



**Synthese und Untersuchung von  
C8- und *N*<sup>6</sup>-Arylamin-2'-Desoxyadenosin-  
modifizierten Oligonucleotiden**

**Dissertation**

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

**Maike Jacobsen**

aus Westerstede

vorgelegt dem Department Chemie  
der Universität Hamburg

Hamburg

2010



1. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem

Tag der Disputation: 28.05.2010

**Für Wolfgang Loske**



# DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg in der Zeit von Februar 2006 bis Dezember 2009 angefertigt.

Mein Dank gilt allen aktiven und ehemaligen Mitarbeitern des Arbeitskreises Meier für die gute Zusammenarbeit, das gute Arbeitsklima und den Gedankenaustausch während der Kaffeepausen.

Mein persönlicher Dank gilt vor allem meinem langjährigem Freund und Laborkollegen Sönke Jessel für die vielen schönen Jahre und die unendliche Unterstützung in allen Lebenslagen. Svenja Warnecke danke ich besonders für die letzten gemeinsamen Monate im Schreibraum. Ganz besonders danke ich Nina Deppermann, die mich mit Zuckerbrot und Peitsche durch die letzte Phase dieser Arbeit gebracht hat. Danke Hase!

Dem Kükenlabor (Lina und Johanna) danke ich für die stete Ablenkung und Aufmunterung. Außerdem bedanke ich mich bei allen Korrekturlesern, ganz besonders bei Johanna Huchting und Marcus Schröder.

Marcus Schröder und Florian Pertenbreiter danke ich für die letzten gemeinsamen Monate im Labor 522.

Ich bedanke mich bei allen Praktikanten, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Hervorzuheben sind hier ganz besonders meine Schwerpunktpraktikanten Robert Vallée und Corinna Stegelmeier.

Herrn Dr. V. Sinnwell, Herrn Dr. E.T.K. Haupt und ihren Mitarbeitern möchte ich für die Messung zahlreicher NMR-Spektren danken. Frau G. Graack, Frau A. Meiners, Frau C. Christ und Herrn M. Preuße danke ich für die zahlreichen Messungen der FAB-, ESI- und EI-Massenspektren. Herrn Prof. Andreas Marx und Frau Dipl.-Chem. Francesca di Pasquale, Universität Konstanz danke ich für die Durchführung der Primer-Verlängerungs-Tests, sowie für die Aufnahme von ESI-Massenspektren.

Ganz besonders möchte ich meiner Familie danken, die mir während der gesamten Zeit zur Seite stand.



## ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abp	4-Aminobiphenyl
AcOH	Essigsäure
Bz	Benzoyl
CPG	controlled pore glass
$\delta$	chemische Verschiebung
d	Dublett
dA	2'-Desoxyadenosin
dba	dibenzylidenaceton
DC	Dünnschichtchromatographie
dC	2'-Desoxycytidin
DCI	4,5-Dicyanoimidazol
dG	2'-Desoxyguanosin
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIPEA	Diisopropylethylamin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- $d_6$	deutertes Dimethylsulfoxid
DMTr	Dimethoxytriphenylmethyl
DNA	Desoxyribonucleinsäure
dT	2'-Desoxythymidin
DTE	Dithioerythritol
DTT	Dithiothreitol
$\epsilon$	molarer Extinktionskoeffizient
EcoRI	Escherichia Coli
ESI	electron spray ionisation
FAB	Fast Atom Bombardement
h	Stunde
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
<i>i</i> Bu	<i>iso</i> Butyryl

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

<i>J</i>	skalare Kern-Kopplungskonstante
LCAA	long chain amino alkyl
$\lambda$	Wellenlänge
m	Multiplett
M	molar
MS	Massenspektrometrie
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
NER	nucleotide excision repair
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Pac	Phenoxyacetyl
anis	<i>p</i> -Anisidin (4-Methoxyanilin)
ppm	parts per million
<i>rac.</i>	racemisch
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
RP	reversed phase
rt	Raumtemperatur
s	Singulett
sep	Septett
SG	Schutzgruppe
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TCA	Trichloressigsäure
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIPDS	Tetra <i>is</i> opropylidisilan
T <sub>m</sub>	Schmelzpunkt (der DNA)
t <sub>R</sub>	Retentionszeit
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	1
<b>2</b>	<b>KENNTNISSTAND</b> .....	3
2.1.	Metabolismus aromatischer Amine.....	3
2.1.1.	Phase I: Oxidation.....	3
2.1.2.	Phase II: Bildung der ultimatsten Carcinogene.....	5
2.1.3.	Phase III: Reaktion ultimatster Carcinogene mit der DNA.....	5
2.2.	Adduktbildung <i>in vivo</i> .....	7
2.3.	Nachweis von Mutagenität und Cancerogenität.....	8
2.3.1.	Ames-Test.....	8
2.3.2.	<sup>32</sup> P-Postlabeling.....	8
2.3.3.	Einstufung der Cancerogenität.....	9
2.4.	Chemische Synthese von Arylamin-Addukten.....	9
2.4.1.	Synthese von C8-Arylamin-Addukten.....	10
2.4.2.	Synthese von N <sup>6</sup> -Aryl(amin)-Addukten.....	15
2.5.	Arylamin-modifizierte Oligonucleotide.....	16
<b>3</b>	<b>AUFGABENSTELLUNG</b> .....	18
<b>4</b>	<b>RESULTATE UND DISKUSSION</b> .....	21
4.1.	Synthese C8-Arylamin modifizierter Phosphoramidite von 2'-Desoxyadenosin.....	21
4.1.1.	Synthese der C8-Arylamin-dA-Addukte.....	22
4.1.2.	Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite I.....	26
4.1.3.	TIPDS als neue 3',5'-O-Schutzgruppe.....	27
4.1.4.	Optimierungsversuche der Kreuzkupplung.....	28
4.1.5.	Synthese der C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramidite II.....	31
4.1.6.	Neue Schutzgruppen für die Oligonucleotidsynthese.....	37
4.2.	Synthese N <sup>6</sup> -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite.....	40
4.2.1.	Synthesestrategien zur Darstellung der N <sup>6</sup> -Addukte.....	40
4.2.2.	Synthese von N <sup>6</sup> -Arylamin-Addukten durch Kupplung mit PyBOP.....	41
4.2.3.	Buchwald-Hartwig Kupplung.....	48
4.2.4.	Synthese N <sup>6</sup> -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite.....	55
4.3.	Konformationsanalyse von C8-Arylamin-dA-Addukten.....	65
4.3.1.	Konformation von Nucleosiden in DNA/RNA.....	65
4.3.2.	Konformationsanalyse mittels NMR-Spektroskopie.....	67
4.3.3.	Synthese C8-Arylamin modifizierter 5'-Monophosphate von 2'-dA.....	69
4.3.4.	Phosphorylierung nach dem Mitsunobu-Protokoll.....	69
4.3.5.	Phosphorylierung nach Sowa und Ouchi.....	73

# INHALTSVERZEICHNIS

---

4.3.6.	Phosphorylierung mit Dibenzylphosphorylchlorid .....	77
4.3.7.	Ergebnisse der Konformationsanalyse .....	80
4.4.	Arylamin-modifizierte Oligonucleotide .....	86
4.4.1.	Synthese der modifizierten Oligonucleotide .....	87
4.4.2.	EcoRI-Sequenz .....	88
4.4.3.	Oligonucleotide der NarI-Sequenz .....	109
4.4.4.	30-mere (Marx-Sequenz) .....	114
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>120</b>
5.1.	Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite .....	120
5.2.	Synthese <i>N</i> <sup>6</sup> -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite .....	121
5.3.	Konformationsanalyse von C8-Arylamin-Addukten .....	123
5.4.	Arylamin-modifizierte Oligonucleotide .....	123
<b>6</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>126</b>
<b>7</b>	<b>EXPERIMENTALTEIL</b> .....	<b>129</b>
7.1.	Allgemeines .....	129
7.1.1.	Lösungsmittel .....	129
7.1.2.	Absolute Lösungsmittel .....	129
7.1.3.	Edukte und Reagenzien .....	130
7.1.4.	Chromatographie .....	131
7.1.5.	NMR-Spektroskopie .....	132
7.1.6.	Geräte .....	132
7.1.7.	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) .....	134
7.1.8.	Puffer .....	135
7.2.	Oligonucleotide .....	135
7.2.1.	Synthese der Oligonucleotide .....	135
7.2.2.	Reinigung .....	136
7.2.3.	Analytik der Oligonucleotide .....	136
7.3.	Darstellung der Verbindungen .....	138
7.3.1.	Allgemeine Arbeitsvorschriften .....	138
7.3.2.	Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite .....	142
7.3.3.	Synthese <i>N</i> <sup>6</sup> -Arylamim-modifizierter Phosphoramidite .....	172
7.3.4.	Synthese C8-dA-Arylamin-modifizierter 5'-Monophosphate .....	224
7.3.5.	Synthese der Oligonucleotide .....	239
<b>8</b>	<b>GEFAHRSTOFFVERZEICHNIS</b> .....	<b>246</b>
<b>9</b>	<b>LITERATUR</b> .....	<b>249</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>256</b>
	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>266</b>

## INHALTSVERZEICHNIS

---

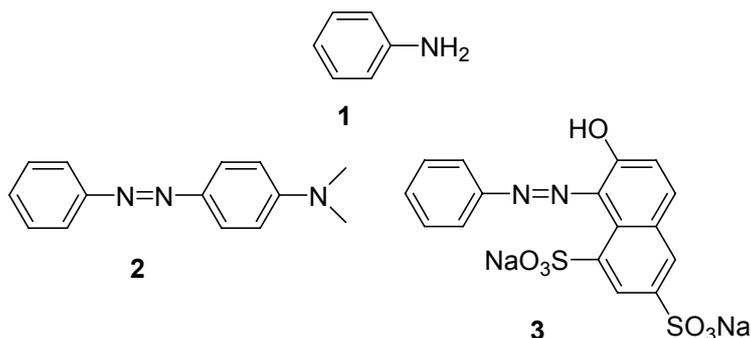
<b>PUBLIKATIONEN</b> .....	267
<b>EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG</b> .....	268



# 1 EINLEITUNG

Aromatische Amine finden sich heutzutage in einer Vielzahl von alltäglichen Gebrauchsgegenständen, Lebens- und Genussmitteln. Sie sind von besonderem toxikologischen Interesse, da zahlreiche Vertreter dieser Stoffgruppe als cancerogen eingestuft sind.<sup>[1]</sup> Die im Folgenden als aromatische Amine bezeichneten Substanzen kommen nicht in der Natur vor, es sind durch den Menschen geschaffene, ubiquitäre Umweltgifte, die durch den Aufschwung der "Anilinindustrie" verbreitet wurden, die 1826 durch die erstmalige technische Synthese von Anilin **1** aus Indigo durch **O. UNVERDORBEN** eingeläutet wurde.<sup>[2]</sup>

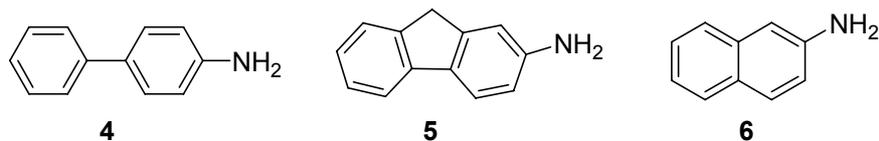
Eine große Gruppe der aus diesem Industriezweig resultierenden Verbindungen stellen die Anilinfarbstoffe dar - Farbstoffe, die aus Anilin **1** und Anilinderivaten hervorgehen, wie z. B. die Azofarbstoffe und einige Triphenylmethanfarbstoffe.



**Abb. 1:** Anilin **1** und die Azofarbstoffe Buttergelb **2** und Orange G **3**

Buttergelb **2**, ein Azofarbstoff und seit 1930 als krebserregend bekannt, färbte bis nach dem Zweiten Weltkrieg Butter und Margarine; Orange G **3** färbte bis 1950 Kuchen, Süßigkeiten und Getränke, bis erwiesen war, dass der menschliche Organismus in einem komplexen Stoffwechselprozess daraus das giftige Anilin **1** abspaltet.<sup>[3]</sup>

Bereits 1895 berichtete **L. REHN** über die Zunahme von Harnblasenkrebs bei Arbeitern in der Fuchsinproduktion, einem Farbstoff, der aus Anilin **1** hergestellt wird.<sup>[4]</sup> Der Begriff "Anilin-Krebs" ist jedoch nur teilweise zutreffend, da vorwiegend die Nebenprodukte der Anilinerzeugung wie das stark cancerogene 4-Aminobiphenyl **4** krebserzeugend sind. Weitere gefährdete Arbeitergruppen stellen die Gerber und Drucker dar, die durch den Umgang mit Lederbeize und Druckerschwärze ebenfalls in den Kontakt mit krebserzeugenden aromatischen Aminen kommen.



**Abb. 2:** Starke Carcinogene: 4-Aminobiphenyl **4**, 2-Aminofluoren **5** und 2-Naphthylamin **6**

Zu finden sind aromatische Amine auch in Pharmaka, Pestiziden, sowie im Tabakrauch,<sup>[5]</sup> wobei gerade der inhalative Tabakgenuss zu einem dreifach höheren Risiko führt, an Harnblasenkrebs zu erkranken.<sup>[6-8]</sup>

Das Hauptzielorgan der cancerogenen Wirkung aromatischer Amine beim Menschen ist die Harnblase.<sup>[7]</sup> So sind in Deutschland seit 1936 Schleimhautveränderungen, Krebs oder andere Neubildungen der Harnwege durch aromatische Amine als Berufskrankheit anerkannt. Wie viele bekannte Carcinogene und Mutagene sind aromatische Amine DNA-reaktive Stoffe, deren carcinogene bzw. mutagene Aktivität auf der Bildung von DNA-Addukten beruht. Diese kovalenten Addukte an DNA-Basen führen, sofern sie nicht repariert werden, zu Mutationen<sup>[9]</sup> und längerfristig zur Entstehung einer Tumorzelle, also zur Entstehung von Krebs.<sup>[10, 11]</sup>

Neuere Untersuchungen weisen auf einen Zusammenhang von 4-Aminobiphenyl **4** aus dem Tabakrauch und der Entstehung von Brustkrebs hin.<sup>[12]</sup>

Unter Krebs versteht man allgemein das vermehrte und unkontrollierte Wachstum von Zellen, die dabei gesundes Gewebe verdrängen oder zerstören. Dabei wird zwischen bösartigen, sog. malignen Tumoren und gutartigen, sog. benignen Tumoren unterschieden, wobei die gutartigen Tumore umliegendes Gewebe lediglich verdrängen, was nur in seltenen Fällen zu Problemen führt. Maligne Tumore hingegen greifen beim Wachstum gesundes Gewebe an, zerstören es und bilden andernorts Tochtergeschwülste aus, sogenannte Metastasen.<sup>[13]</sup>

Nach Schätzungen des Robert-Koch-Instituts erkranken in Deutschland jährlich etwa 25.000 Menschen an Blasenkrebs. Dabei sind Männer mit etwa einem Dreiviertel der Fälle dreimal so stark betroffen wie Frauen. Sowohl bei Männern als auch bei Frauen ist der Blasenkrebs in der Regel eine Erkrankung des höheren Alters. So entfallen etwa 80 bis 90% der Neuerkrankungen auf Personen, die älter als 60 Jahre sind.<sup>[14]</sup>

## 2 KENNTNISSTAND

### 2.1. Metabolismus aromatischer Amine<sup>[15, 16]</sup>

Aromatische Amine gehören zu den so genannten indirekten Carcinogenen, das heißt, dass sie im Körper einer metabolischen Aktivierung unterzogen werden.

Obwohl der Verlauf der Carcinogenese bei den verschiedenen aromatischen Aminen recht unterschiedlich verläuft, bleibt deren Wirkungsweise gleich: gelangen diese Verbindungen in den menschlichen Organismus, setzt dieser einen Entgiftungsmechanismus in Gang, mit dem Ziel, die aromatischen Amine in eine wasserlösliche und somit ausscheidbare Form zu überführen.

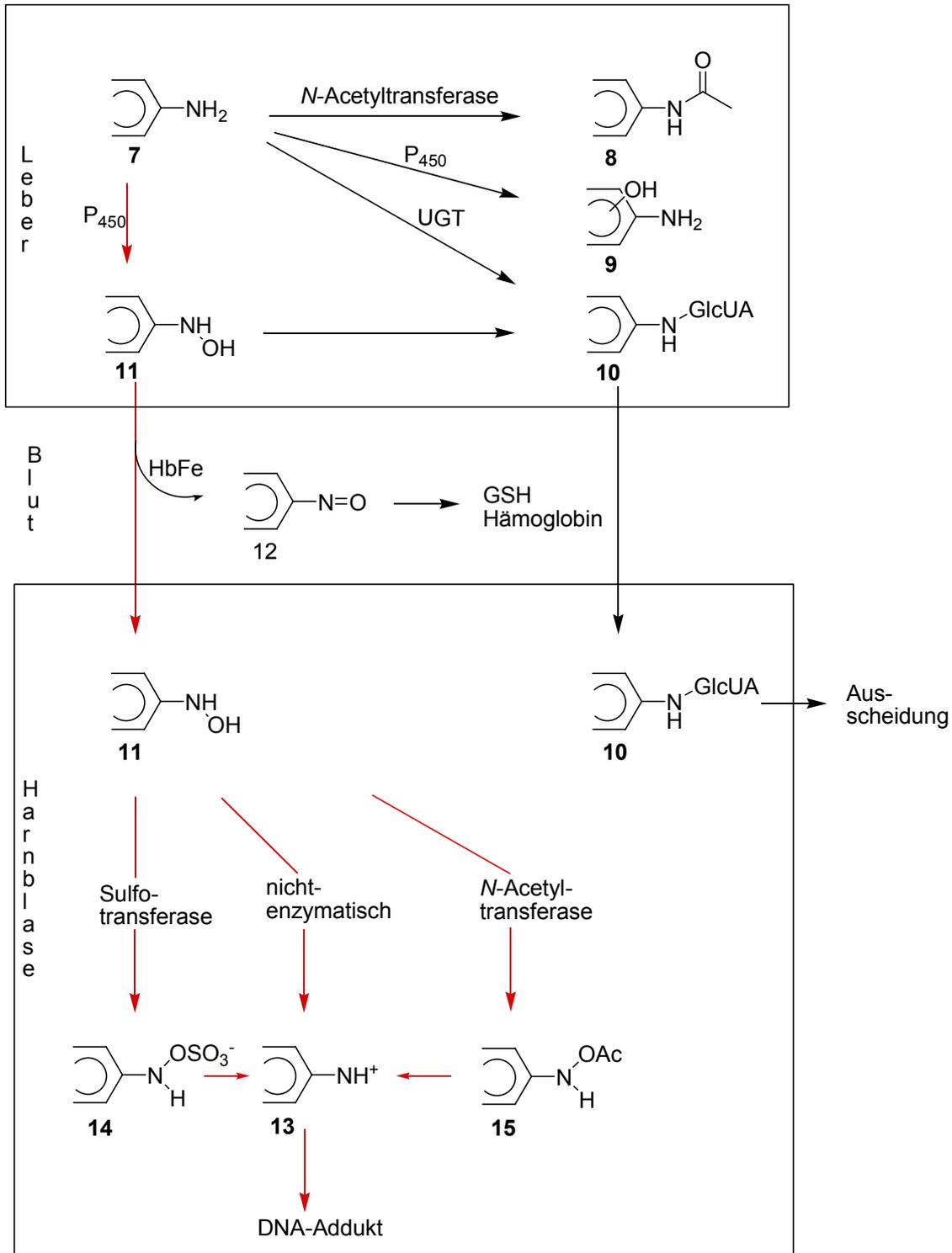
Im ersten Schritt dieses Detoxifizierungsprozesses findet eine Oxidation statt. In der zweiten Phase kann die entstandene Hydroxylfunktion verestert werden und das Amin somit als wasserlösliche Verbindung über die Nieren ausgeschieden werden. Im Folgenden soll dies anhand der Metabolisierung aromatischer Amine in der Entstehung von Harnblasenkrebs beschrieben werden.

#### 2.1.1. Phase I: Oxidation

In der Leber kann das aromatische Amin **7** durch das Enzym *N*-Acetyltransferase in das ausscheidbare Acetanilid **8** überführt werden.<sup>[17]</sup> Verschiedene Cytochrom P<sub>450</sub> vermittelte Oxygenasen können entweder als Teil der Entgiftungsreaktion die C-Oxidation zu einem Aminophenol **9** bewirken. Da sie relativ unspezifisch angreifen, können sie aber auch eine *N*-Oxidation zum Hydroxylamin **11** verursachen, welches dann über das Blut transportiert wird. Dort kann es teilweise durch Hämoglobin zum Nitrosoderivat **12** unter Methämoglobinbildung oxidiert werden und mit Glutathion (GSH) oder SH-Gruppen des Hämoglobins abreagieren. Desweiteren ist auch eine nichtenzymatische Oxidation zu den entsprechenden *N*-Oxiden bekannt, die im endoplasmatischen Retikulum hepatischer Zellen mit molekularem Sauerstoff und NADPH<sub>2</sub> abläuft.

Nach neueren Erkenntnissen wird auch die *N*-Glucuronierung als Entgiftungsreaktion genutzt, wobei eine stabile Verbindung **10** entsteht, die ausgeschieden werden kann. Man nennt diesen ersten Schritt der Giftungsreaktion, die Oxidation zum Hydroxylamin, die Bildung der proximalen Carcinogene. **CRAMER, MILLER** und

**MILLER** berichteten schon 1960 in ihrer Arbeit von der Schlüsselrolle, die dieser Oxidation bezüglich der Carcinogenität der aromatischen Amine zukommt.<sup>[18]</sup>



**Abb. 3:** Metabolismus aromatischer Amine

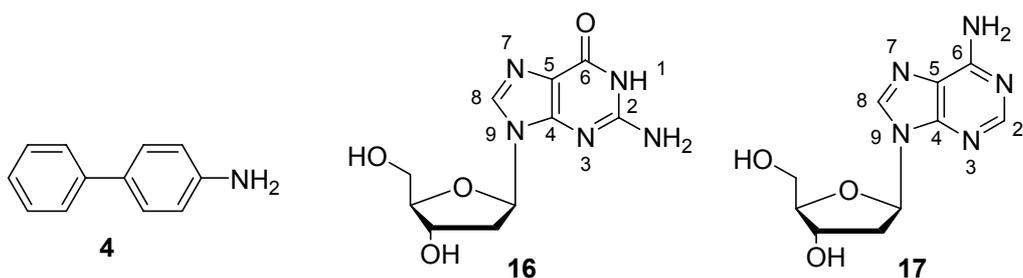
### 2.1.2. Phase II: Bildung der ultimatsten Carcinogene

In der zweiten Phase kommt es in der Harnblase zur Bildung der ultimatsten Carcinogene. Dies kann entweder nichtenzymatisch durch Protonierung und anschließende Abspaltung von Wasser im leicht sauren Medium zum hochreaktiven Nitreniumion **13** erfolgen. Das Hydroxylamin **11** kann jedoch auch durch eine Sulfotransferase oder eine *N*-Acetyltransferase in ultimate Carcinogene, einen Sulfatester **14** bzw. ein *N*-Acyloxyarylamino **15**, überführt werden. Der Sulfatester **14** kann nun unter Abspaltung der Sulfatgruppe in das Nitreniumion **13** übergehen. Auch das andere ultimate Carcinogen, das *N*-Acyloxyarylamino **15**, zerfällt unter Bildung des hochreaktiven Nitreniumions **13**, welches nun kovalent an die DNA oder andere Biomoleküle wie z. B. Aminosäuren binden kann.<sup>[19-21]</sup>

### 2.1.3 Phase III: Reaktion ultimatster Carcinogene mit der DNA<sup>[8, 22-26]</sup>

Die stark elektrophilen Nitreniumionen sind in der Lage so genannte kovalente "DNA-Addukte" zu bilden. Obwohl es sich bei dieser Reaktion um eine elektrophile Substitution handelt, hat sich der Begriff des Adduktes etabliert. Bei *in vivo* und *in vitro* Untersuchungen zeigte sich, dass die Position des elektrophilen Angriffs und somit die Art der gebildeten Addukte vom jeweiligen Carcinogen abhängig ist

Bei *in vivo* Untersuchungen mit Hunden wurden zum Beispiel drei verschiedene DNA-Addukte des 4-Aminobiphenyls **4** mit 2'-Desoxyguanosin **16** und 2'-Desoxyadenosin **17** identifiziert.<sup>[27]</sup>



**Abb. 4:** Starkes Carcinogen 4-Aminobiphenyl **4**, dG **16** und dA **17**

Während 2'-Desoxyguanosin **16** das C8-Addukt **18** und das *N*<sup>2</sup>-Addukt **19** bildete, konnte vom 2'-Desoxyadenosin **17** nur das C8-Addukt **20** identifiziert werden (Abb. 5, S. 6).<sup>[28]</sup>

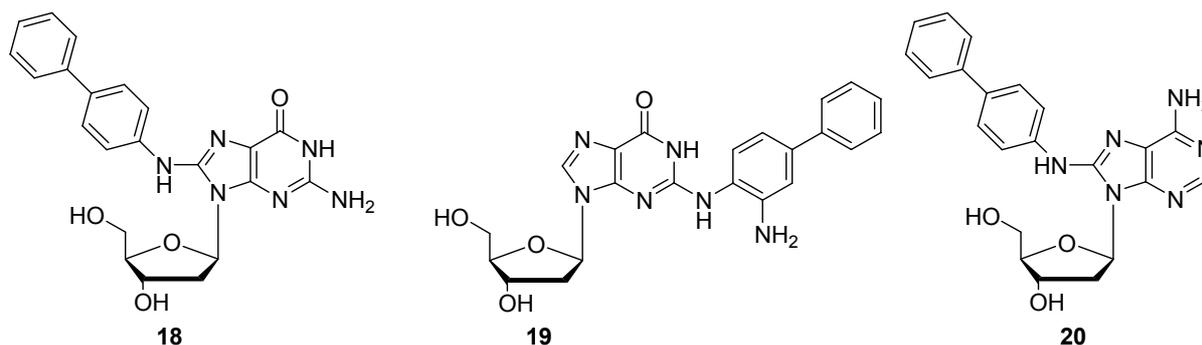


Abb. 5: Addukte mit 4-Aminobiphenyl

*In vivo* Untersuchungen mit 2-Aminofluoren **5** ergaben jedoch nur das dG-C8-Addukt.<sup>[29]</sup> Als Beispiele weiterer Addukttypen seien noch das dG-O<sup>6</sup>-Addukt des 1-Naphthylamins **21** und das dA-N<sup>6</sup>-Addukt des 2-Naphthylamins **22**<sup>[30]</sup> zu nennen.

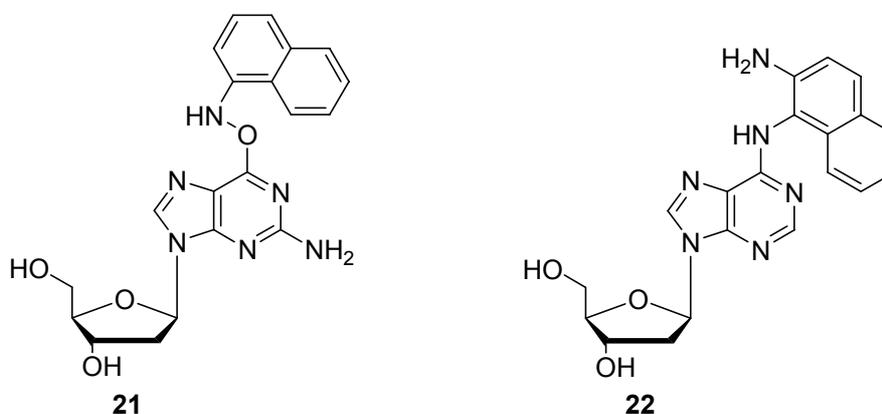


Abb. 6: O<sup>6</sup>-dG und N<sup>6</sup>-dA-Addukte

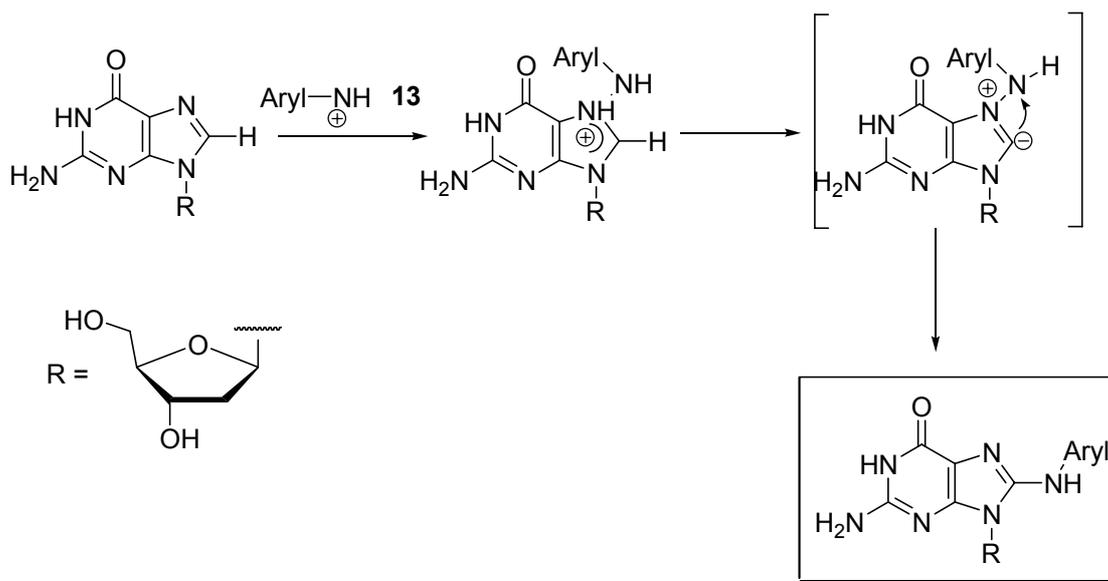
Es sind auch weitere Addukte von 2'-Desoxyguanison bekannt sowie N<sup>4</sup>- und C5-Addukte von 2'-Desoxycytidin.<sup>[22, 31]</sup> Diese DNA-Addukte können zu einer Konformationsänderung der DNA-Struktur führen, das heißt, dass die natürlich vorliegende B-Konformation in die Z-Konformation umgewandelt wird. Ob eine Konformationsänderung eintritt, hängt von der Art des Adduktes ab. Während sich einige wahrscheinlich in die große Furche der DNA-Helix einfügen können, bewirken andere eine Denaturierung der DNA.

Es wurden Untersuchungen an modifizierter DNA mit Hilfe von Schmelzpunktexperimenten, Circular dichroismmessungen und NMR-Messungen vorgenommen und es zeigte sich aus <sup>32</sup>P-Postlabelling-Experimenten im Tierversuch, dass DNA mit denaturierter Konformation leichter repariert werden konnte als Addukte, deren aromatische Systeme sich gut in die DNA einpassen und nur geringe konformative Änderungen hervorrufen.

Bleibt die DNA von den zelleigenen Reparaturmechanismen unangetastet, so kann es bei der Transkription zu Mutationen kommen. Replikationsfehler können im weiteren Verlauf im günstigsten Fall zur Apoptose oder im ungünstigsten Fall zur Entstehung einer Tumorzelle führen.<sup>[32, 33]</sup>

## 2.2. Adduktbildung *in vivo*

Der Mechanismus für die Bildung des am häufigsten gefundenen dG-C8-DNA-Adduktes ist bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt. Als erwiesen ansehen kann man jedoch das intermediäre Auftreten des hochreaktiven Arylnitreniumions **13**. Die C8-Position am Guanosin ist nicht die nucleophilste Stelle im Molekül und wird somit auch nicht bevorzugt elektrophil angegriffen. Durch die Alkylierung mit Methyljodid konnte die N7-Position als nucleophilste Stelle ausgemacht werden,<sup>[34]</sup> so dass **F. P. GUENGERICH** *et al.* einen Mechanismus vorschlugen, der diesen Umstand mit einbezieht.<sup>[35]</sup> **M. NOVAK** und **S. A. KENNEDY** schlugen wenige Jahre später einen Mechanismus vor, der dem von **GUENGERICH** sehr ähnlich war.<sup>[36]</sup> Die durch den elektrophilen Angriff des Nitreniumions entstandene positive Ladung ist demnach über die N7-, C8- und N9-Positionen delokalisiert. Nach Deprotonierung an der C8-Position liegt ein Ylid vor, welches in einer der Stevens-Umlagerung ähnlichen Reaktion das C8-Addukt unter Beibehaltung der Aromatizität liefert (Abb. 7, S. 7).



**Abb. 7:** Postulierter Mechanismus der C8-Adduktbildung

## 2.3. Nachweis von Mutagenität und Cancerogenität

Um zu klären, ob eine Substanz mutagen oder cancerogen ist, lässt sich am eindeutigsten im direkten Versuch mit Säugetieren feststellen. Da diese jedoch recht aufwendig und auch nicht immer notwendig sind, gibt es alternative Methoden, die schnell Aufschluss darüber geben, ob ein Stoff als potentiell mutagen oder cancerogen einzustufen ist.

### 2.3.1. Ames-Test<sup>[37]</sup>

Der zurzeit wichtigste Test zur Untersuchung auf Mutagenität ist der nach seinem Entwickler **B. N. AMES** benannte Ames-Test. Bei den Testbakterien aller Ames-Test-Versionen handelt es sich um Histidin-Mangelmutanten von *Salmonella typhimurium*, die nicht in der Lage sind, in histidinfreien Nährmedien zu wachsen. Unter Einwirkung genotoxischer Substanzen kann es zu Mutationen kommen, welche die Bakterien wieder dazu befähigen, die Aminosäure Histidin zu synthetisieren. Die so erzeugten His-Revertanten können sich dann wieder in histidinfreiem Medium vermehren.

Im konventionellen Ames-Test wird die Anzahl der nach 48 Stunden auszählbaren Bakterienkolonien (Revertanten) als Maß für die Mutagenität des Testguts herangezogen. Da diverse Mutanten von *Salmonella* mit unterschiedlicher Spezifität gegenüber verschiedenen Mutagenen reagieren, ist der Einsatz mehrerer Teststämme für die Erkennung der zahlreichen unterschiedlichen Substanzklassen von Mutagenen entscheidend. Durch Zugabe eines mikrosomalen Aktivierungssystems aus Rattenleber (S9-mix) können eine Reihe weiterer Substanzen in ihre aktive, mutagene Form überführt und so im Test erkannt werden, wodurch ein wichtiger Aspekt des Säuger-Metabolismus in den *in vitro* Test integriert werden kann.

Ein positiver Ames-Test wird als Hinweis auf die Cancerogenität einer Substanz gewertet, da die meisten mutagenen Stoffe beim Säuger ebenfalls carcinogen wirken.

### 2.3.2. <sup>32</sup>P-Postlabeling<sup>[38]</sup>

Viele der bekannten krebserzeugenden Substanzen bzw. deren Metabolite binden kovalent an die DNA unter Bildung von DNA-Addukten. Diese DNA-Addukte sind

spezifisch für die jeweilige genotoxische Substanz. Da sie molekulare Bestandteile des Krebsprozesses sind, werden sie als Biomarker des Krebsrisikos in epidemiologischen Studien eingesetzt. Um die Bedeutung der DNA-Addukte bei Krankheiten wie Krebs zu ermitteln, ist es notwendig, empfindliche Analysemethoden zu haben, die einen hohen Durchsatz von biologischen Proben sowie eine simultane Detektion verschiedener DNA-Adduktclassen gewährleisten. Die zur Zeit empfindlichste Methode ist das  $^{32}\text{P}$ -Postlabeling, mit der die Detektion von einem Addukt in einer Milliarde normalen Nucleotiden gelingt, was die Untersuchung von humanen Proben ermöglicht.

Hierzu wird die zu testende Substanz zunächst mit der DNA, gegebenenfalls unter Zuhilfenahme eines Aktivierungssystems, in Kontakt gebracht. Nach der Isolierung der DNA wird diese enzymatisch zu den 3'-Nucleosidmonophosphaten abgebaut. Diese werden durch Reaktion mit  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -Adenosintriphosphaten an C5'-Position phosphoryliert. Durch mehrdimensionale Dünnschichtchromatographie können die Addukte von den normalen Nucleosiddiphosphaten getrennt und audioradiographisch untersucht werden.

### **2.3.3. Einstufung der Cancerogenität**

Polycyclische aromatische Amine, wie 4-Aminobiphenyl **4** und 2-Aminofluoren **5**, zählen zu den starken Carcinogenen. Die meisten monocyclischen Amine weisen eine geringere Cancerogenität auf und werden daher als Grenzcarcinogene bezeichnet. Ein typischer Vertreter dieser Substanzklasse ist Anilin **1**. Man unterscheidet (starke) Carcinogene und Grenzcarcinogene durch ihre Fähigkeit zur Tumorindikation, die bei den Grenzcarcinogenen nur unter bestimmten Voraussetzungen wie hoher Dosierung, Verabreichung über einen längeren Zeitraum oder das Vorhandensein eines Comutagens zum Ausdruck kommt.

## **2.4. Chemische Synthese von Arylamin-Addukten**

Aufgrund der Mesomerie im hochreaktiven elektrophilen Nitreniumion **13** ergeben sich unterschiedliche Addukttypen. So entsteht durch den elektrophilen Angriff auf das Stickstoffatom des Nitreniumions **13** ein C8-Addukt, wohingegen die  $N^2$ - bzw.  $N^6$ -Addukte aus einem elektrophilen Angriff der exocyclischen Aminogruppe am Ring

des Nitreniumions **13** hervorgehen (Abb. 8).<sup>[39]</sup> In welchem Ausmaß ein bestimmter Addukttyp gebildet wird, ist vom Arylamin abhängig.

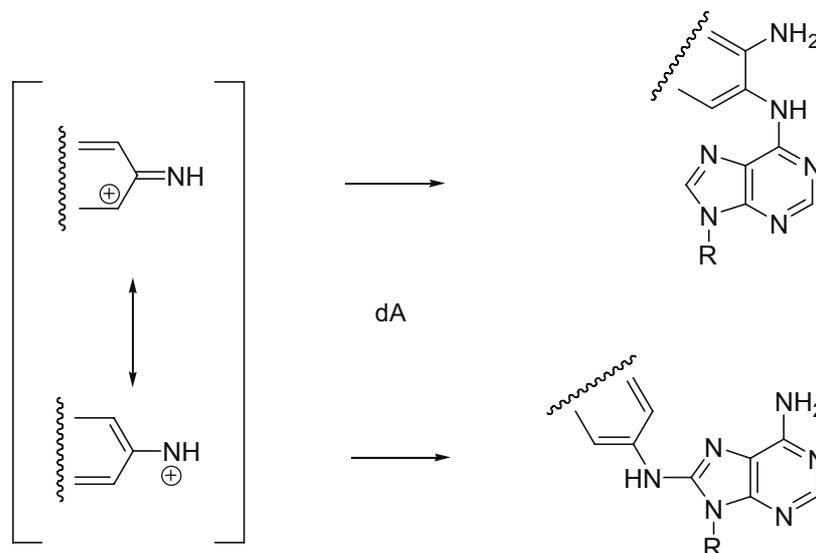


Abb. 8: Bildung der verschiedenen Addukte

### 2.4.1. Synthese von C8-Arylamin-Addukten

Bei der Darstellung der Arylaminaddukte gibt es drei bekannte Möglichkeiten der Synthese. Zum einen kann eine elektrophile Arylaminierung gemäß des postulierten *in vivo* Mechanismus am Nucleosid durchgeführt werden. Den zweiten Weg stellt eine nucleophile Aminierung am 8-Brom-Derivat des Nucleosides dar. Als dritte Möglichkeit steht eine Palladium-katalysierte C-N-Bindungsknüpfung zur Verfügung.

#### Nucleophile Arylaminierung

Der einfachste Weg zur Darstellung von C8-Addukten ist die nucleophile Arylaminierung, die bereits 1967 von **E. KRIEK** und **E. MILLER** angewendet wurde.<sup>[40]</sup> Bei der Umsetzung von peracetyliertem 8-Bromguanosin **23** mit 2-Aminofluoren **5** erzielten sie eine Ausbeute an C8-Arylaminaddukt **24** von 23% (Abb. 9, S.11).

Diese Methode zur Darstellung von C8-Arylaminaddukten ist jedoch auf Ribonucleoside beschränkt. Aufgrund der Reaktionsbedingungen lässt sie sich nicht auf 2'-Desoxyribonucleoside anwenden, da hierbei aufgrund der hohen Temperaturen Depurinierungen auftreten.

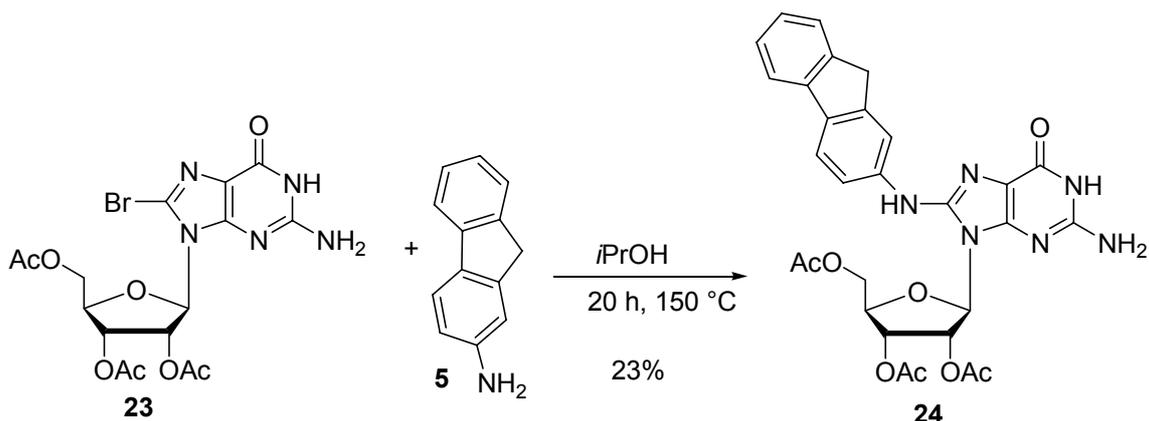


Abb. 9: Nucleophile Arylaminierung

### Elektrophile Arylaminierung

Bei dieser Methode werden Hydroxylamine **25** durch Veresterung mit einer guten Abgangsgruppe versehen. Unter Abspaltung dieser Gruppe wird ein Nitreniumion frei, welches durch einen elektrophilen Angriff auf 2'-Desoxyguanosin **16** oder Guanosin Addukte bildet.

Die von **M. FAMULOK** durchgeführte Umsetzung von Arylhydroxylaminestern **26**, **27** mit dG **16** führte zwar zum gewünschten Addukt **28**, dieses wurde jedoch nur in mäßigen Ausbeuten von 2.5% erhalten (Abb. 10).<sup>[41, 42]</sup>

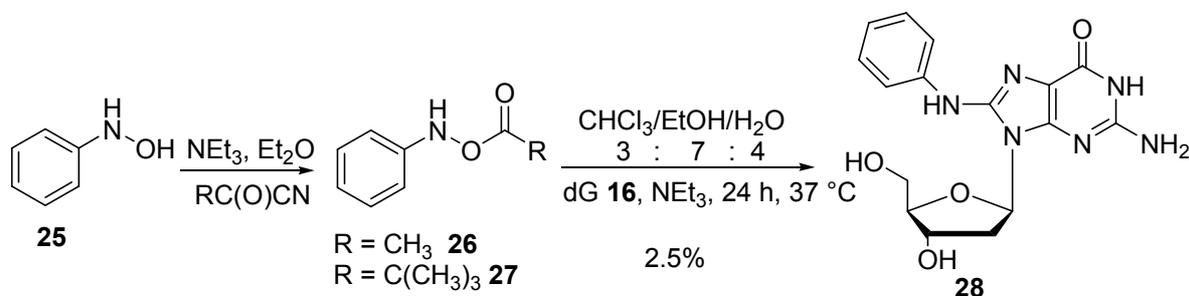


Abb. 10: Adduktbildung durch elektrophile Arylaminierung

Auf dieser Route wurden von **S. GRÄSL** bereits erfolgreich Phosphoramidite der C8-Addukte von 2'-Desoxyguanosin hergestellt. Die sehr mäßigen Ausbeuten veranlassten **S. GRÄSL** diese Syntheseroute zu optimieren. Allerdings ließen sich die Ausbeuten der Adduktbildung über die elektrophile Arylaminierung nicht steigern.<sup>[43]</sup>

### Arylaminierung nach JACOBSON und JOHNSON

Diese Methode stellt eine Anpassung der nucleophilen Arylaminierung an 2'-Desoxynucleoside dar. Nachdem es **M. D. JACOBSON** und **R. SHAPIRO** 1988

nicht gelungen war, 3',5'-Di-O-acetyl-8-brom-2'-desoxyguanosin mit Anilin **1** zu *N*-(3',5'-Di-O-acetyl-2'-desoxyguanosin-8-yl)-anilin umzusetzen, änderten **F. JOHNSON** *et al.* die Synthesestrategie, indem sie zunächst das acetylierte Ribonucleosid mit Aniliniumbromid umsetzten, um dann eine Barton-McCombie-Desoxygenierung am Produkt durchzuführen. Sie erhielten *N*-(Desoxyguanosin-8-yl)-anilin in Ausbeuten von 5 bis 8%. Auch durch eine Syntheseroutenoptimierung ließen sich die Ausbeuten bei dieser Methode nicht steigern.<sup>[44]</sup>

### Buchwald-Hartwig-Reaktion

Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Palladium-katalysierte C-N-Kupplung. **S. L. BUCHWALD** *et al.* und **J. F. HARTWIG** *et al.* veröffentlichten 1995 die Kupplung eines Amins **30** mit einem Arylhalogenid **29** (Abb. 11, S. 12), die später unter dem Namen Buchwald-Hartwig-Reaktion bekannt wurde.<sup>[45, 46]</sup>

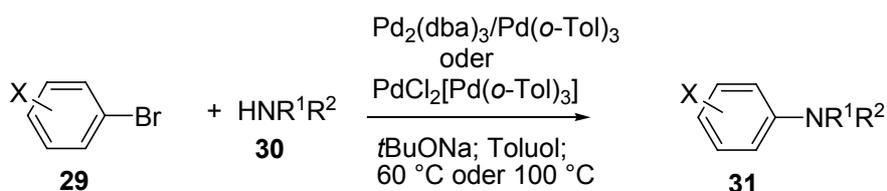
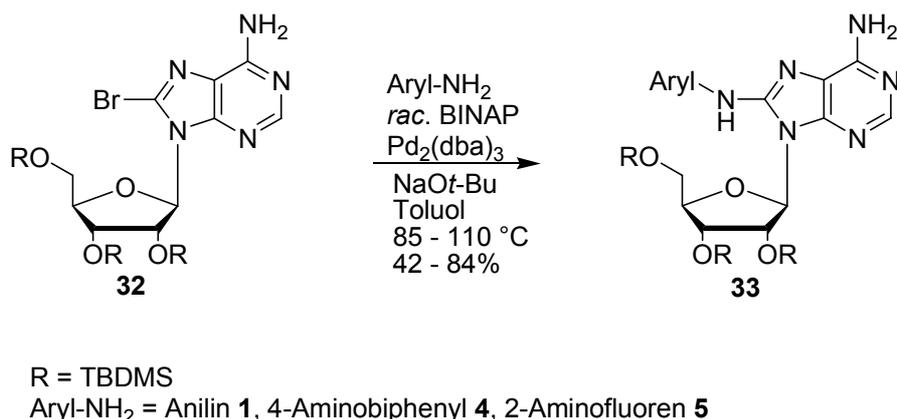


Abb. 11: Buchwald-Hartwig-Reaktion

Im Jahr 2001 veröffentlichten **E. SCHOFFERS** *et al.* die Kupplung von Arylaminen an die C8-Position von Adenosin, einem Ribonucleosid, mit Hilfe der Buchwald-Hartwig-Reaktion.<sup>[47]</sup> Zu diesem Zweck wurde Adenosin zunächst in das 2',3'- und 5'-O-silylgeschützte 8-Bromadenosin **32** überführt. Die nachfolgende Kreuzkupplungsreaktion wurde durch 1.25 bis 30 mol%  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  und 3.75 bis 50 mol% racemisches BINAP katalysiert. Natrium*tert*butanolat wurde als Base und refluxierendes Toluol als Lösungsmittel verwendet (Abb. 12)

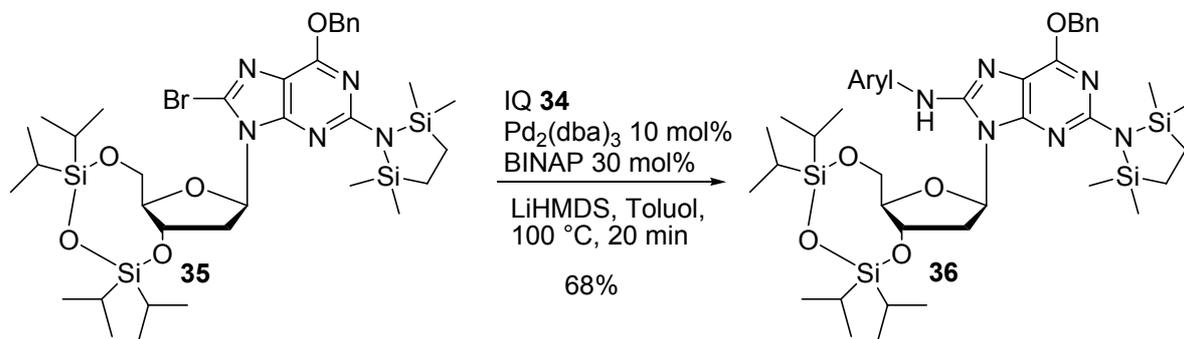


**Abb. 12:** Buchwald-Hartwig-Reaktion mit 8-Bromadenosin

Es stellte sich heraus, dass eine Schützung der exocyclischen Aminofunktion nicht notwendig war. Für die Hydroxygruppen wurde die *tert*-Butyldimethylsilylschutzgruppe verwendet. Die erzielten Ausbeuten lagen zwischen 84% für das Grenzcancerogen Anilin **1** und 42% für das starke Carcinogen 2-Aminofluoren **5** und waren somit deutlich höher als bei allen bis dato beschriebenen Synthesen von C8-Purin-Addukten. Über eine weitere Umsetzung der Addukte wurde nicht berichtet.<sup>[47]</sup>

Zeitgleich mit **SCHOFFERS** stellten **C. J. RIZZO** und **Z. WANG** die erfolgreiche Darstellung von C8-Arylamin-modifiziertem 2'-Desoxyguanosin vor.<sup>[48]</sup>

Ihr Ziel war der Einbau des Nahrungsmittelmutagens IQ (2-Amino-3-methylimidazol[4,5-f]-quinolin) **34**, welches im *Ames-Salmonella*-Test eine hohe Mutagenität aufweist, an die C8-Position des dG. Diese Synthese stellt die erste Anwendung der Buchwald-Hartwig-Reaktion auf Desoxyribonucleoside dar (Abb. 13).



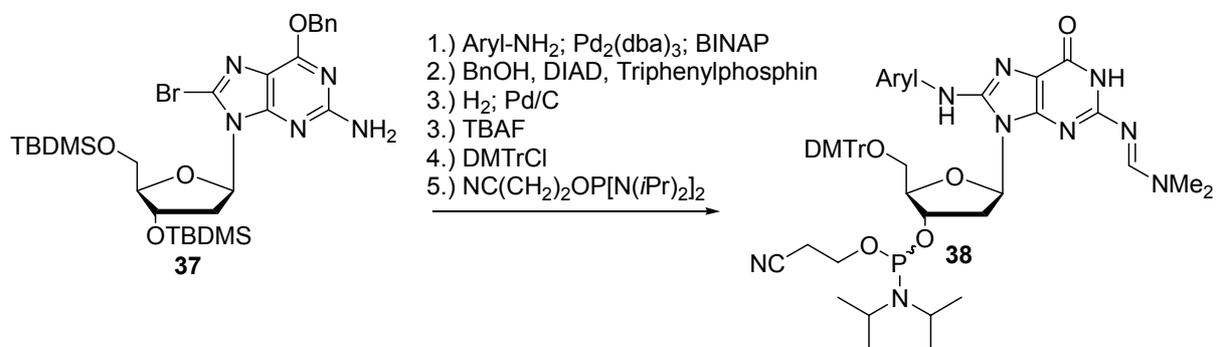
**Abb. 13:** Darstellung der Arylaminadukkte nach **RIZZO**

Startmaterial der Synthese war 8-Brom-2'-desoxyguanosin, welches an der O<sup>6</sup>-Position als Benzylether und an den Hydroxyfunktionen als Silylether mit der Tetra-*isopropyl*disiloxangruppe geschützt wurde. Anfänglich wurde für die N<sup>2</sup>-Aminofunktion die STABASE-Schutzgruppe (Tetramethyldisilazacyclopentan)

verwendet, da sich aber herausstellte, dass sich diese nach der Kupplung nicht wieder abspalten ließ, wurde bei späteren Synthesen mit der Dimethylformamidin-Schutzgruppe gearbeitet.<sup>[49]</sup> **RIZZO et al.** verwendeten 10 mol% Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, 30 mol% *racemisches* BINAP und Lithiumhexamethyldisilazid als Base und erhielten so das gewünschte Produkt **36** in guten Ausbeuten.

Um die Allgemeingültigkeit ihrer Ergebnisse für andere Arylamine zu bestätigen, führte die Gruppe die Synthese mit den Arylaminen 4-Aminobiphenyl **4**, 2-Aminofluoren **5** und 2-Naphthylamin **6** durch und erzielte auch in diesen Fällen gute Ausbeuten an Arylaminaddukten zwischen 54 und 61%.<sup>[49]</sup>

2002 publizierte **S. GRÄSL** aus unserer Arbeitsgruppe die erstmalige Darstellung C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite von 2'-Desoxyguanosin. Diese Synthese wurde von **N. BÖGE** hinsichtlich der Schutzgruppenstrategie optimiert. Nach erfolgreicher Kupplung mit 10 mol% Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, 30 mol% *racemisches* BINAP und Kaliumphosphat als Base wurde die exocyclische Aminofunktion mit der Dimethylformamidin-Schutzgruppe blockiert. Es folgte die Debenzylierung und Desilylierung. Nach Einführung der DMTr-Schutzgruppe an der 5'-Position wurde das dG-Derivat in das Phosphoramidit **38** überführt.



**Abb. 14:** Syntheseroute von **S. GRÄSL** und **N. BÖGE**

Die Phosphoramidite wurden erfolgreich in Oligonucleotide eingebaut und über deren Charakterisierung berichtet.<sup>[50]</sup>

### 2.4.2. Synthese von $N^6$ -Aryl(amin)-Addukten

Die ersten beschriebenen Buchwald-Hartwig-Reaktionen mit Nucleosiden konzentrierten sich auf die exocyclischen Aminofunktionen von dA **17** und dG **16**. 1999 veröffentlichten **M. K. LAKSHMAN**<sup>[51]</sup> und auch **F. JOHNSON**<sup>[52]</sup> fast zeitgleich die Synthese von  $N^2$ - bzw.  $N^6$ -Aryladdukten von 2'-Desoxyguanosin und -adenosin. **LAKSHMAN** überführte dazu zunächst die exocyclische Aminofunktion in ein Bromid und ließ das silylgeschützte 6-Brom-dA **39** in der Palladium-katalysierten Reaktion mit diversen Arylaminen reagieren (Abb. 15).

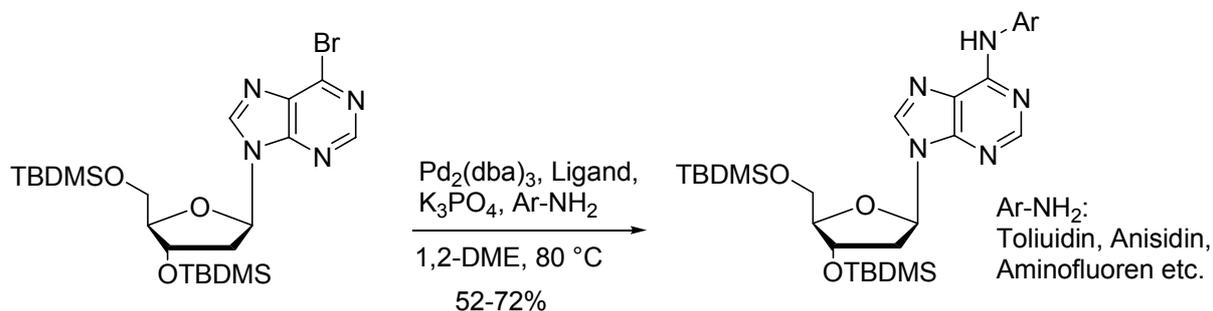


Abb. 15:  $N^6$ -Aryladdukte nach **LAKSHMAN**

Die Darstellung der  $N^6$ -Arylaminaddukte, wie sie durch die Reaktion von Arylaminen mit der DNA entstehen (vgl. Abb. 8, S. 10) wurde erstmals 1999 durch **DE RICCARDIS** und **JOHNSON** (Abb. 16) realisiert.<sup>[52]</sup>

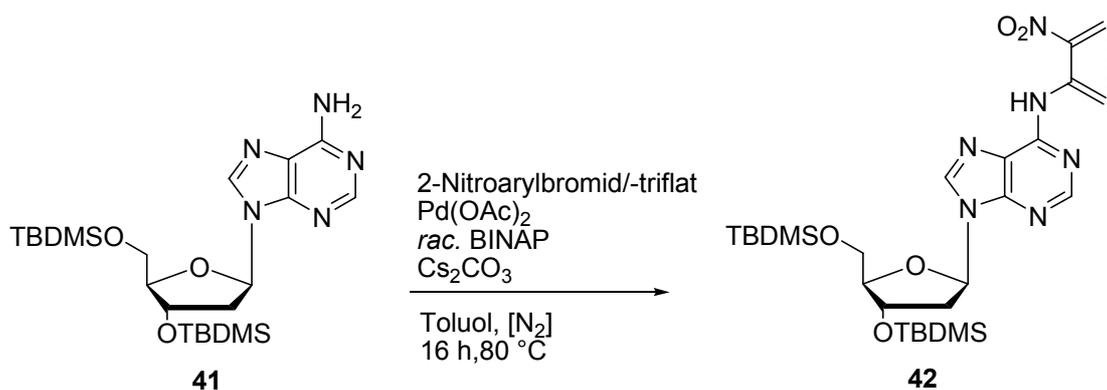
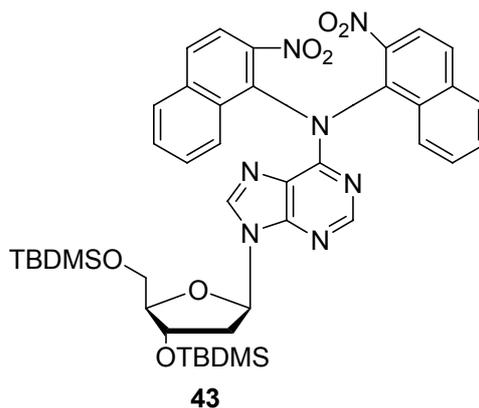


Abb. 16: Darstellung von  $N^6$ -(*o*-Nitroaryl)-Addukten durch **JOHNSON**

Ihnen gelang die Darstellung über die Reaktion von TBDMS-geschütztem dA **41** mit *ortho*-Nitroaryl bromiden oder *ortho*-Nitroaryl triflaten. Nachteil dieser Reaktion ist die Bildung von  $N^6$ -disubstituierten Produkten (Abb. 17), so dass das Nucleosid **41** in einem 40%igem Überschuss eingesetzt werden musste.



**Abb. 17:** Disubstituiertes Produkt **43**

Nach erfolgreicher Buchwald-Hartwig-Kupplung wurde die Nitrofunktion der Addukte noch zum Amin reduziert sowie die Silyschutzgruppen entfernt, eine Umsetzung zum Phosphoramidit sowie ein sequenzspezifischer Einbau in Oligonucleotide blieb jedoch aus.

Von **LAKSHMAN** wurde 2006 die Kupplung diverser Arylamine, darunter auch 2-Nitroanilin, mit  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  und dem neuen Liganden Xantphos berichtet.<sup>[53]</sup>

Einen völlig anderen Ansatz verfolgte **HARVEY** 2005 indem er ungeschütztes 2'-Desoxyadenosin in einer Kupfer(I)-katalysierten Reaktion mit diversen Aryliodiden umsetzte.<sup>[54]</sup>

## 2.5. Arylamin-modifizierte Oligonucleotide

Die Synthese Arylamin-modifizierter Oligonucleotide beschränkte sich bisher auf dG-Arylamin-Modifikationen. So wurden die ersten sequenzspezifisch modifizierten Oligonucleotide von **ZHOU** und **ROMANO** synthetisiert.<sup>[55]</sup> Die Gesamtausbeute für die mit C8-dG-2-Aminofluoren modifizierten Oligonucleotiden war jedoch recht gering, was zum einen auf die mittels elektrophiler Aminierung dargestellten Addukte zurückzuführen ist und zum anderen die Verwendung der Fmoc-Schutzgruppe die DNA-Festphasensynthese erschwerte.

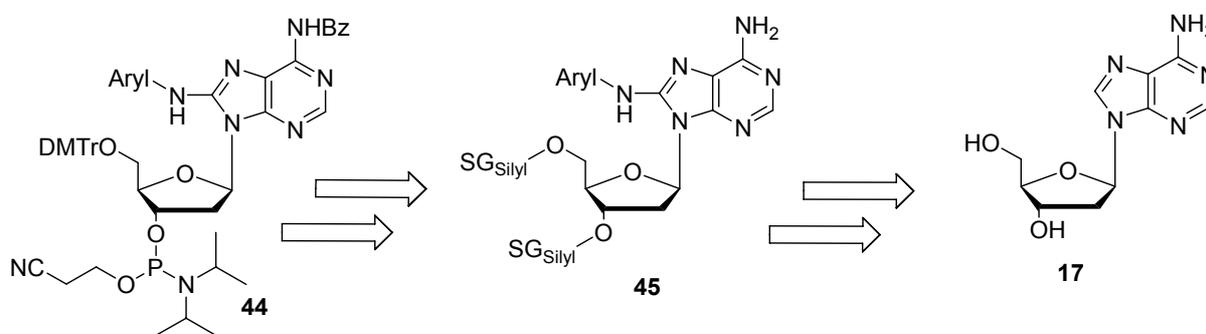
Nachdem **S. GRÄSL** eine effiziente Route zu C8-dG-Arylamin-modifizierten Phosphoramiditen entwickelt hatte, gelang ihr auch deren Einbau in Oligonucleotide mittels automatisierter Festphasensynthese. **N. BÖGE** hat diese Syntheseroute in seiner Doktorarbeit weiter optimiert sowie eine Synthesestrategie zu  $N^2$ -Hydrazino- bzw.  $N^2$ -Azo-Arylamin-dG-Addukten entwickelt. Alle Addukttypen wurden in verschiedene Sequenzen eingebaut und hinsichtlich ihres Einflusses auf die

Konformation und den Schmelzpunkt untersucht.<sup>[50]</sup> Zusätzlich wurde eine 30mer-Sequenz als Template für Primer Extension Assays in Kooperation mit Prof. **A. MARX** von der Universität Konstanz synthetisiert und hinsichtlich der Wirkung verschiedener DNA-Polymerasen untersucht. Als Ergebnis dieser Untersuchungen lässt sich festhalten, dass die C8-DNA-Addukte starker Carcinogene bei Versuchen eine geringere Rate an Fehleinbauten besitzen als die monocyclischen Arylamin-Modifikationen. So findet hier für die monocyclischen Arylamine neben dem kanonischen Einbau von dCTP mit derselben Häufigkeit auch der nicht-kanonische Einbau von dTTP und dATP statt. Somit scheinen in diesen Fällen die monocyclischen Modifikationen einen höheren Einfluss auf die Enzyme zu haben. Eine der gewählten Sequenzen enthielt ein Erkennungsmotiv für das Restriktionsenzym EcoRI. Als Ergebnis der durchgeführten Restriktionsassays lässt sich festhalten, dass eine Modifikation direkt an der Schnittstelle zu einer kompletten Inaktivität des EcoRI-Enzyms führt, während eine Modifikation außerhalb der Schnittstelle nur eine Erniedrigung der Aktivität zur Folge hat. Es konnte auch hier festgestellt werden, dass der Einfluss der polycyclischen Modifikation überraschenderweise geringer ist als der eines monocyclischen Arylamin-Schadens.<sup>[56]</sup>

### 3 AUFGABENSTELLUNG

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Synthese von C8- und N<sup>6</sup>-Arylamin-2'-desoxyadenosin-Addukten, deren sequenzspezifischer Einbau in Oligonucleotide sowie deren Untersuchung hinsichtlich Schmelzpunkt, Konformation und Wirkung auf bestimmte Enzyme, wie z. B. Polymerasen.

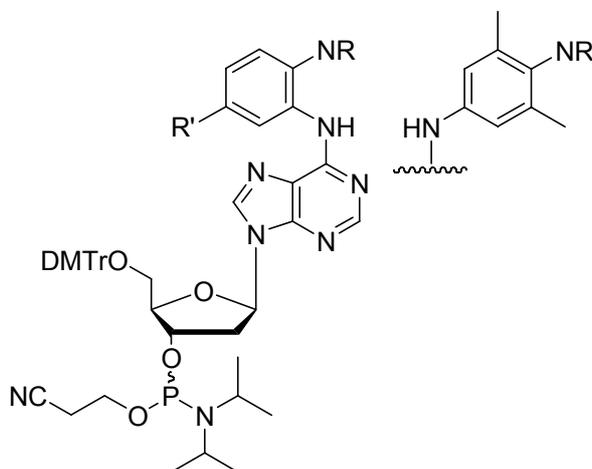
C8-Arylamin-Addukte von 2'-Desoxyguanosin sind der am häufigsten gefundene Addukttyp in mutierter DNA. Zu einem kleineren Anteil wurden ebenfalls C8-Arylamin-Addukte von 2'-Desoxyadenosin in mutierter DNA gefunden, was eine effiziente synthetische Erschließung dieser Addukte wünschenswert macht. Um Aufschluss über die verschieden starken Carcinogenitätspotentiale von monocyclischen und polycyclischen aromatischen Amine zu erhalten, sollten sowohl Grenzcancerogene wie z. B. Anilin als auch stärkere Carcinogene eingesetzt werden. Erstes Ziel dieser Arbeit sollte somit die bisher unbekannte Synthese der C8-Arylamin-Addukte von 2'-Desoxyadenosin sein. Als Vorbild sollte die Synthese der C8-dG-Addukte dienen, deren Schlüsselschritt eine Palladium-katalysierte C-N-Kreuzkupplung, die Buchwald-Hartwig Reaktion, ist.<sup>[50]</sup>



**Abb. 18:** Syntheseroute zu C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramiditen **44**

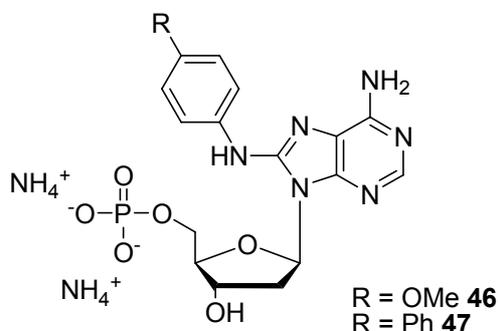
Die C8-dA-Addukte sollten durch eine geeignete Schutzgruppenstrategie in die entsprechenden 3'-O-Phosphoramidite überführt werden, um sie im späteren Verlauf als Bausteine zur Synthese von sequenzspezifisch-modifizierten Oligonucleotiden nutzen zu können.

Im zweiten synthetischen Teil der Arbeit sollte der Focus auf den  $N^6$ -Arylamin-Addukten von 2'-Desoxyadenosin liegen. Hier sollte eine Optimierung der Synthese der  $N^6$ -Addukte mit Schwerpunkt auf der Synthese der entsprechenden Phosphoramidite erfolgen (Abb. 19).



**Abb. 19:**  $N^6$ -Arylamin-modifizierte Phosphoramidite von dA

Im dritten Teil der Arbeit sollte die Synthese von C8-Arylamin-modifizierten 2'-Desoxyadenosin-5'-monophosphaten (Abb. 20) zur anschließenden Konformationsanalyse mit Hilfe der NMR-Spektroskopie erfolgen.



**Abb. 20:** C8-Arylamin-modifizierte 2'-Desoxyadenosin-5'-monophosphate **46** und **47**

Aufgrund der bisher geringen Erkenntnisse bei der Synthese von C8-Arylamin-modifizierten 5'-Monophosphaten sollten hier verschiedene Methoden zur Einführung einer Phosphatgruppe getestet werden.

Die zuvor synthetisierten Phosphoramidite der C8- und  $N^6$ -Addukte von dA sollten sequenzspezifisch in Oligonucleotide eingebaut werden. Um die Auswirkungen von Arylamin-Addukten in der DNA möglichst gut untersuchen zu können, wurden drei verschiedene Sequenzen zum Einbau ausgewählt (Abb. 21).

## AUFGABENSTELLUNG

---

EcoRI	5'-GTA GAA TTC TAC-3'
mod. NarI	5'-CTC GGC ACC ATC-3'
Marx	5'-AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG-3'

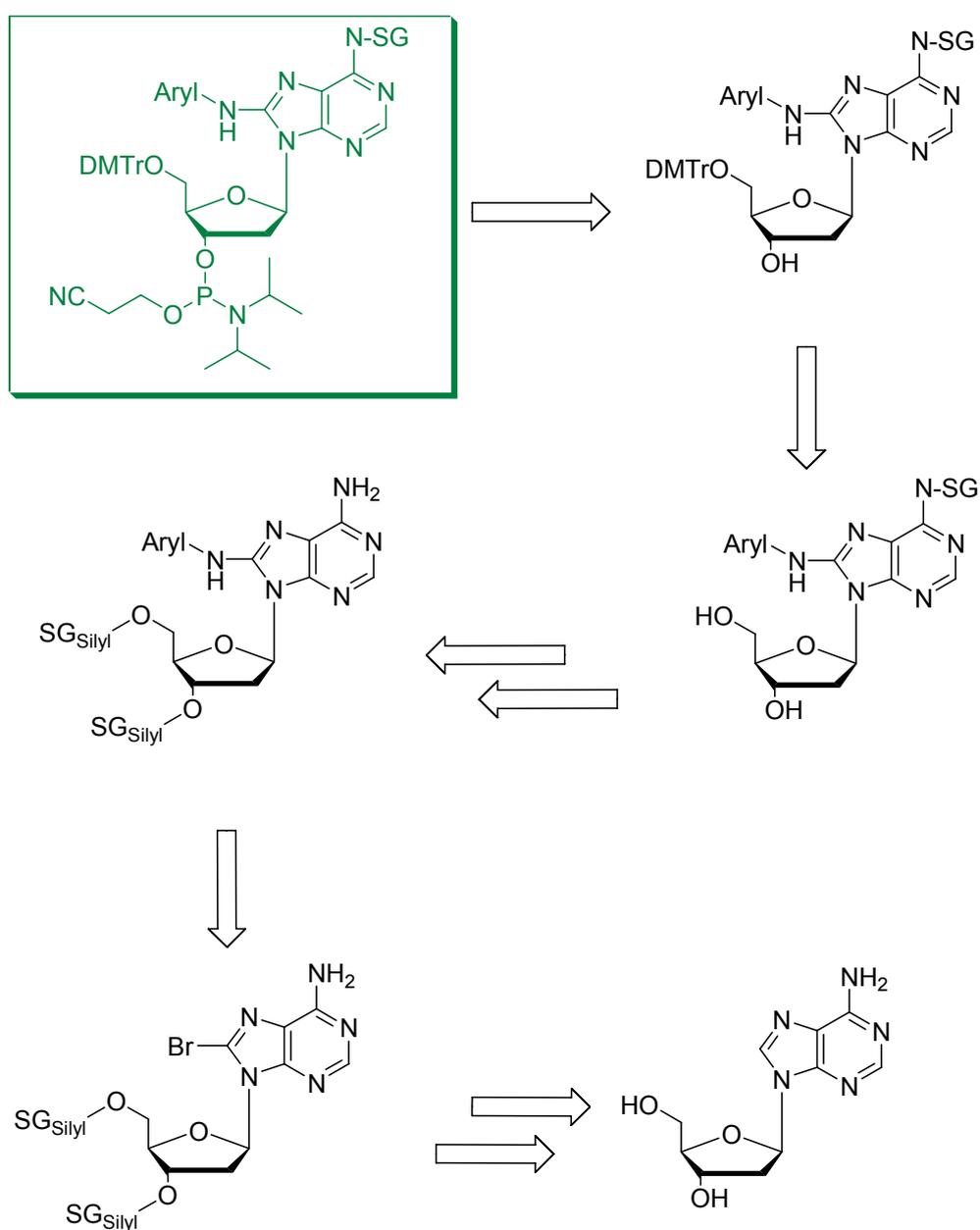
**Abb. 21:** Sequenzen der zu synthetisierenden Oligonucleotide

Das wäre zum einen die EcoRI-Sequenz, die eine Erkennungsstelle für das Restriktionsenzym EcoRI trägt. In dieser Sequenz gibt es vier verschiedene Positionen für den Einbau der Arylamin-Modifikationen. Die bereits gut untersuchte NarI-Sequenz sollte zum Vergleich mit den entsprechenden C8-dG-Arylamin-modifizierten Oligonucleotiden dienen. Als dritte Sequenz sollten 30-mer synthetisiert werden, die in Primer-Verlängerungsstudien als Template in Kooperation mit Prof. **A. MARX** von der Universität Konstanz eingesetzt werden sollten, um so die Wirkungsweise von verschiedenen Polymerasen zu testen. Alle Oligonucleotide sollten zusätzlich hinsichtlich der Schmelztemperatur und der Konformation über die CD-Spektroskopie untersucht und verglichen werden.

## 4 RESULTATE UND DISKUSSION

### 4.1. Synthese C8-Arylamin modifizierter Phosphoramidite von 2'-Desoxyadenosin

In Anlehnung an die Synthese der C8-dG-Addukte durch **S. GRÄSL** und **N. BÖGE** und deren Einbau in Oligonucleotide zur anschließenden Untersuchung der Arylamin-Modifikationen, sollte hier die Synthese der entsprechenden dA-Addukte realisiert werden.



**Abb. 22:** Retrosynthese der C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramidite

Die Synthesestrategie wurde so konzipiert, dass zunächst der Schwerpunkt auf die Synthese der C8-Addukte über die Palladium-katalysierte Kreuzkupplung gelegt werden sollte. Hierzu sollten zunächst die für die Synthese der C8-dG-Addukte bewährten Synthesebedingungen getestet werden. Nach erfolgreicher Synthese sollte der Focus auf der Wahl von geeigneten Schutzgruppen für die automatisierte Festphasensynthese von Oligonucleotiden liegen. Da hierfür eine orthogonale Schutzgruppenstrategie angewendet wird, das heißt in diesem Fall, dass die 5'-Schutzgruppe unter Bedingungen abspaltbar sein muss unter denen die Schutzgruppen an den Basen und am Phosphor stabil sind. Standardmäßig wird aus diesem Grund die 4,4'-Dimethoxytritylgruppe für die 5'-Funktionalisierung verwendet. Für die Basen A, C und G werden am häufigsten Benzoyl-, Acetyl- bzw. *Isobutyryl*-Schutzgruppen verwendet, die sie sich nach erfolgter DNA-Synthese in wässrigem Ammoniak abspalten lassen. Anders als bei der Dimethoxytrityl-Schutzgruppe bietet sich hier noch die Möglichkeit einer Substitution, z. B. durch basenlabilere Funktionalisierungen wie Dimethylformamidin bei Guanin.

#### 4.1.1. Synthese der C8-Arylamin-dA-Addukte

Ausgehend von 2'-Desoxyadenosinmonohydrat wurde zunächst das für die Buchwald-Hartwig Kupplung benötigte Bromid an der C8-Position des dA eingeführt. Dies geschieht über eine elektrophile aromatische Substitution durch die Reaktion von 2'-Desoxyadenosin **17** mit elementarem Brom in wässrigem Natriumacetatpuffer bei pH 5 und liefert auch im 20 g-Maßstab 8-Br-dA **48** in guten Ausbeuten (Abb. 23). Dies ist insofern positiv, da sich die Bromierung von 2'-dG nur im kleinen Maßstab von bis zu einem halben Gramm an eingesetztem Edukt durchführen ließ.

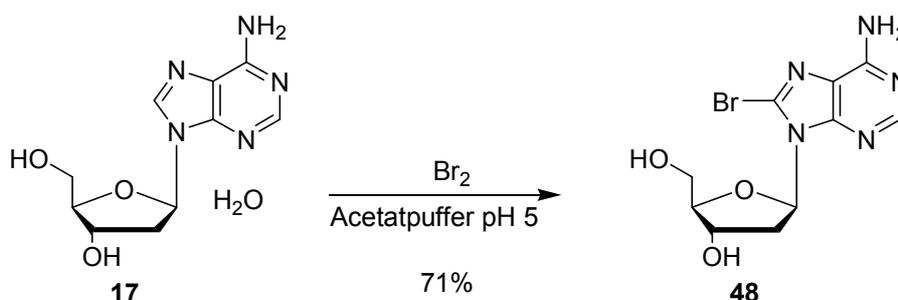


Abb. 23: Synthese von 8-Br-dA **48** nach EASON<sup>[57]</sup>

Zur Blockierung der 3'- und 5'-OH-Funktionen wurde anfangs die *tert*-Butyldimethylsilylgruppe gewählt, die durch die Reaktion von 8-BrdA **48** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid in Pyridin eingeführt wurden (Abb. 24).<sup>[58]</sup> Als Nebenprodukt dieser Reaktion konnte ein an der exocyclischen Aminofunktion von dA mit TBDMS funktionalisiertes Produkt identifiziert werden.

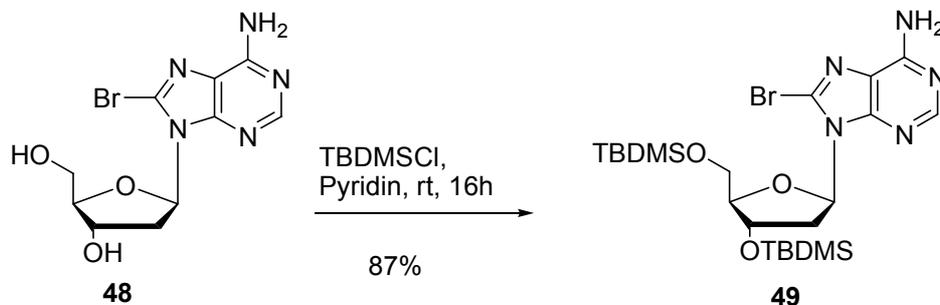


Abb. 24: Synthese von 3',5'-TDMDS-8-Br-dA **49**

### Buchwald-Hartwig Reaktion

Die Synthese C8-Arylamin-modifizierter dA-Derivate wurde über eine palladiumkatalysierte Kreuzkupplungsreaktion, die sogenannte Buchwald-Hartwig Reaktion erreicht. Sie wurde 1995 parallel von **JOHN F. HARTWIG** und **STEPHEN L. BUCHWALD** entwickelt und vermag Arylhalogenide bzw. Pseudoarylhalogenide, wie z. B. Triflate, mit einem sekundären oder primären Amin zu kuppeln.<sup>[45, 46]</sup>

Der Mechanismus der Buchwald-Hartwig Reaktion ist bislang noch nicht vollständig geklärt. In dem von BUCHWALD et al. postulierten Mechanismus (Abb. 25) bildet sich zunächst aus  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  und racemischem BINAP die  $\text{Pd}(0)$ -Spezies (BINAP) $\text{Pd}(0)$ , welche sich in einer oxidativen Addition an das Arylbromid anlagert. Dadurch entsteht das  $\text{Pd}(\text{II})$ -Intermediat II, welches durch die Koordination des Arylamins in die trigonal-bipyramidale Verbindung III übergeht. Die Base bewirkt eine Deprotonierung am koordinierten Arylamin unter Bildung der Verbindung IV, in der das Palladium(II) quadratisch-planar koordiniert ist. Der letzte Schritt des Katalysezyklus ist eine reduktive Eliminierung, bei der das Arylaminaddukt V freigesetzt und der Palladium(0)-Katalysator zurückgebildet wird.<sup>[59]</sup>

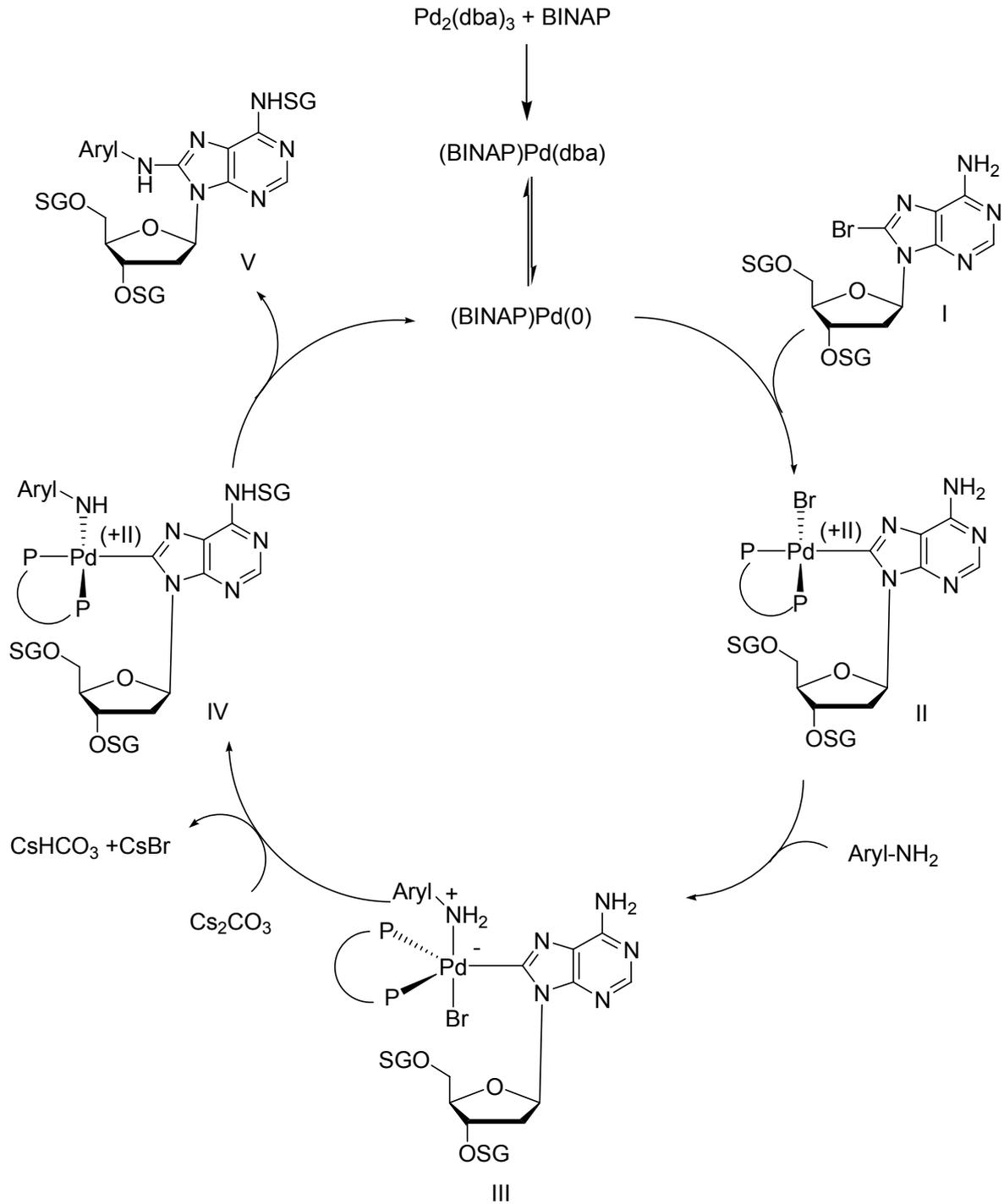
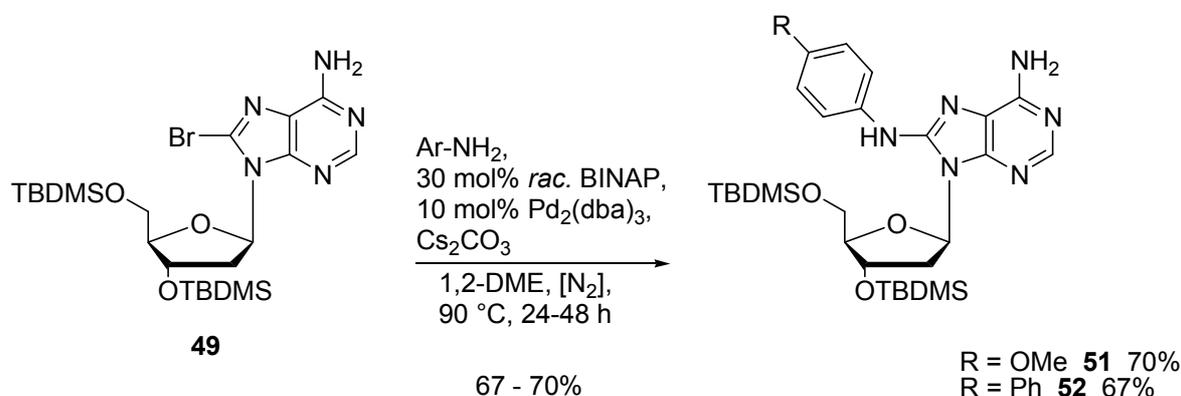


Abb. 25: Mechanismus der Buchwald-Hartwig Reaktion

2001 veröffentlichte **E. SCHOFFERS** die Darstellung C8-Arylamin-modifizierter Adenosin-Derivate unter Verwendung von  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , *racemischem* BINAP und Natrium*tert*butanolat als Base.<sup>[47]</sup> Diese Reaktionsbedingungen sowie die Erfahrungen auf dem Gebiet der Synthese von C8-Arylaminaddukten von 2'-Desoxyguanosin lieferten die Grundlage für die Synthese der C8-Arylamin-dA-Addukte. Als ideal erwies sich die Umsetzung von TBDMS-geschütztem 8-Br-dA **49** mit 30 mol% *racemischem* BINAP, 10 mol%  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , dem entsprechendem Arylamin und Cäsiumcarbonat als Base in refluxierendem 1,2-Dimethoxyethan als Lösungsmittel. Die Arylaminaddukte konnten nach einer Reaktionszeit von 24 bis 48 Stunden und nach säulenchromatographischer Reinigung in guten Ausbeuten erhalten werden (Abb. 26).

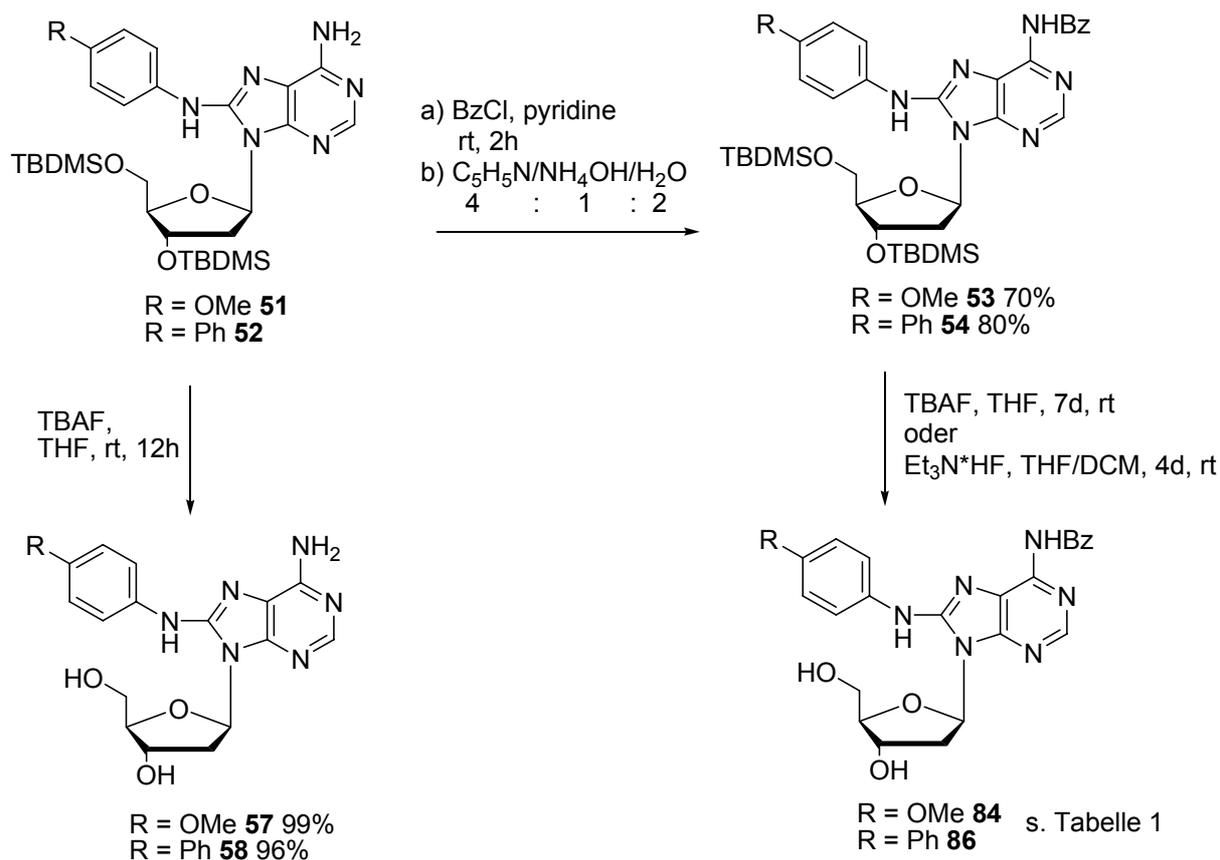


**Abb. 26:** Synthese der Arylaminaddukte **51** und **52**

Als weitere Base fand Kaliumphosphat Anwendung, jedoch erwies sich Cäsiumcarbonat als geeigneter, da sich bei Verwendung von  $\text{K}_3\text{PO}_4$  die Ausbeuten leicht verschlechterten. Auch die Blockierung der exocyclischen Aminofunktion des Adenins vor der Kreuzkupplung stellte sich wie im Fall von dG als nicht notwendig heraus.

#### 4.1.2. Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite I

Die nächsten Schritte zum Phosphoramidit waren die Funktionalisierung der  $N^6$ -Aminogruppe mit einer für die Oligonucleotidfestphasensynthese geeigneten Schutzgruppe, wie z. B. der Benzoylschutzgruppe,<sup>[60]</sup> und die Entfernung der TBDMS-Gruppen.



**Abb. 27:** Entschützung der 3'- und 5'-Positionen mit und ohne exocyclischer Funktionalisierung

Ein Problem stellte jedoch die Abspaltung der TBDMS-Gruppen (siehe Abb. 27) nach Benzoylierung der Aminofunktion dar. Weder mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) noch mit Triethylammoniumtrihydrofluorid (Et<sub>3</sub>N\*3HF) und Et<sub>3</sub>N ließ sich eine vollständige Abspaltung bewerkstelligen, so dass die gewünschten Verbindungen **84** und **86** nur in Ausbeuten von 23 bis 46% isoliert werden konnten. Während sich das Edukt bei der Reaktion mit TBAF auch nach Zugabe von weiteren Äquivalenten TBAF nicht vollständig umsetzte, zeigten sich bei der Deblockierung mit Et<sub>3</sub>N\*3HF und Et<sub>3</sub>N nach weiterer Zugabe bereits Zersetzungserscheinungen, die auf einen Bruch der glycosidischen Bindung hindeuteten, woraufhin die Reaktion beendet worden war. Interessanterweise konnte das  $N^6$ -Isobutyrylderivat des C8-*para*-

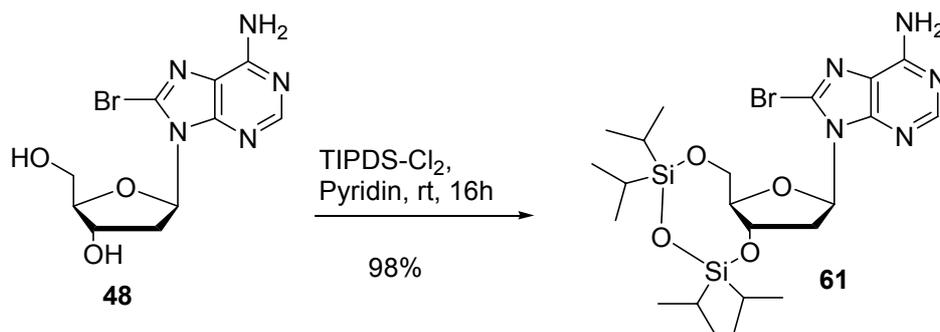
Anisidin-Addukts **59** in einer Ausbeute von 56% erhalten werden. Vergleicht man dies mit den Ergebnissen für die Desilylierung der Addukte mit freier Aminofunktion **51** und **52**, so wird der Einfluss der Aminoschutzgruppe auf die elektronische Struktur der C8-Addukte deutlich. Die Desilylierung gelang hier mit Ausbeuten von 96 bzw. 99% (Abb. 27). In einer später am  $N^6$ -Bz<sub>2</sub>-C8-Anilin-Addukt **60** durchgeführten Desilylierung mit Et<sub>3</sub>N\*3HF zeigte sich, dass sich der negative Effekt einer Benzoylgruppe durch die erschöpfende Benzoylierung der Aminofunktion ausgleichen lässt (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Verschiedene Desilylierungen

Edukt	$N^6$ -SG	Reagenz	Lösungsmittel	Dauer	Ausbeute
<b>54</b> (abp)	NHBz	Et <sub>3</sub> N*3HF, Et <sub>3</sub> N	THF	4 d	23%
<b>53</b> (anis)	NHBz	Et <sub>3</sub> N*3HF, Et <sub>3</sub> N	THF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	4 d	33%
<b>53</b> (anis)	NHBz	TBAF	THF	7 d	46%
<b>59</b> (anis)	NH <i>i</i> -Bu	Et <sub>3</sub> N*3HF, Et <sub>3</sub> N	THF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	3 d	56%
<b>52</b> (abp)	-	TBAF	THF	1 d	96%
<b>51</b> (anis)	-	TBAF	THF	1 d	99%
<b>60</b> (anil)	NBz <sub>2</sub>	Et <sub>3</sub> N*3HF	THF	1 d	94%

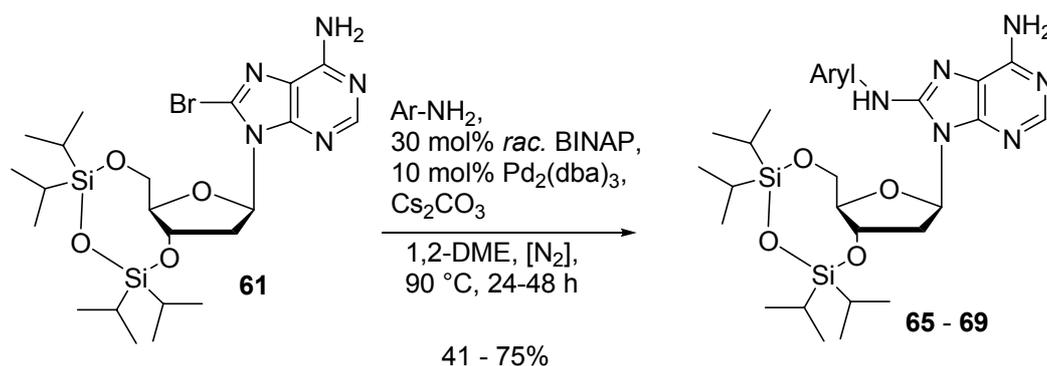
#### 4.1.3. TIPDS als neue 3',5'-O-Schutzgruppe

Um die Probleme zu umgehen, die bei der Entfernung der *tert*-Butyldimethylsilylgruppen aufgetreten sind, sollte Tetraisoproyldisiloxan (TIPDS) als bidentate cyclische Schutzgruppe für die 3',5'-Hydroxyfunktionen eingeführt werden.<sup>[61]</sup> Da in diesem Fall nicht mit einer Silylierung der Aminofunktion zu rechnen war, konnte das gewünschte Produkt in einer sehr guten Ausbeute von 98% erhalten werden (Abb. 28).



**Abb. 28:** Synthese von 3',5'-TIPDS-8-Br-dA **61**

Die anschließende Darstellung der C8-Addukte über die Buchwald-Hartwig-Reaktion mit den Grenzcarcinogenen Anilin **1**, *p*-Toluidin **62** und *p*-Anisidin **63**, dem mittelstarken Carcinogen 3,5-Dimethylanilin **64** und dem starken Carcinogen 4-Aminobiphenyl **4** lieferte in fast allen Fällen gute Ausbeuten im Bereich von 60 bis 80%. Die Ausnahme stellte hierbei das Anilin als zu kuppelndes Amin mit einer moderaten Ausbeute von 41% dar (Abb. 29). Überraschenderweise konnte diese Ausbeute bei der Verwendung von TBDMS als Schutzgruppe fast verdoppelt werden (siehe Tabelle 2).



