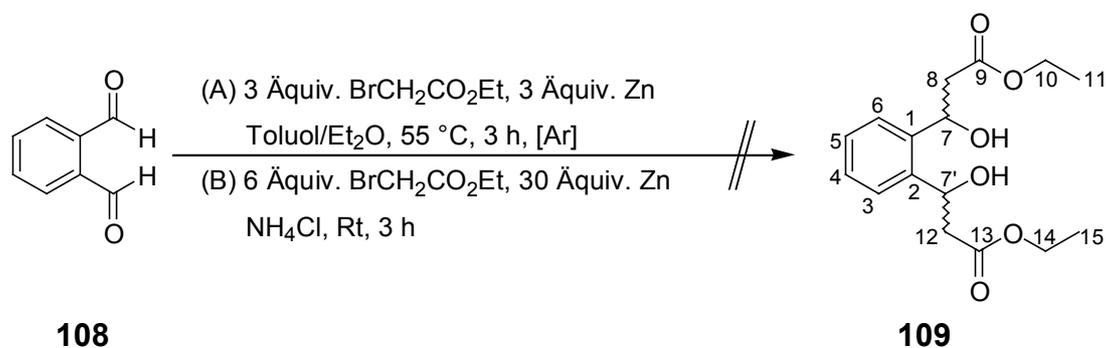


Abb. 43: Versuche zur Synthese des Phthaldialkohols **109**: durch Reformatsky-Reaktion

Die anschließende Aufarbeitung führte jedoch zur Isolierung von nur 153 mg organischer Substanz (100 % Ausbeute: 1.58 g), so dass auf eine chromatographische Aufreinigung auch hier verzichtet wurde.

Als dritte Variante der Reformatsky-Reaktion wurde die Synthese in THF/Trimethylborat als Lösungsmittel erprobt^[98] (Abb. 44). Das Co-Solvens Trimethylborat als milde Lewis-Säure aktiviert dabei die Carbonylgruppen in **108** und erleichtert so den nucleophilen Angriff des aus Zink und Ethylbromacetat gebildeten Zink-Organyls.

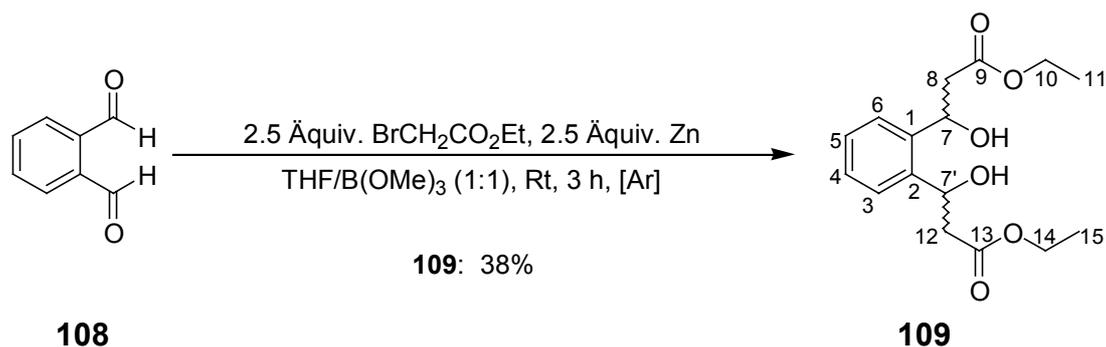


Abb. 44: Synthese des Phthaldialkohols **109** durch klassische Reformatsky-Reaktion in THF/Trimethylborat

Phthaldialdehyd **108** wurde mit 2.5 Äquivalenten Zinkstaub und 2.5 Äquivalenten Ethylbromacetat bei Raumtemperatur und unter Inertgasbedingungen umgesetzt. Nach Aufarbeitung und chromatographischer Aufreinigung konnte das Produkt **109** in moderater Ausbeute erhalten werden.

In Analogie zu der erfolgreichen Synthese der Salicylalkohol-Derivate **33** durch Anwendung der Variante der Reformatsky-Reaktion mit Indium wurde auch die Darstellung des Diols **109** mit Hilfe dieses Reaktionstyps erprobt^[68]. Die Reaktion wurde wie bereits in Kapitel 4.1.1 für Salicylaldehyde **103** als Edukte beschrieben durchgeführt. Statt der gewünschten Verbindung **109** ergab sich auf diese Weise das cyclische Halbacetal **110** (Abb. 45), vermutlich durch intramolekularen Angriff der β -ständigen Hydroxy-Gruppe des monosubstituierten Intermediats auf seine noch nicht umgesetzte Aldehyd-Funktion.

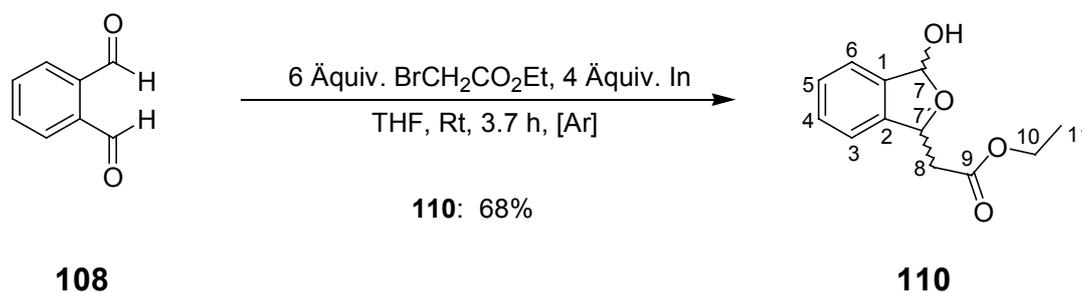


Abb. 45: Versuch der Synthese des Phthaldialkohols **109** durch Indium-Variante der Reformatsky-Reaktion

Das Isobenzofuran **110** wurde nach chromatographischer Aufreinigung in 68 % Ausbeute erhalten. Die intramolekulare Halbacetalbildung war wahrscheinlich durch die starre *ortho*-Ständigkeit der Substituenten am aromatischen Kern gegenüber einer weiteren Reaktion des monosubstituierten Intermediats mit einem weiteren Äquivalent der reaktiven Indium-Spezies zum Phthaldialkohol-Derivat **109** begünstigt worden.

Weiterhin wurde der Versuch unternommen, Phthaldialdehyd **108** mit Ethylacetat und einer starken Base (Natriumhydrid, LDA) in einer Aldol-Addition zum Phthaldialkohol **109** umzusetzen (Abb. 46, S. 45). Es wurde stets zunächst das Enolat des Ethylacetats in einer Vorreaktion dargestellt. Anschließende Zugabe von **108** erfolgte bei tiefer Temperatur, um eine mögliche Bildung von Aldol-Kondensationsprodukten zu unterbinden. Anschließende Aufarbeitung konnte jedoch für keine der verwendeten Basen die Zielverbindung **109** liefern. Auch hier erscheinen sterische Gründe für das Scheitern der Synthese am wahrscheinlichsten.

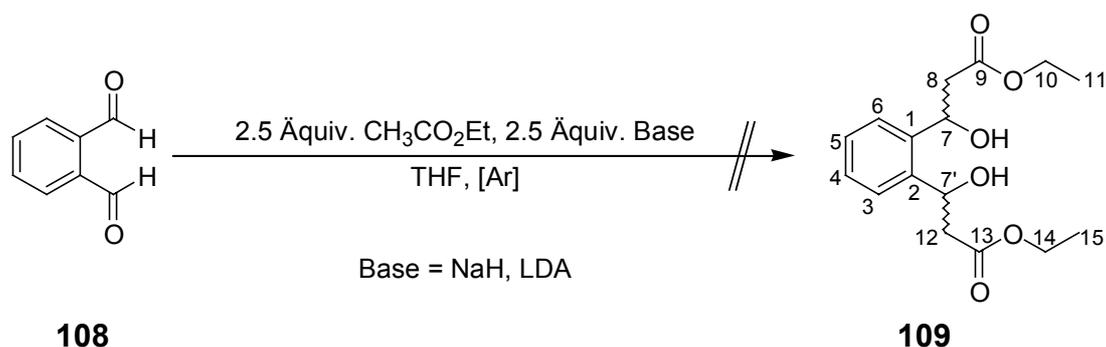


Abb. 46: Versuche zur Synthese des Phthaldialkohols **109**: Aldol-Reaktion von Phthaldialdehyd mit Ethylacetat

Zusätzlich zu den geschilderten, erfolglosen einstufigen Versuchen einer Darstellung von **109** wurden auch ein zweistufiger Syntheseansatz erprobt (Abb. 47).

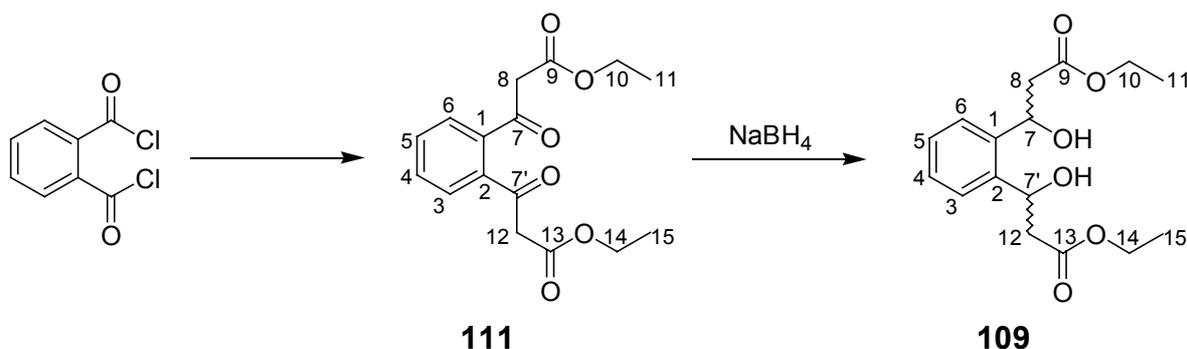
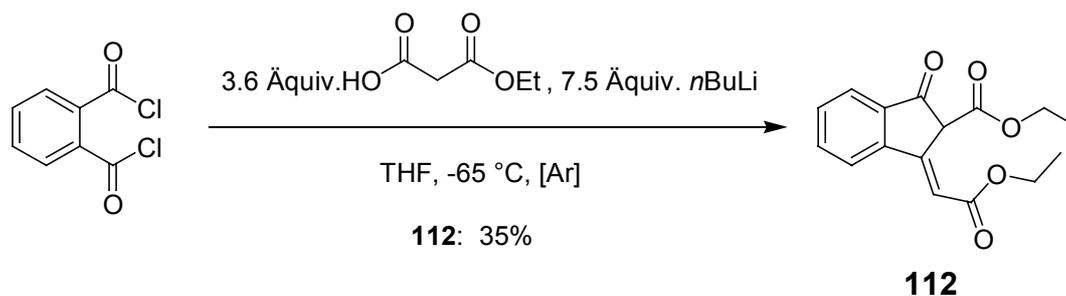


Abb. 47: Zweistufiger Synthesepfad zur Darstellung des Phthaldialkohols **109**

Mit dem reaktiven Acylierungsreagenz Phthaloyldichlorid sollte die Darstellung des aromatischen β -Ketocarbonsäureesters **111** möglich sein, dessen selektive Reduktion mit Natriumborhydrid dann den Alkohol **109** ohne Bildung des Kondensationsproduktes liefern könnte. Zur Darstellung der Diketoverbindung **111** wurden zwei Methoden erprobt: die Acylierung von Monoethylmalonat, gefolgt von Decarboxylierung sowie die entsprechende Acylierung des Enolats von Ethylacetat mit Phthaloyldichlorid. Da die Darstellung von **111** in beiden Fällen misslang, konnte der erläuterte Syntheseweg nicht weiter verfolgt werden.

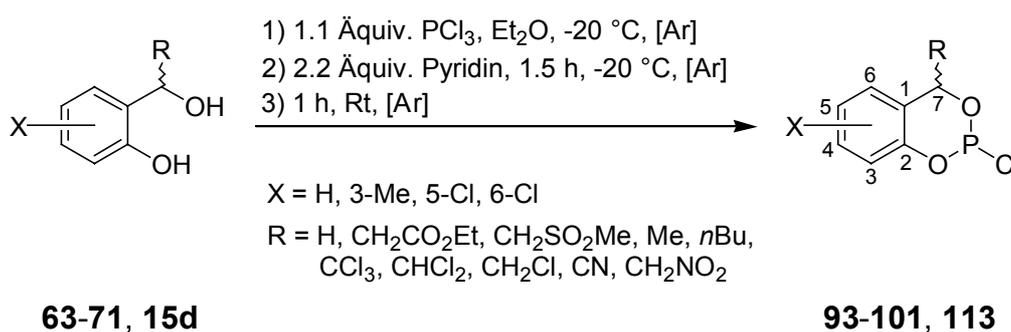
Dementsprechend führte also auch der bereits erwähnte Versuch, **111** durch Acylierung von Monoethylmalonat mit Phthaloyldichlorid und anschließender Decarboxylierung nach einer für Benzoylchlorid beschriebenen Methode^[99] zu synthetisieren, nicht zum gewünschten Produkt (Abb. 48, S. 46).

Abb. 48: Versuch der Synthese der Diketoverbindung **111**

Anstelle von **111** konnte jedoch lediglich das Indan-Derivat **112** isoliert werden (Abb. 48). Die Verbindung **112** bildete sich unter den Reaktionsbedingungen vermutlich durch intramolekulare Knoevenagel-Kondensation aus **111**, das wahrscheinlich intermediär entstanden war.

4.2 Synthese der Saligenylchlorphosphate **93-101** und **113**

Die Synthesen der Saligenylchlorphosphate **93-101** sowie **113** erfolgten nach einer bereits erprobten Methodik unter Inertgas, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschliessen^[68] (Abb. 49).

Abb. 49: Synthese der Saligenylchlorphosphate **93-101** und **113**

Die Salicylalkohole **15d** sowie **63-71** wurden als Lösungen in abs. Diethylether vorgelegt und auf $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Es wurde generell darauf geachtet, dass trockenes Lösungsmittel und frisch destillierte Reagenzien verwendet wurden und dass sich die Salicylalkohole **15d** und **63-71** vollständig in Lösung befanden. Bei fortgesetzter Kühlung wurden anschließend unter Rühren 1.1 Äquivalente Phosphor(III)-chlorid

sowie in einem Zeitraum von 1.5 h 2.2 Äquivalente Pyridin zugetropft. Nach beendeter Zugabe ließ man die Reaktionsgemische auf Raumtemperatur erwärmen und noch 1 h bei Raumtemperatur nachrühren. Anschließend wurden die Ansätze über Nacht bei -20 °C aufbewahrt, um ein möglichst vollständiges Ausfallen des entstandenen Pyridinhydrochlorids herbeizuführen. Dies wurde dann unter Argon abfiltriert. Vom Filtrat wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Die erhaltenen Rohprodukte wurden ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-spektroskopisch analysiert. In allen Fällen lagen die Rohprodukte der Saligenylchlorphosphane **93-101** sowie **113** in für die weiteren Umsetzungen ausreichend guter Form vor. Grundlage für die Beurteilung der Qualität der Rohprodukte waren die entsprechenden ^{31}P -NMR-Rohproduktspektren. Der Anteil der Saligenylchlorphosphane **93-101** sowie **113** an der Gesamtmenge der Phosphor-haltigen Produkte konnte so bestimmt werden. Er lag typischerweise im Bereich von 70 % – 85 %.

4.2.1 Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten Phthalogenylchlorphosphans **114**

Die Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten Phthalogenylchlorphosphans **114** aus dem Phthaldialkohol-Derivat **109** (Abb. 50) erfolgte in Analogie zur Darstellung den zuvor in Kapitel 4.2 beschriebenen Darstellungen der Saligenylchlorphosphane **93-101**.

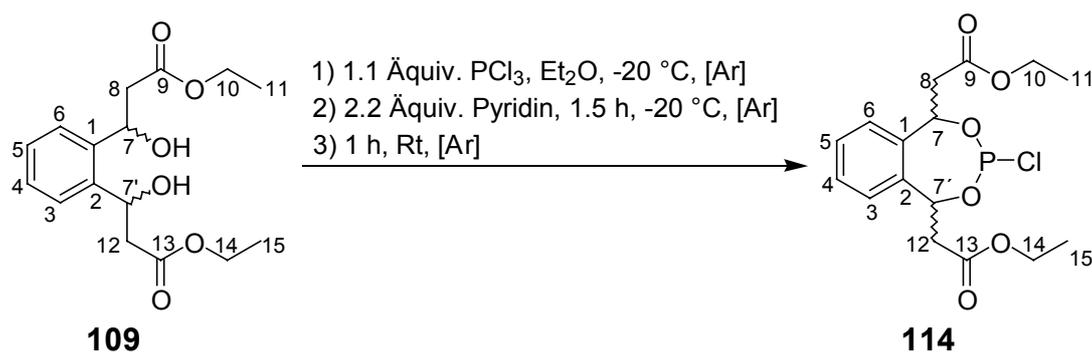


Abb. 50: Synthese des Phthalogenylchlorphosphans **114**

Zunächst wurden die Mengenverhältnisse der Edukte in strikter Übereinstimmung zur Darstellung von **93-101** gewählt. Das ^{31}P -NMR-Spektrum des so erhaltenen Produktes wies zwei Signale bei 150.9 ppm bzw. 158.0 ppm auf, die aufgrund ihrer Triplet-Struktur im ^1H -gekoppelten Spektrum der Verbindung **114** zugeordnet wurden,

welche somit als Gemisch zweier diastereomerer Enantiomerenpaare vorzuliegen schien (Verhältnis etwa 1 : 1 gemäß den Integralwerten). Außer einigen Verunreinigungen, deren Signal im Bereich von etwa 0-10 ppm lagen (vermutlich Hydrolyseprodukte), fanden sich jedoch auch noch bei 178.4 ppm und 180.1 ppm Signale, welche bei ^1H -Kopplung Dubletts ergaben. Sie wurden daher offenkettigen Reaktionsprodukten des Phosphor(III)-chlorids mit dem Diol **109** zugeschrieben. Das Verhältnis dieser Nebenprodukte zum Reaktionsprodukt **114** betrug 0.8 : 1.0, so dass die phosphitylierende Wirkung des erhaltenen Rohprodukts von **114** auf d4T **4** zur Darstellung von **115** als mäßig eingeschätzt werden musste.

Daher wurde noch ein zweiter Ansatz zur Darstellung von **114** unternommen, in dem die Bildung offenkettiger Nebenprodukte durch Anwendung des Verdünnungsprinzips weitgehend unterdrückt werden sollte. So wurde mit Phosphor(III)-chlorid und mit dem etwa dreifachen Volumen Diethylether gearbeitet. Die ^{31}P -NMR-spektroskopische Untersuchung des Rohprodukts ergab identische Signale, allerdings betrug das Verhältnis der offenkettigen Nebenprodukte zu **114** nunmehr 2.7 : 1.0. Die erläuterte Modifikation der Synthese brachte also keine Verbesserung, sondern eine Verschlechterung der Produktqualität.

4.3 Synthese der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-NMPs

Im folgenden Kapitel werden nun die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-NMPs beschrieben. Insbesondere die Benzyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** lieferten aufgrund der mit ihnen durchgeführten Studien (vgl. Kap. 4.4-4.6) wertvolle Hinweise, die zum besseren Verständnis des Einflusses der Benzyl-Substituenten auf das Hydrolyseverhalten von *cycloSal*-Pronucleotiden führten.

Statt der vollständigen Namen der Benzyl-substituierten *cycloSal*-NMPs werden nachfolgend Kürzel verwendet, entsprechend dem folgenden System: Soweit vorhanden wird der Substituent am Aryl-Rest vorangestellt (3-Me, 5-Cl bzw. 6-Cl). Als nächstes wird der Name des Substituenten in Benzyl-Position (7-Position) durch ein 2- bzw. 3-Buchstaben-Kürzel angehängt. Tabelle 2 gibt eine Übersicht dieser ver-

wendeten Kürzel. Daran wird die Abkürzung „*cycloSal*“ für „*cyclosaligenyl*“ angeschlossen. Als letztes folgt die Bezeichnung des Nucleotids (z.B. d4TMP, BVDUMP).

Tabelle 2: 2- bzw. 3-Buchstaben-Kürzel der Substituenten in Benzyl-Position

	Vollständige Bezeichnung	Kürzel
33	7- <u>E</u> thoxy <u>c</u> arbonyl <u>m</u> ethyl-	7-ECM
34	7- <u>M</u> ethansulfonyl <u>m</u> ethyl-	7-MSM
35	7- <u>M</u> ethyl-	7-Me
36	7- <u>B</u> utyl-	7-Bu
37	7- <u>T</u> richlormethyl	7-TM
38	7- <u>D</u> ichlormethyl-	7-DM
39	7- <u>M</u> onochlormethyl-	7-MM
40	7- <u>C</u> yanomethyl-	7-CM

Zwei Beispiele sollen mit diesem Benennungsschema vertraut machen:

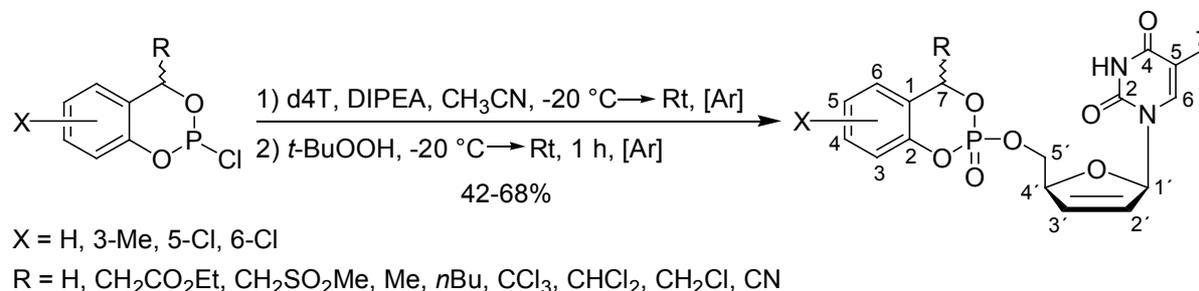
Beispiel 1: 3-Me,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP als Abkürzung für 3-Methyl-7-ethoxy-carbonylmethyl-*cyclosaligenyl*-d4T-monophosphat **33b**;

Beispiel 2: 7-DM-*cycloSal*-d4TMP als Abkürzung für 7-Dichlormethyl-*cyclosaligenyl*-d4T-monophosphat **38**.

4.3.1 Synthese der *cycloSal*-d4TMPs 16d und 33-40

Die Darstellung der *cycloSal*-d4TMPs **16d** und **33-40** erfolgte nach einer bereits etablierten Vorschrift^[68] unter Inertgasatmosphäre (Abb. 51, S. 50). Hierzu wurden Lösungen von d4T **4** in abs. Acetonitril (ca. 0.05 M) angesetzt und auf -20 °C gekühlt. Zu diesen Lösungen wurden zwei Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate als Rohprodukte gegeben. Anschließend ließ man die Reaktionslösungen auf Raumtemperatur erwärmen und bei Raumtemperatur nachrühren. Die Reaktionen wurden dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol = 9 : 1 v/v). Sofern d4T **4** noch nicht vollständig verbraucht war,

wurde bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ weiteres Saligenylchlorphosphan zugegeben. Nach vollständiger Umsetzung von **4** wurden bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ drei Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid zuge-
tropft. Man ließ die Reaktionsmischungen erneut auf Raumtemperatur erwärmen und
1 h nachrühren.



113, 93-100

16d, 33-40

Abb. 51: Darstellung der *cycloSal*-d4TMPs **16d** und **33-40**

Nach Abdestillieren der Lösungsmittel und weiterer Aufreinigung am Chromatotron konnten die Produkte **16d** und **33-40** zunächst in Form farbloser Öle in mittleren bis guten Ausbeuten isoliert werden. Allgemein zeichnete sich der Trend ab, dass mit zunehmender Hydrolysestabilität der *cycloSal*-d4TMPs **16d** und **33-40** auch die in der vorangegangenen Synthese erzielte Ausbeute stieg. Die als farblose Öle erhaltenen *cycloSal*-d4TMPs **16d** und **33-40** gingen durch Gefriertrocknung in farblose Watten über. Alle Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** wurden als Gemisch aus vier Diastereomeren erhalten. Verbindung **16d**, die keinen weiteren Substituenten in Benzyl-Position trägt, konnte als Gemisch aus zwei Diastereomeren isoliert werden (die genauen Diastereomerenverhältnisse für **16d** und **33-40** finden sich im *Experimentalteil*, Kap. 7.4).

Der Versuch, auch 7-Nitromethyl-*cycloSal*-d4TMP **41** nach der beschriebenen Methode aus dem entsprechenden Saligenylchlorphosphan **101** und d4T **4** darzustellen, misslang. Es wurden nur Mischfraktionen von Nebenprodukten erhalten. Aufgrund der chemischen Verschiebung im ³¹P-NMR-Spektrum konnte der "falsche Diester" **91'** als eines der Nebenprodukte identifiziert werden. Dieser kann allerdings nur aus zuvor gebildetem Triester **41** entstanden sein. Offensichtlich sind die zur Darstellung von **16d** und **33-40** erfolgreich angewendeten Bedingungen (zwei Äquivalente DIPEA) zu basisch für eine effektive Darstellung von **41**, da unter diesen Bedingungen anschließend eine α -Deprotonierung in der 7-Nitromethyl-Seitenkette in **41** den Abbau zu **91'** auslöst. Aus diesem Grund wurde ein weiterer Versuch zur Darstellung von **41** mit zwei Äquivalenten des schwächer basischen Pyridins anstelle

des DIPEA unternommen. Der Triester **41** konnte jedoch auch auf diesem Weg nicht erhalten werden.

4.3.1.1 Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten *cyclo*Phthal-d4TMP **115**

Wie zuvor beschrieben (Kap. 4.3.1) gelang auch die Synthese von 7,7'-bis-Ethoxycarbonylmethyl-*cyclo*Phthal-d4TMP **115** (Abb. 52) als Gemisch aus drei Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.4 : 0.3.

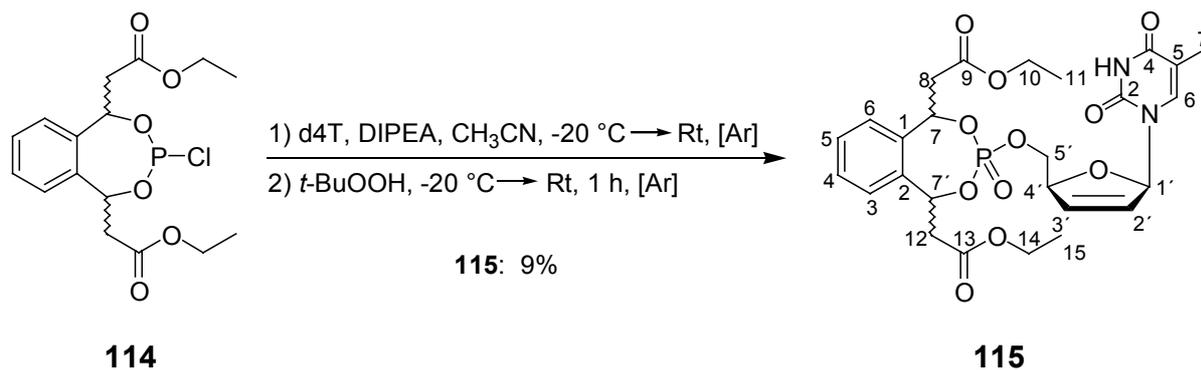


Abb. 52: Darstellung von 7,7'-bis-Ethoxycarbonylmethyl-*cyclo*Phthal-d4TMP **115**

Die vergleichsweise schlechte Qualität des eingesetzten Phthalogenylchlorphosphans **114** ist sehr wahrscheinlich als Hauptursache dafür anzusehen, dass **115** nur in einer unbefriedigenden Ausbeute von 9% erhalten werden konnte.

4.3.2 Synthese der *cyclo*Sal-BVDUMPs **116**

Die Darstellung der *cyclo*Sal-BVDUMPs **116a-d** erfolgte in Ahnlehnung an die in Kapitel 4.3.1 für *cyclo*Sal-d4TMPs beschriebene Vorschrift (Abb. 53).

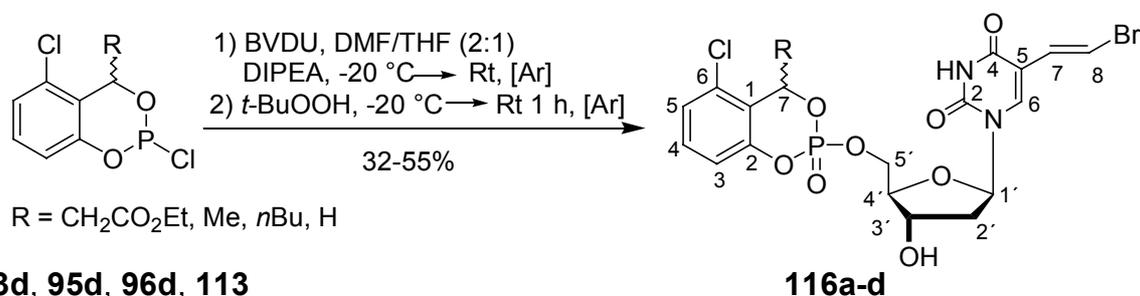


Abb. 53: Darstellung der *cyclo*Sal-BVDUMPs **116a-d**

Die höhere Reaktivität der primären 5'-OH-Gruppe in BVDU **13** gegenüber der sekundären 3'-OH-Gruppe führte dabei zur bevorzugten Reaktion der Saligenyl-

chlorphosphate mit 5'-OH. Zu Lösungen von BVDU **13** in abs. DMF/THF (2 : 1 v/v) gab man bei -20 °C zwei Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate (ca. 1.5 Äquivalente). Anschließend ließ man den Ansatz auf Raumtemperatur erwärmen. Auf Zugabe weiteren Chlorphosphats wurde bei noch unvollständigem Umsatz von **13** verzichtet (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle: Laufmittel Dichlormethan/ Methanol = 9 : 1 v/v), da es dadurch unvermeidlich auch zur Bildung von 3',5'-diphosphoryliertem Nebenprodukt kommen würde. Es wurden anschließend bei -20 °C drei Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid zugegeben. Man ließ die Reaktionsmischungen erneut auf Raumtemperatur erwärmen und 1 h nachrühren. Anschließend wurde das Lösungsmittel abdestilliert und die so erhaltenen Rohprodukte wurden in Trennungen am Chromatotron aufgereinigt. Die Produkte **116** wurden zunächst in Form farbloser Öle in befriedigenden Ausbeuten isoliert. Diese gingen durch Gefriertrocknung in farblose Watten über. Auch die Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-BVDUMPs **116a-c** wurden als Gemisch aus vier Diastereomeren erhalten, lediglich das nicht Benzyl-modifizierte **116d** fiel als Gemisch aus zwei Diastereomeren an (die genauen Diastereomerenverhältnisse für **116a-d** finden sich im *Experimentalteil*, Kap. 7.5).

4.3.3 Synthese der *cycloSal*-ddAMPs **117** und *cycloSal*-F-*ara*-ddAMPs **118**

Auch die Synthesen der *cycloSal*-ddAMPs **117** und des *cycloSal*-F-*ara*-ddAMPs **118** gelangen in Anlehnung an die in Kapitel 4.3.1 beschriebene Vorschrift zur Darstellung von *cycloSal*-d4TMPs (Abb. 54).

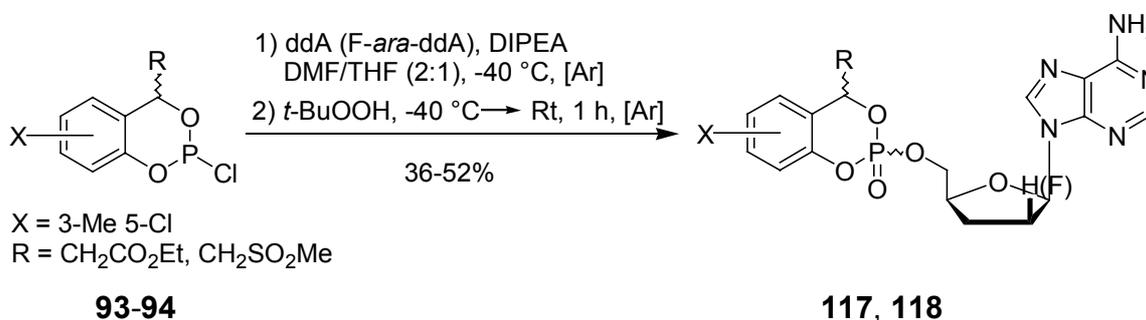


Abb. 54: Darstellung der *cycloSal*-ddAMPs **117** und *cycloSal*-F-*ara*-ddAMPs **118**

Bei der Umsetzung von ddA **21** (bzw. F-*ara*-ddA) mit Saligenylchlorphosphaten gilt es, eine mit der exocyclischen primären Amino-Gruppe der Adenin-Base in ddA **21** (bzw. F-*ara*-ddA) mögliche Konkurrenzreaktion zur Reaktion mit 5'-OH zu unterbin-

den. In dem Lösungsmittelgemisch DMF/THF (2 : 1 v/v) konnten unter strenger Temperaturkontrolle bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ sehr gute Selektivitäten für die 5'-OH-Gruppe erzielt werden^[57].

Zu Lösungen von ddA **21** (bzw. F-*ara*-ddA) wurden also bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ zwei Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate **93-94** (Rohprodukte) gegeben. Die Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/ Methanol = 9 : 1 v/v) und sofern ddA **21** (bzw. F-*ara*-ddA) noch nicht vollständig verbraucht war, wurde bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ weiteres Saligenylchlorphosphan zugegeben. Nach vollständiger Umsetzung bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ drei Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid zugetropft. Man ließ die Reaktionsmischungen auf Raumtemperatur erwärmen und 1 h nachrühren. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel wurden die Rohprodukte am Chromatotron aufgereinigt. So konnten **117** und **118** in befriedigenden Ausbeuten zunächst als farblose Öle erhalten werden. Diese gingen durch Gefrier-trocknung in farblose Watten über.

Wieder wurden die Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-ddAMPs **117a-c** sowie *cycloSal*-F-*ara*-ddAMP **118** als Gemisch aus vier Diastereomeren erhalten (die genauen Diastereomerenverhältnisse für **117** und **118** finden sich im *Experimentalteil*, Kap. 7.6).

4.4 Hydrolysestudien mit den Benzyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40**

Nach erfolgreicher Synthese wurden mit den Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** Hydrolyseexperimente durchgeführt, die die Einflüsse der vorgenommenen Modifikationen im Vergleich zu den bereits bekannten^[68] Benzyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a** sowohl qualitativ wie auch quantitativ dokumentieren. In den folgenden Unterkapiteln 4.4.1-4.4.3 werden diese verschiedenen Experimente beschrieben sowie die daraus gewonnenen Ergebnisse präsentiert. Eine zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Hydrolysestudien (vgl. auch Ergebnisse aus Kap. 4.6-4.7), in die zusätzlich auch Ergebnisse aus DFT-Rechnungen an ausgewählten Modellsystemen mit *Gaussian 98*^[103] (Kap. 4.5) einfließen, und eine

mechanistische Interpretation zum Hydrolyseverhalten von Benzyl-substituierten *cycloSal*-NMPs wird abschließend in Kapitel 4.8 gegeben.

4.4.1 Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten in basischem Phosphat-Puffer

Die Hydrolysekinetiken der Phosphattriester **33-40** und **16d** wurden bei 37°C in isotonischer Phosphat-Pufferlösung (12.5 mM, pH = 7.3) durchgeführt. Dazu wurde von der jeweiligen Prodrug-Verbindung zunächst eine 1.9 mM Stammlösung in Wasser angesetzt, indem man 11.4 µl einer zuvor angesetzten 50 mM Lösung des Prodrugs in DMSO mit 300 µl Wasser mischte. Nachdem 300 µl einer 25 mM Phosphat-Pufferlösung (pH = 7.3) mit 5 µl eines internen Standards (AZT-Lösung) vorgelegt und auf 37°C temperiert waren, wurden die Hydrolysen durch Hinzupipettieren von 300 µl der Stammlösung des jeweiligen Pro-Nucleotids (Gesamtkonzentrationen der Hydrolyselösungen: $c_{\text{Puffer}} = 12.5 \text{ mM}$, $c_{\text{Triester}} = 1.0 \text{ mM}$) und kurzes Durchmischen gestartet. Sofort nach Durchmischen wurde das erste Aliquot entnommen (t_0). Während der Hydrolysen wurden weitere Proben entnommen, zum Stoppen der Hydrolysen zu einem Tropfen konz. Essigsäure pipettiert und sofort auf -196°C abgekühlt. Anschließend wurden HPLC-analytische Untersuchungen der Aliquote bei UV-Detektion durchgeführt. Zur Auswertung wurde der Quotient aus den Peakflächen des Prodrugs und des internen Standards (AZT) gebildet und gegen die Hydrolysedauer aufgetragen. Die Geschwindigkeitskonstanten k für die Hydrolysen der Phosphattriester konnten mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms *Microsoft Excel 2000* bestimmt werden. Dazu wurde für alle Hydrolysen ein Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung angenommen und demzufolge exponentielle Ausgleichskurven der allgemeinen Form:

$$A(t) = A_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

durch die experimentell bestimmten Meßpunkte gelegt (wegen der im großen Überschuß vorhandenen Base Hydroxid kann die Hydrolyse als Reaktion *pseudo*-erster Ordnung aufgefasst werden). Aus den so ermittelten Werten für k konnte anschließend nach der allgemeinen Gleichung für ein Geschwindigkeitsgesetz erster Ordnung die Hydrolysehalbwertszeit $t_{1/2}$ errechnet werden:

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

Alle Hydrolysekinetiken wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Tabelle 3 gibt die gemittelten Halbwertszeiten für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten *cycloSal*-d4TMPs **16d** und **33-40** wieder, zusammen mit der für den Prototypen *cycloSal*-d4TMP **16a**, die nach der gleichen Vorgehensweise bestimmt wurde.

Tabelle 3: Hydrolysehalbwertszeiten der *cycloSal*-d4TMPs **16a**, **16d** und **33-40**

	$t_{1/2}$ [h]			
	X = H (a)	X = 3-Me (b)	X = 5-Cl (c)	X = 6-Cl (d)
7-H (16)	8.11 ± 0.12 ^[a]	--- ^[b]	--- ^[b]	1.92 ± 0.02
7-ECM (33)	4.14 ± 0.09 ^[a]	6.82 ± 0.05	1.51 ± 0.04	1.46 ± 0.03
7-MSM (34)	0.30 ± 0.02 ^[a]	0.41 ± 0.01	0.12 ± 0.01	--- ^[c]
7-Me (35)	0.31 ± 0.01 ^[a]	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]
7-Bu (36)	0.84 ± 0.02	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]
7-TM (37)	1.42 ± 0.09	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]
7-DM (38)	1.94 ± 0.01	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]
7-MM (39)	5.25 ± 0.10	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]
7-CM (40)	1.07 ± 0.01	--- ^[c]	--- ^[c]	--- ^[c]

[a]: Werte wurden unter sonst gleichen Bedingungen in meiner Diplomarbeit^[68] bestimmt;
 [b]: Halbwertszeiten wurden unter diesen Bedingungen nicht gemessen;
 [c]: Verbindungen wurden nicht synthetisiert

An dieser Stelle muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass es sich bei den nach der oben beschriebenen Methode ermittelten Halbwertszeiten lediglich um gemittelte Werte handelt. Zum einen wurde in Kapitel 4.3 bereits festgestellt, dass es sich bei den Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** jeweils um Gemische aus vier Diastereomeren handelt. Diese vier Diastereomere können sich u.U. deutlich in ihrer Hydrolysehalbwertszeit als auch in ihrem Hydrolyseverhalten unterscheiden. Wie bereits im Kenntnisstand über die Hydrolysen der Benzyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a** erwähnt (vgl. Kap. 2.2), konkurrieren im ersten Schritt der Hydrolyse zwei Reaktionswege, die entweder zu den sog. "richtigen Diestern" **43a-45a** (Reaktionsweg **A**, Abb. 19, S. 19) oder den "falschen Diestern" **83'a-84'a** bzw. **85a** führen (Reaktionsweg **B**, Abb. 19, S. 19). Im Gegensatz zu den "richtigen Diestern"

43a-45a, die in einer Folgereaktion d4TMP bereitstellen, sind die "falschen Diester" dazu nicht mehr in der Lage. Diese beiden konkurrierenden Reaktionskanäle **A** und **B** sind prinzipiell für jedes der bis zu vier Diastereomeren eines der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** möglich. Für die Hydrolyse eines Gemisches aus vier Diastereomeren eines *cycloSal*-d4TMPs **33-40** bedeutet dies, dass für jedes Diastereomer jeweils zwei Reaktionen ablaufen, die zusätzlich für jedes Diastereomer unterschiedliche Geschwindigkeitskonstanten besitzen. Demzufolge stellen die experimentell bestimmten Halbwertszeiten nur genäherte sowie von der jeweiligen Zusammensetzung der Diastereomeregemische abhängige Werte dar. Sie geben allesamt nur die Geschwindigkeit an, mit der das jeweilige Pro-Nucleotid abgebaut wird, unabhängig davon, zu welchen Produkten.

Vor dem Hintergrund des überaus deutlichen Unterschieds in den Hydrolysehalbwertszeiten (vgl. Tab. 3, S. 55) von 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a** einerseits ($t_{1/2} = 4.14$ h) und 7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34a** ($t_{1/2} = 0.30$ h) bzw. 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** ($t_{1/2} = 0.31$ h) andererseits, erschien es plausibel anzunehmen, dass die jeweiligen Benzyl-Substituenten in **33a-35a** starke Einflüsse auf die jeweilige Phenylphosphatester-Spaltung **A** (führt zum "richtigen Diester", vgl. Abb. 19, S. 19) und die konkurrierende Benzylphosphatester-Spaltung **B** (führt zum "falschen Diester") ausüben.

So konnte in den ^{31}P -NMR-Hydrolysestudien für die in Benzyl-Position alkylierten Derivate 7-Me- und 7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35a** und **36a** gezeigt werden (vgl. Kap. 4.4.4.1 und 4.4.4.3), dass die Freisetzung von d4TMP nur noch als Nebenreaktion abläuft. Die bevorzugt ablaufende Reaktion führt zu den Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester") **85a** und **86a**. Die im Vergleich zum Prototypen **16a** (8.11 h) deutlich kürzeren Hydrolysehalbwertszeiten für **35a** (0.31 h) und **36a** (0.84 h; vgl. Tab. 3, S. 55) resultieren deshalb primär aus einer sehr viel schnelleren Konkurrenzreaktion im Fall von **35a** und **36a** und nicht aus einem beschleunigenden Effekt des 7-Me- bzw. 7-Bu-Substituenten auf die Freisetzung von d4TMP.

Ähnliche Verhältnisse ergaben sich nach einer ^{31}P -NMR-Studie für die Verbindung **34a**, die einen Benzyl-Substituenten mit C-H-acidifizierender Gruppe (7-MSM) trägt. Auch in diesem Fall wurde nach vollständiger Hydrolyse als Hauptprodukt der "falsche Diester" **84'a** identifiziert (vgl. Kap. 4.4.4.1). Im Vergleich zu den in Benzyl-Position alkylierten Derivaten **35a** bzw. **36a** war sein Anteil an den Hydrolyseprodukten jedoch geringer. Allerdings waren die für **34a** und **35a** bestimmten Hydrolysehalb-

wertszeiten nahezu identisch (0.30 h, bzw. 0.31 h; vgl. Tab. 3, S. 55). Aus diesem Grunde kann neben einer schnellen Konkurrenzreaktion zum "falschen Diester" **84'a** für **34a** auch ein beschleunigender Effekt des 7-MSM-Substituenten auf die Reaktion zum "richtigen Diester" **44a** nicht ausgeschlossen werden.

Eindeutig ist dagegen der beschleunigende Effekt der Substituenten 7-ECM (Verbindung **33a**) und 7-Cyanomethyl (7-CM, Verbindung **40**) auf die Reaktion zum "richtigen Diester" **43a** bzw. **50**. In beiden Fällen ergaben ³¹P-NMR-Hydrolysestudien (vgl. Kap. 4.4.4.1 und 4.4.4.3), dass die "falschen Diester" **83'a** bzw. **90'** nur noch in geringen Mengen entstehen. Die Hauptreaktion liefert in beiden Fällen das gewünschte Hydrolyseprodukt d4TMP. Die Tatsache, dass für beide Verbindungen **33a** (4.14 h) und **40** (1.07 h) jedoch kürzere Halbwertszeiten gemessen wurden als für den Prototypen 7-H-cycloSal-d4TMP **16a** (8.11 h, vgl. Tab. 3, S. 55), weist deutlich auf einen beschleunigenden Effekt dieser Substituenten auf die Reaktion zum "richtigen Diester" hin, wobei dieser Effekt für den Substituenten 7-CM noch stärker ausgeprägt zu sein scheint als für den Substituenten 7-ECM.

Aus früheren Arbeiten von Meier *et al.*^[54] ist bekannt, dass am Prototypen cycloSal-d4TMP **16a**, der bei der Hydrolyse ausschließlich den "richtigen Diester" bildet und dann in einer schnellen Folgereaktion d4TMP freisetzt, eine 3-Methylgruppe am Aryl-System die Bildung des "richtigen Diesters" verlangsamt, wohingegen ein 5-Chlor-Substituent sie deutlich beschleunigt. Zu klären blieb, ob diese Effekte auch bei gleichzeitiger Anwesenheit von Benzyl-Substituenten beobachtet werden können. Aus diesem Grund wurden die 3-Methyl-Derivate **33b/34b** sowie die 5-Chlor-Derivate **33c/34c** der Prodrug-Verbindungen 7-ECM- und 7-MSM-cycloSal-d4TMP **33a/34a** synthetisiert und ihre Halbwertszeiten gemessen (vgl. Tab. 3, S. 55).

In der Tat gelang es auch in diesen Fällen, die Halbwertszeiten durch Einführung der 3-Me-Gruppe zu verlängern bzw. durch den 5-Cl-Substituenten zu verkürzen (vgl. Abb. 55, S. 58). Diese Beobachtungen waren entsprechend in Einklang zu bringen mit einer Verzögerung (ausgelöst durch 3-Me) bzw. einer Beschleunigung (ausgelöst durch 5-Cl) der Spaltung zu den jeweiligen "richtigen Diestern" **43** bzw. **44**. Allerdings waren diese Effekte für die 7-ECM-Derivate **33a-c** deutlich stärker ausgeprägt als für die entsprechenden 7-MSM-Derivate **34a-c**. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus den entsprechenden ³¹P-NMR-Hydrolysestudien (vgl. Kap. 4.4.4.1-4.4.4.2) ist dieser Befund jedoch zu erklären. Für die 7-ECM-substituierten Derivate **33a-c** ist die Freisetzung von d4TMP über die intermediären Benzylphosphatdiester

("richtige Diester") **43a-c** der dominierende Reaktionsweg, so dass sich eine Beeinflussung durch 3-Me- bzw. 5-Cl-Substitution in einer deutlichen Verzögerung bzw. Beschleunigung der Hydrolyse bemerkbar macht.

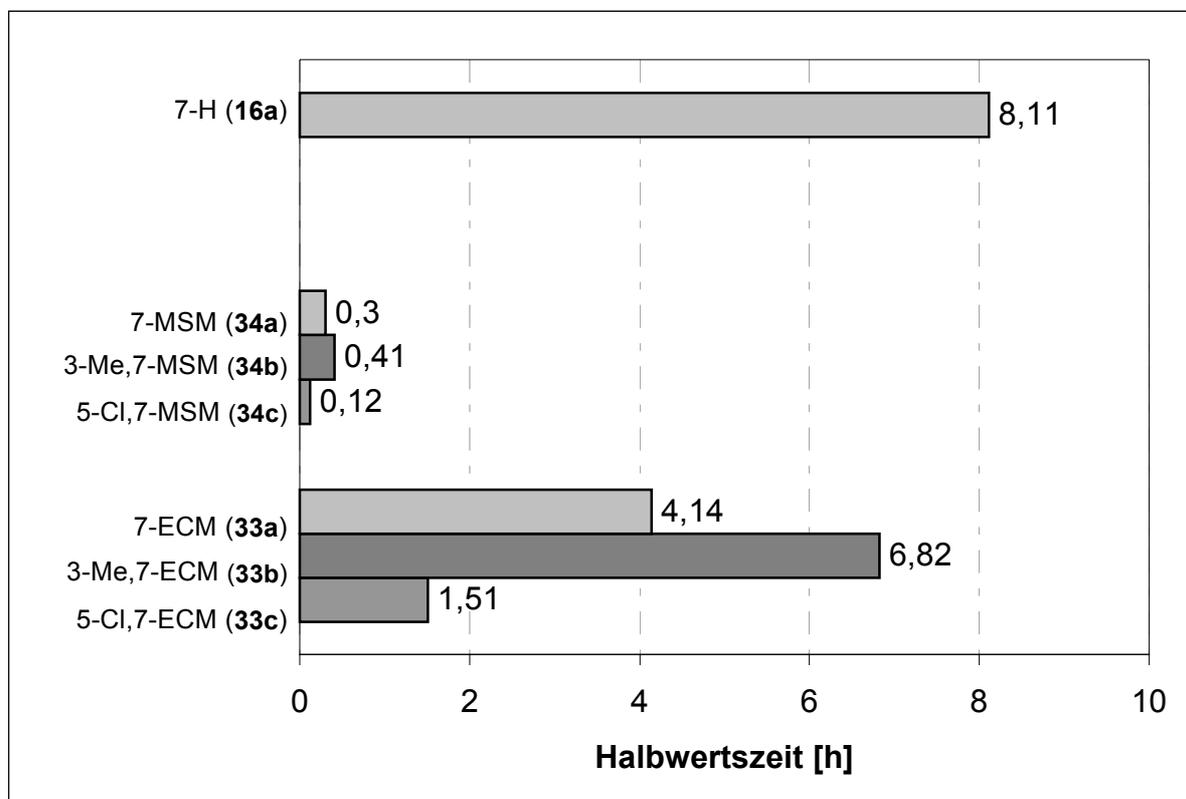


Abb. 55: Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten von **33a-c** und **34a-c** im Vergleich zu *cycloSal-d4TMP 16a*

Demgegenüber kann die Freisetzung von d4TMP für die 7-MSM-substituierten Derivate **34a-c** nur als Nebenreaktion aufgefasst werden, so dass die Einflussnahme auf die Geschwindigkeit der Entstehung der "richtige Diester" **44a-c** durch 3-Me- bzw. 5-Cl-Substitution keine deutlichen Veränderungen der Hydrolysegeschwindigkeiten bewirkt.

Eine interessante Ergänzung der Reihe Benzyl-funktionalisierter *cycloSal-d4TMPs* stellten die Chlormethyl-substituierten Derivate **37-39** dar. Insbesondere ist der Vergleich der Hydrolysehalbwertszeiten des in Benzyl-Position Donor-substituierten 7-Me-*cycloSal-d4TMP 35a* mit den in Benzyl-Stellung Akzeptor-substituierten Prodrugs **37-39** von Interesse. Während **35a** mit einer Halbwertszeit von nur 0.31 h zum überwiegenden Teil "falschen Diester" **85a** lieferte, konnte die Bildung dieser unerwünschten Konkurrenzprodukte bei Anwesenheit der Chlormethyl-Substituenten in Benzyl-Position (**37-39**) weitestgehend unterbunden werden (vgl. Kap. 4.4.4.4). Die

Hydrolysehalbwertszeiten nahmen gleichzeitig mit abnehmender Anzahl von Chlora-
tomen im Chlormethyl-Substituenten vom 7-TM-*cycloSal*-d4TMP **37** (1.42 h) über
das 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **38** (1.94 h) zum 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39** (5.25 h) hin zu
(Abb. 56).

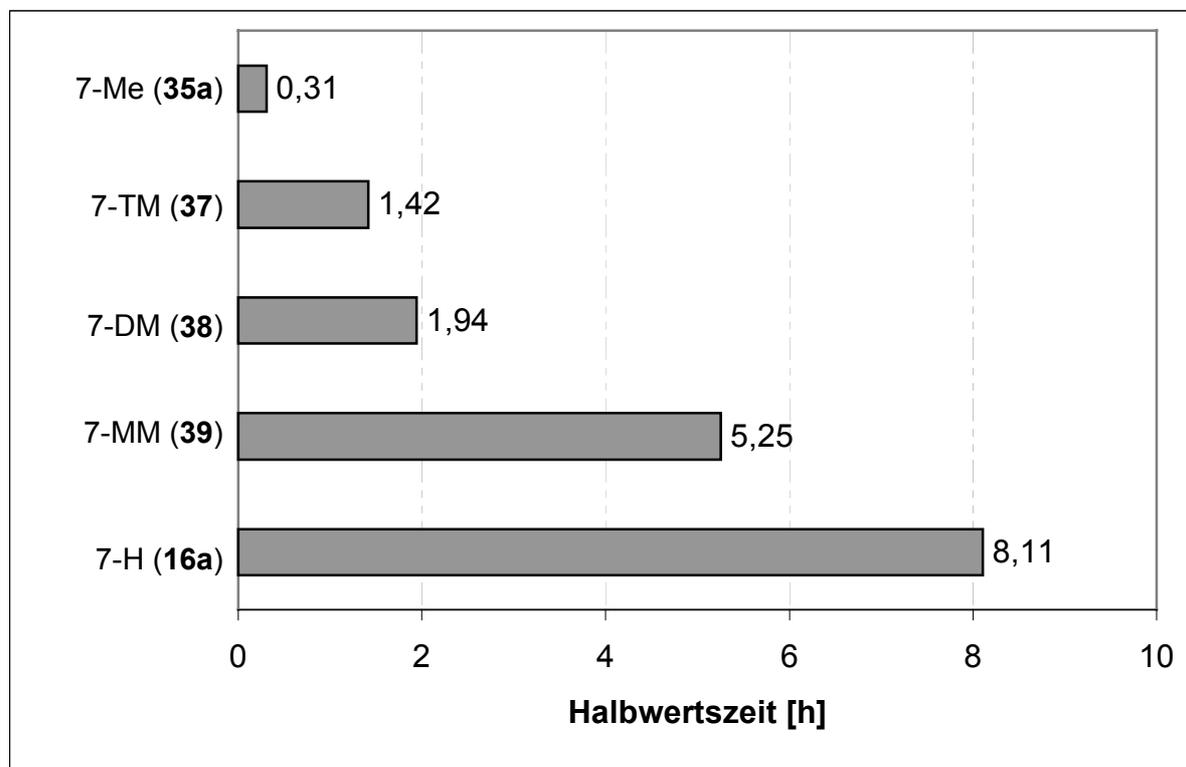


Abb. 56: Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten von **37-39** im
Vergleich zu 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** und *cycloSal*-d4TMP **16a**

Allerdings sei an dieser Stelle schon erwähnt, dass es nur im Fall von 7-MM-*cycloSal*-
Sal-d4TMP **39** zur problemlosen und ausschließlichen Freisetzung von d4TMP über
den intermediären "richtigen Diester" kam (vgl. Kap. 4.4.4.4). Zwar konnte auch für
7-TM- und 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **37/38** zum überwiegenden Teil die Bildung des
"richtigen Diesters" beobachtet werden, zur anschließenden Freisetzung von d4TMP
aus diesem kam es jedoch entweder gar nicht mehr (im Fall des 7-TM-*cycloSal*-
d4TMPs **37**) oder aber mit sehr großer Verzögerung (im Fall des 7-DM-*cycloSal*-
d4TMPs **38**; Halbwertszeit für diesen zweiten Schritt: $t_{1/2} > 250$ h).

Angesichts des Erfolgs insbesondere mit 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39**, welches das
erste Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMP darstellt, für das der konkurrierende
Benzyl-C-O-Bindungsbruch (Reaktionsweg **B**) zum "falschen Diester" vollständig
ausgeschaltet werden konnte (vgl. Kap. 4.4.4.4), wurde in ausgewählten *cycloSal*-
d4TMPs untersucht, ob auch ein 6-Chlor-Substituent am Aryl-Ring schon ausreicht,

um Reaktionskanal **B** auszuschalten, und welchen Effekt zum anderen dieser Substituent auf die Hydrolysehalbwertszeit ausübt (vgl. Kap. 4.4.3).

Betrachtet man den Einfluß, den der 6-Chlor-Substituent auf die Hydrolysehalbwertsdauer der *cycloSal*-d4TMPs **16d**, **33d**, **35d** und **36d** ausübt und vergleicht mit den entsprechenden am Aryl-Rest unsubstituierten *cycloSal*-d4TMPs **16a**, **33a**, **35a** und **36a**, so fällt auf, dass es im Fall der in Benzyl-Position Alkyl-substituierten Verbindungen 6Cl,7-Me- und 6Cl,7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35d** und **36d** zu einer deutlichen Verlängerung der Hydrolysehalbwertszeiten kommt (Abb. 57).

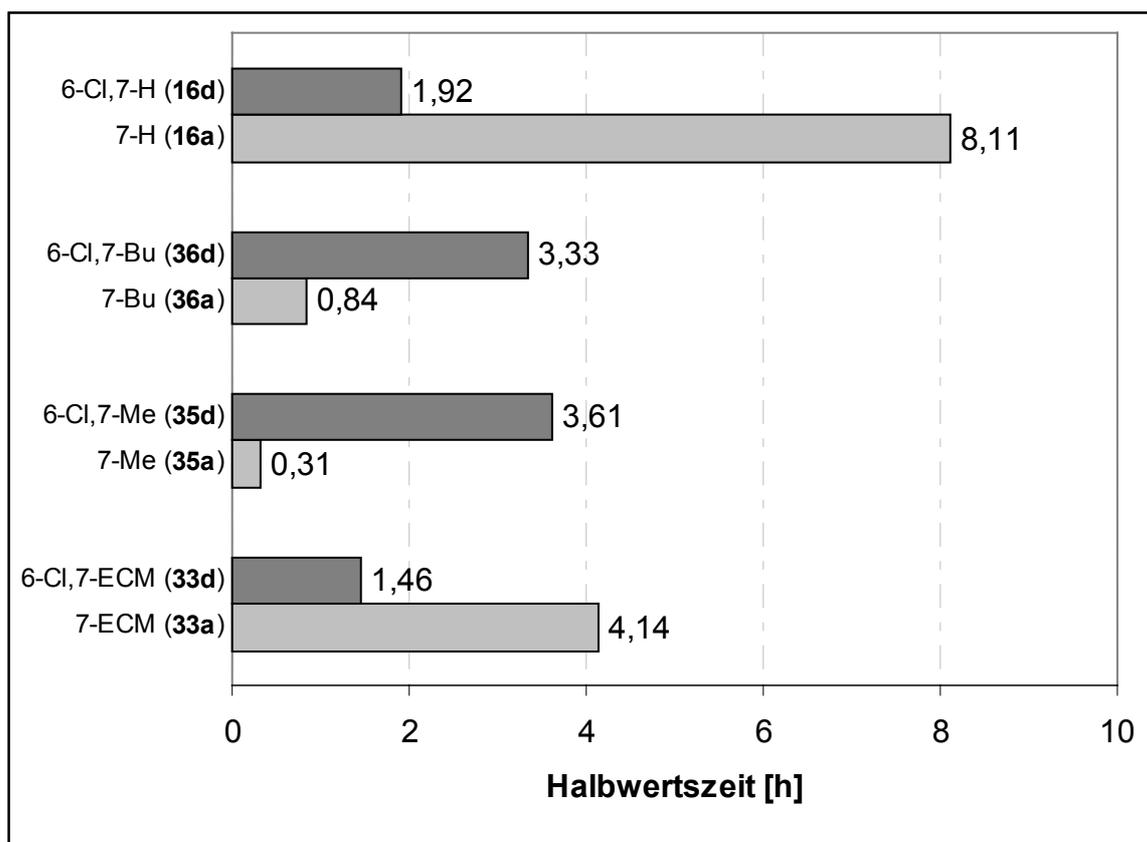


Abb. 57: Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten von **33a,d**, **35a,d** und **36a,d** im Vergleich zu **16a** und 6-Cl-*cycloSal*-d4TMP **16d**

Die Halbwertszeiten für **35d** und **36d** lagen beide im Bereich um 3.5 h. Dies bedeutet für **36d** einer Verlängerung um ca. das vierfache, im Fall von **35d** sogar einer Verlängerung um mehr als das zehnfache, verglichen mit **36a** respektive **35a**. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die Hydrolyse von **35d** und **36d** ausschließlich die Bildung von d4TMP zur Folge hatte (vgl. Kap. 4.4.4.5), während die Hauptprodukte der Hydrolysen der entsprechenden am Aryl-Rest unsubstituierten Derivate 7-Me- und 7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35a** und **36a** die "falschen Diester" **85a** bzw. **86a** waren.

Daher muss davon ausgegangen werden, dass der 6-Chlor-Substituent in den soeben geschilderten Fällen nicht eine Verlangsamung der Freisetzung von d4TMP verursacht, sondern bewirkt, dass die Konkurrenzreaktion zum "falschen Diester" unterbunden wird.

Dies wird insbesondere beim Vergleich der Halbwertszeiten von 6-Cl-*cycloSal*-d4TMP **16d** bzw. 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d** mit den entsprechenden Derivaten **16a** bzw. **33a** deutlich. Sowohl für **16a** als auch für **33a** war das ausschließliche bzw. dominierende Produkt nach vollständiger Hydrolyse d4TMP. Dies änderte sich auch durch Anbringen des zusätzlichen 6-Chlor-Substituenten nicht (vgl. Kap. 4.4.4.5). Vergleicht man nun die Halbwertszeiten von **16d** bzw. **33d** mit denen ihrer Stammverbindungen **16a** bzw. **33a**, so konnte in beiden Fällen eine deutliche Abnahme der Halbwertszeit registriert werden. Im Fall von 6-Cl-*cycloSal*-d4TMP **16d** verringerte sie sich auf weniger als ein Viertel des ursprünglichen Wertes für **16a**, und auch im Fall von 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d** konnte ein Rückgang auf ca. ein Drittel des Wertes für 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d** verzeichnet werden (Abb. 57, S. 60).

4.4.2 Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch HPLC-Chromatographie und UV-Spektroskopie

Erste Hinweise auf ein vom Hydrolyseverhalten der *cycloSal*-Prototypen (z.B. **16a**) abweichendes Verhalten der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs konnten aus den entsprechenden HPLC-Chromatogrammen am Ende der Hydrolysen der Prodrugs **33a** und **34a** sowie den UV-Spektren der Hydrolyseprodukte erhalten werden (vgl. Abb. 58, S. 62). Auffallend war, dass in den HPLC-Chromatogrammen neben dem für das erwartete Hydrolyseprodukt d4TMP auftretenden Peak noch ein weiterer Peak beobachtet wurde, der aufgrund seiner Retentionszeit (deutlich unpolarer als d4TMP) auf den "falschen Diester" vom Typ **83'a** bzw. **84'a** hindeutete.

Ein weiteres Indiz für das Auftreten der "falschen Diester" **83'a** bzw. **84'a** wurde durch Vergleich ihrer UV-Spektren (Abb. 59, S. 62; Abb. 60, S. 63; jeweils links) mit dem UV-Spektrum des korrespondierenden Prodrugs **33a/34a** sowie dem entsprechenden UV-Spektrum des Abbauproduktes der *cycloSal*-Maske **63'a** bzw. **64'a** (Abb. 59; Abb. 60, S. 63; jeweils rechts) erhalten: Das erste Absorptionsmaximum im Bereich von 265 nm ist charakteristisch für die Anwesenheit des Thymin-Hetero-

zyklus. Die Schulter des jeweiligen Absorptionssignals, die in den Bereich größer 300 nm hineinragt, lässt auf eine zusätzliche absorbierende Gruppe im Molekül schließen.

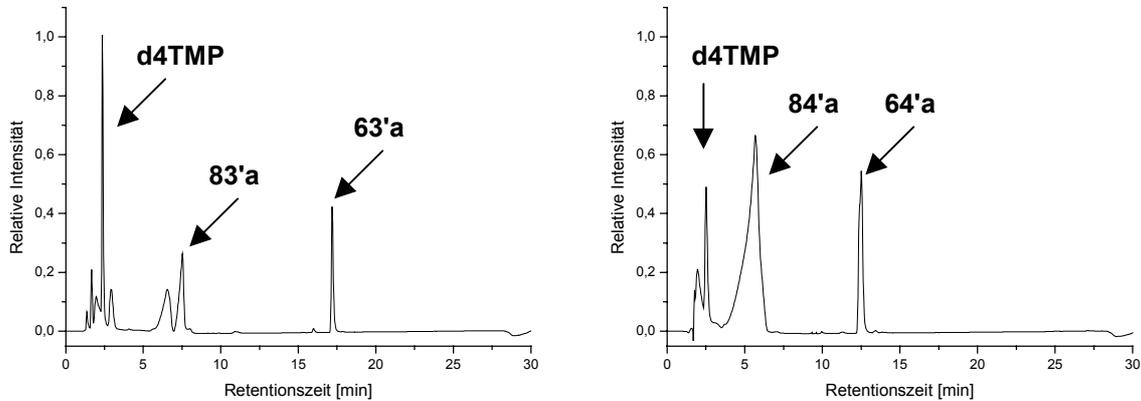


Abb. 58: HPLC-Chromatogramme am Ende der Hydrolyse von **33a** und **34a**

Durch Vergleich mit den UV-Spektren der entsprechenden Abbauprodukte der *cyclo*-Sal-Maske **63'a** bzw. **64'a** (Abb. 59; Abb. 60, S. 63; jeweils rechts), die wegen ihrer Benzyl-ständigen Doppelbindung, die in Konjugation zum Aromaten steht, ein zweites Absorptionsmaximum bei ca. 320 nm aufweisen, kann ebenfalls auf die Anwesenheit einer mit dem Aryl-Ring in Konjugation stehenden Doppelbindung in **83'a** bzw. **84'a** geschlossen werden.

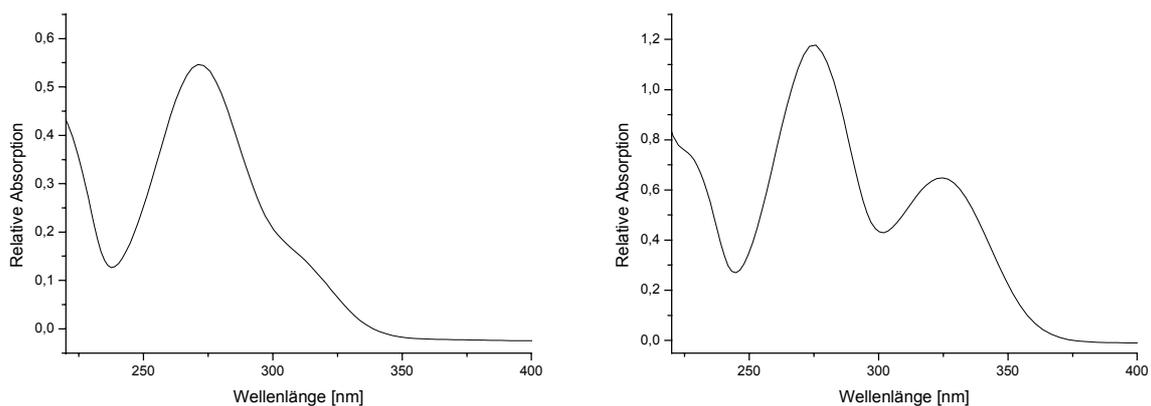


Abb. 59: UV-Spektren der potentiellen Hydrolyseprodukte **83'a** bzw. **63'a**

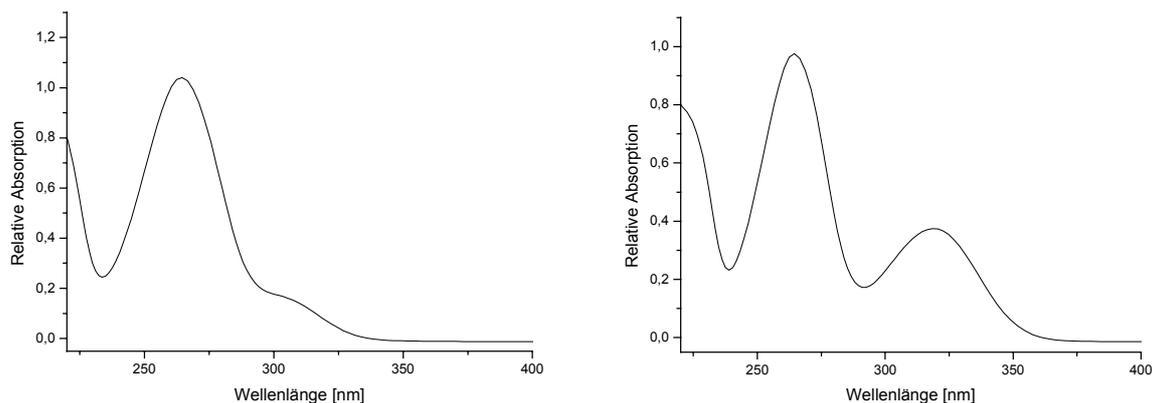


Abb. 60: UV-Spektren der potentiellen Hydrolyseprodukte **84'a** bzw. **64'a**

Bei der HPLC-chromatographischen Analyse des Hydrolysats von 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** wurden ähnliche Beobachtungen gemacht (Abb. 61). Da **35a** im Gegensatz zu **33a** und **34a** jedoch keine C-H-acidifizierenden Gruppen in der Benzyl-Seitenkette trägt, erschien es nicht sinnvoll, eine Struktur mit olefinischer Seitenkette für den aus **35a** entstandenen "falschen Diester" anzunehmen. Außerdem wies das korrespondierende UV-Spektrum nicht die zuvor für **83'a** bzw. **84'a** beobachtete Schulter im Bereich größer 300 nm auf (vgl. Abb. 61). Der aus **35a** entstandene "falsche Diester" sollte daher die Struktur **85a** aufweisen.

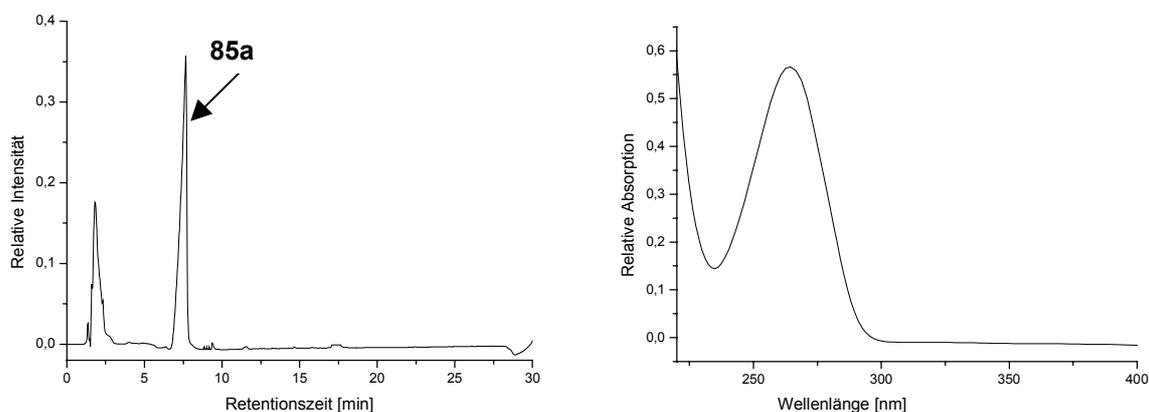


Abb. 61: HPLC-Chromatogramm am Ende der Hydrolyse von **35a** und UV-Spektrum von **85a**

Auch bei den Hydrolysestudien mit weiteren Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs wurden z.T. entsprechende Beobachtungen gemacht. Eine quantitative Bestimmung der Hydrolyseprodukte war jedoch nicht möglich, da die jeweiligen Peakflächen in den Chromatogrammen nicht nur von den Konzentrationen, sondern vor

allein auch von der UV-Absorption und damit von den Extinktionskoeffizienten der einzelnen Substanzen bestimmt werden. Der Extinktionskoeffizient ist jedoch eine Substanz-spezifische Größe und kann daher für unterschiedliche Substanzen auch verschieden große Werte annehmen.

In den folgenden Unterkapiteln werden mit der Massenspektrometrie und der NMR-Spektroskopie, insbesondere ^{31}P -NMR-Spektroskopie, weitere Methoden vorgestellt, die Identifizierung und schließlich auch Quantifizierung der Hydrolyseprodukte erlauben.

4.4.3 Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch Massenspektrometrie

Auch bei Hydrolysestudien mit 5-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33c** und 3-Me,7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34b** deuteten HPLC-Chromatogramme die Bildung der "falschen Diester" an.

Um zusätzliche Indizien für potentielle Hydrolyseprodukte zu erhalten, wurden entsprechende Lösungen der Prodrugs **33a,c**, **34a,b** und **35a** nach vollständiger Hydrolyse in Imidazol/HCl-Pufferlösung (pH 7.3) massenspektrometrisch analysiert. Die Trapping-Methodik erlaubte zusätzlich eine gezielte Fragmentierung der einzelnen Produkte. So konnte als Produkt der Hydrolyse von 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** der "falsche Diester" **85a** nachgewiesen werden (Abb. 62).

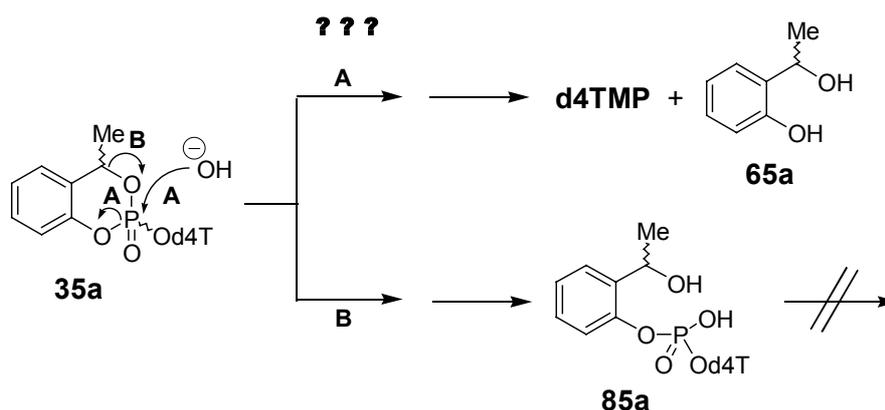


Abb. 62: Produkte der Hydrolyse für 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a**

Als Produkte der Hydrolysen der 7-ECM- bzw. 7-MSM-*cycloSal*-d4TMPs **33a,c** bzw. **34a,b** hingegen konnte auf diese Weise neben den "falschen Diestern" **83'a,c** bzw. **84'a,b** in allen Fällen auch die Bildung der gewünschten Hydrolyseprodukte d4TMP

sowie der durch Eliminierung entstandenen Abbauprodukte der *cycloSal*-Masken **63'a,c** bzw. **64'a,b** nachgewiesen werden (Abb 63).

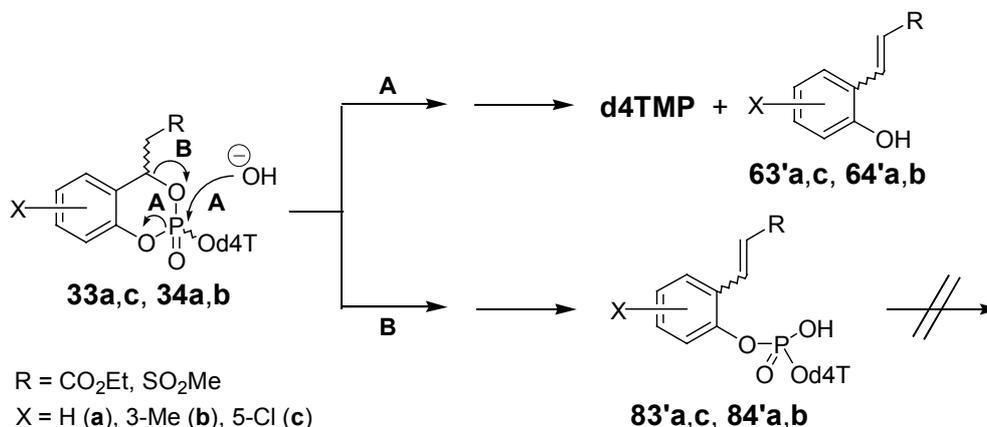


Abb. 63: Produkte der Hydrolyse der 7-ECM- und 7-MSM-*cycloSal*-d4TMP-Derivate **33a,c** und **34a,b**

Abschließend sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die massenspektrometrische Analyse der jeweiligen Lösungen nach vollständiger Hydrolyse eine brauchbare Methode zur Charakterisierung der entstandenen Produkte darstellt, zur quantitativen Erfassung ist jedoch auch sie nicht geeignet, da unterschiedliche Produkte auch unterschiedlich gut dazu geeignet sind, Molekül-Ionen zu bilden. Die Intensität eines Massensignals wird daher ebenfalls nicht ausschließlich durch die Konzentration der Substanz bestimmt.

Im nächsten Unterkapitel 4.4.4 wird jedoch mit der ^{31}P -NMR-Analytik eine weitere Methode zur Identifizierung und erstmals auch Quantifizierung der Hydrolyseprodukte angewendet.

4.4.4 Quantitative Bestimmung und Identifizierung der Hydrolyseprodukte durch NMR-Spektroskopie

Mit Hilfe der ^{31}P -NMR-Spektroskopie gelang es erstmals, die Hydrolyse der Benzylfunktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs zeitlich zu verfolgen und die Phosphor-haltigen Hydrolyseprodukte sowie Intermediate aufgrund der natürlichen Isotopenhäufigkeit von ^{31}P (nahezu 100 %) zu quantifizieren.

Diese Hydrolyseexperimente wurden nicht in Phosphatpufferlösung durchgeführt, um zusätzliche Phosphorsignale zu vermeiden. Stattdessen wurde eine 50 mM Imidazol/HCl-Pufferlösung verwendet (pH 7.3). Für ein typisches NMR-Experiment wur-

den 0.01 mmol des jeweiligen *cycloSal*-d4TMPs eingewogen und in 300 μL DMSO-d_6 gelöst. Die Hydrolyse wurde durch Zugabe von 700 μL der Pufferlösung gestartet (Verhältnis Puffer : Prodrug = 3.5 : 1.0). Wenige Minuten nach Start der Hydrolyse erfolgte die erste ^{31}P -NMR-Messung (t1 in den entsprechenden Abbildungen dieses Unterkapitels). Durch weitere Messungen konnte der Verlauf der Hydrolyse sowie zwischenzeitlich auftretende Intermediate beobachtet werden (t2). Nach vollständigem Umsatz der Prodrugs sowie der aufgetretenen Intermediate (t3) konnte schließlich das genaue Verhältnis der Hydrolyseprodukte d4TMP : "falscher Diester" durch Integration der entsprechenden ^{31}P -NMR-Signale bestimmt werden.

