

Diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

DISSERTATION

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Cristina Arbelo Román

vorgelegt dem Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2011

Diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

DISSERTATION

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Cristina Arbelo Román

vorgelegt dem Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2011

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2008 bis Juni 2011 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier
2. Gutachter: Prof. Dr. Christian B. W. Stark

Datum der Disputation: 14.10.2011

Herrn Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die interessante Themenstellung, die sehr gute Betreuung während dieser Arbeit sowie für zahlreiche konstruktive Diskussionen und Anregungen.

Herrn Prof. Dr. Christian B. W. Stark danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens, Herrn Prof. Dr. Jürgen Heck und Frau Dr. Brita Werner danke ich für die Teilnahme am Dissertationskolloquium.

Herrn Prof. Dr. J. Balzarini, Leen Ingels und Lizette van Berckelaer danke ich für die Messung der antiviralen Daten sowie für die Bereitstellung von Zellextrakten.

Den Mitarbeitern des Arbeitskreises Meier danke ich für die angenehme Atmosphäre, die Hilfsbereitschaft sowie für die konstruktiven Diskussionen.

Frau Dipl.-Chem. Saskia Wolf und Herrn Dr. Edwuin Hander Rios Morales sowie Frau Dr. Katharina Brandstädt als fachfremder Korrektor danke ich für die Korrektur dieses Manuskripts.

Ganz besonders möchte ich Frau Dipl.-Chem. Saskia Wolf, Frau Dipl.-Chem. Katharina Höfler, Frau Rosmirt Molina und Herrn Dr. Edwuin Hander Rios Morales für ihre herzliche Freundschaft, die stete Hilfsbereitschaft und Zusammenarbeit danken.

Ein herzliches Dankeschön für die experimentellen Arbeiten geht an Katharina Höfler, Irina Herberg, Daniela Schulz, Patrizia Leccese, Franziska Huß, Carmen Spottog, Jan-Hendrik Redmann, Tobias Gloe, Philip Wasserthal, Jan Boy sowie alle anderen OC-F- und ISP-Praktikanten.

Herrn Dr. V. Sinnwell sowie Herrn Dr. T. Hackl und ihren Mitarbeitern danke ich für die Durchführung der zahlreichen NMR-Experimente. Frau G. Graack, Frau A. Meiners und Frau C. Christ möchte ich für die Messung zahlreicher Massenspektren danken. Frau I. Nevoigt danke ich für die Messung der Röntgenstrukturanalysen.

Frau Dipl.-Chem. Miriam Mahler danke ich für die HPLC-Messungen an der chiralen Phase. Herrn Dipl.-Chem. Florian Pertenbreiter danke ich für das zur Verfügung gestellte d4U. Herrn Dr. Ulf Görbig danke ich für das Bereitstellen der Macherey Nagel HPLC-Säule.

Frau Dr. Katharina Brandstädt, Herrn Prof. Dr. Andreas Brandstädt und Frau Ingeborg Försch danke ich für die wiederholten Aufmunterungen während dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer herzlicher Dank gilt meinen Eltern, Mauricio Arbelo Bareche und Antonia Román Roperó, meinen Brüdern, Felix Javier Arbelo Román und Víctor Arbelo Román, sowie meiner Schwägerin Sandra Muñoz Campos für ihre stete Unterstützung während meines Studiums und meiner Arbeit.

Meiner Familie

“Confía en el tiempo, que suele dar dulces salidas
a muchas amargas dificultades.”

Miguel de Cervantes Saavedra

Abkürzungen und Symbole

AVV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
Äq.	Äquivalente
AZT	3'-Azido-2',3'-dideoxythymidin, Zidovudin, Retrovir [®]
BEN	<i>N,N'</i> -Ethylenbis(benzaldiimin)
ber.	berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BVdU	(E)-5-(2-Bromvinyl)-2'-desoxyuridin, Brivudin, Zostex [®]
CC ₅₀	cytotoxische Konzentration
CDCl ₃	Deuteriochloroform
CEM/0	humane Wildtyp T-Lymphozyten-Zelllinie
C3H/3T3	murine C3H/3T3-Zelllinie
d	Dublett
δ	chemische Verschiebung
DBU	1,7-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en
d4T	3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin, Stavudin, Zerit [®]
d4U	3'-Desoxy-2',3'-didehydrouridin
ddU	3'-Desoxyuridin
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett von Dublett
<i>d.e.</i>	Diastereomerenüberschuss
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMA	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimethylsulfoxid (sechsfach deuteriert)
DNA	Desoxyribonucleinsäure
<i>d.r.</i>	Diastereomerenverhältnis
EC ₅₀	effektive Konzentration
EE	Ethylacetat

EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektronensprayionisation
FAB	fast atom bombardment
gef.	gefunden
h	Stunden
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
LDA	Lithiumdiisopropylamid
m	Multipllett
M	Molar
MeOH	Methanol
min	Minuten
MS	Massenspektrometrie
MSV	Murines Sarcom-Virus
MW	Mikrowelle
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NNRTI	nichtnucleosidischer Reverse-Transkriptase-Hemmer
NRTI	nucleosidischer Reverse-Transkriptase-Hemmer
Nucl.	Nucleosid
PE	Petrolether 50/70
ppm	parts per million
R_f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
R_t	Raumtemperatur
s	Singulett
SATE	S-Acylthioethyl
Smp.	Schmelzpunkt
t	Tripllett
t_R	Retentionszeit
Tab.	Tabelle
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran

TK	Thymidin-Kinase
TK ⁻	Thymidin-Kinase Defizienz
WHO	World <i>Health</i> Organization

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Kenntnisstand	3
2.1 Nucleosidanaloga: Metabolismus	3
2.2 Pronucleotid-Konzepte	4
2.3 Arylphosphoramidat-Pronucleotid nach <i>McGuigan</i>	6
2.4 Synthese chiraler Phosphorverbindungen	12
2.5 Asymmetrische Synthese von Phosphatriestern unter Verwendung chiraler Austrittsgruppen	14
3. Aufgabenstellung	22
4. Resultate und Diskussion	23
4.1 Synthesestrategie	30
4.2 Synthese des Thiazolidin-2-thion-Auxiliars	31
4.2.1 Synthese des Aminoalkohols	31
4.2.2 Synthese des chiralen Auxiliars (<i>S</i>)- 51a	32
4.2.3 Bestimmung des Enantiomerenüberschusses des 4- <i>iso</i> -Propylthiazolidin-2-thions (<i>S</i>)- 51a	32
4.3 Synthese des [(<i>S</i>)-4- <i>iso</i> -Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridates 52	34
4.4 Synthese des 4-Methyl-[(<i>S</i>)-4- <i>iso</i> -propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridates (<i>R_P</i>)/(<i>S_P</i>)- 65d	35
4.4.1 Bestätigung der Bildung des Phosphorchloridates (<i>R_P</i>)/(<i>S_P</i>)- 65d	38
4.4.2 Mögliche Erklärung für die Induktion am Phosphoratom	38
4.4.3 Übertragung auf andere aromatische Systeme	39
4.5 Synthese der 4-Methylphenyl- <i>N</i> -[(<i>S</i>)-methoxyalaninyl]-[(<i>S</i>)-4- <i>iso</i> -propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidate (<i>R_P</i>)- 79d , (<i>S_P</i>)- 79d	45
4.5.1 Reaktionsoptimierung zur Synthese des Phosphordiamidat-Derivates (<i>R_P</i>)- 79d	49
4.5.2 Bildung der Diastereomeregemische der Phosphordiamidat-Derivate (<i>R_P</i>)- 79d , (<i>S_P</i>)- 79d	52
4.5.3 Übertragung auf andere aromatische Reste unter Bildung der Phosphordiamidat-Derivate 79a-m	54
4.5.4 Mechanismus der Bildung von Phosphordiamidat-Derivaten	56

4.5.5 Absolute Konfiguration am Phosphoratom der Phosphordiamidat-Derivate 79a-m	59
4.5.6 Übertragung auf das Benzylester-Derivat	61
4.6 Diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden	66
4.6.1 Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide 63d nach <i>McGuigan</i>	70
4.6.2 Vergleich der Syntheserouten	72
4.6.3 Übertragung auf andere Reste und antivirale Aktivität der Diastereomere	73
4.6.4 Hydrolysestudien der synthetisierten Arylphosphoramidat-Pronucleotide	78
4.6.5 Übertragung auf andere Nucleosidanaloga	80
4.6.6 Änderung des <i>iso</i> -Propylrestes am chiralen Auxiliar gegen eine Methylgruppe	82
4.6.7 Einfluss der Base auf die Diastereoselektivität	85
4.6.8 Mechanismus zur Bildung von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden	88
4.6.9 Reaktionsoptimierung zur Synthese von S_P -Arylphosphoramidat-Pronucleotiden	91
4.6.10 Einfluss des chiralen Auxiliars auf die diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden	99
4.6.11 Vergleich der Phosphordiamidat-Derivate 79d und 108	108
4.7 Fallbeispiel	109
5. Zusammenfassung	111
6. Summary	114
7. Experimentalteil	116
7.1. Allgemeines	116
7.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	121
7.3. Synthesen	124
7.4. Reaktionsoptimierung	181
7.5. Hydrolyseexperimente	182
8. Literatur	183
9. Anhang	192
10. Gefahrstoffverzeichnis	201

1. Einleitung

Viren gehören zu den am meisten befürchteten Krankheitserregern der Menschheit. Die verursachten Krankheiten sind mit erheblichen Kosten verbunden und können in den schlimmsten Fällen zum Tod führen. Zu diesen Krankheiten gehören unter anderem die Immunschwächekrankheit AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*), Hepatitis und Krebs. Viele unterschiedliche Nucleosidanaloga besitzen antivirale Aktivität und werden deshalb als Medikamente eingesetzt.¹ Nucleosidanaloga sind modifizierte Nucleoside, die zum einen Veränderungen in der Nucleobase und zum anderen am Glycon aufweisen. Die in Abb. 1 dargestellten Nucleosidanaloga weisen antivirale Aktivität gegen verschiedene Krankheiten auf.

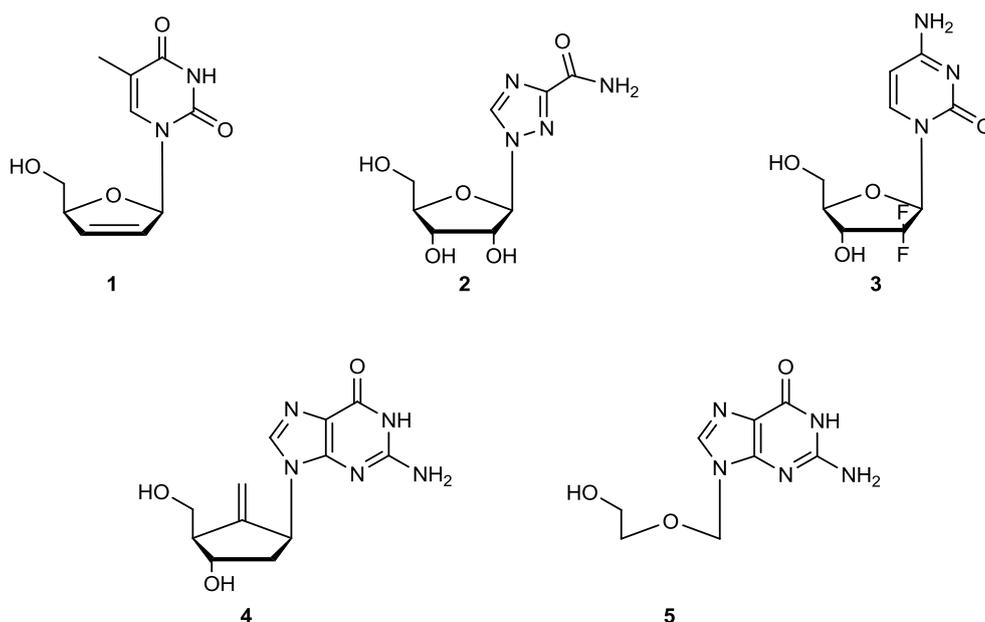


Abb. 1 Antiviral aktive Nucleosidanaloga

Das Nucleosidanalogen 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T, Stavudin, Zerit®) **1** gehört zu den nucleosidischen Reverse-Transkriptase-Hemmern (NRTI).² Die Reverse Transkriptase ist ein wichtiges Enzym des HI-Virus, dessen Aufgabe die Umschreibung des einzelsträngigen viralen RNA-Stranges in einen doppelsträngigen DNA-Strang darstellt. Der Vorgang ist von entscheidender Bedeutung für die Virusreplikation. Aus diesem Grund gehört die Inhibition dieses Enzyms zu einer möglichen Strategie zur Behandlung von HIV-Infektionen. Die Kombination verschiedener Strategien führte zur HAART-Therapie (*Highly Active Anti-Retroviral*

Therapy) zur Behandlung der HIV-Erkrankung.³ Diese Kombinationstherapie besteht aus Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (nucleosidische und nichtnucleosidische Reverse-Transkriptase-Hemmer), Protease-Inhibitoren, Entry-Inhibitoren und Integrase-Inhibitoren. Die Therapie führt nicht zur Heilung, verhindert aber das Fortschreiten der Krankheit und verbessert die Lebensqualität der Patienten signifikant.

Hepatitis B gehört zu den meist verbreiteten Infektionskrankheiten, über 2 Milliarden Menschen wurden infiziert und etwa 350 Millionen sind chronisch mit dem Hepatitis B Virus (HBV) infiziert.⁴ Nucleosidanaloga gehören zu den HBV-Polymerase-Inhibitoren und werden zur Behandlung chronischer Hepatitis B Infektionen eingesetzt. Als Beispiel ist Entecavir (Baraclude[®]) **4** in Abb. 1 dargestellt. Nach Angaben der WHO (World Health Organization) sind mehr als 170 Millionen Menschen weltweit mit dem Hepatitis C Virus (HCV) infiziert.⁵ Das HC-Virus verursacht schwere Leberschädigungen, wie Leberzirrhose und Leberkrebs. Das Nucleosidalogon 1- β -D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-carboxamid (Ribavirin, Copegus[®]) **2** wird als Medikament gegen Hepatitis C eingesetzt.⁶

Eine der schlimmsten Krankheiten unserer Zeit ist Krebs. Nach Angaben der WHO starben im Jahr 2008 7.6 Millionen Menschen an Krebs.⁷ Auch hier kommen Nucleosidanaloga zum Einsatz. Das in Abb. 1 gezeigte 2',2'-Difluor-2'-desoxycytidin (Gemcitabin, Gemzar[®]) **3** ist ein Zytostatikum, das unter anderem gegen Ovarial-, nicht-kleinzellige Bronchial- oder Mammakarzinome verwendet wird.^{8,9}

Herpesviren rufen weitere Arten von Erkrankungen hervor. Verbreitete Herpesviren sind beispielhaft das Herpes-Simplex-Virus (HSV) und das Varizella-Zoster-Virus (VZV). Nucleosidanaloga wie 9-(2-Hydroxyethoxymethyl)guanin (ACV, Aciclovir, Zovirax[®]) **5** werden erfolgreich gegen Herpesviren eingesetzt.¹⁰

2. Kenntnisstand

2.1 Nucleosidanaloga: Metabolismus

Nucleosidanaloga sind inaktive Verbindungen, die erst nach der enzymatischen Metabolisierung in das Nucleosidtriphosphat antiviral aktiv sind. Die Metabolisierung des Nucleosidanalogs d4T **1** ist in Abb. 2 dargestellt.

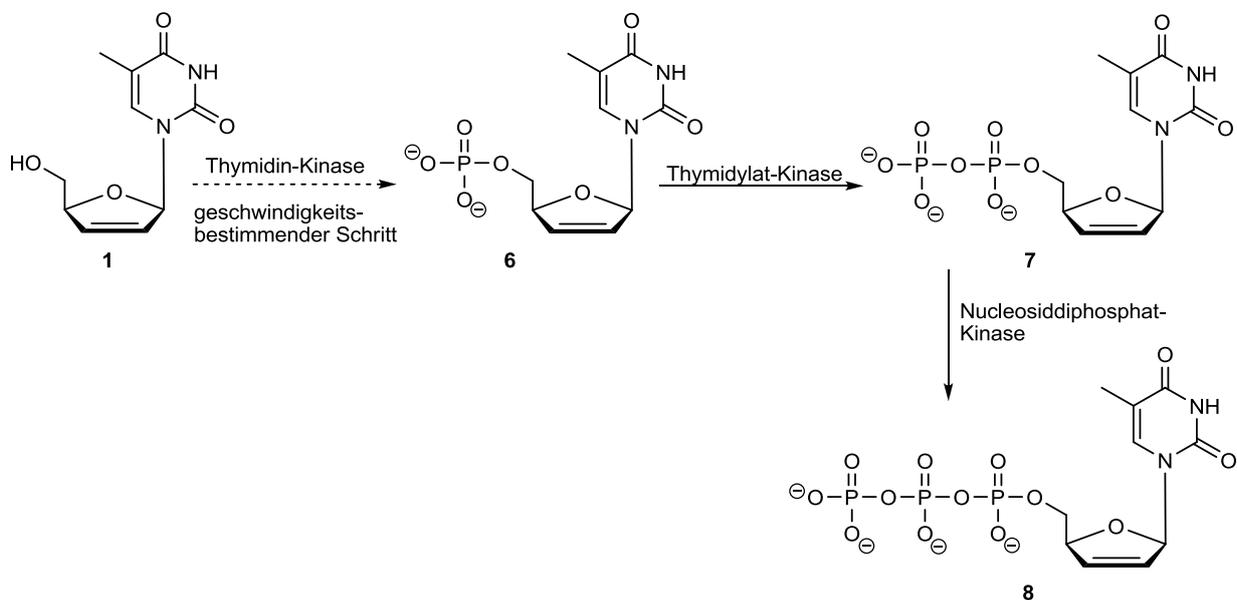


Abb. 2 Enzymatische Phosphorylierung von d4T **1** zu dem biologisch aktiven Nucleosidtriphosphat **8**

Der erste Phosphorylierungsschritt wird durch das Enzym Thyminidyl-Kinase katalysiert und führt zur Bildung des Nucleosidmonophosphates **6**. Zwei weitere Phosphorylierungsschritte, die durch unterschiedliche zelluläre Kinasen katalysiert werden, führen zur Bildung der biologisch aktiven Form, dem Nucleosidtriphosphat **8**. Die Bildung des Nucleosidmonophosphates **6** ist kinetisch gehemmt, weswegen es sich um den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Metabolisierung handelt.¹¹ Aus diesem Grund ist die Wahrscheinlichkeit, das Nucleosidanalogen in die aktive Spezies zu überführen, äußerst gering. Zusätzlich stellen die Eigenschaften des Nucleosidmonophosphates weitere Probleme dar. Die zwei negativen Ladungen am Phosphat verhindern, dass das Monophosphat die hydrophobe Zellmembran durchdringen kann. Des Weiteren ist das Monophosphat im biologischen Medium

labil, wobei unspezifische Phosphatasen zu Dephosphorylierungsreaktionen führen können. Diese Probleme führten zu Strategien, die die Freisetzung des Nucleosidmonophosphates in der Zelle ermöglichen, die sogenannten Pronucleotid-Konzepte. Die Maskierung der beiden negativen Ladungen am Monophosphat mit hydrophoben Masken ermöglicht die Durchdringung der Zellmembran. In der Zelle werden die Masken abgespalten und das Nucleosidmonophosphat freigesetzt, welches dann enzymatisch zum Nucleosidtriphosphat überführt werden kann. Diese Strategie ermöglicht es, den geschwindigkeitsbestimmenden Phosphorylierungsschritt zu umgehen.