**Abb. 29:** Synthese der Arylaminaddukte **65 - 69**

**Tabelle 2:** C8-Arylaminaddukte mit Ausbeuten

Arylamin	Produkt	Ausbeute
Anilin	<b>65</b>	41% (mit TBDMS 75%)
<i>p</i> -Toluidin	<b>66</b>	68%
<i>p</i> -Anisidin	<b>67</b>	75% (mit TBDMS 80%)
3,5-Dimethylanilin	<b>68</b>	73%
4-Aminobiphenyl	<b>69</b>	60%

#### 4.1.4. Optimierungsversuche der Kreuzkupplung

Im Vergleich dazu wurde die Kupplungsreaktion bei Verwendung von lediglich 3.3 mol% Katalysator und 10 mol% Ligand durchgeführt. Diese Methode lieferte im Falle der C8-Adenosin-Addukte gute Ergebnisse (vgl. Seite 13). Der Versuch, die Kupplung wie von **SCHOFFERS** beschrieben mit 3.3 mol% Katalysator und 10 mol% BINAP durchzuführen<sup>[47]</sup>, resultierte jedoch für das *p*-Anisidin-Addukt **65** in einer

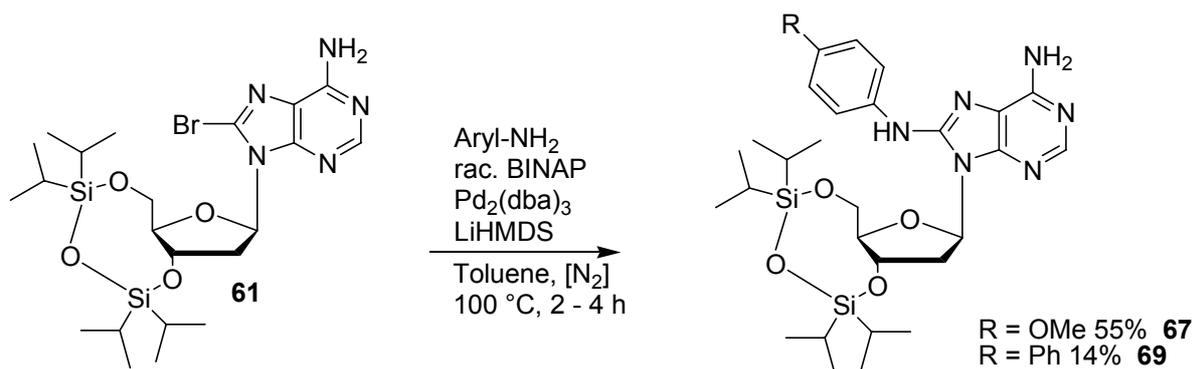
Verringerung der Ausbeute um fast 20% (Tabelle 3). Aus diesem Grund wurde an den auch für 2'-Desoxyguanosin bewährten Konzentrationen festgehalten.<sup>[50]</sup>

**Tabelle 3:** Abhängigkeit der Ausbeute von der Katalysatorkonzentration bei der Kupplung

Arylamin	mol% Katalysator	mol% BINAP	Ausbeute
<i>p</i> -Anisidin	10	30	75%
4-Aminobiphenyl	10	30	60%
<i>p</i> -Anisidin	3.3	10	51%

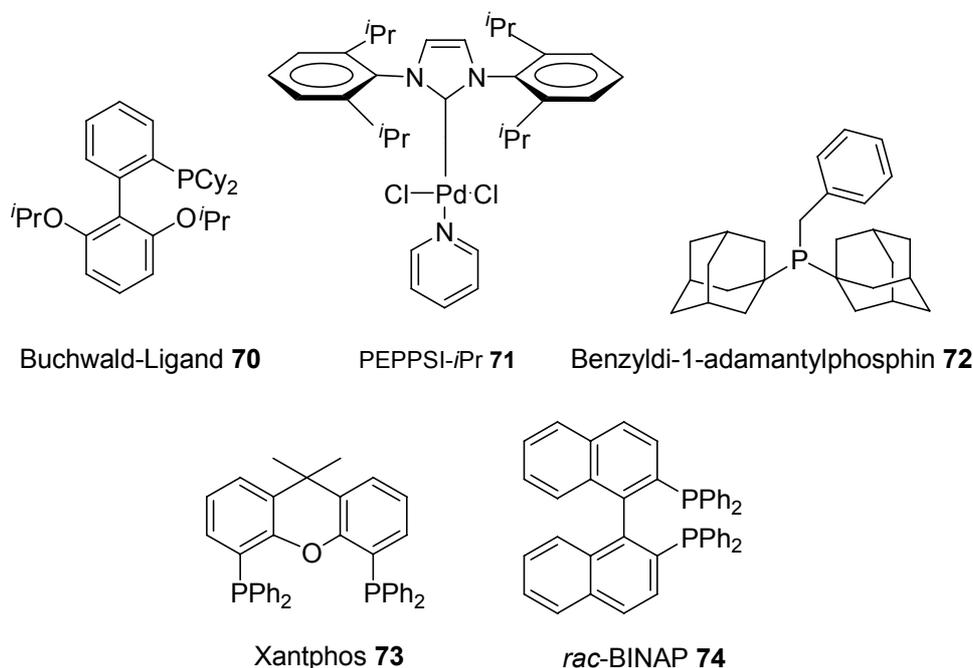
Eine literaturbekannte Methode zur Darstellung der C8-Arylamin-Addukte von 2'-Desoxyguanosin ist die Synthese von **RIZZO** (vgl. Seite 13).

Die Anwendung der Reaktionsbedingungen auf 2'-Desoxyadenosin, die **RIZZO** zur Darstellung der C8-dG-Addukte mit Lebensmittelcarcinogenen, wie dem heterocyclischen aromatischen Amin IQ **34**, verwendet hatte,<sup>[48]</sup> resultierten in einer erheblichen Verringerung der Reaktionszeit von ursprünglichen 24 bis 48 Stunden auf zwei bis vier Stunden, führten allerdings auch nur im Fall des C8-*p*-Anisidin-Adduktes **67** zu einer akzeptablen Ausbeute von 55%. Die Darstellung des 4-Aminobiphenyl-modifizierten Adduktes **69** gelang jedoch nur in einer Ausbeute von 14%, woraufhin diese Kupplungsvariante mit Lithiumhexamethyldisilazid als Base und Toluol als Lösungsmittel verworfen wurde (Abb. 30).



**Abb. 30:** Kupplung mit LiHMDS als Base nach **RIZZO**

Weitere Optimierungsversuche wurden parallel von Frau Dipl.-Chem. Zita Szombati unternommen, die im Rahmen ihrer Diplomarbeit fünf Liganden für die Darstellung der C8-Arylaminaddukte mit der Buchwald-Hartwig-Reaktion untersuchte (Abb. 31).



**Abb. 31:** Liganden für Buchwald-Hartwig Reaktion

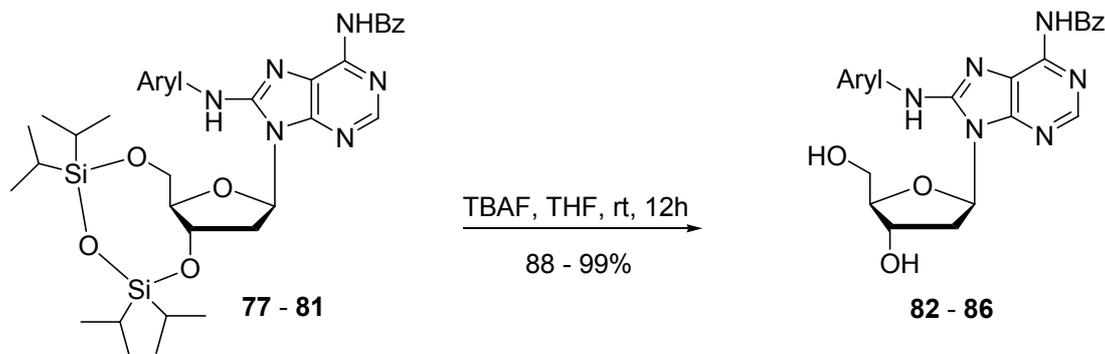
Während der Buchwald-Ligand **70** das gewünschte Produkt nur in moderaten Ausbeuten und in schlechter Reinheit zu bilden vermochte, wurde mit dem PEPPSI-*i*Pr-Liganden **71** ein undefiniertes Produktgemisch erhalten. Unter Verwendung des Benzyldi-1-adamantylphosphins **72** konnte gar keine Reaktion beobachtet werden. Zusammenfassend stellten sich Xantphos **73** und das bereits bewährte racemische BINAP **74** als geeignete Liganden für die Kupplung heraus, wobei eine Ausbeutesteigerung erst durch eine Vorreaktion des Katalysators Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> **75** mit dem Liganden erreicht werden konnte.<sup>[56]</sup>

**Tabelle 4:** Optimierung der Buchwald-Hartwig-Reaktion

Ligand	Arylamin	Dauer	Vorreaktion von Katalysator und Ligand	Ausbeute
<i>rac</i> BINAP	<i>p</i> -Anisidin	48 h	nein	75
<i>rac</i> BINAP	4-Aminobiphenyl	48 h	nein	60
<i>rac</i> BINAP	3,5-Dimethylanilin	48 h	nein	73
<i>rac</i> BINAP	3,5-Dimethylanilin	48 h	ja	92
Xantphos	3,5-Dimethylanilin	18 h	ja	92

#### 4.1.5. Synthese der C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramidite II

Nach erfolgter Funktionalisierung der Aminofunktion als Benzoyl-ester gelang die Entfernung der TIPDS-Schutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid in THF in sehr guten Ausbeuten von 88% (Arylamin = 3,5-dma) bis 99% (Arylamin = anis) (Abb. 32).



**Abb. 32:** Desilylierung der TIPDS-geschützten C8-Addukte

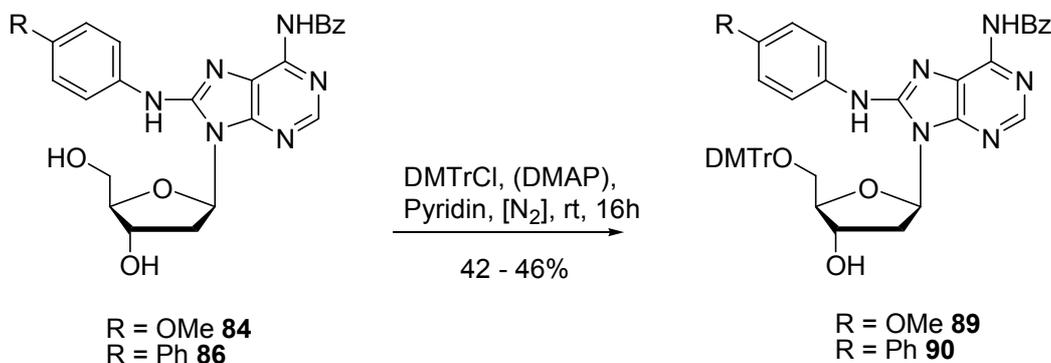
Somit konnte das Problem, welches bei der Entfernung der TBDMS-Gruppen entstanden war (Abb. 27), erfolgreich umgangen werden. Einzig das *p*-Toluidin-modifizierte C8-Addukt **83** konnte nicht isoliert werden.

**Tabelle 5:** Silylentschützung mit TBAF

Arylamin	Produkt	Ausbeute
Anilin	<b>82</b>	90%
<i>p</i> -Toluidin	<b>83</b>	kein Produkt
<i>p</i> -Anisidin	<b>84</b>	99%
3,5-Dimethylanilin	<b>85</b>	88%
4-Aminobiphenyl	<b>86</b>	96%

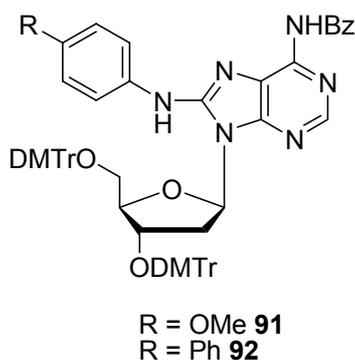
Am Beispiel einer später durchgeführten Desilylierung eines an den 3',5'-OH-Gruppen mit TBDMS funktionalisierten C8-Anilin-Adduktes **87** konnte durch eine Blockierung der exocyclischen Aminofunktion mit zwei Benzoylgruppen eine nahezu quantitative Ausbeute erreicht werden (vgl. Tabelle 1 auf Seite 27).

Wie eingangs erwähnt, wird für die DNA-Synthese eine orthogonale Schutzgruppenstrategie benötigt, so dass im nächsten Schritt die Einführung der säurelabilen DMTr-Gruppe in der 5'-OH-Position stattfinden sollte. Allerdings stellte die selektive Dimethoxytritylierung der 5'-Position eine Herausforderung dar.



**Abb. 33:** Dimethoxytritylierung der C8-Addukte **84** und **86**

Selbst bei äquimolarer Umsetzung des C8-Adduktes mit Dimethoxytritylchlorid in Pyridin (Abb. 33) konnte die Bildung eines Nebenproduktes beobachtet werden, obwohl ebenso dünnschichtchromatographisch noch deutliche Mengen an Edukt in der Reaktionslösung nachgewiesen werden konnten. Dieses Nebenprodukt ließ sich als das ebenfalls an der 3'-Hydroxylfunktion dimethoxytritylierte Addukt identifizieren (Abb. 34).

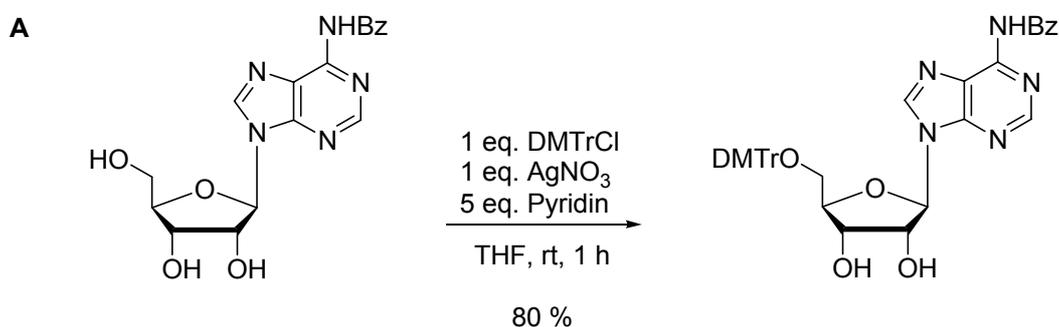


**Abb. 34:** Nebenprodukt der DMTr-Schätzung

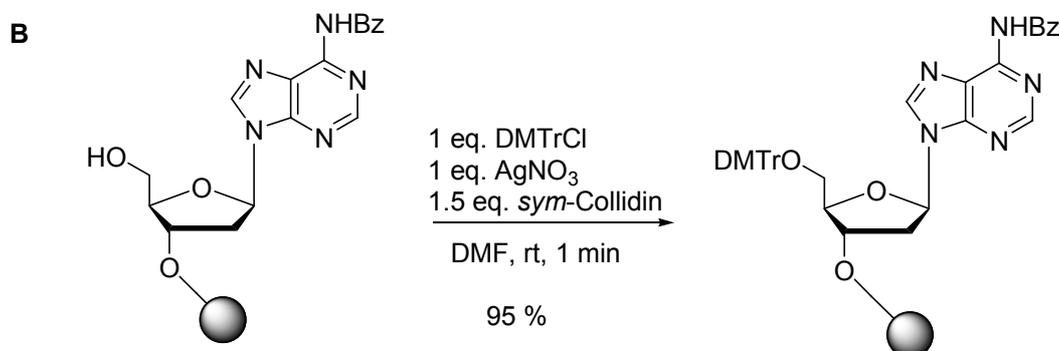
In einem Fall wurden 1.4 Äquivalente DMTrCl eingesetzt und es wurden nach säulenchromatographischer Reinigung 15% Edukt, 42% Produkt sowie 30% bis(dimethoxytrityliertes) Addukt isoliert. Durch die Verwendung von nur einem oder weniger als einem Äquivalent DMTrCl konnte zwar die Bildung des doppelt DMTr-geschützten Adduktes verringert werden, jedoch blieb die Ausbeute an dem

gewünschten Produkt nahezu gleich, da in diesem Fall deutlich mehr Startmaterial reisoliert werden konnte.

In der Literatur finden sich zwei Dimethoxytrytylierungen, bei denen zur Aktivierung des Dimethoxytrytylchlorids Silbernitrat eingesetzt wird. **OGILVIE**<sup>[62]</sup> verwendet in der von ihm beschriebenen Reaktion *N*<sup>6</sup>-Benzoyl-geschütztes *ribo*-Adenosin, äquimolare Mengen an DMTrCl und Silbernitrat sowie Pyridin als Base. Die in Tetrahydrofuran durchgeführte Reaktion liefert das lediglich an der 5'-Position dimethoxytrytylierte Nucleosid in einer guten Ausbeute von 80% (**A**; Abb. 35).

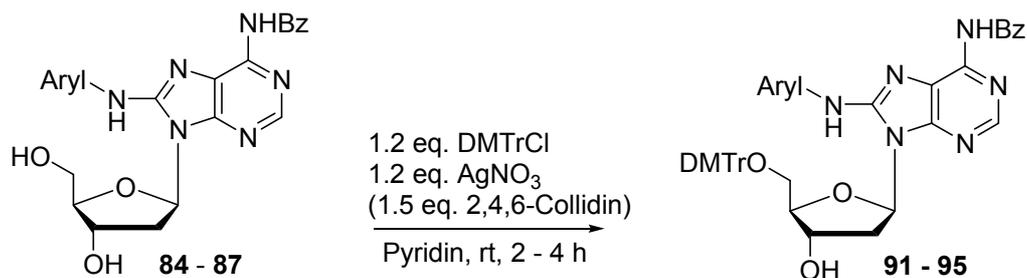


**Abb. 35:** Dimethoxytrytylierungsreaktionen von **OGILVIE**<sup>[62]</sup>



**Abb. 36:** Dimethoxytrytylierungsreaktionen von **BEAUCAGE**<sup>[63]</sup>

**BEAUCAGE** benutzte die Aktivierung mit Silbernitrat um an die feste Phase gebundenes 2'-Desoxyadenosin zu dimethoxytrytylieren. Dazu verwendete er ebenfalls äquimolare Mengen an DMTrCl und AgNO<sub>3</sub> in Dimethylformamid mit *sym*-Collidin als Base (**B**, Abb. 36). Nach einer extrem kurzen Reaktionszeit von einer Minute wurde die gewünschte Verbindung in einer Ausbeute von 95% erhalten. Der Effekt von Silbernitrat auf die Reaktion beruht zum einem auf der Ausbildung eines Dimethoxytrytyl-Nitrat-Komplexes und zum anderen auf dem Ausfällen des Chlorids als Silberchlorid.<sup>[63]</sup>



**Abb. 37:** Dimethoxytritylierung mit  $\text{AgNO}_3$  als Aktivator

Erfreulicherweise zeigte die Verwendung von Silbernitrat auch im Fall der C8-Addukte eine deutliche Verbesserung. Durch die Umsetzung des 3',5'-ungeschützten C8-Adduktes **84** mit 1.2 Äquivalenten DMTrCl und  $\text{AgNO}_3$  in Pyridin wurde das gewünschte Produkt **91** in einer sehr viel kürzeren Reaktionszeit von 4 Stunden und in einer guten Ausbeute von 73% erhalten. Die Verwendung von *sym*-Collidin erwies sich als unnötig, da Pyridin als basisches Lösungsmittel ausreichend war. Die Ausbeuten blieben auch ohne Verwendung von *sym*-Collidin konstant.

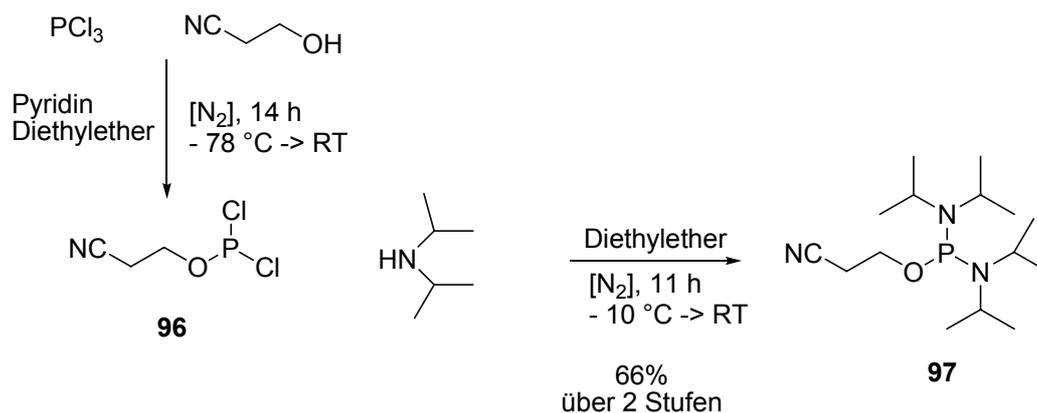
**Tabelle 6:** Ausbeute bei Dimethoxytritylierungen mit  $\text{AgNO}_3$

Arylamin	Produkt	Ausbeute
Anilin	<b>93</b>	36% (mit NBz <sub>2</sub> <b>95</b> 72%)
<i>p</i> -Anisidin	<b>91</b>	73%
3,5-Dimethylanilin	<b>94</b>	69%
4-Aminobiphenyl	<b>92</b>	82%

Als problematisch erwies sich jedoch die Umsetzung des 8-*N*-(Anilin)-2'-dA-Adduktes **83**. Hier lieferten die optimierten Reaktionsbedingungen nur eine sehr moderate Ausbeute von 36%. Die Umstellung der Synthesestrategie auf eine erschöpfende Benzoylierung der Aminofunktion steigerte die Ausbeute auf 77%.

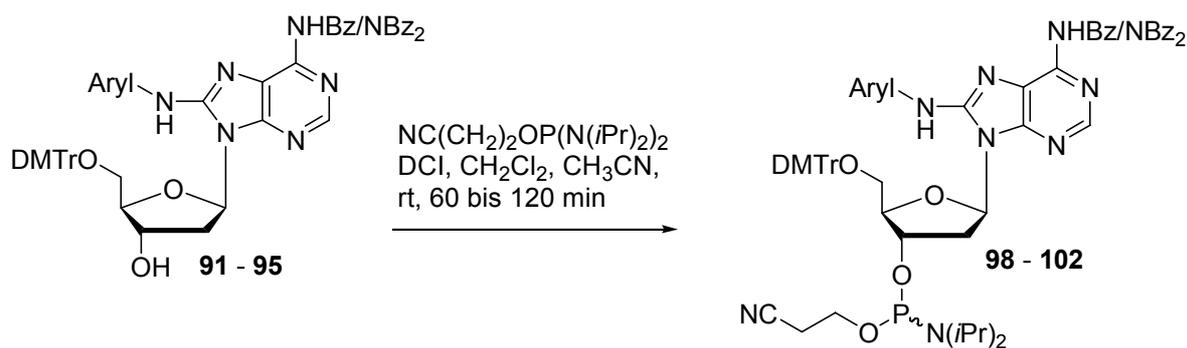
Die DMTr-geschützten C8-Addukte der anderen Arylamine ließen sich auf dem optimierten Weg und mit nur einer Benzoylschutzgruppe in guten Ausbeuten darstellen (Abb. 37, S. 34). Die gemachten Beobachtungen bezüglich der 5'-O-Dimethoxytritylierung decken sich nicht mit den für die C8-dG-Arylaminaddukte gemachten Beobachtungen, wo es nicht zu Selektivitätsproblemen bei der Dimethoxytritylierung gekommen war. Dies ist durch die generell unterschiedliche elektronische Struktur der beiden Nucleoside erklärbar, die auch für die sehr unterschiedlichen Reaktivitäten der exocyclischen Aminofunktionen verantwortlich ist.

Für die Synthese der zugehörigen 3'-O-Phosphoramidite wurde zunächst das Phosphorylierungsreagenz 2-O-Cyanoethyl-*N,N,N',N'*-tetraisopropylphosphordiamidit **97** in einer zweistufigen Synthese aus Phosphorylchlorid und  $\beta$ -Hydroxypropionitril über das 2-Cyanoethylphosphordichloridit **96**, welches mit zwei Äquivalenten Diisopropylamin in Diethylether umgesetzt wurde, in einer guten Ausbeute und Reinheit dargestellt (Abb. 38).



**Abb. 38:** Synthese von 2-O-Cyanoethyl-*N,N,N',N'*-tetraisopropylphosphordiamidit **97**

Die Darstellung der C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramidite von 2'-dA erfolgte über die Reaktion der 3'-OH-Funktion der Arylaminaddukte und 2-O-Cyanoethyl-*N,N,N',N'*-tetraisopropylphosphordiamidit **97** unter Aktivierung mit 4,5-Dicyanoimidazol in Dichlormethan und Acetonitril (Abb. 39).



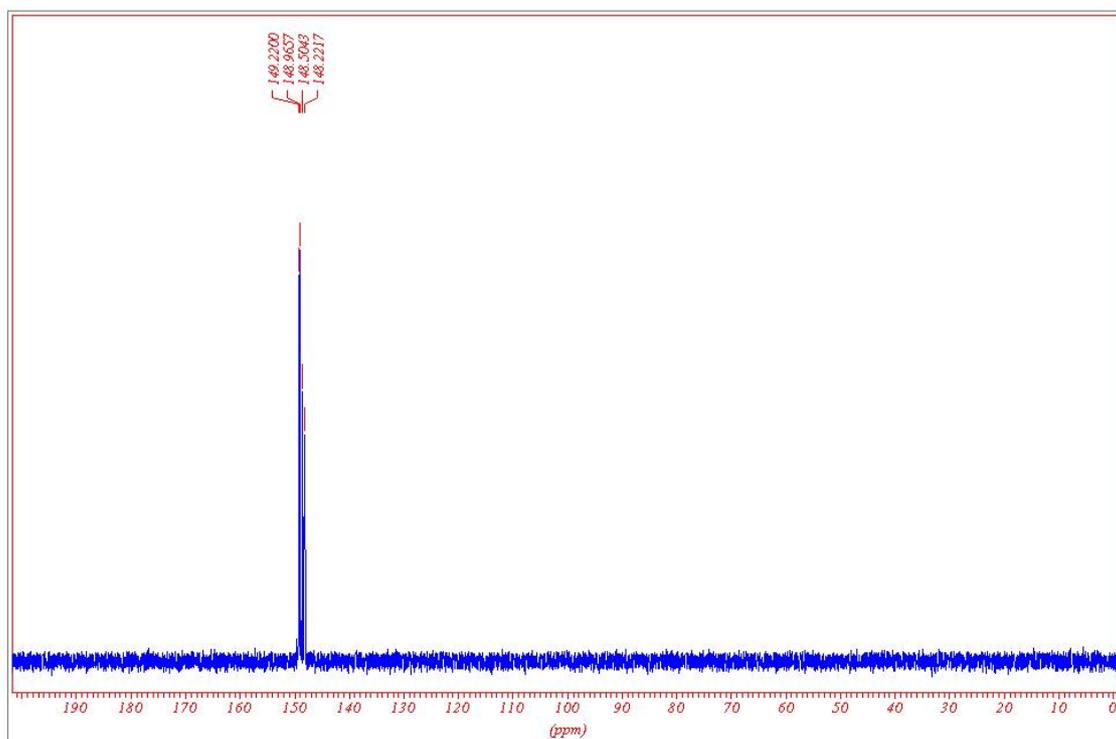
**Abb. 39:** Darstellung der C8-modifizierten Phosphoramidite **98 - 102**

Auch hier konnte durch die erschöpfende Benzoylierung der exocyclischen Aminofunktion das C8-Anilin-modifizierte Phosphoramidit in einer guten Ausbeute von 69% erhalten werden (vgl. Tabelle 7, S. 36).

**Tabelle 7:** C8-Arylamin-modifizierte Phosphoramidite **98** - **102**

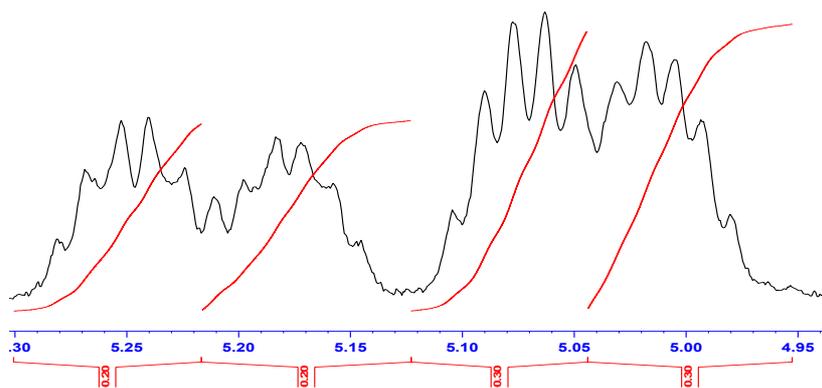
Arylamin	Produkt	Ausbeute
Anilin	<b>98</b>	23% (mit NBz <sub>2</sub> <b>102</b> 69%)
<i>p</i> -Anisidin	<b>99</b>	88% (mit NHBz)
3,5-Dimethylanilin	<b>100</b>	76% (mit NHBz)
4-Aminobiphenyl	<b>101</b>	82% (mit NHBz)

Als problematisch erwies sich hier die Reinigung der Phosphoramidite, da sie nicht wie im Fall der C8-dG-Addukte über neutrales Aluminiumoxid chromatographiert werden konnten. Es war auf diesem Wege nicht möglich das entstandene H-Phosphonat vom Produkt abzutrennen. Deshalb wurde die säulen-chromatographische Trennung an Kieselgel durchgeführt, dem aufgrund der Säureempfindlichkeit der Phosphoramidite zwei Prozent Triethylamin zugesetzt wurden. Von Nachteil war hierbei das Auftreten von Triethylammoniumsalzen, die während der Trennung entstanden sind und gleichzeitig mit dem Produkt eluierten. Das Problem konnte jedoch erfolgreich durch nachträgliches wässriges Ausschütteln behoben werden, so dass die Phosphoramidite in sehr hoher Reinheit isoliert werden konnten (Abb. 40).



**Abb. 40:** <sup>31</sup>P-NMR von Phosphoramidit **99**

Durch die Verwendung der Benzoylschutzgruppe für die exocyclische Aminofunktion des Adenins kommt es neben der Entstehung von Diastereomeren durch das Stereozentrum am Phosphor auch zur Bildung eines Rotamerengemisches. Während die Diastereomere nahezu im Verhältnis 1:1 gebildet werden, entstehen die Rotamere im Verhältnis von 3:2 (Abb. 40).



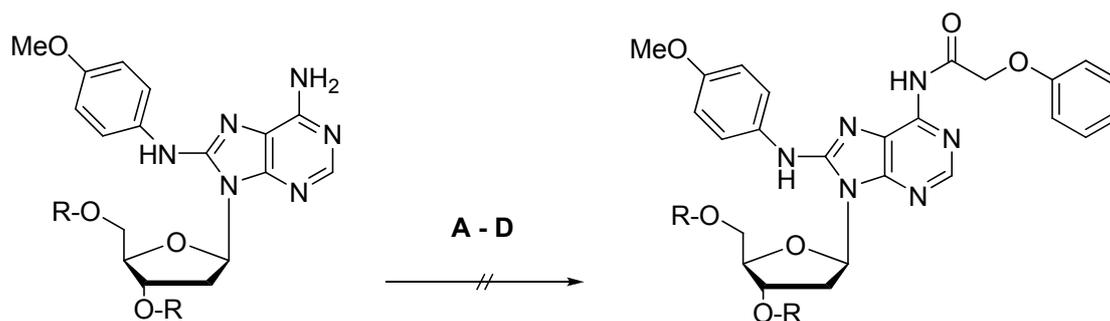
**Abb. 41:** 3'-Protonen des Phosphoramidits **99**

Besonders gut kann man das Auftreten der Rotamere und Diastereomere am 3'-Proton im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum sehen, in dem sich 4 Signale mit den Intensitäten 2:2:3:3 finden lassen (Abb. 41).

#### 4.1.6. Neue Schutzgruppen für die Oligonucleotidsynthese

Da die Abspaltung der Schutzgruppen sowie die Abspaltung vom Träger nach der Oligonucleotidsynthese in konzentrierter Ammoniaklösung bei 55 °C mehrere Stunden dauert, kann es zu Ausbeuteverlusten durch Fragmentierung kommen. Zudem sind Arylaminmodifikationen basenlabil. Dieses macht es zusätzlich wünschenswert, die Dauer und Temperatur der Entschützung möglichst kurz und niedrig beziehungsweise die Bedingungen möglichst mild zu halten.

Eine Möglichkeit besteht in der Anwendung der "ultramild" Entschützungsbedingungen, die eine 0.5 molare methanolische Kaliumcarbonatlösung als Abspaltreagenz vorsehen. Die Entschützung findet über einen Zeitraum von 4 bis 12 Stunden bei Raumtemperatur statt. Um die "ultramild"-Bedingungen anwenden zu können, muss die Schutzgruppenstrategie dahingehend geändert werden. Cytosin würde in diesem Fall mit Acetyl ( $\text{C}^{\text{Ac}}$ ), Guanin mit Isopropylphenoxyacetyl ( $\text{G}^{\text{IPrPac}}$ ) und Adenin mit Phenoxyacetyl ( $\text{A}^{\text{Pac}}$ ) geschützt.



**Abb. 42:** Versuch der Einführung einer  $N^6$ -Phenoxyacetylschutzgruppe

**Tabelle 8:** Varianten zur Pac-Schutzung

Varinate	R	Reaktionsbedingungen	Anmerkung
<b>A</b>	H	1.) TMS-Cl, 2.) PacCl, 3.) Py*HF, Pyridin	
<b>B</b>	TIPDS	Pac <sub>2</sub> O, NaOAc, Pyridin, 5h, 80 °C	nur Edukt
<b>C</b>	TIPDS	PacCl, 1,2,4-Triazol, Pyridin, Acetonitril, 6h, rt → reflux	Depurinierung bei Chromatographie
<b>D</b>	TIPDS	PacOH, Carbonyldiimidazol, Pyridin, 1d, 80 °C <sup>[60]</sup>	

Wie aus Abb. 42 ersichtlich, konnte die Pac-Funktionalisierung der exocyclischen Aminofunktion des C8-dA-p-Anisidin-Arylaminadduktes nicht realisiert werden. Die Variante A, eine "transient protection"-Methode, bei der das Nucleosid in situ an 3',5'-OH mit Trimethylsilylchlorid geschützt, dann mit Phenoxyacetylchlorid an der Aminofunktion funktionalisiert und die TMS-Gruppen anschließend mit Pyridin\*HF wieder deblockiert werden, führte nicht zum gewünschten Produkt.<sup>[64]</sup> Eine analoge Umsetzung mit C8-Addukten des 2'-dG führte ebenfalls nicht zum Erfolg, daher wurde diese Vorgehensweise der "transient protection" nicht weiter verfolgt, sondern mit bereits 3',5'-TIPDS geschützten Addukten weitergearbeitet. Leider konnte das gewünschte Phenoxyacetyl-funktionalisierte Produkt auch durch die Umsetzung mit Phenoxyacetanhydrid in Gegenwart von Natriumacetat nicht erhalten werden. Nach der Aufarbeitung konnte nur das Edukt isoliert werden.<sup>[65]</sup>

Basierend auf den Arbeiten von **HUNZIKER** sollte die Pac-Schutzgruppe mittels PacCl im basischen Milieu bei 90 °C eingeführt werden.<sup>[66]</sup> Doch auch auf diesem Syntheseweg konnte kein Produkt isoliert werden. Der vierte Versuch wurde in Gegenwart von Carbonyldiimidazol mit Phenoxyessigsäure durchgeführt, doch nach einer Reaktionsdauer von 1 d konnte kein Produkt isoliert werden (Tabelle 8).

Ein weiterer Ansatz, die Benzoylschutzgruppe durch eine basenlabilere Schutzgruppe zu ersetzen, bestand in der Einbringung der Dimethylformamidin-Schutzgruppe. Zu den Vorteilen dieser Schutzgruppe zählen neben der leichteren Abspaltbarkeit im basischen Milieu die Substitution beider Aminoprotonen und die selektive Blockierung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe.<sup>[67]</sup> Die Umsetzung des komplett entschützten C8-*p*-Anisidin-Adduktes **57** mit Dimethylformamidimethylacetal lieferte die gewünschte Verbindung **103** in 90% Ausbeute. Nach der DMTr-Schützung erfolgte die Umwandlung in das 3'-O-Phosphoramidit und lieferte das Phosphoramidit **104** in einer Ausbeute von 60% (Abb. 43). Diese ist jedoch mit Einschränkungen zu betrachten, da sich das Phosphoramidit als instabil erwies und sich bereits bei der säulenchromatographischen Trennung zum Teil zersetzte, so dass sich die Dimethylformamidin-Gruppe als ungeeignete Schutzgruppe für 2'-dA in der Oligonucleotidsynthese herausgestellt hat.

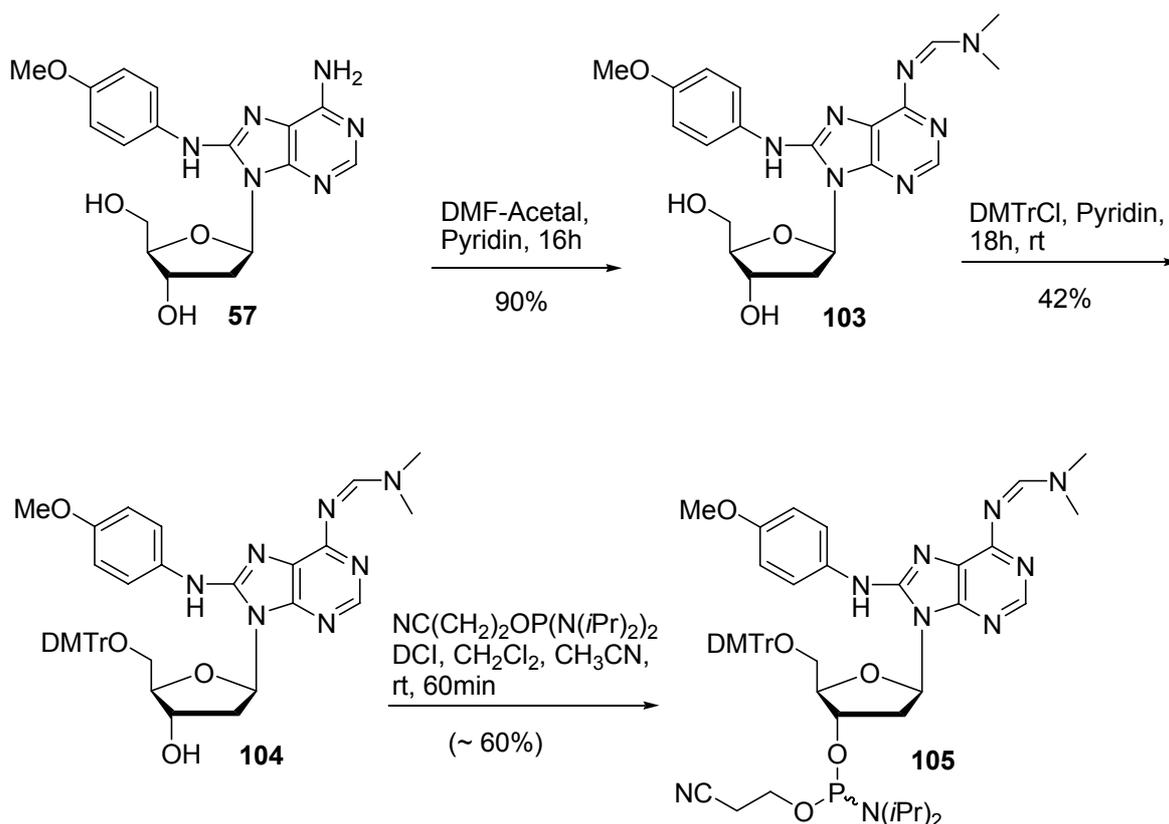
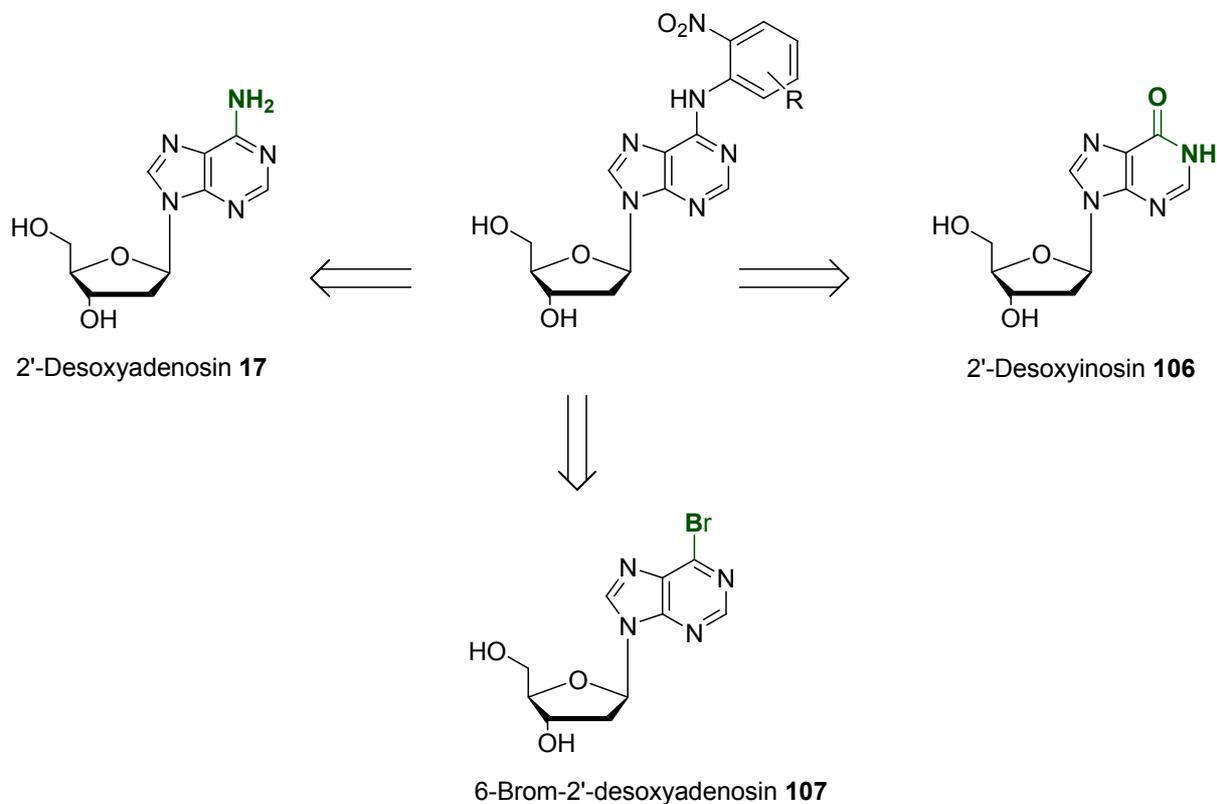


Abb. 43: Synthese eines  $N^6$ -dmf-geschütztem Phosphoramidits **105**

## 4.2. Synthese $N^6$ -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite

### 4.2.1. Synthesestrategien zur Darstellung der $N^6$ -Addukte

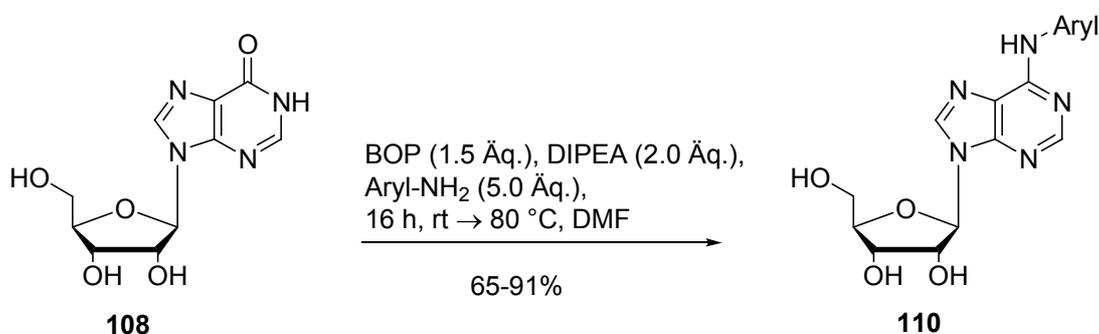


**Abb. 44:** Synthesestrategien zu  $N^6$ -Addukten

Zur Darstellung von  $N^6$ -Arylamin-modifizierten 2'-Desoxyadenosinderivate standen potentiell drei unterschiedliche Methoden zur Auswahl. Ausgehend von 6-Brom-2'-desoxyadenosin **107** und 2'-Desoxyadenosin **17** könnten über eine palladiumkatalysierte C-N-Verknüpfung die gewünschten Addukte erhalten werden. Eine metallfreie Alternative könnte der Weg über das 2'-Desoxyinosin **106** sein, wo unter Peptidkupplungsbedingungen in einer Benzotriazol-aktivierten Reaktion das  $N^6$ -Arylamin-Addukt entsteht.

#### 4.2.2. Synthese von $N^6$ -Arylamin-Addukten durch Kupplung mit PyBOP

Das Kupplungsreagenz PyBOP (Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat) ist ein Standardreagenz in der Peptidchemie. Im Jahr 2005 veröffentlichten **WAN et al.** die Synthese von  $N^6$ -Aryl- und Alkyl-Addukten von Adenosin und 2'-Desoxyadenosin, die sie durch die Reaktion von Inosin **108** bzw. 2'-Desoxyinosin **106** mit DIPEA, PyBOP und Alkyl- und Arylaminen erhalten konnten. Selbst bei der Reaktion eines ungeschützten Inosins **108** mit diversen Arylaminen, wie z. B. Anilin, *p*-Toluidin und 2-Aminofluoren, konnten sie die  $N^6$ -Aryl-Adenosinderivate in Ausbeuten von bis zu 91% erhalten (s. Abb. 45).<sup>[68]</sup>



**Abb. 45:** Synthese von **WAN** et al.

Diese Reaktion könnte auch zur Darstellung der *in vivo* gefundenen  $N^6$ -Addukte von 2'-Desoxyadenosin dienen.<sup>[LIT]</sup> Diese tragen im Unterschied zu den von **WAN et al.** hergestellten  $N^6$ -(Desoxy)-adenosinderivaten am Aromaten in der *ortho*-Position zur verknüpfenden Aminogruppe eine  $\text{NH}_2$ -Gruppe (s. Abb. 8, S. 10), die während der Synthese als Nitrogruppe vorliegt.

Da 2'-Desoxyinosin relativ teuer ist, wurde es aus 2'-Desoxyadenosin **17** über eine enzymatische Umsetzung mit Adenosindesaminase gewonnen.<sup>[69]</sup> Diese Reaktion lieferte mit einfachsten Reaktionsbedingungen, in Wasser und bei Raumtemperatur, eine quantitative Umsetzung zum 2'-Desoxyinosin **106**, welches in einem weiteren Schritt mit einer TIPDS-Schutzgruppe am Zucker versehen wurde (siehe Abb. 46, S. 42).

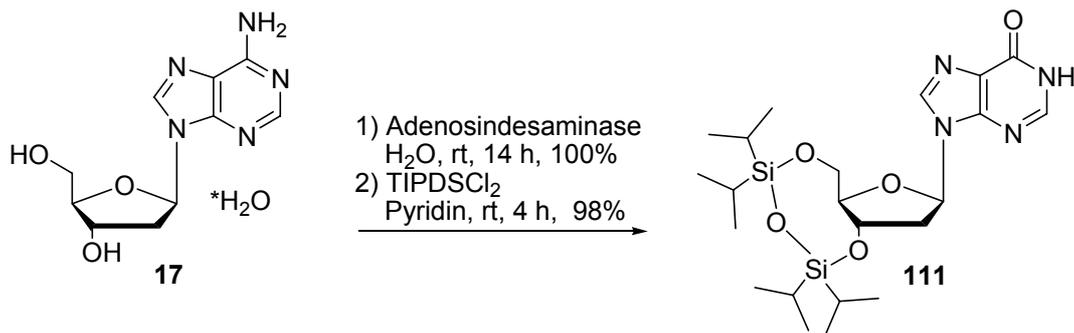


Abb. 46: Synthese von TIPDS geschütztem dl **111**

Gedacht war nun die Umsetzung des geschützten dl **111** mit den entsprechenden *ortho*-Nitroarylaminen. Im Gegensatz zu der von **WAN et al.**<sup>[70]</sup> beschriebenen Synthese sollte jedoch PyBOP anstelle von BOP zum Einsatz kommen, da hier aufgrund der Verwendung einer anderen Abgangsgruppe kein carcinogenes HMPA freigesetzt wird.

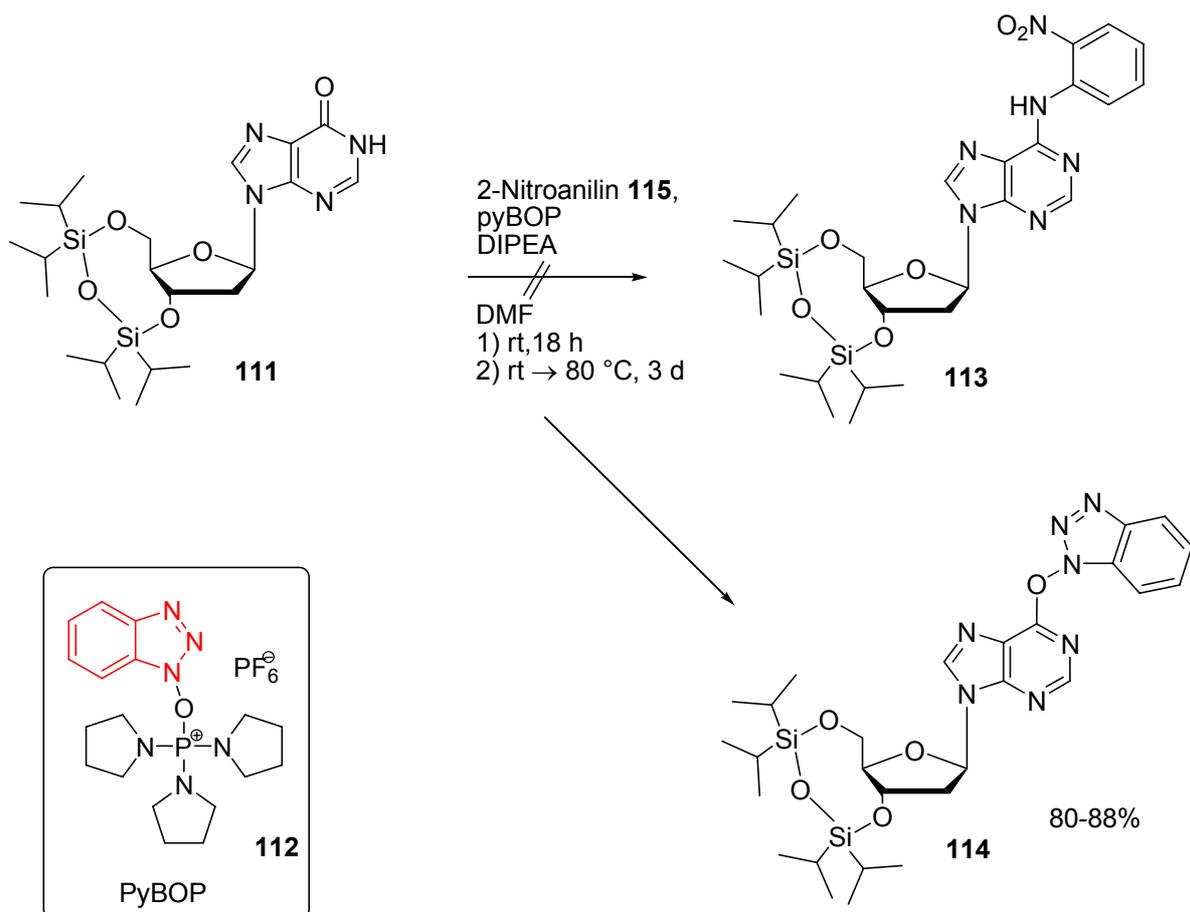


Abb. 47: Versuch der Synthese des  $N^6$ -Anilin-Addukts von 2'-dA **113**

Die Umsetzung von 3',5'-O-TIPDS-dl **111** mit *o*-Nitroanilin, PyBOP **112** und DIPEA in DMF sah zunächst nach Auswertung der Protonen-NMRs sehr vielversprechend aus. Nach weiterführender analytischer Auswertung stellte sich das Produkt jedoch als die

bei der Reaktion zunächst entstehende  $O^6$ -Benzotriazol-Zwischenstufe heraus, die im  $^1\text{H-NMR}$  ein relativ ähnliches Aufspaltungsmuster zeigt. Auch erneut durchgeführte Umsetzungen, in denen die Temperatur auf  $80\text{ }^\circ\text{C}$  und die Reaktionsdauer auf drei Tage erhöht wurde, lieferten nur die stabile Zwischenverbindung **114**, aber immerhin in guten Ausbeuten bis zu 88%. Die direkte Umsetzung der Zwischenstufe **114** mit 2-Nitroanilin **115** führte ebenfalls nicht zum gewünschten Produkt **113**.

### Synthese der Nitroarylamine

Da bis auf das *ortho*-Nitroanilin weitere benötigte Nitroarylamine relativ teuer oder gar nicht kommerziell erhältlich waren, wurden diese aus günstigen Vorstufen synthetisiert. Aus 5-Chlor-2-nitroanilin **116** konnten erfreulicherweise zwei der benötigten *ortho*-Nitroarylamine erhalten werden. 5-Methoxy-2-nitroanilin **117** wurde durch die Reaktion mit Natrium und Methanol dargestellt und über eine Suzuki-Kupplung mit Phenylboronsäure konnte das 3-Amino-4-nitrobiphenyl **118** synthetisiert werden (Abb. 48).

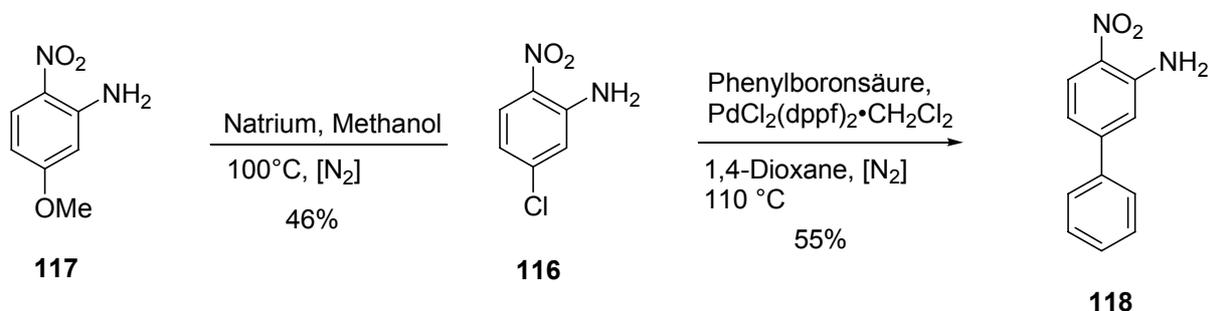
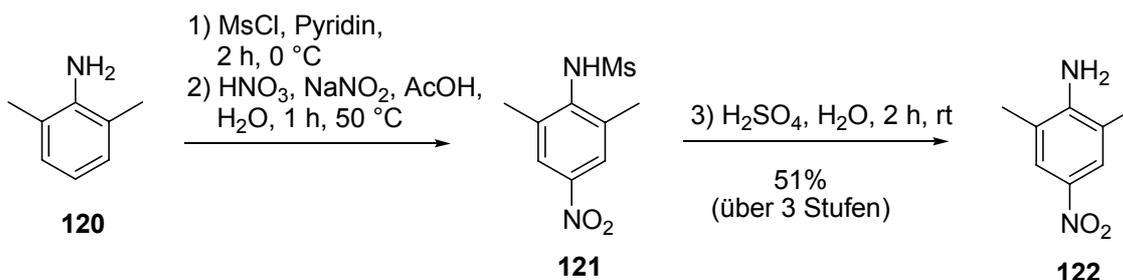


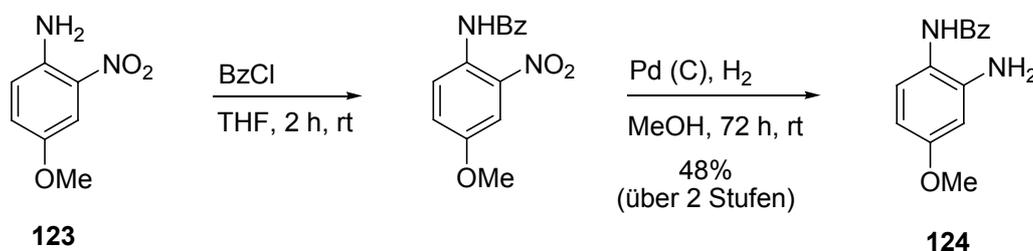
Abb. 48: Synthese der *ortho*- $\text{NO}_2$ -Arylamine **117**<sup>[71]</sup> und **118**<sup>[72]</sup>

2,6-Dimethyl-4-nitroanilin **122**, welches die Nitrofunktion in der *para*-Position trägt, konnte durch eine simple Nitrierung mit anschließender Abspaltung der für die Nitrierung verwendeten Mesylschutzgruppe der Aminofunktion in einer Gesamtausbeute von 51% erhalten werden (Abb. 49).<sup>[73]</sup>



**Abb. 49:** Nitrierung von 2,6-Dimethylanilin **120**

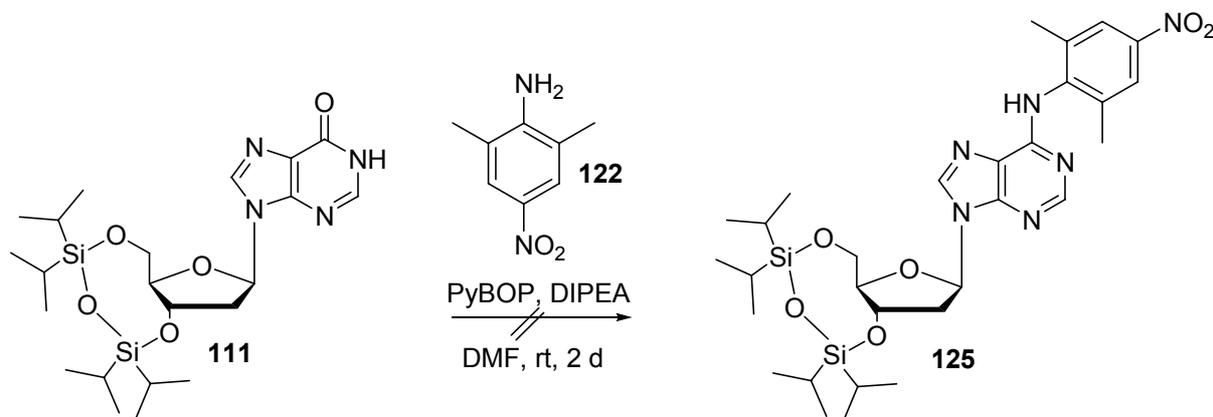
Um den eventuellen Einfluss der Nitrogruppe auf die Kupplung zu untersuchen, wurde ein Amin synthetisiert, das anstelle der Nitrofunktion eine benzoylgeschützte Aminofunktion besitzt. Hierzu wurde 4-Methoxy-2-nitroanilin **123** in einem ersten Schritt mit Benzoylchlorid umgesetzt und in einem zweiten Schritt die Nitrofunktion mit Palladium auf Kohle hydrogenolytisch reduziert (siehe Abb. 50).



**Abb. 50:** Synthese des Bz-geschützten Anilinderivats **124**

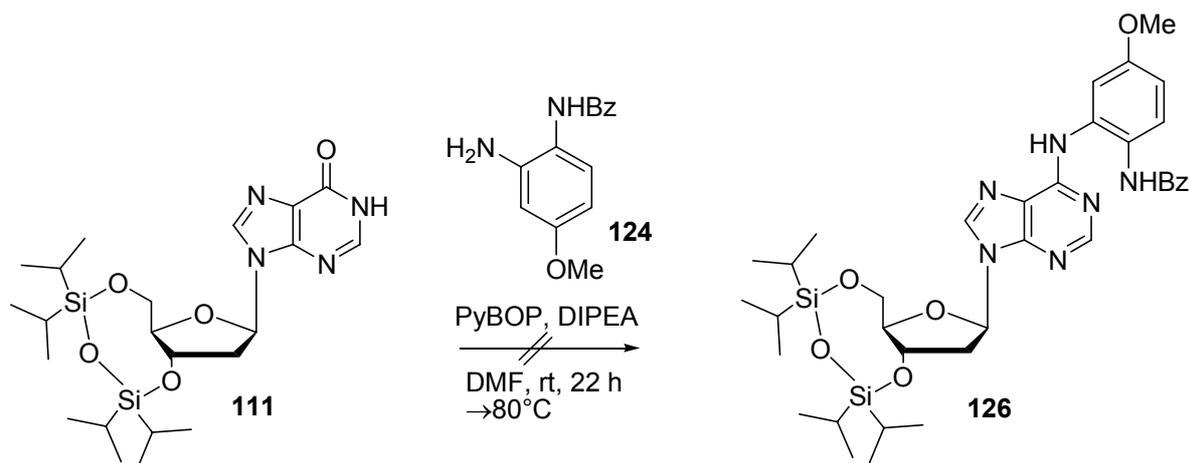
Die Nitrogruppe, welche sich in der *ortho*-Position zur Aminofunktion befindetet, hatte möglicherweise einen großen Einfluss auf das Misslingen der ersten benzotriazolaktivierten Kupplung mit 2-Nitroanilin **115** (siehe Abb. 47, Seite 42). Zum einen wirkt die Nitrogruppe stark desaktivierend auf das gesamte aromatische System, zum anderen könnte auch ihr relativ großer sterischer Anspruch die Reaktion verhindern. Um dies genauer zu untersuchen, wurde diese Kupplungsreaktion mit strukturell und elektronisch unterschiedlichen Arylaminen als Nucleophile durchgeführt.

Zunächst wurde der Einfluss der Nitrofunktion in *ortho*-Position untersucht, indem 2,6-Dimethyl-4-nitroanilin **122** als Nucleophil eingesetzt wurde (Abb. 51, S. 45).



**Abb. 51:** Versuch der Synthese von  $N^6$ -(2,6-Dimethyl-4-nitrophenyl)-3',5'-TIPDS-dA **125**

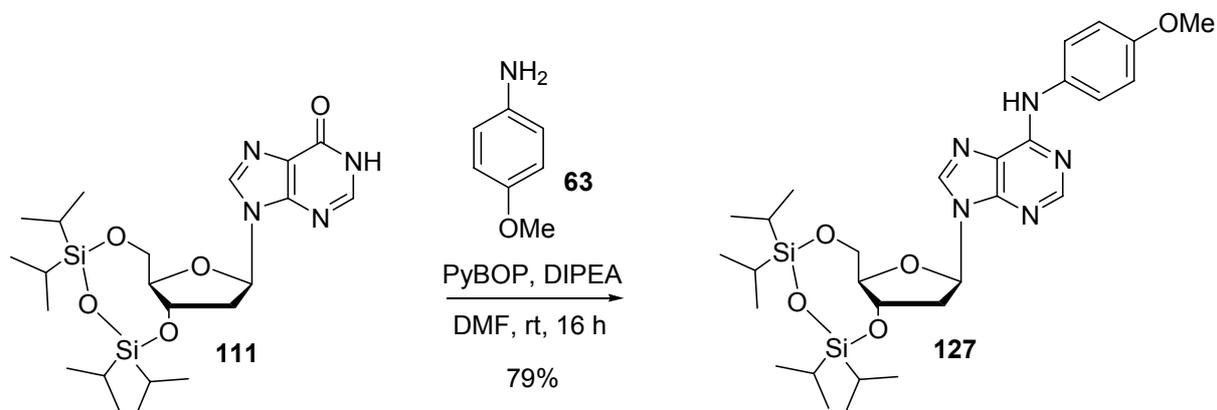
Wie in Abb. 51 zu sehen, konnte auch in diesem Fall nach zweitägiger Reaktionsdauer nur die  $O^6$ -Benzotriazol-Zwischenstufe **114** isoliert werden. Vermutlich ist der deaktivierende Einfluss der Nitrogruppe auf die Aminofunktion so stark, dass die Nucleophilie nicht mehr ausreicht, um das Benzotriazol zu substituieren. Als nächstes sollte aus diesem Grund ein Amin ohne Nitrofunktion eingesetzt werden. Im *N*-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-benzamid **124** ist die Aminogruppe, die nicht reagieren soll, als Benzamid geschützt und nicht zur Nitrogruppe oxidiert (siehe Abb. 52).



**Abb. 52:** Versuch der Kupplung mit einem Bz-funktionalisiertem Amin **124**

Auch nach einer Reaktionszeit von einem Tag und anschließender Erwärmung auf 80 °C konnte keine Umsetzung zum  $N^6$ -Addukt beobachtet werden. Um jedoch die generelle Anwendbarkeit der Methode zu prüfen, wurde die Reaktion unter genau

denselben Bedingungen mit *para*-Anisidin **63** als Amin durchgeführt (siehe Abb. 53, S. 46).

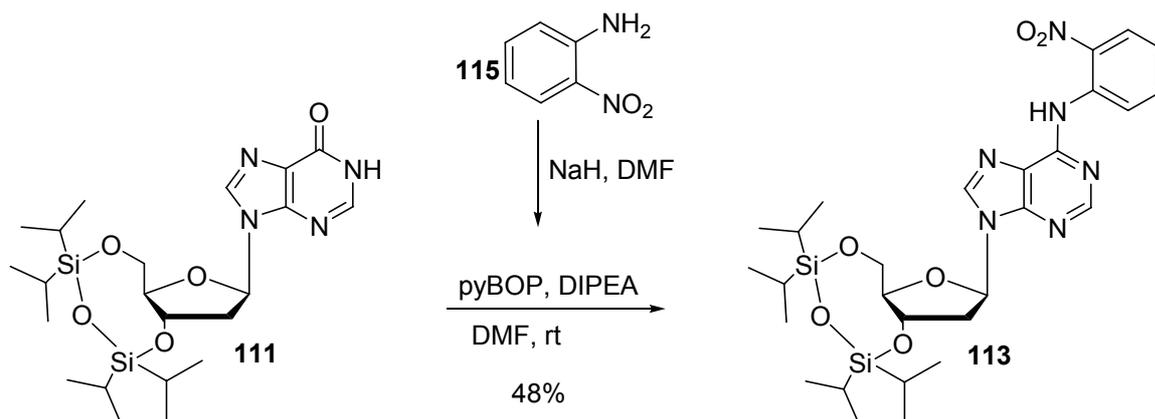


**Abb. 53:** Synthese von *N*<sup>6</sup>-Anisidin-dA **127**

Das gewünschte Produkt, das *N*<sup>6</sup>-(4-Methoxyphenyl)-Addukt von dA **127**, konnte in einer sehr zufriedenstellenden Ausbeute von 79% isoliert werden. Eine Erwärmung der Reaktion sowie eine Ausweitung der Reaktionszeit waren hierbei nicht nötig.

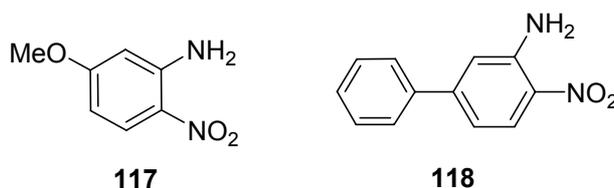
Aufgrund der bisher erhaltenen Ergebnisse ist nun davon auszugehen, dass sowohl eine sterische, sowie eine elektronische Hinderung des Nucleophils die BOP-Kupplungsreaktion mit den Arylaminen **122** und **124** unter den normalen Bedingungen verhindern.

Um diese Reaktion doch noch der Darstellung der *N*<sup>6</sup>-*ortho*-Nitroaryladdukte von 2'-dA zugänglich zu machen, könnte ein Weg sein, die Nucleophilie der Nitroarylamine zu erhöhen. Dies könnte zum einen durch eine Deprotonierung der Aminofunktion geschehen, bevor dieses mit dem benzotriazolaktivierten Nucleosid zur Reaktion gebracht wird. In Abb. 54 ist die erste erfolgreiche Kupplung von *o*-Nitroanilin **115** mit TIPDS-dI **111** über diese Methode dargestellt. Zur Aktivierung des Nitroanilins wurde dieses vorher mit Natriumhydrid deprotoniert und erst zur Reaktion gegeben, nachdem sich die Benzotriazolzwischenstufe **114** gebildet hatte. Das gewünschte *N*<sup>6</sup>-Addukt **113** konnte in einer Ausbeute von 48% erhalten werden.



**Abb. 54:** Erfolgreiche Darstellung von  $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-TIPDS-dA **113**

Der Versuch der Ausweitung des Arylaminspektrums um 5-Methoxy-2-nitroanilin **117** und 3-Amino-4-nitrophenyl **118** erbrachte hingegen nicht den gewünschten Erfolg.

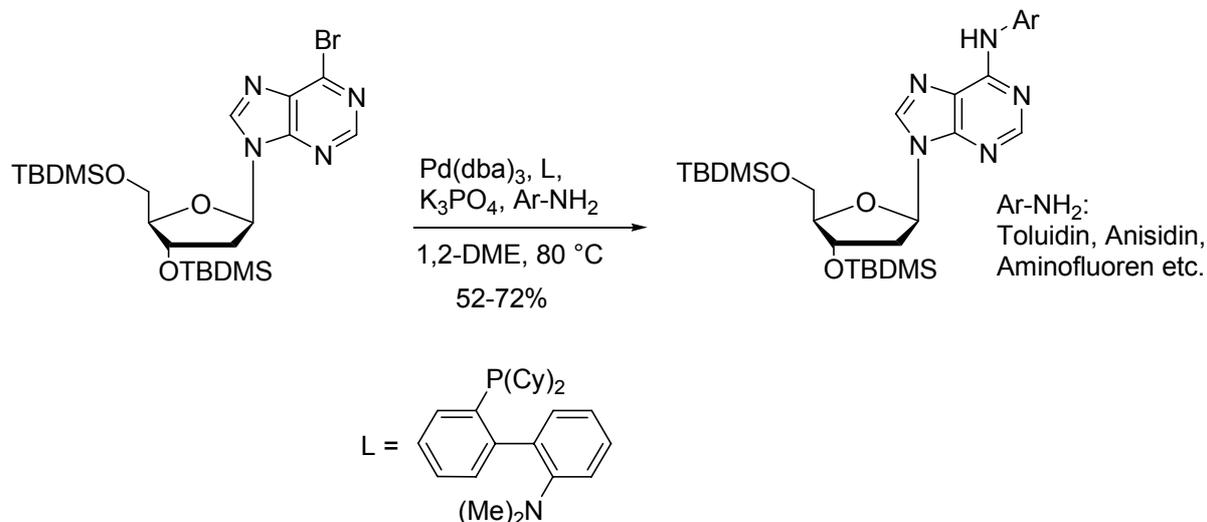


**Abb. 55:** Verwendete *ortho*-Nitroarylamine **117** und **118**

Auch nach vorheriger Deprotonierung der NH<sub>2</sub>-Funktion mit Natriumhydrid ließen sich die beiden *ortho*-Nitroarylamine (siehe Abb. 55) auf diesem Weg nicht zum  $N^6$ -Addukt mit 2'-Desoxyinosin umsetzen.

### 4.2.3. Buchwald-Hartwig Kupplung

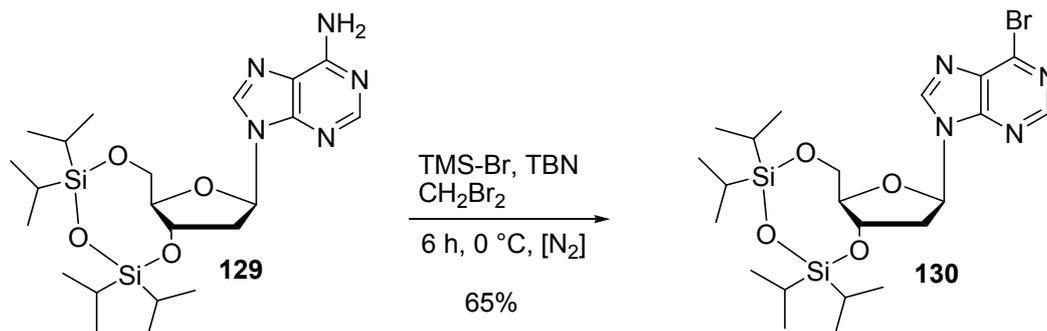
Da sich die benzotriazolaktivierte Kupplungsreaktion als ungeeignet für die reproduzierbare Umsetzung mit nitrosubstituierten Arylaminen erwiesen hatte, sollte als nächstes die Buchwald-Hartwig-Reaktion zur Darstellung der  $N^6$ -(*o*-Nitroarylamin)-addukte von 2'-Desoxyadenosin genutzt werden. Um die als Edukte für die benzotriazolaktivierte Kupplung dargestellten *ortho*- bzw. *para*-Nitroarylamine weiterhin nutzen zu können, sollte die Kreuzkupplung, in Analogie zu der Buchwald-Hartwig-Kupplung von 8-Br-dA, ausgehend von 6-Brom-dA erfolgen. Die generelle Anwendbarkeit dieser Reaktion auf die Darstellung von  $N^6$ -Arylaminaddukten von dA zeigte **LAKSHMAN** 1999 in einer seiner Veröffentlichungen. In dieser Arbeit<sup>[51]</sup> beschrieb er die von 6-Br-dA ausgehende palladiumkatalysierte Synthese von  $N^6$ -dA-Arylaminaddukten mit Kaliumphosphat als Base und dem von Buchwald entwickeltem Liganden 2-(Dicyclohexylphosphino)-2'-(*N,N*-dimethylamino-1,1'-biphenyl als optimale Bedingungen.<sup>[74]</sup>



**Abb. 56:** Synthese der  $N^6$ -Addukte nach **LAKSHMAN**

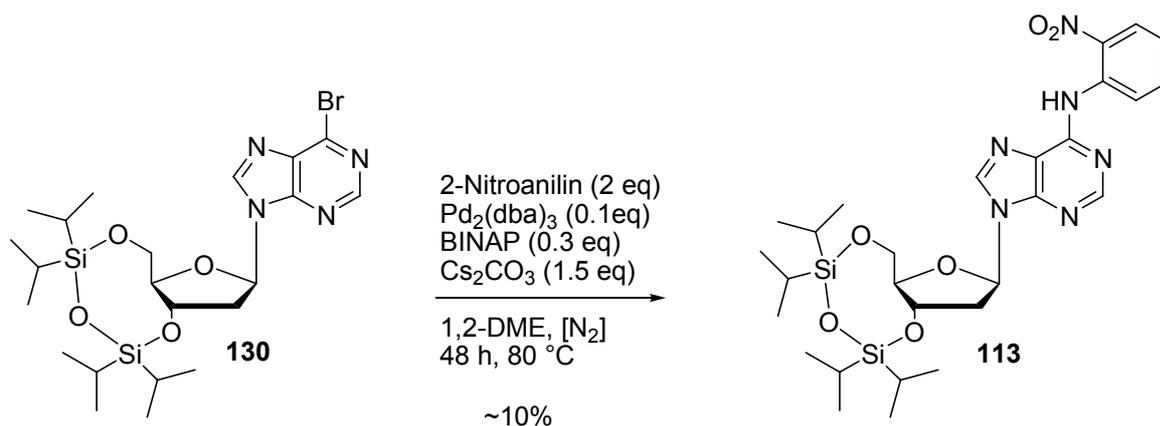
Mit dem Katalysatorsystem  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{BINAP}$  und der milden Base  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  wurden von **LAKSHMAN** allerdings auch gute Ausbeuten sowie eine vollständige Umsetzung des Eduktes beobachtet. Basierend auf diesen Erkenntnissen sollte nun die Darstellung der  $N^6$ -Addukte mit nitrosubstituierten Arylaminen folgen.

Hierzu wurde das Bromid an der 6-Position von dA durch Substitution der exocyclischen Aminofunktion nach der Methode von **FRANCOM** und **ROBINS**<sup>[75]</sup> mit Trimethylsilylbromid und *tert*-Butylnitril in Dibrommethan eingeführt (Abb. 57, S. 49).



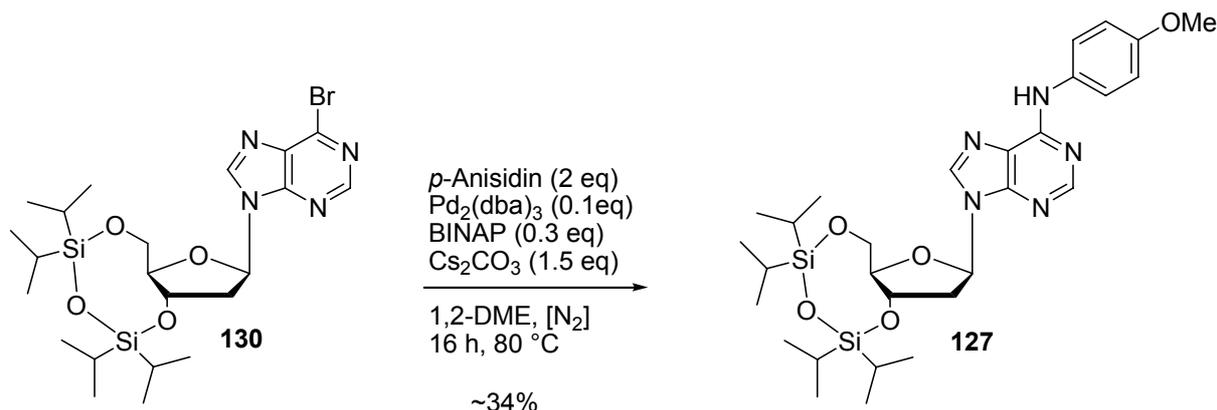
**Abb. 57:** Synthese von 6-Br-dA **130**

Der erste Versuch der  $N^6$ -Adduktsynthese wurde mit dem kostengünstigen 2-Nitroanilin **115** und wie bereits erwähnt mit  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{BINAP}$  und der milden Base  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  durchgeführt. Nach einer Reaktionszeit von zwei Tagen und dreimaliger chromatographischer Reinigung konnten jedoch nur knapp 10% des gewünschten Produktes isoliert werden, welches zudem noch immer verunreinigt war (Abb. 58).



**Abb. 58:** Synthese von  $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-TIPDS-dA **113**

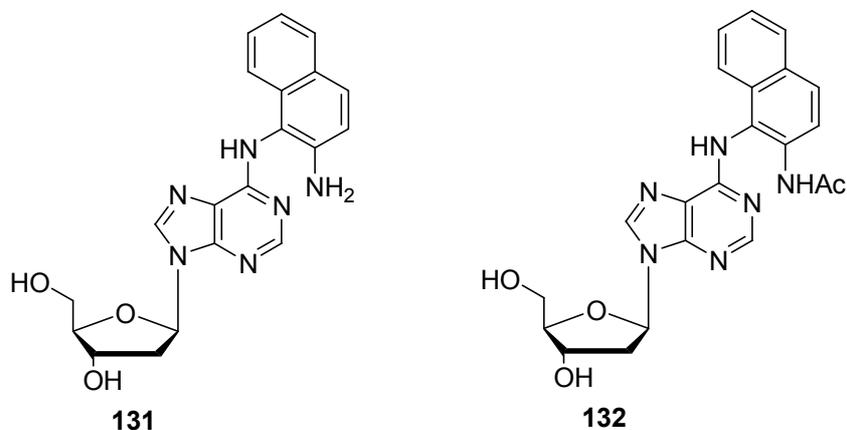
Da auch eine Wiederholung der Synthese das gleiche Ergebnis lieferte, wurde das Experiment mit *para*-Anisidin **63** durchgeführt, um abzuschätzen, ob der Nitrosubstituent am Aromaten einen entscheidenden Beitrag zum Misslingen der Reaktion leistete.



**Abb. 59:** Synthese von  $N^6$ -(4-Methoxyphenyl)-3',5'-TIPDS-dA **127**

Als erstes fiel hierbei die kürzere Reaktionsdauer auf, als problematisch erwies sich jedoch auch hier die intensive chromatographische Reinigung, so dass nach dreimaliger Trennung nur 34% des Produktes isoliert werden konnten. Aus diesem, wenn auch nicht gutem, Ergebnis ließ sich jedoch eine deutliche Benachteiligung der nitrosubstituierten Arylamine erkennen, woraufhin die Optimierungsversuche dieser Reaktion eingestellt wurden.

Während **LAKSHMAN** 1999 noch berichtete, dass eine Inversion der funktionellen Gruppen, sprich das Nucleosid fungiert als Bromid und ein Arylamin als Aminspezies, nur zur Reisolierung des Eduktes führte, veröffentlichten **JOHNSON** und **DE RICARDIS** im selben Jahr sowie die erfolgreiche Darstellung  $N^6$ - bzw.  $N^2$ -*o*-Nitroarylmodifizierter dA- bzw. dG-Derivate durch die direkte Buchwald-Hartwig Arylierung von TBDMS-geschütztem dA und dG mit *o*-Nitroaryl bromiden und -triflaten. Das Katalysatorsystem bestand aus Palladiumacetat, BINAP und Cäsiumcarbonat in Toluol.<sup>[52]</sup>



**Abb. 60:**  $N^6$ -(*o*-Amino-1-naphtyl)-dA-Addukte von **JOHNSON** und **DE RICARDIS**

Im Fall der dA-Addukte endet ihre Arbeit auf der Stufe der desilylierten Addukte **131** und **132** (Abb. 60, S. 50), so dass keine Synthese von Phosphoramiditen und somit kein sequenzspezifischen Einbau in Oligonucleotide erfolgte.

Die Aufgabe bestand nun also darin, die Methode von **JOHNSON** und **DE RICARDIS** zur Darstellung der  $N^2$ -*o*-Nitroarylmodifizierten dA-Derivate zu nutzen und zu optimieren. Die Addukte sollten dann in die entsprechenden 3'-*O*-Phosphoramidite überführt werden, um sie für den sequenzspezifischen Einbau in Oligonucleotide nutzen zu können.

### Synthese der Nitroarylbromide

Wie schon die *ortho*-Nitroanilinderivate mussten auch die meisten der *ortho*-Nitroarylbromide bis auf das 2-Bromnitrobenzol **135** zunächst synthetisiert werden. Ausgehend vom kommerziell erhältlichen 2-Brom-4-methylanilin **136** konnte zum einen das als Benzamid funktionalisierte Arylbromid **137** und zum anderen durch eine Oxidation mit *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) das 2-Brom-4-methylnitrobenzol **138**<sup>[76]</sup> erhalten werden (Abb. 61).

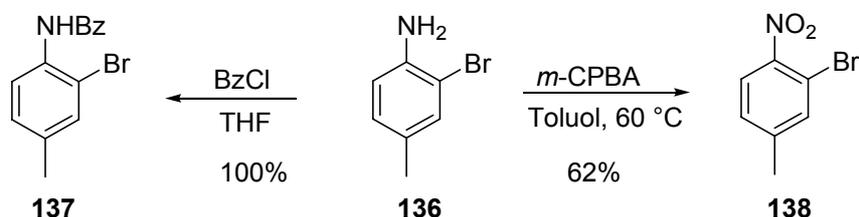


Abb. 61: Synthese der Arylbromide **137** und **138**

2-Brom-4-methoxynitroanilin **139** wurde in einer zweistufigen Synthese ausgehend von 3-Bromphenol **141** durch Nitrierung und der darauffolgenden Methylierung der Hydroxyfunktion mit Methyljodid erhalten.<sup>[77]</sup>

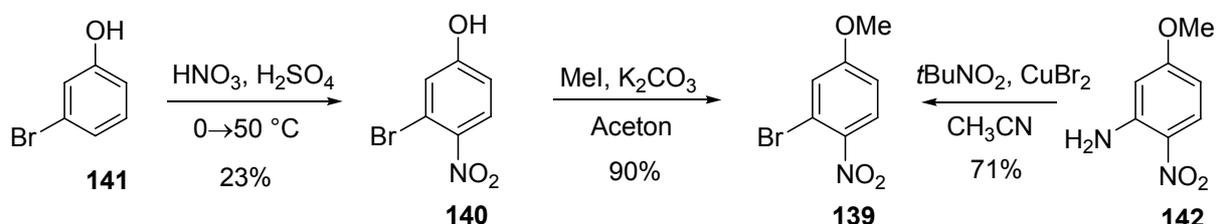
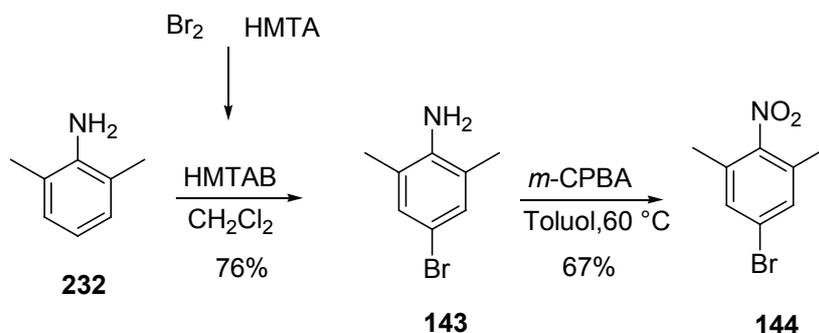


Abb. 62: Darstellung von 2-Brom-4-methoxynitrobenzol **139**

2-Brom-4-methoxynitroanilin **139** kann ebenfalls durch die Umwandlung einer Aminogruppe in ein Bromid aus 5-Methoxy-2-nitroanilin **142** erhalten werden.<sup>[78]</sup> Die

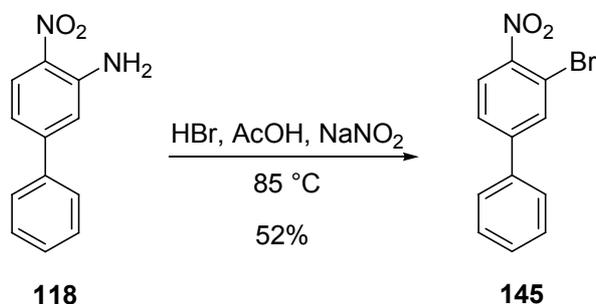
Darstellung erfolgt über die Reaktion mit *tert*-Butylnitrit und Kupfer(II)bromid in Acetonitril (Abb. 62, S. 51).

Die Bromierung von 2,6-Dimethylanilin **232** erfolgte mit Hexamethylentetraminbrom (HMTAB), welches pro Mol 1.5 Äquivalente aktiviertes Br<sub>2</sub> enthält.<sup>[79]</sup> Nach bekannter Oxidation mit *m*-CPBA wurde das *p*-Nitroarylbromid **144** erhalten (Abb. 63).



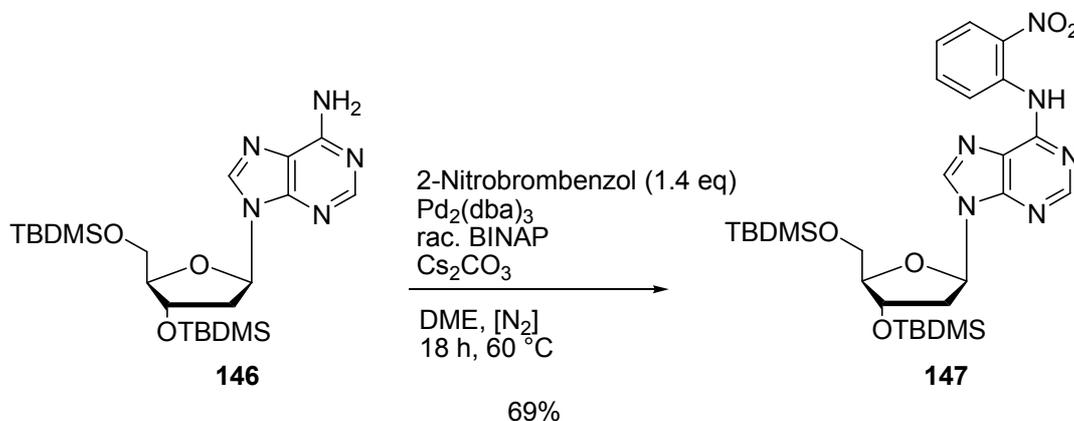
**Abb. 63:** Bromierung und Oxidation von 2,6-Dimethylanilin

Das Biphenylderivat **145** wurde aus dem zuvor dargestellten 3-Amino-4-nitrobiphenyl **118** (Abb. 48, S. 43), durch eine Sandmeyerreaktion mit wässriger Bromwasserstofflösung (48%) und Natriumnitrit in Essigsäure gewonnen (Abb. 64).<sup>[80]</sup>



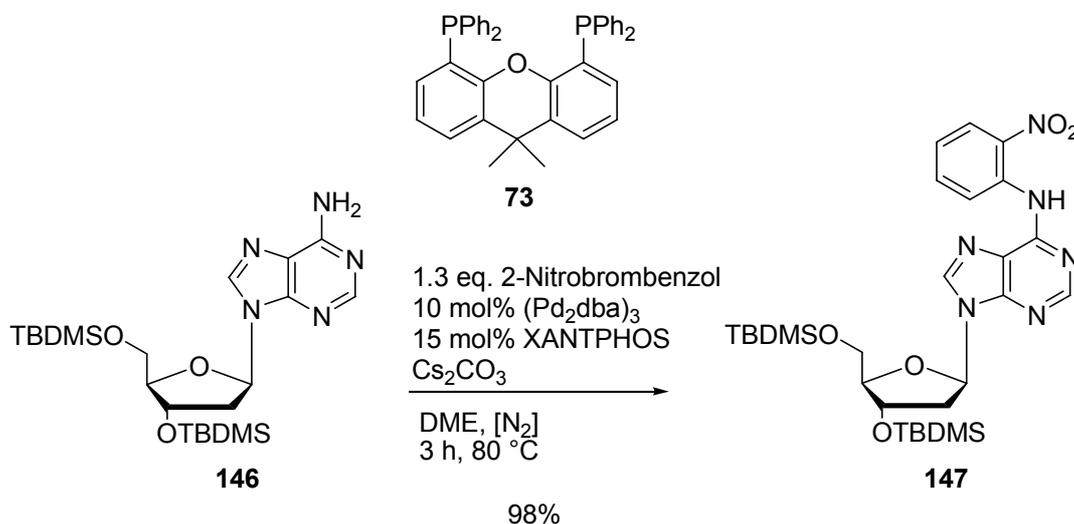
**Abb. 64:** Synthese von 3-Brom-4-nitrobiphenyl **145** durch Sandmeyerreaktion

In einem ersten Versuch konnte das  $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-di-TBDMS-dA **147** in einer guten Ausbeute von 69% unter den gleichen Bedingungen ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , BINAP,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , 1,2-DME), wie sie zur Darstellung der  $N^6$ -Addukte ausgehend von 6-Br-dA benutzt worden waren, dargestellt werden (Abb. 65, S. 53).



**Abb. 65:** Darstellung von  $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-di(TBDMS)-dA **147**

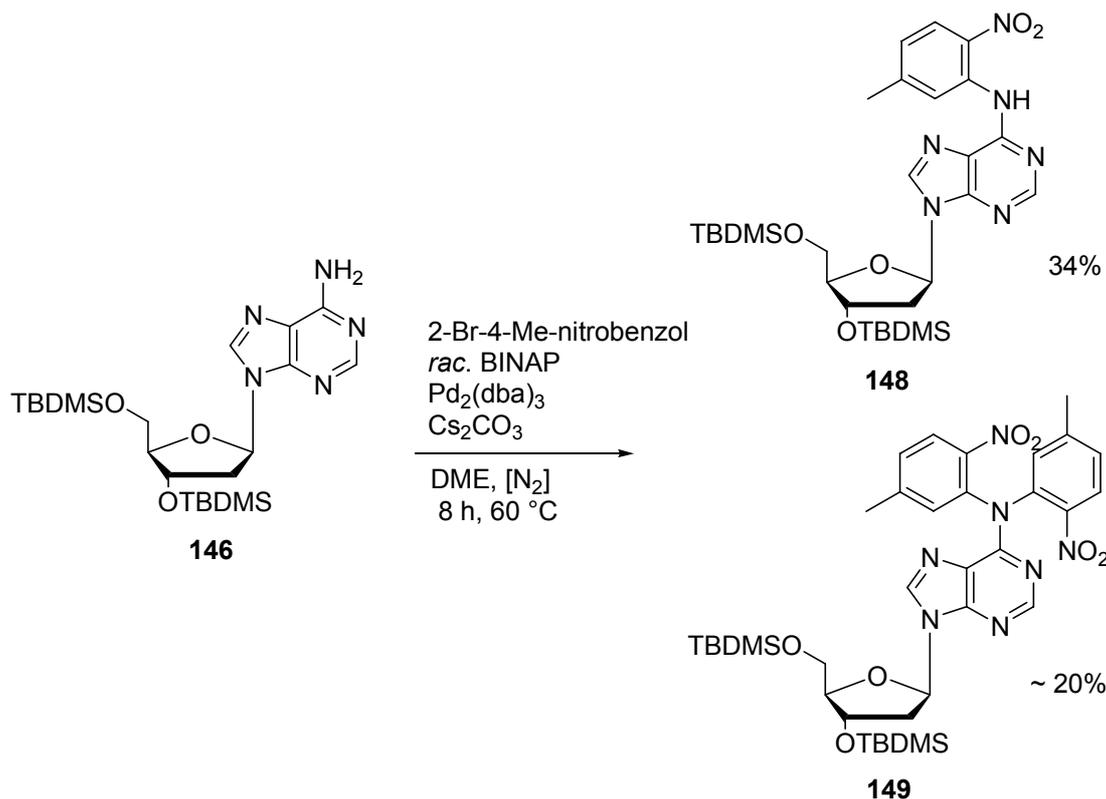
Dieses gute Ergebnis konnte noch deutlich durch die Verwendung eines neuen Liganden verbessert werden.<sup>[53]</sup> Durch den Austausch von *rac.* BINAP durch Xantphos **73** konnte das gleiche  $N^6$ -Addukt in einer nahezu quantitativen und reproduzierbaren Ausbeute von 98% erhalten werden (siehe Abb. 66).



**Abb. 66:** Synthese von **147** mit Xantphos **73**

Auffallend neben der erheblich besseren Ausbeute ist die deutlich kürzere Reaktionszeit von drei Stunden. Ein weiterer Pluspunkt der Synthese mit Xantphos **73** ist die extrem einfache chromatographische Reinigung, die zeit- und lösungsmittelsparend am Chromatotron durchgeführt werden konnte.

Ein Problem, welches bei der Synthese der  $N^6$ -Addukte mit anderen Nitroarylbromiden als 2-Bromnitrobenzol auftritt, ist die doppelte Arylierung, wie sie in Abb. 67, S. 54 am Beispiel des Toluidinderivats zu sehen ist. Hier führt die Synthese aufgrund des elektronenreicheren Arylbromides in 20% Ausbeute zum doppelt arylierten Addukt **149** und das gewünschte Produkt **148** konnte nur in einer Ausbeute von 34% isoliert werden.



**Abb. 67:** Doppelte Arylierung der  $N^6$ -Position

Durch die Verwendung von Xantphos **73** und dem Einsatz des Nucleosids in einem 1.3 fachen Überschuss konnte diese Reaktion auf eine Ausbeute von über 90% gesteigert werden (siehe Tabelle 9, Seite 55, Eintrag 3 und 4). Unter diesen Bedingungen konnten auch das 2,6-DMA- **151** und das *p*-Anisidin-Derivat **150** in Ausbeuten von 93 und 94% erhalten werden. Einzig die Umsetzung mit 3-Brom-4-nitrobiphenyl **145** gelang in einer moderaten Ausbeute von 58%. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sowohl die verwendete Silylschutzgruppe (Eintrag 1 in Tabelle 9) als auch der Ligand in der Palladium-katalysierten Kreuzkupplung einen entscheidenden Einfluss auf das Gelingen der Reaktion haben.

**Tabelle 9: Zusammenfassung der  $N^6$ -Kupplungen**

3',5'-Schutzgruppe	Arylbromid	Produkt	Ligand	Ausbeute
TIPDS	2-Nitro- <b>135</b>	<b>113</b>	BINAP	40%
TBDMS	2-Nitro- <b>135</b>	<b>147</b>	BINAP	69%
TBDMS	2-Nitro- <b>135</b>	<b>147</b>	Xantphos	98%
TBDMS	5-Methyl-2-nitro- <b>138</b>	<b>148</b>	BINAP	34%
TBDMS	5-Methyl-2-nitro- <b>138</b>	<b>150</b>	Xantphos	91%*
TBDMS	5-Methoxy-2-nitro- <b>139</b>	<b>150</b>	Xantphos	93%*
TBDMS	2,6-Dimethyl-4-nitro- <b>144</b>	<b>151</b>	Xantphos	94%*
TBDMS	3-Brom-4-nitrophenyl- <b>145</b>	<b>152</b>	Xantphos	58%*

\* Nucleosid im Überschuss eingesetzt

#### 4.2.4. Synthese $N^6$ -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite

Für die Synthese der Oligonucleotide, in denen das Arylamin über die *ortho*-Position zur Aminogruppe mit der  $N^6$ -Aminofunktion des Adenins verknüpft ist (siehe Abb. 8, S. 10), und somit eine freie Aminofunktion trägt, gibt es verschiedene Vorgehensweisen. Die *ortho*-Nitrogruppe kann zum einen direkt nach der Kreuzkupplung reduziert werden, wonach sie jedoch mit einer geeigneten Schutzgruppe funktionalisiert werden muss (siehe Abb. 68, S. 56 Route **A**). Belässt man die Nitrofunktion und nutzt sie weiterhin als "Schutzgruppe" der Aminofunktion, kann man diese nach erfolgter DNA-Synthese reduzieren (siehe Abb. 68, S. 56 Route **B**). Für beide Wege gibt es Vor- und Nachteile. Für Weg **A** spricht zum einen, dass man eine Schutzgruppe für die Aminofunktion verwenden kann, die sich basisch und somit nach der DNA Synthese mit den übrigen Basenschutzgruppen in ein und demselben Schritt abspalten ließe und man somit keine Reduktion am fertigen Oligonucleotid vornehmen müsste wie in Vorschlag **B**. Für Weg **B** spricht die verkürzte Syntheseroute bis zum fertigen Oligonucleotid, dagegen spricht jedoch die Reduktion der Nitrofunktion am Oligonucleotid und der damit verbundenen zusätzlichen Reinigung und Analytik über die HPLC. Gerade bei längererkettigen Oligonucleotiden, wie z. B. dem 30mer für die Kooperation mit Prof. **A. MARX**, könnte es hierbei zu größeren Ausbeuteverlusten kommen, da diese Oligonucleotide dazu neigen, an der Modifikationsstelle durchzubrechen.