Für die jeweiligen Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs (Edukte der Hydrolyse) wurden, entsprechend den vier Diastereomeren, in der Regel vier getrennte ^{31}P -NMR-Signale im Bereich zwischen -7 ppm bis -10 ppm erhalten (vgl. Kap. 4.3.1). Das Produkt-Signal für d4TMP (1.2 ppm bis 1.5 ppm) konnte nach Vermessung einer Referenzprobe zugeordnet werden. Die intermediär auftretenden Benzylphosphatdiester, die sog. "richtigen Diester", konnten zugeordnet werden, da nach ihrem Zerfall die Intensität des Signals für d4TMP um den selben Betrag zunahm. Für sie wurden typischerweise zwei Signale im Bereich +0.5 ppm bis -1.5 ppm erhalten, da die "richtigen Diester" **43-50** als Diastereomerenpaare auftreten. Die Signale im Bereich von -4 ppm bis -5 ppm wurden, in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus massenspektrometrischen Analysen der Hydrolysate (vgl. Kap. 4.4.3), den "falschen Diestern" zugeordnet. Für sie konnte auch bei ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolysen keine weitere Umsetzung zu d4TMP nachgewiesen werden.

4.4.4.1 NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen von **33a-35a**

Abbildung 64 (S. 67) zeigt die nach der oben beschriebenen Methode bestimmten Hydrolyseproduktverhältnisse für die ersten Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs^[68] **33a-35a**, zusammen mit dem Wert für den Prototypen **16a**.

Auffallend ist die (stark) bevorzugte Bildung von "falschem Diester" bei der Hydrolyse von 7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34a** (56.8 %) bzw. 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** (82.7 %). Berücksichtigt man zudem die sehr geringen Hydrolysehalbwertszeiten dieser Verbindungen (0.30 h für **34a** bzw. 0.31 h für **35a**; vgl. Tab. 3, S. 55), so kann man schlussfolgern, dass sowohl der 7-MSM- als auch der 7-Me-Benzyl-Substituent die Konkurrenzreaktion zum "falschem Diester" (stark) begünstigen.

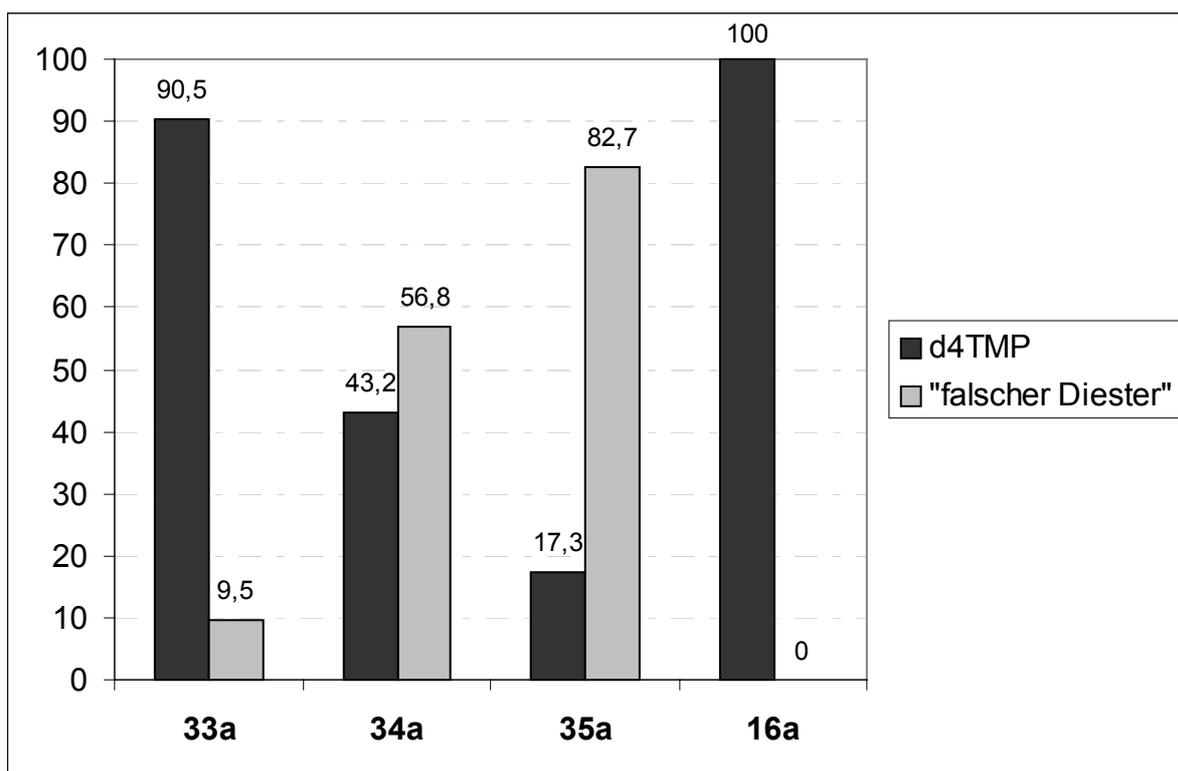


Abb. 64: Produktverhältnisse nach Hydrolyse der Prodrugs **33a-35a** und **16a**

Für den 7-ECM-Substituenten in **33a** hingegen scheint dies nur bedingt zuzutreffen. So entsteht bei der Hydrolyse von **33a** nur die vergleichsweise geringe Menge von 9.5 % "falschem Diester" bei gleichzeitiger Bildung von 90.5 % d4TMP. Zusammen mit der für **33a** ermittelten Halbwertszeit von 4.14 h kann dies als Beleg dafür angesehen werden, dass der 7-ECM-Substituent die Konkurrenzreaktion zum "falschen Diester" deutlich geringer fördert als der 7-MSM- und der 7-Me-Substituent.

Abbildung 65 (S. 68) zeigt den Verlauf der Hydrolyse von 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** anhand repräsentativer ^{31}P -NMR-Spektren. Deutlich zu erkennen ist die Bildung des "falschen Diesters" **85a** gleich zu Beginn der Hydrolyse (t_1). Der "falsche Diester" **85a** entsteht dabei wie zu erwarten in Form zweier Diastereomere, entsprechend sind im ^{31}P -NMR-Spektrum zwei Resonanzsignale zu erkennen. Im weiteren Verlauf der Hydrolyse (t_2) ist dann auch die Bildung von d4TMP zu erkennen. Dieses konnte im Rahmen der massenspektrometrischen Analyse nicht nachgewiesen werden, was sicher auf die geringe Konzentration dieses Hydrolyseproduktes zurückzuführen war. Es entsteht aus dem intermediär zu beobachtenden "richtigen Diester" **45a**, der ebenfalls in Form zweier Diastereomere auftritt, da nach der Hydrolyse der Phenylphosphatester-Bindung in **35a** das Stereozentrum am Benzyl-Kohlenstoff noch intakt bleibt, während das Stereozentrum am Phosphor-Atom dadurch verloren geht.

Die dominierende Reaktion bei der Hydrolyse von **35a** ist jedoch eindeutig die Bildung von "falschem Diester" **85a**.

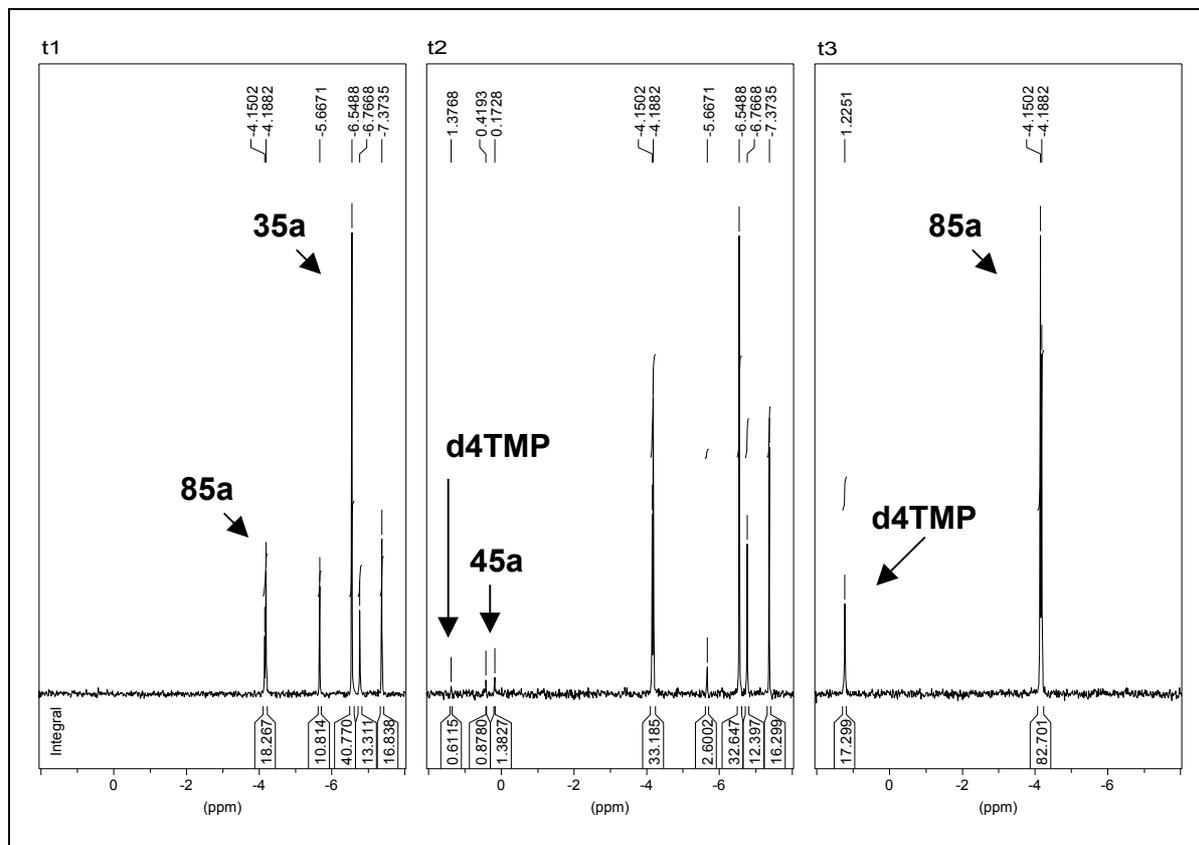


Abb. 65: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-Me-cyclo-Sal-d4TMP **35a**

Das Ende der Hydrolyse (t3) zeichnet sich dadurch aus, dass der "richtige Diester" **45a** vollständig zu d4TMP umgesetzt ist, während der "falsche Diester" **85a** persistent bleibt.

Abbildung 66 (S. 69) zeigt die bis hierher für die Hydrolyse von **35a** gewonnenen Erkenntnisse noch einmal in Form eines Reaktionsschemas. Für 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** tritt zur Freisetzung von d4TMP über Reaktionsweg **A** (Abb. 66: nucleophiler Angriff von Hydroxid auf das Phosphor-Atom und selektive Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung führt zum intermediären "richtigen Diester" **45a**) die rasche Bildung des "falschen Diesters" **85a** über Weg **B** in Konkurrenz (Abb. 66; ein Benzyl-C-O-Bindungsbruch sollte zunächst das Ionenpaar **75a** liefern, dass dann mit dem Nucleophil Wasser zu **85a** weiterreagieren kann). Dieser Phenylphosphatdiester **85a** ist unter den Reaktionsbedingungen (schwach basisch, pH 7.3) stabil. Eine Freisetzung von d4TMP würde einen zweiten nucleophilen Angriff von Hydroxid auf das

Phosphor-Atom in **85a** erfordern. Dieser wird jedoch durch die Hydroxy-Gruppe am Phosphor-Atom in **85a**, die bei pH 7.3 bevorzugt deprotoniert vorliegt, verhindert.

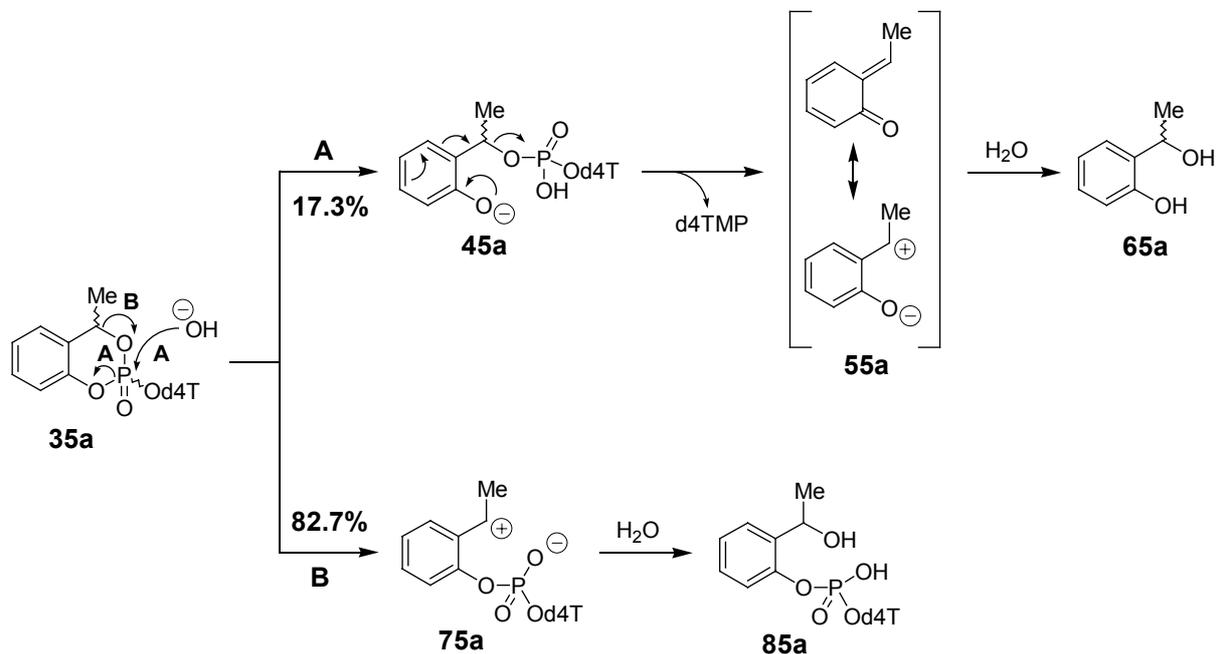


Abb. 66: Mechanismus der Hydrolyse von 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a**

Auch bei der ³¹P-NMR-spektroskopischen Verfolgung Hydrolyse von 7-MSM-cycloSal-d4TMP **34a**, das eine ähnlich kurze Halbwertszeit wie 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** aufweist, wurden deutliche Mengen "falschen Diesters" nachgewiesen (Abb. 67, S. 70). Auch hier ist bereits kurz nach Starten der Hydrolyse (t₁) die Bildung des "falschen Diesters" zu beobachten, doch sollte es sich hierbei um "falschen Diester" des Typs **84'a** handeln. Erste Belege für diese Vermutung konnten bereits aus dem UV-Spektrum sowie durch massenspektrometrische Analyse des entsprechenden Hydrolysats gewonnen werden (vgl. Kap. 4.4.2 und 4.4.3). Neben "falschem Diester" des Typs **84'a** kann jedoch auch die Entstehung "falschen Diesters" des Typs **84a** nicht ausgeschlossen werden, da insbesondere in der Messung nach vollständiger Hydrolyse (t₃) zwei Resonanzsignale für "falschen Diester" zu beobachtet wurden.

Im Unterschied zu 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** ist für **34a** auch zu Beginn der Hydrolyse schon die Bildung des "richtigen Diesters" **44a** (als Diastereomerenpaar) zu erkennen, wenngleich auch in etwas geringerer Menge als der "falsche Diester" **84'a/84a** (6.4 % **44a** vs. 10.1 % **84'a/84a**). Im Unterschied zur Hydrolyse von 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** konkurrieren die Spaltungen zum "falschen Diester" und zum "richtigen Diester" diesmal annähernd zu gleichen Teilen miteinander.

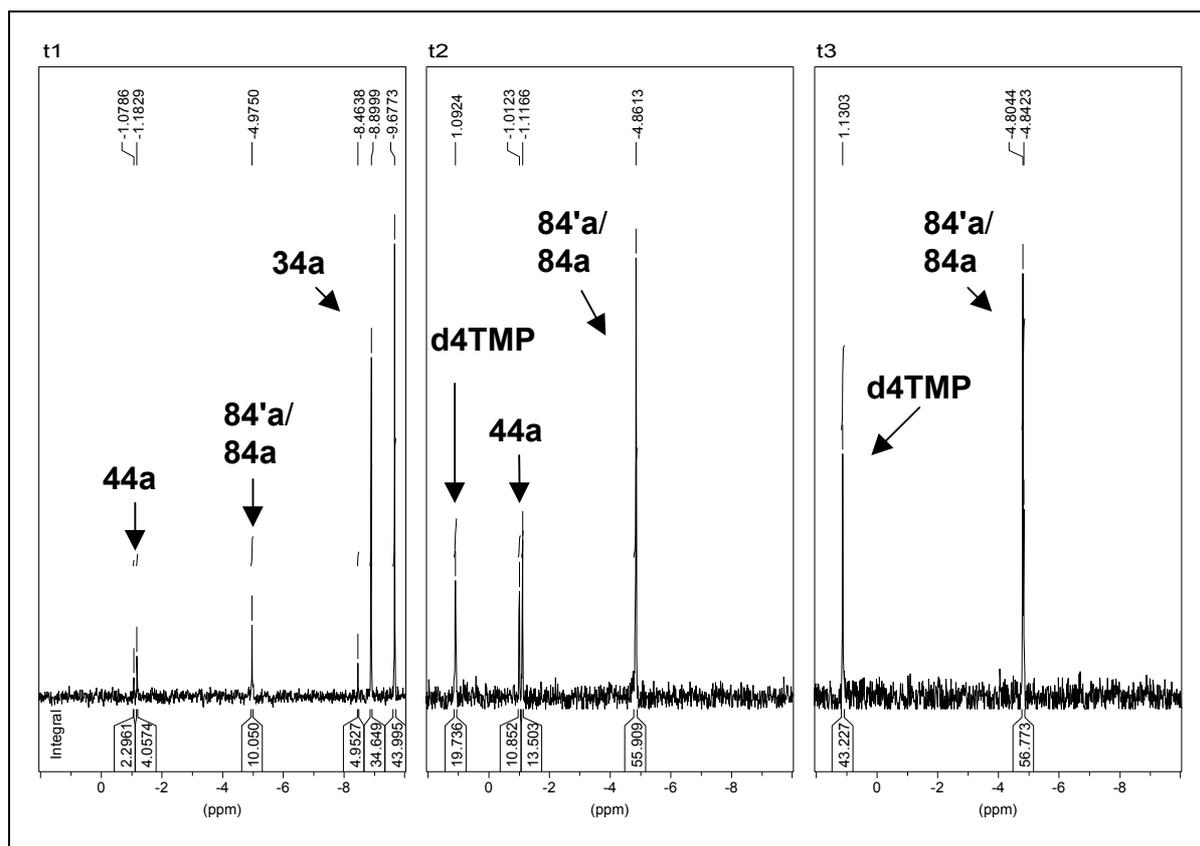


Abb. 67: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-MSM-cycloSal-d4TMP **34a**

Im weiteren Verlauf der Hydrolyse (t2) ist dann auch allmählich die Bildung von d4TMP aus **44a** zu erkennen. Am Ende der Hydrolyse (t3) ist wiederum der "richtige Diester" **44a** vollständig zu d4TMP umgesetzt, während der "falsche Diester" **84'a/84a** auch hier keiner weiteren Spaltung unterliegt.

Abbildung 68 (S. 71) schließlich gibt die ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a** wieder. Im Gegensatz zu den zuvor betrachteten Hydrolyseverfolgung von **34a** und **35a** ist für **33a** in der ersten Messung (t1) noch keine Bildung von "falschem Diester" zu beobachten, wohl aber die bereits einsetzende Entstehung von "richtigem Diester" **44a**.

Im weiteren Verlauf der Hydrolyse (t2) entsteht jedoch auch aus 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a** der "falsche Diester", wenngleich in deutlich geringerer Menge als bei den Hydrolysen von **34a** bzw. **35a** (vgl. Abb. 64, S. 67). Diesmal ist die Bildung von d4TMP über den "richtigen Diester" **43a** die deutlich dominierende Reaktion. Der "falsche Diester" hingegen unterliegt, wie schon für **84'a/84a** und **85a** beobachtet, keiner weiteren Umsetzung (t3).

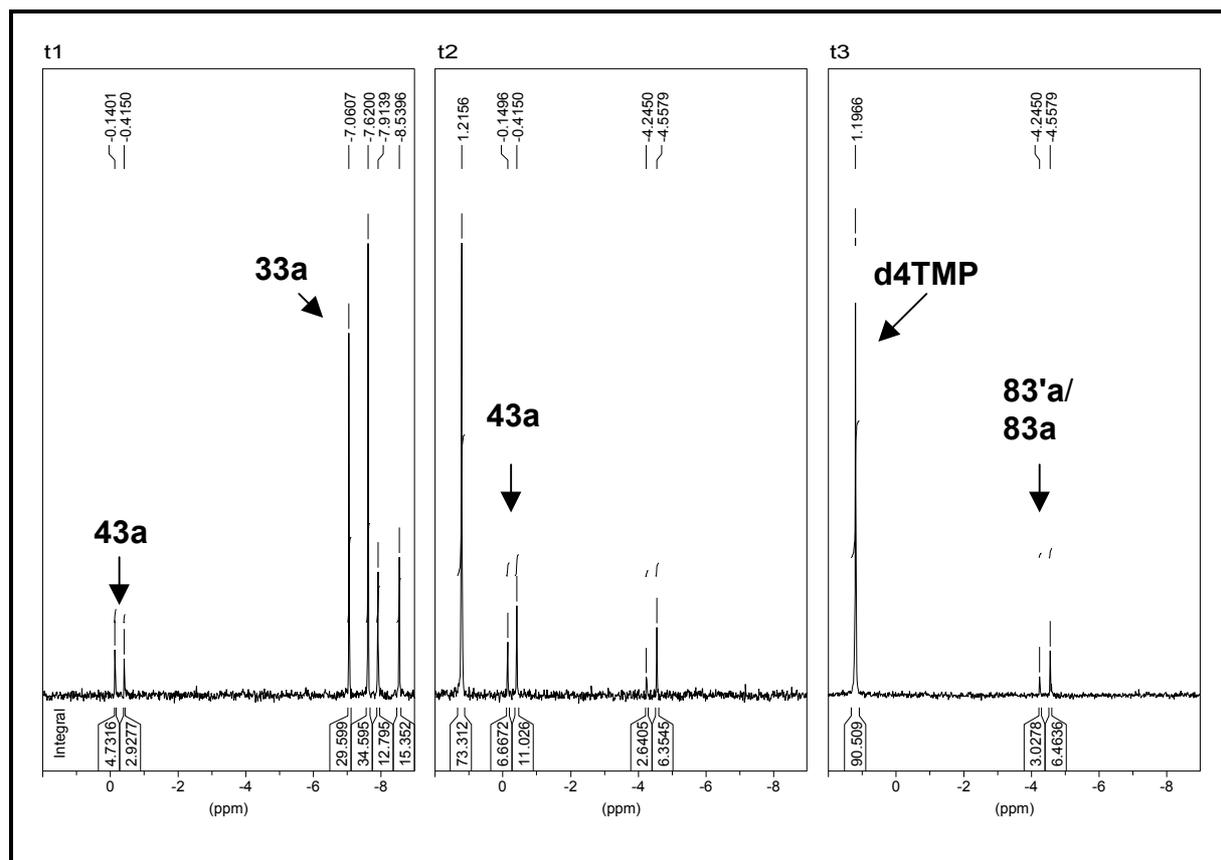


Abb. 68: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a**

Eine weitere interessante Beobachtung konnte bei der ^{31}P -NMR-Verfolgung der Hydrolyse von **33a** gemacht werden: Für den "falschen Diester", der insgesamt zu 9.5 % gebildet wurde, wurden zwei Basislinien-getrennte Signale im ^{31}P -NMR-Spektrum beobachtet. Dies deutete auf zwei unterschiedliche Typen des "falschen Diesters" hin. In den entsprechenden Spektren der Hydrolyseverfolgung von **35a** bzw. **34a** (Abb. 65, S. 68 bzw. Abb. 67, S. 70) hingegen wurde jeweils nur ein Basislinien-getrenntes Signal für die "falschen Diester" beobachtet. Aus UV-Spektren der Hydrolyseprodukte bzw. aus Massenspektren der Hydrolysate (vgl. Kap. 4.4.2 und 4.4.3) konnte bislang nur auf "falschen Diester" des Typs **84'a** bzw. **85a** geschlossen werden. Entsprechende Ergebnisse aus UV-Spektren bzw. Massenspektren der Hydrolyseprodukte von 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a** ließen bislang auch nur den Schluss auf Bildung des "falschen Diesters" **83'a** zu. Aus den entsprechenden ^{31}P -NMR-Spektren geht jedoch hervor, dass offensichtlich auch der "falsche Diester" **83a** als Nebenprodukt zu **83'a** entstanden sein muss.

Unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses erscheint die zuvor gemachte Annahme, dass es auch bei der Hydrolyse von 7-MSM-cycloSal-d4TMP **34a** zur Bildung von

"falschem Diester" des Typs **84a** kommt (vgl. Diskussion zu Abb. 67, S. 70), gerechtfertigt. Abbildung 69 fasst die bisherigen Ergebnisse für **33a** und **34a** zusammen.

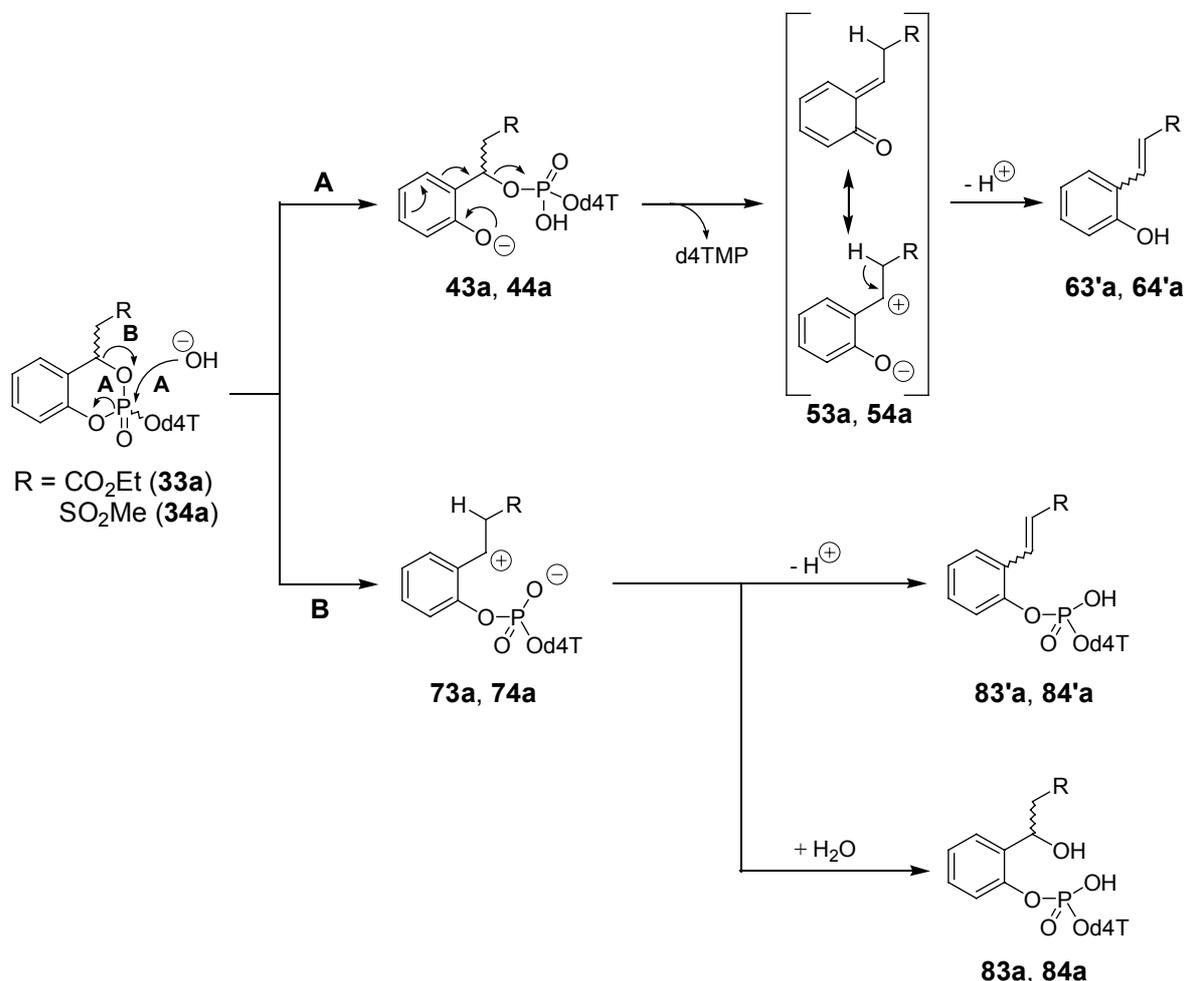


Abb. 69: Mechanismus der Hydrolyse von 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a** bzw. 7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34a**

Die Freisetzung von d4TMP durch **33a** bzw. **34a** wird eingeleitet durch nucleophilen Angriff von Hydroxid gemäß Reaktionsweg **A**. Aufgrund der Anwesenheit der C-H-acidifizierenden Gruppen 7-ECM (**33a**) bzw. 7-MSM (**34a**) in der Benzyl-Seitenkette entstehen die Eliminierungsprodukte **63'a** bzw. **64'a**, die in den entsprechenden HPLC-Chromatogrammen aufgrund ihrer charakteristischen UV-Spektren (zwei Absorptionsmaxima im Bereich zwischen 200 nm und 340 nm) sowie durch Massenspektrometrie als einzige Abbauprodukte der *cycloSal*-Maske nachgewiesen werden konnten.

Für die konkurrierende Bildung der "falschen Diester" scheint es plausibel, wie schon im Fall von 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** zunächst eine spontane heterolytische Ben-

zyl-C-O-Bindungsdissoziation zu **73a** bzw. **74a** anzunehmen. Dieser ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt sowohl einer S_N1 - als auch E1-Reaktion, die "falschen Diester" **83a/84a** bzw. **83'a/84'a** könnten als typische S_N1 - vs. E1-Konkurrenzprodukte verstanden werden: Nucleophiler Angriff von Wasser auf **73a** bzw. **74a** führt zu den "falschen Diestern" **83a/84a** (S_N1 -Produkte), Eliminierung eines C-H-acidifizierten Protons in Nachbarstellung zum Benzyl-Kohlenstoff liefert die "falschen Diester" **83'a** bzw. **84'a** (E1-Produkte).

Aus diesen ersten Ergebnissen wird bereits deutlich, dass die Beschaffenheit des Benzyl-Substituenten einen entscheidenden Einfluß auf die Bildung der Konkurrenzprodukte "falsche Diester" sowie auf das Ausmaß ihrer Entstehung hat. In Kapitel 4.5 werden DFT-Studien vorgestellt, die diesen Einfluß beschreiben und zudem helfen, ihn zu quantifizieren.

4.4.4.2 NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von 3-Methyl- bzw. 5-Chlor-Substituenten am Aryl-Rest

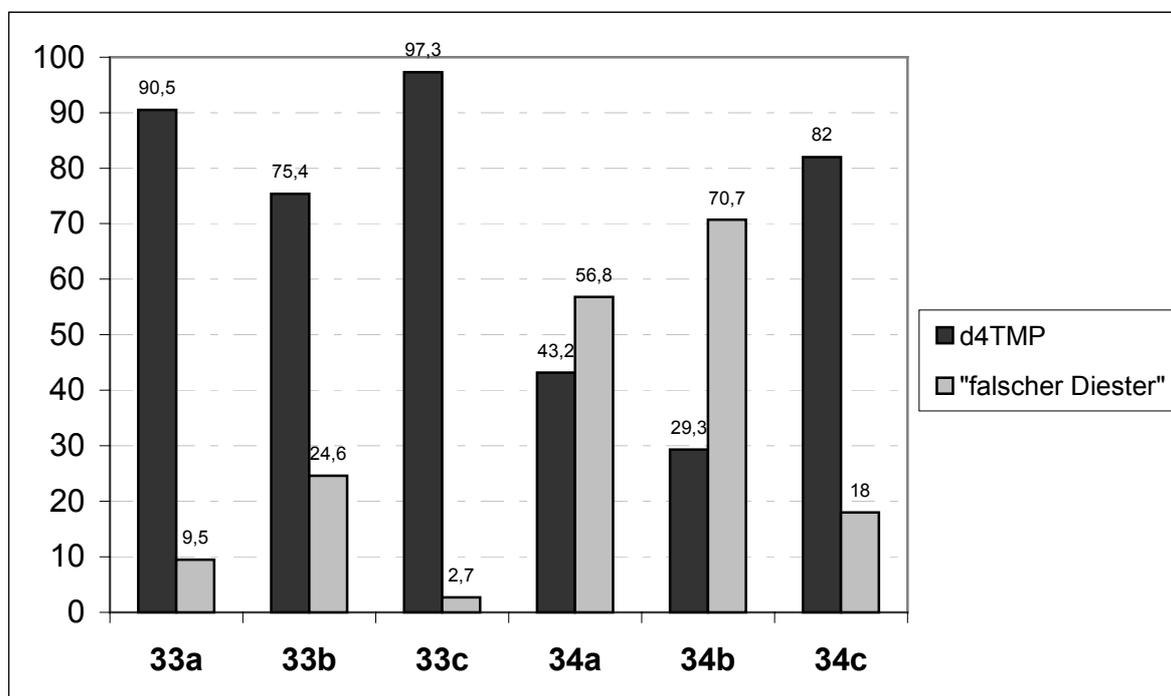


Abb. 70: Produktverhältnisse nach Hydrolyse der Prodrugs **33a-c** und **34a-c**

Um den Einfluß von zusätzlichen Substituenten am Aryl-Rest der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33a** und **34a** auf deren Hydrolysehalbwertszeiten (vgl. Kap. 4.4.1) und insbesondere auch auf die beiden konkurrierenden Reaktionen zum

"falschen Diester" bzw. zum "richtigen Diester" (und damit zu d4TMP) zu untersuchen, wurden die 3-Methyl- und 5-Chlor-substituierten Prodrugs **33b,c** und **34b,c** synthetisiert.

Abbildung 70 (S. 73) zeigt die mittels ^{31}P -NMR-Spektroskopie bestimmten Produktverhältnisse. Sowohl für die 7-ECM- (**33a-c**) als auch die 7-MSM-substituierten Derivate (**34a-c**) wurde derselbe Trend beobachtet: Durch 3-Methyl-Substitution konnte zwar in beiden Fällen eine Verlängerung der Halbwertszeit beobachtet werden (vgl. Kap. 4.4.1), doch bedeutete dies auch eine Vergrößerung des Anteils der "falschen Diester" an den Hydrolyseprodukten von **33b** bzw. **34b** (Abb. 70, S. 73). Umgekehrt lagen die Verhältnisse nach Anbringen 5-Chlor-Substituenten: Sowohl für **33c** als auch für **34c** wurde so der Anteil der "falschen Diester" verkleinert, doch ging dies ebenfalls einher mit einer deutlichen Verkürzung der Halbwertszeit.

Abbildung 71 zeigt ^{31}P -NMR-Spektren, die während (t1, t2) und am Ende (t3) der Hydrolyse von 3-Me,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33b** aufgenommen wurden. In Kapitel 4.4.1 wurde bereits der verzögernde Effekt der 3-Methyl-Gruppe auf den ersten Schritt der Hydrolyse zum "richtigen Diester" beschrieben.

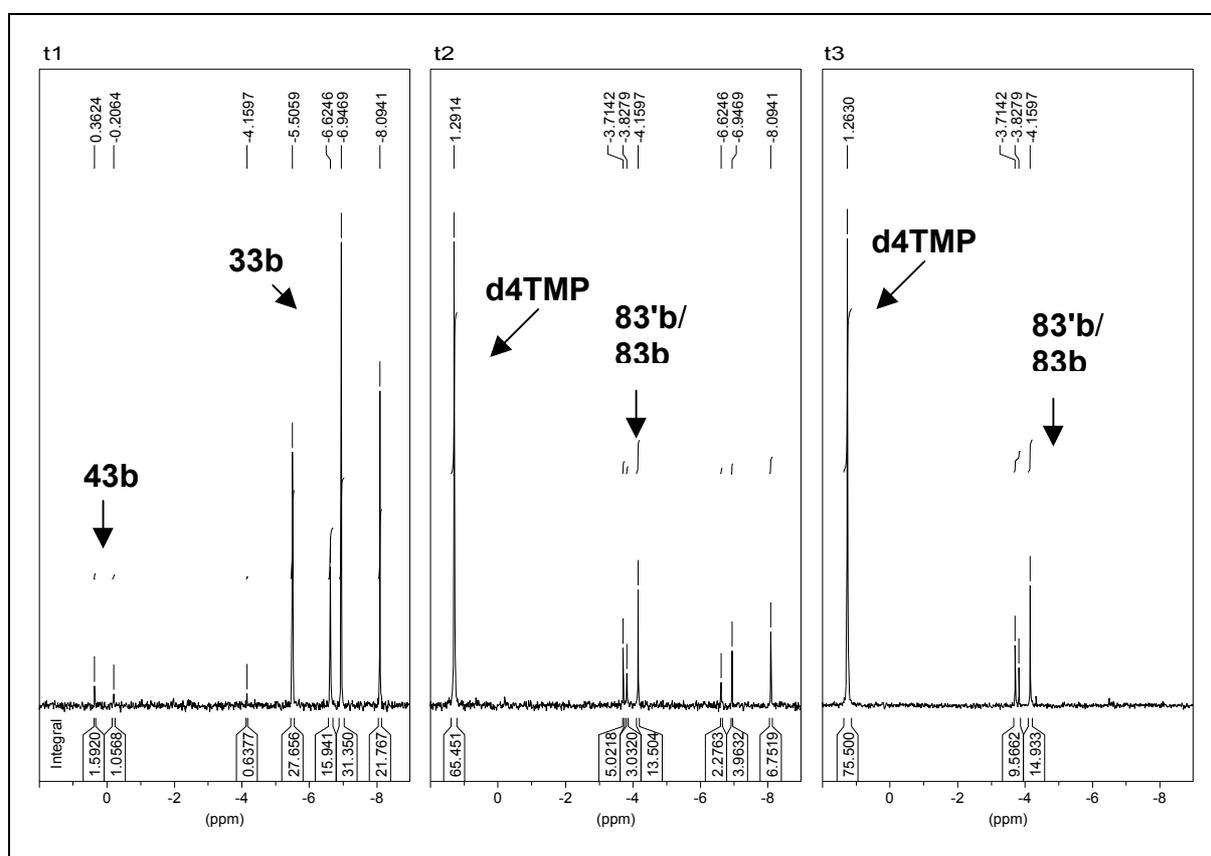


Abb. 71: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 3-Me,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33b**

Nach Vergleich mit entsprechenden ^{31}P -NMR-Spektren während der Hydrolyse von **33a** ($t_2 = 6$ d, vgl. Abb. 68, S. 71) wurde zudem der Eindruck gewonnen, dass der 3-Methyl-Substituent auf den intermediären "richtigen Diester" **43b** einen destabilisierenden Einfluß hat, so dass dieser schneller zu d4TMP weiterreagiert. Im Verlauf der Hydrolyse ($t_2 = 6$ d) konnte der "richtige Diester" **43b** nicht nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu war bei der Hydrolyse des am Aryl-Rest unsubstituierten 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a** (Abb. 68, S. 71) der intermediäre "richtige Diester" **43a** deutlich zu beobachten. Dazu in guter Übereinstimmung stehen auch die Ergebnisse der durchgeführten DFT-Studien (vgl. Kap. 4.5), die ergeben haben, dass der Aryl-Rest einen wichtigen elektronischen Beitrag zur Spaltung der Benzylphosphatester-Bindung liefert, der durch den 3-Methyl-Substituenten noch verstärkt werden sollte.

Nach vollständiger Hydrolyse von **33b** (t_3) sind neben dem Signal von d4TMP drei getrennte Signale für den "falschen Diester" **83'b** bzw. **83b** (Diastereomerenpaar) zu beobachten. Der größere Anteil von "falschem Diester" bei der Hydrolyse von **33b** im Vergleich zu **33a** wurde bereits erwähnt (24.6% vs. 9.5%, vgl. Abb. 70, S. 73). Als Ursache hierfür kommt zum einen die verlangsamte Reaktion zum "richtigen Diester" **43b** in Frage, die zur Folge hat, dass die alternative Reaktion zum "falschen Diester" **83b/83'b** effektiver konkurrieren kann. Doch auch ein durch den 3-Methyl-Substituenten verstärkter Beitrag des Aryl-Systems zur Spaltung der Benzyl-C-O-Bindung kann hierfür als Ursache nicht ausgeschlossen werden.

Entsprechende Beobachtungen wurden auch bei der Verfolgung der Hydrolyse von 3-Me,7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34b** gemacht: Verglichen mit dem Produktverhältnis für **34a** nahm auch in diesem Fall der Anteil an "falschem Diester" **84b/84'b** weiter zu (56.8% vs. 70.7%, Abb. 70, S. 73).

Abbildung 72 (S. 76) fasst die soeben geschilderten Beobachtungen noch einmal in Form eines Reaktionsschemas zusammen. Reaktionsweg **A** ermöglicht die Freisetzung von d4TMP, die wieder eingeleitet wird durch nucleophilen Angriff eines Hydroxid-Ions auf das Phosphor-Atom, gefolgt von der selektiven Spaltung des Phenylphosphatesters in **33b/34b** zum "richtigen Diester" **43b/44b**. In Abbildung 72 ist die Resonanzstruktur dieser "richtigen Diester" **43b/44b** dargestellt, die den destabilisierenden Einfluß des 3-Methyl-Substituenten auf **43b/44b** am besten wiedergibt. Dieser Einfluß sollte neben der längeren Hydrolysehalbwertszeit der 3-Me-substituierten Derivate **33b/34b** auch zu einem schnelleren Zerfall von **43b** bzw. **44b** zu

d4TMP und den Abbauprodukten der *cycloSal*-Maske führen (Eliminierungsprodukte **63'b/64'b**; Nachweis von **64'b** durch Massenspektrometrie, Kap. 4.4.3).

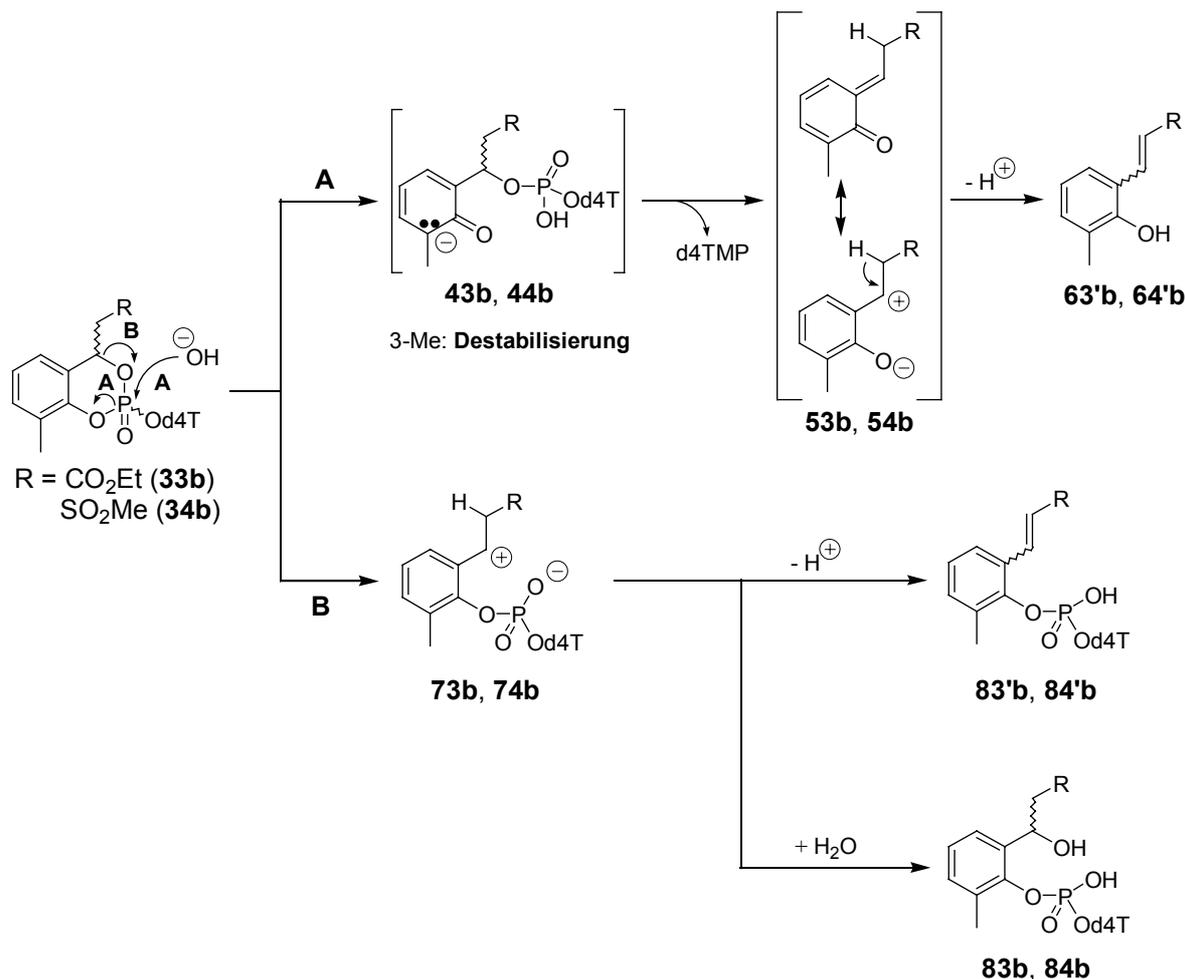


Abb. 72: Mechanismus der Hydrolyse von 3-Me,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33b** bzw. 3-Me,7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34b**

Der alternative Reaktionskanal **B** liefert – wie schon für **33a/34a** beobachtet – die "falschen Diester" **83b** und **83'b** bzw. **84b** und **84'b**. Als vorangehender Schritt sollte erneut ein spontaner Benzyl-C-O-Bindungsbruch in Frage kommen (Weg **B**, Abb 72), der wegen der jetzt langsameren Reaktion **A** für **33b/34b** noch effektiver konkurrieren kann.

Bei der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse von 5-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33c** konnten weitere, interessante Beobachtungen gemacht werden. Bei der Bestimmung der Halbwertszeiten wurde bereits auf den beschleunigenden Effekt des 5-Chlor-Substituenten^[53] hingewiesen ($t_{1/2} = 1.51$ h für **33c** gegenüber 4.14 h für **33a**). Vergleicht man die unmittelbar nach Starten der Hydrolysen (t_1) von 5-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33c** (Abb. 73, S. 77) bzw. 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a**

(Abb. 68, S. 71) aufgenommenen ^{31}P -MNR-Spektren, so fällt auf, dass im Fall von **33c** schon deutlich mehr "richtiger Diester" **43c** gebildet worden ist. Die Tatsache, dass für den "richtigen Diester" **43c** (zwei Diastereomere), nur ein Signal beobachtet werden kann, könnte mit dem Zusammenfallen zu einem ^{31}P -Resonanzsignal erklärbar sein.

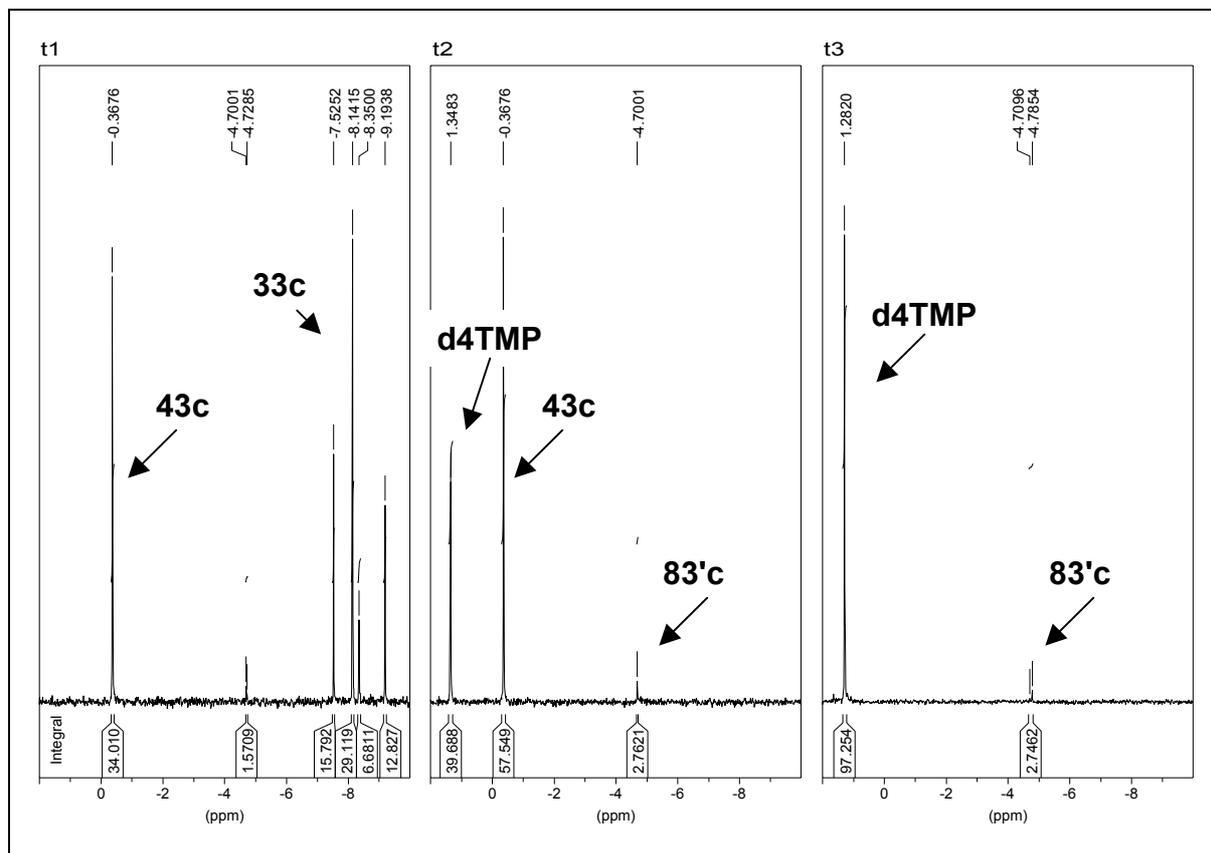


Abb. 73: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 5-Cl,7-ECM-cycloSal-d4TMP **33c**

Mit Fortschreiten der Hydrolyse konnte ein allmählicher Zerfall dieses "richtigen Diesters" **43c** zu d4TMP beobachtet werden, der im Vergleich zum Zerfall des am Aryl-System unsubstituierten "richtigen Diesters" **43a** jedoch deutlich langsamer verläuft. Nach Ende der Hydrolyse (t3) findet man neben dem Hauptprodukt d4TMP auch den "falschen Diester" **83'c**, der bereits bei massenspektrometrischer Analyse des Hydrolysats von **33c** identifiziert wurde (vgl. Kap. 4.4.3). Sein Anteil konnte, verglichen zur Hydrolyse von **33a**, deutlich verringert werden (2.7% vs. 9.5%). Hinweise auf neben **83'c** ebenfalls entstandenes **83c** konnten in diesem Fall nicht erhalten werden. Das Ziel, die Entstehung von "falschem Diester" vollständig zu unterbinden, konnte

auch durch den 5-Chlor-Substituenten noch nicht erreicht werden. Außerdem ging diese Verringerung einher mit einer deutlichen Verkürzung der Halbwertszeit. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse von 5-Cl,7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34c** gemacht. Auch in diesem Fall ging der Anteil an "falschem Diester" **84'c/84c**, verglichen mit dem Anteil an "falschem Diester" bei der Hydrolyse von **34a**, zurück, doch war er deutlich größer als bei der Hydrolyse von **33c** (18.0% vs. 2.7%, vgl. Abb. 70, S. 73). Zudem lief die Hydrolyse wieder schneller ab als für das entsprechende Derivat **33c** (Halbwertszeiten 1.51 h für **33c** und 0.12 h für **34c**, vgl. Kap. 4.4.1). Abbildung 74 fasst die geschilderten Beobachtungen zusammen.

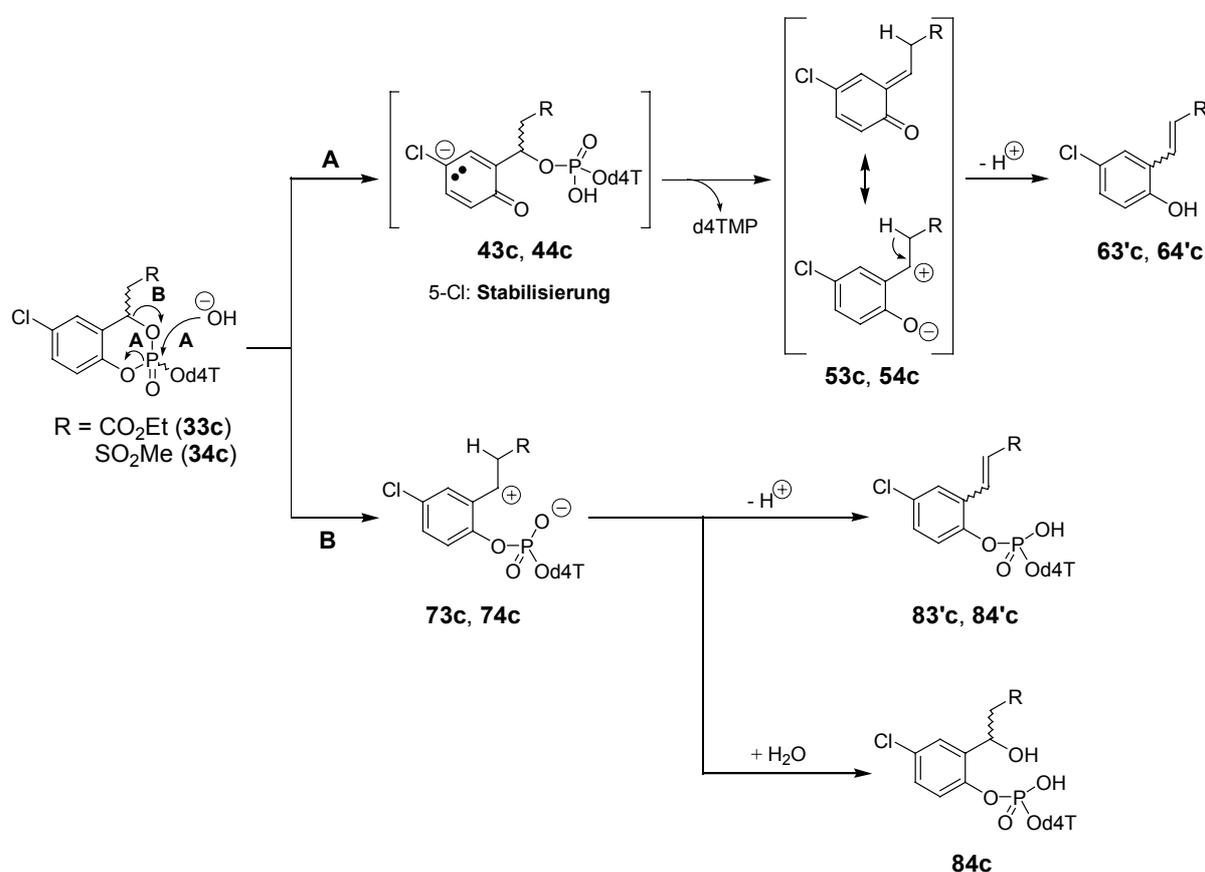


Abb. 74: Mechanismus der Hydrolyse von 5-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33c** bzw. 5-Cl,7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34c**

Wie bereits für die 3-Methyl-substituierten Derivate **33b/33c** gezeigt, erfolgt die Freisetzung von d4TMP wieder ausschließlich über Weg **A**. Dabei entstehen die Eliminierungsprodukte **63'c/64'c** (Kap. 4.4.3). Die abgebildete Resonanzstruktur der "richtigen Diester" **43c/44c** soll den stabilisierenden Einfluß des 5-Chlor-Substituenten auf

diese Intermediate repräsentierten, der sich durch den äußerst langsamen Zerfall der "richtigen Diester" **43c/44c** (vgl. Abb. 73, S. 77) bemerkbar macht.

Für die Entstehung der "falschen Diester" **83'c** und **84'c/84c** wird wieder ein spontaner Benzyl-C-O-Bindungsbruch angenommen (Reaktionskanal **B**), der allerdings diesmal einen deutlich geringeren Anteil der "falschen Diester" an den Hydrolyseprodukten liefert.

4.4.4.3 NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von Butyl- und Cyanomethyl-Substituenten in Benzyl-Position

Die Reihe der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs (7-ECM- **33a**, 7-MSM- **34a** und 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a**) konnte um ein weiteres Alkyl-substituiertes Derivat (7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **36a**) sowie ein zusätzliches Derivat mit acidifizierender Gruppe in der Benzyl-Seitenkette (7-CM-*cycloSal*-d4TMP **40**) erweitert werden.

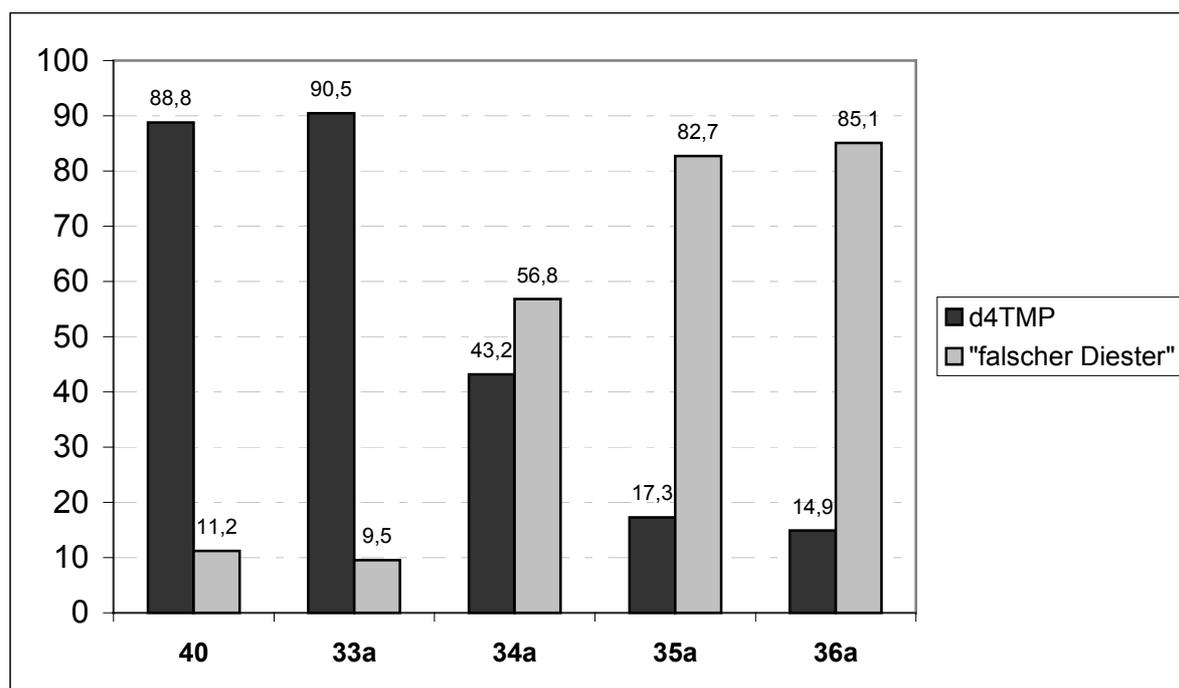


Abb. 75: Produktverhältnisse nach Hydrolyse der Prodrugs **33a-36a** und **40**

Der Einfluß dieser Substituenten auf die Hydrolysehalbwertszeiten wurde bereits in Kapitel 4.4.1 beschrieben. So weist das 7-Bu-Derivat **36a** eine zwar im Vergleich zu 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** eine längere Hydrolysehalbwertsdauer auf (0.84 h für **36a** gegenüber 0.31 h für **35a**), bei der ^{31}P -NMR-spektroskopischen Verfolgung konnte

jedoch keine Verbesserung des Produktverhältnisses zugunsten von d4TMP beobachtet werden (Abb. 75, S. 79). Diese Tatsache kann als Beleg dafür angesehen werden, dass allgemein Alkyl-Substituenten in der Benzyl-Position von *cycloSal*-Pro-nucleotiden die Benzyl-C-O-Bindung durch σ -Donor-Effekte bzw. Hyperkonjugation (vgl. DFT-Studien in Kap. 4.5) labilisieren bzw. ein nach deren Bruch entstandenes Benzyl-Kation stabilisieren können. Sterische Effekte dagegen sollten keinen nennenswerten Einfluss bewirken, da die Produktverhältnisse in den Hydrolysen von **35a** und **36a** (7-Methyl vs. 7-Butyl) praktisch gleich sind.

Das 7-CM-*cycloSal*-d4TMP **40** nimmt eine Mittelstellung zwischen dem entsprechenden 7-ECM- (**33a**) und 7-MSM-Derivat (**34a**) ein. So weist es im Vergleich zu **34a** eine deutlich längere Halbwertszeit auf (1.07 h verglichen mit 0.30 h für **34a**). Stellt man die Halbwertszeit von **33a** gegenüber, so schneidet **40** jedoch erheblich schlechter ab (4.14 h für **33a**, vgl. Kap. 4.4.1). Beim Vergleich der Hydrolyseproduktverhältnisse von **40** mit **33a** jedoch ist der bei den Halbwertszeiten noch zu beobachtende deutliche Unterschied nicht mehr gegeben, beide Verbindungen hydrolysieren in guter Ausbeute zu d4TMP, der Anteil an "falschem Diester" liegt für beide im Bereich von etwa 10% (für 7-MSM-*cycloSal*-d4TMP **34a** lag der Anteil demgegenüber bei 56.8%). Vor diesem Hintergrund müssen für die Substituenten 7-CM und 7-ECM verschieden große Einflüsse auf die Geschwindigkeit der Freisetzung von d4TMP, im besonderen also auf die einleitende Spaltung zum "richtigen Diester", angenommen werden.

Insgesamt konnten für 7-CM-*cycloSal*-d4TMP **40** also keine verbesserten Hydrolyse-eigenschaften erhalten werden, so dass auf weitere Derivatisierungen (3-Me, 5-Cl, 6-Cl) verzichtet wurde.

4.4.4.4 NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß von Trichlor-, Dichlor- bzw. Monochlormethyl-Substituenten in Benzyl-Position

Um weitere Indizien dafür zu erhalten, dass der Einfluß der Benzyl-Substituenten auf die Entstehung der "falschen Diester" auf den σ -Donor-Charakter dieser Substituenten und die dadurch bedingte Begünstigung der Benzyl-C-O-Fragmentierung zurückzuführen ist, wurden Hydrolyseexperimente mit den Derivaten **37-39** durchgeführt, die Benzyl-Substituenten mit Akzeptor-Charakter tragen. Es sind dies die Chlor-methyl-substituierten Derivate 7-TM- (**37**), 7-DM- (**38**) und 7-MM-*cycloSal*-d4TMP

(39). Der Einfluß dieser Substituenten auf die Hydrolysehalbwertszeiten wurde bereits in Kapitel 4.4.1 vorgestellt. In diesem Unterkapitel werden nun die Einflüsse dieser Substituenten auf das Hydrolyseverhalten diskutiert, wie es sich nach ^{31}P -NMR-spektroskopischer Verfolgung darstellte.

Die Abbildung 76 zeigt die für diese Derivate bestimmten Produktverhältnisse, denen noch das Produktverhältnis des σ -Donor-substituierten Derivats 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** sowie das für den nicht Benzyl-substituierten Prototypen 7-H-*cycloSal*-d4TMP **16a** gegenübergestellt ist.

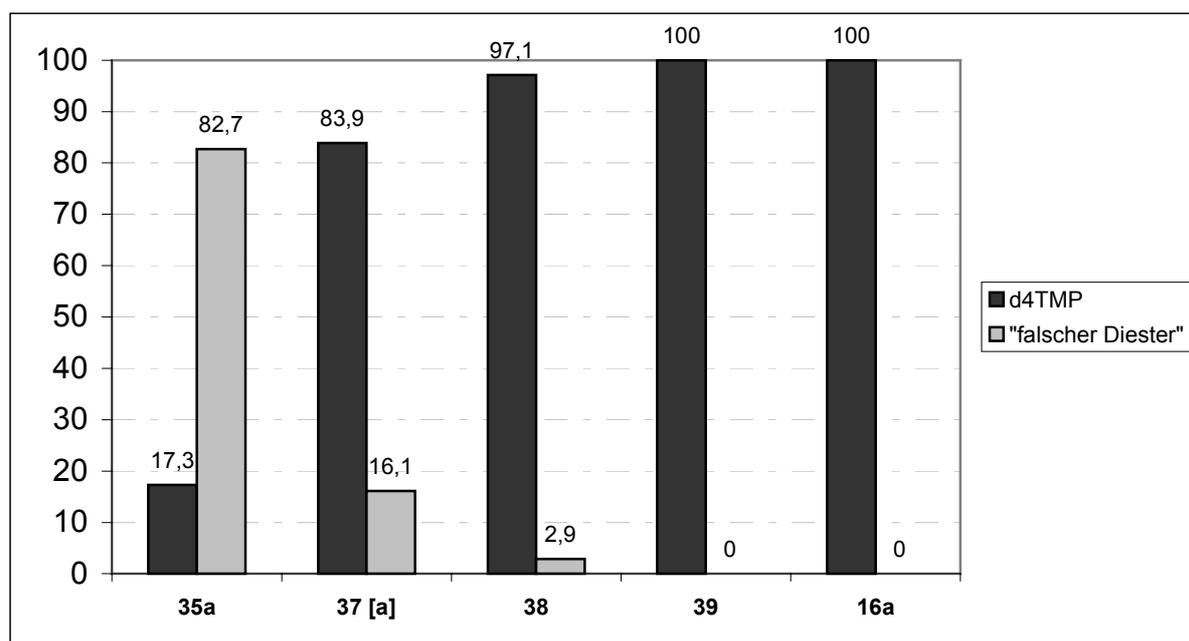


Abb. 76: Produktverhältnisse nach Hydrolyse der Prodrugs **37-39**; [a]: Hydrolyse bleibt auf der Stufe des "richtigen Diesters" **47** stehen

7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39**, das mit der Monochlormethyl-Gruppe den schwächsten σ -Akzeptor-Substituenten in der Reihe der Verbindungen **37-39** trägt, stellt dabei das erste Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMP dar, bei dessen Hydrolyse es nicht mehr zur Bildung des "falschen Diesters" kommt. Neben d4TMP konnten keine weiteren Phosphor-haltigen Hydrolyseprodukte ^{31}P -NMR-spektroskopisch nachgewiesen werden (Abb. 76). Die Tatsache, dass für die stärker Akzeptor-substituierten Derivate 7-TM- (**37**) und 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **38** dennoch die Bildung von "falschem Diester" beobachtet wurde, ist in beiden Fällen wohl eher durch sterische bzw. Ringspannungseffekte zu erklären. Die Tatsache, dass der Anteil für das Trichlormethyl-substituierte **37** dabei wesentlich höher ist (16.1%) als für **38** (2.9%) spricht ebenfalls für diese Interpretation.

Eine weitere Beobachtung, die diese Erklärung plausibel erscheinen lässt, ist der Befund, dass der im Verlauf der Hydrolyse von **37** gebildete "richtige Diester" **47** nicht mehr weiter hydrolysiert und d4TMP bereitstellt (Abb. 77, Messungen t2 bzw. t3). Nach der Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung in **37** treten die Ringspannungseffekte, die zuvor zur Spaltung von **37** in die diastereomeren "falschen Diester" **87** führten, nicht mehr auf.

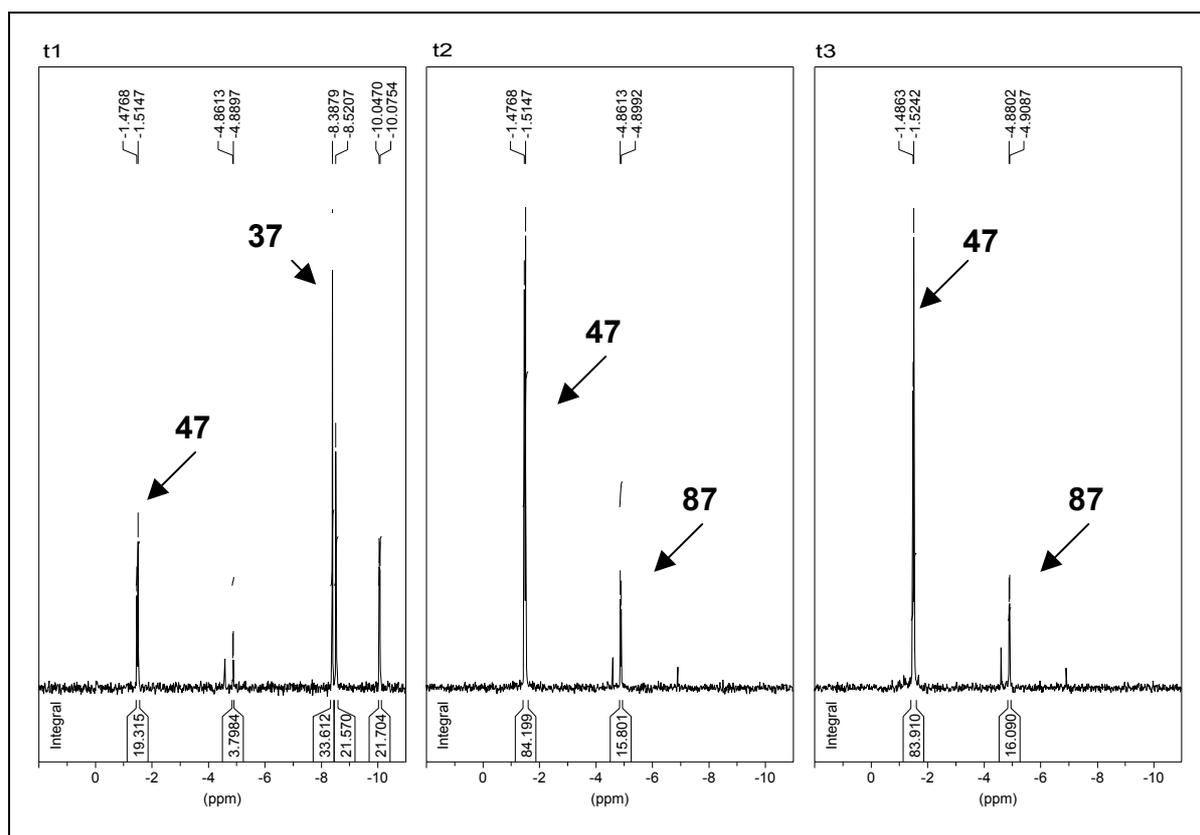


Abb. 77: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-TM-cycloSal-d4TMP **37**

Der "richtige Diester" **47** tritt wie gewohnt in Form von zweier Diastereomere auf. Trotz Aufbewahren der Probe über mehr als vier Monate in einem Wasserbad bei 37 °C zerfällt er nicht weiter zur Freisetzung von d4TMP. Dies wurde als deutliches Indiz dafür angesehen, dass Ringspannungseffekte für die Bildung von "falschem Diester" **87** aus **37** verantwortlich sind, dass hingegen der elektronische Effekt der Trichlormethyl-Gruppe (σ -Akzeptor) eine Benzyl-C-O- Spaltung verhindert.

Ähnliche Verhältnisse wurden bei der NMR-spektroskopischen Verfolgung der Hydrolyse von 7-DM-cycloSal-d4TMP **38** vorgefunden. Die sterischen und Ringspannungseffekte sollten dabei geringer sein als bei **37**, was durch den geringeren Anteil an "falschem Diester" **88** und auch den Anstieg der Hydrolysehalbwertszeit (vgl.

Kap. 4.4.1) zum Ausdruck kommt. Aufgrund der schwächeren σ -Akzeptor-Eigenschaften der Dichlormethyl-Gruppe konnte in diesem Fall auch eine langsame Freisetzung von d4TMP aus dem "richtigen Diester" **48** beobachtet werden. Unter den Bedingungen, unter denen die Halbwertszeiten mit Hilfe von HPLC-Analytik bestimmt wurden (12.5 mM Phosphatpuffer, pH 7.3, 37 °C; vgl. Kap. 4.4.1), konnte für den Zerfall von **48** zu d4TMP eine Halbwertszeit von $t_{1/2} \geq 250$ h ermittelt werden. Abbildung 78 fasst die bei den Hydrolysen von **37** und **38** gemachten Schlussfolgerungen als Reaktionsschema zusammen. Die durch die räumlich voluminöse Trichlormethyl- bzw. Dichlormethyl-Gruppe hervorgerufenen Ringspannungseffekte sollen dabei durch die getönte Kugel am Benzyl-Kohlenstoff symbolisiert werden.

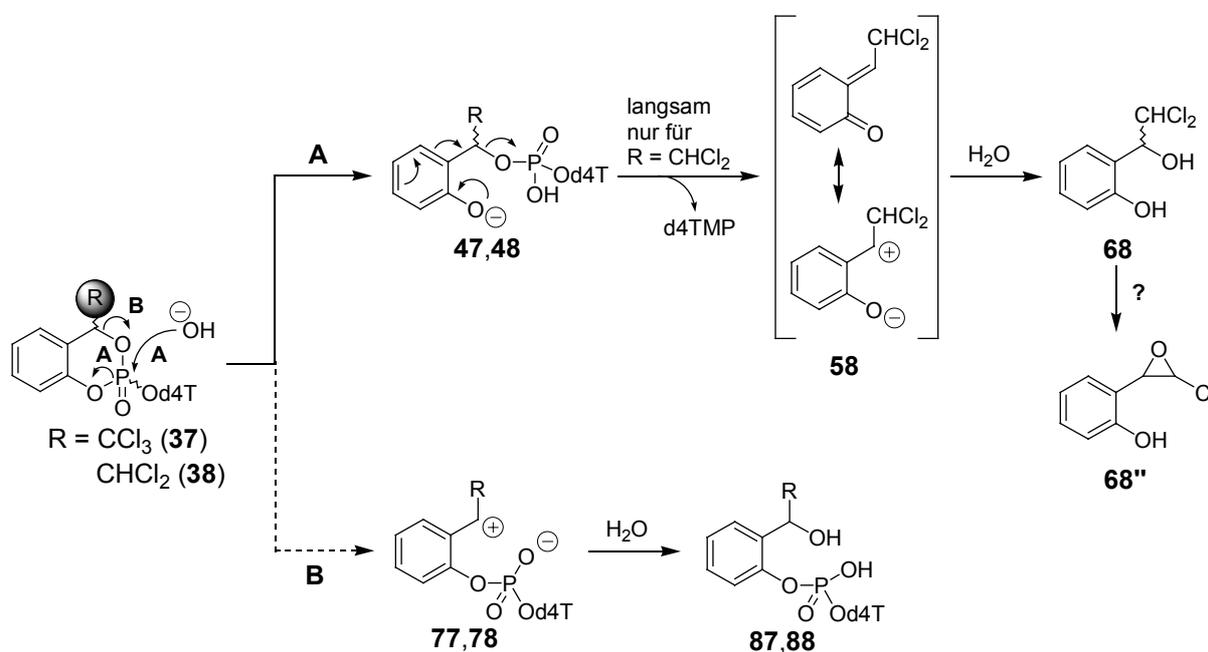


Abb. 78: Mechanismus der Hydrolyse von 7-TM- und 7-DM-cycloSal-d4TMP **37-38**

Die zuvor erwähnten Ringspannungseffekte sollten beim 7-Monochlormethyl-substituierten Derivat **39** nicht mehr auftreten; in diesem Fall kam es nicht mehr zur Bildung des "falschen Diesters" **89** (Abb. 76, S. 82). Abbildung 79 (S. 85) zeigt die im Verlauf (t_1, t_2) und nach vollständiger Hydrolyse (t_3) von **39** aufgenommenen ^{31}P -NMR-Spektren. Zu Beginn der Hydrolyse (t_1) ist bereits die Bildung der diastereomeren "richtigen Diester" **49** zu beobachten. Nach vollständiger Umsetzung von **39** zum "richtigen Diester" **49** ($t_{1/2} = 5.25$ h, vgl. Kap. 4.4.1) ist bereits deutlich auch die Bildung von d4TMP zu erkennen, das am Ende der Hydrolyse als einziges Produkt im ^{31}P -NMR-Spektrum zu detektieren ist (t_3).