2.2 Pronucleotid-Konzepte

Verschiedene Pronucleotid-Konzepte wurden entwickelt, um Nucleosidmonophosphate in der Zelle freizusetzen. Die unterschiedlichen Masken führten unter anderem zu folgenden Pronucleotid-Systemen:

- *cycloSal*-NMP [**cycloSal**igenyl-Nucleosidmonophosphat]¹²
- HepDirect[®]-Pronucleotid¹³
- Bis-(SATE)-Nucleotide [Bis-(**S-Acyl-2-thioethyl**-)]^{14,15}
- Mixed-(SATE)-Nucleotide [Aryl-(**S-Acyl-2-thioethyl**-) oder (**S-Acyl-2-thioethyl**-)phosphoramidatdiester]¹⁶
- Arylphosphoramidatnucleosidmonoester¹⁷
- Phosphoramidatnucleosiddiester^{18,19}
- Bis-(POM)-Nucleotide [Bis-(**Pivaloyloxymethyl**-)]^{20,21}
- Bis-(POC)-Nucleotide [Bis-(*iso*-**Propyloxycarbonyloxymethyl**-)]^{22,23}

Die intrazelluläre Freisetzung der Nucleosidmonophosphate erfolgt in den meisten Fällen enzymatisch. Die einzige Ausnahme stellt das *cycloSal*-Konzept dar, dessen Aktivierung auf einer chemischen Hydrolyse basiert. Das *cycloSal*-Pronucleotid wurde 1996 von *Meier* entwickelt, um die enzymabhängige Aktivierung der Pronucleotide zu umgehen.²⁴ Alle weiteren Pronucleotid-Konzepte sind von der Anwesenheit der Enzyme abhängig, z.B. Carboxyesterasen.

Die in Abb. 3 gezeigten Pronucleotid-Systeme weisen ein Stereozentrum am Phosphoratom auf und liegen aufgrund ihrer Synthesen als Diastereomere vor.

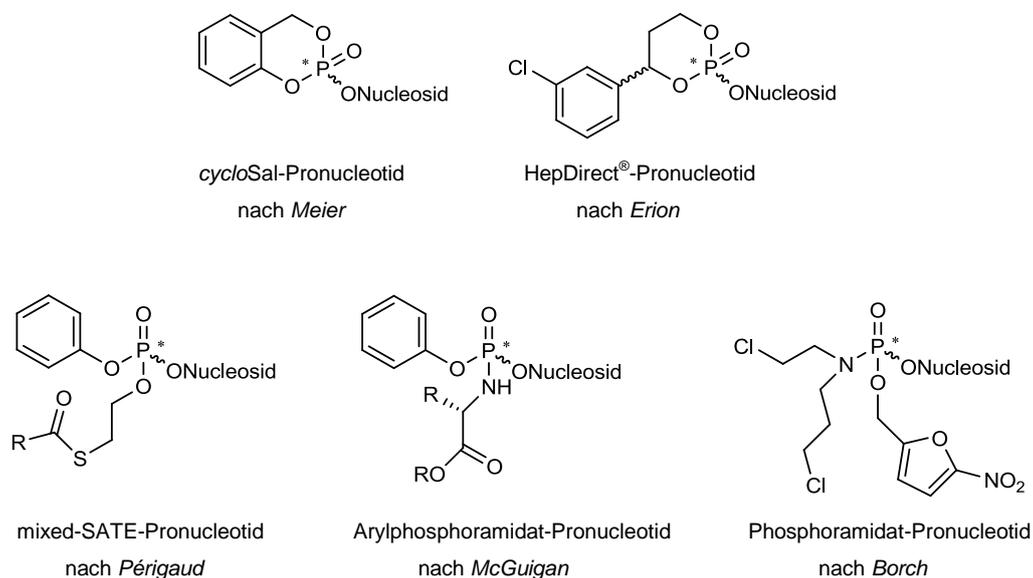


Abb. 3 Pronucleotid-Systeme mit einem chiralen Phosphoratom

Diastereomere haben verschiedene chemische und physikalische Eigenschaften und weisen teilweise erhebliche Unterschiede in ihren biologischen Eigenschaften auf. Zusätzlich ist die chromatographische Trennung der Diastereomere erschwert oder gänzlich unmöglich. In den Fällen, in denen es möglich war, die Diastereomere chromatographisch voneinander zu trennen, wurde beobachtet, dass die biologische Aktivität und Toxizität der Diastereomere signifikant verschieden sein kann. Bei 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP **9** (Abb. 4) wird die antivirale Aktivität gegen HIV von der Stereochemie am Phosphoratom beeinflusst. Das R_P -Diastereomer zeigt *in vitro* eine 11-fach höhere Aktivität gegen HIV als das S_P -Diastereomer.²⁵

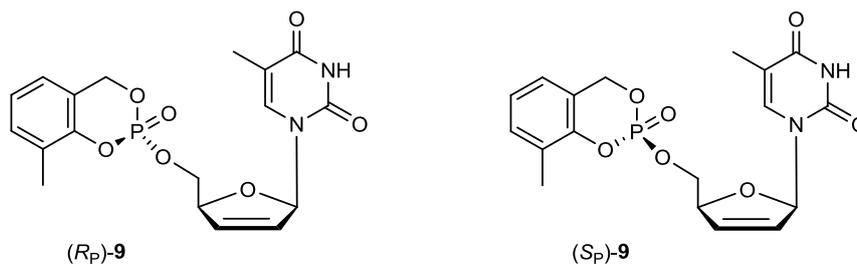


Abb. 4 3-Methyl-*cycloSal*-d4TMP (R_P)-**9** und (S_P)-**9**

2.3 Arylphosphoramidat-Pronucleotid nach *McGuigan*

Das Arylphosphoramidat-Pronucleotid wurde 1992 von *McGuigan et al.* entwickelt.^{26,27} Das Konzept basiert auf der Einführung von zwei unterschiedlichen Masken am Nucleosidmonophosphat, ein Aryl- und ein Aminosäureester-Rest. Besonders der Aminosäureester-Substituent erwies sich als entscheidend, um den Erfolg des Systems zu erzielen. Die Synthese der Pronucleotide erfolgt dreistufig und liefert ein Gemisch der Diastereomere im Verhältnis 1:1. Abb. 5 zeigt die allgemeine Syntheseroute der Arylphosphoramidat-Pronucleotide nach *McGuigan*.

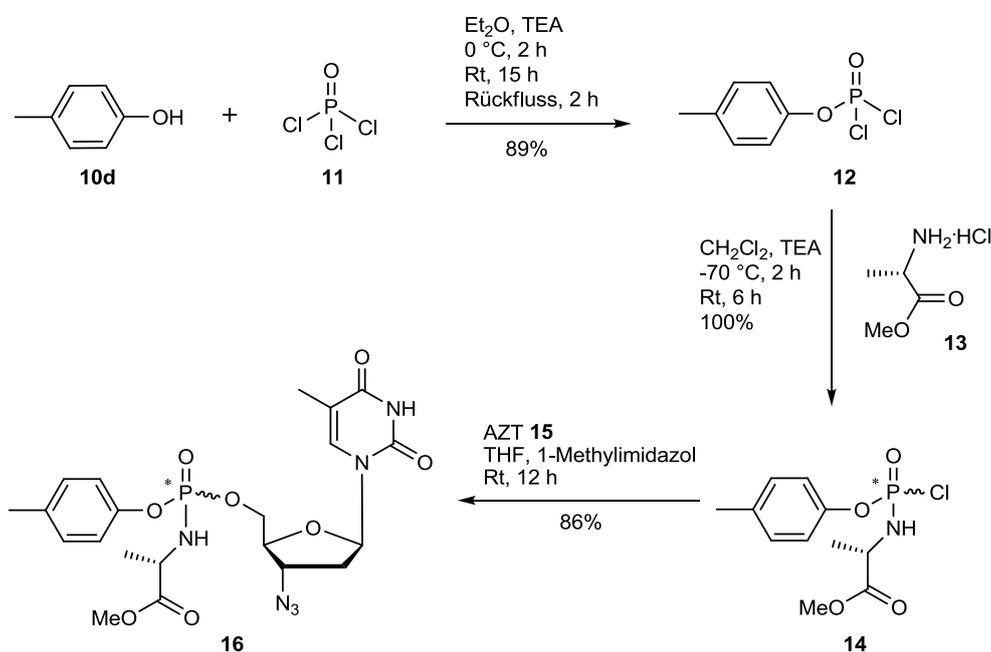


Abb. 5 Allgemeines Syntheschema zur Darstellung von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **16** nach *McGuigan*

Die Umsetzung von 4-Methylphenol **10d** mit Phosphorylchlorid **11** liefert das Phosphordichloridat **12**. Die weitere Umsetzung mit (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** führt zum Phosphorchloridat **14**, das als 1:1 Diastereomergemisch vorliegt. Die anschließende Kupplung des Phosphorchloridates **14** mit dem Nucleosidanalogen AZT **15** führt zur Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **16**. Die in der Literatur angegebenen chemischen Ausbeuten beziehen sich auf das Diastereomergemisch, weshalb die theoretische Ausbeute von 50% eines Diastereomers nicht überschritten werden kann.

Der Erfolg des Arylphosphoramidat-Systems basiert auf der enzymatischen Metabolisierung, an welcher zwei Enzyme beteiligt sind. Abb. 6 stellt den Mechanismus zur Freisetzung des Nucleosidmonophosphates **21** dar.²⁸

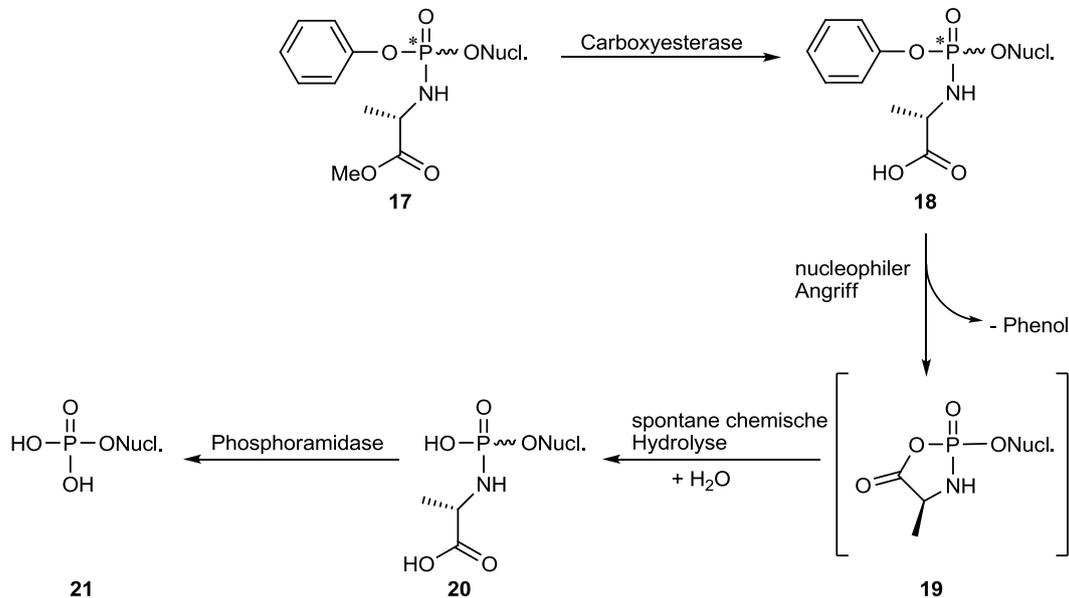


Abb. 6 Mechanismus der Freisetzung vom Nucleosidmonophosphat **21** aus dem Arylphosphoramidat-Pronucleotid **17**

Der Aminosäureester wird zuerst durch Carboxyesterasen gespalten. Nach Angaben von *Birkus et al.* ist das Enzym Cathepsin A hauptverantwortlich für die Esterabspaltung.²⁹ Die entstandene Carbonsäure greift nucleophil am Phosphoratom an, wobei der Phenolrest abgespalten wird. Der intramolekulare Angriff führt zum zyklischen Intermediat **19**, das aufgrund seiner Instabilität eine spontane chemische Hydrolyse eingeht. Es bildet sich das L-Alaninyl-nucleosidmonophosphat **20**, wobei der Aminosäure-Rest durch das Enzym Phosphoramidase abgespalten wird und zur Freisetzung des freien Nucleotids **21** führt. Nach Angaben von *McGuigan et al.* ist vermutlich das Enzym Hint1 hauptverantwortlich für die P-N-Abspaltung.³⁰

Die Aktivierung des Arylphosphoramidat-Systems hängt ausschließlich von den beteiligten Enzymen ab. Eine Vielzahl von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden wurde in der Arbeitsgruppe von *McGuigan* synthetisiert, um die optimalen Substituenten für die Enzyme zu finden. Der Aminosäure-Rest ist hierbei von großer Bedeutung, da die Verwendung anderer Amine zu dem kompletten Verlust der antiviralen Aktivität führt.³¹ Hingegen führt der Austausch der Aminosäure gegen andere Amine bei den

SATE-Phosphoramidaten zu keinem signifikanten Unterschied.¹⁵ Besonders das Pronucleotid IDX184 mit einem Benzylamin-Rest zeigt eine verstärkte antivirale Aktivität gegen das Hepatitis C Virus.³² L-Alanin erzielt bei den Arylphosphoramidat-Pronucleotiden die besten antiviralen Daten, wobei die Stereoinformation der Aminosäure entscheidend für die antivirale Aktivität ist.³³ Der Austausch von L-Alanin gegen D-Alanin führt zu deutlich schlechterer antiviraler Aktivität.³⁴ Der Einfluss des Aminosäureesters ist ebenso von Bedeutung in Bezug auf die Stabilität des Arylphosphoramidat-Pronucleotides. Die Änderung des Methylesters gegen Ethyl- bzw. *tert*-Butylester führt zu dem Verlust der antiviralen Aktivität.³⁵ Die Aktivitätsverluste wurden mit der Stabilität der Ester gegen den Carboxyesterase-vermittelten Abbau korreliert. Die Methyl- und Benzylester der Arylphosphoramidat-Pronucleotide sind die wirksamsten Ester-Derivate.

Der Mechanismus der Pronucleotid-Metabolisierung hängt von der Austrittstendenz des Phenylrestes ab, wobei die Phenolabspaltung die Bildung des zyklischen Intermediats **19** ermöglicht (Abb. 6, S. 7). Der Austausch der Phenoxygruppe gegen Methoxy bzw. Ethoxy führt zu vollständig inaktiven Verbindungen.³⁶ Die Substitution am Phenylrest spielt ebenso eine wichtige Rolle, wobei das aktivste Derivat den 4-Chlor Substituenten besitzt. Diese Änderung führt zu einer 14-fach besseren antiviralen Aktivität im Vergleich zu dem unsubstituierten Phenol-Derivat. *McGuigan et al.* postulierten nach verschiedenen Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen, dass die anti-HIV Aktivität der Arylphosphoramidat-Pronucleotide von der Lipophilie der Verbindung im Quadrat abhängig ist.³⁶ Andere Eigenschaften, wie die Einführung sterisch gehinderter Substituenten oder elektronische Effekte führten zu keiner Abhängigkeit. Abb. 7 zeigt eine allgemeine Darstellung der Strukturmerkmale von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden.³⁷

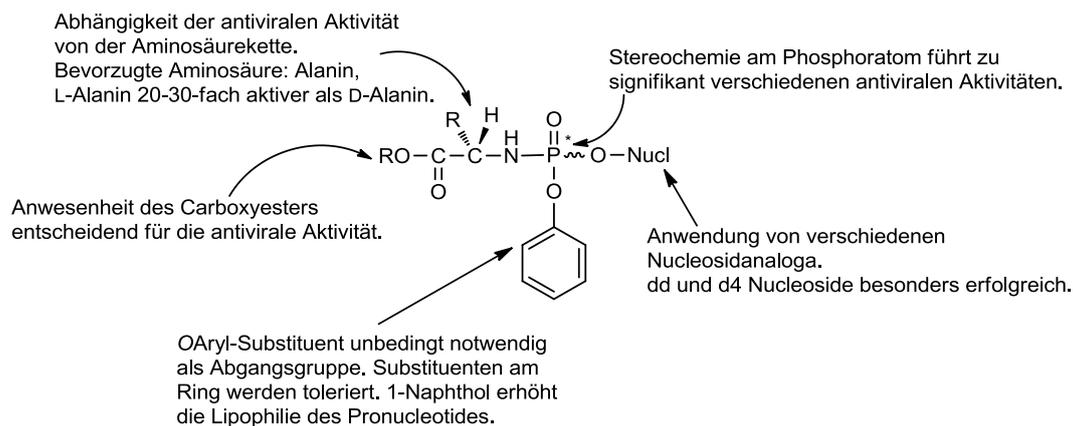


Abb. 7 Entscheidende Strukturmerkmale der Arylphosphoramidat-Pronucleotide nach *McGuigan*

Die Stereoinformation am Phosphoratom spielt eine entscheidende Rolle in Bezug auf die antivirale Aktivität. Die Syntheseroute nach *McGuigan* liefert stets ein 1:1 Diastereomergemisch. In einigen Fällen war es möglich, beide Diastereomere mittels *reversed phase* HPLC oder wiederholten säulenchromatographischen Reinigungen zu trennen. Allerdings konnte in den meisten Fällen keine Trennung der Diastereomere erzielt werden. *McGuigan et al.* verwendeten das *molecular imprinting* Verfahren, um eine Reihe von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden voneinander zu trennen.^{38,39} Das Verfahren des molekularen Prägens wurde von *Wulff* entwickelt und basiert auf nicht-kovalenten Wechselwirkungen zwischen Monomeren mit funktionellen Gruppen und einem Templatmolekül.⁴⁰ Die Polymerisation der Monomere ermöglicht die Vernetzung des Templatmoleküls, das von einem Polymer umschlossen wird. Nach der Abspaltung des Templatmoleküls bleiben Hohlräume im Polymer zurück, die in Bezug auf Größe und räumliche Anordnung komplementär zum Templatmolekül sind. Mit Hilfe dieser Hohlräume kann dann das geprägte Polymer das Templatmolekül erkennen.

Das von *McGuigan et al.* verwendete *molecular imprinting* Verfahren beruhte auf nicht-kovalenten Wechselwirkungen. Es handelt sich dabei um Dipol-, Wasserstoffbrückenbindungen-, π - π - und hydrophobe Wechselwirkungen. Das Templatmolekül war ein diastereomerenreines Arylphosphoramidat-Pronucleotid, das mittels *reversed phase* HPLC erhalten werden konnte. Nach der Polymerisation und anschließender Abspaltung des Templatmoleküls wurde das geprägte Polymer als stationäre Phase bei der HPLC verwendet, um Diastereomergemische zu separieren. Die Voraussetzung für die erfolgreiche Trennung war, dass das zu

trennende Diastereomerengemisch Strukturähnlichkeiten zu dem Templatmolekül aufwies. Auf diese Weise wurde die Trennung auf eine bestimmte Gruppe von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden beschränkt. Ein weiterer Nachteil der Methode lag darin, dass nur Trennungen im Labormaßstab durchgeführt werden konnten. Das Verfahren lieferte somit keine allgemeine Methode, um die Trennung der Diastereomere zu erzielen.

In den Fällen, in denen es möglich war, die Diastereomere zu trennen, wurde eine verstärkte biologische Aktivität eines Diastereomers festgestellt. Das PMPA Arylphosphonamidat-Pronucleotid GS-7340 (S_P)-**22** stellt ein Beispiel dar.^{41,42} Das S_P -Diastereomer ist 10-fach aktiver gegen HIV als das R_P -Diastereomer (Abb. 8). Die Diastereomere wurden an einer chiralen Phase durch präparative HPLC getrennt, wobei die absolute Konfiguration am Phosphoratom mit der Einkristallstrukturanalyse von GS-7340 (S_P)-**22** bestimmt werden konnte.