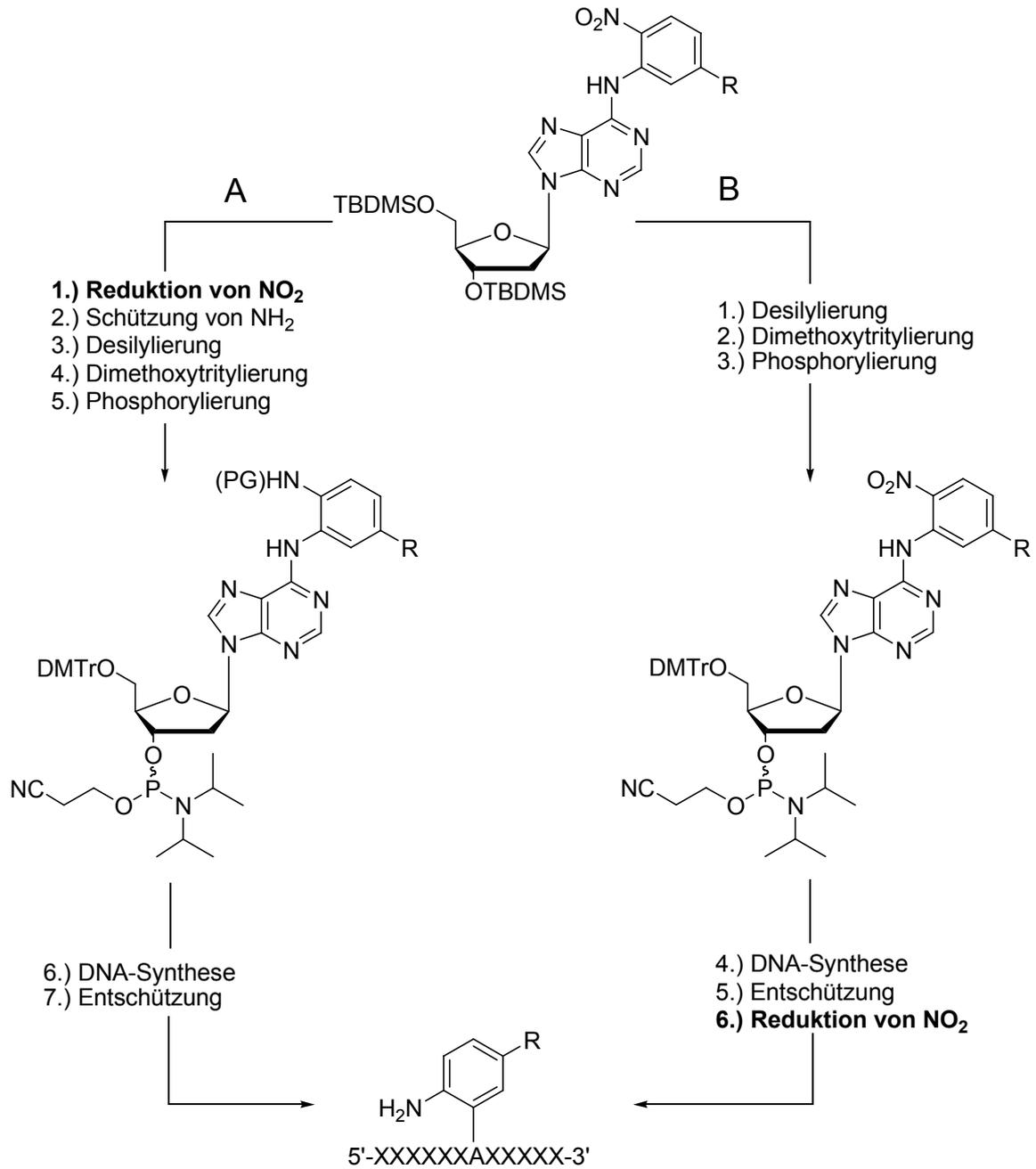
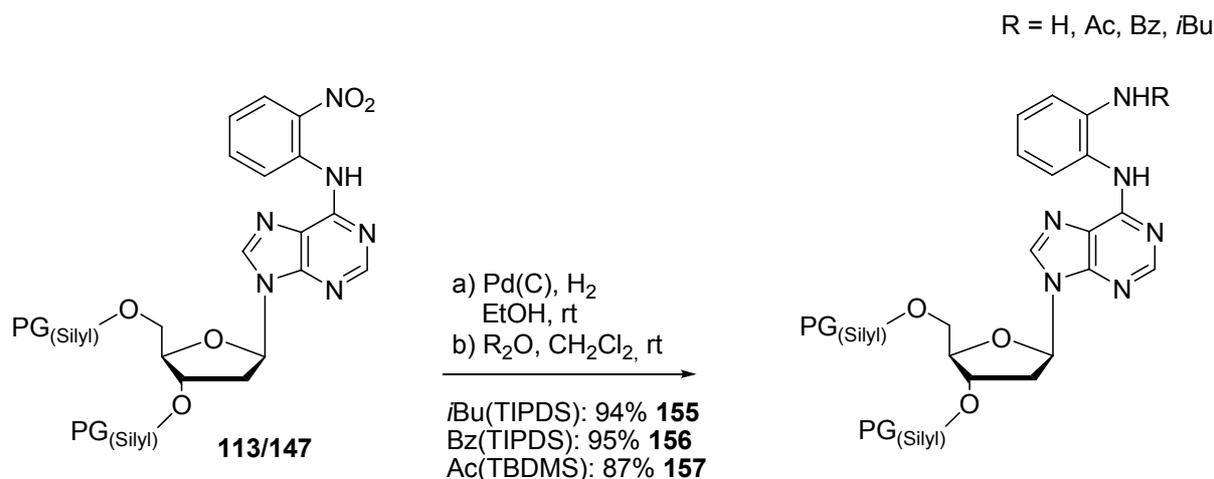


Abb. 68: Mögliche Routen zu  $N^6$ -modifizierten Oligonucleotiden

### Synthese der Phosphoramidite über Route A

Um eine Syntheseroute zu etablieren, wurde sich im Folgenden zunächst auf das Anilin-Addukt beschränkt. Zur Anwendung von Route **A** wurde zuerst die Nitrofunktion des Anilin-Adduktes **113** und **147** zu reduzieren. Hierzu wurde das Nucleosid in Ethanol mit Palladium auf Kohle hydrogenolytisch reduziert. Dies führte, abhängig von der Silylschutzgruppe, zu Ausbeuten von 44% bis 76% an chromatographierten Verbindungen (s. Tabelle 10).



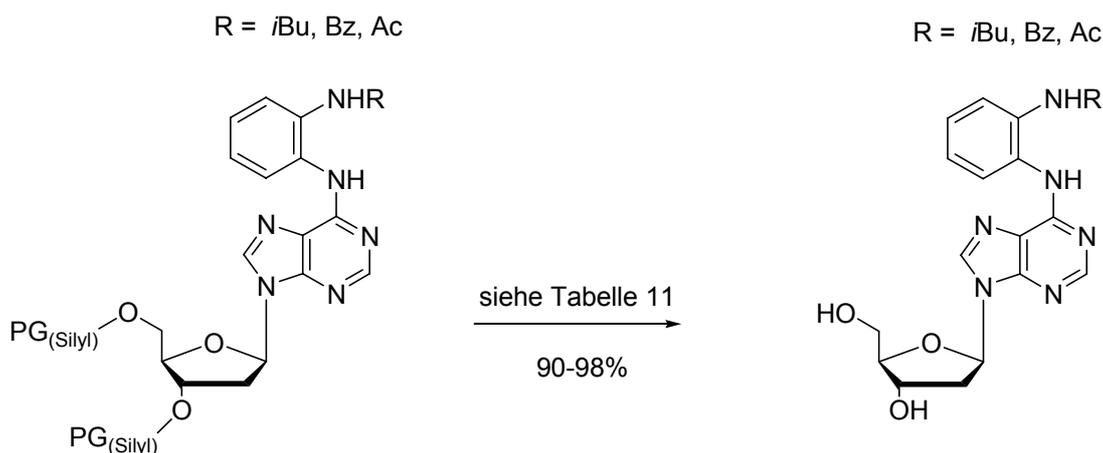
**Abb. 69:** Reduktion und Funktionalisierung der *o*-Aminofunktion mit diversen Acyl-Schutzgruppen

Eine deutliche Steigerung der Ausbeuten war zu verzeichnen, wenn die Aminogruppe direkt nach der Reduktion mit den Säureanhydriden zu den entsprechenden Amiden umgesetzt wurden. Hierzu reichte eine kurze Filtration über Celite um Palladium/Kohle abzutrennen. Die Reaktion mit den Säureanhydriden ergaben durchweg gute bis sehr gute Ausbeuten (vgl. Tabelle 10). Somit konnte das Problem der Instabilität der Addukte mit freier Aminogruppe **153** und **154** erfolgreich umgangen werden.

**Tabelle 10:** Reduktion der Aminofunktion mit und ohne Schützung von NH<sub>2</sub>

R =	Silylschutzgruppe		Ausbeute	Produkt
H	TIPDS	nur a)	76%	<b>153</b>
H	TBDMS	nur a)	44%	<b>154</b>
<i>iso</i> -Butyryl	TIPDS	a) + b)	94%	<b>155</b>
Benzoyl	TIPDS	a) + b)	95%	<b>156</b>
Acetyl	TBDMS	a) + b)	87%	<b>157</b>

Der nächste Schritt bestand in der Entfernung der Silylschutzgruppen. In einem früheren, hier nicht dokumentierten, Versuch der Einführung einer Acetylgruppe in das Nucleosid, wurde die Acetylgruppe bei der Aufarbeitung mit Natriumhydrogencarbonat abgespalten. Um die basenlabilen Acyl-Schutzgruppen (Ac, Bz, *i*Bu) bei der Entfernung der Silylschutzgruppen nicht zu gefährden, wurden verschiedene Bedingungen getestet.



**Abb. 70:** Entfernung der Silylgruppen auf unterschiedlichen Wegen

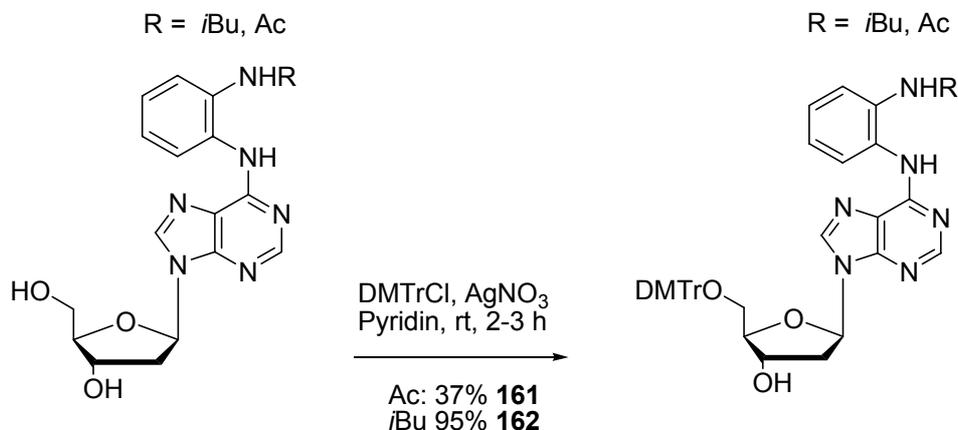
Für die *iso*Butyryl-geschützte Verbindung **155** wurden die Standardbedingen (TBAF in THF) angewendet, da hier am wenigsten mit einer Abspaltung zu rechnen war. Addukt **156**, welches eine Benzoylschutzgruppe trägt, wurde mit dem leicht sauren Reagenz Triethylamintrihydrofluorid in einer sehr guten Ausbeute von 98% entschützt. Um das Acetamid in Addukt **157** zu schützen, wurde bei der Desilylierung zu dem basischen TBAF Essigsäure gegeben, so dass ein nahezu neutrales Reaktionsmedium erreicht wurde. Das Produkt **160** konnte auf diesem Weg in einer sehr guten Ausbeute von 95% erhalten werden (vgl. Tabelle 11).

**Tabelle 11:** Desilylierungen

R	Silylschutzgruppe	Desilylierungsmittel	Lösungsm.	Ausbeute	Prod.
<i>iso</i> -Butyryl <b>155</b>	TIPDS	TBAF	THF	90%	<b>158</b>
Benzoyl <b>156</b>	TIPDS	Et <sub>3</sub> N·3HF	DCM, THF	98%	<b>159</b>
Acetyl <b>157</b>	TBDMS	TBAF, AcOH	THF	95%	<b>160</b>

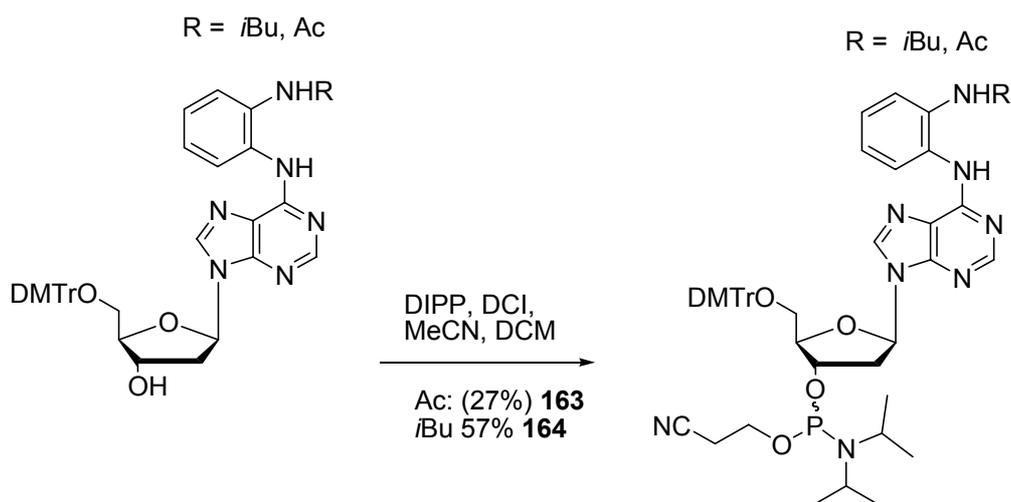
Die ersten größeren Schwierigkeiten traten bei der 5'-O-Dimethoxytritylierung der N<sup>6</sup>-Addukte auf. Während sich das *iso*Butyryl-geschützte Addukt **158** in einer

exzellenten Ausbeute mit DMTrCl und AgNO<sub>3</sub> umsetzen ließ, konnte das Acetylgeschützte Addukt **161** lediglich in 37% Ausbeute erhalten werden (Abb. 71, S. 59).



**Abb. 71:** Dimethoxytritylierungen

Dieser Trend blieb auch bei der Synthese der Phosphoramidite bestehen. Während das *iso*Butyryl-geschützte Phosphoramidit **164** in einer Ausbeute von 57%, jedoch noch leicht verunreinigt, erhalten werden konnte, gelang die Isolierung des *N*<sup>6</sup>-Acetylgeschützten Phosphoramidits **163** nach einer zweiten chromatographischen Reinigung in nur 27% Ausbeute. Da die Verbindung laut Dünnschichtchromatogramm noch stark verunreinigt war, wurde eine weitere säulenchromatographische Reinigung durchgeführt, bei der sich das Produkt dann zersetzte.



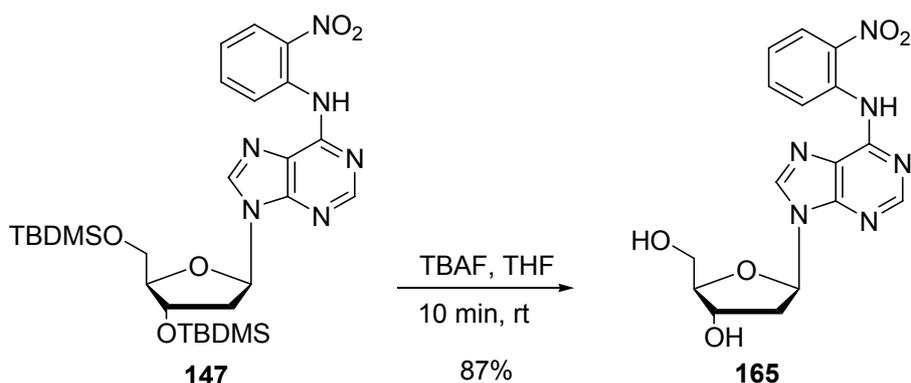
**Abb. 72:** Synthese der Phosphoramidite **163** und **164**

Dieses Phosphoramidit wurde über die automatisierte Festphasensynthese in ein 12 Basen langes Oligonucleotid eingebaut. Beim Abspalten des fertigen Oligonucleotids vom festen Träger stellte sich jedoch heraus, dass die verwendete

Schutzgruppe der primären Aminofunktion zu stabil war und unter den Reaktionsbedingungen, unter denen das Oligonucleotid vom Träger und andere Schutzgruppen entfernt werden, nicht abgespalten wurde.

### Synthese der Phosphoramidite über Route B

Da sich Route **A** zum Ende der Synthese der Acetyl- und *iso*Butyryl-geschützten Phosphoramidite als nicht praktikabel herausstellte, sollte nun Route **B** getestet werden. Deshalb konnten im ersten Schritt nach der Kupplung direkt die TBDMS-Gruppen abgespalten werden. Da hier keine basenempfindliche Schutzgruppe im Molekül vorhanden war, konnte die Desilylierung mit TBAF in THF durchgeführt werden und nicht mit Triethylamintrihydrofluorid, wodurch die chromatographische Reinigung erleichtert wurde.



**Abb. 73:** TBDMS-Entschützung mit TBAF

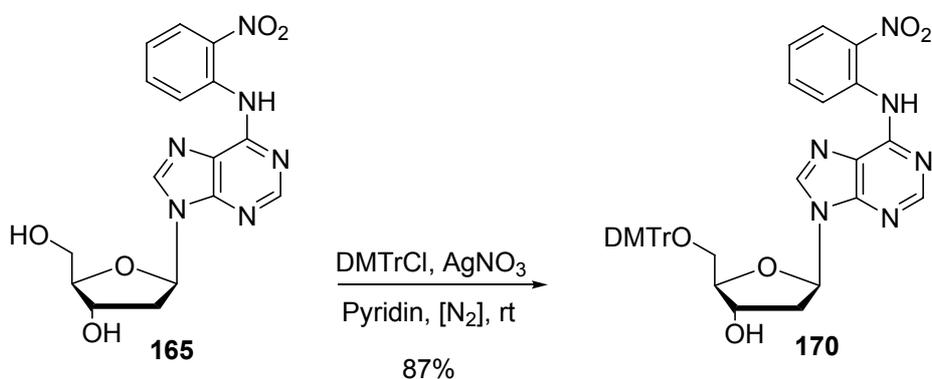
Trotz einer "spot to spot conversion" laut Dünnschichtchromatogramm in einer sehr kurzen Reaktionszeit von nur 10 Minuten, konnte nur eine Ausbeute von 87% erreicht werden. Diese Ausbeute ist zwar gut, liegt jedoch unter den zuvor erzielten Ausbeuten (vgl. Tabelle 11 auf Seite 58).

**Tabelle 12:** Desilylierungen aller  $N^6$ -Addukte

Edukt	Modifikation	Ausbeute	Produkt
<b>147</b>	Anilin	87%	<b>165</b>
<b>148</b>	Toluidin	67%	<b>166</b>
<b>150</b>	Anisidin	94%	<b>167</b>
<b>151</b>	2,6-Dimethylanilin	84%	<b>168</b>
<b>152</b>	4-Aminobiphenyl	97%	<b>169</b>

Bis auf das  $N^6$ -Toluidin-Adduktes **166**, wurden alle weiteren Verbindungen in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten.

Für die darauffolgenden Dimethoxytritylierungen an der 5'-O-Position konnten mit einer einzigen Ausnahme gute Ausbeuten erzielt werden. Lediglich das  $N^6$ -Addukt von *p*-Toluidin **171** konnte in einer moderaten Ausbeute von 30% erhalten werden. Dies ist insofern interessant, da auch die Entfernung der TBDMS-Gruppen für diese Arylamin-Modifikation in einer für diese Reaktion niedrigen Ausbeute von 67% ablief.



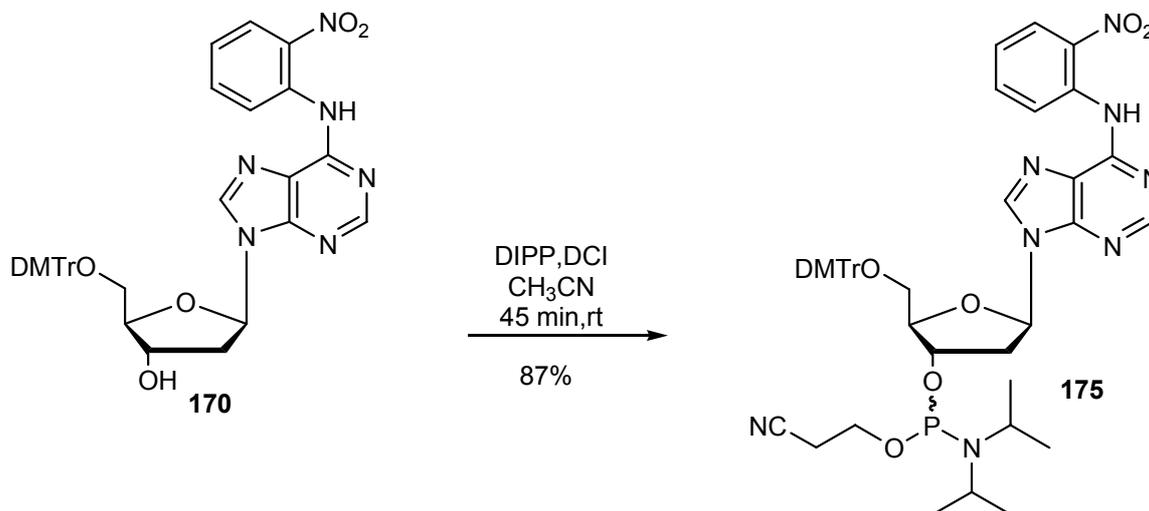
**Abb. 74:** DMTr-Schützung von **165**

Erwähnenswert ist hierbei noch, dass die Stabilität der DMTr-geschützten  $N^6$ -Addukte etwas geringer ist, als die der entsprechenden C8-Addukte. Während bei keinem der C8-Addukte eine Abspaltung von DMTr zu beobachten war, kam es bei den  $N^6$ -Addukten bei Lagerung oder der anschließenden Umsetzung zum Phosphoramidit, abhängig vom jeweiligen Amin zur DMTr-Abspaltung. Am deutlichsten war dieses Phänomen bei der 2,6-Dimethylanilin-modifizierten Verbindung **173** zu beobachten.

**Tabelle 13:** Synthese der 5'-O-DMTr-geschützten  $N^6$ -Addukte

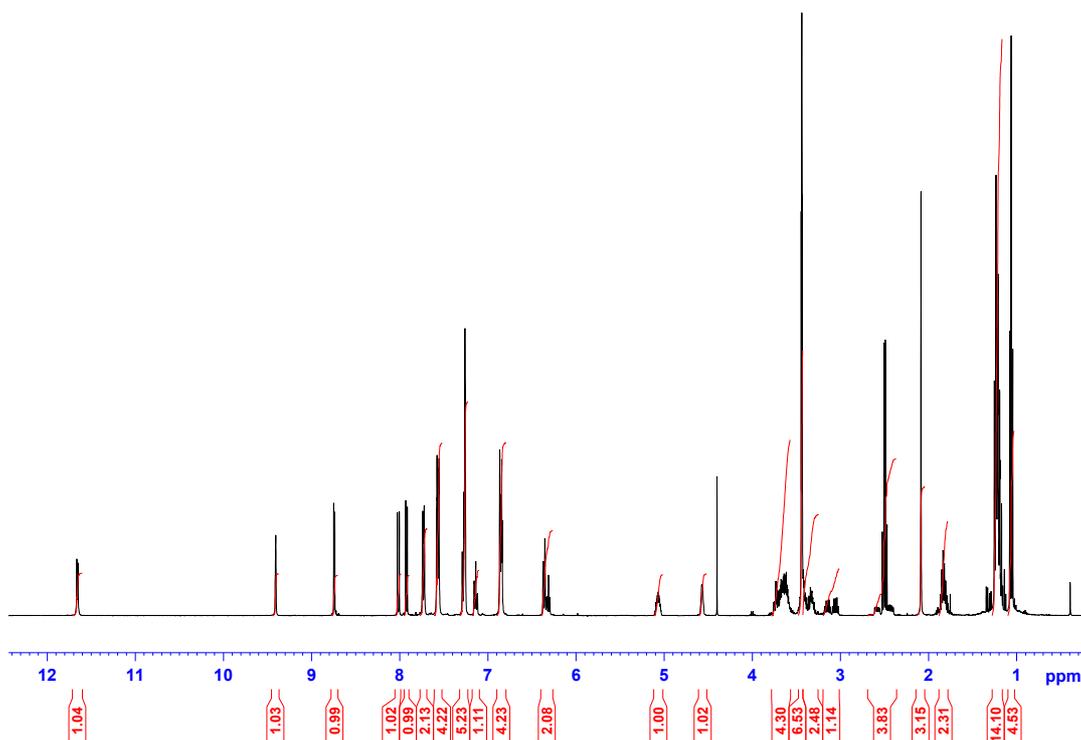
Edukt	Modifikation	Ausbeute	Produkt
<b>165</b>	Anilin	87%	<b>170</b>
<b>166</b>	Toluidin	30%	<b>171</b>
<b>167</b>	Anisidin	73%	<b>172</b>
<b>168</b>	2,6-Dimethylanilin	85%	<b>173</b>
<b>169</b>	4-Aminobiphenyl	77%	<b>174</b>

Die Synthese der Phosphoramidite (Abb. 62 und Tabelle 14, S. 63) wurde aufgrund der guten Löslichkeit der 5'-DMTr-geschützten Vorstufen **170** - **174** in Acetonitril anstatt wie bei den C8-Addukten in einem 1:1-Gemisch aus Dichlormethan und Acetonitril durchgeführt. Die Reaktionsdauer hat sich im Vergleich zur Synthese der C8-Arylamin-modifizierten Phosphoramidite halbiert.

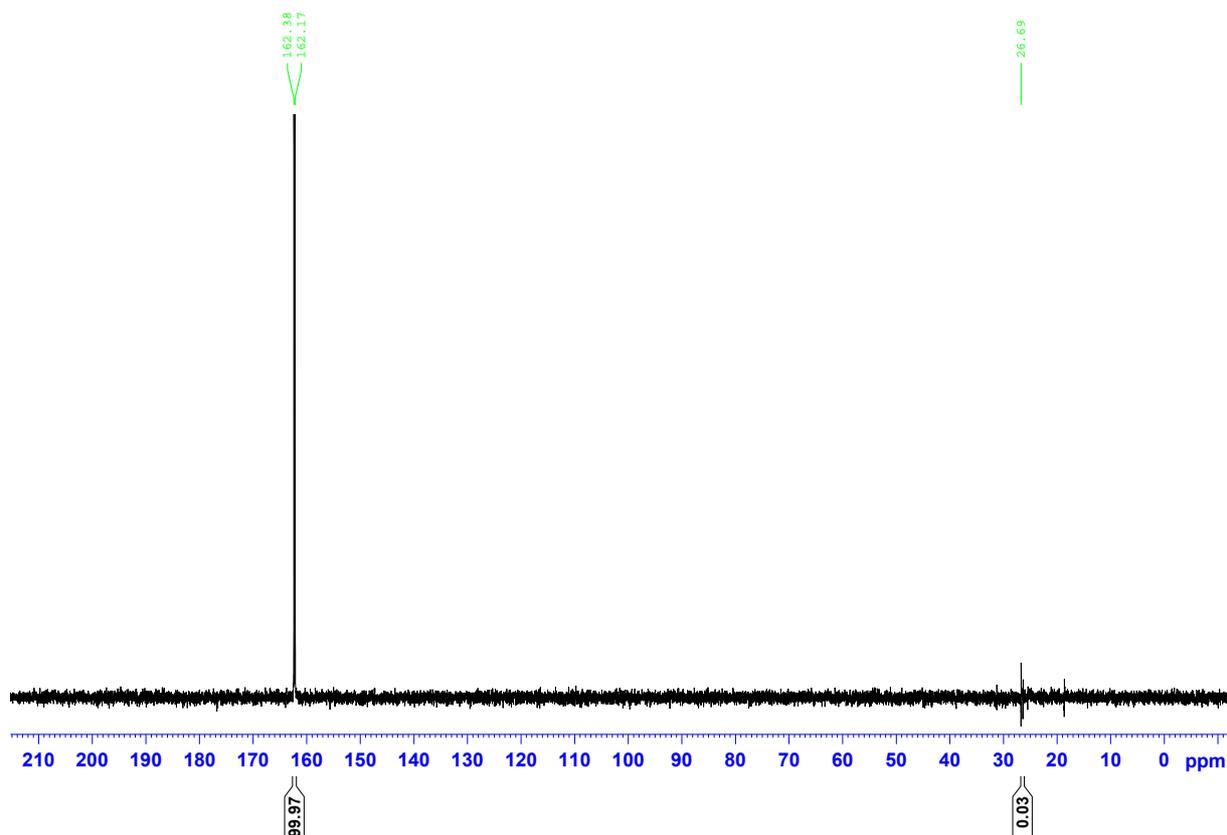


**Abb. 75: Synthese von Phosphoramidit 175**

Im Gegensatz zu den Phosphoramiditen der C8-Addukte kam es hierbei aufgrund fehlender Amidbindung durch die Verwendung der Benzoylschutzgruppe nicht zum Auftreten von Rotameren, was die Auswertung der Protonen-NMR-Spektren erheblich erleichterte (siehe Abb. 76).



**Abb. 76:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des  $N^6$ -Toluidin-modifizierten Phosphoramidites **176****



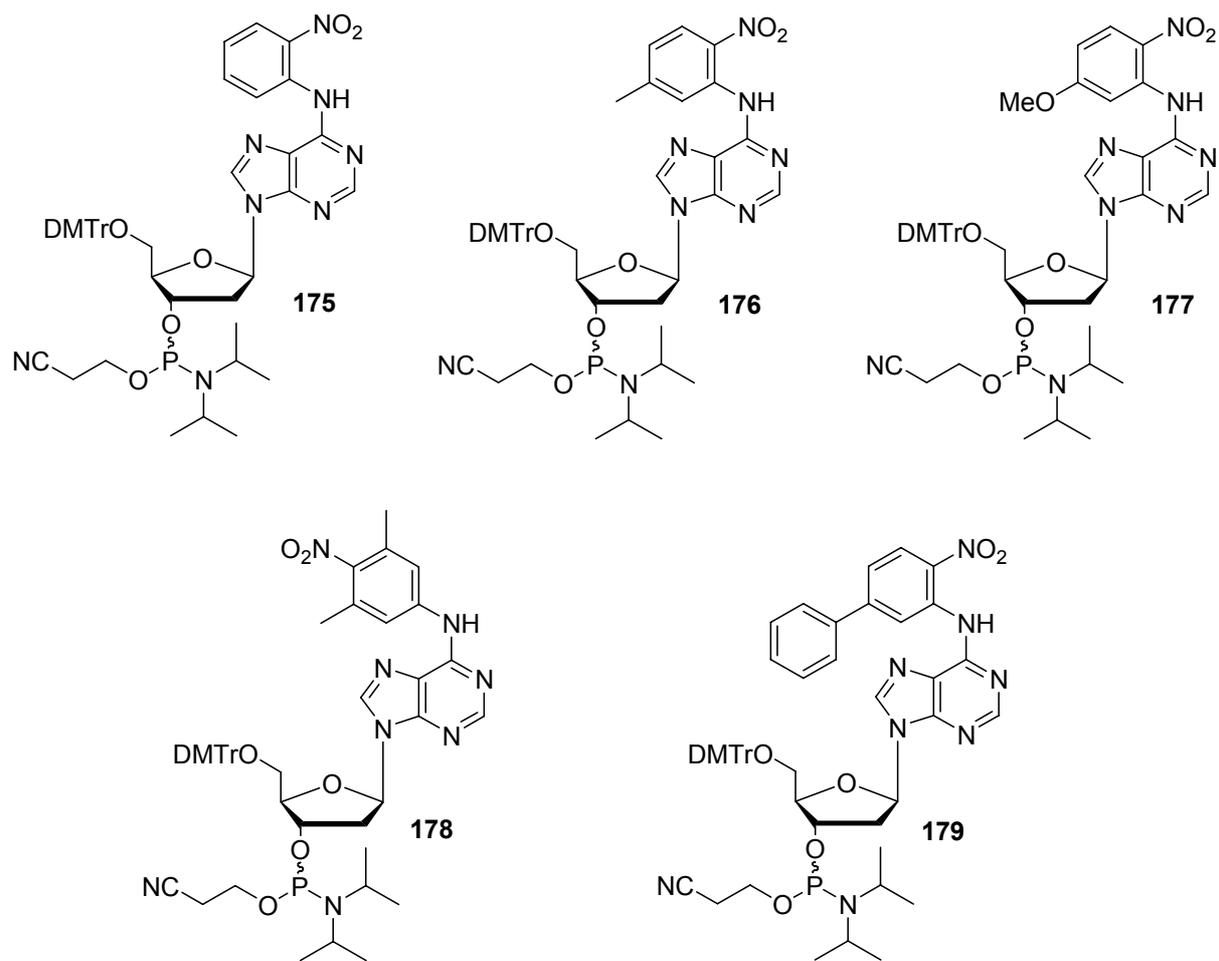
**Abb. 77:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des  $N^6$ -Toluidin-modifizierten Phosphoramidites **176**

Auch das  $^{31}\text{P}$ -NMR zeigte in allen Fällen bereits nach einmaliger chromatographischer Reinigung sehr saubere Verbindungen an (Abb. 77), die direkt weiter zur automatisierten Festphasensynthese von sequenzspezifisch-modifizierten Oligonucleotiden eingesetzt werden konnten.

In Tabelle 14 und in Abb. 78 auf Seite 64 sind die synthetisierten Phosphoramidite (und die entsprechenden Ausbeuten zusammengefasst).

**Tabelle 14:** Synthese der Phosphoramidite

Edukt	Modifikation	Ausbeute	Produkt
<b>170</b>	Anilin	83%	<b>175</b>
<b>171</b>	Toluidin	78%	<b>176</b>
<b>172</b>	Anisidin	70%	<b>177</b>
<b>173</b>	2,6-Dimethylanilin	85%	<b>178</b>
<b>174</b>	4-Aminobiphenyl	79%	<b>179</b>

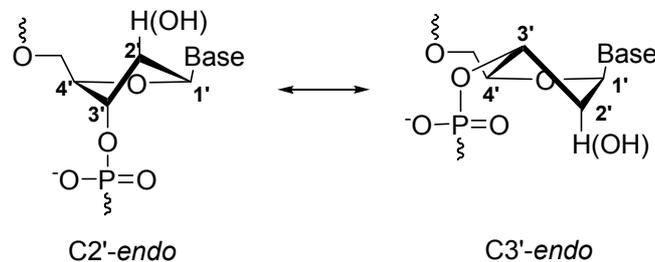


**Abb. 78:** Synthetisierte  $N^6$ -modifizierte Phosphoramidite

### 4.3. Konformationsanalyse von C8-Arylamin-dA-Addukten

#### 4.3.1. Konformation von Nucleosiden in DNA/RNA

Die Gestalt und Form der DNA und RNA wird durch ihre Bausteine, die Nucleotide, gegeben. Die Zuckereinheit, die Ribosefuranose, liegt aus sterischen Gründen in einer Envelope-Konformation vor, wobei die Ebene durch die Atome C1'-O4'-C4' gelegt wird, aus der ein Ringatom herausgedreht ist. Ribofuranosen liegen in einem Gleichgewicht aus C2'-endo- und C3'-endo-Konformation vor, in der entweder das C2'- oder C3'-Atom aus der Ebene in Richtung C5'-Atom heraussteht (Abb. 79).



**Abb. 79:** Hauptkonformationen des Zuckers

Die Tendenz zu einer Hauptkonformation wird in großem Umfang durch den Substituenten an der 2'-Position gesteuert. In der RNA nimmt der Zucker bevorzugt die 3'-endo-Konformation ein, da hier der elektronenziehende Substituent (OH) an C2' eine axiale Stellung einnimmt. In der DNA kann die 2'-Desoxyribofuranose in beiden Konformationen vorliegen, jedoch wird die 2'-endo-Konformation bevorzugt.

Der Torsionswinkel  $\chi$ , der Winkel zwischen der Ebene durch den Zucker und der Ebene durch die Base O4'-C1'-N9-C4, beschreibt die Konformation bezüglich der glycosidischen Bindung. Steht der Heterocyclus direkt über dem Glycon, befindet sich die glycosidische Bindung in der *syn*-Konformation ( $\chi = 0 \pm 90^\circ$ ) und es liegt ein *syn*-Typ-Nucleosid vor. Befindet sich die Base auf der entgegengesetzten Seite, wird von *anti*-Typ-Nucleosiden ( $\chi = 180 \pm 90^\circ$ ) gesprochen (Abb. 80). Die Konformation der glycosidischen Bindung ist von großer Bedeutung, da sie entscheidet, ob sich eine Doppelhelix ausbilden kann oder nicht. In der *syn*-Konformation kann die Base keine Wasserstoffbrücken zur gegenüberliegenden Base ausbilden, da die Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und Donatoren von der Helixachse weg zeigen.

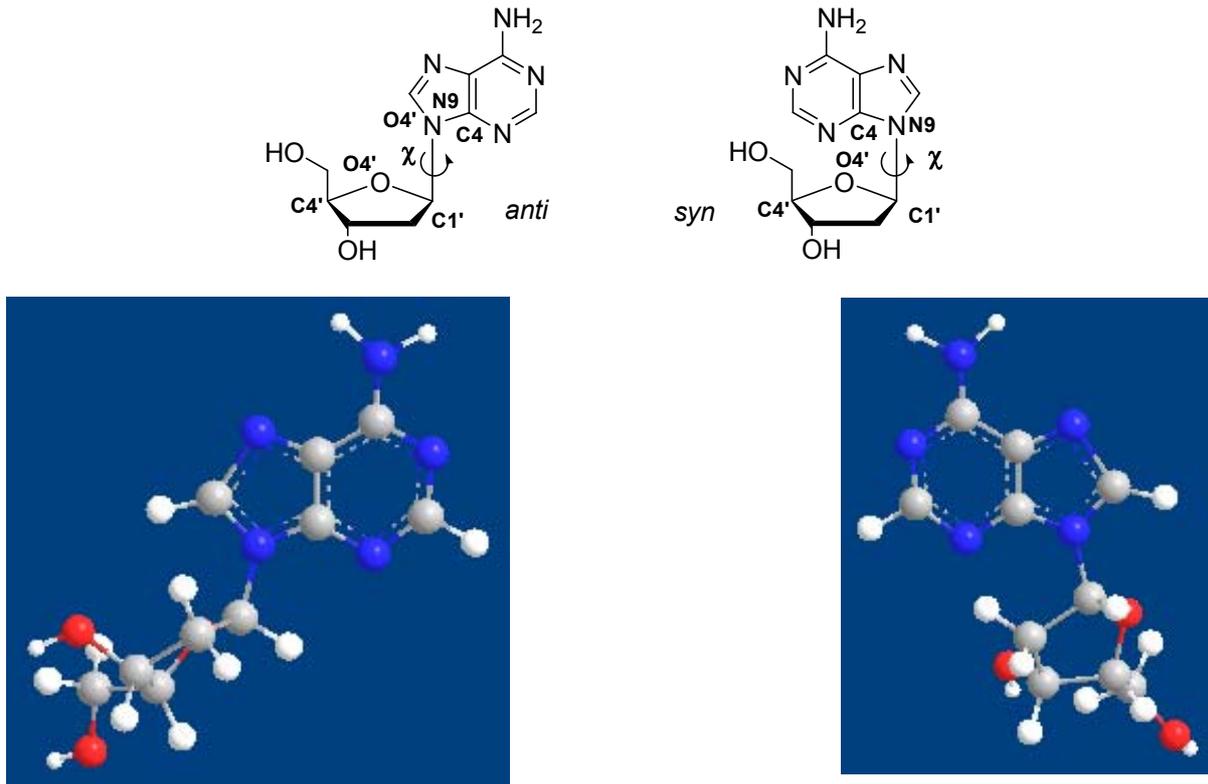


Abb. 80: Konformationen bezüglich der glycosidischen Bindung

Das Konformationsgleichgewicht der in der DNA-Doppelhelix des menschlichen Genoms enthaltenen Nucleotide ist im Allgemeinen zur *anti*-Konformation hin verschoben, da so ein ausgeprägtes Muster an Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Nucleobasen Adenin und Thymin bzw. Guanin und Cytosin entstehen kann, welches die dicht gepackte und gewundene Schraubenstruktur der Doppelhelix ermöglicht und deren potenzielle Energie minimiert. Nur sehr selten lassen sich *syn*-Konformationen bei Purinen finden, z. B. in alternierenden Sequenzen d(CpGpCpG), in der möglicherweise die NH<sub>2</sub>-Gruppe des Guanins mit dem Phosphatrückgrat eine negativ geladene Wasserstoffbrückenbindung ausbildet, oder bei sperrigen Substituenten an der C8-Position, wie z. B. einem Bromid. Ein wichtiger Aspekt bei der Ausbildung der Doppelhelix ist der Scharnierwinkel  $\delta$  zwischen C5' und O3' (Abb. 81).

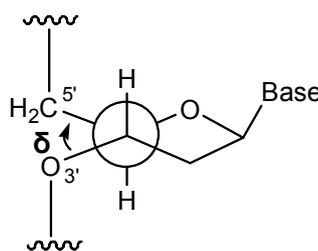


Abb. 81: Scharnierwinkel  $\delta$

Eine Voraussetzung für die Helikalität ist ein Scharnierwinkel von  $80^\circ$ , die jedoch von allen Ribofuranosen erfüllt wird. Ein Vorliegen der Ribose als Pyranose würde zu einem Winkel von  $60^\circ$  führen. In diesem Fall würden die als *homo*-DNA bezeichneten Stränge durch die Sechsringkonformation als stabile lineare Doppelstränge vorliegen.

#### 4.3.2. Konformationsanalyse mittels NMR-Spektroskopie

Es gibt verschiedene NMR-spektroskopische Methoden um die *syn*- oder *anti*-Dominanz der glycosidischen Bindung zu bestimmen. Eine davon ist ein dynamisches Verfahren, das von **D. B. DAVIES** entwickelt wurde.<sup>[81, 82]</sup> Dieses empirische Verfahren beruht darauf, dass die glycosidische Bindung durch den Torsionswinkel  $\chi$  gegeben ist, der durch die Atome O4'-C1'-N9-C4 verläuft. Somit könnte prinzipiell die dominierende Basenkonformation aus der Kopplungskonstante  $^3J_{O4', C4}$  bestimmt werden. Aufgrund der geringen natürlichen Häufigkeit der Isotope  $^{17}\text{O}$  und  $^{13}\text{C}$  kann sie allerdings nicht gemessen werden. Mit einer sogenannten "gated-decoupling"-Messung können aber die Kopplungen zwischen H1' und C8 sowie von H1' und C4 erhalten werden. Mit den Modellverbindungen 9-Methyl- bzw. 9-Ethyladenin mit freier Rotation um die C-N9-Bindung konnte **DAVIES** zeigen, kann die CH-Kopplungskonstanten in folgender Beziehung stehen:  $^3J_{C8, H1'} \sim 3.6 \text{ Hz} \geq ^3J_{C4, H1'} \sim 2.4 \text{ Hz}$ . Durch die Gleichung  $\Delta J = [^3J_{C8, H1'} - ^3J_{C4, H1'}]$  mit  $\Delta J \sim 1.2 \text{ Hz}$  lässt sich nun für Purin-Derivate eine *syn*- oder *anti*-Dominanz bestimmen. Dabei gilt  $\Delta \leq 1.2 \text{ Hz}$  entspricht einer *syn*-Konformation und  $\Delta J \geq 1.2 \text{ Hz}$  einer *anti*-Konformation.

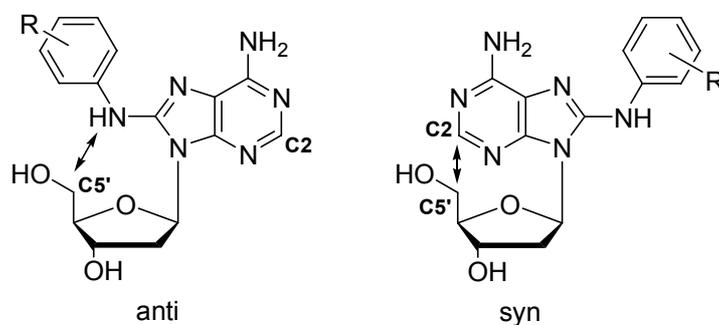
Eine weitere Möglichkeit bietet das NOE-Experiment. Durch den Nuclear-Overhauser-Effekt lassen sich dipolare Kopplungen durch den Raum ermitteln, welche Aufschluss darüber geben, welche Kerne weniger als 500 pm voneinander entfernt sind. Der Kern-Overhauser-Effekt bewirkt eine Signalverstärkung benachbarter Kerne und ist im Folgenden erläutert.

Befinden sich zwei Protonen A und X in räumlicher Nähe zueinander in einem äußeren Magnetfeld, gibt es prinzipiell vier unterschiedliche Spinzustände, die sie relativ zueinander einnehmen können. Entweder befinden sich beide Kerne im  $\alpha$ -Zustand, also in Richtung des Magnetfeldes oder beide liegen antiparallel zur Magnetfeldrichtung, was als  $\beta$ -Zustand bezeichnet wird. Bei den anderen beiden Möglichkeiten weisen die Kerne A und X jeweils entgegengesetzte Spinrichtungen

auf. Alle dieser vier energetisch unterschiedlichen Zustände sind verschieden stark besetzt und durch elektromagnetische Strahlung können Übergänge zwischen diesen Zuständen angeregt werden, jedoch sind nur Übergänge eines Kerns erlaubt, also beispielsweise von  $\alpha\alpha$  nach  $\alpha\beta$ . Werden die beiden Übergänge des Protons A durch Einstrahlen der entsprechenden Resonanzfrequenz gesättigt, ändern sich die Besetzungszahlen, so dass der Besetzungsunterschied der X-Übergänge vergrößert wird. Werden diese durch Einstrahlen der Resonanzfrequenz des Kerns X angeregt, dauert es länger, bis sich das Besetzungsgleichgewicht durch Relaxation wieder eingestellt hat, wodurch eine höhere Signalintensität resultiert.

Aus einem zweidimensionalen NOE-Spektrum lässt sich die Signalverstärkung zwischen zwei Kernen durch den Kern-Overhauser-Effekt qualitativ und quantitativ bestimmen und ist somit ein nützliches Werkzeug zur Bestimmung der Struktur von Molekülen sowie von Konformationsgleichgewichten.

Die Konformation der glycosidischen Bindung eines C8-Arylamin-modifizierten-2'-Desoxyadenosins kann aus der Bestimmung des NOE-Effekts zwischen den Kernen 5'-OH bzw. H-5' und NH bzw. H-2 und H-5' bzw. 5'-OH erfolgen (Abb. 82).



**Abb. 82:** C8-Arylamin-dA-Addukt in *anti*- bzw. *syn*-Konformation

### 4.3.3. Synthese C8-Arylamin modifizierter 5'-Monophosphate von 2'-dA

Die Darstellung Arylamin-modifizierter Monophosphate ist besonders interessant im Hinblick auf eine ausführliche Untersuchung des Einflusses dieser Addukte auf die Konformation der Nucleotidbausteine mit den oben beschriebenen Methoden.

Eine Synthese kann ausgehend von dem freien C8-Arylamin-Addukt zum Beispiel durch eine Phosphorylierung nach dem Mitsunobu-Protokoll oder nach der Methode von **SOWA** und **OUCHI** erfolgen (Abb. 83).

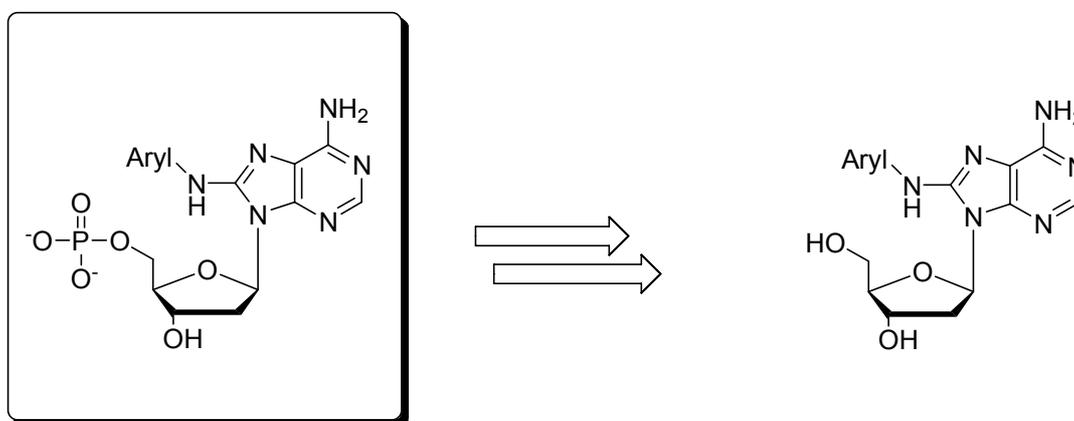
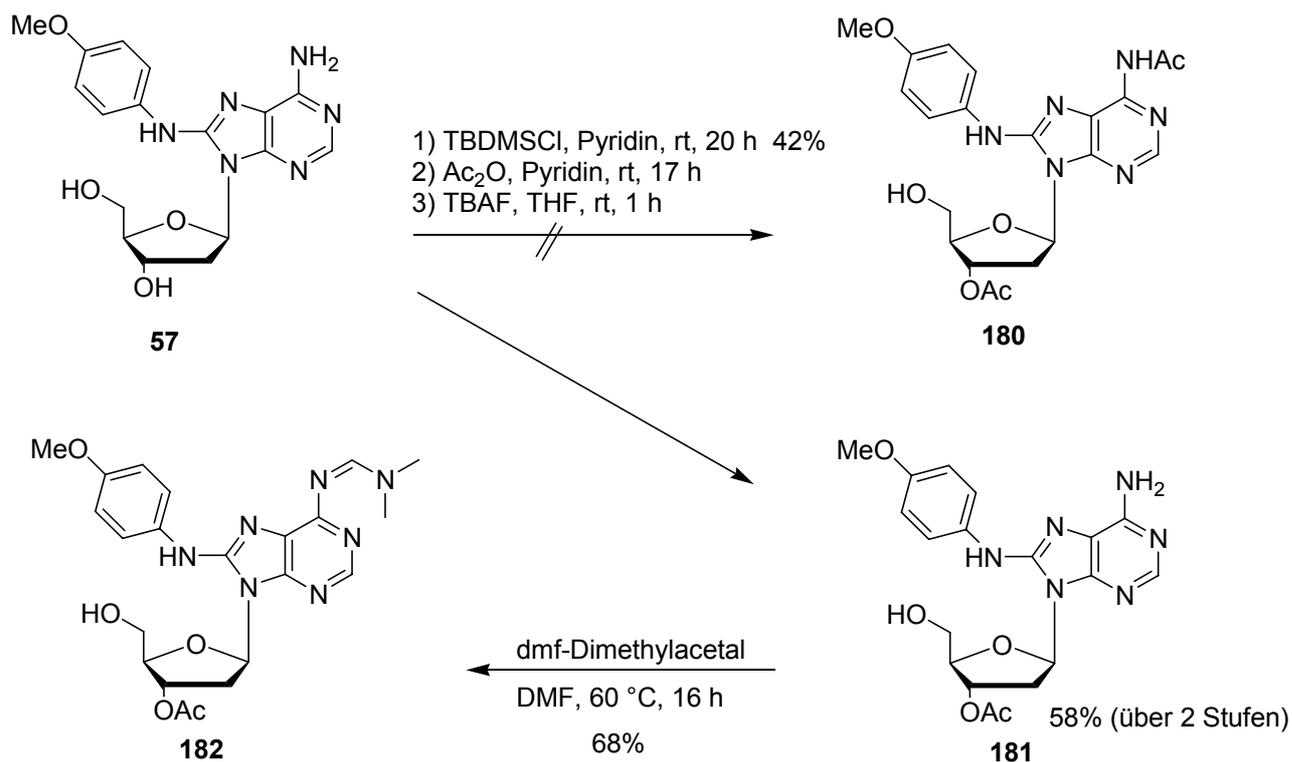


Abb. 83: Retrosynthese der Monophosphate

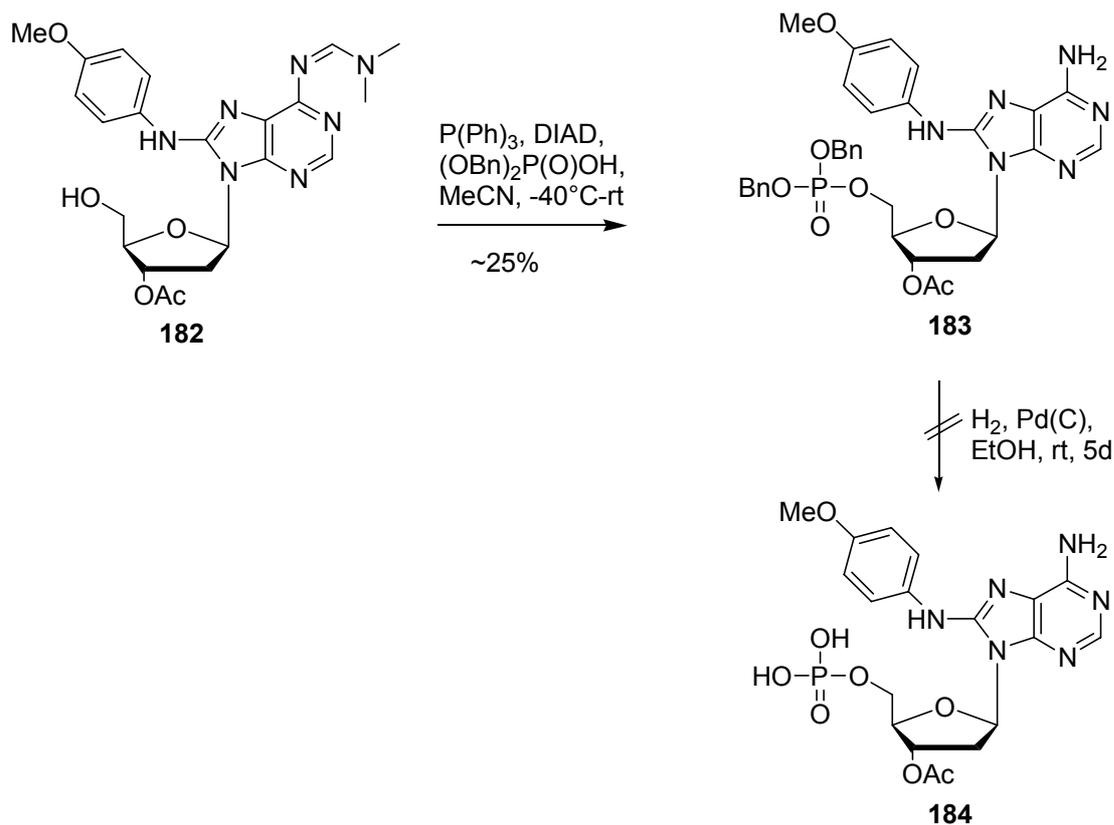
### 4.3.4. Phosphorylierung nach dem Mitsunobu-Protokoll<sup>[83-85]</sup>

Zur Synthese der 5'-Monophosphate von C8-dA-Addukten mit Dibenzylphosphat unter Mitsunobu-Bedingungen, war es nötig, alle OH- und NH<sub>2</sub>-Funktionalitäten außer der 5'-OH-Position zu blockieren. Ausgangsverbindung ist der in einer Reaktionskaskade aus intermediärer 5'-O-TBDMS-Schätzung, Acetylierung und 5'-O-TBDMS-Entschätzung gewonnene N<sup>6</sup>- und 3'-O-Acetyl-geschützte Baustein (Abb. 84, Seite 70). Nach Entfernung der 5'-O-TBDMS-Gruppe mit TBAF in THF konnte nach einer Reaktionszeit von einer Stunde Verbindung **181** in 58%iger Ausbeute isoliert werden. Das Acetamid wurde unter den basischen Bedingungen der TBAF-Entschätzung ebenfalls gespalten.



**Abb. 84:** Darstellung des Precursors **182** zur Phosphorylierung

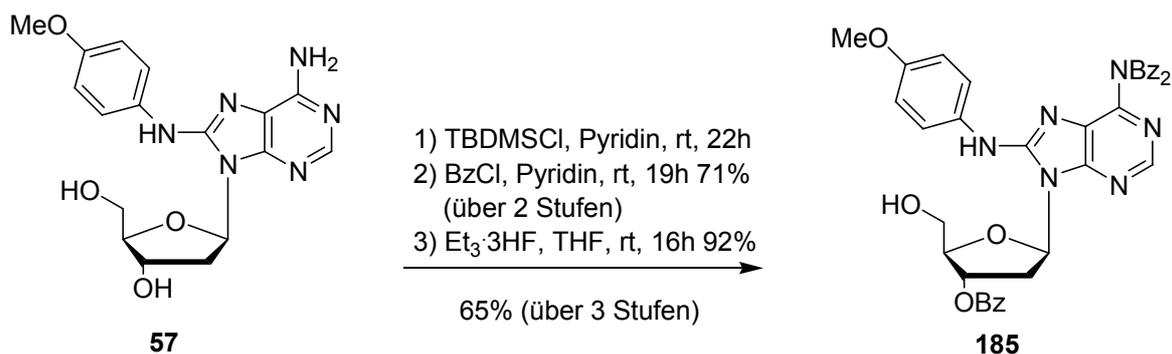
In einem weiteren Schritt wurde die freie Aminofunktion mit *N,N*-Dimethylformamid-dimethylacetal zu der *N*<sup>6</sup>-dmf-geschützten Verbindung **182** umgesetzt. Die anschließende Reaktion nach Mitsunobu-Protokoll mit Dibenzylphosphat, DIAD und Triphenylphosphin in Pyridin zeigte eine moderate Ausbeute von 25%. Desweiteren war im Verlauf der Reaktion die dmf-Schutzgruppe abgespalten worden, was vermutlich zu Nebenreaktionen geführt hat.



**Abb. 85:** Phosphorylierung nach Mitsunobu-Protokoll

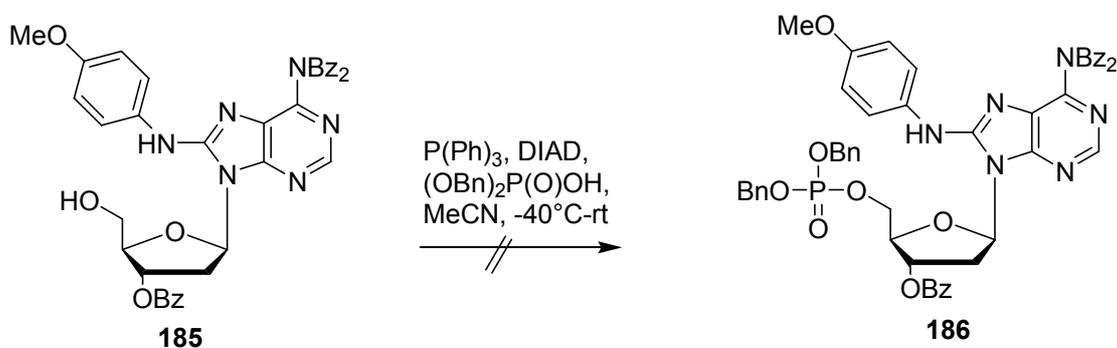
Die relativ geringe Menge (ca. 30 mg) an erhaltendem Produkt, welches zudem noch verunreinigt war, wurde versucht mit Wasserstoff und Palladium auf Kohle hydrogenolytisch von den Benzylgruppen zu befreien. Jedoch konnte das gewünschte Monophosphat **184** nicht isoliert werden.

Als alternative Ausgangsverbindung wurde der Benzoyl-geschützte Precursor **185** in einer dreistufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 65% dargestellt (Abb. 86, S. 72). Anders als bei der vorhergegangenen Synthese des Acetyl-geschützten Bausteins **180/182** wurde hier die Entfernung der TBDMS-Gruppe mit dem leicht sauren Reagenz Triethylamintrihydrofluorid in THF durchgeführt, um beide *N*<sup>6</sup>-Benzoyl-Schutzgruppen zu erhalten.



**Abb. 86:** Synthese des geschütztes Adduktes **185**

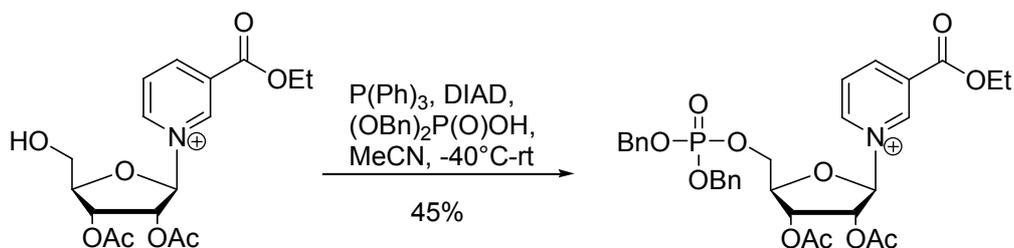
Bei der anschließenden Phosphorylierung unter Mitsunobu-Bedingungen konnte kein Umsatz zum Nucleotid beobachtet werden. (Abb. 87).



**Abb. 87:** Versuch der Phosphorylierung über Mitsunobu Reaktion

Auch die Umsetzung mit einem C8-(4-Aminobiphenyl)-dA-Derivat lieferte kein phosphoryliertes Produkt.

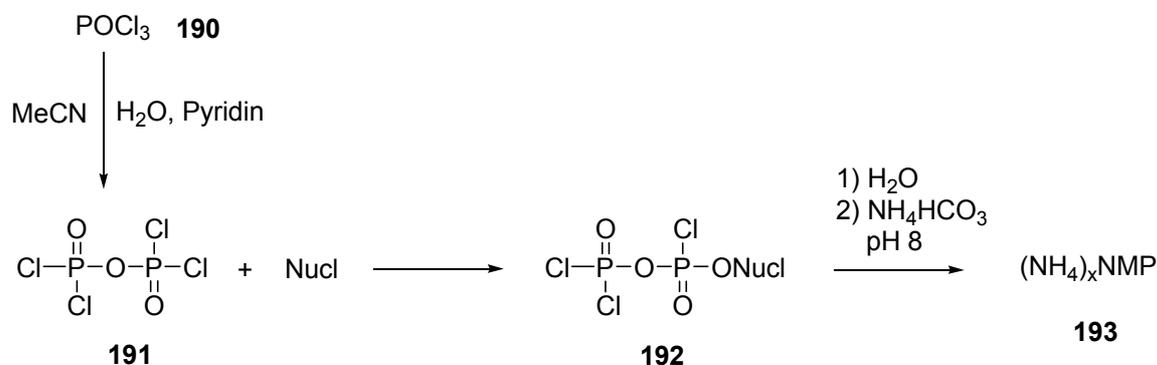
Die Anwendbarkeit dieser Methode zeigte eine von **S. WARNECKE** durchgeführte Reaktion, in der es ihr möglich war nach dem Mitsunobu-Protokoll eine Benzylgeschützte Phosphatgruppe einzuführen (Abb. 88).



**Abb. 88:** Von **S. WARNECKE** durchgeführte Phosphorylierung

#### 4.3.5. Phosphorylierung nach Sowa und Ouchi

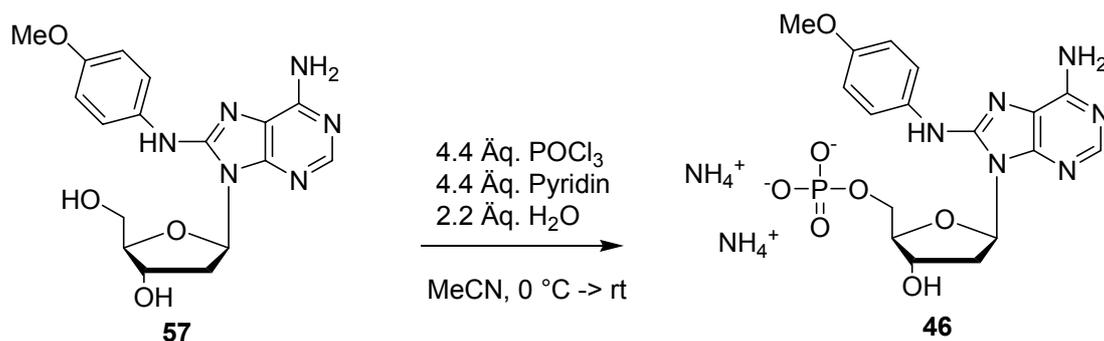
Eine gängige und häufig angewandte Methode, um 5'-Monophosphate von Nucleosiden zu erhalten, ist die Methode nach **SOWA** und **OUCHI**.<sup>[86]</sup> Mit ihr ist es möglich, ungeschützte Nucleoside selektiv an der 5'-Position zu phosphorylieren. Zunächst wird in einem vorgelagertem Schritt aus Phosphorylchlorid **190**, Pyridin und Wasser im Verhältnis 2:2:1 das Tetrachloropyrophosphat **191** gebildet. Durch Zugabe des Nucleosids bildet sich zuerst das Pyrophosphat-Nucleosid-Addukt **192**, welches später durch die Zugabe von Eiswasser hydrolysiert und durch die Zugabe von Ammoniumcarbonat in das Ammoniumsalz des Monophosphates überführt wird (Abb. 89).



**Abb. 89:** Synthese von NMP nach **SOWA** und **OUCHI**

Alle Versuche, 2'-dA und 2'-dG nach dieser Methode zu phosphorylieren, scheiterten – wahrscheinlich an der Labilität der glycosidischen Bindung sowie der unzureichenden Löslichkeit dieser Nucleoside.

Bei dem ersten Versuch, das freie C8-*p*-Anisidin-Addukt **57** nach der Methode von **SOWA** und **OUCHI** in das 5'-Monophosphat zu überführen, konnte diese Beobachtung bestätigt werden (Abb. 90, S. 74). Die Umsetzung scheiterte an der Unlöslichkeit des Adduktes **57** im standardmäßig für diese Reaktion verwendeten Lösungsmittel Acetonitril. Aus diesem Grund wurden zunächst verschiedene Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische, in denen eine Phosphorylierung nach **SOWA** und **OUCHI** prinzipiell möglich ist, auf ihr Vermögen dA-Addukte zu lösen, untersucht.



**Abb. 90:** Versuch der Darstellung des NMP **46** nach **SOWA** und **OUCHI**

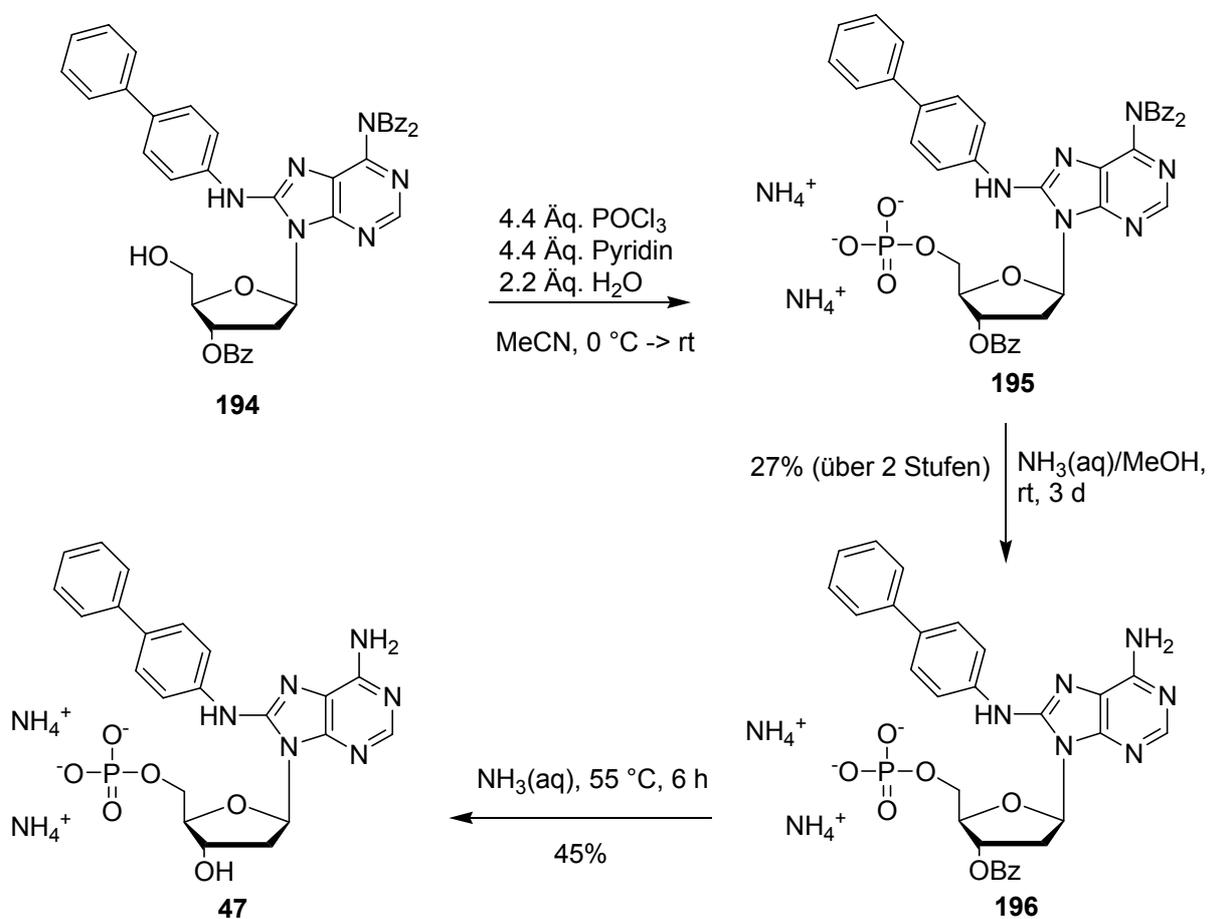
**SOWA** und **OUCHI** berichteten, dass alle Versuche 2'-dA und 2'-dG nach dieser Methode zu phosphorylieren, scheiterten und führten dies auf die Labilität der glycosidischen Bindung sowie die unzureichende Löslichkeit zurück.<sup>[86]</sup>

**Tabelle 15:** Lösungsmittelversuche zur Sowa Ouchi-Reaktion

Lösungsmittel(gemisch)	Löslichkeit
Acetonitril	schlecht
Dichlormethan	schlecht
Acetonitril/Dichlormethan	schlecht
Tetrahydrofuran	schlecht
1,4-Dioxan	schlecht
Nitromethan	schlecht
Aceton	schlecht
Aceton/Dichlormethan (1/1; 1/2 ; 1/3; 1/4)	schlecht bis mäßig
Aceton/Dichlormethan (5/2)	RT: mäßig bis gut; 0 °C: schlecht

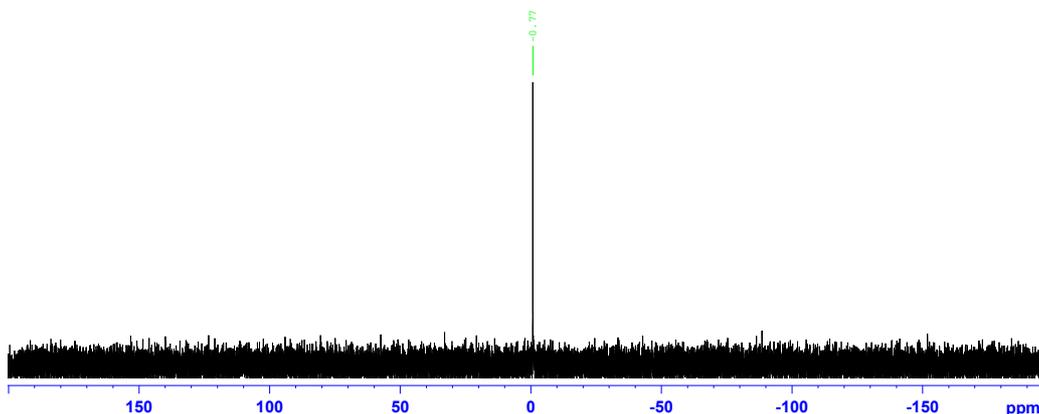
In Tabelle 15 auf Seite 74 sind Versuche zur Löslichkeit von Addukt **57** in verschiedenen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen, in denen eine Phosphorylierung nach **SOWA** und **OUCHI** möglich ist. In Dichlormethan, THF, Dioxan, Nitromethan und Aceton sowie einem Gemisch aus Acetonitril und Dichlormethan zeigte sich keine Verbesserung der Löslichkeit. Einzig das Lösungsmittelgemisch aus Aceton und Dichlormethan im Verhältnis 5:2 vermochte das Addukt zu lösen. Die Synthese des Nucleotids **46** nach der **SOWA** und **OUCHI**-Methode in besagtem Lösungsmittelgemisch schlug fehl, da sich die Löslichkeit bei tiefen Temperaturen, wie sie für diese Reaktion nötig sind, stark verschlechterte (o. Abb.). Um das Problem der Löslichkeit zu umgehen, wurde die Reaktion mit dem Benzoyl-geschütztem Addukt **194** durchgeführt. Das Ammoniumsalz des

$N^6$ -Dibenzoyl-3'-O-benzoyl-C8-(4-aminobiphenyl)-dA-Monophosphats **196** konnte mit einer Ausbeute von 27% erhalten werden. Obwohl es wahrscheinlich während des Gefriertrocknungsprozesses zu einem anteiligen Ausgasen von Ammoniak unter Protonierung der Phosphatgruppe kommt, wird bei der Berechnung der Ausbeute vereinfachend von dem Vorliegen des Di-Ammoniumsalzes ausgegangen. Bei der Abspaltung der Benzoylgruppen mit wässriger Ammoniaklösung in Methanol erwies sich die 3'-O-Benzoylgruppe als besonders stabil. Sie war nach dreitägiger Reaktionszeit noch immer vorhanden und ließ sich erst in konzentrierter Ammoniaklösung bei 55 °C im Thermomixer abspalten.

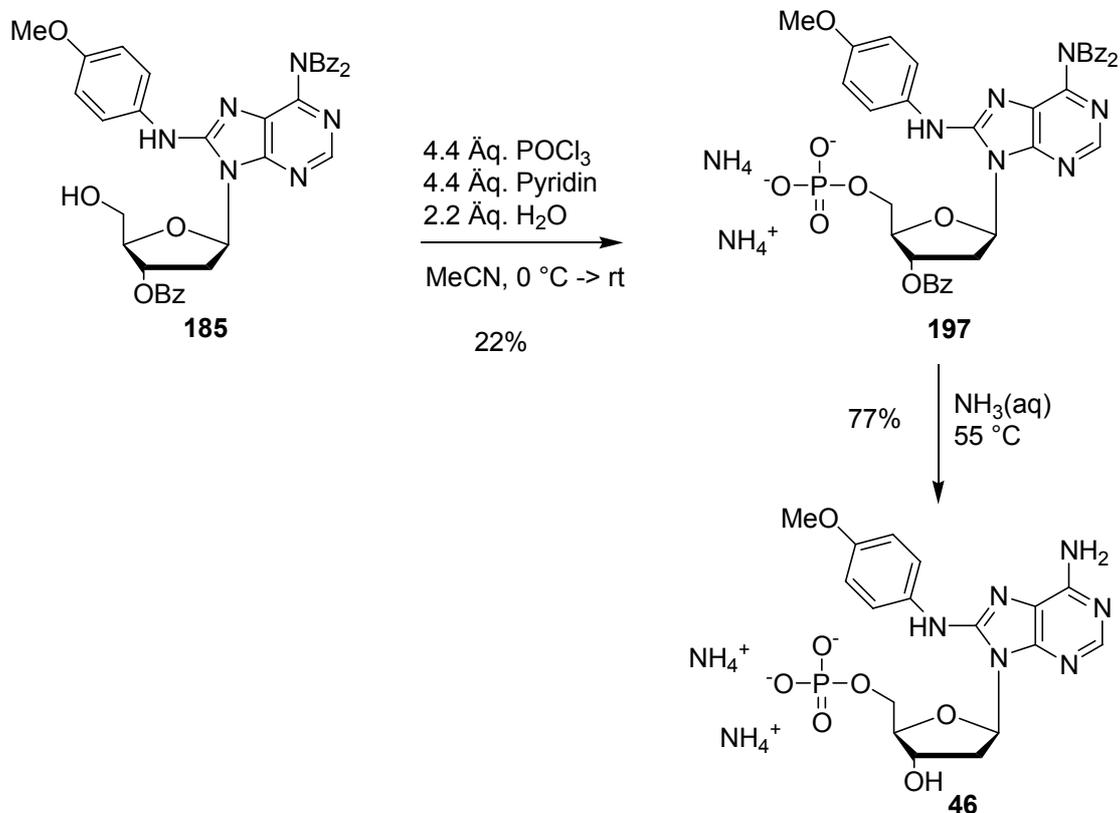


**Abb. 91:** Synthese des C8-abp-5'-Monophosphates **47**

So war es mit dieser Methode zum ersten Mal gelungen ein Monophosphat eines C8-dA-Adduktes darzustellen. In Abb. 92 auf Seite 76 ist das <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes des Monophosphates **47** dargestellt.


 Abb. 92:  $^{31}\text{P}$ -NMR von 47

Leider erwies sich die Darstellung des C8-Aminobipenyl-modifizierten Monophosphates **47** auf diesem Wege als nicht reproduzierbar. Bei der Darstellung des Monophosphates mit *p*-Anisidin-Modifikation wurde analog vorgegangen und der Benzoyl-geschützte Vorläufer **185** für die Reaktion nach **SOWA** und **OUCHI** eingesetzt. Auch diese Phosphorylierung konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die anschließende Debenzoylierung wurde diesmal direkt in konzentrierter Ammoniaklösung bei 55 °C durchgeführt und lieferte das Ammoniumsalz des Monophosphates **46** in 77% Ausbeute (Abb. 93).

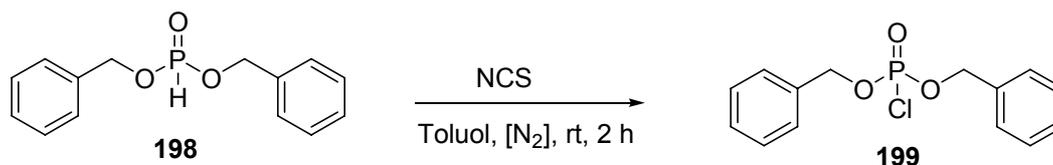

 Abb. 93: Darstellung des Monophosphates **46** nach **SOWA** und **OUCHI**

Mit dieser Methode konnten jetzt zum ersten Mal die Monophosphate C8-Arylamin-modifizierter dA-Derivate **46** und **47** dargestellt werden. Als problematisch bei der Umsetzung erwies sich die bereits von **SOWA** und **OUCHI** angesprochene Labilität der glycosidischen Bindung unter den Bedingungen der sauren Hydrolyse.

#### 4.3.6. Phosphorylierung mit Dibenzylphosphorylchlorid

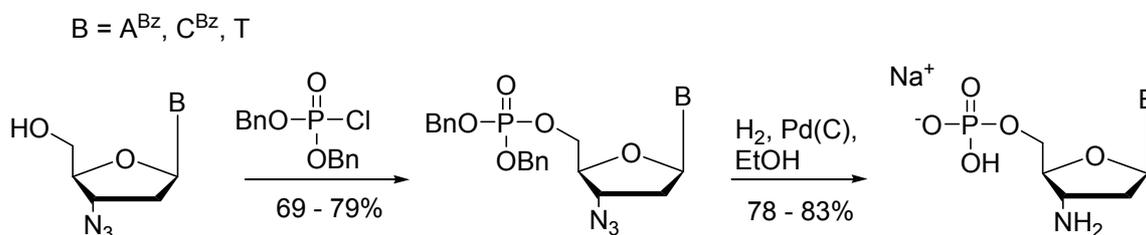
In Anlehnung an die Darstellung von Monosaccharid-1-monophosphaten aus  $\alpha$ -1-Brommonosacchariden und Dibenzylphosphat, kann die Darstellung der 5'-Monophosphate der C8-Addukte auch durch Reaktion von halogenierten Phosphorylderivaten mit 5'-OH-Nucleosiden realisiert werden.<sup>[87]</sup>

Das dazu benötigte Dibenzylphosphorylchlorid **199** wurde in einer zweistündigen Reaktion aus Dibenzylphosphit **198** mit *N*-Chlorsuccinimid in Toluol hergestellt und durch Schlenkfiltration ohne weitere Reinigung erhalten.<sup>[88]</sup>



**Abb. 94:** Darstellung von Dibenzylphosphorylchlorid **199**

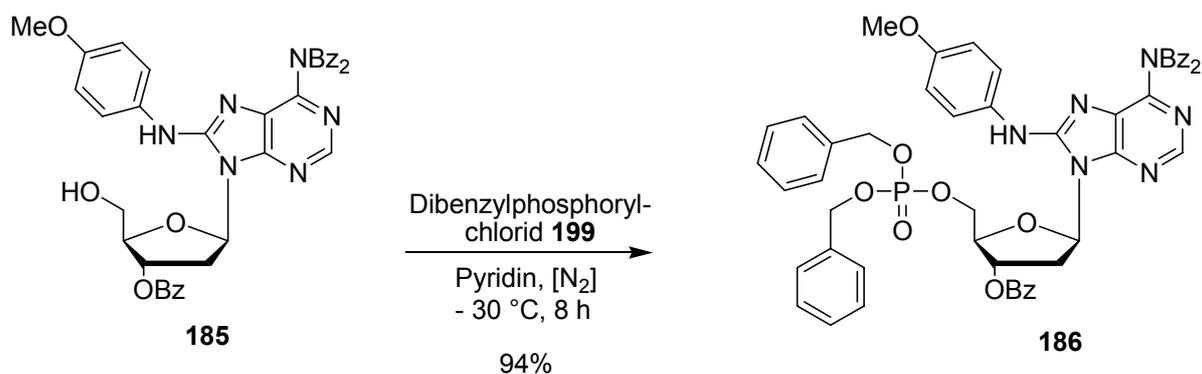
Parrallel zu den ersten eigenen Synthesen veröffentlichten **R. EISENHUTH** und **C. RICHERT** die Umsetzung von 3'-Azid-Nucleosid-Analogons (A, C und T) mit Dibenzylphosphorylchlorid zu den benzylgeschützten 5'-Monophosphaten. Nach der hydrogenolytischen Spaltung der Benzylgruppen erhielten sie die freien 5'-Monophosphate in guten Ausbeuten (Abb. 95).



**Abb. 95:** Synthese der Monophosphate nach **RICHERT**

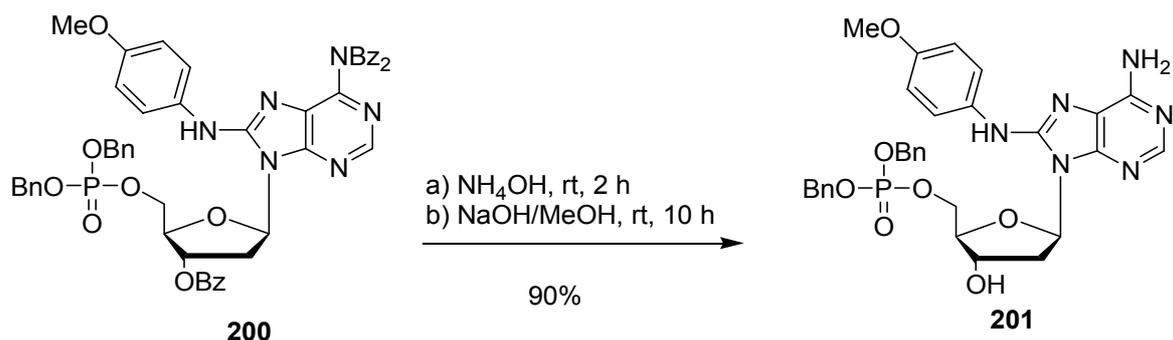
Unter den gleichen Reaktionsbedingungen konnte das Benzyl- und Benzoylgeschützte Monophosphat des C8-*p*-Anisidinadduktes **186** auf diesem Wege, der

Reaktion in Pyridin bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 5 Äquivalenten des Phosphorylchlorids **199**, in einer exzellenten Ausbeute von 94% synthetisiert werden (Abb. 96). Zunächst sah es im Dünnschichtchromatogramm in verschiedensten Laufmittelgemischen so aus, als würde sich das Edukt nicht umsetzen; erst ein Wechsel des Laufmittels auf Diethylether mit 1% Methanol zeigte einen deutlichen  $R_f$ -Wert Unterschied zwischen Edukt und Produkt an. Diese Synthese bringt zwei große Vorteile mit sich: zum einen lässt sich das Phosphorylierungsreagenz **199**, welches im starken Überschuss eingesetzt wurde, durch einfaches Waschen mit 5%iger Zitronensäure entfernen und zum anderen kann das Benzyl-geschützte Monophosphat über Normalphasen-Chromatographie gereinigt werden. Wenngleich auch angemerkt werden sollte, dass nicht umgesetztes Edukt nur sehr schwer vom Produkt abtrennbar ist.



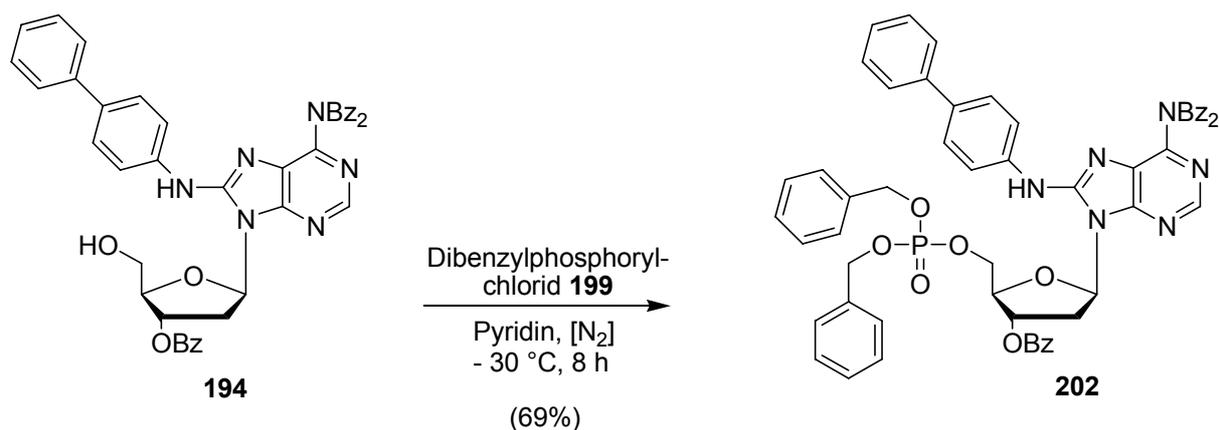
**Abb. 96:** Synthese des Nucleotids **186**

Damit eine RP-chromatographische Trennung nach Möglichkeit nur einmal notwendig ist, wurden zunächst die drei Benzoylgruppen abgespalten (Abb. 97). Da durch die Behandlung mit wässriger Ammoniaklösung keine komplette Umsetzung erreicht werden konnte, wurde die vollständige Entschützung mit 1%iger methanolischer Natronlauge durchgeführt.



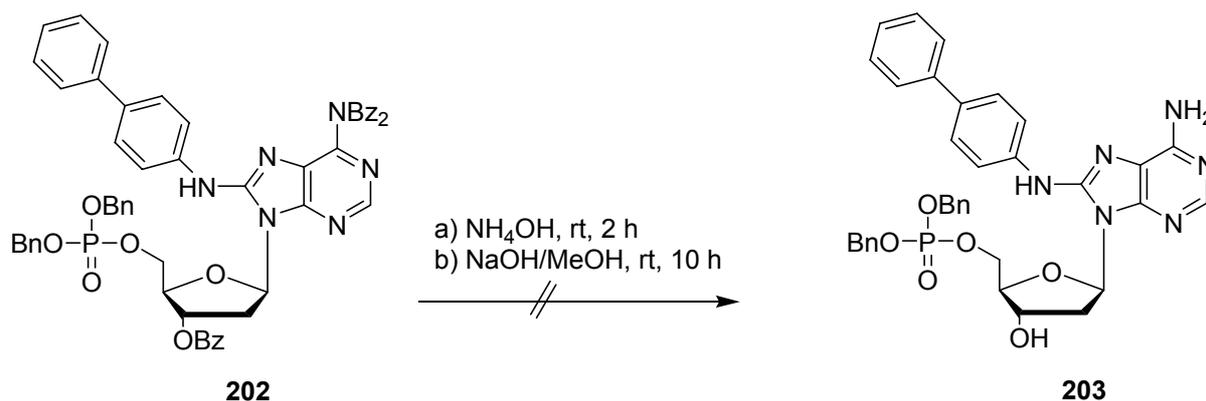
**Abb. 97:** Abspaltung der Bz-Gruppen

Auch die Phosphorylierung des zweiten Adduktes mit C8-Aminobiphenyl-Modifikation **194**, welches sich der reproduzierbaren Umsetzung zum Monophosphat nach **SOWA** und **OUCHI** unzugänglich zeigte, konnte erfolgreich durchgeführt werden (siehe Abb. 98).



**Abb. 98:** Synthese des 4-Abp-modifizierten Monophosphates **202**

Die dünnschichtchromatographische Verfolgung dieser Reaktion zeigte ebenfalls eine sehr gute Umsetzung zum Produkt, wobei auch in diesem Fall die  $R_f$ -Werte von Edukt und Produkt sehr nah beieinander lagen. Die Ausbeute von 69 % ergab sich durch einen nachträglichen Produktverlust beim Reinigungsschritt. Eine säulenchromatographische Trennung von Produkt und Eduktresten war nur mit dem Eluenten Diethylether plus 1% Methanol möglich (Abb. 98).



**Abb. 99:** Entfernung der Bz-Schutzgruppen 202

Die gewählte Schutzgruppenstrategie erwies sich bei der anschließenden Entfernung der Benzoyl-Schutzgruppen (**Abb. 99**) als problematisch. Das gewünschte Produkt konnte nur in Spuren erhalten werden. Bei nachfolgenden Synthesen wäre sicherlich die Verwendung von Acetyl- und Benzylschutzgruppen von Vorteil, sowie ein invertiertes Abspaltungsprozedere. Aus Zeitgründen konnte diese Synthesestrategie nicht mehr durchgeführt werden.

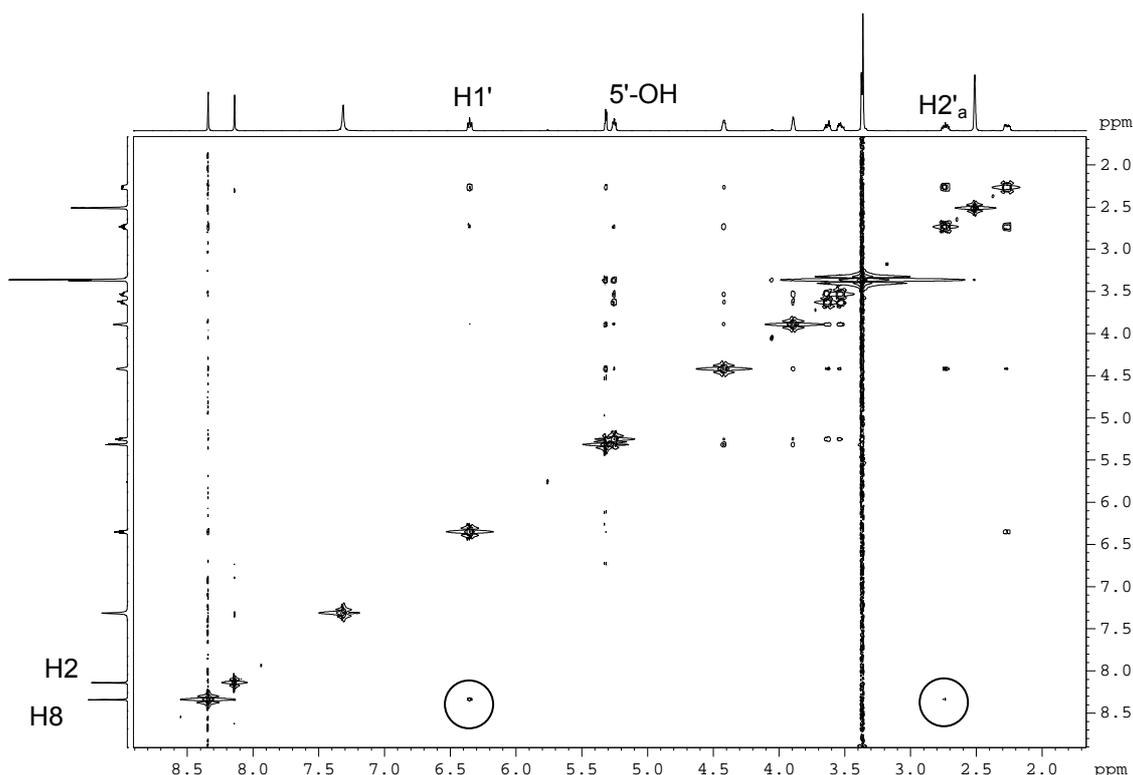
Für die Überführung von C8-Arylamin-dA-Addukten in die entsprechenden Monophosphate ist diese Methode jedoch der Herangehensweise nach **SOWA** und **OUCHI** bei weitem überlegen und ergibt die geschützten Phosphate in sehr guten Ausbeuten.

#### 4.3.7. Ergebnisse der Konformationsanalyse

Befindet sich das C8-Arylamin-modifizierte Nucleotid im B-DNA-Strang in der *anti*-Konformation, so kann sich das Arylamin störungsfrei in die Großen Furche einfügen. Dabei wird eine Erkennung des Addukts durch Reparaturenzyme nicht immer gewährleistet und eine Replikation an dem fehlerhaften Strang nicht verhindert. Während der Replikation liegt die DNA zum Teil einzelsträngig vor. Zu diesem Zeitpunkt kann durch die Rotation um die C5'-O5'-Achse durch Arylamin-Basen-Schichtung ein energieärmerer Zustand erreicht werden. In dieser Orientierung des Arylamin-Carcinogens kann die Replikation nicht mehr einwandfrei funktionieren, was zu einer Mutation führen kann. Aus diesem Grund sollten in diesem Kapitel die aus den NOESY-Spektren gewonnenen Informationen genutzt werden, um Aussagen über die Änderung der Hauptkonformation der C8-Addukte bzw. der Monophosphate der

C8-Addukte im Vergleich zu dA und dA-Monophosphat machen zu können. Zusätzlich zu den NOESY-NMR-Messungen wurden gated-decoupling-Spektren aufgenommen, aus denen sich über die Auswertung der CH-Kopplungskonstanten zwischen C8 und H1' sowie C4 und H1' eine Abschätzung über eine Verschiebung des Konformationsverhältnis machen lässt.

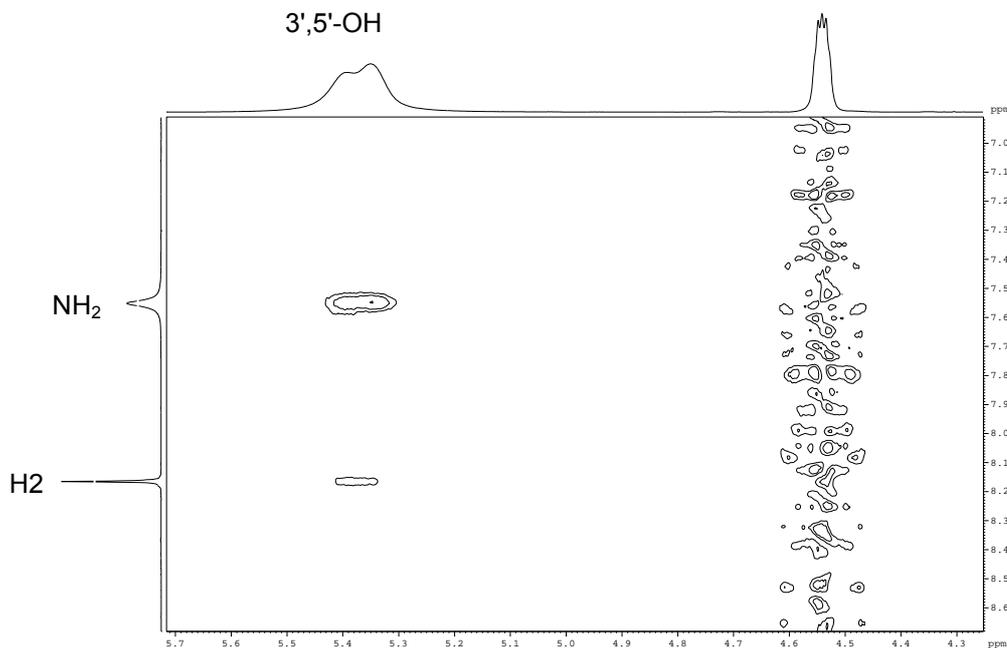
Zunächst wurde zur Veranschaulichung das NOESY-Spektrum von 2'-Desoxyadenosin **17** als Beispiel der Bevorzugung der *anti*-Konformation der glycosidischen Bindung betrachtet. In Abb. 100 auf Seite 81 sind die Crosspeaks des H8-Protons mit den beiden Zuckerprotonen H1' und einem der beiden H2'-Protonen zu sehen sowie ein schwächerer Crosspeak zwischen H8 und 5'-OH. Gleichzeitig kann kein Crosspeak zwischen dem H2-Proton und der 5'-OH-Gruppe beobachtet werden, so dass hier davon auszugehen ist, dass das Konformationsgleichgewicht zu Gunsten der *anti*-Konformation ausfällt, wie es für 2'-Desoxyadenosin bekannt ist.