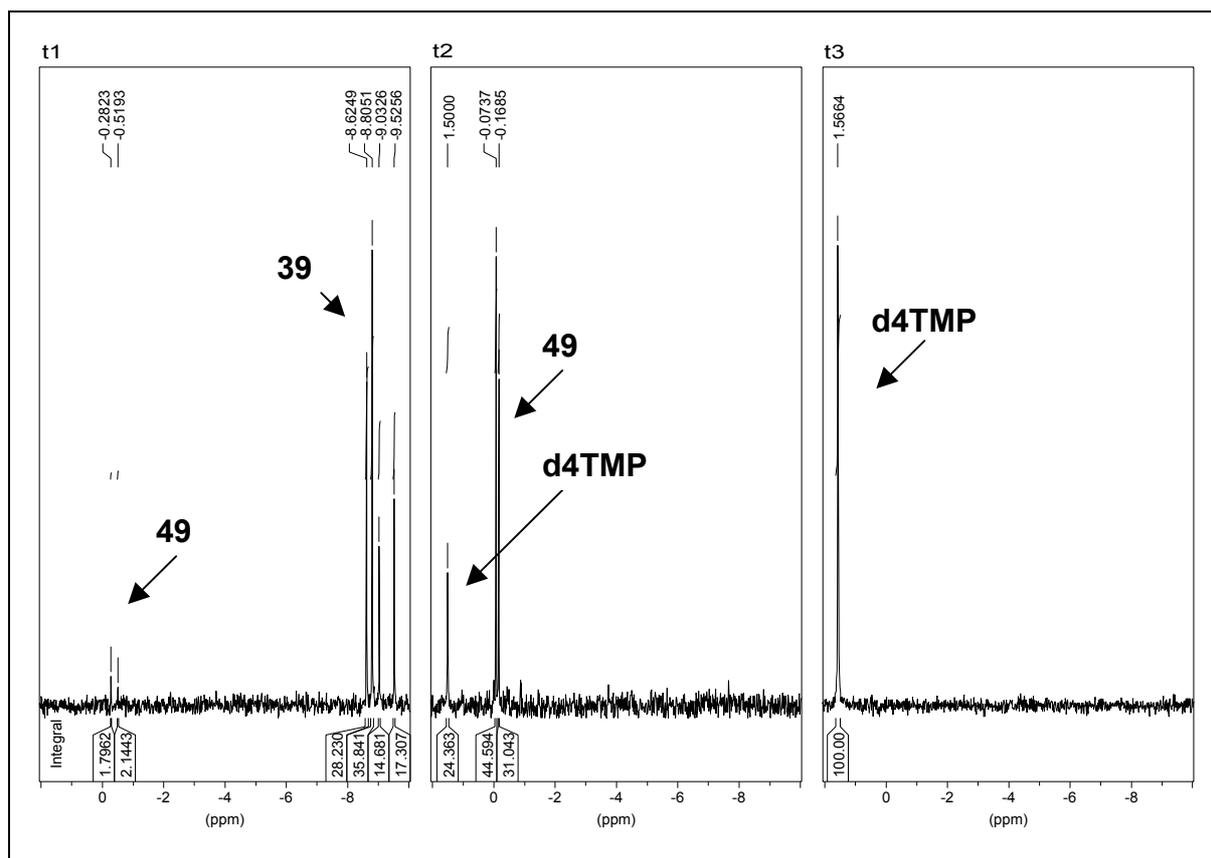


Abb. 79: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-MM-cycloSal-d4TMP **39**

Um auch das Produkt der cycloSal-Maske nach vollständiger Hydrolyse zu identifizieren (Eliminierungsprodukt **69'** bzw. Additionsprodukt **69**), wurde die Hydrolyse in Ammoniumacetat-Puffer (pH 7.3) wiederholt, da dieses Puffersalz bei Gefriertrocknung flüchtig ist, so dass in dem nach vollständiger Hydrolyse aufgenommenen ^1H -NMR-Spektrum keine Signale vom Puffersalz zu erwarten sind. Es wurden nur Protonensignale gemessen, die d4TMP bzw. dem Salicylalkohol **69** (Additionsprodukt) zugeordnet werden konnten. Charakteristisch für den Salicylalkohol **69** sind insbesondere das Signal für das Benzyl-Proton bei etwa 5.5 ppm (dd) sowie die beiden Signale für die beiden diastereotopen Protonen der Monochlormethyl-Gruppe im Bereich von 3.8 bis 4.1 ppm (jeweils dd).

Auf Grundlage dieser Ergebnisse lässt sich für **39** der folgende Hydrolysemechanismus formulieren (Abb. 80, S. 86). Im ersten Schritt kommt es selektiv zur Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung, eingeleitet durch nucleophilen Angriff von Hydroxid auf das Phosphor-Atom. Der unter den schwach basischen Bedingungen als Phenolat vorliegende "richtige Diester" **49** spaltet dann in einem zweiten Schritt spontan d4TMP ab, zurück bleibt das Chinonmethid-Intermediat **59**, dass nach Addi-

tion von Wasser Salicylalkohol **69** liefert. Das Eliminierungsprodukt **69'** konnte nicht nachgewiesen werden.

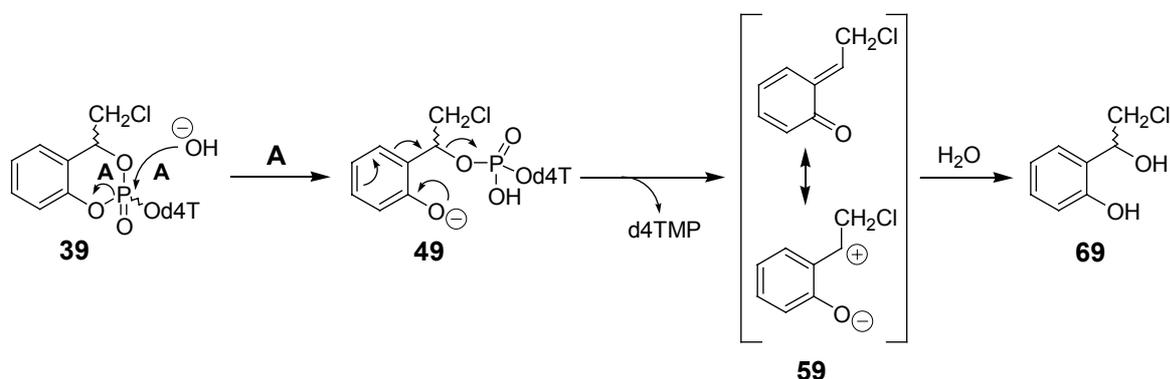


Abb. 80: Mechanismus der Hydrolyse von 7-MM-cycloSal-d4TMP **39**

Untersuchungen zur Solvolyse von ω -Chloralkoholen haben ergeben^[105], dass 2-Chlorethanol in Ethanol/Natriumethoxid bereitwillig intramolekular zu Oxacyclopropan reagiert. Auch der Salicylalkohol **69** sollte dementsprechend zur Ausbildung eines Epoxids in der Benzyl-Seitenkette in der Lage sein, doch wurden keine Hinweise erhalten, die eine Entstehung dieses Produktes andeuten könnten.

Als Abbauprodukt der *cycloSal*-Maske nach vollständiger Hydrolyse von **38** wurde ebenfalls der Salicylalkohol **68** angenommen, doch konnten durch massenspektrometrische Analyse weder Hinweise auf die Bildung von **68** noch von Eliminierungsprodukt **68'** erhalten werden. Vor dem Hintergrund der Ergebnisse zur Solvolyse von ω -Chloralkoholen^[105] scheint auch die Bildung von **68''** (Abb 78, S. 84) nicht ausgeschlossen, doch konnten auch keine direkten Hinweise für **68''** erhalten werden.

4.4.4.5 NMR-spektroskopische Analyse der Hydrolysen: Einfluß des 6-Chlor-Substituenten am Aryl-Rest

Da es gelungen war, durch Akzeptor-Substituenten in Benzylposition (Verbindungen **37-39**) die Konkurrenzreaktion zum "falschen Diester" prinzipiell auszuschließen, sollte in einem Ansatz überprüft werden, ob auch die Anwesenheit eines starken Akzeptor-Substituenten am Aryl-Rest in unmittelbarer Nachbarschaft zur Benzyl-Position genügt, die Donor-Eigenschaften der Benzyl-Substituenten (z.B. 7-Me, 7-Bu, 7-ECM) zu kompensieren und so die Entstehung der "falschen Diester" zu unterbinden. Zu diesem Zweck wurde am Aryl-Rest ein 6-Chlor-Substituent eingeführt. Abbildung 81 zeigt die in ³¹P-NMR-Studien bestimmten Produktverhältnisse für die Deri-

vate 6-Cl,7-Me- (**35d**), 6-Cl,7-Bu- (**36d**) und 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP (**33d**), zusammen mit den Daten für die am Aryl-System nicht weiter substituierten Analoga **33a** und **35a**.

Erfolgreich verliefen die Hydrolysestudien für die in Benzyl-Position alkylierten Derivate **35d** und **36d**: Durch Einführen des zusätzlichen 6-Chlor-Substituenten konnte nicht nur die Hydrolysehalbwertszeit beträchtlich verlängert werden (vgl. Kap. 4.4.1), es gelang zudem auch, eine Benzyl-C-O-Bindungsspaltung, die zum "falschen Diester" führen würde, auszuschließen: In beiden Fällen wurde ^{31}P -NMR-spektroskopisch d4TMP als einziges Hydrolyseprodukt nachgewiesen.

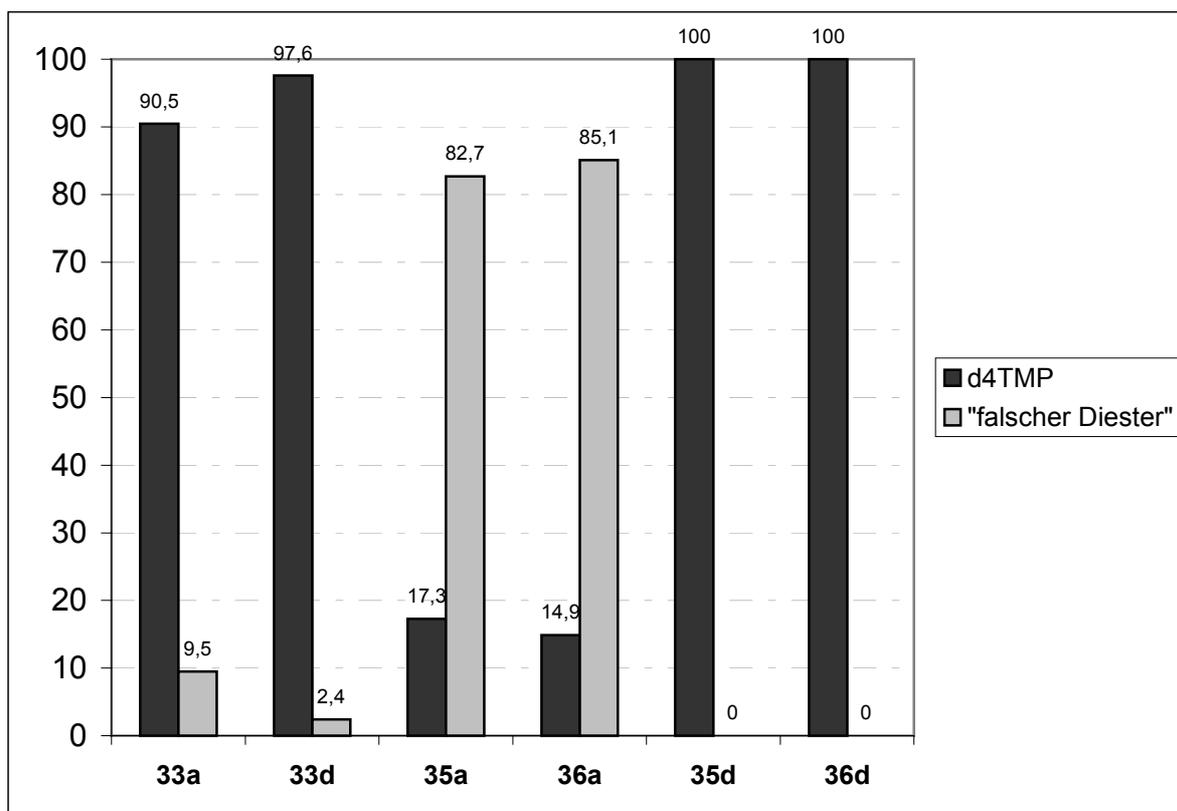


Abb. 81: Produktverhältnisse nach Hydrolyse der Prodrugs **33a,d**, **35a,d** und **36d**

Demgegenüber lieferten die entsprechenden am Aryl-System nicht funktionalisierten Derivate 7-Me- bzw. 7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35a** bzw. **36a** die "falschen Diester" **85a/86a** als Hauptprodukt nach Hydrolyse (Abb. 81).

Abbildung 82 (S. 87) zeigt den zeitlichen Verlauf der Hydrolyse von 6-Cl,7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35d** anhand repräsentativer ^{31}P -NMR-Spektren. Gleich nach Starten der Hydrolyse (t1) sind bereits deutlich die Signale für die beiden diastereomeren "richtigen Diester" **45d** zu beobachten. Dessen Konzentration nimmt im weiteren Verlauf der Hydrolyse (t2) zu. Zur Bildung des "falschen Diesters" **85d** kommt es jedoch

nicht. Bereits vor der vollständigen Umsetzung von **35d** (vier Diastereomere) zu **45d** (zwei Diastereomere) hat die Freisetzung von d4TMP aus **45d** begonnen. Nach vollständiger Hydrolyse (t3) ist dann **45d** vollständig zu d4TMP umgesetzt. Nach wie vor sind auch am Ende der Hydrolyse keine Signale für den "falschem Diester" **85d** zu beobachten.

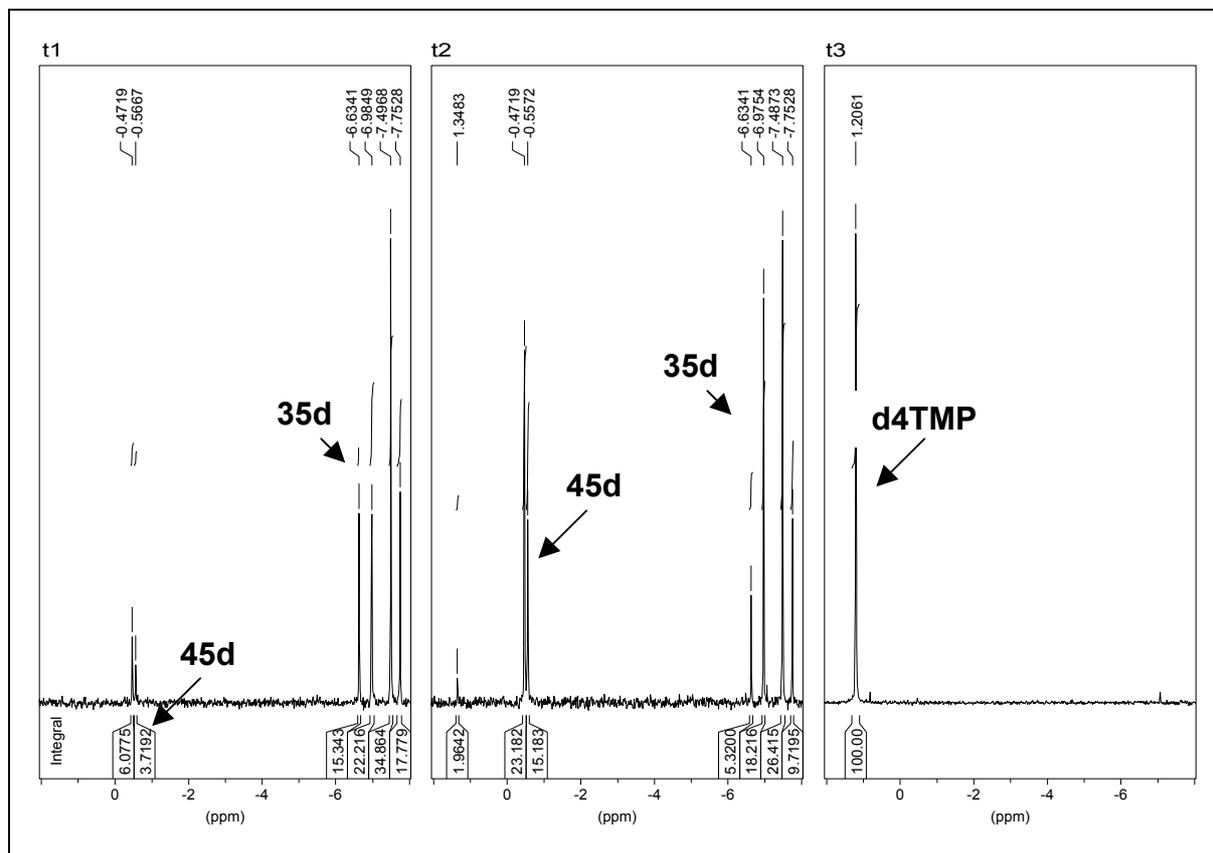


Abb. 82: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 7-Me-cycloSal-d4TMP **35d**

Bei dem 6-Cl,7-Bu-Derivat **36d** wurden die entsprechenden Beobachtungen gemacht: Auch hier wurden keine Signale für "falschem Diester" **86d** erhalten. In Abbildung 83 (S. 88) sind diese Ergebnisse noch einmal als Reaktionsschema wiedergegeben. Im ersten Schritt kommt es ausschließlich zur Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung zum "richtigen Diester" **45d** bzw. **46d** (jeweils zwei Diastereomere), der dann in einem zweiten Schritt d4TMP abspaltet. Das dabei entstehende intermediäre Chinonmethid **55d** bzw. **56d** wird dann durch Wasser zu den Salicylalkoholen **85d** bzw. **86d** abgefangen. Der alternative Benzyl-C-O-Bindungsbruch, der zum "falschem Diester" **85d** bzw. **86d** führen würde, wird durch die Anwesenheit

des Akzeptor-Substituenten 6-Chlor verhindert, da der Donor-Effekt der Alkyl-Gruppen 7-Methyl (**35d**) bzw. 7-Butyl (**36d**) in Benzyl-Position ausgeglichen wird.

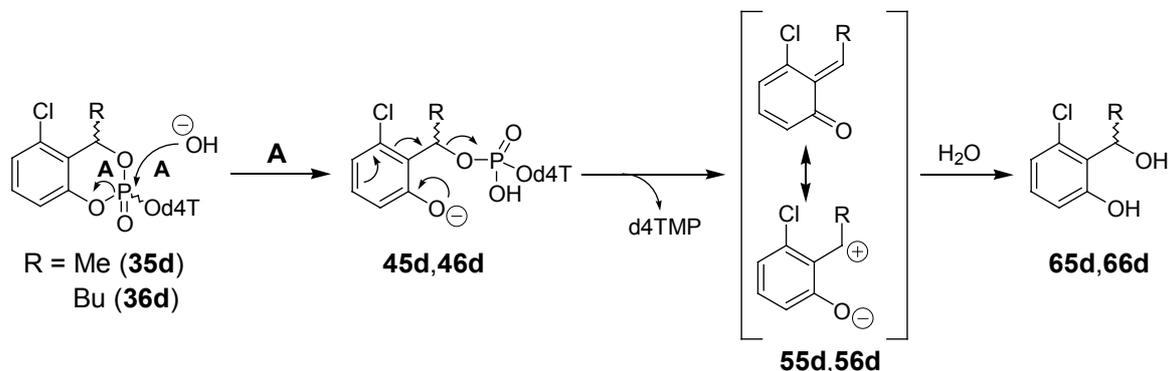


Abb. 83: Mechanismus der Hydrolyse von 6-Cl,7-Me- und 6-Cl,7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35d** und **36d**

Ein ähnlicher Effekt wie bei den Alkyl-substituierten Derivaten **35d** und **36d** wurde auch für 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d** erwartet, doch deuteten schon die gemessenen Halbwertszeiten auf ein vom Verhalten der 7-alkylierten Derivate **35d** und **36d** abweichendes Verhalten dieser Verbindung hin ($t_{1/2}$ deutlich geringer als für das nicht am Aryl-Rest 6-chlorierte Derivat **33a**, vgl. Kap. 4.4.1).

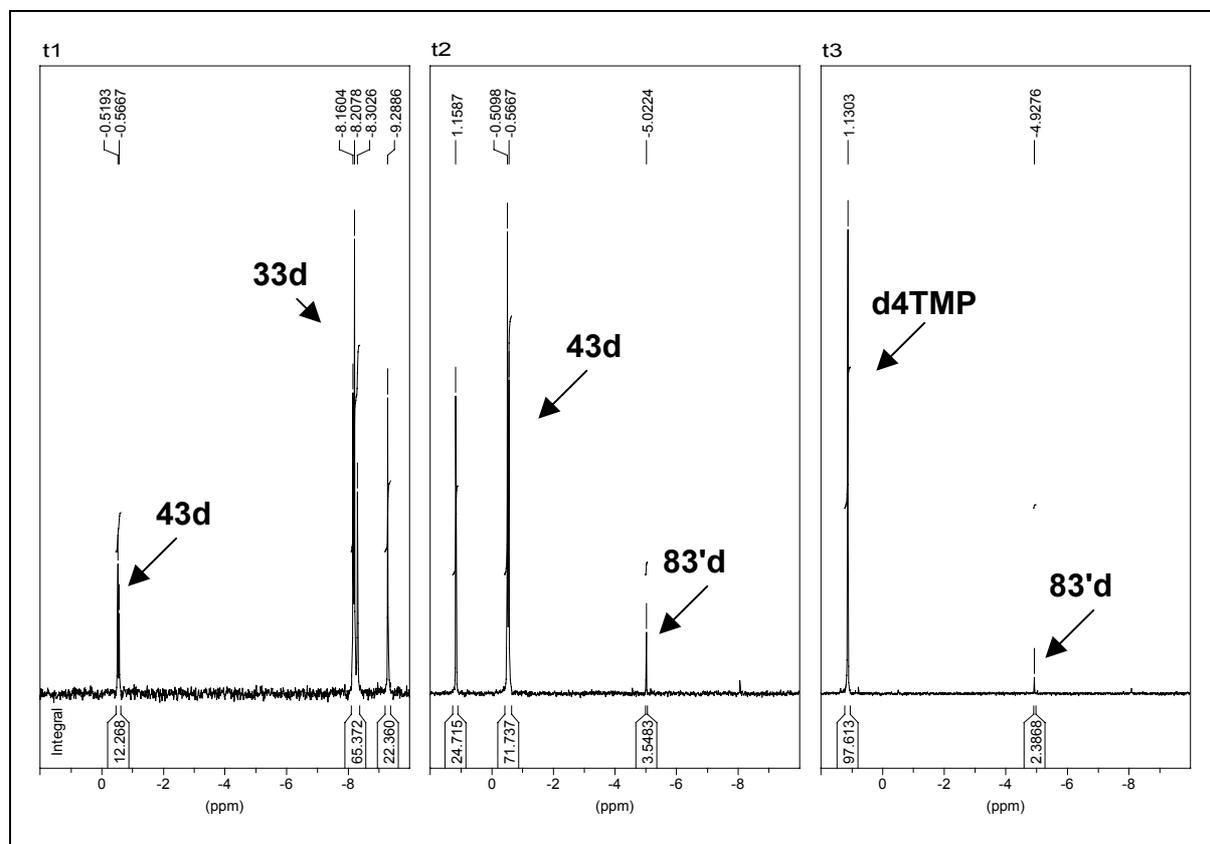


Abb. 84: ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d**

Außerdem konnte durch ^{31}P -NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse (Abb. 84, S. 88) erneut die Bildung von "falschem Diester" **83'd** zu 2.4% nachgewiesen werden (vgl. Abb. 81, S. 86).

Bereits kurz nach Starten der Hydrolyse (t1) konnte der "richtige Diester" **43d** (zwei Diastereomere) nachgewiesen werden. Die anschließende langsame Freisetzung von d4TMP (t2) aus **43d** deutet an, dass der 6-Chlor-Substituent einen stabilisierenden Effekt auf die Benzyl-C-O-Bindung ausübt. Am Ende der Hydrolyse (t3) ist **43d** vollständig zu d4TMP umgesetzt worden, doch in ähnlich geringer Menge wie zuvor für das 5-Cl,7-ECM-Derivat **33c** konnte auch "falscher Diester" **83'd** nachgewiesen werden.

Zusätzlich wurde die Hydrolyse erneut in Ammoniumacetat-Pufferlösung durchgeführt, um nach vollständiger Hydrolyse durch Gefriertrocknung die Produkte ohne störende Puffersalze zu erhalten und von ihnen zusätzlich ein ^1H -NMR-Spektrum aufzunehmen. Zwar konnten im aufgenommenen Protonen-Spektrum Signale für den "falschem Diester" nicht nachgewiesen werden, doch wurden neben der Signale für d4TMP auch die Signale für das Eliminierungsprodukt **63'd** eindeutig nachgewiesen. Aufgrund der Kopplungskonstante für die olefinischen Protonen ($^3J_{\text{HH}} = 16.0 \text{ Hz}$) konnte nach Vergleich mit Literaturdaten^[100] auf das *E*-Diastereomer von **63'd** geschlossen werden. Auf die Entstehung des Salicylalkohols **63d** (Additionsprodukt) wurden aus dem ^1H -NMR-Spektrum keine Hinweise erhalten.

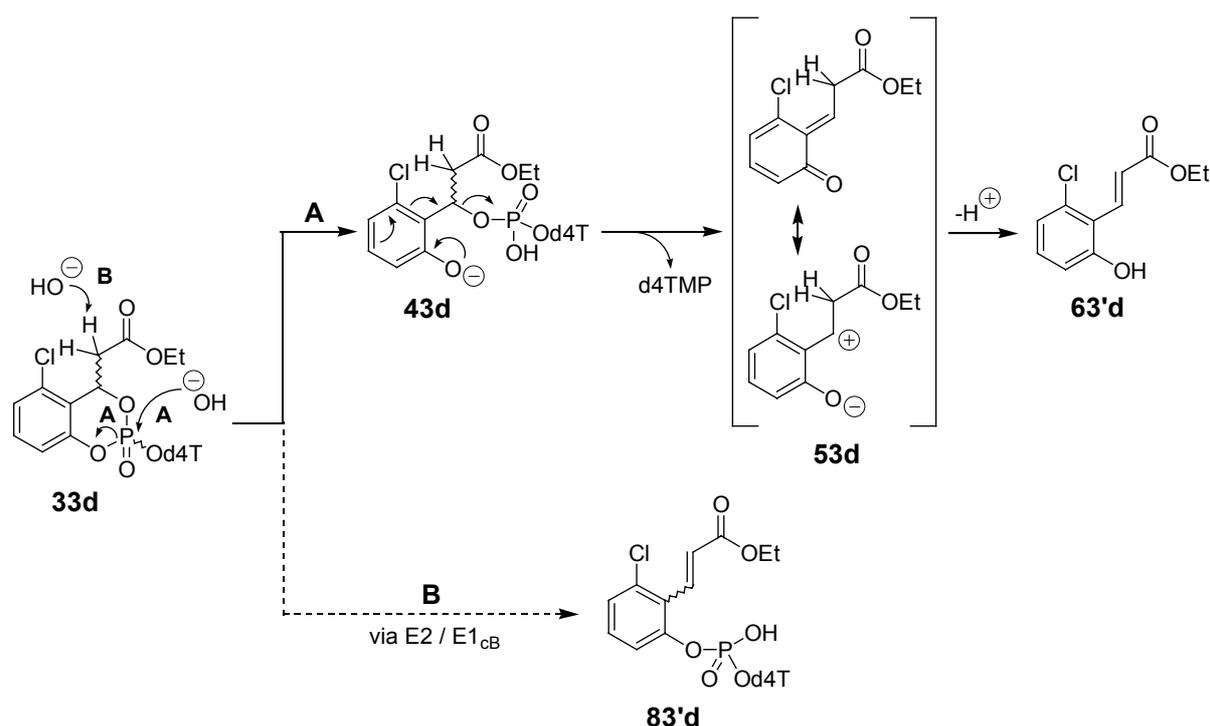


Abb. 85: Mechanismus der Hydrolyse von 6-Cl,7-ECM-cycloSal-d4TMP **33d**

Auf Grundlage der Ergebnisse der Hydrolysestudien mit **33d** und unter Berücksichtigung der Ergebnisse für **35a** und **35d** bzw. **36a** und **36d** kann für **33d** ein Hydrolysemechanismus gemäß Abbildung 85 (S. 89) vorgeschlagen werden. Auch in diesem Fall wird die Freisetzung von d4TMP gemäß Weg **A** durch nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom eingeleitet. Es resultiert der "richtige Diester" **43d** als Gemisch zweier Diastereomere, der anschließend neben dem Chinonmethid **53d** d4TMP freisetzt. Als Abbauprodukt der Maske entsteht daraus nach Eliminierung eines Protons selektiv das *E*-konfigurierte Eliminierungsprodukt **63'd**.

Für die alternative Spaltung von **33d** zum "falschen Diester" **83'd** erscheint es allerdings nicht mehr angebracht, einen spontanen Benzyl-C-O-Bindungsbruch als einleitenden Schritt anzunehmen. Dieser Reaktionsschritt würde dem klassischen ersten Schritt einer S_N1 - bzw. $E1$ -Reaktion entsprechen. Die Entstehung des "falschen Diesters" **85a**, ausgehend von 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** sollte dagegen nach einem S_N1 -Mechanismus mit einer spontanen Benzyl-C-O-Bindungdissoziation als erstem Schritt abgelaufen sein. Da im Fall von **35a** durch Einführen eines 6-Chlor-Substituenten in **35d** dieser Reaktionskanal jedoch vollständig ausgeschaltet werden konnte, erscheint es wenig sinnvoll, einen solchen Reaktionsweg für **33d** anzunehmen. Für die Entstehung des Nebenproduktes **83'd** wird deshalb ein alternativer Mechanismus angenommen, dessen geschwindigkeitsbestimmender Schritt einen Benzyl-C-O-Brech nicht erfordert. In Frage kommen demnach alternativ ein $E2$ - bzw. $E1_{cB}$ -Mechanismus.

4.5 Ergebnisse aus DFT-Rechnungen an Modellsystemen

Bei den Hydrolysestudien mit Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs (Kap. 4.4) machte sich ein deutlicher Einfluß dieser Benzyl-Substituenten auf das Hydrolyseverhalten der Prodrugs bemerkbar. In z.T. beträchtlichem Ausmaß wurde die Bildung von Phenylphosphatdiestern, den sog. "falschen Diestern" beobachtet. Diese zeichnen sich – im Gegensatz zu den "richtigen Diestern" – dadurch aus, dass sie unter den Hydrolysebedingungen (pH 7.3, 37 °C) stabil und nicht mehr zur Freisetzung von d4TMP in der Lage sind. So konnte z.B. bei der Hydrolyse des alkylierten **35a** der "falsche Diester" **85a**, und bei der Hydrolyse des 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a** die "falschen Diester" **83a** und **83'a** nachgewiesen werden.

Es stellt sich die Frage, nach welchem Mechanismus die Bildung der "falschen Diester" abläuft und welchen Einfluß die Benzyl-Substituenten auf den Ablauf dieser Konkurrenzreaktion haben. Ein nucleophiler Angriff eines Hydroxid-Anions auf das Phosphor-Zentrum sollte zur Spaltung der Phenylphosphatester- und nicht zur Spaltung der Benzylphosphatester-Bindung führen, da das entstehende Phenolat die bessere Austrittsgruppe darstellt als Benzylalkoholat.

Auch eine nucleophile Substitution am Benzyl-Kohlenstoff nach einem S_N2 -Mechanismus sollte bei sekundären Benzylphosphatestern aus sterischen Gründen erschwert sein. So ergab die kinetische Analyse der basischen Hydrolyse von sekundären und tertiären Alkylphosphatrestern, dass diese nach einem S_N1 -Mechanismus verlaufen, der eingeleitet wird von einem heterolytischen C-O-Bindungsbruch im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt^[101].

Da auch die Benzylphosphatester-Bindung in den Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs Ester sekundärer Alkohole darstellen, erschien es sinnvoll, auch für die Bildung des "falschen Diesters" **85a** aus 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** einen S_N1 -Mechanismus mit einer Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt anzunehmen. Anschließende Addition eines Hydroxid-Anions liefert dann den "falschen Diester" **85a**. Bei Anwesenheit weiterer C-H-acidifizierender Substituenten in der Benzyl-Seitenkette kann an den heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsbruch anschließend alternativ auch eine Eliminierung nach einem E1-Mechanismus ablaufen. Die "falschen Diester" **83a** und **83'a** können so als typische Konkurrenzprodukte einer S_N1 - bzw. E1-Reaktion aufgefasst werden.

Der geschwindigkeitsbestimmende erste Schritt sowohl einer S_N1 - als auch einer E1-Reaktion ist die spontane Dissoziation in ein Ionenpaar^[102]. Dieses Ionenpaar stellt ein Hochenergie- und damit kurzlebige Intermediat dar, das durch ein Nucleophil zum Substitutionsprodukt abgefangen werden kann (S_N1) bzw. durch Abgabe eines Protons zum Eliminierungsprodukt weiterreagiert (E1).

Gegenstand der durchgeführten DFT-Rechnungen war es daher zu untersuchen, in welchem Ausmaß die verschiedenen Benzyl-Substituenten den gemeinsamen geschwindigkeitsbestimmenden ersten Schritt (S_N1 vs. E1) unterstützen und wie stark der stabilisierende Einfluß auf das Ionenpaar ist. Als Modellverbindungen wurden entsprechende *cycloSal*-Methylmonophosphate (*cycloSal*-MeMPs) verwendet. Für alle Modellsysteme wurden die Aktivierungsbarrieren ΔE für einen heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsbruch in der Gasphase berechnet. Die für den Prototypen 7-H-

cycloSal-MeMP berechnete Aktivierungsbarrieren ΔE wurde dabei als Grenzwert angenommen, oberhalb dessen ein Benzyl-C-O-Bindungsbruch keine Rolle mehr spielen sollte, da bei Hydrolysestudien mit 7-H-*cycloSal*-d4TMP **16a** keine Konkurrenzprodukte ("falscher Diester") nachgewiesen wurden.

In den nun folgenden Unterkapiteln 4.5.1 und 4.5.2 werden die Ergebnisse der mit *Gaussian 98*^[103] durchgeführten DFT-Rechnungen vorgestellt.

4.5.1 Ergebnisse für 7-Me-, 6-Cl,7-Me-, 7-TM-, 7-DM- und 7-MM-*cycloSal*-MeMP

Es wurden Geometrie-optimierte Strukturen für Edukte, Produkte und Übergangszustände für die heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsdissoziationen der Modellverbindungen 7-H-, 7-Me-, 6-Cl,7-Me-, 7-TM-, 7-DM- und 7-MM-*cycloSal*-MeMP unter Verwendung des Funktionals B3LYP^[77,78] Basissatzes 6-311G(d,p)^[82-84] berechnet (zur Durchführung vgl. *Experimentalteil*, Kap. 7.8). Zusätzlich wurden für alle erhaltenen Strukturen die entsprechenden Schwingungsspektren berechnet, um insbesondere für die Übergangszustände genau eine imaginäre Eigenschwingung zu verifizieren (Nimag = 1), die der Bewegung entlang der Reaktionskoordinate entspricht. Abbildung 86 zeigt zunächst die Geometrie-optimierten Strukturen **A1-A3** für das Referenzsystem 7-H-*cycloSal*-MeMP. In Tabelle 4 (S. 93) sind relevante Bindungslängen und Bindungswinkel sowie Diederwinkel der Strukturen **A1-A3** zusammengefasst.

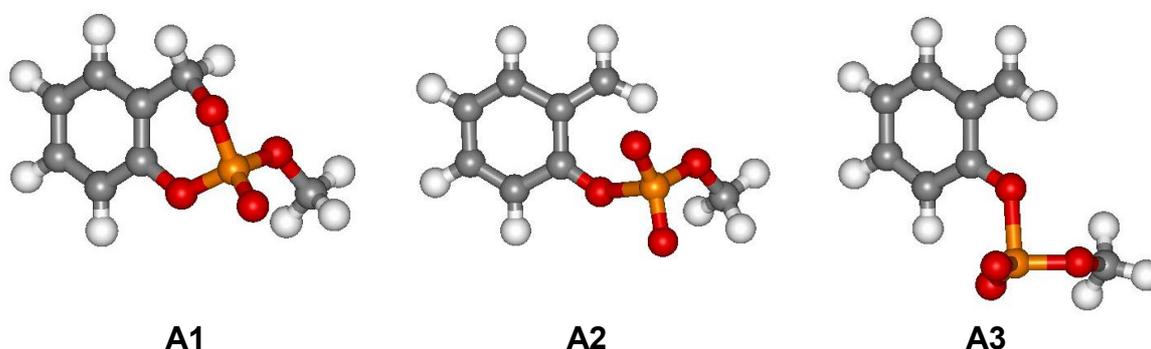
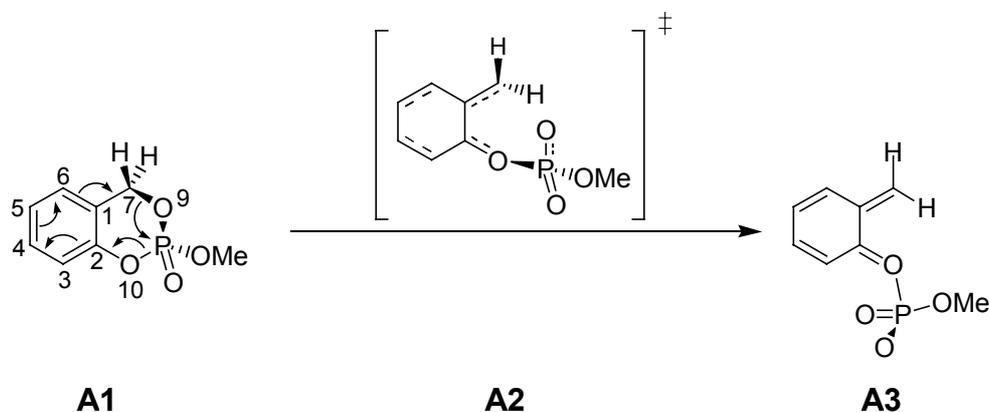


Abb. 86: Edukt **A1**, Übergangszustand **A2** und Produkt **A3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in *cycloSal*-MeMP

Im Edukt **A1** liegt der Heterozyklus in einer Halbsessel-artigen Konformation vor. Das Produkt **A3** weist eine *ortho*-chinoide Struktur auf, was insbesondere an den alter-

nierenden Bindungslängen im Aromaten deutlich wird. Auch die Bindungen zum Benzyl-Kohlenstoff (C7; vgl. Tabelle 4) sowie zum Phenol-Sauerstoff (O10) sind entsprechend verkürzt.

Tabelle 4: Bindungslängen [pm], Bindungswinkel und Diederwinkel für **A1-A3**



	A1 (E)	A2 (TS)	A3 (P)
C4-C5	139.5	143.4 (+3.9)	144.1 (+0.7)
C3-C4	138.9	136.8 (-2.1)	136.2 (-0.6)
C2-C3	139.2	142.4 (+3.2)	143.5 (+1.1)
C5-C6	139.0	135.6 (-3.4)	135.1 (-0.5)
C1-C6	139.7	144.7 (+5.0)	145.2 (+0.5)
C1-C2	139.8	147.5 (+7.7)	148.9 (+1.4)
C1-C7	150.9	135.8 (-15.1)	135.0 (-0.8)
C7-H7	109.5	108.6 (-0.2)	108.6 (+0.0)
C7-H7'	108.9	108.4 (-0.5)	108.3 (-0.1)
C7-O9	144.9	306.3 (+161.4)	486.5 (+180.2)
P-O9	159.5	148.1 (-11.1)	147.1 (-1.0)
P-O10	163.1	193.2 (+30.1)	195.4 (+2.2)
C2-O10	138.9	118.5 (11.4)	117.4 (-1.1)
C2-O10-P	+122.8°	+115.3° (+1.5°)	+118.9° (+3.6°)
C1-C2-O10-P	-2.7°	+90.7° (+93.4°)	+164.3° (+73.7°)
C2-C1-C7-O9	-25.3°	-29.6° (-4.3°)	-22.2° (+7.4°)
C2-C1-C7-H7	-142.7°	-175.8 (-33.1°)	-179.2° (-3.3°)
C2-C1-C7-H7'	+95.9°	+0.4° (-95.5°)	+0.2° (-0.2°)

Der späte Übergangszustand **A2** weist ebenfalls bereits deutlich die für das *ortho*-chinoide System charakteristische Bindungsalternanz auf, wenngleich diese im Produkt **A3** noch stärker ausgeprägt ist. Der Abstand zwischen C7 und dem Benzyl-Sauerstoff O9 ist in **A2** deutlich verlängert (C7-O9: 306.3 pm; +161.4 pm). Die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate wird neben dem Abstand C7-O9 am besten durch die Veränderung der Diederwinkel C1-C2-O10-P sowie C2-C1-C7-H7 ausgedrückt. Im Verlauf der Reaktion dreht sich die Phosphatgruppe nach vorne aus der Zeichenebene heraus, gleichzeitig dreht sich die Methylengruppe in die Zeichenebene.

Der energetische Verlauf entlang der Reaktionskoordinate für die Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation von 7-H-*cycloSal*-MeMP ist in Tabelle 5 wiedergegeben, zusammen mit den Daten für die Benzyl-substituierten Analoga. In allen Fällen ergab sich ein endothermer Reaktionsverlauf über späte, Produkt-ähnliche Übergangszustände.

Tabelle 5: Relativer Energieverlauf für den heterolytischen Benzyl-C-O-Bruch

	Edukt	TS	Produkt
<i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+37.55 kcal/mol	-3.02 kcal/mol
7-Me- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+33.16 kcal/mol	-1.54 kcal/mol
6-Cl,7-Me- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+37.39 kcal/mol	-4.71 kcal/mol
7-TM- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+49.28 kcal/mol	-13.35 kcal/mol
7-DM- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+38.19 kcal/mol	-4.77 kcal/mol
7-MM- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+36.43 kcal/mol	-3.11 kcal/mol

Die Aktivierungsbarriere für die heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation des Prototyps 7-H-*cycloSal*-MeMP wurde mit 37.55 kcal/mol berechnet. Das Produkt **A3** erfährt dann eine Stabilisierung von 3.02 kcal/mol relativ zum Übergangszustand **A2**. Formal sollte das Produkt **A3** ein Zwitterion sein mit einer positiven Ladung am Benzyl-Kohlenstoff und einer negativen Ladung an O9, doch deutet eine Berechnung der Partialladungen (Tabelle 6, S. 95) für **A1-A3** an, dass es zu einer Ladungverschiebung kommt. So nimmt die negative Partialladung an O9 und P im Verlauf der Reaktion um insgesamt -0.305 Ladungseinheiten zu, an O10 jedoch nimmt sie um +0.144 Ladungseinheiten ab. Im Aromaten nimmt die Summe der Partial-

ladungen ebenfalls um +0.247 Ladungseinheiten ab, doch am Benzyl-Kohlenstoff C7, der im Edukt **A1** praktisch keine Ladung trägt, nimmt die negative Partiaalladung um -0.114 Ladungseinheiten zu. Insgesamt ergibt sich eine Verschiebung von negativer Ladung, um das *ortho*-chinoide Produkt **A3** möglichst effektiv zu stabilisieren.

Tabelle 6: Berechnete Partiaalladungen für **A1-A3**

	A1	A2	A3
C1	-0.115	-0.187 (-0.063)	-0.161 (+0.026)
C2	+0.327	+0.537 (+0.210)	+0.536 (-0.001)
C3	-0.229	-0.261 (-0.032)	-0.282 (-0.021)
C4	-0.181	-0.087 (+0.094)	-0.089 (-0.002)
C5	-0.209	-0.225 (-0.016)	-0.217 (+0.008)
C6	-0.182	-0.121 (+0.061)	-0.138 (-0.017)
C7	-0.022	-0.082 (-0.060)	-0.136 (-0.054)
O9	-0.816	-1.048 (-0.232)	-1.026 (+0.022)
P	+2.510	+2.418 (-0.092)	+2.415 (-0.003)
O10	-0.800	-0.718 (+0.082)	-0.656 (+0.062)
H7	+0.194	+0.187 (-0.007)	+0.192 (-0.005)
H7'	+0.201	+0.248 (+0.047)	+0.220 (+0.028)

Einen energetisch deutlich günstigeren Verlauf nimmt dagegen die Modellreaktion für das Substrat 7-Me-cycloSal-MeMP **B1** (vgl. Tabelle 5, S. 94). In Abbildung 87 sind zunächst die optimierten Modellstrukturen **B1-B3** wiedergegeben, und Tabelle 7 (S. 96) enthält repräsentative Geometrieparameter.

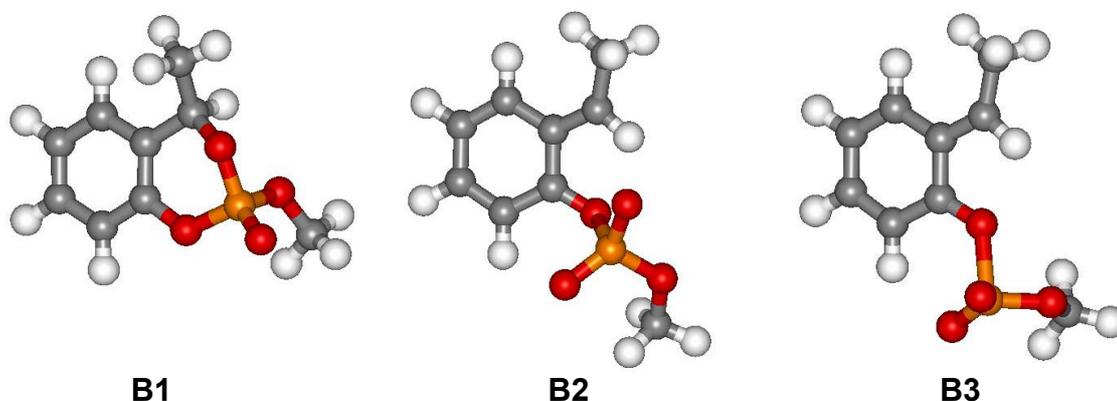
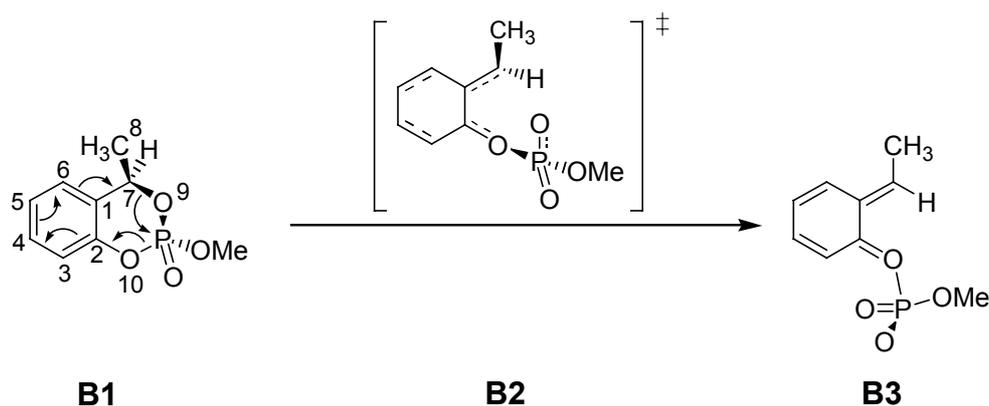


Abb. 87: Edukt **B1**, Übergangszustand **B2** und Produkt **B3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 7-Me-cycloSal-MeMP

Tabelle 7: Bindungslängen [pm], Bindungswinkel und Diederwinkel für **B1-B3**

	B1	B2	B3
C7-C8	152.0	147.7 (-4.3)	148.2 (+0.5)
C7-O9	146.3	310.1 (+163.7)	473.0 (+162.9)
P-O9	159.1	148.5 (-10.6)	147.2 (-1.3)
P-O10	163.0	187.2 (+24.2)	192.3 (+5.1)
C2-O10-P	+122.9	+121.3 (-1.6)	+119.7 (+7.4)
C1-C2-O10-P	-0.4°	+99.3° (+99.7°)	+161.0 (+61.7)
C2-C1-C7-O9	-26.6°	-30.4° (-3.8°)	-21.5° (+8.9°)
C2-C1-C7-H7	+90.0°	+3.1° (-86.9°)	-0.5° (-2.6°)
C2-C1-C7-C8	-145.7°	-172.5° (-26.8°)	-178.6° (-6.1°)

Wie schon im Prototypen **A1** liegt auch in **B1** der Heterozyklus wieder in einer Halbsessel-artigen Konformation vor. Die Methylgruppe C8 an C7 (vgl. Tabelle 7) befindet sich in äquatorialer Anordnung, H7 entsprechend in axialer Position. Das Produkt **B3** besitzt wie schon **A3** wieder eine *ortho*-chinoide Struktur, so dass die Bindungslängen im Aromaten wieder alternierend sind. Der Abstand zwischen C7 und dem Benzyl-Sauerstoff O9 ist im Übergangszustand **B2** bereits wieder deutlich verlängert (C7-O9: 310.1 pm; +163.7 pm, vgl. Tabelle 7).

Die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate kann neben dem Abstand C7-O9 wieder durch die Veränderung der Diederwinkel C1-C2-O10-P sowie C2-C1-C7-C8 ausgedrückt werden (vgl. Tabelle 7). Wie schon im Verlauf der Reaktion von **A1** dreht sich auch bei entsprechender Reaktion von **B1** die Phosphatgruppe nach vorne aus der Zeichenebene heraus und gleichzeitig dreht sich die Methylengruppe wieder in die Zeichenebene hinein. Im *ortho*-chinoiden Produkt **B3** besetzt die Methylgruppe

an C7 die *E*-Position. Zwar ergab die genaue Analyse der Bindungslängen und Winkel keine signifikanten Unterschiede zwischen entsprechenden Strukturen für die Reaktion von 7-Me-*cycloSal*-MeMP und dem Referenzsystem, doch bei Vergleich der Energien entlang der Reaktionskoordinate (Tab. 5, S. 94), fällt auf, dass die Reaktion für 7-Me-*cycloSal*-MeMP über einen Übergangszustand verläuft, der um 4.39 kcal/mol niedriger liegt als bei entsprechender Reaktion des Referenzsystems. Das Produkt **B3** erfährt dann eine Stabilisierung von 1.54 kcal/mol relativ zum Übergangszustand **B2**.

Die Berechnung der Partialladungen (Tabelle 8) für **B1-B3** ergab, dass es, wie zuvor schon für den Prototypen beschrieben, wieder zur Stabilisierung des Produkts bzw. des Übergangszustands durch Ladungsverschiebung kommt. Wie schon bei 7-H-*cycloSal*-MeMP trägt auch in diesem Fall der Aromat zur Stabilisierung von C7 durch Ladungsverschiebung bei, doch erfährt die Ladung an C7 diesmal noch zusätzlich Stabilisierung durch Hyperkonjugation mit der benachbarten Methylgruppe (C8). Dieser zusätzliche Beitrag zur Ladungsstabilisierung an C7 ist demnach die Ursache dafür, dass der heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsbruch in **B1** deutlich gegenüber **A1** begünstigt ist.

Tabelle 8: Berechnete Partialladungen für **B1-B3**

	B1	B2	B3
C1	-0.115	-0.199 (-0.075)	-0.179 (+0.020)
C2	+0.332	+0.529 (+0.197)	+0.533 (+0.004)
C6	-0.184	-0.115 (+0.060)	-0.140 (-0.016)
C7	+0.146	+0.118 (-0.028)	+0.069 (-0.049)
O9	-0.838	-1.054 (-0.216)	-1.033 (+0.021)
P	+2.516	+2.421 (-0.095)	+2.421 (+0.0)
O10	-0.801	-0.711 (+0.090)	-0.681 (+0.030)
H7	+0.197	+0.234 (+0.037)	+0.225 (-0.009)
C8	-0.583	-0.632 (-0.049)	-0.626 (+0.006)

Der deutliche Einfluß des 7-Methyl-Substituenten auf das Hydrolyseverhalten von 7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35a** und insbesondere auf die Bildung des "falschen Diesters" **85a** kann durch den bei den Berechnungen gefundenen stabilisierenden hyperkonjugativen Effekt der 7-Methyl-Gruppe also zufriedenstellend erklärt werden.

Durch Einführen des zusätzlichen 6-Chlor-Substituenten am Aromaten in 6-Cl,7-Me-cycloSal-d4TMP **35d** gelang es, die noch für 7-Me-cycloSal-d4TMP **35a** gefundene Konkurrenzreaktion vollständig zu unterbinden. Berechnungen für das Modellsystem 6-Cl,7-Me-cycloSal-MeMP lieferte zunächst die Strukturen **D1-D3** (Abb. 88). Der Heterozyklus in **D1** liegt – im Gegensatz zu **A1** und **B1** – in einer Wannenkonformation vor. Aufgrund sterischer Abstoßung mit 6-Chlor steht die Methylgruppe an C7 axial nach vorn. Auch im weiteren Reaktionsverlauf ist zu beobachten (**D2** bzw. **D3**), dass die Methylgruppe sich möglichst weit vom 6-Chlor-Atom entfernt, um Wechselwirkungen zu vermeiden.

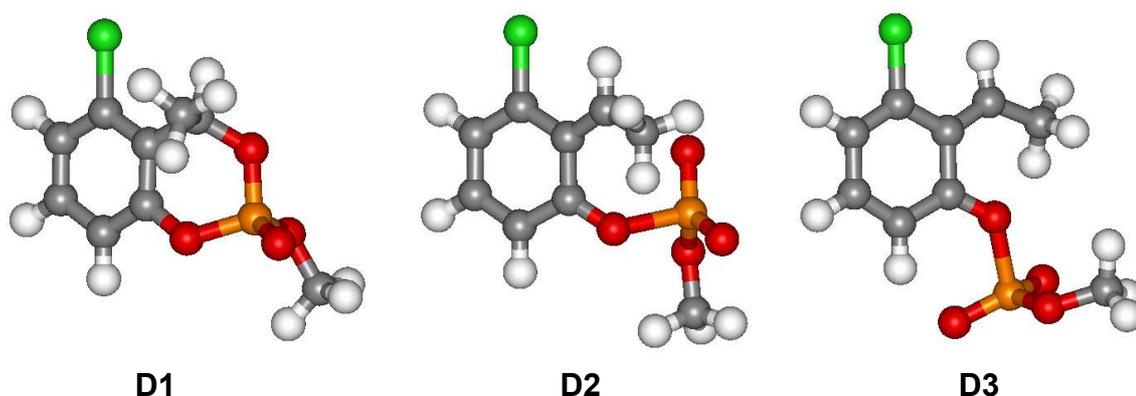


Abb. 88: Edukt **D1**, Übergangszustand **D2** und Produkt **D3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 6-Cl,7-Me-cycloSal-MeMP

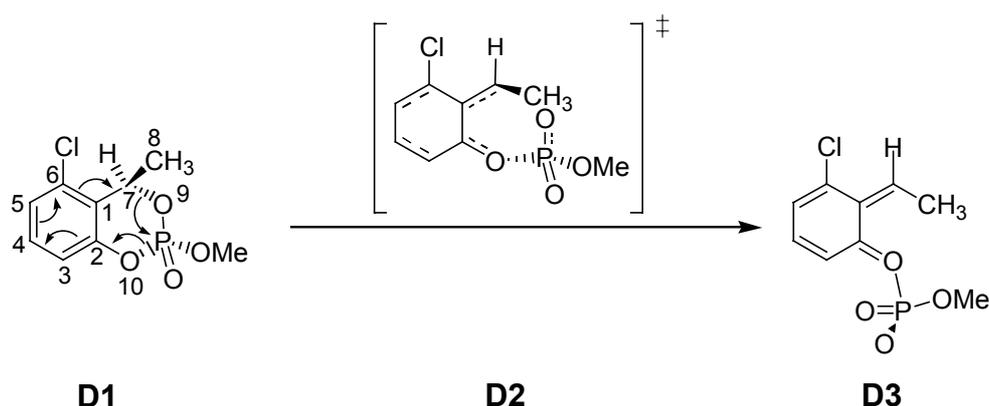
Das Produkt **D3** besitzt wie schon **A3** und **B3** wieder eine *ortho*-chinoide Struktur mit entsprechend alternierenden Bindungslängen im Aromaten. Der Abstand zwischen C7 und dem Benzyl-Sauerstoff O9 ist in **D2** bereits wieder deutlich verlängert (C7-O9: 268.1 pm; +122.1 pm, vgl. Tabelle 9, S. 99), doch ist der Übergangszustand **D2** früher als **A2** und **B2**.

Die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate wird wieder durch den Abstand C7-O9 sowie durch die Veränderung der Diederwinkel C1-C2-O10-P sowie C2-C1-C7-C8 ausgedrückt (vgl. Tabelle 9, S. 99). Entgegen der Reaktion von **A1** und **B1** dreht sich bei entsprechender Reaktion von **D1** (Wannenkonformer) die Phosphatgruppe nach hinten aus der Zeichenebene heraus. Dabei dreht sich die Methylengruppe (C7) gleichzeitig in die Zeichenebene hinein. Die Methylgruppe (C8) am Benzyl-C-Atom (C7) versucht jedoch, dem 6-Chlor-Substituenten möglichst auszuweichen, um abstoßende Wechselwirkungen zu vermeiden. Im *ortho*-chinoiden Produkt **D3** be-

setzt die Methylgruppe an C7 daher – im Gegensatz zur Methylgruppe in **B3**, die Z-Position.

Aus der Analyse des Reaktionsverlaufs für **D1** und durch Vergleich mit dem entsprechendem Verlauf für **B1** ergibt sich, dass der Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 6-Cl,7-Me-cycloSal-MeMP zum einen durch sterische Effekte erschwert werden sollten. Nach Vergleichen des energetischen Verlaufs entlang der Reaktionskoordinate (Tabelle 5, S. 94) fällt auf, dass die Reaktion für 6-Cl,7-Me-cycloSal-MeMP über einen Übergangszustand **D2** verläuft, der wieder um 4.23 kcal/mol höher liegt als zuvor für 7-Me-cycloSal-MeMP (**B2**). Das Produkt **D3** erfährt dann eine Stabilisierung von 4.71 kcal/mol relativ zum Übergangszustand **D2**. Diese Stabilisierung ist deutlicher ausgeprägt als bei **B3** (1.54 kcal/mol). Dieser größere Energiegewinn repräsentiert die Verringerung der abstoßenden Wechselwirkungen zwischen der Methylgruppe (C8) und dem 6-Chlor-Atom im Verlauf der Benzyl-C-O-Bindungsspaltung.

Tabelle 9: Bindungslängen [pm], Bindungswinkel und Diederwinkel für **D1-D3**



	D1	D2	D3
C7-C8	152.7	147.7 (-5.0)	148.2 (+0.5)
C7-O9	146.0	268.1 (+122.1)	465.5 (+197.4)
P-O9	159.5	148.6 (-10.9)	147.8 (-0.8)
P-O10	163.8	188.8 (+25.0)	193.6 (+4.8)
C2-O10-P	+122.7°	+117.7° (+4.0°)	+130.6° (+3.9°)
C1-C2-O10-P	-35.1°	-46.9° (-11.8°)	-160.0° (-113.1°)
C2-C1-C7-O9	+38.7°	+60.1° (+21.4°)	+8.9° (-51.2°)
C2-C1-C7-H7	+151.0°	+171.7° (+20.7°)	+177.5° (+5.8°)
C2-C1-C7-C8	-85.8°	-19.7° (+66.1°)	-1.6° (+18.1°)

Auch für 6-Cl,7-Me-*cycloSal*-MeMP ergab die Berechnung der Partiaalladungen (Tabelle 10), dass es, wie bereits für den Prototypen 7-H- sowie für 7-Me-*cycloSal*-MeMP beschrieben, wieder zur Stabilisierung des Produkts bzw. des Übergangszustands durch Ladungsverschiebung kommt. Doch wird die Fähigkeit des Aryl-Systems zur Stabilisierung positiver Ladung am Benzyl-C-Atom (C7) durch den Akzeptor-Substituenten 6-Chlor verringert: Der Kohlenstoff C6 ist in **D1** bereits positiv polarisiert und die Partiaalladung nimmt im Übergangszustand **D2** sogar noch zu. Im Gegensatz dazu trägt C6 in **B1** und auch in **B2** eine negative Partiaalladung (vgl. Tabelle 8, S. 97). Dagegen ist die Stabilisierung durch Hyperkonjugation, die C7 durch die benachbarte Methylgruppe (C8) erfährt, in **D1-D3** etwa so groß in **B1-B3**.

Tabelle 10: Berechnete Partiaalladungen für **D1-D3**

	D1	D2	D3
C1	-0.146	-0.224 (-0.078)	-0.207 (+0.017)
C2	+0.345	+0.517 (+0.172)	+0.530 (+0.013)
C6	+0.008	+0.056 (+0.048)	+0.039 (-0.017)
C7	+0.148	+0.168 (+0.020)	+0.083 (-0.085)
O9	-0.829	-1.057 (-0.228)	-1.067 (-0.010)
P	+2.500	+2.428 (-0.072)	+2.426 (-0.002)
O10	-0.799	-0.714 (+0.085)	-0.678 (+0.036)
H7	+0.215	+0.206 (-0.009)	+0.206 (+0.0)
C8	-0.593	-0.645 (-0.052)	-0.642 (+0.003)

Zusammengenommen ergeben die Berechnungen zwei Einflüsse des 6-Chlor-Substituenten, die bewirken, dass für 6-Cl,7-Me-*cycloSal*-MeMP im Vergleich zu 7-Me-*cycloSal*-MeMP der heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsbruch gehemmt ist: Durch Verringern der Elektronendichte im Aromaten wird sein Beitrag zur Stabilisierung positiver Ladung am Benzyl-Kohlenstoff C7 generell herabgesetzt. Zusätzlich bewirkt der 6-Chlor-Substituent eine durch abstoßende Wechselwirkungen mit der 7-Methylgruppe, dass der Bindungsbruch zusätzlich erschwert wird. Insgesamt vergrößert sich dadurch die Aktivierungsbarriere für eine heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation im Vergleich zu 7-Me-*cycloSal*-MeMP.

Auch bei Anwesenheit eines Chlor-Substituenten in der Benzyl-ständigen Methylgruppe in 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39** gelang es, die Konkurrenzreaktion zum "fal-

schen Diester" vollständig zu verhindern. Nach Berechnungen für das Modellsystem 7-MM-*cycloSal*-MeMP wurden die Strukturen **E1-E3** (Abb. 89) erhalten. Der Heterozyklus in **E1** liegt, wie schon **A1** und **B1**, als Halbsessel vor mit der Chlormethyl-Gruppe (C8) am Benzyl-C-Atom in äquatorialer und H7 in axialer Position. Das Produkt **E3** besitzt erneut *ortho*-chinoide Struktur. Der Abstand zwischen C7 und dem Benzyl-Sauerstoff O9 ist in **E2** wieder deutlich verlängert (C7-O9: 297.0 pm; +152.3 pm, vgl. Tabelle 11, S. 102). Auch **E2** ist ein später Übergangszustand.

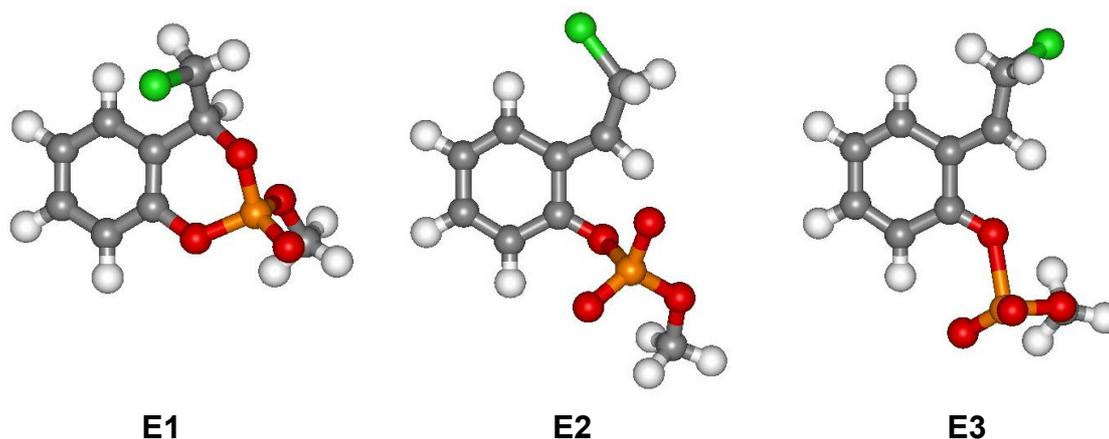
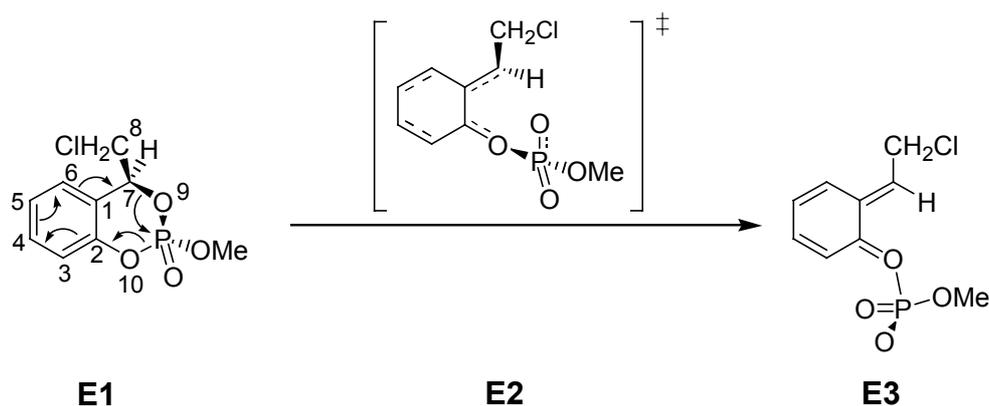


Abb. 89: Edukt **E1**, Übergangszustand **E2** und Produkt **E3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 7-MM-*cycloSal*-MeMP

Die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate kann wieder durch den Abstand C7-O8 und die Veränderungen der Diederwinkel C1-C2-O10-P sowie C2-C1-C7-C8 ausgedrückt werden (vgl. Tabelle 11, S. 102). Wie schon für die Reaktionen von **A1** und **B1** beschrieben dreht sich auch bei entsprechender Reaktion von **E1** die Phosphatgruppe wieder nach vorn aus der Zeichenebene heraus, und synchron dreht sich die Methylengruppe (C7) in die Zeichenebene hinein. Im *ortho*-chinoiden Produkt **E3** besetzt die Methylgruppe an C7 wie auch in **B3** die *E*-Position.

Die Aktivierungsbarriere für die heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation in 7-MM-*cycloSal*-MeMP **E1** wurde zu 36.43 kcal/mol berechnet (Tabelle 5, S. 94). Zwar liegt diese unter der für den Prototypen **A1** bestimmten Energiebarriere (-1.12 kcal/mol), doch andererseits immer noch deutlich über der für **B1** ermittelten Barriere (+3.27 kcal/mol). Berechnung der Partialladungen in **E1-E3** (Tabelle 12, S. 102) ergab, dass das Produkt **E3** und der Übergangszustand **E2** wieder durch Ladungsverschiebung stabilisiert werden. Im Gegensatz zur 7-Methylgruppe in **B1-B3** ist die 7-Monochlormethyl-Gruppe in **E1-E3** jedoch deutlich weniger ausgeprägt dazu in der Lage, die Ladung an C7 durch Hyperkonjugation zu stabilisieren.

Tabelle 11: Bindungslängen [pm], Bindungswinkel und Diederwinkel für **E1-E3**


	E1	E2	E3
C7-C8	152.1	147.6 (-4.5)	148.4 (+0.8)
C7-O9	144.7	297.0 (+152.3)	477.8 (+180.8)
P-O9	159.5	148.7 (-10.8)	147.1 (-1.6)
P-O10	162.6	188.4 (+25.8)	196.1 (+7.7)
C2-O10-P	+121.6	+122.3 (+0.7)	+119.7 (+6.4)
C1-C2-O10-P	-11.3	+94.1 (+105.4)	+162.0 (+67.9)
C2-C1-C7-O9	-17.5°	-31.5° (-14.0°)	-22.3° (+9.2°)
C2-C1-C7-H7	+100.8°	+3.2° (-97.6°)	+2.2° (-1.0°)
C2-C1-C7-C8	-139.3°	-170.4° (-31.1°)	-177.6° (-7.2°)

 Tabelle 12: Berechnete Partialladungen für **E1-E3**

	E1	E2	E3
C1	-0.118	-0.187 (-0.060)	-0.148 (+0.039)
C2	+0.331	+0.531 (+0.200)	+0.541 (+0.010)
C6	-0.178	-0.122 (+0.056)	-0.151 (-0.029)
C7	+0.122	+0.060 (-0.062)	-0.002 (-0.062)
O9	-0.831	-1.064 (-0.233)	-1.024 (+0.040)
P	+2.517	+2.425 (-0.092)	+2.417 (-0.008)
O10	-0.796	-0.741 (+0.055)	-0.661 (+0.080)
H7	+0.209	+0.269 (+0.060)	+0.236 (-0.033)
C8	-0.341	-0.395 (-0.054)	-0.364 (+0.031)

Den Berechnungen zufolge ist dies eine mögliche Ursache für das Unterbleiben der Konkurrenzreaktion von **39** zum "falschen Diester".

Wie aus Tabelle 5 (S. 94) hervorgeht, sind die Aktivierungsbarrieren für einen heterolytischen C-O-Bindungsbruch in 7-TM- und 7-DM-*cycloSal*-MeMP sogar noch deutlich höher (+49.28 kcal/mol und 38.19 kcal/mol). Die im Vergleich zu 7-MM-*cycloSal*-MeMP (+36.43 kcal/mol) höheren Barrieren bringen die abnehmende Fähigkeit der Dichlor- bzw. Trichlormethyl-Gruppe zum Ausdruck, eine positive Ladung am Benzyl-C-Atom (C7) durch Hyperkonjugation zu stabilisieren. Diese Ergebnisse stehen ebenfalls in guter Übereinstimmung zu den Hydrolyse-Ergebnissen für **37-39** (vgl. Kap. 4.4.4).

4.5.2 Ergebnisse für 7-Me- , 7-ECM- und 7-MSM-*cycloSal*-MeMP

In ersten Studien sollte der Einfluß der Benzyl-Substituenten 7-Me, 7-MSM und 7-ECM auf den heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsbruch untersucht werden. Hierzu wurden zunächst wieder Geometrie-optimierte Strukturen für Edukte, Produkte und Übergangszustände der Modellverbindungen 7-H- , 7-Me- , 7-ECM- und 7-MSM-*cycloSal*-MeMP für diese Reaktion unter Verwendung des Funktionals B3LYP^[77,78] und des Basissatzes 6-31G(d)^[82-84] berechnet (zur Durchführung vgl. *Experimentaltteil*, Kap. 7.8). Für alle erhaltenen Strukturen wurden außerdem die entsprechenden Schwingungsspektren berechnet, um insbesondere für die Übergangszustände genau eine imaginäre Eigenschwingung zu verifizieren, die der Bewegung entlang der Reaktionskoordinate entspricht.

Für den allgemeinen Reaktionsverlauf wurden entsprechend den in Kapitel 4.5.1 beschriebenen Ergebnissen die folgenden Daten ermittelt: Die Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation ging wieder einher mit einer Ladungsumverteilung, wobei die Produkte wie auch die späten Übergangszustände wieder Strukturen mit *ortho*-chinoidem Charakter aufwiesen. Tabelle 13 (S. 104) gibt zunächst den energetischen Verlauf der betrachteten Modellreaktionen wieder.

Die Aktivierungsbarriere für den heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsbruch des Prototyps 7-H-*cycloSal*-MeMP **A1** wurde mit dem Basissatz 6-31G(d) zu 39.94 kcal/mol berechnet, das Produkt **A3** erfährt relativ zum Übergangszustand **A2** eine Stabilisierung von 2.53 kcal/mol. Für die Stabilisierung maßgeblich verantwortlich ist wieder das aromatische System, in dem gemäß der berechneten Partialla-

dungen die Ladungsdichte im Verlauf der Reaktion unter Ausbildung eines *ortho*-chinoiden Systems deutlich abnimmt.

Tabelle 13: Relativer Energieverlauf für den heterolytischen Benzyl-C-O-Bruch

	Edukt	TS	Produkt
<i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+39.94 kcal/mol	+37.41 kcal/mol
7-Me- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+35.56 kcal/mol	+34.27 kcal/mol
7-ECM- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+37.76 kcal/mol	+35.52 kcal/mol
7-MSM- <i>cycloSal</i> -MeMP	0 kcal/mol	+36.94 kcal/mol	+35.33 kcal/mol

Einen deutlich günstigeren energetischen Verlauf nimmt wieder die Modellreaktion für das Substrat 7-Me-*cycloSal*-MeMP **B1** (vgl. Tabelle 13). Sie verläuft über einen Übergangszustand **B2**, der um 4.38 kcal/mol niedriger liegt als bei entsprechender Reaktion des Prototyps. Das Produkt **B3** erfährt dann eine Stabilisierung von 1.29 kcal/mol relativ zum Übergangszustand. Wie schon in Kapitel 4.5.1 beschrieben, ergab auch hier ein Vergleich der Geometrien der jeweiligen Strukturen keine signifikanten Unterschiede, die diesen günstigeren energetischen Reaktionsverlauf erklären. Eine Analyse der Partialladungen deutete allerdings wieder auf eine zusätzliche Ladungsstabilisierung am Benzyl-C-Atom durch Hyperkonjugation mit der 7-Methylgruppe hin.

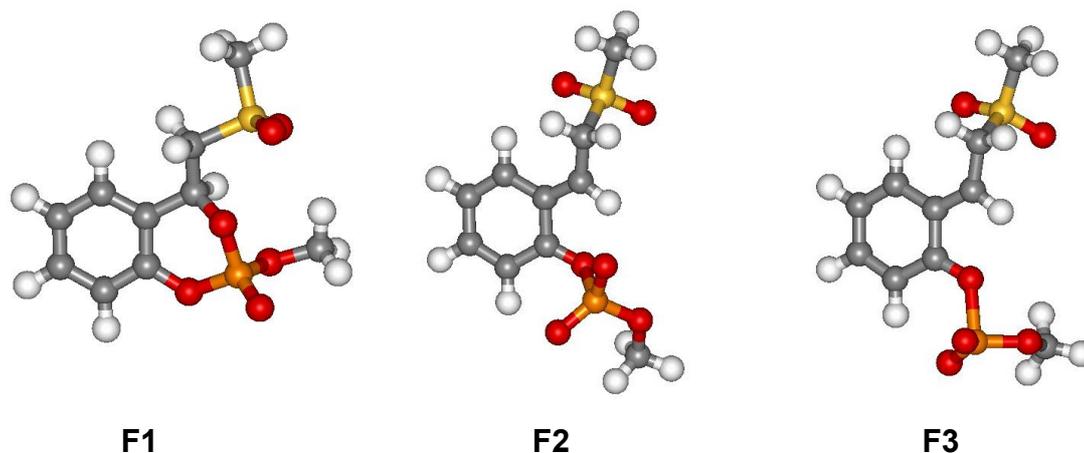


Abb. 90: Edukt **F1**, Übergangszustand **F2** und Produkt **F3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 7-MSM-*cycloSal*-MeMP

Abbildung 90 (S. 104) zeigt die repräsentativen Strukturen, die für einen Benzyl-C-O-Bruch in 7-MSM-*cycloSal*-MeMP erhalten wurden. Dieser verläuft über den späten Übergangszustand **F2** (+36.94 kcal/mol), der relativ zu der für das 7-Me-Derivat ermittelten Energiebarriere um 1.38 kcal/mol angehoben liegt. Die einzelnen Strukturen **F1-F3** unterscheiden sich jedoch nicht signifikant von den entsprechenden Strukturen für 7-Me-*cycloSal*-MeMP, um als Erklärung für die vergrößerte Aktivierungsenergie in Frage zu kommen. Auch bei Vergleich der Partiaalladungen an repräsentativen Atomen ergeben sich keine deutlichen Unterschiede (Tabelle 14). Die Partiaalladungen am Kohlenstoff-Atom C8 in **F1-F3** bzw. **B1-B3** lassen den Schluss zu, dass die Benzyl-Substituenten 7-MSM und 7-Me ähnlich gut dazu in der Lage sein sollten, eine sich im Verlauf der Reaktion am Benzyl-C-Atom entwickelnde positive Ladung durch Hyperkonjugation zu stabilisieren.

Tabelle 14: Berechnete Partiaalladungen für **F1-F3** im Vergleich mit **B1-B3**

	F1	F2	F3
C1	-0.117	-0.155 (-0.029)	-0.140 (+0.015)
C2	+0.332	+0.521 (+0.189)	+0.532 (+0.011)
C6	-0.217	-0.168 (+0.049)	-0.178 (-0.010)
C7	+0.063	+0.000 (-0.063)	-0.047 (-0.047)
C8	-0.705	-0.738 (-0.033)	-0.733 (+0.005)
	B1	B2	B3
C1	-0.132	-0.189 (-0.057)	-0.175 (+0.014)
C2	+0.323	+0.511 (+0.188)	+0.526 (+0.015)
C6	-0.212	-0.159 (+0.053)	-0.172 (-0.013)
C7	+0.086	+0.061 (-0.025)	+0.011 (-0.050)
C8	-0.692	-0.736 (-0.044)	-0.729 (+0.007)

So konnten auch in Hydrolyseexperimenten mit den entsprechenden *cycloSal*-d4TMPs **34a** bzw. **35a** für beide Verbindungen ähnliche Hydrolyseeigenschaften beobachtet werden (vgl. Kap. 4.4): Die Halbwertszeiten waren praktisch gleich, allerdings war der Anteil an "falschem Diester" für **34a** mit 56.8 % niedriger als für **35a** (82.7 %). Ein Indiz dafür stellt die berechnete höhere Aktivierungsenergie für 7-MSM- im Vergleich zu 7-Me-*cycloSal*-MeMP dar.

Abbildung 91 gibt die für 7-ECM-*cycloSal*-MeMP berechneten Strukturen **G1-G3** wieder. Auch hier liegt der Heterozyklus in der Edukt-Struktur **G1** wieder als Halbsessel vor. Der Benzyl-C-O-Bruch verläuft wieder über einen späten, Produkt-ähnlichen Übergangszustand **G2**, der wie auch das Produkt **G3**, zur Stabilisierung der Ladungstrennung eine Struktur mit *ortho*-chinoidem Charakter aufweist.

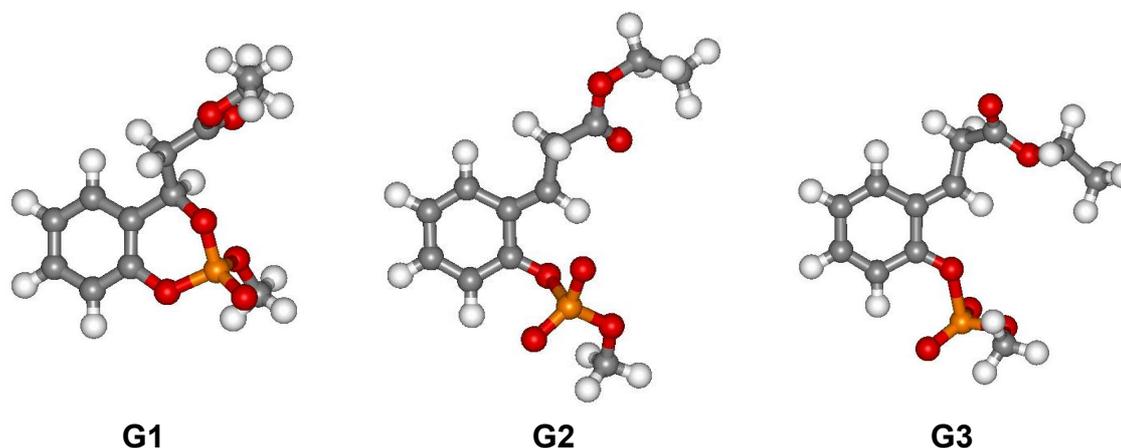


Abb. 91: Edukt **G1**, Übergangszustand **G2** und Produkt **G3** für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch in 7-ECM-*cycloSal*-MeMP

Vergleicht man die Aktivierungsenergien für den Bindungsbruch (Tabelle 13, S. 104), so liegt diese für 7-ECM-*cycloSal*-MeMP (+37.76 kcal/mol) 2.20 kcal/mol höher als für 7-Me- und 0.82 kcal/mol höher als für 7-MSM-*cycloSal*-MeMP. Hingegen liegt dieser Wert immer noch 2.18 kcal/mol unter der Aktivierungsenergie für 7-H-*cycloSal*-MeMP, die als obere Grenze definiert wurde. Ein Vergleich der entsprechenden Strukturen lieferte erneut keine deutlichen Unterschiede zwischen den Strukturen für 7-H-, 7-Me-, 7-MSM- und 7-ECM-*cycloSal*-MeMP, um als Erklärung für diese Energieunterschiede zu dienen.