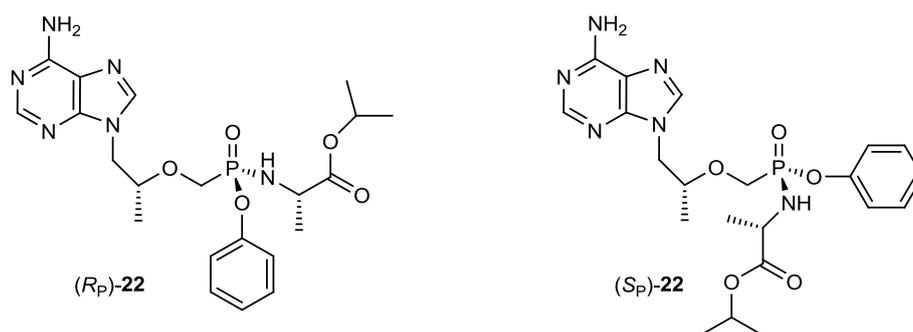


Abb. 8 PMPA Phosphonamidat-Pronucleotide GS-7339 (R_P)-**22** und GS-7340 (S_P)-**22**

Signifikante Unterschiede der Diastereomere zeigen auch andere Beispiele. Die Diastereomere des Prodrug-Systems des Nucleosidanalogons BVdU **23** wurden gegen Brustkrebs getestet. Die Konfiguration am Phosphoratom konnte nicht anhand einer Einkristallstrukturanalyse zugeordnet werden, entscheidend für die Unterscheidung war die Retentionszeit der Diastereomere an der HPLC. Des Weiteren wurde die S_P -Konfiguration mittels NMR-Studien und *molecular modeling* Rechnungen für das langsamer eluierende Diastereomer von **23** vorgeschlagen, das eine 10-fach aktivere Wirkung als das Diastereomerengemisch zeigte (Abb. 9).⁴³

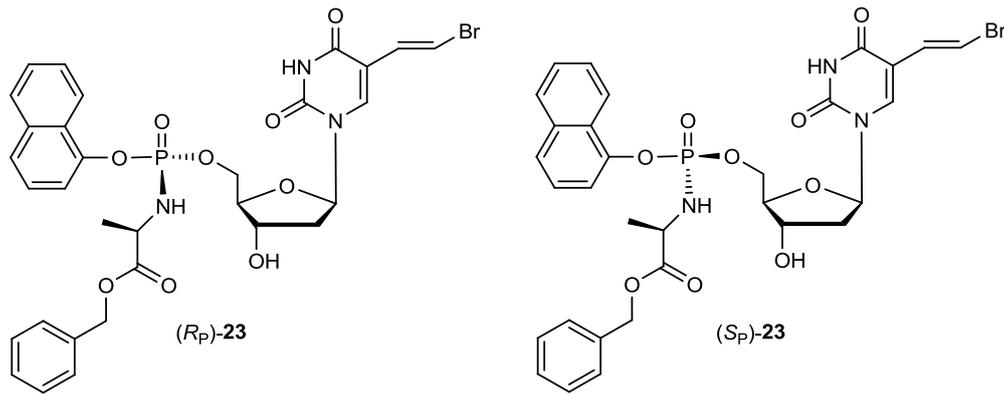


Abb. 9 BVdU Phosphoramidat-Pronucleotide (R_P)-**23** und (S_P)-**23**

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die antivirale Aktivität gegen Hepatitis C genauso von der Stereochemie am Phosphoratom beeinflusst wird. In dem Fall der Phosphoramidat-Pronucleotide des Nucleosidanalogons 2'-Desoxy-2'-fluoro-2'-C-methyluridin **24** zeigte das S_P -Diastereomer mehr als 10-fach höhere Aktivität als das R_P -Diastereomer (Abb. 10). Die Trennung der Diastereomere fand mittels *reversed phase* HPLC statt.⁴⁴

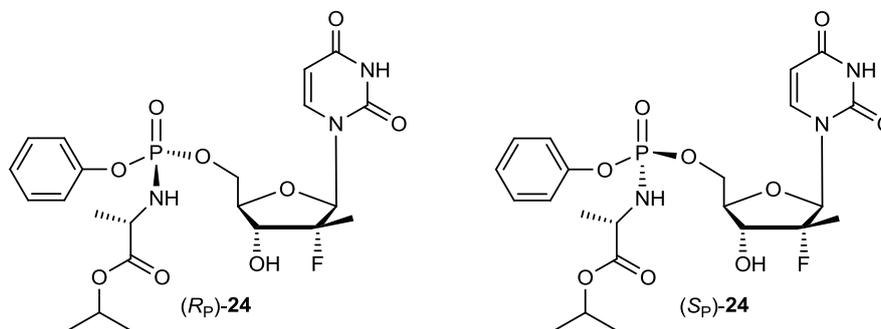


Abb. 10 Arylphosphoramidat-Pronucleotide PSI-7976 (R_P)-**24** und PSI-7977 (S_P)-**24**

Weitere Beispiele gegen Hepatitis C stellen die in Abb. 11 gezeigten Phosphoramidat-Pronucleotide von 2'-C-Methylcytidin **25** dar. Die Trennung der Diastereomere erfolgte mittels *reversed phase* HPLC, wobei das langsam eluierende Diastereomer 8-fach aktiver als das schnell eluierende war.⁴⁵

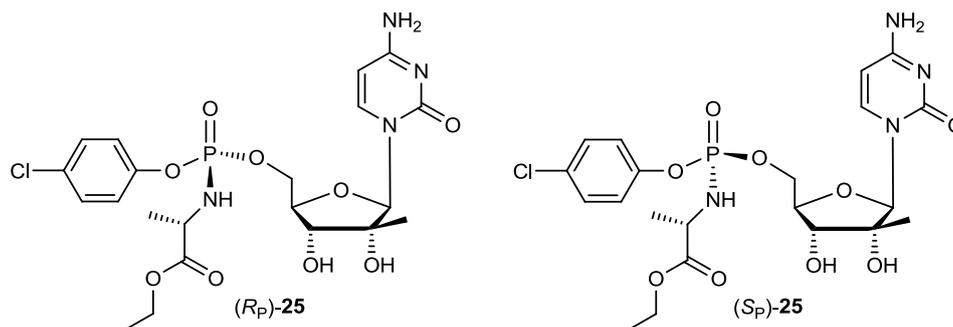


Abb. 11 Arylphosphoramidat-Pronucleotide (R_p)-25 und (S_p)-25

Die biologische Aktivität der Diastereomere der Phosphoramidat-Pronucleotide war nicht in allen Fällen signifikant verschieden. Das Beispiel der Phosphoramidat-Pronucleotide des Nucleosidanalogons 6-O-2'-C-Methylguanosin **26** stellte eine Ausnahme dar (Abb. 12). Nach der säulenchromatographischen Trennung der Diastereomere an einer chiralen stationären Phase, zeigten die Pronucleotide ähnliche antivirale Aktivität gegen Hepatitis C.⁴⁶

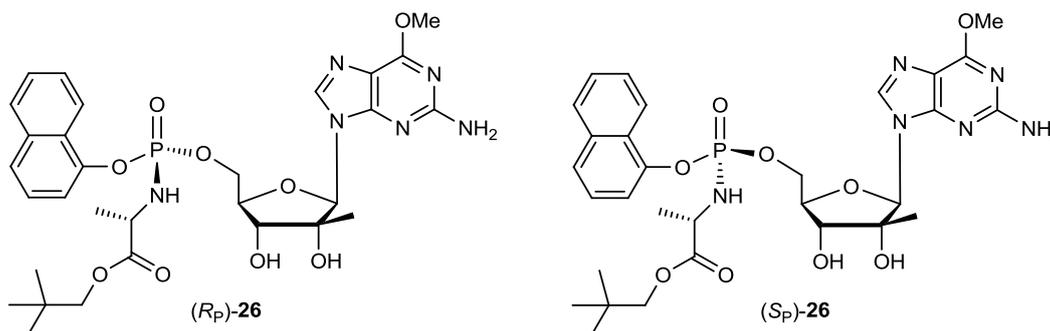


Abb. 12 Arylphosphoramidat-Pronucleotide INX-08189 (R_p)-26 und INX-08189 (S_p)-26

2.4 Synthese chiraler Phosphorverbindungen

Die Darstellung von chiralen Phosphorverbindungen kann auf drei Strategien zurückgeführt werden: Trennung der Stereoisomere, enzymatische Katalyse und asymmetrische Synthese. Zur Einführung von Chiralitätszentren in phosphorhaltigen Verbindungen hat sich die asymmetrische Synthese als geeignete Strategie erwiesen. Die Vorteile gegenüber den anderen Strategien bestehen unter anderem in der allgemeinen Durchführbarkeit, der bevorzugten Bildung eines Stereoisomers und der Unabhängigkeit von einem substratspezifischen Enzym.

Die asymmetrische Synthese von Phosphorthioat-Oligonucleotiden wurde von *Stec et al.* publiziert.⁴⁷ Die Synthesemethode basiert auf der Einführung eines Oxathiaphospholan-Ringes an der 3'-Position des 5'-O-DMTr-geschützten Nucleotids **29**, das nach der Kupplung des *N,N*-diisopropylamin-1,3,2-oxathiaphospholans **27** mit dem 5'-O-DMTr-geschützten Nucleosid **28** gebildet wird. Nach der Deprotonierung mit DBU erfolgt der nucleophile Angriff des 3'-geschützten Nucleosids **30** unter selektiver Ringöffnung des Oxathiaphospholan-Ringes und führt zur gewünschten S_P -Konfiguration am Phosphoratom in **31**. Nach der spontanen Eliminierung von Ethylensulfid wird das Dinucleotid **32** gebildet. Es folgen weitere Kupplungsschritte, die nach der Abspaltung der Schutzgruppen das S_P -Phosphorthioat-Oligonucleotid **33** liefern (Abb. 13).

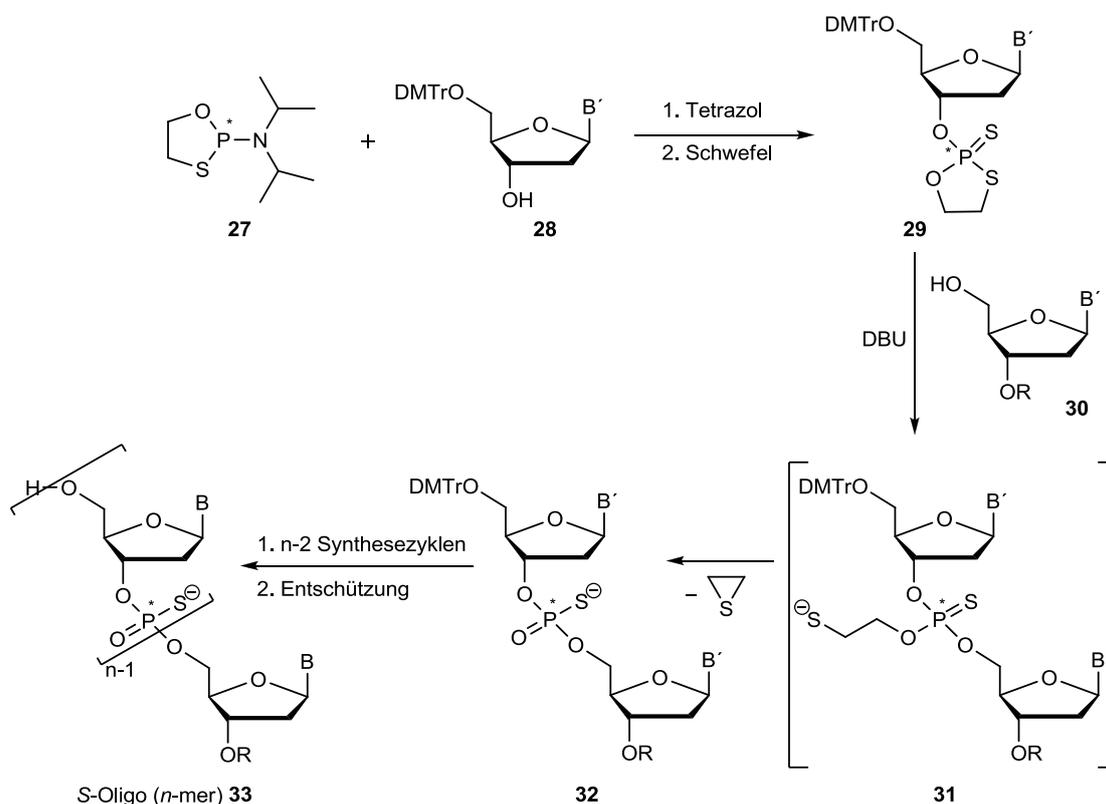


Abb. 13 Stereoselektive Synthese von Phosphorthioat-Oligonucleotiden **33** nach *Stec*

Wada et al. erzielten die stereoselektive Synthese von phosphormodifizierten Oligonucleotiden (Abb. 14).⁴⁸ Die Methode basiert auf der Einführung des Oxazaphospholidin-Ringes an der 3'-Position des 5'-O-DMTr-geschützten Nucleosids **35** unter Bildung des chiralen Phosphoramidites **36**. Die Kupplung mit dem 5'-ungeschützten Nucleosid **37** sollte unter Erhalt der Stereoinformation stattfinden. Die Verwendung von 1*H*-Tetrazol als Aktivator hätte den Verlust der

Stereoinformation am Phosphoramidit **36** zur Folge. Aus diesem Grund entwickelten *Wada et al.* den Aktivator *N*-(Cyanomethyl)pyrrolidinium-Trifluormethansulfonat **38**, der das Stickstoffatom des Oxazaphospholidin-Ringes protoniert und die Bildung des chiralen Phosphits **39** ermöglicht.⁴⁹ Die Protonierung von **39** und folgende Eliminierung des Alkylamin-Restes liefert das chirale *H*-Phosphonatdiester **41**. Die Derivatisierung von **41** führte zur stereoselektiven Synthese von phosphormodifizierten Oligonucleotiden **42**.

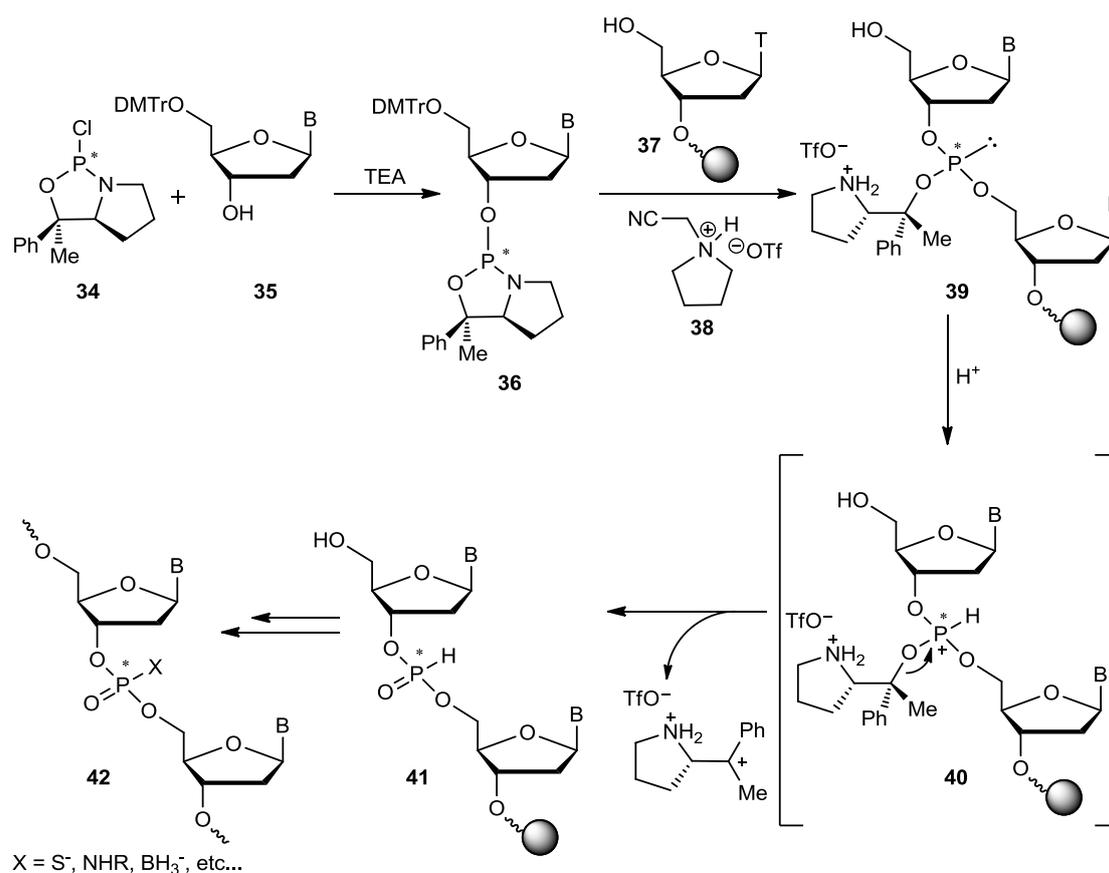


Abb. 14 Stereoselektive Synthese von Gerüst-modifizierten DNA-Analoga **42** nach *Wada*

2.5 Asymmetrische Synthese von Phosphatriestern unter Verwendung chiraler Austrittsgruppen

Im Jahr 1990 wurde die Synthese von chiralen Phosphatriestern nach *Nakayama et al.* veröffentlicht (Abb. 15).⁵⁰ Bei der Synthese wurde eine asymmetrische Induktion am Phosphoratom beobachtet, die mit Hilfe eines Chelatisierungsmodells erklärt wurde.

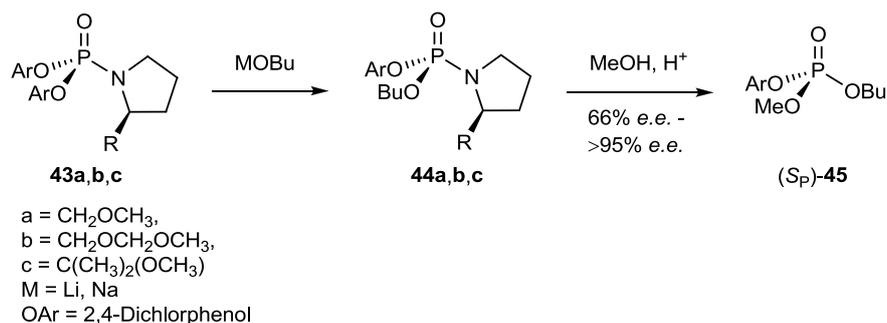


Abb. 15 Asymmetrische Induktion am Phosphoratom bei der Synthese von Phosphatriestern (S_P)-45 nach Nakayama

Thomann widerlegte diese Hypothese durch die Verwendung von DBU als metallfreie Base.⁵¹ Die Umsetzung von Salicylalkohol **46** und Dichlorthiophosphoramidat **47** in Aceton mit DBU führte zur diastereoselektiven Synthese der Thiophosphoramidate **48**. Der Diastereomerenüberschuss der Reaktion betrug 60% (Abb. 16).