**Abb. 100:** NOESY-Spektrum von 2'-Desoxyadenosin **17**

Als Beispiel für eine Bevorzugung der *syn*-Konformation der glycosidischen Bindung ist in Abb. 101 auf Seite 82 der Ausschnitt des NOESY-Spektrums von 8-Brom-dA **48** gezeigt. Als einzige Crosspeaks sind hier die zwischen 3'- und 5'-OH-Protonen und dem H2-Proton sowie der Aminogruppe zu sehen. Ein Crosspeak zwischen dem H2-

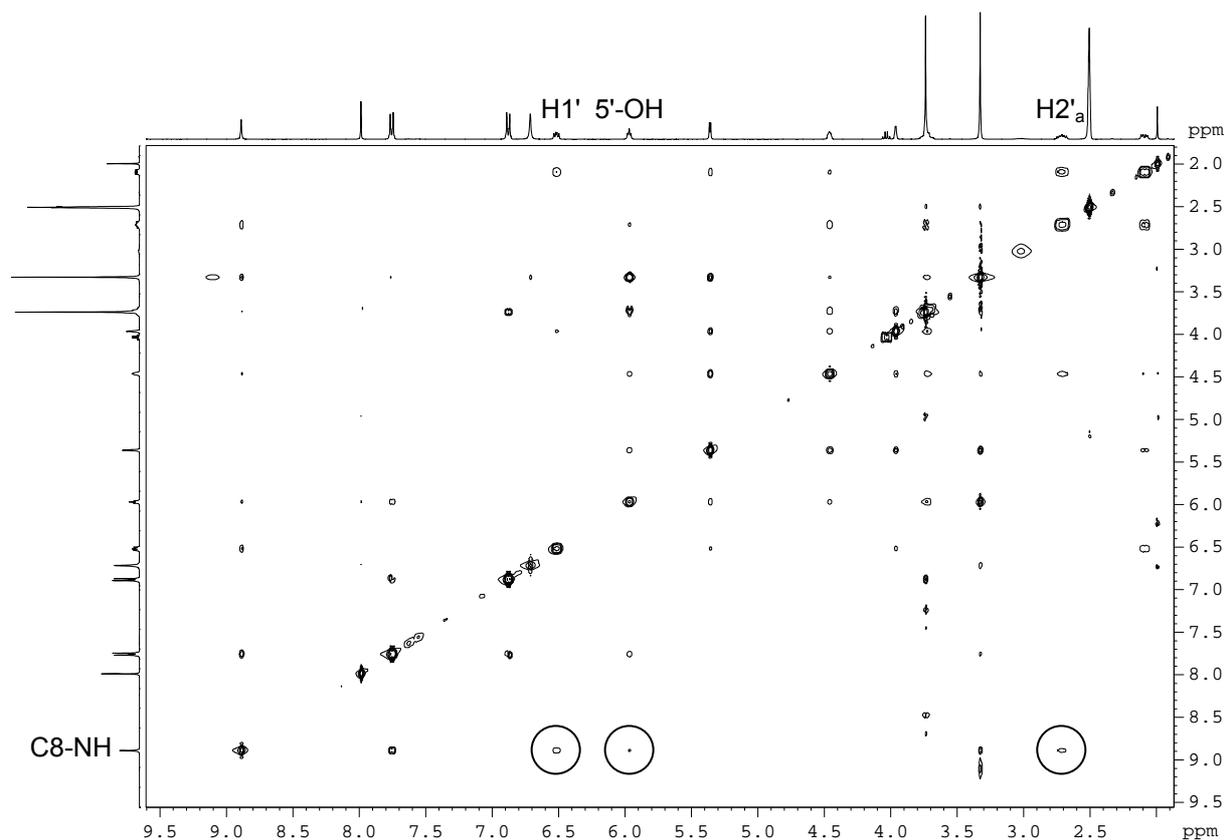
Proton der Base mit der 5'-OH-Gruppe des Zuckers ist nur in der *syn*-Konformation möglich.



**Abb. 101:** NOESY Ausschnitt von 8-BrdA **48**

Im Spektrum des C8-Anisidin-Adduktes **57**, in dem kein H8-Proton mehr enthalten ist, dafür aber ein C8-NH-Proton, können die Kupplungen dieses NH-Protons mit H1' sowie mit einem der beiden H2'-Protonen beobachtet werden, was eine *anti*-Dominanz andeuten könnte. Ein fehlender Crosspeak zwischen H2 und 5'-OH spricht ebenfalls für eine *anti*-Präferenz der glycosidischen Bindung. Der etwas schwächere Crosspeak zwischen dem C8-NH und der 5'-OH-Gruppe und dem H4' wird eindeutig der *anti*-Konformation zugesprochen, so dass davon auszugehen ist, dass das Konformationsgleichgewicht zur *anti*-Konformation hin verschoben ist (Abb. 102).

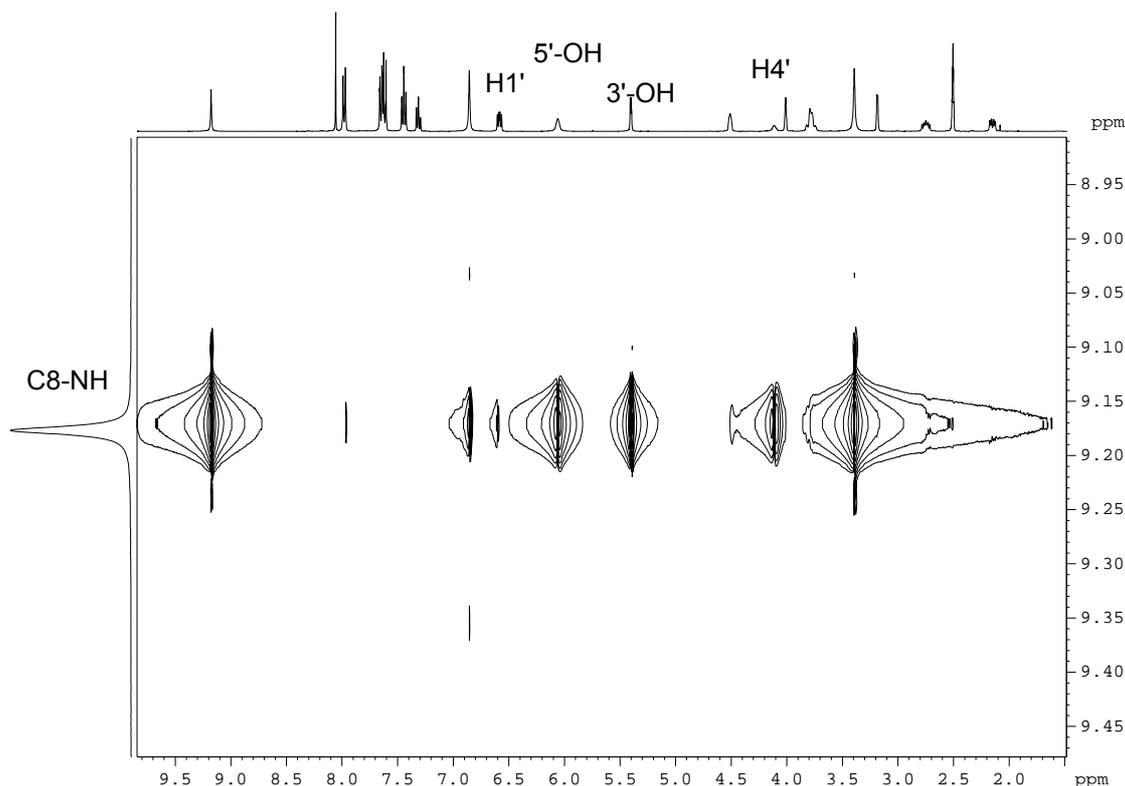
Die Auswertung der Kopplungskonstanten im "gated-decoupling"-Spektrum ergab  $\Delta J = [^3J_{C8,H1'} - ^3J_{C4,H1'}] = 1.5 \text{ Hz}$ , wobei  $\Delta J \geq 1.2 \text{ Hz}$  einer Dominanz der *anti*-Konformation entspricht.



**Abb. 102:** NOESY des C8-Anisidin-Adduktes **57**

Die Auswertung NOESY-Spektrum (Abb. 103, S. 84) des mit 4-Aminobiphenyl-modifizierten Adduktes **58** zeigte ein ähnliches Ergebnis. Auch hier konnten im NOESY die Crosspeaks zwischen C8-NH dem 5'-OH-Proton und dem H4' beobachtet werden, was ein Anzeichen für eine Bevorzugung der *anti*-Konformation ist. Als Unterschied ist jedoch zu sehen, dass der Crosspeak zwischen C8-NH und H1' sehr viel schwächer ausgeprägt ist und hier eine deutliche Kupplung zwischen 3'-OH und C8-NH besteht, so dass man in diesem Fall davon ausgehen kann, dass die Tendenz zu einer anderen Konformation besteht, in der sich die Base mit der 4-Aminobiphenylmodifikation in eine günstigere Lage dreht. Wie auch für das *p*-Anisidin-Addukt **57** konnte keine Kupplung des H2-Protons mit 3'- oder 5'-OH beobachtet, so dass eine Bevorzugung der *syn*-Konformation ausgeschlossen werden kann.

Aus dem "gated-decoupling"-Spektrum ergab sich  $\Delta J = 1.4$  Hz, so dass auch in diesem Fall von einer Bevorzugung der *anti*-Konformation auszugehen ist.



**Abb. 103:** Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum des abp-Adduktes **58**

Für das 2'-Desoxyadenosinmonophosphat, welches als Vergleich zu den beiden C8-Arylamin-modifizierten 5'-Nucleotiden **46** und **47** vermessen wurde, zeigte eine deutliche Verschiebung zur *anti*-Konformation durch die Kupplung zwischen H8 mit H1', H2' und H5' im NOESY. Ein leichter *syn*-Einfluss machte sich durch eine sehr schwache Kupplung zwischen dem H2 und dem H5' bemerkbar.

Für die beiden C8-Arylamin-modifizierten Monophosphate **46** und **47** konnten keine aussagekräftigen "gated-decoupling"-Spektren erhalten werden. Die Auswertung der NOESY-Spektren der beiden C8-Arylamin-modifizierten Monophosphate, in Abb. 104 ist das Spektrum des C8-4-Aminobiphenyl-modifizierten 5'-Monophosphates **47** dargestellt, zeigte nur Crosspeaks (C8-NH mit H1' und H2'), die auf eine *anti*-Konformation hinweisen.

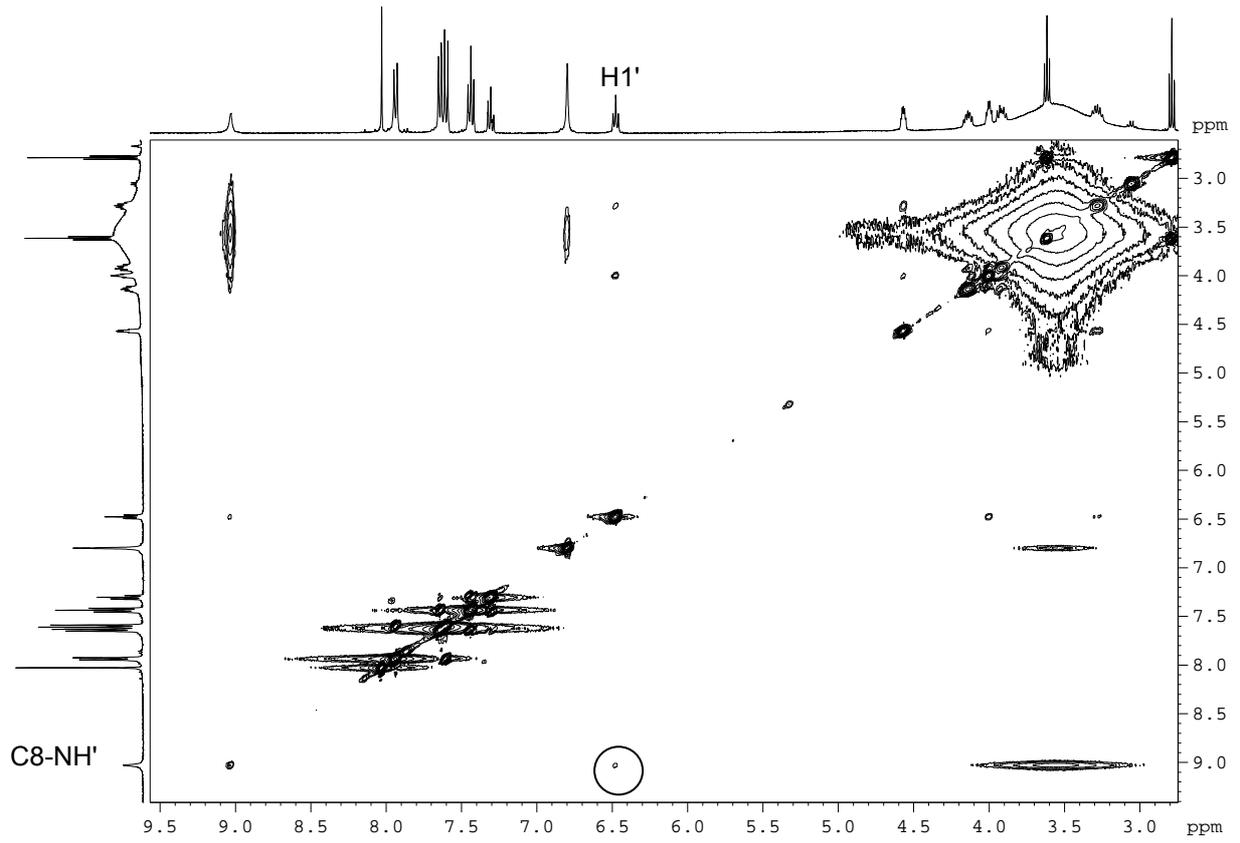
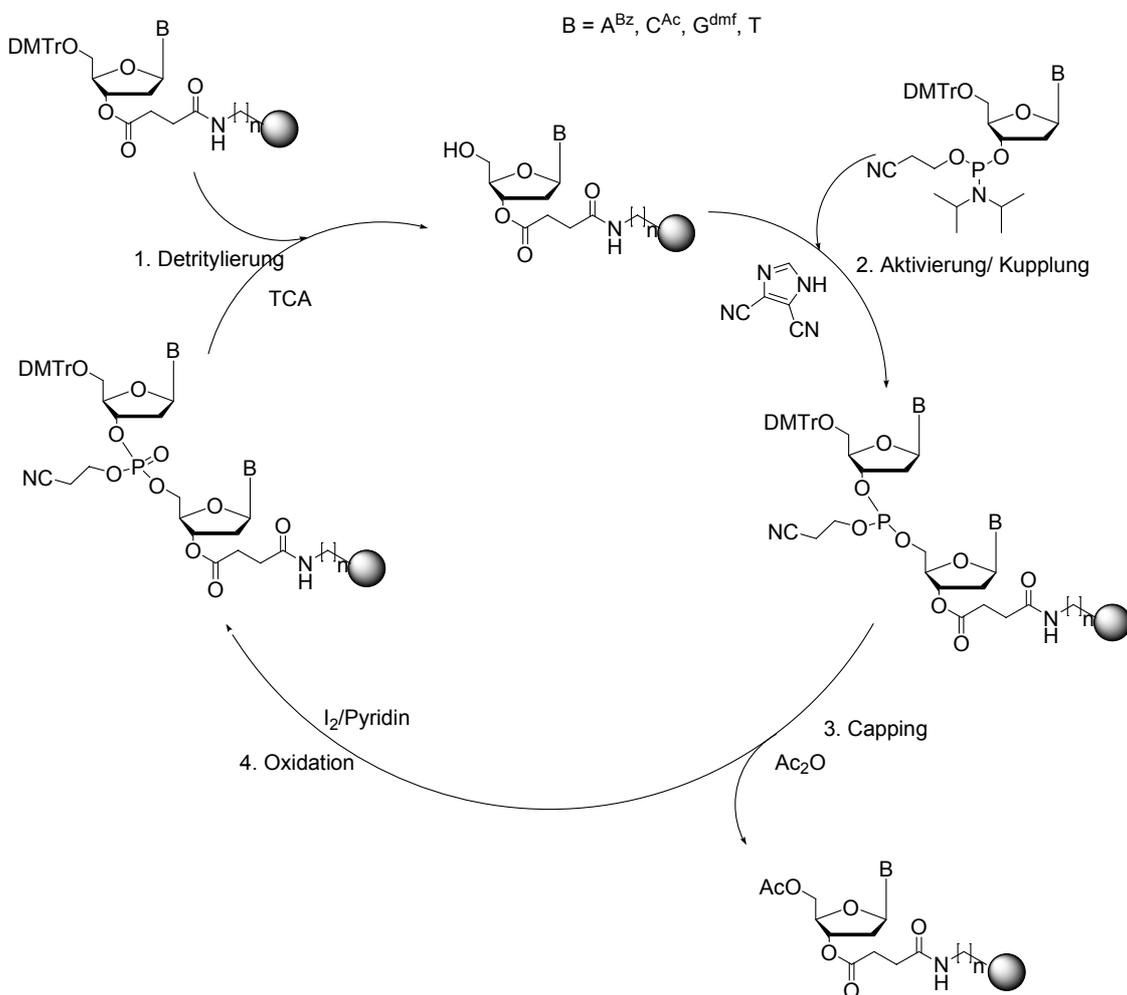


Abb. 104: NOESY des C8-abp-Monophosphates 47

#### 4.4. Arylamin-modifizierte Oligonucleotide

Oligonucleotide können wie Peptide durch die automatisierte Festphasensynthese dargestellt werden. Von den unterschiedlichen Methoden, die sich im Wesentlichen in der Bildung des Phosphatesters unterscheiden, hat sich die von **CARUTHERS** und **BEAUCAGE** etablierte P(III)-Phosphoramiditmethode durchgesetzt.<sup>[89]</sup> Entgegengesetzt der Biosynthese von DNA, welche von 5'- in 3'-Richtung erfolgt, wird die DNA im Synthesizer von 3' zu 5' verknüpft. Dazu wird das erste Nucleosid über einen *longchainaminoalkyl*-Linker (LCAA) mit der 3'-OH-Funktion an die feste Phase aus Glas, das sogenannte *controlled pore glas* (CPG), gebunden.



**Abb. 105:** DNA-Synthesecyclus nach der Phosphoramidit-Methode

Der Cyclus beginnt mit dem Entfernen der 5'-O-DMTr-Schutzgruppe, die sich aufgrund der gewählten Schutzgruppenorthogonalität sauer mit Trichloressigsäure

(TCA) abspalten lässt, wohingegen die Entfernung der restlichen Schutzgruppen an den Basen und am Phosphor sowie die Abspaltung Oligonucleotids von der festen Phase im basischen Milieu erfolgen. Ein weiterer Vorteil der Verwendung der DMTr-Schutzgruppe liegt in der UV-Detektion des abgespaltenen Trityls, wodurch die Kupplungsausbeute der einzelnen Schritte sowie die Gesamtausbeute gemessen werden kann. Im zweiten Schritt folgt die Kupplung des zweiten Nucleosids, welches an der 3'-Position eine Diisopropylphosphoramiditeinheit trägt, die in einem vorhergegangenen Schritt durch die milde Säure 4,5-Dicyanomimidazol (DCI) aktiviert wurde. Die 5'-OH-Funktionen, die nicht mit einem Phosphoramidit gekuppelt wurden, werden mit Essigsäureanhydrid verester, damit sie aus dem nächsten Cyclus entfernt sind, da es sonst zu unregelmässigen Ketten kommen würde. Nach Oxidation zur Phosphor(V)-Verbindung, kann der zweite Cyclus durch die Zugabe des nächsten Phosphoramidits gestartet werden.

#### 4.4.1. Synthese der modifizierten Oligonucleotide

Die zuvor synthetisierten Phosphoramidite der C8- und N<sup>6</sup>-Addukte von dA sollten im Folgenden sequenzspezifisch in Oligonucleotide eingebaut werden. Um die Auswirkungen solcher Arylamin-Addukte in der DNA möglichst gut untersuchen zu können, wurden drei verschiedene Sequenzen zum Einbau ausgewählt.

EcoRI	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'
mod. NarI	5'-d(CTC GGC ACC ATC)-3'
Marx	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'

**Abb. 106:** Sequenzen der zu synthetisierenden Oligonucleotide

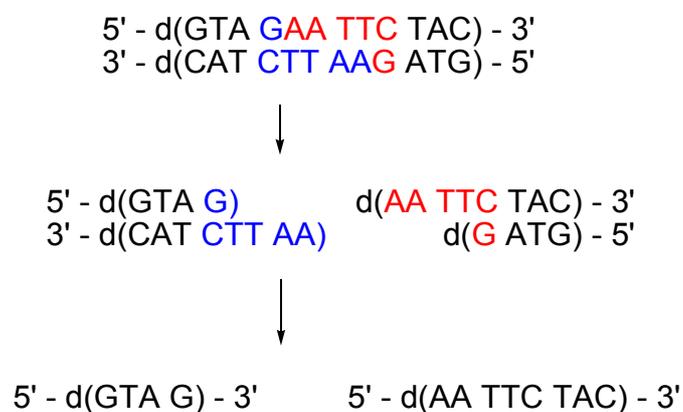
Alle Oligonucleotide sollten hinsichtlich der Schmelztemperatur und Konformation untersucht und verglichen werden. Die Oligonucleotide der EcoRI-Reihe sollten zusätzlich einem Enzymabbau mit dem EcoRI-Enzym unterzogen werden und die 30-mere in Primer Verlängerungsstudien als Template eingesetzt werden.

Die Synthese der modifizierten und unmodifizierten Oligonucleotide erfolgte nach dem Standardprotokoll mit der Phosphoramidit-Methode am DNA-Synthesizer im 1µmol-Maßstab. Zur Synthese der modifizierten Oligonucleotide wurde das

entsprechende Phosphoramidit vorher manuell in 0.5 mL Acetonitril gelöst und zusätzlich ein dritter Kupplungsschritt eingefügt sowie die Kupplungszeit bei jedem der drei Schritte von 15 auf 500 Sekunden verlängert. Die Synthese erfolgte im DMTr-Off Modus, das bedeutet, dass nach dem letzten Kupplungsschritt die DMTr-Schutzgruppe abgespalten wurde. Die Ausbeute über jeden Kupplungsschritt wurde durch den Tritylassay UV-spektroskopisch bestimmt und lag für die unmodifizierten Phosphoramidite bei 98 bis 100%, für die modifizierten Phosphoramidite bei über 90%. Die anschließende Abspaltung vom Träger sowie die Abspaltung der Schutzgruppen erfolgten in konzentrierter wässriger Ammoniaklösung bei 55 °C und mit dem Zusatz von  $\beta$ -Mercaptoethanol für 3 Stunden. Jedes Oligonucleotid wurde mittels HPLC über eine RP-18-Säule gereinigt. Als Eluent diente hierbei ein Acetonitrilgradient in einem Triethylammoniumacetatpuffer pH 6.9 und die Detektion erfolgte bei 260 nm. Die Fraktionen, die das gleiche Produkt enthielten wurden vereinigt und die Menge an enthaltenem Oligonucleotid über den OD-Wert bestimmt. Zur Charakterisierung wurden jeweils 50 pmol der Oligonucleotide mittels ESI-MS in einer Lösung aus 20% Isopropanol und 1% Triethylamin in Wasser vermessen.

#### 4.4.2. EcoRI-Sequenz

Die palindromische EcoRI Sequenz beinhaltet das Erkennungsmotiv für das Restriktionsenzym EcoRI.<sup>[90]</sup> Diese Endonuclease erkennt die Sequenz GAA TTC im 12-mer und schneidet zwischen Position 4 und 5 den Doppelstrang in zwei Stücke mit sogenannten "sticky ends", aus denen sich bei Raumtemperatur ein 4-mer und ein 8-mer bildet (Abb. 107).



**Abb. 107:** Restriktionsabbau durch das EcoRI Enzym

Um etwas über den Einfluss der Modifikationen auf die Wirkung des Enzyms aussagen zu können, wurden zunächst Oligonucleotide hergestellt, in denen jeweils eine der vier Adenin-Basen durch ein C8-Arylamin-modifiziertes A ausgetauscht wurde. Um einen Vergleich zwischen einem Grenzcarcinogen und einem starkem Carcinogen zu ermöglichen, wurde jede dieser Positionen (3.A, 5.A, 6.A und 11.A) mit *p*-Anisidin und mit 4-Aminobiphenyl modifiziert (**207** - **214**, Tabelle 16, S. 89).

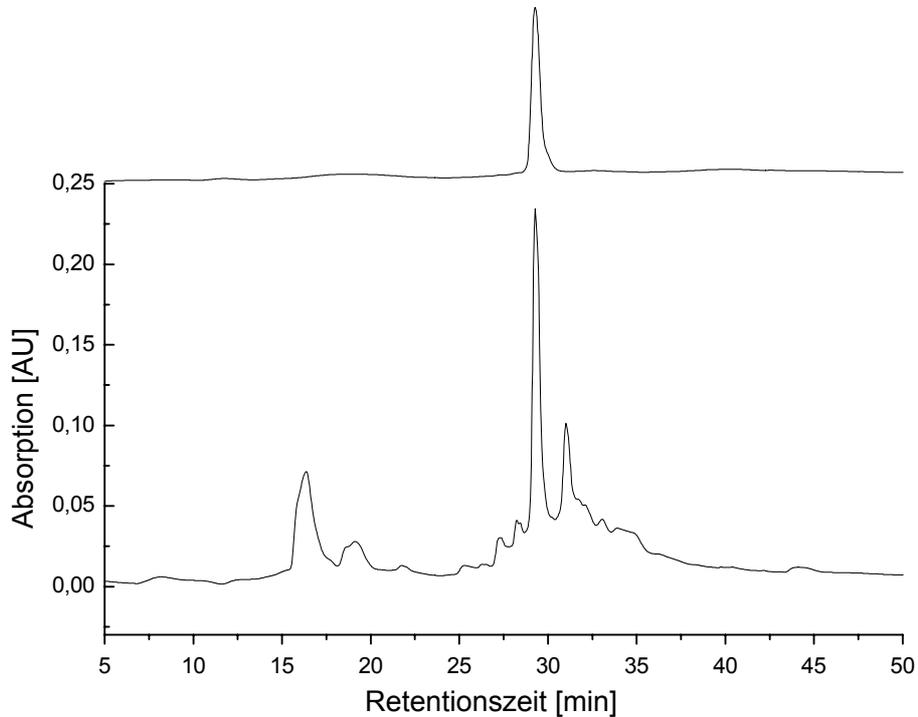
Um eine große Bandbreite an modifizierten Oligonucleotiden zu haben, wurden noch das an der 5. Position C8-Anilin-modifizierte Oligonucleotid **206** sowie die ebenfalls an der 5. Position *N*<sup>6</sup>-Anilin-, Anisidin- und Aminobiphenyl-modifizierten Oligonucleotide **215** – **217** dargestellt (siehe Tabelle 16).

**Tabelle 16:** Zusammenfassung der synthetisierten EcoRI-Oligonucleotide

Oligonucleotid	Modifikation	Sequenz
<b>205</b>	-	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'
<b>206</b>	C8-anil	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'
<b>207</b>	C8-anis	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'
<b>208</b>	C8-abp	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'
<b>209</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA <sup>A</sup> TTC TAC)-3'
<b>210</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA <sup>A</sup> TTC TAC)-3'
<b>211</b>	C8-anis	5'-d(GT <sup>A</sup> GAA TTC TAC)-3'
<b>212</b>	C8-abp	5'-d(GT <sup>A</sup> GAA TTC TAC)-3'
<b>213</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA TTC T <sup>AC</sup> )-3'
<b>214</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA TTC T <sup>AC</sup> )-3'
<b>215</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -anil	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'
<b>216</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -anis	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'
<b>217</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -abp	5'-d(GTA G <sup>AA</sup> TTC TAC)-3'

Alle synthetisierten Oligonucleotide wurden an einer Reversed-Phase HPLC gereinigt. Dazu wurde das Oligonucleotid zuvor mit wässriger konzentrierter Ammoniaklösung bei 55 °C von den Schutzgruppen entfernt und anschließend filtriert. Von dem in Wasser gelösten Roh-Oligonucleotid wurde zunächst ein Analytiklauf durchgeführt. Als Eluent diente ein Triethylammonium-Acetat-Puffer pH 6.9 mit einem von 0 auf 23% ansteigendem Acetonitrilgradienten über 50 Minuten. Die gesammelten Fraktionen mit einem Volumen von ca. 0.5 bis 1 mL wurden einzeln durch Analytikläufe auf ihre Reinheit überprüft. In Abb. 108 auf Seite

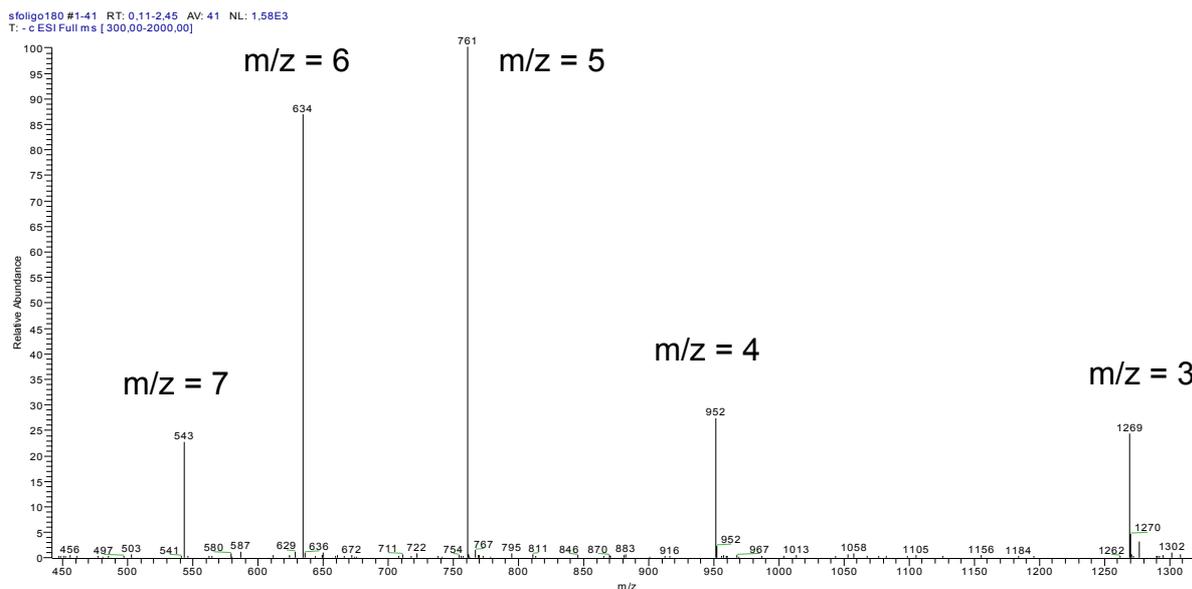
90 ist das Roh-Chromatogramm des C8-anis-(5.A)-modifizierten Oligonucleotides **207** mit der EcoRI Sequenz dargestellt. Darüber ist der Lauf des gereinigten und isolierten Oligonucleotids zu sehen.



**Abb. 108:** HPLC Chromatogramm des C8-anis(5.A)-modifizierten EcoRI-Oligonucleotides **207**

vor (unten) und nach (oben) der Trennung

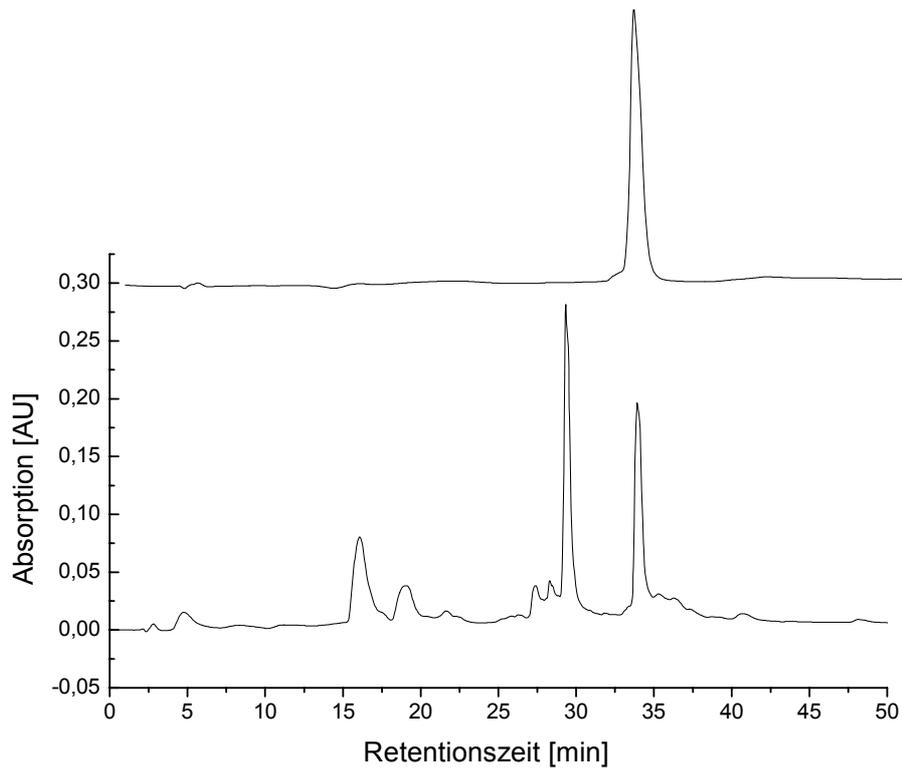
Das gereinigte Oligonucleotid wurde anschließend mit Hilfe der ESI-MS-Spektrometrie charakterisiert und auf seine Reinheit überprüft. In Abb. 109 auf Seite 91 ist exemplarisch das ESI-MS-Spektrum des an der 5. Base C8-*p*-Anisidin-modifizierten Oligonucleotids **207** dargestellt.



**Abb. 109:** ESI-MS-Spektrum von Oligonucleotid **207** (C8-anis 5.A)

Zu sehen sind darin die Peaks, die durch das Masse/Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) gegeben sind, da das Oligonucleotid als mehrfach geladenes Anion vorliegt. So geht  $m/z = 1269$  aus dem dreifach und  $m/z = 952$  aus dem vierfach geladenen Oligonucleotid hervor.

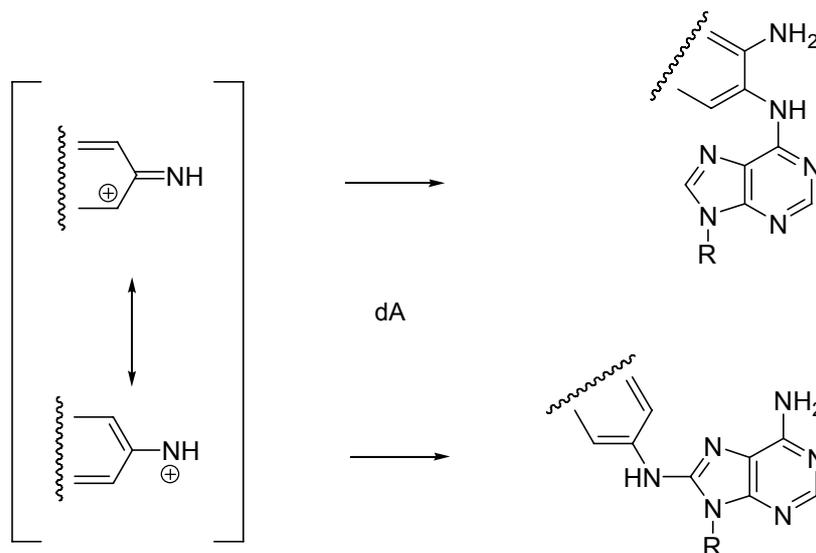
Für das 4-Aminobiphenyl-modifizierte Oligonucleotid **208** ist im Roh-Chromatogramm in Abbildung 92 unten ein Peak erkennbar, der von deutlich größerer Intensität als das gewünschte Oligonucleotid ist. Hierbei handelt es sich um ein Bruchfragment, ein Oligonucleotid, welches um einige Basen kürzer ist, da es vermutlich beim Entschützen mit wässriger Ammoniaklösung zwischen der modifizierten Base und dem restlichen Strang gespalten wurde. Die ESI-MS-spektrometrische Untersuchung bestätigte, dass es sich hierbei um das 7-mer 5'-d(A TTC TAC)-3' handelt. Dieses verkürzte Oligonucleotid konnte nicht während der DNA-Synthese entstanden sein, da der Tritylassay, der die Ausbeute über jeden Schritt anzeigt, und auch für das 4-Aminobiphenyl-modifizierte Phosphoramidit **101** eine Einbaurate von 92% angezeigt hat. Interessant ist, dass dieses Phänomen beim 4-Aminobiphenyl-modifizierten Oligonucleotid **208** sehr stark auftritt und beim *p*-Anisidin-modifizierten Oligonucleotid **207** (Abb. 108, S. 90) vernachlässigbar klein ist.



**Abb. 110:** HPLC Chromatogramm des C8-abp(5.A)-modifizierten EcoRI-Oligonucleotides **208**  
vor (unten) und nach (oben) der Trennung

### **$N^6$ -modifizierte EcoRI-Oligonucleotide: Reduktion der Nitrofunktion**

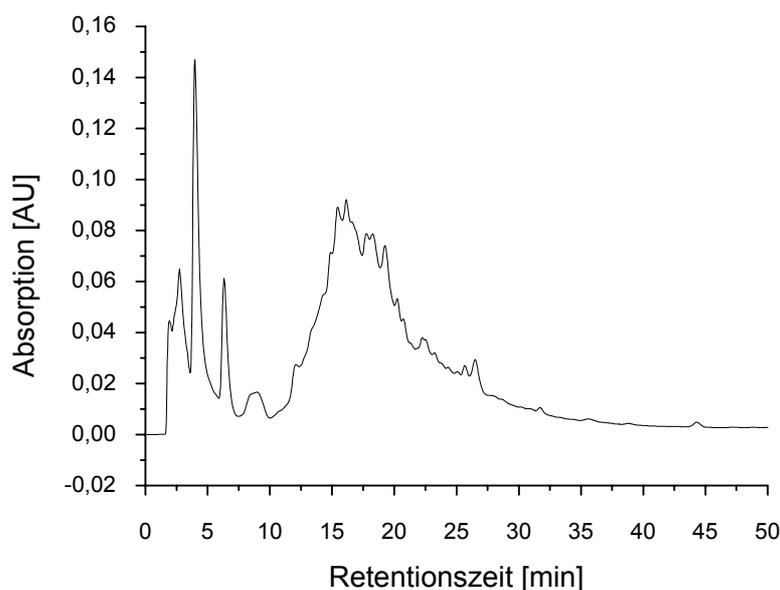
Wie unter 2.4 (ab Seite 9) beschrieben, entstehen die  $N^6$ -Arylamin-Addukte (Abb. 111 rechts oben) durch den elektrophilen Angriff der exocyclischen Aminofunktion am aromatischen Ring des Arylnitreniumions **13** (Abb. 111 links).



**Abb. 111:** Entstehung der  $N^6$ - bzw, C8-dA-Addukte *in vivo*

Somit enthält das Addukt in der *ortho*-Position zur neu entstandenen C-N-Bindung eine Aminofunktion. Addukte, die aus Arylaminen hervorgehen, die *ortho*-Substituenten besitzen, wie zum Beispiel das 2,6-Dimethylanilin **64**, tragen diese freie Aminofunktion in der *para*-Position. Da diese während der Synthese der Phosphoramidite und später bei der DNA-Synthese als Nitrofunktion geschützt vorlag (vgl. 4.2.4.2), musste sie nach erfolgter Oligonucleotidsynthese zum Amin reduziert werden. **TAKAMURA-ENYA** *et al.* publizierten 2006 die Reduktion einer Nitrogruppe an einem  $N^2$ -dG-Arylamin-modifizierten Oligonucleotids unter Verwendung von Zinkstaub in Citrat-Puffer bei pH 3.5.<sup>[91]</sup>

Die ersten Versuche der Reduktion an den  $N^6$ -dA-Arylamin-modifizierten Oligonucleotiden unter den von **TAKAMURA-ENYA** beschriebenen Bedingungen resultierten in einer kompletten Zersetzung der Oligonucleotide wie dies in Abb. 112 auf Seite 93 für das  $N^6$ -(2-Nitroanilin)-dA-modifizierte EcoRI-Oligonucleotid **215-NO<sub>2</sub>** zu sehen ist.



**Abb. 112:** HPLC-Chromatogramm des 1. Versuchs der Reduktion bei pH 3.5 am Oligonucleotid **215-NO<sub>2</sub>**

Erst die Umstellung des pH-Wertes von pH 3.5 auf pH 5 des Citratpuffers machte es schließlich möglich mit dieser Methode die Nitrogruppe der  $N^6$ -Nitroarylamin-modifizierten Oligonucleotide zu reduzieren und die gewünschten Oligonucleotide

**215**, **216** und **217** zu erhalten. In Abb. 113 auf Seite 95 ist die HPLC-chromatographische Verfolgung der Reduktion des  $N^6$ -Nitroanilin-modifizierten Oligonucleotides **215-NO<sub>2</sub>** zu sehen. In diesem Fall war das NO<sub>2</sub>-Oligonucleotid mit einer Retentionszeit von 24.8 min nach 5 h komplett verschwunden und dafür ein Oligonucleotid mit einer Retentionszeit von 22.3 min entstanden. Erste Anzeichen für eine erfolgreiche Reduktion waren zum einen die Farbänderung der Oligonucleotidlösung von gelb zu farblos und zum anderen die Verschiebung des UV-Absorptionsmaximums für die Arylamin-Modifikation von ca. 380 nm auf 320 nm. Nach einer erneuten Reinigung (siehe Abb. 114, S. 96) wurde die vermutete Reduktion der Nitrogruppe zur Aminofunktion durch Coinjektion mit dem  $N^6$ -Nitroanilin-modifizierten Oligonucleotid **215-NO<sub>2</sub>** und durch ESI-MS-Spektrometrie des isolierten Oligonucleotides **215** bestätigt.

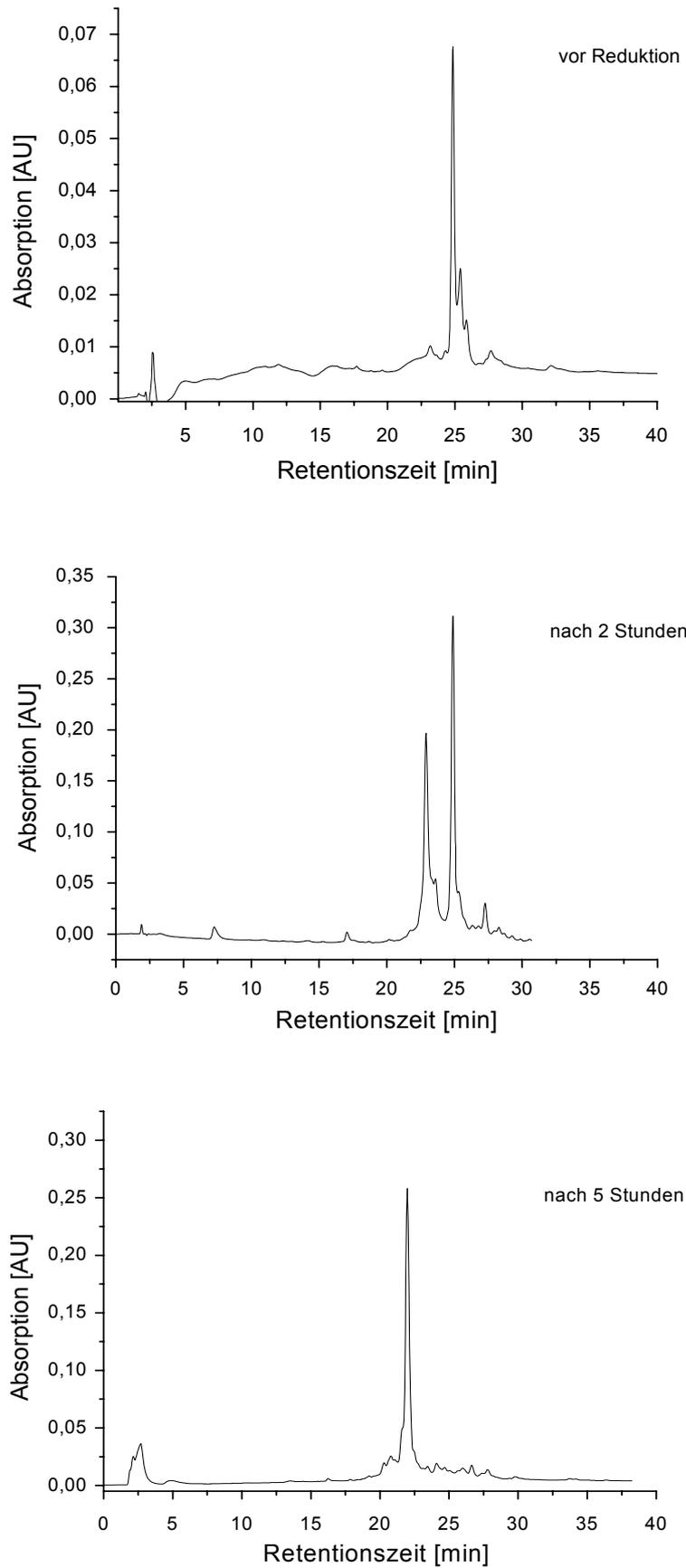
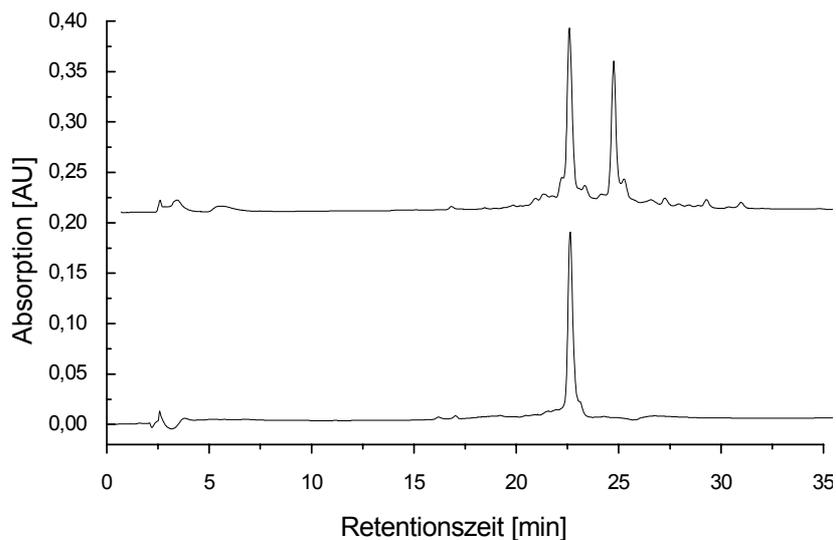
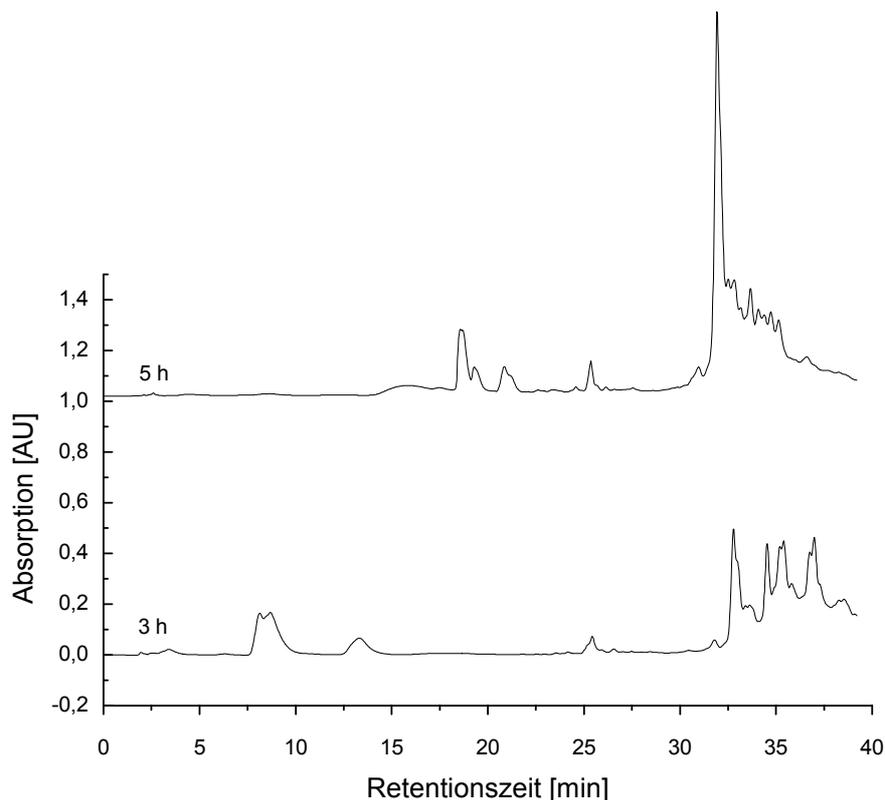


Abb. 113: HPLC-Verfolgung der Reduktion von EcoRI- $N^6$ -NO<sub>2</sub>-anilin **215-NO<sub>2</sub>**



**Abb. 114:** HPLC-Chromatogramme der Coinjektion von **215-NO<sub>2</sub>** und **215** (oben) und des isolierten Oligonucleotids **215** (unten)

Ein Phänomen, welches bei allen *N*<sup>6</sup>-Nitroarylamin-modifizierten Oligonucleotiden aufgetreten ist, ist eine deutliche Zunahme der Zeit, die nötig ist, um alle Basenschutzgruppen vom Oligonucleotid abzuspalten als für die C8-modifizierten und unmodifizierten Oligonucleotide. In Abb. 115 auf Seite 97 sind die HPLC-Chromatogramme des EcoRI-*N*<sup>6</sup>-NO<sub>2</sub>-anilin Oligonucleotides **215-NO<sub>2</sub>** nach drei (unten) und nach fünf (oben) Stunden Entschützungzeit in wässrigem Ammoniak bei 55 °C dargestellt. Nach drei Stunden, der normalen Entschützungsdauer von unmodifizierten sowie den C8-modifizierten Oligonucleotiden, zeigte die HPLC-chromatographische Verfolgung eine unvollständige Entschützung an, wobei der Peak bei einer Retentionszeit von 33 Minuten dem entschützten Oligonucleotid zuzuordnen ist und rechts davon, also bei höheren Retentionszeiten, die noch teilweise geschützten Oligonucleotide sind. Nach fünf Stunden (Abb. 115, S. 97, oben) ist der gewünschte Peak bei 33 Minuten schon deutlich als Hauptprodukt erkennbar und nur noch wenig geschütztes Oligonucleotid. Erst nach sechs Stunden konnte eine vollständige Entfernung der Basenschutzgruppen erreicht werden.

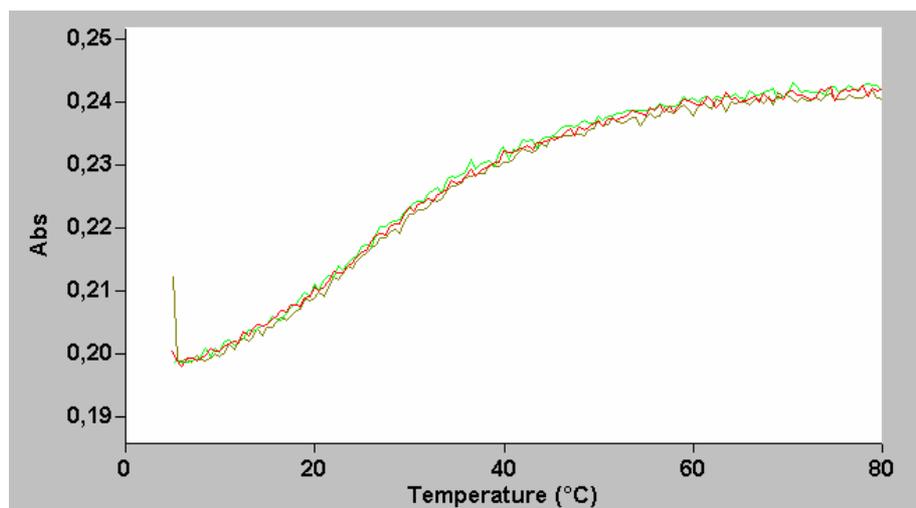


**Abb. 115:** HPLC-Chromatogramm der Entschützung von EcoRI- $N^6$ -NO<sub>2</sub>-anil **215-NO<sub>2</sub>**  
nach 3 h (unten) und nach 5 h (oben)

### T<sub>m</sub>-Werte und CD-Spektren der EcoRI-Oligonucleotide

In Tabelle 16 sind die Schmelzpunkttemperaturen und die thermodynamischen Daten der modifizierten Doppelstränge zusammengefasst. Der unmodifizierte Doppelstrang hat einen T<sub>m</sub>-Wert von 42 °C. Die C8-Arylamin-Modifikationen an der 5. Base hatten im Fall des Anilins **206-ds** und des 4-Aminobiphenyls **208-ds** keinen Einfluss auf den T<sub>m</sub>-Wert, lediglich die Anisidin-Modifikation verursachte ein Absinken der Schmelzpunkttemperatur auf 33 °C. Für die Doppelstränge **209-ds** und **210-ds**, die an der 6. Base modifiziert waren, konnte kein Unterschied zwischen den Arylaminen 4-Aminobiphenyl und *p*-Anisidin festgestellt werden, beide verursachten einen Abfall um 5 °C. Bei den vier Oligonucleotiden **211-ds** – **214-ds**, in denen die Arylamin-Schäden außerhalb der Erkennungssequenz des Enzyms an Position 3 und 11 liegen, zeigte sich allerdings schon ein deutlicherer Einfluss auf die Stabilität der Doppelhelix. Im Fall von **211-ds** sank die Schmelzpunkttemperatur auf 28 °C ab, eine merkliche Temperaturabnahme im Vergleich zum unmodifizierten Doppelstrang **205-ds**. Der 4-Aminobiphenyl-modifizierte Doppelstrang **212-ds** erwies sich als stabiler, was durch  $\pi$ -Wechselwirkungen der Phenylringe mit den Basen erklärbar ist.

Alle drei  $N^6$ -modifizierten Doppelstränge zeigten, ebenfalls wie die  $N^2$ -dG-modifizierten Doppelstränge aus den Arbeiten von **N. BÖGE** und **M. SCHRÖDER**, einen massiven Stabilitätsverlust der Doppelhelix, so dass es nicht möglich war, die  $T_m$ -Werte mit Hilfe des Computerprogramms auszuwerten. Eine graphische Abschätzung ergab für alle drei Doppelstränge eine Schmelzpunkttemperatur von unter 25 °C (Abb. 123).



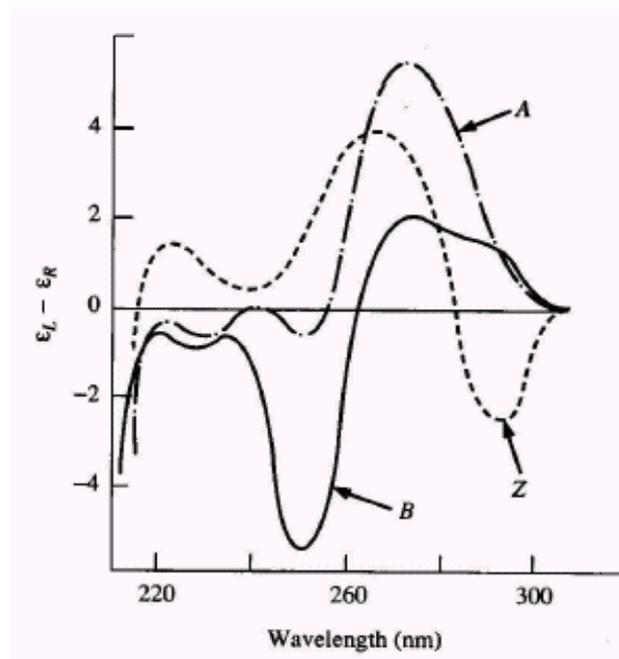
**Abb. 116:**  $T_m$ -Kurve von  $N^6$ -anis-EcoRI **216-ds**

**Tabelle 17:**  $T_m$ -Werte und thermodynamische Daten der synthetisierten EcoRI-Oligonucleotide

Oligonucleotid	Modifikation	Position	$T_m$ -Wert [°C]	$\Delta H$ [kcal/mol]	$\Delta S$ [cal/mol/K]
<b>205-ds</b>	-	-	41.7	- 65.2	- 237.1
<b>206-ds</b>	C8-anil	5	41.3	- 40.7	- 129.4
<b>207-ds</b>	C8-anis	5	32.6	- 21.1	- 69.4
<b>208-ds</b>	C8-abp	5	42.8	- 33.9	- 107.8
<b>209-ds</b>	C8-anis	6	36.7	- 43.4	- 140.1
<b>210-ds</b>	C8-abp	6	36.8	- 38.3	- 123.6
<b>211-ds</b>	C8-anis	3	27.8	- 50.7	- 168.5
<b>212-ds</b>	C8-abp	3	33.4	- 57.9	- 189.0
<b>213-ds</b>	C8-anis	11	30.6	- 53.1	- 174.9
<b>214-ds</b>	C8-abp	11	24.8	- 41.1	- 139.3
<b>215-ds</b>	$N^6$ -anil	5	< 25 *	-	-
<b>216-ds</b>	$N^6$ -anis	5	< 25 *	-	-
<b>217-ds</b>	$N^6$ -abp	5	< 25 *	-	-

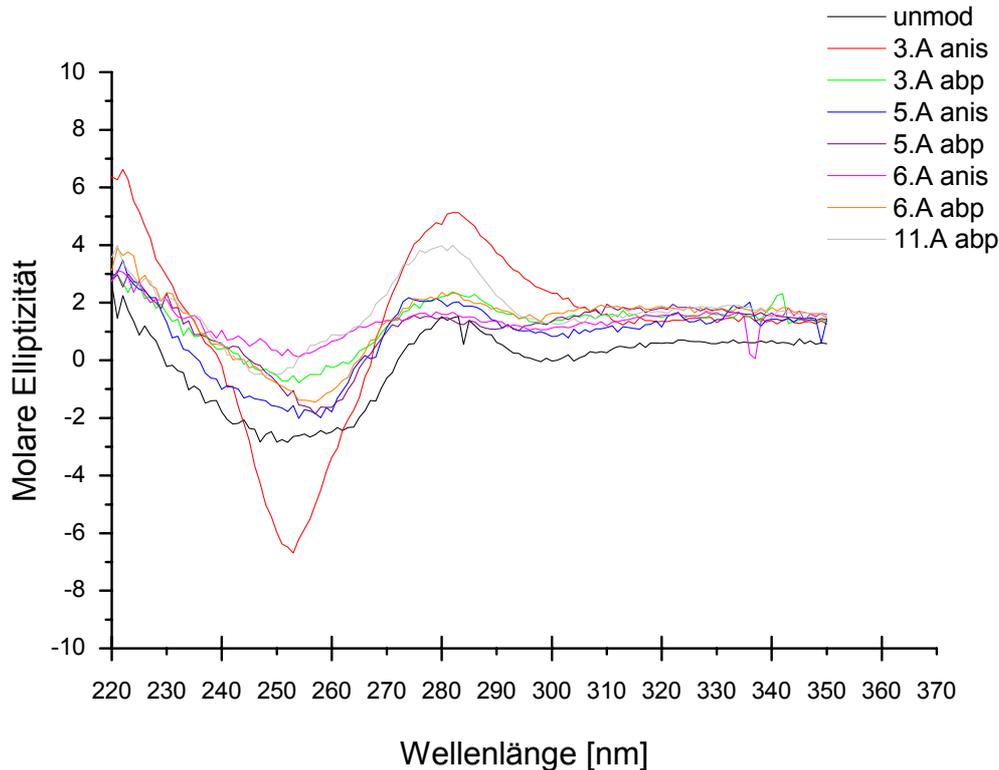
\*  $T_m$ -Wert zu niedrig zur Bestimmung mittels Computerprogramm, deshalb nur zeichnerische Abschätzung

Die Untersuchungen zur Konformation der modifizierten Doppelstränge wurden mit Hilfe der Zirkularen Dichroismus Spektroskopie (CD-Spektroskopie) durchgeführt. Als zirkularen Dichroismus wird die Fähigkeit des links- und rechtszirkulierenden Lichtes bezeichnet, unterschiedlich stark von einem optisch aktiven Medium absorbiert zu werden. In einer optisch aktiven Substanz ist die Geschwindigkeit für rechts- und linkszirkularpolarisiertes Licht verschieden, so dass nach dem Durchtritt eine Phasendifferenz zwischen beiden zirkularpolarisierten Lichtwellen besteht. Für Enantiomere bedeutet dies zum Beispiel, dass die zugehörigen CD-Spektren ebenfalls spiegelbildlich zueinander sind. Da DNA aus vielen chiralen Zentren besteht, ist es so möglich, Aussagen über ihre Konformation mit Hilfe der CD-Spektroskopie zu machen. In Abb. 117 sind die CD-Spektren der drei biologisch relevanten DNA-Konformationen dargestellt, welche sich in den charakteristischen Lagen der Minima und Maxima unterscheiden. Die B-DNA ist die am häufigsten natürlich vorkommende Konformation der DNA, während die A-DNA-Konformation aus der B-DNA durch Dehydratisierung hervorgeht. Im Gegensatz zur A- und B-Form ist die linkshelikale Z-DNA eine metastabile Konformation der DNA und wird nur unter bestimmten Umständen eingenommen, wie z. B. bei alternierenden Pyrimidine-Purin-Einheiten, hohen Salzkonzentrationen oder DNA supercoiling.



**Abb. 117:** CD-Spektren der drei Haupt-Konformationen von DNA

In Abb. 118 sind die CD-Spektren aller mit *p*-Anisidin und 4-Aminobiphenyl-modifizierten EcoRI-Oligonucleotide sowie das unmodifizierte EcoRI-Oligonucleotid abgebildet. Alle modifizierten Doppelstränge zeigen ebenso wie der unmodifizierte Doppelstrang, das charakteristische Minimum um 250 bis 260 nm und das Maximum bei 280 bis 290 nm für die B-DNA-Konformation. So hat weder die Position noch die Art der Modifikation einen Einfluss auf die Konformation dieses 12-mers.



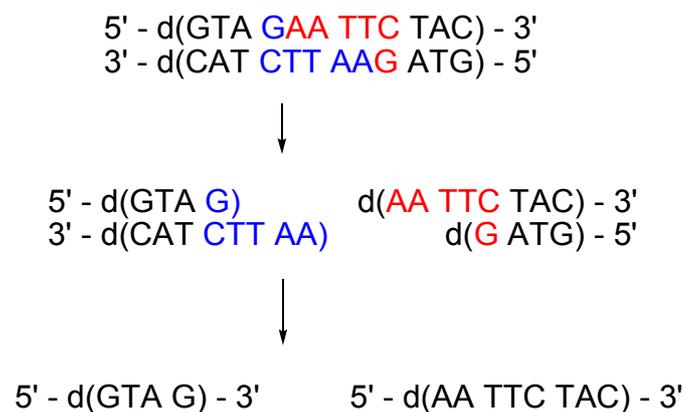
**Abb. 118:** CD-Spektren der C8-modifizierten Oligonucleotide **206 - 214**

Für die Doppelstränge des C8-Anilin-modifizierten Oligonucleotid **206** sowie die der  $N^6$ -modifizierten Oligonucleotide **215 - 216** zeigten die CD-Spektren ebenfalls keine Konformationsänderung gegenüber dem unmodifizierten Doppelstrang.

### EcoRI-Restriktions-Assays

Um die Auswirkungen von Arylamin-Modifikationen auf biologische Systeme zu untersuchen, wurde ein Enzym-Assay ausgewählt. Mit allen 12 modifizierten Oligonucleotiden wurden Reaktionen mit der Endonuclease EcoRI durchgeführt. Die daraus ermittelten Halbwertszeiten sollten dabei als Anhaltspunkte für den Einfluss der Arylamin-Modifikationen dienen. Als Referenz diente hierbei der Abbau des unmodifizierten Oligonucleotides **205**.

Wie unter 4.4.2 auf Seite 88 beschreiben, spaltet dieses Enzym die palindromische Sequenz 5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3' in ein 4- und ein 8-mer (Abb. 119). Je nachdem welches dA modifiziert war, entstanden daraus entweder ein modifiziertes Tetramer und ein unmodifiziertes Octamer oder umgekehrt.



**Abb. 119:** Restriktionsabbau durch das EcoRI Enzym

Zur Berechnung der Halbwertszeiten wurde aus den Integralen des ursprünglichen Oligonucleotides sowie der Tetra- und Dodecamere die Menge an geschnittenem Oligonucleotid ermittelt.

Für das Tetramer ergab sich folgende Formel:

$$\mu\text{M geschnittenes Oligonucleotid} = \frac{[\text{Integral d(GTAG)}][\epsilon_{260} d(\text{GTAGAATTCTAC})][\mu\text{M d(GTAGAATTCTAC)}_{\text{orig.}}]}{[(\text{Summe aller Integrale}) \cdot [\epsilon_{260} d(\text{GTAG})]}$$

Für das Octamer ergab sich folgende Formel:

$$\mu\text{M geschnittenes Oligonucleotid} = \frac{[\text{Integral d(AATTCTAC)}][\epsilon_{260} d(\text{GTAGAATTCTAC})][\mu\text{M d(GTAGAATTCTAC)}_{\text{orig.}}]}{[(\text{Summe aller Integrale}) \cdot [\epsilon_{260} d(\text{AATTCTAC})]}$$

Die Konzentration A wurde somit folgendermaßen berechnet:

$$A = \frac{\mu\text{M Ausgangsmenge Oligonucleotid} - \mu\text{M gespaltenes Oligonucleotid}}{\mu\text{M Ausgangsmenge Oligonucleotid}}$$

Da es sich bei der Restriktion um eine Reaktion 1. Ordnung handelt, ergibt die graphische Auftragung des natürlichen Logarithmus der Konzentration gegen die Zeit eine Gerade:

$$\ln [A] = -k \cdot t + \ln [A]_0$$

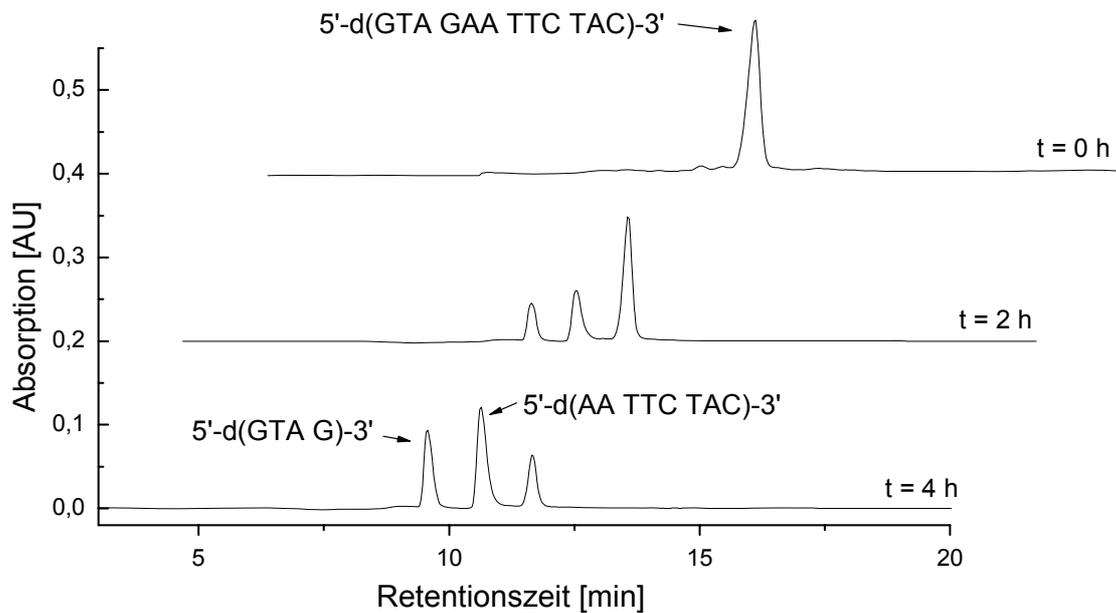
Aus der Steigung der daraus resultierenden Geraden kann die Halbwertszeit nach folgender Formel berechnet werden:

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

wobei k die negative Steigung der Geraden ist.

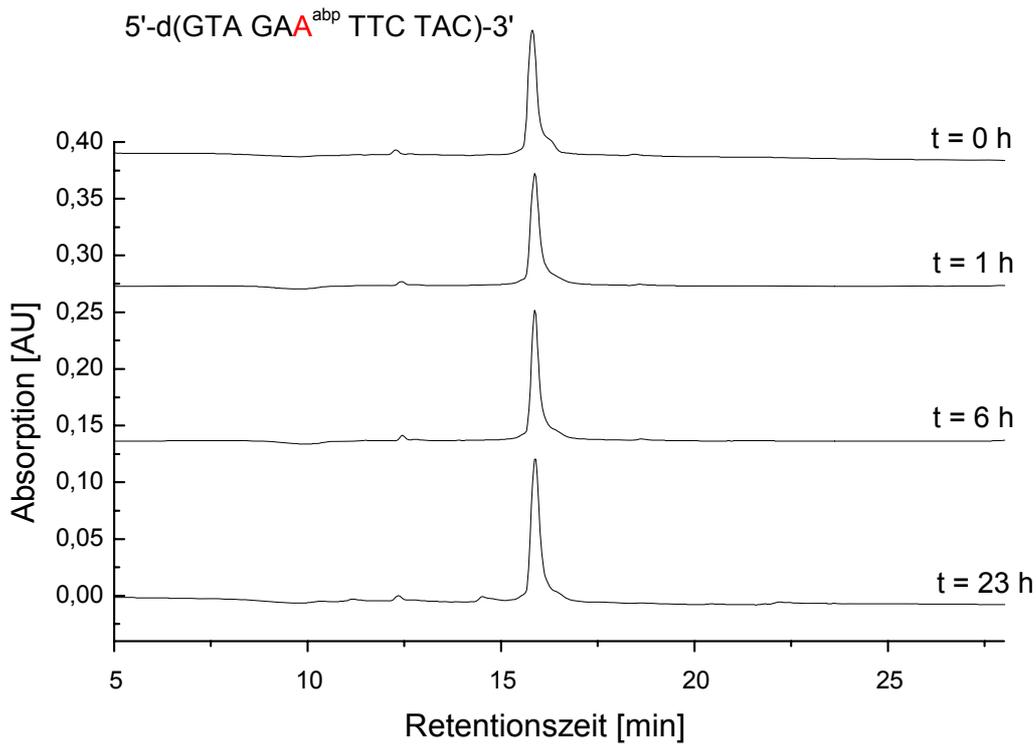
Zur Durchführung der Experimente wurden jeweils 0.4 OD des Oligonucleotids in 100  $\mu\text{L}$  DTT-Puffer gelöst und zwei Minuten auf 70 °C erhitzt. Nach Abkühlen wurde ein Aliquot zur Messung des Startwerts entnommen. Das restliche gelöste Oligonucleotid wurde bei 23 °C mit 270 Units Enzym inkubiert. Nach der Probenentnahme erfolgte jeweils deren sofortige Vermessung an der HPLC.

Für den unmodifizierten Doppelstrang sind in Abb. 120 auf Seite 103 die HPLC-chromatographischen Verfolgungen für null, zwei und vier Stunden nach Start der Inkubation mit dem Enzym bei 23 °C gezeigt. Nach vier Stunden ist eine sehr deutliche Abnahme des Dodecamers zu beobachten. Die Ermittlung der Halbwertszeit nach der Auftragung von  $\ln[A]$  gegen die Zeit ergab eine Halbwertszeit von 2.4 Stunden.



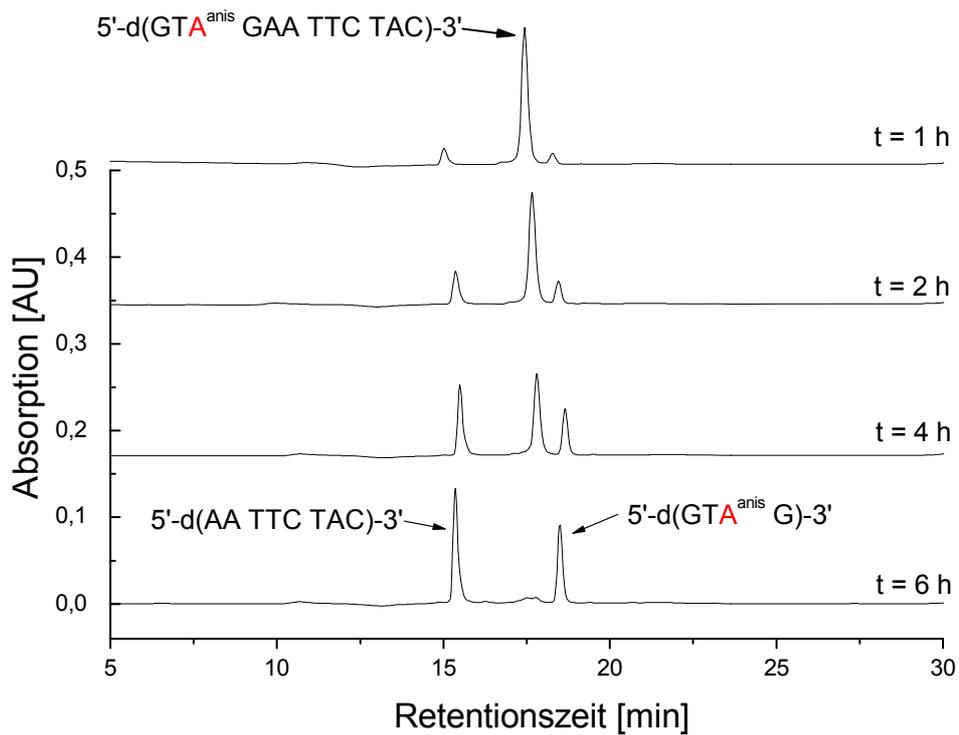
**Abb. 120:** EcoRI-Abbau des unmodifizierten Doppelstranges von **205**

Die enzymatischen Verdauungsreaktionen mit den C8-modifizierten Oligonucleotiden **206**, **207** und **208** 5'-d(GTA GA<sup>MOD</sup>A TTC TAC)-3', welche an der 5. Base eine C8-Anilin-, *p*-Anisidin- oder 4-Aminobiphenylmodifikation besaßen, zeigten auch nach einem Tag keinerlei Anzeichen eines Abbaus. Die Modifikationen, die sich in diesem Fall direkt an der Schnittstelle des Enzyms befanden, behinderten die Interaktion des Erkennungsmotivs mit dem Enzym so stark, dass es zu keinem Abbau kommen konnte. Das gleiche Ergebnis wurde erhalten, wenn die Modifikation zwar eine Base weiter von der Schnittstelle entfernt, aber immer noch in der Erkennungsregion saß. Die Oligonucleotide **209** und **210** 5'-d(GTA GAA<sup>MOD</sup> TTC TAC)-3', bei denen das Adenin an der 6. Position die Arylaminmodifikation besaß, zeigten sich dem enzymatischen Abbau gegenüber resistent. In Abb. 121 auf Seite 104 ist die HPLC-chromatographische Verfolgung des Abbaus von 5'-d(GTA GAA<sup>abp</sup> TTC TAC)-3' **210** exemplarisch für alle fünf Oligonucleotide, die die Modifikation an Position 5 und 6 tragen, dargestellt.



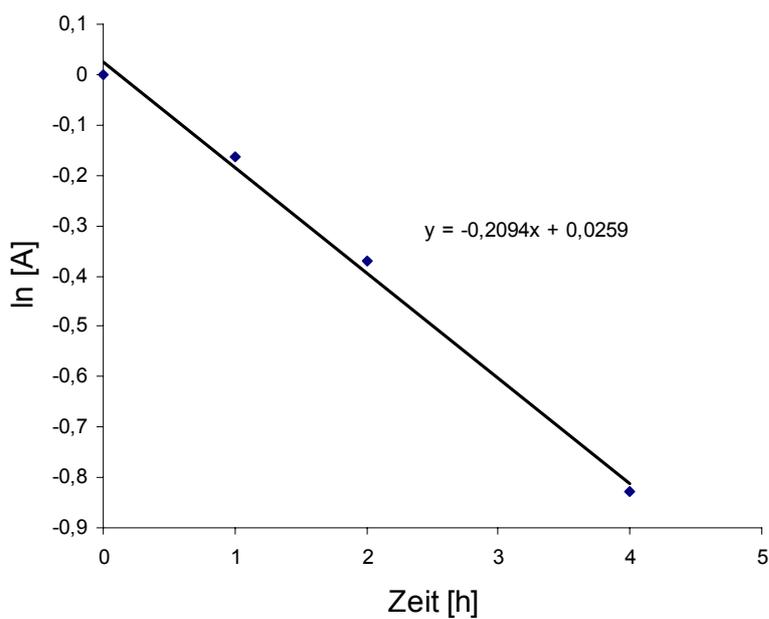
**Abb. 121:** EcoRI-Abbau des Oligonucleotides **210**

Ein weitaus anderes Bild zeigte sich bei den Oligonucleotiden, die an der 3. Base modifiziert waren. In Abb. 122 auf Seite 105 ist die HPLC-chromatographische Verfolgung des *p*-Anisidin-modifizierten Doppelstranges **211** zu sehen. Da sich hier die Modifikation zwar nicht in unmittelbarer Entfernung zur Schnittstelle befindet, und außerhalb der Erkennungssequenz, kommt es hier zu einem Abbau durch das Restriktionsenzym. In Abb. 123 auf Seite 105 ist die graphische Auswertung der Halbwertszeit über die Auftragung von  $\ln[A]$  gegen die Zeit gezeigt. Die ermittelte Halbwertszeit beträgt in diesem Fall 3.3 Stunden und liegt somit nah an der Halbwertszeit für den unmodifizierten Doppelstrang (vgl. Abb. 120, S. 103). Sehr ähnlich verhielt sich auch der mit dem starken Carcinogen 4-Aminobiphenyl modifizierte Doppelstrang **212**, hier konnte eine Halbwertszeit von 2.9 Stunden berechnet werden, die noch näher an der Halbwertszeit für den unmodifizierten Doppelstrang liegt, die 2.4 Stunden beträgt.



**Abb. 122.** EcoRI-Abbau von EcoRI-C8-anis(3.A) 211

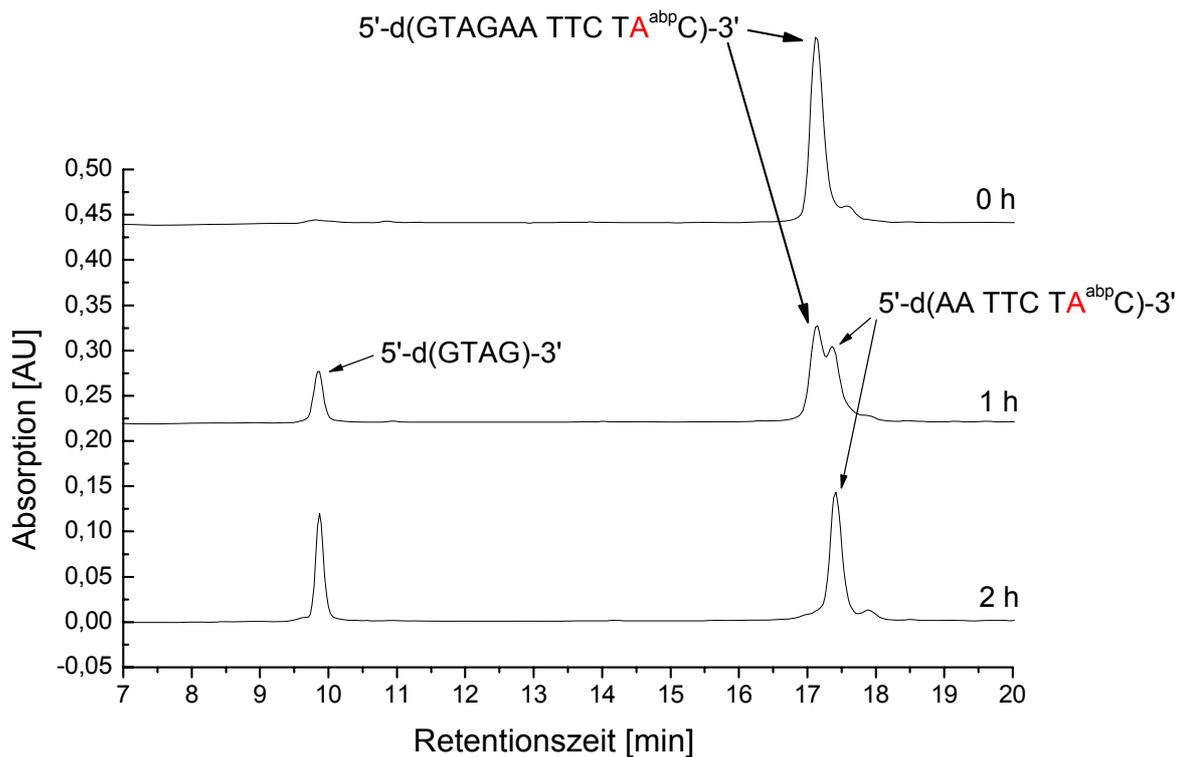
Die graphische Auswertung lieferte die folgende Gerade, aus deren Steigung die Halbwertszeit von 3.3 Stunden errechnet wurde.



**Abb. 123:** Graphische Auswertung des Abbaus von 211

Der enzymatische Abbau des an der 11. Position 4-Aminobiphenyl-modifizierten 12-mers **214** zeigte einen sehr überraschenden Verlauf. Das entstehende modifizierte Octamer mit einer Retentionszeit von 17.36 min läuft nahezu mit dem Dodecamer mit einer Retentionszeit von 17.15 min zusammen (Abb. 106, S. 106). Bereits nach zwei Stunden war das 12-mer komplett verdaut. Der Abbau dieses modifizierten Oligonucleotids wurde noch zwei weitere Male mit jeweils dem gleichen Ergebnis wiederholt. Warum dieses modifizierte Dodecamer schneller abgebaut wurde als das unmodifizierte Oligonucleotid **205** kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden.

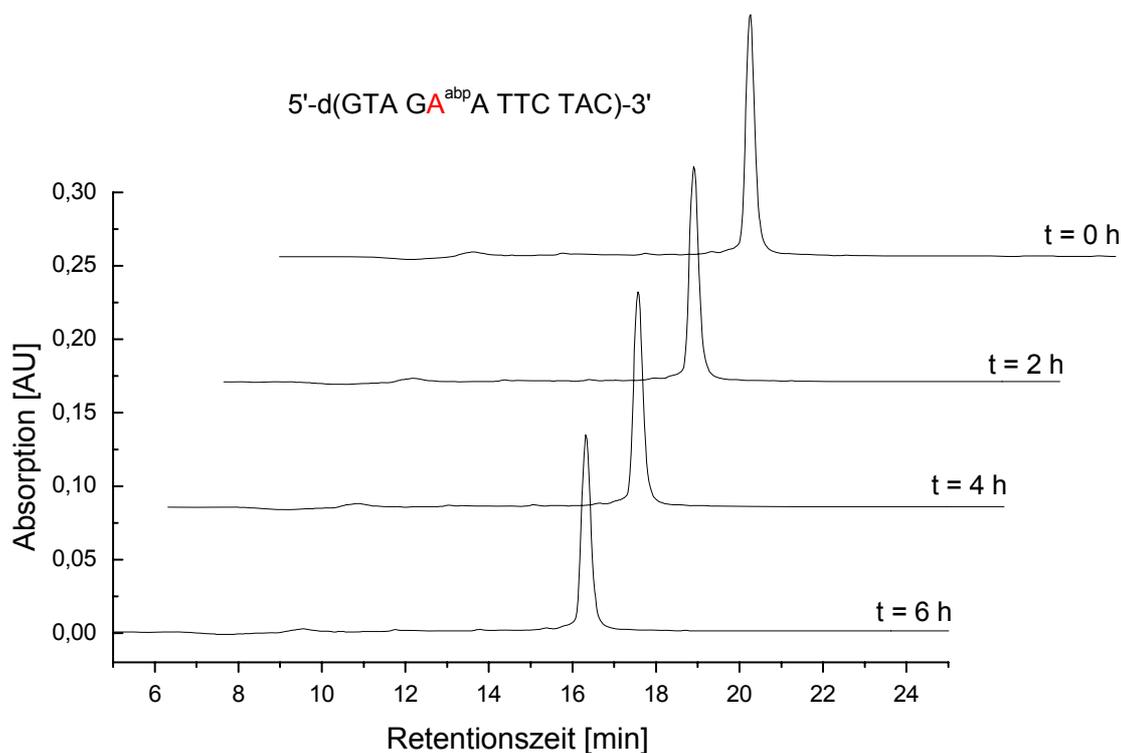
Der Abbau des äquivalenten mit *p*-Anisidin-modifizierten Oligonucleotides **213** konnte nicht durchgeführt werden, da sich dieses 12-mer schon nach kurzer Lagerzeit bei – 18 °C zersetzt hat. Daher fehlt hier der direkte Vergleich zum 4-Aminobiphenyl-modifizierten Doppelstrang.



**Abb. 124:** EcoRI-Abbau von EcoRI-C8-abp (11.A) **214**

Die  $N^6$ -Arylamin-modifizierten Oligonucleotide **215**, **216** und **217**, bei denen sich der große Einfluss der Modifikationen auf den Doppelstrang schon in den erheblich niedrigeren Schmelzpunkttemperaturen zeigte (Tabelle 17 auf Seite 98), ließen ebenso wie die C8-Analoga **206**, **207** und **208** keine Interaktion mit dem Enzym und somit auch keinen enzymatisch katalysierten Abbau zu. Dies ist insofern nicht überraschend, da eine Arylamin-Modifikation an der  $N^6$ -Position einen deutlichen Störfaktor in der Doppelhelix darstellt. Zum einen wird die zur Ausbildung der Watson-Crick-Basenpaarung benötigte exocyclische Aminofunktion blockiert, zum anderen stellt die Arylamin-Modifikation eine große sterische Hinderung dar.

In Abb. 125 ist die HPLC-chromatographische Verfolgung der versuchten Restriktion des  $N^6$ -abp-modifizierten Doppelstrangs **217** exemplarisch für alle drei  $N^6$ -Arylamin-modifizierten Doppelstränge dargestellt.



**Abb. 125:** Abbau des  $N^6$ -abp-modifizierten Doppelstrangs **217**

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine Arylamin-Modifikation, ob C8 oder  $N^6$ , wenn sie sich in dem Erkennungsmotiv zwischen der 4. und 9. Base befindet, zur Folge hat, dass das Enzym nicht mehr in der Lage ist mit dem Doppelstrang zu interagieren und es somit zu keiner Restriktion kommt. Befindet sich die Modifikation außerhalb des Erkennungsmotivs aber noch dicht an der Schnittstelle, wie es bei den Oligonucleotiden **211**, **212** und **213** der Fall war, kommt es zu einem leicht

verlangsamten Abbau durch das Enzym. Hierbei zeigte sich jedoch ein Unterschied zwischen dem Grenzcarcinogen *p*-Anisidin und dem starken Carcinogen 4-Aminobiphenyl. Das 4-Aminobiphenyl-modifizierte Oligonucleotid konnte durch das Enzym schneller abgebaut werden, was in einer Differenz der Halbwertszeiten um 24 Minuten zum Ausdruck kam (vgl. Tabelle 18, Einträge 7 und 8).

Die überraschend kurze Halbwertszeit des an der 11. Base C8-abp-modifizierten Doppelstrangs lässt sich an dieser Stelle nicht erklären, das gefundene Ergebnis konnte jedoch reproduzierbar erhalten werden.

**Tabelle 18:** Zusammenfassung der enzymatisch katalysierten Restriktionen

Oligonucleotid	Modifikation	Sequenz	$\tau_{1/2}$ [h]
<b>205</b>	unmodifiziert	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	2.4
<b>206</b>	C8-anil	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>207</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>208</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>209</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>210</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>211</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	3.3
<b>212</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	2.9
<b>213</b>	C8-anis	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	n. d.
<b>214</b>	C8-abp	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	~ 1
<b>215</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -anil	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>216</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -anis	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau
<b>217</b>	<i>N</i> <sup>6</sup> -abp	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'	kein Abbau

#### 4.4.3. Oligonucleotide der NarI-Sequenz

Die NarI-Sequenz ist ein Hotspot für Mutationen am 2'-Desoxyguanosin, die durch sogenannte induzierte Leserasterverschiebungs-Mutationen (*induced frameshift mutations*) hervorgerufen werden. Dabei handelt es sich um Mutationen, die durch die Deletion oder den Einschub von Basen in die DNA ausgelöst werden. Dadurch werden unter Umständen andere Aminosäuren kodiert oder es kann zu einem Abbruch der Translation kommen. Da diese Sequenz bereits für verschiedene dG-Modifikationen untersucht worden ist,<sup>[91]</sup> wurde sie ebenfalls für den Einbau der dA-Addukte verwendet, indem die Base Guanin an Position 7 durch ein Adenin ausgetauscht wurde. So können direkte Vergleiche bezüglich Schmelzpunkt und möglichen Konformationsänderungen des Doppelstranges gemacht werden.

**Tabelle 19:** Übersicht der synthetisierten NarI-Oligonucleotide

Oligonucleotid	Modifikation	Sequenz
<b>218</b>	unmodifiziert	5'-d(CTC GGC ACC ATC)-3'
<b>219</b>	Gegenstrang	5'-d(GAT GGT GCC GAG)-3'
<b>220</b>	C8-anil	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>221</b>	C8-anis	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>222</b>	C8-3,5-dma	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>223</b>	C8-abp	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>224</b>	N <sup>6</sup> -anil	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>225</b>	N <sup>6</sup> -anis	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>226</b>	N <sup>6</sup> -2,6-dma	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>227</b>	N <sup>6</sup> -abp	5'-d(CTC GGC <b>A</b> CC ATC)-3'
<b>228</b>	mismatch	5'-d(CTC GGC <b>C</b> CC ATC)-3'
<b>229</b>	mismatch	5'-d(CTC GGC <b>G</b> CC ATC)-3'
<b>230</b>	mismatch	5'-d(CTC GGC <b>T</b> CC ATC)-3'
<b>231</b>	ABASIC	5'-d(CTC GGC <b>X</b> CC ATC)-3'

Zunächst wurden die Grenzcancerogene Anilin **1** und *p*-Anisidin **63**, das mittelstarke Carcinogen 3,5-Dimethylanilin **64** und das starke Carcinogen 4-Aminobiphenyl **4** als C8-Arylamin-Modifikationen in das Dodecamer eingebaut (Tabelle 19). Zum direkten Vergleich von C8- und N<sup>6</sup>-Modifikation, wurden die entsprechenden N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotide **224** – **227** synthetisiert.

Einen Unterschied stellte hierbei das Dimethylanilin dar, welches aus synthetischen Gründen einmal als 3,5-Dimethylanilin **64** und einmal als 2,6-Dimethylanilin **232** eingesetzt wurde. Jedoch unterscheiden sich diese beiden Dimethylaniline nur gering in ihrem carcinogenen Potential.<sup>[8]</sup>

Alle  $N^6$ -modifizierten Oligonucleotide wurden zunächst in der "Nitro"-Form synthetisiert, entschützt, gereinigt und anschließend analog der  $N^6$ -EcoRI-Oligonucleotide durch Reduktion mit Zinkstaub in einem Natriumcitratpuffer bei pH 5 in ihre endgültige Form mit freier, *ortho*- bzw. *para*-Aminofunktion überführt. Die erfolgreiche Reduktion wurde durch ESI-MS-Spektrometrie nachgewiesen.

Eine weitere Überlegung, um den Einfluss von Arylamin-Schäden auf den Doppelstrang besser einschätzen zu können, bestand in der Synthese von Oligonucleotiden, die bewusst ein "mismatch"-Basenpaar enthalten. Dazu wurde die Base Adenin gegen Cytosin, Thymin und Guanin unter Beibehaltung des Gegenstranges **219** ausgetauscht. Ein besonderer "mismatch"-Fall wurde durch das gänzliche Fehlen der Base erreicht, indem ein sogenanntes ABASIC-Phosphoramidit **233** (Abb. 126) in das 12-mer eingebaut wurde.

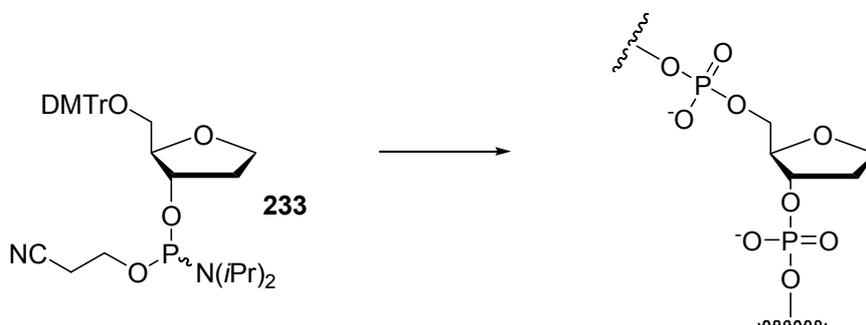


Abb. 126: ABASIC-Phosphoramidit **233**, Einbau in Oligonucleotidstrang

Vergleicht man die Schmelzpunkttemperaturen (Tabelle 20, S. 111), so fällt zunächst die des unmodifizierten Doppelstrangs auf. Obwohl es sich wie die EcoRI-Sequenz um ein Dodecamer handelt, fällt sie mit 58 °C um 16 °C höher aus. Dies ist durch den sehr hohen Gehalt an GC-Basenpaaren zu erklären. Der Schmelzpunkt steigt, wenn eine Sequenz viele GC-Basenpaare enthält, weil diese entropisch günstiger sind als AT-Basenpaare. Das liegt nicht nur daran, dass ein GC-Paar eine Wasserstoffbrückenbindung mehr ausbilden kann als ein AT-Basenpaar, sondern auch an den unterschiedlichen Stapelwechselwirkungen (*stacking interactions*). Die stacking-Energie zweier Basenpaare ist viel kleiner, wenn eines der beiden Paare ein AT-Basenpaar ist. GC-Stapel dagegen sind energetisch günstiger und stabilisieren

die Doppelhelix stärker. Das Verhältnis der GC-Basenpaare zur Gesamtanzahl aller Basenpaare wird auch als der GC-Gehalt angegeben. Vereinfacht lässt sich die Faustregel aufstellen, dass ein AT-Basenpaar ca. 2 °C und ein GC-Basenpaar ca. 4 °C zum Schmelzpunkt eines Doppelstrangs beiträgt.

**Tabelle 20:** Schmelzpunkttemperaturen der synthetisierten NarI-Oligonucleotide

Oligonucleotid	Modifikation	T <sub>m</sub> -Wert [°C]	ΔH [kcal/mol]	ΔS [cal/mol/K]
<b>218*</b>	-	58.2	79.1	- 267.7
<b>220*</b>	C8-anil	48.7	97.4	- 368.5
<b>221*</b>	C8-anis	48.3	92.2	- 314.4
<b>222*</b>	C8-3,5-dma	44.8	95.4	- 338.2
<b>223*</b>	C8-abp	49.0	101.3	- 424.2
<b>224*</b>	N <sup>6</sup> -anil	43.6	77.7	- 274.5
<b>225*</b>	N <sup>6</sup> -anis	46.1	89.3	- 251.6
<b>226*</b>	N <sup>6</sup> -2,6-dma	42.3	98.0	- 278.8
<b>227*</b>	N <sup>6</sup> -abp	42.5	94.0	- 327.6
<b>228*</b>	mismatch C	41.4	97.9	- 340.8
<b>229*</b>	mismatch G	50.6	95.0	- 322.3
<b>230*</b>	mismatch T	42.9	110.2	- 377.8
<b>231*</b>	ABASIC	33.8	54.6	- 206.5

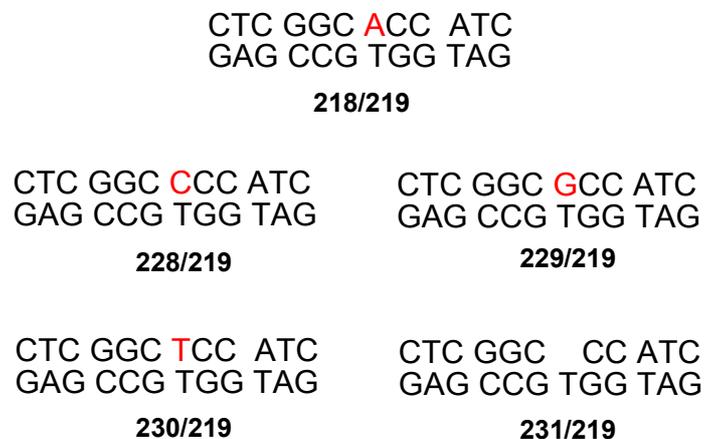
\* gepaart mit Gegenstrang **219**

Alle C8-Modifikationen **220** - **223** zeigten ungefähr den gleichen Einfluss auf den Doppelstrang und resultierten in T<sub>m</sub>-Werten von 48 – 49 °C, wobei das 3,5-Dimethylanilin mit knapp 45 °C die einzige Ausnahme darstellte, so dass keine Tendenz zu niedrigeren T<sub>m</sub>-Werten festzustellen war, wenn die Modifikation ein starkes Carcinogen gewesen ist (Tabelle 20). Für die entsprechenden C8-dG modifizierten Doppelstränge, die **N. BÖGE** in seiner Dissertation untersucht hat, konnte für die Grenzcancerogene Anilin und *p*-Anisidin ein Absinken der Schmelztemperatur um 7 und 8 °C beobachtet werden, während das starke Carcinogen 4-Aminobiphenyl ein Absinken um 19 °C bewirkte.

Die Schmelzpunkte der N<sup>6</sup>-modifizierten Doppelstränge **224** - **227** zeigten hingegen allesamt eine deutliche Neigung zu niedrigeren T<sub>m</sub>-Werten. Schon die Schmelzpunkte der N<sup>6</sup>-EcoRI-Oligonucleotide **215** - **217** (vgl. Tabelle 16, S. 89) lagen so niedrig, dass sich eine rechnerische Bestimmung als schwierig erwies und sie nur durch zeichnerische Auswertung ermittelt werden konnten. In diesem Fall ließen sich

die Schmelzpunkte berechnen und lagen mit 42 – 46 °C niedriger als die für die C8-modifizierten Doppelstränge gefundenen Werte. Dieser Befund lässt sich ebenfalls durch den hohen GC-Anteil in dieser Sequenz erklären.

Zur besseren Abschätzung des Einflusses von C8- und  $N^6$ -Arylamin-Modifikationen wurden gezielt die drei "mismatch"-Oligonucleotide **228** – **230** synthetisiert. Hier wurde das Adenin an Position 7 nacheinander durch Cytosin, Guanin und Thymin substituiert, der Gegenstrang blieb unverändert. So wurden die "mismatch"-Basenpaare CT, GT und TT erhalten. In einem weiteren Oligonucleotid **231** fehlte die Base durch den Einbau von ABASIC (vgl. Abb. 126, S.110) in den Einzelstrang vollkommen (Abb. 127).



