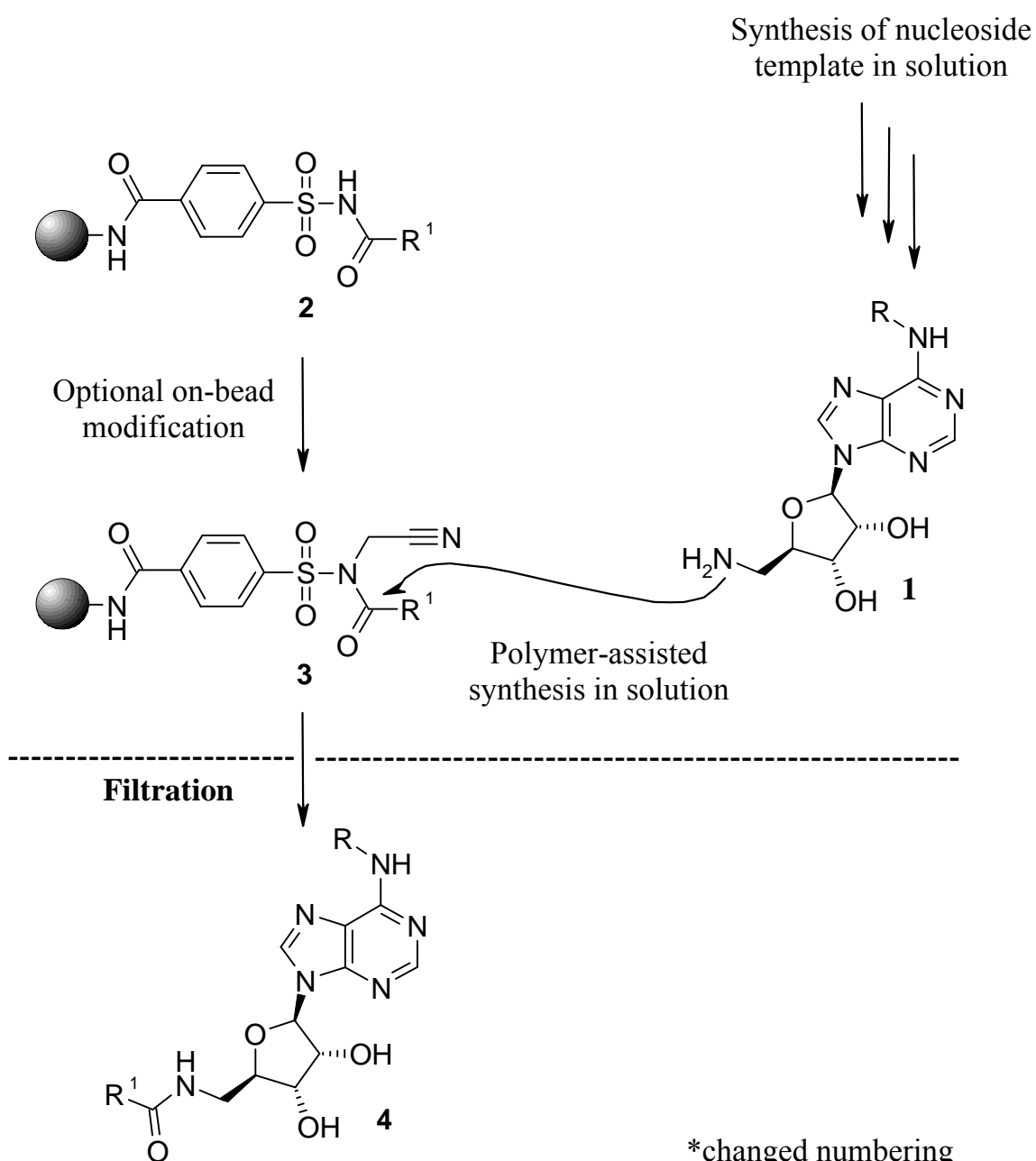


5 Summary

The objective of this work was focused on the synthesis of nucleoside libraries of 5',*N*⁶- and 3',*N*⁶-disubstituted adenosines as inhibitors of the *Plasmodium falciparum* pathogen, ready for biological testing without the demand for chromatographic purification.

Novel 5',*N*⁶- and 3',*N*⁶-disubstituted adenosine derivatives with unusual substitution pattern were obtained applying an efficient (convergent) polymer-assisted solution-phase (PASP) protocol, exemplarily outlined below with the synthesis of 5',*N*⁶-disubstituted adenosines^(*).