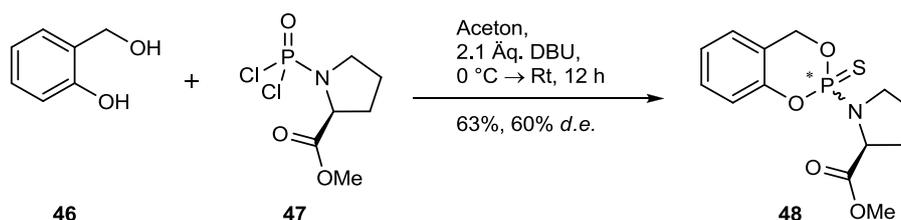


Abb. 16 Diastereoselektive Synthese der Thiophosphoramidate **48**

Dieses Experiment bestätigte die Annahme, dass die Induktion am Phosphoratom durch andere Faktoren verursacht wurde. Thomann stellte zuerst die Hypothese auf, dass der partielle Doppelbindungscharakter der P-N-Bindung (~165 pm) die Induktion am Phosphoratom verursachte. Das Modell erklärte die beobachtete Stereoselektivität mit der Rigidität der partiellen Doppelbindung. Die gehinderte Rotation um die P-N-Bindung würde den nucleophilen Angriff von der sterisch weniger gehinderten Seite begünstigen. DFT-Rechnungen widerlegten die Hypothese und behaupteten, dass die vorhandene Rotationsbarriere um die partielle P-N-Doppelbindung keinen Einfluss auf die Stereoselektivität besitzt. Thomann begründete die Induktion am Phosphoratom später mit dem Curtin-Hammett-Prinzip, welches durch DFT-Rechnungen und MO-Abschätzungen bestätigt werden konnte. Thomann postulierte den in Abb. 17 dargestellten Reaktionsmechanismus zur bevorzugten Bildung des Thiophosphoramidates (S_P)-48.

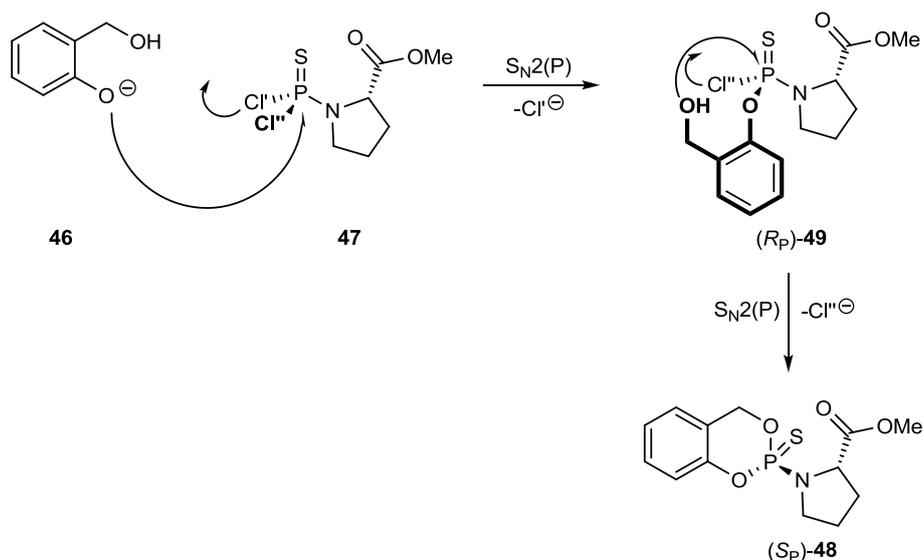


Abb. 17 Postulierter Reaktionsmechanismus der stereoselektiven Bildung von (S_P)-48

Der Mechanismus der Reaktion wurde als S_N2(P) postuliert, wobei der nucleophile Angriff unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom erfolgte. Der nucleophile Angriff der Phenolatfunktion des Salicylalcohols **46** auf das Phosphoratom von Dichlorthiophosphoramidat **47** erfolgte aus dem energetisch niedrigsten Übergangszustand. Der Angriff findet bevorzugt aus dem *re*-Halbraum (Unterseitenangriff) statt und lieferte das R_P-konfigurierte Intermediat (R_P)-49. Der vermutete Übergangszustand der Reaktion, der auf der Einkristallstrukturanalyse von Dichlorthiophosphoramidat **47** basierte, ist in Abb. 18 dargestellt.

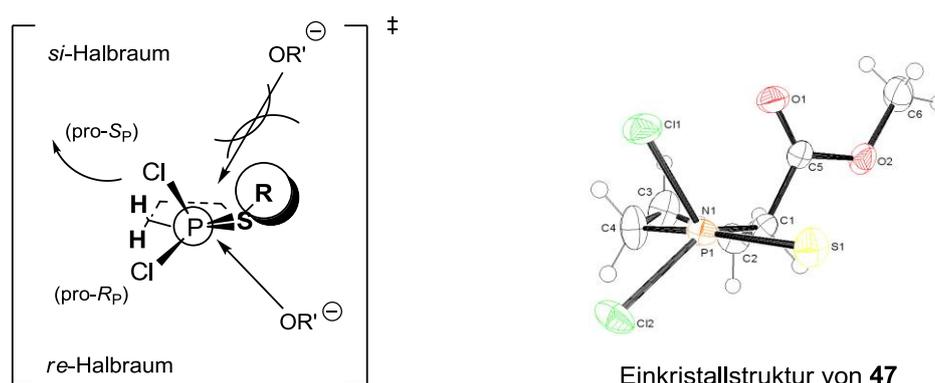


Abb. 18 Übergangszustand zur bevorzugten Bildung des Intermediats (R_P)-49 basierend auf der Einkristallstrukturanalyse von Dichlorthiophosphoramidat **47**

Die Induktion am Phosphoratom wurde durch die Differenz der *Freien Energie* $\Delta\Delta G^\ddagger$ der beiden möglichen Übergangszustände bestimmt. Der energieärmste Übergangszustand wird stets bevorzugt, wobei je größer die Differenz der *Freien*

Energie $\Delta\Delta G^\ddagger$ ist, desto höher der Diastereomerenüberschuss. Der weitere nucleophile Angriff des Benzylsauerstoffatoms auf das Phosphoratom des bevorzugt gebildeten Intermediats (R_P)-**49** führte zur Bildung des (S_P)-Diastereomers (S_P)-**48**.

Die weitere Umsetzung vom Thiophosphoramidat (S_P)-**48** mit dem Nucleosidanalogen d4T **1** unter sauren Reaktionsbedingungen konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden (Abb. 19).

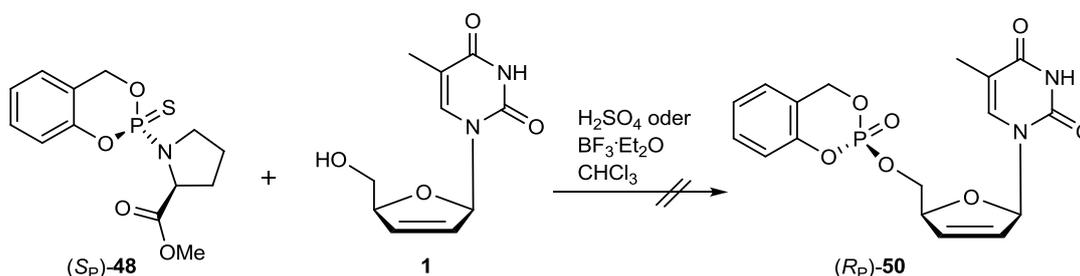


Abb. 19 Versuch der diastereoselektiven Synthese des *cycloSal*-Phosphat triesters (R_P)-**50**

Die Kupplung fand aufgrund der schlechten Austrittstendenz des Pyrrolidin-Ringes nicht statt. *Thomann* veränderte die Struktur des chiralen Auxiliars, um eine bessere Austrittstendenz unter milderen Reaktionsbedingungen zu erzielen. Die besten Ergebnisse wurden mit 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion **51** als chiraalem Auxiliar erzielt und führten erstmals zur diastereoselektiven Synthese des (S_P)-*cycloSal*-Phosphat triesters (S_P)-**55** (Abb. 20).⁵²

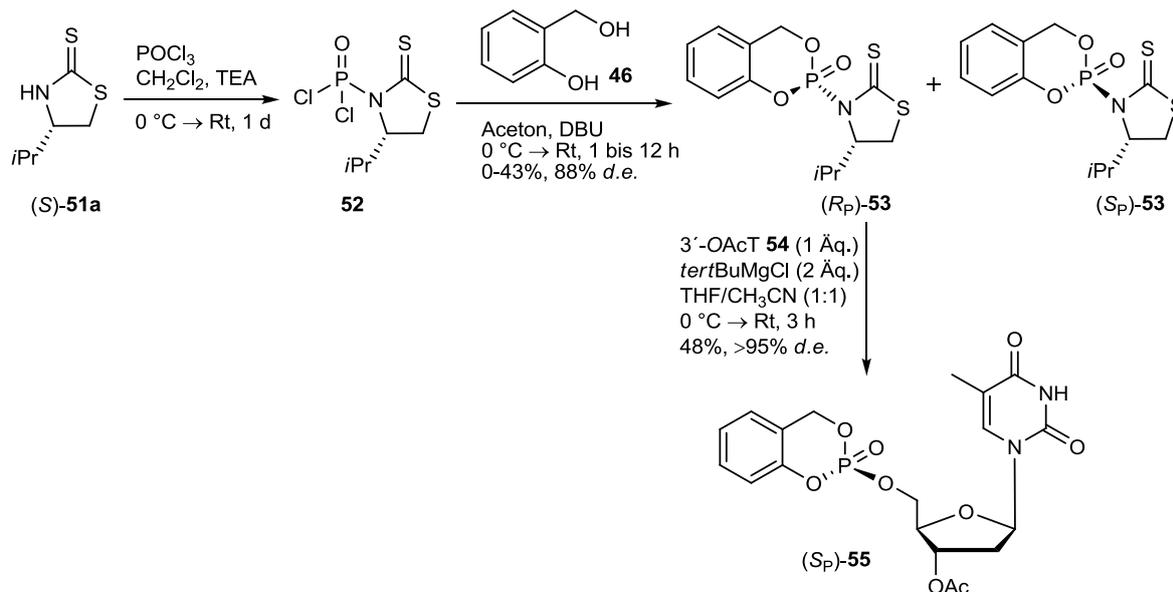


Abb. 20 Diastereoselektive Synthese von *cycloSal*-3'-OAc-dTMP (S_P)-55

Das chirale Auxiliar (S)-51a wurde bereits erfolgreich für asymmetrische Aldol-Additionen verwendet.⁵³ Die Kupplung von 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (S)-51a mit Phosphorylchlorid führte zum Phosphordichloridat 52. Aufgrund der Reaktivität der Verbindung konnte keine säulenchromatographische Reinigung des Produktes erfolgen. Die weitere Umsetzung mit Salicylalkohol 46 lieferte die Phosphorimide 53 in einem Diastereomenüberschuss von 88%. Beide Diastereomere konnten säulenchromatographisch voneinander getrennt werden, wobei der Diastereomenüberschuss bis $\geq 95\%$ gesteigert werden konnte. Die Zuordnung der absoluten Konfiguration am Phosphoratom erfolgte mit der Einkristallstrukturanalyse des Minderdiastereomers (S_P)-53, das aus Dichlormethan/Petrolether kristallisiert wurde. Das bevorzugt gebildete Diastereomer (R_P)-53 reagierte mit dem Nucleosidanalogen 3'-*O*-Acetyl-desoxythymidin 54 und führte zur diastereoselektiven Synthese von (S_P)-*cycloSal*-3'-*O*-Acetyl-desoxythymidinmonophosphat (S_P)-55 in 48% Ausbeute. Die Konfiguration am Phosphoratom der *cycloSal*-Verbindung konnte mittels Röntgenstrukturanalyse nicht bestimmt werden. Vermutlich handelte es sich bei der Reaktion um einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus, der unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom abläuft.⁵⁴ Die Syntheseroute wurde auf weitere Salicylalkohole erweitert, wobei festgestellt wurde, dass der 3-Methylsalicylalkohol keine Phosphorimide lieferte und dementsprechend ungeeignet für die Syntheseroute war. Besonders die 3-Methyl-substituierten *cycloSal*-Pronucleotide bewirken eine effiziente Freisetzung des Nucleosidmonophosphates in der Zelle und

spielen aufgrund ihrer Hydrolysestabilität bei physiologischen pH-Wert eine herausragende Rolle.⁵⁵ Wie in Abb. 4 (S. 5) bereits erwähnt, hat sich die Stereoinformation am Phosphoratom als entscheidend erwiesen.

Parallel zu der vorliegenden Arbeit entwickelte *Rios Morales* eine konvergente Synthesemethode, die zur diastereoselektiven Synthese von 3-Methyl-*cycloSal*-Phosphattriestern führte.⁵⁶ Die Synthesestrategie basierte auf der Verwendung der chiralen Austrittsgruppe (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57**, die ausgehend von den Arbeiten nach *Tanaka* entwickelt wurde.⁵⁷ Die Kupplung von (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** mit dem Phosphorchloridat *rac*-**56** lieferte das Diastereomeregemisch der Phosphorimide **58**. Die Diastereomere von **58** konnten säulenchromatographisch voneinander getrennt werden und wurden als reine Isomere erhalten ($\geq 95\%$ *d.e.* durch NMR-Integration bestimmt). Das Diastereomer (*R_P*)-**58** war eine labile Verbindung und zersetzte sich in den meisten Fällen unter Bildung verschiedener Nebenprodukte. Das stabile Diastereomer von dem unsubstituierten Phosphorimid **59** konnte aus Petrolether/Ethylacetat kristallisiert werden und ergab die *S_P*-Konfiguration am Phosphoratom. Aus diesem Grund wurde für das stabile Diastereomer des 3-Methyl-substituierten Phosphorimid **58** die *S_P*-Konfiguration am Phosphoratom angenommen. Das Phosphorimid (*S_P*)-**58** wurde mit dem Nucleosidanalogen AZT **15** unter Verwendung des Komplexes Cu[(BEN)](OTf)₂ als Katalysator umgesetzt und lieferte das diastereomerenreine 3-Methyl-*cycloSal*-AZTMP (*R_P*)-**60** in 30% Ausbeute (Abb. 21).

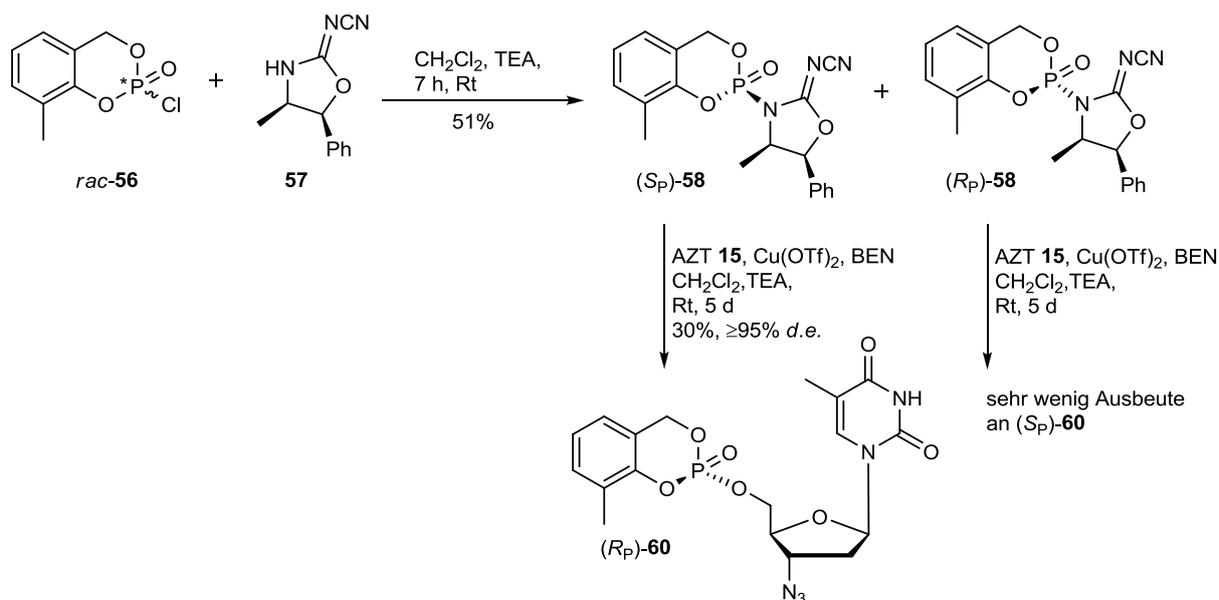


Abb. 21 Diastereoselektive Synthese von 3-Methyl-cycloSal-AZTMP (R_P)-60

Die chemische Instabilität des Phosphorimides (R_P)-58 verursachte die Entwicklung einer weiteren chiralen Austrittsgruppe, die zur diastereoselektiven Synthese von 3-Methyl-cycloSal-AZTMP (S_P)-60 führen sollte. Die Kupplung von (S)-4-Benzyl-2-(N -cyanimino)oxazolidin **61** und Phosphorchloridat *rac*-56 lieferte das Diastereomergemisch der Phosphorimide **62**, die mittels Säulenchromatographie getrennt werden konnten. Die weitere Umsetzung des Phosphorimides (R_P)-62 mit dem Nucleosidanalogon AZT **15** unter Verwendung von $\text{Cu}[(\text{BEN})](\text{OTf})_2$ lieferte das diastereomerenreine 3-Methyl-cycloSal-AZTMP (S_P)-60 in 21% Ausbeute (Abb. 22).

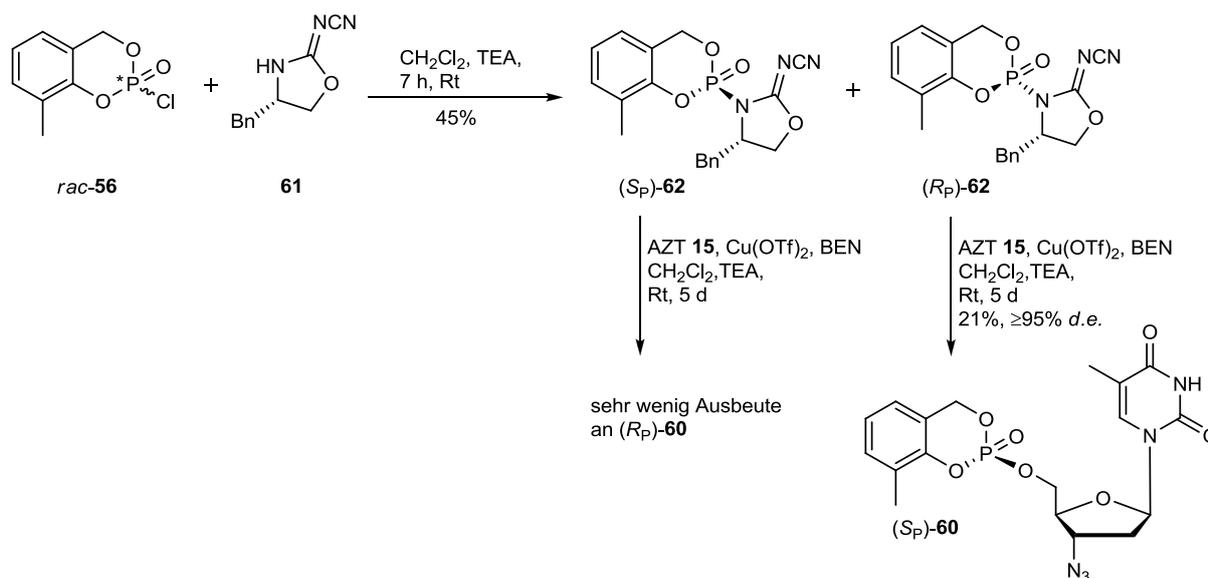


Abb. 22 Diastereoselektive Synthese von 3-Methyl-cycloSal-AZTMP (S_P)-60

Die 3-Methyl-*cycloSal*-AZTMP (*R_P*)-**60** bzw. (*S_P*)-**60**, das Diastereomeregemisch **60** und die Referenzverbindung AZT **15** wurden gegen HIV-1 und HIV-2 infizierte CEM/0 und HIV-2 infizierte CEM/TK⁻ Zellen *in vitro* getestet (Abb. 23).⁵⁸

	EC ₅₀ (μM) ^a			CC ₅₀ (μM) ^b
	CEM/0		CEM/TK ⁻	CEM/0
	HIV-1	HIV-2	HIV-2	
(<i>R_P</i>)- 60	0.065 ± 0.021	0.14 ± 0.0071	20 ± 3.5	119 ± 2.8
(<i>S_P</i>)- 60	0.091 ± 0.070	0.16 ± 0.028	>50	109 ± 2.1
60	0.11 ± 0.035	0.080 ± 0.0	11 ± 8.1	126 ± 4.2
AZT 15	0.016 ± 0.0	0.084 ± 0.080	>250	>250

^a 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation. ^b 50% cytotoxische Konzentration.