**Abb. 127:** Doppelstränge des unmodifizierten, der mismatch- und des ABASIC-Oligonucleotids

Vergleicht man nun die Schmelzpunkttemperaturen der fünf Doppelstränge, so fällt zunächst auf, dass das GT-mismatch-Paar den geringsten Einfluss auf die Duplex zu haben scheint, die mit einem  $T_m$ -Wert von ca. 51 °C stabiler ist als die Doppelstränge der C8-Arylamin-modifizierten Oligonucleotide **220** – **223**, die in einem Bereich von 45 - 49 °C lagen. Die beiden Pyrimidinbasen Cytosin und Thymin hingegen verursachten eine deutliche Absenkung der Schmelztemperatur auf 41 und 43 °C. Zu erklären sind diese Unterschiede durch die Natur der Basen. Guanin besitzt eine elektronisch ähnliche Struktur wie das Adenin, da beide Purinbasen sind und sich somit immer noch eine stabile Basenpaarung erreichen lässt. Dies zeigt abermals, dass neben den Wasserstoffbrückenbindungen die Stapelwechselwirkungen durch die  $\pi$ -Systeme der Basen einen enormen Einfluss auf die Watson-Crick-Basenpaarung haben. Dies begründet ebenfalls die niedrige Schmelzpunkttemperatur von ca. 34 °C für den Doppelstrang, der die ABASIC-

Modifikation enthält. Die Temperaturdifferenz von 24 °C zum unmodifizierten Doppelstrang würde sich durch das alleinige Wegfallen der zwei Wasserstoffbrückenbindungen des AT-Basenpaares nicht erklären lassen. Ähnliche Beobachtungen wurden von **RIZZO** gemacht, der sich, wie eingangs erwähnt, mit C8-dG-Addukten des Lebensmittelcarcinogens IQ **34** beschäftigte. Er ermittelte für das gleiche ABASIC-modifizierte Oligonucleotid **231** ebenfalls eine Schmelztemperatur von 38 °C. Wurde zusätzlich das dG gegenüber der ABASIC-Modifikation mit IQ modifiziert, so konnte eine Stabilisierung der Doppelhelix um 10 °C gegenüber **231** beobachtet werden. Ein weiterer Beweis für die Stabilisierung der Doppelhelix durch  $\pi$ -Wechselwirkungen zeigte **RIZZO** indem er ebenfalls GT-mismatch-Oligonucleotid und zusätzlich ein GT-mismatch-Oligonucleotid, bei welchem das dG an der C8-Position mit IQ modifiziert war. Das IQ-modifizierte GT-mismatch-Oligonucleotid wies einen um 7°C höheren Schmelzpunkt auf.<sup>[49]</sup>

In Abb. 128 sind die CD-Spektren der  $N^6$ -modifizierten und in Abb. 129 auf Seite 114 die CD-Spektren der mismatch-/ABASIC-Doppelstränge gezeigt. Die Auswertung dieser Spektren zeigt, dass weder die  $N^6$ - und C8-Modifikationen, noch die mismatch- und ABASIC-Modifikationen eine Änderung der Gesamtkonformation der Narl-Oligonucleotide bewirken.

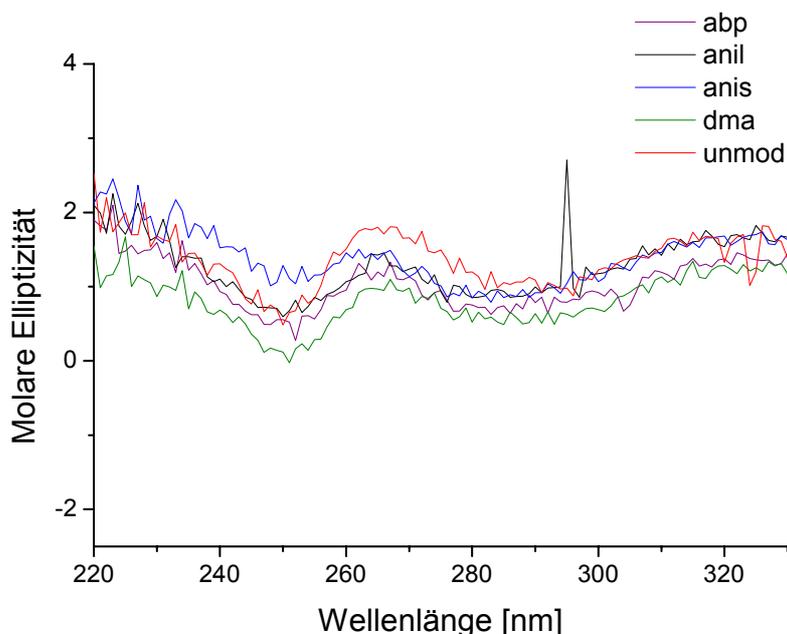
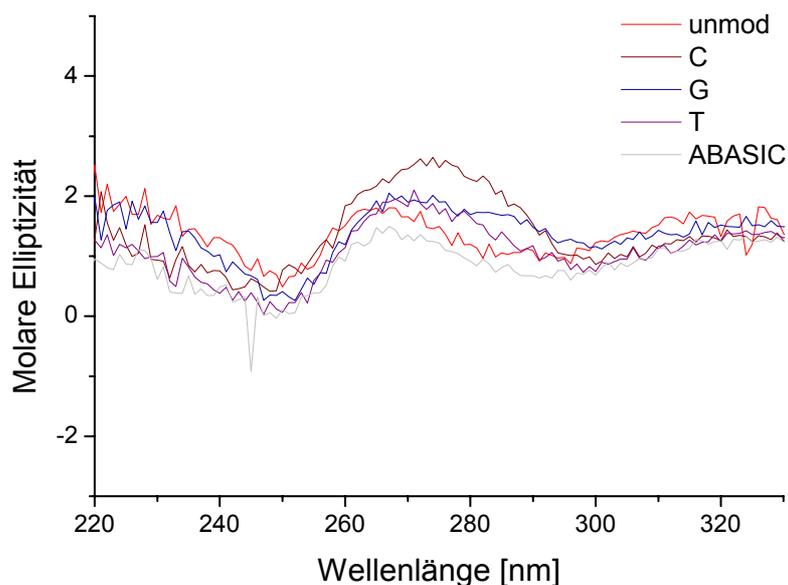


Abb. 128: CD-Spektren der  $N^6$ -modifizierten Narl-Oligonucleotide **218**, **220** – **223**, gepaart mit **219**



**Abb. 129:** CD-Spektren der "mismatch"- und ABASIC-NarI-Oligonucleotide **228 – 231**, gepaart mit **219**

#### 4.4.4. 30-mere (Marx-Sequenz)

Untersuchungen mit anderen DNA-Addukten haben gezeigt, dass kovalente DNA-Modifikationen die Selektivität und Wirkungsweise von DNA-Polymerasen beeinträchtigen können. In Kooperation mit **Prof. A. MARX** von der Universität Konstanz wurden Primer Extension Assays durchgeführt, um die Auswirkungen von Arylamin-Modifikationen auf verschiedene Polymerasen zu untersuchen. Als Template wurden sequenzspezifisch modifizierte 30-mere synthetisiert, die in Tabelle 21 zusammengefasst sind.

**Tabelle 21:** Zusammenfassung der synthetisierten 30-mere

Oligo	Modifikation	Sequenz
<b>235</b>	unmod.	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>236</b>	Gegenstrang	5'-d(CGT TGG TCC TGA AGG AGG ATA GGT TTA TTT)-3'
<b>237</b>	C8-anis	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>238</b>	C8-3,5-dma	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>239</b>	C8-abp	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>240</b>	$N^6$ -anis	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>241</b>	$N^6$ -2,6-dma	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'
<b>242</b>	$N^6$ -abp	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'

### T<sub>m</sub>-Werte und CD-Spektren

Die Schmelzpunkte der Doppelstränge unterliegen erwartungsgemäß, verglichen mit den dodecameren Sequenzen EcoRI und NarI, weniger starken Schwankungen (Tabelle 22).

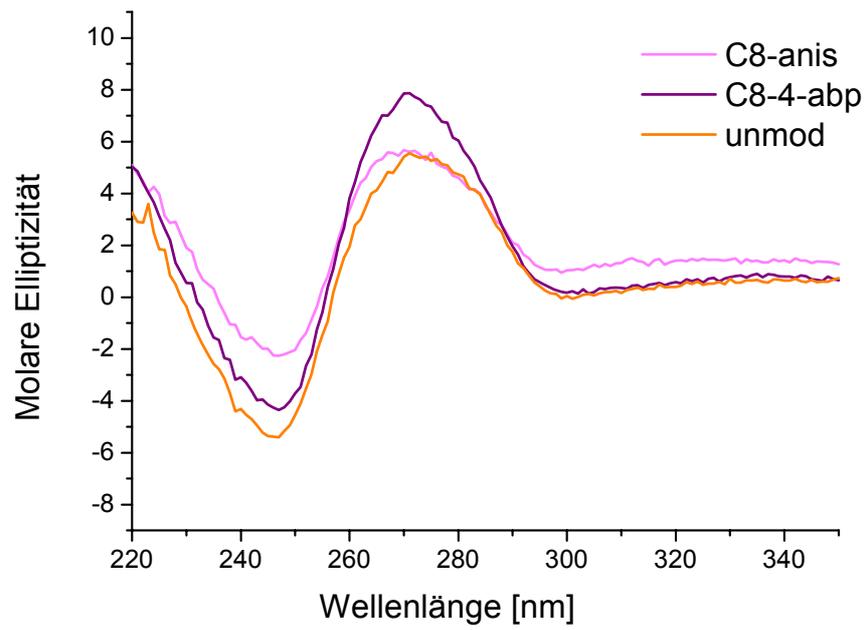
**Tabelle 22:** Schmelzpunkttemperaturen und thermodynamische Daten der 30-mere

Oligonucleotid	Modifikation	T <sub>m</sub> -Wert [°C]	ΔH [kcal/mol]	ΔS [cal/mol/K]
<b>235*</b>	unmod.	59.3	58.1	- 195.5
<b>237*</b>	C8-anis	58.8	36.1	- 77.1
<b>238*</b>	C8-3,5-dma	57.5	92.6	- 305.6
<b>239*</b>	C8-abp	57.2	25.3	- 47.0
<b>240*</b>	N <sup>6</sup> -anis	58.3	46.8	- 107.6
<b>241*</b>	N <sup>6</sup> -2,6-dma	57.1	46.1	- 108.5
<b>242*</b>	N <sup>6</sup> -abp	56.2	46.0	- 107.4

\* gepaart mit Gegenstrang **236**

Für den unmodifizierte Doppelstrang konnte ein T<sub>m</sub>-Wert von 59 °C ermittelt werden. Für die C8-modifizierte 30-mere **237 – 239** wurde für den Doppelstrang des *p*-Anisidin-modifizierten Oligonucleotids **237** der gleiche Wert gefunden. In der Reihe *p*-Anisidin, 3,5-Dimethylanilin und 4-Aminobiphenyl sinkt der Schmelzpunkt jeweils um ein halbes Grad. Die N<sup>6</sup>-modifizierte Doppelstränge **240 – 242** verhielten sich analog in der Reihenfolge absteigend, lagen aber jeweils ein halbes bis ein Grad unter den ermittelten Schmelzpunkten für die C8-modifizierte Doppelstränge **237 – 239** (Tabelle 22, S. 115) und zeigen somit das gleiche Muster, welches bereits für die Dodecamere gefunden wurde.

Die Messungen des Circularen Dichroismus zeigten in allen Fällen das gleiche Spektrum, worin die Kurven der modifizierten Doppelstränge **237 – 242** die gleiche Form hatten wie die des unmodifizierten Doppelstrangs **235**. Somit konnte auch hier, ebenso wie bei den beiden dodecameren Sequenzen kein Anzeichen für eine Änderung der Gesamtkonformation gefunden werden. In Abb. 130 sind exemplarisch die CD-Kurven des unmodifizierten sowie die der C8-*p*-Anisidin- und 4-Aminobiphenyl-modifizierte Oligonucleotid-Doppelstränge dargestellt.

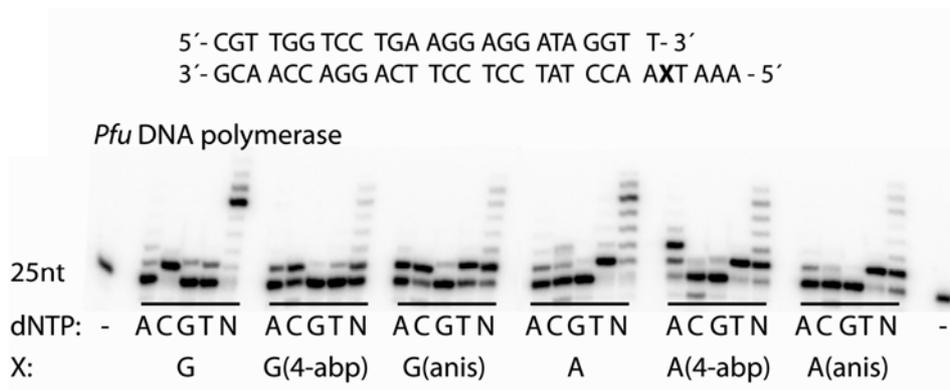


**Abb. 130:** CD-Spektren der Oligonucleotide **235**, **237** und **239**

### Primer Extension Assays<sup>[92-100]</sup>

Um die Auswirkungen von Arylamin-modifiziertem 2'-Desoxyadenosin im Templatstrang auf die Einbaugenauigkeit des komplementären Nucleotids untersuchen zu können, wurden „standing start“-Reaktionen durchgeführt. Das bedeutet, dass die Polymerase zunächst an die DNA binden muss und erst direkt an der Modifikation mit der Synthese beginnen kann. Für dieses Verfahren ist der Primer so konstruiert, dass er direkt vor der Modifikation endet. Untersucht wurden hier die C8-*p*-Anisidin-dA- **237** und C8-4-Aminobiphenyl-dA-modifizierten **239** 30-mer im direkten Vergleich mit den Analoga von 2'-Desoxyguanosin sowie den beiden unmodifizierten Templatsträngen.

Als erstes wurde die *Pyrococcus furiosus* (*Pfu*) DNA Polymerase (*exo*<sup>-</sup>) untersucht (Abb. 131). Sie gehört zur Familie B der Polymerasen und damit zur gleichen Familie wie die humane DNA Polymerase.

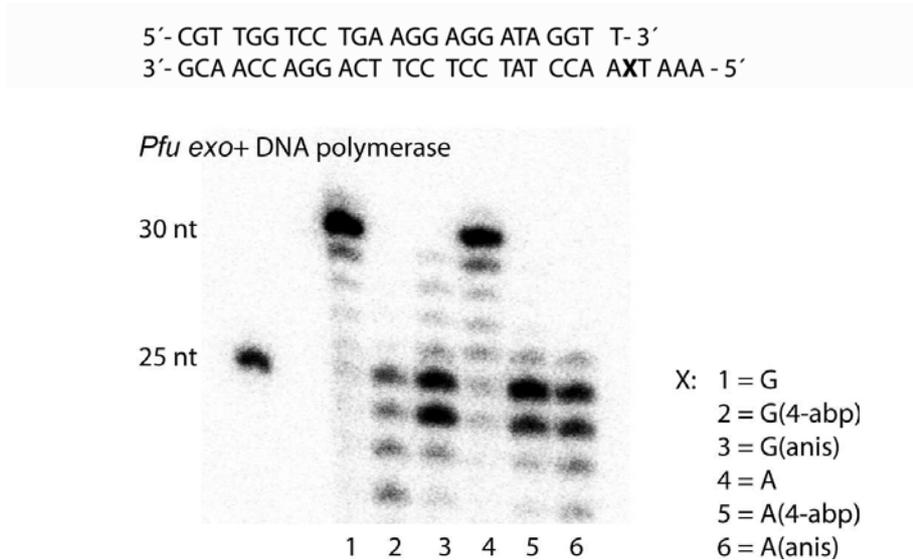


**Abb. 131:** Ergebnisse der Primer-Verlängerungs-Assays mit der *pfu* DNA Polymerase

Dieses Enzym blockiert deutlich die fortschreitende DNA Synthese nach dem Einbau eines Nucleotides, selbst, wenn alle vier Nucleotide zur Verfügung stehen. Interessanterweise hängt die Fähigkeit zum Fehleinbau eines Nucleotides von der chemischen Gestalt der Modifikation und von der Base an sich ab. So wird bei A(anis) zu 90% eine Primer-Verlängerung ausgeführt, wenn das kanonische dTTTP anwesend ist, während A(4-abp) einen deutlichen Fehleinbau von dA (78%) aufweist. Ist die modifizierte Base ein Guanin, wird gegenüber G(4-abp) hauptsächlich das kanonische dC eingebaut und der Primer Strang um 60% verlängert. G(anis) fördert stärker den Fehleinbau von dT und dA und verlängert den Primer Strang um 60%

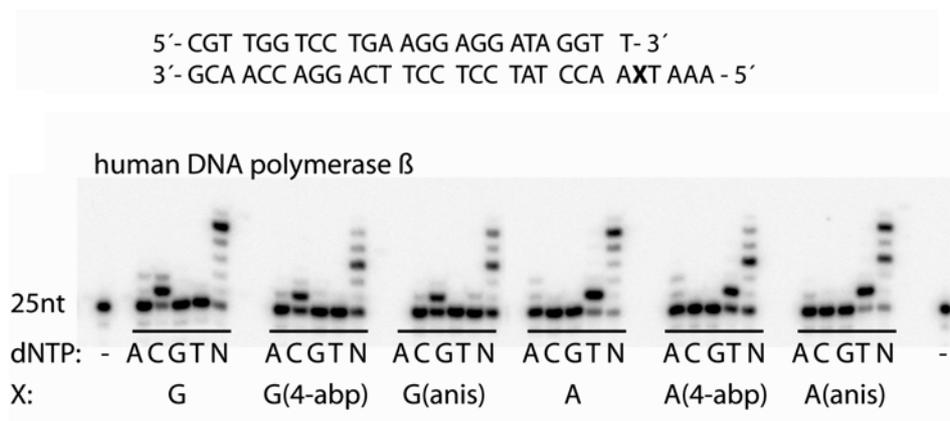
bzw. 54%. Vergleicht man also A(anis) mit G(anis) so scheint Letzteres eine mismatch-Bildung stärker zu begünstigen.

Zusätzlich wurde die *Pfu* DNA Polymerase (*exo*<sup>+</sup>), also mit einer 3'→5' Exonuclease-Aktivität, auf ihre Fähigkeit hin untersucht, die Läsionen zu umgehen, was allerdings nur für G(anis) beobachtet werden konnte (Abb. 132).



**Abb. 132:** Auswirkung der C8-Arylamine-Addukte auf *Pfu* (*exo*<sup>+</sup>) DNA Polymerase in Gegenwart aller vier dNTPs

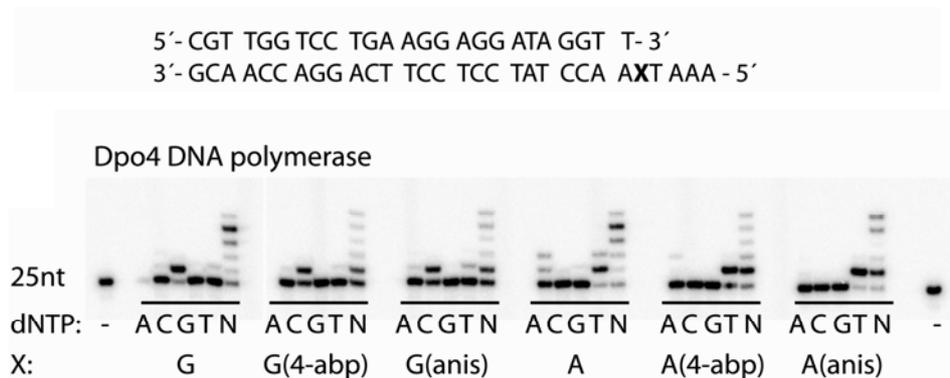
Als nächstes wurde die humane Polymerase  $\beta$  (PolB) untersucht, die für die Reparatur und Instandhaltung der DNA durch den base excision repair (BER) zuständig ist und für die Replikation und Rekombination eine entscheidende Rolle spielt. Interessanterweise ist dieses Enzym in der Lage den Schaden zu umgehen und das kanonische Nucleotid gegenüber der Läsion einzubauen.



**Abb. 133:** Ergebnisse der Primer-Verlängerungs-Assays mit der humanen DNA Polymerase beta  
Beim Referenzexperiment mit den unmodifizierten Strängen ist deutlich zu erkennen, dass bei Zugabe von dCTP bzw. dTTP wie erwartet ein korrekter Einbau gegenüber

dem G bzw. dem A erfolgt. Bei Zugabe von den anderen Triphosphaten findet richtigerweise kein Einbau statt. Die Untersuchungen zum Einbau der einzelnen Nucleotide zeigten, dass beide Modifikationen (A und G) die Primer-Verlängerung weniger effizient machten und sie im Vergleich zu den unmodifizierten Templaten mit Verlängerungen von 80 – 83% nur noch mit 47 – 63% ablief. Im Ganzen ist hier der Einfluss der Base und von dem verwendeten Arylamin weniger stark als es bei der *Pfu* DNA Polymerase aus der Familie B der Fall war (Abb. 133).

Das letzte untersuchte Enzym ist die DNA Polymerase Dpo4 aus der Y-Familie. Für diese DNA Polymerase können ganz ähnliche Beobachtungen gemacht werden wie für die *Pfu* DNA was die Effizienz angeht, mit der der Schaden umgangen werden kann. Man sieht in allen Fällen einen deutlichen Abbruch der Replikation. Die Assays, in denen nur die einzelnen dNTPs zum Einbau zur Verfügung standen, zeigten den vornehmlichen Einbau des kanonischen Nucleotides gegenüber der Läsion. Allein G(abp) und G(anis) führten zu einem kleinen Teil (7 – 11%) zu einem nicht-kanonischen Einbau von dTTP (Abb. 134).



**Abb. 134:** Ergebnisse der Primer-Verlängerungs-Assays mit der humanen DNA Polymerase Dpo4

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

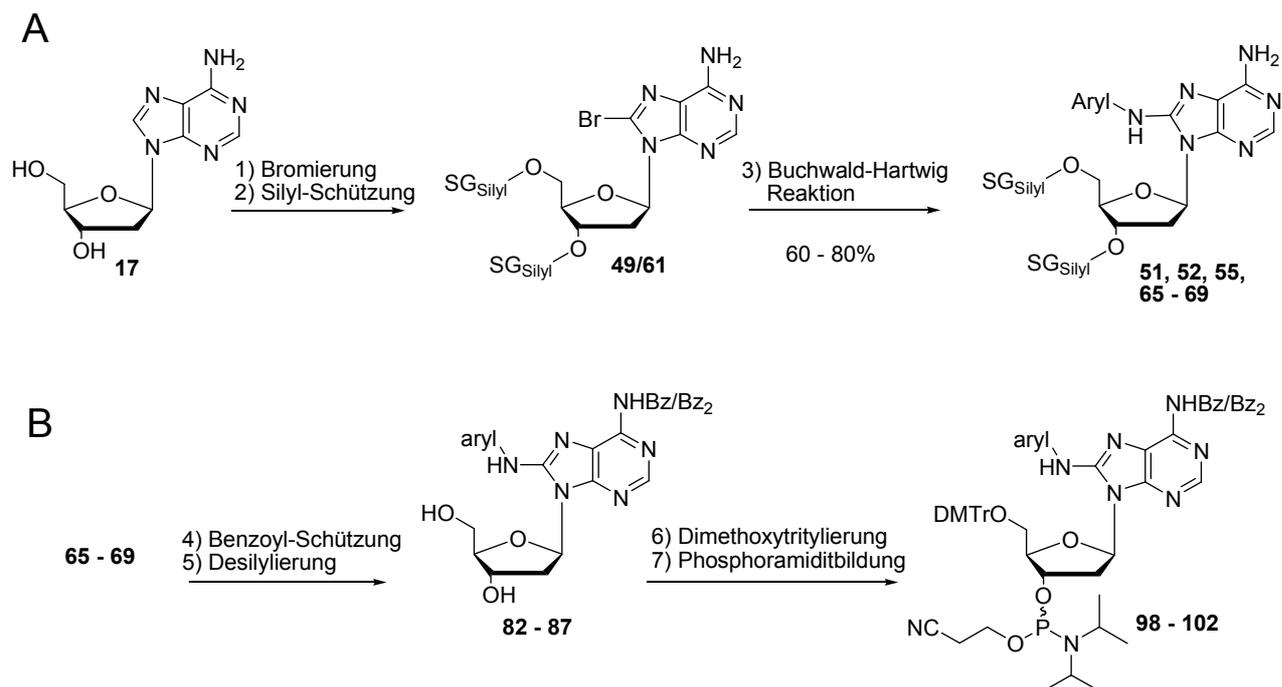
Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, Kenntnisse über die Carcinogenität und Mutagenität der bis dato wenig untersuchten Arylamin-Addukte von 2'-Desoxyadenosin zu erlangen. Hierbei sollte ein besonderes Augenmerk auf die möglichen Unterschiede zwischen Grenzcarcinogenen und starken Carcinogenen gelegt werden. Aus diesem Grund war eine synthetische Erschließung der Arylamin-Addukte nötig, um sie im weiteren Verlauf in sequenzspezifisch modifizierte Oligonucleotide einzubauen.

Die Arbeit gliederte sich in vier Teilgebiete: die Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite, die Synthese  $N^6$ -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite, die Darstellung von C8-Arylamin-modifizierten-5'-Monophosphaten zur Konformationsanalyse und die Synthese, Charakterisierung und Untersuchung von sequenzspezifisch modifizierten Oligonucleotiden.

### 5.1. Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite

Die Synthese C8-Arylamin-modifizierter Addukte von 2'-Desoxyadenosin konnte aufgrund eigener Vorarbeiten in dieser Arbeit erfolgreich durchgeführt und optimiert werden.<sup>[101]</sup> Den Schlüsselschritt der Synthese stellte dabei die Darstellung der Silyl-geschützten Addukte **51**, **52**, **55**, **65** - **69** dar, welche über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung in Ausbeuten von 67 – 80% erhalten wurden ( Abb. 135, A). Hierbei stellte sich die Verwendung von 10 mol%  $Pd_2(dba)_3$  und 30 mol% *rac.* BINAP als optimales Katalysator-Liganden-System heraus, wobei sich eine Vorreaktion des Katalysators und des Liganden positiv auf die Ausbeute auswirkt.

In vier weiteren Stufen wurden die Arylamin-Addukte in ihre entsprechenden 3'-O-Phosphoramidite **98** – **102** überführt ( Abb. 135, B). Hierbei gestaltete sich die Entfernung der 3',5'-O-TBDMS-Gruppen nach Funktionalisierung der Aminofunktion schwierig, da sie sich nicht vollständig abspalten ließen. Dieses Problem konnte durch die Verwendung der TIPDS-Schutzgruppe oder durch die erschöpfende Benzoylierung der Aminofunktion umgangen werden. Die Einführung der DMTr-Schutzgruppe führte zu Selektivitätsproblemen, es wurde in jedem Fall ebenfalls die 3'-Hydroxyfunktion blockiert. Die Verwendung von Silbernitrat verkürzte die Reaktionszeit erheblich und konnte auch das Selektivitätsproblem unterdrücken (vgl. Seite 32).



1) Br<sub>2</sub>, NaOAc-Puffer pH 5; 2) TIPDSCl<sub>2</sub> o. TBDMSCl, Imidazol, Pyridin; 3) 10 mol% Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub>, 30 mol% *rac.* BINAP, Arylamin, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1,2-Dimethoxyethan 90 °C, 36-48 h 4) a) BzCl, Pyridin, b) NH<sub>4</sub>OH/H<sub>2</sub>O; 5) TBAF, THF o. Et<sub>3</sub>N<sup>+</sup>3HF, DCM, THF; 6) DMTrCl, AgNO<sub>3</sub>, Pyridin; 7) 2-Cyanoethyl-*N,N,N',N'*-tetra*isopropyl*phosphordiamidit, 4,5-Dicyanoimidazol, MeCN, DCM.

**Abb. 135:** Synthese C8-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite von 2'-Desoxyadenosin

Die Synthese der 3'-O-Phosphoramidite verlief problemlos und lieferte das gewünschte Produkt in guten Ausbeuten. Über sieben Stufen ausgehend von 2'-Desoxyadenosin konnten Gesamtausbeuten zwischen 17 und 26% erzielt werden.

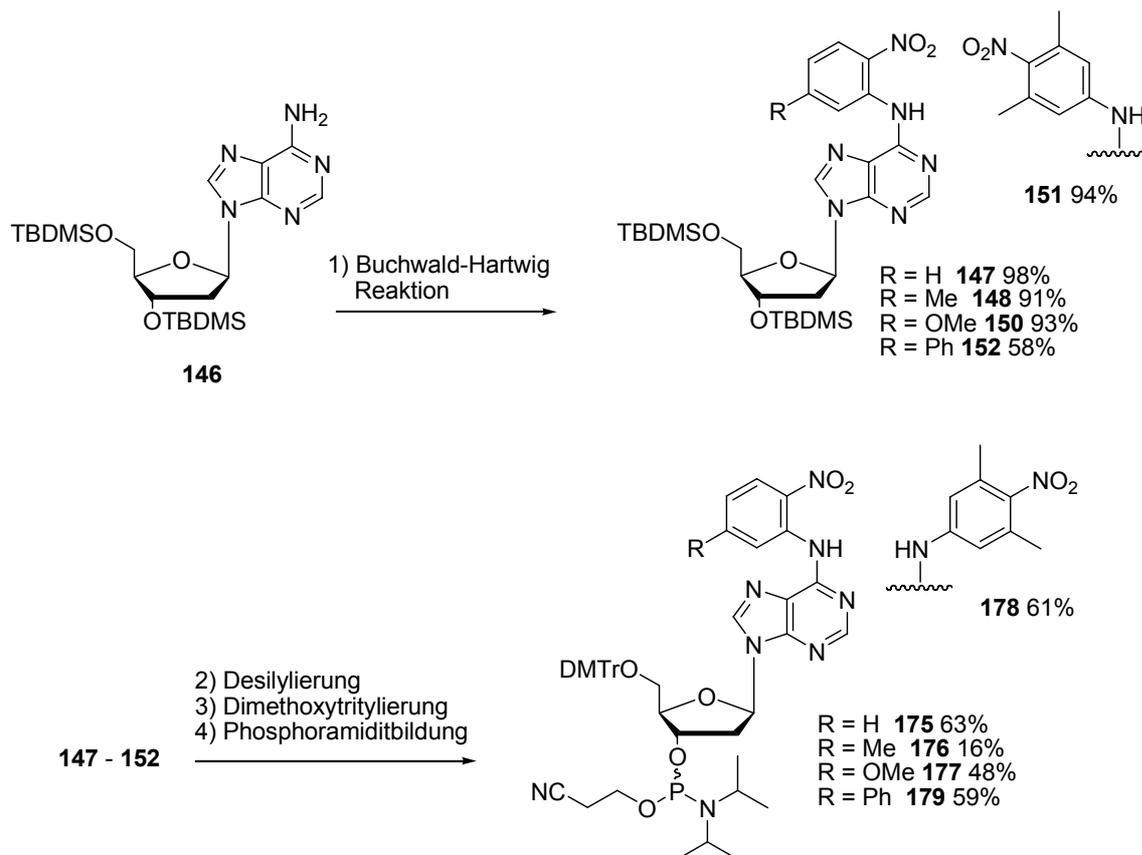
Versuche, eine neue basenlabilere Schutzgruppe an der exocyclischen Aminofunktion einzuführen, scheiterten entweder an der Einführung der Schutzgruppe (Pac) oder an der Instabilität der Phosphoramidite (dmf) (vgl. 4.1.6).

## 5.2. Synthese *N*<sup>6</sup>-Arylamin-modifizierter Phosphoramidite

Die Synthese der *N*<sup>6</sup>-Arylamin-modifizierten Addukte wurde über unterschiedliche Routen erprobt. Die erste Methode, die Umsetzung von 2'-Desoxyinosin mit PyBOP und den entsprechenden Nitroarylaminen, scheiterte. Es ist zu vermuten, dass die Nitrogruppe einen stark desaktivierenden Einfluss auf die Aminogruppe des Nitroarylamins hat, da die Umsetzung mit Arylaminen ohne Nitrofunktion in guten Ausbeuten das gewünschte Produkt lieferte (vgl 4.2.2).<sup>[102]</sup>

Da diese Addukte schon zuvor unter den Bedingungen einer Buchwald-Hartwig Kupplung dargestellt wurden,<sup>[52]</sup> wurden diese Erkenntnisse als Grundlage einer

Optimierung dieser Reaktion genutzt. Als optimale Reaktionsbedingungen zur Darstellung der  $N^6$ -Arylamin-Addukte von dA hat sich die Reaktion von 10 mol%  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ , 15 mol% Xantphos, TBDMS-dA **146**, dem entsprechenden Nitroarylbromid und  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  als Base in Dimethoxyethan herausgestellt (Abb. 136). Wichtig war hierbei der Einsatz des Nucleosides im Überschuss (1.3 Äq.) zur Vermeidung einer doppelten Arylierung der Aminofunktion. Die  $N^6$ -Addukte **147** - **152** konnten in Ausbeuten bis zu 98% erhalten werden.



1) 10 mol%  $\text{Pd}_2\text{dba}_3$ , 15 mol% Xantphos, 0.8 Äq. Nitro-Arylamin,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , 1,2-Dimethoxyethan 80 °C, 3 - 4.5 h; 2) TBAF, THF; 6) DMTrCl,  $\text{AgNO}_3$ , Pyridin; 7) 2-Cyanoethyl- $N,N,N',N'$ -tetraisopropylphosphordiamidit, 4,5-Dicyanoimidazol, MeCN.

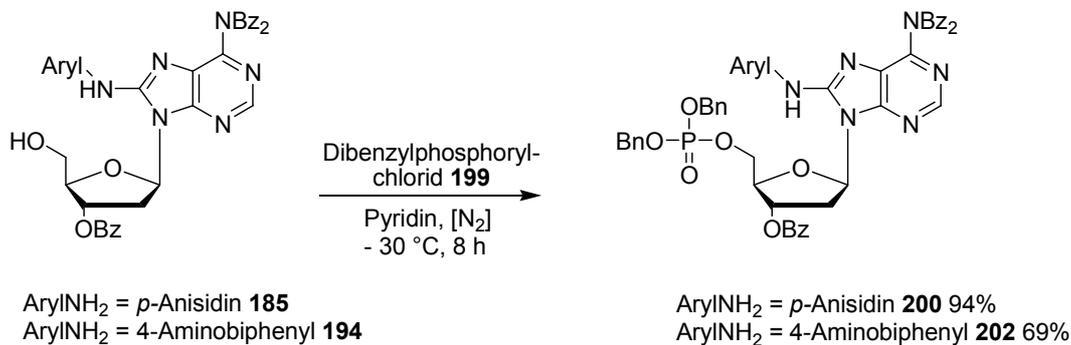
**Abb. 136:** Synthese  $N^6$ -Arylamin-modifizierter Phosphoramidite

Die Synthesestrategie zu den bisher synthetisch noch nicht erschlossenen Phosphoramiditen der  $N^6$ -Addukte sah zunächst eine Reduktion der Nitrofunktion am Aromaten nach der Kupplung vor. Nachdem sich diese Vorgehensweise als unpraktikabel erwies, wurde auf eine Reduktion der Nitrofunktion bis nach der DNA-Synthese verzichtet, mit dem Ziel, die Nitrofunktion am fertigen Oligonucleotid zu reduzieren. Die Phosphoramidite **175** – **179** konnten in 3 Stufen ausgehend von den Addukten **147** – **152** in 16 – 63% erhalten werden (Abb. 136).

### 5.3. Konformationsanalyse von C8-Arylamin-Addukten

Die Synthese der C8-Arylamin-modifizierten Monophosphate gestaltete sich schwierig. Eine Standardreaktion zur Darstellung von Nucleotiden ist die Methode nach **SOWA** und **OUCHI**, bei der die ungeschützten Nucleoside mit Phosphorylchlorid, Pyridin und Wasser (2:2:1) zu den 5'-Monophosphaten umgesetzt werden können. Diese Reaktion scheiterte zunächst an der Unlöslichkeit der C8-Addukte in Acetonitril sowie weiteren Lösungsmitteln, die für diese Reaktion in Frage kommen. Die Darstellung gelang jedoch über die Umsetzung der Benzoyl-geschützten C8-Addukte **185** und **194**. Die Ausbeuten blieben jedoch aufgrund der sauren Hydrolysebedingungen (pH  $\approx$  1 für 1 h) und der labilen glycosidischen Bindung der C8-dA-Addukte moderat (vgl. 4.3.5).

Eine vielversprechende Methode, die Monophosphate von C8-Arylamin-Addukten zu erhalten, bestand in der Umsetzung der Benzoyl-geschützten Addukte **185** und **194** mit Dibenzylphosphorylchlorid. Die Benzyl-geschützten Monophosphate konnten so in Ausbeuten von 94 und 69% erhalten werden.



**Abb. 137:** Synthese der Benzyl-geschützten Monophosphate **200** und **202**

Die Auswertung der NOESY-Spektren zeigte weder für die freien Addukte **57** und **58** noch für die C8-Arylamin-modifizierten Monophosphate **46** und **47** eine Verschiebung des Konformationsgleichgewichtes von *anti* zu *syn* an (vgl. 4.3.7).

### 5.4. Arylamin-modifizierte Oligonucleotide

Für den sequenzspezifischen Einbau der C8- und  $N^6$ -Arylamin-modifizierten Phosphoramidite in Oligonucleotide wurden die folgenden drei Sequenzen ausgewählt:

EcoRI	5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3'
mod. NarI	5'-d(CTC GGC ACC ATC)-3'
Marx	5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3'

**Abb. 138:** Oligonucleotid-Sequenzen

Die Synthese erfolgte am DNA-Synthesizer nach einem modifizierten Standardprotokoll mit einer um dreimal 500 s verlängerten Kupplungszeit. Nach Abspaltung vom Träger und den Schutzgruppen wurden alle Oligonucleotide mittels HPLC gereinigt und mittels ESI-MS charakterisiert. Die  $N^6$ -modifizierte Oligonucleotide, die noch eine Nitrofunktion an der Arylaminmodifikation trugen, wurden nach der Reinigung in einem Citrat-Puffer bei pH 5 mit Zinkstaub reduziert (vgl. 0).

Die C8- und  $N^6$ -modifizierte EcoRI-Oligonucleotide **206 – 217** wurden einem Restriktionsabbau durch das Enzym EcoRI unterzogen um den Einfluss der Arylaminmodifikationen zu untersuchen. Es zeigte sich, dass eine Arylaminmodifikation an Position 5 und 6, also direkt an der Schnittstelle bzw. eine Base davon entfernt, einen so großen Störfaktor darstellte, dass das Enzym nicht mehr mit dem Doppelstrang interagieren konnte und somit kein Abbau erfolgte. Befand sich die Modifikation außerhalb der Erkennungssequenz aber dennoch in der Nähe der Schnittstelle, so kam es zu einem leicht verlangsamten Abbau durch das Enzym, wobei für die C8-*p*-Anisidin-Modifikation eine höhere Halbwertszeit (3.3 h) ermittelt wurde als für die 4-Aminobiphenyl-Modifikation mit 2.9 h. Im Vergleich dazu betrug die Halbwertszeit des unmodifizierten Doppelstrangs 2.4 h (vgl. 0). Bei den Schmelzpunkttemperaturen konnte nicht eindeutig ausgemacht werden, ob eine Grenzcancerinogen-Modifikation oder ein starkes Carcinogen einen größeren Einfluss hat, in den meisten Fällen war jedoch der  $T_m$ -Wert niedriger bei einer Grenzcancerinogen-Modifikation. Sehr ausgeprägt war hingegen der Einfluss der  $N^6$ -Modifikationen. Hier war der  $T_m$ -Wert so niedrig ( $< 25\text{ °C}$ ), dass die Auswertung graphisch erfolgen musste, da sie nicht mehr rechnerisch bestimmt werden konnte. Die Oligonucleotide der modifizierten NarI-Sequenz zeigten sich hinsichtlich des Einflusses einer Arylamin-Modifikation aufgrund des hohen GC-Anteils der Sequenz weniger starken Schwankungen ausgesetzt. Deutlich war auch hier ein Absinken der

Schmelztemperaturen bei den  $N^6$ -Arylamin-modifizierten Doppelsträngen **224 – 227** zu erkennen. Zum besseren Verständnis des Einflusses von C8- und  $N^6$ -Arylamin-Modifikationen wurden die mismatch-Oligonucleotide **228 - 230** synthetisiert sowie ein ABASIC-Oligonucleotid **231**, welches an der eigentlichen Position der Modifikation gar keine Base enthält. Hierbei zeigte sich, dass mit Guanin als mismatch-Base aufgrund der elektronisch ähnlichen Struktur zu A immer noch ein sehr stabiler Duplex gebildet werden kann. Die mismatch-Oligonucleotide mit C und T verursachten hingegen ein deutliches Absinken der Schmelzpunkttemperaturen. Die stärkste Auswirkung auf die Stabilität der Doppelhelix konnte man jedoch beim ABASIC-Oligonucleotid **231** beobachten. Hier sank der  $T_m$ -Wert um 24 °C zum unmodifizierten Doppelstrang (vgl. 4.4.3).

Untersuchungen mit anderen DNA-Addukten haben gezeigt, dass kovalente DNA-Modifikationen die Selektivität und Wirkungsweise von DNA-Polymerasen beeinträchtigen können. Aus diesem Grund wurden in Kooperation mit Prof **A. MARX** von der Universität Konstanz C8-Arylamin-modifizierte Oligonucleotide in Primer-Verlängerungsstudien als Template eingesetzt. Untersucht wurden die Polymerasen *Pyrococcus furiosus* (*Pfu*) DNA Polymerase (*exo*<sup>-</sup>), Polymerase  $\beta$  (PolB) und Dpo4. Allgemein lässt sich für das starke Carcinogen 4-Aminobiphenyl ein stärkerer Einfluss hinsichtlich Replikationsabbruch und Fehleinbau von Nucleotiden feststellen als es beim Grenzcarcinogen *p*-Anisidin der Fall war (0).<sup>[102]</sup>

## 6 SUMMARY

The herein presented work had the aim to gain knowledge of the carcinogenesis and mutagenesis of aryl amine adducts of 2'-deoxyadenosine with special regards concerning the carcinogenic and mutagenic potential of borderline and strong carcinogens. For this reason a synthetic route towards this adducts and the site-specific incorporation of the corresponding phosphoramidites into oligonucleotides is a prerequisite.

The work was divided into four sections: The synthesis of both C8-dA-aryl amine adducts and  $N^6$ -dA-aryl amine adducts, the synthesis of C8-dA-aryl amine modified 5'-monophosphates for conformational analysis and the synthesis and investigation of C8- and  $N^6$ -dA-aryl amine site-specifically modified oligonucleotides.

The synthesis of the C8-aryl amine modified dA-adducts and their corresponding phosphoramidites could successfully be accomplished and optimized. The key step of the synthesis was a palladium catalyzed cross coupling, the so called Buchwald-Hartwig coupling. Under usage of 10 mol%  $Pd_2(dba)_3$ , 30 mol% racemic BINAP, silyl protected dA, aryl amine and cesium carbonate as base the C8-adducts were obtained in yields between 67% and 80%. In order to apply these adducts in the automated solid phase synthesis of oligonucleotides an orthogonal protection group strategy was necessary. The base labile benzoyl group was chosen for the protection of the exocyclic amino function and the 5'-OH group was functionalized with the acid labile DMTr group. Problems of regioselectivity in the DMTr protection could be solved by using silver nitrate to enhance the reaction rate and therefore mainly avoid the undesired formation of the 3',5'-bis-dimethoxytritylated C8-adducts. The C8-arylamine modified phosphoramidites, suitably protected for the automated solid phase synthesis of oligonucleotides, could be obtained in seven steps out of 2'-deoxyadenosine in overall yields from 17% to 26%.

The synthetic route towards the  $N^6$ -adducts, bearing a free amino function at the aromatic ring of the aryl amine in the *ortho*- or *para*-position, is quite different. The usage of 10 mol% Xantphos and 15 mol%  $Pd_2(dba)_3$  as catalytic system with a nitroarylbromide and 3',5'-di-TBDMS-dA turned out to be the best conditions for the synthesis of  $N^6$ -aryl amine modified adducts of 2'-dA. However, it was essential to use the nucleoside in excess to prevent the double arylation of the exocyclic amino function and therefore to gain the adducts in yields up to 98%. The corresponding

phosphoramidites, that have not been synthesized so far, could be obtained by keeping the *ortho*- respectively *para*-amino function as a nitro function until after DNA synthesis and a following reduction with zinc in a citrate buffer.

The C8-dA-aryl amine modified 5'-monophosphates could be synthesized according to the method of **SOWA** and **OUCHI**. However, due to the low solubility of these adducts and their labile glycosidic bond the yields tended to stay moderate. NOE-analysis of the modified nucleotides as well as of the adducts with free 3'- and 5'-OH group showed no indication for a conformational change regarding the glycosidic bond from *anti* to *syn*.

The C8- und  $N^6$ -modified phosphoramidites were site-specifically incorporated into three sequences by means of the automated solid phase synthesis of oligonucleotides. The EcoRI-oligonucleotides containing a recognition site for the EcoRI-enzyme were submitted to an enzymatic restriction to investigate the effects of the different aryl amine modifications. It turned out that the modifications situated in the recognition site and at the cleavage site impair the activity of the enzyme completely. The same results were obtained for modifications located inside the recognition site but not directly at the cleavage site. Still a decreased activity was observed for modifications in a few bases distance from the recognition site of the enzyme. The melting point of DNA is an indication for the stability of the double strand and therefore can be used to estimate the impact of modifications. The highest decrease in thermal stability could be observed for the  $N^6$ -aryl amine modified EcoRI-oligonucleotides with melting points less than 25 °C in comparison to the unmodified double strand with 42 °C. For a better investigation of the impact of arylamine modifications on the stability of the duplexes the NarI sequence was chosen. Beside the aryl amine modified oligonucleotides several mismatch oligonucleotides as well as an oligonucleotide with an abasic site were synthesized. The results showed that not only the Watson-Crick hydrogen bonds contribute to the stability of the double strand it as well is the  $\pi$ -stacking interactions. As a result an arylamine modification does not only destabilize the double strand based on the steric hindrance and in case of the  $N^6$ -modification the loss of one hydrogen bond it also gives a certain stability due to  $\pi$ -stacking interactions.

It is known that DNA-adducts can hamper the selectivity and efficiency of lesion bypass synthesis by replicative DNA polymerases, while other DNA polymerases are effective in performing DNA synthesis beyond the site of damage. In cooperation with

## SUMMARY

---

Prof. **A. MARX** from the University of Constance modified 30mers were used as templates in primer-extension assay to study the effects of C8-arylamine modifications on several DNA-polymerases. It was found that the strong carcinogen modification has a higher impact on replication error and misinsertion of nucleotides as it was found for the borderline carcinogen modification.

## 7 EXPERIMENTALTEIL

### 7.1. Allgemeines

#### 7.1.1. Lösungsmittel

Acetonitril;  $C_2H_3N$  [41.05]; Sdp. 82 °C; HPLC-Grade

Dichlormethan;  $CH_2Cl_2$  [84.93]; technische Qualität; Sdp. 39-40°C; über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.

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

Methanol;  $CH_4O$  [32.04];

a) technische Qualität; Sdp. 64°C; bei Normaldruck destilliert.

b) HPLC-Grade

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

Tetrahydrofuran (THF);  $C_4H_8O$  [72.11]; technische Qualität; Sdp. 66 °C; über Kaliumhydroxid aufbewahrt.

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

Wasser;  $H_2O$  [18.015], Sdp. 100 °C; Reinstwasser aus einer Barnstead Easypure<sup>®</sup>-Anlage

#### 7.1.2. Absolute Lösungsmittel

Acetonitril;  $C_2H_3N$  [41.05]; Sdp. 82 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert.

Diethylether:  $C_4H_{10}O$  [74.12]; Sdp. 34.5 °C; technische Qualität; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.

1,2-Dimethoxyethan;  $C_4H_{10}O_2$  [90.12]; Sdp. 82 - 85 °C, über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert.

*N,N'*-Dimethylformamid:  $C_3H_7NO$  [73.09]; Sdp. 153 °C; puriss. absolut, über Molsieb,  $H_2O$  : 0.001%; Fluka Nr.40248

1,4-Dioxan:  $C_4H_8O_2$  [88.10]; Sdp.: 101.5 °C;  $d = 1.03$   
a) technische Qualität; über Kalium getrocknet und bei Normal-

Methanol:  $CH_4O$  [32.04]; Sdp.: 64 °C; puriss. absolut, über Molsieb, Fluka Nr. 65542

Pyridin;  $C_5H_5N$  [79.10]; technische Qualität; Sdp.: 116 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert.

Tetrahydrofuran (THF);  $C_4H_8O$  [72.11]; technische Qualität; Sdp.: 66 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert.

Triethylamin  $C_6H_{15}N$  [101.19]; technische Qualität; Sdp.: 89 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck abdestilliert.

Toluol;  $C_7H_8$  [92.14]; technische Qualität; Sdp.: 110 °C; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Inertgas destilliert.

### 7.1.3. Edukte und Reagenzien

Alle Edukte und Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen Acros, Aldrich, Fluka und Riedel de Hæn in Synthesequalität bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. 2'-Desoxyadenosin wurde von ChemGenes, USA, und die Reagenzien für den DNA Synthesizer von Proligo bezogen.

Benzoylchlorid  $C_6H_5OCl$  [140.57], Sdp. 197 °C; unter Inertgas destilliert.

*racemisches* 2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl: C<sub>44</sub>H<sub>32</sub>P<sub>2</sub> [633.70] luftdicht verpackt unter Argon, STREM Nr. 98327-87-8

Tris(dibenzylidenaceton)-dipalladium(0): C<sub>51</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>Pd<sub>2</sub> [915.70] luftdicht verpackt unter Argon, STREM Nr. 52409-22-0

EcoRI Enzym: aus Escherichia Coli BS5; fermentas ER 0271; 5000 units

#### **7.1.4. Chromatographie**

##### **Dünnschichtchromatographie (DC):**

Es wurden Kieselgel-beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr.: 5554; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Laufstrecke betrug 6 cm. Alle R<sub>F</sub>-Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm sowie 366 nm. Als Färbereagenz wurde ein Gemisch aus Ethanol (20 mL), konz. Schwefelsäure (0.5 mL), Essigsäure (0.1 mL), Wasser (20 mL) und *p*-Methoxybenzaldehyd (0.5 mL) verwendet

##### **Zirkulare, zentrifugale Dünnschichtchromatographie:**

Einige Substanzgemische bis 4 g Rohprodukt wurden an einem Chromatotron der Firma Harrison Research, Modell 7924 T, getrennt. Als Trennmittel diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>, das in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Ø 20 cm) aufgetragen wurde. Die Detektion UV-aktiver Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei 254 nm sowie 366 nm.

##### **Säulenchromatographie:**

Für säulenchromatographische Trennungen wurde Merck Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) bzw. VWR Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm, 230-400 mesh ASTM) verwendet.

##### **Umkehrphasenchromatographie:**

Für Dünnschichtchromatogramme wurde RP-18 F<sub>254</sub> DC-Folie und für die Säulenchromatographie LiChroprep RP-18 (40-63 µm) Kieselgel verwendet.

### 7.1.5. NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden in der spektroskopischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie auf Bruker-Geräten aufgenommen. Auf den Modellen AMX 400 und AV 400 wurden 400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR-, 162 MHz-<sup>31</sup>P-NMR- und 100 MHz-<sup>13</sup>C-NMR-Spektren gemessen. Auf dem Modell DRX 500 wurden 500 MHz-<sup>1</sup>H-NMR-, 125 MHz-<sup>13</sup>C-NMR- und 202 MHz-<sup>31</sup>P-NMR gemessen. Zusätzlich wurden von den Verbindungen <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H- sowie <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Korrelationsspektren (COSY) aufgenommen.

Die chemische Verschiebung  $\delta$  [ppm] wurde auf die Lösungsmittelsignale bezogen, wobei DMSO-d<sub>6</sub> auf 2.50 (<sup>1</sup>H) bzw. 39.52 (<sup>13</sup>C) ppm, CDCl<sub>3</sub> auf 7.26 (<sup>1</sup>H) bzw. 77.16 (<sup>13</sup>C) ppm, CD<sub>3</sub>OD auf 3.31 (<sup>1</sup>H) bzw. 49.15 (<sup>13</sup>C) ppm, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> auf 7.16 (<sup>1</sup>H) bzw. 128.06 (<sup>13</sup>C) ppm und CD<sub>3</sub>CN auf 1.94 (<sup>1</sup>H) bzw. 118.26 (<sup>13</sup>C) ppm kalibriert wurde. Die Verschiebungen der <sup>31</sup>P-NMR-Signale wurden gegen einen externen Standard von 85%-iger Phosphorsäure angegeben.

### 7.1.6. Geräte

#### **Gefriertrocknung:**

Wässrige Lösungen wurden an einer Christ ALPHA 2-4 Gefriertrocknungsanlage lyophilisiert.

#### **Schmelzpunkt:**

Schmelzpunkte wurden mit offenen Kapillaren an einem Otto-Steiner-apotec<sup>®</sup>-Gerät gemessen.

#### **Infrarotspektroskopie:**

Die Infrarotspektren wurden auf einem Bruker Alpha-P als Direktproben oder als KBr-Presslinge auf einem AVATAR 370-FT-IR von Thermo Nicolet gemessen.

#### **Ultraviolettspektroskopie:**

Die UV-Spektren, die Messung der T<sub>m</sub>-Werte und die Bestimmung der Optischen Dichte (OD) wurden an einem UV-Spektralphotometer (Cary 1E) der Firma Varian aufgenommen.

### **Massenspektrometrie (MS):**

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

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

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

### **Polarimeter:**

Der Drehwert der chiralen Verbindungen wurde an einem Perkin Elmer Polarimeter 341 mit einer Hg-Lampe (546 nm) bei 20 °C aufgenommen.

### **Thermomixer:**

Die Abspaltung vom Träger wurde in einem Eppendorf Thermomixer, Modell 5436, bei 55 °C durchgeführt.

### **Speed-Vac-Probenkonzentrator:**

Die Oligonucleotide wurden in einem Speed-Vac-Probenkonzentrator, einer Zentrifuge mit integrierter Membranpumpe, der Firma Eppendorf getrocknet.

### **DNA/RNA-Synthesizer:**

Die modifizierten und unmodifizierten Oligonucleotide wurden in einem DNA-Synthesizer der Firma Applied Biosystems, Modell 394 DNA/RNA Synthesizer, synthetisiert. Die Synthesen wurden dabei nach der Phosphoramidit-Methode durchgeführt.

### **Circularer Dichroismus:**

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

### 7.1.7. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an einer Merck-Hitachi-Anlage Modell D-700 durchgeführt.

Software:	Chromatography Data Station Software
HPLC System Manager:	Version 3.1.1.
Interface:	Model L-7000
Pumpe:	Model L-7100
Automatischer Probenwechsler:	Model L-7200
Detektion:	Diode Array Detector Model L-7455
Säule:	EcoCART 125-3 mit LiChrosphor 100 RP 18, 5 µm Füllmaterial

#### HPLC-Methoden:

Methode A: Reinigung (12mere)

Acetonitril-Gradient von 0-23% in TEAA-Puffer (pH 6.9) bis 50 Minuten, dann 100% Acetonitril für 5 Minuten und abschließend 100% TEAA-Puffer für 10 Minuten.

Methode B: Reinigung (30mere)

Acetonitril-Gradient von 0-26% in TEAA-Puffer (pH 6.9) bis 50 Minuten, dann 100% Acetonitril für 5 Minuten und abschließend 100% TEAA-Puffer für 10 Minuten.

Methode C: Enzymatischer Abbau durch EcoRI

Acetonitril-Gradient von 0-25% in Triethylammoniumacetat-Puffer (pH 8.0) bis 20 Minuten, dann für 5 Minuten 100% Acetonitril und abschließend 100% Triethylammoniumacetat-Puffer für 10 Minuten.

### **7.1.8. Puffer**

#### **Triethylammoniumacetat-Puffer (TEAA-Puffer) pH = 6.9 für die HPLC**

Es wurden 5.88 mL Eisessig und 10.12 mL Triethylamin in ca. 900 mL Reinstwasser gelöst und auf einen pH-Wert von 6.9 eingestellt und mit Reinstwasser auf 1000 mL aufgefüllt.

#### **Triethylammoniumacetat-Puffer (TEAA-Puffer) pH = 8.0 für die HPLC**

Es wurden 3.00 mL Eisessig und 5.00 mL Triethylamin sowie 50 mL Acetonitril in ca. 900 mL Reinstwasser gelöst und auf einen pH-Wert von 8.0 eingestellt und mit Reinstwasser auf 1000 mL aufgefüllt.

#### **DTT-Puffer (pH = 7.5) für den EcoRI-Restriktionsabbau**

Es wurden 190.4 mg Magnesiumchlorid, 1.17 g Natriumchlorid und 1.21 g Tris in ca. 180 mL Reinstwasser gelöst, mit konz. Salzsäure auf einen pH-Wert von 7.5 eingestellt und auf 200 mL aufgefüllt. Anschließend wurden zu 200 mL Puffer noch 15.4 mg DTT hinzugefügt.

## **7.2. Oligonucleotide**

### **7.2.1. Synthese der Oligonucleotide**

Die unmodifizierten und modifizierten Desoxyoligonucleotide wurden im 1 µmol-Maßstab synthetisiert. Dazu wurde die Phosphoramiditmethode angewendet. Für die modifizierten Oligonucleotide wurde dem Standardprotokoll ein weiterer Kupplungsschritt zugefügt und die Kupplungszeit auf 500 s verlängert (s. Anhang). Die Kupplungsausbeute über jeden Schritt wurde durch UV-Assay der abgespaltenen DMTr-Gruppen bestimmt.

Nach erfolgter DNA-Synthese wurde die Abspaltung von der festen Phase, sowie der Schutzgruppen der Nucleobasen und des Phosphors an den noch festphasengebundenen Oligonucleotiden mit 1 mL konzentriertem Ammoniak und 17.5 µL β-Mercaptoethanol für 3 Stunden im Thermomixer bei 55 °C durchgeführt. Nach Entfernen der Abspalllösung in der Speevac wurde das Oligonucleotid in

Wasser aufgenommen und abfiltriert. Der Rückstand noch zweimal mit Reinstwasser gewaschen und in einem Speed-Vac-Probenkonzentrator getrocknet.

### **7.2.2. Reinigung**

Das Oligonucleotid wurde in Reinstwasser aufgenommen und in zwei Portionen über die HPLC gereinigt. Hierbei wurden manuell jeweils 0.5 - 1.0 mL-Fractionen in Eppendorf-Caps aufgefangen und anschließend mittels analytischen Läufen die Reinheit der Fractionen untersucht. Gleiche Fractionen wurden vereinigt, an einem Speed-Vac-Probenkonzentrator bis zur Trockne eingengt, und bei Bedarf noch einmal getrennt.

### **7.2.3. Analytik der Oligonucleotide**

#### **Bestimmung der Optischen Dichte (OD<sub>260</sub>)**

Eine OD<sub>260</sub>-Einheit ist die Menge, die in 1.0 mL Wasser gelöst, im Spektralphotometer (1 cm Küvettendicke) bei 260 nm einen Absorptionswert von 1.0 erzeugt. Um die OD<sub>260</sub>-Menge zu bestimmen, wurde das gereinigte Oligonucleotid in 100 µL Reinstwasser gelöst und 10 µL davon mit 990 µL Reinstwasser auf 1000 µL Gesamtlösung verdünnt. Diese Lösung wurde in einer Quarzküvette in einem UV/VIS-Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 260 nm vermessen. Der Absorptionswert ( $A_{260}$ ) wurde mit dem Faktor 10 (für zehnfache Verdünnung) multipliziert und ergibt den OD<sub>260</sub>-Wert.

Mittels des Oligo Calculator 3.1 der Firma Northwestern (<http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html>) wurden die Stoffmengen, sowie die Mengen der Oligonucleotide ausgehend vom gemessenen OD<sub>260</sub>-Wert berechnet. Bei modifizierten Basen wurde dabei der Extinktionskoeffizient der unmodifizierten Base als Näherungswert verwendet.

#### **Bestimmung der Schmelztemperatur (T<sub>m</sub>-Wert)**

Die T<sub>m</sub>-Werte wurden im 1 µM-Maßstab (1 nmol je Strang gelöst in 1 mL Puffer), in einem 10 mM Phosphat-Puffer mit 140 nM NaCl und 1 mM EDTA, pH 6.8 vermessen. Die Messungen wurden in einem Temperaturbereich von 5 °C bis 80 °C

durchgeführt. Die Probe wurde jeweils zehnmal von 5 °C auf 80 °C erhitzt und dreimal von 80 °C auf 5 °C abgekühlt. Die Heiz- bzw. Kühlrate betrug hierbei 0.5 °C/min., wobei alle 0.5 °C ein Datenpunkt aufgenommen wurde. Die Absorption der Probelösung wurde bei einer Wellenlänge von 260 nm verfolgt. Von der resultierenden sigmoiden Kurve wurde das Maximum der 1. Ableitung zur Bestimmung des Schmelzpunktes berechnet und die einzelnen Werte gemittelt.

### **Messung des circularen Dichroismus**

Für die Messung des Circular Dichroismus wurden die verwendeten Lösungen der Schmelzpunktbestimmung auf 3 mL mittels des Phosphatpuffers (pH=6.8) verdünnt und die molare Elliptizität von 350-200 nm gemessen.

### **ESI – MS**

Verdünnung der Oligonucleotide mit einer Lösung aus 20% *Isopropanol* in Wasser und 1% Triethylamin, auf eine Konzentration von 5 pmol/ µL.

### **Enzymatischer Abbau der Oligonucleotide mittels des EcoRI Restriktionsenzym**

Es wurden jeweils 3 nmol Oligonucleotid in 100 µL DTT-Puffer aufgenommen, für ca. 2 Minuten auf 70 °C erhitzt und durch Eiskühlung wieder abgekühlt. Es folgte die Inkubation mit 27 µL EcoRI (270 Units) bei ca. 20 °C im Thermomixer. Je Probe wurden 16 µL Reaktionslösung und 35 µL Reinstwasser verwendet und sofort an der HPLC vermessen.

### 7.3. Darstellung der Verbindungen

#### 7.3.1. Allgemeine Arbeitsvorschriften

##### TBDMS- bzw. TIPDS-Schützung von Nucleosiden (AAV 1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

Das entsprechende Nucleosid wurde dreimal mit Pyridin coevaporiert, dann in Pyridin suspendiert und mit 2.2 Äquivalenten TBDMS-Cl bzw. 1.2 Äquivalenten TIPDS-Cl<sub>2</sub> und 5 Äquivalenten Imidazol versetzt. Nach vollständiger Reaktion wurde die Reaktion mit 2 mL Methanol abgebrochen und anschließend mit gesättigter natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen

##### Darstellung der C8-Arylaminaddukte mittels Buchwald-Hartwig-Kupplung (AAV 2a)

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

In einen Kolben wurden zunächst der Katalysator Tris(benzylidenaceton)dipalladium(0) (Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>) (10 mol%) und *racemisches* BINAP (30 mol%) in Dimethoxyethan suspendiert und eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden nacheinander ein Äquivalent des 3',5'-O-silygeschützten 8-BrdA, 1.5 Äquivalente Base (K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> oder Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) und 1.5 bis 2 Äquivalente Amin zugegeben und unter Rückfluss bei 90 °C solange gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar war.

Nach beendeter Reaktionszeit wurde auf Raumtemperaturabgekühlt und mit 1 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Nach 2 Minuten Rühren und Zugabe von 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen anschließend zweimal mit je 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und einmal mit einer Mischung aus 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und 5 mL Wasser. Die organische Phase wurde über

Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde durch eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit 20 - 50% Essigsäureethylester in Petrolether gereinigt und lieferte die gewünschten C8-dA-Arylaminaddukte als Feststoffe.

### **Darstellung der $N^6$ -Arylaminaddukte mittels Buchwald-Hartwig-Kupplung (AAV 2b)**

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

In einen Kolben wurden zunächst der Katalysator Tris(benzylidenaceton)dipalladium(0) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) (10 mol%) und Xantphos (15 mol%) in Dimethoxyethan suspendiert und eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden nacheinander 1.4 Äquivalente des 3',5'-O-silygeschützten dA, 1.5 Äquivalente Base ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) und 1 Äquivalent 2-Nitroarylbromid zugegeben und bei 80 °C solange gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar war.

Nach beendeter Reaktionszeit wurde auf Raumtemperaturabgekühlt und mit 1 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Nach 2 Minuten Rühren und Zugabe von 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen anschließend zweimal mit je 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und einmal mit einer Mischung aus 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und 5 mL Wasser. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde durch eine Reinigung am Chromatotron mit 10 - 50% Essigsäureethylester in Petrolether gereinigt und lieferte die gewünschten  $N^6$ -dA-Arylaminaddukte als Feststoffe.

### **Benzoyl-Schätzung der $N^6$ -Aminofunktion (AAV 3)**

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

Es wurde 1 Äquivalent des Nucleosides zweimal mit 5 mL Pyridin codestilliert, danach in 10 mL Pyridin gelöst und mit 2 Äquivalenten Benzoylchlorid versetzt und

bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde mit 50 mL Dichlormethan gequench und zweimal mit je 30 mL Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde noch dreimal mit je 30 mL Dichlormethan reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden im Vakuum vom Lösungsmittel entfernt und das erhaltene Gemisch aus einfach und zweifach benzyliertem Produkt wurde in einem Pyridin/Wasser/Ammoniaklösung(25%)-Gemisch im Verhältnis 4:2:1 aufgenommen und eine halbe Stunde gerührt. Danach wurde mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan reextrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt dreimal mit Toluol coevaporiert. Das Produkt wurde am Chromatotron mit Petrolether als Eluent und einem Ethyllessigestergradienten gereinigt.

### **Silyl-Entschützung**

**(AAV 4a)** Ein Äquivalent des Silyl-geschützten dA-Derivates wurde in Tetrahydrofuran gelöst und mit 3 Äquivalenten einer einmolaren Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid in THF versetzt und bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung gerührt.

**(AAV 4b)** Ein Äquivalent des Silyl-geschützten dA-Derivates wurde in Tetrahydrofuran gelöst und mit 3 Äquivalenten einer einmolaren Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid in THF und 6.75 Äq. AcOH versetzt und bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung gerührt.

**(AAV 4c)** Ein Äquivalent des Silyl-geschützten dA-Derivates wurden in einem Tetrahydrofuran-Dichlormethan-Gemisch (1:1 v/v) gelöst und mit 10 Äquivalenten Triethylamintrihydrofluorid und 12 Äquivalenten Triethylamin versetzt und bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung gerührt.

### 5'-O-Dimethoxytritylierung (AAV 5)

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

Das Nucleosidderivat wurde zweimal mit Pyridin coevaporiert, in Pyridin gelöst, mit 1.2 Äquivalenten Dimethoxytritylchlorid und 1.2 Äquivalenten Silbernitrat versetzt und bei Raumtemperatur gerührt bis sich dünnenschichtchromatographisch kein Edukt mehr detektieren ließ. Nach Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel oder am Chromatotron gereinigt.

### 3'-O-Phosphoramidierung

**(AAV 6a)** Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

Das  $N^6$ -Benzoyl-8-N-arylamino-2'-desoxyadenosinderivat wurde zweimal mit Acetonitril coevaporiert, in Dichlormethan und Acetonitril (je ca. 30 mL/mol dA-Derivat) gelöst und mit 1 Äquivalent DCI versetzt. Unter Rühren wurden 1.5 Äquivalente Phosphordiamidit **244** zugetropft und die Reaktionsmischung bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (ca. 2 h) bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit 2% Triethylamin gereinigt. Als Eluent diente Dichlormethan. Anschließend wurde das Produkt einmal mit Wasser gewaschen, die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel entfernt.

Durch anschließende Gefriertrocknung aus Benzol konnte das gewünschte Produkt als Feststoff erhalten werden.

**(AAV 6b)** Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

Das  $N^6$ -Arylamino-2'-desoxyadenosinderivat wurde zweimal mit Acetonitril coevaporiert, Acetonitril (je ca. 30 mL/mol dA-Derivat) gelöst und mit 1 Äquivalent DCI versetzt. Unter Rühren wurden 1.5 Äquivalente Phosphordiamidit **244** zugetropft und die Reaktionsmischung bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (ca. 30 min bis 1 h) bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit 2% Triethylamin gereinigt. Als Eluent diente Dichlormethan. Anschließend wurde das Produkt einmal mit Wasser gewaschen, die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel entfernt.

Durch anschließende Gefriertrocknung aus Benzol konnte das gewünschte Produkt als Feststoff erhalten werden.

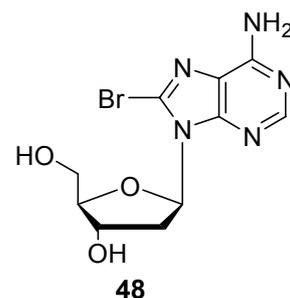
### 7.3.2. Synthese C8-Arylamino-modifizierter Phosphoramidite

#### 8-Brom-2'-desoxyadenosin **48**

Es wurden 4.43 mL Brom (86.1 mmol) zu 60 mL frisch zubereitetem Acetatpuffer (pH 4.2) gegeben und zwei Stunden gerührt bis sich das Brom vollständig gelöst hatte. Die Bromlösung wurde langsam zu einer Lösung von 20.0 g (74.3 mmol) 2'-Desoxyadenosin-Monohydrat **17** in 150 mL Acetatpuffer getropft. Die Reaktion wurde nach vier Stunden durch Zugabe von 15 mL gesättigter Natriumdisulfitlösung und Neutralisation mit 2N Natronlauge beendet. Das Produkt wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 17.4 g (52.8 mmol; 71 %) eines sandfarbenen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.11 (s, 1H, H-2), 7.51 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.29 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, 1H, H-1'), 5.34 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, 3'-OH), 5.29 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, 5'-OH), 4.49 - 4.47 (m, 1H, H-3'), 3.89 - 3.86 (m, 1H, H-4'), 3.65 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, H-5<sub>a</sub>'), 3.48 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, 1H, H-5<sub>b</sub>'), 3.25 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, 1H, H-2<sub>a</sub>), 2.19 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, 1H, H-2<sub>b</sub>'). <sup>13</sup>C NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 155.3 (C6), 152.6 (C2), 150.1 (C4), 126.8 (C8), 119.9 (C5), 88.5 (C4'), 86.6 (C1'), 71.4 (C3'), 62.3 (C5'), 37.2 (C2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3472, 3346, 3188, 2930, 2865, 1905, 1650, 1297, 955. Smp.: Zersetzung bei 202 °C. C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, M = 330.14 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 329.0124, gef.: 330.1505 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.5.

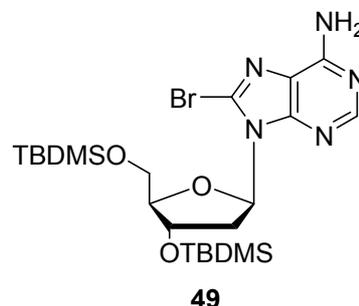


### 8-Brom-3',5'-di-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-dA **49**

Es wurden 7.2 g (22 mmol, 1 eq.) 8-Brom-2'-desoxy-adenosin **48** nach **AAV 1** umgesetzt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch gereinigt mit Pertolether und einem Essigsäureethylestergradienten als Eluent.

Ausbeute: 10.6 g (18.9 mmol; 87 %) eines farblosen Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.22 (s, 1H, H 2), 6.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.9 Hz, H-1'), 5.76 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.47 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 14.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.0 Hz, H-3'), 4.01 – 3.93 (m, 2H, H-4', H-5'<sub>a</sub>), 3.89 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.22 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.60 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.2 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.26 – 1.05 (m, 28H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 154.5 (C-6), 152.9 (C-2), 150.5 (C-4), 127.7 (C-8), 120.5 (C-5), 85.6 (C-4'), 84.4 (C-1'), 72.5 (C-3'), 63.4 (C-5'), 38.7 (C-2'), 17.7, 17.6, 17.5, 17.4, 17.3, 17.1 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 13.4, 13.3, 12.9, 12.7 (CH-*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3329, 3174, 2945,



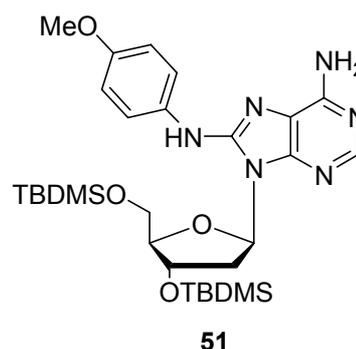
2893, 1662, 1602, 1574, 1461,1388, 1351, 1321, 1299, 1280, 1252, 1178, 1139, 1097, 1035, 885, 693.  $[\alpha]_{545}^{20} = - 53.9 \text{ }^\circ$  ( $c = 0.750$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.:  $158^\circ\text{C}$ .  $\text{C}_{22}\text{H}_{12}\text{BrN}_5\text{O}_3\text{Si}_2$ ,  $M = 558.66 \text{ g/mol}$ . HRMS (FAB): ber.: 571.1646, gef. 572.1723.  $R_f(\text{PE/EE } 2:1 \text{ v/v})$ : 0.4.

### 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-dA 51

Es wurden 3.00 g (5.37 mmol) 8-Brom-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **49** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 2.60 g (4.32 mmol; 80%) eines gelb-orangen kristallinen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.16 (s, 1H, H-2), 7.49 (d, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0 \text{ Hz}$ , H-aryl), 7.41 (bs, 1H, NH), 6.88 (d, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0 \text{ Hz}$ , H-aryl), 6.31 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.7 \text{ Hz}$ , H-1'), 5.34 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 4.90 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,OH}} = 15.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.9 \text{ Hz}$ , H-3'), 4.16 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.3 \text{ Hz}$ , H-5'<sub>a</sub>), 3.98 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 5. \text{ Hz}$ , H-5'<sub>b</sub>), 3.90



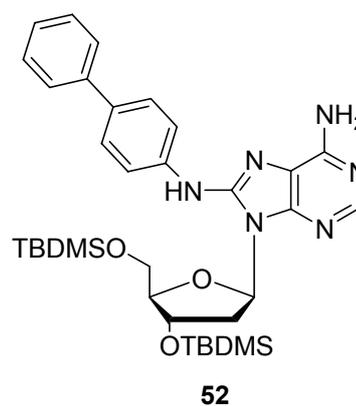
(ddd,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.4 \text{ Hz}$ , 1H, H-4'), 3.79 (s, 3H, O-Me), 3.06 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.1, \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.8 \text{ Hz}$ , H-2'<sub>a</sub>), 2.58 – 2.50 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 1.13 – 0.89 (m, 28 H, *i*Pr).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 155.8 (C-6), 152.4 (C-4), 150.3 (C-2), 149.3 (C-8), 149.1 (C-aryl), 132.5 (C-aryl), 121.5 (C-aryl), 117.4 (C-5), 114.4 (C-aryl), 85.2 (C-4'), 83.8 (C-1'), 70.4 (C-3'), 61.9 (C-5'), 55.7 (OMe), 38.8 (C-2'), 17.6, 17.4, 17.3, 17.2, 17.2, 17.1, 17.1,17.0 ( $\text{CH}_3$ -*i*Pr), 13.5, 13.3, 12.9, 12.6 (CH-*i*Pr). IR(KBr):  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3378, 2945, 2867, 1638, 1607, 1561, 1511, 1465, 1420, 1342, 1286, 1246, 1180, 1114, 1037, 886, 827, 780, 697, 598, 460.  $[\alpha]_{545}^{20} = - 29.0 \text{ }^\circ$  ( $c = 0.400$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.:  $59 - 61 \text{ }^\circ\text{C}$ .  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_4\text{Si}_2$ ,  $M = 600.60 \text{ g/mol}$ . HRMS (FAB): ber.: 614.3068, gef. 615.3149 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f(\text{PE/EE } 2:1 \text{ v/v})$ : 0.23.

**8*N*-(4-Biphenyl)-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 52**

Es wurden 2.50 g (4.48 mmol) 8-Brom-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **49** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.94 g (3.00 mmol, 67%) eines orange-farbenen Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.20 (s, 1H, H-2), 7.78 (bs, 1H, NH), 7.69 - 7.65 (m, 2H, H-aryl), 7.59 - 7.55 (m, 4H, H-aryl), 7.44 - 7.40 (m, 2H, H-aryl), 7.34 - 7.29 (m, 1H, H-aryl), 6.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.8 Hz, H-1'), 5.59 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 15.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.9 Hz, H-3'), 4.16 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 4.04 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.1 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.95 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-4'), 3.07 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.6 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.60 - 2.53 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 1.13 - 0.91 (m, 28 H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.7 (C-6), 150.6 (C-2), 149.1 (C-4), 148.0 (C-8), 140.9 (C-aryl), 138.7 (C-aryl), 135.6 (C-aryl), 128.9 (C-aryl), 127.8 (C-aryl), 127.0 (C-aryl), 126.8 (C-aryl), 119.3 (C-aryl), 117.4 (C-5), 85.3 (C-4'), 84.1 (C-1'), 70.4 (C-3'), 61.9 (C-5'), 38.9 (C-2'), 17.6, 17.4, 17.2, 17.2, 17.1, 17.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 13.5, 13.3, 12.9, 12.6 (CH-*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3367, 2364, 1972, 1954, 1908, 1892, 1811, 1659, 1624, 1577, 1495, 1474, 1449, 1179, 1123, 1073, 1001, 918, 847, 771, 703, 685, 650, 635, 614, 530, 414.  $[\alpha]_{545}^{20} = -58.4^\circ$  (c = 0.125, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 102 °C. C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>, M = 646.97 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 660.3276, gef. 661.3377 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.25.

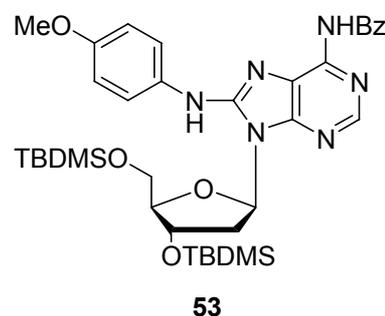


### ***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3',5'-*O*-di-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 53**

Es wurden 1.30 g (2.16) 8-Brom-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **51** nach **AAV 3** umgesetzt.

Ausbeute: 1.31 g (1.86 mmol; 86 %) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.46 (s, 1H, H-2), 8.12 (s, 1H, NH), 7.87 (m, 2H, H-*p*-Anis.), 7.20 (m, 4H, H-Benzoyl), 7.18 (m, 1H, H-Benzoyl), 6.69 (m, 2H, H-*p*-Anis.), 6.56 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H1'), 4,57 (m, 1H, H3'), 4.07 (m, 2H, H4', H-5'<sub>a</sub>), 3.90 (m, 1H, H5'<sub>b</sub>), 3.74 (s, 3H, O-Me), 2.67 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H2'<sub>a</sub>), 2.18



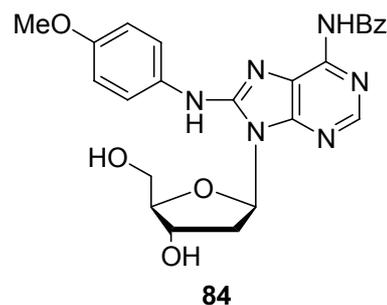
(ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.93 (s, 9H, *t*-Bu), 0.82 (s, 9H, *t*-Bu), 0.12 (s, 3H, Si-Me), 0.12 (s, 3H, Si-Me) - 0.01 (s, 3H, Si-Me), - 0.03 (s, 3H, Si-Me). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 156.2 (C-6), 152.2 (C-2), 150.1 (C-aryl), 135.0 (C-aryl), 132.6, 131.8, 129.5, 129.0, 128.8, 128.0 (C-aryl), 123.1 (C-aryl), 114.4 (C-aryl), 87.9 (C-4'), 84.5 (C-1'), 72.4 (C-3'), 63.3 (C-5'), 55.7 (O-Me), 39.5 (C-2'), 26.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.8 (SiC-Me<sub>3</sub>), 18.2 (SiC-Me<sub>3</sub>), -5.2 (SiMe<sub>2</sub>). Smp.: 79 °C. C<sub>36</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 705.01 g/mol. LRMS (FAB): ber.: 704.3538, gef.: 705.5 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub>(PE/EE 1:1 v/v): 0.7.

### ***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin 84**

Es wurden 850 mg (1.21 mmol) **53** nach **AAV 4a** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 7 Tage.

Ausbeute: 264 mg (0.555 mmol, 46%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 8.44 (s, 1H, H-2), 7.97 (m, 2H, H-aryl), 7.59 (tt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, H-aryl), 7.49 - 7.43 (m, 4H, H-aryl), 6.84 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, H-aryl), 6.73 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H-1'), 4.64 - 4.58 (m, 1H, H-3'), 4.14 - 4.10 (m, 1H, H-4'), 3.94 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.88 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.73 (s, 3H, O-Me), 2.81 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.27 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 156.2 (C=O), 152.2 (C-6), 150.1 (C-2), 135.0 (C-aryl), 132.6 (C-aryl), 131.8 (C-aryl), 129.5 (C-aryl), 129.0 (C-aryl), 128.8 (C-aryl), 128.0 (C-aryl), 123.1 (C-5), 114.4 (C-aryl), 87.9 (C-4'), 84.5 (C-1'), 72.4 (C-3'), 63.3 (C-5'), 55.7 (OMe), 39.5 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3353, 3060, 2932, 2835, 2550, 2348, 2254, 2125, 2048, 1911, 1692, 1654, 1611, 15656, 1444, 1248, 1176, 1028, 828, 703, 582.  $[\alpha]_{545}^{20}$  = - 27 ° (c= 1, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 161 °C. C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 476.48 g/mol. HRMS (ESI): ber.: 476.1808, gef.: 499.1706 (M+Na). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.4.

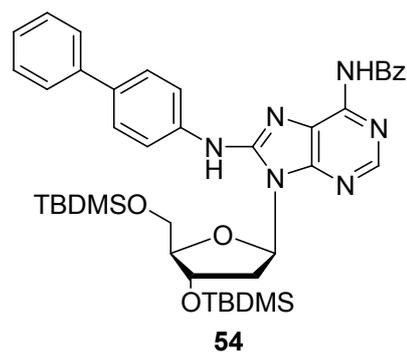


### **N<sup>6</sup>-Benzoyl-8N-(4-biphenyl)-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 54**

Es wurden 880 mg (1.05 mmol, 1 eq.) 8-*N*-(4-aminobiphenyl)-3',5'-*O*-bis-(*tert*-butyldimethyl-silyl)-2'-desoxyadenosin **52** nach **AAV 3** umgesetzt.

Ausbeute: 635 mg (0.850 mmol; 81 %) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.36 (s, 1H, H-2), 7.90 - 7.88 (m, 2H, H-Bz), 7.47 - 7.45 (m, 2H, H-Benzoyl), 7.42 - 7.40 (m, 2H, H-aryl), 7.35 - 7.33 (m, 2H, H-aryl), 7.18 - 7.16 (m, 1H, H-Bz), 6.21 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-1'), 4.76 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 16.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-3'), 4.04 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.96 (dd, 1H,



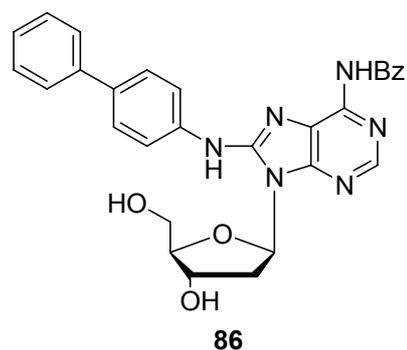
$^3J_{\text{HH}} = 12.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.83 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz, H-4'), 2.93 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.48 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 8.1$  Hz, 1H, H-2'<sub>b</sub>'), 0.93 (s, 9H, *t*-Bu), 0.82 (s, 9H, *t*-Bu), 0.12 (s, 3H, Si-Me), 0.12 (s, 3H, Si-Me) - 0.01 (s, 3H, Si-Me), - 0.03 (s, 3H, Si-Me).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 168.4 (C=O), 153.9 (C-6), 151.9 (C-8), 149.9 (C-2), 141.7 (C-4), 139.3 (C-aryl), 137.8 (C-aryl), 135.5 (C-Bz), 133.5 (C-Bz), 129.8, 129.5, 129.2, 128.4, 128.1, 127.6 (C-Bz, C-aryl), 123.7 (C-5), 122.7 (C-aryl), 89.3 (C-4'), 85.4 (C-1'), 73.4 (C-3'), 62.9 (C-5'), 39.9 (C-2') 26.2 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 26.0 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 18.5 ( $\text{Si}\underline{\text{C}}\text{-Me}_3$ ), 18.1 ( $\text{Si}\underline{\text{C}}\text{-Me}_3$ ), -5.2 ( $\text{SiMe}_2$ ). IR:  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3284, 3029, 2943, 2891, 2865, 1689, 1618, 1601, 1578, 1555, 1520, 1503, 1485, 1445, 1412, 1388, 1337, 1247, 1168, 1135, 1107, 1091, 1072, 1028, 991, 917, 883, 834, 759, 692, 622, 599, 577, 558, 494, 464, 420, 407.  $\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_4\text{Si}_2$ ,  $M = 751.08$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 751.3823 ( $M + \text{H}^+$ ) gef.: 751.3797 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f$  (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.45.

### ***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-biphenyl)-2'-desoxyadenosin **86****

Es wurden 550 mg (0.732 mmol) **54** nach **AAV 4c** umgesetzt.

Ausbeute: 88.0 mg (0.168 mmol, 23%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ): 8.41 (s, 1H, H-2), 7.91 - 7.85 (m, 2H, H-aryl), 7.69 - 7.64 (m, 2H, H-aryl), 7.49 (tt, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H-aryl), 7.47 - 7.43 (m, 4H, H-aryl), 7.42 - 7.39 (m, 2H, H-aryl), 7.36 - 7.30 (m, 2H, H-aryl), 7.24 (tt, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H-aryl), 6.71 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.8$  Hz, H1'), 4.62 - 4.55 (m, 1H, H-3'), 4.13 - 4.08 (m, 1H, H-4'), 3.94 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.87 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.74 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 9.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.24 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, H-2'<sub>b</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ): 168.3 (C=O), 154.0 (C-6), 150.0 (C-2), 141.7 (C-8), 138.0 (C-aryl), 135.4 (C-aryl), 133.5 (C-aryl), 129.8



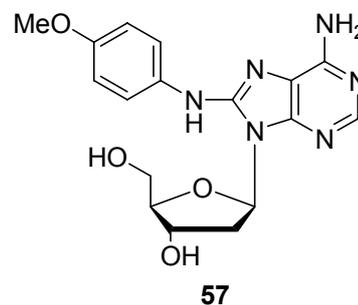
(C-aryl), 129.6 (C-aryl), 129.2 (C-aryl), 128.5 (C-aryl), 128.1 (C-aryl), 127.6 (C-aryl), 122.7 (C-aryl), 120.1 (C-5), 89.3 (C-4'), 85.4 (C-1'), 73.4 (C-3'), 62.8 (C-5'), 39.9 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3447, 3277, 3050, 3031, 2927, 2874, 2362, 2344, 1719, 1709, 1696, 1685, 1624, 1555, 1486, 1448, 1271, 1174, 1088, 836, 763, 697.  $[\alpha]_{545}^{20} + 4.3^\circ$  (c= 0.5,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.: 151 °C.  $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_4$ , M = 522.55 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 522.2016, gef.: 523.2049 (M +  $\text{H}^+$ ).  $R_f$  (PE/EE 9:1 v/v): 0.48.

### 8N-(4-Methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin 57

Es wurden 260 mg (0.432 mmol) Verbindung **51** nach **AAV 4a** umgesetzt. Nachfolgend wurde der erhaltene Feststoff säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/MeOH 4:1 v/v).

Ausbeute: 159 mg (0.428 mmol; 99%) eines farblosen kristallinen Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 8.88 (bs, 1H,  $\text{NH}$ ), 7.98 (s, 1H, H-2), 7.75 (ddd, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.3$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 3.5$  Hz,  $^5J_{\text{H,H}} = 2.2$  Hz, H-aryl), 6.88 (ddd, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 3.5$  Hz,  $^5J_{\text{H,H}} = 2.2$  Hz, H-aryl), 6.70 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.52 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$  Hz, H-1'), 5.95 (dd ~ vt, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.0$  Hz, 5'-OH), 5.35 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.8$  Hz, 3'-OH), 4.46 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.9$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, H-3'), 3.97-3.95 (m, 1H, H-4'), 3.76 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.5$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.8$  Hz, H-5'a), 3.73 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.70 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.3$  Hz, H-5'b), 2.71 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.4$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$  Hz, H-2'a), 2.09 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.8$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.7$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.1$  Hz, H-2'b).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 154.1 (C-6), 152.9 (C-aryl), 149.5 (C-2), 148.5 (C-8), 147.0 (C-4), 133.5 (C-aryl), 120.0 (C-aryl), 116.3 (C-5), 113.7 (C-aryl), 87.4 (C-4'), 83.1 (C-1'), 71.2 (C-3'), 61.5 (C-5'), 55.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 38.1 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3380, 3330, 3279, 3168, 2958, 2929, 2836, 1658, 1605, 1573, 1483, 1465, 1440, 1421, 1374, 1351, 1331, 1319, 1296, 1281, 1245, 1181, 1096, 1084, 1038, 828.  $[\alpha]_{545}^{20} = -7.8^\circ$  (c = 1, MeOH). Smp.: 217 °C.



$C_{17}H_{20}N_6O_4$ ,  $M = 372.38$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 373.1624 ( $M + H^+$ ), gef.: 373.1625 ( $M + H^+$ ).  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.34.

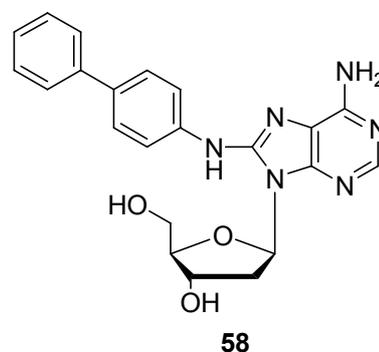
### 8*N*-(4-Biphenyl)-2'-desoxyadenosin **58**

Es wurden 321 mg (0.497 mmol) **52** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 187 mg (0.477 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffs.

$^1H$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.20 (bs, 1H, NH), 8.03 (s, 1H, H-2), 7.97 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 8.7$  Hz, H-aryl), 7.65 - 7.60 (m, 4H, H-aryl), 7.44 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.7$  Hz, H-aryl), 7.31 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 7.4$  Hz, H-aryl), 6.85 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 6.57 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 9.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 5.9$  Hz, H-1'), 6.03 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 5.1$  Hz, 5'-OH), 5.39 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.9$  Hz, 3'-OH), 4.49 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 5.8$  Hz, H-3'), 3.99 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 2.0$  Hz, H-4'), 3.78 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 11.9$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.5$  Hz, H-5'\_a), 3.74 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 11.8$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.0$  Hz, H-5'\_b), 2.73 (ddd, 1H,  $^2J_{HH} = 13.1$  Hz,  $^3J_{HH} = 9.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.1$  Hz, H-2'\_a), 2.15 - 2.11 (m, 1H, H-2'\_b).

$^{13}C$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 153.3 (C-6), 149.9 (C-2), 149.5 (quartär, aryl.), 148.5 (C-8), 146.3 (C-4), 139.9 (C-aryl), 139.9 (C-aryl), 136.1 (quartär, aryl), 133.1 (quartär, aryl), 128.8 (C-aryl), 126.7 (C-aryl), 123.9 (C-aryl), 118.6 (C-5), 87.6 (C-4'), 83.3 (C-1'), 71.3 (C-3'), 61.6 (C-5'), 38.3 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3326 (m-s), 3153 (m), 1600, 1577, 1559 (s), 1488 (m), 1348, 1325 (w-m) 1295, 1098, 1080 (m).  $[\alpha]_{545}^{20} = -7.78^\circ$  (c = 0.1, MeOH). Smp.: 190 - 192 °C.  $C_{22}H_{22}N_6O_3$ ,  $M = 418.45$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 419.1831 ( $M + H^+$ ), gef.: 419.1837 ( $M + H^+$ ).  $R_f$  (EE/MeOH 7:1 v/v): 0.47.

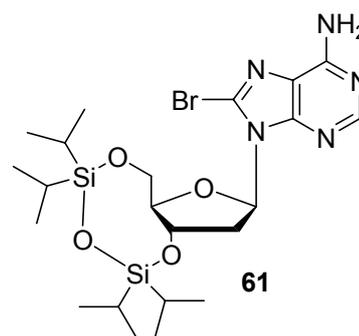


### 8-Brom-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disil-oxandiyl)-2'-desoxyadenosin **61**

Es wurden 515 mg (1.56 mmol) **17** nach **AAV 1** umgesetzt.

Ausbeute: 880 mg (1.54 mmol; 98 %) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.22 (s, 1H, H-2), 6.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-1'), 5.76 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.47 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 14.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, H-3'), 4.01 – 3.93 (m, 2H, H-4', H-5'<sub>a</sub>), 3.89 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.22 (ddd, 1H <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.60 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.26 – 1.05 (m, 28 H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 159.8 (C-6), 152.5 (C-2), 150.4 (C-4), 122.2 (C-5), 85.6 (C-4'), 84.5 (C-1'), 72.2 (C-3'), 63.1 (C-5'), 38.6 (C-2'), 17.7 - 17.1 (C-CH<sub>3</sub>*i*Pr), 13.4 - 12.7 (C-CH-Me*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3329, 3174, 2945, 2893, 1662, 1602, 1574, 1461, 1388, 1351, 1321, 1299, 1280, 1252, 1178, 1139, 1097, 1035, 885, 693. Smp.: 158 °C. C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 571.64 g/mol. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: - 53.9 ° (c = 0.750, CHCl<sub>3</sub>). HRMS (FAB): ber.: 572.1724 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 572.1723 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub>(PE/EE 1:1 v/v): 0.4.

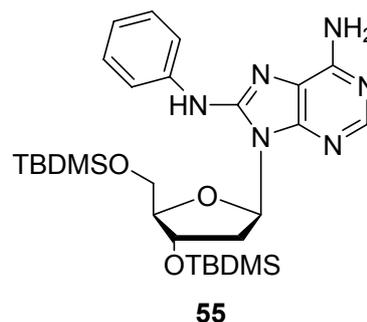


### 8*N*-(4-Phenyl)-3',5'-di-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxy-adenosin **55**

Es wurden 2.05 g (3.67 mmol) TBDMS-Br-dA **49** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.57 g (2.67 mmol, 75%) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 8.20 (s, 1H, H-2), 7.59 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H-aryl), 7.33 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-aryl), 7.05 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 6.43 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9, H-1'), 5.36 (bs, 2H, NH), 4.59 - 4.56 (m, 1H, H-3'), 4.06 - 4.03 (m, 1H, H-4'), 3.96 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.89 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.89 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.60 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.82 (s, 9H, *t*-Bu), 0.12 (SiMe), 0.11 (SiMe), 0.01 (SiMe), 0.00 (SiMe). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.5 (C-6), 150.2 (C-2), 149.5 (C-4), 148.6 (C-8), 139.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.1, 123.0 (C-aryl), 119.8 (C-5), 117.5 (C-aryl), 87.9 (C-4'), 84.4 (C-1'), 72.0 (C-3'), 63.0 (C-5'), 39.5 (C-2'), 26.1, 25.9 (C<sub>q</sub>-TBDMS), 18.7, 18.2 (*t*-Bu-CH<sub>3</sub>), -4.4, -4.6, -5.2, -5.2 (SiMe). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3327, 3180, 2952, 2928, 2884, 2857, 1600, 1557, 1498, 1470, 1345, 1282, 1251, 1179, 1028, 951, 880, 831, 775, 747, 690, 578, 495, 404. C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>, M = 570.87 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 571.3248 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 571.3251 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.34.

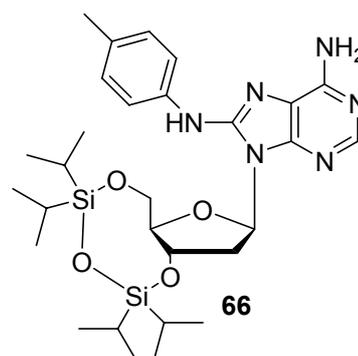


### 8*N*-(4-Methylphenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **66**

Es wurden 2.31 g (4.02 mmol) TIPDS-Br-dA **61** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.64 g (2.73 mmol, 68%) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.15 (s, 1H, H-2), 7.44 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, H-aryl), 7.14 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.2 Hz, H-aryl), 6.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, H-1'), 5.66 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.92 - 4.86 (m, 1H, H-3'), 4.11 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.98 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.92 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4'), 3.08 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz,



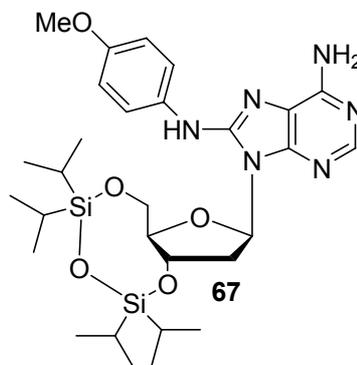
H-2'a), 2.54 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-2'b), 2.32 (s, 3H, aryl-CH<sub>3</sub>), 1.07 - 0.92 (m, 28 H, CH*i*Pr, CH<sub>3</sub>*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.0 (C-6), 149.3 (C-2), 149.1 (C-4), 148.9 (C-8), 136.6 (C<sub>q</sub>-aryl), 132.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.7 (C-aryl), 119.5 (C-aryl), 117.5 (C-5), 85.4 (C-4'), 84.1 (C-1'), 70.7 (C-3'), 62.1 (C-5'), 38.9 (C-2'), 20.9 (aryl-CH<sub>3</sub>), 17.6, 17.4, 17.3, 17.3, 17.3, 17.1, 17.0 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 13.5, 13.3, 12.9, 12.7 (CH*i*Pr). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3361, 3167, 2944, 2892, 2866, 1635, 1599, 1555, 1463, 1386, 1343, 1285, 1247, 1186, 1113, 1028, 991, 919, 884, 813, 777, 691, 599, 575, 464. C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 598.88 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 599.3197 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 599.3182 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.32.