Carboxylic acid diversity fragments were connected to the polymer support via the Kenner safety-catch linker, transformed to acylating species and subsequently transferred to the amino function of appropriate nucleoside templates, obtained by conventional synthesis in solution. The chemoselective attack of weakly nucleophilic amino groups on the N-alkylated N-acylsulfonamide linker allows for the synthesis of 5'-amido-5'-deoxy- N^6 -(arylmethyl)adenosines and 3'-amido-3'-deoxy- N^6 -(arylmethyl)adenosines, without time-consuming protecting group operations of hydroxyl functions. The full potential of the polymer-bound acylating species can be exploited, when modifications of the carboxylic acid diversity fragment are envisioned prior to activation. Further, the polymer-bound sulfonamide linker has the added benefit of simply filtering off the polymer-bound reagent that is necessary to drive the reaction to completion, leading to final compounds in high yield and purity.

The scope and limitations of the synthetic methodology are discussed.

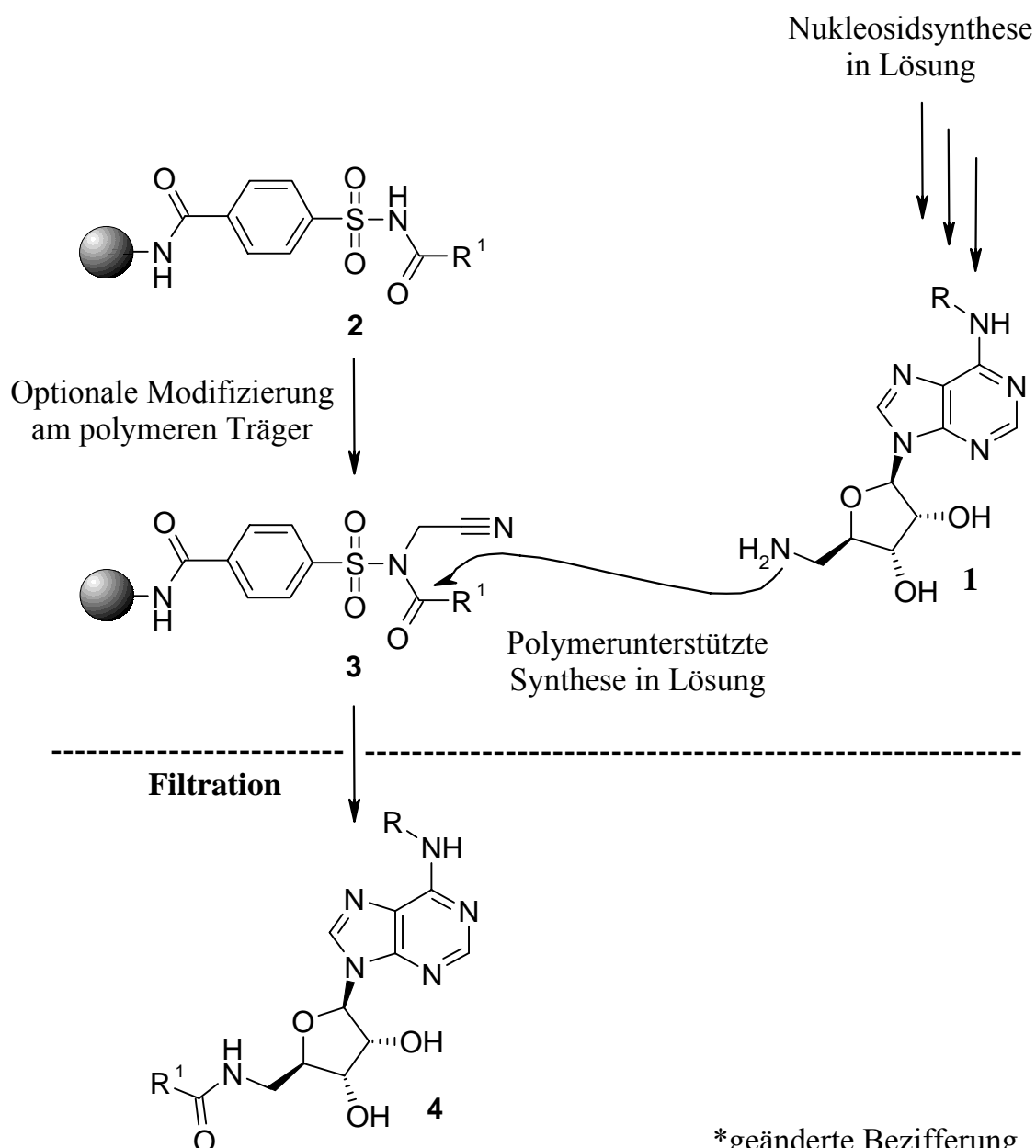
Biological evaluations revealed that most of the 5', N^6 - and 3', N^6 -disubstituted adenosines display moderate but significant activity against the *P. falciparum* parasite in the low-micromolar range. On molecular basis, 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) reductoisomerase utilizing an adenosyl-containing substrate was identified as a promising metabolic target.