Abb. 23 Antivirale *in vitro*-Aktivitäten der 3-Methyl-*cycloSal*-AZTMP (*R_P*)-**60** bzw. (*S_P*)-**60**, des Diastereomeregemisches **60** und der Referenzsubstanz AZT **15**

Die antiviralen Aktivitäten der 3-Methyl-*cycloSal*-AZTMP **60** zeigen vergleichbare Aktivitäten wie AZT **15** in den Wildtyp-CEM-Zellen (CEM/0). Wie erwartet verliert AZT **15** die antivirale Aktivität in Thymidin-Kinase-defizienten CEM-Zellen (CEM/TK⁻) aufgrund des fehlenden Enzyms Thymidin-Kinase. Obwohl die Diastereomere (*R_P*)-**60** und (*S_P*)-**60** weniger antivirale Aktivität als das Diastereomeregemisch **60** in (CEM/TK⁻)-Zellen zeigten, war das (*R_P*)-**60** Diastereomer aktiver als das (*S_P*)-**60**. Dieses Ergebnis deutete darauf hin, dass die antivirale Aktivität des Diastereomeregemisches möglicherweise auf die Aktivität des (*R_P*)-**60** Diastereomers zurückzuführen ist. Dieses Ergebnis bestätigte die Wichtigkeit der diastereoselektiven Synthese von *cycloSal*-Pronucleotiden.

Die von *Thomann* und *Rios Morales* entwickelten Syntheserouten basierten auf den bisher besten chiralen Austrittsgruppen. Nach der Optimierung der Reaktionsbedingungen wurde festgestellt, dass 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** und (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** folgende Bedingungen erfüllen:

- Einfache und kostengünstige Synthese
- Leichte Einführbarkeit
- Starke stereochemische Induktion am Phosphor
- Chromatographische Trennung der gebildeten Intermediate
- Gute Austrittsgruppe unter milden Bedingungen

3. Aufgabenstellung

Die antivirale Aktivität der Arylphosphoramidat-Pronucleotide des Typs nach *McGuigan* ist, wie bereits in Kap. 2.3 (S. 10) gezeigt, signifikant von der Stereoinformation am Phosphoratom abhängig. Die literaturbekannte Synthese lieferte stets Diastereomere Gemische, die nur in einigen Fällen chromatographisch trennbar waren. Die asymmetrische Synthese der Pronucleotide könnte die sehr schwierige Trennung der Diastereomere umgehen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer diastereoselektiven Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden. Der diastereoselektive Weg sollte auf der Verwendung von chiralen Austrittsgruppen basieren. Die Auswahl der chiralen Austrittsgruppen sollte sich auf das von *Thomann* und *Rios Morales* erfolgreich verwendete 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion **51** und (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** beschränken.

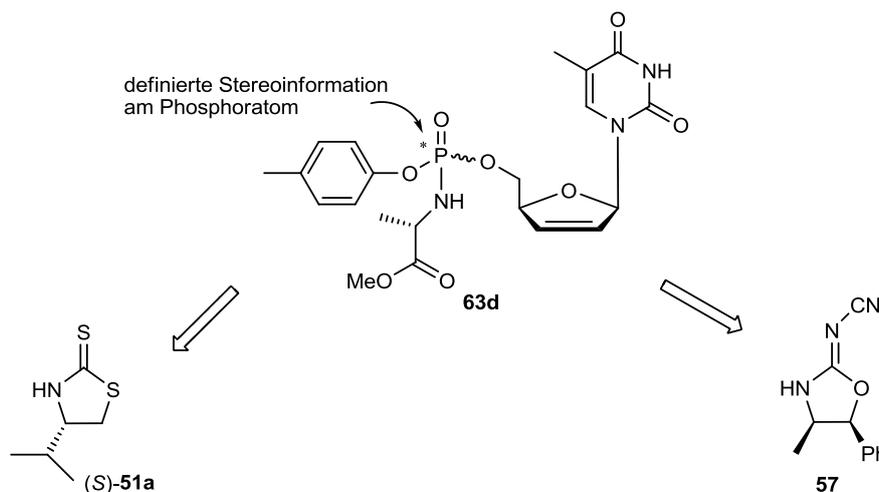


Abb. 24 Retrosynthese der diastereoselektiven Darstellung der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** mittels chiraler Austrittsgruppen

Basierend auf *cycloSal*-Vorarbeiten sollte unter ähnlichen Reaktionsbedingungen gezeigt werden, dass eine Übertragung der diastereoselektiven Synthese auf das Arylphosphoramidat-Pronucleotid möglich ist. Die verwendete Syntheseroute sollte zu möglichst diastereomerenreinen Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **63d** führen, wobei die separat dargestellten Pronucleotide auf ihre antivirale Aktivität gegen HIV-1 und HIV-2 infizierte Wildtyp-CEM-Zellen (CEM/0) und HIV-2 infizierte Thymidin-Kinase-defizienten CEM-Zellen (CEM/TK⁻) getestet werden sollten.

4. Resultate und Diskussion

Das Arylphosphoramidat-Pronucleotid nach *McGuigan* ist ein erfolgreiches Pronucleotid-Konzept. Wie bereits in Kap. 2.3 (S. 6) gezeigt, liefert die literaturbekannte Synthese stets ein Gemisch der Diastereomere im Verhältnis 1:1. Allerdings ist die antivirale Aktivität von der Stereochemie am Phosphoratom abhängig (Kap. 2.3, S. 10). Aus diesem Grund ist die Entwicklung einer diastereoselektiven Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden von großem Interesse. Daher sollte eine allgemeine Synthesemethode entwickelt werden, die folgenden Anforderungen erfüllen sollte:

- Allgemeine Anwendbarkeit
- Relativ einfache Durchführung
- Induktion am Phosphor
- Reproduzierbarkeit

Die ersten Experimente basierten auf der Verwendung des chiralen Auxiliars 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a**. Als Baustein der Synthese wurde zuerst das achirale Phosphordiamidat **64** verwendet. Die sterische Hinderung zwischen den beiden *iso*-Propylgruppen würde eine bestimmte Anordnung der Substituenten am Phosphoratom begünstigen. Der weitere nucleophile Angriff könnte aufgrund der sterischen Wechselwirkung zur bevorzugten Bildung eines Diastereomers führen. Anschließend könnte ein weiterer nucleophiler Angriff zur Bildung des Arylphosphoramidat-Pronucleotides **63d** führen. Der theoretisch denkbare Synthesepfad ist in Abb. 25 dargestellt.

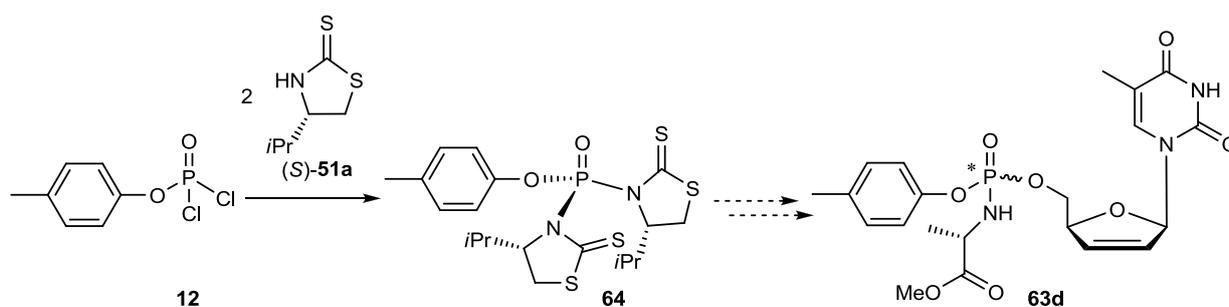


Abb. 25 Möglicher Synthesepfad zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides **63d**

Das literaturbekannte Phosphordichloridat **12** war die Ausgangsverbindung, die aus Phosphorylchlorid und 4-Methylphenol in 69% Ausbeute erhalten werden konnte.¹⁷ Die Umsetzung mit 2 Äq. 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** sollte zu dem am Phosphoratom achiralen Phosphordiamidat **64** führen. Die Darstellung war anfangs nicht erfolgreich. Die Verwendung von 2 Äq. 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** und 2.2 Äq. TEA in Dichlormethan führte zur Bildung von zwei weiteren Phosphorverbindungen (Abb. 26).

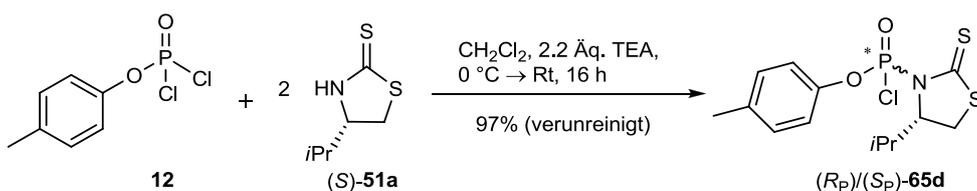


Abb. 26 Versuch der Synthese des Phosphordiamidates **64** unter Bildung des Phosphorchloridates (*R_P*)/(*S_P*)-**65d**

Hierbei handelte es sich um ein Diastereomergemisch des Phosphorchloridates (*R_P*)/(*S_P*)-**65d** im Verhältnis 1.5:1. Abb. 27 stellt das erhaltene ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches dar.

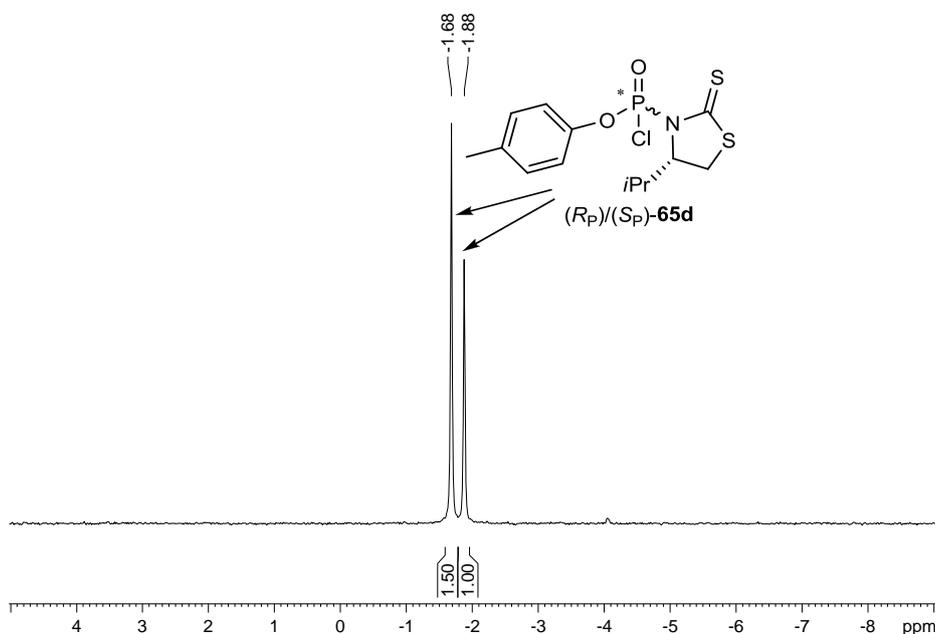


Abb. 27 ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Synthese des Phosphorchloridates (*R_P*)/(*S_P*)-**65d**

Die Synthese des gewünschten Phosphordiamidates **64** konnte erst nach der Zugabe von 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) als Katalysator erzielt werden. Die Reaktion wurde unter Verwendung von 2 Äq. 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a**, 3 Äq. TEA und 20 mol% DMAP in Dichlormethan durchgeführt (Abb. 28).

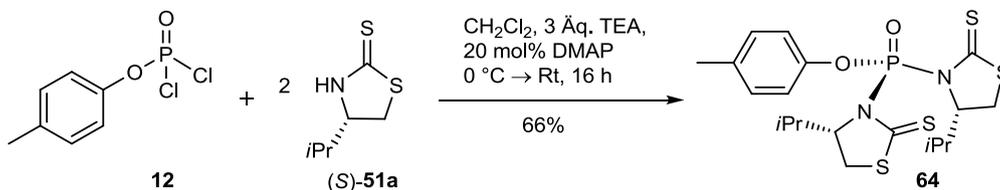


Abb. 28 Synthese des am Phosphoratom achiralen Phosphordiamidates **64**

Das Phosphordiamidat **64** wurde in 66% Ausbeute erhalten. Obwohl die Verbindung am Phosphoratom achiral ist, zeigt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum verschiedene Signale für die zwei Thiazolidin-2-thion-Ringe (Abb. 29). Daher deutet das Spektrum auf die sterische Spannung zwischen den beiden *iso*-Propylgruppen hin.

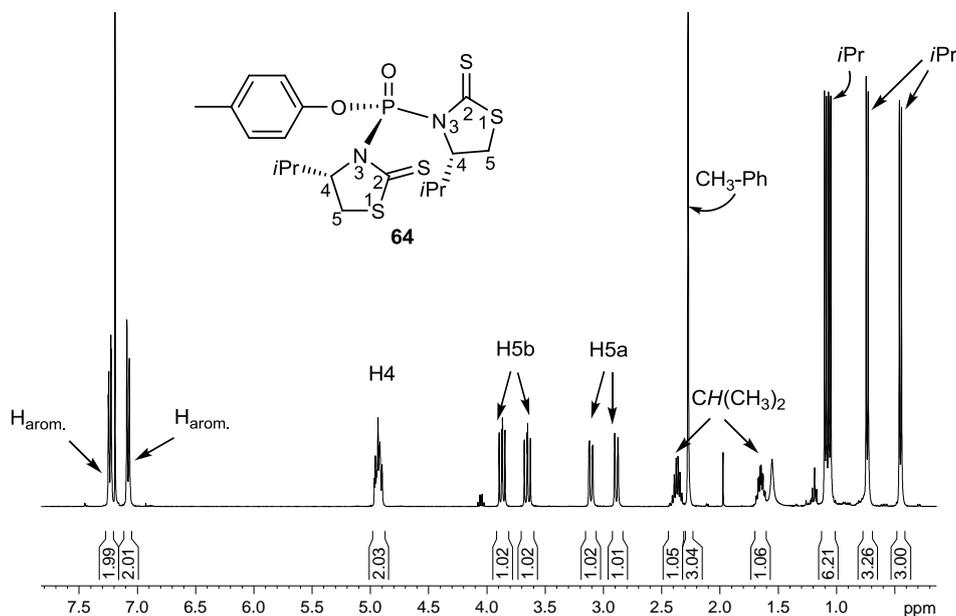
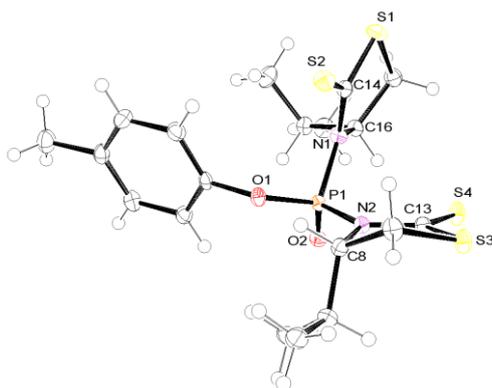


Abb. 29 $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Phosphordiamidates **64**

Die Verbindung **64** konnte aus Dichlormethan/Petrolether kristallisiert werden. Die in Abb. 30 dargestellte Einkristallstrukturanalyse zeigt die eingeschränkte Anordnung am Phosphoratom. Die *iso*-Propylgruppen sind so weit wie möglich voneinander entfernt und zwingen die Thiazolidin-2-thion-Ringe in eine bestimmte Anordnung am Phosphoratom, so dass eine Art „künstliche Stereoinformation“ entsteht.

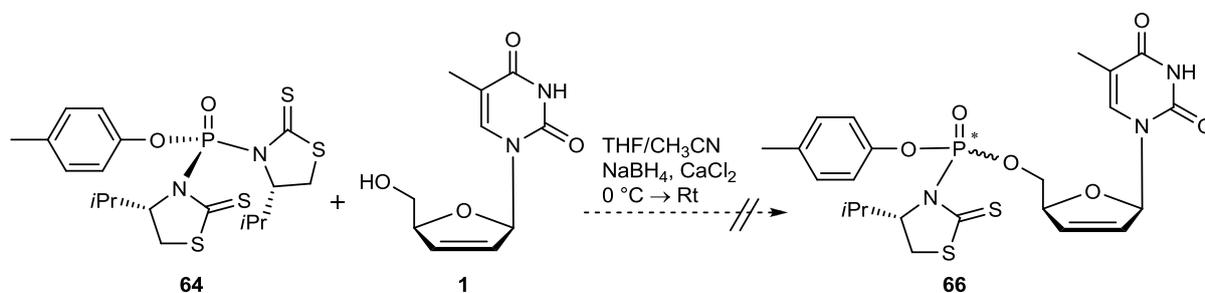

Abb. 30 Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidates **64**

Tab. 1 fasst einige Bindungslängen und Winkel zusammen.

Atom 1	Atom 2	Länge	Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel
S2	C14	1.744(3)	O2	P1	O1	116.79(10)
S4	C13	1.651(3)	O2	P1	N2	117.32(10)
P1	O2	1.4622(17)	O1	P1	N2	97.68(9)
P1	O1	1.5842(17)	O2	P1	N1	109.85(10)
P1	N2	1.693(2)	O1	P1	N1	106.69(9)
P1	N1	1.694(2)	N2	P1	N1	107.37(10)
N1	C14	1.373(3)	C14	N1	P1	125.34(17)
N2	C13	1.382(3)	C13	N2	P1	120.14(17)

Tab. 1 Bindungslängen (pm) und Winkel (°) von **64**

Die weitere Umsetzung des Phosphordiamidates **64** mit dem Nucleosidanalogen d4T **1** konnte unter den durchgeführten Reaktionsbedingungen nicht erreicht werden (Abb. 31).⁵⁹ Möglicherweise wird der nucleophile Angriff durch die sterische Hinderung erschwert.


Abb. 31 Versuch der Umsetzung des Phosphordiamidates **64** mit d4T **1**

Aufgrund der erschwerten Substitution bei Anwesenheit zweier Auxiliare wurde auf weitere Ansätze verzichtet. Die Einführung von nur einem Thiazolidin-2-thion-Ring könnte den Synthesepfad vereinfachen und den weiteren nucleophilen Angriff ermöglichen. Aus diesem Grund wurde das in Abb. 26 (S. 24) dargestellte Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** als Ausgangsverbindung gewählt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung war die Trennung der Diastereomere nicht möglich. Außerdem wurden weitere Reinigungsschritte oder Umkristallisationsversuche aufgrund der hohen Reaktivität der Verbindung zur Zersetzung des Produktes führen. Aus diesen Gründen war eine diastereoselektive Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** notwendig, um eine geeignete Syntheseroute zu etablieren.

Der Baustein der diastereoselektiven Synthese könnte auf dem von *Thomann* bereits verwendeten Phosphordichloridat **52** basieren.⁵¹ Die Verbindung erzielte bei der diastereoselektiven Synthese von *cycloSal*-Triestern die gewünschten Ergebnisse mit hohen Diastereomerenüberschüssen (Abb. 20, S. 18). Die Umsetzung des Phosphordichloridates **52** mit 4-Methylphenol **10d** in Tetrahydrofuran mit TEA als Base führte zur Bildung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** in 66% Ausbeute und im Diastereomerenverhältnis von 8:1 (Abb. 32).