Die Berechnung der Partialladungen der Atome in den relevanten Strukturen und Vergleichen mit den entsprechenden Werten für 7-MSM-*cycloSal*-MeMP (Tabelle 15, S. 107) ergab als einzigen signifikanten Unterschied die Partialladung am dem Benzyl-Kohlenstoff benachbarten C-Atom (C8). Der geringer negative Wert in **G1-G3** lässt den Schluss zu, dass der 7-ECM-Substituent in **G1-G3** deutlich weniger dazu in der Lage ist, die sich am Benzyl-Kohlenstoffatom (C7) im Verlaufe der Bindungsdissoziation aufbauende Ladung durch Hyperkonjugation zu stabilisieren als etwa der 7-Methyl- oder der 7-MSM-Substituent.

Tabelle 15: Berechnete Partialladungen für **G1-G3** im Vergleich mit **F1-F3**

	G1	G2	G3
C1	-0.130	-0.181 (-0.051)	-0.169 (+0.012)
C2	+0.319	+0.515 (+0.196)	+0.525 (+0.010)
C6	-0.212	-0.162 (+0.050)	-0.172 (-0.010)
C7	+0.090	+0.066 (-0.024)	+0.002 (-0.064)
C8	-0.562	-0.611 (-0.049)	-0.597 (+0.014)
	F1	F2	F3
C1	-0.117	-0.155 (-0.029)	-0.140 (+0.015)
C2	+0.332	+0.521 (+0.189)	+0.532 (+0.011)
C6	-0.217	-0.168 (+0.049)	-0.178 (-0.010)
C7	+0.063	+0.000 (-0.063)	-0.047 (-0.047)
C8	-0.705	-0.738 (-0.033)	-0.733 (+0.005)

Auch dieses Ergebnis der höheren Aktivierungsenergie für den Benzyl-C-O-Bindungsbruch für 7-ECM-cycloSal-MeMP steht in guter Übereinstimmung mit dem geringeren Anteil an Konkurrenzprodukt bei der Hydrolyse von 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a** (9.9 %), verglichen mit 7-MSM-cycloSal-d4TMP **34a** (56.8 %, vgl. Kap. 4.4.4.1). Bei den in diesem Unterkapitel vorgestellten Ergebnissen zeichnet sich zum einen der Trend ab, dass die in den Hydrolyseexperimenten bestimmten Anteile an Konkurrenzprodukt (vgl. Kap. 4.4.4.1) in erster Näherung mit den berechneten Aktivierungsbarrieren korreliert werden können. Außerdem stellen die für die Edukt-Strukturen am dem Benzyl-C-Atom (C7) benachbarten Kohlenstoff (C8) berechneten Partialladungen ein angenähertes Maß dafür dar, in welchem Umfang der Benzyl-Substituent dazu in der Lage ist, eine an C7 auftretende positive Ladung zu stabilisieren.

4.6 Hydrolysestudien mit dem 7,7'-bis-ECM-substituierten *cycloPhthal*-d4TMP **115**

Basierend auf den Ergebnissen aus Hydrolyseexperimenten mit Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs (Bildung der "falschen Diester", eingeleitet durch eine heterolytische Benzyl-C-O-Fragmentierung) gründete die Überlegung, das bis-Benzyl-substituierte *cycloPhthal*-Derivat **115** darzustellen. In Hydrolysestudien sollte dann überprüft werden, ob es gelingt, die Freisetzung von d4TMP durch zwei konsekutive Benzyl-C-O-Bindungsbrüche zu realisieren.

Zunächst wurde die Hydrolysehalbwertszeit dieser Verbindung **115** bei 37°C in isotonomischer Phosphat-Pufferlösung (12.5 mM, pH = 7.3) bestimmt (vgl. Kap. 4.4.1): Dabei wurde der Phosphatriester **115** mit einer Halbwertszeit von $t_{1/2} = 15.4$ h (± 0.1 h) umgesetzt. Abbildung 92 zeigt das am Ende der Hydrolyse aufgenommene Chromatogramm. Das gewünschte Hydrolyseprodukt d4TMP konnte nicht nachgewiesen werden. Es wurden lediglich Signale aufgenommen, die aufgrund ihrer Retentionszeiten sowie der für sie aufgenommenen UV-Spektren (vgl. Abb. 92, rechts) dem Benzylphosphatdiester **120'** (bzw. **120**) zugeordnet wurden. So fiel nach Vergleich des UV-Spektrums mit einem Referenz-Spektrum für d4TMP erneut auf, dass das Absorptionssignal für das Produkt sich deutlich in den Bereich größer 300 nm ausdehnt, was darauf schließen lässt, dass neben Thymin noch eine weitere absorbierende Gruppe im Molekül vorhanden sein muss. Nach Vergleich mit dem UV-Spektrum des bei der Hydrolyse von **33a** entstandenen "falschen Diesters" **83'a** wurde deshalb auf **120'** als potentielles Produkt geschlossen.

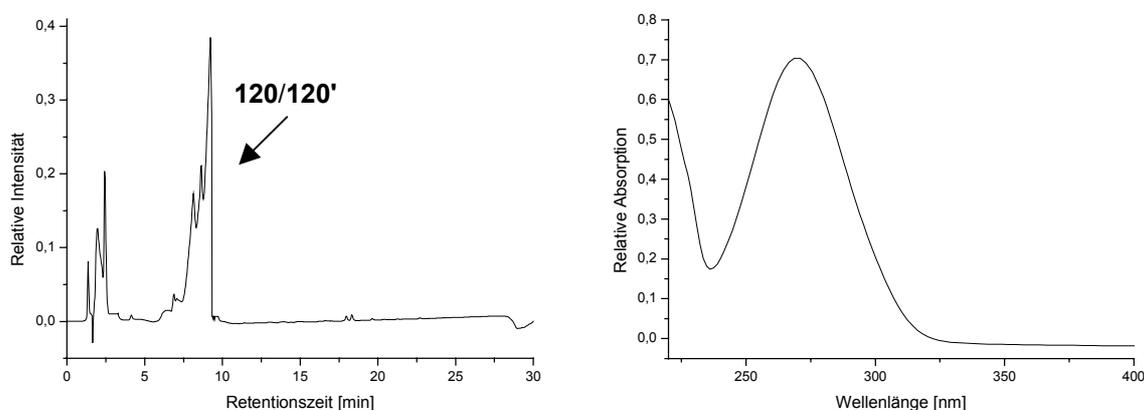


Abb. 92: HPLC-Chromatogramm am Ende der Hydrolyse von **115** und potentielles UV-Spektrum von **120'**

Weiterhin wurde das Hydrolysat von **115** gemäß der in Kapitel 4.4.3 beschriebenen Vorgehensweise massenspektrometrisch analysiert. Dabei konnten als einzige Hydrolyseprodukte die Benzylphosphatdiester **120** und **120'** als typische S_N1 - vs. $E1$ -Konkurrenzprodukte nachgewiesen werden. Offensichtlich findet die ursprünglich vermutete zweite heterolytische Benzyl-C-O-Bindungsdissoziation, die zur Freisetzung von d4TMP führen müsste, nicht mehr statt. Bei der massenspektrometrischen Analyse konnte kein d4TMP nachgewiesen werden.

Abbildung 93 fasst dieses Ergebnis als Hydrolyseschema noch einmal zusammen. Die durch Massenspektrometrie nachgewiesenen Produkte **120** und **120'** können als Konkurrenzprodukte von zweistufigen Reaktionen angesehen werden: Sowohl die Eliminierung nach einem $E1$ -Mechanismus als auch die Substitution nach S_N1 erfordern als ersten Schritt den heterolytischen Bruch der Benzyl-C-O-Bindung. Das danach entstandene Zwitterion **119** kann dann entweder durch Eliminierung eines C-H-acidifizierten Protons zu **120'** oder durch nucleophilen Angriff zu **120** weiterreagieren. An dieser Stelle muss darauf hingewiesen werden, dass sowohl **120** als auch **120'** als Gemische aus je vier Diastereomeren auftreten sollten. So sind im Edukt **115** beide Benzyl-C-Atome stereogene Zentren. Von der stattfindenden Reaktion ist dabei nur eines dieser beiden Zentren betroffen.

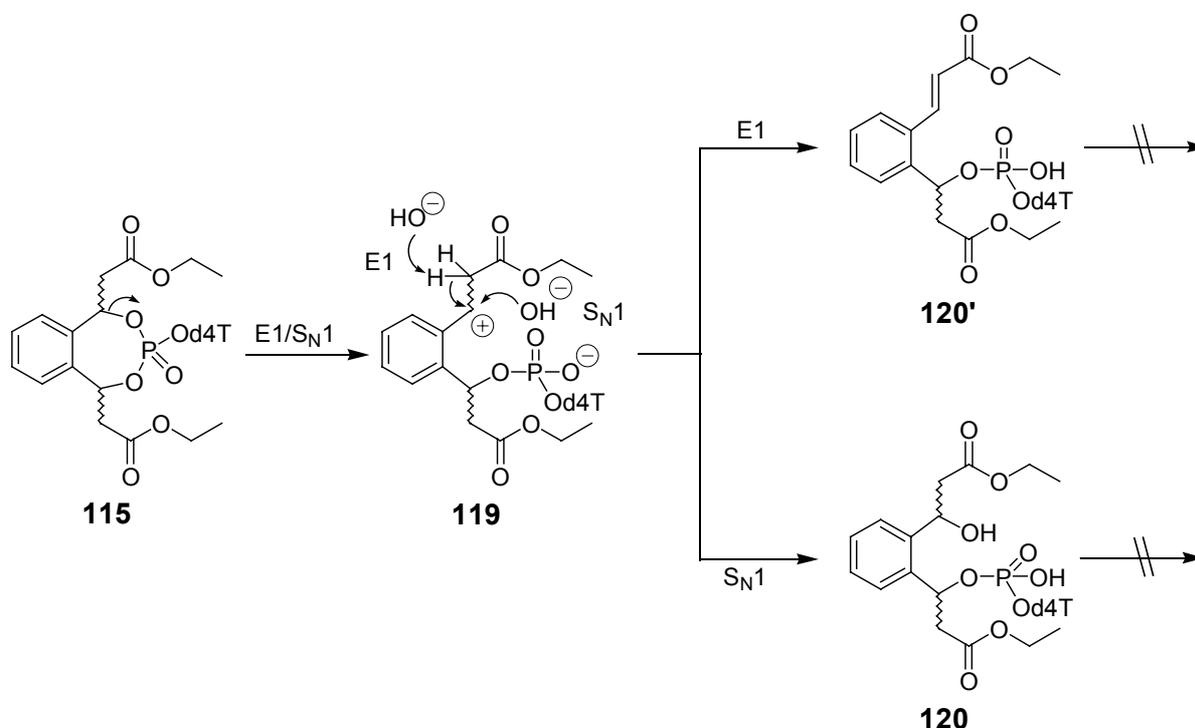


Abb. 93 Mechanismus der Hydrolyse von 7,7'-bis-ECM-cycloPhthal-d4TMP **115**

In der S_N1 -Reaktion sollten beide Benzylalkohole **120** ohne stereochemische Bevorzugung gebildet werden. Die Eliminierungsreaktion nach dem E1-Mechanismus sollte **120'** bevorzugt als *E*-konfiguriertes Diastereomer liefern. Unter Berücksichtigung des von der Reaktion unbetroffenen Stereozentrums am zweiten Benzyl-Kohlenstoff können daher die Produkte **120** und **120'** als Gemisch aus insgesamt sechs Diastereomeren entstehen. Wie aus den durchgeführten Experimenten hervorgeht, findet eine zweite Benzyl-C-O-Spaltung zur Freisetzung von d4TMP weder in **120** noch in **120'** statt. Hierbei muss man berücksichtigen, dass die Phosphatgruppe in **115** eine deutlich bessere Austrittsgruppe darstellt als die Phosphatgruppe in **120** bzw. **120'**, die unter den schwach basischen Reaktionsbedingungen zudem bevorzugt deprotoniert vorliegt. Eine zweite nucleophile Substitution am Phosphat-Zentrum zur Freisetzung von d4TMP konnte aus diesem Grunde nicht mehr beobachtet werden.

Aufgrund dieser ersten Ergebnisse mit bis-Benzyl-funktionalisierten *cyclo*Phthal-Produgs wurde dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

4.7 Hydrolysestudien mit den Benzyl-substituierten *cyclo*Sal-BVDUMPs **116**

Vor dem Hintergrund des erfolgreichen Unterbindens des Benzyl-C-O-Bindungsbruchs zum "falschen Diester" bei der Hydrolyse der Benzyl-funktionalisierten *cyclo*Sal-d4TMPs **33a-36a** durch Einführen des zusätzlichen Aryl-Substituenten 6-Chlor sollten die Benzyl-substituierten Salicylalkohole **33d** und **35d-36d** sowie 6-Cl,7-H-Salicylalkohol **16d** auch im Rahmen eines Prodrug-Konzepts für BVDUMP eingesetzt werden.

Für die 6-Cl,7-substituierten *cyclo*Sal-BVDUMPs **116a-d** wurden als erstes die Hydrolysehalbwertszeiten in wässrigem Phosphatpuffer (12.5 mM, 37 °C, pH 7.3; Durchführung entspricht Kap. 4.4.1) bestimmt. Der sich dabei allgemein abzeichnende Trend – nimmt man als Referenz die Halbwertszeiten für die entsprechenden d4TMP-Produgs **16a**, **33a**, und **35a-36a**, vgl. Kap. 4.4.1, Tab. 3, S. 55) – ist eine Verkürzung der Halbwertsdauer um den Faktor 1.5 für **116d** bzw. um den Faktor 3 für die Benzyl-funktionalisierten Derivate **116a-c** (Tab. 16, S. 111).

Tabelle 16: Hydrolysehalbwertszeiten der *cycloSal*-BVDUMPs **116a-d**

	- <i>cycloSal</i> -d4TMP $t_{1/2}$ [h]	- <i>cycloSal</i> -BVDUMP $t_{1/2}$ [h]
6-Cl,7-ECM	1.46 ± 0.03 (33d)	0.58 ± 0.11 (116a)
6-Cl,7-Me	3.61 ± 0.11 (35d)	1.23 ± 0.16 (116b)
6-Cl,7-Bu	3.33 ± 0.10 (36d)	1.15 ± 0.12 (116c)
6-Cl,7-H	1.92 ± 0.02 (16d)	1.25 ± 0.06 (116d)

In Abbildung 94 ist die Gegenüberstellung der Hydrolysehalbwertszeiten der genannten BVDUMP-Prodrugs **116a-d** mit den entsprechenden d4TMP-Prodrugs noch einmal graphisch wiedergegeben.

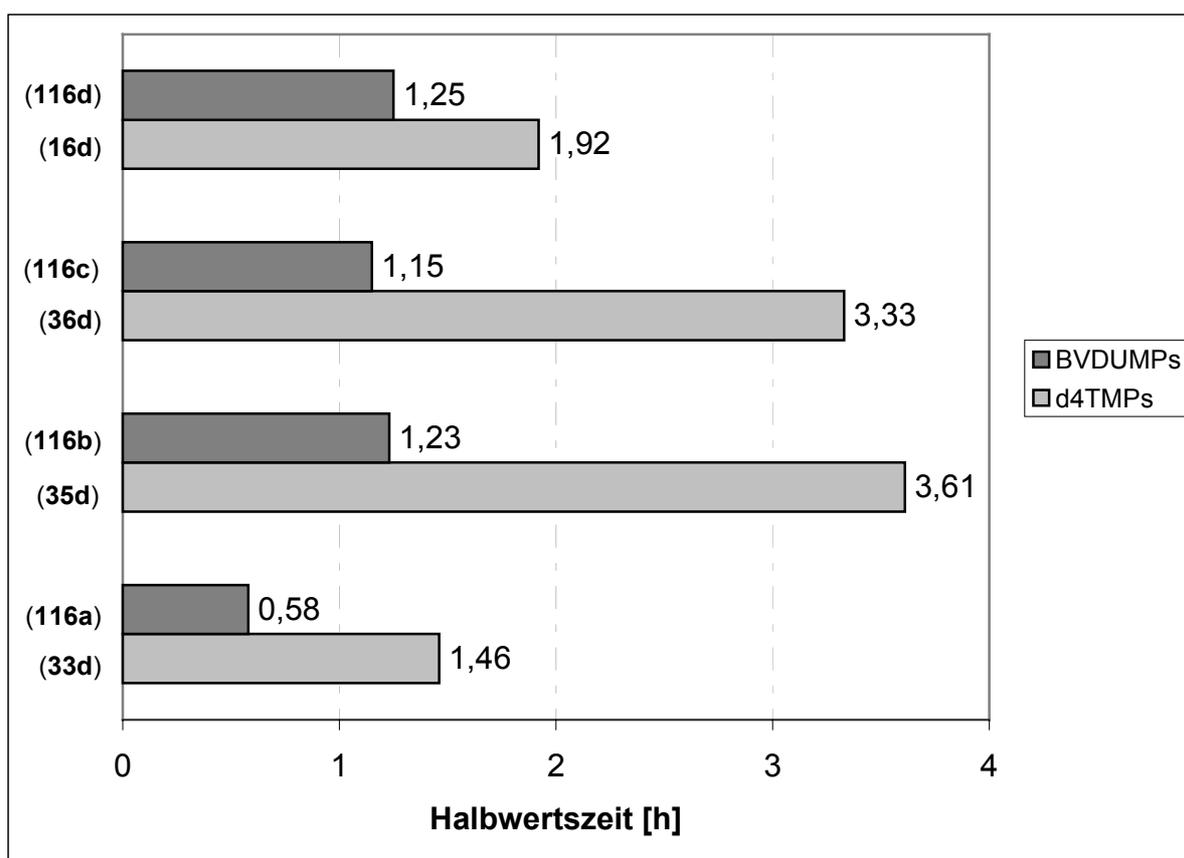


Abb. 94: Graphische Darstellung der Hydrolysehalbwertszeiten von **116a-d** im Vergleich zu den *cycloSal*-d4TMPs **33d**, **35d-36d** und **16d**

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus den NMR-Hydrolyseexperimenten (s.u.), die besagen, dass auch die BVDUMP-Prodrugs **116a-d** weitestgehend bzw. aus-

schließlich BVDUMP bereitstellen, sind die dargestellten Halbwertszeiten „echte“ Halbwertszeiten für die Freisetzung von BVDUMP (vgl. Abb. 95: zeitlicher Verlauf der Hydrolyse von 6-Cl,7-Me-cycloSal-BVDUMP **116b**).

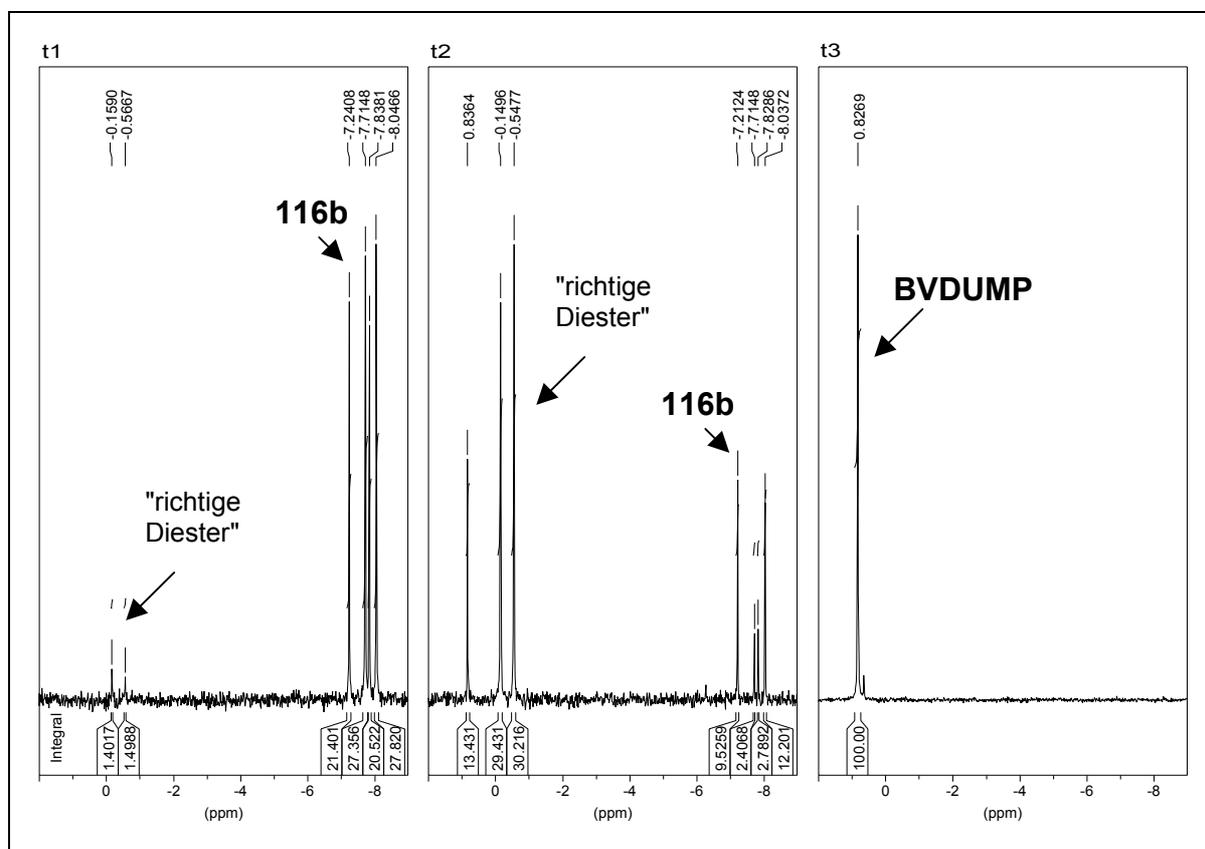


Abb. 95: ³¹P-NMR-spektroskopische Verfolgung der Hydrolyse von **116b**

Die für **116a-d** gemessene Beschleunigung der Hydrolyse (verglichen mit den entsprechenden *cycloSal*-d4TMPs **33d**, **35d-36d** und **16d**) bezieht sich somit ausschließlich auf den ersten selektiven Schritt, die Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung (vgl. Abb. 96).

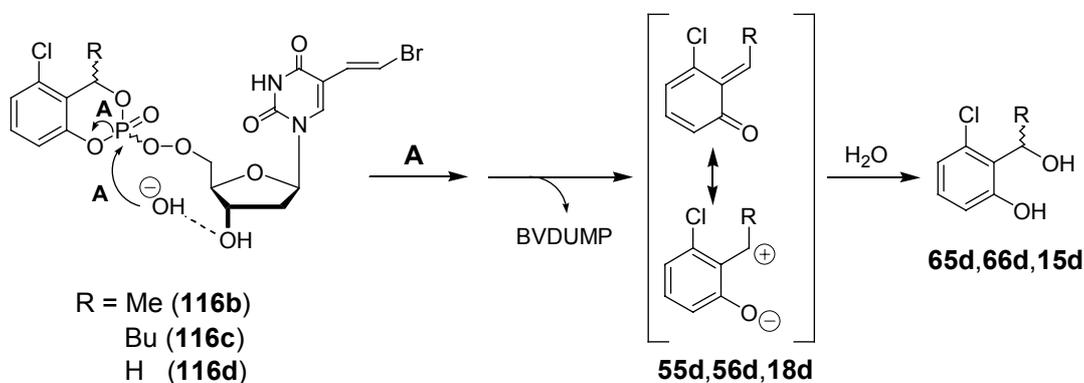


Abb. 96: Mechanismus der Hydrolyse der BVDUMPs **116b-d**

Es wird ein assistierender Effekt der 3'-Hydroxy-Gruppe des BVDU **13** angenommen, die das für den initiierenden nucleophilen Angriff auf das Phosphor-Atom nötige Hydroxid-Anion gewissermaßen an die Phosphatgruppe „heranführt“ (in Abb. 95 durch die gestrichelte Linie angedeutet)^[109,110].

Aus dem in Abbildung 95 (S. 112) dargestellten zeitlichen Verlauf der Hydrolyse von **116b** geht neben der selektiven Freisetzung von BVDUMP hervor, dass zwei der vier Diastereomere von **116b** deutlich schneller gespalten werden (t1 bzw. t2). Für den intermediären Benzylphosphatdiester, der, wie schon bei entsprechenden Studien mit 6-Cl,7-Me-*cycloSal*-d4TMP **35d** beobachtet, nur langsam zu BVDUMP weiterreagiert (t1 bzw. t2), sind wieder zwei Signale zu beobachten (zwei Diastereomere). Diese setzen dann anschließend selektiv BVDUMP frei (t3).

Bei entsprechenden Studien mit 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-BVDUMP **116a** wurde, wie schon für 6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33d** (vgl. Kap. 4.4.4.5), auch wieder "falscher Diester" nachgewiesen (2.4 %). Für seine Entstehung wird, entsprechend den bereits für **33d** diskutierten Überlegungen (Kap. 4.4.4.5), ebenfalls ein Mechanismus angenommen, der im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt eine Benzyl-C-O-Spaltung nicht erfordert (E2 bzw. E1_{cB}, vgl. Abb. 85, S. 89).

4.8 Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Hydrolysestudien und mechanistische Interpretation

Der Hydrolysemechanismus des Prototyps 7-H-*cycloSal*-d4TMP **16a** unter physiologischen Bedingungen (pH 7.3, 37 °C) ist bereits etabliert und verläuft selektiv über die Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung nach nucleophilem Angriff auf das Phosphor-Atom im ersten Schritt^[53]. Während es sich beim Benzylphosphatester in **16a** um den Ester eines primären Benzylalkohols handelt, stellen die Benzylphosphatester in allen Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-Prodrugs Ester sekundärer Benzylalkohole dar. Dies ist der entscheidende Unterschied, der für das vom Verhalten des Prototyps **16a** abweichende Hydrolyseverhalten der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs verantwortlich ist, denn auch in der Literatur^[101] wird die basische Hydrolyse sekundärer und tertiärer Alkylphosphatdiester nach einem S_N1-Mechanismus am Kohlenstoff beschrieben, mit einer heterolytischen C-O-Fragmen-

tierung zu einem Ionenpaar als erstem, geschwindigkeitsbestimmenden Schritt. Demgegenüber wird bei primären Substraten eine nucleophile Substitution am Phosphat-Zentrum (S_NP) angenommen^[101].

Im folgenden sollen nun die für die Hydrolyse Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-NMPs gewonnenen Erkenntnisse noch einmal zusammenhängend diskutiert werden. Zunächst wird dabei auf die unterschiedlichen Substituenteneinflüsse auf die Konkurrenzreaktion, die zu den "falschen Diestern" führt, eingegangen:

- 1) Benzyl-Substituenten, die eine positive Ladung am Benzyl-Kohlenstoffatom durch Hyperkonjugation stabilisieren können, begünstigen eine heterolytische Benzyl-C-O-Fragmentierung. Dies spiegelt sich in einer verringerten Aktivierungsenergie für die Fragmentierung wieder (vgl. DFT-Studien in Kap. 4.5) sowie in der Größe des Anteils der Konkurrenzprodukte an den Hydrolyseprodukten (vgl. Kap. 4.4). Demnach können die Benzyl-Substituenten nach abnehmender Fähigkeit zur Stabilisierung wie folgt angeordnet werden: 7-Me \approx 7-Bu > 7-MSM > 7-ECM \approx 7-CM. Substituenten, die nicht mehr dazu in der Lage sind, eine positive Ladung am Benzyl-C-Atom durch Hyperkonjugation effizient zu stabilisieren, sind die Chlormethylgruppen 7-MM, 7-DM und 7-TM.
- 2) Auch der Aryl-Ring liefert einen elektronischen Beitrag zur Stabilisierung einer sich entwickelnden positiven Ladung am Benzyl-C-Atom. Dieser Beitrag alleine reicht jedoch nicht aus, so dass der nicht Benzyl-funktionalisierte Prototyp 7-H-*cycloSal*-d4TMP **16a** bei der basischen Hydrolyse keinen "falschen Diester" liefert (vgl. Kap. 4.5).
- 3) Der unterstützende Beitrag des Aryl-Systems zur Stabilisierung der positiven Ladung am Benzyl-Kohlenstoff dokumentiert sich im Besonderen in dem Anteil an Konkurrenzprodukt bei der Hydrolyse von den 3-Me-Derivaten **33b** und **34b**. Der 3-Methyl-Substituent am Aromaten erhöht dessen Elektronendichte und damit auch seine Fähigkeit, eine positive Ladung am Benzyl-C-Atom zu stabilisieren. Der Anteil der Konkurrenzprodukte nimmt deshalb bei der Hydrolyse von **33b** bzw. **34b** zu, verglichen mit den nicht weiter Aryl-substituierten **33a** bzw. **34a**. Umgekehrt führt eine Verringerung der Elektronendichte im Aromaten durch den 5-Chlor- bzw. 6-Chlor-Substituenten auch zu einem geringeren Anteil an Konkurrenzprodukt (vgl. Kap. 4.4.4).

- 4) Einen zusätzlichen Beleg für einen elektronischen Einfluß des Aryl-Systems auf die Spaltung der Benzyl-C-O-Bindung liefern auch die Beobachtungen, die bei der ^{31}P -NMR-Hydrolyseverfolgung gemacht wurden: Der Benzyl-C-O-Bruch, der zur Spaltung der "richtigen Diester" zu d4TMP führt, wird ebenfalls bei gleichzeitiger Anwesenheit von 5-Chlor- bzw. 6-Chlor-Substituenten am Aryl-Ring erschwert, dagegen durch den 3-Methyl-Substituenten begünstigt (vgl. Kap. 4.4.4.2 und Kap. 4.4.4.5).
- 5) Chloralkyl-Gruppen (7-Monochlor-, 7-Dichlor- und 7-Trichlormethyl) sind nicht dazu in der Lage, eine positive Ladung am Benzyl-Kohlenstoff zu stabilisieren (vgl. Kap. 4.5). Der bei den Hydrolysen von 7-DM- bzw. 7-TM-cycloSal-d4TMP **37** bzw. **38** gemessene Anteil an "falschem Diester" (vgl. Kap. 4.4.4.4) ist daher allem Anschein nach auf vergrößerte Ringspannungseffekte zurückzuführen, die durch die voluminösen Dichlor- bzw. Trichlormethyl-Gruppen ausgelöst werden.
- 6) Die nach der Benzyl-C-O-Fragmentierung entstehenden Ionenpaare stellen endotherme Zwischenprodukte dar (vgl. Kap. 4.5). Deshalb erscheint es sinnvoll, ihre Bildung aus den jeweiligen Substraten als Gleichgewichtsreaktion zu formulieren. Im Folgeschritt werden diese dann durch Wasser aus dem Reaktionsmedium zu den entsprechenden Alkoholen abgefangen. In den Fällen, in denen zusätzlich noch C-H-acidifizierende Gruppen (7-ECM, 7-MSM, 7-CM) in der Benzyl-Seitenkette anwesend sind, kann alternativ auch ein acidifiziertes Proton eliminiert werden.

Vor diesem Hintergrund kann für die Bildung der "falschen Diester" **85a** und **86a** bei der Hydrolyse der in Benzyl-Position alkylierten Verbindungen **35a** und **36a** der in Abbildung 97 (S. 116) gezeigte Mechanismus formuliert werden. Im ersten Schritt kommt es zum Benzyl-C-O-Bindungsbruch und die entstandenen Ionenpaare **75a** bzw. **76a** stehen im Gleichgewicht mit den jeweiligen Substraten **35a** bzw. **36a**. Die am Benzyl-C-Atom entstehende positive Ladung wird durch das Aryl-System und zusätzlich durch Hyperkonjugation mit dem Alkyl-Substituenten in Benzyl-Position stabilisiert (in Abb. 97, S. 116 durch die gestrichelte Linie in **75a** bzw. **76a** angedeutet). In einer Folgereaktion werden die Ionenpaare dann durch Wasser zu den "falschen Diestern" **85a** bzw. **86a** abgefangen.

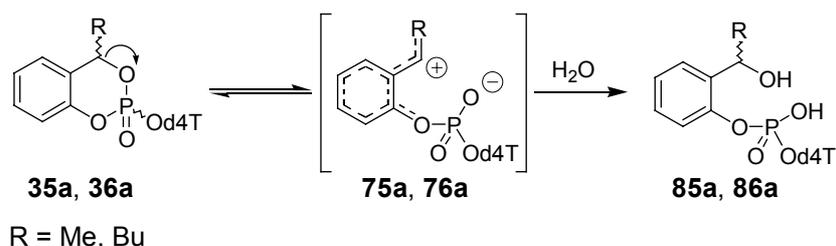


Abb. 97: Konkurrenzreaktion für die Alkyl-substituierten Derivate **35a** und **36a**

Die Stabilisierung der Ladung am Benzyl-C-Atom durch die Alkyl-Substituenten in **35a** und **36a** durch Hyperkonjugation alleine reicht jedoch nicht aus, damit es zum Benzyl-C-O-Bindungsbruch kommen kann, auch der Beitrag zur Stabilisierung durch das Aryl-System ist erforderlich. Dies wird insbesondere daran deutlich, dass durch zusätzliches Anbringen des 6-Chlor-Substituenten (Verbindungen **35d** und **36d**) der stabilisierende Effekt des Aromaten verringert wird und es als Folge nicht mehr zur Bildung der "falschen Diester" **85d** und **86d** kommt (vgl. Kap. 4.4.4.5, Kap. 4.5).

Wie wichtig aber gleichzeitig der zusätzlich stabilisierende Effekt der Alkyl-Gruppen durch Hyperkonjugation ist, wird deutlich, wenn statt der Alkyl-Substituenten Chloralkyl-Substituenten in Benzyl-Position angebracht werden (Verbindungen **37-39**). Diese Substituenten sind nicht mehr dazu in der Lage, eine positive Ladung am Benzyl-C-Atom durch Hyperkonjugation zu stabilisieren. Folglich kommt es für 7-MM-cycloSal-d4TMP **39** auch nicht mehr zur Bildung von "falschem Diester". Die Tatsache, dass bei Hydrolysen von 7-TM- **37** und 7-DM-cycloSAI-d4TMP **38** dennoch in geringem Maße die Bildung der "falschen Diester" **87** und **88** beobachtet wurde, deutet darauf hin, dass hierfür Ringspannungseffekte verantwortlich sind, bedingt durch die voluminösen Trichlormethyl- bzw. Dichlormethyl-Substituenten.

Einen vom in Abbildung 97 gezeigten Mechanismus abweichenden Verlauf nimmt die Bildung der "falschen Diester", sofern der Benzyl-Substituent zusätzlich eine C-H-acidifizierende Gruppe (7-ECM **33**, 7-MSM **34**, 7-CM **40**) trägt. Das nach der Benzyl-C-O-Fragmentierung entstandene Ionenpaar kann neben der Reaktion mit einem Nucleophil (S_N1 -Produkt) alternativ auch eines der aciden Protonen eliminieren (E1-Produkt, Abb. 98, S. 117).

Die im ersten Schritt gebildeten Ionenpaare **73**, **74** bzw. **80** stehen wieder im Gleichgewicht mit den jeweiligen Substraten **33**, **34** bzw. **40**. Die am Benzyl-C-Atom entstehende positive Ladung erfährt wieder den stabilisierenden Einfluß durch das Aryl-System. Der zusätzliche hyperkonjugative Effekt der Benzyl-Substituenten (in Abb. 98 durch die gestrichelte Linie in **73**, **74** bzw. **70** angedeutet) ist auch hier wie-

der dafür verantwortlich, dass die Konkurrenzreaktion ablaufen kann. Doch mit Hilfe von DFT-Rechnungen konnte für die Benzyl-Substituenten 7-ECM und 7-MSM gezeigt werden (vgl. Kap. 4.5.2), dass der Beitrag zur Stabilisierung der Ladung am Benzyl-C-Atom durch Hyperkonjugation kleiner ist als bei Anwesenheit von Alkyl-Substituenten am Benzyl-Kohlenstoff. Auch der geringere Anteil der "falschen Diester" an den Hydrolyseprodukten für **33**, **34** und **40** im Vergleich mit den alkylierten Derivaten **35a** und **36a** (vgl. Kap. 4.4.4) deutet auf den schwächeren Beitrag durch Hyperkonjugation hin. In der Folgereaktion werden die Ionenpaare diesmal entweder durch Wasser zu den "falschen Diestern" **83**, **84** bzw. **40** abgefangen, alternativ kommt es daneben auch zur Eliminierung eines Protons und es entstehen die "falschen Diester" **83'**, **84'** und **40'**.

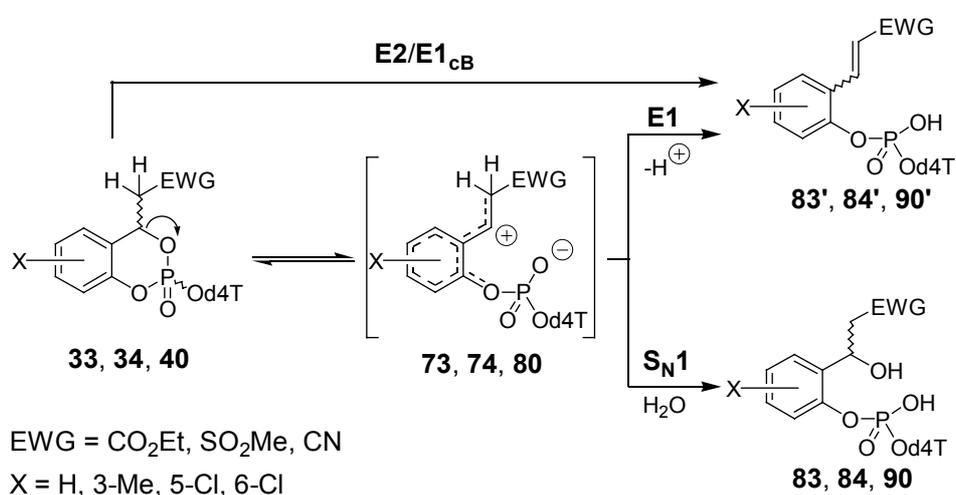


Abb. 98: Bildung der Konkurrenzprodukte bei der Hydrolyse von **33**, **34** und **40**

Durch das Anbringen eines 6-Chlor-Substituenten am Aryl-Ring in 6-Cl,7-ECM-*cyclo*-Sal-d4TMP **33d** wurde beabsichtigt, die Bildung des "falschen Diesters" zu unterbinden. Dies war bereits für die in Benzyl-Position alkylierten Derivate **35d** und **36d** gelungen. Doch im Fall von **33d** gelang dies nicht vollständig, es kam, wie auch schon bei der Hydrolyse von 5-Cl,7-ECM-*cyclo*Sal-d4TMP **33c**, zur Bildung der "falschen Diester" **83'd** (bzw. **83'c**) mit einem Anteil von ca. 2 % (vgl. Kap. 4.4.4). Da es insbesondere für die in Benzyl-Position alkylierten Derivate **35d** und **36d** jedoch gelungen war, durch Anbringen des 6-Chlor-Substituenten am Aryl-System den Beitrag der Alkyl-Substituenten zur Stabilisierung einer positiven Ladung am Benzyl-Kohlenstoff durch Hyperkonjugation zu kompensieren und damit den Benzyl-C-O-Bruch zu unterbinden, ist zu erwarten, dass der 6-Chlor-Substituent auch in **33d** den deutlich

schwächeren Beitrag der 7-ECM-Gruppe zur Ladungsstabilisierung am Benzyl-C-Atom durch Hyperkonjugation (vgl. Kap. 4.5.2) kompensiert.

Aus diesem Grunde wird für die Bildung der "falschen Diester" bei Anwesenheit C-H-acidifizierender Benzyl-Substituenten noch ein weiterer Mechanismus angenommen, der im ersten Schritt keinen Benzyl-C-O-Bindungsbruch mehr erfordert. In Frage kommen sowohl ein E2- wie auch ein E1_{CB}-Mechanismus. In beiden Mechanismen ist im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt die Eliminierung eines aciden Protons beteiligt. Eine Spezies, in der der Benzyl-Kohlenstoff eine positive Ladung trägt, wird hingegen nicht durchlaufen. Von entscheidender Bedeutung für das Ablaufen der Reaktion nach diesen Mechanismen sind neben der Qualität der austretenden Gruppe vor allem die Aciditäten (pK-Werte) der zu eliminierenden Protonen in Abhängigkeit der acidifizierenden Gruppe. Um einen besseren Eindruck darüber zu erhalten, in welchem Ausmaß die Substituenten 7-Ethoxycarbonyl-, 7-Methansulfonyl- und die 7-Cyano-Gruppe dazu in der Lage sind, wurden die pK-Werte entsprechend substituierter Methane verglichen^[106] (Tab. 17).

Tabelle 17 pK-Werte in DMSO

Verbindung	pK
CH ₃ CO ₂ Et	30.5 ± 0.5
CH ₃ SO ₂ Me	31.1
CH ₃ CN	31.3

Für die in Frage kommenden Substituenten ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede in deren Fähigkeit, α -ständige Protonen zu acidifizieren. Deshalb erscheint ein alternativer E2- bzw. E1_{CB}-Mechanismus für die in Frage kommenden Substituenten in etwa gleichem Maße möglich zu sein (vgl. Abb. 98, S. 117).

Insbesondere aufgrund der Ergebnisse aus den Hydrolysestudien mit den 7-ECM-substituierten Derivaten **33a-d** wurde das 7,7'-bis-ECM-substituierte *cyclo*Phthalid4TMP **115** synthetisiert und Hydrolysestudien unterworfen, doch konnte eine Freisetzung von d4TMP nicht beobachtet werden. Entgegen der ursprünglichen Erwartung wurde lediglich eine der beiden Benzylphosphatester-Bindungen in **115** gespalten und es resultierten die Benzylphosphatdiester **120** und **120'**, die bevorzugt über einen S_N1/E1-Mechanismus entstanden sein sollten. Eine zweite Benzyl-C-O-Spaltung zur Freisetzung von d4TMP findet jedoch weder aus **120** noch aus **120'** statt. Es darf offensichtlich nicht unterschätzt werden, dass die Phosphatgruppe in den Phosphatdiestern **120** bzw. **120'** eine deutlich schlechtere Austrittsgruppe dar-

stellt als zuvor die Phosphatgruppe im Triester **115**. Dieser Befund wurde auch bei Hydrolysestudien mit 7-ECM-substituierten bis-Benzyl-d4TMPs erhalten^[104].

Neben den beschriebenen Substituenteneinflüssen auf die Benzyl-C-O-Fragmentierung wurden auch Einflüsse verschiedener Substitutionen auf die bei der Freisetzung des Nucleotids durchlaufene Reaktionssequenz (Abb. 99) beobachtet:

- 1) Eine 3-Methyl-Gruppe am aromatischen System^[53] verlangsamt die Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Schritt der Hydrolyse und beschleunigt gleichzeitig die daran anschließende Spaltung des Benzyl-phosphatesters (vgl. Kap. 4.4.1 und Kap. 4.4.4.2).
- 2) Demgegenüber beschleunigen der 5-Chlor-Substituent^[53] bzw. auch der 6-Chlor-Substituent am Aromaten die Phenylphosphatester-Hydrolyse im ersten Schritt, verlangsamt aber die daran anschließende Spaltung des Benzylphosphatesters (vgl. Kap. 4.4.1, Kap. 4.4.4.2 und Kap. 4.4.4.5).
- 3) Der Benzyl-Substituent 7-Trichlormethyl (Verbindung **37**) verhindert selbst nach zusätzlicher Aktivierung durch Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Schritt die anschließende Spaltung der Benzyl-C-O-Bindung, so dass eine Freisetzung von d4TMP nicht nachgewiesen werden konnte. Auch bei der Hydrolyse von 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **38** ist die Freisetzung von d4TMP im zweiten Reaktionsschritt stark verlangsamt ($t_{1/2} > 250$ h für den zweiten Reaktionsschritt). Dagegen konnte für 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39** die ausschließliche Freisetzung von d4TMP nachgewiesen werden.

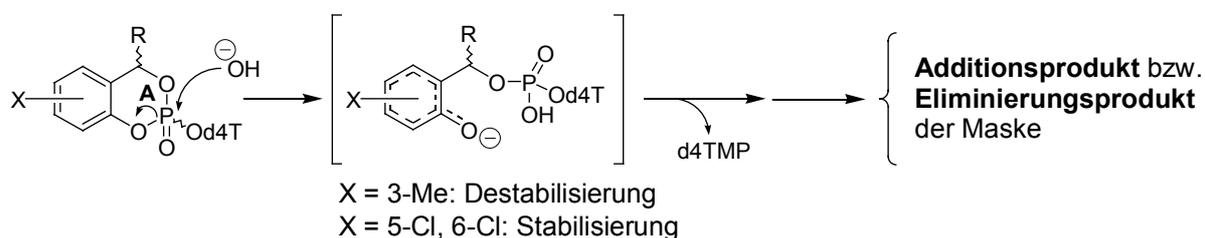


Abb. 99: Freisetzung von d4TMP aus Benzyl-funktionalisierten Pronucleotiden

Die soeben geschilderten Beobachtungen können bei genauer Betrachtung der Struktur des intermediären Produktes nach Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung erklärt werden (Abb. 99). Die nach der Spaltung am Phenyl-Sauerstoffatom auftretende negative Ladung wird im Aryl-Ring delokalisiert. Bei zusätzlicher Anwesenheit einer 3-Methyl-Gruppe am Aromaten wird der intermediäre Benzylphosphat-

diester destabilisiert, da der 3-Methyl-Substituent die Elektronendichte im Aromaten noch weiter erhöht. Es kommt in daher diesen Fall zu einer zügigen Freisetzung von d4TMP. Andererseits verringern die Aryl-Substituenten 5-Chlor und 6-Chlor die Elektronendichte im aromatischen System, der intermediäre Benzylphosphatdiester wird stabilisiert. Die anschließende Folgereaktion zu d4TMP wird dadurch verlangsamt. Als Abbauprodukte der Maske konnten bei Anwesenheit der C-H-acidifizierenden Gruppen 7-ECM, 7-MSM bzw. 7-CM in der Benzyl-Seitenkette ausschließlich die Eliminierungsprodukte **63'**, **64'** bzw. **70'** nachgewiesen werden. In den übrigen Fällen wurden dagegen nur die Salicylalkohole (Additionsprodukte) **35**, **36**, **38** und **39** erhalten.

4.9 Antivirale *in vitro* Aktivität der Benzyl-substituierten *cyclo*-Sal- und *cyclo*Phthal-NMPs

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Balzarini, Universität Leuven, Belgien wurden die Benzyl-funktionalisierten *cyclo*Sal-d4TMPs **33-40** in *in vitro* anti-HIV-Tests in Zellkulturen untersucht. Als Testsystem dienten HIV-1- bzw. HIV-2-infizierte humane T-Lymphozyten (CEM/O) sowie HIV-2-infizierte Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK⁻). Außerdem wurden als Referenzverbindungen der Prototyp 7-H-*cyclo*Sal-d4TMP **16a** und seine Derivate 3-Me- und 6-Cl-*cyclo*Sal-d4TMP **16b,d** sowie das freie Nucleosid-Analogon d4T **4** getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 (S. 121) zusammengefasst.

Bei der Interpretation der Aktivitäten der Benzyl-substituierten *cyclo*Sal-d4TMPs **33-40** ist zu berücksichtigen, dass sämtliche Derivate z.T. erheblich kürzere Hydrolysehalbwertszeiten aufweisen als der Prototyp **16a** (vgl. Kap. 4.4.1). So wurden für alle Derivate **33-40** geringere Aktivitäten gegen HIV-1 und HIV-2 in CEM/O-Zellen erhalten als für **16a**. Auch der Vergleich mit dem freien Nucleosid-Analogon d4T **4** lässt keine Verbesserung der Aktivitätswerte in CEM/O-Zellen für **33-40** erkennen.

Besonders deutlich wird dieser Trend jedoch in den HIV-2-infizierten Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK⁻): Obgleich auch der Prototyp **16a** hier Aktivität verliert ($EC_{50} = 0.9 \mu\text{M}$ gegen HIV-2 gegenüber $EC_{50} = 0.13 \mu\text{M}$ in CEM/O-Zellen), weist

er dennoch einen etwa 30-fach besseren Wert auf als d4T **4** ($EC_{50} = 27.5 \mu\text{M}$), dessen Aktivität entscheidend von der Anwesenheit der Thymidin-Kinase abhängt.

Tabelle 18: Anti-HIV-Aktivitäten und Cytotoxizitäten der Verbindungen **33-40** im Vergleich mit **16a,b,d** bzw. d4T **4**

	X	R	EC_{50}^a (μM)			CC_{50}^b (μM)
			<u>CEM/O</u>	<u>CEM/O</u>	<u>CEM/TK⁻</u>	<u>CEM/O</u>
			HIV-1	HIV-2	HIV-2	
33a	H	CH ₂ CO ₂ Et	0.16 ± 0.06	0.33 ± 0.11	25.0 ± 0.0	42.9 ± 14.0
33b	3-Me	CH ₂ CO ₂ Et	0.20 ± 0.07	0.49 ± 0.30	10.5	60.8 ± 15.0
33c	5-Cl	CH ₂ CO ₂ Et	0.18 ± 0.09	0.24 ± 0.02	≥ 10	23.1 ± 5.3
33d	6-Cl	CH ₂ CO ₂ Et	0.14 ± 0.09	0.17 ± 0.07	12.5	19.0 ± 0.1
34a	H	CH ₂ SO ₂ Me	0.28 ± 0.18	0.40 ± 0.01	20.0 ± 0.0	224.0 ± 37.5
34b	3-Me	CH ₂ SO ₂ Me	0.28	1.0	11.5 ± 21.0	116.0
34c	5-Cl	CH ₂ SO ₂ Me	0.25	0.47	19.0 ± 1.4	47.7
35a	H	Me	0.33 ± 0.11	0.43 ± 0.25	20.0 ± 7.1	≥ 250
35d	6-Cl	Me	0.19 ± 0.10	0.25 ± 0.15	7.5	42.1 ± 13.5
36a	H	<i>n</i> -Bu	0.30 ± 0.14	0.65 ± 0.07	> 50	14.4 ± 2.7
36d	6-Cl	<i>n</i> -Bu	0.19 ± 0.10	0.25 ± 0.15	20.0 ± 7.1	39.0 ± 12.7
37	H	CCl ₃	0.19 ± 0.09	0.60 ± 0.28	42.5	54.3 ± 9.6
38	H	CHCl ₂	0.16 ± 0.09	0.55 ± 0.35	27.5 ± 3.5	67.3 ± 15.3
39	H	CH ₂ Cl	0.19 ± 0.10	0.35 ± 0.22	22.5 ± 3.5	56.5 ± 5.5
40	H	CH ₂ CN	0.45 ± 0.26	0.60 ± 0.35	> 50	62.4 ± 4.6
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>						
16a	H	H	0.10 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.9 ± 0.3	31.3 ± 2.6
16b	3-Me	H	0.10 ± 0.07	0.19 ± 0.05	0.1 ± 0.0	31.6
16d	6-Cl	H	0.10 ± 0.03	0.08 ± 0.0	30.0	55.7 ± 10.2
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>						
4		d4T	0.10 ± 0.0	0.55 ± 0.2	27.5 ± 3.5	34.9 ± 7.4

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

Vergleicht man also die entsprechenden Aktivitäten der Benzyl-funktionalisierten Prodrugs **33-40** gegen HIV-2 in CEM/TK⁻-Zellen mit den Daten für den aktiven Prototypen **16a** bzw. des inaktiven d4T **4**, so müssen auch die Verbindungen **33-40** als bestenfalls schwach aktiv in CEM/TK⁻-Zellen eingestuft werden.

Aufschlussreicher als ein Vergleich der Aktivitäten der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** mit den Werten für den Prototypen **16a** bzw. für d4T **4** ist jedoch ein Vergleich der Aktivitäten der Derivate dieser Substanzklasse untereinander, insbesondere unter Berücksichtigung der bei den Hydrolysestudien mit diesen Verbindungen gewonnenen Erkenntnisse (vgl. Kap. 4.4). So wurde für Benzyl-substituierte Derivate neben der gewünschten Freisetzung von d4TMP (bzw. allgemein: Nucleotide) erstmals auch die Bildung von Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester") als Nebenprodukten nachgewiesen sowie quantitativ bestimmt (vgl. Kap. 4.4.4). In den durchgeführten Hydrolyseexperimenten erwiesen sich diese gegenüber einer weiteren hydrolytischen Spaltung, die zur Freisetzung von Nucleosidmonophosphat führen sollte, als inert.

Für 7-ECM-*cycloSal*-d4TMP **33a** wurde eine Hydrolysehalbwertszeit von 4.14 h bestimmt, der Anteil an unerwünschten Phenylphosphatdiestern **83'a** bzw. **83a** ("falsche Diester") betrug dabei 9.5 %. Durch 3-Methyl-Substitution in **33b** konnte zwar die Halbwertszeit deutlich verlängert werden auf 6.82 h (zum Vergleich: die Halbwertszeit für den Prototypen beträgt 8.11 h), doch wurde gleichzeitig eine Vergrößerung des Anteils der "falsche Diester" **83'b** bzw. **83b** (24.6 %) gemessen. Umgekehrt konnte durch 5-Chlor- und 6-Chlor-Substituenten am Aromaten in **33c** bzw. **33d** der Anteil der "falschen Diester" auf weniger als 3 % reduziert werden, doch gleichzeitig ergaben sich deutlich kürzere Hydrolysehalbwertszeiten für **33c** (1.51 h) bzw. **33d** (1.46 h). Betrachtet man nun vor diesem Hintergrund die Aktivitäten dieser Benzyl-funktionalisierten Prodrug-Systeme **33a-d** in Thymidin-Kinase-defizienten Zellen (CEM/TK⁻, vgl. Tab. 18, S. 121), so haben sowohl die Verlängerung der Halbwertsdauer als auch ein günstigeres Hydrolyseproduktverhältnis eine Verbesserung der anti-HIV-Aktivität zur Folge: die Verbindungen **33b-d** weisen gegenüber **33a** eine um den Faktor 2 – 2.5 höhere Aktivität auf.

Deutlich schwächer ausgeprägt ist dieser Trend für die 7-MSM-*cycloSal*-d4TMPs **34a-c**. Als Ursache hierfür kommt neben den deutlich kürzeren Halbwertszeiten vor allem auch das erheblich schlechtere Hydrolyseproduktverhältnis im Vergleich zu den entsprechenden 7-ECM-substituierten Derivaten **33a-c** in Frage.

Bei Hydrolyseexperimenten mit den in Benzyl-Position alkylierten Derivaten 7-Me- und 7-Bu-*cycloSal*-d4TMP **35a** bzw. **36a** wurden neben sehr kurzen Halbwertszeiten (0.31 h bzw. 0.84 h) die "falschen Diester" **85a** bzw. **86a** als Hauptprodukte der Hydrolysen mit einem Anteil von > 80 % ermittelt. Durch Anbringen des zusätzlichen Aryl-Substituenten 6-Chlor in **35d** bzw. **36d** wurde seine Entstehung demgegenüber vollständig unterbunden, zudem ergab sich sowohl für **35d** als auch für **36d** eine deutliche Verlängerung der Hydrolysehalbwertszeit auf ca. 3.5 h in beiden Fällen. Diese erfolgreiche Einflussnahme auf das Hydrolyseverhalten durch Anbringen des 6-Chlor-Substituenten in **35d** bzw. **36d** dokumentiert sich eindrucksvoll auch bei Vergleich der Aktivitätsdaten mit den Werten für **35a** bzw. **36a**: Die Anti-HIV-Aktivitäten von **35d** bzw. **36d** sowohl in CEM/O- als auch in CEM/TK⁻-Zelllinien waren durchgängig um den Faktor 2 – 2.5 verbessert.

Betrachtet man schließlich die für **37-40** gemessenen Aktivitäten, so fällt zunächst auf, dass 7-TM-*cycloSal*-d4TMP **37** sowie 7-CM-*cycloSal*-d4TMP **40** keine Aktivität mehr in CEM/TK⁻-Zellen aufweisen (vgl. Tab. 18, S.121). Vor dem Hintergrund der in den Hydrolysestudien gewonnenen Erkenntnisse überrascht dies jedoch nicht, denn in beiden Fällen wurde neben einer kurzen Halbwertszeit (1.42 h für **37** bzw. 1.07 h für **40**) auch die Bildung der Phenylphosphatdiester **87** bzw. **90'**/**90** ("falsche Diester") nachgewiesen. Zudem erwies sich der bei der Hydrolyse von **37** entstandene Benzylphosphatdiester **47** (sog. "richtiger Diester") gegenüber einer weiteren Spaltung zu d4TMP als inert. Ähnliche Ergebnisse wurden außerdem bei Hydrolyseexperimenten mit 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **38** erhalten, doch in diesem Fall konnte – wenngleich stark gehemmt – die Freisetzung von d4TMP aus dem intermediären "richtiger Diester" **48** nachgewiesen werden, die als Ursache für die leicht verbesserte TK⁻-Aktivität von **38** im Vergleich mit **37** angesehen werden kann. Die besten Hydrolyseeigenschaften in der Serie **37-40** wies 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39** auf: Bei einer Hydrolysedauer von 5.25 h kam es nicht mehr zur Bildung unerwünschter Konkurrenzprodukte **89'** bzw. **89**, und auch die Freisetzung von d4TMP aus dem "richtigen Diester" **49** verlief ohne signifikante Verlangsamung. Damit in guter Übereinstimmung stehen auch die für **39** ermittelten Anti-HIV-Aktivitäten: In der Reihe **37-40** stellt **39** somit die aussichtsreichste Verbindung dar.

Neue Anhaltspunkte für eine potentielle Toxizität des während der Freisetzung von d4TMP aus *cycloSal*-d4TMPs **16** auftretenden Chinonmethids **18** (vgl. Abb. 12, S. 15) sowie das Ausschalten dieser möglichen Quelle von Cytotoxizität durch eine

intramolekular ablaufende Eliminierungsreaktion (vgl. Abb. 18, S. 18) für Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMPs **33-34** bzw. **40** ergeben sich beim Blick auf die in den Zelltests gemessenen Cytotoxizitäten (CC_{50} , Tab. 18, S. 121). So konnte zwar in Hydrolysestudien mit den Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-34** bzw. **40** die Entstehung der Eliminierungsprodukte **63'-64'** bzw. **70'** nachgewiesen werden, beim Vergleich der für **16** gemessenen Cytotoxizitäten mit den entsprechenden Daten für **33**, **34** und **40** ergeben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede. Daneben erwiesen sich in vorangegangenen Tests^[68] weder der Benzyl-funktionalisierte Sali-cylalkohol **63a** noch das korrespondierende Eliminierungsprodukt **63'a** als toxisch. Daher erscheint es fraglich, weiterhin die bei der d4TMP-Freisetzung aus *cycloSal*-d4TMPs auftretende Chinonmethid-Intermediate **18**, **53-54** bzw. **60** als Quelle für gemessene Cytotoxizitäten anzusehen.

Ähnliche Ergebnisse wurden in unserer Arbeitsgruppe auch bei vergleichenden Untersuchungen mit bis-(4-Acyloxybenzyl)-d4TMP und bis-(7-Methoxycarbonylmethyl-4-acyloxybenzyl)-d4TMP erhalten^[111]: Beide Pronucleotid-Systeme setzen d4TMP frei, doch wird bei der Hydrolyse von bis-(4-Acyloxybenzyl)-d4TMP als Abbauprodukt der Maske das Additionsprodukt 4-Hydroxybenzylalkohol erhalten. Bei der Hydrolyse von bis-(7-MCM-4-acyloxybenzyl)-d4TMP hingegen entsteht als Abbauprodukt das Eliminierungsprodukt 4-Hydroxizimtsäuremethylester. Dennoch übertrifft die für bis-(7-MCM-4-acyloxybenzyl)-d4TMP gemessene Cytotoxizität den für bis-(4-Acyloxybenzyl)-d4TMP bestimmten Wert. Auch diese Ergebnisse lassen den Schluss auf die im Verlauf der Hydrolysen entstehenden Chinonmethid-Intermediate als Quelle für die gemessenen Cytotoxizitäten als fraglich erscheinen.

Die nicht in Tabelle 18 (S. 121) mitaufgenommene Verbindung 7,7'-bis-ECM-*cycloPhthal*-d4TMP **115** erwies sich bei den Hydrolysestudien für eine d4TMP-Freisetzung als ungeeignet (vgl. Kap. 4.6). In Übereinstimmung dazu konnte auch in einer mit dieser Verbindung durchgeführten Testreihe keinerlei anti-HIV-Aktivität nachgewiesen werden.

Für die ebenfalls nicht in Tabelle 18 aufgenommenen *cycloSal*-BVDUMPs **116**, *cycloSal*-ddAMPs **117** und *cycloSal*-F-*ara*-ddAMP **118** konnte in entsprechenden Tests in CEM/O-Zelllinien ebenfalls keine anti-HIV-Aktivität erhalten werden. Im Fall der *cycloSal*-BVDUMPs **116** sind die dahingehenden Untersuchungen als Kontroll-experimente zu verstehen, da BVDU **13** im Rahmen der Anti-HIV-Therapie aufgrund des Vorhandenseins der 3'-Hydroxygruppe mit dem Konzept der RT-Inhibierung

nicht vereinbaren ist. Die *cycloSal*-BVDUMPs **116** werden gegenwärtig von Dr. A. Meerbach, Universität Jena, *in vitro* auf ihre Anti-EBV-Aktivität getestet.

Für die fehlende anti-HIV-Aktivität der *cycloSal*-ddAMPs **117** und *cycloSal*-F-*ara*-ddAMP **118** in CEM/O-Zelllinien sollten die Hydrolyseeigenschaften, die aufgrund der Ergebnisse mit den entsprechenden *cycloSal*-d4TMPs **33b,c** bzw. **34b** zu erwarten sind, verantwortlich sein: Zu kurze Halbwertszeit bzw. Bildung von Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester").

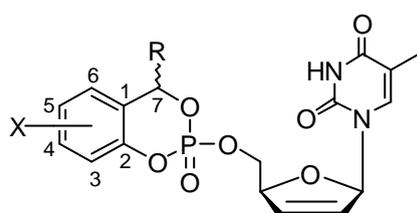
Aktivitätsuntersuchungen in Thymidin-Kinase-defizienten Zellen waren für die Verbindungen **116-118** nicht sinnvoll, da die entsprechenden Nucleosid-Analoga ddA, F-*ara*-ddA bzw. BVDU keine Substrate der Thymidin-Kinase darstellen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es trotz der erfolgreichen Einflussnahme auf das Hydrolyseverhalten der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-NMPs – insbesondere die Entstehung der "falsche Diester" konnte für diese Substanzklasse vollständig unterbunden werden – bisher nicht gelungen ist, Verbindungen dieses Typs mit befriedigender anti-HIV-Aktivität zu erhalten. Insbesondere die im Vergleich zum Prototypen **16a** immer noch z.T. deutlich kürzeren Hydrolysehalbwertszeiten müssen hierfür als Ursache in Betracht gezogen werden. Insbesondere für einen vollständigen Erhalt der Aktivität in CEM/TK⁻-Zellen scheint es einen Schwellenwert der Hydrolysehalbwertszeit von 3 h bis 4 h (gemessen in 25 mM Phosphatpuffer) zu geben, unterhalb dessen deutliche Einbußen bei der Aktivität auftreten^[109]. Die im Rahmen dieser Arbeit gemessenen Hydrolysehalbwertszeiten wurden in 12.5 mM Pufferlösung bestimmt. Es stellte sich heraus, dass sich die bei dieser Pufferkonzentration bestimmten Halbwertszeiten bei Verwendung des 25 mM Phosphatpuffers um den Faktor 1.5 bis 2 verringern. Vor diesem Hintergrund sollten die Halbwertszeiten aller synthetisierter Benzyl-funktionalisierter *cycloSal*-NMPs unter dem für den 25 mM Phosphatpuffer bestimmten Schwellenwert liegen.

Aufgrund der gemessenen Cytotoxizitäten erscheint es ferner nicht länger angebracht, bei der d4TMP-Freisetzung aus *cycloSal*-d4TMPs auftretende Chinonmethid-Intermediate als Quelle für Cytotoxizität anzunehmen.

5 Zusammenfassung

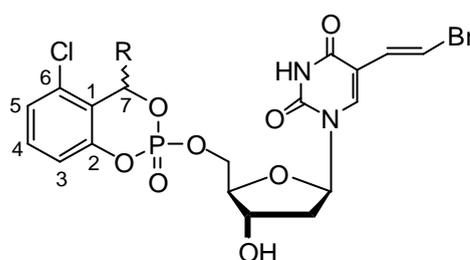
In der vorliegenden Arbeit wird erstmals die Synthese Benzyl-substituierter cyclischer Phosphatriester der Nucleosid-Analoga d4T **4**, BVDU **13** und ddA **21** sowie F-*ara*-ddA beschrieben. In Abbildung 100 sind alle dargestellten Prodrugs zusammengefasst.



16d, 33-40

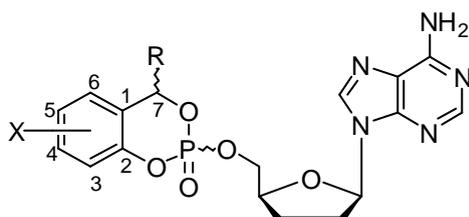
X = H, 3-Me, 5-Cl, 6-Cl

R = H, CH₂CO₂Et, CH₂SO₂Me, Me, *n*Bu, CCl₃, CHCl₂, CH₂Cl, CN



116a-d

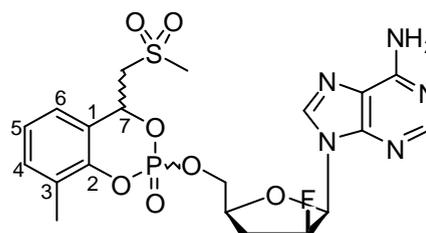
R = CH₂CO₂Et, Me, *n*-Bu, H



117a-c

X = 3-Me, 5-Cl

R = CH₂CO₂Et, CH₂SO₂Me



118

Abb. 100: Dargestellte *cycloSal*-Phosphatriester **33-40** und **116-118**

Die Synthese dieser Verbindungen gelang, ausgehend von den entsprechenden Salicylalkoholderivaten **63-70**, in zweistufigen Ansätzen. Die Salicylalkohole **63-66**, **68** und **70** konnten zuvor durch nucleophile Additionen an die Carbonylgruppe der entsprechenden Salicylaldehyde **103** erhalten werden (Abb. 101, S. 127). So wurden die 7-Methyl-salicylalkohole **65** sowie die 7-Butyl-salicylalkohole **66** in sehr guten Ausbeuten nach Umsetzungen von **103** mit einem Überschuss von Methyllithium bzw. *n*-Butyllithium erhalten. In analogen Ansätzen konnten auch die 7-Methansulfonylmethyl-salicylalkohole **64** zugänglich gemacht werden, nachdem zunächst aus Dimethylsulfon und der starken Base Methyllithium das entsprechenden Lithiumorganyl

generiert worden war. Anschließende Addition dieses Nucleophils an **103** lieferte die Diole **64** in guten bis sehr guten Ausbeuten.

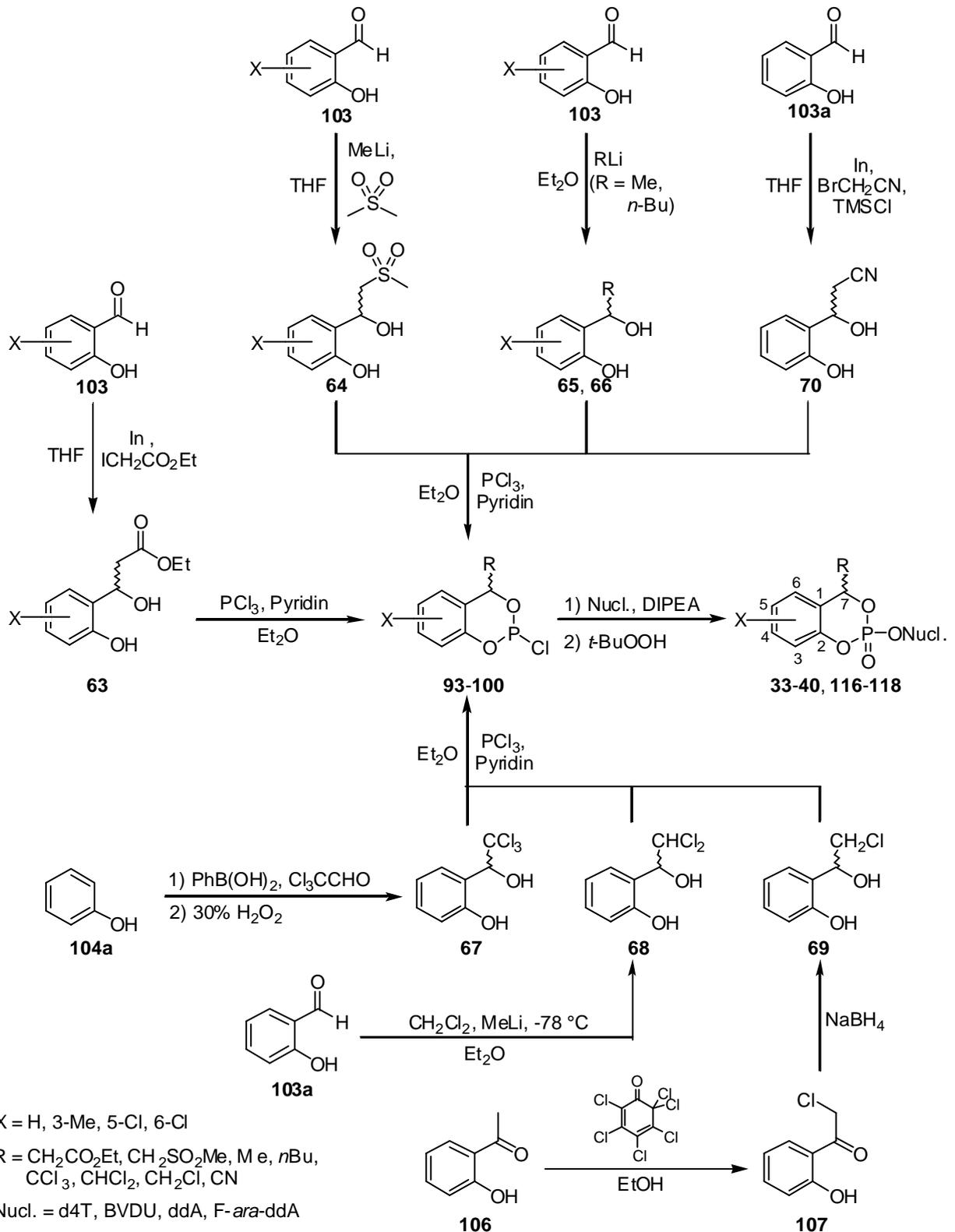


Abb. 101: Der Syntheseweg zu den Prodrugs **33-40** und **116-118**

Auch das Diol **68** konnte in Anlehnung an den soeben für die Diole **64** beschriebenen Ansatz erhalten werden (Abb. 101, S. 127). So wurde aus Dichlormethan mit der starken Base Methyllithium *in situ* zunächst Dichlormethylithium erzeugt. Eine potentielle Entstehung von Carbenen konnte durch Temperaturkontrolle verhindert werden^[89]. Nach anschließender nucleophiler Addition an den Salicylaldehyd **103a** konnte **68** in quantitativer Ausbeute erhalten werden.

Die Synthese der 7-Ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohole **63** gelang in einer Variante der Reformatsky-Reaktion von **103** mit Indium und Ethyliodacetat in guten Ausbeuten (Abb. 101, S. 127). Durch analoge Umsetzung des Salicylaldehyds **103a** mit Indium und Bromacetonitril in Gegenwart von Trimethylsilylchlorid gelang entsprechend die Darstellung von 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70**, allerdings für diesen Fall nur in mäßiger Ausbeute^[90].

Die Darstellung des 7-Trichlormethyl-salicylalkohols **67** gelang nach einer von Nagata^[85] *et al.* beschriebenen Variante zur Darstellung von Salicylalkoholen durch *ortho*-Hydroxymethylierung von Phenol **104a** mit Trichlormethyl-acetaldehyd in Gegenwart von Phenylboronsäure (Abb. 101, S. 127). Nach oxidativer Spaltung des als Zwischenprodukt isolierten Phenylboronsäurediesters **105** konnte **67** in mäßiger Gesamtausbeute isoliert werden. Der entsprechende 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69** wurde durch α -Monochlorierung von *ortho*-Hydroxy-acetophenon **106** mit 2,3,4,5,6,6-Hexachloro-2,4-cyclohexadien-1-on^[68] und anschließender Reduktion in ebenfalls mäßiger Ausbeute erhalten.

Zur Darstellung der *cycloSal*-Triester (Abb. 101, S. 127) wurden die Salicylalkohole **63-70** anschließend mit Phosphortrichlorid nach einer im Arbeitskreis ausgearbeiteten Vorschrift^[53] phosphoryliert. Umsetzung der so erhaltenen Chlorphosphane **93-100** mit den Nucleosiden d4T **4**, BVDU **13** und ddA **21** bzw. *F-ara*-ddA in Gegenwart der Base DIPEA lieferte nach Oxidation der intermediären Phosphor(III)-Addukte mit *tert*-Butylhydroperoxid die entsprechenden *cycloSal*-NMPs **33-40** sowie **116-118** in moderaten bis guten Ausbeuten.

Nach erfolgreicher Synthese wurde das Hydrolyseverhalten der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** detailliert untersucht. Zunächst wurden die Halbwertszeiten in Phosphatpufferlösung (pH 7.3, Gesamtkonzentrationen der Hydrolyselösungen: $c_{\text{Puffer}} = 12.5 \text{ mM}$, $c_{\text{Triester}} = 1.0 \text{ mM}$) gemessen. Als Referenz wurden außerdem die Halbwertszeiten der am Benzyl-Kohlenstoffatom nicht funktionalisierten d4T-Prodrugs **16a** und **16d** bestimmt. HPLC-Chromatogramme der Hydrolyselösungen

erster Benzyl-substituierter *cycloSal*-d4TMPs **33a-35a** deuteten neben der Freisetzung von d4TMP und den Abbauprodukten der *cycloSal*-Masken auf die Entstehung eines weiteren Konkurrenzproduktes hin. Weitere Indizien für die Beschaffenheit dieses Konkurrenzproduktes lieferten die entsprechenden UV-Absorptionsspektren sowie die von den Hydrolysaten aufgenommenen Massenspektren. So konnte die zur Freisetzung von d4TMP aus **33a-35a** konkurrierende Bildung der Phenylphosphatdiester ("falsche Diester") **83'a-84'a** bzw. **85a** nachgewiesen werden. Diese "falschen Diester" waren unter den schwach basischen Hydrolysebedingungen (pH 7.3, 37 °C) stabil und nicht mehr zur Freisetzung von d4TMP in der Lage (vgl. Kap. 4.4).

Mit Hilfe der ^{31}P -NMR-Spektroskopie konnte die Hydrolyse der Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-d4TMPs **33-40** zeitlich verfolgt werden. Außerdem war es mit Hilfe dieser Methodik möglich, die Phosphor-haltigen Hydrolyseprodukte sowie Intermediate aufgrund der natürlichen Isotopenhäufigkeit von ^{31}P (nahezu 100 %) zu quantifizieren. So konnten nach vollständiger Hydrolyse von **33-40** genaue Produktverhältnisse ("falsche Diester" : d4TMP) bestimmt werden. Des Weiteren konnten qualitative Einflüsse sowohl der Benzyl- als auch der Aryl-Substituenten auf bei der Hydrolyse von **33-40** durchlaufene Reaktionsschritte beobachtet werden. Für ausgewählte Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMPs konnten, nach erneuter Durchführung der Hydrolysen in Ammoniumacetat-Pufferlösung (pH 7.3, 37 °C), nach vollständiger Hydrolyse zunächst das Puffersalz durch Gefriertrocknung entfernt werden. Anschließend aufgenommene ^1H -NMR-Spektren gaben insbesondere Aufschluss über das dabei entstandene Abbauprodukt der *cycloSal*-Maske (vgl. Kap. 4.4.4.4 und 4.4.4.5).

Schließlich wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit DFT-Rechnungen durchgeführt, die weitere Belege für den Einfluß von Benzyl-Substituenten in *cycloSal*-d4TMPs auf die Bildung der unerwünschten Phenylphosphatdiester ("falsche Diester") lieferten. Grundlage der Berechnungen war die Überlegung, dass die nachgewiesenen Phenylphosphatdiester als typische Konkurrenzprodukte einer $\text{S}_{\text{N}}1$ - bzw. $\text{E}1$ -Reaktion aufgefasst werden konnten. Den gemeinsamen geschwindigkeitsbestimmenden Schritt stellt in beiden Fällen die spontane Dissoziation zu einem Ionenpaar dar^[102]. Dieser erste Schritt wurde für ausgewählte Modellverbindungen (*cycloSal*-Methylmonophosphate, *cycloSal*-MeMPs) der jeweiligen *cycloSal*-d4TMPs in DFT-Berechnungen mit dem Programm *Gaussian* '98^[103] unter Verwendung des Funktionals B3LYP^[77,78] und der Basissätze 6-31G(d) bzw. 6-311G(d,p)^[82-84] untersucht (vgl. Kap. 4.5).