### 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **67**

Es wurden 2.34 g (4.09 mmol) TIPDS-Br-dA **61** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.85 g (3.01 mmol; 75 %) eines hellgelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.16 (s, 1H, H-2), 7.49 - 7.47 (m, 2H, H-aromat.), 7.41 (bs, 1H, NH-Aryl), 6.91 - 6.87 (m, 2H, H-aromat.), 6.31 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8$  Hz, H-1'), 5.34 (s, 2H, NH<sub>2</sub>-Adenin), 4.90 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 15.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz, H-3'), 4.16 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz, H-5'a), 3.98 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, H-5'b), 3.90 (ddd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz, 1H, H-4'), 3.79 (s, 3H, O-Me), 3.06 (ddd,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 8.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, 1H, H-2'a), 2.59 (ddd,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'b), 1.13 - 0.89 (m, 28 H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 155.8 (C-6), 152.5 (C-2), 149.4 (C-4), 132.5 (C-aryl), 121.5 (C-5), 117.4 (C-aryl), 114.5 (C-aryl), 85.3 (C-4'), 83.8 (C-1'), 70.5 (C-3'), 61.9 (C-5'), 55.7 (O-Me), 38.8 (C-2'), 17.6 - 17.0 (CHCH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.5 - 12.6 (CH-Me *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3378, 2945, 2867, 1638, 1607, 1561, 1511, 1465, 1420, 1342, 1286, 1246, 1180, 1114, 1037, 886, 827, 780, 697, 598, 460.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -29.0$  ° (c = 0.400, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 59 - 61 °C. C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>,



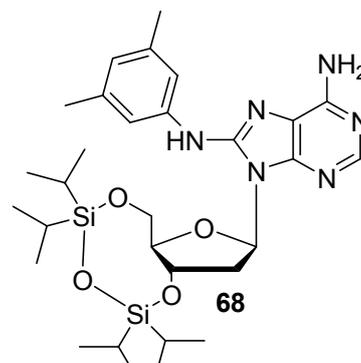
M = 614.88 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 614.3068, gef.: 615.3149 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.23.

**8*N*-(3,5-Dimethylphenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **68****

Es wurden 829 mg (1.45 mmol) TIPDS-Br-dA **61** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 818 mg (1.33 mmol; 92%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.18 (s, 1H, H-2), 7.16 (s, 2H, aryl), 6.70 (s, 1H, H-aryl), 6.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-1'), 5.62 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 14.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-3'), 4.12 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.98 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.93 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4'), 3.08 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.54 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.31 (s, 6H, aryl-CH<sub>3</sub>), 1.09 - 0.92 (m, 28 H, CH*i*Pr, CH<sub>3</sub>*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.5 (C-6), 150.4 (C-2), 149.2 (C-4), 146.9 (C-8), 139.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 138.9 (C<sub>q</sub>-aryl), 124.8 (C-aryl), 117.5 (C-5), 116.8 (C-aryl), 85.3 (C-4'), 84.0 (C-1'), 70.9 (C-3'), 62.3 (C-5'), 38.9 (C-2'), 21.6 (aryl-CH<sub>3</sub>), 17.9, 17.8, 17.7, 17.6, 17.5, 17.5, 17.4, 17.4, 17.3 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 13.9, 13.5, 13.1, 12.9 (CH*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3370, 3178, 3055, 2944, 2866, 1637, 1567, 1465, 1437, 1387, 1336, 1289, 1251, 1186, 1116, 1035, 947, 920, 885, 836, 776, 746, 699, 560, 575, 541, 524, 458. [α]<sub>545</sub><sup>20</sup> = - 37 ° (c = 1, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 184 °C. C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 612.92 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 613.3354 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 613.3333 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.35.

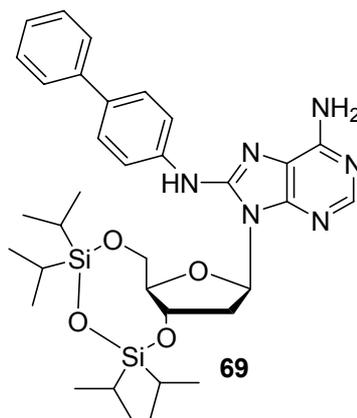


## 8*N*-(4-Biphenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **69**

Es wurden 2.35 g (4.10 mmol) TIPDS-Br-dA **61** nach **AAV 2a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.76 g (2.67 mmol; 65%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.19 (s, 1H, H-2), 7.78 (bs, 1H, NH-Aryl), 7.71 - 7.68 (m, 2H, H-aromat.), 7.58 (m, 4H, H-aromat.), 7.46 - 7.43 (m, 2H, H-aromat.), 7.34 - 7.32 (m, 1H, H-aromat.), 6.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, H-1'), 5.59 (s, 2H, NH<sub>2</sub>-Adenin), 4.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HOH</sub> = 15.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-3'), 4.16 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 4.04 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.95 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, 1H, H-4'), 3.07 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.59 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 1.13 - 0.91 (m, 28 H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 156.7 (C-6), 152.4 (C-2), 149.7 (C-4), 148.3 (C-8), 140.9 (C-aryl), 132.5 (C-aryl), 121.5 (C-5), 117.4 (C-aryl), 114.5 (C-aryl), 85.3 (C-4'), 83.8 (C-1'), 70.5 (C-3'), 61.9 (C-5'), 55.7 (O-Me), 38.8 (C-2'), 17.6 - 17.0 (CHCH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.5 - 12.6 (CH-Me *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3367, 2364, 1972, 1954, 1908, 1892, 1811, 1659, 1624, 1577, 1495, 1474, 1449, 1179, 1123, 1073, 1001, 918, 847, 771, 703, 685, 650, 635, 614, 530, 414.  $[\alpha]_{545}^{20}$  = - 58.4 ° (c = 0.125, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 102 °C. C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 660.95 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 660.3276, gef.: 661.3377 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.37.

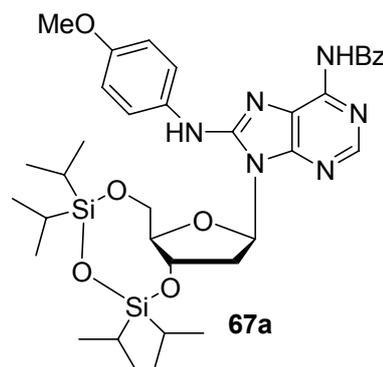


***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **67a****

Es wurden 793 mg (1.29 mmol) **67** nach **AAV 3** umgesetzt.

Ausbeute: 621 mg (0.864 mmol; 67%) eines schwach gelben Feststoffs

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.36 (s, 1 H, H-2), 7.71 - 7.69 (m, 2 H, H-aryl), 7.22 - 7.20 (m, 4 H, H-Benzoyl), 7.18 - 7.16 (m, 1 H, H-Benzoyl), 6.64 - 6.62 (m, 2 H, H-aryl), 6.21 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-10), 4.76 (dd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 16.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-30), 4.04 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.96 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.83 (ddd, 1 H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-4'), 3.68 (s, 3 H, O-Me), 2.93 (ddd, 1 H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.48 (ddd, 1 H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.05 - 0.78 (m, 28 H, iPr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 180.9 (C=O), 153.2 (C-6), 152.1 (C-2), 150.6 (C-aryl), 132.0 (C-5), 128.8 (C-aryl), 114.9 (C-aryl), 88.4 (C-4'), 85.5 (C-1'), 72.9 (C-3'), 63.1 (C-5'), 55.7 (O-Me), 36.7 (C-2'), 17.5 - 16.9 (CHCH<sub>3</sub>iPr), 13.3 - 12.5 (CH-MeiPr). C<sub>36</sub>H<sub>50</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>, M = 718.99 g/mol. R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.30.

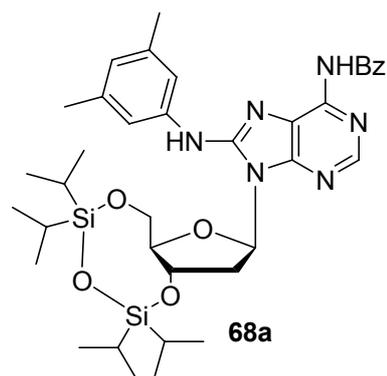


***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(3,5-dimethylphenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **68a****

Es wurden 770 mg (1.26 mmol) **68** nach **AAV 3** umgesetzt.

Ausbeute: 630 mg (0.879 mmol, 70%) eines grünlichen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.90 (bs, 1H, NH-Bz), 9.31 (bs, 1H, NH-C8), 8.39 (s, 1H, H-2), 7.64 - 7.60 (m, 1H, H-Bz), 7.56 - 7.52 (m, 4H, H-Bz), 7.46 - 7.43 (m, 1H, H-aryl), 7.42 - 7.39 (m, 1H, H-aryl), 6.61 (s, 1H, H-aryl), 6.49 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-1'), 5.46 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 15.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, H-3'), 3.94 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.88



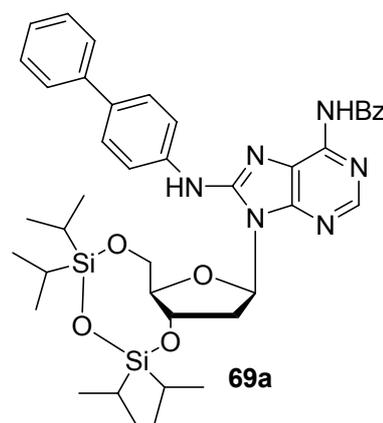
(dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.32 - 3.28 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.58 - 2.52 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 2.19 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-aryl), 1.14 - 1.01 (m, 28 H, CH<sub>i</sub>/Pr, CH<sub>3</sub>/Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 164.9 (C=O), 152.1 (C-6), 151.1 (C-2), 149.4 (C-4), 145.2 (C-8), 139.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 137.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 133.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 128.5, 128.3, 128.0, 127.1, 125.9 (C-5), 123.7, 116.8, 116.6 (C-aryl), 84.1 (C-4'), 80.8 (C-1'), 72.0 (C-3'), 66.1 (C-5'), 37.5 (C-2'), 21.1 (aryl-CH<sub>3</sub>), 17.4, 17.2, 16.8 (CH<sub>3</sub>/Pr), 12.8, 12.5, 12.2, 12.1 (CH<sub>i</sub>/Pr). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3233, 3061, 2944, 2866, 1616, 1568, 1442, 1341, 1258, 1027, 884, 840, 691, 460. Smp.: Zersetzung ab 96 °C. C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 717.02 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 717.3616 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 717.3627 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH v/v 19:1 v/v): 0.55.

### ***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-biphenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*i*sopropyl)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **69a****

Es wurden 995 mg (1.51 mmol) **69** nach **AAV 3** umgesetzt.

Ausbeute: eines 1.00 g (1.31 mmol; 87 %) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.36 (s, 1H, H-2), 7.71 - 7.68 (m, 2H, H-aromat.), 7.58 (m, 4H, H-aromat.), 7.46 - 7.43 (m, 2H, H-aromat.), 7.34 - 7.32 (m, 1H, H-aromat.), 7.20 (m, 4H, H-Benzoyl), 7.18 (m, 1H, H-Benzoyl), 6.21 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-1'), 4.76 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 16.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-3'), 4.04 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.96 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.83 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-4'), 3.68 (s, 3H, O-Me), 2.93 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.48 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 1.05 – 0.78 (m, 28 H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 168.4 (C=O), 153.9 (C-6), 151.9 (C-4), 149.9 (C-2), 141.7 (C-8), 139.3 (C-aryl), 137.8 (C-aryl), 135.5 (C-aryl), 133.5 (C-aryl), 129.8, 129.5, 129.2, 128.4, 128.1, 127.6 (C-aryl), 123.7 (C-5), 122.7 (C-aryl), 89.3 (C-4'), 85.4 (C-1'), 73.4 (C-3'), 62.9 (C-5'), 39.9 (C-2'), 17.6 – 16.9 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.1 - 12.5 (CH-Me *i*Pr). C<sub>41</sub>H<sub>52</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 765.06 g/mol. R<sub>f</sub> (DCM/MeOH v/v 19:1 v/v): 0.50.

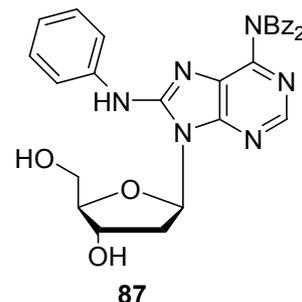


### ***N*<sup>6</sup>-Di-benzoyl-8*N*-(phenyl)-2'-desoxyadenosin **87****

Es wurden 1.45 g (2.54 mmol) **56** nach **AAV 3** und direkt weiter nach **AAV 4c** umgesetzt.

Ausbeute: 629 mg (1.14 mmol, 54%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.21 (bs, 1H, NH), 8,76 (s, 1H, H-2), 7.98 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.62 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.55 - 7.50 (m, 4H, H-Bz), 7.45 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.40 - 7.33 (m, 4H, H-Bz), 7.30 - 7.28 (m, 2H, H-Bz), 6.34 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H-1'), 5.32 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, 3'-OH), 5.06 - 4.96 (m, 1H, 5'-OH), 4.56 - 4.47 (m, 1H, H-4'), 3.93 - 3.91 (m, 1H, H-3'), 3.74 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, H-5'a), 3.56 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, H-5'b), 3.18 - 2.88 (m, 1H, H-2'a), 2.09 - 1.96 (m, 1H, H-2'b). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 162.7 (C=O), 152.2 (C-6), 150.3 (C-2), 149.9 (C-4), 149.1 (C-8), 132.4, 131.7, 130.4, 129.5 (C aryl), 128.6, 128.5, 128.4, 127.5 (C-aryl), 117.8 (C-5), 88.4 (C-4'), 84.9 (C-1'), 70.9 (C-3'), 61.9 (C-5'), 37.5 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3235, 2924, 1679, 1618, 1598, 1562, 1495, 1442, 1423, 1345, 1281, 1183, 1128, 1086, 1026, 989, 964, 900, 873, 852, 792, 752, 706, 690, 626, 614, 575, 560, 495, 429. C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 550.56 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 551.2043 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 551.2048 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.42.

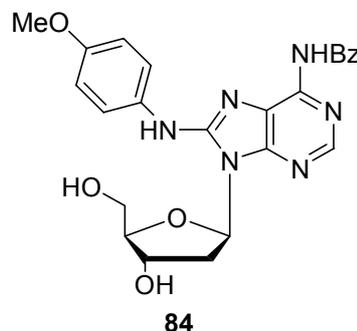


### **N<sup>6</sup>-Benzoyl-8N-(4-methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin 84**

Es wurden 439 mg (0.611 mmol) **67a** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 270 mg (0.568 mmol; 93 %) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 8.44 (s, 1H, H2), 7.99 - 7.97 (m, 2H, H- *p*-Anisidin), 7.60 - 7.58 (m, 1H, H-benzoyl), 7.48 - 7.46 (m, 4H, H-benzoyl), 6.70 - 6.68 (m, 2H, H- *p*-Anisidin), 6.56 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H1'), 4.62 - 4.59 (m, 1H, H3'), 4.22 - 4.19 (m, 1H, H4'), 3.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.4 Hz, H5'a), 3.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H5'b), 3.74 (s, 3H, O-Me), 2.82 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, 1H, H2'a), 2.27 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, 1H, H-2'b). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 156.2 (C-6), 152.2 (C-2), 150.1 (C-4), 135.0 (C-8), 132.6,



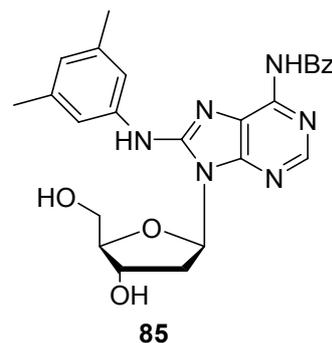
131.8, 129.5, 129.0, 128.8, 128.0 (C-aryl.), 123.1 (C-aryl), 114.4 (C-5), 87.9 (C-4'), 84.5 (C-1'), 72.4 (C-3'), 63.3 (C-5'), 55.7 (O-Me), 39.5 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3353, 3060, 2932, 2835, 2550, 2348, 2254, 2125, 2048, 1911, 1692, 1654, 1611, 15656, 1444, 1248, 1176, 1028, 828, 703, 582.  $[\alpha]_{545}^{20} = -27^\circ$  (c = 1, MeOH). Smp.: 161 °C. C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 476.48 g/mol. HRMS (ESI): ber.: 476.1808, gef.: 499.1706 (M+Na). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.25.

### N<sup>6</sup>-Benzoyl-8N-(3,5-dimethylphenyl)-2'-desoxyadenosin 85

Es wurden 600 mg (0.837 mmol) **68a** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 349 mg (0.736 mmol, 88%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.91 (bs, 1H, NH-Bz), 9.27 (bs, 1H, H-2), 8.52 (s, 1H, H-2), 8.09 - 8.06 (m, 2H, H-aryl), 7.67 - 7.60 (m, 1H, H-Bz), 7.56 - 7.52 (m, 4H, H-Bz), 6.62 (s, 1H, H-aryl), 5.93 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, H-1'), 5.43 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, 3'-OH), 4.51 - 4.47 (m, 1H, H-3'), 4.02 - 3.99 (m, 1H, H-4'), 3.82 - 3.74 (m, 2H, H-5'), 2.73 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, H-2'a), 2.21 - 2.14 (m, 1H, H-2'b), 2.15 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-aryl).



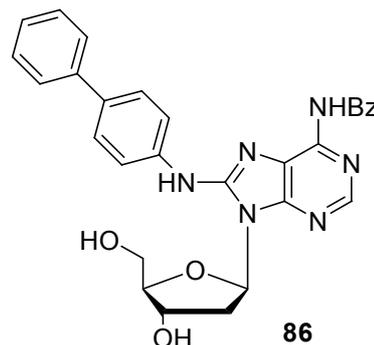
<sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 164.9 (C=O), 152.4 (C-6), 149.1 (C-2), 148.7 (C-4), 144.9 (C-8), 139.3, 137.4, 133.6 (C<sub>q</sub>-aryl), 128.5, 128.3, 128.0, 125.1 (C-aryl), 125.1 (C-5), 117.0, 116.7 (C-aryl), 87.8 (C-4'), 83.2 (C-1'), 71.4 (C-3'), 62.1 (C-5'), 38.8 (C-2'), 21.0 (CH<sub>3</sub>-aryl). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3302, 3269, 3249, 3213, 3193, 3179, 3161, 2906, 2359, 2341, 2142, 20834, 20567, 1692, 1616, 1567, 1502, 1439, 1335, 1261, 1172, 1087, 989, 942, 899, 842, 790, 708, 684, 647, 573, 536, 443, 388. C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, M = 474.51 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 474.2016, gef.: 475.2093 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.57.

**N<sup>6</sup>-Benzoyl-8N-(4-biphenyl)-2'-desoxyadenosin 86**

Es wurden 1.60 g (2.42 mmol) **69a** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 1.21 g (2.32 mmol; 96%) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 8.41 (s, 1H, H-2), 7.91 - 7.85 (m, 2H, H-aryl), 7.69 - 7.64 (m, 2H, H-aryl), 7.49 (tt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz), 7.47 - 7.43 (m, 4H, H-aryl), 7.42 - 7.39 (m, 2H, H-aryl), 7.36 - 7.30 (m, 2H, H-aryl), 7.24 (tt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H-aryl), 6.71 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, H1'), 4.62 - 4.55 (m, 1H, H-3'), 4.13 - 4.08 (m, 1H, H-4'), 3.94 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.4 Hz, H-5'a), 3.87 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, H-5'b), 2.74 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-2'a), 2.24 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, H-2'b). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, MeOH-d<sub>4</sub>): 168.3 (C=O), 154.0 (C-6), 150.0 (C-2), 141.7 (C-8), 138.0 (C-aryl), 135.4 (C-aryl), 133.5 (C-aryl), 129.8 (C-aryl), 129.6 (C-aryl), 129.2 (C-aryl), 128.5 (C-aryl), 128.1 (C-aryl), 127.6 (C-aryl), 122.7 (C-aryl), 120.1 (C-5), 89.3 (C-4'), 85.4 (C-1'), 73.4 (C-3'), 62.8 (C-5'), 39.9 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3447, 3277, 3050, 3031, 2927, 2874, 2362, 2344, 1719, 1709, 1696, 1685, 1624, 1555, 1486, 1448, 1271, 1174, 1088, 836, 763, 697.  $[\alpha]_{545}^{20} + 4.3^\circ$  (c= 0.5, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 151 °C. C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, M = 522.55 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 522.2016, gef.: 523.2049 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 9:1 v/v): 0.48.

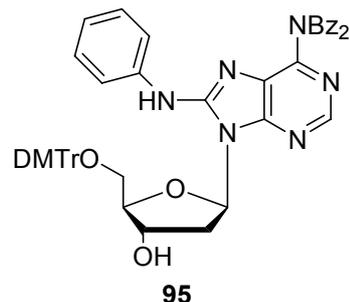


***N*<sup>6</sup>-Di-benzoyl-8*N*-(phenyl)-5'-*O*-DMTr-2'-desoxyadenosin **95****

Es wurden 530 mg (0.963 mmol) **87** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 519 mg (0.693 mmol; 72%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>): 8.43 (s, 1H, H-2), 7.98 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.62 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.57 (bs, 1H, NH-C8), 7.58 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-aryl), 7.41 - 7.26 (m, 13H, H-Bz, H-aryl, H-DMTr), 7.21 - 7.15 (m, 7H, H-DMTr), 6.80 - 6.71 (m, 4H, H-DMTr), 6.41 - 6.37 (m, 1H, H-1'), 5.42 - 5.32 (m, 1H, 3'-OH), 4.69 - 4.55 (m, 1H, H-3'), 4.09 - 4.05 (m, 1H, H-4'), 3.70 (s, 3H, O-Me), 3.68 (s, 3H, O-Me), 3.43 - 3.18 (m, 2H, H-5'), 3.07 - 2.96 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.14-2.02 (m, 1H, 2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO<sub>d</sub><sub>6</sub>): 165.6 (C=O), 157.9, 157.9 (C-OMe), 151.9 (C-6), 151.3 (C-2), 150.0 (C-4), 144.9, 135.8, 135.5, 133.3 (C<sub>q</sub>-aryl), 132.3 (C-aryl), 132.4, 131.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.6, 129.4, 128.5, 128.4, 128.3, 127.6, 127.6, 126.5 (C-aryl), 123.9 (C-5), 113.0, 112.9 (C-aryl), 86.2 (C-4'), 85.2 (C<sub>q</sub>-DMTr), 84.2 (C-1'), 70.8 (C-3'), 65.3 (C-5'), 54.9, 54.9 (OMe-DMTr), 37.7 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3060, 2932, 2835, 1732, 1680, 1607, 1581, 1506, 1488, 1448, 1350, 1279, 1243, 1173, 1029, 827, 791, 752, 695, 580, 421. Smp.: 152 - 154 °C. C<sub>51</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 852.93 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 853.3350 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 853.3385 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.2.

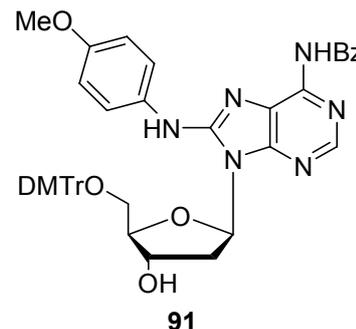


***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-5'-*O*-DMTr-2'-desoxyadenosin **91****

Es wurden 1.10 g (2.31 mmol) **84** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 1.32 g (73%, 1.69 mmol) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.78 (s, 1H, NH-Bz), 9.32 (s, 1H, C8-NH), 8.27 (s, 1H, H-2), 8.04 – 7.99 (m, 2H, H-DMTr), 7.78 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, 2H, H-aryl), 7.64 – 7.58 (m, 1H, H-aryl), 7.56 – 7.50 (m, 2H, H-aryl), 7.33 – 7.27 (m, 2H, H-aryl), 7.22 – 7.14 (m, 7H, H-DMTr), 6.86 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, 2H, H-aryl), 6.81 – 6.74 (m, 4H, H-Bz), 6.53 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, 1H, H-1'), 5.41 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, 1H, 3'-OH), 4.74 – 4.67 (m, 1H, H-3'), 4.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, H-4'), 3.70 (s, 3H, OMe-anis), 3.69 (s, 6H, OMe-DMTr), 3.59 – 3.49 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 3.25 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.2 Hz, 1H, H-5'<sub>b</sub>), 3.15 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.31 – 2.22 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 165.3 (C=O), 158.0 (C-aryl), 154.7 (C-6), 152.8 (C-2), 150.4 (C-4), 147.9 (C-8), 145.0 (C-aryl), 144.6 (C-aryl), 135.8 (C-aryl), 135.6 (C-aryl), 134.0 (C-aryl), 132.8 (C-aryl), 129.7 (C-aryl), 129.6 (C-aryl), 128.4 (C-aryl), 128.3 (C-aryl), 127.6 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 126.2 (C-aryl), 120.8 (C-5), 113.8 (C-aryl), 113.0 (C-aryl), 86.5 (C-4'), 84.7 (C-1'), 74.7 (C-3'), 64.1 (C-5'), 55.2 (OMe-anis), 55.1, 55.0 (OMe-DMTr), 35.1 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3356, 3057, 2999, 2932, 2835, 2361, 1735, 1670, 1609, 1563, 1462, 1444, 1372, 1301, 1177, 1034, 910, 828, 791, 754, 726, 617, 584. [ $\alpha$ ]<sub>545</sub><sup>20</sup> = - 37.5° (c = 0.5, CH<sub>3</sub>OH). Smp.: 93 °C. C<sub>45</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 778.85 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 778.3115, gef.: 779.3193 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.18.

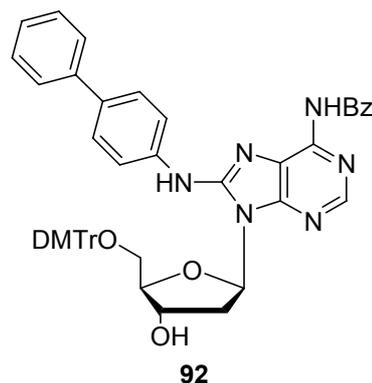


## ***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-biphenyl)-5'-*O*-DMTr-2'-desoxyadenosin **92****

Es wurden 880 mg (1.68 mmol) **86** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 1.06 g (1.28 mmol; 76%) eines schwach gelben Feststoffs.

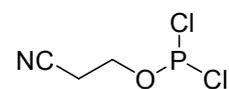
<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.83 (bs, 1H, NH-Benzoyl), 9.57 (bs, 1H, NH-Arylamin), 8.31 (s, 1H, H-2), 8.04 - 8.01 (m, 2H, H-Bz), 7.99 - 7.97 (m, 2H, H-Bz), 7.63 - 7.60 (m, 5H, H-DMTr), 7.55 - 7.53 (m, 2H, H-DMTr), 7.42 - 7.39 (m, 3H, H-DMTr), 7.30 - 7.28 (m, 3H, H-Bz, H-aryl), 7.18 (m, 7H, H-aryl, H-Bz), 6.77 - 6.74 (m, 4H, H-DMTr), 6.59 - 6.57 (m, 1H, H-1'), 5.41 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HOH</sub> = 4.3 Hz, 3'-OH), 4.72 - 4.70 (m, 1H, H-3'),



4.05 - 4.03 (m, 1H, H-4'), 3.69 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.68 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.55 - 3.53 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 3.15 - 3.13 (m, 1H, H-5'<sub>b</sub>), 2.44 - 2.40 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.30 - 2.26 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 165.3 (C=O), 158.0 (C-aryl), 153.4 (C-6), 152.5 (C-2), 148.2 (C-8), 149.7, 148.3, 145.2, 145.0, 139.8, 139.3, 135.8, 135.6, 133.9, 133.8, 132.1, 129.7, 129.6, 128.9, 128.5, 128.3, 127.7, 126.8, 126.2, 125.8 (C-aryl), 119.3 (C-5), 113.1 (C-aryl), 85.6 (C-4'), 83.0 (C-1'), 70.7 (C-3'), 63.7 (C-5'), 54.9 (OMe-DMTr), 36.4 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3416, 3056, 2931, 2834, 2348, 2282, 1701, 1607, 1577, 1557, 1508, 1487, 1445, 1339, 1299, 1250, 1176, 1047, 1033, 828, 700, 583.  $[\alpha]_{545}^{20} = +14^\circ$  (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: Zersetzung ab 132 °C. C<sub>50</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, M = 824.92 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 824.3322, gef.: 825.3424 (M+H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.15.

## **2-O-Cyanoethylphosphordichlorit **243****

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 13.7 g (0.100 mol; 8.60 mL) frisch destilliertes Phosphortrichlorid in 8.1 mL Pyridin und 20 mL Diethylether gelöst, auf -78 °C abgekühlt und tropfenweise, über einen Zeitraum von 1.5 h, mit 7.1 g (0.100 mol; 6.80 mL)



**243**

destillierten 3-Hydroxy-propionsäurenitril versetzt. Nach dem Aufwärmen auf Raumtemperatur und zwölfstündigem Rühren wurde der Niederschlag unter Schutzgas abfiltriert und dreimal mit je 10 mL Diethylether gewaschen. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

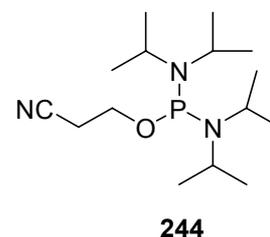
$C_3H_4Cl_2NOP$ ,  $M = 171.95$  g/mol.

### Bis-*N,N'*-diisopropyl-(2-O-cyanoethyl)-phosphordiamidit **244**

Frisch hergestelltes 2-O-Cyanoethylphosphordichlorid **243** wurde in 100 mL Diethylether gelöst und bei  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  innerhalb einer Stunde mit 62.1 g (0.61 mol, 86.7 mL) *N,N'*-Diisopropylamin versetzt. Nach Aufwärmen auf Raumtemperatur und zwölfstündigem Rühren wurde der Niederschlag unter Schutzgas abfiltriert und dreimal mit je 20 mL Diethylether gewaschen. Die Reaktionsmischung wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der ölige Rückstand wurde mit 200 mg Calciumhydrid versetzt und im Ölpumpenvakuum bei  $109 - 111\text{ }^\circ\text{C}$  über ein Vigreuxkolonne destilliert.

Ausbeute: Es wurden ca. 20.0 g (66.0 mmol; 66 %) einer farblosen Flüssigkeit über zwei Stufen erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $C_6D_6$ ): 3.51 - 3.43 (m, 4H, *i*Pr-H), 3.32 - 3.24 (m, 2H,  $CH_2-O$ ), 1.79 - 1.74 (m, 2H,  $CH_2-CN$ ), 1.22 - 1.08 (m, 24H, *i*Pr- $CH_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $C_6D_6$ ): 117.8 ( $C\equiv N$ ), 59.8, 59.5 ( $C-O$ ), 44.9, 44.8 ( $C(CH_3)_2$ ), 24.7, 24.6, 24.1, 24.0 (*i*Pr- $CH_3$ ), 20.3, 20.2 ( $C-CN$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (202



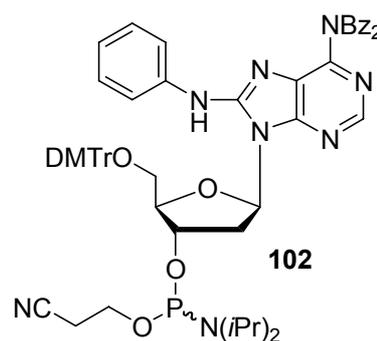
MHz,  $C_6D_6$ ): 121.12. IR(NaCl):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 3194, 2967, 2930, 2871, 2720, 2609, 2487, 2358, 2252, 1739, 1606, 1458, 1414, 1391, 1378, 1362, 1326, 1308, 1243, 1219, 1183, 1157, 1117, 1076, 1059, 954, 889, 867, 845, 719, 643, 624.  $C_{15}H_{32}N_3OP$ ,  $M = 301.41$  g/mol.

***N*<sup>6</sup>-Di-benzoyl-8*N*-(phenyl)-5'-*O*-DMTr-3'-*O*-(*N,N'*-diisopropylphosphor-  
amidit)-2'-desoxyadenosin **102****

Es wurden 270 mg (0.317 mmol) **95** nach **AAV 6a** umgesetzt.

Ausbeute: 230 mg (0.218 mmol; 69%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 8.83 (bs, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, H-2), 7.68 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H-aryl), 7.64 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H-aryl), 7.51 (dd, 4H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H-aryl), 7.34 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, H-aryl), 7.17 - 7.13 (m, 4H, H-aryl), 7.08 - 7.00 (m, 2H, H-aryl), 6.93 - 6.87 (m, 7H, H-aryl), 6.74 - 6.68 (m, 5H), 6.62 (t, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 5.17 - 5.10 (m, 1H, H-3'), 4.72 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-4'), 3.87-3.78 (m, 2H, H-5'), 3.53 - 3.34 (m, 2H, H-α), 3.36 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.36 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.34 - 3.24 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-α), 2.24 - 2.09 (m, 2H, H-2'), 1.83 - 1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-β), 1.12 - 1.03 (m, 12H, CH<sub>3</sub>/Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 163.8 (C=O), 159.2, 159.1 (C<sub>q</sub>-DMTr), 151.7 (C-6), 151.6 (C-2), 149.9 (C-4), 146.7 (C-8), 145.8, 136.5, 136.4, 134.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 131.9, 131.6, 131.5, 130.7, 130.5, 129.7, 129.5, 128.6, 128.5, 127.4, 127.1 (C-aryl), 122.6 (C-5), 113.3 (C-aryl), 86.9 (C-4'), 86.7 (C<sub>q</sub>-DMTr), 85.6 (C-1'), 74.9 (C-3'), 64.8 (C-5'), 59.0, 58.7 (C-α), 54.8 (OMe-DMTr), 43.6, 43.5 (CH/Pr), 36.1 (C-2'), 24.7, 24.6, 24.5 (CH<sub>3</sub>/Pr), 20.0, 20.0, 19.9, 19.9 (C-β). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (202 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 162.80, 162.79 (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3256, 3060, 2965, 2931, 2874, 2836, 2544, 2323, 2254, 2218, 1681, 1607, 1507, 1454, 1346, 1283, 1247, 1175, 1028, 977, 892, 828, 792, 750, 696, 581, 522. Smp.: Zersetzung ab 111 °C. C<sub>60</sub>H<sub>61</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 1053.15 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 1053.4350, gef.: 1053.4342 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.56.

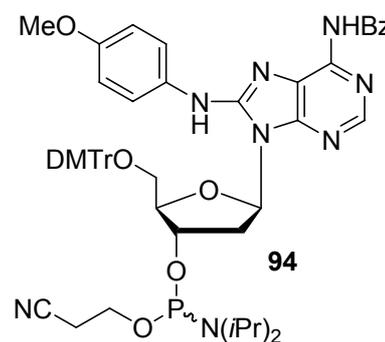


***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-5'-*O*-DMTr-3'-*O*-(*N,N*-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin **94****

Es wurden 200 mg (0.257 mmol) **91** nach **AAV 6a** umgesetzt.

Ausbeute: 189 mg (0.193 mmol, 75%) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>) 9.55 (m, 2H, NH-Bz), 9.18 (bs, 1H, NH-C8), 9.16 (bs, 1H, NH-C8), 8.90 (m, 2H, H-aryl), 8.29 (s, 1H, H-2), 8.27 (s, 1H, H-2), 7.91 - 7.89 (m, 2H, H-aryl), 7.67 - 7.32 (m, 16H, H-aryl) 7.13 - 6.91 (m, 12H, H-aryl), 6.78 - 6.75 (m, 12H, H-aryl), 6.09 - 6.03 (2m, 2H, H-1'), 5.23 - 5.17 (2m, 2H, H-3'), 4.58 - 4.54 (2m, 2H, H-4'), 3.67 - 3.58 (2m, 4H, H-5'), 3.55 - 3.44 (m, 4H, H-α.), 3.43 - 3.20 (20 H, CH<sub>3</sub>-DMTr, H-2', CH-*i*Pr), 2.52 - 2.27 (m, 4H, H-β), 1.25 - 1.04 (m, 24 H, CH<sub>3</sub>-*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 165.9, 165.1 (C=O), 159.2, 159.2, 159.9 (C<sub>q</sub>-aryl), 154.1 (C-6), 152.6 (C-2), 151.1, 150.1 (C-4), 149.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 146.1 (C-8), 145.9, 145.3, 144.2, 142.0, 136.9, 136.8, 136.0, 135.8, 135.0, 132.7, 132.6, 130.9, 130.8, 130.5, 128.6, 127.1, 127.0, 124.0, 123.4, 121.6, 121.5, 117.8, 117.6, 115.4, 114.6 (C-aryl), 113.6, 113.5 (C-5), 111.7 (CN), 86.9, 86.8 (C-4'), 86.0, 85.4 (C<sub>q</sub>-DMTr), 82.5, 82.3 (C-1'), 72.5, 72.1 (C-3'), 64.9, 63.4, 63.2 (C-5'), 59.2, 59.1, 59.0 (OMe-DMTr), 58.8, 58.6 (C-α), 55.0, 54.9, 54.9 (OMe-anis), 43.6, 43.6 (CH*i*Pr), 37.5, 37.2 (C-2'), 30.5, 30.2, 24.8, 24.8, 24.7 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 20.2, 20.1, 20.1 (C-β). <sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 162.6, 162.3, 161.9, 161.6. IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3426, 3061, 2964, 2930, 2362, 2344, 2253, 1701, 1686, 1676, 1670, 1664, 1655, 1618, 1612, 1569, 1511, 1491, 1483, 1250, 1178, 1034, 829, 704, 582. Smp.: Zersetzung ab 82 °C. C<sub>54</sub>H<sub>59</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 979.075 g/mol. HRMS (EI): ber.: 978.4193, gef. 1001.4120 (M+Na). R<sub>f</sub>(DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.66. UV: λ<sub>max</sub> [nm] CH<sub>3</sub>CN = 325, 228.

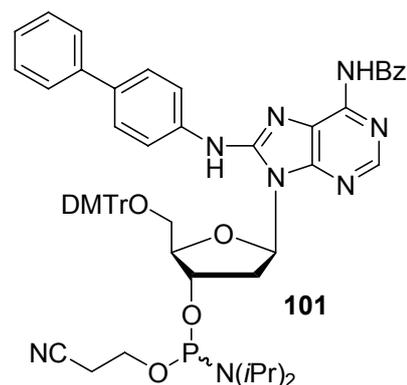


***N*<sup>6</sup>-Benzoyl-8*N*-(4-biphenyl)-5'-*O*-DMTr-3'-*O*-(*N,N*-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin **101****

Es wurden 200 mg (0.242 mmol) **92** nach **AAV 6a** umgesetzt.

Ausbeute: 171 mg (0.167 mmol, 69%) eines schwach gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 9.63 (bs, 1H, NH-Bz), 8.78 (bs, 1H, NH-Bz), 8.69 (m, 1H, H-aryl), 8.44 (bs, 1H, NH), 8.28 - 8.26 (m, 1H, H-2), 8.08 - 8.05 (m, 1H, H-2), 7.87 - 7.82 (m, 2H, H-aryl), 7.77 - 7.69 (m, 4H, H-aryl), 7.57 - 7.51 (m, 5H, H-aryl), 7.49 - 7.35 (m, 12H, H-aryl), 7.29 - 7.22 (m, 6H, H-aryl), 7.18 - 7.14 (m, 4H, H-aryl), 7.09 - 7.03 (m, 4H, H-aryl), 7.01 - 6.90 (m, 7H, H-aryl), 6.83 - 6.79 (m, 2H, H-aryl),



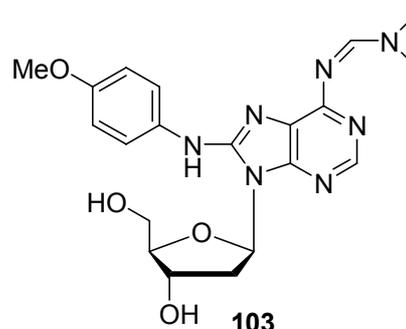
6.71 - 6.60 (m, 8H, H-aryl), 5.94 - 5.84 (m, 2H, H-1'), 5.22 - 5.12 (m, 1H, H-3'), 5.06 - 4.97 (m, 1H, H-3'), 4.58 - 4.49 (m, 1H, H-4'), 4.38 - 4.33 (m, 1H, H-4'), 3.86 - 3.80 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 3.74 - 3.63 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 3.57 - 3.45 (m, 6H, H-5'<sub>b</sub>, CH<sub>2</sub>-α), 3.25 (s, 6H, OMe), 3.24 (s, 6H, OMe), 3.08 - 2.97 (m, 4H, CH*i*Pr), 2.62 - 2.28 (m, 4H, H-2'), 1.97 - 1.70 (m, 4H, CH-β), 1.10 - 1.01 (m, 24H, CH<sub>3</sub>*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 159.2 (C=O), 149.7 (C-2), 141.1, 136.0, 135.9, 134.9, 132.6, 131.9, 130.8, 130.6 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.0, 129.0, 128.7, 128.6, 127.9, 127.1, 127.0 (C-aryl), 119.7 (C-5), 117.6, 117.0, 116.3 (CN), 113.6, 113.5 (C-aryl), 87.0 (C-4'), 86.8 (C<sub>q</sub>-DMTr), 85.8 (C-1'), 59.2, 59.0 (C-α), 58.0, 58.0 54.8 (OMe-DMTr), 45.4, 45.3 (CH*i*Pr), 43.7, 43.6 (C-2'), 24.8, 24.8, 24.7, 24.6, 23.7, 22.9, 22.8, 22.8, 22.8 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 20.6, 20.1, 20.1, 19.5, 19.4 (C-β). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 162.6, 162.4, 162.0, 161.7. IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3377, 3057, 3032, 2966, 2931, 2872, 2836, 2362, 2344, 2252, 1734, 1700, 1607, 1508, 1250, 1179, 1034, 978, 829, 700, 526, 419, 406. Smp.: 77 - 79 °C. C<sub>59</sub>H<sub>61</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>P, M = 1025.14 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 1024.4401, gef.: 1025.4433 (M + H<sup>+</sup>). UV: λ<sub>max</sub> [nm] MeCN = 328, 228. R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.75.

***N*<sup>6</sup>-Dimethylformamidin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin 103**

Es wurden 1.00 g (2.69 mmol) **57** in absolutem Pyridin gelöst und mit 2.31 mL (13.5 mmol, 5 Äq.) *N,N*-Dimethylformamiddiethylacetal versetzt und für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel und das überschüssige Reagenz im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 1.03 g (2.41 mmol, 90%) eines farblosen Feststoffs

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.02 (bs, 1H, N=CH-N), 8.86 (bs, 1H, NH), 8.22 (s, 1H, H-2), 7.71 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, H-aryl), 6.91 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, H-aryl), 6.75 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.8 Hz, H-1'), 5.93 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.9 Hz, 5'-OH), 5.38 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.9 Hz, 3'-OH), 4.48 - 4.44 (m, 1H, H-3'), 3.98 - 3.95 (m, 1H, H-4'), 3.78 -



3.68 (m, 2H, H-5'), 3.74 (s, 3H, OMe), 3.15 (s, 3H, NMe), 3.08 (s, 3H, NMe), 2.69 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.13 - 2.08 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 157.5 (N=CH-N), 154.9 (C-6), 154.5 (C-4), 151.5 (C-aryl(quart.)), 148.8 (C-2), 148.4 (C-8), 133.1 (C-aryl(quart.)), 123.4 (C-5), 120.5 (C-aryl), 113.8 (C-aryl), 87.5 (C-4'), 83.1 (C-1'), 71.3 (C-3'), 61.5 (C-5'), 55.2 (OMe), 40.5 (NMe), 38.3 (C-2'), 34.4 (NMe). C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>, M = 427.46 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 428.2046 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 428.2042 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.4.

## ***N*<sup>6</sup>-Dimethylformamidin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-5'-*O*-DMTr-2'-desoxyadenosin **104****

Es wurden 950 mg (2.22 mmol) **103** nach **AAV 5** umgesetzt.

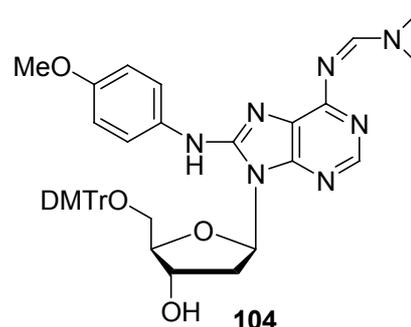
Ausbeute: 681 mg (0.933 mmol, 42%) eines farblosen Feststoffs

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.84 (bs, 1H, NH), 8.22 (s, 1H, H-2), 7.84 (s, 1H, N=CH-N), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 9.1 Hz, H-aryl), 7.29 - 7.25 (m, 2H, H-DMTr), 7.20 - 7.13 (m, 7H, H-DMTr), 6.88 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 9.1 Hz, H-aryl), 6.78 - 6.73 (m, 4H, H-DMTr), 6.41 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 7.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 5.8 Hz, H-1'), 5.56 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 4.6 Hz, 3'-OH), 4.70 - 4.66 (m, 1H, H-3'), 3.97 - 3.94 (m, 1H, H-4'), 3.74 (s, 3H, OMe-anis), 3.69 (s, 6H, OMe-DMTr), 3.57 - 3.50 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 3.32 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 4.2 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.10 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 5.9 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.18 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 5.4 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 3.18 (s, 3H, NMe), 3.17 (s, 3H, NMe), 3.15 (s, 3H, NMe), 3.08 (s, 3H, NMe), 2.69 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 5.9 Hz, H-2'<sub>b</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 157.9 (C<sub>q</sub>-DMTr), 154.1 (CH=N), 153.0 (C-6), 149.4 (C-2), 148.8 (C-4), 147.7 (C-8), 144.9, 135.7, 135.6, 133.9 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.6, 129.7, 129.6, 126.4, 120.6 (C-aryl), 117.1 (C-5), 113.8, 112.9 (C-aryl), 85.2 (C-4'), 85.2 (C<sub>q</sub>-DMTr), 82.7 (C-1'), 70.6 (C-3'), 63.6 (C-5'), 55.2 (OMe-DMTr), 54.9 (OMe-anis), 36.4 (C-2'), 32.5 (NMe).

IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3338, 2929, 2867, 2835, 2478, 2361, 2324, 1606, 1560, 1507, 1462, 1334, 1298, 1245, 1174, 1076, 1030, 935, 879, 790, 755, 700, 579, 462, 410, 404, 378. C<sub>41</sub>H<sub>43</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>, M = 729.82 g/mol.

HRMS (FAB): ber.: 730.3353 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 730.3350 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.4.



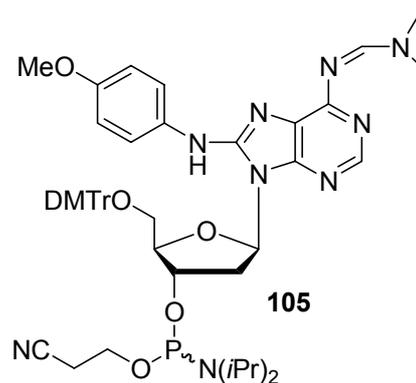
***N*<sup>6</sup>-Dimethylformamidin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-5'-*O*-DMTr-3'-*O*-(*N,N*-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin **105****

Es wurden 200 mg (0.274 mmol) **104** nach **AAV 6a** umgesetzt.

Ausbeute: 153 mg (0.164 mmol, 60%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 162.4, 162.3, 162.1, 162.0.

Eine Auswertung der <sup>1</sup>H und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren konnte aufgrund der Instabilität des Produktes nicht durchgeführt werden. C<sub>50</sub>H<sub>60</sub>N<sub>9</sub>O<sub>7</sub>P, M = 930.04 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 930.4432 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 930.4463 (M + H<sup>+</sup>).



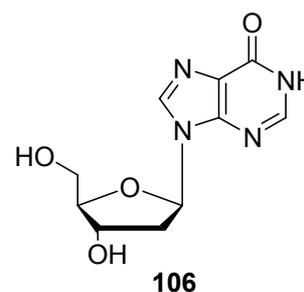
### 7.3.3. Synthese $N^6$ -Arylamim-modifizierter Phosphoramidite

#### 2'-Desoxyinosin 106

4.00 g (15.9 mmol) 2'-Desoxyadenosin-Monohydrat **17** wurden in 20 mL Wasser suspendiert und mit 1 mg Adenosindesaminase versetzt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wurde ohne Reinigung nach Entfernen des Lösungsmittels durch Gefriertrocknung erhalten.

Ausbeute: 4.01 g (15.9 mmol, 100%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 12.36 (bs, 1H, H-1), 8.31 (s, 1H, H-8), 8.01 (s, 1H, H-2), 6.30 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.6$  Hz, H-1'), 5.40 - 5.25 (m, 1H, OH-3'), 5.05 - 4.90 (m, 1H, OH-5'), 4.41 - 4.35 (m, 1H, H-3'), 3.88 - 3.83 (m, 1H, H-4'), 3.63 - 3.55 (m, 1H, H-5'\_a), 3.55 - 3.47 (m, 1H, H-5'\_b), 2.63 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 1.3$  Hz, H-2'\_a), 2.29 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.3$  Hz, H-2'\_a).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 101 MHz): 156.5 (C-6), 147.8 (C-4), 145.8 (C-8), 138.5 (C-2), 124.3 (C-5), 87.8 (C-4'), 83.5 (C-1'), 70.6 (C-3'), 61.6 (C-5'), 39.5 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3452 s, 3310 s, 3130 s, 2938 m, 2855 m, 1704 vs, 1593 w, 1552 m, 1505 m, 1423 m, 1365 w, 1347 w, 1309 m, 1206 vs, 1127 m, 1089 vs, 1058 m, 1008 m, 941 vs, 843 w, 789 w, 705 s, 691 w, 644 s, 612 m. Smp.: 209 – 210 °C.  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$ , 252.23 g/mol. LRMS (FAB): ber. 252.1, gef.: 253.1 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).  $R_f$  (DCM/MeOH 4:1 v/v): 0.60.

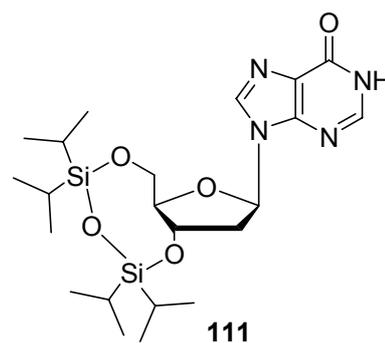


**3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin 111**

3.50 g (7.07 mmol) 2'-Desoxyinosin **106** wurden dreimal mit Pyridin coevaporiert, anschließend in 200 mL Pyridin susperndiert und mit 2.52 g (2.54 mL; 8.00 mmol) 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetra*isopropyl*disiloxan versetzt und 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohgemisch in Dichormethan gelöst und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung sowie einmal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Rohprodukt am Chromatotron mit Dichlormethan und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 3.43 g (6.93 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): 12.37 (bs, 1H, H-1), 8.19 (s, 1H, H-8), 7.97 (s, 1H, H-2), 6.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.0 Hz, H-1'), 4.94 (d, 1H, (dd, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 15.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.8 Hz, H-3')), 3.91 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.8 Hz, H-5'), 3.82 - 3.79 (m, 1H, H-4'), 2.79 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.1 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.56 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.1 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 1.11 - 0.97 (m, 28H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (DMSO-d<sub>6</sub>, 101 MHz): 156.5 (C-6), 147.4 (C-8), 145.5 (C-2), 138.8 (C-4), 124.8 (C-5), 84.5 (C-4'), 82.1 (C-1'), 71.2 (C-3'), 62.4 (C-5'), 38.7 (C-2'), 17.3, 17.2, 17.1, 16.9, 16.8 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 12.7, 12.5, 12.2, 12.0 (CH-*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3431, 3206, 2945, 2867, 1697, 1585, 1464, 1415, 1211, 1037, 950, 885, 691.  $[\alpha]_{545}^{20} = -41.4^\circ$  (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 177 - 178 °C. C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>Si, M = 494.73 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 494.2381, gef.: 495.2487 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.65.

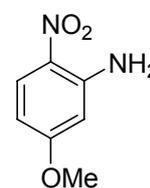
**5-Methoxy-2-nitroanilin 117**

Die folgenden Schritte fanden unter Stickstoff als Inertgas statt, um Sauerstoff und Luftfeuchtigkeit auszuschließen. 1.03 g (44.8 mmol) Natrium wurden zu 50 mL

absolutem Methanol gegeben und bei Raumtemperatur 1 h gerührt. Anschließend wurden 4.52 g (26.2 mmol) 3-Amino-4-nitrochlorbenzol zugegeben und das Reaktionsgemisch 5 h zum Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum komplett entfernt, der verbleibende gelbe Feststoff in 50 mL Dichlormethan aufgenommen und mit 25 mL Wasser versetzt. Die wässrige Phase wurde mit verdünnter Salzsäure neutralisiert. Die organische Phase wurde von der wässrigen getrennt und die wässrige Phase noch drei Mal mit jeweils 25 mL Dichlormethan gewaschen. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und über Kieselgel filtriert. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der gelbe Rückstand wurde in einem 50:50 Gemisch aus Dichlormethan und Petrolether (60-90 °C) umkristallisiert und durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch von Petrolether und Ethylacetat im Verhältnis 4:1 gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde ein gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1.47 g (8.74 mmol, 33%) eines gelben Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.07 (d,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.5$  Hz, 1H, H5), 6.28 (dd,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.5$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.7$  Hz, 1H, H6), 6.18 (bs, 2H, H8), 6.15 (d,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.5$  Hz, 1H, H2), 3.83 (s, 3H, O- $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165.5 (C1), 147.2 (C2), 128.6 (C5), 106.8 (C6), 99.6 (C2), 55.8 (O- $\text{CH}_3$ ). Smp.: 122 °C.  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $M = 168.15$  g/mol.



117

## 2-Nitro-5-phenylanilin 118

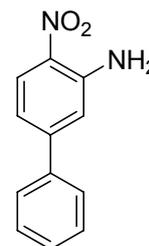
Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten und entgasten Lösungsmitteln durchgeführt.

2.50 g (14.4 mmol) 5-Chlor-2-nitroanilin, 6.13 g (28.9 mmol) Kaliumphosphat und 4.50 g (36.9 mmol) Phenylboronsäure wurden in 50 mL Dioxan gelöst und dreimal entgast. Anschließend wurde das Gemisch mit 1.10 g (1.66 mmol) Pd(dppf) versetzt und erneut drei Mal entgast. Das Gemisch wurde für 20 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nachdem das Ende der Reaktion per DC ermittelt wurde, konnte die abgekühlte Reaktionslösung in 60 mL Ethylacetat aufgenommen werden und mit

100 mL 20%iger Natriumchlorid-Lösung extrahiert werden. Anschließend wurde die Lösung über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Petrolether als Eluent und mit einem Ethylacetat-Gradienten (0 bis 50%) gereinigt.

Es wurden 1.70 g (7.92 mmol, 55%) eines gelben Feststoffes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.16 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.9$  Hz, H-3), 7.57 - 7.54 (m, 2H, H-8), 7.46 - 7.37 (m, 3H, H-9, H-10), 6.96 (d, 1H,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-6), 6.91 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.9$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, H-4), 6.14 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 149.0 (C-2), 145.3 (C-1), 139.3 (C-4), 131.8 (C-7), 129.4 (C-3), 129.3 (C-6), 127.6 (C-5), 127.3 (C-10), 117.0 (C-8), 116.8 (C-9).  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ,  $M = 214.22$  g/mol.  $R_f$  (PE/EE 4:1 v/v) = 0.72.



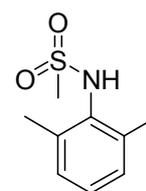
**118**

### ***N*-Mesyl-2,6-dimethylanilin 121a**

Zu einer Lösung aus 2,6-Dimethylanilin (3.00 g, 24.8 mmol) in Dichlormethan (35 mL) und Pyridin (4.00 mL, 50.0 mmol, 2 Äq) wurde langsam unter Rühren bei 0 °C Mesylchlorid (1.30 mL, 30.0 mmol, 1.2 Äq) getropft. Nach 2 h wurde Wasser (20 mL) hinzugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Dichlormethan (20 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden zuerst über Natriumsulfat und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4.92 g (24.7 mmol, 100%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 7.15 – 7.08 (m, 3H, 3 x  $\text{H}^{\text{aryl}}$ ), 6.14 (s, 1H, NH), 3.09 (s, 3H,  $\text{SO}_2\text{-CH}_3$ ), 2.42 (s, 6H, 2x  $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz): 137.3 (2 x  $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-Me}$ ), 132.8 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-N}$ ), 128.9 (2 x  $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 128.0 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 41.8 ( $\text{SO}_2\text{-CH}_3$ ), 19.2 (2 x  $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-CH}_3$ ). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3422 s, 3268 vs, 3070 m, 3010 s, 2929 s,



**121a**

1638 w, 1602 w, 1486 s, 1470 s, 1397 vs, 1318 vs, 1258 m, 1195 s, 1148 vs, 1099 s, 1045 m, 983 vs, 898 s, 830 m, 769 vs, 733 m, 690 m, 592 s, 557 m, 517 s, 489 s,

466 s. Smp.: 105 - 106 °C. C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>S, M = 199.27 g/mol. LRMS (EI): ber.: 199, gef.: 199 (M).

### ***N*-Mesyl-2,6-dimethyl-4-nitroanilin 121**

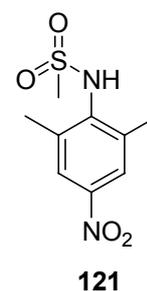
In einem Kolben wurden konz. Salpetersäure (68%ig, 2.80 mL, 40.0 mmol, 2.7 Äq) und Wasser (22 mL) vorgelegt und unter Rühren nacheinander *N*-Mesyl-2,6-dimethylanilin **121a** (3.00 g, 15.1 mmol), Eisessig (22mL) und Natriumnitrit (80.0 mg, 1.10 mmol, 0.07 Äq.) zugegeben. Die Suspension wurde für 1 h auf 50 °C erhitzt. Beim Abkühlen der Lösung auf Raumtemperatur fiel das Produkt aus. Es wurde von der Lösung getrennt und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.95 g (7.96 mmol, 53%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 9.26 (s, 1H, NH), 7.99 (s, 2H 2 x H<sup>aryl</sup>), 3.14 (s, 3H, SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.30 (s, 6H, 2 x C<sup>aryl</sup>-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): 145.2 (C<sup>aryl</sup>-NO<sub>2</sub>), 140.2 (C<sup>aryl</sup>-NH), 139.2 (2 x C<sup>aryl</sup>-Me), 122.7 (2 x C<sup>aryl</sup>-H), 42.5 (SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 18.8 (2 x C<sup>aryl</sup>-CH<sub>3</sub>).

IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3435 m, 3273 vs, 3077 m, 3020 w, 2939 m, 2864 w, 1743 vw, 1588 w, 1522 vs, 1476 m, 1440 m, 1415 m, 1393 vs, 1353 vs,

1325 vs, 1274 vw, 1233 vw, 1204 m, 1150 vs, 1107 s, 1046 w, 963 vs, 906 s, 814 w, 779 vs, 763 s, 746 s, 693 vw, 611 m, 582 s, 548 m, 521 s. Smp.: 179 – 180 °C. C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S, M = 244.27 g/mol. LRMS (EI): ber.: 244, gef.: 244 (M).

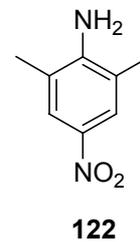


### **2,6-Dimethyl-4-nitroanilin 122**

Es wurde ein Gemisch aus konz. Schwefelsäure und Wasser (20 mL, 10:1) vorgelegt und langsam *N*-Mesyl-2,6-dimethyl-4-nitroanilin **121** (1.45 g, 5.92 mmol) zugegeben. Nach 2 h wurde die Reaktionslösung in kaltes Wasser (200 mL) gegeben und mit 25%iger wässriger Ammoniaklösung auf pH ≈ 10 eingestellt. Das auskristallisierte Produkt wurde abgetrennt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen.

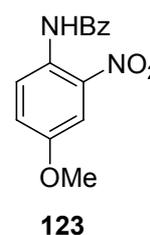
Ausbeute: 957 mg (5.76 mmol, 97%) eines gelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 7.78 (s, 2H, H-3), 6.12 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 2.15 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz): 152.0 (C-1), 139.0 (C-4), 124.1 (C-3), 119.9 (C-2), 17.7 ( $\text{CH}_3$ ). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3494 s, 3396 vs, 3272 s, 2983 vw, 2938 vw, 1637 m, 1596 s, 1521 m, 1490 s, 1470 m, 1445 vw, 1384 w, 1309 vs, 1248 vw, 1151 m, 1101 s, 907 vw, 889 m, 762 w, 748 m, 558 w. Smp.: 136 – 137 °C.  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ ,  $M = 166.18$  g/mol. LRMS (EI): ber.: 166, gef.: 166 (M).  $R_f$ -Wert: (Dichlormethan/Methanol 9:1 v/v): 0.77.



#### 4-Methoxy-2-nitrobenzamid **123**

Zu einer Lösung aus 4-Methoxy-2-nitroanilin (1.50 g, 8.92 mmol) in Tetrahydrofuran (20 mL) wurde langsam Benzoylchlorid (3.10 mL, 27.0 mmol, 3 Äq.) getropft. Die Reaktion wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend erst mit gesättigter Natriumhydrogen-carbonatlösung (20 mL) und anschließend mit Wasser (20 mL) gewaschen.



Ausbeute: Das Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

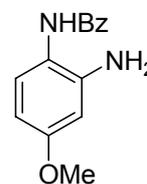
$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $M = 272.26$  g/mol.  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 19:1 v/v): 0.69.

#### 2-Amino-4-methoxybenzamid **124**

Zu einer Suspension aus 4-Methoxy-2-nitrobenzamid **123** (220 mg, 0.800 mmol) in abs. Methanol (30 mL) wurde Palladium (10% auf Kohle, 20 mg) gegeben. Die Suspension wurde für 72 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt, anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 86.0 mg (0.353 mmol, 48%) eines braunen Feststoffes.

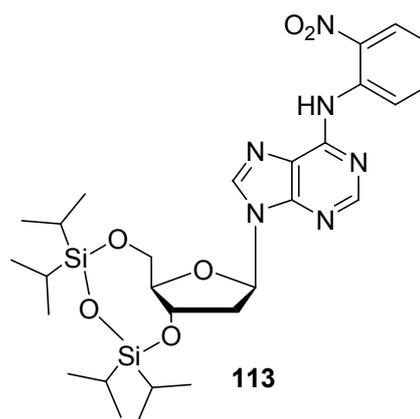
<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 11.10 (s, 1H, NH), 8.16 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, 2 x H<sup>aryl</sup>), 7.69 – 7.66 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 7.60 – 7.58 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 7.55 – 7.53 (m, 3H, 3 x H<sup>aryl</sup>), 7.32 – 7.29 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz): 165.6 (C=O), 162.3 (C-OMe), 155.0 (C-NH<sub>2</sub>), 134.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 134.1 (C<sup>aryl</sup>-C=O), 132.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 130.6 (C<sup>aryl</sup>-H), 129.0 (C<sup>aryl</sup>-H), 128.9 (C<sup>aryl</sup>-H), 127.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 123.7 (C<sup>aryl</sup>-H), 118.1 (C<sup>aryl</sup>-NH), 108.7 (C<sup>aryl</sup>-H), 55.9 (OCH<sub>3</sub>). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3408 m, 3281 s, 3057 vw, 2996 vw, 2952 vw, 2830 vw, 1637 vs, 1610 s, 1577 m, 1513 vs, 1487 m, 1463 w, 1431 vw, 1318 m, 1295 ms, 1240 w, 1209 w, 1177 m, 1146 m, 1099 vw, 1075 vw, 1036 w, 902 vw, 845 vw, 797 w, 787 w, 715 m, 691 m, 582 m. Smp.: 185 – 186 °C. C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, M = 242.27 g/mol. LRMS (FAB): ber.: 242.1, gef.: 243.1 (M+H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub>-Wert: (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.72.



124

**Versuchte Synthese von N<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 113, Synthese von O<sup>6</sup>-(1H-Benzo-[1,2,3]triazol-1-yl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyinosin 114**

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(isopropyl)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin **111** (120 mg, 0.246 mmol) in abs. DMF (25 mL) wurde langsam Diisopropylethylamin (0.29 mL, 1.7 mmol, 7 Äq.) und PyBOP (154 mg, 0.295 mmol, 1.2 Äq.) gegeben. Nach einer Stunde wurden 68.0 mg (0.492 mmol, 2Äq.) 2,6-Dimethyl-4-nitroanilin zugegeben und weiter bei Raum-



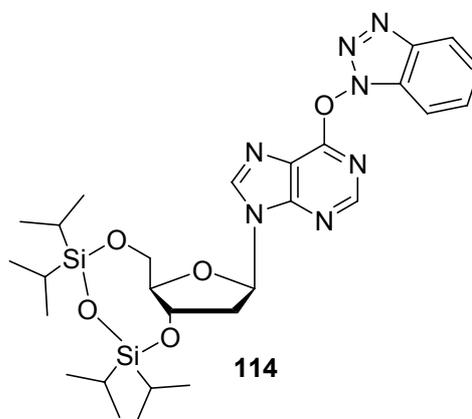
113

temperatur gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: Das gewünschte Produkt **113** konnte nicht erhalten werden. Die isolierte Verbindung O<sup>6</sup>-(1H-Benzo-[1,2,3]triazol-1-yl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-

disiloxan)-2'-desoxyinosin **114** (132 mg, 0.216 mmol, 88%) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

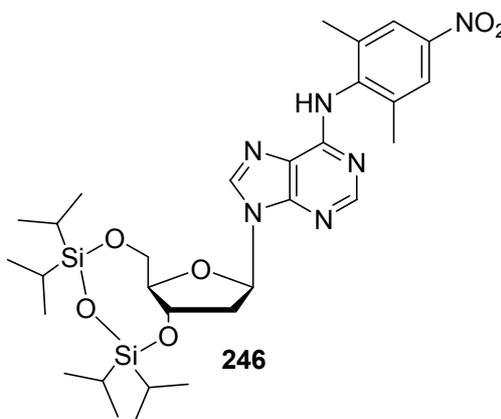
$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 8.40 (s, 1H, H2), 8.39 (s, 1H, H8), 8.14 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.4$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.3$  Hz,  $\text{H}^{\text{aryl}}$ ), 7.56 – 7.44 (m, 3H, 3 x  $\text{H}^{\text{aryl}}$ ), 6.39 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H1'), 4.95 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 16.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 8.8$  Hz, H3'), 4.11 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1$  Hz, H-5<sub>a</sub>), 4.06 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H5'<sub>b</sub>), 3.95 – 3.91 (m, 1H, 2.74 – 2.70 (m, 2H, 2 x H2'),



1.10 – 1.02 (m, 28H, *i*Pr).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz): 159.1 ( $\text{C}^{\text{aryl-N}}$ ), 153.0 (C2), 151.4 (C4), 143.5 (C8), 134.4 (C6), 129.9 ( $\text{C}^{\text{aryl-N}}$ ), 128.7 ( $\text{C}^{\text{aryl-H}}$ ), 124.8 ( $\text{C}^{\text{aryl-H}}$ ), 120.6 ( $\text{C}^{\text{aryl-H}}$ ), 120.3 (C1), 108.6 ( $\text{C}^{\text{aryl-H}}$ ), 85.4 (C3'), 83.9 (C1'), 69.3 (C4'), 61.4 (C5'), 40.0 (C2'), 17.5 – 16.9 (CH- $\text{CH}_3$  *i*Pr), 13.4 – 12.5 (CH-Me *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3434 m, 2945 vs, 2893 m, 2867 vs, 2361 vw, 2335 vw, 1618 s, 1568 vs, 1483 w, 1464 m, 1343 w, 1249 m, 1216 m, 1178 s, 1128 s, 1089 vs, 1065 s, 1037 vs, 1012 m, 947 w, 886 m, 812 w, 743 w, 701 m, 662 w. Smp.: 74 – 75 °C.  $\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{N}_7\text{O}_5\text{Si}_2$ ,  $M = 611.84$  g/mol. LRMS (FAB): ber.: 611.3, gef.: 612.4 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f(\text{DCM}/\text{Aceton } 19:1 \text{ v/v})$ : 0.78.

### Versuchte Synthese von $N^6$ -(2,6-Dimethyl-4-nitrophenyl)- 3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **246**

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(isopropyl)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin **111** (100 mg, 0.205 mmol) in abs. DMF (25 mL) wurde langsam Diisopropylethylamin (0.240 mL, 1.40 mmol, 7 Äq.) und PyBOP (128 mg, 0.246 mmol, 1.2 Äq.) gegeben. Nach einer Stunde wurden 68.0 mg (0.410 mmol, 2Äq.) 2,6-Dimethyl-4-

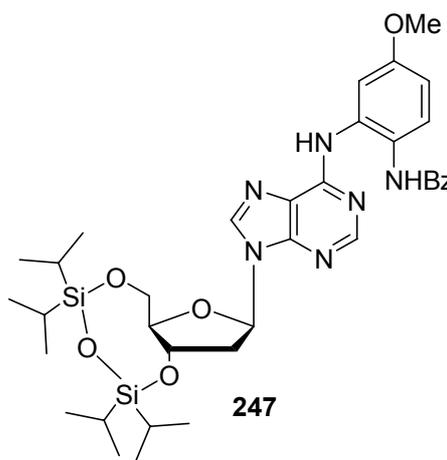


nitroanilin **122** zugegeben und weiter bei Raumtemperatur gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden.

### Versuchte Synthese von *N*<sup>6</sup>-(2-Benzamid-5-methoxyphenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **247**

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin **111** (100 mg, 0.205 mmol) in abs. DMF (25 mL) wurde langsam Diisopropylethylamin (0.240 mL, 1.4 mmol, 7 Äq.) und PyBOP (128 mg, 0.246 mmol, 1.2 Äq.) gegeben. Nach einer Stunde wurden 99.3 mg (0.410 mmol, 2Äq.) 2-Amino-4-methoxybenzamid **124** zugegeben und weiter bei Raumtemperatur gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.



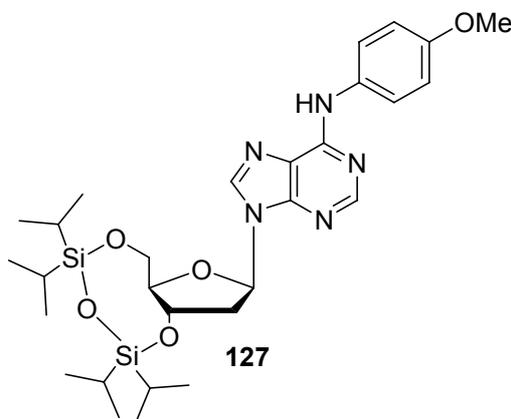
Ausbeute: Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden.

### *N*<sup>6</sup>-(4-Methoxyphenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **127**

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin **111** (100 mg, 0.205 mmol) in abs. DMF (25 mL) wurde langsam Diisopropylethylamin (0.24 mL, 1.4 mmol, 7 Äq.) und PyBOP (128 mg, 0.246 mmol, 1.2 Äq.) gegeben. Nach einer Stunde wurden 50.5 mg (0.410 mmol, 2Äq.) *p*-Anisidin **63** zugegeben und weiter bei Raumtemperatur gerührt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan als Eluent gereinigt.

Ausbeute: Ausbeute: 97.0 mg (0.160 mmol, 79%) eines gelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.44 (s, 1H, H-8), 8.05 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0$  Hz, H-aryl), 7.58 (bs, 1H, NH), 6.93 (d, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0$  Hz, H-aryl), 6.31 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.5$  Hz, H-1'), 5.01 - 4.95 (m, 1H, H-3'), 4.09 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.6$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$  Hz, H-5'a), 4.04 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.5$  Hz, H-5'a), 3.90 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.4$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.3$  Hz, H-4'), 2.73 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.5$  Hz, H-2'a), 2.65 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.4$  Hz, H-2'b), 1.12 - 1.02 (m, 28H, *i*Pr).



$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 156.4 (C-arom.<sub>quart.</sub>), 153.0 (C-2), 152.7 (C-4), 148.6 (C6), 139.0 (C8), 131.6 (C-arom.<sub>quart.</sub>), 122.9 (C5), 120.9 (C-arom.), 114.5 (C-arom.), 85.4 (C4'), 83.4 (C1'), 70.0 (C3'), 62.0 (C5'), 55.7 (OMe), 40.3 (C2'), 17.3 (8x  $\text{CH}_3$ ), 13.1 (4x CH). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2945, 2866, 1621, 1586, 1509, 1464, 1366, 1297, 1245, 1177, 1089, 1037, 950, 885, 694.  $[\alpha]_{545}^{20} = -17.6^\circ$  (c= 0.025,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.: 74 °C.  $\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si}_2$ , M = 599.87 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 599.2959, gef. 600.3032 ( $\text{M}^+ \text{H}^+$ ).  $R_f$ (MeOH/DCM 9:1 v/v): 0.7.

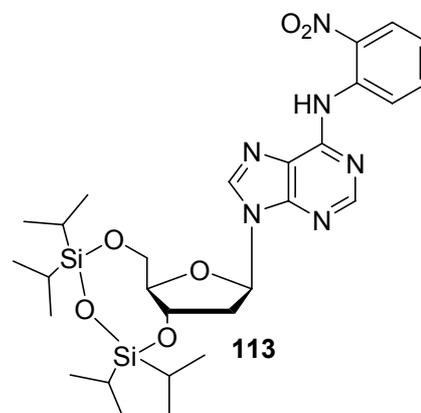
### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 113**

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyinosin **111** (106 mg, 0.214 mmol) in abs. DMF (5 mL) wurde langsam Diisopropylethylamin (0.260 mL, 1.90 mmol, 7 Äq.) und PyBOP (134 mg, 0.257 mmol, 1.2 Äq.) gegeben. Parallel wurde 2-Nitroanilin (89.0 mg, 0.642 mmol, 3.0 Äq.) in abs. DMF gelöst und bei 0°C langsam mit Natriumhydrid (60%, 0.021 g, 0.642 mmol, 3 Äq.) versetzt. Nach 30 min wurde das deprotonierte 2-Nitroanilin zu der auf 0 °C gekühlten Lösung von **111** und DIPEA in DMF getropft. Die Reaktionslösung wurde noch für 40 min bei 0 °C gerührt, anschließend wurde Methanol (3 mL) zugegeben und mit Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum

entfernt und das Rohprodukt am Chromatotron mit Petrolether und einem Ethylacetatgradienten gereinigt.

Ausbeute: 63.0 mg (0.103 mmol, 48%) eines gelben Feststoffs

<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): 11.07 (s, 1H, N<sup>6</sup>-H), 9.28 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H<sup>aryl</sup>), 8.59 (s, 1H, H8), 8.29 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, H<sup>aryl</sup>), 8.16 (s, 1H, H2), 7.71 – 7.69 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 7.15 – 7.13 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.34 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H1'), 5.02 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 16.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H3'), 4.06 – 4.04 (m, 2H, 2 x H5'), 3.95 – 3.91 (m, 1H, H4'), 2.82 – 2.76



(m, 1H, H2'<sub>a</sub>), 2.72 – 2.64 (m, 1H, H2'<sub>b</sub>), 1.13 – 1.03 (m, 28H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (DMSO-d<sub>6</sub>, 101 MHz): 152.1 (C4), 151.3 (C2), 149.4 (C6), 147.6 (N<sup>6</sup>-C<sup>aryl</sup>), 140.6 (C8), 136.2 (C<sup>aryl</sup>-NO<sub>2</sub>), 135.6 (C<sup>aryl</sup>-H), 126.1 (C<sup>aryl</sup>-H), 122.7 (C1), 122.1 (C<sup>aryl</sup>-H), 121.8 (C<sup>aryl</sup>-H), 85.4 (C4'), 83.3 (C1'), 70.3 (C3'), 62.1 (C5'), 40.1 (C2'), 17.5 – 16.9 (CH-CH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.4 – 12.6 (CH-Me *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3432 m, 2946 s, 2867 s, 2362 vw, 1612 vs, 1581 vs, 1513 vs, 1487 s, 1466 m, 1433 vw, 1353 vw, 1331 s, 1270 m, 1227 vw, 1159 w, 1140 s, 1114 m, 1091 s, 1036 s, 951 w, 885 m, 692 m, 645 w. Smp.: 199 – 200 °C. C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>, M = 614.84 g/mol. LRMS (FAB): ber. 614.3, gef.: 615.4 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (Dichlormethan / Aceton 19:1 v/v): 0.84.

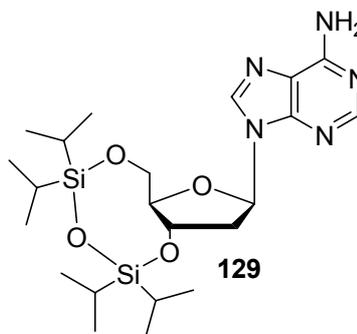
### 3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis(*isopropyl*)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin 129

Zu einer Suspension von 2'-Desoxyadenosin-Monohydrat **17** (3.23 g, 12.1 mmol) in abs. Pyridin (250 mL) wurde, unter einer Stickstoffatmosphäre, TIPDSCI<sub>2</sub> (5.0 mL, 16 mmol, 1.3 Äq.) zugetropft und für 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das Rohprodukt in Dichlormethan aufgenommen und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (40 mL) und Wasser (40 mL) gewaschen. Danach wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, zweimal mit Toluol coevaporiert und das Produkt

säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan als Eluent und einem Methanolgradienten (19:1 bis 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 5.63 g (11.4 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 8.21 (s, 1H, H-8), 8.07 (s, 1H, H-2), 7.28 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.27 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.7$  Hz, H-1'), 4.94 (d, 1H, (dd,  $^3J_{\text{H,OH}} = 15.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.0$  Hz, H-3'), 3.92 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.1$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$  Hz, H-5'\_a), 3.88 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.7$  Hz, H-5'\_b), 3.81 - 3.77 (m, 1H, H-4'), 2.85 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.9$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 2.7$  Hz, H-2'\_a), 2.56 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.2$  Hz, H-2'\_a), 1.10 - 0.96 (m, 28H, *i*Pr).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 101 MHz): 156.1 (C-6), 152.2 (C-2), 148.5 (C-4), 139.8 (C-8), 119.4 (C-5), 84.3 (C-4'), 82.1 (C-1'), 71.6 (C-3'), 62.7 (C-5'), 38.9 (C-2'), 17.3, 17.2, 17.1, 17.1, 17.0, 16.9, 16.8, 16.8 ( $\text{CH}_3$ -*i*Pr), 12.7, 12.5, 12.1, 12.0 ( $\text{CH}$ -*i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3347 s, 2645 vs, 2894 s, 2867 vs, 2726 vw, 1688 s, 1649 s, 1604 s, 1577 m, 1465 s, 1420 m, 1386 m, 1366 w, 1356 m, 1335 m, 1302 m, 1212 m, 1145 s, 1118 s, 1037 vs, 949 m, 919 w, 886 vs, 797 vw, 775 m, 696 s, 601 w, 446 w.  $[\alpha]_{545}^{20} = -40.2^\circ$  ( $c = 0.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.: 64 °C.  $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_4\text{Si}_2$ ,  $M = 493.75$  g/mol.  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.51.



### 6-Brom-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 130

Zu einer Lösung aus 3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis(*i*sopropyl)-1,3-disiloxandiyl)-2'-desoxyadenosin **129** (1.80 g, 3.65 mmol) in Dibrommethan (100 mL) wurde bei 0 °C langsam Trimethylsilylbromid (1.50 mL, 11.0 mmol, 3 Äq.) und *tert*-Butylnitrit (8.80 mL, 73.0 mmol, 20 Äq.) getropft. Nach 6 h wurde die Reaktionslösung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL) und anschließend mit Wasser (20 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung

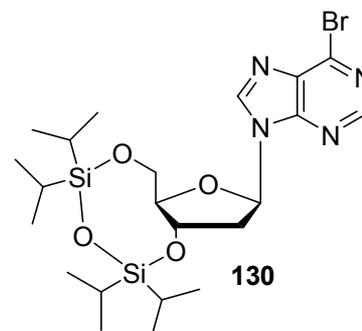
getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 1.32 g (2.37 mmol, 65%) eines klebrigen hellgelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 8.65 (s, 1H, H2), 8.36 (s, 1H, H8), 6.27 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.6$  Hz, H1'), 4.93 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 16.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H3'), 4.05 – 4.04 (m, 2H, 2 x H5'), 3.92 – 3.87 (m, 1H, H4'), 2.75 – 2.66 (m, 2H, 2 x H2'), 1.09 – 1.01 (m, 28H, *i*Pr).

$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 101 MHz): 151.7 (C6), 151.7 (C2), 149.4 (C4), 143.6

(C8), 143.3 (C6), 120.3 (C1), 85.4 (C4'), 83.7 (C2'), 69.4 (C3'), 61.4 (C5'), 39.9 (C2'), 17.5 – 16.9 (CH- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$  *i*Pr), 13.4 – 12.5 ( $\underline{\text{C}}\text{H-Me}$  *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3432 m, 3062 w, 2946 vs, 2893 s, 2868 vs, 1587 s, 1554 vs, 1494 w, 1465 m, 1420 m, 1336 s, 1252 s, 1205 m, 1185 s, 1125 vs, 1090 vs, 1041 vs, 919 s, 886 s, 869 m, 847 w, 781 w, 693s, 452 vw.  $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{BrN}_4\text{O}_4\text{Si}_2$ ,  $M = 556.63$  g/mol. LRMS (FAB): ber.: 556.2, gef.: 557.4 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Aceton 19:1 v/v): 0.64.



### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 113**

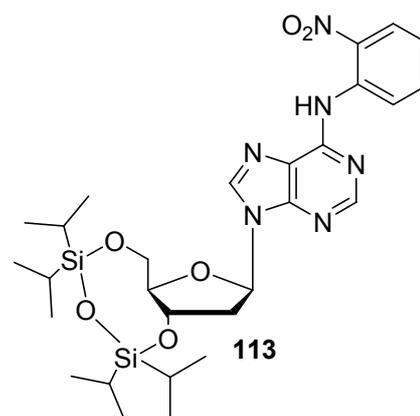
Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

In einen Kolben wurden zunächst der Katalysator Tris(benzylidenacetone)dipalladium(0) (16.5 mg, 0.018 mmol, 10mol%) ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) und *rac* BINAP (33.6 mg, 0.054 mmol, 30 mol%) in 10 mL 1,2-Dimethoxyethan suspendiert und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden nacheinander 100 mg (0.180 mmol) 6-Brom-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **130**, 1.5 Äquivalente Base  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (88.0 mg, 0.270 mmol) und 2 Äquivalent 2-Nitroanilin (50.0 mg, 0.360 mmol) zugegeben und bei 80 °C solange gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar war. Nach beendeter Reaktionszeit wurde auf Raumtemperaturabgekühlt und mit 1 mL gesättigter Natriumhydrogen-

carbonatlösung versetzt. Nach 2 Minuten Rühren und Zugabe von 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen anschließend zweimal mit je 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und einmal mit einer Mischung aus 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und 5 mL Wasser. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde durch eine säulenchromatographische Reinigung mit 10 - 50% Essigsäureethylester in Petrolether gereinigt.

Ausbeute: 63.0 mg (0.103 mmol, 10%) eines gelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 11.07 (s, 1H,  $N^6\text{-H}$ ), 9.28 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 1.4$  Hz,  $H^{\text{aryl}}$ ), 8.59 (s, 1H, H8), 8.29 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.4$  Hz,  $H^{\text{aryl}}$ ), 8.16 (s, 1H, H2), 7.71 – 7.69 (m, 1H,  $H^{\text{aryl}}$ ), 7.15 – 7.13 (m, 1H,  $H^{\text{aryl}}$ ), 6.34 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H1'), 5.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 16.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H3'), 4.06 – 4.04 (m, 2H, 2 x H5'), 3.95 – 3.91 (m, 1H, H4'), 2.82 – 2.76 (m, 1H, H2'a), 2.72 – 2.64 (m, 1H, H2'b), 1.13 – 1.03 (m, 28H, *i*Pr).



$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 101 MHz): 152.1 (C4), 151.3 (C2), 149.4 (C6), 147.6 ( $N^6\text{-C}^{\text{aryl}}$ ), 140.6 (C8), 136.2 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-NO}_2$ ), 135.6 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 126.1 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 122.7 (C1), 122.1 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 121.8 ( $\text{C}^{\text{aryl}}\text{-H}$ ), 85.4 (C4'), 83.3 (C1'), 70.3 (C3'), 62.1 (C5'), 40.1 (C2'), 17.5 – 16.9 ( $\text{CH-CH}_3$  *i*Pr), 13.4 – 12.6 ( $\text{CH-Me}$  *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3432 m, 2946 s, 2867 s, 2362 vw, 1612 vs, 1581 vs, 1513 vs, 1487 s, 1466 m, 1433 vw, 1353 vw, 1331 s, 1270 m, 1227 vw, 1159 w, 1140 s, 1114 m, 1091 s, 1036 s, 951 w, 885 m, 692 m, 645 w. Smp.: 199 – 200 °C.  $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_6\text{Si}_2$ ,  $M = 614.84$  g/mol. LRMS (FAB): ber. 614.3, gef.: 615.4 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f$  (Dichlormethan / Aceton 19:1 v/v): 0.84.

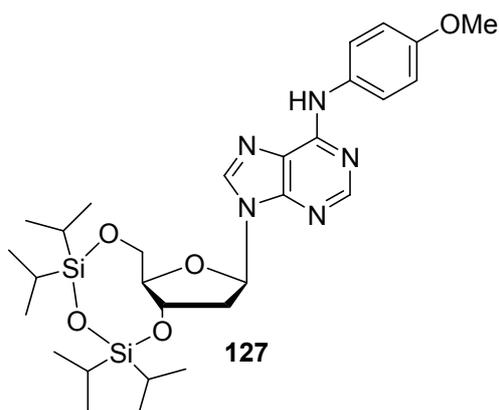
## ***N*<sup>6</sup>-(4-Methoxyphenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 127**

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit getrockneten Lösungsmitteln durchgeführt.

In einen Kolben wurden zunächst der Katalysator Tris(benzylidenaceton)dipalladium(0) (16.5 mg, 0.018 mmol, 10mol%) (Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>) und *rac* BINAP (33.6 mg, 0.054 mmol, 30 mol%) in 10 mL 1,2-Dimethoxyethan suspendiert und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden nacheinander 100 mg (0.180 mmol) 6-Brom-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **130**, 1.5 Äquivalente Base Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (88.0 mg, 0.270 mmol) und 2 Äquivalente *p*-Anisidin **63** (45.0 mg, 0.360 mmol) zugegeben und bei 80 °C solange gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar war. Nach beendeter Reaktionszeit wurde auf Raumtemperaturabgekühlt und mit 1 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Nach 2 Minuten Rühren und Zugabe von 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung wurden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 30 mL Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Phasen anschließend zweimal mit je 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und einmal mit einer Mischung aus 30 mL gesättigter Natriumchloridlösung und 5 mL Wasser. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde durch eine säulenchromatographische Reinigung mit 10 - 50% Essigsäureethylester in Petrolether gereinigt.

Ausbeute: 37.3 mg (0.061 mmol, 34%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.44 (s, 1H, H-8), 8.05 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, H-aryl), 7.58 (bs, 1H, NH), 6.93 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, H-aryl), 6.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.5 Hz, H-1'), 5.01 - 4.95 (m, 1H, H-3'), 4.09 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.7 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 4.04 (dd, 1H,



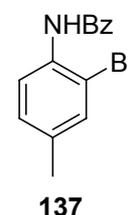
$^2J_{H,H} = 12.5$  Hz,  $^3J_{H,H} = 3.5$  Hz, H-5'a), 3.90 (ddd, 1H,  $^3J_{H,H} = 7.5$  Hz,  $^3J_{H,H} = 4.4$  Hz,  $^3J_{H,H} = 3.3$  Hz, H-4'), 2.73 (ddd, 1H,  $^2J_{H,H} = 13.2$  Hz,  $^3J_{H,H} = 7.5$  Hz,  $^3J_{H,H} = 2.5$  Hz, H-2'a), 2.65 (ddd, 1H,  $^2J_{H,H} = 13.3$  Hz,  $^3J_{H,H} = 9.0$  Hz,  $^3J_{H,H} = 7.4$  Hz, H-2'b), 1.12 - 1.02 (m, 28H, *i*Pr).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 156.4 (C-arom.quart.), 153.0 (C-2), 152.7 (C-4), 148.6 (C6), 139.0 (C8), 131.6 (C-arom.quart.), 122.9 (C5), 120.9 (C-arom.), 114.5 (C-arom.), 85.4 (C4'), 83.4 (C1'), 70.0 (C3'), 62.0 (C5'), 55.7 (OMe), 40.3 (C2'), 17.3 (8x  $\text{CH}_3$ ), 13.1 (4x CH). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2945, 2866, 1621, 1586, 1509, 1464, 1366, 1297, 1245, 1177, 1089, 1037, 950, 885, 694.  $[\alpha]_{545}^{20} = -17.6^\circ$  (c = 0.025,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.: 74 °C.  $\text{C}_{29}\text{H}_{478}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si}_2$ , M = 599.87 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 599.2959, gef. 600.3032 (M+  $\text{H}^+$ ).  $R_f$  (MeOH/DCM 9:1 v/v): 0.7.

## 2-Brom-4-methylbenzamid 137

2.70 mL (21.5 mmol) 2-Brom-4-methylanilin wurden in THF gelöst und mit 2.80 mL (24.0 mmol) Benzoylchlorid versetzt und die erhaltene Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltene Suspension wurde mit Ethylacetat versetzt und mit einer verdünnten Natriumhydrogencarbonat- und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: Das Produkt wurde quantitativ als farbloser Feststoff erhalten.

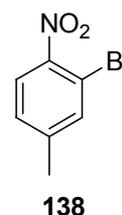
$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 MHz): 8.40 (d, 1H,  $^3J_{H,H} = 2.5$  Hz, H-Bz), 8.38 (s, 1H, NH), 7.93 (dd, 2H,  $^4J_{H,H} = 1.5$  Hz,  $^3J_{H,H} = 6.9$  Hz, H-Bz), 7.60-7.56 (m, 1H, H-6), 7.54-7.50 (m, 2H, H-Bz), 7.40 (d, 1H,  $^4J_{H,H} = 1.5$  Hz, H-3), 7.18 (dd, 1H,  $^4J_{H,H} = 1.5$  Hz,  $^3J_{H,H} = 8.4$  Hz, H-5), 2.33 (s, 3H, H-Bz).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] ( $\text{DMSO-d}_6$ , 101 MHz): 165.3 (C-Bz), 135.5 (C-4, arom.), 134.9 (C=O, Bz), 133.4 (C3), 132.6 (C1, arom.), 132.2 (C-Bz, arom.), 129.3 (C-Bz, arom.), 129.1 (C-5, arom.), 127.3 (C-Bz, arom.), 121.8 (C-6, arom.), 113.8 (C-2, arom.), 20.7 ( $\text{CH}_3$ ). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3250, 1610, 1647, 1603, 1516, 1494, 1384, 1309, 1207, 1048, 1027, 919, 871, 819, 712. Smp.: 150 °C.



$C_{14}H_{12}BrNO$ ,  $M = 290.16$  g/mol. EI-MS: ber.: 289.01, gef.: 289.  
 $R_f(PE/EE 1:1v/v): 0.63$ .

### 2-Brom-4-methyl-nitrobenzol 138

2-Brom-4-methylanilin (2.00 g, 10.8 mmol) und *m*-CPBA (13.2 g; 53.6 mmol) wurden in 100 mL Toluol gelöst und 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Feststoff filtriert und mit 100 mL Ether gewaschen. Das Filtrat wurde mit 10%iger Natriumhydroxid-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt am Chromatotron mit Petrolether und Ethylacetat gereinigt.



Ausbeute: 1.44 g (6.65 mmol); 62% eines hellgelben Feststoffs.

$^1H$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 7.79 (d, 1H,  $^3J_{H,H} = 8.3$  Hz, H-6), 7.56 (dd, 1H,  $^4J_{H,H} = 1.7$  Hz,  $^5J_{H,H} = 0.7$  Hz, H-3), 7.23 (ddd, 1H,  $^3J_{H,H} = 8.3$  Hz,  $^4J_{H,H} = 1.7$  Hz,  $^5J_{H,H} = 0.7$  Hz, H-5), 2.42 (s, 3H,  $CH_3$ ).  $^{13}C$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 147.2 (C-1), 146.5 (C-4), 134.6 (C-3), 128.7 (C-5), 126.2 (C-6), 112.3 (C-2), 23.5 ( $CH_3$ ).  
 $C_7H_6BrNO_2$ ,  $M = 216.03$  g/mol. EI-MS: ber.: 214.96, gef.: 215.

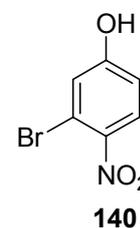
### 3-Brom-4-nitrophenol 140

Es wurden 5 mL 65%ige Salpetersäure vorgelegt. Unter Rühren und Eiskühlung wurden 4 mL konz. Schwefelsäure und 3.70 mL (21.5 mmol) 3-Bromphenol zugetropft. Die Reaktionslösung wurde auf 50 °C erhitzt und 16 Stunden gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurde diese in 100 mL kaltes Wasser geschüttelt und dreimal mit 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden viermal mit 50 mL Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet.

Das Produkt wurde säulenchromatographisch über Petrolether/Ethylacetat gereinigt.

Ausbeute: 1.05 g (4.79 mmol, 23%) eines gelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 10.37 (s, 1H, OH), 7.74 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.9$  Hz, H-5), 7.10 (d, 1H,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-2), 6.90 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.9$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-6).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 176.8 (C-1), 155.1 (C-4), 132.2 (C-5), 126.0 (C-2), 123.8 (C-6), 122.8 (C-3). Smp.: 42 °C.  $\text{C}_4\text{H}_6\text{NO}_3$ , M = 218.0 g/mol. EI-MS: ber.: 216.94, gef.: 217.

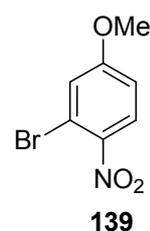


## 2-Brom-4-methoxynitrobenzol 139

Es wurden 1.05 g (4.79 mmol) 3-Brom-4-nitrophenol **140** in 10 mL wasserfreiem Aceton gelöst und mit 2.01 g (14.5 mmol) wasserfreies Kaliumcarbonat versetzt. Die orange Lösung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Anschließend wurde 0.40 mL (6.00 mmol) Methyljodid hinzugefügt und die Reaktionslösung unter Rückfluss für 16 Stunden erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das braune Produkt wurde in je 40 mL Diethylether und Wasser aufgenommen und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde mit 20 mL einer 5%igen Kaliumcarbonatlösung und zweimal mit je 20 mL Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Feststoff über Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat (2:1) filtriert.

Ausbeute: 1.00 g (4.30 mmol, 90%) eines beigen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.75 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$  Hz, H-6), 7.24 (d, 1H,  $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, H-3), 7.18 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-5), 3.97 (s, 3H, OMe).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 153.7 (C-1), 128.7 (C-2), 127.1 (C-6), 123.7 (C-3), 117.2 (5), 57.0 (OMe). Smp.: 43 °C.  $\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_3$ , M = 232.03 g/mol.



### 4-Brom-2,6-dimethylanilin **143**

Zur Darstellung des Hexamethylentetraminbrom (HMTAB) wurden unter Rühren 0.90 mL (18.0 mmol) Brom in 20 mL Chloroform gelöst und zu einer Lösung von 1.18 g (8.4 mmol) Hexamethylentetramin in 50 mL Chloroform getropft. Nach 30 min Rühren bei Raumtemperatur wurde der gelbe Feststoff filtriert und im Vakuum getrocknet.

2,6-Dimethylanilin (2.03 mL, 16.5 mmol) wurde in 100 mL Dichlormethan gelöst und mit dem HMTAB versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion wurde das Reaktionsgemisch filtriert und viermal mit 3%iger Natriumcarbonat-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 2.46 g (12.3 mmol, 75%) eines orangebraunen Öls.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.06 (s, 2H, H-3), 3.56 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 2.15 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 143.8 (C-1), 131.6 (C-3), 131.1 (C-2), 112.9 (C-4), 18.8 ( $\text{CH}_3$ ).  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{BrN}$ ,  $M = 200.08 \text{ g/mol}$ .

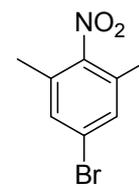


### 4-Brom-2,6-dimethylnitrobenzol **144**

4-Brom-2,6-dimethylanilin **143** (2.50 g, 12.5 mmol) and *m*-CPBA (15.5 g; 62.5 mmol) wurden in 50 mL Toluol gelöst und 15 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Feststoff filtriert und mit 100 mL Ether gewaschen. Das Filtrat wurde mit 10%iger Natriumhydroxid-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt am Chromatotron mit Petrolether und Ethylacetat gereinigt.

Ausbeute: 1.93 g (8.37 mmol, 67%) eines orangenen Feststoffs.

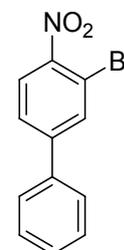
$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 400 MHz): 7.79 (s, 3H, H-3), 2.25 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ -aryl).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (DMSO- $d_6$ , 101 MHz): 132.1 (C-1), 130.3 (C-3), 129.2 (C-2), 124.2 (C-4), 17.8 ( $\text{CH}_3$ ). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3065, 2987, 2933, 1601, 1522, 1462, 1439, 1366, 1284, 1262, 806, 777, 755, 710. Smp.: 49 °C.  $\text{C}_8\text{H}_8\text{BrNO}_2$ ,  $M = 230.06$  g/mol. LRMS (EI): ber. 228.97 ( $M + \text{H}^+$ ), gef. 229 ( $M + \text{H}^+$ ).



144

### Versuch der Synthese von 2-Brom-4-phenylnitrobenzol 145, Synthese von 2,5-Dibrom-4-phenylnitrobenzol 245

Die folgende Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. 1.76 g (7.90 mmol) Kupferbromid wurden mit 1.30 mL (11.0 mmol) *tert*-Butylnitrit versetzt und in 16 mL Acetonitril gelöst. Das Gemisch wurde bei 65°C mit in 16 mL Acetonitril gelösten 1.32 g (6.20 mmol) 2-Nitro-5-phenylanilin versetzt und für 19 Stunden bei 65°C gerührt.



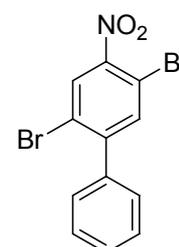
145

Anschließend wurde die abgekühlte Reaktionslösung in 150 mL Diethylether aufgenommen, zwei Mal mit je 50 mL 10%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, zwei Mal mit je 50 mL Wasser und mit 50 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Petrolether als Eluent und einem Ethylacetat-Gradienten (9:1 bis 4:1) gereinigt.