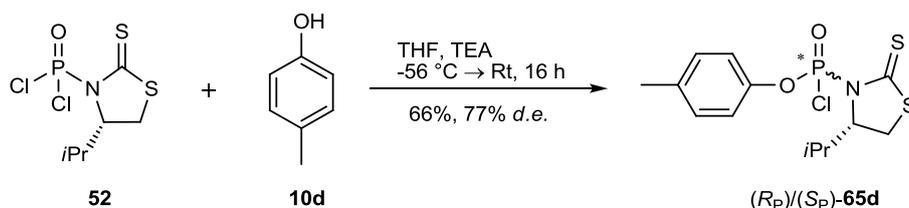


Abb. 32 Diastereoselektive Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**

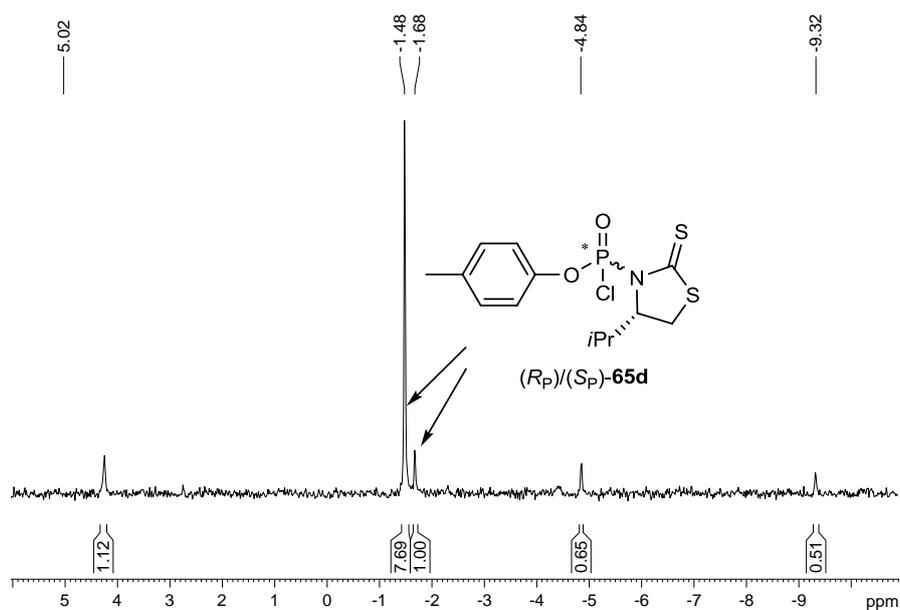


Abb. 33 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Darstellung des Phosphorchloridates $(R_P)/(S_P)$ -**65d**

Es handelt sich dabei um eine Synthesemethode, die die vorherigen Anforderungen für die Entwicklung einer diastereoselektiven Synthese erfüllt. Allerdings eröffnete die Verwendung des Phosphordichloridates **52** weitere Möglichkeiten. Theoretisch wäre die Umsetzung des Phosphordichloridates **52** mit L-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** oder mit dem Nucleosidanalogen d4T **1** möglich. Die Synthesen sollten zu weiteren Intermediaten führen, die eventuell besser geeignet als das Phosphorchloridat $(R_P)/(S_P)$ -**65d** wären. Abb. 34 stellt den Versuch zur Darstellung von **67** dar.

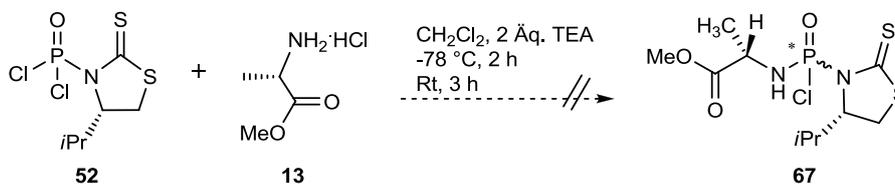


Abb. 34 Versuch der Synthese des Phosphorchloridates **67**

Das Rohgemisch der Reaktion zeigte die Bildung verschiedener Phosphorverbindungen. Das gewünschte Intermediat konnte aus der Mischung nicht isoliert werden.

Der Versuch, das Phosphordichloridat **52** mit dem Nucleosidanalogen d4T **1** umzusetzen, lieferte ein ähnliches Ergebnis (Abb. 35).

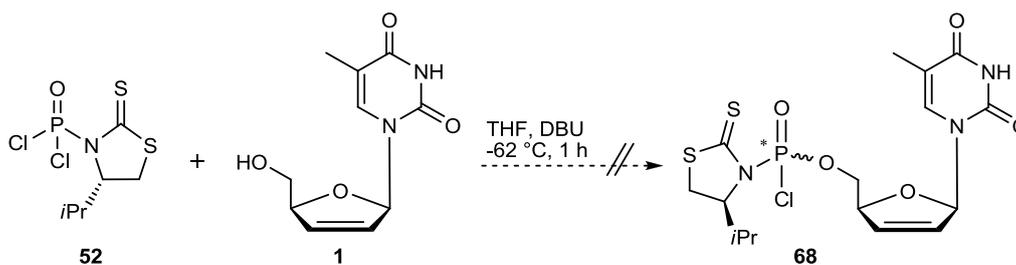


Abb. 35 Versuch der Synthese des Phosphorchloridates **68**

Das ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches zeigte nur ein Signal bei -2.79 ppm. Nach der wässrigen Aufarbeitung des Rohproduktes und Extraktion mit Dichlormethan konnte das Phosphorchloridat **68** nicht erhalten werden. Möglicherweise führte die Aufarbeitung zur Zersetzung der Verbindung.

Theoretisch wäre die Synthese der Verbindungen **67** und **68** denkbar, so dass möglicherweise falsche Reaktionsbedingungen getestet wurden. Allerdings ermöglichte die durchgeführte diastereoselektive Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** den Anfang zur Entwicklung einer diastereoselektiven Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden. Aus diesem Grund wurden keine weiteren Experimente durchgeführt, um die Verbindungen **67** bzw. **68** zu erhalten.

4.1 Synthesestrategie

Der Syntheseweg zur Darstellung diastereomerenreiner Arylphosphoramidat-Pronucleotide basiert auf dem in Abb. 36 dargestellten Syntheschema.

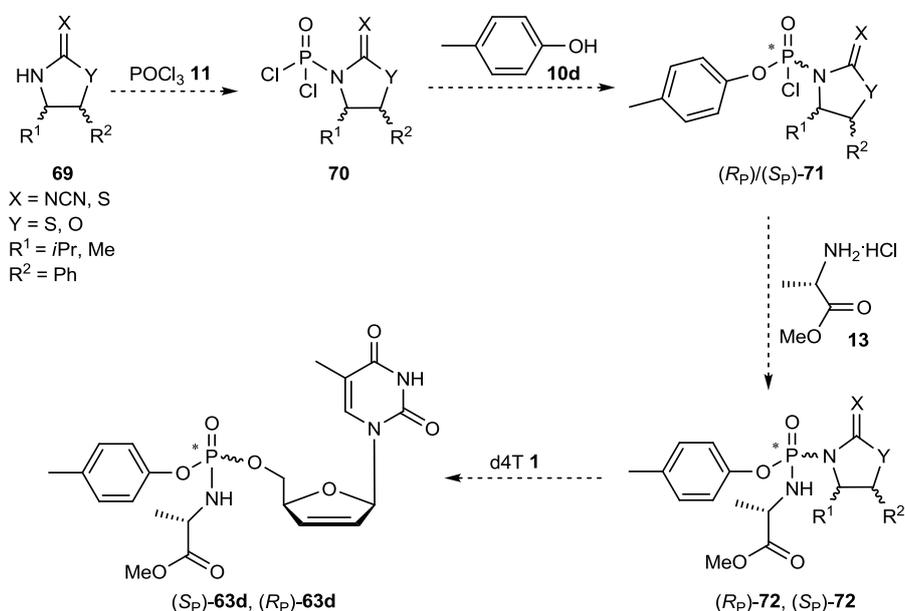


Abb. 36 Syntheschema zur asymmetrischen Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** mittels chiraler Auxiliaren

Die Synthesestrategie besteht aus folgenden Schritten:

1. Synthese des chiralen Auxiliars **69**
2. Kupplung des chiralen Auxiliars **69** mit Phosphorylchlorid **11** unter Bildung der Phosphordichloridat-Derivate **70**
3. Umsetzung des Phosphordichloridat-Derivates **70** mit 4-Methylphenol **10d** unter der diastereoselektiven Bildung des Phosphorchloridat-Derivates $(R_P)/(S_P)$ -**71**
4. Kupplung des Phosphorchloridat-Derivates $(R_P)/(S_P)$ -**71** mit (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** unter Bildung der Phosphordiamidat-Derivate (R_P) -**72**, (S_P) -**72** mit anschließender säulenchromatographischen Trennung der Diastereomere
5. Substitution des chiralen Auxiliars durch das Nucleosidanalogen d4T **1** unter Bildung der diastereomerenreinen Arylphosphoramidat-Pronucleotide (R_P) -**63d**, (S_P) -**63d**

Das Syntheschema wurde zuerst mit 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a** durchgeführt.

4.2 Synthese des Thiazolidin-2-thion-Auxiliars

Das Thiazolidin-2-thion-Auxiliar (**S**)-**51a** wurde ausgehend von L-Valin synthetisiert. Nach der Reduktion der Aminosäure (**S**)-**73a** mit Lithiumaluminiumhydrid, die zu dem Aminoalkohol (**S**)-**74a** führte, erfolgte der Ringschluss unter Bildung des chiralen Auxiliars (**S**)-**51a**.

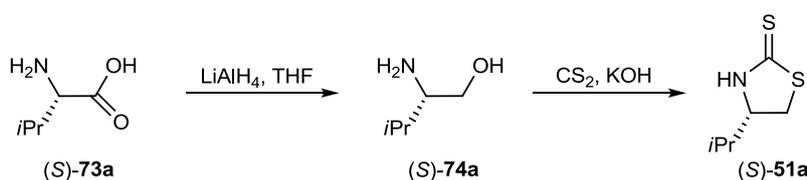


Abb. 37 Allgemeines Syntheschema zur Darstellung des Thiazolidin-2-thion-Auxiliars (**S**)-**51a**

4.2.1 Synthese des Aminoalkohols

Die Reduktion der Aminosäure L-Valin (**S**)-**73a** zu dem entsprechenden Aminoalkohol (**S**)-**74a** erfolgte mit Lithiumaluminiumhydrid in THF.⁶⁰ Die Auswahl des Reduktionsmittels beruhte auf der einfachen Durchführbarkeit und den zufriedenstellenden Ausbeuten (Abb. 38).

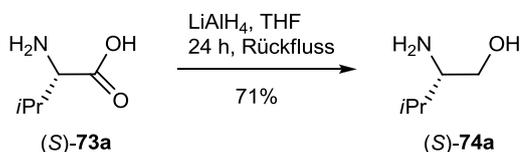


Abb. 38 Synthese von Valinol (**S**)-**74a**

Die erzielte Ausbeute lag unter der literaturbekannten Ausbeute von 87%. Der Grund lag an der wiederholten Destillation des Aminoalkohols nach der Aufarbeitung. Der Ausbeuteverlust wurde außer Acht gelassen, weil der Aminoalkohol in sehr hoher Reinheit isoliert werden konnte. Des Weiteren war die Reinheit des Aminoalkohols die Voraussetzung für die erfolgreiche weitere Umsetzung mit Kohlenstoffdisulfid.

4.2.2 Synthese des chiralen Auxiliars (S)-51a

Die Synthese des chiralen Auxiliars (S)-51a erfolgte nach der Methode von *Delaunay*.⁶¹ Der Aminoalkohol (S)-74a wurde mit einem Überschuss an Kohlenstoffdisulfid und 1 M Kaliumhydroxid-Lösung umgesetzt. Die erzielte Ausbeute ist in Abb. 39 dargestellt.

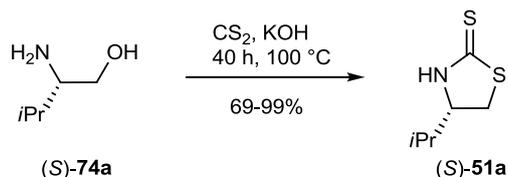


Abb. 39 Synthese des chiralen Auxiliars (S)-51a

Abb. 40 stellt den von *Delaunay et al.* vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus dar.⁶¹

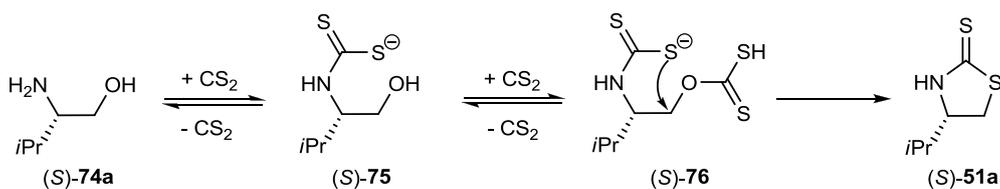


Abb. 40 Mechanismus der Bildung des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (S)-51a nach *Delaunay*

Der Aminoalkohol reagiert mit 2 Äq. Kohlenstoffdisulfid unter Bildung des Thiazolidin-2-thion-Auxiliars (S)-51a. Zuerst reagiert die Aminogruppe mit Kohlenstoffdisulfid unter Bildung des Intermediates (S)-75. Ein weiteres Äquivalent Kohlenstoffdisulfid greift die freie Alkoholgruppe an, gefolgt von dem nucleophilen Angriff des Dithiocarbamat-Anions unter Bildung des Thiazolidin-2-thion-Ringes. Die dabei freigesetzte Dithiokohlensäure zersetzt sich unter Bildung der guten Austrittsgruppen COS und H₂S, was die Reaktion vorantreibt.

4.2.3 Bestimmung des Enantiomerenüberschusses des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (S)-51a

Um eine Racemisierung des Aminoalkohols (S)-74a während der Reaktion auszuschließen, erfolgte vor der weiteren Umsetzung die Bestimmung des

Enantiomerenüberschusses des synthetisierten 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (*S*)-**51a**. Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses erfolgte durch analytische HPLC an einer chiralen Phase. Das in Abb. 41 dargestellte Chromatogramm des (*S*)-Enantiomers von 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** enthielt einen signifikanten Peak mit einer Retentionszeit von 9.7 min, aber auch in sehr geringer Intensität einen bei 8.2 min.

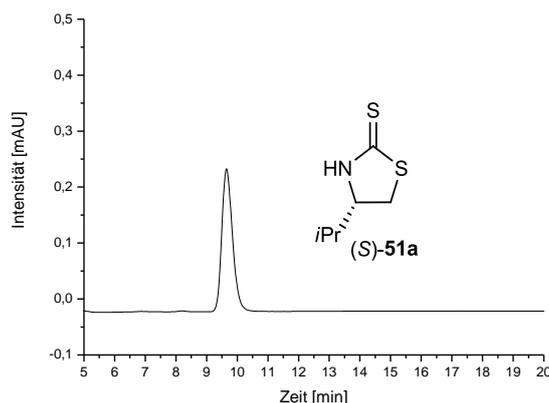


Abb. 41 HPLC-Chromatogramm des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (*S*)-**51a**

Als Referenzwert wurde das Racemat **51a** verwendet, dessen Synthese nach dem in Abb. 37 (S. 31) bereits gezeigten Syntheschema erfolgte (Abb. 42).

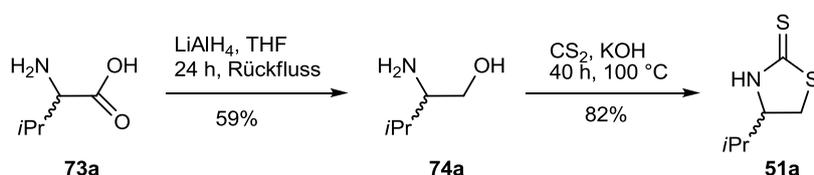


Abb. 42 Synthese des Racemats vom chiralen Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion **51a**

In Abb. 43 ist das Chromatogramm des Racemats abgebildet. Die Retentionszeiten der entsprechenden Enantiomere betragen 8.2 min für das *R*-konfigurierte (*R*)-**51a** und 9.7 min für das *S*-konfigurierte (*S*)-**51a** Enantiomer.

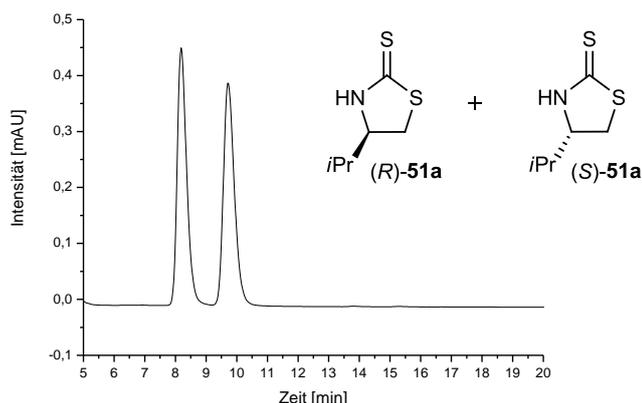


Abb. 43 HPLC-Chromatogramm des Racemats des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions **51a**

Aus den Integrationsflächen des in Abb. 41 (S. 33) dargestellten Chromatogramms wurde der Enantiomerenüberschuss von 98.8% bestimmt. Der Wert bestätigte, dass das chirale Auxiliar (*S*)-**51a** nahezu enantiomerenrein vorlag. Allerdings hat die winzige Anwesenheit des *R*-konfigurierten Auxiliars die Konsequenz, dass die weiteren Umsetzungen stets von den *R*-konfigurierten Derivaten begleitet sind.

4.3 Synthese des [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]-phosphordichloridates **52**

Die Darstellung des Phosphordichloridates **52** erfolgte nach der Methode von *Thomann*, wobei das chirale Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** mit einem Überschuss an Phosphorylchlorid **11** reagierte.⁵¹ Die Bildung des Phosphordichloridates **52** ist von entscheidender Bedeutung, da es sich um den Baustein der diastereoselektiven Synthese handelt (Abb. 44).

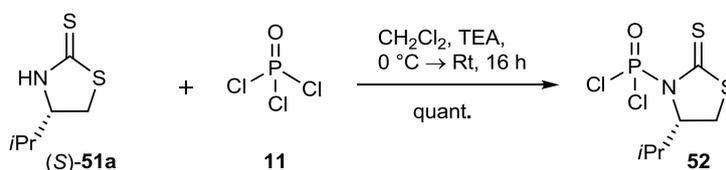


Abb. 44 Synthese des [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridates **52**

Aufgrund der Reaktivität der Verbindung war die säulenchromatographische Reinigung des Phosphordichloridates **52** nicht möglich. Es wurde auf weitere Reinigungsschritte verzichtet, weil diese zur Zersetzung des Produktes führen. Das

^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches zeigt die Bildung von nur einer phosphorhaltigen Verbindung bei 3.70 ppm.

4.4 Synthese des 4-Methyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-65d

Wie bereits in Abb. 32 (S. 27) dargestellt, führte die Umsetzung des Phosphordichloridates **52** mit 4-Methylphenol **10d** zur diastereoselektiven Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** in 66% Ausbeute. Die Diastereomere wurden im Verhältnis 8:1 gebildet, was einem Diastereomerenüberschuss von 77% entspricht. Der Diastereomerenüberschuss wurde aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches durch Integration der entsprechenden Signale berechnet. Durch Variation der Reaktionsbedingungen sollte getestet werden, ob eine Reaktionsoptimierung zur Erhöhung der Ausbeute und des Diastereomerenüberschusses führen könnte. Die Änderungen der Reaktionsbedingungen sind in Tab. 2 zusammengefasst.