Während der Hydrolysemechanismus des Prototyps 7-H-*cycloSal*-d4TMP **16a** unter physiologischen Bedingungen (pH 7.3, 37 °C) selektiv über die Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Schritt nach einem S_N(P)-Mechanismus verläuft^[53], muss bei Anwesenheit von Substituenten in Benzyl-Position alternativ auch eine Konkurrenzreaktion in Betracht gezogen werden, die zur Bildung von Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester") führt. Die Art der gefundenen "falschen Diester" lässt, in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus der kinetischen Analyse der basischen Hydrolyse von sekundären und tertiären Alkylphosphatresten^[101], auf eine Entstehung nach einem S_N1- bzw. E1-Mechanismus mit einem heterolytischen Benzyl-C-O-Bindungsbruch als geschwindigkeitsbestimmendem Schritt^[102] schließen. Vor diesem Hintergrund wurden im Rahmen dieser Arbeit folgende Einflüsse auf die Konkurrenzreaktion erhalten:

- 1) Benzyl-Substituenten, die eine positive Ladung am Benzyl-Kohlenstoffatom durch Hyperkonjugation stabilisieren können, begünstigen eine heterolytische Benzyl-C-O-Fragmentierung (vgl. Kap. 4.4-4.5). Die Benzyl-Substituenten lassen sich nach abnehmender Fähigkeit zur Stabilisierung in folgende Reihung bringen: 7-Me ~ 7-Bu > 7-MSM > 7-ECM ~ 7-CM.
- 2) Auch der Aryl-Ring liefert einen elektronischen Beitrag zur Stabilisierung einer sich entwickelnden positiven Ladung am Benzyl-C-Atom (vgl. Kap. 4.5). Dies dokumentiert sich vor allem auch in dem erhöhten Anteil an Konkurrenzprodukt bei der Hydrolyse der 3-Methyl-substituierten Derivate **33b** und **34b** bzw. in den verringerten Anteilen nach 5-Chlor- bzw. 6-Chlor-Substitution am Aromaten (vgl. Kap. 4.4.4.2 und 4.4.4.5).
- 3) Chlormethyl-Gruppen als Benzyl-Substituenten (7-MM, 7-DM und 7-TM) sind nicht mehr dazu in der Lage, eine positive Ladung am Benzyl-Kohlenstoff zu stabilisieren (vgl. Kap. 4.5). Der dennoch bei den Hydrolysen von 7-DM- bzw. 7-TM-*cycloSal*-d4TMP **37** bzw. **38** gemessene Anteil an "falschem Diester" (vgl. Kap. 4.4.4.4) sollte daher auf vergrößerte Ringspannungseffekte zurückzuführen sein, die durch die sterisch besonders anspruchsvollen Dichlor- bzw. Trichlormethyl-Gruppen ausgelöst werden.
- 4) Die nach der Benzyl-C-O-Fragmentierung entstehenden Ionenpaare stellen endotherme Zwischenprodukte dar (vgl. Kap. 4.5). Es erscheint deshalb sinnvoll, für ihre Bildung aus den jeweiligen Substraten eine Gleichgewichtsreaktion an-

zunehmen. Im Folgeschritt werden diese dann durch Wasser zu den Phenylphosphatdiestern ("falsche Diester") des Typs **83-90** abgefangen. Sofern zusätzlich noch C-H-acidifizierende Gruppen (7-ECM, 7-MSM, 7-CM) in der Benzyl-Seitenkette anwesend sind, kann alternativ auch ein acidifiziertes Proton eliminiert werden und es entstehen "falsche Diester" des Typs **83'-84'** bzw. **90'**.

Vor dem Hintergrund dieser Einflüsse kann die Bildung der "falschen Diester" **85a** und **86a** bei der Hydrolyse in Benzyl-Position alkylierter *cycloSal*-d4TMPs **35a** und **36a** nach dem in Abbildung 102 gezeigten Reaktionsschema beschrieben werden (vgl. Kap. 4.8).

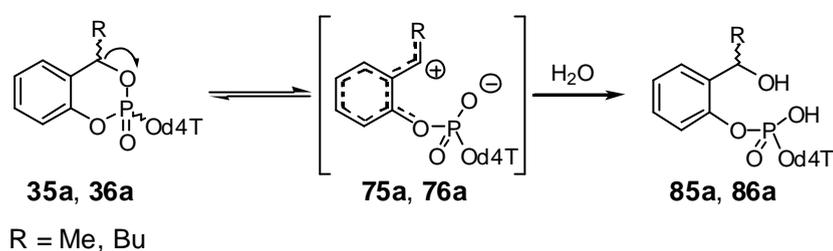


Abb. 102: Konkurrenzreaktion für die Alkyl-substituierten Derivate **35a** und **36a**

Die nach Benzyl-C-O-Bindungsbruch entstandenen Ionenpaare **75a** bzw. **76a** stehen im Gleichgewicht mit den jeweiligen Substraten **35a** bzw. **36a**. Die am Benzyl-C-Atom entstehende positive Ladung wird durch das Aryl-System und zusätzlich durch Hyperkonjugation mit dem Alkyl-Substituenten in Benzyl-Position stabilisiert (in Abb. 102 durch die gestrichelte Linie in **75a** bzw. **76a** angedeutet). In einer Folgereaktion werden die Ionenpaare durch Wasser zu "falschen Diestern" des Typs **85a** bzw. **86a** abgefangen.

Die Stabilisierung der Ladung am Benzyl-C-Atom durch die Alkyl-Substituenten in **35a** und **36a** durch Hyperkonjugation alleine reicht jedoch nicht aus, auch der Beitrag zur Stabilisierung durch das Aryl-System ist erforderlich. Dies wird insbesondere daran deutlich, dass durch zusätzliches Anbringen des 6-Chlor-Substituenten (Verbindungen **35d** und **36d**) der stabilisierende Effekt des Aromaten verringert wird und es als Folge nicht mehr zur Bildung der "falschen Diester" **85d** und **86d** kommen kann (vgl. Kap. 4.4.4.5, Kap. 4.5).

Wie wichtig aber gleichzeitig der zusätzliche stabilisierende Effekt der Alkyl-Gruppen ist, wird deutlich, wenn statt der Alkyl-Substituenten Chloralkyl-Substituenten in Benzyl-Position angebracht werden (Verbindungen **37-39**). Diese Substituenten sind

nicht mehr dazu in der Lage, eine positive Ladung am Benzyl-C-Atom zu stabilisieren. Dies hat zur Folge, dass die Bildung von "falschem Diester" weitestgehend unterbleibt. Für 7-MM-cycloSal-d4TMP **39** konnte die Entstehung von "falschem Diester" nicht mehr beobachtet werden (vgl. Kap. 4.4.4.4).

Einen vom in Abbildung 102 gezeigten Mechanismus abweichenden Verlauf nimmt die Bildung der "falschen Diester", sofern der Benzyl-Substituent zusätzlich eine C-H-acidifizierende Gruppe (7-ECM **33**, 7-MSM **34**, 7-CM **40**) trägt. Die nach Benzyl-C-O-Fragmentierung entstandenen Ionenpaare **73**, **74** bzw. **70** können neben der Reaktion mit einem Nucleophil (S_N1 -Produkte **83**, **84** bzw. **90**) alternativ auch eines der aciden Protonen eliminieren (E1-Produkte **83'**, **84'** bzw. **90'**; Abb. 103). Der Beitrag der Benzyl-Substituenten 7-ECM, 7-MSM und 7-CM zur Stabilisierung der Ionenpaare **73**, **74** bzw. **70** wird in Abbildung 103 durch die gestrichelte Linie in **73**, **74** bzw. **70** angedeutet. Er sollte allerdings für die Benzyl-Substituenten 7-ECM, 7-MSM und 7-CM kleiner sein als der Beitrag der Alkyl-Substituenten 7-Me bzw. 7-Bu (vgl. DFT-Studien: Kap. 4.5; vgl. geringerer Anteil der "falschen Diester" an den Hydrolyseprodukten: Kap. 4.4.4).

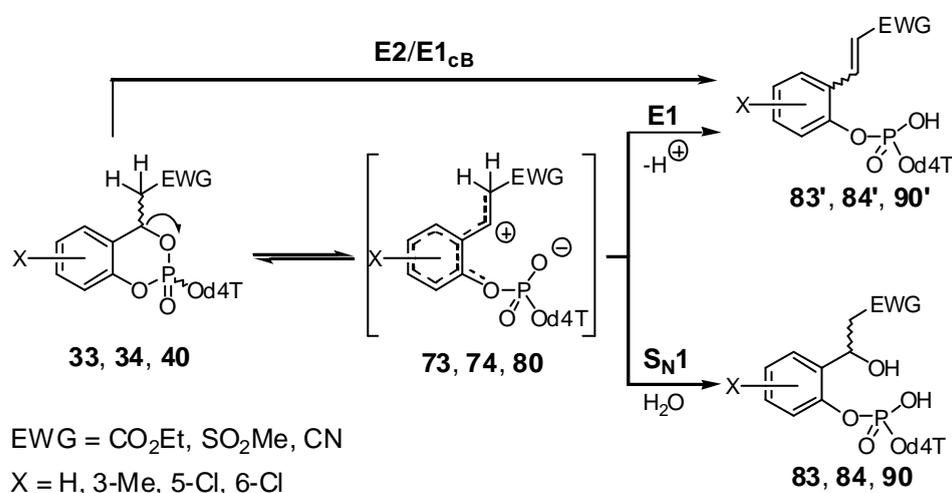


Abb. 103: Bildung der Konkurrenzprodukte bei der Hydrolyse von **33**, **34** und **40**

Im Gegensatz zu den in Benzyl-Position alkylierten Derivaten gelang es im Fall von 7-ECM-cycloSal-d4TMP **33a** nicht, die Entstehung der "falschen Diester" durch Anbringen des 6-Chlor-Substituenten in **33d** vollständig zu unterbinden (vgl. Kap. 4.4.4). Aus diesem Grunde wird für die Bildung der "falschen Diester" bei Anwesenheit C-H-acidifizierender Gruppen im Benzyl-Substituenten noch ein weiterer Mechanismus angenommen, der nicht mehr nur durch einen Benzyl-C-O-Bindungsbruch bestimmt

wird. In Frage kommen sowohl ein E2- wie auch ein E1_{cB}-Mechanismus. Beide Mechanismen erfordern die Eliminierung eines aciden Protons. Eine Spezies, in der der Benzyl-Kohlenstoff eine positive Ladung trägt, wird hingegen nicht mehr durchlaufen (vgl. Abb. 103, S. 132).

Neben den beschriebenen Substituenteneinflüssen auf die Benzyl-C-O-Fragmentierung wurden auch Einflüsse verschiedener Substitutionen auf die bei der Freisetzung des Nucleotids durchlaufene Reaktionssequenz (Abb. 104, S. 134) beobachtet:

- 1) Eine 3-Methyl-Gruppe am aromatischen System^[53] verlangsamt die Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Schritt der Hydrolyse, begünstigt aber die daran anschließende Spaltung des Benzylphosphatesters (vgl. Kap. 4.4.1 und Kap. 4.4.4.2).
- 2) Demgegenüber beschleunigen der 5-Chlor-Substituent^[53] bzw. auch der 6-Chlor-Substituent am Aromaten die Phenylphosphatester-Hydrolyse im ersten Schritt, verlangsamt aber die daran anschließende Spaltung des Benzylphosphatesters (vgl. Kap. 4.4.1, Kap. 4.4.4.2 und Kap. 4.4.4.5).
- 3) Der Benzyl-Substituent 7-TM (Verbindung **37**) verhindert selbst nach zusätzlicher Aktivierung durch Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Schritt die anschließende Spaltung der Benzyl-C-O-Bindung, so dass eine Freisetzung von d4TMP nicht nachgewiesen werden konnte. Auch bei der Hydrolyse von 7-DM-*cycloSal*-d4TMP **38** ist die Freisetzung von d4TMP im zweiten Reaktionsschritt stark verlangsamt ($t_{1/2} > 250$ h für den zweiten Reaktionsschritt). Dagegen konnte für 7-MM-*cycloSal*-d4TMP **39** die selektive Freisetzung von d4TMP nachgewiesen werden (vgl. Kap. 4.4.4.4).

In Abbildung 104 ist die Freisetzung von d4TMP aus den Benzyl-funktionalisierten in Form eines Reaktionsschemas wiedergegeben.

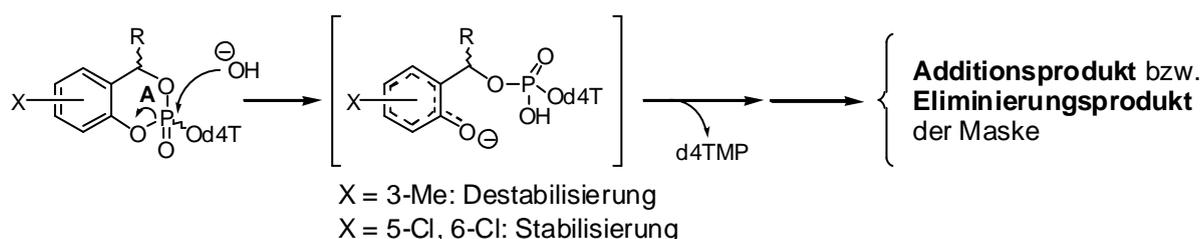


Abb. 104: Freisetzung von d4TMP aus Benzyl-funktionalisierten Pronucleotiden

Die nach der Spaltung am Phenyl-Sauerstoffatom auftretende negative Ladung wird im Aryl-Ring delokalisiert. Die Anwesenheit einer 3-Methyl-Gruppe am Aromaten begünstigt die anschließende Freisetzung von d4TMP (vgl. Kap. 4.4.4.2). Dagegen verringern die Aryl-Substituenten 5-Chlor und 6-Chlor die Elektronendichte im aromatischen System, die anschließende Folgereaktion zu d4TMP wird dadurch verlangsamt (vgl. Kap. 4.4.4.2 und 4.4.4.5). Als Abbauprodukte der Maske konnten bei Anwesenheit der C-H-acidifizierenden Gruppen 7-ECM, 7-MSM bzw. 7-CM in der Benzyl-Seitenkette die Eliminierungsprodukte **63'**, **64'** bzw. **70'** nachgewiesen werden. In den übrigen Fällen wurden dagegen nur die Salicylalkohole (Additionsprodukte) **65**, **66**, **68** und **69** erhalten (vgl. Kap. 4.4.2, 4.4.3, 4.4.4).

In Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Jan Balzarini am Rega Institut der Universität Leuven, Belgien wurden *in vitro* Zelltests mit allen im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Prodrugs durchgeführt (vgl. Kap. 4.9). Dabei wurden als Testsystem humane T-Lymphozyten (CEM/O) verwendet, die mit HIV-1 bzw. HIV-2 infiziert wurden. Die d4T-Prodrugs wurden zusätzlich auch in Thymidin-Kinase defizienten (CEM/TK⁻), HIV-2 infizierten Zellen auf ihre anti-HIV-Aktivität getestet. Die Untersuchungen ergaben für alle Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-NMPs – im Vergleich zu den für nicht Benzyl-substituierte 7-H-*cycloSal*-NMP's gemessenen Daten – leider nur mäßige Aktivitäten. Doch steht die erfolgreiche Beeinflussung des Hydrolyseverhaltens, d. h. die Verhinderung der Entstehung "falscher Diester", mit den gemessenen Aktivitäten in Thymidin-Kinase defizienten Zellen in gutem Einklang. Hauptursache für die dennoch nur mäßigen Aktivitäten sollten somit die im Vergleich zu entsprechenden Prototyp-Verbindungen zu geringen Halbwertszeiten sein.

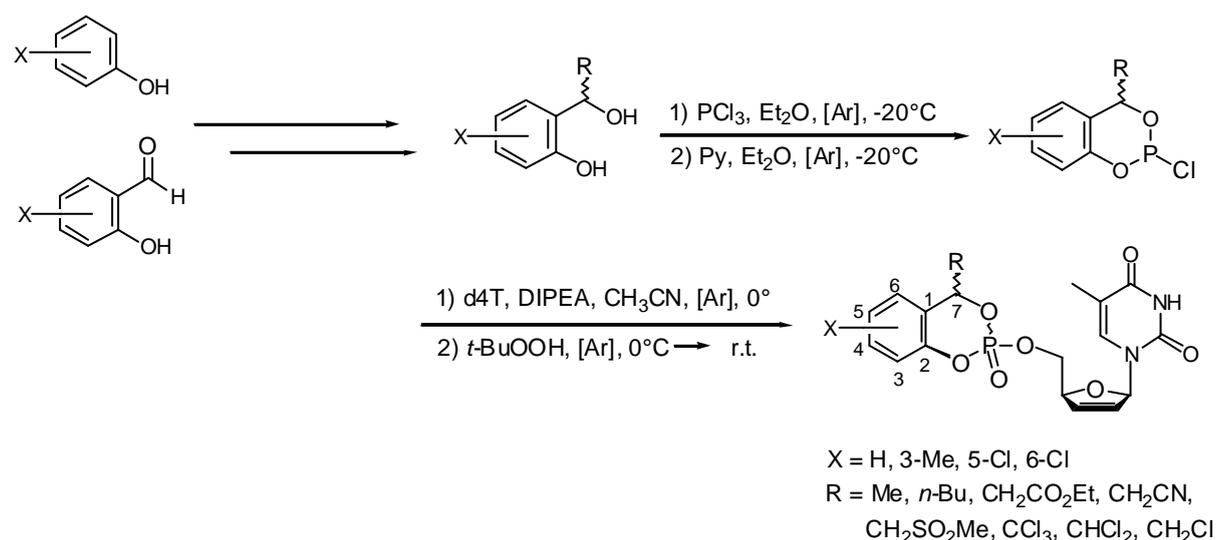
Aufgrund der in den Zelltests gemessenen Cytotoxizitäten, die sich – unabhängig von der Beschaffenheit des Abbauproduktes der *cycloSal*-Masken (Additionsprodukt vs. Eliminierungsprodukt) und dem damit verbundenen Abbaumechanismus des Chinonmethid-Intermediats (nucleophiler Abfang vs. Eliminierung eines acidifizierten Protons) – nur unwesentlich unterscheiden, erscheint es nicht länger angebracht, die Chinonmethid-Intermediate als Quelle für Cytotoxizität anzunehmen.

Summary

CycloSaligenyl-(cycloSal-) pronucleotides have been shown to deliver anti-HIV active nucleotides in cells *via* a pH-driven selective chemical hydrolysis^[54]. During hydrolysis most probably a quinone methide intermediate is formed that is trapped by water to yield a salicylic alcohol as the by-product.

Benzyl-functionalized *cycloSal*-d4TMPs as a new type of *cycloSal* pronucleotides have been developed to influence the hydrolysis pathway towards forming a styrene-type derivative as the by-product instead (see chapter 2.2).

The benzyl-functionalized prodrugs have been synthesized in a three-step synthesis each, starting either from salicylic aldehyde- or phenol-derivatives. First the salicylic alcohols were obtained either after aldol-type additions of appropriate nucleophiles to the salicylic aldehydes or after *ortho*-hydroxyalkylations of phenols. These alcohols then were used to prepare cyclic chlorophosphites by condensation reactions with trichlorophosphite. Once obtained the cyclic chlorophosphites were used as phosphitylating agents for d4T in the third step. The synthesis was completed by oxidation of the intermediately obtained phosphite triesters to the corresponding phosphotriesters with *tert*-butyl hydroperoxide (see chapters 4.1-4.3).



The prodrugs were tested for their anti-HIV activity and their hydrolysis half-lives were determined in phosphate buffer solution (see chapters 4.4.1 and 4.9). The formation of two different types of hydrolysis products was observed and could be rationalized on

the basis of two competing degradation pathways (see chapter 4.8). The relevant products were identified by their HPLC retention times, UV-spectra, ESI⁺-MS as well as ESI⁺-MS/MS spectrometry and ³¹P-NMR-spectroscopy (see chapters 4.4.2-4.4.4). The product ratio was determined by their corresponding ³¹P-NMR integrals at the end of hydrolysis (see chapter 4.4.4). The different product ratios could be correlated to the different benzyl substituents. Further support for that correlation was obtained by *ab initio* calculations with GAUSSIAN 98 (see chapter 4.5).

6 Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Ergebnisse beschrieben, die wichtige Beiträge zum Verständnis des Hydrolyseverhaltens von Benzyl-funktionalisierten *cycloSal*-NMPs als einem neuen Typ von *cycloSal*-NMPs liefern. Den Schwerpunkt bildeten dabei Experimente, die Belege für eine mechanistische Interpretation lieferten. Schließlich gelang es, durch gezielte Substitutionen am *cycloSal*-Gerüst eine durch verschiedene Benzyl-Substituenten zunächst ausgelöste Entstehung von Konkurrenzprodukten bei der Hydrolyse wieder auszuschalten.

Unberücksichtigt blieben dabei stereochemische Aspekte. So wurden in den Synthesen der Benzyl-substituierten *cycloSal*-NMPs zwei neue stereogene Zentren erzeugt: am Benzyl-C-Atom sowie an der Phosphat-Gruppe. Alle Zielverbindungen wurden daher als Gemische von vier Diastereomeren in variablen Diastereomeren-Verhältnissen erhalten. Abbildung 105 zeigt alle vier möglichen Diastereomere am Beispiel der Benzyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs.

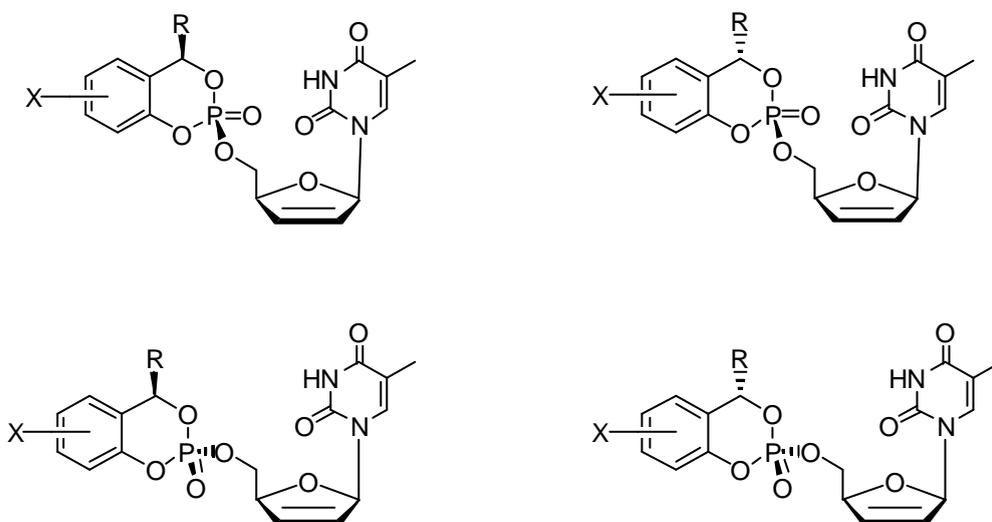


Abb. 105: Vier diastereomere Benzyl-funktionalisierte *cycloSal*-d4TMPs

In den durchgeführten Hydrolyseexperimenten wurden stets die nach den Synthesen erhaltenen Diastereomergemische eingesetzt. Es deutete sich mehrfach an, dass die einzelnen Diastereomere sich z. T. in ihren Hydrolysegeschwindigkeiten deutlich unterscheiden. Aus diesem Grunde könnte es ein Ziel für weiterführende Arbeiten sein, die einzelnen Diastereomere getrennt in Hydrolysestudien zu untersuchen und zu klären, in welchen Zusammenhang die absoluten Konfigurationen an den neuen stereogenen Zentren mit den Hydrolysehalbwertszeiten zu bringen sind. Außerdem

könnte dann auch die Frage geklärt werden, ob die verschiedenen Diastereomere zu verschiedenen Hydrolyseproduktverhältnissen führen. Diese Hydrolysestudien für die getrennten Diastereomere könnten wieder unterstützt werden durch DFT-Rechnungen, ebenfalls unter genauer Berücksichtigung der jeweiligen Konfigurationen.

Auch der Grund für die Entstehung der "falschen Diester" bei den Hydrolysen der in Benzyl-Position Chlormethyl-substituierten Prodrugs **38-39** (vgl. Kap. 4.4.4.4) konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden. Um zu klären, in wieweit sterische Effekte einen Einfluß auf seine Bildung ausüben, könnten die entsprechenden Fluormethyl-substituierten Derivate, ausgehend von den korrespondierenden Fluormethyl-substituierten Salicylalkoholen, dargestellt werden (Abb. 106). So beschreiben Gong *et al.*^[112] die Darstellung von 7-Trifluormethyl-salicylalkohol, ausgehend von Phenol. Bei tiefen Temperaturen sollte die Deprotonierung von Difluormethan^[113] mit Hilfe von Methyllithium Difluormethylolithium liefern. Dieses sollte nach nucleophiler Reaktion mit Salicylaldehyd **103a** den 7-Difluormethyl-salicylalkohol liefern (vgl. Darstellung von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68**, Kap. 4.1.5). 7-Monofluormethyl-salicylalkohol schließlich sollte durch Reduktion von *o*-Fluor-*ortho*-hydroxyacetophenon^[114] zugänglich sein (vgl. Darstellung von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69**, Kap. 4.1.6).

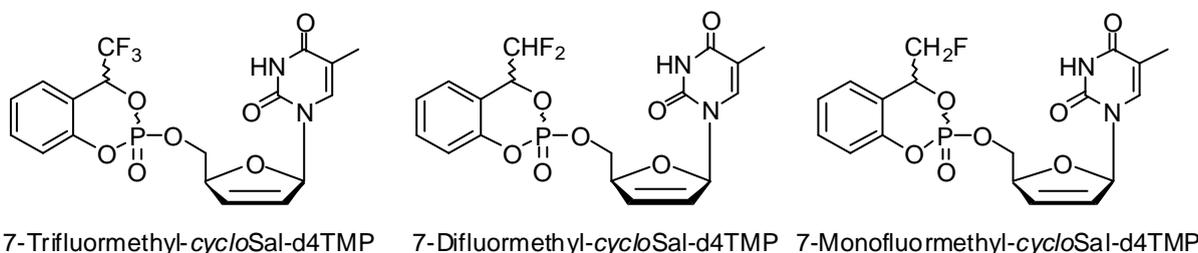


Abb. 106: In Benzyl-Position Fluormethyl-substituierte *cycloSal*-d4TMPs

Der räumliche Anspruch einer Trifluormethyl- bzw. Difluormethyl-Gruppe im Vergleich zu einer Trichlormethyl- bzw. Dichlormethyl-Gruppe sollte deutlich geringer sein, so dass bei entsprechenden Hydrolyseexperimenten mit den Fluormethyl-substituierten *cycloSal*-d4TMPs die Bildung von "falschem Diester" nicht zu beobachten sein sollte. Dies könnte dann als Hinweis darauf angesehen werden, dass die Benzyl-Substituenten 7-Trichlormethyl (Verbindung **39**) und 7-Dichlormethyl (Verbindung **38**) die Entstehung von "falschem Diester" aufgrund ihres räumlichen Anspruchs und dadurch hervorgerufene zusätzliche Spannungseffekte verursacht haben.

Weiterhin haben die Hydrolysestudien mit den Chlormethyl-substituierten Prodrugs **38-39** ergeben, dass die Hauptreaktion in beiden Fällen die Bildung von Benzylphosphatdiester ("richtiger Diester") ist; eine Folgereaktion zu d4TMP konnte für die "richtigen Diester" **49** jedoch gar nicht bzw. für **48** stark verlangsamt beobachtet werden. Daher wäre insbesondere 7-Dichlormethyl-*cycloSal*-d4TMP **38** ein guter Kandidat, um den Einfluß verschiedener Donor-Substituenten am Aryl-System (3-Methyl, 5-Methyl, 3,5-Dimethyl, Abb.107) auf die Folgereaktion der "richtigen Diester" zu d4TMP, d. h. die Spaltung der Benzylphosphatester-Bindung, zu studieren. Vor dem Hintergrund der Ergebnisse dieser Arbeit ist zu erwarten, dass die genannten Donor-Substituenten den ersten Schritt der Hydrolyse zum "richtigen Diester" verlangsamen. Die Dichlormethyl-Gruppe als Benzyl-Substituent sollte aufgrund ihrer elektronischen Eigenschaften ausreichen, um die gleichzeitige Bildung von "falschem Diester" zu unterbinden.

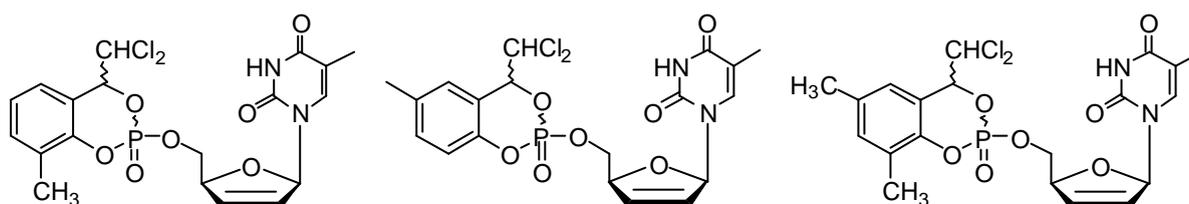


Abb. 107: Am Aryl-System Donor-substituierte 7-Dichlormethyl-*cycloSal*-d4TMPs

Nach der Spaltung der Phenylphosphatester-Bindung im ersten Hydrolyseschritt sollte dann die anschließende Spaltung des Benzylphosphatesters durch zusätzliche Donor-Substituenten am Aryl-Ring erleichtert werden.

Unter Berücksichtigung des Zieles, den Abbauweg der *cycloSal*-Maske derart zu beeinflussen, dass als Produkt ein Eliminierungsprodukt statt des Additionsproduktes (Salicylalkohol-Derivat) gebildet wird, ergibt sich ein weiterer Ansatzpunkt für zukünftige Arbeiten. In Hydrolysestudien mit den Prodrugs, deren Benzyl-Substituent zusätzlich noch eine C-H-acidifizierende Gruppe trägt (7-ECM, 7-MSM, 7-CM), konnte gezeigt werden, dass als Abbauprodukt der Maske das entsprechende Eliminierungsprodukt entsteht. Die besten Ergebnisse in Bezug auf Produktverhältnis (d4TMP : "falscher Diester") sowie Hydrolysehalbwertszeit wurden dabei mit der ECM-Gruppe als Benzyl-Substituenten erzielt (Verbindungen **33**). Der höchste Anteil an d4TMP wurde erhalten, wenn zusätzlich ein 5-Chlor- bzw. 6-Chlor-Substituent am Aryl-Ring anwesend war (**33c** bzw. **33d**). Allerdings wurde durch diese Substituenten die Hydrolysehalbwertszeit deutlich verkürzt.

Andererseits wurde bei Anwesenheit der 3-Methyl-Gruppe in **33b** in Bezug auf die Hydrolysedauer das beste Ergebnis erzielt, doch führte diese Substitution gleichzeitig zu einem höheren Anteil des "falschen Diesters" an den Hydrolyseprodukten. Vor diesem Hintergrund erscheint die Synthese der Verbindung 3-Me,6-Cl,7-ECM-*cycloSal*-d4TMP interessant. Hydrolysestudien sollten dann Aufschluss darüber geben, ob es durch das vorgeschlagene Substitutionsmuster gelingt, die Konkurrenzreaktion zum "falschen Diester" zu verhindern, ohne dass die Hydrolysehalbwertszeit entscheidend verkürzt wird.

7 Experimentalteil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Lösungsmittel

Acetonitril, C_2H_3N [41.05]; Fluka Nr. 00709, puriss.; absolut über Molekularsieb ($H_2O < 0.001 \%$); Sdp. $82 \text{ }^\circ\text{C}$.

Dichlormethan; CH_2Cl_2 [84.93]: technische Qualität; Sdp.: $39\text{-}40 \text{ }^\circ\text{C}$; über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.

Diethylether, $C_4H_{10}O$ [74.11]; technische Qualität; Sdp.: $34 \text{ }^\circ\text{C}$; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas abdestilliert.

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

Essigsäureethylester, $C_4H_8O_2$ [88.11]; technische Qualität; Sdp.: $77 \text{ }^\circ\text{C}$; über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.

Methanol; CH_4O [32.04]; technische Qualität; Sdp. $64 \text{ }^\circ\text{C}$; bei Normaldruck destilliert.

Ethanol; C_2H_5O [46.07]; technische Qualität; Sdp. $78 \text{ }^\circ\text{C}$; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas abdestilliert.

n-Heptan; C_7H_{16} [100.20]; technische Qualität; Sdp.: $68 \text{ }^\circ\text{C}$; im Vakuum destilliert.

Petrolether (50-70); technische Qualität; Sdp.: $50\text{-}70 \text{ }^\circ\text{C}$; im Vakuum destilliert.

Pyridin; C_5H_5N [79.10]; Fluka Nr. 82704, puriss.; absolut über Molekularsieb ($< 50 \text{ ppm } H_2O$); $> 99.8 \%$; Sdp.: $116 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tetrahydrofuran (THF); C_4H_8O [72.11]; Fluka Nr. 87371, puriss.; über Molekularsieb ($H_2O \leq 0.005 \%$); $\geq 99.5 \%$; Sdp.: $66 \text{ }^\circ\text{C}$.

Toluol; C_7H_8 [92.14]; Fluka Nr. 89677, puriss.; absolut über Molekularsieb ($H_2O \leq 0.005 \%$); $\geq 99.5 \%$; Sdp.: $111 \text{ }^\circ\text{C}$.

7.1.2 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie

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

Präparative Dünnschichtchromatographie

Mittels eines Chromatotrons der Firma Harrison Research, Modell 7924 T, wurden Substanzgemische mit Rohausbeuten von maximal 4 g getrennt. Als Trennmittel diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF₂₅₄ (Merck Nr.: 7749) in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Durchmesser: 20 cm). Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm.

Präparative Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie)

Substanzgemische mit mehr als 4.00 g Rohausbeute wurden über eine Säule mit leichtem Überdruck aufgereinigt. Als Trennmittel wurde Merck Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) verwendet.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

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

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

HPLC-Methoden:

- 1) Analytische Reinheitskontrollen/Bestimmung der Retentionszeiten t_R : Acetonitril-Gradient in Wasser von 5-98 % in 20 min, dann 15 min isokratisch Acetonitril/Wasser 5:95 v/v, mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm.
- 2) Für die Hydrolysekinetiken wurde ein Acetonitril-Gradient in Wasser von 5-100 % in 20 min, dann 15 min isokratisch Acetonitril/Wasser 5 : 95 v/v, mit einer Flußrate von 0.5 mL/min und einer UV-Detektion bei 240-260 nm verwendet.

7.1.3 Spektroskopie

Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden in der spektroskopischen Abteilung der Instituts für organische Chemie auf Bruker-Geräten aufgenommen. Auf dem Modell AMX 400 wurden 400 MHz- ^1H -NMR- und 100 MHz- ^{13}C -NMR-Spektren gemessen. Auf dem Modell DRX 500 wurden 500 MHz- ^1H -NMR-, 125 MHz- ^{13}C -NMR und 202 MHz- ^{31}P -NMR-Spektren gemessen. Zusätzlich wurden von einigen Verbindungen ^1H , ^1H - sowie ^1H , ^{13}C -Korrelationsspektren (COSY) aufgenommen (Modell DRX 500). Zur Interpretation der ^1H -NMR-Spektren der Pro-Nucleotide wurden darüber hinaus *J*-Resolved Spektren gemessen.

Die chemische Verschiebung δ [ppm] wurde auf die Lösungsmittelsignale bezogen, wobei DMSO- d_6 auf 2.49 ppm (^1H) bzw. 39.70 ppm (^{13}C) und CDCl_3 auf 7.27 ppm (^1H) bzw. 77.00 ppm (^{13}C) kalibriert wurde. Die Verschiebungen der ^{31}P -NMR-Signale wurden gegen einen externen Standard von 85 %-iger Phosphorsäure angegeben.

Massenspektrometrie (MS)

Die ESI^+ -MS und ESI^+ -MS/MS-Experimente mit Hydrolyselösungen wurden auf einem Finnigan MAT 9 5 XL Trap-Massenspektrometer durchgeführt und mit der Software ISIS 8.1 nachbearbeitet. Die Zuführung der Probenlösungen wurde mit einer Havard-Spritzenpumpe bzw. einer Finnigan Mikro-ESI Einrichtung erreicht. Der für die entsprechenden Hydrolysen verwendete Puffer enthielt Imidazol als Puffersubstanz.

Aus diesem Grunde ergaben die untersuchten Substanzen bei ESI⁺-Ionisierung Pseudo-Molekülionen in Form von Imidazolium-Addukten.

In einigen Fällen wurde zur massenspektrometrischen Charakterisierung der Zielverbindungen ESI⁺-MS und ESI⁺-MS/MS-Experimente auf einem Finnigan MAT 9 5 XL Trap-Massenspektrometer durchgeführt. In diesen Fällen wurden die Molekülionen in Form von Natriumaddukten erhalten.

Die Charakterisierung der Zielverbindungen durch FAB-MS bzw. hochaufgelöste FAB-MS erfolgte auf einem Micromass VG 70-250 S Massenspektrometer in einer *m*-Nitrobenzylalkohol-Matrix mit Polyethylenglycol als Referenzsubstanz (durchschnittliches Molekulgewicht: 600 g/mol).

7.1.4 Geräte

Gefriertrocknung

Wässrige Lösungen wurden an der Gefriertrocknungsanlage Amsco/Finn-Aqua Lyovac GT2 lyophilisiert.

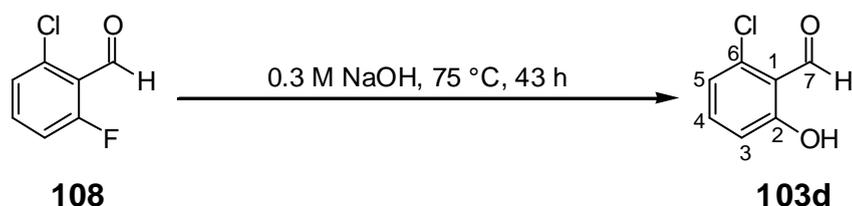
Thermomixer

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

7.2 Darstellung der Salicylalkoholderivate 15d sowie 63-72

7.2.1 Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol 15d

7.2.1.1 Synthese von 6-Chlor-salicylaldehyd 103d^[88]



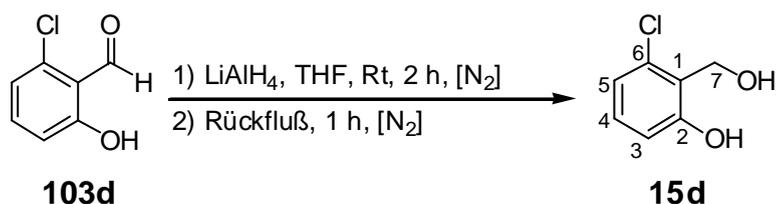
Es wurden 10.0 g (63.1 mmol) 2-Chlor-6-fluor-benzaldehyd **108** in 700 mL 0.3 M Natronlauge vorgelegt und 43 h bei 75 °C gerührt. Die zunächst trübe Lösung ging dabei in eine klare gelbe Lösung über. Anschließend wurde die Lösung zunächst zweimal mit jeweils 150 mL Diethylether extrahiert, um nicht umgesetztes **108** abzutrennen. Daraufhin wurde die wässrige Phase mit 13.5 mL konz. Salzsäure schwach angesäuert ($\text{pH} > 7$) und dann mit zweimal jeweils 400 mL Diethylether extrahiert. Trocknen der vereinigten Etherphasen der zweiten Extraktion über Natriumsulfat und Abdestillieren des Lösungsmittels lieferte das Produkt **103d** in Form gelber Kristalle.

Ausbeute: 5.10 g (32.6 mmol, 52 %; Lit.^[88]: 40 %) gelbe Kristalle

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 6.96 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, ⁵J_{HH} = 0.5 Hz, H3), 7.05 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, H5), 7.52 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ³J_{HH} = 7.9 Hz, H4), 10.33 (d, 1 H, ⁵J_{HH} = 0.5 Hz, H7), 11.53 (br, 1 H, Phenyl-OH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 116.93 (C3), 117.91 (C1), 121.39 (C5), 136.11 (C6), 137.33 (C4), 162.62 (C2), 193.70 (C=O)

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.52

7.2.1.2 Synthese von 6-Chlor-salicylalkohol **15d**

Eine Suspension von 0.27 g (7.11 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 30 mL abs. THF wurde unter Stickstoff als Inertgas vorgelegt und eine Lösung von 1.11 g (7.11 mmol) 6-Chlor-salicylaldehyd **103d** in 20 mL abs. THF wurde unter Rühren bei Raumtemperatur innerhalb 15 min zugetropft. Nachdem man für 2 h bei Raumtemperatur rühren ließ wurde noch für eine weitere Stunde unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz bei Eiskühlung mit 2 N Salzsäure neutralisiert. Daraufhin wurde mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel abdestilliert. Man erhielt das Produkt **15d** in Form eines weißen Feststoffes.

Ausbeute: 1.05 g (6.62 mmol, 93 %) eines weißen Feststoffes

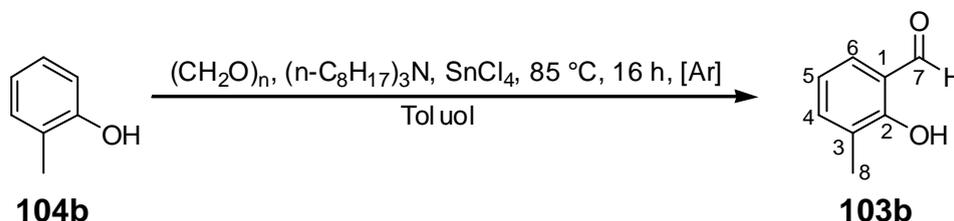
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 4.56 (s, 2 H, H7), 4.83 (br, 1 H, Benzyl-OH), 6.77 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.83 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.07 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, H4), 9.86 (br, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 55.48 (Benzyl-C), 114.45 (C3), 119.80 (C5), 125.49 (C1), 129.35 (C4), 134.65 (C6), 157.38 (C2)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.60

7.2.2 Synthese von 3-Methyl-salicylaldehyd und 5-Chlor-salicylaldehyd^[87]

7.2.2.1 Synthese von 3-Methyl-salicylaldehyd 103b



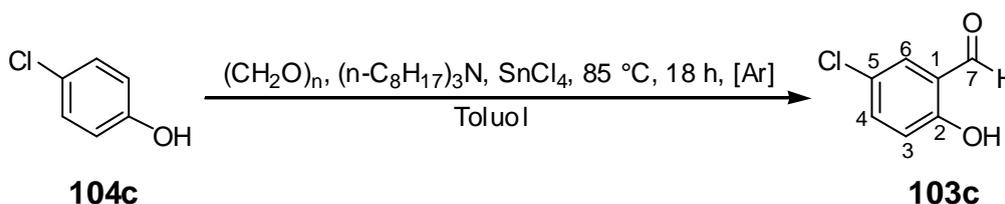
16.2 g (15.6 mL, 150 mmol) *ortho*-Kresol **104b**, 3.91 g (1.77 mL, 15.0 mmol) Zinntetrachlorid und 21.2 g (26.2 mL, 60.0 mmol) Trioctylamin wurden in 30 mL Toluol unter Argon-Atmosphäre gelöst und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 9.91 g (330 mmol) *para*-Formaldehyd zugegeben und für 16 h bei 80-90 °C gerührt. Dann wurde die abgekühlte Lösung auf 700 mL Wasser gegossen und mit 30 mL 2 N Salzsäure auf pH = 2 eingestellt. Die Lösung wurde mit Diethylether extrahiert; die vereinigten organische Extrakte wurden daraufhin mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend mit Natriumsulfat getrocknet. Abdestillieren der Lösungsmittel lieferte 44.7 g eines rotgelben Öls als Rohprodukt. Säulenchromatographie des Rohprodukts an Kieselgel (Elution mit einem Petrolether (60-70)/Dichlormethan-Gradienten von 25 bis 50 %) lieferte ein blassgelbes Öl als Produkt **103b**.

Ausbeute: 10.3 g (75.7 mmol, 50 %) **103b** als blassgelbes Öl

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 2.27 (s, 3 H, CH₃), 6.93 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H5), 7.39 (d, 2 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H4, H5), 9.87 (s, 1 H, Phenyl-OH), 11.28 (s, 1 H, H7)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl₃): 14.93 (CH₃), 119.30 (C5), 120.00 (C1), 126.77 (C3), 131.29 (C6), 137.75 (C4), 159.93 (C2), 196.66 (C=O)

DC R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.76

7.2.2.2 Synthese von 5-Chlor-salicylaldehyd **103c**

19.3 g (150 mmol) 4-Chlorphenol **104c**, 3.91 g (1.77 mL, 15.0 mmol) Zinntetrachlorid und 21.2 g (26.2 mL, 60.0 mmol) Trioctylamin wurden in 30 mL Toluol unter Argon-Atmosphäre gelöst und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 9.91 g (330 mmol) *para*-Formaldehyd zugegeben und für 18 h bei 85 °C gerührt. Die abgekühlte Lösung wurde in 700 mL Wasser gegossen und mit 2 N Salzsäure auf pH = 2 eingestellt. Die Lösung wurde dreimal mit 200 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organische Extrakte wurden zweimal mit 200 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend mit Natriumsulfat getrocknet. Das Produkt **103c** wurde nach Umkristallisation aus Petrolether 30-50 als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 9.20 g (59.0 mmol, 39 %) **103c** als weißer Feststoff

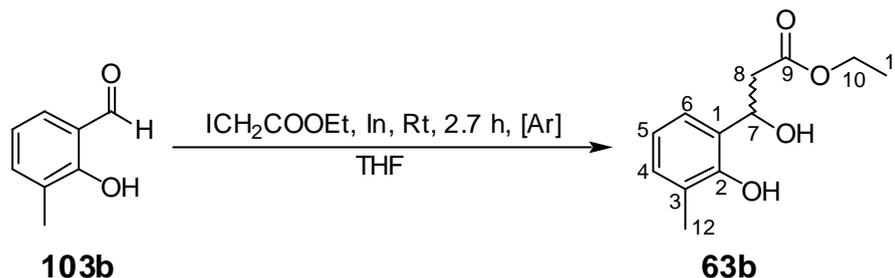
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 6.97 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, H3), 7.48 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H4), 7.55 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H6), 9.86 (s, 1 H, H7), 10.93 (s, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 119.45 (C3), 121.12 (C1), 124.68 (C5), 132.52 (C6), 136.95 (C4), 160.12 (C2), 195.48 (C7)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3418.1, 3240.8, 3047.0, 2878.9, 1681.9, 1660.7, 1471.3, 1276.6, 905.8, 831.5, 769.4, 702.7, 647.0

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.78

7.2.3 Synthese von 3-(2'-Hydroxy-3'-methyl-phenyl)-3-hydroxy-propionsäure-ethylester **63b** (3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 3.15 g (27.3 mmol) Indium-Pulver in 53 mL abs. THF suspendiert. Zu dieser Suspension wurden 1.91 g (1.70 mL, 14.0 mmol) 3-Methylsalicylaldehyd **103b** sowie 8.78 g (4.85 mL, 41.3 mmol) zuvor destilliertes Ethyliodacetat gegeben. Das grüne Reaktionsgemisch wurde 2.7 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dabei dünnschicht-chromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v). Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 250 mL Wasser gegeben und weitere 13.8 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration wurde die wässrige Lösung mit 300 mL, 200 mL und noch dreimal mit 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das resultierende braune Öl wurde am Ölpumpenvakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt (2.13 g) wurde in mehreren Trennungen am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol- bzw. Essigester-Gradienten von 0-20 %). Das Produkt **63b** fiel zunächst als farbloses Öl an, welches nach 1 d Aufbewahrung bei -5 °C zu einem weißen Feststoff kristallisierte.

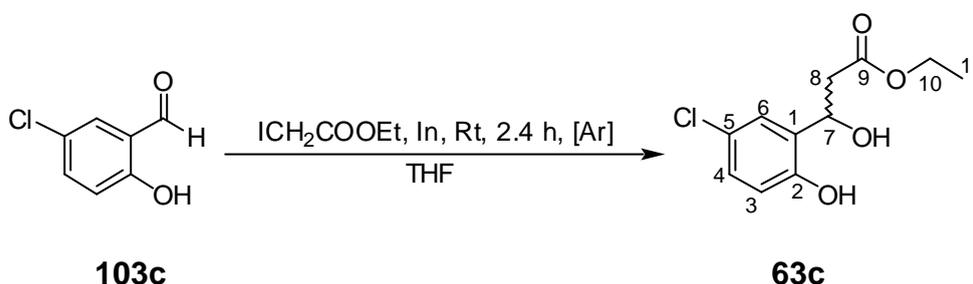
Ausbeute: 1.46 g (6.51 mmol, 47 %) **63b** als weißer Feststoff

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 1.17 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₂CH₃), 2.16 (s, 3 H, Aryl-CH₃), 2.47 (dd, 1 H, ²J_{HH} = 14.7 Hz, ³J_{HH} = 9.4 Hz, H8), 2.66 (dd, 1 H, ²J_{HH} = 14.7 Hz, ³J_{HH} = 3.9 Hz, H8'), 4.06 (q, 2 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₂CH₃), 5.28 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 9.4 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, Benzyl-H), 5.80 (br, 1 H, Benzyl-OH), 6.72 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H5), 6.96 (d, 1 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, H4), 7.10 (d, 1 H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, H4), 8.57 (s, 1 H, Phenyl-OH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 14.31 (CH_2CH_3), 16.42 (Aryl- CH_3), 43.13 (C8), 59.98 (CH_2CH_3), 66.79 (Benzyl-C), 119.40 (C5), 124.26 (C4), 124.61 (C3), 129.44 (C6), 130.57 (C1), 152.21 (C2), 170.99 (C=O)

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

7.2.4 Synthese von 3-(2'-Hydroxy-5'-chlor-phenyl)-3-hydroxy-propionsäure-ethylester **63c** (5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 3.00 g (26.0 mmol) Indium-Pulver in 35 mL abs. THF suspendiert. Zu dieser Suspension wurden 8.33 g (4.60 mL, 39.1 mmol) zuvor destilliertes Ethyliodacetat sowie 2.05 g (13.1 mmol) 5-Chlorsalicylaldehyd **103c**, gelöst in 20 mL abs. THF, gegeben. Das grüne Reaktionsgemisch wurde 2.4 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v). Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 250 mL Wasser gegeben und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration wurde die wässrige Lösung mit 300 mL, zweimal 150 mL und noch einmal mit 100 mL Diethylether extrahiert, wobei die Trennung der Phasen durch Aussalzen mit Natriumchlorid erreicht wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das so erhaltene Rohprodukt (3.71 g eines braunen Öls) wurde in mehreren Trennungen am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Essigester-Gradienten von 0-50 %).

Ausbeute: 2.86 g (11.7 mmol, 89 %) **63c** als blassgelbes Öl

^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.17 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.31 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, H8), 2.65 (dd, 1 H,

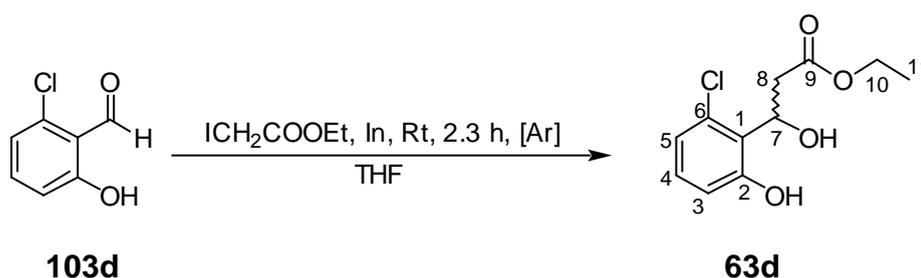
$^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, H8'), 4.05 (q, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}\underline{\text{H}}_3$), 5.16 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, Benzyl-H), 5.41 (br, 1 H, Benzyl-OH), 6.76 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, H3), 7.07 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H4), 7.30 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, H6), 9.80 (br, 1 H, Phenyl-OH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 14.46 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}\underline{\text{H}}_3$), 42.71 (C8), 60.10 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}\underline{\text{H}}_3$), 64.37 (Benzyl-C), 116.72 (C3), 122.88 (C1), 126.31 (C6), 127.55 (C4), 133.59 (C5), 152.59 (C2), 171.10 (C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3398, 2986, 1708, 1605, 1499, 1421, 1351, 1286, 1217, 1160, 1091, 1061, 1028, 807, 655, 599, 551

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

7.2.5 Synthese von 3-(2'-Hydroxy-6'-chlor-phenyl)-3-hydroxy-propionsäure-ethylester **63d** (6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol)



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 5.14 g (44.8 mmol) Indium-Pulver wurden in 50 mL abs. THF suspendiert und 14.4 g (8.00 mL, 67.2 mmol) zuvor frisch destilliertes Ethyliodacetat wurden zugegeben. Nach 5 min Rühren bei Raumtemperatur wurden 3.50 g (22.4 mmol) 6-Chlorsalicylaldehyd **103d**, gelöst in 20 mL abs. THF, zugegeben. Das grüne Reaktionsgemisch wurde 2.3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v). Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 600 mL Wasser gegeben und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Lösung wurde mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das so erhaltene Rohprodukt (5.88 g

eines braunen Öls) wurde in mehreren Trennungen am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-30 %).

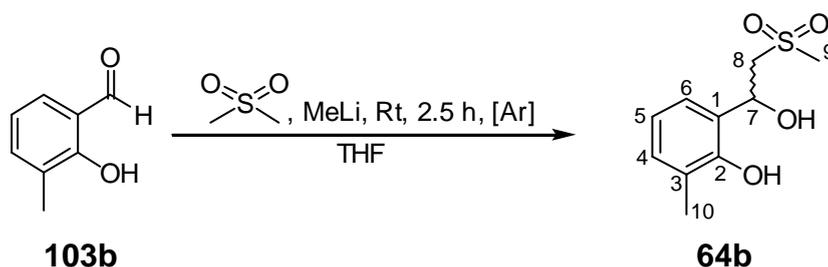
Ausbeute: 3.70 g (15.1 mmol, 67 %) **63d** als weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.16 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.65 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, H8), 2.84 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, H8'), 4.05 (q, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 5.54 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, Benzyl-H), 6.23 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, Benzyl-OH), 6.76 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.85 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.10 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, H4), 9.97 (br, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 14.22 (CH_2CH_3), 40.75 (C8), 60.13 (CH_2CH_3), 66.87 (Benzyl-C), 95.61 (C3), 120.44 (C5), 125.56 (C1), 129.40 (C4), 131.88 (C6), 157.49 (C2), 170.47 (C=O)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.62

7.2.6 Synthese von 6-Methyl-2-(1'-hydroxy-2'-methansulfonylethyl)-phenol (3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-salicylalkohol) **64b**



Zu einer Lösung von 4.52 g (48.0 mmol) Dimethylsulfon in 180 mL THF wurden unter einer Argon-Atmosphäre bei 0° C portionsweise 30.0 mL einer 1.6 M Methyllithium-Lösung in Diethylether (48.0 mmol) gegeben und für 15 min bei Raumtemperatur nachgerührt. Anschließend wurden 2.18 g (16.0 mmol) 3-Methyl-salicylaldehyd **103b** bei Raumtemperatur langsam zugetropft und noch 2.5 h nachgerührt. Zur Aufarbeitung wurde auf 0 °C abgekühlt, 100 mL Wasser vorsichtig zugegeben und mit

2 N Salzsäure neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel abdestilliert. Das Rohprodukt wurde solange mit Diethylether ausgewaschen, bis die Waschlösungen keine UV-aktiven Verbindungen mehr enthielten. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man ein gelbliches Öl als Rohprodukt. Das Produkt **64b** wurde nach Reinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-8 %) erhalten.

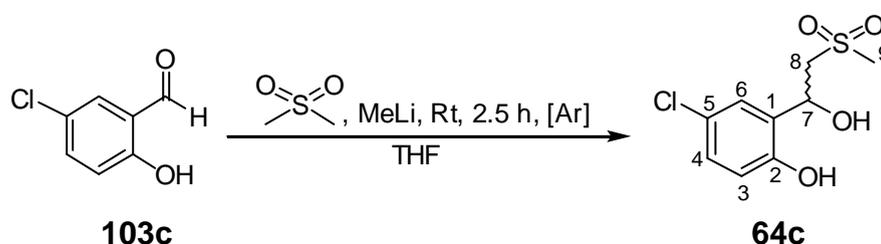
Ausbeute: 1.38 g (6.00 mmol, 38 %) **64b** als weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 2.16 (s, 3 H, Arxl- CH_3), 3.05 (s, 3 H, CH_3), 3.09 (d, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, H8), 3.39 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 14.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, 1 H, H8'), 5.36 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, Benzyl-H), 5.88 (br, 1 H, Benzyl-OH), 6.77 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H5), 6.99 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H4), 7.20 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H6), 8.55 (s, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 16.54 (Aryl- CH_3), 43.10 (CH_3), 60.63 (Benzyl-C), 64.12 (C8), 119.71 (C5), 124.18 (C6), 124.68 (C3), 129.81 (C4), 130.31 (C1), 151.36 (C2)

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.63

7.2.7 Synthese von 4-Chlor-2-(1'-hydroxy-2'-methansulfonylethyl)-phenol (5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-salicylalkohol) **64c**



4.52 g (48.0 mmol) Dimethylsulfon wurden in 170 mL THF unter Argon-Atmosphäre gelöst, bei 0° C portionsweise mit 27.5 mL einer 1.6 M Methyllithium-Lösung in Diethylether (44.0 mmol) versetzt und für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. 3.01 g (19.2 mmol) 5-Chlor-salicylaldehyd **103c** wurden in 12 mL THF gelöst und bei

Raumtemperatur langsam zugetropft. Nach 2.5 h wurde auf 0 °C abgekühlt, 200 mL Wasser vorsichtig zugegeben und mit 2 N Salzsäure neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel abdestilliert. Das Rohprodukt wurde solange mit Diethylether ausgewaschen, bis die Waschlösungen keine UV-aktiven Verbindungen mehr enthielten. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhielt man ein gelbliches Öl als Rohprodukt. Das Produkt **64c** wurde nach Reinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-5 %) erhalten.

Ausbeute: 1.55 g (6.20 mmol, 32 %) **64c** als weißer Feststoff

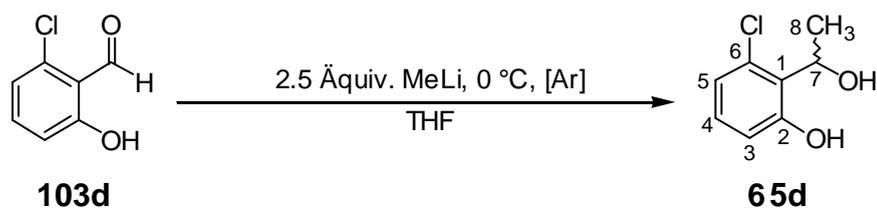
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 3.05 (s, 3 H, CH₃), 3.30-3.45 (m, 2 H, H8), 5.25 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.9 Hz, Benzyl-H), 5.89 (d, ³J_{HH} = 4.9 Hz, 1 H, Benzyl-OH), 6.80 (d, 1 H, ³J_{HH} = 8.7 Hz, H3), 7.12 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.7 Hz, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H4), 7.35 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, H6), 10.00 (s, 1 H, Phenyl-OH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 43.23 (CH₃), 59.87 (C8), 63.00 (Benzyl-C), 116.78 (C3), 122.89 (C1), 126.31 (C6), 128.02 (C4), 131.73 (C5), 152.30 (C2)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3368.1, 3035.7, 2933.7, 1606.1, 1494.5, 1419.6, 1333.3, 1287.6, 1125.1, 1059.3, 973.3, 811.5

DC R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.54

7.2.8 Synthese von 6-Chlor-7-methyl-salicylalkohol **65d**



Die Reaktion wurde unter Inertgasatmosphäre durchgeführt. Es wurden 1.50 g (9.58 mmol) 6-Chlor-Salicylaldehyd **103d** in 50 ml abs. THF bei 0 °C vorgelegt und langsam mit einer 1.6 M Lösung von Methyllithium in Diethylether (21.0 mL,

33.5 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde 20 min bei 0 °C und anschließend 40 min bei Raumtemperatur gerührt. Um überschüssiges Methyllithium zu hydrolysieren, wurden 50 mL Wasser vorsichtig unter erneuter Eisbadkühlung zugegeben. Anschließend wurde die Lösung mit 1 N HCl neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Trocknen im Ölpumpenvakuum konnte das Produkt **65d** als schwach gelber Feststoff isoliert werden.

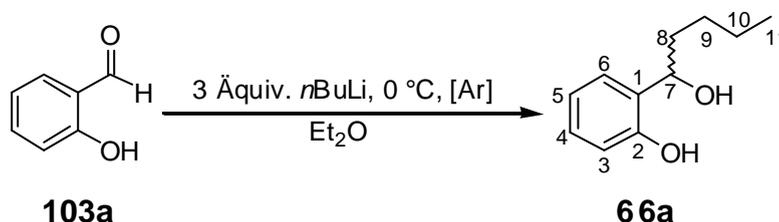
Ausbeute: 1.65 g (9.58 mmol, quantitativ) **65d** als schwach gelber Feststoff

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.40 (d, 3 H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, CH₃), 5.29 (q, 1 H, ³J_{HH} = 6.5 Hz, Benzyl-H), 6.51-6.66 (br, Benzyl-OH, 1H) 6.73 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Aryl-H3), 6.84 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, Aryl-H5), 7.08 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, Aryl-H4), 9.85-10.21 (br, 1 H, Phenyl-OH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 22.52 (CH₃), 67.33 (C7), 116.00 (C3), 120.45 (C5), 127.35 (C1), 129.17 (C4), 131.08 (C6), 157.59 (C2)

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.39

7.2.9 Synthese von 1-(2'-Hydroxyphenyl)-pentan-1-ol **66a** (7-Butyl-salicylalkohol)



Eine 15 %-ige Lösung von *n*-Butyllithium in *n*-Hexan (100 mL, 163.9 mmol) wurde unter Inertgasatmosphäre zusammen mit 100 mL abs. Diethylether vorgelegt. Bei Eisbadkühlung wurde eine Lösung von 4.73 g (4.90 mL, 46.9 mmol) Salicylaldehyd **103a** in abs. Diethylether zugetropft. Man ließ hierauf 30 min bei Raumtemperatur rühren und gab anschließend 80 mL Wasser hinzu. Darauf wurde unter erneuter

Eisbadkühlung mit 2 M Essigsäure neutralisiert, die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren der Lösungsmittel erhaltene Rohprodukt wurde säulen-chromatographisch gereinigt (Dichlormethan mit Ethylacetat-Gradienten von 0-10 % wurde hierbei als Laufmittel verwendet). Auf diese Weise konnte das Produkt **66a** als schwach gelbes Öl isoliert werden.

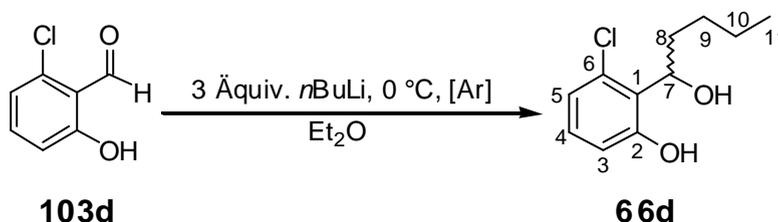
Ausbeute: 7.06 g (39.2 mmol, 83.6 %) **66a** als leicht gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 0.83 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, CH_3), 1.21-1.39 (m, 4H, 2 x H9, 2 x H10), 1.43-1.62 (m, 2H, 2 x H8), 4.81 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.6$ Hz, Benzyl-H), 4.95 (br, 1H, Benzyl-OH), 6.72 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.74 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 6.99 (ddd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H4), 7.26 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H6), 9.20 (br, 1H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 13.94 (CH_3), 22.44 (C10), 27.86 (C9), 36.86 (C8), 76.28 (Benzyl-C), 117.14 (C3), 119.63 (C5), 127.16 (C4), 127.46 (C1), 128.80 (C6), 155.51 (C2)

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.72

7.2.10 Synthese von 1-(2'-Hydroxy-6'-chlor-phenyl)-pentan-1-ol **66d** (6-Chlor-7-butyl-salicylalkohol)



Eine 15 %-ige Lösung von *n*-Butyllithium in *n*-Hexan (40 mL, 64.0 mmol) wurde unter Inertgasatmosphäre zusammen mit 40 mL abs. Diethylether vorgelegt. Bei Eisbadkühlung wurde eine Lösung von 2.00 g (12.8 mmol) 6-Chlor-Salicylaldehyd **103d** in abs. Diethylether zugetropft. Man ließ hierauf 1 h bei Raumtemperatur rühren und

gab anschließend 100 mL Wasser hinzu. Darauf wurde unter erneuter Eisbadkühlung mit 2 M Essigsäure neutralisiert, die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel konnte **66d** als leicht gelber Feststoff erhalten werden.

Ausbeute: 2.53 g (11.8 mmol, 92.3 %) **66d** als schwach gelber Feststoff

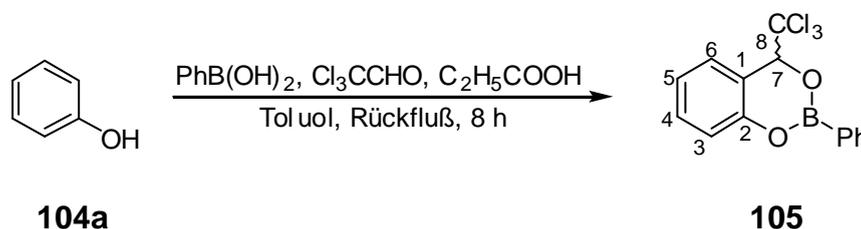
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 0.93 (t, 3H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_3), 1.39 (m, 3x 1 H, 1 x H9, 2 x H10), 1.53 (m, 1 H, 1 x H9), 1.79 (m, 1 H, 1 x H8), 1.91 (m, 1 H, 1 x H8), 2.86 (br, 1 H, Benzyl-OH), 5.41 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.6$ Hz, Benzyl-H), 6.78 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.86 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.07 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, H4), 8.85 (br, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 13.95 (CH_3), 22.35 (C10), 27.65 (C9), 35.42 (C8), 73.52 (Benzyl-C), 116.22 (C3), 120.88 (C5), 125.03 (C1), 129.06 (C4), 131.66 (C6), 157.28 (C2)

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.56

7.2.11 Synthese von 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67**^[85]

Darstellung des 7-Trichlormethyl-cyclosaligenyl-phenylboronat **105**



Zu einer Lösung von 25.1 g (16.6 mL, 170 mmol) Chloral in 200 mL Toluol wurden nacheinander 4.00 g (42.5 mmol) Phenol **104a**, 5.70 g (46.8 mmol) Phenylboronsäure und 0.94 g (0.95 ml, 12.8 mmol) Propionsäure gegeben und 8 h am Wasserabscheider unter Rückfluß erhitzt. Während dieser Zeit wurde immer wieder Chloral in Portionen nachgegeben: insgesamt nochmals 31.0 g (20.5 mL, 210 mmol). Anschließend wurde das Toluol abdestilliert und der Rückstand in 400 mL

Dichlormethan aufgenommen. Man extrahierte die Dichlormethan-Lösung mit insgesamt 300 mL Wasser und trocknete die organische Phase anschließend über Natriumsulfat. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel wurde das erhaltene Rohprodukt am Chromatotron gereinigt (Laufmittel Dichlormethan). Man erhielt das Produkt **105** in Form eines weißen Feststoffs.

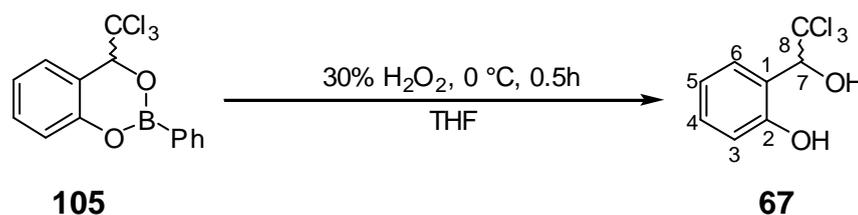
Ausbeute: 4.22 g (12.9 mmol, 30 %) **105** als weißer Feststoff

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.62 (s, 1 H, Benzyl-H), 7.16 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.21 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3) 7.46-7.50 (m, 3 H, 3 x Aryl-H), 7.54-7.59 (m, 2 H, 2 x Aryl-H), 8.08 (dd, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H4, H6)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d_6): 83.35 (Benzyl-C), 102.33 (C8), 118.31 (1 x Aryl-C), 118.42 (C3), 122.75 (C5), 127.89 (2 x Aryl-C), 130.04 (C1), 131.26 (C6), 132.13 (C4), 134.76 (3 x Aryl-C), 150.09 (C2)

DC: R_f -Wert (Diethylether/*n*-Hexan 2 : 1 v/v): 0.54

Spaltung des 7-Trichlormethyl-cyclosaligenyl-phenylboronats **105** zum 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67**



3.95 g (12.1 mmol) 7-Trichlormethyl-cyclosaligenyl-phenylboronat **105** wurden in 15 mL THF vorgelegt. Bei Eiskühlung wurden 12 mL 30 % Wasserstoffperoxid-Lösung zugegeben. Man ließ 30 min bei fortgesetzter Eiskühlung rühren, bevor 50 mL Wasser zugegeben und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, darauf mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und dann über Magnesiumsulfat getrocknet. Das nach Abdestillieren der Lösungsmittel erhaltene

Rohprodukt wurde chromatographisch aufgereinigt (Laufmittel Hexan mit Diethylether-Gradienten von 0-25 %).

Ausbeute: 2.04 g (8.45 mmol, 30 %) **67** als weißer Feststoff

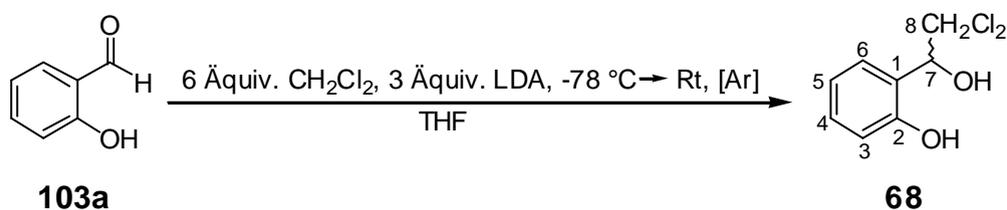
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 5.58 (s, 1 H, Benzyl-H), 6.79 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 6.80 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.99 (br, 1 H, Benzyl-OH), 7.15 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H4) 7.55 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H6), 9.78 (br, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 76.01 (Benzyl-C), 104.88 (C8), 95.35 (C3), 118.71 (C5), 124.55 (C1), 129.47 (C6), 129.89 (C4), 155.65 (C2)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.35

7.2.12 Synthese von 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68**

Durch nucleophile Addition an Salicylaldehyd: LDA als Base^[89]



10.2 g (7.70 mL, 120 mmol) Dichlormethan wurden in 50 mL abs. THF bei $-78 \text{ }^\circ\text{C}$ unter einer Argon-Atmosphäre vorgelegt und 20 mL einer 2.0 M Lösung von LDA (40 mmol) wurden innerhalb 10 min zugetropft. Dann wurden 2.44 g (2.09 mL, 20.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** zugegeben. Anschließend wurden weitere 10 mL 2.0 M LDA-Lösung zugegeben und weitere 2.5 h gerührt, wobei die Temperatur bis auf $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ anstieg. Nach 30 minütigem Nachrühren bei Raumtemperatur wurden 20 mL Wasser zugegeben und die Lösung mit 1 N Salzsäure neutralisiert. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit Diethylether wurden die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel wurde das so erhaltene Rohprodukt am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-15 %) gereinigt.

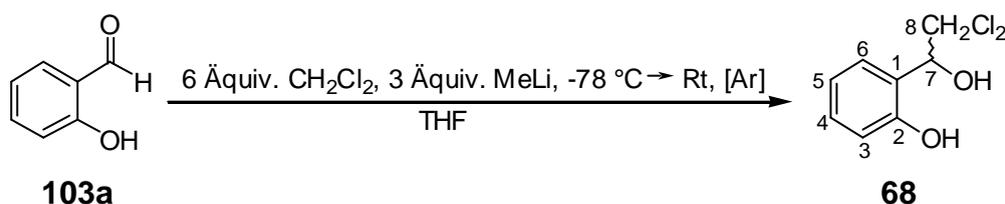
Ausbeute: 1.91 g (9.24 mmol, 46 %) **68** als gelbliche Kristalle

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 5.18 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, Benzyl-H), 6.21 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, Benzyl-OH), 6.23 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, H8), 6.79 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.80 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.10 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H4), 7.38 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H6), 9.78 (br, 1 H, Phenyl-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 71.94 (Benzyl-C), 76.65 (C8), 114.95 (C3), 118.96 (C5), 126.31 (C1), 128.10 (C6), 128.92 (C4), 154.10 (C2)

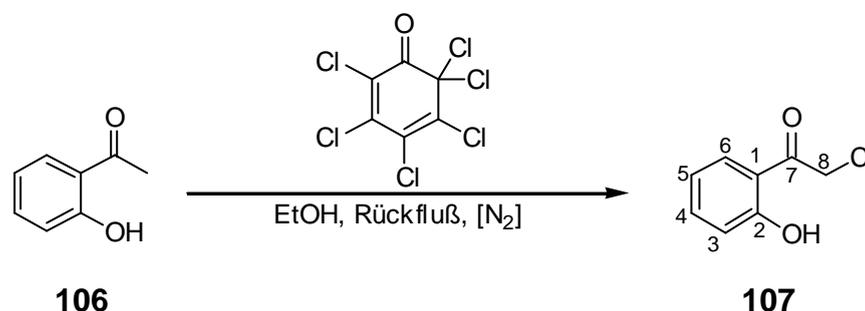
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.42

Durch nucleophile Addition an Salicylaldehyd: Methyllithium als Base



10.7 g (8.09 mL, 126 mmol) Dichlormethan wurden in 50 mL abs. THF unter Inertgas vorgelegt und auf -78 °C abgekühlt. 1.40 g Methyllithium (40.0 mL einer 5 %-igen Lösung in Diethylether, 64.0 mmol) wurden langsam und bei fortgesetzter Kühlung auf -78 °C innerhalb 1 h zugetropft. Nach Zugabe von 2.56 g (2.19 mL, 21.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** wurde der Ansatz für 1 h gerührt, wobei die Temperatur bis auf -35 °C anstieg. Nachdem man anschließend noch für weitere 1 h bei Raumtemperatur nachrühren ließ, wurden 50 mL Wasser zugegeben und die Lösung mit 1 N Salzsäure neutralisiert. Die nach Extraktion der wässrigen Phase mit Diethylether erhaltenen vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und hierauf gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel erhielt man eine ölige, braune Flüssigkeit, aus der das Produkt **68** als gelber Feststoff auskristallisierte.

Ausbeute: 4.30 g (21.0 mmol, quant.) **68** als gelbliche Kristalle

7.2.13 Synthese von 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **107**Darstellung von *o*-Chlor-*ortho*-hydroxy-acetophenon **107**^[86]

Die Reaktion wurde unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von 2.53 g (2.24 mL, 18.6 mmol) *ortho*-Hydroxy-acetophenon **106** in 40 mL abs. Ethanol wurde zusammen mit 5.60 g (18.6 mmol) 2,3,4,5,6,6-Hexachlor-2,4-cyclohexadien-1-on für 7 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde das nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt mehrfach aus *n*-Heptan/Dichlormethan (1 : 1 v/v) umkristallisiert.

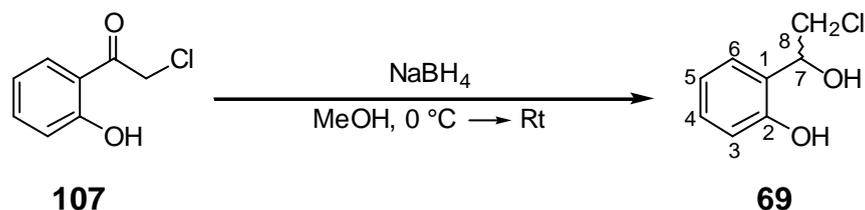
Ausbeute: 0.67 g (3.90 mmol, 21 %, Lit.^[86]: 66 %) **107** als weiße Nadeln

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 5.09 (s, 2 H, H8), 6.94 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, H5), 6.99 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, H3) 7.49 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, H2), 7.77 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, H1), 11.13 (br, 1 H, Phenyl-OH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 49.81 (C8), 117.67 (C3), 119.52 (C5), 120.76 (C1), 130.55 (C6), 135.90 (C4), 159.34 (C2), 187.07 (C=O)

DC: R_f-Wert (*n*-Hexan/Diethylether 4 : 1 v/v): 0.32

Reduktion des α -Chlor-*ortho*-hydroxy-acetophenons zum Salicylalkohol **69**



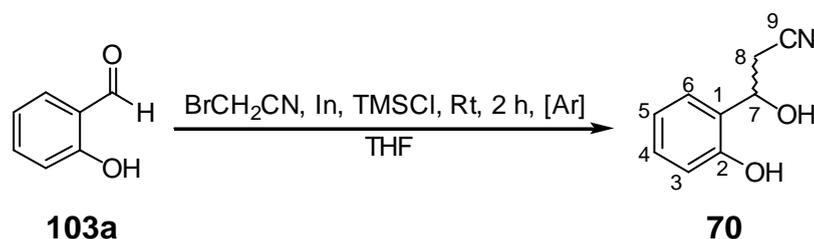
Es wurden 670 mg (3.93 mmol) α -Chlor-*ortho*-hydroxy-acetophenon **107** in 10 mL Methanol vorgelegt. Bei Eiskühlung wurden dann 165 mg (4.32 mmol) Natriumborhydrid zugegeben. Der Ansatz wurde dann zunächst 30 min bei fortgesetzter Kühlung belassen, anschließend wurde zur Vervollständigung der Reduktion noch für 45 min bei Raumtemperatur nachgerührt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt in 40 mL Wasser aufgenommen und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat und Abdestillieren der Lösungsmittel lieferte zunächst ein gelbes Öl als Rohprodukt, welches in einer Trennung am Chromatotron aufgereinigt wurde (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-5 %).

Ausbeute: 440 mg (2.55 mmol, 65 %) **69** als blass-gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 3.78 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, H8), 3.83 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$ Hz, H8'), 4.28 (br, 1 H, Benzyl-OH), 5.04 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, Benzyl-H) 6.89 (m, 2x 1 H, H3, H5), 7.06 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H6), 7.23 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H4), 7.69 (br, 1 H, Phenyl-OH)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.63

7.2.14 Synthese von 3-(2'-Hydroxyphenyl)-3-hydroxy-propionitril **70**^[90] (7-Cyanomethyl-salicylalkohol)



Die Reaktion wurde Inertgasatmosphäre durchgeführt. Es wurden 6.49 g (56.5 mmol) Indium-Puder mit 6.50 g (3.6 mL, 54.2 mmol) Bromacetonitril bei 0 °C in 5 mL abs. THF gelöst und für 10 min gerührt. Anschließend wurde die Lösung bei Raumtemperatur weitere 10 min gerührt. Nacheinander wurden 3.31 g (2.83 mL, 27.1 mmol) Salicylaldehyd **103a** und 7.54 g (10.3 mL, 81.4 mmol) Trimethylsilylchlorid bei 0 °C zugegeben und 1 h bei 0 °C sowie weitere 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Darauf wurde der Ansatz mit 60 mL 1 N HCl versetzt und 30 min gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und anschließend mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wurden die Lösungsmittel abdestilliert. Das Produkt **70** wurde am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 1-10 %) gereinigt.