To further explore their potential as antimalarials, selected N^6 -substituted adenosine derivatives will be investigated by surface plasmon resonance (SPR) analysis, immobilized on biosensor chip surfaces via appropriate biotin labels in the 5'-position. Thus, a method for the chemoselective introduction of spacer modified biotin labels into unprotected, multi-functional amino-modified adenosine templates was established. A range of novel biotin spacer conjugates attached to a polymer-bound sulfonamide anchor was prepared. The labeled compounds are free of residual biotin and possess a custom tailored distance from the immobilization site, especially suited for the immobilization on streptavidin-functionalized dextran layers of SPR chips. The formation of biotin sulfoxides in the presence of in situ generated peroxides was investigated and is discussed.

6 Zusammenfassung

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stand die Darstellung 5',*N*⁶- und 3',*N*⁶-modifizierter Adenosinanaloga als Inhibitoren des Malaria Erregers *Plasmodium falciparum*. Eine effiziente Synthese zur Bereitstellung von Adenosinbibliotheken zur biologischen Testung sollte, unter Umgehung aufwendiger chromatographischer Reinigung der Endsubstanzen, etabliert werden.

Mit Hilfe eines polymerunterstützten Syntheseverfahrens in Lösung wurden außergewöhnlich 5',*N*⁶- und 3',*N*⁶-disubstituierte Adenosine gewonnen; exemplarisch am Beispiel der Synthese von 5',*N*⁶-disubstituierten Adenosinen dargestellt(*).



*geänderte Bezifferung

Über den 'Kenner safety-catch linker' an aminomethyliertes Harz gebundene Carbonsäureäquivalente wurden in Acylierungsreagenzien umgewandelt und anschließend auf die Aminogruppe des Nukleosidgrundgerüsts, welches auf herkömmliche Weise in Lösung synthetisiert wurde, übertragen. Der chemoselektive Angriff der schwach nukleophilen Aminogruppe auf den N-alkylierten N-Acylsulfonamidlinker ermöglicht die schnelle Synthese von 5'-Amido-5'-desoxy- N^6 -(arylmethyl)adenosinen und 3'-Amido-3'-desoxy- N^6 -(arylmethyl)adenosinen; zeitaufwändige Schutzgruppenoperationen der Hydroxylgruppen des Nukleosid-Templats wurden nicht benötigt.

Das Potential des polymergebundenen Sulfonamidlinkers konnte vollständig ausgeschöpft werden, indem immobilisierte Acylbausteine optional im Sinne einer Festphasensynthese direkt am polymeren Träger modifiziert wurden. Des weiteren ermöglicht dieses Syntheseverfahren die einfache Gewinnung der Endsubstanzen, da das im Überschuß eingesetzte polymergebundene Reagenz, welches zur quantitativen Umsetzung der chemoselektiven Acylierung benötigt wird, durch einfache Filtration aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden kann.

Möglichkeiten und Limitierungen der polymerunterstützten Synthese in Lösung zur Gewinnung von disubstituierten Adenosinderivaten werden im Rahmen dieser Arbeit beschrieben und diskutiert.

Biologische Testmodelle zeigten eine moderate aber signifikante Aktivität der synthetisierten 5', N^6 - und 3', N^6 -disubstituierten Adenosine gegenüber *P. falciparum*. Auf molekularer Ebene konnte 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat (DOXP) Reduktoisomerase als mögliche metabolische Zielstruktur identifiziert werden.

Um die Bandbreite der synthetisierten Adenosinderivate als antimalaria-aktive Substanzen näher zu untersuchen, sollen in Zukunft ausgewählte biotinmarkierte N^6 -substituierte Adenosine (immobilisiert an einen Streptavidin Chip) mit Hilfe von Oberflächen-Plasmonen-Resonanz (surface plasmon resonance, SPR) Experimenten untersucht werden. Infolgedessen wurde im Rahmen dieses Projektes ein weiteres polymerunterstütztes Verfahren zur chemoselektiven Einführung verschiedener Biotinmarker in die 5'-Aminoposition ungeschützter N^6 -substituierter Adenosine entwickelt. Eine Reihe polymergebundener Biotinmarker, die neben dem Biotinlabel ein Abstandselement zwischen Zucker- und Biotinbaustein enthalten, wurde synthetisiert. Synthetisierte biotinmarkierte Adenosinderivate waren frei von überschüssigem Biotin. Die Entstehung von Biotinsulfoxiden in Gegenwart von in situ generierten Peroxiden wurde untersucht und diskutiert.