Ausbeute: Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden. Stattdessen ist 2,5-Dibrom-4-phenylnitrobenzol **245** entstanden, was anhand der NMR- und EI-MS-Daten nachgewiesen wurde.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.17 (s, 1H, H-6), 7.69 (s, 1H, H-3), 7.47 - 7.43 (m, 3H, H-9, H-10), 7.39 - 7.36 (m, 2H, H-8).  $^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 148.4 (C-1), 138.3 (C-2, C-12), 137.3 (C-3, C-11), 130.5 (C-6, C-10), 129.5 (C-7, C-9), 129.3 (C-8),



245

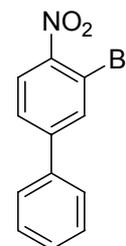
122.1 (C-4), 113.7 (C-5).  $C_{12}H_7Br_2NO_3$ ,  $M = 357.0$  g/mol. EI-MS: ber.: 356.9 g/mol, gef: 357 g/mol.  $R_f$  (PE/EE 4:1 v/v) = 0.76.

## 2-Brom-4-phenylnitrobenzol 145

650 mg (3.00 mmol) 2-Nitro-5-phenylanilin wurden in 20 mL Essigsäure gelöst und mit 0.83 mL Bromwasserstoff (48%) versetzt. Innerhalb von 15 Minuten wurden portionsweise 218 mg (3.0 mmol) Natriumnitrit dazugegeben. Anschließend wurde das Gemisch auf 95°C erhitzt und so lange gerührt, bis die Gasentwicklung beendet war. Die Reaktionslösung wurde mit 20 mL Wasser versetzt, während sie gekühlt wurde und anschließend mit Dichlormethan extrahiert. Die wässrige Phase wurde zwei Mal mit je 25 mL Dichlormethan reextrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt. (Laufmittel PE bis PE/EE 9:1).

Ausbeute: 0.41 g (1.5 mmol, 52%) eines intensiv gelben Feststoffes.

$^1H$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 7.96 - 7.92 (m, 2H, H-6, H-3), 7.63 (dd, 1H, H-5,  $^3J_{(H,H)} = 8.7$  Hz,  $^4J_{(H,H)} = 2.0$  Hz, H-5), 7.58 - 7.55 (m, 2H, H-7), 7.48 - 7.45 (m, 3H, H-8, H-9).  $^{13}C$ -NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 148.3 (C-1), 146.7 (C-2), 137.5 (C-4), 133.5 (C-3), 129.2 (C-8), 115.6 (C-7). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 1580, 675. Smp.: 78 °C.  $C_{12}H_8BrNO_2$ ,  $M = 278.10$  g/mol. EI-MS: ber.: 276.97 gef.: 277.  $R_f$  (PE/EE 1:1 v/v): 0.77.



145

## $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 113

Dipalladiumtris(benzyliden)aceton (47.0 mg, 0.054 mmol, 0.1 Äq.) und *rac.* BINAP (95.0 mg, 0.153 mmol, 0.3 Äq.) wurden in DME (6 mL) gelöst. Nach 30 min wurde 3',5'-TIPDS-dA **129** (251 mg, 0.509 mmol), 2-Nitrobrombenzol (103 mg,

0.509 mmol, 1.0 Äq), Cäsiumcarbonat (232 mg, 0.712 mmol, 1.4 Äq.) und DME (15 mL) zugegeben und die Reaktion für 48 h auf 60 °C erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung über Celite 521<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether / Ethylacetat (3:1) gereinigt.

Ausbeute: 204 mg (0.331 mmol, 40%) eines gelben Feststoffs.

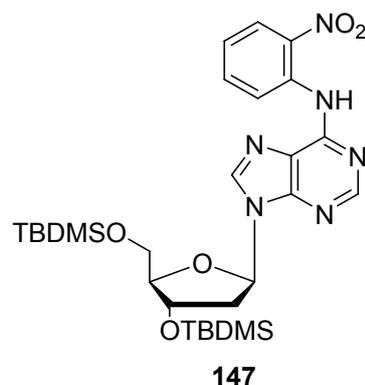
Charakterisierung siehe S. 180

### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 147**

Dipalladiumtrisdibenzylidenacetone (287 mg, 0.313 mmol, 0.1 Äq.) und *rac.* BINAP (584 mg, 0.938 mmol, 0.3 Äq.) wurden in DME (6 mL) gelöst. Nach 30 min wurde TBDMS-dA **146** (1.50 g, 3.13 mmol), 2-Nitrobrombenzol (432 mg, 3.13 mmol, 1.0 Äq.), Cäsiumcarbonat (1.43 g, 4.78 mmol, 1.4 Äq.) und DME (25 mL) zugegeben und auf 60 °C erhitzt. Nach 14 h wurde erneut 2-Nitrobrombenzol (220 mg, 1.09 mmol, 0.35 Äq.) zugegeben. Nach weiteren 4 h wurde die Reaktionslösung über Celite 521<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether / Ethylacetat (2:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.30 g (2.17 mmol, 69%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.75 (bs, 1H, NH), 8.83 – 8.80 (m, 1H, H-aryl), 8.47 (s, 1H, H-2), 8.43 (s, 1H, H-8), 8.16 – 8.14 (m, 1H, H-aryl), 7.77 – 7.70 (m, 1H, H-aryl), 7.25 – 7.22 (m, 1H, H-aryl), 6.42 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.6 Hz, H-1'), 4.66 – 4.64 (m, 1H, H-3'), 3.92 – 3.89 (m, 1H, H-4'), 3.82 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.7 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.68 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.1 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.97 – 2.92 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.35 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 0.90 (s, 9H, *t*-Bu),

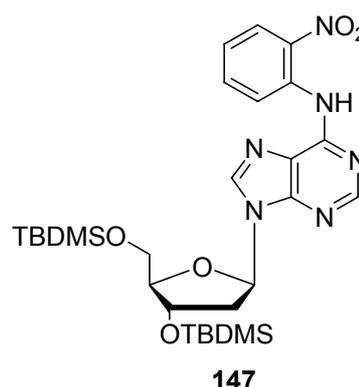


0.84 (s, 9H, *t*-Bu), 0.11 (s, 6H, Si-Me<sub>2</sub>), 0.02 (s, 3H, Si-Me), 0.01 (s, 3H, Si-Me).  
<sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 151.3 (C-2), 150.7 (C-4), 149.5 (C-6), 141.5 (C-8), 138.0 (C-aryl), 134.9 (C-aryl), 130.2 (C-aryl), 125.4 (C-aryl), 123.1 (C-aryl), 122.6 (C-aryl), 87.1 (C-4'), 83.7 (C-1'), 71.8 (C-3'), 61.8 (C-5'), 39.2 (C-2'), 25.6 (C(CH<sub>3</sub>)), 25.5 (C(CH<sub>3</sub>)), 17.9 (C(CH<sub>3</sub>)), 17.6 (C(CH<sub>3</sub>)), - 5.7 (Si-Me<sub>2</sub>). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3300, 2929, 2857, 1620, 1584, 1573, 1510, 1484, 1330, 1256, 1106, 1077, 1023, 955, 909, 833, 776, 741, 688, 666, 645, 586, 521, 400. Smp.: 148 - 150 °C. C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 600.86 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 600.2912, gef.: 601.2975 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.42.

### **N<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 147**

1.15 g (2.39 mmol) TBDMS-dA **146** und 670 mg (3.35 mmol, 1.4 Äq.) 2-Nitrobrombenzol wurden nach **AAV 2b** umgesetzt.

Ausbeute: 1.42 g (2.36 mmol, 98%) eines gelben Feststoffes.



Charakterisierung siehe S. 191

### **N<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-methylphenyl)-3',5'-O-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **148****

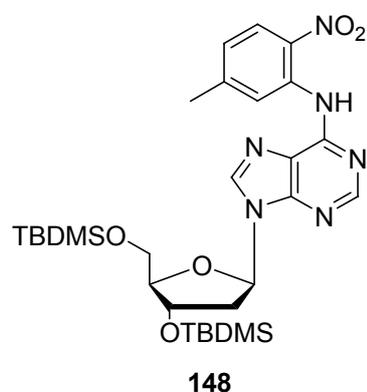
Diese Reaktion wurde mit getrockneten Lösungsmitteln und unter einer Inertgasatmosphäre durchgeführt.

222 mg (0.242 mmol) Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> und 371 mg (0.596 mmol) *rac.* BINAP wurden in 25 mL 1,2-Dimethoxyethan suspendiert und für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 1.00 g (2.08 mmol) TBDMS-dA **146**, 648 mg (3.00 mmol) 2-Brom-4-methylnitrobenzol **138** und 974 mg (2.99 mmol) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> zugegeben und für 15

Stunden bei 80 °C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes wurde die Reaktionsmischung mit Ethylacetat verdünnt, dreimal mit Wasser gewaschen und die wässrige Phase mit Ethylacetat reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit Petrolether und einem Ethylacetatgradienten gereinigt.

Ausbeute: 441 mg (0.717 mmol, 34%) eines orangefarbenen Feststoffes. Es wurden ebenfalls 20% des *N*<sup>6</sup>-disubstituierten Produktes erhalten (vgl. Seite 54).

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 11.15 (bs, 1H, NH), 9.11 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, H-VI), 8.62 (s, 1H, H-8), 8.25 (s, 1H, H-2), 8.18 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.6 Hz, H-III), 6.91 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, H-IV), 6.50 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 4.65 – 4.62 (m, 1H, H-3'), 4.05 – 4.02 (m, 1H, H-4'), 3.87 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.78 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.3 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.69 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.9 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-aryl), 2.46 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.7 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.91 (s, 9H, *t*-Bu), 0.11 (s, 6H, Si-Me<sub>2</sub>), 0.09 (s, 3H, Si-Me), 0.08 (s, 3H, Si-Me). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.5 (C-2), 151.7 (C-6), 150.3 (C-arom, C-NH), 147.9 (C-4), 140.9 (C-8), 136.7 (C-NO<sub>2</sub>), 134.6 (C-5), 126.5 (C-c), 123.3 (C-b), 122.2 (C-a), 88.4 (C-4'), 84.8 (C-1'), 72.4 (C-3'), 63.2 (C-5'), 41.6 (C-2'), 26.4 (C(CH<sub>3</sub>)), 26.1 (C(CH<sub>3</sub>)), 18.8 (C(CH<sub>3</sub>)). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2910 (CH<sub>3</sub>), 1605 (konj. cycl. -C=N-), 1503 (C-NO<sub>2</sub>).  $[\alpha]_{545}^{20} = -44^\circ$  (c = 1.3, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 127 °C. C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 614.88 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 614.3068, gef.: 615.3244 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.7.

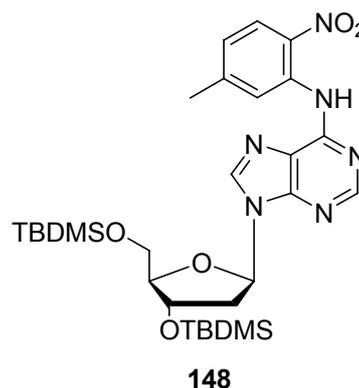


### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-methylphenyl)-3',5'-O-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 148**

(228 mg, 0.475 mmol) 3',5'-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **146** wurde nach **AAV 2b** umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Petrolether als Eluent und einem Ethylacetat-Gradienten (0 bis 25%) gereinigt.

Ausbeute: 260 mg (0.423 mmol, 91%.) eines gelben Feststoffes.



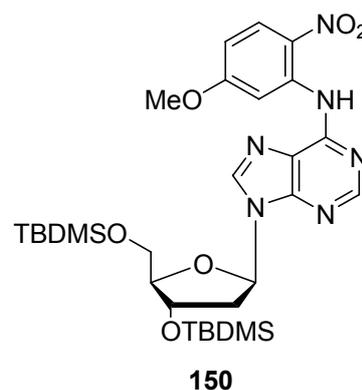
Charakterisierung siehe S. 193

### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-methoxyphenyl)-3',5'-*O*-di(*tert*-butyldimethyl-silyl)-2'-desoxyadenosin 150**

(1.34 g, 2.77 mmol) 3',5'-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **146** wurde nach **AAV 2b** umgesetzt.

Ausbeute: 1.15 g (1.81 mmol, 93% bezogen auf das Bromid) eines gelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.61 (s, 1H, H-2), 8.21 (s, 1H, H-8), 8.18 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.2 Hz, H-aryl), 8.04 (bs, 1H, NH), 8.03 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, H-aryl), 7.24 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.2 Hz, H-aryl), 6.51 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 4.65 – 4.62 (m, 1H, H-3'), 4.06 – 4.03 (m, 1H, H-4'), 4.05 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.91 (dd, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.79 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.0 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.69 – 2.63 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.0 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.11 (s, 6H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.10 (s, 6H, Si-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).



<sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 155.4 (C-aryl), 152.5 (C-2), 151.4 (C-4), 149.8 (C-6), 145.3 (C-aryl), 140.4 (C-8), 127.7 (C-aryl), 121.4 (C-aryl), 121.3 (C-5), 110.3 (C-aryl), 103.7 (C-aryl), 84.8 (C-1'), 72.0 (C-3'), 62.9 (C-5'), 56.8 (OCH<sub>3</sub>), 41.5 (C-2'), 26.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.9 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.5 (Si-CH<sub>3</sub>), -4.6 (Si-CH<sub>3</sub>), -5.3 (Si-CH<sub>3</sub>), -5.3 (Si-CH<sub>3</sub>). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3366, 3122, 2953, 2857,

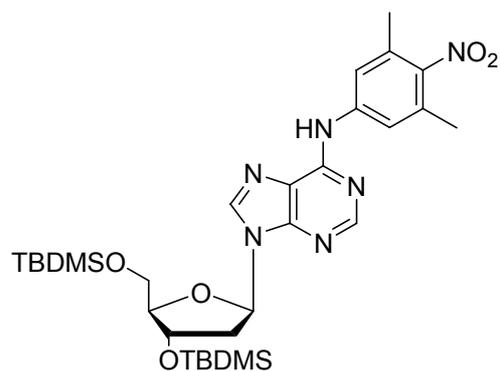
1606, 1569, 1417, 837.4, 780.7.  $[\alpha]_{545}^{20} = -68.2^\circ$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.:  $180^\circ\text{C}$ .  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_6\text{Si}_2$ ,  $M = 630.88$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 630.3017, gef.: 631.3094 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f(\text{PR/EE } 1:1 \text{ v/v})$ : 0.59.

### ***N*<sup>6</sup>-(3,5-Dimethyl-4-nitrophenyl)-3',5'-*O*-di(*tert*-butyl-dimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 151**

3',5'-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **146** (1.34 g, 2.80 mmol) wurde nach **AAV 2b** umgesetzt.

Ausbeute: 1.16 g (1.84 mmol, 94% bezogen auf das Bromid) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.57 (s, 1H, H-2), 8.53 (bs, 1H, NH), 8.28 (s, 1H, H-8), 7.71 (s, 2H, H-aryl), 6.50 (vt, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.3$  Hz, H-1'), 4.64 – 4.59 (m, 1H, H-3'), 4.04 (vq, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.4$  Hz, H-4'), 3.91 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 11.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.8$  Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.79 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 11.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.0$  Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.66 – 2.58 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, 1H,



**151**

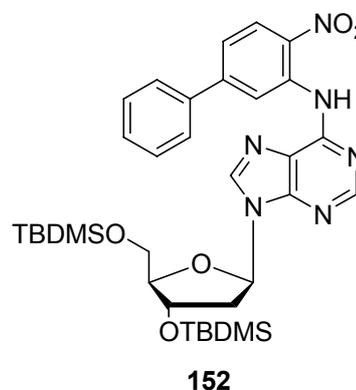
$^2J_{\text{H,H}} = 13.1$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.2$  Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.38 (s, 6H, Aryl- $\text{CH}_3$ ), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.92 (s, 9H, *t*-Bu), 0.11 (s, 6H, Si- $\text{Me}_2$ ), 0.10 (s, 6H, Si- $\text{Me}_2$ ). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 152.8 (C-2), 151.8 (C-4), 149.4 (C-6), 147.1 (C-I), 140.6 (C-IV), 139.6 (C-8), 131.6 (C-III), 120.5 (C-5), 119.9 (C-II), 88.2 (C-4'), 84.8 (C-1'), 71.8 (C-3'), 62.8 (C-5'), 41.8 (C-2'), 26.1 (C( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )), 25.9 (C( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )), 18.6 (C( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )), 18.5 (Aryl- $\text{CH}_3$ ), 18.1 (C( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3460, 2930, 1650.  $[\alpha]_{545}^{20} = -29^\circ$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.:  $108^\circ\text{C}$ .  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_5\text{Si}_2$ ,  $M = 628.91$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 628.3225, gef.: 629.3299 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f(\text{EE/PE } 3:1 \text{ v/v})$ : 0.30.

### ***N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-phenylphenyl)-3',5'-*O*-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 152**

3',5'-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **146** (358 mg, 1.29 mmol) wurde nach **AAV 2b** umgesetzt.

Ausbeute: 508 mg (0.746 mmol, 58% bezogen auf das Bromid) eines hellgelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 11.23 (s, 1H, NH), 9.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H-aryl), 8.65 (s, 1H, H-2), 8.37 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, H-aryl), 8.28 (s, 1H, H-8), 7.53 (t, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-aryl), 7.47 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H-aryl), 7.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H-aryl), 6.51 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 4.67 - 4.62 (m, 1H, H-3'), 4.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-4'), 3.88 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.78 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.75 - 2.66 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.47 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.92 (s, 18H, *tert*-Butyl), 0.12 (SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (SiCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.2 (C-2), 129.1 (H-arom.), 129.0 (H-arom.), 127.6 (H-arom.), 148.5, 136.8 (C-4, C-5), 126.7 (C-arom.), 120.3 (H-arom.), 120.2 (C-arom.), 88.0 (C-4'), 84.5 (C-1'), 72.0 (C-3'), 62.8 (C-5'), 41.2 (C-2'), 26.0 (*tert*-Butyl), 25.8 (*tert*-Butyl). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3300, 3060, 2954, 2884, 2857, 1612, 1586, 1571, 1504, 1434, 1362, 1332, 1155, 749.0. C<sub>34</sub>H<sub>48</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>, M = 676.95 g/mol. R<sub>f</sub>(PE/EE 3:1 v/v): 0.48.



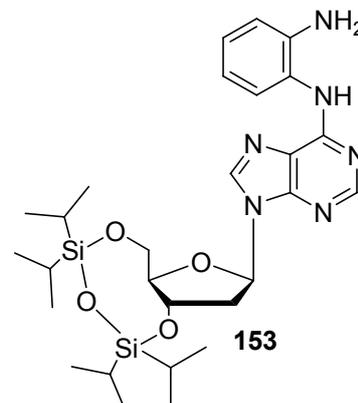
### ***N*<sup>6</sup>-(2-Aminophenyl)-3',5'-*O*-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 153**

Zu einer Suspension aus **113** (117 mg, 0.190 mmol) in Ethanol (99.6%, 30 mL) wurde Palladium (10% auf Kohle, 20 mg) gegeben. Die Suspension wurde für 15 h

unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und anschließend über Celite 521<sup>®</sup> filtriert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 84.0 mg (0.144 mmol, 76%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.40 (s, 1H, H8), 8.04 (s, 1H, H2), 7.77 (s, 1H, N<sup>6</sup>-H), 7.39 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H-aryl), 7.13 – 7.09 (m, 1H, H-aryl), 6.87 - 6.82 (m, 2H, 2 x H-aryl), 6.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H1'), 5.02 – 4.96 (m, 1H, H3'), 4.06 – 4.04 (m, 2H, 2 x H5'), 3.92 – 3.88 (m, 1H, H4'), 2.73 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H2'<sub>a</sub>), 2.67 - 2.61 (m, 1H, H2'<sub>b</sub>), 1.12 – 1.03 (m, 28H, *i*Pr).



<sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 153.4 (C2), 153.1 (C4), 148.7 (C6), 141.9 (N<sup>6</sup>-C-aryl), 139.1 (C8), 127.4 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 124.4 (C-aryl-NH<sub>2</sub>), 120.8 (C1), 119.3 (C-aryl), 117.5 (C-ary), 85.3 (C4'), 83.3 (C1'), 70.0 (C3'), 61.9 (C5'), 40.1 (C2'), 17.5 – 16.9 (CH-CH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.4 – 12.5 (CH-Me *i*Pr). C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 584.86 g/mol. R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.65.

### **N<sup>6</sup>-(2-Aminophenyl)-3',5'-O-bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin** **154**

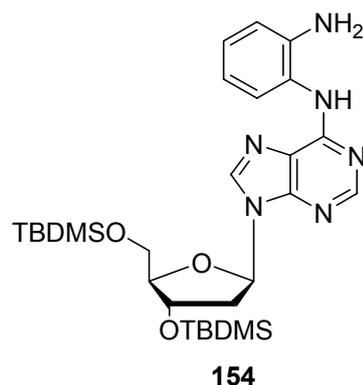
Zu einer Suspension aus **147** (1.38 g, 2.29 mmol) in Ethanol (99.6%, 30 mL)/ abs. Methanol (20 mL) wurde Palladium (10% auf Kohle, 40 mg) gegeben. Die Suspension wurde für 5 Stunden unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und anschließend über Celite 521<sup>®</sup> filtriert. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan gereinigt.

Ausbeute: 575 mg (1.01 mmol, 44%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.05 (s, 1H, N<sup>6</sup>-H), 8.39 (s, 1H, H8), 8.20 (s, 1H, H2), 7.24 – 7.20 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.70 – 6.93 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.78 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H<sup>aryl</sup>), 6.61 – 6.58 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.40 – 6.36 (m, 1H, H1'), 4.82 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.66 –

## EXPERIMENTALTEIL

4.63 (m, 1H, H3'), 3.89 – 3.81 (m, 2H, 2 x H5'), 3.70 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 10.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, H4'), 2.98 – 2.92 (m, 1H, H2'a), 2.36 – 2.30 (m, 1H, H2'b), 0.91 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> TBDMS), 0.86 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> TBDMS), 0.12 (s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub> TBDMS), 0.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> TBDMS), 0.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub> TBDMS). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 153.3 (C2), 152.1 (C4), 149.3 (C6), 141.8 (N<sup>6</sup>-C<sup>aryl</sup>), 139.1 (C8), 127.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 126.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 124.5 (C<sup>aryl</sup>-NH<sub>2</sub>), 120.6 (C1), 119.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 117.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 87.9 (C4'), 84.4 (C1'), 71.9 (C3'), 62.8 (C5'), 41.1 (C2'), 26.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -4.7 – 5.5 (4 x Si-CH<sub>3</sub>). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3405 m, 2955 s, 2929 s, 2885 m, 2857 s, 1612 vs, 1578 m, 1501 w, 1472m, 1362 w, 1257 m, 1109 m, 1030 w, 837 s, 778 m. Smp.: 65 – 66 °C. C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>, M = 570.87 g/mol. LRMS (FAB): ber.: 570.3, gef.: 571.4 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub>-Wert (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.53.

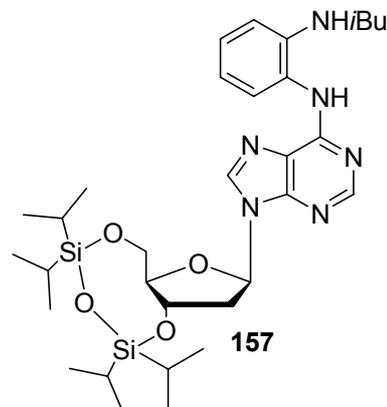


***N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **157****

Zu einer Suspension aus **113** (525 mg, 0.854 mmol) in Ethanol (99.6%, 30 mL) wurde Palladium (10% auf Kohle, 20 mg) gegeben. Die Suspension wurde für 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und anschließend über Celite 521<sup>®</sup> filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Anschließend wurde langsam *Isobuttersäure*-anhydrid (405 mg, 2.56 mmol, 3 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde Methanol (5 mL) zugegeben und die Lösung im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether / Ethylacetat (1:1) gereinigt.

Ausbeute: 528 mg (0.806 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.46 (s, 1H, NH-*i*Bu), 8.42 (s, 1H, H8), 8.08 (s, 1H, H2), 8.01 (s, 1H, *N*<sup>6</sup>-H), 7.77 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H<sup>aryl</sup>), 7.51 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.8 Hz, H<sup>aryl</sup>), 7.28 - 7.19 (m, 2H, H<sup>aryl</sup>), 6.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, H1'), 5.01 - 5.95 (m, 1H, H3'), 4.07 - 4.06 (m, 2H, 2 x H5'), 3.93 - 3.81 (m, 1H, H4'), 2.75 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.6 Hz, H2'<sub>a</sub>), 2.69 - 2.63 (m, 1H, H2'<sub>b</sub>), 2.46 (sept, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, CH-Me *i*Bu), 1.17 (d, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, 2 x CH-CH<sub>3</sub> *i*Bu), 1.12 - 1.01 (m, 28H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 175.1 (C=O), 152.9 (C4), 152.6 (C2), 148.9 (*N*<sup>6</sup>-C<sup>aryl</sup>), 139.5 (C8), 132.0 (C6), 130.4 C<sup>aryl</sup>-NH*i*Bu), 125.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.7 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.4 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.1 (C<sup>aryl</sup>-H), 120.9 (C1), 85.3 (C4'), 83.3 (C1'), 69.9 (C3'), 61.8 (C5'), 40.0 (C2'), 36.4 (CH-Me *i*Bu), 19.6 (2 x CH-CH<sub>3</sub> *i*Bu), 17.5 - 16.9 (CH-CH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.4 - 12.5 (CH-Me *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3398, m, 2945 s, 2894 m, 2868 s, 2362 vw, 1677 m, 1618 vs, 1592 s, 1528 m, 1466 s, 1384 vw, 1364 w, 1329 w, 1291 w, 1251 vw, 1226 w, 1140 m, 1090 s, 1066 m, 1035 s, 886 m, 796 vw, 751 w, 695 m, 647 w. Smp.: 88 - 89 °C. C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>, M = 640.96 g/mol.



HRMS (FAB): ber.: 655.3460 ( $M + H^+$ ), gef.: 655.3456 ( $M + H^+$ ).  $R_f$ -Wert (Petrolether/Ethylacetat 1:1 v/v): 0.46.

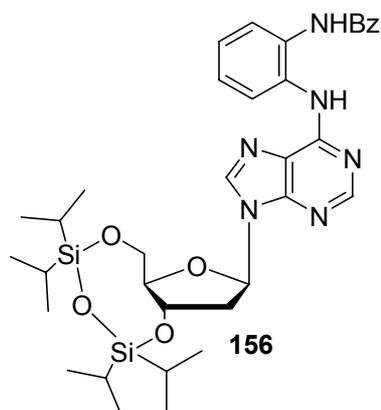
### ***N*<sup>6</sup>-(2-(Benzamid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 156**

Zu einer Suspension aus **113** (525 mg, 0.854 mmol) in Ethanol (99.6%, 30 mL) wurde Palladium (10% auf Kohle, 20 mg) gegeben. Die Suspension wurde für 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und anschließend über Celite 521<sup>®</sup> filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Anschließend wurde langsam Benzoesäureanyhdrid (638 mg, 2.82 mmol, 3.3 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde Methanol (5 mL) zugegeben und die Lösung im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether / Ethylacetat (1:1) gereinigt.

Ausbeute: 558 mg (0.810 mmol, 95%) eines farblosen Feststoffs

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.73 (s, 1H, NH-Bz), 8.45 (s, 1H, H8), 8.23 (s, 1H, *N*<sup>6</sup>-H), 8.10 (s, 1H, H2), 7.99 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H<sup>aryl</sup>), 7.81 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.7 Hz, 2 x H<sup>aryl</sup>), 7.49 – 7.44 (m, 3H, 3 x H<sup>aryl</sup>), 7.40 – 7.32 (m, 3H, 3 x H<sup>aryl</sup>), 7.25 – 7.21 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H1'), 4.98 - 4.92 (m, 1H, H3'), 4.09 – 4.06 (m, 2H, 2 x H5'), 3.93 – 3.89 (m, 1H, H4'), 2.74 – 2.62 (m, 2H, 2 x H2'),

1.11 – 1.03 (m, 28H, *i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165.8 (C=O), 152.9 (C4), 152.5 (C2), 148.8 (C6), 139.5 (C8), 134.9 (C6), 132.4 (C<sup>aryl</sup>-C=O), 131.6 (C<sup>aryl</sup>-H), 130.5 (C<sup>aryl</sup>-NHBz), 130.0 (C<sup>aryl</sup>-H), 128.6 (C<sup>aryl</sup>-H), 128.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 127.3 (C<sup>aryl</sup>-H), 126.7 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.9 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.8 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.4 (C<sup>aryl</sup>-H), 120.9 (C1), 85.3 (C4'), 83.4 (C1'), 69.7 (C3'), 61.7 (C5'), 40.1 (C2'), 17.5 – 16.9 (CH-CH<sub>3</sub> *i*Pr), 13.4 – 12.5 (C-CH<sub>3</sub> *i*Pr). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3399, m, 2945 s, 2892 m, 2867 s, 2362 vw, 1656 m, 1619 vs, 1579 s, 1522 m, 1466 s, 1364 w, 1309 m, 1260 w, 1226 vw, 1113 m, 1090 s, 1067 m, 1035 s, 886 m, 796 vw, 751 w, 703 m, 647 w. Smp.: 97 - 98 °C.



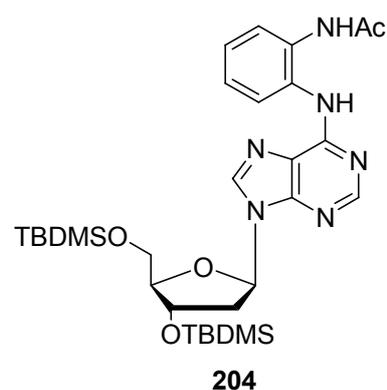
$C_{35}H_{48}N_6O_5Si_2$ ,  $M = 688.96$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 689.3303 ( $M + H^+$ ), gef.: 689.3305.  $R_f$ -Wert (Petrolether / Ethylacetat 1:1 v/v): 0.55.

### **$N^6$ -(2-(Acetamid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin 204**

560 mg (0.932 mmol)  $N^6$ -(2-Nitrophenyl)-3',5'-O-bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **146** wurden in Ethanol (99.6%, 30 mL) gelöst und Palladium (10% auf Kohle, 20 mg) dazu gegeben. Die Suspension wurde für 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt und anschließend über Celite 521<sup>®</sup> filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Anschließend wurde langsam Essigsäureanhydrid (638 mg, 2.82 mmol, 3.3 Äq.) zugegeben. Nach 2 h wurde Methanol (5 mL) zugegeben und die Lösung im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Petrolether / Ethylacetat (1:1) gereinigt.

Ausbeute: 497 mg (0.811 mmol, 87%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.64 (bs, 1H,  $N^6H$ ), 8.46 (s, 1H, H-8), 8.27 (s, 1H, H-2), 7.84 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 7.1$  Hz, H-aryl), 7.50 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 7.8$  Hz, H-aryl), 7.30 - 7.28 (m, 1H, H-aryl), 6.49 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, H-1'), 4.64 - 4.60 (m, 1H, H-3'), 4.05 - 4.03 (m, 1H, H-4'), 3.92 - 3.87 (m, 1H, H-5'\_a), 3.81 - 3.78 (m, 1H, H-5'\_b), 2.66 - 2.61 (m, 1H, H-2'\_a), 2.52 - 2.45 (m, 1H, H-2'\_b), 2.23 (s, 3H, Ac), 0.92 (s, 18H, *tert*-Butyl), 0.11 (s, 12H, SiMe).



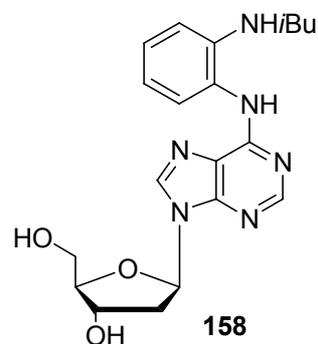
<sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 153.4 (C-6), 153.1 (C-24), 148.7 (C-4), 141.9 (C-aryl), 139.1 (C-8), 127.4 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 124.4 (C-aryl-NH<sub>2</sub>), 120.8 (C-5), 119.3 (C-aryl), 117.5 (C-ary), 85.3 (C-4'), 83.3 (C-1'), 70.0 (C-3'), 61.9 (C-5'), 40.1 (C-2'), 17.6, 17.4, 17.3, 17.2, 17.2, 17.1, 17.1, 17.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 13.5, 13.3, 12.9, 12.6 (CH-*i*Pr).  $[\alpha]_{545}^{20} = -37.4^\circ$  ( $c = 0.3$ ,  $CHCl_3$ ). Smp.: 194 - 195 °C.  $C_{30}H_{48}N_6O_4Si_2$ ,  $M = 612.91$  g/mol. LRMS (FAB): ber.: 612.3 (M), gef.: 613.3 ( $M + H^+$ ).  $R_f$  (PE/EE 1:1 v/v): 0.50.

***N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-2'-desoxyadenosin 158**

*N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **157** (0.488 g, 0.744 mmol) wurden nach **AAV 4a** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Ethylacetat und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 278 mg (0.675 mmol, 90%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.74 (s, 1H, NH-*i*Bu), 8.91 (s, 1H, *N*<sup>6</sup>-H), 8.49 (s, 1H, H8), 8.30 (s, 1H, H2), 7.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H<sup>aryl</sup>), 7.42 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H<sup>aryl</sup>), 7.26 – 7.22 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 7.20 – 7.15 (m, 1H, H<sup>aryl</sup>), 6.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H1'), 5.33 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, C3'-OH), 5.12 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, C5'-OH), 4.58 – 4.41 (m, 1H, H3'), 3.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H4'), 3.66 – 3.61 (m, 1H, H5'<sub>a</sub>), 3.56 – 3.50 (m, 1H, H5'<sub>b</sub>), 2.79 – 2.72 (m, 1H, H2'<sub>a</sub>), 2.65 – 2.59 (m, 1H, CH-Me *i*Bu), 2.30 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, H2'<sub>b</sub>), 1.09 (d, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, 2 x CH-CH<sub>3</sub> *i*Bu). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 176.4 (C=O), 152.2 (C4), 151.9 (C2), 149.0 (C<sup>aryl</sup>-*N*<sup>6</sup>), 140.6 (C8), 131.2 (C6), 130.76 C<sup>aryl</sup>-NH*i*Bu), 125.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 125.0 (C<sup>aryl</sup>-H), 124.9 (C<sup>aryl</sup>-H), 124.5 (C<sup>aryl</sup>-H), 120.3 (C1) 87.9 (C4'), 83.8 (C1'), 70.7 (C3'), 61.7 (C5'), 40.1 (C2'), 34.5 (CH-Me *i*Bu), 19.4 (2 x CH-CH<sub>3</sub> *i*Bu). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3422 vs, 3262 vs, 2960 w, 2360 w, 2342 vw, 1656 m, 1628 s, 1589 s, 1516 m, 1448 m, 1371 w, 1303 w, 1210 vw, 1099 vw, 1066 w, 1052 w, 750 vw, 648 vw. Smp.: 196 - 197 °C. C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, M = 412.44 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 413.1937 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 413.1924 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan/ Methanol 9:1 v/v): 0.48.

***N*<sup>6</sup>-(2-(Benzamid)-phenyl)-2'-desoxyadenosin 159**

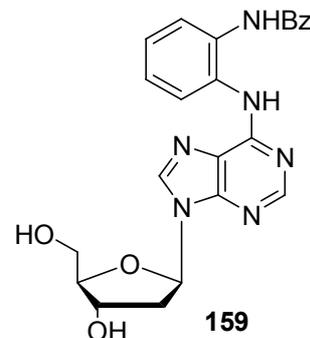
*N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Benzamid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(*isopropyl*)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **156** (322 mg, 0.468 mmol) wurde nach **AAV 4c** umgesetzt. Das

Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Ethylacetat und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 189 mg (0.458 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 10.27 (s, 1H, NH-Bz), 9.17 (s, 1H,  $N^6$ -H), 8.46 (s, 1H, H8), 8.34 (s, 1H, H2), 7.96 – 7.87 (m, 3H, 3 x  $H^{\text{aryl}}$ ), 7.61 – 7.48 (m, 4H, 4 x  $H^{\text{aryl}}$ ), 7.33 – 7.23 (m, 2H, 2 x  $H^{\text{aryl}}$ ), 6.38 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, H1'), 5.31 (s, 1H, OH), 5.10 (s, 1H, OH), 4.43 – 4.41 (m, 1H, H3'), 3.89 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, H4'), 3.62 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, H5'a), 3.52 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, H5'b), 2.77 – 2.70 (m, 1H, H2'a), 2.29 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H2'b).

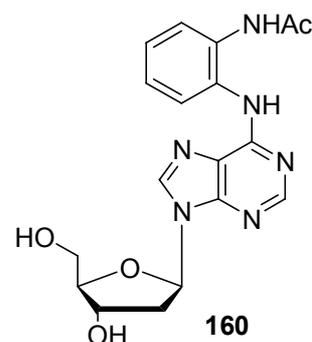
$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 165.8 (C=O), 152.2 (C4), 151.9 (C2), 149.0 ( $C^{\text{aryl-N}^6}$ ), 140.6 (C8), 134.1 (C6), 132.8 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 132.4 ( $C^{\text{aryl-C=O}}$ ), 131.9 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 130.8  $C^{\text{aryl-NHBz}}$ , 129.4 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 128.5 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 127.6 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 126.0 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 125.8 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 125.6 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 124.7 ( $C^{\text{aryl-H}}$ ), 120.1 (C1), 87.9 (C4'), 83.8 (C1'), 70.7 (C3'), 61.6 (C5'), 40.1 (C2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3399 vs, 2926 m, 2361 w, 2342 vw, 1620 vs, 1591 s, 1524 m, 1475 m, 1452 s, 1371 w, 1301 m, 1224 w, 1095 m, 1057 w, 710 vw. Smp.: 89 – 90 °C.  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_4$ ,  $M = 446.46$  g/mol. LRMS (FAB): ber.: 446.2, gef.: 447.4 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f$ -Wert (Dichlormethan / Methanol 9:1 v/v): 0.55.



### $N^6$ -(2-(Acetamid)-phenyl)-2'-desoxyadenosin 160

Nach **AAV 4b** wurden 480 mg (0.783 mmol)  $N^6$ -(2-(Acetamid)-phenyl)-3',5'-O-(1,1,3,3-tetrakis-(isopropyl)-1,3-disiloxan)-2'-desoxyadenosin **204** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 288 mg (0.749 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffs.



$C_{18}H_{20}N_6O_4$ ,  $M = 384.40$  g/mol.

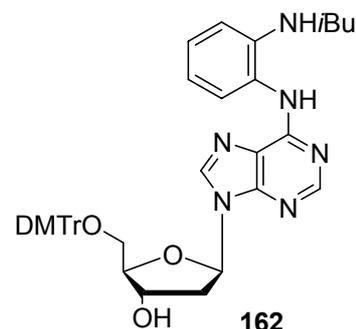
Die Verbindung wurde ohne weitere Charakterisierung zu Verbindung **161** umgesetzt.

### **$N^6$ -(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin **162****

$N^6$ -(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-2'-desoxyadenosin **158** (230 mg, 0.559 mmol) wurde nach **AAV 5** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan/ Methanol (19:1) gereinigt.

Ausbeute: 381 mg (0.533 mmol, 95%) eines farblosen Feststoffs.

$^1H$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.74 (s, 1H, NH-*i*Bu), 8.91 (s, 1H,  $N^6$ -H), 8.34 (s, 1H, H8), 8.23 (s, 1H, H2), 7.84 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.9$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.3$  Hz,  $H^{aryl}$ ), 7.42 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.9$  Hz,  $^4J_{HH} = 1.5$  Hz,  $H^{aryl}$ ), 7.34 – 7.32 (m, 2H,  $C^{aryl}$ -H), 7.24 – 7.15 (m, 9H,  $C^{aryl}$ -H), 6.82 – 6.77 (m, 4H,  $C^{aryl}$ -H), 6.43 – 6.40 (m, 1H, H1'), 5.38 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 4.5$  Hz, C3'-OH), 4.52 – 4.46 (m, 1H, H3'), 4.03 -



4.00 (m, 1H, H4'), 3.70 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.21 – 3.14 (m, 2H, 2 x H5'), 2.95 – 2.89 (m, 1H, H2'a), 2.64 – 2.60 (m, 1H,  $\underline{C}H$ -Me *i*Bu), 2.64 – 2.60 (ddd,  $^2J_{HH} = 13.4$  Hz,  $^3J_{HH} = 7.0$ ,  $^3J_{HH} = 2.2$  Hz, 1H, H2'b), 1.07 (d, 6H,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz, 2 x  $\underline{C}H$ -CH<sub>3</sub> *i*Bu).  $^{13}C$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 176.4 (C=O), 157.8 (2 x  $\underline{C}^{aryl}$ -OMe DMTr), 152.1 (C4), 151.8 (C2), 149.1 ( $N^6$ - $C^{aryl}$ ), 144.8 (C6), 140.8 (C8), 135.4 ( $C^{aryl}$ ), 131.7 ( $C^{aryl}$ ), 130.7 ( $C^{aryl}$ ), 128.7 ( $C^{aryl}$ -H), 128.1 ( $C^{aryl}$ -H), 127.5 ( $C^{aryl}$ -H), 126.4 ( $C^{aryl}$ -H), 125.4 ( $C^{aryl}$ -H), 125.0 ( $C^{aryl}$ -H), 124.8 ( $C^{aryl}$ -H), 124.4 ( $C^{aryl}$ -H), 120.3 (C1) 112.9 ( $C^{aryl}$ -H), 85.8 ( $\underline{C}$ -O-C5' DMTr), 85.2 (C4'), 83.5 (C1'), 70.6 (C3'), 64.0 (C5'), 54.9 (2 x OCH<sub>3</sub> DMTr), 40.1 (C2'), 34.4 ( $\underline{C}H$ -Me *i*Bu), 19.3 (2 x  $\underline{C}H$ -CH<sub>3</sub> *i*Bu). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3404 s, 3033 vw, 2964 w, 2835 w, 2835 vw, 1664 w, 1602 vs, 1592 m, 1509 vs, 1452 s, 1369 vw, 1302 m, 1250 s, 1176 m, 1155 vw, 1093 w, 1034 m, 945 vw, 828 vw, 753 w, 583 vw. Smp.: 144 – 145 °C.  $C_{41}H_{42}N_6O_6$ ,  $M = 714.81$  g/mol. HRMS

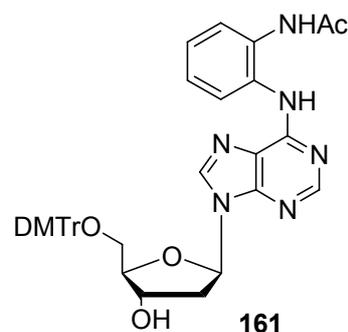
(FAB): ber.: 715.3244 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 715.3133 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan / Methanol 19:1 v/v): 0.43.

### N<sup>6</sup>-(2-(Acetamid)-phenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin **161**

N<sup>6</sup>-(2-(Acetamid)-phenyl)-2'-desoxyadenosin **160** (388 mg, 1.01 mmol) wurde nach **AAV 5** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan/ Methanol (19:1) gereinigt.

Ausbeute: 275 mg (0.374 mmol, 37%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 9.72 (s, 1H, NH-Ac), 8.91 (s, 1H, N<sup>6</sup>H), 8.33 (s, 1H, H8), 8.22 (s, 1H, H2), 7.82 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, H-aryl), 7.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H-aryl), 7.35 – 7.32 (m, 2H, H-aryl), 7.23 – 7.16 (m, 9H, H-aryl), 6.82 – 6.77 (m, 4H, H-aryl), 6.43 – 6.40 (m, 1H, H1'), 5.38 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, 3'-OH), 4.52 – 4.46 (m, 1H, H-3'), 4.03 – 4.00



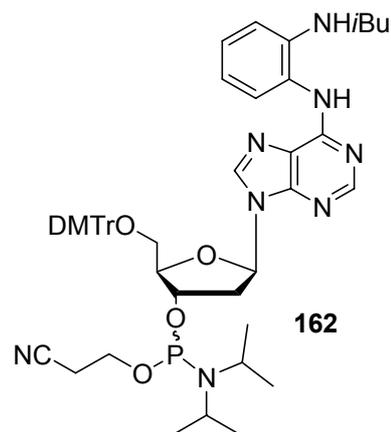
(m, 1H, H-4'), 3.70 (s, 6H, DMTr-OCH<sub>3</sub>), 3.21 – 3.14 (m, 2H, H-5'), 2.96 – 2.91 (m, 1H, H2'<sub>a</sub>), 2.64 – 2.59 (ddd, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, 1H, H2'<sub>b</sub>), 2.12 (s, 3H, Ac). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 158.0 (C-OMe-DMTr), 157.9 (C-OMe-DMTr), 151.7 (C-2), 151.5 (C-aryl), 149.5 (C-4), 145.7 (C-6), 144.8 (C-DMTr), 141.5 (C-aryl), 140.4 (C-8), 135.5 (C-DMTr), 130.2 (C-aryl), 129.6 (C-DMTr), 129.5 (C-DMTr), 128.9 (C-DMTr), 127.6 (C-DMTr), 126.5 (C-DMTr), 120.7 (C-5), 119.9 (C-aryl), 113.0 (C-DMTr), 112.7 (C-DMTr), 86.0 (C-4'), 85.4 (C-DMTr), 83.7 (C-1'), 70.6 (C-3'), 64.0 (C-5'), 54.9 (OMe), 54.9 (OMe), 38.6 (C-2'), 20.8 (CH<sub>3</sub>-Ac). C<sub>39</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, M = 686.77 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 686.2853, gef.: 686.2942 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.35.

***N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-3'-*O*-cyanoethyl-*N,N'*-diisopropylphosphoramidit-2'-desoxyadenosin **164****

*N*<sup>6</sup>-(2-(*iso*Butyramid)-phenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin **162** (290 mg, 0.405 mmol) wurde nach **AAV 6a** umgesetzt.

Ausbeute: 211 mg (0.231 mmol, 57%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (202 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 146.7, 146.5.  
C<sub>50</sub>H<sub>59</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>P, M = 915.03 g/mol. R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan/ Methanol 19:1 v/v): 0.43.



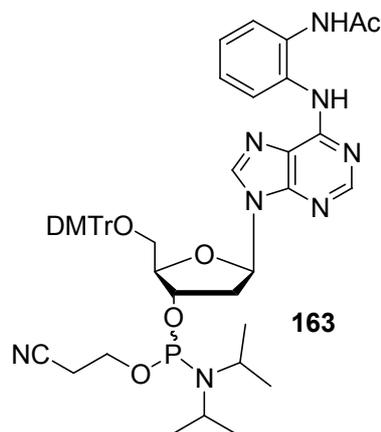
Aufgrund der Empfindlichkeit dieser Verbindung, wurde sie direkt zur DNA-Synthese weiterverwendet.

***N*<sup>6</sup>-(2-(Acetamid)-phenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-3'-*O*-cyanoethyl-*N,N'*-diisopropylphosphoramidit-2'-desoxyadenosin **163****

*N*<sup>6</sup>-(2-(Acetamid)-phenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin **161** (175 mg, 0.255 mmol) wurde nach **AAV 6b** umgesetzt. Die säulenchromatographische Reinigung wurde mit Aluminiumoxid (neutral, Stufe 3) mit Dichlormethan als Eluent durchgeführt.

Ausbeute: Es konnten zunächst 61.1 mg (0.069 mmol, 27%) der noch verunreinigten Verbindung isoliert werden. Bei einer zweiten säulenchromatographischen Reinigung an Aluminiumoxid zersetzte sich das Produkt.

<sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (202 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 148.3, 148.1.  
C<sub>48</sub>H<sub>55</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>P, M = 886.97 g/mol. R<sub>F</sub>-Wert (Dichlormethan/ Methanol 19:1 v/v): 0.40.

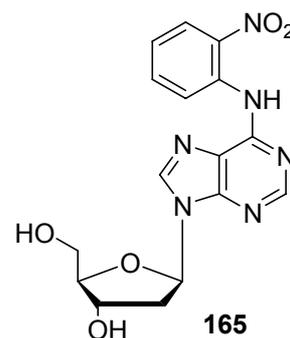


***N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-2'-desoxyadenosin 165**

Es wurden 1.23 g (2.09 mmol) *N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-3',5'-*O*-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **147** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 673 mg (1.81 mmol, 87%) eines gelben Feststoffes.

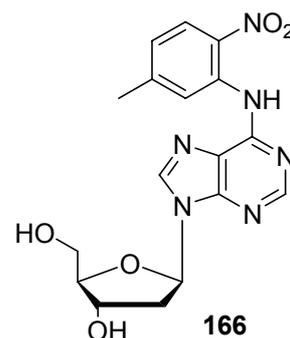
<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 10.67 (bs, 1H, NH), 8.60 (s, 1H, H-8), 8.45 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 1.1 Hz, H-aryl), 8.40 (s, 1H, H-2), 8.12 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 1.4 Hz, H-aryl), 7.79 – 7.75 (m, 1H, H-aryl), 7.33 – 7.29 (m, 1H, H-aryl), 6.42 (vt, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 6.7 Hz, H-1'), 5.39 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,OH</sub> = 4.1 Hz, 3'-OH), 5.11 (vt, <sup>3</sup>*J*<sub>H,OH</sub> = 5.6 Hz, 5'-OH), 4.46 – 4.43 (m, 1H, H-3'), 3.92 – 3.89 (m, 1H, H-4'), 3.67 – 3.61 (m, 1 H, H-5'<sub>a</sub>), 3.57 – 3.51 (m, 1H, H-5'<sub>b</sub>), 2.77 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 7.4, Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 6.0 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.34 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 6.4, Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 3.3 Hz, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 151.7 (C-2), 151.1 (C-4), 149.7 (C-6), 141.8 (C-8), 139.9 (C-aryl), 135.0 (C-aryl), 133.9 (C-aryl), 125.6 (C-aryl), 124.5 (C-aryl), 123.7 (C-aryl), 121.1 (C-5), 88.1 (C-4'), 84.1 (C-1'), 70.9 (C-3'), 61.8 (C-5'), 39.8 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3195, 2918, 1627, 1577, 1512, 1481, 1430, 1373, 1334, 1310, 1278, 1259, 1226, 1209, 1198, 1171, 1142, 1107, 1093, 1072, 1061, 1023, 1000, 982, 938, 920, 879, 862, 825, 813, 794, 786, 743, 689, 662, 638, 588, 566, 524, 489, 465, 411, 398. Smp.: 176 - 179 °C. C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 372.34 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 372.1182, gef.: 373.1258 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.25.

***N*<sup>6</sup>-(5-Methyl-2-nitrophenyl)-2'-desoxyadenosin 166**

Es wurden 600 mg (1.10 mmol) *N*<sup>6</sup>-(5-Methyl-2-nitrophenyl)-3',5'-*O*-di(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **148** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 285 mg (0.73 mmol, 67%) eines hellgelben Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 10.75 (bs, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, H-8), 8.46 (s, 1H, H-2), 8.44 (d, 1H,  $^4J_{\text{H,H}} = 1.6$  Hz, H-aryl), 8.06 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.5$  Hz, H-aryl), 7.12 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.5$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 1.8$  Hz, H-aryl), 6.43 (vt, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.8$  Hz, H-1'), 5.36 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,OH}} = 4.1$  Hz, 3'-OH), 5.07 (vt, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.5$  Hz, 5'-OH), 4.47 – 4.42 (m, 1H, H-3'), 3.91 – 3.89 (m, 1H, H-4'), 3.67 – 3.61 (m, 1H, H-5'a), 3.56 – 3.51



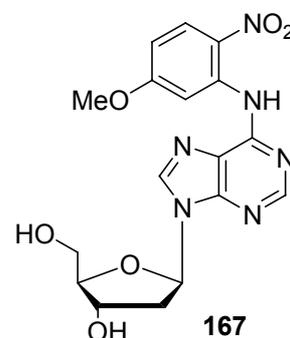
(m, 1H, H-5'b), 2.81 – 2.75 (m, 1H, H-2'a), 2.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-aryl), 2.34 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.7$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.4$  Hz, H-2'b).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 152.8 (C-6), 150.8 (C-2), 149.5 (C-4), 148.6 (C-8), 139.3 (C-aryl), 125.1 (C-aryl), 117.8 (C-5), 117.6 (C-aryl), 85.6 (C-4'), 84.3 (C-1'), 71.2 (C-3'), 62.6 (C-5'), 39.1 (C-2'), 21.9 (C-CH<sub>3</sub>), 17.9 - 17.3 (C-*i*Pr), 13.8 - 12.9 (C-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3460, 2930, 1650.  $[\alpha]_{545}^{20} = -29^\circ$  (c = 0.11, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 108 °C. C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 386.36 g/mol. R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.30.

### ***N*<sup>6</sup>-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)-2'-desoxyadenosin 167**

Es wurden 1.15 g (1.81 mmol) *N*<sup>6</sup>-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)-3',5'-*O*-bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **150** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 656 mg (1.63 mmol, 94%) eines gelben Feststoffes.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 10.53 (bs, 1H, NH), 8.63 (s, 1H, H-8), 8.56 (s, 1H, H-2), 8.12 (d, 1H,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-6), 7.99 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.2$  Hz, H-4), 7.92 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 9.2$  Hz,  $^4J_{\text{H,H}} = 2.0$  Hz, H-3), 6.45 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.4$  Hz, H-1'), 5.34 (d, 1H,  $^3J_{\text{H,OH}} = 4.2$  Hz, 3'-OH), 5.05 (vt, 1H,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$  Hz, 5'-OH), 4.47 – 4.43 (m, 1H, H-3'), 3.94 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.92 – 3.89 (m,



1H, H-4'), 3.65 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 11.7$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.8$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.9$  Hz, H-5'a), 3.55 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 11.7$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 4.6$  Hz, H-5'b), 2.78 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.3$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.4$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$  Hz, H-2'a), 2.34 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.2$  Hz,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.3$  Hz, H-2'b).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 155.0

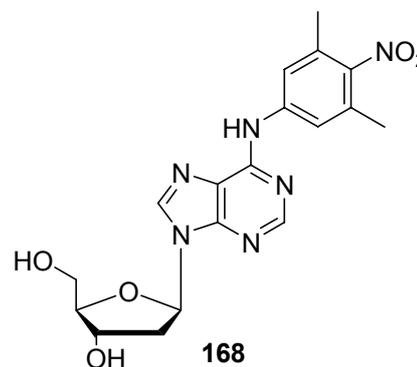
(C-aryl), 151.6 (C-2), 151.2 (C-4), 149.8 (C-6), 146.5 (C-aryl), 141.4 (C-8), 132.3 (C-aryl), 126.8 (C-aryl), 120.9 (C-5), 111.0 (C-aryl), 104.2 (C-aryl), 88.0 (C-4'), 83.8 (C-1'), 70.7 (C-3'), 61.7 (C-5'), 56.3 (OCH<sub>3</sub>), 40.1 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3510, 3328, 3124, 2928, 1656, 1612, 1575, 1485, 1418, 1367, 1152.  $[\alpha]_{545}^{20} = -80.8^\circ$  (c = 0.68, CH<sub>3</sub>OH). Smp.: 214 °C. C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>, M = 402.37 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 402.1288, gef.: 403.1366X (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.65.

### **N<sup>6</sup>-(3,5-Dimethyl-4-nitrophenyl)-2'-desoxyadenosin 168**

Es wurden 977 mg (1.55 mmol) N<sup>6</sup>-(3,5-Dimethyl-4-nitrophenyl)-3',5'-O-bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **151** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 521 mg (1.30 mmol, 84%) eines hellgelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.19 (bs, 1H, NH), 8.57 (s, 1H, H-8), 8.49 (s, 1H, H-2), 7.91 (s, 2H, H-aryl), 6.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.33 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 4.1 Hz, 3'-OH), 5.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 5.3 Hz, 5'-OH), 4.45 – 4.41 (m, 1H, H-3'), 3.91 – 3.88 (m, 1H, H-4'), 3.66 – 3.61 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 3.54 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.4 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.77 (ddd, 1H,



<sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.9 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.28 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.2 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.28 (s, 6H, Aryl-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 151.8 (C-2), 151.6 (C-aryl), 149.5 (C-4), 145.7 (C-6), 141.5 (C-aryl), 141.0 (C-8), 130.3 (C-aryl), 120.6 (C-5), 120.0 (C-aryl), 88.0 (C-4'), 83.9 (C-1'), 70.8 (C-3'), 61.7 (C-5'), 39.9 (C-2'), 17.9 (Aryl-CH<sub>3</sub>). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3326, 3227, 2930, 2049, 1729, 1629, 1579, 1511, 1477, 1350, 1329, 1296, 1220, 193, 1154, 1093, 1056, 990, 938, 859, 839, 793, 748, 707, 669, 642, 585, 560, 537, 508, 471, 454, 416, 404, 381. Smp.: Zersetzung ab 117 °C. C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 400.39 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 400.1495, gef.: 401.1571 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.38.

***N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-phenylphenyl)-2'-desoxyadenosin 169**

Es wurden 621 mg (0.917 mmol) *N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-phenylphenyl)-3',5'-*O*-bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **152** nach **AAV 4a** umgesetzt.

Ausbeute: 399 mg (0.890 mmol, 97%) eines gelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 10.80

(s, 1H, H-aryl), 8.88 (d, 1H, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.5 Hz,

H-aryl), 8.63 (s, 1H, H-8), 8.47 (s, 1H, H-2),

8.22 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, H-aryl), 7.77 (d, 1H,

<sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H-aryl), 7.60 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 8.7

Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H-aryl), 7.56 (t, 2H,

<sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-aryl), 7.49 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 7.3

Hz, H-aryl), 6.44 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, H-1'),

5.36 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, 3'-OH), 5.07 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, 5'-OH), 4.48 - 4.43 (m,

1H, H-3'), 3.64 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.55

(ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.79 (ddd, 1H,

<sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.35 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.2 Hz,

<sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 152.8

(C-2), 152.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 150.9 (C-4), 147.6 (C-6), 142.4 (C-8), 139.2 (C<sub>q</sub>-aryl), 135.8

(C<sub>q</sub>-aryl), 130.4 (C-aryl), 130.3 (C-aryl), 128.3 (C-aryl), 127.5 (C-aryl), 122.9 (C-aryl),

122.3 (C-5), 89.2 (C-4'), 85.1 (C-1'), 71.9 (C-3'), 62.8 (C-5'), 39.8 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] =

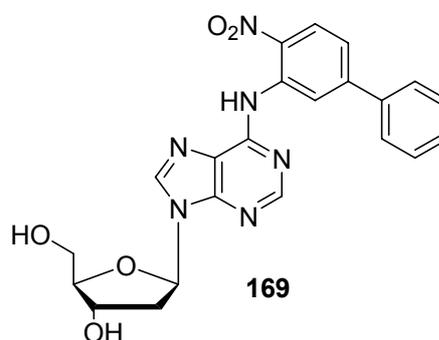
3556, 3230, 3212, 3083, 2919, 2325, 2246, 2197, 2184, 2173, 2162, 2073, 2050,

2033, 2020, 1904, 1732, 1610, 1585, 1569, 1478, 1430, 1408, 1362, 1332, 1263,

1224, 1209, 1186, 1106, 1094, 1082, 1060, 1033, 1021, 1001, 988, 942, 921, 899,

877, 855, 831, 796, 770, 748, 730, 713, 695, 669, 635, 580, 566, 532, 497, 455, 428,

417, 394. Smp.: 192 - 194 °C. C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 448.43 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 448.1495, gef.: 449.1572 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.35.

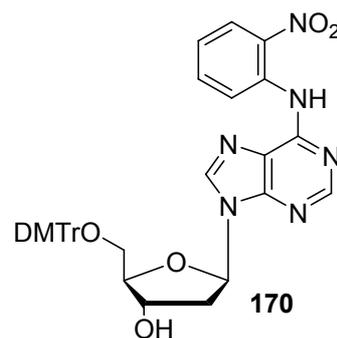


**N<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin 170**

Es wurden 497 mg (1.34 mmol) **165** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 787 mg (1.12 mmol, 87%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.67 (bs, 1H, NH), 8.51 (s, 1H, H-8), 8.51 – 8.48 (m, 1H, H-aryl), 8.34 (s, 1H, H-2), 8.14 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, H-aryl), 7.80 – 7.76 (m, 1H, H-aryl), 7.34 – 7.29 (m, 3H, H-aryl, H-DMTr), 7.23 – 7.16 (m, 7H, H-DMTr), 6.81 – 6.74 (m, 4H, H-DMTr), 6.45 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.44 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,OH</sub> = 4.5 Hz, 3'-OH), 4.54 – 4.49 (m, 1H, H-3'), 4.04 – 4.00 (m, 1H, H-4'), 3.69 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.67 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.21 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.1 Hz, H-5'a), 3.16 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.1 Hz, H-5'b), 2.98 – 2.92 (m, 1H, H-2'a), 2.39 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.0 Hz, H-2'b). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 157.9 (C-OMe-DMTr), 157.9 (C-OMe-DMTr), 151.5 (C-2), 150.8 (C-4), 149.6 (C-6), 144.8 (C-aryl), 142.0 (C-8), 135.5 (C-aryl), 134.8 (C-aryl), 134.0 (C-DMTr), 129.6 (C-DMTr), 129.5 (C-DMTr), 127.6 (C-DMTr), 127.6 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 125.5 (C-aryl), 124.1 (C-DMTr), 123.4 (C-DMTr), 121.1 (C-5), 113.0 (C-DMTr), 112.9 (C-DMTr), 86.0 (C-4'), 85.3 (C<sub>q</sub>-DMTr), 83.8 (C-1'), 70.6 (C-3'), 64.0 (C-5'), 54.9 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 54.9 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 38.5 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3303, 3102, 3055, 2932, 2835, 2636, 2590, 2540, 2480, 2454, 2399, 2372, 2322, 2286, 2260, 2240, 2217, 2188, 2163, 2078, 2052, 2045, 1608, 1576, 1540, 1505, 1464, 1430, 1366, 1333, 1299, 1247, 1222, 1174, 1142, 1080, 060, 1030, 937, 862, 826, 791, 739, 727, 699, 641, 583, 551, 519, 471, 455, 442, 430, 422, 402, 388. Smp.: 117 – 119 °C. C<sub>37</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 674.70 g/mol. R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.44.

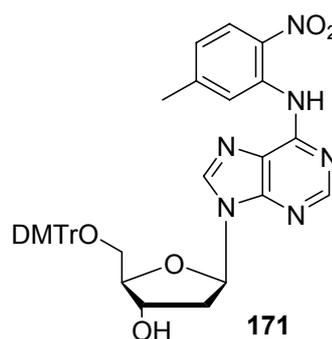


***N*<sup>6</sup>-(5-Methyl-2-nitrophenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin 171**

Es wurden 230 mg (0.590 mmol) **166** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 120 mg (0.160 mmol; 30%) eines hellgelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.76 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, H-2), 8.49 (s, 1H, H-8), 8.35 (s, 1H, H-aryl), 8.08 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, H-aryl), 7.32 - 7.30 (m, 2H, H-aryl, H-DMTr), 7.23 - 7.11 (m, 8H, H-DMTr), 6.77 (m, 4H, H-DMTr), 6.45 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-1'), 5.40 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, 3'-OH), 4.54 - 4.50 (m, 1H, H-3'), 4.05 - 4.00 (m, 1H, H-4'), 3.71 (s, 3H, O-Me), 3.69 (s,



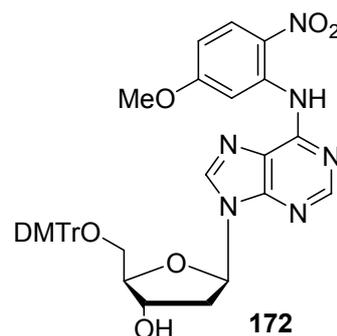
3H, O-Me), 3.20 - 3.14 (m, 2H, H-5'<sub>a,b</sub>), 2.99 - 2.91 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 2.43 - 2.31 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 158.4 (C-aryl), 158.3 (C-4), 152.0 (C-2), 151.2 (C-6), 150.0 (C-aryl), 146.7 (C-aryl), 145.3 (C-aryl), 142.5 (C-8), 135.9 (C-aryl), 135.8 (C-NO<sub>2</sub>), 134.8 (C-aryl), 130.1 (C-aryl), 129.9 (C-aryl), 128.1 (C-aryl), 128.0 (C-aryl), 126.9 (C-aryl), 126.0 (C-aryl), 124.0 (C-aryl), 123.8 (C-aryl), 121.7 (C-5), 86.4 (C-4'), 84.2 (C-1'), 71.0 (C-3'), 64.4 (C-5'), 39.5 (C-2'), 21.9 (CH<sub>3</sub>). [α]<sub>545</sub><sup>20</sup> = - 21° (c = 0.13, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 102 °C. C<sub>38</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 688.73 g/mol. R<sub>f</sub>(DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.55.

***N*<sup>6</sup>-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin 172**

Es wurden 568 mg (1.41 mmol) **167** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 722 mg (1.03 mmol, 73%) eines gelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 10.54 (bs, 1H, NH), 8.56 (s, 1H, H-8), 8.49 (s, 1H, H-2), 8.15 (d, 1H, <sup>4</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 1.7 Hz, H-aryl), 7.99 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 9.1 Hz, H-aryl), 7.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 9.1 Hz, <sup>4</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 1.8 Hz, H-aryl), 7.34 – 7.31 (m, 2H, H-DMTr), 7.23 – 7.13 (m, 7H, H-DMTr), 6.80 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 8.8 Hz, H-DMTr), 6.76 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 8.8 Hz, H-DMTr), 6.49 (vt, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.43 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>H,OH</sub> = 4.5 Hz, 3'-OH), 4.59 – 4.54 (m, 1H, H-3'), 4.07 – 4.03 (m, 1H, H-4'), 3.93 (s, 3H, OMe), 3.70 (s, 3H, DMTr-OMe), 3.68 (s, 3H, DMTr-OMe), 3.24 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 6.0 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.19 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>H,H</sub> = 3.6 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.02 – 2.95 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.45 – 2.38 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 158.0 (DMTr (OMe)), 154.1 (C-aryl), 151.6 (C-2), 151.3 (C-DMTr), 149.8 (C-6), 146.6 (C-aryl), 144.9 (C-DMTr), 141.6 (C-8), 135.6 (C-DMTr), 132.2 (C-aryl), 129.7 (C-DMTr), 128.9 (C-DMTr), 128.2 (C-DMTr), 127.7 (C-DMTr), 126.9 (C-aryl), 126.6 (C-DMTr), 125.3 (C-DMTr), 121.1 (C-5), 113.0 (C-DMTr), 111.0 (C-aryl), 104.1 (aryl), 86.1 (C-4'), 85.4 (C-DMTr), 83.8 (C-1'), 64.0 (C-5'), 56.3 (OMe), 55.0 (DMTr-OMe), 54.9 (DMTr-OMe), 38.7 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3337, 2932, 2836, 1608, 1575, 1508, 1436, 1419, 1251, 1155, 828.  $[\alpha]_{545}^{20}$  = - 41.3° (c = 0.175, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 133 °C. C<sub>38</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>, M = 704.73 g/mol. R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.47.



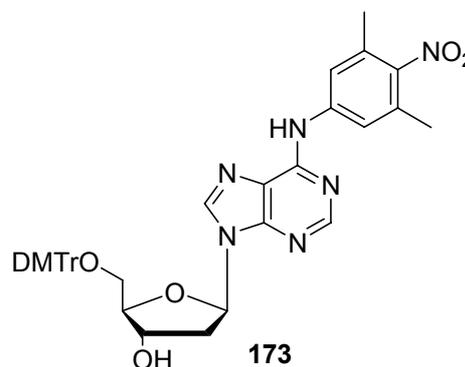
## ***N*<sup>6</sup>-(3,5-Dimethyl-4-nitrophenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin 173**

Es wurden 489 mg (1.17 mmol) **168** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 700 mg (0.996 mmol, 85%) eines hellgelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.20

(bs, 1H, NH), 8.50 (s, 1H, H-8), 8.43 (s, 1H, H-2), 7.92 (s, 2H, H-aryl), 7.34 – 7.30 (m, 2H, H-DMTr), 7.21 – 7.17 (m, 6H, H-DMTr), 7.09 – 7.05 (m, 1H, H-DMTr), 6.81 – 6.75 (m, 4H, H-DMTr), 6.45 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.1 Hz, H-1'), 5.44 – 5.37 (m, 1H, 3'-OH), 4.56 – 4.52 (m, 1H, H-3'), 4.04 – 4.00 (m, 1H, H-4'),



3.70 (s, 3H, DMTr-OMe), 3.68 (s, 3H, DMTr-OMe), 3.21 (dd 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.1 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.16 (dd 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.5 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.99 – 2.93 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.41 – 2.36 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 2.28 (s, 6H, H-aryl). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 158.0 (C-OMe-DMTr), 157.9 (C-OMe-DMTr), 151.7 (C-2), 151.5 (C-aryl), 149.5 (C-4), 145.7 (C-6), 144.8 (C-DMTr), 141.5 (C-aryl), 140.4 (C-8), 135.5 (C-DMTr), 130.2 (C-aryl), 129.6 (C-DMTr), 129.5 (C-DMTr), 128.9 (C-DMTr), 127.6 (C-DMTr), 126.5 (C-DMTr), 120.7 (C-5), 119.9 (C-aryl), 113.0 (C-DMTr), 112.7 (C-DMTr), 86.0 (C-4'), 85.4 (C<sub>q</sub>-DMTr), 83.7 (C-1'), 70.6 (C-3'), 64.0 (C-5'), 54.9 (OMe), 54.9 (OMe), 38.6 (C-2'), 17.8 (CH<sub>3</sub>-aryl). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3333, 3234, 2929, 2835, 1628, 1575, 1507, 1475, 1444, 1415, 1351, 1327, 1296, 1246, 1220, 1174, 1155, 1092, 1058, 1031, 1001, 938, 901, 869, 856, 827, 791, 753, 727, 700, 639, 583, 542, 526, 507, 488, 462. C<sub>39</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 702.76 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 702.2802, gef.: 703.2872 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.5.

***N*<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-phenyl-phenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-desoxyadenosin 174**

Es wurden 370 mg (0.825 mmol) **169** nach **AAV 5** umgesetzt.

Ausbeute: 477 mg (0.635 mmol, 77%) eines hellgelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 10.83

(bs, 1H, NH), 8.93 (d, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz,

H-aryl), 8.54 (s, 1H, H-8), 8.40 (s, 1H, H-2),

8.24 (d, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, H-aryl), 7.79 - 7.77 (m,

2H, H-aryl), 7.61 - 7.55 (m, 3H, H-aryl),

7.52 - 7.48 (m, 1H, H-aryl), 7.33 - 7.32 (m, 2H,

H-DMTr) 7.24 - 7.14 (m, 7H, H-DMTr),

6.82 - 6.74 (m, 4H, H-DMTr), 6.46 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.41 (d, 1H,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, 3'-OH), 4.53 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz,

H-3'), 3.69 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.66 (s, 3H, OMe-DMTr), 4.05 - 3.99 (m, 1H, H-4'),

3.22 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.16 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.2 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 2.96 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz,

H-2'<sub>a</sub>), 2.39 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-2'<sub>b</sub>). <sup>13</sup>C-NMR:

δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 156.0 (C<sub>q</sub>-DMTr), 157.9 (C<sub>q</sub>-DMTr), 150.8 (C<sub>q</sub>-aryl),

150.3 (C-2), 149.7 (C-4), 146.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 144.9 (C-6), 141.1 (C-8), 137.9 (C<sub>q</sub>-aryl),

135.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 135.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.7 (C-aryl), 129.5 (C-aryl), 129.3 (C-aryl), 129.1

(C-aryl), 127.7 (C-aryl), 127.6 (C-aryl), 127.1 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 126.4 (C-aryl),

121.5 (C-aryl), 121.4 (C-aryl), 121.3 (C-5), 112.9 (C-aryl), 113.0 (C-aryl), 86 (C-4'),

85.3 (C<sub>q</sub>-DMTr), 83.9 (C-1'), 70.6 (C-3'), 64.0 (C-5'), 54.9 (OMe-DMTr), 54.9 (OMe-

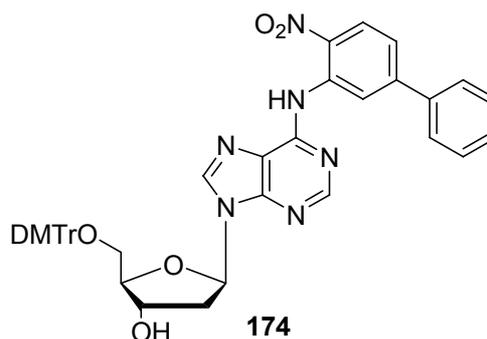
DMTr), 38.5 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3287, 3035, 2931, 2835, 2220, 2168, 1732, 1606,

1585, 1568, 1504, 1478, 1462, 1433, 1416, 1396, 1367, 1328, 1303, 1283, 1247,

1220, 1174, 1154, 1087, 1061, 1030, 937, 897, 853, 826, 792, 769, 749, 728, 695,

642, 581, 523, 505, 453. Smp.: 192 - 194 °C. C<sub>43</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>, M = 750.28 g/mol. HRMS

(FAB): ber.: 750.2802, gef.: 751.2873 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 2:1 v/v): 0.54.

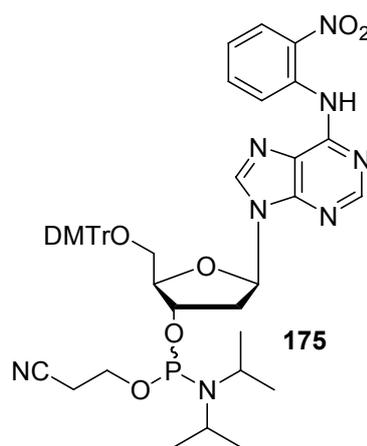


***N*<sup>6</sup>-(2-Nitrophenyl)-5'-*O*-dimethoxytrityl-3'-*O*-(2-cyanoethyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin 175**

Es wurden 370 mg (0.825 mmol) **170** nach **AAV 6b** umgesetzt.

Ausbeute: 477 mg (0.635 mmol, 77%) eines hellgelben Feststoffes

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 11.41 (bs, 1H, NH), 11.40 (bs, 1H, NH), 9.43 (dt, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.1 Hz, H-aryl), 8.64 (s, 1H, H-8), 8.63 (s, 1H, H-8), 7.91 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.6 Hz, H-aryl), 7.82 (s, 1H, H-2), 7.80 (s, 1H, H-2), 7.65 – 7.62 (m, 4H, H-DMTr), 7.48 – 7.44 (m, 8H, H-DMTr), 7.20 – 7.16 (m, 6H, H-DMTr), 7.09 – 7.02 (m, 4H, H-aryl, H-DMTr), 6.44 – 6.39 (m, 2H, H-aryl), 6.25 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 6.20 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.5 Hz, H-1'), 5.02 – 4.95 (m, 2H, H-3'), 3.65 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.2 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.62 – 3.56 (m, 3H, H-5'<sub>a</sub>, H-5'<sub>b</sub>, H-5'<sub>b</sub>), 3.56 – 3.48 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-α), 3.34 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.33 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.33 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.33 (s, 3H, OMe-DMTr), 3.32 – 3.19 (m, 4H, CH*i*Pr), 3.09 – 3.01 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 3.01 – 2.92 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.49 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.8 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.34 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.1 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.79 – 1.67 (m, 4H, β-CH<sub>2</sub>), 1.14 (t, 12 H; <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 1.12 (t, 12H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>-*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 157.9 (C-OMe-DMTr), 157.9 (C-OMe-DMTr), 151.5 (C-2), 150.8 (C-4), 149.6 (C-6), 144.8 (C-aryl), 142.0 (C-8), 135.5 (C-aryl), 134.8 (C-aryl), 134.0 (C-DMTr), 129.6 (C-DMTr), 129.5 (C-DMTr), 127.6 (C-DMTr), 127.6 (C-aryl), 126.5 (C-aryl), 125.5 (C-aryl), 124.1 (C-DMTr), 123.4 (C-DMTr), 121.6 (C-5), 121.5 (C-5), 117.9 (CN), 119.9 (CN), 114.0 (C-DMTr), 87.4 (C-DMTr), 86.5 (C-4'), 86.5 (C-4'), 85.7 (C-1'), 85.6 (C-1'), 74.4 (C-3'), 74.3 (C-3'), 64.5 (C-5'), 64.4 (C-5'), 59.1 (α-CH<sub>2</sub>), 58.9 (α-CH<sub>2</sub>), 55.2 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 55.2 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 44.0 (CH-*i*Pr), 43.9 (CH-*i*Pr), 39.4 (C-2'), 39.3 (C-2'), 25.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 25.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 20.5 (β-CH<sub>2</sub>), 20.4 (β-CH<sub>2</sub>). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 162.6, 162.2.



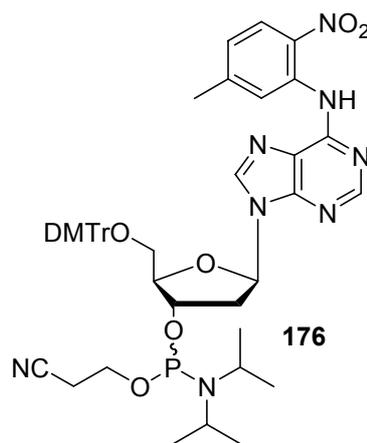
IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3294, 3059, 3032, 2941, 2867, 2360, 2254, 2053, 1673, 1609, 1578, 1508, 1483, 1463, 1446, 1414, 1396, 1365, 1334, 1298, 1249, 1201, 1176, 1154, 1140, 1073, 1031, 978, 883, 829, 790, 757, 741, 697, 643, 582, 563, 524, 465, 422, 407, 393, 378. C<sub>46</sub>H<sub>51</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 874.92 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 874.3567, gef.: 875.3599 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.57.

**N<sup>6</sup>-(5-Methyl-2-nitrophenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin 176**

Es wurden 100 mg (0.150 mmol) **171** nach **AAV 6b** umgesetzt.

Ausbeute: 100 mg (0.120 mmol, 78%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 11.56 (bs, 1H, NH), 11.55 (bs, 1H, NH), 9.32 - 9.31 (m, 2H, H-aryl), 8.65 (s, 1H, H-2), 8.64 (s, 1H, H-2), 7.93 (s, 1H, H-8), 7.90 (s, 1H, H-8), 7.83 (s, 1H, H-aryl), 7.81 (s, 1H, H-aryl), 7.58 - 7.56 (m, 4H, H-DMTr), 7.30 - 7.27 (m, 4H, H-DMTr), 7.16 - 7.13 (m, 1H, H-DMTr), 6.77 - 6.74 (m, 4H, H-DMTr), 6.25 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 6.21 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 5.00 - 4.94 (m, 2H, H-3'), 4.49 - 4.44 (m, 2H, H-4'), 3.64 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.2 Hz,



<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.61 - 3.46 (m, 5H, H-5'<sub>a</sub>, H-5'<sub>b</sub>, H-5'<sub>b</sub>, CH<sub>2</sub>- $\alpha$ ), 3.35 (s, 6H, OMe), 3.33 (s, 6H, OMe), 3.29 - 3.20 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- $\alpha$ ), 3.05 - 2.92 (m, 2H, H-2'<sub>a</sub>), 2.48 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.7 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.43 - 2.37 (m, 4H, CH-*i*Pr), 2.34 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.7 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.76 - 1.68 (m, 4H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 1.15 - 1.07 (m, 24 H, CH<sub>3</sub>-*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 159.6 (C-OMe), 152.6 (C-2), 150.6 (C-4), 147.3 (C-aryl), 145.9 (C-6), 141.8 (C-8), 137.3 - 136.5 (C-aryl), 128.7 - 117.9 (C-aryl), 87.3 (C<sub>q</sub>-DMTr), 86.7 (C-4'), 86.5 (C-4'), 85.7 (C-1'), 85.6 (C-1'), 75.1 (C-3'), 74.4 (C-3'), 64.5 (C-5'), 64.4 (C-5'), 59.2 (C- $\alpha$ ), 59.0 (C- $\alpha$ ), 55.3 (O-CH<sub>3</sub>), 55.2 (O-CH<sub>3</sub>), 44.0 (CH-*i*Pr), 43.9 (CH-*i*Pr), 39.4 (C-2'), 39.2 (C-2'), 25.1 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 25.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 25.0 (CH<sub>3</sub>-*i*Pr), 22.2 (C- $\beta$ ), 20.4 (CH<sub>3</sub>), 20.4 (CH<sub>3</sub>). <sup>31</sup>P-NMR:  $\delta$ [ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):

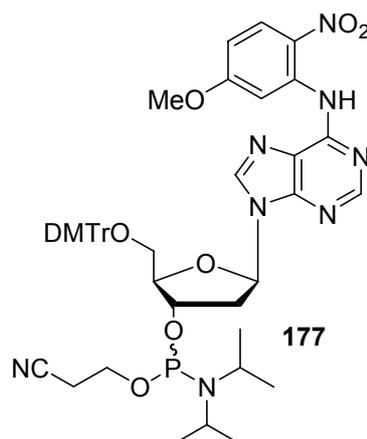
162.2, 162.4. (Diastereomere im Verhältnis 1:1). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2950 (-CH<sub>3</sub>), 1630 (konj. cycl. -C=N), 1510 (-NO<sub>2</sub>). Smp.: 95 °C. C<sub>47</sub>H<sub>53</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 888.95 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 888.3725, gef.: 889.3750 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.48.

**N<sup>6</sup>-(5-Methoxy-2-nitrophenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin 177**

Es wurden 288 mg (0.409 mmol) **172** nach **AAV 6b** umgesetzt.

Ausbeute: 259 mg (0.286 mmol, 70%) eines gelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 8.70 (s, 1H, H-8), 8.70 (s, 1H, H-8), 8.33 (bs, 1H, NH), 8.33 (bs, 1H, NH), 8.00 (s, 1H, H-2), 7.99 (s, 1H, H-2), 7.89 - 7.87 (m, 2H H-aryl), 7.87 - 7.85 (m, 2H, H-aryl), 7.74 - 7.71 (m, 4H, H-DMTr), 7.58 - 7.55 (m, 2H, H-aryl), 7.57 - 7.54 (m, 8H, H-DMTr), 7.30 - 7.26 (m, 4H, H-DMTr), 7.17 - 7.14 (m, 2H, H-DMTr), 6.87 - 6.83 (m, 8H, H-DMTr), 6.44 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 6.39 (vt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.16 - 5.08 (m, 2H, H-4'),



4.58 - 4.51 (m, 2H, H-3'), 3.76 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.0 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.70 - 3.51 (m, 7H, H-5'<sub>a</sub>, H-5'<sub>b</sub>,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 3.48 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.41 (s, 6H, DMTr-OCH<sub>3</sub>), 3.40 (s, 3H, DMTr-OCH<sub>3</sub>), 3.40 (s, 3H, DMTr-OCH<sub>3</sub>), 3.34 - 3.25 (m, 2H, H-2'<sub>a</sub>), 3.24 - 3.09 (m, 4H, CH*i*Pr), 2.67 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.2 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.51 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.4, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.4 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.86 - 1.69 (m, 4H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>) 1.25 - 1.19 (m, 24H, CH<sub>3</sub>-*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 159.3 (DMTr (C-OMe)), 155.0 (C-aryl), 152.5 (C-2), 151.9 (C-6), 145.5 (C-aryl), 137.4 (C-8), 136.3 (C-aryl), 136.2 (C-DMTr), 130.7 (C-DMTr), 130.6 (C-DMTr), 130.6 (C-DMTr), 130.6 (C-DMTr), 128.7 (C-DMTr), 128.2 (C-DMTr), 127.2 (C-aryl), 126.0 (C-DMTr), 122.1 (C-5), 113.6 (C-DMTr), 110.5 (C-aryl), 103.9 (C-aryl), 87.1 (C-DMTr), 86.2 (C-4'), 86.1 (C-4'), 85.3 (C-1'), 85.3 (C-1'), 74.6 (C-3'), 74.4 (C-3'), 63.9 (C-5'), 63.8 (C-5'), 58.0 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 58.0 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 54.8 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 54.8 (DMTr-OCH<sub>3</sub>), 45.3 (CH-*i*Pr), 45.3 (CH-*i*Pr),

39.4 (C-2'), 39.3 (C-2'), 24.7 (CH<sub>3</sub>-iPr), 24.6 (CH<sub>3</sub>-iPr), 19.5 (β-CH<sub>2</sub>), 19.4 (β-CH<sub>2</sub>).  
<sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 162.32, 162.27. IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3380, 3095, 2898, 2839, 1695, 1658, 1586, 1570, 1481, 1419, 1312, 1232. Smp.: 65 °C. C<sub>47</sub>H<sub>53</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>P, M = 904.95 g/mol. HRMS (FAB): ber. 905.3752 (M + H<sup>+</sup>), gef. 905.3684 (M+ H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.41.

### **N<sup>6</sup>-(3,5-Dimethyl-4-nitrophenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-(2-cyanoethyl)-N,N-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin 178**

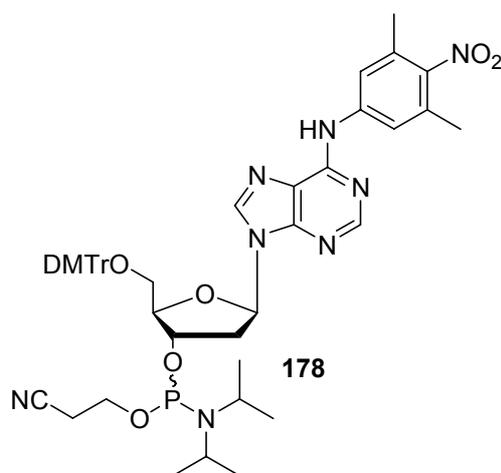
Es wurden 267 mg (0.380 mmol) **173** nach **AAV 6b** umgesetzt.

Ausbeute: 192 mg (0.323 mmol, 85%) eines gelben Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):

2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 8.60 (s, 1H, H-8), 8.58 (s, 1H, H-8), 7.84 (s, 1H, H-2), 7.83 (s, 1H, H-2), 7.79 (bs, 2H, NH), 7.61 (s, 2H, H-aryl), 7.60 (s, 2H, H-aryl), 7.47 – 7.41 (m, 8H, H-DMTr), 7.18 – 7.14 (m, 8H, H-DMTr), 7.04 – 7.01 (m, 2H, H-DMTr), 6.74 – 6.71 (m, 8H, H-DMTr), 6.29 (vt, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 6.24 (vt, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 5.03 – 4.96 (m, 2H, H-3'),

4.46 – 4.41 (m, 2H, H-4'), 3.64 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.2 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.61 – 3.43 (m, 7H, H-5'<sub>a</sub>, H-5'<sub>b</sub>, α-CH<sub>2</sub>), 3.35 – 3.15 (m, 4H, CH*i*Pr), 3.28 (s, 6H, DMTr-OMe), 3.27 (s, 6H, DMTr-OMe), 3.13 – 3.05 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 3.04 – 2.97 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.51 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 4.0 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.41 – 2.33 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>), 2.06 (s, 12H, CH<sub>3</sub>-aryl), 1.73 – 1.67 (m, 4H, β-CH<sub>2</sub>), 1.13 – 1.06 (m, 24H, CH<sub>3</sub>-iPr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 159.2 (C<sub>q</sub>-DMTr), 159.2 (C<sub>q</sub>-DMTr), 152.7 (C-2), 152.6 (C-2), 152.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 152.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 149.8 (C-4), 149.8 (C-4), 147.3 (C-aryl), 147.3 (C-aryl), 145.4 (C<sub>q</sub>-DMTr), 140.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 140.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 140.7 (C-8), 140.6 (C-8), 136.2 (C<sub>q</sub>-aryl), 136.2 (C<sub>q</sub>-aryl), 131.3 (C<sub>q</sub>-DMTr), 130.6 (C-aryl), 130.6 (C-aryl), 128.7 (C-aryl), 128.7 (C-aryl), 128.1 (C-DMTr), 127.1



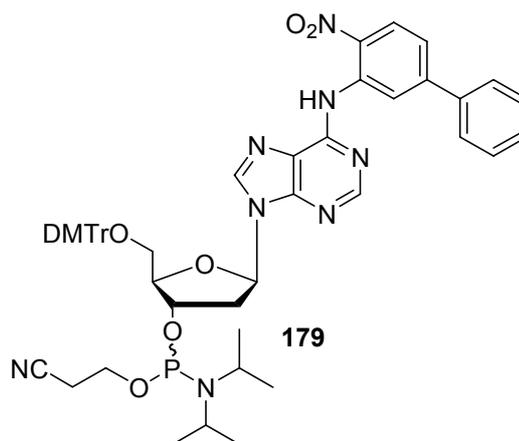
(C-aryl), 127.1 (C-aryl), 121.9 (C-5), 121.9 (C-5), 119.2 (C-DMTr), 117.6 (CN), 117.5 (CN), 113.5 (C\_DMTr), 86.9 (C<sub>q</sub>-DMTr), 88.3 (C-4'), 88.2 (C-4'), 85.3 (C-1'), 85.3 (C-1'), 74.6 (C-3'), 74.4 (C-3'), 63.9 (C-5'), 63.8 (C-5'), 58.8 (CH<sub>2</sub>-α), 58.6 (CH<sub>2</sub>-α), 54.8 (OMe-DMTR), 54.7 (OMe-DMTr), 43.6 (CH*i*Pr), 43.4 (CH*i*Pr), 39.2 (C-2'), 39.1 (C-2'), 24.7 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.7 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.6 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.6 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.6 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.5 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 24.5 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 20.1 (CH<sub>2</sub>-β), 20.0 (CH<sub>2</sub>-β), 19.9 (CH*i*Pr), 18.0 (CH<sub>3</sub>). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 2 Diastereomere im Verhältnis 1:1: 162.3, 162.1. IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3308, 2963, 2867, 2325, 1669, 1607, 1576, 1508, 1463, 1445, 1413, 1396, 1362, 1332, 1299, 1249, 1223, 1201, 1177, 1154, 1074, 1031, 977, 942, 879, 829, 791, 757, 725, 700, 644, 582, 562, 525, 465, 408. C<sub>48</sub>H<sub>55</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 902.97 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 902.3808, gef.: 903.3888 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.53.

### **N<sup>6</sup>-(2-Nitro-5-phenyl-phenyl)-5'-O-dimethoxytrityl-3'-O-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidit)-2'-desoxyadenosin 179**

Es wurden 220 mg (0.293 mmol) **174** nach **AAV 6b** umgesetzt.

Ausbeute: 221 mg (0.231 mmol, 79%) eines gelben Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 11.60 (bs, 1H, NH), 11.59 (bs, 1H, NH), 9.89 - 9.87 (m, 2H, H-aryl), 8.60 (s, 1H, H-8), 8.59 (s, 1H, H-8), 8.03 (s, 1H, H-2), 8.01 (s, 1H, H-2), 7.85 - 7.79 (m, 2H, H-aryl), 7.64 - 7.56 (m, 8H, H-aryl), 7.47 - 7.44 (m, 8H, H-aryl), 7.23 - 7.24 (m, 6H, H-aryl), 7.06 - 7.01 (m, 2H, H-aryl), 6.80 - 6.77 (m, 2H, H-aryl), 6.77 - 6.73 (m, 8H, H-aryl), 6.25 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 6.20 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 5.00 - 4.93 (m, 1H, H-3'), 4.50 - 4.46 (m, 1H, H-3'), 4.45 - 4.39 (m, 1H, H-4'), 4.22 - 4.16 (m, 1H, H-4'), 3.63 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.59 - 3.49 (m, 5H, 5'<sub>a</sub>, 5'<sub>b</sub>, 5'<sub>b</sub>, CH<sub>2</sub>-α), 3.19 - 3.02 (m, 4H, CH*i*Pr), 2.97 - 2.91



(m, 2H, H-2'<sub>a</sub>), 2.73 - 2.68 (m, 2H, H-2'<sub>a</sub>), 2.47 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.32 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.4$  Hz, H-2'<sub>b</sub>), 1.67 - 1.57 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-β), 1.09 - 1.02 (m, 24H, CH<sub>3</sub>*i*Pr). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 159.3 (C<sub>q</sub>-DMTr), 150.2 (C-2), 148.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 145.7 (C-8), 145.5 (C<sub>q</sub>-aryl), 136.2 (C<sub>q</sub>-aryl), 135.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 130.6 (C-aryl), 130.5 (C-aryl), 129.2 (C-aryl), 128.9 (C-aryl), 128.7 (C-aryl), 128.6 (C-aryl), 128.1 (C-aryl), 127.1 (C-aryl), 126.7 (C-aryl), 120.3 (C-aryl), 119.9 (C-aryl), 117.1 (C-5), 115.6 (CN), 113.6 (C-aryl), 86.7 (C-4'), 86.4 (C<sub>q</sub>-DMTr), 85.1 (C-1'), 72.5 (C-3'), 64.5 (C-5'), 57.9 (C-α), 54.8 (OMe), 45.3 (CH*i*Pr), 39.2 (C-2'), 22.8 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 22.7 (CH<sub>3</sub>*i*Pr), 19.5 (C-β), 19.4 (C-β). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>): 162.4, 162.2 (2 Diastereomere im Verhältnis 1:1). IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3290, 3031, 2943, 2892, 2866, 1690, 1608, 1571, 1557, 1505, 1483, 1462, 1445, 1413, 1396, 1333, 1298, 1248, 1174, 1090, 1073, 1030, 918, 884, 832, 791, 758, 695, 645, 622, 595, 580, 561, 501, 467. C<sub>52</sub>H<sub>55</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>P, M = 951.02 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 950.3880, gef.: 951.3899 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 3:1 v/v): 0.62.

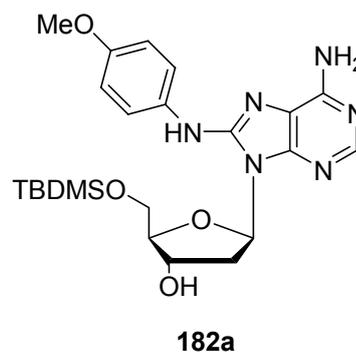
### 7.3.4. Synthese C8-dA-Arylamin-modifizierter 5'-Monophosphate

#### 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-5'-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin 182a

Es wurden 668 mg (1.79 mmol) 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin **57** nach **AAV 1** umgesetzt.

Ausbeute: 367 mg (0.753 mmol, 42%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.75 (bs, 1H, NH), 7.97 (s, 1H, H-2), 7.71-7.67 (m, 2H, H-arom.), 6.90-6.86 (m, 2H, H-arom.), 6.64 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.42 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, H-1'), 5.36 (s, 1H, 3'-OH), 4.52 (td, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-3'), 3.93 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.87 (dt, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-4'), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.45-3.43 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 2.15 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 0.80 (s, 9H, *tert*-Butyl), -0.05 (s, 6H, SiCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 154.3 (quartär, arom.), 153.0 (quartär, arom.), 149.4 (C-2), 149.0 (C-8), 148.0 (C6), 133.7 (C-4), 120.4 (C-arom.), 117.0 (C-5), 113.8 (C-arom.), 87.0 (C-4'), 83.1 (C-1'), 70.7 (C-3'), 63.4 (C-5'), 55.1 (OCH<sub>3</sub>), 36.2 (C-2'), 18.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>), -5.5 (SiCH<sub>3</sub>). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3343 (m), 2953, 2929, 2856 (m), 1641, 1608, 1566, 1511 (s), 1338 (w-m), 1245 (m), 1114 (w-m), 829 (m).  $[\alpha]_{545}^{20} = -11.0^\circ$  (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 97 °C. C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si, M = 486.64 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 487.2489 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 487.2491 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.67.

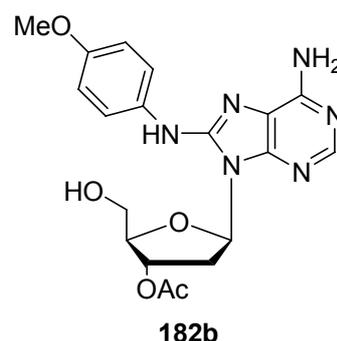


**8*N*-(4-Methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin 182b**

Es wurden 347 mg (0.712 mmol 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-5'-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **182a** in Pyridin (15 mL) gelöst, mit Essigsäureanhydrid (0.4 mL, 6 Äq.) versetzt und bei Raumtemperatur für 20 h gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Laufmittel: PE/EE 1:2) und nach Beendigung der Reaktion das Reaktionsgemisch auf 50 mL Eiswasser gegossen. Es wurde mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und mehrfach mit Toluol coevaporiert. Das Rohprodukt (391 mg) wurde weiter nach **AAV 4a** umgesetzt. Die Reinigung erfolgte am Chromatotron mit Ethylacetat und einem Methanol-Gradienten.

Ausbeute: 182 mg (0.438 mmol, 58%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 8.90 (bs, 1H, NH), 8.01 (s, 1H, H-2), 7.74 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, H(arom.)), 6.88 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.1 Hz, H(arom.)), 6.79 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.50 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-1'), 6.24 (s, 1H, 5'-OH), 5.40 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, H-3'), 4.15 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.3 Hz, H-4'), 3.80-3.78 (m, 2H, H-5'<sub>a,b</sub>), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.91 (ddd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.32 (dd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 13.9 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, Acetyl). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 170.1 (C=O), 154.3 (C-6), 153.1 (C-4), 149.6 (C-2), 148.5 (quartär, arom.), 146.9 (C-8), 133.4 (quartär, arom.), 120.2 (C-arom.), 116.4 (C-5), 113.8 (C-arom.), 84.9 (C-4'), 83.1 (C-1'), 75.3 (C-3'), 61.5 (C-5'), 55.1 (OCH<sub>3</sub>), 34.9 (C-2'), 20.8 (CH<sub>3</sub>, Acetyl). C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>, M = 414.42 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 415.1729 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 415.1745 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.37.

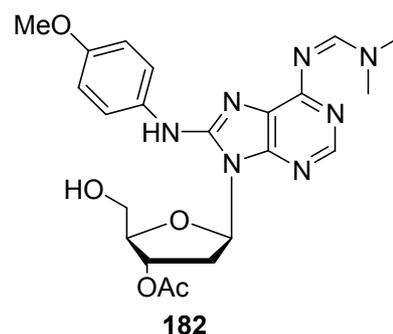


## ***N*<sup>6</sup>-Dimethylformadin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin **182****

Es wurden 182 mg (0.438 mmol) 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin **182b** in 10 mL Dimethylformamid gelöst, mit Dimethylformamidmethylacetal (0.39 mL, 2.94 mmol) tropfenweise versetzt und bei 60 °C für 16 h gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Laufmittel: DCM/MeOH: 19/1) und das Lösungsmittel nach Beendigung der Reaktion im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgte am Chromatotron (DCM/MeOH: 19/1).