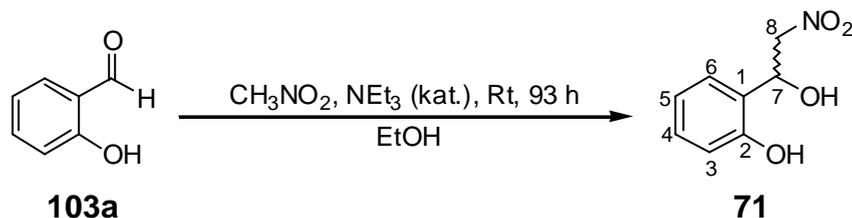
Ausbeute: 692 mg (3.04 mmol, 11 %, Lit.^[90]: 27 %) **70** als weißer Feststoff

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 2.69 (dd, 1 H, ²J_{HH} = 16.7 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, H8), 2.85 (dd 1 H, ²J_{HH} = 16.7 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz), 5.07 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, Benzyl-H), 5.75 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.6 Hz, Benzyl-OH), 6.77 (d, 1 H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H3), 6.79 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H5), 7.08 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, H4), 7.38 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, H6)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl₃): 26.32 (C8), 69.75 (Benzyl-C), 116.88 (C3), 117.53 (C9), 120.52 (C5), 125.43 (C1), 127.02 (C6), 129.81 (C4), 154.32 (C2)

DC R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.63

7.2.15 Synthese von 2-(2'-Hydroxyphenyl)-2-hydroxy-nitroethan **71** (7-Nitromethyl-salicylalkohol)



Eine Lösung von 5.85 g (5.00 mL, 47.9 mmol) Salicylaldehyd **103a**, 5.88 g (5.20 mL, 96.3 mmol) Nitromethan, 4.37 g (5.40 mL, 94.9 mmol) Ethanol und einer katalytischen Menge Triethylamin (ca. 0.2 mL) wurde 93 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit 0.4 mL Essigsäure neutralisiert und mit 40 mL Eiswasser versetzt. Nach Extraktion mit Diethylether, Trocknen der vereinigten organischen Phasen und Abdestillieren der Lösungsmittel erhielt man 9.90 g einer rotbraunen Flüssigkeit als Rohprodukt. Nach mehreren Trennungen am Chromatotron (Laufmittel: Dichlormethan mit Methanol-Gradient bzw. PE (40-60) mit Essigsäure-ethylester-Gradient) konnte das Produkt **71** erhalten werden.

Ausbeute: 6.05 g (33.1 mmol, 69 %) **71** als intensiv rotes Öl

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 4.35 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 12.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, H8), 4.75 (ddd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 12.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz, H8'), 5.50 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, Benzyl-H), 5.85 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz, Benzyl-OH), 6.81 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H3), 6.82 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, H5), 7.11 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H4), 7.38 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H6), 9.75 (br, 1 H, Phenyl-OH)

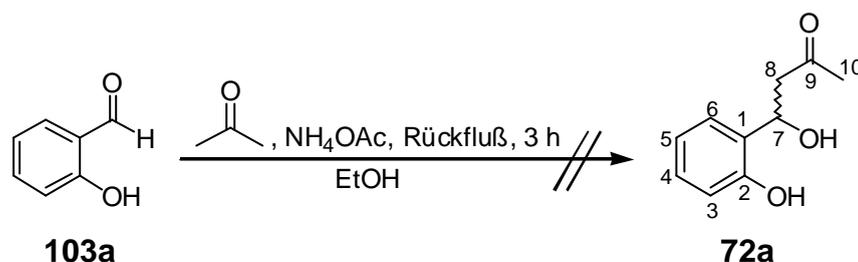
$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 65.76 (C7), 81.15 (C8), 95.18 (C3), 119.40 (C5), 127.08 (C6), 128.99 (C4), 129.53 (C1), 157.5 (C2)

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.79

7.2.16 Versuch der Synthese von 4-(2'-hydroxyphenyl)-4-hydroxy-butan-2-on (7-Methancarboxylmethyl-salicylalkohol) 72a

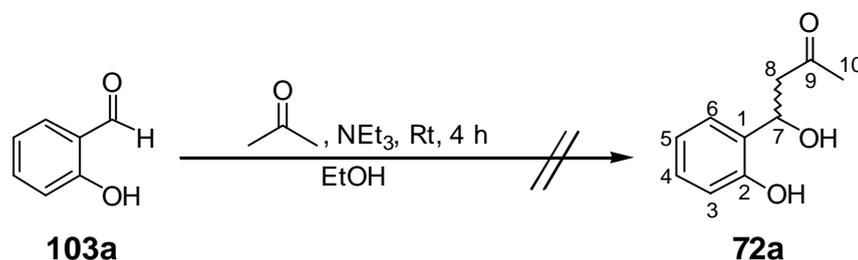
7.2.16.1 Aldol-Additionen von Aceton an Salicylaldehyd 103a

Mit Ammoniumacetat als schwachem Säurekatalysator^[91]



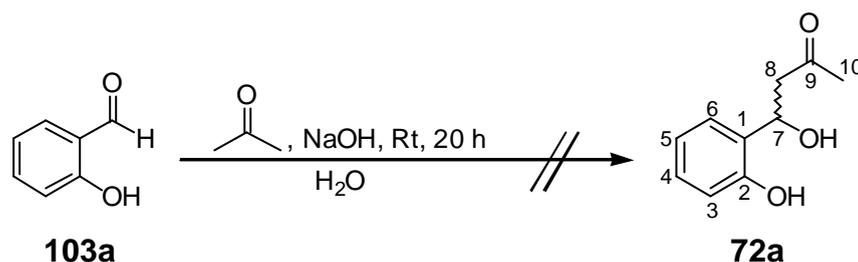
Zu einer Lösung von 4.63 g (60.0 mmol) Ammoniumacetat in 30 mL Ethanol wurden 2.61 g (3.31 mL, 45.0 mmol) Aceton und 3.66 g (3.13 mL, 30.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** gegeben und für 3 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf 0 °C wurde mit 20 mL Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel wurden 3.40 g eines braunen Feststoffes als Rohprodukt erhalten. Nach Aufreinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-40 %) konnten jedoch nur Edukt- bzw. Nebenprodukt-Fractionen erhalten werden. Das gewünschte Produkt konnte jedoch nicht erhalten bzw. nachgewiesen werden.

Mit Triethylamin als Base



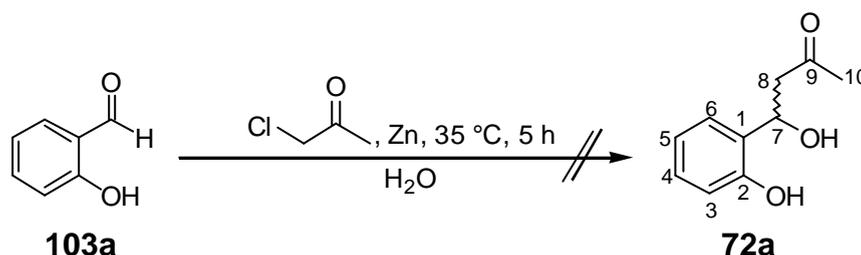
5.85 g (5.0 mL, 48.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** wurden zusammen mit 5.58 g (7.05 mL, 96.0 mmol) Aceton und 4.42 g (5.50 mL, 96.0 mmol) Ethanol in Gegenwart von 5.34 g (7.41 mL, 52.8 mmol) Triethylamin 4 h bei Raumtemperatur gerührt. DC-Kontrolle (Dichlormethan/Methanol = 9 : 1 v/v) gab jedoch keinen Hinweis auf eine erfolgte Umsetzung. Der Ansatz wurde verworfen.

In wässriger Natronlauge



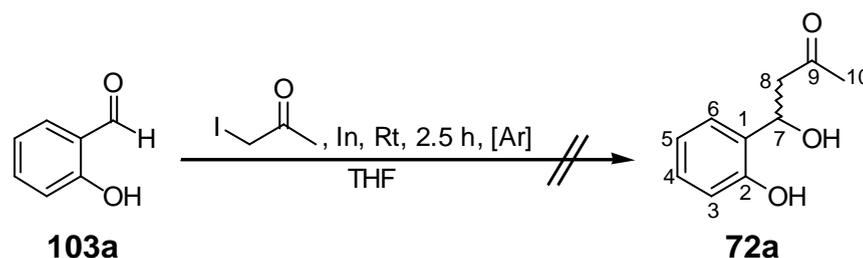
12.2 g (10.4 mL, 100 mmol) Salicylaldehyd **103a** wurden zusammen mit 8.21 g (11.0 mL, 150 mmol) Aceton und in Gegenwart von 5.50 g (138 mmol) NaOH in 500 mL Wasser für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. DC-Kontrolle (Dichlormethan/Methanol=9 : 1 v/v) gab jedoch keinen Hinweis auf eine erfolgte Umsetzung. Der Ansatz wurde verworfen.

7.2.16.2 Klassische Reformatsky-Reaktion



122 mg (0.10 mL, 1.00 mmol) Salicylaldehyd **103a** wurden zusammen mit 262 mg (4.00 mmol) Zinkpulver und 139 mg (0.12 mL, 1.50 mmol) α -Chloroacetone in 5 mL Wasser für 5 h bei 35 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit Diethylether extrahiert und das Rohprodukt $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch analysiert. Eine Produktbildung wurde allerdings nur in Spuren erkennbar.

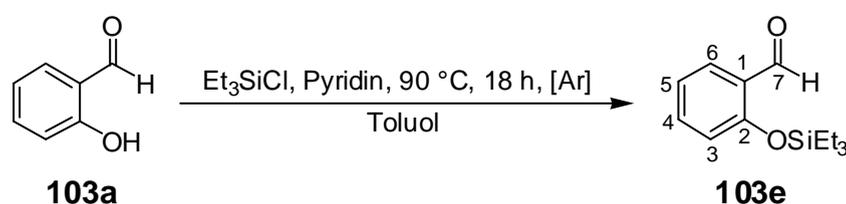
7.2.16.3 Variante der Reformatsky-Reaktion mit metallischem Indium



Zu einer Suspension aus 3.00 g (26.0 mmol) metallischem Indium in 50 mL abs. THF unter Inertgas wurden unter Kühlung 7.18 g (39.0 mmol) zuvor destilliertes α -Iodacetone gegeben. Es bildete sich eine gelbe Suspension. Nach 10 min Rühren wurden 1.59 g (1.36 mL, 13.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** zugegeben und der Ansatz für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Es bildete sich sofort eine grüne Suspension. DC-Kontrolle (Dichlormethan/Methanol=9 : 1 v/v) deutete Umsetzung an. Die grüne Suspension wurde auf 200 mL Wasser gegossen und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat und Abdestillieren der Lösungsmittel lieferte 4.35 g eines intensiv roten Öls als Rohprodukt. Ein vom Rohprodukt aufgenommenes $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ließ jedoch nur Eduktsignale erkennen.

7.2.16.4 Synthese von 4-(2'-O-Triethylsiloxophenyl)-4-hydroxy-butan-2-on 72b

Synthese von O-Triethylsilyl-salicylaldehyd 103e



Es wurden 4.88 g (4.19 mL, 40.0 mmol) Salicylaldehyd **103a** und 6.32 g (6.44 mL, 80.0 mmol) Pyridin in 50 mL trockenem Toluol unter Argon-Atmosphäre gelöst. Nach tropfenweiser Zugabe von 8.98 g (10.0 mL, 59.6 mmol) Triethylchlorosilan wurde die Reaktionslösung für 18 h auf 90 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung

unter Argon-Atmosphäre filtriert und eine anschließende Vakuumdestillation lieferte das analysenreine Produkt **103e**.

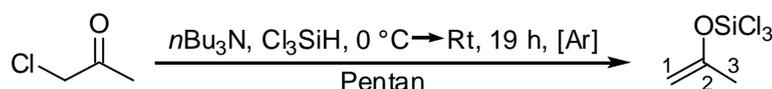
Ausbeute: 5.12 g (21.6 mmol, 54 %) **103e** als farblose Flüssigkeit

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 0.82 (q, 6 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, Si-CH₂-CH₃), 1.01 (t, 9 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, Si-CH₂-CH₃), 6.89 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H6), 7.03 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H4), 7.46 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, H5), 7.80 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, H3), 10.48 (s, 1 H, H7)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 5.09 (Si-CH₂-CH₃), 6.97 (Si-CH₂-CH₃), 119.94 (C3), 121.36 (C5), 127.00 (C1), 128.24 (C6), 135.69 (C4), 158.98 (C2), 190.17 (C7)

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.88

Synthese von O-Trichlorsilyl-2-hydroxy-propen^[92]

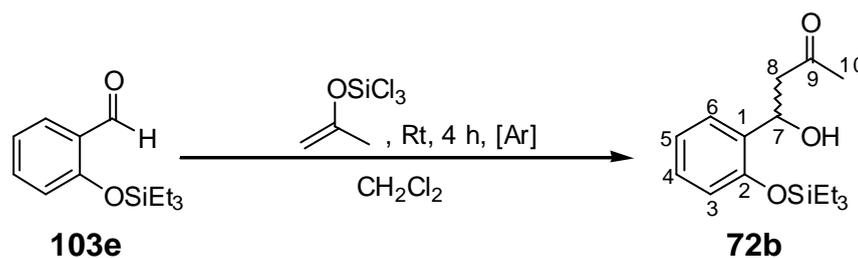


Es wurden 14.8 g (19.1 mL, 80.0 mmol) Tri-*n*-butylamin und 10.8 g (8.08 mL, 80.0 mmol) Trichlorsilan in 40 mL Pentan unter Argon-Atmosphäre gelöst und auf 0° C abgekühlt. Dann wurden über einen Zeitraum von 15 min 7.40 g (6.38 mL, 80.0 mmol) Chloroacetone zugegeben und bei Raumtemperatur für 19 h gerührt, wobei sich ein weißer Niederschlag bildete. O-Trichlorsilyl-2-hydroxy-propen lag nach Vakuumdestillation analysenrein als farblose Flüssigkeit vor.

Ausbeute: 5.09 g (26.6 mmol, 33 %) O-Trichlorsilyl-2-hydroxy-propen als farblose Flüssigkeit

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.93 (s, 3 H, H3), 4.43 (m, 1 H, H1), 4.56 (d, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, H1')

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 21.87 (C3), 97.35 (C1), 153.00 (C2)

Darstellung von 4-Hydroxy-4-(2'-*O*-triethylsiloxophenyl)-butan-2-on **72b**

Es wurden 3.03 g (15.8 mmol) *O*-Trichlorsilyl-2-hydroxypropen **CC** in 30 mL Dichlormethan unter Argon-Atmosphäre gelöst. Bei Raumtemperatur wurden 3.50 g (14.4 mmol) *O*-Triethylsilyl-salicylaldehyd **103e** langsam zugegeben und weiter bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wurde die Reaktionslösung in 150 mL kalte, gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegossen und für 15 min bei 0°C gerührt, wobei sich ein weißer Niederschlag bildete. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert und dreimal mit je 80 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

Ausbeute: 3.57 g (12.1 mmol, 84 %) **72b** als weißer Feststoff

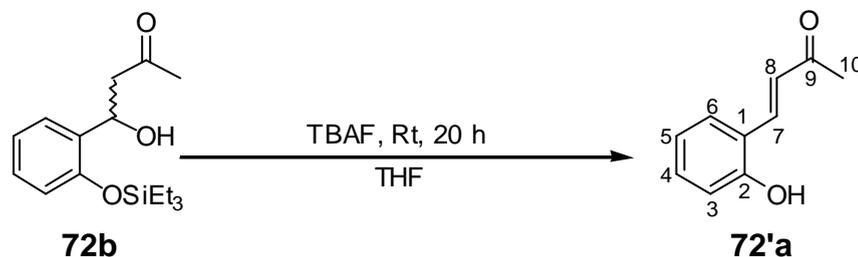
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 0.80 (q, 6 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, Si-CH₂-CH₃), 1.00 (t, 9 H, ³J_{HH} = 7.9 Hz, Si-CH₂-CH₃), 2.19 (s, 3 H, CH₃), 2.75 (dd, 1 H, ²J_{HH} = 17.3 Hz, ³J_{HH} = 9.1 Hz, H8), 2.96 (dd, 1 H, ²J_{HH} = 17.3 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, H8'), 3.39 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.1 Hz, OH), 5.40 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 2.6 Hz, ³J_{HH} = 9.1 Hz, Benzyl-H), 6.78 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, H6), 6.98 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, H4), 7.14 (ddd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, H5), 7.44 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, H3)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl₃): 5.28 (Si-CH₂-CH₃), 6.64 (Si-CH₂-CH₃), 30.58 (C10), 50.31 (C8), 65.58 (C7), 117.81 (C3), 121.35 (C5), 126.48 (C4), 128.11 (C6), 132.82 (C1), 151.92 (C2), 209.46 (C9)

DC R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.78

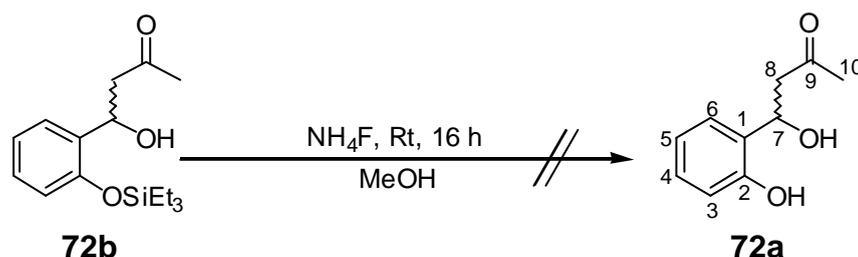
7.2.16.5 Versuch der Entschützung von 4-(2'-*O*-triethylsiloxophenyl)-4-hydroxybutan-2-on **72b**

Mit Tetrabutylammoniumfluorid^[93]

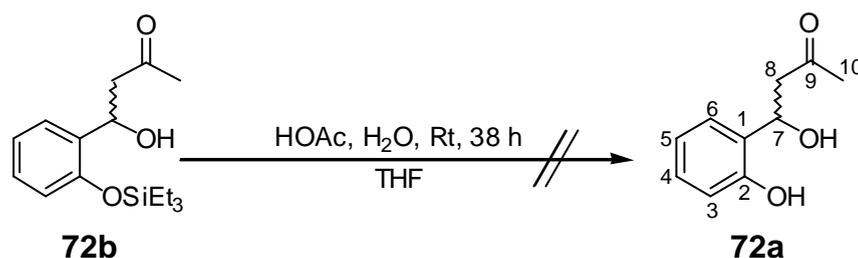


Es wurden 3.57 g (12.1 mmol) **72b** in 100 mL THF gelöst und nach der Zugabe von 12.2 mL einer 1.0 M TBAF-Lösung (12.2 mmol) für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit 100 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 mL Wasser versetzt und dreimal mit je 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron gereinigt und man erhielt als Produkt 4-(2'-Hydroxyphenyl)-but-3-en-2-on **72'a** und nicht 4-Hydroxy-4-(2'-hydroxyphenyl)butan-2-on **72a**.

Mit Ammoniumfluorid^[94]



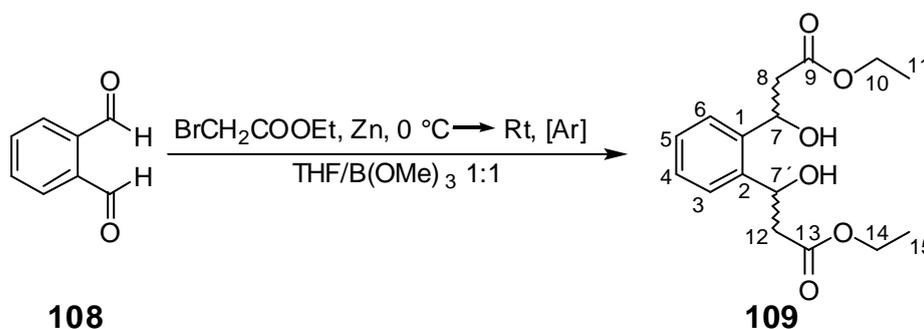
Es wurden 2.00 g (6.79 mmol) **72b** in 4 mL Methanol gelöst und nach der Zugabe von 0.750 g (20.4 mmol) Ammoniumfluorid in 6 mL Methanol für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit 15 mL Wasser und fünf Tropfen 2N Salzsäure versetzt und dreimal mit je 40 mL Diethylether extrahiert. Dabei bildete sich ein weißer Niederschlag, der abfiltriert wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Im Rohprodukt konnte ¹H-NMR-spektroskopisch kein Produkt **72a** nachgewiesen werden.

Mit Essigsäure in wässrigem THF^[95]

Es wurden 5.56 g (18.9 mmol) des Silylethers **72b** in 80 mL THF gelöst. Nach Zugabe von 10 mL Essigsäure und 30 mL Wasser wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach 17 h wurden weitere 10 mL Essigsäure und nach ½ h wurden erneut 5 mL Essigsäure zugegeben. Bei 0 °C wurde die Lösung mit 360 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und nach 30 min Rühren bei 0 °C dreimal mit je 80 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Im ¹H-NMR-Rohproduktspektrum konnte Produkt (< 10 %) detektiert werden, eine anschließende Trennung am Chromatotron schlug jedoch fehl.

7.2.17 Synthese von 3-[2-(2-Ethoxycarbonyl-1-hydroxyethyl)-phenyl]-3-hydroxy-propionsäureethylester **109** (7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)-phthalalkohol)

7.2.17.1 Synthese des 7,7'-bis-ECM-substituierten Phthalalkohols **109**: klassische Reformatsky-Reaktion

Mit THF/Trimethylborat als Lösungsmittel^[98]

Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 2.09 g (32.0 mmol) Zinkstaub und 1.71 g (12.7 mmol)

Phthaldialdehyd **108** in 16 mL THF/Trimethylborat (1 : 1 v/v) suspendiert. Unter Rühren wurden insgesamt 5.33 g (3.53 mL, 31.9 mmol) Ethylbromacetat in Aliquoten zu je etwa 0.5 mL zugegeben. Nach jeder Zugabe wurde das Reaktionsgemisch 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgter Zugabe von insgesamt etwa 3.0 mL wurde der Reaktionsansatz auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe der gesamten Menge Ethylbromacetat wurde noch 30 min bei 0°C gerührt. Anschließend ließ man die Lösung bei Raumtemperatur für 3 h nachrühren. Nunmehr wurden 10.3 mL einer 25 %-igen wässrigen Ammoniak-Lösung und 7.8 mL Wasser zugegeben. Das resultierende Gemisch wurde 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde filtriert und das Filtrat mit 50 mL Diethylether versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das ölige braune Rohprodukt (3.48 g) wurde einer ersten Trennung am Chromatotron unterzogen (Petrolether mit Essigester-Gradienten von 0-50 %), welche 1.14 g des Produktes **109** in Form eines braunen Öls lieferte. Die Aufreinigung der Mischfraktionen in zwei weiteren Trennungen am Chromatotron (Petrolether mit Methanol-Gradienten von 0-10 % bzw. Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-5 %) lieferte nochmals 375 mg **109**.

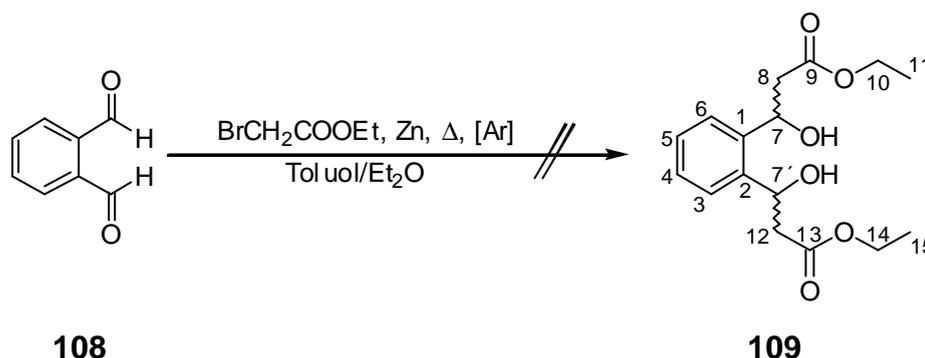
Ausbeute: 1.52 g (4.90 mmol, 38 %) **109** als braunes Öl

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 1.28 (t, 6 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 2 x CH₂CH₃), 2.76-2.95 (m, 2 H, H8, 2 H, H12), 4.20 (m, 4 H, 2 x CH₂CH₃), 5.47 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 9.3 Hz, ³J_{HH} = 4.1 Hz, Benzyl-H), 5.55 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 9.6 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, Benzyl-H), 7.33-7.35 (m, 2 H, 2 x Aryl-H), 7.44-7.49 (m, 2 H, 2 x Aryl-H)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl₃): 14.55 (2 x CH₂CH₃), 42.28, 42.66 (C8, C12), 61.39 (CH₂CH₃), 67.01 (Benzyl-C), 67.51 (Benzyl-C), 126.57, 126.96 (C4, C5), 128.73, 128.78 (C3, C6), 139.67, 139.92 (C1, C2), 172.96 (C=O), 173.06 (C=O)

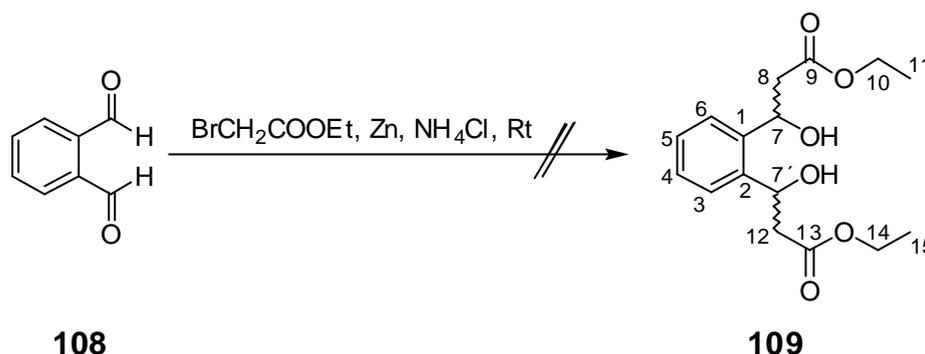
IR (Film): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3469, 2982, 1730, 1373, 1162, 1099, 1029, 952, 887, 765, 508, 499

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.64

Konventionelle Reformatsky-Reaktion^[96]

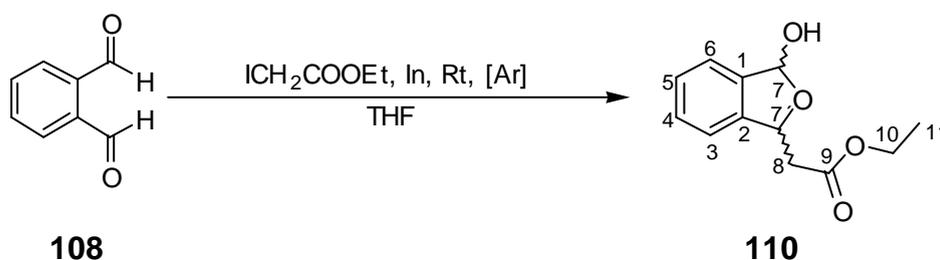
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 1.00 g (15.3 mmol) Zinkstaub bei Raumtemperatur mit ca. 1 mL einer Lösung von 693 mg (5.17 mmol) Phthaldialdehyd **108** sowie 2.57 g (1.70 mL, 15.4 mmol) Ethylbromacetat in 8 mL abs. Toluol/2 mL abs. Diethylether versetzt. Nachdem auch nach Erwärmung des Ansatzes kein Anspringen der Reaktion zu beobachten war, wurde die restliche Lösung über 20 min unter Rühren zugetropft. Die resultierende Suspension wurde zunächst 2.3 h bei 55°C gerührt. Da die dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v) auf einen unvollständigen Umsatz hinwies, wurde das Reaktionsgemisch noch 40 min unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 5 mL 10 %-iger wässriger Schwefelsäure bei 0°C und anschließendes kurzes Rühren bei Raumtemperatur abgebrochen. Nach Filtration und Waschen des Niederschlages mit Diethylether wurden die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde zweimal mit je 20 mL 5 %-iger Schwefelsäure, einmal mit 20 mL einer gesättigten Natriumcarbonatlösung, erneut mit 20 mL 5 %-iger Schwefelsäure sowie abschließend zweimal mit je 20 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden zweimal mit je 100 mL Diethylether gewaschen. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Die darauffolgende Trocknung am Ölpumpenvakuum lieferte 1.28 g eines braunen Öls als Rohprodukt (100 % Ausbeute: 1.60 g), welches laut dünnschichtchromatographischer Untersuchung (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v) aus mindestens zehn verschiedenen Substanzen bestand. Auf eine weitere chromatographische Aufreinigung am Chromatotron wurde daher verzichtet.

Reformatsky-Reaktion in fester Phase^[97]



Es wurden 686 mg (5.11 mmol) Phthalaldehyd **108**, 5.11 g (3.40 mL, 30.6 mmol) Ethylbromacetat, 10.1 g (154 mmol) Zinkstaub und 4.16 g (77.8 mmol) Ammoniumchlorid innig miteinander verrieben, wobei eine deutliche Erwärmung zu beobachten war. Das Reaktionsgemisch wurde noch 3 h bei Raumtemperatur aufbewahrt und dann in 250 mL einer 0.75 M wässrigen Ammoniumchlorid-Lösung aufgenommen. Nach Filtration wurde die so erhaltene Lösung mit 200 mL Diethylether versetzt und erneut filtriert. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase je zweimal mit 200 mL und 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 200 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Auf diese Weise wurden lediglich 153 mg organische Substanz isoliert (100 % Ausbeute: 1.58 g), so daß auf eine chromatographische Aufreinigung verzichtet wurde.

7.2.17.2 Versuch der Synthese des Phthalalkohols 21: Indium-Variante der Reformatsky-Reaktion^[68]



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 2.33 g (20.2 mmol) Indium-Pulver in 25 mL abs. THF suspendiert. Zu dieser Suspension wurden 6.47 g (3.60 mL, 30.4 mmol) zuvor

destilliertes Ethylidacetat sowie nach zehnmütigem Rühren bei Raumtemperatur 688 mg (5.13 mmol) Phthaldialdehyd **108**, gelöst in 14 mL abs. THF, gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3.7 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dabei dünn-schichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v). Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 250 mL Wasser gegeben und weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Suspension wurde viermal mit je 200 mL Diethylether extrahiert, wobei die Trennung der Phasen durch Aussalzen mit Natriumchlorid erreicht wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 200 mL Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das so erhaltene Rohprodukt (1.39 g eines gelblichen Öls) wurde in mehreren Trennungen am Chromatotron aufgereinigt (zweimal Dichlormethan mit Essigester-Gradienten von 0 bis 5 %, zweimal Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v). Statt des gewünschten Phthalalkohols **109** wurden dabei 781 mg (3-Hydroxy-1,3-dihydro-isobenzofuran-1-yl)-essigsäureethyl-ester **110** isoliert.

Ausbeute: 781 mg (3.51 mmol, 68 %) eines weißen Feststoffes als Gemisch von 2 diastereomeren Enantiomerenpaaren

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 1.17 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.21 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 2.46 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1 x H8), 2.65 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, 1 x H8), 2.95 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, 1 x H8'), 2.96 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, 1 x H8'), 4.06-4.16 (m, 2 x 2 H, 2 x CH_2CH_3), 5.37 (dd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, 1 x H7), 5.57 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, 1 x H7), 6.24 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1 x H7'), 6.31 (dd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, 1 x H7'), 6.70 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1 x OH), 6.76 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1 x OH), 7.30-7.40 (m, 2 x 4 H, 2 x 4 x Aryl-H)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 14.44 (1 x CH_2CH_3), 14.48 (1 x CH_2CH_3), 41.27 (1 x C8), 43.21 (1 x C8), 60.37 (1 x CH_2CH_3), 60.40 (1 x CH_2CH_3), 78.15 (1 x C7), 78.38 (1 x C7), 100.26 (1 x C7')

100.52 (1 x C7'), 121.51, 121.73 (2 x Aryl-C), 123.12, 123.24 (2 x Aryl-C), 128.24, 128.29 (2 x Aryl-C), 129.05, 129.09 (2 x Aryl-C), 140.48, 140.70 (2 x quart. Aryl-C), 141.83 (2 x quart. Aryl-C), 170.68, 170.78 (2 x C=O)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3348, 2981, 2910, 1728, 1411, 1376, 1298, 1180, 1006, 885, 860, 755, 710, 630, 554

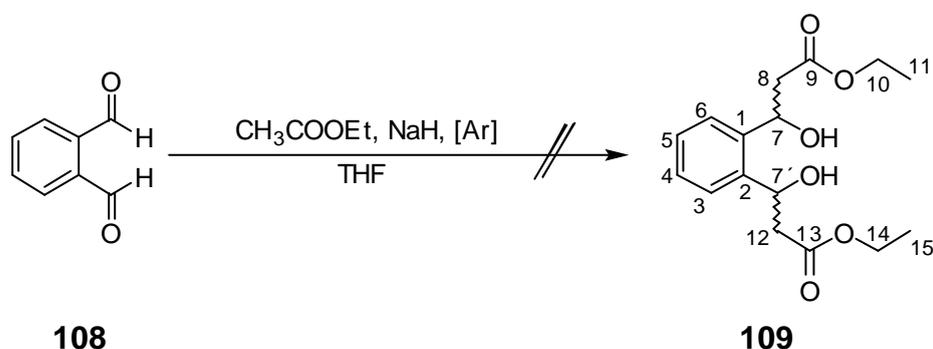
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v): 0.25

MS (ESI⁺, m/z): ber.: 222.09

gef.: 245.1 (M+Na⁺)

7.2.17.3 Versuch der Synthese des Phthalalkohols 109: Aldol-Reaktion von Phthaldialdehyd mit Ethylacetat

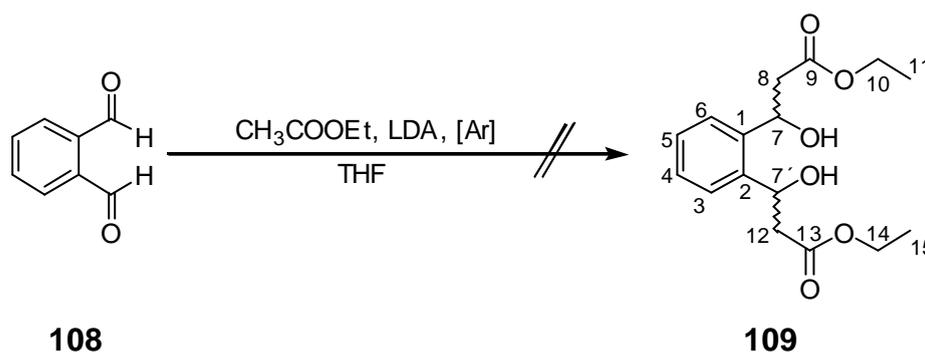
Mit Natriumhydrid als Base



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 510 mg einer 60 %-igen Suspension von Natriumhydrid in Öl (entspricht 12.8 mmol Natriumhydrid) in 20 mL abs. THF aufgenommen. Zu diesem Gemisch wurden bei Raumtemperatur und unter Rühren 1.12 g (1.25 mL, 12.8 mmol) Ethylacetat getropft. Die so erhaltene Suspension wurde 5 min bei 40°C gerührt und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Nunmehr wurde bei -20°C eine Lösung von 684 mg (5.10 mmol) Phthaldialdehyd **108** in 10 mL abs. THF in den gelben Reaktionsansatz getropft. Anschließend ließ man auf Raumtemperatur erwärmen und noch

1.3 h bei Raumtemperatur rühren (DC-Kontrolle, Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v), wobei das Reaktionsgemisch eine braune Farbe annahm. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 20 mL Wasser abgebrochen. Nach Neutralisation mit 5.4 mL 2N Salzsäure wurde die wässrige Phase viermal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es ergaben sich 1.42 g eines öligen Rohproduktes (100 % Ausbeute: 1.58 g), welches laut DC-Untersuchung (Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v) aus mindestens zehn verschiedenen Substanzen bestand. Auf eine weitere chromatographische Aufreinigung am Chromatotron wurde daher verzichtet.

Mit LDA als Base

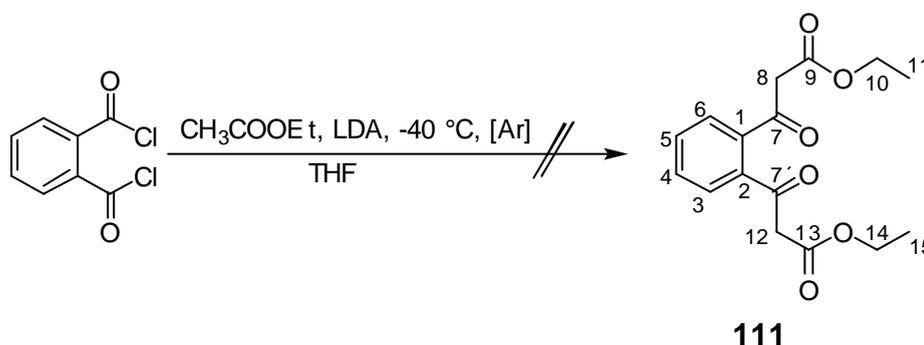


Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zu einer Lösung von 1.12 g (1.25 mL, 12.8 mmol) Ethylacetat in 20 mL abs. THF wurden bei 0°C und unter Rühren 6.40 mL einer 2 M Lösung von LDA in Cyclohexan/Ethylbenzol/THF (entspricht 12.8 mmol LDA) getropft. Diese Lösung wurde 1.5 h bei 0°C gerührt. Nach Abkühlung auf -55°C wurden 689 mg (5.14 mmol) Phthalaldehyd **108**, gelöst in 10 mL abs. THF, in den gelben Reaktionsansatz getropft. Nach beendeter Zugabe ließ man die erhaltene Lösung 2.8 h rühren und dabei vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmen (DC-Kontrolle, Dichlormethan/Essigester 9 : 1 v/v). Zum Abbruch der Reaktion wurde die rotbraune Lösung mit 20 mL Wasser versetzt. Nach Neutralisation mit 2 N Salzsäure wurde die wässrige Phase viermal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es ergaben sich 1.72 g eines öligen

Rohproduktes (100 % Ausbeute: 1.59 g), dessen chromatographische Aufreinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-5 %) nicht zur Isolierung des gewünschten Produktes **109** führte.

7.2.17.4 Versuch der Synthese des Phthalalkohols **109**: zweistufige Syntheseansätze

Versuch der Synthese der Diketoverbindung **111**: Acylierung des Enolats von Ethylacetat



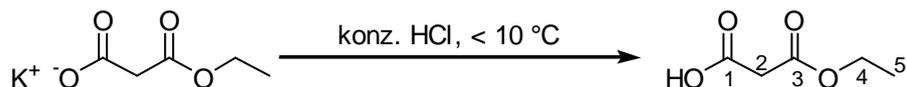
Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Zur Erzeugung des Enolats von Ethylacetat wurden zu einer Lösung von 1.12 g (1.25 mL, 12.8 mmol) Ethylacetat in 20 mL abs. THF bei 0°C und unter Rühren 6.40 mL einer 2 M Lösung von LDA in Cyclohexan/Ethylbenzol/THF (entspricht 12.8 mmol LDA) getropft. Diese Lösung wurde 1.5 h bei 0°C gerührt. Nach Abkühlung auf -40°C wurden 1.04 g (0.74 mL, 5.10 mmol) zuvor destilliertes Phthaloyldichlorid in den gelben Reaktionsansatz getropft. Nach beendeter Zugabe ließ man die erhaltene Lösung 1.3 h rühren und dabei vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmen (DC-Kontrolle, Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v). Zum Abbruch der Reaktion wurde die rotbraune Lösung mit 20 mL Wasser versetzt. Nach Neutralisation mit 2 N Salzsäure wurde die wässrige Phase viermal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es ergaben sich 2.35 g eines öligen Rohproduktes (100 % Ausbeute: 1.56 g), dessen chromatographische Aufreinigung

am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten von 0-5 %) nicht zur Isolierung des gewünschten Produktes **111** führte.

Versuch der Synthese der Diketoverbindung **111**:

Acylierung von Monoethylmalonat bei anschließender Decarboxylierung^[99]

Synthese von Monoethylmalonat



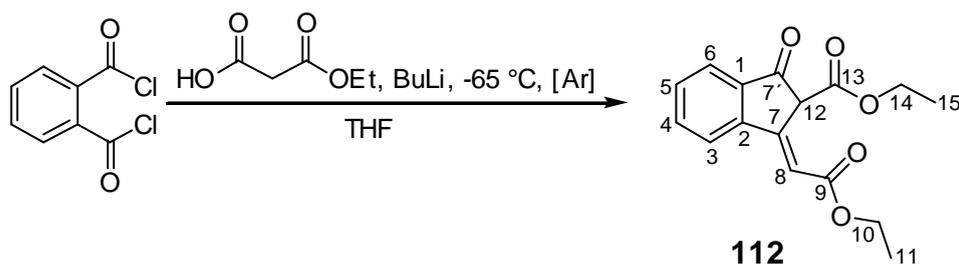
Es wurden 8.40 g (49.4 mmol) Monoethylmalonat-Kaliumsalz in 5 mL Wasser gelöst und auf 0°C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren innerhalb von 30 min 4.20 mL konzentrierte Salzsäure (entspricht 50.7 mmol Chlorwasserstoff) getropft, wobei darauf geachtet wurde, daß die Temperatur nicht über 10°C stieg. Anschließend wurde filtriert und der Niederschlag mit Diethylether gewaschen. Nach Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase noch dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Das Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und das anschließende Trocknen des Rohproduktes am Ölpumpenvakuum lieferten analysenreines Monoethylmalonat.

Ausbeute: 5.84 g (44.2 mmol, 90 %) einer farblosen Flüssigkeit

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.18 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₂CH₃), 3.34 (s, 2 H, H₂), 4.08 (q, 2 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, CH₂CH₃), 12.74 (br, 1 H, COOH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-d₆): 14.30 (CH₂CH₃), 41.93 (C₂), 60.96 (CH₂CH₃), 167.22 (COOR), 168.40 (COOH)

Umsetzung von Monoethylmalonat mit Phthaloyldichlorid



Die Reaktion wurde unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 5.81 g (44.0 mmol) Monoethylmalonat und einige Spatelspitzen 2,2'-Bipyridin (Indikator) in 113 mL THF gelöst und auf -70°C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren 57.7 mL einer 1.6 M Lösung von n-Butyllithium in n-Hexan (entspricht 92.3 mmol n-Butyllithium) bis zum Auftreten einer bleibenden Rotfärbung getropft, wobei man den Reaktionsansatz bis auf -5°C erwärmen ließ. Anschließend wurden bei -65°C 2.50 g (1.78 mL, 12.3 mmol) zuvor destilliertes Phthaloyldichlorid in 8min zugetropft, wobei sich die Lösung stark gelb verfärbte. Anschließend wurde noch 3.3 h gerührt, wobei man das Reaktionsgemisch vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmen ließ. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v). Zum Abbruch der Reaktion wurde die Lösung in ein Gemisch aus 200 mL Diethylether und 100 mL 1 N Salzsäure gegeben. Nach Trennung der Phasen wurde die wässrige Phase noch zweimal mit je 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit je 100 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 mL Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das so erhaltene Rohprodukt (3.22 g eines gelb-braunen Öls) wurde in zwei Trennungen am Chromatotron aufgereinigt (Dichlormethan mit Essigester-Gradienten von 0-10 % bzw. Petrolether mit Essigester-Gradienten von 0-15 %). Statt des gewünschten Produktes **111** konnten dabei lediglich 1.24 g 1-Ethoxycarbonylmethylen-3-oxo-indan-2-carbon-säureethylester **112** isoliert werden.

Ausbeute: 1.24 g (4.30 mmol, 35 %) eines gelben Feststoffes

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.15 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 1.24 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 4.00-4.19 (m, 4 H, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.74 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H12), 6.92 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H8), 7.69 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, H4), 7.81 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz,

H6), 7.86 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, H5), 8.30 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, H3)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 14.33 (CH_2CH_3), 14.43 (CH_2CH_3), 58.23 (C12), 60.65 (CH_2CH_3), 61.26 (CH_2CH_3), 113.77 (C8), 123.68 (C3), 124.33 (C6), 132.66 (C4), 136.53 (C5), 148.14, 148.40 (C1, C2), 165.76 (COOR), 166.04 (COOR), 195.97 (C7')

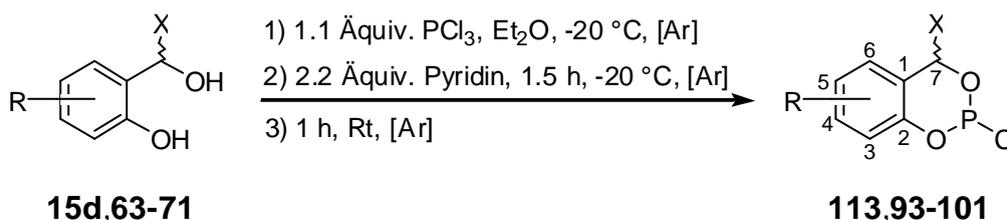
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3065, 2978, 2945, 1714, 1697, 1651, 1476, 1373, 1294, 1193, 1028, 886, 828, 774, 641, 621, 591, 528

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.78

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 288.10

gef.: 311.1 (M+Na $^+$).

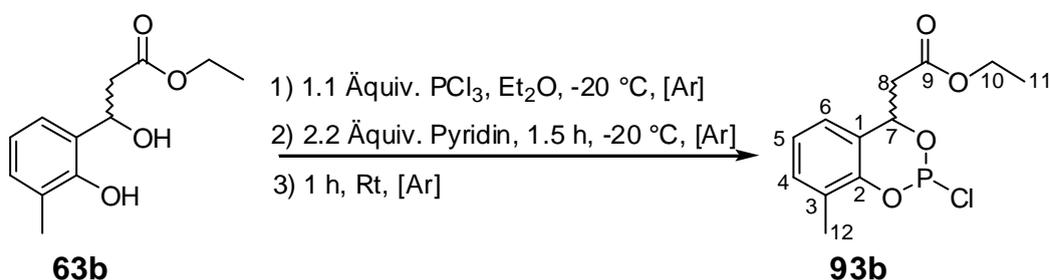
7.3 Synthese der Saligenylchlorphosphate 93-101; 113 (AAV-1)



Die Synthesen wurden unter Argon als Inertgas durchgef\u00fchrt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschlie\u00dfen. L\u00f6sungen der entsprechenden Salicylalkohole in abs. Diethylether wurden vorgelegt und auf -20 $^\circ\text{C}$ abgek\u00fchlt. Typischerweise wurden 0.15 M Salicylalkohol-L\u00f6sungen verwendet. In den F\u00e4llen, in denen sich der entsprechende Salicylalkohol nur schwer l\u00f6ste, wurde st\u00e4rker verd\u00fcnt gearbeitet. Es wurde generell darauf geachtet, dass die Salicylalkohole sich vollst\u00e4ndig in L\u00f6sung befanden. Bei fortgesetzter K\u00fchlung wurden anschlie\u00dfend unter R\u00fchren 1.1 \u00c4quivalente zuvor destilliertes Phosphor(III)-chlorid sowie in einem Zeitraum von

1.5 h 2.2 Äquivalente abs. Pyridin zugetropft. Nach beendeter Zugabe ließ man die Reaktionsgemische auf Raumtemperatur erwärmen und noch 1 h bei Raumtemperatur nachrühren. Anschließend wurden die Ansätze über Nacht bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt, um ein möglichst vollständiges Ausfallen des entstandenen Pyridinhydrochlorids herbeizuführen. Dies wurde dann unter Argon abfiltriert. Vom Filtrat wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Die erhaltenen Rohprodukte wurden ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P -NMR-spektroskopisch analysiert. In allen Fällen lagen die Rohprodukte der Saligenylchlorphosphane in für die weiteren Umsetzungen ausreichend guter Form vor.

7.3.1 Synthese von (2-Chlor-8-methyl-4*H*-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester **93b** (3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenyl-chlorphosphan)



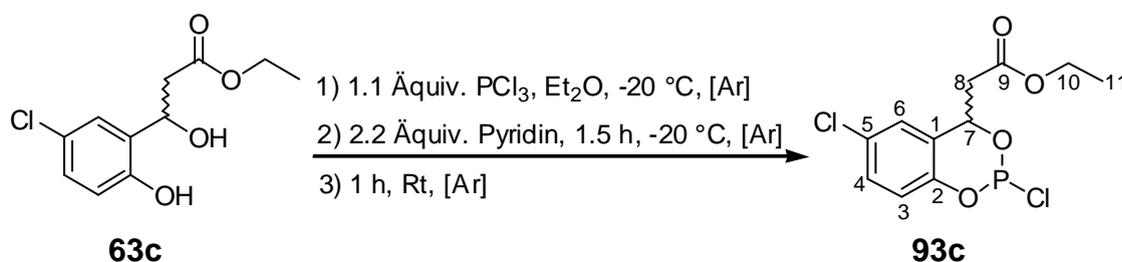
Es wurden 1.20 g (5.35 mmol) 3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol **63b** in 34 mL abs. Diethylether gelöst und gemäß **AAV-1** umgesetzt. Es resultierten 1.14 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

^1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.28 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$, CH_2CH_3), 2.26 (s, 3 H, Aryl- CH_3), 2.91 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.8\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 8.7\text{ Hz}$, H8), 3.02 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.8\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 4.1\text{ Hz}$, H8'), 4.23 (q, 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$, CH_2CH_3), 5.87 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 4.1\text{ Hz}$, $^3J_{\text{PH}} = 3.1\text{ Hz}$, Benzyl-H), 6.87 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6\text{ Hz}$, H6), 7.03 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.3\text{ Hz}$, H5), 7.08 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.3\text{ Hz}$, H4)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 15.03 (CH_2CH_3), 16.64 (Aryl- CH_3), 42.88 (C8), 61.98 (CH_2CH_3), 70.40 (Benzyl-C), 123.58 (C5), 124.13 (C3), 124.66 (C6), 125.45 (C1), 131.63 (C4), 132.81 (C2), 170.38 (C=O)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 139.85

7.3.2 Synthese von (2,6-Dichlor-4*H*-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester **93c** (5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenyl-chlorphosphan)



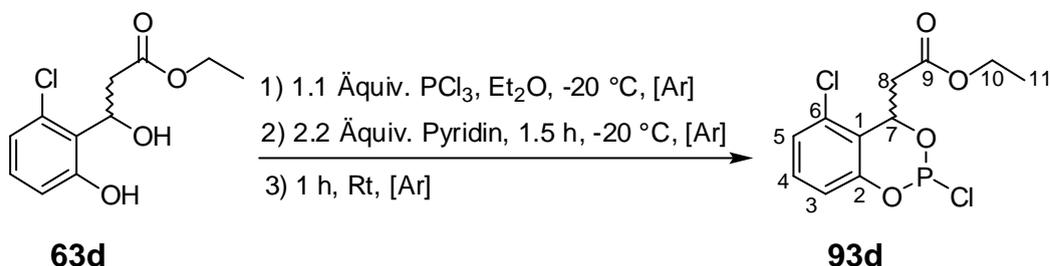
Es wurden 1.00 g (4.09 mmol) 5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol **63c** in 26 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergab 1.02 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d_6): 1.29 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$, CH_2CH_3), 2.93 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.0\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 8.3\text{ Hz}$, H8), 3.03 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.0\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 4.0\text{ Hz}$, H8'), 4.22 (m, 2 H, CH_2CH_3), 5.84 (m, 1 H, Benzyl-H), 6.95 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7\text{ Hz}$, H3), 7.05 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 2.2\text{ Hz}$, H6), 7.25 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7\text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 2.2\text{ Hz}$, H4)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 14.87 (2 x CH_2CH_3), 41.61 (2 x C8), 61.97 (2 x CH_2CH_3), 68.69 (2 x Benzyl-C), 121.44 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.3\text{ Hz}$, 1 x C1), 121.73 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.3\text{ Hz}$, 1 x C1), 126.25 (2 x C3), 127.91 (2 x C6), 130.30 (2 x C4), 142.16 (2 x C2), 169.34 (2 x C=O)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 138.44

7.3.3 Synthese von (2,5-Dichlor-4*H*-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin-4-yl)-essigsäureethylester **93d (6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-saligenyl-chlorphosphan)**



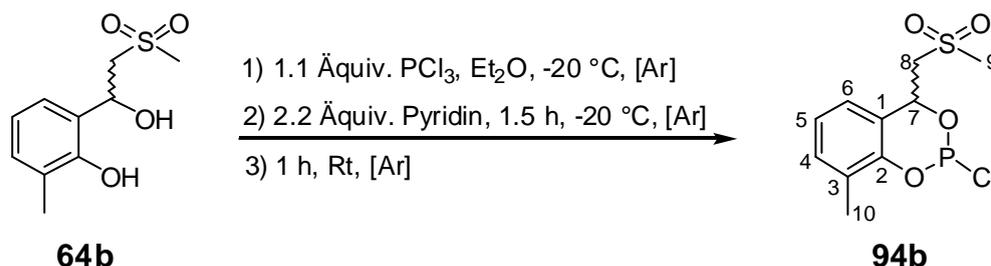
Es wurden 1.14 g (4.66 mmol) 6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-salicylalkohol **63d** in 30 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 1.12 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.20 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0\text{ Hz}$, CH_2CH_3), 2.77 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.9\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.9\text{ Hz}$, H8), 3.03 (d, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.9\text{ Hz}$, H8'), 4.13 (q, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0\text{ Hz}$, CH_2CH_3), 5.77 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9\text{ Hz}$, Benzyl-H), 6.88 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9\text{ Hz}$, H3), 7.17 (m, 2 H, H4, H5)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 14.54 (CH_2CH_3), 41.35 (2 x C8), 61.53 (CH_2CH_3), 70.15 (Benzyl-C), 119.50 (C3), 126.61 (C5), 130.12 (C4), 131.40 (C1), 140.86 (C6), 148.24 (C2), 169.64 (C=O)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 134.91

7.3.4 Synthese von 2-Chlor-4-methansulfonylmethyl-8-methyl-benzo[1.3.2]-dioxaphosphinin **94b (3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-saligenyl-chlorphosphan)**



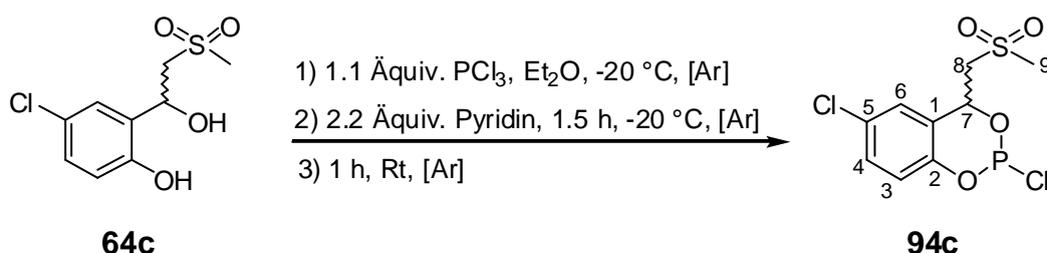
Es wurden 1.00 g (4.30 mmol) 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-salicylalkohol **64b** in 130 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 0.97 g eines weißen Feststoffes als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 2.19 (s, 3 H, Aryl- CH_3), 3.05 (s, 3 H, CH_3), 3.54 (d, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.1$ Hz, H8), 3.75 (m, 1 H, H8'), 5.90 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, Benzyl-H), 6.91 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, H4), 7.03 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, H5), 7.14 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, H6)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 15.97 (Aryl- CH_3), 44.13 (CH_3), 58.70 (Benzyl-C), 61.63 (C8), 123.55 (C5), 124.82 (C6), 125.20 (C3), 125.72 (C1), 131.80 (C4), 146.37 (C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 137.33

7.3.5 Synthese von 2,6-Dichlor-4-methansulfonylmethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin **94c** (5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-saligenyl-chlorphosphan)



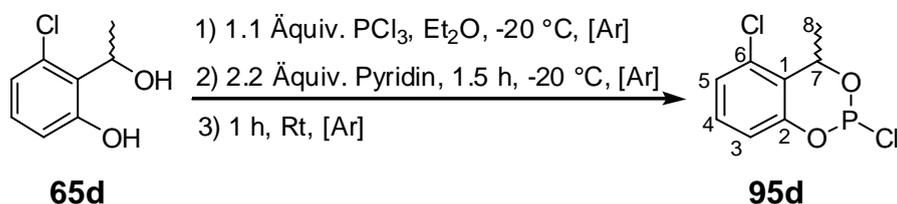
Es wurden 0.75 g (3.00 mmol) 5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-Salicylalkohol **64c** in 120 mL Diethylether gelöst und gemäß **AAV-1** umgesetzt. Man erhielt 742 mg eines gelblichen Feststoffs als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 3.11 (s, 3 H, CH_3), 3.53 (d, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.1$ Hz, H8), 3.73 (m, 1 H, H8'), 5.96 (m, 1 H, Benzyl-H), 6.99 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, H3), 7.13 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H6) 7.30 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, H4)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 41.87 (CH_3), 59.70 (Benzyl-C), 62.23 (C8), 118.32 (C3), 126.75 (C5), 129.20 (C6), 129.72 (C4), 130.80 (C1), 156.37 (C2)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 136.62

7.3.6 Synthese von 2,5-Dichlor-4-methyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin **95d** (6-Chlor-7-methyl-saligenylchlorphosphan)



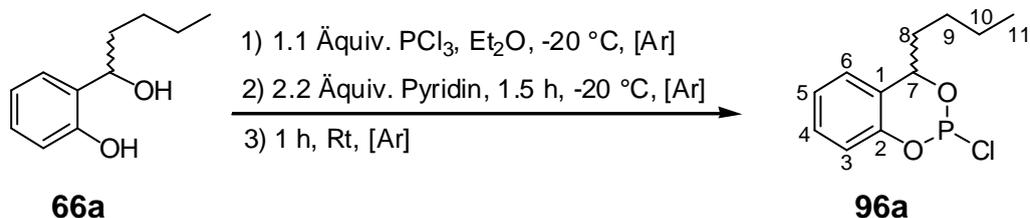
Es wurden 1.00 g (5.79 mmol) 6-Chlor-7-methyl-salicylalkohol **65d** in 40 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 1.11 g eines schwach gelben Feststoffes als Rohprodukt.

^1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.73 (d, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, CH_3), 5.54 (q, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, Benzyl-H), 6.96 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, Aryl-H), 7.12-7.17 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 23.16 (CH_3), 70.42 (C7), 119.02 (C3), 126 (C5), 129.00 (C1), 130.17 (C4), 131.12 (C6), 147.66 (C2)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 136.54

7.3.7 Synthese von 2-Chlor-4-butyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin **96a** (7-Butyl-saligenylchlorphosphan)



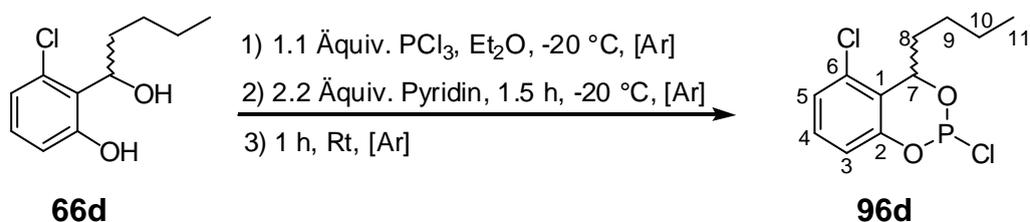
Es wurden 1.32 g (7.35 mmol) 7-Butyl-salicylalkohol **66a** in 45 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 1.45 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.93 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, CH_3), 1.32-1.54 (m, 4 H, 2 x H9, 2 x H10), 1.94-2.17 (m, 2 H, 2 x H8), 5.39 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{PH}} = 17.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, Benzyl-H), 7.11 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, H3), 7.14 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, H6), 7.18 (m, 1 H, H5), 7.36 (m, 1 H, H4)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 14.15 (C11), 23.46 (C10), 26.21 (C9), 42.31 (C8), 65.78 (Benzyl-C), 117.33 (C3), 122.83 (C5), 125.71 (C6), 127.42 (C1), 127.79 (C4), 149.88 (C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 140.22

7.3.8 Synthese von 2,5-Dichlor-4-butyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin **96d** (6-Chlor-7-butyl-saligenylchlorphosphan)



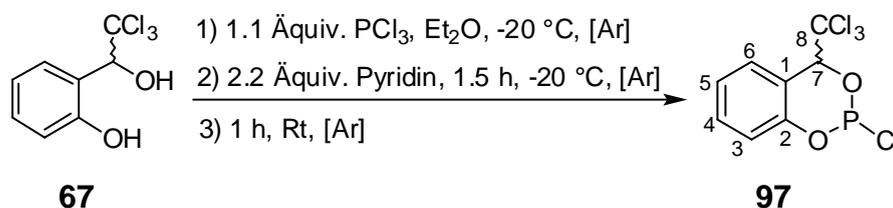
Es wurden 2.15 g (13.7 mmol) 6-Chlor,7-butyl-salicylalkohol **66d** in 50 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 1.98 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 0.81 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, CH_3), 1.25-1.36 (m, 4 H, 2 x H9, 2 x H10), 1.77 (m, 1 H, H8), 1.92 (m, 1 H, H8'), 5.33 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, Benzyl-H), 6.82 (m, 1 H, H3), 7.08-7.11 (m, 2 H, H4, H5)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 13.88 (CH_3), 22.08 (C10), 26.80 (C9), 35.79 (C8), 73.58 (Benzyl-C), 118.78 (C3), 125.26 (C1), 126.03 (C5), 128.96 (C4), 131.03 (C6), 147.64 (C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 131.12

7.3.9 Synthese von 2-Chlor-4-trichlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Trichlormethyl-saligenylchlorphosphan) **97**



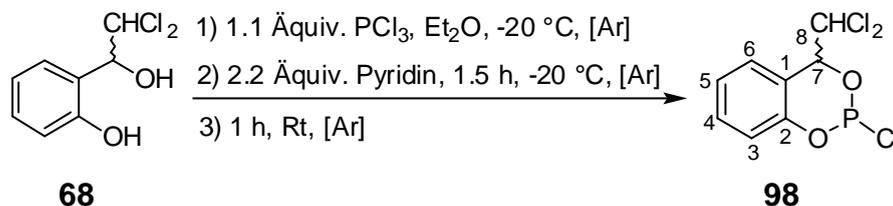
700 mg 7-Trichlormethyl-salicylalkohol **67** (3.05 mmol) wurden in 35 mL Diethylether gelöst. Nach Umsetzung gemäß **AAV-1** erhielt man 744 mg einer gelblichen Flüssigkeit als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$ δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.56 (s, 1 H, H_7), 5.57 (s, 1 H, H_7'), 7.01 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, Ar-H), 7.39 (t, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, Ar-H), 7.39 (t, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, Ar-H), 7.43 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, Ar-H)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 77.59 (d, $^2J_{\text{PC}} = 2.1$ Hz, Benzyl-C), 100.23 (C8), 120.35 (C3), 124.30 (C5), 127.11 (C6), 131.73 (C1), 132.41 (C4), 147.35 (C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 139.08

7.3.10 Synthese von 2-Chlor-4-dichlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Dichlormethyl-saligenylchlorphosphan) **98**



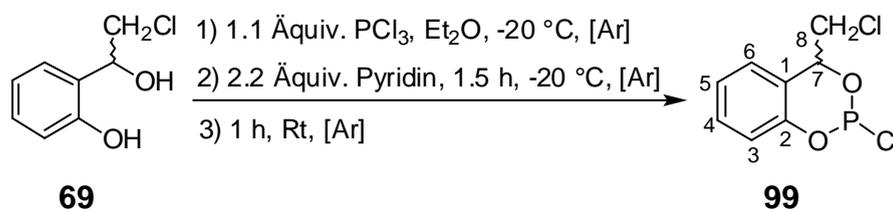
Es wurden 1.53 g (7.24 mmol) 7-Dichlormethyl-salicylalkohol **68** in 40 mL abs. Diethylether gel\u00f6st. Umsetzung gem\u00e4\u00df **AAV-1** ergab 1.85 g eines dunkelbraunen \u00d6ls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 5.67 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 2.1$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 2.1$ Hz, Benzyl-H), 6.05 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 2.1$ Hz, $^4J_{\text{PH}} = 0.5$ Hz, H8), 7.06 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{PH}} = 0.9$ Hz, H3), 7.21 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.2$ Hz, H5), 7.22 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, H6), 7.39 (m, 1 H, H4)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 74.28 (C8), 77.59 (d, $^2J_{\text{PC}} = 2.1$ Hz, Benzyl-C), 121.16 (d, $^3J_{\text{PC}} = 2.0$ Hz, C3), 125.64 (C5), 127.77 (C6), 131.50 (C1), 131.51 (d, $^4J_{\text{PC}} = 1.0$ Hz, C4), 147.84 (d, $^2J_{\text{PC}} = 3.6$ Hz, C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 136.62

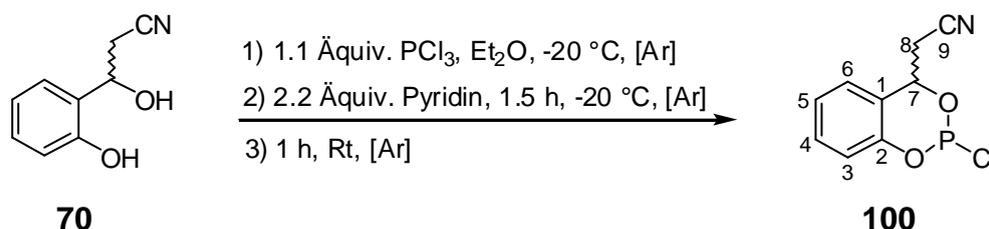
7.3.11 Synthese von 2-Chlor-4-monochlormethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin (7-Monochlormethyl-saligenylchlorphosphan) **99**



Es wurden 335 mg (1.94 mmol) 7-Monochlormethyl-salicylalkohol **69** in 20 mL abs. Diethylether gel\u00f6st. Umsetzung gem\u00e4\u00df **AAV-1** ergab 370 mg eines gelben \u00d6ls als Rohprodukt.

- $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 3.93 (m, 1 H, H8), 4.03 (ddd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 12.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, $^4J_{\text{PH}} = 0.7$ Hz, H8'), 5.65 (m, 1 H, Benzyl-H), 7.02 (m, 1 H, H3), 7.09 (m, 1H, H6), 7.18 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, H5), 7.33 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H4)
- $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 48.16 (C8), 80.41 (Benzyl-C), 120.98 (C3), 125.45 (C5), 128.01 (C6), 130.80 (C4), 131.73 (C1), 146.44 (C2)
- $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 137.40

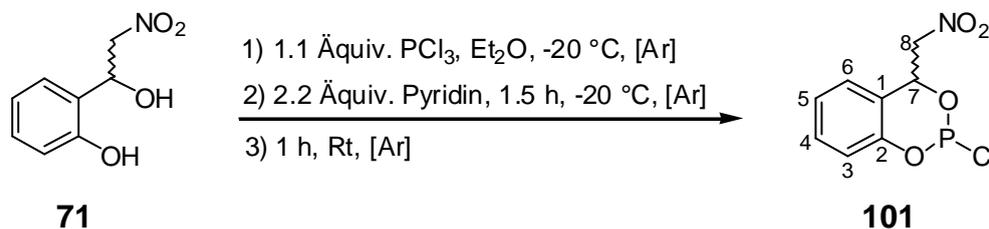
7.3.12 Synthese von 2-Chlor-4-cyanomethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 100 (7-Cyanomethyl-saligenylchlorphosphan)



Es wurden 1.70 g (10.4 mmol) 7-Cyanomethyl-salicylalkohol **70** in 100 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 2.05 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

- $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 3.33 (m, 2 H, H8), 5.79 (m, 1 H, Benzyl-H), 7.07 (m, 1 H, H3), 7.21 (m, 1 H, H6), 7.28 (m, 1 H, H5), 7.46 (m, 1 H, H4)
- $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 24.51 (CH_3), 62.53 (C8), 69.78 (Benzyl-C), 117.53 (C9), 120.33 (C3), 124.83 (C5), 125.71 (C6), 127.42 (C1), 129.99 (C4), 141.67 (C2)
- $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 137.31

7.3.13 Synthese von 2-Chlor-4-nitromethyl-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 101 (7-Nitromethyl-saligenylchlorphosphan)



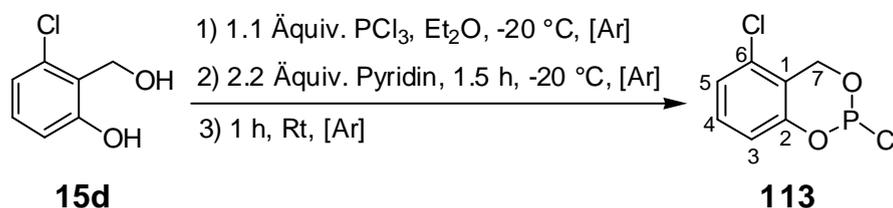
Es wurden 1.80 g (9.80 mmol) 7-Nitromethyl-salicylalkohol **71** in 140 mL abs. Diethylether gelöst. Umsetzung gemäß **AAV-1** ergaben 1.72 g eines braungelben Öls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 4.85 (m, 1 H, H8), 4.94 (ddd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 13.7\text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 3.3\text{ Hz}$, $^4J_{\text{PH}} = 3.3\text{ Hz}$, H8'), 6.09 (m, 1 H, Benzyl-H), 6.98 (m, 1 H, H5), 7.04 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1\text{ Hz}$, H3), 7.12 (m, 1 H, H4), 7.28 (m, 1 H, H6)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 64.78 (Benzyl-C), 81.89 (C8), 119.39 (C3), 123.33 (C5), 126.79 (C6), 127.12 (C1), 128.09 (C4), 141.67 (C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, CDCl_3): 136.34

7.3.14 Synthese von 2,5-Dichlor-benzo[1.3.2]dioxaphosphinin 113 (6-Chlor-saligenylchlorphosphan)



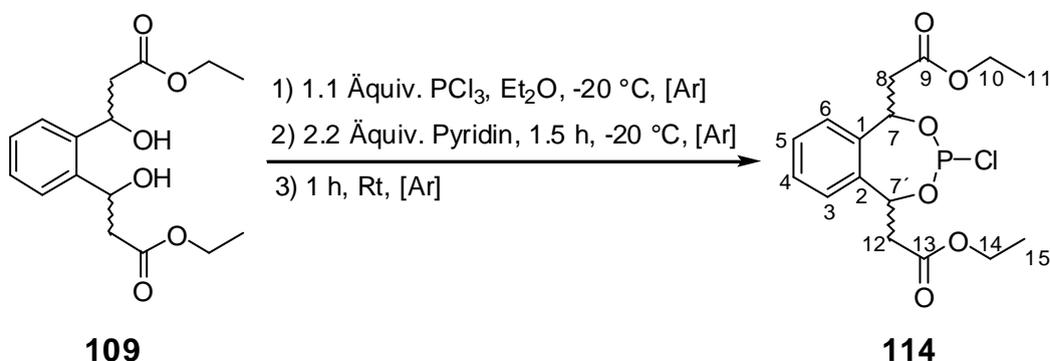
Es wurden 1.01 g (6.39 mmol) 6-Chlor-salicylalkohol **15d** in 50 mL abs. Diethylether gelöst. Nach Umsetzung gemäß **AAV-1** erhielt man 0.87 g eines gelben Öls als Rohprodukt.

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 5.22 (m, 2 H, H7), 6.91-7.20 (m, 3 H, H3, H4, H5)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 59.27 (Benzyl-C), 118.08 (C3), 124.78 (C5), 128.49 (C1), 129.13 (C4), 136.34 (C6), 155.32 (C2)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 136.50

7.3.15 Synthese von (3-Chlor-5-ethoxycarbonylmethyl-1,5-dihydrobenzo[e]-[1.3.2]dioxaphosphepin-1-yl)-essigsäureethylester 114 (7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)-phthalogenylchlorphosphan)



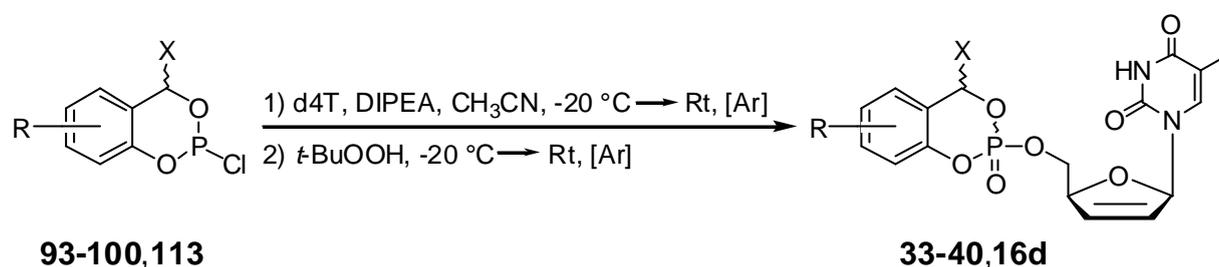
Es wurden 375 mg (1.21 mmol) 7,7'-bis-(ethoxycarbonylmethyl)-phthalalkohol **109** in 15 mL abs. Diethylether gelöst und gemäß **AAV-1** umgesetzt. Es resultierten 367 mg eines gelben Öls als Rohprodukt als Gemisch von 2 diastereomeren Enantiomerenpaaren im Verhältnis 1.0 : 1.0 (100 % Ausbeute: 453 mg).

^1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.13-1.24 (m, 2 x 6H, 2 x 2 x CH_2CH_3), 2.89-3.31 (m, 2 x 2H, 2 x H8, 2 x 2H, 2 x H12), 4.05-4.17 (m, 2 x 4H, 2 x CH_2CH_3), 6.07-6.40 (m, 2 x 2H, 2 x 2 x Benzyl-H), 7.14-7.42 (m, 2 x 4H, 2 x 4 x Aryl-H)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (100 MHz, CDCl_3): 14.58 (2 x 2 x CH_2CH_3), 39.39 (2 x C8, 2 x C12), 61.49 (1 x 2 x CH_2CH_3), 61.65 (1 x 2 x CH_2CH_3), 71.99 (2 x 2 x Benzyl-C), 126.04, 126.54, 127.11, 129.13, 129.50, 129.67 (2 x 6 x Aryl-C), 169.08 (1 x 2 x C=O), 169.94 (1 x 2 x C=O)

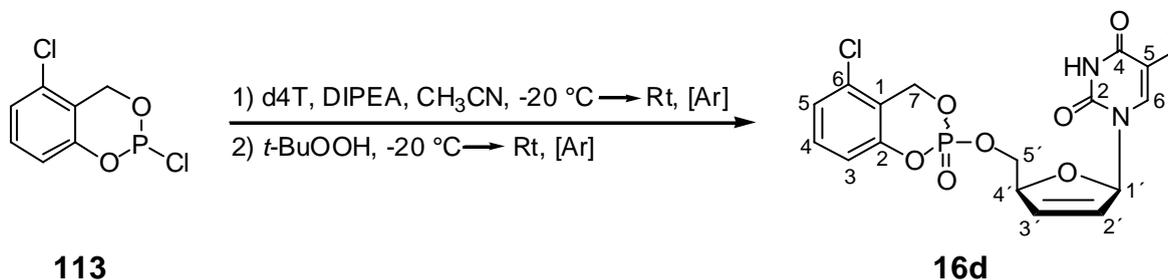
^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, ^1H -gekoppelt, CDCl_3): 150.92 (t, $^3J_{\text{PH}} = 9.8\text{ Hz}$), 157.95 (t, $^3J_{\text{PH}} = 5.9\text{ Hz}$)

7.4 Synthese der *cycloSal*-d4T-monophosphate 16d und 33-40 und des *cycloPhthal*-d4T-monophosphats 115 (AAV-2)



Die Synthesen wurden unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Lösungen von d4T **4** in abs. Acetonitril (ca. 0.05 M) wurden angesetzt und auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt. Zu diesen Lösungen wurden bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ und unter Rühren 2 Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate (verunreinigte Rohprodukte) gegeben. Die Saligenylchlorphosphate wurden, sofern es sich um Öle handelte, unverdünnt zugegeben. In den Fällen, in denen die Saligenylchlorphosphate als Feststoffe anfielen, wurden sie als Lösung in abs. Acetonitril zugegeben. Anschließend ließ man die Reaktionslösungen auf Raumtemperatur erwärmen und bei Raumtemperatur nachrühren. Die Reaktionen wurden dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/Methanol = 9 : 1 v/v). Sofern d4T **4** noch nicht vollständig verbraucht war, wurde bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ weiteres Saligenylchlorphosphan zugegeben. Nach vollständiger Umsetzung des d4T **4** wurden bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 3 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid (5-6 M Lösung in *n*-Decan) zugegeben. Man ließ die Reaktionsmischungen erneut auf Raumtemperatur erwärmen und 1 h nachrühren. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Aus den so erhaltenen gelblichen Rohprodukten wurden in einer ersten Trennung am Chromatotron Salze entfernt (Essigester/Methanol[angesäuert mit 0.1 % Essigsäure]= 9 : 1 v/v). Durch weitere Aufreinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol-Gradienten) konnten die d4TMP-Prodrugs zunächst in Form farbloser Öle isoliert werden. Diese gingen durch Gefriertrocknung in farblose Watten über.