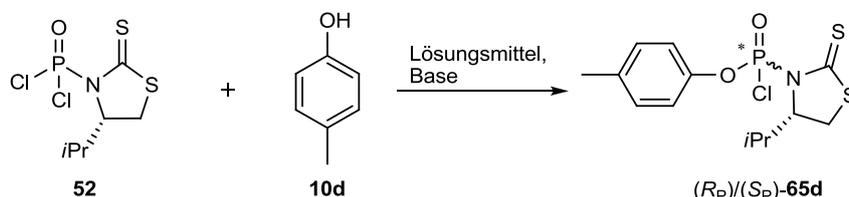


Abb. 45 Diastereoselektive Synthese des 4-Methylphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**

Lösungsmittel	Base, 1 Äq.	Temperatur	Reaktionszeit	Rohaus- beute (%) ^a	<i>d.e.</i> (%) ^a	Ausbeute (%)
THF	TEA	-56 °C → Rt	16 h	79	77	66
CH ₃ CN	TEA	-45 °C → Rt	16 h	31	74	nicht isolierbar
Aceton	TEA	-56/-59 °C → Rt	16 h	77	88	54*
Aceton	TEA	-91 °C → Rt	3 h	75	92	58*
Aceton	DBU	-91 °C	25 min	93	81	69-84

^a Daten entnommen aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches. * Enthält Verunreinigungen.

Tab. 2 Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**

Das Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** wurde durch eine „schnelle“ Säulenchromatographie gereinigt. Eine erneute säulenchromatographische Reinigung war nicht möglich, weil dies zur Zersetzung des Produktes führte. Ein weiterer Nachteil der schnellen Reinigung lag darin, dass die Diastereomere nicht getrennt werden konnten. Des Weiteren sind die Diastereomere Öle, so dass die absolute Konfiguration am Phosphoratom des Phosphorchloridates **65d** nicht anhand einer Einkristallstrukturanalyse zugeordnet werden konnte.

Die erhaltenen Diastereomerenverhältnisse des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** variierten in Abhängigkeit von den verwendeten Lösungsmittel, der Base bzw. der Temperatur. Sowohl der Umsatz als auch der Diastereomerenüberschuss wurden aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches erhalten. Zuerst erfolgte die Änderung des Lösungsmittels, wobei bei diesen Ansätzen TEA als Base zum Einsatz kam. Tetrahydrofuran wurde durch Acetonitril ersetzt, wobei die Temperatur im Fall von Acetonitril nicht auf -56 °C gehalten werden konnte, weil der Ansatz schon bei -48 °C einfrore. Aus diesem Grund wurde die Temperatur bei -45 °C gehalten. Trotz der unterschiedlichen Temperaturen wurde beobachtet, dass die Ansätze zu ähnlichen Diastereomerenüberschüssen führten (77% bzw. 74% *d.e.*). Im Fall der Verwendung von Acetonitril konnte das Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** nach der säulenchromatographischen Reinigung nicht erhalten werden, weswegen keine weiteren Versuche mit Acetonitril erfolgten. Der nächste Lösungsmittelwechsel führte zur Verwendung von Aceton, wobei das Diastereomerenverhältnis bis 16:1 bzw. 88% *d.e.* gesteigert werden konnte. Die Isolierung des Produktes ergab 54% Ausbeute eines in 17% verunreinigten Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**.

Die Änderung der Temperatur von -56 °C bis -91 °C führte wie erwartet zu einem besseren Diastereomerenverhältnis von 24:1 bzw. 92% *d.e.*, wobei das erhaltene Produkt wie im vorherigen Fall Verunreinigungen (7%) enthielt (Abb. 46).

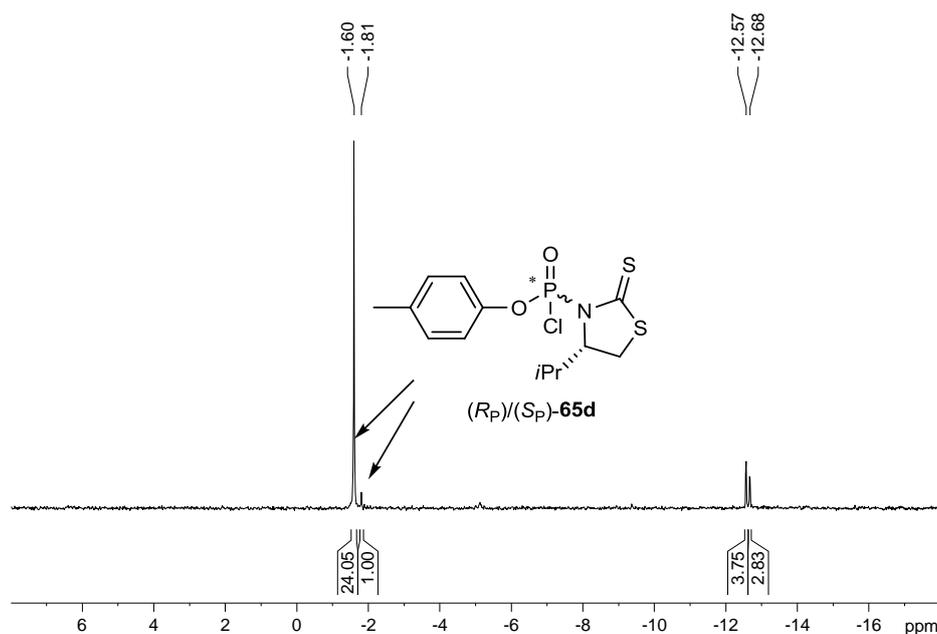


Abb. 46 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei Verwendung von Aceton und TEA bei $-91\text{ }^\circ\text{C}$ zur Synthese des Phosphorchloridates $(R_P)/(S_P)$ -65d

Aufgrund der Verunreinigungen und der schwierigen Reinigung wurde die Base variiert, TEA wurde durch DBU ersetzt. Die Änderung führte zu einem schlechteren Diastereomerenverhältnis von 9:1 bzw. 81% d.e., aber zu einer vereinfachten Produktreinigung mit Ausbeuten zwischen 69 und 84% (Abb. 47).

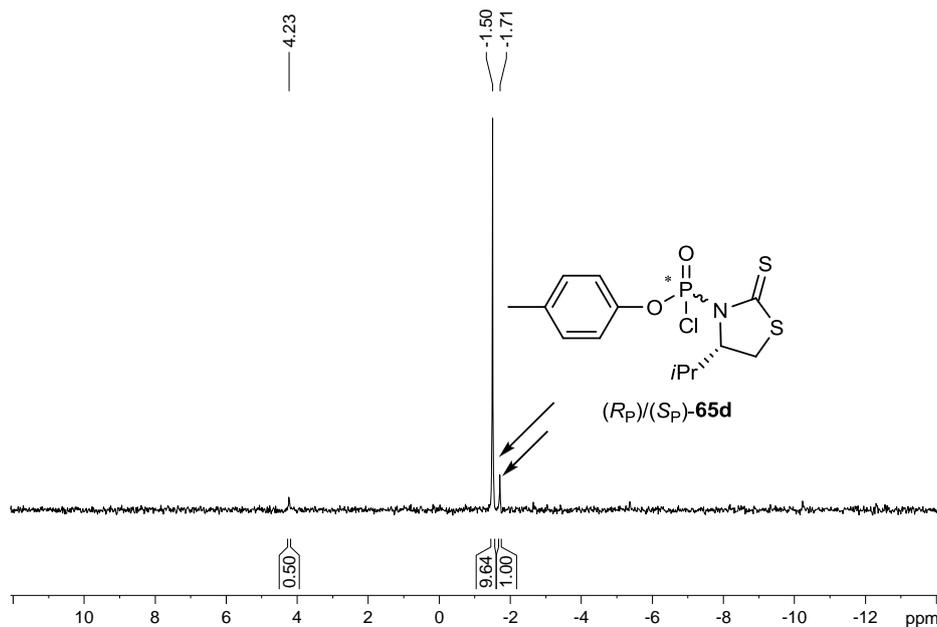


Abb. 47 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei Verwendung von Aceton und DBU bei $-91\text{ }^\circ\text{C}$ zur Synthese des Phosphorchloridates $(R_P)/(S_P)$ -65d

4.4.1 Bestätigung der Bildung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-65d

Vor der weiteren Umsetzung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-65d wurde überprüft, ob die integrierten Signale auf den ^{31}P -NMR-Spektren des Rohgemisches denen der Diastereomere entsprechen. Folglich sollte die Synthese des Diastereomerengemisches erfolgen, um die chemischen Verschiebungen der Diastereomere zu erhalten. Die Ermittlung der chemischen Verschiebungen war von entscheidender Bedeutung, weil die Integration anderer Signale zu fehlerhaften *d.e.*-Werten geführt hätte.

Die Synthese des Diastereomerengemisches des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-65d wurde bereits in Abb. 26 (S. 24) dargestellt. Die chemischen Verschiebungen der Phosphorchloridat-Diastereomere (R_P)/(S_P)-65d lagen bei -1.68 ppm und -1.88 ppm und bestätigten, dass die zuvor integrierten Phosphorsignale, denen der Diastereomere entsprechen.

4.4.2 Mögliche Erklärung für die Induktion am Phosphoratom

Wie bereits in Kap. 4.4 (S. 35) beschrieben, ist das Ausmaß der Diastereoselektivität bei der Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-65d von den Reaktionsbedingungen abhängig. Die Ursache der Induktion am Phosphoratom bleibt unbekannt, aber eine Hypothese führt zu dem in Abb. 48 dargestellten Übergangszustand.

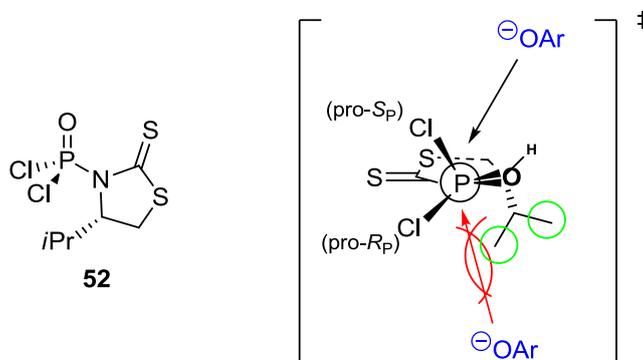


Abb. 48 Denkbare Übergangszustand zur bevorzugten Bildung des Phosphorchloridates (S_P)-65d

Das Phosphordichloridat **52** ist ein Öl, so dass keine Einkristallstrukturanalyse erhalten werden konnte. Der vorgeschlagene Übergangszustand basiert auf der von *Thomann* erhaltenen Einkristallstrukturanalyse von *N*-Dichlorthiophosphoryl-4-*iso*-propyloxazolidinon **77**.⁵¹

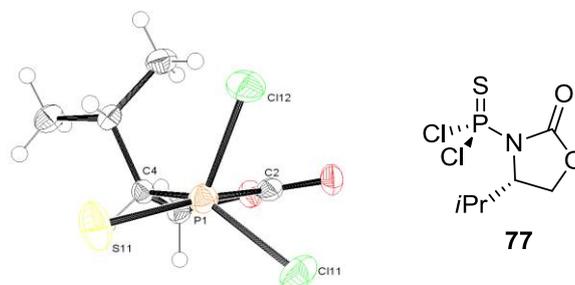


Abb. 49 Einkristallstrukturanalyse von *N*-Dichlorthiophosphoryl-4-*iso*-propyloxazolidinon **77**

Aufgrund der sperrigen *iso*-Propylgruppe wird der nucleophile Angriff des Phenol-Derivates bevorzugt von der pro- S_P Seite stattfinden und dementsprechend zur Bildung des S_P -Diastereomers (S_P)-**65d** führen. Die pro- R_P Seite ist von der *iso*-Propylgruppe abgeschirmt, so dass die Wechselwirkung zwischen dem Phenol und der *iso*-Propylgruppe den nucleophilen Angriff benachteiligt. Der nucleophile Angriff aus der pro- R_P Seite ist ungünstig, aber es findet in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen in geringerem Maß statt. Daraus folgt, dass die sterische Hinderung der *iso*-Propylgruppe die diastereoselektive Synthese des Phosphorchloridates **65d** ermöglicht.

4.4.3 Übertragung auf andere aromatische Systeme

Die besten Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** sollten auf weitere Phenol-Derivate **10b,g** und 1-Naphthol **10i** übertragen und untereinander verglichen werden (Abb. 50). Als Lösungsmittel kam Aceton zum Einsatz, wobei die Reaktionstemperatur $-91\text{ }^\circ\text{C}$ betrug. Der entscheidende Unterschied lag in der Base: DBU (Variante 1) und TEA (Variante 2). Der Vergleich der beiden Basen sollte zur Variante der Wahl in Bezug auf die Verwendung anderer aromatischer Reste führen (Tab. 3).

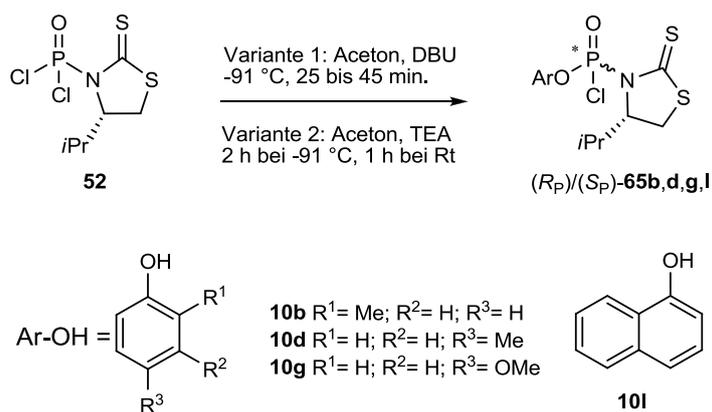


Abb. 50 Diastereoselektive Synthese der Phosphorchloridat-Derivate **65b,d,g,l**

	Variante 1			Variante 2		
	Umsatz (%) ^a	<i>d.e.</i> (%) ^a	Ausbeute (%)	Umsatz (%) ^a	<i>d.e.</i> (%) ^a	Ausbeute (%)
d	93	81	84	75	92	58*
g	83	72	86	83	89	62
b	64	51	78	66	28	69*
l	79	36	58	90	3	18

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches. * Enthält Verunreinigungen.

Tab. 3 Ausbeuten und Diastereomenüberschüsse der Synthese der Phosphorchloridat-Derivate **65b,d,g,l** in Abhängigkeit von der verwendeten Variante

Zur Übersicht wurden die erhaltenen Diastereomenüberschüsse in Abhängigkeit der verwendeten Variante graphisch dargestellt (Abb. 51).

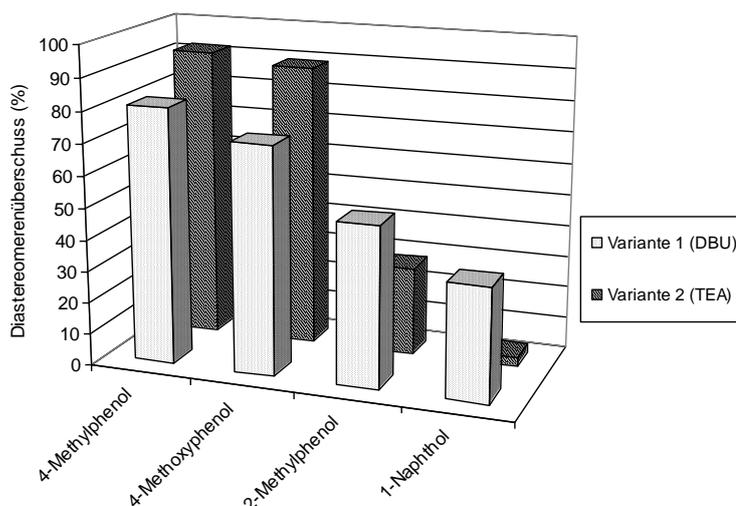


Abb. 51 Graphische Darstellung der in Tab. 3 gezeigten Diastereomenüberschüsse

Beide Varianten führten zu unterschiedlichen Diastereoselektivitäten in Abhängigkeit der verwendeten Phenole. Im Allgemeinen wiesen das 4-Methylphenol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** und das 4-Methoxyphenol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65g** ähnliche *d.e.*-Werte auf. Im Gegensatz dazu sanken die *d.e.*-Werte bei der Verwendung von 2-Methylphenol **10b** und 1-Naphthol **10l**.

Bei Variante 1 wies das 4-Methylphenol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** einen mit dem 4-Methoxyphenol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65g** vergleichbaren Diastereomerenüberschuss auf (81% vs. 72% *d.e.*). Im Gegensatz zu diesen hohen *d.e.*-Werten, lagen die des 2-Methylphenol-Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65b** und 1-Naphthol-Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65l** weit darunter (51% bzw. 36% *d.e.*).

Bei Variante 2 lagen die *d.e.*-Werte deutlich auseinander. Die Verwendung von 4-Methyl- und 4-Methoxyphenol **10d,g** führte zu den höchsten *d.e.*-Werten (92% bzw. 89% *d.e.*), während das 2-Methylphenol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65b** und das 1-Naphthol-Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65l** kaum noch Diastereoselektivität aufwiesen (28% bzw. 3% *d.e.*). Der deutliche Verlust an Diastereoselektivität kann nicht anhand des in Abb. 48 (S. 38) dargestellten Übergangszustandes erklärt werden. Die Ursache für den drastischen Verlust der Diastereoselektivität kann nicht begründet werden und bleibt unbekannt. Aufgrund der erheblichen Unterschiede bei Variante 2 wurde die Variante 1 für die Verwendung weiterer Aryl-Derivate ausgewählt.

Abb. 52 fasst die insgesamt verwendeten Phenol-Derivate **10a-m** bzw. Naphthol-Derivate **10l,m** zur diastereoselektiven Synthese der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65a-m** nach Variante 1 zusammen.

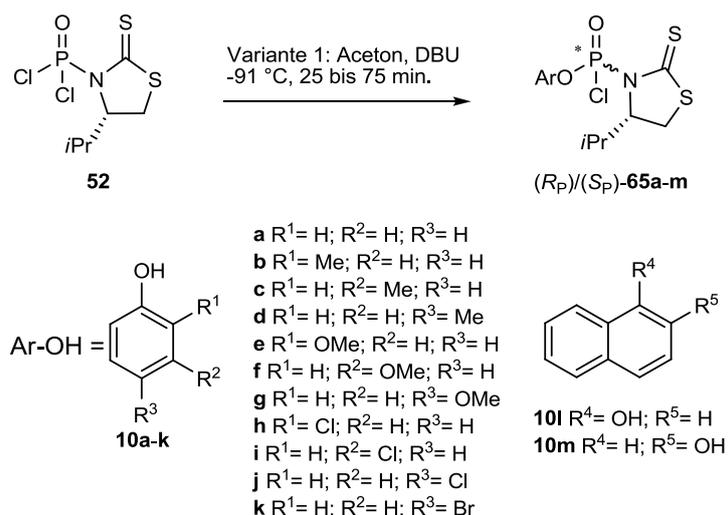


Abb. 52 Diastereoselektive Synthese der Phosphorchloridat-Derivate $(R_P)/(S_P)$ -**65a-m** nach Variante 1

65	Umsatz (%) ^a	d.e. (%) ^a	Ausbeute (%)
a	59	83	94*
b	64	51	78*
c	84	83	83*
d	93	81	84
e	85	87	89
f	74	86	quant.
g	83	72	86
h	81	28	quant.*
i	75	67 ^b	quant.*
j	66	75 ^b	91*
k	62	66 ^b	quant.*
l	79	36	58
m	74	77	65

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches. ^b Der genaue Wert konnte nicht ermittelt werden, weil die Signale der Diastereomere nicht basisliniengetreunt waren. * Enthält Verunreinigungen.