Ausbeute: 140 mg (0.298 mmol, 68%) eines farblosen Festsoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9.08 (bs, 1H, NH), 8.95 (s, 1H, N=CH-dmf), 8.27 (s, 1H, H-2), 7.74-7.67 (m, 2H, H-arom.), 6.96-6.90 (m, 2H, H-arom.), 6.55 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-1'), 6.16 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, 5'-OH), 5.40 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-3'), 4.17 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-4'), 3.83-3.77 (m, 2H, H-5'<sub>a,b</sub>), 3.75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3.11 (s, 3H, dmf-CH<sub>3</sub>), 2.90 (ddd, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 9.7 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.34 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HH</sub> = 14.1 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-2'<sub>b</sub>), 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, Acetyl). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 170.0 (C=O), 161.9 (C-6), 157.7 (CH-dmf), 154.6 (C-2), 154.6 (C-arom.<sub>quart.</sub>), 151.2 (C-5), 148.4 (C-8), 132.8 (C-arom.<sub>quart.</sub>), 120.7 (C-4), 113.8 (C-arom.), 84.8 (C-4'), 83.0 (C-1'), 75.1 (C-3'), 61.3 (C-5'), 55.2 (OCH<sub>3</sub>), 40.6 (dmf-CH<sub>3</sub>), 34.8 (C-2'), 34.4 (dmf-CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>, Acetyl). [α]<sub>545</sub><sup>20</sup> = 30° (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>). C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>, M = 469.49 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 470.2152 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 470.2135 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.26.



***N*<sup>6</sup>-Dimethylformadin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyl)monophosphat **183****

Es wurden 76 mg (0.16 mmol) *N*<sup>6</sup>-Dimethylformadin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin **182**, Dibenzylphosphat (48 mg, 1 Äq.) und DIAD (0.083 mg, 2.6 Äq..) in Pyridin (1.2 mL) gelöst und tropfenweise mit Triphenylphosphin (128 mg, 2.5 Äq.. in 1 mL Pyridin) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt (DCM/MeOH: 19/1). Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt über das Chromatotron isoliert (DCM/MeOH: 19/1).

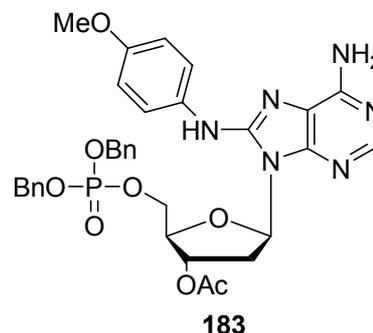
Ausbeute: 30 mg (0.043 mmol, 27%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.72 (bs, 1H, NH), 8.25 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, H-aryl), 7.34 - 7.30 (m, 6H, H-Bn), 7.22 - 7.18 (m, 4H, H-Bn), 7.12 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, H-aryl), 6.82 - 6.80 (m, 1H, H-1'), 5.43 - 5.39 (m, 1H, H-3'), 5.00 - 4.87 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-Bn), 3.91 - 3.81 (m, 2H, H-5'), 3.78 (s, 3H, OMe), 2.68 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 15.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.4 Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.53 - 2.48 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>). 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-Ac).

<sup>13</sup>C-NMR: [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.6 (C=O), 156.5 (C-6), 153.8 (C-2), 148.9 (C-4), 147.3 (C-8), 141.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.8 (C<sub>aryl</sub>), 129.3 (C-aryl), 128.1 (C-5), 121.0 (C-aryl), 117.5 (C-5), 113.8 (C-aryl), 85.3 (C-1'), 84.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.6 Hz, C-4'), 75.6 (C-3'), 66.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>HP</sub> = 4.8 Hz, C-5'), 55.7 (OCH<sub>3</sub>), 36.8 (C-2'), 20.1 (CH<sub>3</sub>-Ac).

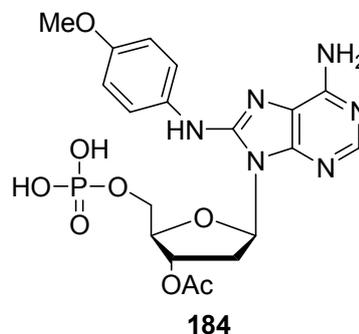
<sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -0.91. IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3478, 3390, 3249, 3119, 2999, 2935, 2835, 1651, 1603, 1569, 1509, 1484, 1466, 1439, 1423, 1409, 1375, 1353, 1321, 1297, 1282, 1248, 1209, 1181, 1162, 1126, 1089, 1056, 1031, 986, 968, 930, 903, 878, 827, 791, 777, 751, 721, 673, 641, 634, 584, 548, 531, 508, 463, 405.

C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>P, M = 674.64 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 674.2254, gef.: 675.2358 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.58.



## Versuch der Darstellung von 8*N*-(4-Methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin-5'-monophosphat **184**

Es wurden 30 mg (0.043 mmol) *N*<sup>6</sup>-Dimethylformadin-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-acetyl-2'-desoxyadenosin-5'-dibenzylmonophosphat **183** in Ethanol (10 mL) gelöst, mit Palladium/Kohle versetzt und unter Wasserstoffgas für drei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (DCM/MeOH: 4/1). Nach Beendigung der Reaktion wurde das Katalysatorgemisch durch Zentrifugation abgetrennt und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.



Ausbeute: Das Produkt konnte nicht isoliert werden.

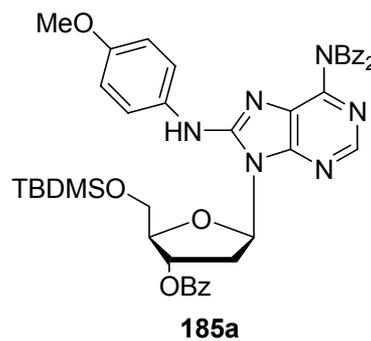
## *N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-benzoyl-5'-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2'-desoxyadenosin **185a**

Es wurden 1.35 g (3.63 mmol) **57** mit 555 mg (3.68 mmol) TBDMS-Chlorid, gelöst in ca. 50 mL abs. Pyridin nach **AAV 1** umgesetzt.

Im Anschluss wurden 1.30 mL (1.60 g, 11.0 mmol) Benzoylchlorid zugetropft und für 19 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mit ca. 10 mL Methanol hydrolysiert und anschließend wurde das Pyridin und das Methanol destillativ entfernt. Hiernach wurde die braune, viskose Flüssigkeit in ca. 50 mL Dichlormethan aufgenommen und ein Mal mit ca. 50 mL Wasser gewaschen. Danach wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Dichlormethan destillativ entfernt. Die Reste an Pyridin wurden durch dreimalige Coevaporation mit je 10 mL Toluol destillativ entfernt. Zuletzt wurde die erhaltene gelbe, viskose Flüssigkeit säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (EE/MeOH 4:1 (v:v)).

Ausbeute: 2.05 g (2.56 mmol; 71%) eines beigen kristallinen Feststoffes.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.47 (s, 1H, H-2), 8.19 (bs, 1H, NH), 8.10 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.2 Hz, H-Bz), 7.84 (ddd, 4H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, H-Bz), 7.63 (dddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.8 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.3 Hz, H-Bz), 7.51 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.9 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.3 Hz, H-Bz), 7.45-7.39 (m, 4H, H-B, H-ω), 7.34-7.30 (m, 4H, H-ω'), 6.73 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.5 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.7 Hz, H-C), 6.65 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.7 Hz, H-1'), 5.58 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.6 Hz, H-3'), 4.37-4.36 (m, 1H, H-4'), 4.24 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.4 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 4.16 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.0 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.75-2.65 (m, 2H, H-2'<sub>a</sub>, H-2'<sub>b</sub>), 0.85 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.03 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.4 (Ph-C=O), 166.3 (Ph-C=O), 156.0 (C-6), 153.7 (C-D), 151.4 (C-4, C-8), 149.0 (C-2), 134.8 (C-aryl, C-Bz), 133.7 (C-Bz), 132.4 (C-Bz), 131.5 (C-Bz), 129.8 (C-Bz), 129.3 (C-Bz), 128.6 (C-Bz), 128.4 (C-Bz), 127.9 (C-5), 122.4 (C-aryl), 113.8 (C-C), 86.1 (C-4'), 85.0 (C-1'), 75.1 (C-3'), 63.4 (C-5'), 55.5 (OCH<sub>3</sub>), 37.2 (C-2'), 26.1 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.7 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -5.1 (Si(CH<sub>3</sub>)). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3427, 3062, 2953, 2929, 2856, 1718, 1622, 1565, 1510, 1463, 1449, 1420, 1248, 1177, 1108, 1070, 1026, 830.  $[\alpha]_{545}^{20} = -141.2^\circ$  (c = 1.34, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 126 °C. C<sub>44</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>Si, M = 798.96 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 799.3276 (M + H<sup>+</sup>), gef.: 799.3273 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> ((PE/EE 2:1 v/v): 0.49.

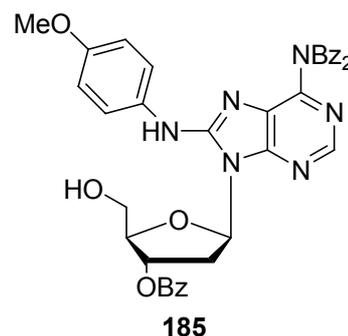


### **N<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-N-(4-methoxyphenyl)-3'-O-benzoyl-2'-desoxyadenosin 185**

Es wurden 1.67 g (2.09 mmol) Verbindung **185a** in 40 mL THF gelöst, mit 1.4 mL (1.4 g, 8.6 mmol) Triethylamin-trihydrofluorid versetzt und für 70 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (PE/EE; 1:1 (v/v)). Danach wurde das THF destillativ entfernt, wobei eine gelbe, viskose Flüssigkeit erhalten wurde. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 1:1 v/v).

Ausbeute: 1.19 g (1.74 mmol; 83%) eines voluminösen, beigen kristallinen Feststoffes.

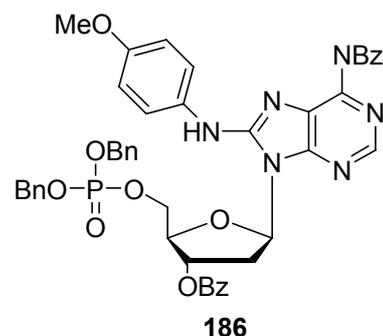
<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): = 8.51 (bs, 1H, NH), 8.45 (s, 1H, H-2), 8.08 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 8.3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.0 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.2 Hz, H-Π), 7.86 (ddd, 4H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 7.1 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.5 Hz, H-Bz), 7.63 - 7.60 (m, 1H, H-Bz), 7.51-7.43 (m, 6H, H-aryl, H-Bz), 7.34 - 7.28 (m, 4H, H-Bz), 6.67 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 5.3 Hz, H-1'), 6.60 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 9.0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.3 Hz, <sup>5</sup>J<sub>H,H</sub> = 2.0 Hz, H-C), 5.65-5.62 (m, 1H, H-3'), 4.28 - 4.26 (m, 1H, H-4'), 4.20 - 4.15 (m, 1H, H-5'a), 4.03 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 11.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 1.7 Hz, H-5'b), 3.70 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.56 (bs, 1H, 5'-OH), 2.78 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H,H</sub> = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 6.7 Hz, H-2'a), 2.43 - 2.39 (m, 1H, H-2'b). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.6 (Ph-C=O), 166.3 (Ph-C=O), 155.5 (C-4, C-6), 153.8 (C-aryl, C-8), 148.9 (C-2), 134.7 (C-aryl, C-Bz), 133.7 (C-Bz), 132.6 (C-Bz), 131.9 (C-Bz), 129.8 (C-Bz, 129.3 (C-Bz), 129.1 (C-5), 128.6 (C-Bz), 128.5 (C-Bz), 121.0 (C-aryl), 113.8 (C-aryl), 85.3 (C-4'), 84.1 (C-1'), 75.8 (C-3'), 62.4 (C-5'), 55.4 (OCH<sub>3</sub>), 36.2 (C-2'). IR(KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3437, 3061, 2931, 1719, 1655, 1566, 1509, 1449, 1421, 1375, 1273, 1273, 1247, 1177, 1097, 1071, 1026, 829.  $[\alpha]_{545}^{20} = -38.5^\circ$  (c = 0.93, CHCl<sub>3</sub>). Smp.: 149 °C. C<sub>38</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub> M = 684.70 g/mol. HRMS (FAB): 685.2411 (M+H<sup>+</sup>), gef.: 685.2436 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (PE/EE 1:1 v/v): 0.66.



### Versuch der Darstellung von *N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-benzoyl-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyl)monophosphat **186**

Die Reaktion wurde unter Stickstoffatmosphäre und unter Verwendung von absoluten Lösungsmitteln durchgeführt.

Es wurden 222 mg (0.324 mmol) Verbindung **185**, 62.2 mg (0.224 mmol) Dibenzylphosphat und 0.130 mL (130 mg, 0.660 mmol) DIAD in 10 mL abs. Pyridin gelöst und danach tropfenweise mit 217 mg (0.828 mmol) Triphenylphosphin, gelöst in 10 mL abs. Pyridin, bei Raumtemperatur versetzt und für 29 Stunden gerührt. Die Reaktion wurde



dünnschichtchromatographisch verfolgt (PE/EE; 1:1 v/v). Nachfolgend wurde mit ca. 50 mL Dichlormethan extrahiert, die Phasen voneinander getrennt und die wässrige Phase wurde drei Mal mit je 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nun mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und danach wurde das Pyridin und Dichlormethan destillativ entfernt. Durch Coevaporation mit je drei Mal 10 mL Toluol wurde das Pyridin vollständig destillativ entfernt. Die erhaltene gelbe, viskose Flüssigkeit wurde dann säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EE 2:1 v/v), später PE/EE 1:1 v/v).

Ausbeute: Das Produkt konnte nicht isoliert werden.

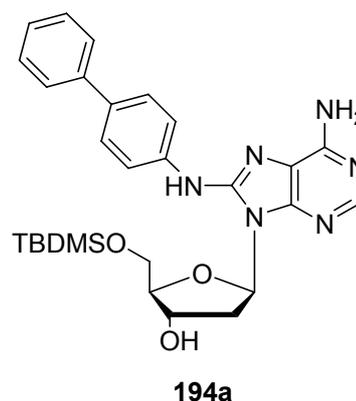
$C_{52}H_{45}N_6O_{10}P$ ,  $M = 944.92$  g/mol.

### 8*N*-(4-Biphenyl)-5'-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **194a**

Es wurden (560 mg, 1.34 mmol) 8*N*-(4-Biphenyl)-2'-desoxyadenosin **58** nach **AAV 1** umgesetzt.

Ausbeute: 407 mg (0.764 mmol, 57%) eines farblosen Feststoffs.

$^1H$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.19 (bs, 1H, NH), 8.02 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 8.7$  Hz, H-aryl), 7.58 - 7.55 (m, 4H, H-aryl), 7.42 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.6$  Hz, H-aryl), 7.31 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 7.3$  Hz, H-aryl), 6.53 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.7$  Hz,  $^3J_{HH} = 5.4$  Hz, H-1'), 5.52 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 5.30 (s, 1H, 3'-OH) 4.59 - 4.56 (m, 1H, H-3'), 4.16 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 6.1$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz, H-4'), 4.01 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 11.5$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz, H-5'a), 3.92 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 11.5$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.6$  Hz, H-5'b), 2.75 (ddd, 1H,  $^2J_{HH} = 13.4$  Hz,  $^3J_{HH} = 8.8$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz, H-2'a), 2.37 (ddd, 1H,  $^2J_{HH} = 13.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 5.4$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.2$  Hz, H-2'b), 0.83 (s, 9H, *tert*-Butyl), 0.03 (s, 3H,  $SiCH_3$ ), -0.00 (s, 3H,  $SiCH_3$ ).  $^{13}C$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 152.1 (C-6), 149.6 (C-2), 149.1 (C-8), 148.4 (C-4), 140.6, 138.3, 136.0 (3\*C



quartär, arom.), 128.7, 127.6, 126.9, 126.7, 120.3 (5\* HC(arom.)), 117.2 (C-5), 87.1 (C-4'), 84.7 (C-1'), 71.6 (C-3'), 63.4 (C-5'), 39.8 (C-2'), 26.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), -5.2 (2\*CH<sub>3</sub>). C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Si, M = 532.71 g/mol. HRMS (FAB): 533.2696 (M+H<sup>+</sup>), gef.: 533.2713 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.23.

### **N<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8N-(4-biphenyl)-3'-O-benzoyl-2'-desoxyadenosin 194**

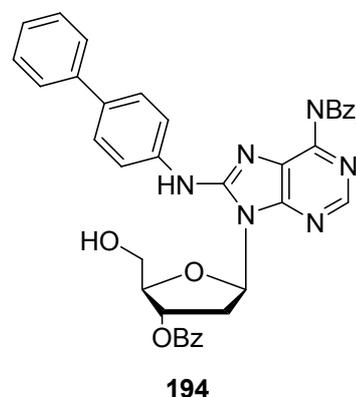
Es wurden 394 mg (0.740 mmol) 8N-(4-Biphenyl)-5'-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2'-desoxyadenosin **194a** in Pyridin (13 mL) gelöst, mit Benzoylchlorid (0.43 mL, 5 Äq.) versetzt und für ca. 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt und nach Beendigung der Reaktion überschüssiges Benzoylchlorid durch Zugabe von Methanol inaktiviert. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und Pyridinreste mit Toluol coevaporiert.

Der Rückstand wurde in Tetrahydrofuran (10 mL) gelöst, mit Triethylamintrihydrofluorid (10 Äq.) versetzt und für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung des Produkts erfolgte am Chromatotron mit Dichlormethan und einem Methanolgradienten. Danach erfolgte eine zweite Trennung am Chromatotron (Laufmittel: PE/EE 3/1 v/v).

Ausbeute: 456 mg (0.624 mmol, 84%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 12.93 (bs, 1H, NH-Bz), 8.73 (s, 1H, H-2), 7.96 - 7.90 (m, 2H, H-arom.), 7.73 - 7.67 (m, 1H, H-arom.), 7.67 - 7.61 (m, 4H, H-arom.), 7.57 - 7.53 (m, 10 H, H-arom.), 7.49 - 7.44 (m, 9H, H-arom.), 7.41 - 7.37 (m, 3H, H-arom.), 6.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, H-1'), 5.58 (bs, 1H, 5'-OH), 5.13 (s, 1H, H-3'), 4.26 (s, 1H, H-4'), 3.79 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-5'<sub>a</sub>), 3.69 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, H-5'<sub>b</sub>), 3.19 - 3.12 (m, 1H, H-2'<sub>a</sub>), 1.62 - 1.51 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 171.5 (C=O), 170.0 (C=O), 164.8 (C=O), 151.9, 150.3, 149.5 (C-



quartär, Adenin), 139.2, 138.6 (2\* C-arom. (quartär)), 133.5, 133.2 (2\* =C-H, arom.), 133.2 (2\* C-arom. (quartär), 131.6, 129.2 (2\* =C-H, arom), 129.2 (C-arom. (quartär), 128.9, 128.8, 128.6, 128.2, 127.9, 127.7, 127.6, 126.5 (9\* =C-H, arom), 125.6 (C-arom. (quartär), 85.2 (C-4'), 85.0 (C-1'), 75.1 (C-3'), 61.4 (C-5'), 34.6 (C-2'). IR:  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 1717, 1601 (s), 1519, 1487 (m), 1449, 1352 (m-s), 1274, 1248 (s), 1178 (m), 1101 (m-s), 715, 695 (m).  $[\alpha]_{545}^{20} = 30^{\circ}$  (c= 0.1,  $\text{CHCl}_3$ ). Smp.: 147 -148 °C.  $\text{C}_{43}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_6$ , M = 730.77 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 731.2618 (M +  $\text{H}^+$ ), gef.: 731.2631 (M +  $\text{H}^+$ ).  $R_f(\text{PE/EE } 1:1 \text{ v/v})$ : 0.51.

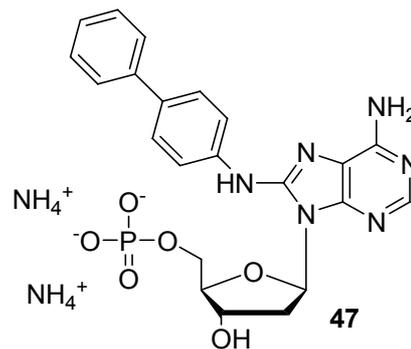
### **Ammoniumsalz von 8N-(4-Biphenyl)-2'-desoxyadenosin-5'-monophosphat 47**

$N^6$ -Dibenzoyl-8N-4-biphenyl-3'-O-benzoyl-2'-desoxyadenosin **194** (153 mg, 0.210 mmol) wurde bei 0 °C zu einer Mischung aus Phosphorychlorid (110  $\mu\text{L}$ , 4.4 Äq.), Pyridin (97.0  $\mu\text{L}$ , 4.4 Äq.) und Wasser (10.8  $\mu\text{L}$ , 2.2 Äq.) in Acetonitril (5 mL) gegeben und für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Hydrolyse wurde dem Reaktionsgemisch Einswasser (ca. 40 mL) hinzugesetzt und für eine halbe Stunde bei ca. 0 °C gerührt. Es wurde mit festem Ammoniumhydrogencarbonat ein pH-Wert von acht eingestellt und anschließend lyophilisiert. Nach einer Umkehrphasenchromatographie wurde zur Abspaltung der Benzoylgruppen wässrige Ammoniak-Lösung (25%) hinzugesetzt und für 20 Stunden bei Raumtemperatur und weiteren 5 Stunden bei 55 °C gerührt. Die Lösungsmittel wurden durch Lyophilisation entfernt und das Rohprodukt über Umkehrphasenchromatographie mit Wasser und einem Acetonitrilgradienten gereinigt.

Ausbeute : 13.6 mg (0.025 mmol, 12%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 9.03 (bs, 1H, NH), 8.03 (s, 1H, H-2), 7.94 (d, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 8.8 \text{ Hz}$ , H-aryl), 7.66 – 7.58 (m, 4H, H-aryl), 7.43 (t, 2H,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.7 \text{ Hz}$ , H-aryl), 7.34 – 7.31 (m, 1H, H-aryl), 6.80 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.48 (dd,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.0 \text{ Hz}$ , H-1'), 4.58 – 4.55 (m, 1H, H-3'), 4.71 – 4.11 (m, 1H, H-5'\_a), 4.02 – 3.98 (m, 1H, H-4'), 3.31 – 3.25 (m, 1H, H-2'\_a), 2.17 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{H,H}} = 13.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 6.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 3.2 \text{ Hz}$ , H-2'\_b).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 150.1 (C-6), 149.0 (C-

2), 148.8 (C-4), 146.8 (C-8), 140.0 (C-aryl), 132.9 (C-aryl), 128.8 (C-aryl), 126.7 (C-aryl), 126.6 (C-aryl), 126.0 (C-aryl), 124.0 (C-aryl), 118.6 (C-aryl), 116.3 (C-5), 85.3 (d,  $^3J_{\text{HP}} = 8.0$  Hz, C-4'), 82.9 (C-1'), 70.8 (C-3'), 59.5 (d,  $^2J_{\text{HP}} = 3.0$  Hz, C-5'), 41.1 (C-2').  $^{31}\text{P}$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): - 0.77. IR:  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3366, 3308, 3031, 2944, 2867, 2489, 2360, 2258, 1693, 1607, 1576, 1562, 1508, 1486, 1465, 1431, 1393, 1333, 1298, 1247, 1175, 1154, 1100, 1033, 954, 933, 877, 838, 761, 741, 698, 664, 644, 609, 566, 550, 529, 491, 432, 408, 387, 380.  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_8\text{O}_6\text{P}$ ,  $M = 532.49$  g/mol (mit Gegenionen). HRMS (ESI): ber.: 496.1271 (ohne  $\text{NH}_4^+$ ), gef.: 497.1347 ( $M + \text{H}$ ).  $R_f$  (iso-Propanol/ $\text{NH}_4\text{OAc}$ )(1 M) 2/1 v/v): 0.53.



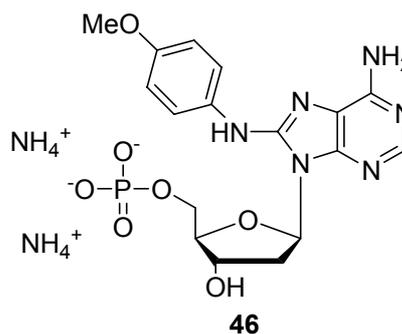
### Ammoniumsalz von **8N-(4-Methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin-5'-monophosphat 46**

$N^6$ -Dibenzoyl-8N-4-methoxyphenyl-3'-O-benzoyl-2'-desoxyadenosin **185** (150 mg, 0.219 mmol) wurde bei 0 °C zu einer Mischung aus Phosphorylchlorid (115  $\mu\text{L}$ , 4.4 Äq.), Pyridin (101  $\mu\text{L}$ , 4.4 Äq.) und Wasser (11.3  $\mu\text{L}$ , 2.2 Äq.) in Acetonitril (5 mL) gegeben und für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Hydrolyse wurde dem Reaktionsgemisch Einswasser (ca. 40 mL) hinzugesetzt und für eine halbe Stunde bei ca. 0 °C gerührt. Es wurde mit festem Ammoniumhydrogencarbonat ein pH-Wert von acht eingestellt und anschließend lyophyllisiert. Nach einer Umkehrphasenchromatographie wurde zur Abspaltung der Benzoylgruppen wässrige Ammoniak-Lösung (25%) hinzugesetzt und für 5 Stunden bei 55 °C gerührt. Die Lösungsmittel wurden durch Lyophyllisation entfernt und das Rohprodukt über Umkehrphasenchromatographie mit Wasser und einem Acetonitrilgradienten gereinigt.

Ausbeute : 18 mg (0.037 mmol, 17%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H}$ -NMR:  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{MeOD}_4$ ): 8.05 (s, 1H, H-2), 7.55 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.0$  Hz, H-aryl), 6.94 ((d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.0$  Hz, H-aryl), 6.48 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,

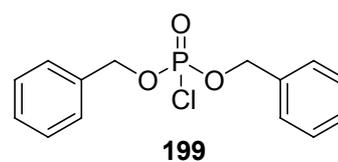
$^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz, H-1'), 4.75 – 4.72 (m, 1H, H-3'),  
 4.20 – 4.16 (m, 2H, H-5'), 4.15 – 4.12 (m, 1H,  
 H-4'), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.04 (ddd, 1H,  
 $^2J_{\text{HH}} = 13.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz,  
 H-2'<sub>a</sub>), 2.26 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$   
 Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-2'<sub>b</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (101  
 MHz, MeOD<sub>4</sub>): 158.0 (C<sub>q</sub>-aryl), 153.7 (C-6), 152.7



(C-2), 150.7 (C-4), 133.9 (C<sub>q</sub>-aryl), 124.6 (C-aryl), 115.3 (C-aryl), 87.7 (d,  
 $^3J_{\text{HP}} = 7.7$  Hz, C-4'), 85.2 (C-1'), 72.5 (C-3'), 65.9 (d,  $^2J_{\text{HP}} = 4.7$  Hz, C-5'), 55.9  
 (OMe), 39.0 (C-2').  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (162 MHz, MeOD<sub>4</sub>): - 0.54. IR:  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3390,  
 3307, 3249, 3118, 2999, 2931, 2835, 2354, 2290, 2259, 2192, 2174, 2145, 2133,  
 2110, 2080, 2064, 2029, 1908, 1884, 1650, 1508, 1484, 1466, 1439, 1422, 1409,  
 1374, 1351, 1320, 1296, 1246, 1180, 1162, 1125, 1088, 1055, 1030, 986, 961, 930,  
 903, 878, 827, 790, 776, 750, 721, 672, 634, 607, 582, 568, 546, 529, 506, 461, 437,  
 417, 404, 378. C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>P, M = 486.42 g/mol (mit Gegenionen). HRMS (ESI): ber.:  
 450.1053 (ohne NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), gef.: 451.1135 (M + H). R<sub>f</sub> (iso-Propanol/NH<sub>4</sub>OAc)(1 M) 2/1  
 v/v): 0.58.

### Dibenzylphosphorylchlorid 199

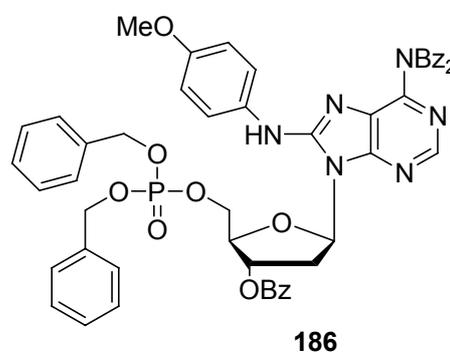
Es wurden 147 mg (1.10 mmol) *N*-Chlorsuccinimid und  
 221 mL (262 mg, 1.00 mmol) Dibenzylphosphit in  
 absolutem Toluol (10 mL) suspendiert und 3 Stunden  
 bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die



Mischung unter Schutzgas filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das  
 Produkt wurde aufgrund seiner Instabilität sofort weiter umgesetzt.

***N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-benzoyl-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyl)monophosphat **186****

Es wurden 100 mg (0.146 mmol) *N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-*N*-(4-methoxyphenyl)-3'-*O*-benzoyl-2'-desoxyadenosin **185** zweimal mit absolutem Pyridin coevaporiert und anschließend in 1.5 mL Pyridin gelöst und auf -30 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 217 mg (0.730 mmol, 5 Äq.) frisch hergestelltem Dibenzylphosphorylchlorids **199**



wurde für fünf Stunden bei -30 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Zitronensäure (5%) und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Diethylether plus 1% Methanol als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 130 mg (0.137 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffs.

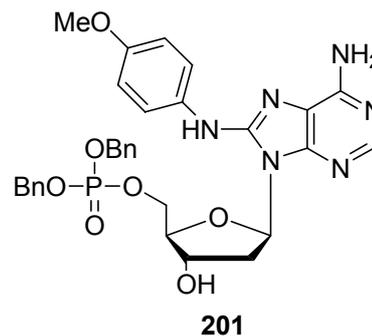
Die Verbindung wurde direkt weiter zu Verbindung **201** umgesetzt.

***8-N*-(4-methoxyphenyl)-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyl)monophosphat **201****

Es wurden 30 mg (0.032 mmol) **186** in 4 mL Methanol gelöst und mit 4 mL konzentrierter Ammoniaklösung versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde eine erneute Entschützung mit 15 mL 1%iger methanolischer NaOH-Lösung für 10 Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt. Nach vollständiger Debenzoylierung wurde mit 2N Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: 18.1 mg (0.029 mmol, 90%) eines farblosen Feststoffs.

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.72 (bs, 1H, NH), 8.25 (s, 1H, H-2), 7.63 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.9$  Hz, H-aryl), 7.34 - 7.30 (m, 6H, H-Bn), 7.22 - 7.18 (m, 4H, H-Bn), 7.12 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.9$  Hz, H-aryl), 6.82 - 6.80 (m, 1H, H-1'), 5.43 - 5.39 (m, 1H, H-3'), 5.00 - 4.87 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-Bn}$ ), 3.91 - 3.81 (m, 2H, H-5'), 3.78 (s, 3H, OMe), 2.68 (ddd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 15.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,



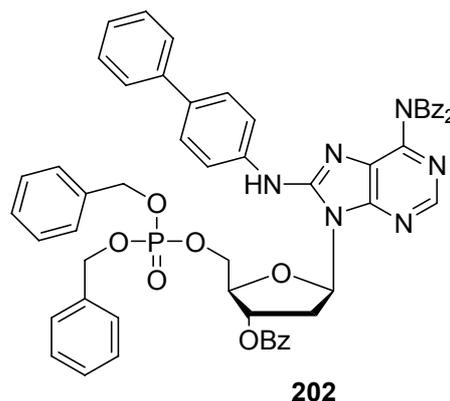
$^3J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-2'<sub>a</sub>), 2.53 - 2.48 (m, 1H, H-2'<sub>b</sub>).  $^{13}\text{C-NMR}$ : [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 172.6 (C=O), 156.5 (C-6), 153.8 (C-2), 148.9 (C-4), 147.3 (C-8), 141.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.8 (Caryl), 129.3 (C-aryl), 128.1 (C-5), 121.0 (C-aryl), 117.5 (C-5), 113.8 (C-aryl), 85.3 (C-4'), 84.1 (C-1'), 75.6 (C-3'), 62.3 (C-5'), 55.7 (OCH<sub>3</sub>), 36.8 (C-2').  $^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$ [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): - 1.14.  $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_7\text{P}$ ,  $M = 632.60$  g/mol. HRMS (FAB): ber.: 633.2227 ( $M + \text{H}^+$ ), gef.: 633.2238 ( $M + \text{H}^+$ ).  $R_f$  (DCM/MeOH 19:1 v/v): 0.28.

### ***N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-*N*-(4-biphenyl)-3'-*O*-benzoyl-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyloxy)monophosphat **202****

Es wurden 180 mg (0.246 mmol) *N*<sup>6</sup>-Dibenzoyl-8-*N*-(4-biphenyl)-3'-*O*-benzoyl-2'-desoxyadenosin **195** zweimal mit absolutem Pyridin coevaporiert und anschließend in 2 mL Pyridin gelöst und auf - 30 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 366 mg (1.23 mmol, 5 Äq.) frisch hergestelltem Dibenzylphosphorylchlorids **199** wurde für fünf Stunden bei - 30 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Zitronensäure (5%) und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Diethylether plus 1% Methanol als Eluent gereinigt.

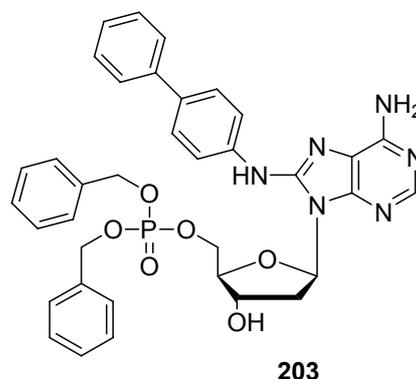
Ausbeute: 168 mg (0.170 mmol, 69%) eines farblosen Feststoffs.

<sup>1</sup>H-NMR: δ[ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.50 (s, 1H, H-2), 8.08 - 8.07 (m, 2H, H-Bz), 7.97 (bs, 1H, NH), 7.89 - 7.87 (m, 4H, H-Bz), 7.74 - 7.72 (m, 2H, H-aryl), 7.65 - 7.62 (m, 561H, H-aryl), 7.52 - 7.47 (m, 6H, H-aryl), 7.45 - 7.40 (m, 3H, H-aryl), 7.36 - 7.34 (m, 8H, H-aryl), 7.28 - 7.26 (m, 4H, H-aryl), 7.23 - 7.19 (m, 4H, H-aryl), 6.57 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H-1'), 5.52 - 5.50 (m, 1H, H-3'), 5.04 - 4.99 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.69 - 4.64 (m, 1H, H-5'<sub>a</sub>), 4.40 - 4.38 (m, 1H, H-5'<sub>b</sub>), 4.37- 4.35 (m, 1H, H-4'), 2.62 - 2.53 (m, 2H, H-2'). <sup>13</sup>C-NMR: δ[ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.4 (O-C=O), 166.2 (N-C=O), 153.5 (C-6), 150.4 (C-4), 148.9 (C-2), 146.2 (C-8), 140.6 (C<sub>q</sub>-aryl), 137.4 (C<sub>q</sub>-aryl), 136.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 134.7 (C<sub>q</sub>-aryl), 133.8 (C-aryl), 132.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 129.8 (C-aryl), 129.5 (C-aryl), 129.1 (C<sub>q</sub>-aryl), 128.9, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 127.4, 127.1, 126.9, 120.1 (C-aryl), 116.2 (C-5), 84.5 (C-1'), 83.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.4 Hz, C-4'), 74.2 (C-3'), 70.1 (d, <sup>2</sup>J<sub>HP</sub> = 5.0 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 66.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>HP</sub> = 4.9 Hz, C-5'), 36.7 (C-2'). <sup>31</sup>P-NMR: δ[ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.19. C<sub>57</sub>H<sub>47</sub>N<sub>6</sub>O<sub>9</sub>P, M = 990.99 g/mol. HRMS (FAB): ber.: 990.3142, gef.: 9913202 (M + H<sup>+</sup>). R<sub>f</sub> (Et<sub>2</sub>O/MeOH 99:1 v/v): 0.63.



### Versuchte Darstellung von 8-N-(4-biphenyl)-2'-desoxyadenosin-5'-bis(benzyl)monophosphat 203

Es wurden 150 mg (0.151 mmol) **202** in 4 mL Methanol gelöst und mit 4 mL konzentrierter Ammoniaklösung versetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde eine erneute Entschützung mit 15 mL 1%iger methanolischer NaOH-Lösung für 10 Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt.



Danach wurde mit 2N Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde am Chromatotron mit Dichlormethan und einem Methanolgradienten gereinigt.

Ausbeute: Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden.

### 7.3.5. Synthese der Oligonucleotide

#### EcoRI-Sequenz

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **205**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3645 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 22.91 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3644 (-1), 1214 (-3), 910 (-4), 728 (-5), 606 (-6).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **206**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(Anilin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3736 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.8 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3735 (-1), 933 (-4), 746 (-5), 621 (-6), 532 (-7).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **207**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3766 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.28 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3765 (-1), 1254 (-3), 940 (-4), 752 (-5), 627 (-6).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **208**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3812 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 32.72 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3811 (-1), 1269 (-3), 951 (-4), 761 (-5), 634 (-6), 543 (-7), 475 (-8).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **209**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3766 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.35 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3765 (-1), 1254 (-3), 940 (-4), 752 (-5), 627 (-6).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **210**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3812 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.35 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3811 (-1), 1269 (-3), 951 (-4), 761 (-5), 634 (-6), 543 (-7).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **211**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3766 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 26.83 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3765 (-1), 1254 (-3), 940 (-4), 752 (-5), 627 (-6).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **212**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3812 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.44 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3811 (-1), 1269 (-3), 951 (-4), 761 (-5), 634 (-6), 543 (-7), 475 (-8).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **213**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dC-3'

M: 3766 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.2 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3765 (-1), 1254 (-3), 940 (-4), 752 (-5), 627 (-6), 537 (-7).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **214**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dC-3'

M: 3812 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.55 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3811 (-1), 952 (-4), 761 (-5), 634 (-6), 543 (-7).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **215**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(Anilin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3736 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 28.7 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3735 (-1), 933 (-4), 746 (-5), 621 (-6), 532 (-7).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **216**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3766 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.8 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3765 (-1), 1254 (-3), 940 (-4), 752 (-5), 627 (-6).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **217**

5'-dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC-3'

M: 3812 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 37.8 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3811 (-1), 1269 (-3), 951 (-4), 761 (-5), 634 (-6).

## Narl-Sequenz

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **220**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(Anilin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3658 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.48 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3657 (-1), 1218 (-3), 914 (-4), 731 (-5), 609 (-6).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **221**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3688 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.14 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3687 (-1), 736 (-5), 613 (-6), 525 (-7), 459 (-8).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **222**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(3,5-Dimethylanilin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3685 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.41 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3684 (-1), 736 (-5), 613 (-6), 525 (-7), 459 (-8).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **223**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3734 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.04 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3733 (-1), 1243 (-3), 932 (-4), 745 (-5), 621 (-6), 532 (-7), 465 (-8).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **224**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(Anilin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3658 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.45 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3657 (-1), 1218 (-3), 914 (-4), 731 (-5), 609 (-6).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **226**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3688 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.05 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3687 (-1), 736 (-5), 613 (-6), 525 (-7), 459 (-8).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **227**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(2,6-Dimethylanilin)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3685 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.7 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3684 (-1), 920 (-4), 736 (-5), 613 (-6), 525 (-7), 459 (-8).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **228**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3734 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 36.43 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3733 (-1), 1243 (-3), 932 (-4), 745 (-5), 621 (-6), 532 (-7).

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **229**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3542 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.28 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3541 (-1).

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **230**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3582 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.79 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3581 (-1), 894 (-4), 710 (-5), 591 (-6), 510 (-7), 447 (-8), 397 (-9).

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **231**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3557 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 28.59 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3556 (-1), 888 (-4), 710 (-5), 591 (-6), 507 (-7).

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **232**

5'-dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dX(ABASIC)<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC-3'

M: 3431 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.04 min (Methode A)

MS(ESI<sup>-</sup>): 3431 (-1), 1143 (-3), 857 (-4), 685 (-5), 571 (-6), 489 (-7), 428 (-8), 380 (-9).

### **Marx-Serquenz (30-mere)**

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **235**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9087 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 26.3 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 9086 (-1), 1297 (-7), 1135 (-8), 1009 (-9), 908 (-10), 835 (-11), 756 (-12), 698 (-13).

Synthese des unmodifizierten Oligonucleotids **236**

5'-dC<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT-3'

M: 9322 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 27.04 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 9321 (-1), 1331 (-7), 1164 (-8), 1035 (-9), 931 (-10), 846 (-12), 776 (-13), 716 (-13), 665 (-14), 620 (-15), 582 (-16).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **237**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9208 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 30.21 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 9207 (-1), 924 (-10), 837 (-11), 768 (-12), 703 (-13), 662 (-14), 577 (-16).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **238**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(3,5-Dimethylanilin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9207 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 31.39 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 92-6 (-1), 924 (-10), 837 (-11), 768 (-12), 703 (-13), 662 (-14), 577 (-16).

Synthese des C8-modifizierten Oligonucleotids **239**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9255 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 33.92 min

MS(ESI<sup>-</sup>): 9253 (-1), 1324 (-7), 1161 (-8), 1027 (-9), 929 (-10), 840 (-11), 770 (-12), 710 (-13), 660 (-14).

Synthese des N<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **240**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(*p*-Anisidin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9208 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.8 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 9207 (-1), 924 (-10), 837 (-11), 768 (-12), 703 (-13), 662 (-14).

Synthese des *N*<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **241**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(3,5-Dimethylanilin)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>d  
T<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9207 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 29.39 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 9206 (-1), 835 (-11), 766 (-12), 658 (-14), 598 (-15).

Synthese des *N*<sup>6</sup>-modifizierten Oligonucleotids **242**

5'-dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA(4-Aminobiphenyl)<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>d  
p dT<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dG<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dA<sub>p</sub>dC<sub>p</sub>dG-3'

M: 9255 g/mol

HPLC: t<sub>R</sub> = 34.4 min (Methode B)

MS(ESI<sup>-</sup>): 1147 (-8), 1028 (-9), 847 (-11), 777 (-12), 712 (-13), 663 (-14).

## 8 GEFÄHRSTOFFVERZEICHNIS

Substanz	Gefahren- symbole	R-Sätze	S-Sätze
Aceton	F, X <sub>i</sub>	11-36-66-67	9-16-26
Acetonitril	F, X <sub>n</sub>	11-20/21/22	1/2-16-36/37
Acetylchlorid	F, C	11-14-34	9-16-26-45
4-Aminobiphenyl	T	45-22	53-45
Ammoniak	C, N	34-50	26-36/37/39-45- 61
Ammoniumchlorid	X <sub>n</sub>	22-36	22
Ammoniumsulfat	-	-	-
Anilin	T, N	20/21/22-40- 48/23/24/25-50	28.6-36/37-45-61
<i>p</i> -Anisidin	T <sup>+</sup> , N	45-E26/27/28-33-50	53-28.1-36/37-45- 61
Benzol	T, F	45-46-11-36/38- 48/23/24/25-65	53-45
Benzoylchlorid	C	34	26-45
pyBOP	X <sub>i</sub>	36/37/38	26-36
<i>tert</i> -Butylnitrit	F, X <sub>n</sub>	11/20-22	16-24-46
Cäsiumcarbonat	X <sub>i</sub>	36/37/38-46	-
Chloroform	X <sub>n</sub>	22-38-40-48/20/22	36/37
2'-Desoxyadenosin	-	-	-
4,5-Dicyanoimidazol (DCI)	F, T	11-23/24/25	16-28-36/37-39- 45
DIAD	X <sub>n</sub>	36/37/38-40-48/20/22	36
Dibrommethan	X <sub>n</sub>	20-52/53	24-61
Dichlormethan	X <sub>n</sub>	40	23-24/25-36/37
Diethylether	F <sup>+</sup> , X <sub>n</sub>	12-19-22-66-67	9-16-29-33
Diisopropylamin	F, C	11-20/22-34	16-26-36/37/39- 45
Diisopropylethylamin	F, C	11-22-34-52/53	16-26-36/37/39-

GEFAHRSTOFFVERZEICHNIS

---

			45-61
1,2-Dimethoxyethan	F, T	11-19-20-60-61	45-53
<i>N,N</i> -Dimethylamin	F, C	11-20/22-34	3-16-26-29- 36/37/39-45
4-Dimethylaminopyridin	T	24/25-36/38	22-36/37-45
3,5-Dimethylanilin	T, N	23/24/25-33-51/53	(1/2)28-36/37-45- 61
<i>N,N</i> -Dimethylformamid- diethylacetal	X <sub>i</sub>	10-36/37/38	16-26-36
Dimethylsulfoxid	-	-	-
1,4-Dioxan	F, X <sub>n</sub>	11-19-36/37-40-66	9-16-36/37-46
DTT	X <sub>n</sub>	22-36/38	-
Essigsäure	C	10-35	23.2-26-45
Essigsäureanhydrid	C	10-20/22-34	26-36/37/39-45
Ethanol	F	11	7-16
Ethylacetat	F, X <sub>i</sub>	11-36-66-67	16-26-33
Formamid	T	61	53-45
Hexan	F, X <sub>n</sub> , N	11-38-48/20-51/53- 62-65-67	9-16-29-33-36/37- 61-62
Imidazol	C	22-34-63	22-26-36/37/39- 45
KBr	-	-	-
Kaliumcarbonat	X <sub>i</sub>	36/37/38	22-26
Kaliumphosphat	X <sub>i</sub>	36/38	-
Kieselgel	T	-	22
Kupfer(I)chlorid	X <sub>n</sub> , N	22-50/53	22-60-61
Mesitylsulfonylchlorid	C	34	26-36/37/39-45
Methanol	F, T	11-23 /24/ 25-39/23/ 24/25	7-16-36-37-45
Methylamin	F <sup>+</sup> , X <sub>n</sub>	12-20-37/38-41	16-26-29
β-Mercaptoethanol	T, N	22-24-34-51/53	26-36/37/39-45
Natriumacetat	-	-	-
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-
Natriumhydrid	F, C	15-34	7/8-26-36/37 /39-

GEFAHRSTOFFVERZEICHNIS

---

			43.6-45
Natriumhydroxid	C	35	26-36/37/39-45
Natriumnitrit	O, T, N	8-25-50	45-61
Natriumsulfat	-	-	-
Pd/C	-	-	-
Petrolether	F, X <sub>n</sub>	11-52/53-65	9-16-23.2-24-33- 62
Phosphortrichlorid	T <sup>+</sup> , C	14-26/28-35-48/20	7/8-26-36/37/39- 45
Phosphorylchlorid	T <sup>+</sup> , C	14-22-26-35-48/23	7/8-26-36/37/39- 45
Pyridin	F, X <sub>n</sub>	11-20/21/22	26-28.1
<i>rac</i> -BINAP	X <sub>i</sub>	38	-
Salzsäure	C	34-37	26-36/37/39-45
TBDMS-Cl	C	22-35-40	26-27-28- 36/37/39-45
Tetrahydrofuran	F, X <sub>i</sub>	11-19-36/37	16-29-33
<i>p</i> -Toluidin	T, N	23/24/25-36-40-43- 50	28-36/37-45-61
Toluol	F, X <sub>n</sub>	11-20	16-23-25-29
Triethylamin	F, C	11-20/21/ 22-35	3-16-26-29- 36/37/39-45
Triethylamin-Trihydrofluorid	T <sup>+</sup> , C	26/27/28-35	7/9-26-36/37/39- 45
Triethylammoniumchlorid	C	34	26-36/37/39-45
Trifluoressigsäure	C	20-35-52/53	9-26-27-28-45-61
Trimethylsilylbromid	C	10-34	
Triphenylphosphin	X <sub>n</sub>	22-43-53	36/37-60
Tris	X <sub>i</sub>	36/37/38	-
Zink-Pulver	N	50/53	60-61
Xantphos	X <sub>n</sub>	20/22-37	26-37/39

## 9 LITERATUR

- [1] Forschungsgemeinschaft, D., *MAK- und BAT-Werte Liste*. Wiley-VCH. **2004**.
- [2] Johnston, W.T., The discovery of aniline and the origin of the term "aniline dye", *Biotechnic & Histochemistry* **2008**, *83*, 83-87.
- [3] Fischer, W., Tumors induced by butter yellow, *Archiv fur Geschwulstforschung* **1954**, *7*, 301-20.
- [4] Rehn, L., Balsengeschwülste bei Fuchsin-Arbeitern, *Archiv für klinische Chirurgie* **1895**, *50*, 588-600.
- [5] Patrianakos, C. and D. Hoffmann, Chemical studies on tobacco smoke. LXIV. On the analysis of aromatic amines in cigarette smoke, *Journal of Analytical Toxicology* **1979**, *3*, 150-4.
- [6] Luceri, F., et al., Primary aromatic amines from side-stream cigarette smoke are common contaminants of indoor air, *Toxicology and Industrial Health* **1993**, *9*, 405-13.
- [7] Kellen, E., et al., Does occupational exposure to PAHs, diesel and aromatic amines interact with smoking and metabolic genetic polymorphisms to increase the risk on bladder cancer? The Belgian case control study on bladder cancer risk, *Cancer Letters (Amsterdam, Netherlands)* **2007**, *245*, 51-60.
- [8] Marques, M.M., et al., Synthesis, Characterization, and Conformational Analysis of DNA Adducts from Methylated Anilines Present in Tobacco Smoke, *Chemical Research in Toxicology* **1996**, *9*, 99-108.
- [9] Melchior, W.B., Jr., M.M. Marques, and F.A. Beland, Mutations induced by aromatic amine DNA adducts in pBR322, *Carcinogenesis* **1994**, *15*, 889-99.
- [10] Garner, R.C., The role of DNA adducts in chemical carcinogenesis, *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **1998**, *402*, 67-75.
- [11] Neumann, H.G., The role of DNA damage in chemical carcinogenesis of aromatic amines, *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **1986**, *112*, 100-6.
- [12] Faraglia, B., et al., Evaluation of 4-aminobiphenyl-DNA adducts in human breast cancer: the influence of tobacco smoke, *Carcinogenesis* **2003**, *24*, 719-725.
- [13] Marquardt, H. and S.G. Schäfer, *Lehrbuch der Toxikologie. Sonderausgabe der 1. Auflage ed.* **1997**, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
- [14] Deutschland, A.b.K.i., *Krebs in Deutschland. 4. Auflage ed.* **2004**, Saarbrücken.
- [15] Thorgeirsson, S.S., I.B. Glowinski, and M.E. McManus, Metabolism, mutagenicity and carcinogenicity of aromatic amines, *Reviews in Biochemical Toxicology* **1983**, *5*, 349-86.
- [16] Borosky, G.L., Ultimate Carcinogenic Metabolites from Aromatic and Heterocyclic Aromatic Amines: A Computational Study in Relation to Their Mutagenic Potential, *Chemical Research in Toxicology* **2006**, *20*, 171-180.
- [17] Frederick, C.B., et al., Cytochrome P 450- and flavin-containing monooxygenase-catalyzed formation of the carcinogen N-hydroxy-2-aminofluorene and its covalent binding to nuclear DNA, *Cancer research* **1982**, *42*, 2671-7.

- [18] Cramer, J.W., J.A. Miller, and E.C. Miller, The hydroxylation of the carcinogen 2-acetylaminofluorene by rat liver: stimulation by pretreatment in vivo with 3-methylcholanthrene, *The Journal of biological chemistry* **1960**, 235, 250-6.
- [19] Lai, C.C., et al., N-Sulfooxy-2-aminofluorene is the major ultimate electrophilic and carcinogenic metabolite of N-hydroxy-2-acetylaminofluorene in the livers of infant male C57BL/6J \* C3H/HeJ F1 (B6C3F1) mice, *Carcinogenesis* **1985**, 6, 1037-45.
- [20] Lai, C.C., et al., The essential role of microsomal deacetylase activity in the metabolic activation, DNA-(deoxyguanosin-8-yl)-2-aminofluorene adduct formation and initiation of liver tumors by N-hydroxy-2-acetylaminofluorene in the livers of infant male B6C3F1 mice, *Carcinogenesis* **1988**, 9, 1295-302.
- [21] Bartsch, H., et al., Electrophilic N-acetoxyaminoarenes derived from carcinogenic N-hydroxy-N-acetyl aminoarenes by enzymic deacetylation and transacetylation in liver, *Biochimica et Biophysica Acta, General Subjects* **1972**, 286, 272-98.
- [22] Kadlubar, F.F., Carcinogenic aromatic amine metabolism and DNA adduct detection in humans, *Princess Takamatsu symposia* **1990**, 21, 329-38.
- [23] Swaminathan, S. and J.F. Hatcher, Identification of new DNA adducts in human bladder epithelia exposed to the proximate metabolite of 4-aminobiphenyl using <sup>32</sup>P-postlabeling method, *Chemico-Biological Interactions* **2002**, 139, 199-213.
- [24] Skipper, P.L., et al., DNA Adduct Formation by 2,6-Dimethyl-, 3,5-Dimethyl-, and 3-Ethylaniline in Vivo in Mice, *Chemical Research in Toxicology* **2006**, 19, 1086-1090.
- [25] Turesky, R.J. and J. Markovic, DNA Adduct Formation of the Food Carcinogen 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline at the C-8 and N2 Atoms of Guanine, *Chemical Research in Toxicology* **1994**, 7, 752-61.
- [26] Turesky, R.J., et al., Characterization of DNA adducts formed in vitro by reaction of N-hydroxy-2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline and N-hydroxy-2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline at the C-8 and N2 atoms of guanine, *Chemical Research in Toxicology* **1992**, 5, 479-90.
- [27] Kadlubar, F.F., et al., Arylamine-DNA adduct formation in relation to urinary bladder carcinogenesis and Salmonella typhimurium mutagenesis, **1982**, 385-96.
- [28] Lasko, D.D., et al., Specificity of mutagenesis by 4-aminobiphenyl. A possible role for N-(deoxyadenosin-8-yl)-4-aminobiphenyl as a premutational lesion, *Journal of Biological Chemistry* **1988**, 263, 15429-35.
- [29] Kriek, E. and J.G. Westra, Formation of N-2-fluorenylhydroxylamine adducts of DNA in vivo and in vitro and some of their properties, *National Cancer Institute Monograph* **1981**, 58, 139-42.
- [30] Kadlubar, F.F., et al., Formation of urothelial and hepatic DNA adducts from the carcinogen 2-naphthylamine, *Carcinogenesis* **1981**, 2, 467-70.
- [31] Cui, L., et al., Identification of Adducts Formed by Reaction of N-Acetoxy-3,5-dimethylaniline with DNA, *Chemical Research in Toxicology* **2007**, 20, 1730-1736.
- [32] Gupta, R.C. and N.R. Dighe, Formation and removal of DNA adducts in rat liver treated with N-hydroxy derivatives of 2-acetylaminofluorene, 4-acetylaminobiphenyl, and 2-acetylaminophenanthrene, *Carcinogenesis* **1984**, 5, 343-9.

- [33] Meneni, S., et al., Conformation-specific recognition of carcinogen-DNA adduct in escherichia coli nucleotide excision repair, *Chemical Research in Toxicology* **2007**, *20*, 6-10.
- [34] Jones, J.W. and R.K. Robins, Purine nucleosides. III. Methylation studies of certain naturally occurring purine nucleosides, *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*, 193-201.
- [35] Humphreys, W.G., F.F. Kadlubar, and F.P. Guengerich, Mechanism of C8 alkylation of guanine residues by activated arylamines: Evidence for initial adduct formation at the N7 position, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1992**, *89*, 8278-82.
- [36] Novak, M. and S.A. Kennedy, Selective Trapping of N-Acetyl-N-(4-biphenyl)nitrenium and N-Acetyl-N-(2-fluorenyl)nitrenium Ions by 2'-Deoxyguanosine in Aqueous Solution, *Journal of the American Chemical Society* **1995**, *117*, 574-5.
- [37] Ames, B.N., J. McCann, and E. Yamasaki, Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test, *Mutation research* **1975**, *31*, 347-63.
- [38] Randerath, K., M.V. Reddy, and R.C. Gupta, Phosphorus-32 labeling test for DNA damage, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1981**, *78*, 6126-9.
- [39] Ford, G.P. and J.W. Thompson, Regiochemistry of Nucleophilic Attack by the Guanine 2-Amino Group at the Ring Positions of Nitrenium Ions Derived from Carcinogenic Polycyclic Arylamines and Nitroarenes: Molecular Orbital Calculations and Simple Models, *Chemical Research in Toxicology* **1999**, *12*, 53-59.
- [40] Kriek, E., et al., 8-(N-2-Fluorenylacetamido)guanosine, an arylamidation reaction product of guanosine and the carcinogen N-acetoxy-N-2-fluorenylacetamide in neutral solution, *Biochemistry* **1967**, *6*, 177-82.
- [41] Famulok, M. and G. Boche, N-(Deoxyguanosin-8-yl)aniline from the in vitro reaction of N-acetoxyaniline with deoxyguanosine and DNA, *Angewandte Chemie* **1989**, *101*, 470-1.
- [42] Meier, C. and G. Boche, The modification of guanine nucleosides and nucleotides by the borderline arylamine carcinogens 4-methyl- and 4-methoxyaniline: chemistry and structural characterization, *Carcinogenesis* **1991**, *12*, 1633-40.
- [43] Meier, C., et al., Synthesis of oligonucleotides bearing an arylamine modification in the C8-position of 2'-deoxyguanosine, *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* **2005**, *24*, 691-694.
- [44] Jacobson, M.D., et al., Synthesis and conformation of a dinucleoside monophosphate modified by aniline, *Chemical Research in Toxicology* **1988**, *1*, 152-9.
- [45] Louie, J. and J.F. Hartwig, Palladium-catalyzed synthesis of arylamines from aryl halides. Mechanistic studies lead to coupling in the absence of tin reagents, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 3609-12.
- [46] Guram, A.S., R.A. Rennels, and S.L. Buchwald, A simple catalytic method for the conversion of aryl bromides to arylamines, *Angewandte Chemie, International Edition in English* **1995**, *34*, 1348-50.
- [47] Schoffers, E., P.D. Olsen, and J.C. Means, Synthesis of C8-Adenosine Adducts of Arylamines Using Palladium Catalysis, *Organic Letters* **2001**, *3*, 4221-4223.

- [48] Wang, Z. and C.J. Rizzo, Synthesis of the C8-deoxyguanosine adduct of the food mutagen IQ, *Organic Letters* **2001**, *3*, 565-8.
- [49] Elmquist, C.E., et al., Site-Specific Synthesis and Properties of Oligonucleotides Containing C8-Deoxyguanosine Adducts of the Dietary Mutagen IQ, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 11189-11201.
- [50] Boege, N., S. Graesl, and C. Meier, Synthesis and Properties of Oligonucleotides Containing C8-Deoxyguanosine Arylamine Adducts of Borderline Carcinogens, *Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 9728-9738.
- [51] Lakshman, M.K., et al., Palladium-Catalyzed C-N Bond Formation: Facile and General Synthesis of N6-Aryl 2'-Deoxyadenosine Analogues, *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121*, 6090-6091.
- [52] De Riccardis, F., R.R. Bonala, and F. Johnson, A General Method for the Synthesis of the N2- and N6- Carcinogenic Amine Adducts of 2'-Deoxyguanosine and 2'-Deoxyadenosine, *Journal of the American Chemical Society* **1999**, *121*, 10453-10460.
- [53] Ngassa Felix, N., et al., Pd-Xantphos-catalyzed direct arylation of nucleosides, *Organic Letters* **2006**, *8*, 4613-6.
- [54] Ran, C., Q. Dai, and R.G. Harvey, N6-Arylation of 2'-Deoxyadenosine via Copper-Catalyzed Direct Coupling with Aryl Halides, *Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 3724-3726.
- [55] Zhou, Y., S. Chladek, and L.J. Romano, Synthesis of Oligonucleotides Containing Site-specific Carcinogen Adducts. Preparation of the 2-Cyanoethyl N,N-Diisopropylphosphoramidite of N-(2'-Deoxyguanosin-8-yl)-2-(acetylamino)fluorene with Fmoc as the Base-Protecting Group, *Journal of Organic Chemistry* **1994**, *59*, 556-63.
- [56] Boege, N., et al., Synthesis of DNA strands site-specifically damaged by C8-arylamine purine adducts and effects on various DNA polymerases, *Chemistry--A European Journal* **2008**, *14*, 11194-11208.
- [57] Eason, R.G., et al., Synthesis and characterization of 8-methoxy-2'-deoxyadenosine-containing oligonucleotides to probe the syn glycosidic conformation of 2'-deoxyadenosine within DNA, *Nucleic Acids Research* **1996**, *24*, 890-7.
- [58] Ogilvie, K.K., The tert-butyldimethylsilyl group as a protecting group in deoxynucleosides, *Canadian Journal of Chemistry* **1973**, *51*, 3799-807.
- [59] Wolfe, J.P., S. Wagaw, and S.L. Buchwald, An Improved Catalyst System for Aromatic Carbon-Nitrogen Bond Formation: The Possible Involvement of Bis(Phosphine) Palladium Complexes as Key Intermediates, *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 7215-7216.
- [60] Zhu, X.-F., H.J. Williams, Jr., and A.I. Scott, An improved transient method for the synthesis of N-benzoylated nucleosides, *Synthetic Communications* **2003**, *33*, 1233-1243.
- [61] Markiewicz, W.T., Tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl, a group for simultaneous protection of 3'- and 5'-hydroxy functions of nucleosides, *Journal of Chemical Research, Synopses* **1979**, 24-5.
- [62] Hakimelahi, G.H., Z.A. Proba, and K.K. Ogilvie, New catalysts and procedures for the dimethoxytritylation and selective silylation of ribonucleosides, *Canadian Journal of Chemistry* **1982**, *60*, 1106-13.
- [63] Reddy, M.P., J.B. Rampal, and S.L. Beaucage, An efficient procedure for the solid phase tritylation of nucleosides and nucleotides, *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 23-6.

- [64] Singh, K.K. and P. Nahar, An improved method for the synthesis of N-phenoxyacetylribonucleosides, *Synthetic Communications* **1995**, *25*, 1997-2003.
- [65] Guy, A., et al., Synthesis and characterization of DNA fragments bearing an adenine radiation product: 7,8-dihydroadenin-8-one, *Helvetica Chimica Acta* **1988**, *71*, 1566-72.
- [66] Buff, R. and J. Hunziker, 2'-Ethylnyl-DNA: synthesis and pairing properties, *Helvetica Chimica Acta* **2002**, *85*, 224-254.
- [67] Kierzek, R., The synthesis of 5'-O-(dimethoxytrityl)-N-acyl-2'-deoxynucleosides. Improved "transient protection" approach, *Nucleosides & Nucleotides* **1985**, *4*, 641-9.
- [68] Wan, Z.-K., et al., A Highly Facile and Efficient One-Step Synthesis of N<sup>6</sup>-Adenosine and N<sup>6</sup>-2'-Deoxyadenosine Derivatives, *Organic Letters* **2005**, *7*, 5877-5880.
- [69] Gao, X. and R.A. Jones, Nitrogen-15 labeled deoxynucleosides. Synthesis of <sup>15</sup>N<sup>6</sup>- and <sup>15</sup>N<sup>1</sup>-deoxyadenosines from deoxyadenosine, *Journal of the American Chemical Society* **1987**, *109*, 1275-8.
- [70] Wan, Z.-K., et al., A Highly Facile and Efficient One-Step Synthesis of N<sup>6</sup>-Adenosine and N<sup>6</sup>-2'-Deoxyadenosine Derivatives *Organic letters* **2005**, *7*, 5877-5880.
- [71] Nozary, H., et al., Extended Rodlike Polyaromatic Receptors with Bent Tridentate Units Complexed to Lanthanide Metal Ions, *Inorganic Chemistry* **2000**, *39*, 5286-5298.
- [72] Itoh, T. and T. Mase, Direct synthesis of hetero-biaryl compounds containing an unprotected NH<sub>2</sub> group via Suzuki-Miyaura reaction, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 3573-3577.
- [73] Wepster, B.M., Steric effects on mesomerism. XIII. Preparation of 2,6-dimethyl-4-nitroaniline, *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique* **1954**, *73*, 809-18.
- [74] Lakshman, M.K., et al., Palladium catalysis for the synthesis of hydrophobic C-6 and C-2 aryl 2'-deoxynucleosides. Comparison of C-C versus C-N bond formation as well as C-6 versus C-2 reactivity, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, *123*, 7779-87.
- [75] Francom, P. and M.J. Robins, Nucleic Acid Related Compounds. 118. Nonaqueous Diazotization of Aminopurine Derivatives. Convenient Access to 6-Halo- and 2,6-Dihalopurine Nucleosides and 2'-Deoxynucleosides with Acyl or Silyl Halides, *Journal of Organic Chemistry* **2003**, *68*, 666-669.
- [76] Pirrung, M.C., et al., Methyl Scanning: Total Synthesis of Demethylasterriquinone B1 and Derivatives for Identification of Sites of Interaction with and Isolation of Its Receptor(s), *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 4609-4624.
- [77] Wright, C., et al., A formal total synthesis of geneserine, *Tetrahedron Letters* **1987**, *28*, 6389-90.
- [78] Marsden, J.A. and M.M. Haley, Carbon Networks Based on Dehydrobenzoannulenes. 5. Extension of Two-Dimensional Conjugation in Graphdiyne Nanoarchitectures, *Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 10213-10226.
- [79] Heravi, M.M., N. Abdolhosseini, and H.A. Oskooie, Regioselective and high-yielding bromination of aromatic compounds using hexamethylenetetramine-bromine, *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 8959-8963.

- [80] Celebre, G., et al., The conformational distribution in diphenylmethane determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy of a sample dissolved in a nematic liquid crystalline solvent, *Journal of Chemical Physics* **2003**, *118*, 6417-6426.
- [81] Davies, D.B. and S.S. Danyluk, Nuclear magnetic resonance studies of 5'-ribo- and deoxyribonucleotide structures in solution, *Biochemistry* **1974**, *13*, 4417-34.
- [82] Davies, D.B., Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Vol. 12, Pt. 3: Conformations of Nucleosides and Nucleotides. **1978**. 92 pp.
- [83] Mitsunobu, O., K. Kato, and J. Kimura, Selective phosphorylation of the 5'-hydroxy groups of thymidine and uridine, *Journal of the American Chemical Society* **1969**, *91*, 6510-11.
- [84] Kimura, J., et al., Studies on nucleosides and nucleotides. VII. Preparation of pyrimidine nucleoside 5'-phosphates and N3,5'-purine cyclonucleosides by selective activation of the 5'-hydroxyl group, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1979**, *52*, 1191-6.
- [85] Saady, M., L. Lebeau, and C. Mioskowski, Synthesis of adenosine-5'-phosphates and 5'-alkylphosphonates via the Mitsunobu reaction, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 2239-42.
- [86] Sowa, T. and S. Ouchi, Facile synthesis of 5'-nucleotides by the selective phosphorylation of a primary hydroxyl group of nucleosides with phosphoryl chloride, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1975**, *48*, 2084-90.
- [87] Eisenhuth, R. and C. Richert, Convenient Syntheses of 3'-Amino-2',3'-dideoxynucleosides, Their 5'-Monophosphates, and 3'-Amino-terminal Oligodeoxynucleotide Primers, *Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 26-37.
- [88] Doussin, S., et al., Preparation of novel zwitterionic reverse micelles for encapsulation of proteins in low-viscosity media, *Chemistry--A European Journal* **2006**, *12*, 4170-4175.
- [89] Caruthers, M.H., et al., Chemical synthesis of deoxyoligonucleotides by the phosphoramidite method, *Methods in enzymology* **1987**, *154*, 287-313.
- [90] Seela, F., et al., Dodecanucleotides containing (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine: influence of a bulky major groove substituent on duplex stability and endodeoxyribonuclease Eco RI recognition, *Nucleosides & Nucleotides* **1988**, *7*, 347-63.
- [91] Takamura-Enya, T., S. Enomoto, and K. Wakabayashi, Palladium-Catalyzed Direct N-Arylation of Nucleosides, Nucleotides, and Oligonucleotides for Efficient Preparation of dG-N2 Adducts with Carcinogenic Amino-/Nitroarenes, *Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 5599-5606.
- [92] Washington, M.T., L. Prakash, and S. Prakash, Yeast DNA polymerase h utilizes an induced-fit mechanism of nucleotide incorporation, *Cell (Cambridge, MA, United States)* **2001**, *107*, 917-927.
- [93] Masutani, C., et al., Mechanisms of accurate translesion synthesis by human DNA polymerase h, *EMBO Journal* **2000**, *19*, 3100-3109.
- [94] Stafford, J.B., et al., Translesion DNA Synthesis by Human DNA Polymerase h on Templates Containing a Pyrimidopurinone Deoxyguanosine Adduct, 3-(2'-Deoxy-beta -D-erythro-pentofuranosyl)pyrimido-[1,2-a]purin-10(3H)-one, *Biochemistry* **2009**, *48*, 471-480.
- [95] Boudsocq, F., et al., *Sulfolobus solfataricus* P2 DNA polymerase IV (Dpo4): an archaeal DinB-like DNA polymerase with lesion-bypass properties akin to eukaryotic polh, *Nucleic Acids Research* **2001**, *29*, 4607-4616.

- [96] Eoff, R.L., et al., Molecular Basis of Selectivity of Nucleoside Triphosphate Incorporation Opposite O6-Benzylguanine by *Sulfolobus solfataricus* DNA Polymerase Dpo4. Steady-state and Pre-Steady-state Kinetics and X-ray Crystallography of Correct and Incorrect Pairing, *Journal of Biological Chemistry* **2007**, *282*, 13573-13584.
- [97] Eoff, R.L., et al., *Sulfolobus solfataricus* DNA Polymerase Dpo4 Is Partially Inhibited by "wobble" Pairing between O6-Methylguanine and Cytosine, but Accurate Bypass Is Preferred, *Journal of Biological Chemistry* **2007**, *282*, 1456-1467.
- [98] Beard, W.A. and S.H. Wilson, Structure and mechanism of DNA polymerase beta, *Chemical Reviews (Washington, DC, United States)* **2006**, *106*, 361-382.
- [99] Cline, J., J.C. Braman, and H.H. Hogrefe, PCR fidelity of Pfu DNA polymerase and other thermostable DNA polymerases, *Nucleic Acids Research* **1996**, *24*, 3546-3551.
- [100] Guengerich, F.P., Interactions of Carcinogen-Bound DNA with Individual DNA Polymerases, *Chemical Reviews (Washington, DC, United States)* **2006**, *106*, 420-452.
- [101] Jacobsen, M.I. and C. Meier, First synthesis of C8-arylamine adducts of 2'-deoxyadenosine and incorporation of the phosphoramidite into an oligonucleotide, *Synlett* **2006**, 2411-2414.
- [102] Jacobsen, M.I. and C. Meier, Oligonucleotides damaged with carcinogenic aromatic amines at the C8- and N<sup>6</sup>-position of 2'-deoxyadenosine, *Nucleic acids symposium series (2004)* **2008**, 439-40.

## 10 ANHANG

### Syntheseprotokoll für unmodifizierte Oligonucleotide am DNA Synthesizer

Schritt	Funktion	Zeit [s]
1	Begin	
2	MeCN to Waste	3
3	MeCN to Column	10
4	Reverse Flush	10
5	Block Flush	4
6	Phos Prep	3
7	Column 1 On	
8	Block Vent	2
9	DCI to Waste	1.7
10	Base+DCI to Column	5
11	DCI to Column	2
12	Base+DCI to Column	5
13	DCI to Column	2
14	Base+DCI to Column	5
15	Push to Column	
16	Column 1 Off	
17	Wait	25
18	Cap Prep	3
19	MeCN to Waste	4
20	Reverse Flush	7
21	Block Flush	3
22	Cap to Column	10
23	Wait	5
24	MeCN to Waste	4
25	Reverse Flush	7
26	Block Flush	3
27	Oxidizer to Column	8
28	MeCN to Waste	4
29	Block Flush	

SYNTHESEPROTOKOLLE FÜR DNA SYNTHESIZER

30	Wait	
31	MeCN to Column	
32	Flush to Waste	
33	MeCN to Column	
34	Reverse Flush	7
35	Block Flush	3
36	Start Detrityl	
37	MeCN to Waste	4
38	MeCN to Column	10
39	Reverse Flush	7
40	Block Flush	3
41	If Monitoring	
42	DCM to Column	35
43	Deblock to Column	3
44	Monitor Trityl	
45	Deblock to Column	85
46	Monitor Noise	
47	Deblock to Column	10
48	Stop Monitor	
49	MeCN to Column	10
50	Reverse Flush	8
51	If not Monitoring	
52	Deblock to Column	6
53	Trityl Flush	5
54	Deblock to Column	6
55	Wait	5
56	Trityl Flush	5
57	Deblock to Column	6
58	Wait	5
59	Trityl Flush	5
60	Deblock to Column	6
61	Wait	5
62	Trityl Flush	5
63	MeCN to Column	10
64	Trityl Flush	8
65	End Monitoring	

SYNTHESEPROTOKOLLE FÜR DNA SYNTHESIZER

66	MeCN to Column	8
67	Reverse Flush	7
68	Block Flush	4
69	End	

**Syntheseprotokoll für modifizierte Oligonucleotide am DNA Synthesizer**

Schritt	Funktion	Zeit [s]
1	Begin	
2	MeCN to Waste	3
3	MeCN to Column	10
4	Reverse Flush	10
5	Block Flush	4
6	Phos Prep	3
7	Column 1 On	
8	Block Vent	2
9	DCI to Waste	2
10	DCI to Column	3
11	Base+DCI to Column	5
12	Base+DCI to Column	5
13	Wait	500
14	DCI to Column	3
15	Base+DCI to Column	5
16	Base+DCI to Column	5
17	Wait	500
18	MeCN to Column	5
19	Push to Column	
20	Block vent	2
21	DCI to Waste	2
22	DCI to Column	3
23	Base+DCI to Column	5
24	Base+DCI to Column	5
25	Wait	500

SYNTHESEPROTOKOLLE FÜR DNA SYNTHESIZER

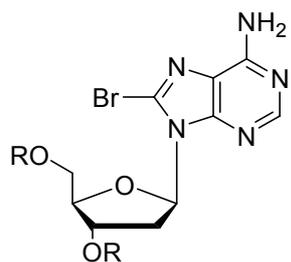
26	DCI to Column	3
27	Base+DCI to Column	5
28	Base+DCI to Column	5
29	Wait	500
30	MeCN to Column	5
31	Push to Column	
32	Block Vent	2
33	DCI to Waste	2
34	DCI to Column	3
35	Base+DCI to Column	5
36	Base+DCI to Column	5
37	Wait	500
38	DCI to Column	2
39	Base+DCI to Column	5
40	Base+DCI to Column	5
41	Wait	500
42	MeCN to Column	5
43	Push to Column	
44	Block Vent	2
45	Wait	30
46	Cap Prep	3
47	MeCN to Waste	4
48	Reverse Flush	7
49	Block Flush	3
50	cap to Column	10
51	Wait	5
52	MeCN to Waste	4
53	Reverse Flush	7
54	Block Flush	3
55	Oxidizer to Column	8
56	MeCN to Waste	4
57	Block Flush	3
58	Wait	15
59	MeCN to Column	10
60	Flush to Waste	6
61	MeCN to Column	10

SYNTHESEPROTOKOLLE FÜR DNA SYNTHESIZER

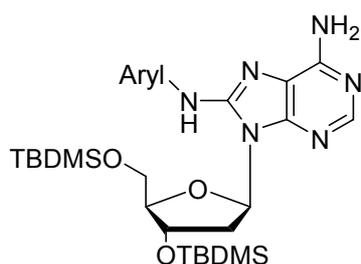
---

62	Reverse Flush	7
63	Block Flush	3
64	Start Detrityl	
65	MeCN to Waste	4
66	MeCN to Column	10
67	Reverse Flush	7
68	Block Flush	3
69	If Monitoring	
70	DCM to Column	35
71	Deblock to column	3
72	Monitor Trityl	
73	Deblock to Column	85
74	Monitor Noise	
75	Deblock to Column	10
76	Stop Monitor	
77	MeCN to Flush	10
78	Reverse Flush	8
79	If not Monitoring	
80	Deblock to Column	6
81	Trityl Flush	5
82	Deblock to Column	6
83	Wait	5
84	Trityl Flush	5
85	Deblock to Column	6
86	Wait	5
87	Trityl Flush	5
88	Deblock to Column	6
89	Wait	5
90	Trityl Flush	5
91	MeCN to Column	10
92	Trityl Flush	8
93	End Monitoring	

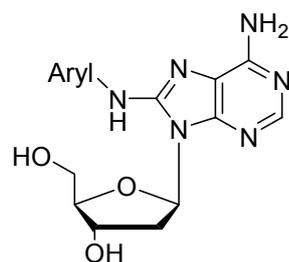
Verbindungsliste



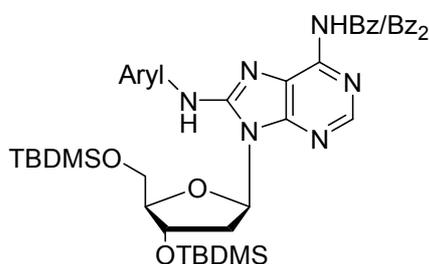
R = H **48**  
 R = TBDMS **49**  
 R = TIPDS **61**



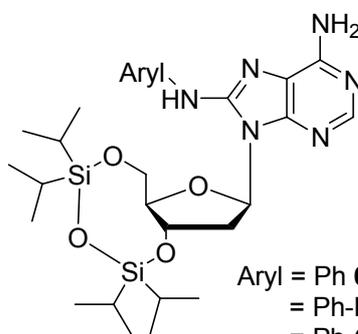
Aryl = Ph **55**  
 = Ph-OMe **51**  
 = Ph-Ph **52**



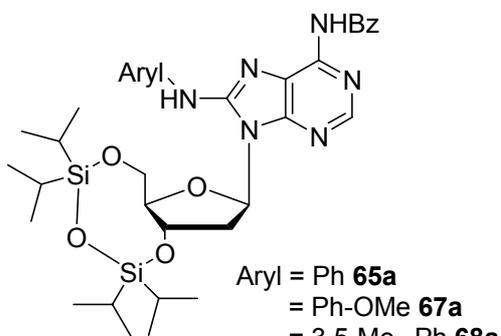
Aryl = Ph-OMe **57**  
 = Ph-Ph **58**



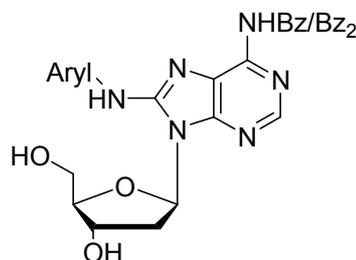
Aryl = Ph (NBz<sub>2</sub>) **56**  
 = Ph-OMe **53**  
 = Ph-Ph **54**



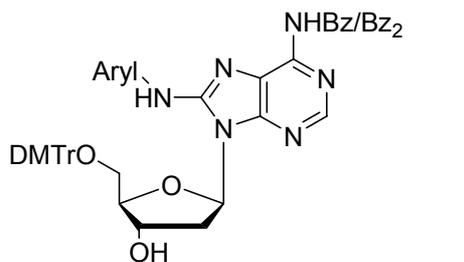
Aryl = Ph **65**  
 = Ph-Me **66**  
 = Ph-OMe **67**  
 = 3,5-Me<sub>2</sub>-Ph **68**  
 = Ph-Ph **69**



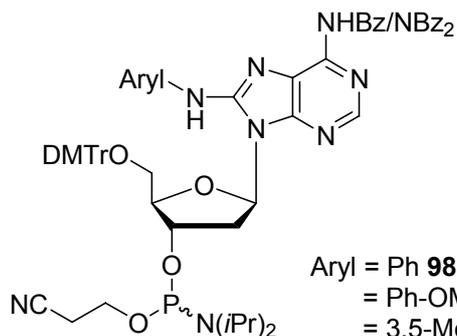
Aryl = Ph **65a**  
 = Ph-OMe **67a**  
 = 3,5-Me<sub>2</sub>-Ph **68a**  
 = Ph-Ph **69a**



Aryl = Ph **82** (Bz<sub>2</sub>) **87**  
 = Ph-Me **83**  
 = Ph-OMe **84**  
 = 3,5-Me<sub>2</sub>-Ph **85**  
 = Ph-Ph **86**

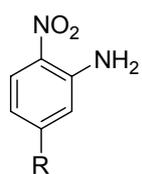
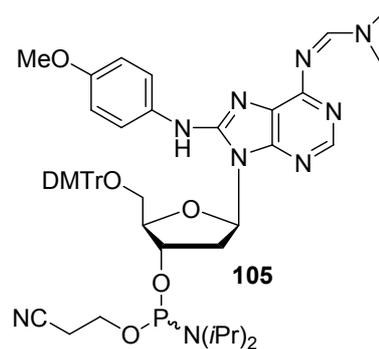
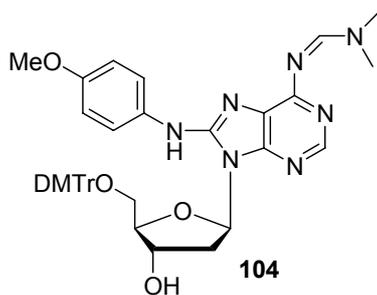
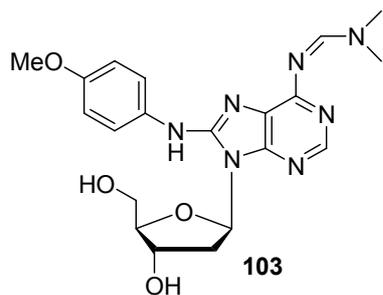


Aryl = Ph (Bz<sub>2</sub>) **95**  
 = Ph-OMe **91**  
 = 3,5-Me<sub>2</sub>-Ph **94**  
 = Ph-Ph **92**

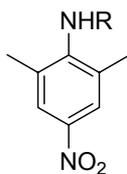


Aryl = Ph **98** (Bz<sub>2</sub>) **102**  
 = Ph-OMe **99**  
 = 3,5-Me<sub>2</sub>-Ph **100**  
 = Ph-Ph **101**

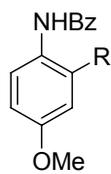
VERBINDUNGSLISTE



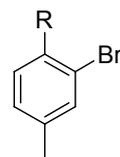
R = OMe **117**  
R = Ph **118**



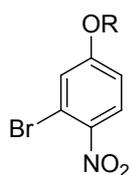
R = Ms **121**  
R = H **122**



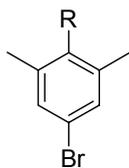
R = NH<sub>2</sub> **124**  
R = NO<sub>2</sub> **123**



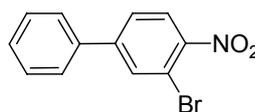
R = NHBz **137**  
R = NO<sub>2</sub> **138**



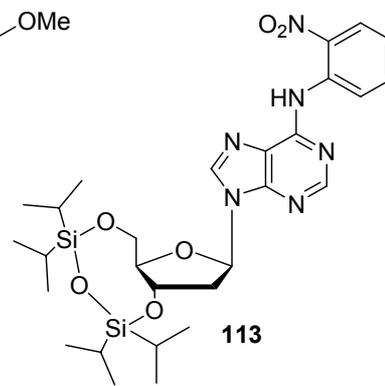
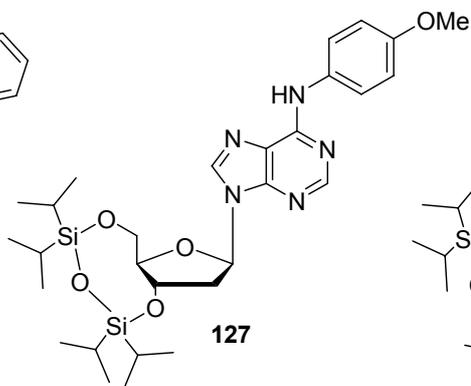
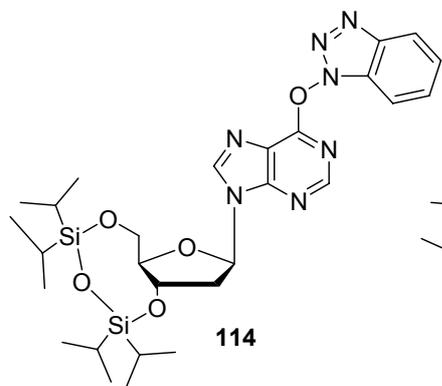
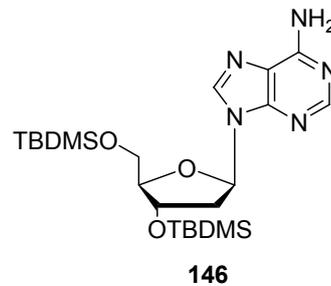
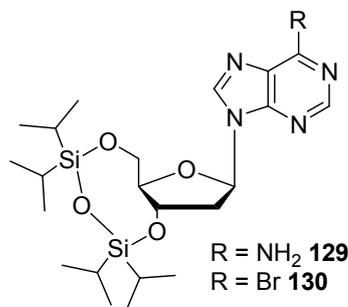
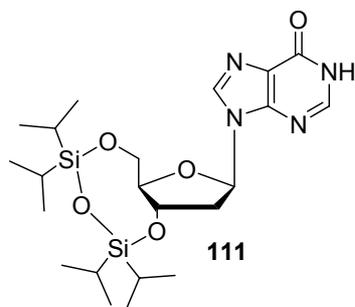
R = H **140**  
R = Me **139**



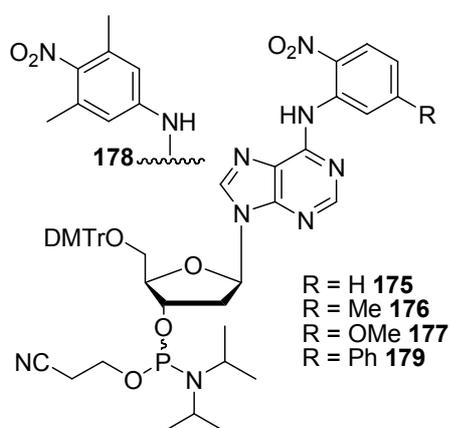
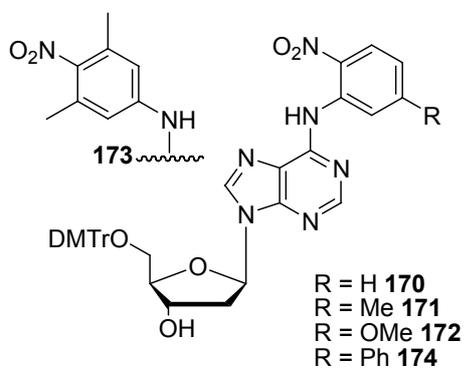
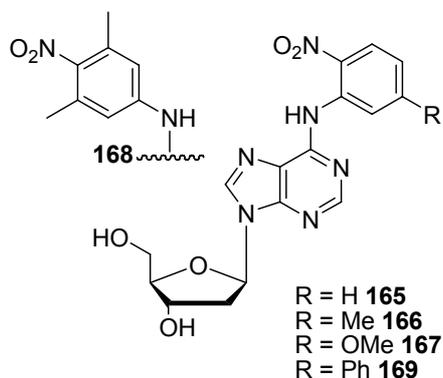
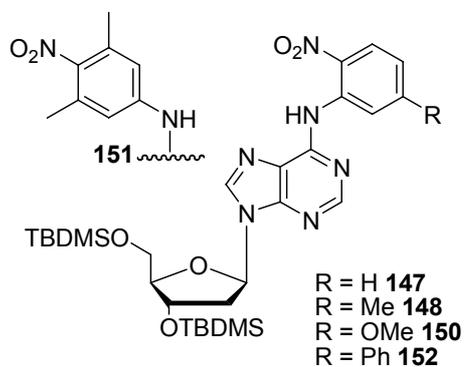
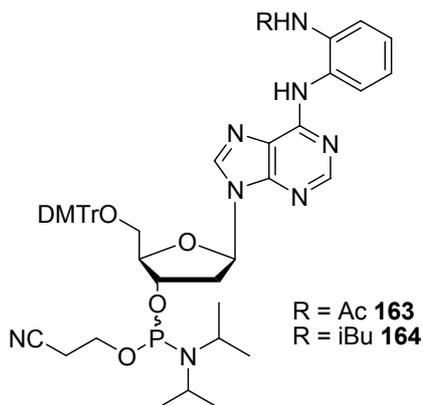
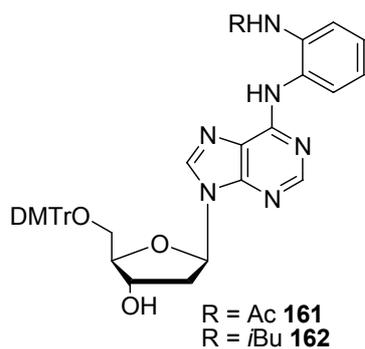
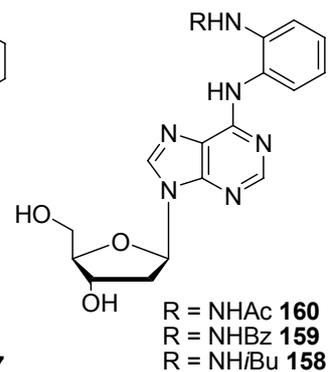
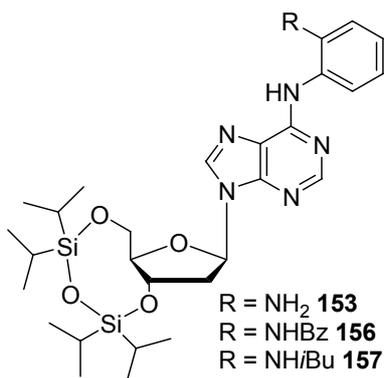
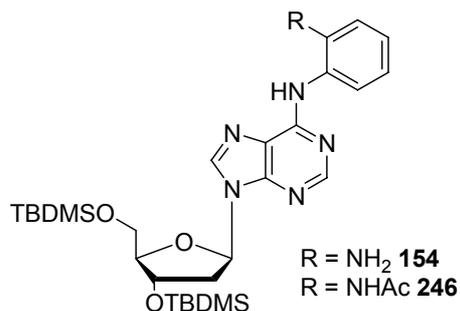
R = NH<sub>2</sub> **143**  
R = NO<sub>2</sub> **144**



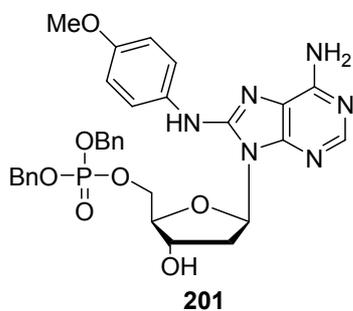
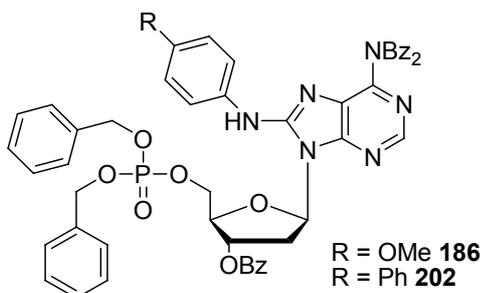
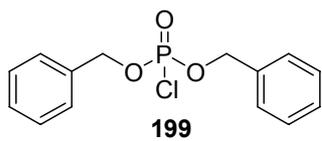
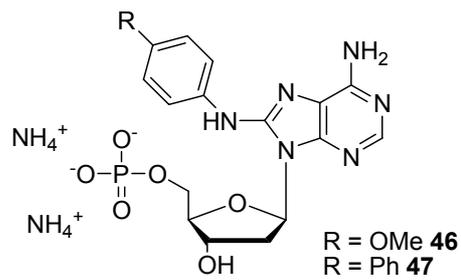
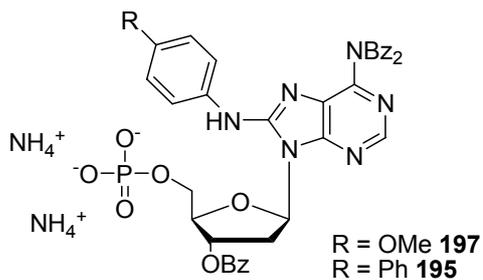
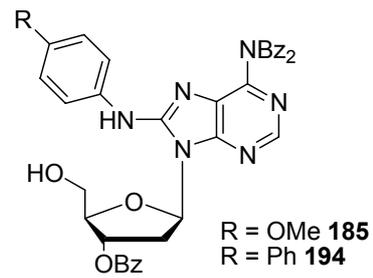
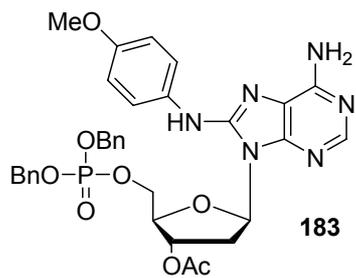
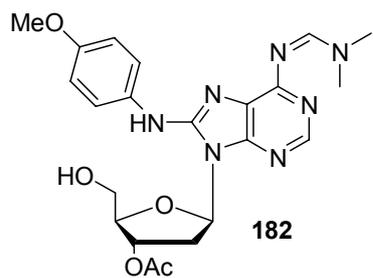
**145**



VERBINDUNGSLISTE



VERBINDUNGSLISTE



VERBINDUNGSLISTE

---

- 5'-d(GTA GAA TTC TAC)-3' **205**
- 5'-d(GTA G(C8-anil-A)A TTC TAC)-3' **206**      5'-d(GTA GAA TTC T(C8-anis-A)C)-3' **213**
- 5'-d(GTA G(C8-anis-A)A TTC TAC)-3' **207**      5'-d(GTA GAA TTC T(C8-abp-A)C)-3' **214**
- 5'-d(GTA G(C8-abp-A)A TTC TAC)-3' **208**      5'-d(GTA G(N<sup>6</sup>-anil-A)A TTC TAC)-3' **215**
- 5'-d(GTA GA(C8-anis-A) TTC TAC)-3' **209**      5'-d(GTA G(N<sup>6</sup>-anis-A)A TTC TAC)-3' **216**
- 5'-d(GTA GA(C8-abp-A) TTC TAC)-3' **210**      5'-d(GTA G(N<sup>6</sup>-abp-A)A TTC TAC)-3' **217**
- 5'-d(GT(C8-anis-A) GAA TTC TAC)-3' **211**
- 5'-d(GT(C8-abp-A) GAA TTC TAC)-3' **212**
- 
- 5'-d(CTC GGC (C8-anil)CC ATC)-3' **220**      5'-d(CTC GGC (N<sup>6</sup>-anil)CC ATC)-3' **224**
- 5'-d(CTC GGC (C8-anis)CC ATC)-3' **221**      5'-d(CTC GGC (N<sup>6</sup>-anis)CC ATC)-3' **225**
- 5'-d(CTC GGC (C8-3,5-dma)CC ATC)-3' **222**      5'-d(CTC GGC (N<sup>6</sup>-2,6-dma)CC ATC)-3' **226**
- 5'-d(CTC GGC (C8-abp)CC ATC)-3' **223**      5'-d(CTC GGC (N<sup>6</sup>-abp)CC ATC)-3' **227**
- 
- 5'-d(CTC GGC CCC ATC)-3' **228**      5'-d(CTC GGC TCC ATC)-3' **230**
- 5'-d(CTC GGC GCC ATC)-3' **229**      5'-d(CTC GGC (ABASIC)CC ATC)-3' **231**
- 
- 5'-d(AAA TAA ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **235**
- 5'-d(CGT TGG TCC TGA AGG AGG ATA GGT TTA TTT)-3' **236**
- 5'-d(AAA TA(C8-anis-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **237**
- 5'-d(AAA TA(C8-3,5-dma-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **238**
- 5'-d(AAA TA(C8-abp-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **239**
- 5'-d(AAA TA(N<sup>6</sup>-anis-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **240**
- 5'-d(AAA TA(N<sup>6</sup>-3,5-dma-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **241**
- 5'-d(AAA TA(N<sup>6</sup>-abp-A) ACC TAT CCT CCT TCA GGA CCA ACG)-3' **242**

## LEBENS LAUF

### Persönliche Daten

Maike I. Jacobsen  
geboren am 26.09.1979 in Westerstede

### Schulbildung

1986-1990      Grundschule Grube

1990-1991      Freiherr vom Stein-Gymnasium, Oldenburg in Holstein

1991-2000      Lauenburgische Gelehrtenschule in Ratzeburg – Abschluss: Abitur

### Akademische Ausbildung

10/2000-1/2006    Universität Hamburg: Studium der Chemie

5/2005-1/2006    Diplomarbeit an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier

2/2006-12/2009    Promotion an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Meier

### Berufserfahrung

2/2006-6/2009    Wissenschaftliche Mitarbeiterin in Lehre und Forschung, Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg

seit 2/2010        Postdoctorandin bei der Hoffmann-La Roche AG in Basel, Schweiz

## PUBLIKATIONEN

### Zeitschriftenbeiträge

- N. Böge, M. I. Jacobsen, Z. Szombati, S. Baerns, F. Di Pasquale, M. Marx, C. Meier, *Synthesis of DNA strands site-specifically damaged by C8-arylamine purine adducts and effects on various polymerases*, *Chemistry* **2008**, *14*, 11149 - 11208.
- M. I. Jacobsen, C. Meier, *Oligonucleotides damaged with carcinogenic aromatic amines at the C8- and N<sup>6</sup>-position of 2'-deoxyadenosine*, *Nucleic Acids Symposium Series* **2008**, *52*, 439 – 440.
- M. I. Jacobsen, C. Meier, *Synthesis of C8-Modified 2'-Deoxyadenosine with Carcinogenic Arylamines*, *Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids* **2007**, *26*, 1217- 1220.
- M. I. Jacobsen, C. Meier, *First Synthesis of C8-Arylamine Adducts of 2'-Deoxyadenosine and Incorporation of the modified Phosphoramidite into an Oligonucleotide*, *Synlett* **2006**, 2411-2414.

### Posterbeiträge

- 17<sup>th</sup> International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids 2006 in Bern, Switzerland.
- 18<sup>th</sup> International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids in Kyoto, Japan.

## **EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG**

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwandt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer mit den im Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den 13.03.2010