7.4.1 Synthese von 6-Chlor-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **16d** (6-Cl-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 70.0 mg (0.31 mmol) d4T **4** umgesetzt. das Produkt **16d** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 67.4 mg (0.16 mmol, 51 %) einer weißen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.56 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.62 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 4.24 (m, 2 x 2 H, 2 x H5'), 4.87 (m, 2 x 1 H, H4'), 5.39 (m, 2 x 2 H, 2 x Benzyl-H), 5.93 (m, 2 x 1 H, 2 x H2'), 6.27 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 x H3'), 6.33 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 x H3'), 6.68 (m, 1 x 1 H, 1 x H1'), 6.71 (m, 1 x 1 H, 1 x H1'), 7.00-7.13 (m, 4 x 1 H, 2 x Aryl-H3, 2 x Thymin-H6) 7.24 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H5), 7.32 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H4), 11.26 (s, 1 x 1 H, 1 x NH), 11.28 (s, 1 x 1 H, 1 x NH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-d₆): 12.24, 12.27 (2 x Thymin-CH₃), 67.00, 67.05 (2 x C5'), 69.04 (2 x Benzyl-C), 84.37, 84.42 (2 x C4'), 89.64, 89.67 (2 x C1'), 108.10 (2 x Thymin-C5), 117.86 (2 x Aryl-C3), 125.71, (2 x Aryl-C5), 127.66 (2 x C2'), 128.5 (2 x Aryl-C1), 131.10, 131.20 (2 x Aryl-C4), 133.02, 133.06 (2 x C3'), 134.0 (2 x Aryl-C6), 136.02, 136.08 (2 x Thymin-C6), 151.05 (2 x Aryl-C2), 151.80 (2 x Thymin-C2), 164.09, 164.50 (2 x Thymin-C4)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -9.74, -9.77

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.68

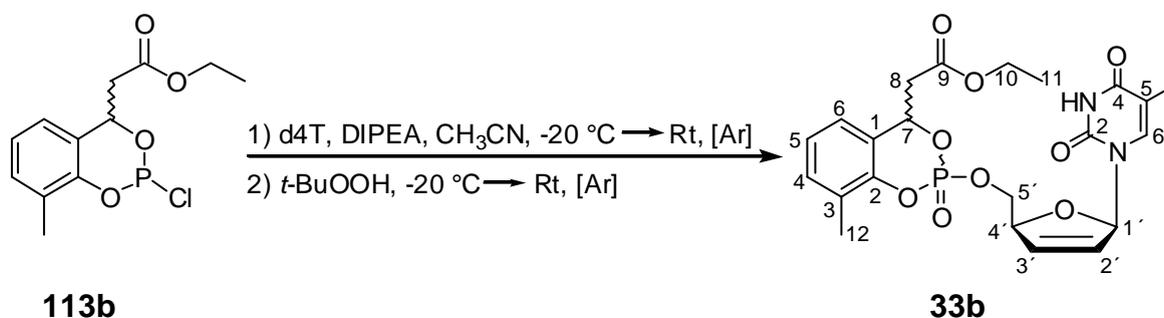
HPLC: t_R = 12.8 min

MS (FAB, M/Z): ber.: 427.046 (M+H⁺)

gef.: 427 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

427.043 (M+H⁺, Hochauflösung)

7.4.2 Synthese von 3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **33b** (3-Me-7-ECM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 80.0 mg (0.35 mmol) d4T **4** umgesetzt. das Produkt **33b** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 117 mg (0.24 mmol, 68 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.9 : 1.0 : 0.5 : 0.6

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 1.18 (t, 4 x 3 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 4 x CH₂CH₃), 1.60 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin-CH₃), 1.61 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin-CH₃), 1.62 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin-CH₃), 1.64 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin-CH₃), 2.17 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.18 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.21 (s, 2 x 3 H, 2 x Aryl-CH₃), 2.98 (dd, 1 x 1 H, ²J_{HH} = 16.4 Hz, ³J_{HH} = 9.3 Hz, 1 x H8), 2.99 (dd, 1 x 1 H, ²J_{HH} = 16.4 Hz, ³J_{HH} = 9.3 Hz, 1 x H8), 3.00 (dd, 2 x 1 H, ²J_{HH} = 16.4 Hz, ³J_{HH} = 9.3 Hz, 2 x H8), 3.29 (dd, 1 x 1 H, ²J_{HH} = 16.6 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1 x H8'), 3.31 (dd, 1 x 1 H,

$^2J_{HH} = 16.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.8$ Hz, 1 x H8'), 3.32 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{HH} = 16.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.8$ Hz, 1 x H8'), 3.38 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{HH} = 16.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.8$ Hz, 1 x H8'), 4.12 (q, 1 x 2H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, 1 x $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 4.14 (m, 2 x 2H, 2 x $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 4.16 (q, 1 x 2H, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, 1 x $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 4.19 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{HH} = 11.4$ Hz, $^3J_{PH} = 6.4$ Hz, $^3J_{HH} = 4.3$ Hz, 2 x H5'), 4.22 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{HH} = 11.4$ Hz, $^3J_{PH} = 7.8$ Hz, $^3J_{HH} = 4.3$ Hz, 2 x H5'), 4.26 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{HH} = 11.4$ Hz, $^3J_{PH} = 6.6$ Hz, $^3J_{HH} = 2.8$ Hz, 2 x H5'), 4.31 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{HH} = 11.4$ Hz, $^3J_{PH} = 6.4$ Hz, $^3J_{HH} = 4.3$ Hz, 2 x H5'), 4.90-4.96 (m, 4 x 1 H, H4'), 6.01 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.02 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.04 (m, 4 x 1 H, 4 x H2'), 6.33 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.39 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.40 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.42 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.80, 6.81, 6.83 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'), 7.11 (t, 2 x 1 H, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, 2 x Aryl-H5), 7.12 (t, 2 x 1 H, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, 2 x Aryl-H5), 7.15-7.20 (m, 4 x 1 H, 4 x Thymin-H6, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 7.25, 7.27 (d, 4 x 1 H, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 4 x Aryl-H6), 11.31 (s, 3 x 1 H, 3 x NH), 11.33 (s, 1 x 1 H, 1 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 12.10, 12.14, 12.22 (4 x Thymin- CH_3), 14.37 (4 x $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 15.37 (4 x Aryl- CH_3), 39.08 (4 x C8), 60.86 (4 x $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 65.50, 66.37, 67.96 (4 x C5'), 77.03, 77.17, 77.72 (4 x Benzyl-C), 84.42 (4 x C4'), 89.38, 89.54 (4 x C1'), 110.10 (4 x Thymin-C5), 123.70, 123.86 (4 x Aryl-C5), 123.94 (4 x Aryl-C3), 124.57 (4 x Aryl-C6), 127.48, 127.72 (4 x C2'), 130.29 (4 x Aryl-C1), 131.89 (4 x Aryl-C4), 133.18 (4 x C3'), 135.99 (4 x Thymin-C6), 151.05 (4 x Aryl-C2), 151.80 (4 x Thymin-C2), 164.09, 164.50 (4 x Thymin-C4), 169.22 (4 x C9)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -8.36, -8.49, -9.05, -9.26

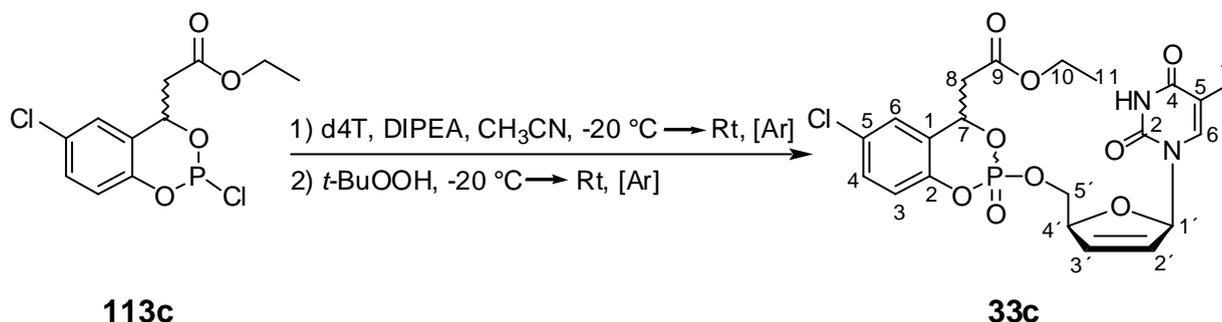
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.66

HPLC: $t_R = 14.5$ min

MS (ESI⁺, m/z): ber.: 492.13

gef.: 514.9 (M+Na⁺)

7.4.3 **Synthese von 5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat 33c**
(5-Cl-7-ECM-cycloSal-d4TMP)



Es wurden 81.0 mg (0.36 mmol) d4T **4** nach **AAV-2** umgesetzt. Das Produkt **33c** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 107 mg (0.21 mmol, 58 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.9 : 1.0 : 0.3 : 0.4

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.19, 1.20 (t, 4 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 4 x CH_2CH_3), 1.61 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 1.64 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 1.66 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 1.68 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 3.04 (dd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, 2 x H8), 3.06 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 17.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, 1 x H8), 3.08 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 17.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, 1 x H8), 3.36, 3.38, 3.40 (dd, 4 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 4 x H8'), 4.11 (m, 1 x 2H, 1 x CH_2CH_3), 4.13 (m, 1 x 2H, 1 x CH_2CH_3), 4.13 (m, 1 x 2H, 1 x CH_2CH_3), 4.15 (m, 1 x 2H, 1 x CH_2CH_3), 4.23 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, 2 x H5'), 4.25 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 7.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, 2 x H5'), 4.28 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 6.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, 2 x H5''), 4.34 (ddd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 6.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, 2 x H5''), 4.93 (m, 4 x 1 H, 4 x H4'), 5.88 (dd, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 2 x Benzyl-H), 5.90 (dd, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 2 x Benzyl-H), 6.11 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.12 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.13 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.14 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.34 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.37 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.41 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.42 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.76-6.81 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'),

7.16 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.16 (s, 1 x 1 H, 1 x Thymin-H6), 7.18 (s, 2 x 1 H, 2 x Thymin-H6), 7.18 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.20 (s, 1 x 1 H, 1 x Thymin-H6), 7.20 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.21 (d, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.46 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H4), 7.48 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H4), 7.53 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 11.31, 11.34 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 12.16, 12.22 (4 x Thymin- CH_3), 14.35 (4 x $\text{CH}_2\text{C}\underline{\text{H}}_3$), 41.58 (4 x C8), 60.90 (4 x $\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_3$), 69.31, 69.65 (4 x C5'), 76.08, 76.15, 76.20, 76.63 (4 x Benzyl-C), 84.36 (4 x C4'), 89.45 (4 x C1'), 110.05, 110.11 (4 x Thymin-C5), 120.24, 120.66 (4 x Aryl-C3), 125.50 (4 x Aryl-C1), 125.91, 126.40, 126.49 (4 x Aryl-C6), 127.76 (4 x C2'), 128.91 (4 x Aryl-C5), 130.47, 130.55 (4 x Aryl-C4), 133.05 (4 x C3'), 136.05 (4 x Thymin-C6), 148.11, 148.26 (4 x Aryl-C2), 151.05 (4 x Thymin-C2), 164.08 (4 x Thymin-C4), 169.03, 169.09 (4 x C9)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.60, -9.65 -10.12, -10.25

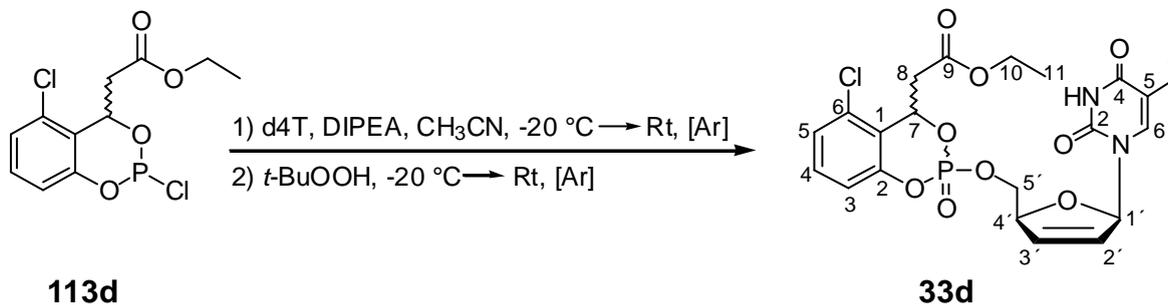
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.58

HPLC: $t_R = 15.3$ min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 512.08

gef.: 535 (M+Na $^+$)

7.4.4 Synthese von 6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **33d** (6-Cl-7-ECM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 100 mg (0.45 mmol) d4T **4** umgesetzt. Das Produkt **33d** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 113 mg (0.22 mmol, 49 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.8 : 1.0 : 0.7 : 0.8

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.18 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.19 (t, 2x3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 2 x CH_2CH_3), 1.20 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.53 (d, 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.67 (d, 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.68 (d, 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.70 (d, 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 2.93-3.05 (m, 4 x 2H, 4 x H8, 4 x H8'), 3.96 (q, 1 x 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 3.98 (q, 1 x 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 4.13 (q, 1 x 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 4.18 (q, 1 x 2 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 4.09-4.21 (m, 4 x 1 H, 4 x H5'), 4.29-4.43 (m, 4 x 1 H, 4 x H5''), 4.87 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 5.00 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 5.94-6.08 (m, 8 x 1 H, 4 x Benzyl-H, 4 x H2'), 6.26 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H3'), 6.33 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 x H3'), 6.44 (m, 2 x 1 H, 2 x H3'), 6.76 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 6.82 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 7.12 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H3), 7.17 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H3), 7.18 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.19 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.21 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.22 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.36-7.40 (m,

4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.43-7.49 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 11.31, 11.34, 11.35, 11.36 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-d₆): 11.91, 11.98, 12.01, 12.16 (4 x Thymin-CH₃), 14.11 (4 x CH₂CH₃), 38.75 (4 x C8), 60.97, 61.00, 61.02, 61.08 (4 x CH₂CH₃), 69.03 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x C5'), 69.07 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x C5'), 69.11 (d, ²J_{CP} = 6.0 Hz, 1 x C5'), 69.47 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x C5'), 76.18 (d, ²J_{CP} = 8.5 Hz, 1 x Benzyl-C), 76.23 (d, ²J_{CP} = 8.5 Hz, 1 x Benzyl-C), 76.27 (d, ²J_{CP} = 7.3 Hz, 1 x Benzyl-C), 76.49 (d, ²J_{CP} = 7.3 Hz, 1 x Benzyl-C), 84.07, 84.14, 84.17, 84.21 (4 x C4'), 89.24, 89.27, 89.34, 89.50 (4 x C1'), 109.77, 109.79, 109.93 (4 x Thymin-C5), 118.14, 118.21, 118.29, 118.36 (4 x Aryl-C3), 121.32 (d, ³J_{CP} = 9.7 Hz, 2 x Aryl-C1), 121.42 (d, ³J_{CP} = 9.7 Hz, Aryl-C1), 122.01 (d, ³J_{CP} = 9.7 Hz, Aryl-C1), 126.15, 126.21, 126.25 (4 x Aryl-C5), 127.48, 127.53, 127.58, 127.62 (4 x C2'), 130.27, 130.34, 130.39 (4 x Aryl-C6), 131.64, 131.65, 131.70, 131.73 (4 x Aryl-C4), 132.78, 132.84, 132.87, 132.95 (4 x C3'), 135.80, 135.83, 135.86 (4 x Thymin-C6), 149.56 (d, ²J_{CP} = 7.3 Hz, 2 x Aryl-C2), 150.18 (d, ²J_{CP} = 8.5 Hz, Aryl-C2), 150.21 (d, ²J_{CP} = 7.3 Hz, Aryl-C2), 150.84, 150.86, 150.88 (4 x Thymin-C2), 163.85, 163.88, 163.90 (4 x Thymin-C4), 168.42, 168.44, 168.55, 168.57 (4 x C9)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -9.90, -9.95 -10.46, -10.49

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.48

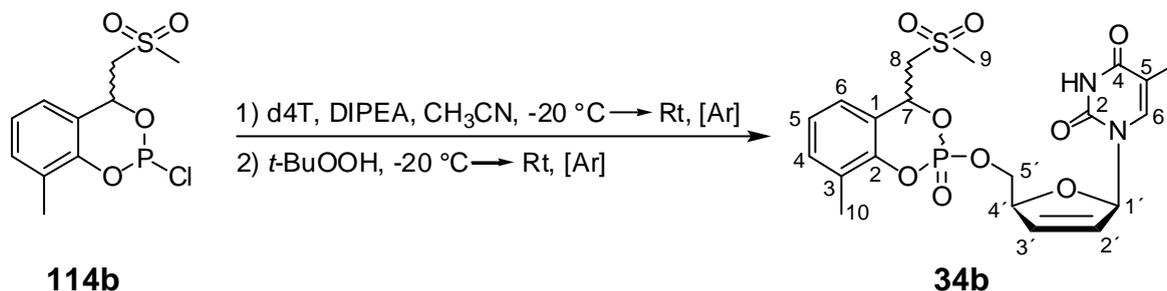
HPLC: t_R = 13.2 min

MS (FAB, M/Z): ber.: 513.083 (M+H⁺)

gef.: 513 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

513.080 (M+H⁺, Hoचाуflösung)

7.4.5 Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **34b** (3-Me-7-MSM-cycloSal-d4TMP)



Es wurden 50 mg (0.22 mmol) d4T **4** gemäß **AAV-2** umgesetzt. Das Produkt **34b** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Außerdem konnten als Nebenprodukt 21.0 mg des Eliminierungsproduktes (*E*)-2-(2'-Hydroxy-3-Methyl-phenyl)-ethenylmethylsulfon **64'b** erhalten werden.

Ausbeute: 46.5 mg (0.09 mmol, 42 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.7 : 0.8 : 1.0 : 0.9

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, CDCl_3): 1.67 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, Thymin- CH_3), 1.75 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, Thymin- CH_3), 1.76 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, Thymin- CH_3), 1.81 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, Thymin- CH_3), 2.25 (s, 2 x 3 H, Aryl- CH_3), 2.29 (s, 2 x 3 H, Aryl- CH_3), 3.04 (s, 1 x 3 H, CH_3), 3.07 (s, 1 x 3 H, CH_3), 3.14 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, CH_3), 3.15 (s, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, CH_3), 3.37-3.57 (m, 4 x 1 H, H8), 3.83 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, H8'), 3.87 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.8$ Hz, H8'), 3.97 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, H8'), 3.98 (dd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.6$ Hz, H8'), 4.30-4.52 (m, 4 x 2 H, H5'), 5.03 (m, 4 x 1 H, H4'), 5.91-6.15 (m, 8 x 1 H, 4 x Benzyl-H, 4 x H2'), 6.30 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H3'), 6.33 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H3'), 6.35 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H3'), 6.39 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, H3'), 6.98 (m, 8 x 1 H, 4 x H1', 4 x Aryl-H4), 7.07-7.13 (m, 6 x 1 H, 4 x Aryl-H5, 2 x Thymin-H6), 7.14 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, Thymin-H6), 7.18 (d, 1 H,

$^4J_{\text{HH}} = 1.3 \text{ Hz}$, Thymin-H6), 7.24 (m, 4 x 1 H, Aryl-H6), 9.57 (m, 4 x 1 H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.07, 12.33 (4 x Thymin- CH_3), 16.79 (4 x Aryl- CH_3), 42.99 (4 x CH_3), 62.45 (4 x C8), 65.95 (4 x C5'), 84.92, 85.02 (4 x C4'), 87.47 (4 x Benzyl-C), 89.01, 89.06 (4 x C1'), 109.83 (4 x Thymin-C5), 120.15, 120.34 (4 x Aryl-C5), 126.13, 126.24 (4 x Aryl-C3), 126.49 (4 x Aryl-C6), 126.95, 127.29 (4 x C2'), 133.76, 133.92 (4 x Aryl-C1), 135.12 (4 x Aryl-C4), 136.48, 136.93 (4 x C3'), 137.52 (4 x Thymin-C6), 150.97 (4 x Aryl-C2), 154.81 (4 x Thymin-C2), 164.07 (4 x Thymin-C4)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.30, -9.53, -9.72, -10.05

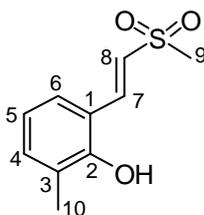
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.52

HPLC: $t_R = 12.29 \text{ min}$

MS (ESI⁺, m/z): ber.: 498.09

gef.: 521.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$)

Spektroskopische Daten von 64'b



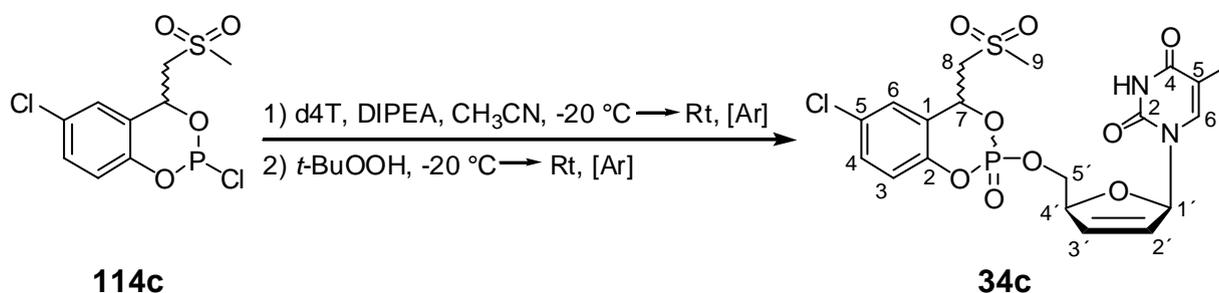
64'b

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 2.20 (s, 3 H, Aryl- CH_3), 3.06 (s, 3 H, CH_3) 6.82 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$, H4), 7.19 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 1.7 \text{ Hz}$, H5), 7.34 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.7 \text{ Hz}$, H8), 7.45 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 1.7 \text{ Hz}$, H6), 7.77 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 15.7 \text{ Hz}$, H7), 9.23 (s, 1 H, Phenyl-OH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 14.32 (Aryl- CH_3), 38.24 (CH_3), 117.52 (C8), 120.37 (C5), 123.34 (C3), 122.29 (C1), 125.14 (C6), 131.04 (C4), 139.26 (C7), 155.69 (C2)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.76

7.4.6 Synthese von 5-Chlor-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **34c** (5-Cl-7-MSM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 80.0 mg (0.36 mmol) d4T **4** umgesetzt. Man konnte zwei Produktfraktionen **34c(up)** und **34c(down)** als farblose Öle erhalten, die jeweils zwei Diastereomere des Produktes enthielten. Die beiden Produktfraktionen wurden gefriergetrocknet und man erhielt farblose Watten.

Ausbeute: 28.0 mg (0.05 mmol, 15 %) **34c(up)** als farblose Watte (Diastereomerenverhältnis: 1 : 1) und 12.0 mg (0.03 mmol, 7 %) **34c(down)** als farblose Watte (Diastereomerenverhältnis 1 : 1)

34c(up)

^1H -NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d_6): 1.67 (s, 2x 3 H, Thymin- CH_3), 3.10 (s, 2x 3 H, CH_3), 4.04-4.16 (m, 2x 2 H, H8), 4.24-4.35 (m, 2x 2 H, H5'), 4.95 (m, 2x 1 H, H4'), 6.00-6.03 (m, 4x 1 H, Benzyl-H, H2'), 6.35 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, H3'), 6.40 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, H3'), 6.76 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H1'), 6.79 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, H1'), 7.15 (m, 2x 1 H, Thymin-H6), 7.16 (d, 1 H, Aryl-H3), 7.22 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, Aryl-H3), 7.45 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz,

$^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H4), 7.50 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H4), 7.62 (s, 2 x 1 H, Aryl-H6), 11.32 (s, 2 x 1 H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.11, 12.16 (Thymin- CH_3), 43.25, 43.32 (CH_3), 57.31, 57.53 ($^3J_{\text{CP}} = 6.5$ Hz, C8), 68.97, 69.03 (C5'), 74.72, 74.95 ($^2J_{\text{CP}} = 6.5$ Hz, Benzyl-C), 84.10, 84.17 (C4'), 89.40, 89.46 (C1'), 109.90, 109.96 (Thymin-C5), 120.72, 120.85 ($^3J_{\text{CP}} = 5.0$ Hz, Aryl-C3), 123.90 (Aryl-C1), 126.57 (Aryl-C5), 127.56, 127.65 (C2'), 129.02 (Aryl-C6), 130.62, 130.78 (Aryl-C4), 132.75, 132.78 (C3'), 135.81 (Thymin-C6), 147.94 (Aryl-C2), 150.88 (Thymin-C2), 163.90 (Thymin-C4)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): - 10.55, - 10.95

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.69

HPLC: $t_R = 13.1$ min

MS (ESI⁺, m/z): ber.: 518.03

gef.: 541(M+Na⁺)

34c(down)

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.64 (s, 3 H, Thymin- CH_3), 1.67 (s, 3 H, Thymin- H_3), 3.06 (s, 3 H, CH_3), 3.10 (s, 3 H, CH_3), 3.94 (m, 1 H, H8), 3.98 (m, 1 H, H8) 4.16 (m, 1 H, H8'), 4.19 (m, 1 H, H8'), 4.25-4.36 (m, 2 x 2 H, H5'), 4.96 (s, 2 x 1 H, H4'), 6.00-6.03 (m, 2 x 1 H, H2'), 6.13-6.20 (m, 2 x 1 H, Benzyl-H), 6.40-6.42 (m, 2 x 1 H, H3'), 6.78 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, H1'), 6.80 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, H1'), 7.15-7.28 (m, 2 x 2 H, Thymin-H6, Aryl-H3), 7.46 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H4), 7.49 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H4), 7.60 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H6), 7.62 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, Aryl-H6), 11.33 (s, 1 H, NH), 11.33 (s, 1 H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 11.85, 12.10 (Thymin- CH_3), 42.41, 42.59 (CH_3), 56.68 (C8), 69.67 (C5'), 73.65 (Benzyl-C), 83.92 (C4'), 89.15 (C1'), 109.98 (Thymin-C5), 120.46 (Aryl-C), 126.31 (Aryl-C), 127.39 (C2'), 128.92 (Aryl-C), 130.38 (Aryl-C), 130.75 (Aryl-C), 132.69 (C3'),

135.67 (Thymin-C6), 150,66 (Thymin-C2), 152.50 (Aryl-C2), 163.77 (Thymin-C4)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): - 10.32, - 10.84

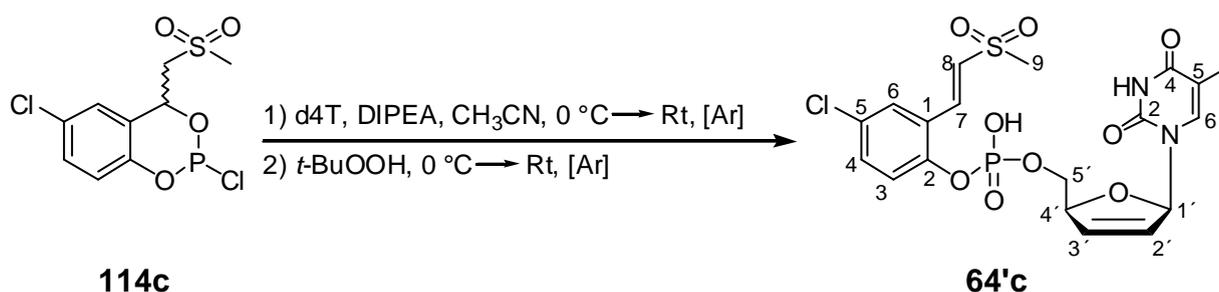
DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.66

HPLC: t_R = 12.9 min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 518.03

gef.: 541(M+Na $^+$)

Synthese von 4-Chlor-2-((*E*)-2'-methansulfonylmethylvinyl)-phenyl-d4T-phosphatdiester **64'c**



Es wurden 85.0 mg (0.38 mmol) d4T **4** in 8 mL Acetonitril unter Argon-Atmosphäre bei Eiskühlung gelöst und mit 98.0 mg (0.13 mL, 0.77 mmol) Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Es wurden in zwei Schritten (der Reaktionsverlauf wurde mittels DC-Kontrolle verfolgt) insgesamt 184 mg in Acetonitril gelöstes 5-Chlor-7-Methansulfonylmethyl-saligenylchlorphosphan **94c** (Rohprodukt: Gehalt an Chlorphosphan etwa 70 mol%, \cong 0.41 mmol) bei 0 °C zugegeben und zwischenzeitlich wieder auf Raumtemperatur erwärmt und für jeweils 1 h gerührt. Dann wurden bei Eiskühlung 0.10 mL einer 5-6 M Lösung von *tert*-Butylhydroperoxid in *n*-Decan (\geq 0.50 mmol) zugeben.

Nach 50 min Rühren bei Raumtemperatur wurden die Lösungsmittel abdestilliert. Vom Rohprodukt wurden in einer ersten Trennung am Chromatotron Salze entfernt (Essigester/Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure] 9 : 1 v/v). Zum Erreichen der Analysenreinheit wurden weitere Trennungen mit dem Chromatotron durchgeführt

(Dichlormethan mit angesäuertem Methanol-Gradienten [0.1 % Essigsäure] von 0-20 %).

Ausbeute: anstelle des Pro-Nucleotids **34c** wurden 110 mg (0.21 mmol, 56 %) von **64'c** als analysenreiner weißer Feststoff erhalten

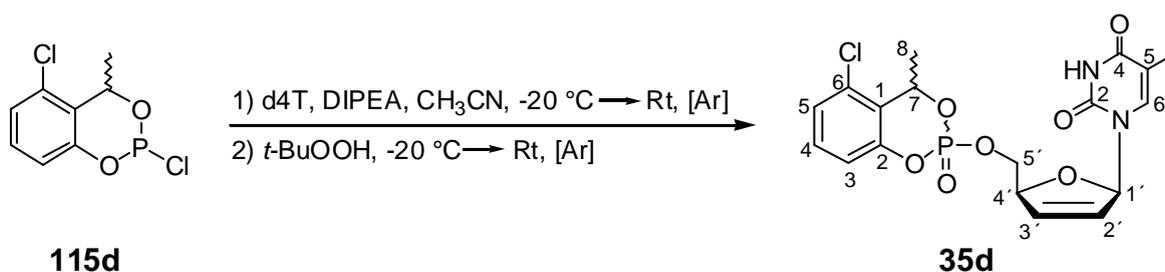
$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.69 (s, 3 H, Thymin- CH_3), 3.05 (s, 3 H, CH_3), 3.91 (m, 1 H, $\text{H5}'$), 3.99 (m, 1 H, $\text{H5}''$), 4.87 (s, 1 H, $\text{H4}'$), 5.90 (d, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, 1 H, $\text{H2}'$), 6.32 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, 1 H, $\text{H3}'$), 6.81 (m, 1 H, $\text{H1}'$), 7.30 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1 H, Aryl- H4), 7.46 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, 1 H, Aryl- H3), 7.53 (d, $^3J_{\text{HH}} = 15.7$ Hz, 1 H, H8), 7.59 (s, 1 H, Thymin- H6), 7.66 (d, $^3J_{\text{HH}} = 15.7$ Hz, 1 H, H7), 7.77 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1 H, Aryl- H6), 11.22 (s, 1 H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.49 (Thymin- CH_3), 42.81 (CH_3), 65.96 ($\text{C5}'$), 85.67 ($\text{C4}'$), 88.87 ($\text{C1}'$), 109.87 (Thymin- C5), 122.71 (C8), 124.96 (Aryl- C1), 126.46 (Aryl- C5), 126.57 ($\text{C2}'$), 127.43 (Aryl- C6), 129.55 (Aryl- C3), 131.19 (Aryl- C4), 134.30 (C7), 135.46 ($\text{C3}'$), 136.86 (Thymin- C6), 150.98 (Thymin- C2), 164.10 (Thymin- C4), 172.17 (Aryl- C2)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): - 5.58

DC R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 3 : 1 v/v): 0.48

7.4.7 Synthese von 6-Chlor-7-methyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **35d** (6-Cl-7-Me-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 65 mg (0.29 mmol) d4T **4** umgesetzt. Das Produkt **35d** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 64 mg (0.15 mmol, 50 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.6 : 0.6 : 0.5

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.52 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.62 (d, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1 x CH_3), 1.64 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.65 (d, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1 x CH_3), 1.67 (d, 2 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 2 x CH_3), 1.67 (d, 2 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 2 x Thymin- CH_3), 4.30 (m, 4 x 2 H, 4 x H5'), 4.90 (m, 4 x 1 H, 4 x H4'), 5.83 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 5.96 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 x H2'), 5.98 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 x H2'), 6.03 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 x H2'), 6.05 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 x H2'), 6.33 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1 x H3'), 6.35 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1 x H3'), 6.44 (ddd, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 2 x H3'), 6.79 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'), 7.13 (d, 2 x 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 2 x Thymin-H6), 7.16 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.18 (dd, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 2 x Aryl-H3), 7.18 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.19 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.23 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.38 (m, 8 x 1 H, 4 x Aryl-H5, 4 x Aryl-H4), 11.30 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.06 (4 x Thymin- CH_3), 22.33 (4 x CH_3), 65.90 (4 x C5'), 67.10 (4 x Benzyl-C), 84.96 (4 x C4'), 89.00 (4 x C1'), 109.81 (4 x Thymin-C5), 115.80 (4 x Aryl-C3), 120.30 (4 x Aryl-C5), 126.94 (4 x C2'), 127.17 (4 x Aryl-C1), 129.00 (4 x C3'), 130.87 (4 x C6), 133.90 (4 x Aryl-C4), 136.47 (4 x Thymin-C6), 150.95 (4 x Thymin-C2), 157.38 (4 x Aryl-C2), 164.04 (4 x Thymin-C4)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.18, -9.21, -9.50, -9.62

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.36

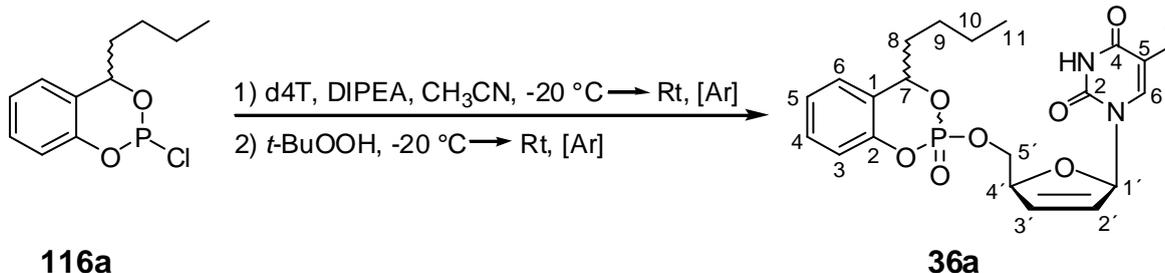
HPLC: t_R = 13.5 min

MS (FAB, M/Z): ber.: 441.062 (M+H⁺)

gef.: 441 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

441.062 (M+H⁺, Hochauflösung)

7.4.8 Synthese von 7-Butyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat 36a (7-Bu-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 102 mg (0.45 mmol) d4T **4** umgesetzt. Das Produkt **36a** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 34.4 mg (0.08 mmol, 17 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.9 : 0.6 : 1.0 : 0.9

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 0.85 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.86 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.86 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.87 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x CH₂CH₃), 1.25-1.45 (m, 8 x 2 H, 4 x H₉, 4 x H₁₀), 1.52 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.62 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.64 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.68 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.86-2.04 (m, 4 x 2 H, 4 x H₈), 4.15-4.30 (m, 4 x 2 H, 4 x H_{5'}) 4.90 (m, 2 x 1 H, 2 x H_{4'}), 4.94 (m, 2 x 1 H, 2 x H_{4'}), 5.55 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 5.61 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 5.93

(m, 1 H, 1 x H2'), 5.97 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H2'), 5.99 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x H2'), 6.02 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.1$ Hz, 1 x H2'), 6.28 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1 x H3'), 6.34 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 x H3'), 6.39 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H3'), 6.40 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H3'), 6.76 (m, 1 H, 1 x H1'), 6.78 (m, 1 H, 1 x H1'), 6.79 (m, 1 H, 1 x H1'), 6.81 (m, 1 H, 1 x H1'), 7.10 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.11 (dd, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 2 x Aryl-H3), 7.12 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.5$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.15 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.17 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.18 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.20 (d, 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.18-7.23 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.31 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 7.36 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 11.31 (br, 4 x 1 H, 4 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.11, 12.22, 12.28 (4 x Thymin- CH_3), 14.13, 14.16, 14.27, 14.36 (4 x CH_3), 21.98, 22.04 (4 x C10), 26.47, 26.54, 26.67 (4 x C9), 35.34, 35.39 (4 x C8), 61.00 (4 x Benzyl-C), 68.50, 68.56 (4 x C5'), 84.25, 84.34 (4 x C4'), 89.27, 89.35, 89.39 (4 x C1'), 109.82, 109.89 (4 x Thymin-C5), 118.51, 118.56, 118.58, 118.66 (4 x Aryl-C3), 124.75, 124.85, (4 x Aryl-C5), 125.92, 125.95, (4 x C2'), 126.38, 126.40, 126.45 (4 x Aryl-C1), 127.39, 127.51 (2 x Aryl-C4), 130.12, 130.19 (4 x C3'), 132.80, 132.92 (4 x Aryl-C6), 135.92 (4 x Thymin-C6), 149.12, 149.16, 149.23 (4 x Aryl-C2), 150.87 (4 x Thymin-C2), 163.91, 163.93 (4 x Thymin-C4)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -7.89, -7.91, -9.04, -9.26

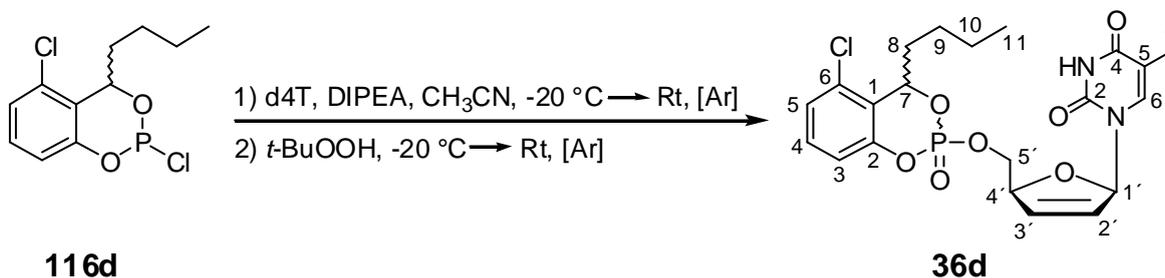
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.65

HPLC: $t_R = 17.3$ min; 17.6 min (jeweils 2 Diastereomere)

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 448.14

gef.: 471.1 (M+Na $^+$)

7.4.9 Synthese von 6-Chlor-7-butyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat 36d (6-Cl,7-Bu-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 100 mg (0.45 mmol) d4T **4** umgesetzt. Das Produkt **36d** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 179 mg (0.37 mmol, 83 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.9 : 0.8 : 0.6 : 1.0

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 0.82 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.85 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.87 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 1 x CH₂CH₃), 0.88 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 1 x CH₂CH₃), 1.21-1.55 (m, 8x2 H, 4x H9, 4x H10), 1.41 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.63 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.65 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.68 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.65-1.89 (m, 4 x 1 H, 4 x H8), 1.91-2.03 (m, 4 x 1 H, 4 x H8'), 4.14-4.23 (m, 4 x 1 H, 4 x H5') 4.29-4.37 (m, 2 x 1 H, 2 x H5''), 4.40-4.47 (m, 2 x 1 H, 2 x H5''), 4.87 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 5.00 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 5.57-5.71 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 5.56 (m, 1 H, 1 x H2'), 5.99 (m, 1 H, 1 x H2'), 6.05 (m, 2 x 1 H, 2 x H2'), 6.31 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 x H3'), 6.35 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 x H3'), 6.42 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 x H3'), 6.46 (ddd, 1 H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 x H3'), 6.77 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 6.80 (m, 1 H, 1 x H1'), 6.82 (m, 1 H, 1 x H1'), 7.13 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.14 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.16 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.15-7.21 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H3), 7.22 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz,

1 x Thymin-H6), 7.35 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.43 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 11.31, 11.34, 11.35, 11.36 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 11.84, 11.95, 11.99, 12.09 (4 x Thymin-CH₃), 13.70, 13.76, 13.84 (4 x CH₂CH₃), 21.35, 21.38, 21.45 (4 x C10), 26.71, 26.85, 27.06 (4 x C9), 33.65, 33.96, 34.71 (4 x C8), 68.67 (d, ²J_{CP} = 4.6 Hz, 1 x C5'), 68.84 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, 1 x C5'), 68.86 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, 1 x C5'), 69.49 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, 1 x C5'), 79.72 (d, ²J_{CP} = 8.7 Hz, 1 x Benzyl-C), 79.95 (d, ²J_{CP} = 8.1 Hz, 2 x Benzyl-C), 80.13 (d, ²J_{CP} = 7.1 Hz, 1 x Benzyl-C), 84.15, 84.22, 84.30, 84.37 (4 x C4'), 89.18, 89.22, 89.34 (4 x C1'), 109.50, 109.73, 109.86 (4 x Thymin-C5), 118.14, 118.20, 118.22, 118.28 (4 x Aryl-C3), 120.70, 120.74, 120.76, 120.81 (4 x Aryl-C1), 125.97, 126.02 (4 x Aryl-C5), 127.47, 127.53 (4 x C2'), 130.22, 130.27 (4 x Aryl-C6), 131.14, 131.20, 131.24 (4 x Aryl-C4), 132.90, 133.17 (4 x C3'), 135.88, 135.95 (4 x Thymin-C6), 149.56 (d, ²J_{CP} = 7.3 Hz, 2 x Aryl-C2), 150.04, 150.07, 150.11, 150.14 (4 x Aryl-C2), 150.80, 150.82, 150.85 (4 x Thymin-C2), 163.80, 163.83, 163.89 (4 x Thymin-C4)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -8.47, -8.50 –9.59

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

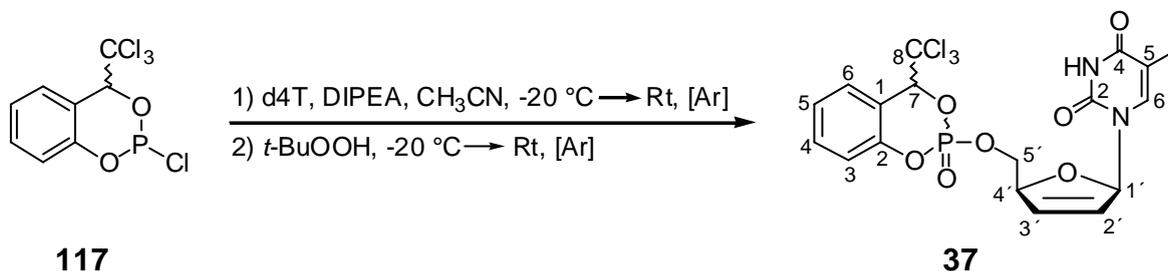
HPLC: t_R = 17.7 min; 18.1 min (jeweils 2 Diastereomere)

MS (FAB, M/Z): ber.: 483.109 (M+H⁺)

gef.: 483 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

483.107 (M+H⁺, Hochauflösung)

7.4.10 Synthese von 7-Trichlormethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **37** (7-TM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 110 mg (0.49 mmol) d4T **4** umgesetzt. das Produkt **38** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 132 mg (0.28 mmol, 56.6 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.1 : 0.2 : 0.5 : 1.0

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.68 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.69 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.75 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.76 (d, 1 x 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 4.09-4.25 (m, 4 x 1 H, 4 x H5'), 4.48 (m, 4 x 1 H, 4 x H5''), 4.76 (m, 1 x 1 H, 1 x H4'), 4.84 (m, 1 x 1 H, 1 x H4'), 4.98 (m, 1 x 1 H, 1 x H4'), 5.04 (m, 1 x 1 H, 1 x H4'), 5.89 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 5.95 (m, 1 x 1 H, 1 x H2'), 6.06 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 6.1 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1 x H2'), 6.08 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1 x H2'), 6.17 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 6.1 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 x H3'), 6.25 (ddd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 5.9 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 x H3'), 6.45 (m, 2 x 1 H, 2 x H3'), 6.48-6.58 (4 x s, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.74 (m, 1 x 1 H, 1 x H1'), 6.81 (m, 1 x 1 H, 1 x H1'), 6.85 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 7.14 (d, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.15 (d, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.21 (dd, 1 x 1 H, ³J_{HH} = 8.3 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1 x Aryl-H3), 7.24 (d, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.26 (d, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.25-7.30 (m, 3 x 1 H, 3 x Aryl-H3), 7.35 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.50-7.61 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 7.63-7.69 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 11.33, 11.34, 11.35 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.14 (4 x Thymin- CH_3), 70.00, 70.06 (4 x $\text{C}5'$), 84.11 (4 x $\text{C}4'$), 86.75, 86.83 (4 x Benzyl-C), 89.34 (4 x $\text{C}1'$), 99.41 (4 x $\text{C}8$), 109.82, 109.91 (4 x Thymin- $\text{C}5$), 119.76, 119.84 (4 x Aryl- $\text{C}3$), 124.84, 124.92, (4 x Aryl- $\text{C}5$), 127.38, 127.51, (4 x $\text{C}2'$), 127.60, 127.69 (2 x Aryl- $\text{C}4$), 130.41, (4 x Aryl- $\text{C}1$), 131.34 (4 x $\text{C}3'$), 132.55, 132.71 (4 x Aryl- $\text{C}6$), 136.09 (4 x Thymin- $\text{C}6$), 149.30 (4 x Aryl- $\text{C}2$), 150.94 (4 x Thymin- $\text{C}2$), 163.94, (4 x Thymin- $\text{C}4$)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.55, -11.06, -11.32

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.46

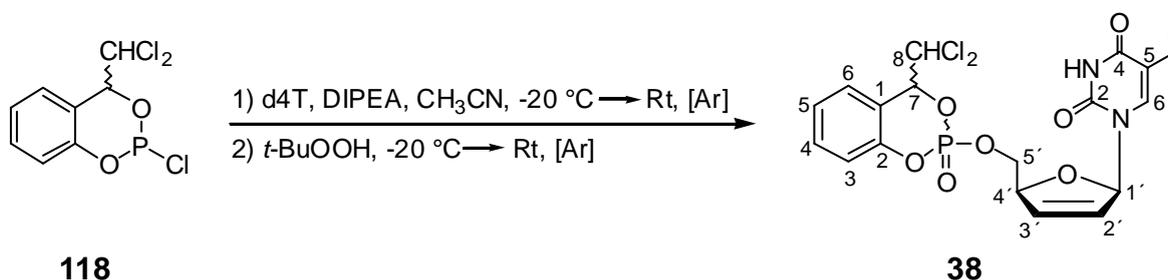
HPLC: $t_R = 15.3$ min

MS (FAB, M/Z): ber.: 508.984 ($M+H^+$)

gef.: 509 ($M+H^+$, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

508.975 ($M+H^+$, Hochauflösung)

7.4.11 Synthese von 7-Dichlormethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **38** (7-DM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 110 mg (0.49 mmol) d4T **4** umgesetzt. das Produkt **38** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 132 mg (0.28 mmol, 56.6 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.1 : 0.2 : 0.5 : 1.0

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.66 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.67 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.73 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.74 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 4.15-4.43 (m, 4 x 2 H, 4 x $\text{H}5'$), 4.88 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}4'$), 5.01 (m, 3 x 1 H, 3 x $\text{H}4'$), 5.96 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}2'$), 6.04 (m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}2'$), 6.07 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}2'$), 6.19 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}3'$), 6.24 (m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}3'$), 6.30 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}3'$), 6.44 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.72-6.76 (2 x m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}1'$), 6.84 (m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}1'$), 7.01 (m, 4 x 1 H, 4 x $\text{H}8$), 7.15 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.16 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.18 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.19 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.23-7.26 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl- $\text{H}3$), 7.27-7.30 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl- $\text{H}5$), 7.40-7.51 (m, 8 x 1 H, 4 x Aryl- $\text{H}4$, 4 x Aryl- $\text{H}6$), 11.32, 11.34, 11.35 (s, 4 x 1 H, 4 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 12.17, 12.21 (4 x Thymin- CH_3), 70.06, 70.16 (4 x $\text{C}5'$), 73.21, 73.39 (4 x $\text{C}8$), 81.76, 81.82 (4 x Benzyl-C), 84.07, 84.15 (4 x $\text{C}4'$), 89.26, 89.43 (4 x $\text{C}1'$), 109.89, 109.95 (4 x Thymin- $\text{C}5$), 119.10, 119.18 (4 x Aryl- $\text{C}3$), 125.12, 125.16, (4 x Aryl- $\text{C}5$), 127.36, 127.42, (4 x $\text{C}2'$), 127.56, 127.65 (2 x Aryl- $\text{C}4$), 130.53, (4 x Aryl- $\text{C}1$), 131.42 (4 x $\text{C}3'$), 132.99 (4 x Aryl- $\text{C}6$), 135.95 (4 x Thymin- $\text{C}6$), 149.30 (4 x Aryl- $\text{C}2$), 150.93 (4 x Thymin- $\text{C}2$), 163.93, (4 x Thymin- $\text{C}4$)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -10.11, -10.16, -11.10

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.42

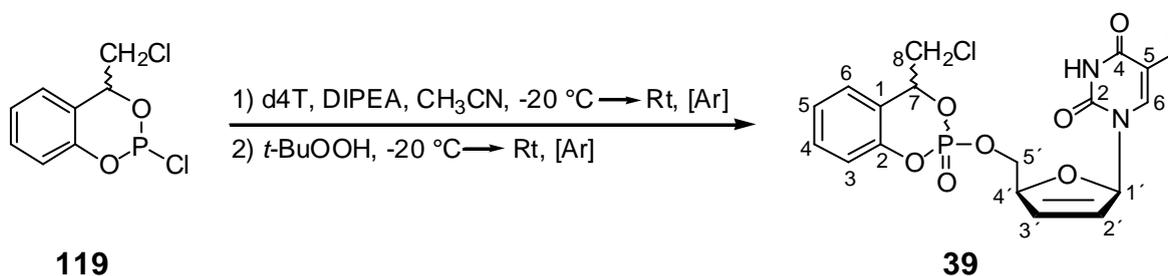
HPLC: $t_R = 13.0$ min

MS (FAB, M/Z): ber.: 475.023 ($\text{M}+\text{H}^+$)

gef.: 475 ($\text{M}+\text{H}^+$, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

475.020 ($\text{M}+\text{H}^+$, Hochauflösung)

7.4.12 Synthese von 7-Monochlormethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat (7-MM-cycloSal-d4TMP) **39**



Gemäß **AAV-2** wurden 100 mg (0.45 mmol) d4T **4** umgesetzt. das Produkt **39** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 22.7 mg (0.05 mmol, 11.1 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.8 : 1.0 : 0.5 : 0.5

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.63 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.67 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.68 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 1.71 (d, 1 x 3 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- CH_3), 4.17-4.36 (m, 8 x 2 H, 4 x $\text{H}5'$, 4 x $\text{H}8$), 4.88-4.92 (m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}4'$), 4.95-4.98 (m, 2 x 1 H, 2 x $\text{H}4'$), 5.89-6.05 (m, 8 x 1 H, 4 x Benzyl-H, 4 x $\text{H}2'$), 6.26 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 x $\text{H}3'$), 6.36 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x $\text{H}3'$), 6.40 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 x $\text{H}3'$), 6.42 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 x $\text{H}3'$), 6.75 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}1'$), 6.77 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}1'$), 6.80 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}1'$), 6.82 (m, 1 x 1 H, 1 x $\text{H}1'$), 7.09 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.11 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.12 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.14 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 x Thymin- $\text{H}6$), 7.15-7.17 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl- $\text{H}3$), 7.20-7.22 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl- $\text{H}3$), 7.22-7.26 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl- $\text{H}5$), 7.36-7.45 (m, 8 x 1 H, 4 x Aryl- $\text{H}4$, 4 x Aryl- $\text{H}6$), 11.34 (br, 4 x 1 H, 4 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 11.95, 12.05, 12.12 (4 x Thymin- CH_3), 51.33, 51.71 (4 x $\text{C}8$), 68.69, 69.41, 70.10 (4 x $\text{C}5'$), 78.74, 80.87

(4 x Benzyl-C), 84.18, 86.40 (4 x C4'), 87.97, 89.23 (4 x C1'), 109.86 (4 x Thymin-C5), 118.71, 118.80 (4 x Aryl-C3), 124.86, 124.94, (4 x Aryl-C5), 126.81, 126.92, 126.97 (4 x C2'), 127.43, 127.52 (4 x Aryl-C1), 128.87 (2 x Aryl-C4), 130.80 (4 x C3'), 132.94 (4 x Aryl-C6), 135.87 (4 x Thymin-C6), 149.30 (4 x Aryl-C2), 150.87 (4 x Thymin-C2), 163.89, (4 x Thymin-C4)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -10.05, -10.08, -10.51, -10.60

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.49

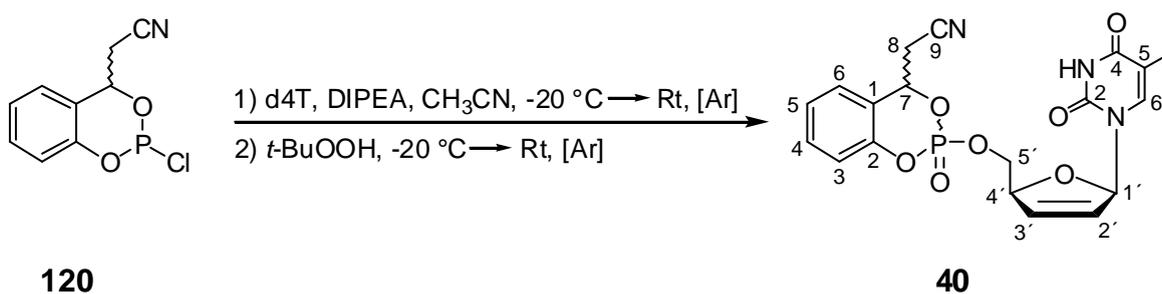
HPLC: t_R = 12.5 min

MS (FAB, M/Z): ber.: 441.062 ($M+H^+$)

gef.: 441 ($M+H^+$, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

441.077 ($M+H^+$, Hochauflösung)

7.4.13 Synthese von 7-Cyanomethyl-cyclosaligenyl-d4T-monophosphat **40** (7-CM-cycloSal-d4TMP)



Gemäß **AAV-2** wurden 80 mg (0.36 mmol) d4T **4** umgesetzt. Das Produkt **40** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 16.8 mg (0.04 mmol, 10.8 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.6 : 1.0 : 0.6 : 0.7

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.65 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.66 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.67 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 1.69 (d, 3 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-CH₃), 3.48-3.73 (m, 4 x 2H, 4 x H8, 4 x H8'), 4.22-4.40 (m, 8 x 1 H, 4 x H5', 4 x H5''), 4.96 (m, 4 x 1 H, 4 x H4'), 5.91 (m, 2 x 1 H, 2 x H2'), 6.04 (m, 6 x 1 H, 2 x H2', 4 x Benzyl-H), 6.15 (m, 1 H, 1 x H3'), 6.30 (m, 1 H, 1 x H3'), 6.41 (m, 2 x 1 H, 2 x H3'), 6.77 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 6.81 (m, 2 x 1 H, 2 x H1'), 7.15 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1 x Aryl-H3), 7.17 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.17 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, Aryl-H3), 7.19 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.19 (d, 1 H, ³J_{HH} = 8.3 Hz, 1 x Aryl-H3), 7.20 (d, 1 H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1 x Aryl-H3), 7.21 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.22 (d, 1 H, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1 x Thymin-H6), 7.28 (ddd, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 2 x Aryl-H5), 7.29 (dd, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.7 Hz, 2 x Aryl-H5), 7.42-7.46 (m, 8 x 1 H, 4 x Aryl-H6, 4 x Aryl-H4), 11.34 (br, 4 x 1 H, 4 x NH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 12.06, 12.09 (4 x Thymin-CH₃), 30.00, 30.04 (4 x C8), 67.38, 68.79 (4 x C5'), 77.91 (4 x Benzyl-C), 84.07, 84.14 (4 x C4'), 88.79, 88.92 (4 x C1'), 108.93, 108.96 (4 x C9), 109.95, 109.98 (4 x Thymin-C5), 118.86, 118.96 (4 x Aryl-C3), 123.72, 123.83, (4 x Aryl-C5), 125.14, 125.20 (4 x C2'), 126.32 (4 x Aryl-C1), 127.63 (2 x Aryl-C4), 130.80 (4 x C3'), 132.94 (4 x Aryl-C6), 135.87 (4 x Thymin-C6), 147.14 (4 x Aryl-C2), 149.94 (4 x Thymin-C2), 163.49, (4 x Thymin-C4)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -9.90, -10.02, -10.49, -10.61

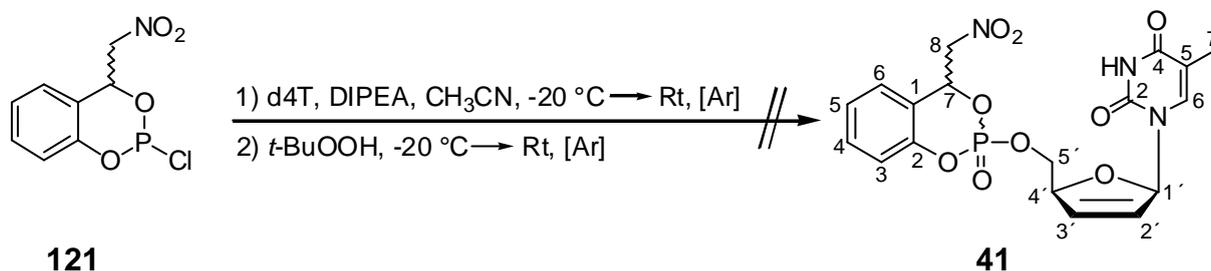
DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.45

HPLC: t_R = 11.6 min

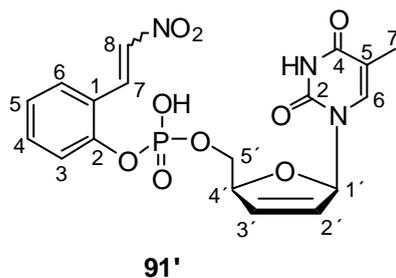
MS (ESI⁺, m/z): ber.: 431.09

gef.: 454.1 (M+Na⁺)

7.4.14 Versuch der Synthese von 7-Nitromethyl-cyclosaligenyl-d4T-mono-phosphat **41** (7-NM-cycloSal-d4TMP)

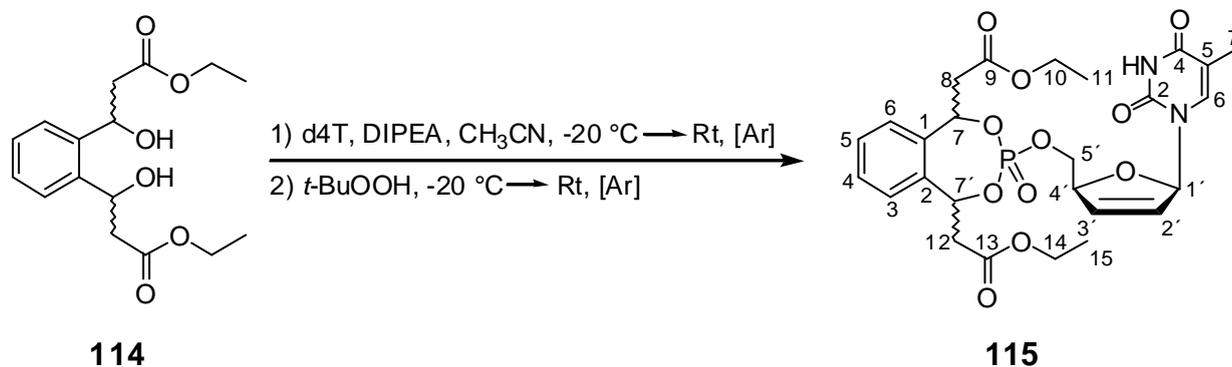


Es wurden 124 mg (0.55 mmol) d4T **4** nach **AAV-2** umgesetzt. Das Produkt **41** konnte jedoch nicht erhalten werden. Es wurden nur diverse Nebenprodukte als Mischfraktionen erhalten. Aufgrund der chemischen Verschiebung im ³¹P-NMR-Spektrum konnte der falsche Diester **91'** als eines der Nebenprodukte identifiziert werden.



³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -6.96

7.4.15 Synthese von 7,7'-bis-(Ethoxycarbonylmethyl)-cyclophthalogenyl-d4T-monophosphat **115 (7,7'-bis-ECM-cycloPhthal-d4TMP)**



Es wurden 210.0 mg (0.94 mmol) d4T **4** nach **AAV-2** umgesetzt. das Produkt **115** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 49.0 mg (0.085 mmol, 9 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 3 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.4 : 0.3

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.17 (t, 1 x 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 1.19 (t, 1 x 6 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 1.21 (t, 1 x 6H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 1.57 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 1.71 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 1.72 (s, 1 x 3 H, 1 x Thymin- CH_3), 3.15, 3.19 (dd, 3 x 2H, $^2J_{\text{HH}} = 15.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, 3 x H8, 3 x 2H, $^2J_{\text{HH}} = 15.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, 3 x H12), 4.09 (ddd, 3 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.7$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 6.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.1$ Hz, 3 x H5''), 4.11 (ddd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x H5'), 4.11 (q, 1 x 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 4.12 (ddd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 5.3$ Hz, 1 x H5'), 4.14 (q, 1 x 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 4.15 (q, 1 x 4H, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1 x 2 x CH_2CH_3), 4.16 (ddd, 1 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 6.5$ Hz, 1 x H5'), 4.85-4.92 (m, 3 x 1 H, 3 x H4'), 5.96 (m, 3 x 2H, 3 x 2 x Benzyl-H), 5.98-6.00 (m, 3x1 H, 3 x H2'), 6.27 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.28 (m, 1 x 1 H, 1 x H3'), 6.33 (ddd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 x H3'), 6.80 (dd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H1'), 6.82 (dd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.5$ Hz,

$^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H1'), 6.84 (dd, 1 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 x H1'), 7.15 (s, 1 x 1 H, 1 x Thymin-H6), 7.19 (d, 1 x 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.23 (d, 1 x 1 H, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Thymin-H6), 7.41-7.48 (m, 3 x 4H, 3 x 4 x Aryl-H), 11.31, 11.32 (s, 3 x 1 H, 3 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 12.02, 12.21 (3 x Thymin- CH_3), 14.34 (3 x 2 x CH_2CH_3), 40.15 (3 x C8, 3 x C12), 60.77 (1 x 2 x CH_2CH_3), 60.83 (1 x 2 x CH_2CH_3), 60.92 (1 x 2 x CH_2CH_3), 68.31, 68.55 (3 x C5'), 73.22 (1 x 2 x Benzyl-C), 73.26 (1 x 2 x Benzyl-C), 73.39 (1 x 2 x Benzyl-C), 84.42 (3 x C4'), 89.21 (3 x C1'), 110.01 (3 x Thymin-C5), 127.15, 127.29, 127.56, 127.70, 127.83 (3 x Aryl-C3, 3 x Aryl-C6, 3 x C2'), 129.57 (3 x Aryl-C4, 3 x Aryl-C5), 133.26 (3 x C3'), 136.13 (3 x Thymin-C6), 136.94 (d, $^3J_{\text{CP}} = 6.1$ Hz, 3 x Aryl-C1, 3 x Aryl-C2), 151.05 (3 x Thymin-C2), 164.08 (3 x Thymin-C4), 169.51 (1 x C9, 1 x C13), 169.57 (1 x C9, 1 x C13), 170.16 (1 x C9, 1 x C13)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -1.57, -3.68, -4.06

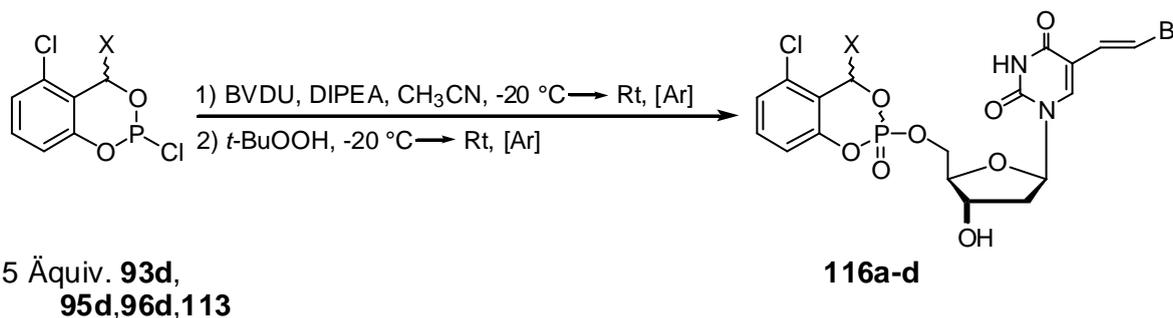
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.57

HPLC: $t_R = 14.1$ min, $t_R = 14.9$ min, $t_R = 15.1$ min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 578.17

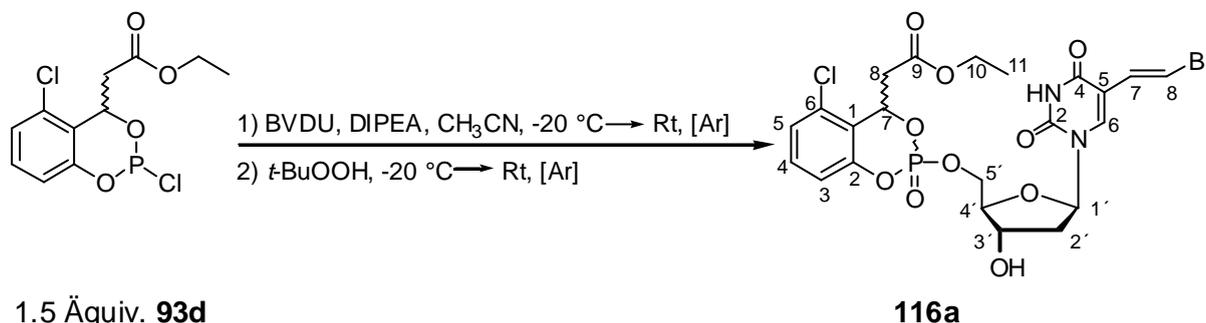
gef.: 601 (M+Na $^+$)

7.5 Synthese der *cycloSal*-BVDU-monophosphate 116 (AAV-3)



Die Synthesen wurden unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Lösungen (ca. 0.05 M) von BVDU **13** in abs. DMF/THF (2 : 1 v/v) wurden angesetzt und auf -20 °C gekühlt. Zu diesen Lösungen wurden bei -20 °C und unter Rühren 2 Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate gegeben (ca. 1.5 Äquivalente, Einwaage der Chlorphosphate [Öle] mit Hilfe einer Einweg-Spritze). Anschließend wurde das Kältebad entfernt und man ließ den Ansatz bei Raumtemperatur aufwärmen. Auf Zugabe weiteres Chlorphosphans wurde bei noch unvollständigem Umsatz des BVDU's verzichtet (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle: Laufmittel Dichlormethan/Methanol=9 : 1 v/v), da es dadurch unvermeidlich auch zur Bildung von 3',5'-diphosphoryliertem Nebenprodukts kommen würde. Es wurden anschließend bei -20 °C 3 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid (5-6 M Lösung in *n*-Decan) zugetropft. Man ließ die Reaktionsmischungen erneut auf Raumtemperatur erwärmen und 1 h nachrühren. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Aus den so erhaltenen gelblichen Rohprodukten wurden in einer ersten Trennung am Chromatotron Salze entfernt (Essigester/Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure]=9 : 1 v/v). Durch weitere Aufreinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure]-Gradienten) konnte die BVDUMP-Prodrugs zunächst in Form farbloser Öle isoliert werden. Diese gingen durch Gefriertrocknung in farblose Watten über.

7.5.1 Synthese von 6-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-BVDU-monophosphat **116a** (6-Cl-7-ECM-cycloSal-d4TMP)



1.5 Äquiv. **93d**

Gemäß **AAV-3** wurden 210 mg (0.63 mmol) BVDU **13** umgesetzt. das Produkt **116a** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 134 mg (0.22 mmol, 35.0 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.9 : 0.9 : 0.8 : 1.0

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d₆): 1.17 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 1.18 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 1.19 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 1.20 (t, 3 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 2.11 (m, 4 x 1 H, 4 x H^{2'}), 2.18 (m, 4 x 1 H, 4 x H^{2''}), 3.02-3.23 (m, 4 x 2 H, 4 x H⁸), 3.84 (m, 2 x 1 H, 2 x H^{4'}), 3.98 (m, 2 x 1 H, 2 x H^{4'}), 4.11 (q, 1 x 2 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x CH₂CH₃), 4.12 (q, 1 x 2 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 4.13 (q, 1 x 2 H, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 x CH₂CH₃), 4.14 (q, 1 x 2 H, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1 x CH₂CH₃), 4.25 (m, 8 x 1 H, 4 x H^{3'}, 4 x H^{5'}), 4.40 (m, 4 x 1 H, 4 x H^{5''}), 5.42 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.3 Hz, 1 x 3'-OH), 5.43 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1 x 3'-OH), 5.48 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.3 Hz, 1 x 3'-OH), 5.49 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1 x 3'-OH), 6.04 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.11 (dd, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 2 x H^{1'}), 6.17 (dd, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 6.9 Hz, ³J_{HH} = 6.9 Hz, 2 x H^{1'}), 6.83 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H7), 6.84 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H7), 6.85 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H7), 6.86 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H7), 7.16 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H3), 7.19 (m, 2 x 1 H, 2 x Aryl-H3), 7.27 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.5 Hz, 2 x BVU-H8), 7.28 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.5 Hz, 1 x BVU-H8), 7.29 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H8), 7.36 (m, 4 x 1 H,

4 x Aryl-H5), 7.44 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 7.69 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.72 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.79 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.80 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 11.58 (br, 1 H, 1 x NH), 11.60 (br, 1 H, 1 x NH), 11.62 (br, 2 x 1 H, 2 x NH)

¹³C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d₆): 14.12 (4 x CH₂CH₃), 38.78, 38.93, 38.96 (4 x C8), 39.02 (4 x C2'), 60.93, 61.03, (4 x CH₂CH₃), 68.42 (d, ²J_{CP} = 6.1 Hz, 1 x C5'), 68.48 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, 1 x C5'), 68.73 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, 1 x C5'), 68.93 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, 1 x C5'), 69.73, 69.85, 69.95 (4 x C3'), 76.29, 76.48, 76.51, 76.56 (4 x Benzyl-C), 84.39, 84.47, 84.61, 84.66 (4 x C4'), 84.82, 84.88, 84.97 (4 x C1'), 107.08, 107.13 (4 x BVU-C8), 110.23, 110.30, 110.33 (4 x BVU-C5), 118.21, 118.27, 118.34 (4 x Aryl-C3), 126.12, 126.16, 126.26, 126.31 (4 x Aryl-C5), 129.87, 129.90 (4 x Aryl-C4), 131.51, 131.55 (4 x Aryl-C1), 131.60, 131.64 (4 x Aryl-C6), 139.37, 139.44, 139.46 (4 x BVU-C6), 149.33, 149.35, 149.61, 149.71 (4 x BVU-C2), 150.02, 150.09, 150.21, 150.28 (4 x Aryl-C2), 161.75 (2 x BVU-C4), 168.42, 168.45, 168.55, 168.62 (4 x C9)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -9.80, -10.13, -10.16, -10.36

DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.31

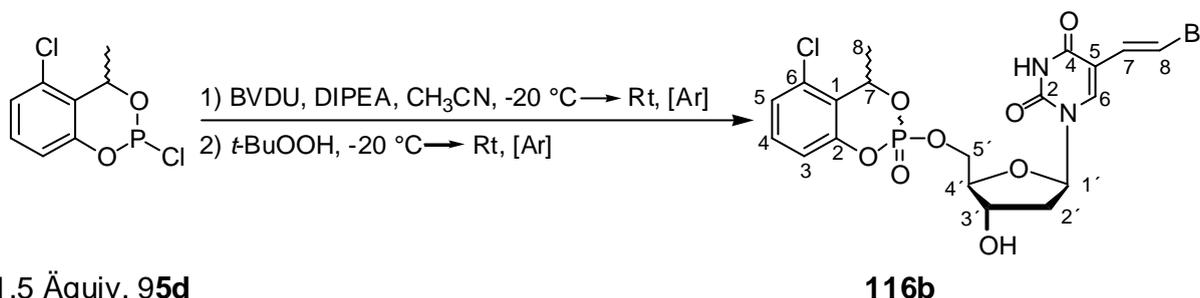
HPLC: t_R = 16.6 min, 17.0 min (jeweils 2 Diastereomere)

MS (FAB, M/Z): ber.: 621.004 (M+H⁺)

gef.: 621 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

621.005 (M+H⁺, Hochauflösung)

7.5.2 Synthese von 6-Chlor-7-methyl-cyclosaligenyl-BVDU-monophosphat (6-Cl-7-Me-cycloSal-d4TMP) 116b



1.5 Äquiv. 95d

Gemäß **AAV-3** wurden 150.0 mg (0.45 mmol) BVDU **13** umgesetzt. das Produkt **116b** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 128 mg (0.25 mmol, 54.8 %) einer weißen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.7 : 1.0 : 1.0 : 0.7

¹H-NMR: δ [ppm] (500 MHz, DMSO-d₆): 1.39 (d, 1 x 3 H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 1 x CH₃), 1.61 (d, 1 x 3 H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 1 x CH₃), 1.68 (d, 2 x 3 H, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 2 x CH₃), 1.90-2.30 (m, 4 x 2 H, 4 x H₂'), 4.13-4.33 (m, 10 x 1 H, 4 x H₃', 4 x H₅', 2 x H₅''), 4.39 (m, 1 H, 1 x H₅''), 4.45 (m, 1 H, 1 x H₅''), 5.43 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.4 Hz, 1 x 3'-OH), 4.45 (d, 1 H, ³J_{HH} = 4.4 Hz, 1 x 3'-OH), 5.51 (m, 2 x 1 H, 2 x 3'-OH), 5.85 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.15 (dd, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 2 x H₁'), 6.19 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 1 x H₁'), 6.20 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 1 x H₁'), 6.86 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H₇), 6.87 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H₇), 6.88 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H₇), 6.89 (d, 1 H, ³J_{HH} = 13.7 Hz, 1 x BVU-H₇), 7.17 (dd, 3 x 1 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 3 x Aryl-H₃), 7.20 (dd, 1 H, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 x Aryl-H₃), 7.29 (d, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 13.0 Hz, 2 x BVU-H₈), 7.31 (d, 2 x 1 H, ³J_{HH} = 13.0 Hz, 2 x BVU-H₈), 7.35 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H₅), 7.44 (dd, 4 x 1 H, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 4 x Aryl-H₄), 7.74 (s, 1 H, 1 x BVU-H₆), 7.76 (s, 1 H, 1 x BVU-H₆), 7.82 (s, 1 H, 1 x BVU-H₆), 7.83 (s, 1 H, 1 x BVU-H₆), 11.60 (s, 2 x 1 H, 2 x NH), 11.62 (s, 2 x 1 H, 2 x NH)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 20.77, 20.83, 21.79 (4 x CH_3), 39.36 (4 x $\text{C}2'$), 68.29, 68.34 (4 x $\text{C}5'$), 69.76, 69.87 (4 x $\text{C}3'$), 84.60, 84.48, 84.40 (4 x $\text{C}4'$), 76.47, 76.55 (2 x Benzyl-C), 76.71 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, 1 x Benzyl-C), 76.77 (1 x Benzyl-C), 84.87, 84.73 (4 x $\text{C}1'$) 107.13 (4 x BVU-C8), 110.24 (4 x BVU-C5), 118.16, 118.10 (4 x Aryl-C3), 126.07, 126.04, 125.95, 125.91 (4 x Aryl-C5), 129.88 (4 x BVU-C7), 130.04, 130.08 (4 x Aryl-C1), 131.09 (4 x Aryl-C4), 131.68 (4 x Aryl-C6), 139.36, 139.46 (4 x BVU-C6), 149.34 (4 x BVU-C2), 150.58 (4 x Aryl-C2), 161.74 (4 x BVU-C4)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.03, -9.23, -9.23, -9.44

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.44

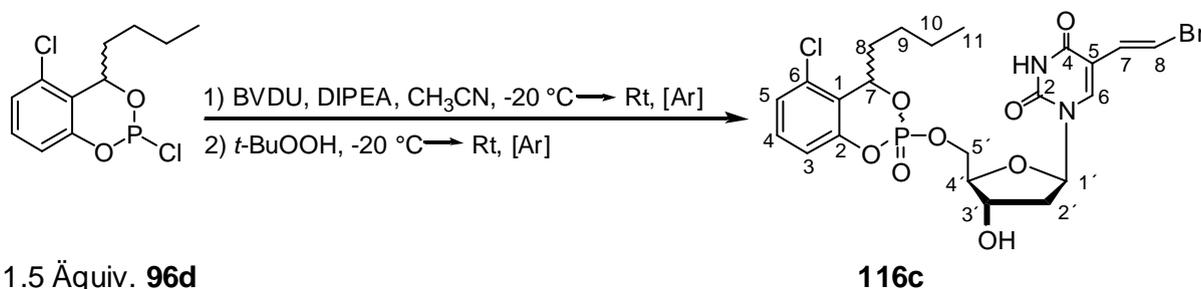
HPLC: $t_R = 16.0$ min, 16.4 min (jeweils 2 Diastereomere)

MS (FAB, M/Z): ber.: 548.983 ($M+H^+$)

gef.: 549 ($M+H^+$, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

548.988 ($M+H^+$, Hochauflösung)

7.5.3 Synthese von 6-Chlor-7-butyl-cyclosaligenyl-BVDU-monophosphat (6-Cl-7-Bu-cycloSal-d4TMP) **116c**



Gemäß **AAV-3** wurden 140.0 mg (0.42 mmol) BVDU **13** umgesetzt. das Produkt **116c** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 80.1 mg (0.14 mmol, 32.3 %) einer weißen Warte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 0.6 : 0.6 : 0.9 : 1.0

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 0.86 (m, 4 x 3 H, 4 x CH_3), 1.33 (m, 4 x 2 H, 4 x H10), 1.47 (m, 4 x 2 H, 4 x H9), 1.85 (m, 4 x 1 H, 4 x H8), 1.97 (m, 4 x 1 H, 4 x H8'), 2.11 (m, 4 x 1 H, 4 x H2''), 2.21 (m, 4 x 1 H, 4 x H2''), 3.85 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 3.97 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 4.12-4.30 (m, 8 x 1 H, 4 x H3', 4 x H5'), 4.34-4.49 (4 x 1 H, 4 x H5''), 5.41 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 4.4$ Hz, 1 x 3'-OH), 5.42 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 4.4$ Hz, 1 x 3'-OH), 5.48 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, 1 x 3'-OH), 5.49 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 4.7$ Hz, 1 x 3'-OH), 5.65 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.12 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 1 x H1'), 6.13 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 1 x H1'), 6.18 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x H1'), 6.19 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1 x H1'), 6.81 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 1 x BVU-H7), 6.85 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 1 x BVU-H7), 6.87 (d, 2 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 2 x BVU-H7), 7.15 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.16 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.18 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.19 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.25 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.26 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.29 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.30 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 13.6$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.34 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.41 (dd, 4 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 4 x Aryl-H4), 7.73 (s, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.74 (s, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.79 (s, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.81 (s, 1 H, 1 x BVU-H6), 11.58 (br, 1 H, 1 x NH), 11.59 (br, 1 H, 1 x NH), 11.61 (br, 2 x 1 H, 2 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 13.80, 13.82, 13.86 (4 x CH_3), 21.43, 21.52 (4 x C10), 26.70, 26.94 (4 x C9), 33.84, 34.84 (4 x C8), 39.07, 39.13 (4 x C2'), 68.24 (4 x C5'), 69.73, 69.80 (4 x C3'), 80.06 (d, 1 H, $^2J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, 1 x Benzyl-C), 80.14 (d, 1 H, $^2J_{\text{CP}} = 4.8$ Hz, 1 x Benzyl-C), 80.18 (d, 1 H, $^2J_{\text{CP}} = 4.6$ Hz, 1 x Benzyl-C), 80.30 (d, 1 H, $^2J_{\text{CP}} = 5.2$ Hz, 1 x Benzyl-C), 84.42, 84.49, 84.53 (4 x C4'), 84.77, 84.80, 84.83 (4 x C1'), 107.13, (4 x BVU-C8), 110.16 (2 x BVU-C5),

118.10, 118.13, 118.18 (4 x Aryl-C3), 125.94, 126.00, 126.09, 126.13, (4 x Aryl-C5), 129.91 (4 x Aryl-C4), 130.25 (4 x Aryl-C1), 131.14 (4 x Aryl-C6), 139.38, 139.48, 139.56 (4 x BVU-C6), 149.32, 149.38 (4 x BVU-C2), 153.47 (4 x Aryl-C2), 161.75 (4 x BVU-C4)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -8.47, -8.72, -9.04, -9.28

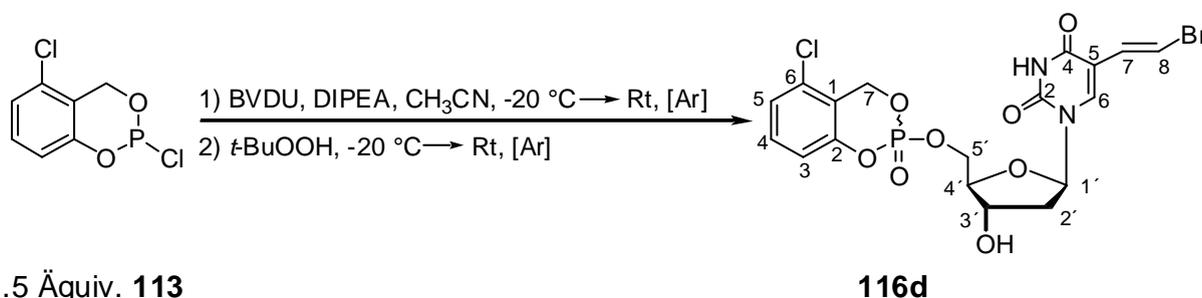
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.65

MS (FAB, M/Z): ber.: 591.030 (M+H $^+$)

gef.: 591 (M+H $^+$, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

591.024 (M+H $^+$, Hochauflösung)

7.5.4 Synthese von 6-Chlor-cyclosaligenyl-BVDU-monophosphat **116d** (6-Cl-cycloSal-BVDUMP)



Gemäß **AAV-3** wurden 160.0 mg (0.48 mmol) BVDU **13** umgesetzt. das Produkt **116d** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 49 mg (0.09 mmol, 19.1 %) einer weißen Watte als Gemisch von 2 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0

^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 2.09-2.20 (m, 2 x 2 H, 2 x H2'), 3.89-3.94 (m, 2 x 1 H, 2 x H4'), 4.22 (m, 2 x 1 H, 2 x H3'), 4.29 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{PH}} = 13.2$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.1$ Hz, 1 x H5'), 4.35 (m,

2 x 1 H, 2 x H5''), 4.42 (ddd, 1 H, $^3J_{PH} = 13.2$ Hz, $^2J_{HH} = 11.2$ Hz, $^3J_{HH} = 3.5$ Hz, 1 x H5'), 5.41 (dd, 1 H, $^2J_{HH} = 15.0$ Hz, $^3J_{PH} = 7.2$ Hz, 1 x Benzyl-H), 5.43 (dd, 1 H, $^2J_{HH} = 15.0$ Hz, $^3J_{PH} = 7.2$ Hz, 1 x Benzyl-H), 5.45 (br, 2 x 1 H, 2 x 3'-OH), 5.53 (dd, 1 H, $^2J_{HH} = 15.0$ Hz, $^3J_{PH} = 14.4$ Hz, 1 x Benzyl-H'), 5.58 (dd, 1 H, $^2J_{HH} = 15.0$ Hz, $^3J_{PH} = 14.4$ Hz, 1 x Benzyl-H'), 6.13 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz, $^3J_{HH} = 6.2$ Hz, 1 x H1'), 6.15 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz, $^3J_{HH} = 6.2$ Hz, 1 x H1'), 6.85 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 13.6$ Hz, $^4J_{HH} = 1.5$ Hz, 1 x BVU-H7), 6.88 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 13.6$ Hz, $^4J_{HH} = 1.5$ Hz, 1 x BVU-H7), 7.11 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.14 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl-H3), 7.28 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 13.6$ Hz, $^5J_{HH} = 1.0$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.29 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 13.6$ Hz, $^5J_{HH} = 1.0$ Hz, 1 x BVU-H8), 7.31 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.33 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.38 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.41 (dd, 1 H, $^3J_{HH} = 8.3$ Hz, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, 1 x Aryl-H4), 7.75 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 7.80 (m, 1 H, 1 x BVU-H6), 11.60 (br, 1 H, 1 x NH), 11.61 (br, 1 H, 1 x NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 39.07 (2 x C2'), 67.16 (d, $^2J_{CP} = 7.3$ Hz, 1 x C5'), 67.28 (d, $^2J_{CP} = 7.3$ Hz, 1 x C5'), 68.02 (d, $^2J_{CP} = 5.2$ Hz, 1 x Benzyl-C), 68.10 (d, $^2J_{CP} = 5.2$ Hz, 1 x Benzyl-C), 69.69, 69.82 (2 x C3'), 84.41 (d, $^3J_{CP} = 3.6$ Hz, 1 x C4'), 84.42 (d, $^3J_{CP} = 3.2$ Hz, 1 x C4'), 84.72, 84.83 (2 x C1'), 107.16, 107.18 (2 x BVU-C8), 110.30, 110.36 (2 x BVU-C5), 117.71 (d, $^3J_{CP} = 4.8$ Hz, 1 x Aryl-C3), 117.78 (d, $^3J_{CP} = 6.1$ Hz, 1 x Aryl-C3), 125.54, (2 x Aryl-C5), 129.89 (2 x Aryl-C4), 130.27 (2 x Aryl-C1), 130.85 (2 x Aryl-C6), 139.48, 139.58 (2 x BVU-C6), 149.32, 149.38 (2 x BVU-C2), 150.17 (d, $^2J_{CP} = 3.6$ Hz, 1 x Aryl-C2), 150.23 (d, $^2J_{CP} = 3.6$ Hz, 1 x Aryl-C2), 161.77 (2 x BVU-C4)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -10.01

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.56

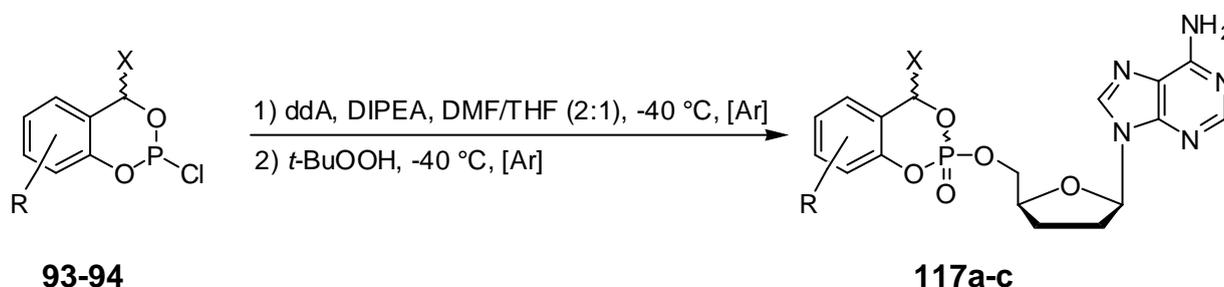
HPLC: $t_R = 15.7$ min

MS (FAB, M/Z): ber.: 534.967 (M+H⁺)

gef.: 535 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

534.965 (M+H⁺, Hochauflösung)

7.6 Synthese der *cycloSal*-ddA-monophosphate 117a-c und des *cycloSal*-F-*ara*-ddA-monophosphats 118 (AAV-4)



Die Synthesen wurden unter Argon als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Lösungen (ca. 0.05 M) von ddA **21** bzw. F-*ara*-ddA **23** in abs. DMF/THF (2 : 1 v/v) wurden angesetzt und auf -40 °C gekühlt. Zu diesen Lösungen wurden bei -40 °C und unter Rühren 2 Äquivalente DIPEA sowie die entsprechenden Saligenylchlorphosphate (verunreinigte Rohprodukte) gegeben. Die Saligenylchlorphosphate wurden, sofern es sich um Öle handelte, unverdünnt zugegeben. In den Fällen, in denen die Saligenylchlorphosphate als Feststoffe anfielen, wurden sie als Lösung in abs. DMF/THF (2 : 1 v/v) zugegeben. Die Reaktionen wurden dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt (Dichlormethan/ Methanol= 9 : 1 v/v). Sofern ddA **21** bzw. F-*ara*-ddA **23** noch nicht vollständig verbraucht war, wurde bei -40 °C weiteres Saligenylchlorphosphan zugegeben. Nach vollständiger Umsetzung des ddA **21** bzw. F-*ara*-ddA **23** wurden bei -40 °C 3 Äquivalente *tert*-Butylhydroperoxid (5-6 M Lösung in *n*-Decan) zugetropft. Man ließ die Reaktionsmischungen auf Raumtemperatur erwärmen und 1 h nachrühren. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abdestilliert. Aus den so erhaltenen gelblichen Rohprodukten wurden in einer ersten Trennung am

Chromatotron Salze entfernt (Essigester/Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure] = 9 : 1 v/v). Durch weitere Aufreinigung am Chromatotron (Dichlormethan mit Methanol [angesäuert mit 0.1 % Essigsäure]-Gradienten) konnte die Produkte **117-118** zunächst in Form farbloser Öle isoliert werden. Diese gingen durch Gefriertrocknung in farblose Watten über.

7.6.1 Synthese von **3-Methyl-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA monophosphat 117a** (**3-Me-7-ECM-cycloSal-ddAMP**)



Es wurden 81 mg (0.34 mmol) ddA **21** nach **AAV-4** umgesetzt. Das Produkt **117a** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Darüber hinaus wurden 24.6 mg des Eliminierungsproduktes (E)-2-Hydroxy-3-methylzimtsäureethylester **63'b** erhalten, welches nach Lyophilisieren ebenfalls als farblose Watte vorlag.

Ausbeute: 62.0 mg (0.12 mmol, 36 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.6 : 0.4 : 0.3

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.15 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.16 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.16 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.17 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 2.07 (m, 4 x 2H, 4 x H3'), 2.09 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl- CH_3), 2.10 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl- CH_3), 2.15 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl- CH_3), 2.17 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl- CH_3), 2.47-2.54 (m, 4x2H, 4 x H2'), 2.90-3.03 (m, 4 x 2H, 4 x H8), 4.10-4.16 (m, 4 x 2H, 4 x CH_2CH_3), 4.21-4.39 (m,

4 x 1 H, 4 x H4', 4 x 2H, 4 x H5'), 5.78-5.84 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 5.87-5.92 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.19, 6.20, 6.22 (t, 4 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, 4 x H1'), 6.82-6.87 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 6.94-6.98 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4), 7.09-7.12 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 7.19 (s, 4 x 2H, 4 x NH₂), 8.02 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.06 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.09 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.11 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.21 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.24 (s, 3 x 1 H, 3 x Adenin-H8)

¹³C-NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO-d₆): 14.35, 14.43 (4 x CH₂CH₃), 15.19 (1 x Aryl-CH₃), 15.29 (1 x Aryl-CH₃), 15.39 (1 x Aryl-CH₃), 15.89 (1 x Aryl-CH₃), 26.14, 26.18 (4 x C3'), 31.13, 31.20 (4 x C2'), 41.15 (4 x C8'), 60.51, 60.81, 60.86 (4 x CH₂CH₃), 69.36, 69.46, 70.17 (4 x C5'), 76.56 (1 x Benzyl-C), 76.67 (1 x Benzyl-C), 77.12 (1 x Benzyl-C), 77.23 (1 x Benzyl-C), 79.05, 79.24 (4 x C4'), 84.82, 84.85 (4 x C1'), 119.35 (4 x Adenin-C5), 122.05, 122.48 (4 x Aryl-C5), 123.35 (1 x Aryl-C3), 123.55 (1 x Aryl-C3), 123.76 (1 x Aryl-C3), 123.90 (1 x Aryl-C3), 124.35, 124.42 (4 x Aryl-C6), 130.40 (4 x Aryl-C1), 131.58, 131.68 (4 x Aryl-C4), 139.18 (4 x Adenin-C8), 147.80 (4 x Aryl-C2), 148.93 (4 x Adenin-C4), 151.07 (4 x Adenin-C2), 155.01 (4 x Adenin-C6), 169.28 (4 x C=O)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -8.74, -8.91 -9.51, -9.56

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

HPLC: t_R = 13.8 min

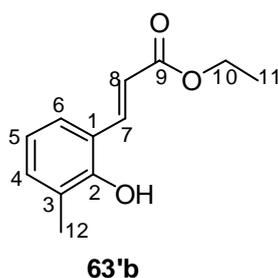
MS (ESI⁺, m/z): ber.: 503.16

gef.: 526 (M+Na⁺)

MS (FAB, M/Z): ber.: 503.16 (M+H⁺)

gef.: 504 (M+H⁺, Matrix *m*-Nitrobenzylalkohol)

Daten zur Charakterisierung von **63'b**

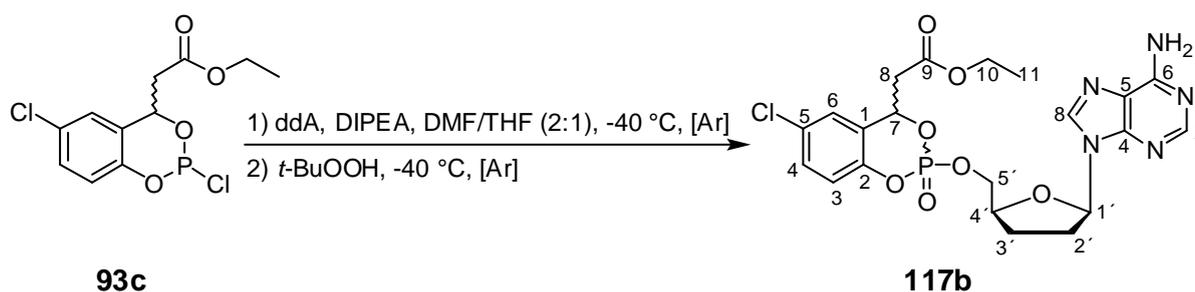


$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 1.35 (t, 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 2.31 (s, 3 H, Aryl- CH_3), 4.28 (q, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3), 6.53 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz, H8), 6.86 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, H5), 7.16 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, H4), 7.37 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, H6), 8.10 (d, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz, H7)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, CDCl_3): 14.72 (CH_2CH_3), 16.19 (Aryl- CH_3), 60.88 (CH_2CH_3), 119.02 (C8), 120.97 (C5), 121.94 (C3), 124.29 (C1), 126.84 (C6), 133.04 (C4), 140.56 (C7), 153.69 (C2), 168.15 (C=O)

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.71

7.6.2 Synthese von 5-Chlor-7-ethoxycarbonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA-monophosphat **117b** (5-Cl-7-ECM-cycloSal-ddAMP)



Es wurden 74 mg (0.31 mmol) ddA **21** nach **AAV-4** umgesetzt. Das Produkt **117b** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Ausbeute: 46.0 mg (0.09 mmol, 28 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 1.0 : 0.4 : 0.5

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.13 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.13 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.14 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 1.15 (t, 1 x 3 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 1 x CH_2CH_3), 2.08-2.17 (m, 4 x 2H, 4 x H3'), 2.49-2.58 (m, 4 x 2H, 4 x H2'), 3.03, 3.04 (dd, 4 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, 4 x H8), 3.30 (dd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 2 x H8'), 3.33 (dd, 2 x 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 2 x H8'), 4.10-4.17 (m, 4 x 2H, 4 x CH_2CH_3), 4.28-4.42 (m, 4 x 1 H, 4 x H4', 4 x 2H, 4 x H5'), 5.77-5.80 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 5.84-5.90 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.19-6.22 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'), 6.87-7.04 (m, 4 x 3 H, 4 x 3 x Aryl-H), 7.20 (s, 4 x 2 H, 4 x NH_2), 8.10 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.11 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.12 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.14 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.20, 8.21 (s, 4 x 1 H, 4 x Adenin-H8)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 14.12, 14.14 (4 x CH_2CH_3), 26.05, 26.17, 26.57 (4 x C3'), 30.84, 30.88 (4 x C2'), 41.58 (1 x C8), 41.91 (1 x C8), 42.11 (1 x C8), 42.43 (1 x C8), 60.12, 60.62, 60.68 (4 x CH_2CH_3), 69.48, 70.10 (4 x C5'), 76.19 (4 x Benzyl-C), 79.67, 80.29 (4 x C4'), 84.45 (4 x C1'), 119.22 (4 x Adenin-C5), 121.57, 121.60, 121.65 (4 x Aryl-C3), 125.40, 125.68 (4 x Aryl-C1), 126.36, 126.81 (4 x Aryl-C6), 128.62, 128.67 (4 x Aryl-C5), 130.45, 130.81 (4 x Aryl-C4), 139.17 (4 x Adenin-C8), 147.92 (4 x Aryl-C2), 149.04 (4 x Adenin-C4), 151.71 (4 x Adenin-C2), 156.03 (4 x Adenin-C6), 168.87 (4 x C=O)

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.87, -9.99 -10.48, -10.58

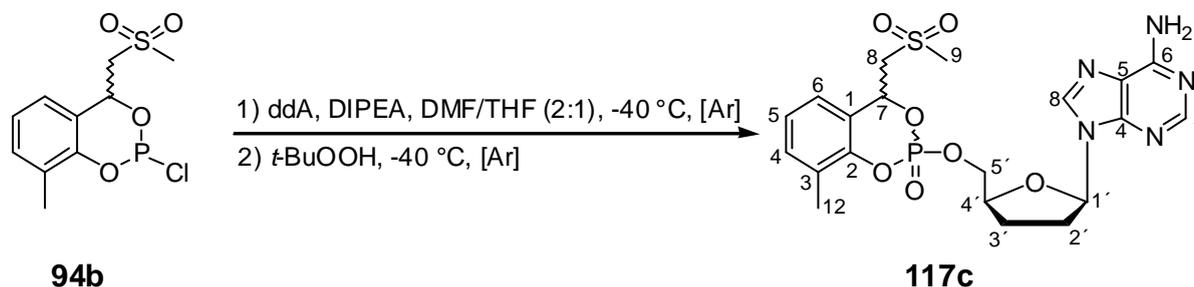
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.49

HPLC: $t_R = 14.8$ min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 523.10

gef.: 524

7.6.3 Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-ddA-monophosphat **117c** (3-Me-7-MSM-cycloSal-ddAMP)



Gemäß **AAV-4** wurden 80.0 mg (0.34 mmol) ddA **21** umgesetzt. Das Produkt **117c** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Darüber hinaus wurden 24.6 mg des Eliminierungsproduktes **64'b** erhalten, welches nach Lyophilisieren ebenfalls als farblose Watte vorlag (spektroskopische Daten zu **64'b**: vgl. Kap. 7.4.5).

Ausbeute: 89.3 mg (0.18 mmol, 52 %) einer farblosen Watte als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.7 : 0.8 : 0.9

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (500 MHz, DMSO- d_6): 1.99-2.21 (m, 4 x 2 H, 4 x H3'), 2.07 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.09 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.15 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.18 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.44 (m, 4 x 2H, 4 x H2'), 3.02 (s, 3 H, CH₃), 3.06 (s, 3 H, CH₃), 3.07 (s, 3 H, CH₃), 3.10 (s, 3 H, CH₃), 3.88-4.08 (m, 4x 2H, 4 x H8), 4.18-4.39 (m, 4x 1 H, 4 x H4', 4 x 2H, 4 x H5'), 5.95 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 2.9$ Hz, Benzyl-H), 5.97 (ddd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.7$ Hz, $^3J_{\text{PH}} = 2.7$ Hz, Benzyl-H), 6.05 (dd, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, Benzyl-H), 6.08 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.7$ Hz, Benzyl-H), 6.18, 6.19, 6.19, 6.20 (t, 4 x 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 5.4$ Hz, 4 x H1'), 7.08 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H5), 7.17-7.28 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 7.28 (s, 4x 2H, 4 x NH₂), 8.09 (s, 1x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.10 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.10 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.11 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.17 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.19 (s, 2 x 1 H, 2 x Adenin-H8), 8.21 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8)

^{13}C -NMR: δ [ppm] (125 MHz, DMSO- d_6): 15.06, 15.12, 15.18, 15.24 (4 x Aryl- CH_3), 25.94, 26.00, 26.03, 26.07 (4 x $\text{C}3'$), 30.95, (4 x $\text{C}2'$), 42.68, 42.72, 43.15, 43.21 (4 x CH_3), 57.41, 57.46 (4 x $\text{C}8$), 69.63, 69.80, 70.20, 70.26 (4 x $\text{C}5'$), 74.37 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 7.5$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.08 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 11.3$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.48 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 5.0$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.76 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 7.8$ Hz, 1 x Benzyl-C), 78.68, 78.72, 78.79 (4 x $\text{C}4'$), 84.42, 84.45, 84.49 (4 x $\text{C}1'$), 119.24 (4 x Adenin- $\text{C}5$), 121.62, 122.20 (4 x Aryl- $\text{C}5$), 123.86, 123.91, 124.01 (4 x Aryl- $\text{C}3$), 124.38, 124.42 (4 x Aryl- $\text{C}6$), 127.56, 127.64 (4 x Aryl- $\text{C}1$), 131.81, 131.88 (4 x Aryl- $\text{C}4$), 139.08, 139.13, 139.20 (4 x Adenin- $\text{C}8$), 147.44, 147.54 (4 x Aryl- $\text{C}2$), 149.02 (4 x Adenin- $\text{C}4$), 152.52 (4 x Adenin- $\text{C}2$), 156.05 (4 x Adenin- $\text{C}6$)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.49, -9.67 -10.10, -10.27

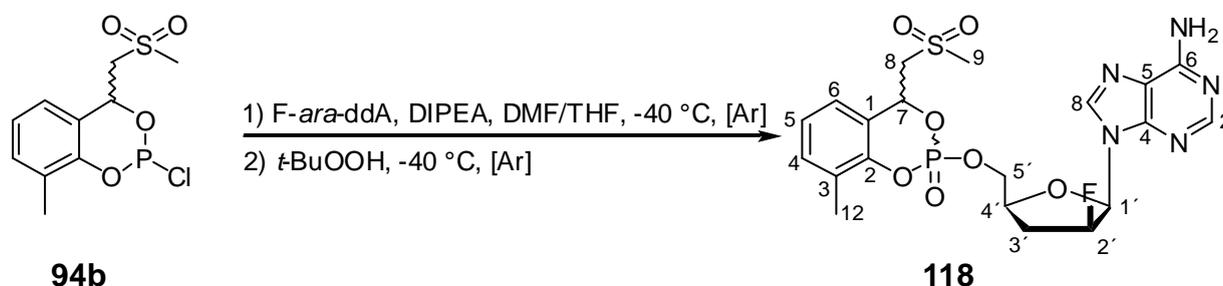
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.58

HPLC: $t_R = 11.8$ min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 509.11

gef.: 532.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$)

7.6.4 Synthese von 3-Methyl-7-methansulfonylmethyl-cyclosaligenyl-F-ara-ddA-monophosphat **118** (3-Me-7-MSM-cycloSal-F-ara-ddAMP)



Gemäß **AAV-4** wurden 80.0 mg (0.32 mmol) F-ara-ddA **23** umgesetzt. Das Produkt **118** konnte zunächst in Form eines farblosen Öls isoliert werden. Dieses ging durch Gefriertrocknung in eine farblose Watte über.

Als Nebenprodukt konnten 18.3 mg des N,O-diphosphorylierten Produkts **121'** als farbloses Öl erhalten werden. Darüber hinaus wurden 50.6 mg des Eliminierungsproduktes **64'b** als gelbes Öl erhalten (spektroskopische Daten zu **64'b**: vgl. 6.4.5).

Ausbeute: 89.3 mg (0.18 mmol, 52 %) einer farblosen Wasse als Gemisch von 4 Diastereomeren im Verhältnis 1.0 : 0.9 : 1.0 : 1.0

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 2.05-2.35 (m, 4 x 1 H, 4 x H3'), 2.10 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.11 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.21 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.22 (s, 1 x 3 H, 1 x Aryl-CH₃), 2.58-2.78 (m, 4 x 1 H, 4 x H3'), 3.02 (s, 2 x 1 H, 2 x CH₃), 3.10 (s, 1 H, CH₃), 3.11 (s, 1 H, CH₃), 3.91 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, H8), 3.92 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 14.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, H8), 3.97 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 16.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz, H8), 4.01 (dd, 1 H, $^2J_{\text{HH}} = 15.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, H8), 3.93-4.16 (m, 4 x 1 H, 4 x H8'), 4.18-4.39 (m, 4 x 1 H, 4 x H4', 4 x 2H, 4 x H5'), 5.25-5.34 (m, 2 x 1H, 2 x H2'), 5.39-5.48 (m, 2 x 1H, 2 x H2'), 5.94-6.06 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.08-6.18 (m, 2 x 1 H, 2 x Benzyl-H), 6.29-6.42 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'), 7.03 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.04 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.04 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.06 (dd, 1 H, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 1 x Aryl-H5), 7.21-7.33 (m, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H4, 4 x 1 H, 4 x Aryl-H6), 7.39 (s, 4 x 2H, 4 x NH₂), 8.03 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.04 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.05 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.06 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H8), 8.08 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.09 (s, 1 x 1 H, 1 x Adenin-H2), 8.10 (s, 2 x 1 H, 2 x Adenin-H2)

$^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (100 MHz, DMSO- d_6): 14.97, 15.03, 15.19, 15.23 (4 x Aryl-CH₃), 32.61, 32.64, 32.81, 32.86 (4 x C3'), 42.68, 42.72, 43.12, 43.23 (4 x CH₃), 57.57, 57.62, 58.07, 58.12 (4 x C8), 69.63, 69.80, 70.20, 70.26 (4 x C5'), 74.67 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 7.5$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.08 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 11.3$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.16 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 5.0$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.23 (1 C, $^2J_{\text{PH}} = 7.8$ Hz, 1 x Benzyl-C), 75.43, 75.49, 75.53, 75.60 (4 x C4'), 84.21, 84.24, 84.37, 84.41 (4 x C1'), 90.16, 90.24,

92.01, 92.09 (4 x C2'), 118.25, 118.28 (4 x Adenin-C5), 121.71, 121.79 (4 x 1 H, Aryl-H3), 122.12, 122.21 (4 x 1 H, Aryl-C1), 123.99, 124.04, 124.41, 124.49 (4 x Aryl-C4), 127.65, 127.72, 127.74 (4 x Aryl-C5), 131.38, 131.91, 131.94 (4 x Aryl-C6), 139.59, 139.66, 139.68 (4 x Adenin-C8), 149.25, 149.28 (4 x Aryl-C2), 151.74 (4 x Adenin-C4), 152.75, 152.80 (4 x Adenin-C2), 156.05 (4 x Adenin-C6)

^{31}P -NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO- d_6): -9.44, -9.46 -9.97, -10.07

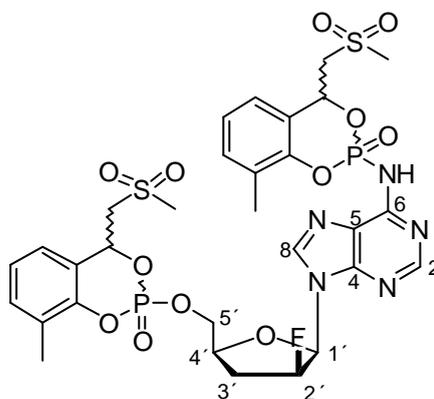
DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol 9 : 1 v/v): 0.53

HPLC: t_R = 12.6 min

MS (ESI $^+$, m/z): ber.: 527.10

gef.: 550.1 (M+Na $^+$)

Spektroskopische Daten zu 121'



121'

^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 2.05-2.35 (m, 4 x 1 H, 4 x H3'), 1.95-2.20 (s, 8 x 3 H, 8 x Aryl-CH $_3$), 2.58-2.78 (m, 4 x 1 H, 4 x H3'), 3.02-3.17 (s, 8 x 3 H, 8 x CH $_3$), 3.91-4.25 (m, 8 x 2 H, H8), 4.18-4.50 (m, 4 x 1 H, 4 x H4', 4 x 2H, 4 x H5'), 5.25-5.34 (m, 2 x 1H, 2 x H2'), 5.39-5.48 (m, 2 x 1H, 2 x H2'), 6.02-6.18 (m, 4 x 1 H, 4 x Benzyl-H), 6.37-

6.48 (m, 4 x 1 H, 4 x H1'), 7.05-7.32 (m, 24 x 1 H, 24 x Aryl-H), 8.15-8.40 (s, 4 x 1 H, 4 x Adenin-H2, 4 x 1 H, 4 x Adenin-H2)

³¹P-NMR: δ [ppm] (202 MHz, DMSO-d₆): -9.34, -9.42, -9.46, -9.51 (P1);
-9.93, -9.99, -10.07, -10.10 (P2)

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

7.7 Hydrolyseexperimente

7.7.1 Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten

Die basischen Hydrolyselösungen wurden mit einer isotonischen 25.0 mM Sörensen-Phosphatpufferlösung (pH 7.3) angesetzt. Diese wurde durch Mischen von 77.7 mL einer 25.5 mM Dinatriumhydrogenphosphatlösung (3.55 g/L) und 22.3 mL einer 25.5 mM Kaliumdihydrogenphosphatlösung (3.42 g/L) bereitet und anschließend mit Phosphorsäure auf den pH-Wert von 7.3 eingestellt. Von den Prodrug-Verbindungen wurden 1.9 mM Stammlösungen in Wasser angesetzt, indem man 11.4 µL der 50 mM Lösungen der Prodrugs in DMSO mit 300 µL Wasser mischte. 300 µL der Pufferlösungen und 5 µL einer AZT-Lösung (5 mg auf 500 µL H₂O; interner Standard) wurden in einem Eppendorf-Cap vorgelegt und mit Hilfe eines Thermomixers auf 37 °C temperiert. Durch Hinzupipettieren von 300 µL der Stammlösungen und kurzes Durchmischen (Vortex) wurden die Hydrolysen gestartet (t₀) (Gesamtkonzentrationen der Hydrolyselösungen : c_{Puffer} = 12.4 mM, c_{Triester} = 0.940 mM). Sofort nach Zugabe der Pufferlösung wurde ein erstes Aliquot (50 mL) entnommen, zum Stoppen der Hydrolyse in ein Eppendorf-Cap zu einem Tropfen konz. Essigsäure pipettiert und sofort auf -196 °C (flüssiger Stickstoff) abgekühlt. Zu verschiedenen Zeitabständen wurden dann weitere 50.0 µL Aliquote entnommen, die analog zur Nullprobe behandelt wurden.

Alle Proben wurden HPLC-analytisch untersucht (Methode 2). Die Auswertung erfolgte anschließend mit dem Tabellenkalkulationsprogramm *Microsoft Excel, Version 7.0*, indem der Quotient der Peakflächen des Triesters und des internen Standards (AZT) (normierte Integrations~~einheiten~~; normierte IE) gegen die Hydrolysezeit (h) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k der Phosphatriester konnten berechnet werden, indem eine exponentielle Ausgleichskurve durch die experimentell bestimmten Punkte gelegt wurde. Aus diesen Werten für k konnten anschließend nach der Gleichung für Geschwindigkeitsgesetze 1. Ordnung

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

die Hydrolysehalbwertszeiten $t_{1/2}$ errechnet werden (wegen des Überschusses an Wasser kann die Hydrolyse als Reaktion *pseudo*-1. Ordnung angesehen werden).

7.7.2 ³¹P-NMR-Hydrolysestudien

Die NMR-Hydrolysestudien wurden durchgeführt, indem man zu einer Lösung von ca. 5 mg (0.01 mmol) der Triester in 300 μ l DMSO- d_6 700 μ l einer isotonischen Imidazol/HCl-Pufferlösung gab (50 mM, entspricht 0.035 mmol Puffersubstanz; pH 7.3) und den zeitlichen Verlauf der Hydrolyse ³¹P-NMR-spektroskopisch verfolgte (¹H-entkoppelt, 202 MHz, 256 Scans).

In einigen Fällen wurden die ³¹P-NMR-Studien bei Verwendung eines 50 mM Ammoniumacetat-Puffers (pH 7.3) unter sonst gleichen Bedingungen wiederholt. Nach vollständiger Hydrolyse (³¹P-NMR) konnte dann durch Gefriertrocknung das Puffersalz entfernt werden. Von den Hydrolyseprodukten konnten so ¹H-NMR-Spektren (500 MHz) gemessen werden.

7.8 Dichtefunktionalrechnungen

Es wurden Dichtefunktionalrechnungen auf HP-VClass Rechnern mit dem Programm GAUSSIAN98^[103] durchgeführt. Für alle Berechnungen wurden 8 – 10 CPUs definiert. Die dabei für Geometrieoptimierungen benötigte Rechenzeit betrug etwa 1 Tag pro Struktur, Optimierungen der Übergangszustände erforderten im Durchschnitt 2 Tage Rechenzeit je Struktur. Für die Geometrieoptimierungen entlang der Reaktionskoordinate (*Scan*) wurden durchschnittlich 3 Tage Rechenzeit benötigt.

In allen Berechnungen wurde das Funktional B3LYP^[77,78] und der *triple-zeta*-Basissatz 6-311G(d,p) verwendet. Bei Molekülen mit längererkettigen Benzylseitenketten wurde unter Berücksichtigung der sonst unverhältnismäßig längeren Rechenzeit der kleinere *double-zeta*-Basissatz 6-31G(d) benutzt. Vergleichbare Energien erhält man jedoch nur unter Verwendung der selben Funktionale und insbesondere der selben Basissätze. Aus diesem Grunde wurde die Strukturen der Prototyp-Verbindung und die Strukturen für 7-Me-*cycloSal*-MeMP mit beiden Basissätzen berechnet. Als Konvergenzkriterien wurden die Standardeinstellungen verwendet (SCF conv. $1.0 \cdot 10^{-8}$; Grad. Conv. $1.0 \cdot 10^{-6}$). Zur Visualisierung der bei den Berechnungen durchlaufenen Zyklen sowie zur Animation der berechneten Schwingungsspektren wurde das Programm MOLDEN verwendet^[107].

Zunächst wurden Startgeometrien in Form kartesischer Koordinaten für Edukte und Produkte mit dem Programm *Chem3D Pro*[™], Version 3.5.2 (*CambridgeSoft Corporation*) erstellt. Für diese wurden dann Geometrie-optimierte Strukturen berechnet. Da die verwendeten Modellverbindungen Stereozentren am Phosphor- bzw. am Benzyl-C-Atom aufweisen, musste bei allen Strukturen darauf geachtet werden, dass die Konfigurationen an den jeweiligen Phosphor- und Benzyl-Zentren übereinstimmen. Um zu verifizieren, dass es sich bei den erhaltenen Geometrien tatsächlich um Grundzustände handelt, wurden anschließend die dazugehörigen Schwingungsspektren berechnet. Sie durften dabei keine imaginären Eigenschwingungen aufweisen ($\text{Nimag} = 0$). Mit den so erhaltenen Edukt- bzw. Produkt-Strukturen wurden anschließend *Scan*-Rechnungen entlang der Reaktionskoordinate durchgeführt. Dazu wurden die Abstände zwischen Benzyl-C- und Benzyl-O-Atom in Schritten der Größe von 0.1 Å vergrößert bzw. verkleinert und die entsprechenden Strukturen Geometrie-optimiert. Die energetische Verlauf in Abhängigkeit vom Benzyl-C-O-Bindungsabstand

konnte dabei mit dem Programm MOLDEN^[107] visualisiert werden. In dem Bereich, in dem die so erhaltenen Diagramme ihr Maximum durchliefen, wurde der entsprechende Übergangszustand vermutet. Die zugehörigen Strukturen wurden dann als Startgeometrien für potentielle Übergangszustände verwendet und optimiert. Nach Berechnung der zugehörigen Schwingungsspektren konnten die Strukturen dann als Übergangszustände identifiziert werden, sofern sie genau eine imaginäre Eigenschwingung aufwiesen. Die imaginäre Eigenschwingung musste der Bewegung entlang der Reaktionskoordinate entsprechen. Dies wurde mit Hilfe von MOLDEN durch Visualisierung der Schwingungen überprüft.

Für die so ermittelten Geometrien der Edukte, Produkte und Übergangszustände wurde schließlich die Ladungsverteilung mit Hilfe des in GAUSSIAN'98 implementierten NBO-Programms^[108] bestimmt.

8 Literaturverzeichnis

- [1] H. Brandis, H.J. Eggers, W. Koehler, G. Pulverer, *Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, **1994**.
- [2] F. Barré-Sinoussi, J.C. Cheman, F. Rey, M.T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauget, C. Axler-Bhin, F. Yenizet-Brun, C. Rozioux, L. Montagnier; Isolation of a T-lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for AIDS; *Science* **1983**, *220*, 868-871.
- [3] M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Reed, R.C. Gallo; Detection, Isolation and Continuous Production of Cytopathic Retrovirus (HTLV-III) from Patients with AIDS and Pre-AIDS; *Science* **1984**, *224*, 497-499.
- [4] K.E. Nye, J.M. Parkin; *HIV und AIDS*; Spektrum, Akademischer Verlag, **1995**, *XI*.
- [5] <http://www.hiv.net/2010/pdf/kapitel2.pdf>, **2001**.
- [6] S. Modrow, D. Falke; Molekulare Virologie; *Spektrum Akademischer Verlag*, Heidelberg **1998**, 613.
- [7] A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox; Prinzipien der Biochemie; 2. Auflage, *Spektrum Akademischer Verlag*, Heidelberg **1994**, 1004.
- [8] E. De Clercq; Towards Improved anti-HIV Chemotherapy: Therapeutic Intervention with HIV Infections; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2491-2517.
- [9] R. C. Blackley, A. S. Jones, R. T. Walker; Incorporation of 5-Substituted Uracil Derivatives into Nucleic Acids. III. Synthesis of 5-Substituted Uracils Derived from 5-Acetyluracil; *Tetrahedron* **1976**, *32*, 2795-2797.
- [10] 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.
- [11] E. De Clercq, J. Descamps, P. De Somer, P. J. Barr, A. S. Jones, R. T. Walker; (*E*)-5-(2-Bromovinyl)-2'-deoxyuridine: a Potent and Selective Anti-Herpes Agent; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1979**, *76*, 2947-2951.
- [12] E. De Clercq, J. Descamps, G. Verhelst, R. T. Walker, A. S. Jones, P. F. Torrence, D. Shugar; Comparative Efficacy of Antiherpes Drugs Against Different Strains of Herpes Simplex Virus; *J. Infect. Dis.* **1980**, *141*, 563-574.

- [13] S. Shigeta, T. Yokota, T. Iwabuchi, M. Baba, K. Konno, M. Ogata, E. De Clercq; Comparative Efficacy of Antiherpes Drugs Against Various Strains of Varicella-Zoster Virus; *J. Infect. Dis.* **1983**, *147*, 576-584.
- [14] C. A. Smith, B. Wigdahl, F. Rapp; Synergistic Antiviral Activity of Acyclovir and Interferon on Human Cytomegalovirus; *Antimicrobiol. Agents Chemother.* **1983**, *24*, 325-332.
- [15] E. De Clercq; Potential of Bromovinyldeoxyuridine in Anticancer Chemotherapy; *Anticancer Res.* **1986**, *6*, 549-556.
- [16] Einmal täglich: das reicht für effektive Zoster-Therapie; *Ärzte Zeitung online* **2000**.
- [17] J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq; Differential Patterns of Intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine and 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine, Two Potent anti-Human Immunodeficiency Virus Compounds; *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 6127-6133.
- [18] P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clercq; *Advances in Antiviral Drug Design (Ed.: E. De Clercq) Vol. 1*, **1993**, 233-318; JAI. Press Inc., Greenwich, Connecticut, London, England.
- [19] S.S. Cohen; On The Therapeutic Use of Nucleosides and The Penetrability of Phosphorylated Compounds; *Biochem. Pharmacol.* **1975**, *24*, 1929.
- [20] J.K. Sastry, P.N. Nehete, S. Khan, B.J. Nowak, W. Plunkett, R.B. Arlinghaus, D. Farquhar; Membrane-Permeable Dideoxyuridine 5'-Monophosphate Analogue Inhibits Human Immunodeficiency Virus Infection; *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 441-445.
- [21] C. Périgaud, J.-L. Giradet, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Comments on Nucleotide Delivery Forms; *Advances in Antiviral Drug Design (Ed.: E. De Clercq)*, **1996**, *Vol.2*, 147-172.
- [22] P.L. Carl, P.K. Chakravarty, J.A. Katzenellenbogen; A Novel Connector Linkage Applicable in Prodrug Design; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 479-480.
- [23] a) D. Farquhar, D. N. Srivastava, N. J. Kattesch, P. P. Saunders; Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups; *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 324-325;
b) R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y.-F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland; Pivaloyloxymethyl Esters of Acyclic Nucleoside Phosphonates; *Int. Antiviral News* **1994**, *2*, 53-55.

- [24] J. K. Sastry, P. N. Nehete, S. Khan, B. J. Nowak, W. Plunkett, R. B. Arlinghaus, D. Farquhar; Membrane-Permeable Dideoxyuridine 5'-Monophosphate Analogue Inhibits Human Immunodeficiency Virus Infection; *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 441-445.
- [25] A. Pompon, I. Lefebvre, J.-L. Imbach, S. Khan, D. Farquhar; Decomposition Pathways of the Mono-(Pivaloyloxymethyl) and Bis-(Pivaloyloxymethyl) Esters of Azidothymidine-5'-Monophosphate in Cell Extract and in Tissue-Culture Medium - An Application of the Online Isrp-Cleaning HPLC Technique; *Antiviral Chem. Chemother.* **1994**, *5*, 91-98.
- [26] R. V. Srinivas, B. L. Robbins, M. C. Connelly, Y.-F. Gong, N. Bischofberger, A. Fridland; Metabolism and *in vitro* Antiretroviral Activities of Bis(Pivaloyloxymethyl)-Prodrugs of Acyclic Nucleoside Phosphates; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, *37*, 2247-2250.
- [27] D. Farquhar, R. Chen, S. Khan; 5'-[4-(Pivaloyloxy)-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl]-2'-deoxy-5-fluorouridine: A Membrane-Permeating Prodrug of 5-Fluoro-2'-deoxyuridic Acid (FdUMP); *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 488-495.
- [28] M. N. Arimilli, J. Dougherty, K. C. Cundy, N. Bischofberger; *Advances in Antiviral Drug Design* (Ed.: E. De Clercq), **1999**, Vol.3, 69.
- [29] C. Perigaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Minireview: From the Pronucleotide Concept to the SATE Phosphate Protecting Groups; *Curr. Topics in Med. Chem.* **1997**, *2*, 15-29.
- [30] I. Lefebvre, C. Perigaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Girardet, A. Kim, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Mononucleoside Phosphotriester Derivates with S-Acyl-2-thioethyl Bioreversible Phosphate-Protecting Groups: Intracellular Delivery of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine-5'-monophosphate; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950.
- [31] J.-L. Girardet, C. Perigaud, A.-M. Aubertin, G. Gosselin, A. Kim, J.-L. Imbach; Increase of the anti-HIV Activity of d4T in Human T-Cell Culture by the use of the SATE Pronucleotide Approach; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2981-2984.

- [32] C. Perigaud, A.-M. Aubertin, S. Benzaria, H. Pelicano, J.-L. Girardet, G. Maury, G. Gosselin, A. Kim, J.-L. Imbach; Equal Inhibition of the Replication of Human Immunodeficiency Virus in Human T-Cell Culture by ddA Bis(SATE)Phosphotriesters and 3'-Azido-2',3'-Dideoxythymidine; *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 11-14.
- [33] S. M. Deferme, A. L. Villard, D. Egron, G. Gosselin, J.-L. Imbach, T. Lioux, A. Pompon, S. Varray, A. M. Aubertin, G. V. Mooter, R. Kinget, C. Périgaud, P. Augustijns; New bis(SATE) prodrug of AZT 5'-monophosphate: *In vitro* anti-HIV Activity, Stability, and Potential Oral Absorption; *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 448-463.
- [34] N. Schlienger, C. Périgaud, G. Gosselin, J.-L. Imbach; Synthesis and Studies of Mononucleoside Glucosyl Phosphotriester Derivatives; *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7216-7221.
- [35] C. McGuigan, M.-J. Camarasa, H. Egberink, K. Hartmann, A. Karlsson, C. F. Perno, J. Balzarini; Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Nucleotide Prodrugs as Inhibitors of HIV Replication; *Int. Antiviral News* **1997**, *5*, 19-21.
- [36] C. McGuigan, D. Cahard, H. M. Sheeka, E. De Clercq; Aryl Phosphoramidate Derivatives of d4T Have Improved anti-HIV Efficiency in Tissue Culture and May Act by the Generation of a Novel Intracellular Metabolite; *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1748-1753.
- [37] C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq; Intracellular Delivery of Bioactive AZT Nucleotides by Aryl Phosphate Derivates of AZT; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048-1052.
- [38] J. Balzarini, O. M. Wedgewood, J. Kruining, H. Pelemans, R. Heijtkink, E. De Clercq, C. McGuigan; anti-HIV and anti-HBV Activity and Resistance Profile of 2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidine (3TC) and its Arylphosphoramidate Derivate; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *225*, 363-369.
- [39] J. Balzarini, J. Kruining, O. M. Wedgewood, C. Pannecouque, S. Aquaro, C.-F. Perno, L. Naesens, M. Witvrouw, R. Heijtkink, E. De Clercq, C. McGuigan; Conversion of 2',3'-Dideoxyadenosine (ddA) and 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) to their Corresponding Aryloxyphosphoramidate Derivatives Markedly Potentiates their Activity Against Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus; *FEBS Letters* **1997**, *410*, 324-328.

- [40] C. McGuigan, O. M. Wedgewood, E. DeClercq, J. Balzarini; Phosphoramidate Derivates of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyadenosine (d4A) Have Markedly Improved anti-HIV Potency and Selectivity; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2359-2362.
- [41] D. Saboulard, L. Naesens, D. Cahard, A. Salgado, R. Pathirana, S. Velazquez, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini; Characterization of the activation pathway of phosphoramidate triester prodrugs of stavudine and zidovudine; *J. Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 693-704.
- [42] S.-L. Chang, G. W. Griesgraber, P. J. Southern, C. R. Wagner; Amino Acid Phosphoramidate Monoesters of 3'-Azido-3'-deoxythymidine: Relationship between Antiviral Potency and Intracellular Metabolism; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 223-231.
- [43] Viread™ wird vertrieben von **Gilead Sciences**, 353 Lakeside Drive, Foster City, CA 94404, USA.
- [44] Y. Choi, L. Li, S. Grill, E. Gullen, C. S. Lee, G. Gumina, E. Tsujii, Y. C. Cheng, C. K. Chu; Structure-Activity Relationships of (E)-5-(2-bromovinyl)uracil and Related Pyrimidine Nucleosides as Antiviral Agents for Herpes Viruses; *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2538-2546.
- [45] S. N. Farrow, A. S. Jones, A. Kumar, R. T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq; Synthesis and Biological Properties of Novel Phosphotriesters: A New Approach to the Introduction of Biologically Active Nucleotides into Cells; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1400-1406.
- [46] P. Herdewijn, R. Charubala, E. De Clercq, W. Pfeleiderer; Synthesis of 2'-5' Connected Oligonucleotides. Prodrugs for Antiviral and Antitumoral Nucleosides; *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 1739-1748.
- [47] C.A. Bunton, M.M. Mhala, K.G. Oldham, C.A. Vernon; The Reactions of Organic Phosphates, Part III: The Hydrolysis of Dimethyl Phosphate; *J. Chem. Soc.* **1960**, 3293-3301.
- [48] J.-L. Giradet, G. Gosselin, C. Périgaud, J. Balzarini, E. De Clercq, J.-L. Imbach; New Prodrugs of 9-(2-Phosphonomethoxyethyl) Adenine [PMEA]: Synthesis and Stability Studies; *Nucl. & Nucl.* **1995**, *14*, 563-565.

- [49] S.N. Farrow, A.S. Jones, A. Kumar, R.T. Walker, J. Balzarini, E. De Clercq; Synthesis and Biological Properties of Novel Phosphotriesters: A New Approach to The Introduction of Biologically Active Nucleotides into Cells; *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 1400-1406.
- [50] S. I. Schimizu, J. Balzarini, E. De Clercq, R. T. Walker; The Synthesis and Biological Properties of Some Aryl bis(nucleosid-5'-yl) Phosphates Using Nucleosides with Proven anti-HIV Activity; *Nucl. & Nucl.* **1992**, 11, 583-594.
- [51] C. Meier, L.W. Habel, J. Balzarini, E. De Clercq; 5',5'-Di-O-nucleosyl-O'-benzylphosphotriesters as Potential Prodrugs of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine-5'-monophosphate; *Liebigs Ann.* **1995**, 2203-2208.
- [52] A. J. Kirby, M. Younas; The Reactivity of Phosphate Esters; *J. Chem. Soc. B* **1970**, 510-513.
- [53] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; Cyclic Saligenyl Phosphotriesters of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T) - A New Pro-Nucleotide Approach; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 99-104.
- [54] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (*cycloSal*-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System; *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 1417-1427.
- [55] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; ADA-Bypass by Lipophilic *cycloSal*-ddAMP Pro-Nucleotides - A second Example of The Efficiency of The *cycloSal*-Concept; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 1577-1582.
- [56] C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini; *CycloSal*-Pronucleotides of 2',3'-dideoxyadenosine and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydroadenosine: Synthesis and Antiviral Evaluation of a Highly Efficient Nucleotide Delivery System; *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1604-1614.
- [57] T. Knispel, C. Meier; *N, O*-Selectivity in the Synthesis of 3-Me-*cycloSal*-ddAMP; *Nucl. & Nucl.* **1999**, 18, 945-946.
- [58] C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, E. De Clercq, J. Balzarini; *CycloSal*-2'-ara(ribo)-fluoro-2',3'-dideoxyadenosine Monophosphates - An Effort to Solve the Structure-activity Relationship of 2'-fluoro-ddA; *Nucl. & Nucl.* **1999**, 18, 907-912.

- [59] C. Meier, T. Knispel, V. E. Marquez, M. A. Siddiqui, E. De Clercq, J. Balzarini; *CycloSal*-Pronucleotides of 2'-fluoro-ara- and 2'-fluoro-ribo-2',3'-dideoxyadenosine as a Strategy to Bypass a Metabolic Blockade; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1615-1624.
- [60] J. Balzarini, L. Naesens, S. Aquaro, T. Knispel, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; Intracellular Metabolism of *CycloSal*igenyl-3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine Monophosphate, a Prodrug of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine (Zidovudine); *Mol. Pharmacol.* **1999**, *56*, 1354-1361.
- [61] J. Balzarini, S. Aquaro, T. Knispel, C. Rampazzo, V. Bianchi, C.-F. Perno, E. De Clercq, C. Meier; *CycloSal*igenyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine Monophosphate: Efficient Intracellular Delivery of d4TMP; *Mol. Pharmacol.* **2000**, *58*, 928-935.
- [62] C. Meier, E. De Clercq, J. Balzarini; Nucleotide Delivery from *cycloSal*-3'-azido-2',3'-dideoxythymidine Monophosphates (*cycloSal*-AZTMP); *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 837-846.
- [63] B. Gröschel, C. Meier, R. Zehner, J. Cinatl, H. W. Doerr, J. Cinatl Jr.; Effects of *cycloSal*-d4TMP Derivatives in H9 Cells with Induced AZT Resistance Phenotype; *Nucl. & Nucl.* **1999**, *18*, 933-936.
- [64] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini; *cycloSal*igenyl-3'-Azido-2',3'-Dideoxy-Thymidine Monophosphate (*cycloSal*-AZTMP) - A New Pro-Nucleotide Approach; *Nucl. & Nucl.* **1997**, *16*, 789-792.
- [65] A. Glazier et al., Poster auf 9th *International Conference on Antiviral Research*, Fukushima, Japan, May 19-24, **1996**.
- [66] R. Shapiro, S. Shiuey; Reactions of Cytidine with 7-Bromomethylbenzanthrene, Benzyl Bromide and *p*-Methoxybenzyl Bromide; *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1597-1600.
- [67] J. Richard, W. Jencks; Reactions of Substituted 1-Phenylethyl Carbocations with Alcohols and Other Nucleophilic Reagents; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1373-1383.
- [68] J. Renze; *cycloSal*-Pro-Nucleotide: Variationen in der Benzyl-Position; *Diplomarbeit*, Universität Würzburg, **1998**.
- [69] P. Hohenberg, W. Kohn; Inhomogeneous Electron Gas; *Phys. Rev. B* **1964**, *136*, 864-871.

- [70] W. Koch, M. C. Holthausen; *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*; Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [71] W. Kohn, L. Sham; Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects; *Phys. Rev. A* **1965**, *140*, 1133-1138.
- [72] R. G. Parr, W. Yang; *Density Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press, New York, **1989**.
- [73] D. M. Ceperley, B. Alder; Ground State of the Electron Gas by a Stochastic Method; *Phys. Rev. Lett.* **1980**, *45*, 566-569.
- [74] S. J. Vosko, L. Wilk, M. Nusair; Accurate Spin-Dependent Electron Liquid Correlation Energies for Local Spin Density Calculations: A Critical Analysis; *Can. J. Phys.* **1980**, *58*, 1200-1211.
- [75] J. P. Perdew, Y. Wang; Accurate and Simple Analytic Representation of the Electron-Gas Correlation Energy; *Phys. Rev. B* **1992**, *45*, 13244-13249.
- [76] A. D. Becke; Density-functional Exchange-energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior; *Phys. Rev. A* **1988**, *38*, 3098-3100.
- [77] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr; Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density; *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785-789.
- [78] P. J. Stevens, J. F. Devlin, C. F. Chabalowski, M. J. Frisch; *Ab Initio* Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields; *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623-11627.
- [79] L. A. Curtiss, K. Raghavachari, G. W. Trucks, J. A. Pople; Gaussian-2 Theory for Molecular Energies of First- and Second-Row Compounds; *J. Chem. Phys.* **1991**, *94*, 7221-7230.
- [80] F. Jensen; *Introduction to Computational Chemistry*; Wiley, Chichester, **1999**.
- [81] *Gaussian 98*, User's Reference; Gaussian, Inc.: Pittsburgh PA, **1999**.
- [82] W. J. Hehre, R. F. Stewart, J. A. Pople; Self-Consistent Molecular-Orbital Methods: 1. Use of Gaussian Expansions of Slater-Type Atomic Orbitals; *J. Chem. Phys.* **1969**, *51*, 2657-2664.
- [83] W. J. Hehre, R. Ditchfield, J. A. Pople; Self-Consistent Molecular-Orbital Methods: 12. Further Extensions of Gaussian-Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules; *J. Chem. Phys.* **1972**, *56*, 2257-2261.

- [84] M. J. Frisch, J. A. Pople, J. S. Binkley; Self-Consistent Molecular Orbital Methods: 25. Supplementary Functions for Gaussian Basis Sets; *J. Chem. Phys.* **1984**, *80*, 3265-3269.
- [85] W. Nagata, K. Okada, T. Aoki; *ortho*-Specific α -Hydroxyalkylation of Phenols with Aldehydes: An Efficient Synthesis of Saligenol Derivatives; *Synthesis* **1979**, 365-368.
- [86] A. Guy, M. Lemaire, J.-P. Guetté; Selective α -Chlorination of Alkyl Aryl Ketones; *Synthesis* **1982**, 1018-1020.
- [87] G. Casiraghi, G. Casnati, G. Puglia, G. Sartori, G. Terenghi; Selective Reactions between Phenols and Formaldehyde: A Novel Route to Salicylaldehyds; *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1980**, 1862-1865.
- [88] P. L. Anelli, S. Banfi, S. Legramandi, F. Montanari, G. Pozzi, S. Quici; Tailed Mn^{III}-tetraarylporphyrins Bearing an Axial Ligand and/or a Carboxylic Group: Self-consistent Catalysts for H₂O₂ or NaOCl Alkene Epoxidation; *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1993**, 1345-1358.
- [89] Z. Wang, J. Yin, S. Campagna, J. A. Pesti, J. M. Fortunak; An Alternative Approach for the Conversion of Aldehydes to Terminal Alkynes; *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6918-6920.
- [90] S. Araki, M. Yamada, Y. Butsugan; Synthesis of β -Hydroxy Nitriles via Indium-Induced Coupling of Bromoacetonitrile with Carbonyl Compounds; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 1126-1129.
- [91] D. W. Rangnekar, S. V. Dhamnaskar; A Convenient One Pot Synthesis of Substituted 4-Aminobenzopyrano[3,4-c]pyridinones; *J. Heterocycl. Chem.* **1988**, *25*, 1767-1768.
- [92] S. E. Denmark, R. A. Stavenger, K.-T. Wong; Lewis-Base Catalyzed, Asymmetric Aldol Additions of Methyl Ketone Enolates; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 918-919.
- [93] E. W. Collington, H. Finch, I. J. Smith; Selective Deprotection of Alcoholic and Phenolic Silyl Ethers; *Tet. Lett.* **1985**, *26*, 681-684.
- [94] Hausvorschrift AK Meier
- [95] D. Seebach, H.-F. Chow, R. F. W. Jackson, M. A. Sutter, S. Thaisrivongs, J. Zimmermann; (+)-11,11'-Di-O-methylelaiohylidene – Preparation from Elaiohylin and Total Synthesis from (*R*)-3-Hydroxybutyrate and (*S*)-Malate; *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1281-1308

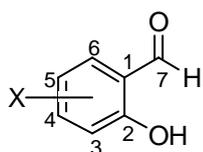
- [96] C. R. Hauser, D. S. Breslow; Ethyl β -Phenyl- β -Hydroxypropionate; *Org. Synth. Coll. Vol. III* **1955**, 408.
- [97] K. Tanaka, S. Kishigami, F. Toda; Reformatsky and Luche Reaction in the Absence of Solvent; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4333-4334.
- [98] a) *Organic Reactions, Vol. 22*, 437-438;
b) M.W. Rathke, A. Lindert; The Reformatsky Reaction at Room Temperature and in the Presence of Trimethyl Borate: Improved Procedures for the Preparation of β -Hydroxy Esters; *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 3966.
- [99] W. Wierenga, H. I. Skulnick; Generell, Efficient, One-Step Synthesis of β -Keto Esters; *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 310.
- [100] H. Friebolin; *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie; 3. Auflage*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [101] J. R. Cox Jr., M. G. Newton; Carbonium Ion Formation in Solvolysis of Phosphate Triesters; *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 2600-2605.
- [102] T. W. Bentley, P. v. R. Schleyer; Medium Effects on the Rates and Mechanisms of Solvolytic Reactions; *Adv. Phys. Org. Chem.* **1977**, *14*, 1-67.
- [103] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, A. G. Baboul, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, C. Gonzalez, M. Head-Gordon, E. S. Replogle, J. A. Pople, *Gaussian 98*, revision A.7; Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, **1998**.
- [104] U. Muus, persönliche Mitteilung, Hamburg, **2000**.
- [105] W. H. Richardson, C. M. Golino, R. H. Wachs, M. B. Yelvington; Neighboring Oxide Ion and Fragmentation Reactions of 1,3-Chlorohydrins; *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 943-948.

- [106] a) W. S. Matthews, J. E. Bares, J. E. Bartmess, F. G. Bordwell, F. J. Cornforth, G. E. Drucker, Z. Margolin, R. J. McCallum, G. J. McCollum, N. R. Vanier; Equilibrium Acidities of Carbon Acids: 6. Establishment of an Absolute Scale of Acidities in Dimethyl Sulfoxide Solution; *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7006-7014;
- b) F. G. Bordwell, H. E. Fried; Acidities of the H-C Protons in Carboxylic Esters, Amides and Nitriles; *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4327-4331.
- [107] MOLDEN by G. Schaftenaar, **1991**.
- [108] NBO Version 3.1, E. D. Glendening, A. E. Reed, J. E. Carpenter, F. Weinhold.
- [109] C. Ducho; Aryl-substituierte und Benzo-anellierte *cycloSal*-Nucleotide; *Diplomarbeit*, Universität Hamburg, **2001**.
- [110] A. Lomp; Design, Synthese und Eigenschaften neuer antiviral aktiver Nucleotid Prodrugs; *Dissertation*, Universität Hamburg, **2002**.
- [111] C. Meier, U. Muus, J. Renze, L. Naesens, E. De Clercq, J. Balzarini; Comparative Study of Bis(Benzyl) Phosphate Triesters of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T) and *cycloSal*-d4TMP – Hydrolysis, Mechanistic Insights and Anti-HIV Activity; *Antiviral Chem. & Chemother.* **2002**, *in press*.
- [112] Y: Gong, K. Kato, H. Kimoto; Regioselective Substitution of Phenols with Trifluoroacetaldehyde Ethyl Hemiacetal; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, *74*, 377-383.
- [113] E. P. F. Lee, J. M. Dyke, C. A. Mayhew; Study of the OH⁻ + CH₂F₂ Reaction by Selected Ion Flow Tube Experiments and ab Initio Calculations; *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 8349-8354.
- [114] W. Dmowski; Synthesis and Intramolecular Cyclisation of *ortho*-Hydroxy-2,3,3,3-Tetrafluoropropiophenone: Formation of 3-Fluoro-4-Hydroxycoumarin; *J. Fluorine Chem.* **1982**, *20*, 589-598.

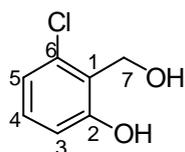
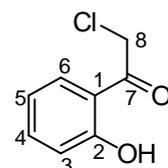
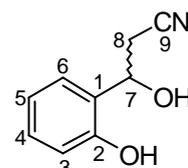
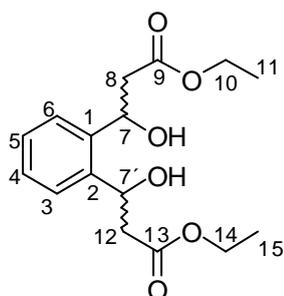
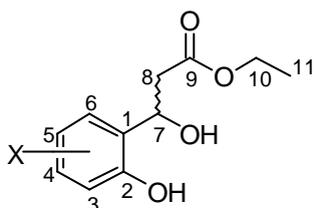
9 Gefahrstoffe

Verbindung	R-Sätze	S-Sätze
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45
Aluminiumchlorid	34	7/8-28-45
Bromacetonitril	23/24/25	36/37/39-45
Benzol	20/21/22-40-52/53	36/37-61
Chloraceton	10-23/24/25-36/37/38-50/53	26-36/37/39-38-45-60-61
Chloral	25-36/38	26-36/37/39-45
Chloroform	20/22-38-40-48	36/37
Dichlormethan	40	23.2-24/25-36/37
Diethylether	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Diisopropylethylamin	11-22-34-52/53	16-26-36/37-39-45-61
Dimethylformamid	61-E20/21-36	45-53
Dimethylsulfoxid	36/38	26
Essigsäure	10-20/22-34	26-36/37/39-45
Essigsäureethylester	11-36-66-67	16-26-33
Ethanol	11	7-16
2,3,4,5,6,6-Hexachlor- 2,4-cyclohexadien-1-on	36/37/38	24/25
Imidazol	22-34	26-36/37/39-45
Iodessigsäureethylester	25-34	26-36/37/39-45
Lithiumaluminiumhydrid	15	7/8-24/25-43.6
Lithium-diisopropylamid	15-17-34	26-36/37/39-43.11-45
Methanol	23/24/25-39-40-43	26-36/37/39-45-51
Methylithium	15-17-22-34-66-67	16-26-30-36/37/39-43.11-45
Natriumborhydrid	15-34	26-36/37/39-43.12-45
Natriumhydrid	15-34	7/8-26-36/37/39-43.6-45
Natronlauge	34	26-36/37/39-45
Nitromethan	5-10-22	41
Pentachlorphenol	24/25-26-36/37/38-40-50/53	22-36/37-45-52-60/61
Phenylboronsäure	22	22-24/25
Phosphorsäure	11-36/38-67	7-16-23.3-24-26-51

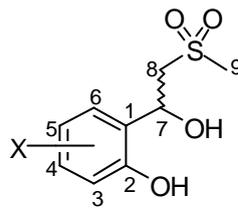
Verbindung	R-Sätze	S-Sätze
Phosphortrichlorid	14-26/28-35-48/20	7/8-26-36/37/39-45
Phthaldialdehyd	36/37/38	26-28-36
Phthaloylchlorid	34-37	26-36/37/39-45
Propionsäure	34	23-36-45
Pyridin	25-26-36/37/38-50/53	26-28.1-36/37-45-61
Salzsäure	34-37	26-36/37/39-45
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid	7-21/22-23-34-44-55/53	3/7-14.11-26-36/37/39-45
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
Chlortriethylsilan	10-14-35-37	16-26-36/37/39-45
Wasserstoffperoxid	34	3-28-36/39-45
Zinntetrachlorid	34-37-40	7/8-26-36/37-45

**103b-d**

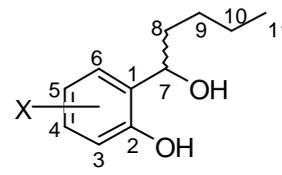
(X = 3-Me, 5-Cl, 6-Cl)

**15d****107****70****109****63b-d**

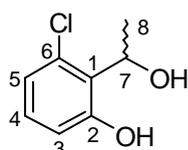
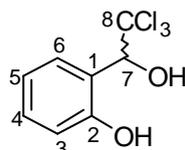
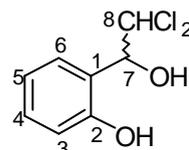
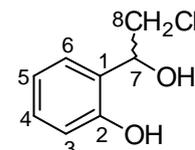
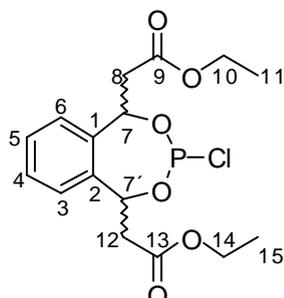
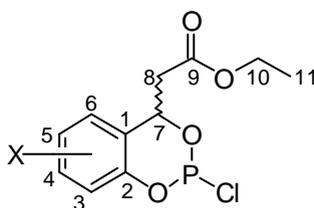
(X = 3-Me, 5-Cl, 6-Cl)

**64b-c**

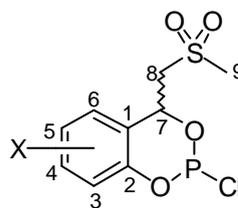
(X = 3-Me, 5-Cl)

**66a,d**

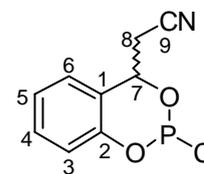
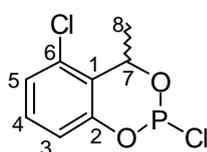
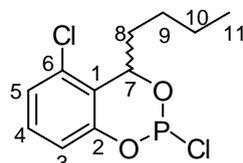
(X = H, 6-Cl)

**65d****67****68****69****114****93b-d**

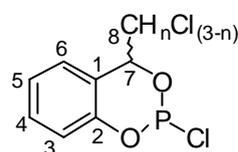
(X = 3-Me, 5-Cl, 6-Cl)

**94b-c**

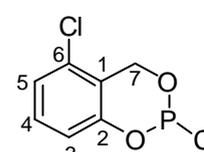
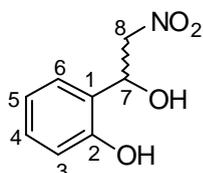
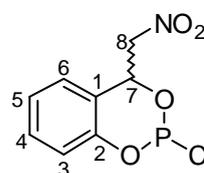
(X = 3-Me, 5-Cl)

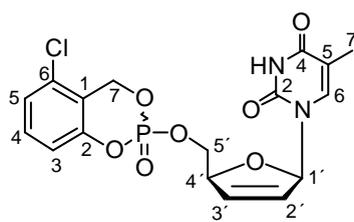
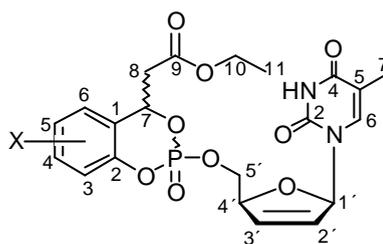
**100****95d****96a,d**

(X = H, 6-Cl)

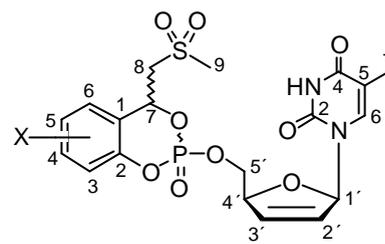
**97-99**

(n = 0, 1, 2)

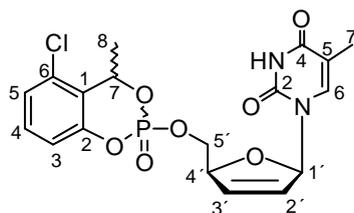
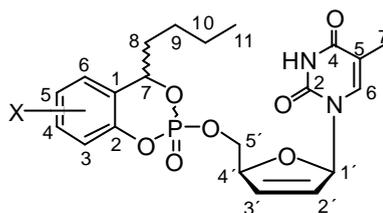
**113****71****101**

**16d****33b-d**

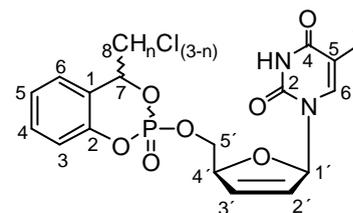
(X = 3-Me, 5-Cl, 6-Cl)

**34b-c**

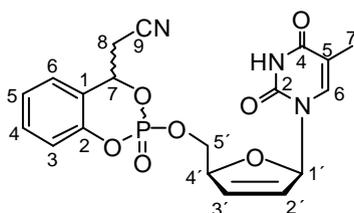
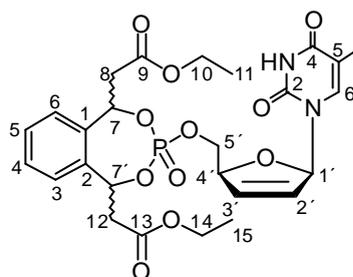
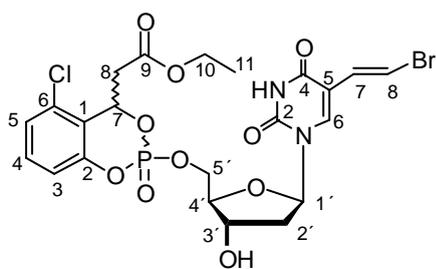
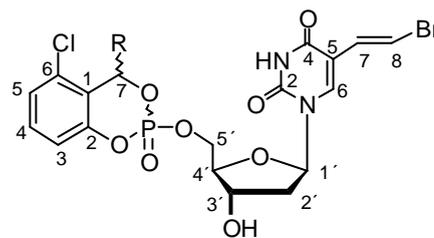
(X = 3-Me, 5-Cl)

**35d****36a-d**

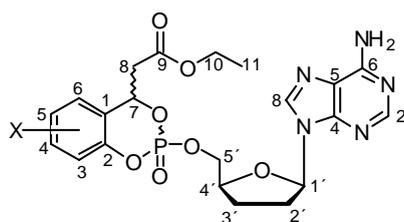
(X = H, 6-Cl)

**37-39**

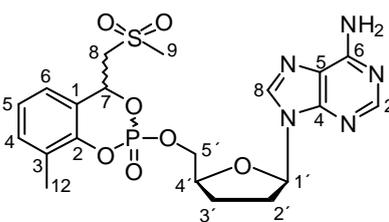
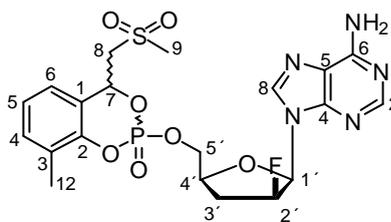
(n = 0, 1, 2)

**40****115****116a****116b-d**

(R = H, Me, nBu)

**117a-b**

(X = 3-Me, 5-Cl)

**117c****118**

Publikationsliste

Beiträge in wissenschaftlichen Zeitschriften aus dieser Arbeit:

1. J. Renze, M. Plath, C. Ducho, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Meier; Benzyl-functionalized cycloSal-d4T Monophosphates; *Nucleosides & Nucleotides* **2001**, *20*, 931-934.
2. J. Renze, M. Plath, C. Ducho, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Meier; Hydrolysis Behavior of Benzyl-functionalized cycloSal-d4TMPs; *Antiviral Res.* **2001**, *50*, A47.
3. C. Meier, J. Renze, C. Ducho, J. Balzarini; cycloSal-d4TMP Pronucleotides – Structural Variations, Mechanistic Insights and Antiviral Activity; *Curr. Top. Med. Chem.*, *in press*.
4. C. Meier, U. Muus, J. Renze, L. Naesens, E. De Clercq, J. Balzarini; Comparative Study of Bis(Benzyl) Phosphate Triesters of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T) and cycloSal-d4TMP – Hydrolysis, Mechanistic Insights and anti-HIV Activity; *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, *in press*.

Beiträge in wissenschaftlichen Zeitschriften aus früheren Projekten:

1. W. Adam, J. Renze, T. Wirth; Stereoelectronic Control of the Diastereoselectivity in the Photooxygenation (Schenck Ene Reaction) of an Electron-Poor Allylic Alcohol and its Ethers; *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 226-227.
2. M. Barrow, N. L. Cromhout, D. Cunningham, A. R. Manning, P. McArdle, J. Renze; Reaction of $\text{Fe}(\text{CO})_2(\eta^2\text{-CS}_2)\{\text{P}(\text{OR})_3\}_2$ with Phosphines: Desulphurization versus Substitution. Crystal Structures of $\text{Fe}(\text{CO})_2(\text{CS})\{\text{P}(\text{OPh})_3\}_2$ and $\text{Fe}(\text{CO})_3\{\text{P}(\text{OPh})_3\}_2$; *J. Organomet. Chem.* **1998**, *563*, 201-207.

Posterbeiträge auf Tagungen:

1. Poster bei **20th International Carbohydrate Symposium**, Hamburg, 27.08.-01.09.2000: "Benzyl-functionalized *cyclo*Sal-d4T monophosphates".
2. Poster bei **XIV International Roundtable** on Nucleosides, Nucleotides and Their Biological Applications, San Francisco, 10.-14.09.2000: "Benzyl-functionalized *cyclo*Sal-d4T monophosphates".
3. Poster auf der **14th International Conference on Antiviral Research**, Seattle, 8.-12.04.2001: "Hydrolysis Behavior of Benzyl-Functionalized *cyclo*-Sal-d4TMPs".
4. Poster auf der GDCh-Jahrestagung, Würzburg, 23.-29.09.2001: "Hydrolysis Behavior of Benzyl-functionalized *cyclo*Sal-d4TMPs".

Vorträge:

1. Vortrag bei **International Kdo-Meeting** im Forschungszentrum Borstel am 09.02.2001 mit dem Thema "*cyclo*Sal-Pronucleotides with Functionalization of the Benzyl Position".
2. Vortrag im Rahmen des **Hausseminars** des Instituts für Organische Chemie der Universität Hamburg am 12.06.2001 mit dem Thema "*cyclo*Sal-Pronucleotide: Einfluß von Substituenten in der Benzyl-Position".

Lebenslauf

Persönliche Daten

Jürgen Theo Renze
geboren am 11.01.1973 in Fulda

Schulische Ausbildung

1979 - 1983	Sturmius-Schule, Fulda
1983 - 1993	Rabanus-Maurus-Schule, Fulda
06/1993	Abitur mit der Gesamtnote 1.8

Akademische Ausbildung

1993 - 1995	Grundstudium der Chemie (Universität, Würzburg)
10/1995	Vordiplom mit der Gesamtnote <i>„sehr gut“</i>
1995 - 1998	Hauptstudium der Chemie (Universität, Würzburg)
09/1996 - 03/1997	Auslandssemester am University College Dublin: Forschungsarbeit in der Gruppe von Prof. Anthony Manning
01/1998	Diplomprüfung, mündlicher Teil
02/1998 - 11/1998	Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Chris Meier Thema: <i>„cycloSal-Pro-Nucleotide: Variationen in der Benzyl-position“</i>
12/1998	Chemie-Diplom mit der Gesamtnote <i>„sehr gut“</i>
1999	Wechsel mit Prof. Chris Meier an der Universität Hamburg und Beginn der Arbeiten zur Promotion
01/2000	3-wöchiger Forschungsaufenthalt am ComputerChemie-Centrum der Universität Erlangen-Nürnberg bei PD Dr. Tim Clark
seit WS 1999/2000	4 Semester Fernstudium „BWL für Naturwissenschaftler und Ingenieure“ an der Fernuniversität Hagen

Studienbegleitende Tätigkeiten

- 05/96-07/96 Studentische Hilfskraft an der Universität Würzburg: Betreuung des chemischen Praktikums für Medizinstudenten
- 10/97-02/99 Studentische Hilfskraft an der Universität Würzburg: Durchführung des Praktikum-begleitenden Tutoriums für Medizinstudenten; Durchführung des Praktikum-begleitenden Tutoriums für Biologiestudenten
- 03/99-07/02 Wissenschaftlicher Angestellter an der Universität Hamburg: Betreuung des integrierten Synthesepraktikums (ISP) und Fortgeschrittenen-Praktikums für Chemiestudenten im Hauptstudium;

Auszeichnungen/Stipendien

- 09/2000 Poster Award bei XIV International Roundtable in San Francisco
- 04/2001 Poster Award bei 14th International Conference on Antiviral Research in Seattle

Hamburg, den

(Jürgen T. Renze)

Erklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die Dissertation „Untersuchungen und mechanistische Interpretation zum Hydrolyseverhalten Benzyl-funktionalisierter *cyclo*-Sal-Nucleotide“ selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher oder anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den

(Jürgen T. Renze)