Tab. 4 Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der diastereoselektiven Synthese der Phosphorchloridat-Derivate $(R_P)/(S_P)$ -**65a-m** nach Variante 1

Tab. 4 fasst alle Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Phosphorchloridat-Derivate $(R_P)/(S_P)$ -**65a-m** zusammen. Im Vergleich zu den 4-substituierten Derivaten, zeigten die 2-substituierten stets einen erheblichen Verlust der Diastereoselektivität. Die Verwendung von 2-Methoxyphenol **10e** bildete eine Ausnahme und ergab den besten d.e.-Wert aller Phosphorchloridat-Derivate (87% d.e.). Die 3-substituierten

Phosphorchloridat-Derivate zeigten im Allgemeinen ähnliche gute *d.e.*-Werte wie die 4-substituierten-Verbindungen.

Die isolierten Ausbeuten sind in den meisten Fällen höher als die Umsätze. Aufgrund der schnellen säulenchromatographischen Reinigung hat die Methode den Nachteil, dass die erhaltenen Produkte in der Regel mit Verunreinigungen behaftet sind. Einige Derivate, wie das 4-Methylphenol-Phosphorchloridat-Derivat **65d**, bilden eine Ausnahme und enthalten nach der säulenchromatographischen Reinigung kaum Verunreinigungen. Eine Verunreinigung aller ¹H-NMR-Spektren sind Reste von Ethylacetat. Die ölige Konsistenz der Verbindungen verhindert das vollständige Entfernen des Lösungsmittels, so dass immer Spuren anwesend sind.

Die Änderung der Äquivalente an Phenol-Derivat war für die Darstellung der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65c,f,h-k** notwendig. Besonders bei diesen Derivaten wurde bei der Verwendung von 1 Äq. Phenol-Derivat **10c,f,h-k** die Bildung der ungewünschten Nebenprodukte **78** in erheblichen Mengen beobachtet. Bei diesem Nebenprodukt **78** wurden beide Chloratome des Phosphordichloridates **52** gegen die Aryl-Verbindungen substituiert. Die chemische Verschiebung der Nebenprodukte **78** im ³¹P-NMR-Spektrum liegt zwischen -13 ppm und -14 ppm. Sowohl die Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65c,f,h-k** als auch die Nebenprodukte **78** wiesen bei dem verwendeten Laufmittelgemisch fast denselben R_f -Wert auf, so dass die säulenchromatographische Trennung der Verbindungen nicht erfolgen konnte. Die Unterdrückung der Bildung des Nebenproduktes konnte durch die Verwendung von 0.7 Äq. Phenol-Derivat **10c,f,h-k** erzielt werden. Des Weiteren führte die Änderung der Äquivalente zur quantitativen Ausbeute der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65c,f,h-k**. Außerdem wurde beobachtet, dass die Durchmischung während der Reaktion einen entscheidenden Einfluss auf die Bildung des Nebenproduktes hat. Die Zugabe der Base DBU zu der Reaktionsmischung bei -91 °C erzeugt eine viskose Mischung, die in einigen Fällen nicht mehr gerührt werden konnte. Die schlechte Verteilung des deprotonierten Phenol-Derivates könnte die Bildung des Nebenproduktes zusätzlich begünstigen.

Abb. 53 stellt beispielhaft das ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Synthese der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65f** dar. Die Verwendung von

1 Äq. 3-Methoxyphenol führte zu einem Umsatz von 54% an Phosphorchloridat-Derivat (R_P)/(S_P)-**65f** und 46% an Nebenprodukt **78f**.

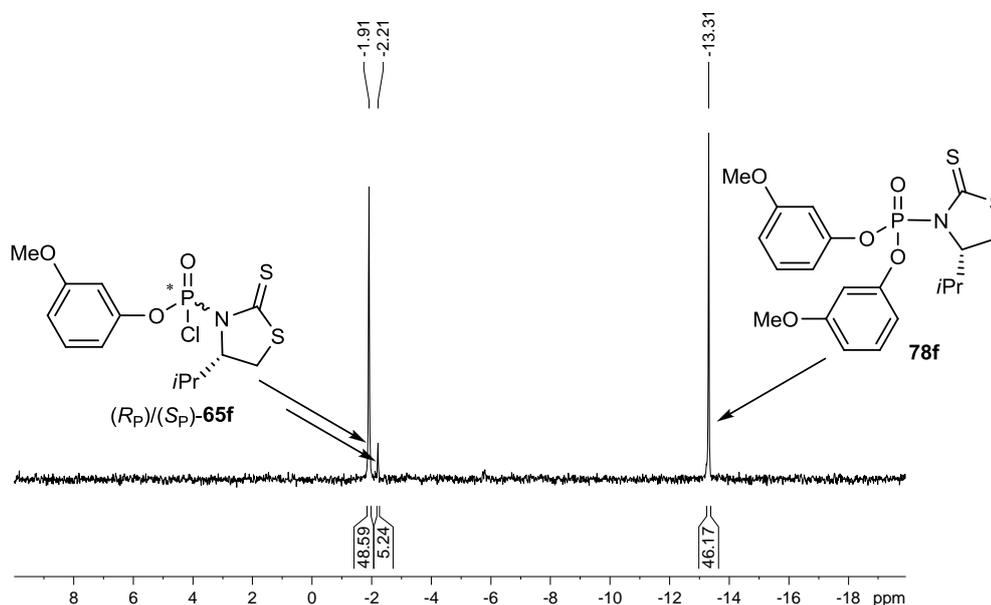


Abb. 53 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei Verwendung von 1 Äq. 3-Methoxyphenol zur Synthese des Phosphorchloridat-Derivates (R_P)/(S_P)-**65f**

Die Verwendung von 0.7 Äq. 3-Methoxyphenol unterdrückte die Bildung des Nebenproduktes **78f**, so dass hauptsächlich das Phosphorchloridat-Derivat (R_P)/(S_P)-**65f** in einem Umsatz von 69% entstanden ist (Abb. 54).

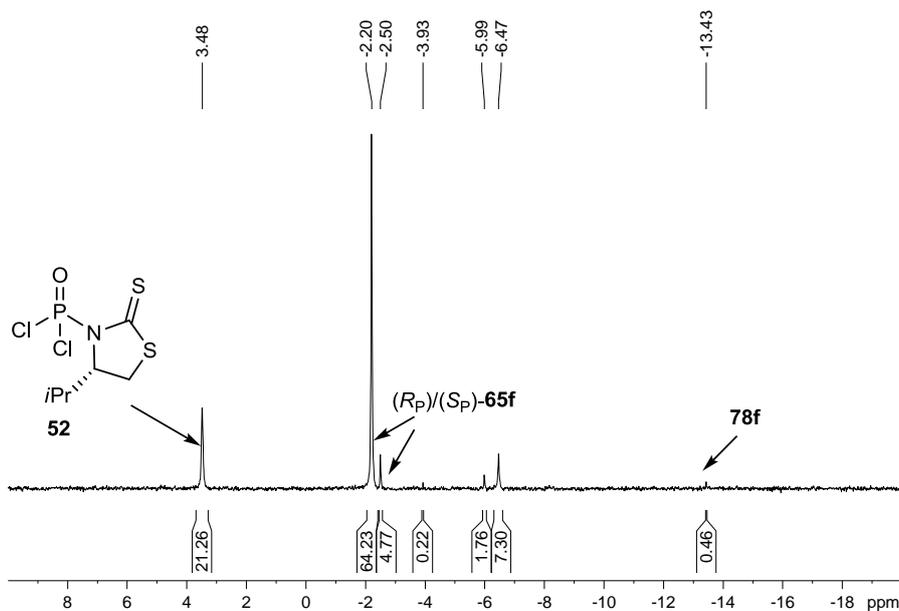


Abb. 54 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei Verwendung von 0.7 Äq. 3-Methoxyphenol zur Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65f**

Die Bestimmung der Diastereomerenüberschüsse konnte nicht in allen Fällen ohne Schwierigkeiten berechnet werden. In den meisten Fällen waren die Signale der Diastereomere basisliniengetrennt. Eine Ausnahme bildeten die Halogensubstituierten-Derivate (R_P)/(S_P)-**65i-k**. Aufgrund der Überlappung der entsprechenden Phosphorsignale war die genaue Bestimmung des Diastereomerenüberschusses nicht möglich. Abb. 55 stellt beispielhaft den Versuch der Bestimmung des *d.e.*-Wertes aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Synthese des Phosphorchloridat-Derivates (R_P)/(S_P)-**65i** dar.

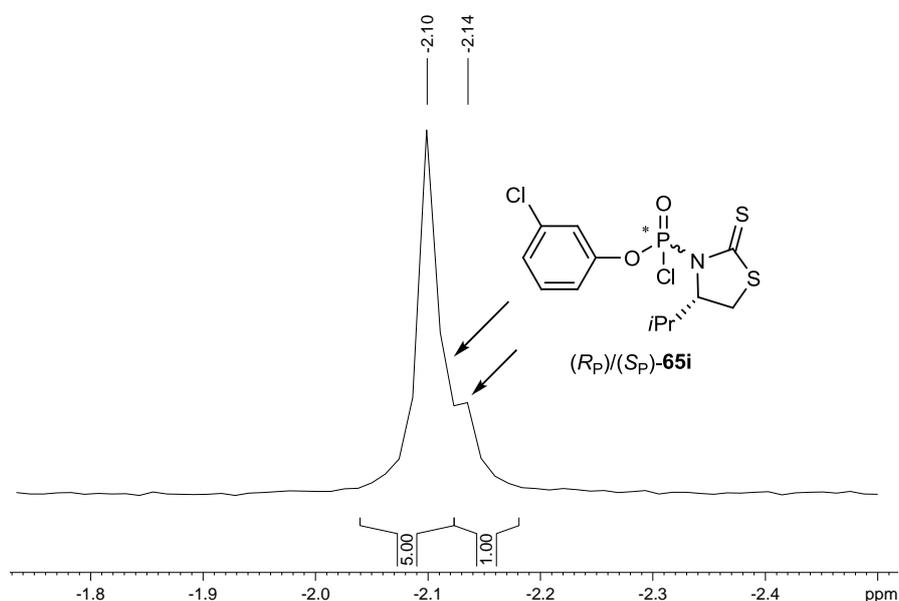


Abb. 55 Bestimmung des Diastereomerenüberschusses vom Phosphorchloridat-Derivat (R_P)/(S_P)-**65i** aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches

4.5 Synthese der 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidate (R_P)-**79d**, (S_P)-**79d**

Das angereicherte Diastereomergemisch an Phosphorchloridat-Derivat (R_P)/(S_P)-**65d**, erhalten nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42), wurde mit dem kommerziell erhältlichen (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** umgesetzt. Die Kupplung fand in Dichlormethan mit der Base TEA statt und führte zur Darstellung der Phosphordiamidat-Derivate **79d** (Abb. 56).

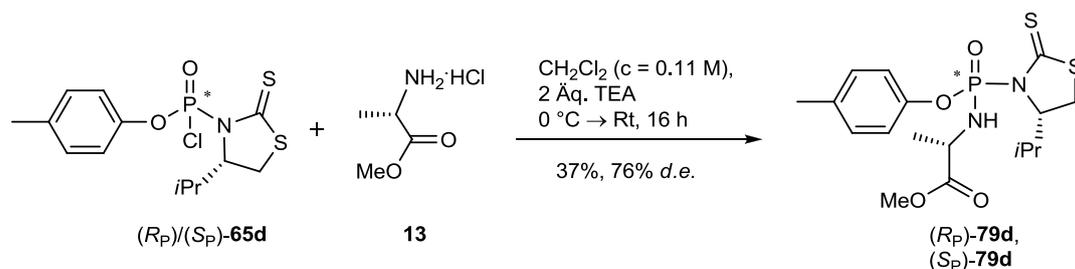


Abb. 56 Synthese der 4-Methylphenyl *N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphordiamidate (*R_P*-79d, (*S_P*-79d

Die Synthese führte zur Bildung der Diastereomere im Verhältnis 1:7, was einem Diastereomerenüberschuss von 76% entspricht (Abb. 57). Im Vergleich zu dem Phosphorchloridat-Derivat (*R_P*)/(*S_P*)-65d, das einen *d.e.*-Wert von 81% aufwies, ist der *d.e.*-Wert in geringerem Maß gesunken.

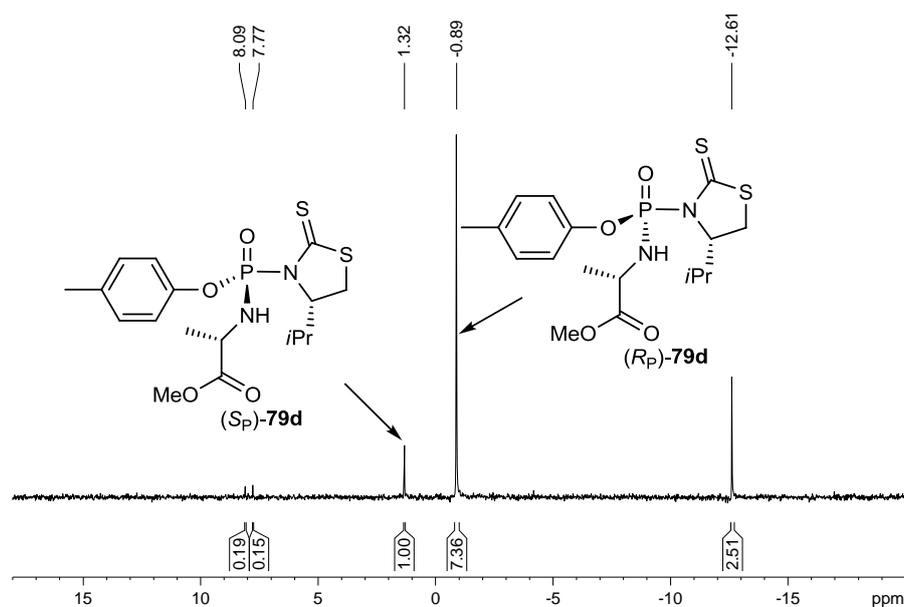


Abb. 57 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Darstellung der Phosphordiamidate 79d

Die Trennung der Diastereomere erfolgte säulenchromatographisch, wobei der *d.e.*-Wert der Phosphordiamidat-Derivate (*S_P*)-79d bzw. (*R_P*)-79d bis $\geq 95\%$ (durch ^1H - und ^{31}P -NMR-Integration bestimmt) angereichert wurde (Abb. 58-59). Das Minderdiastereomer wurde in 5% und das Hauptdiastereomer in 32% Ausbeute isoliert.

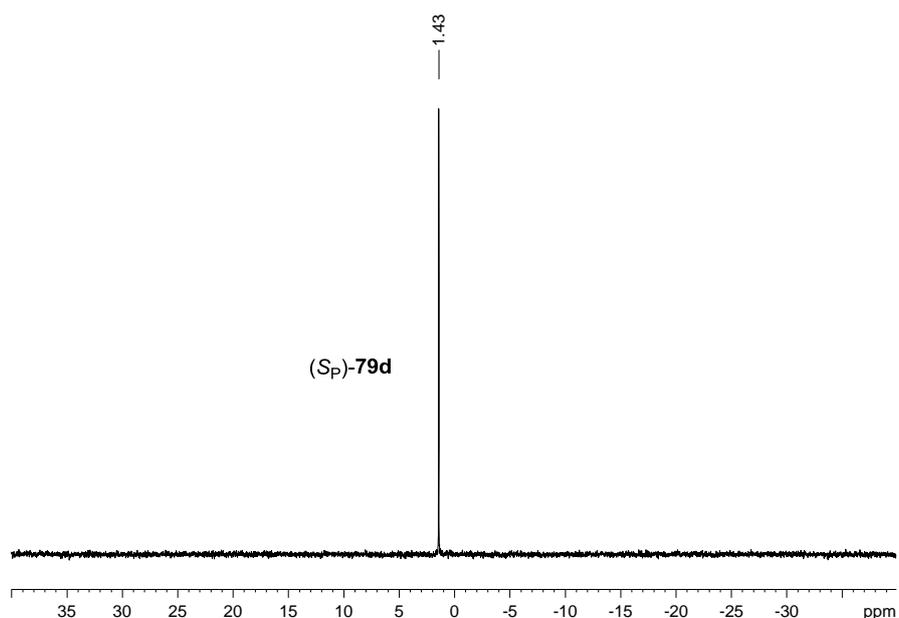


Abb. 58 ^{31}P -NMR-Spektrum des Minderdiastereomers (S_P)-**79d** nach der säulenchromatographischen Trennung

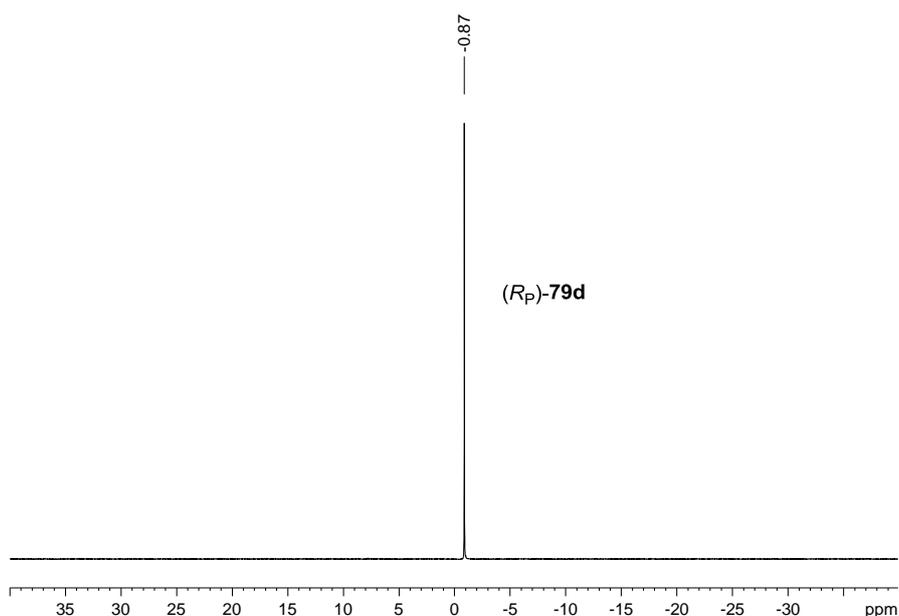


Abb. 59 ^{31}P -NMR-Spektrum des Hauptdiastereomers (R_P)-**79d** nach der säulenchromatographischen Trennung

Die Zuordnung der absoluten Konfiguration am Phosphoratom erfolgte mit Hilfe der Röntgenkristallstrukturanalyse. Die in Abb. 60 gezeigte Einkristallstrukturanalyse gehört zu dem Minderdiastereomer der Synthese der Phosphordiamidate **79d**. Die Konfiguration des Phosphoratoms wurde nach den CIP-Regeln bestimmt^{62,63} und ergab die S_P -Konfiguration. Das Stickstoffatom vom (S)-Alaninmethylester besitzt die niedrigste Priorität, gefolgt vom Stickstoffatom des chiralen Auxiliars

4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a**. Die höchste Priorität besitzt der Aromat, da der P-O-Doppelbindung unter den sauerstoffhaltigen Substituenten die niedrigste Priorität zugeordnet wird. Zwei weitere Einkristallstrukturanalysen bestätigten die S_P -Konfiguration des Minderdiastereomers (Kap. 4.5.5, S. 59). Die Kristallisation des R_P -Diastereomers des Phosphordiamidates (R_P)-**79d** war nicht möglich, weil die Verbindung ein Öl ist.

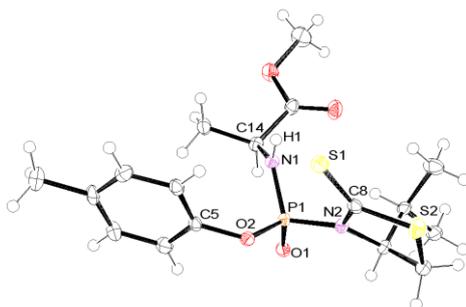


Abb. 60 Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidat-Derivates (S_P)-**79d**

Tab. 5 fasst einige Bindungslängen und Winkel zusammen.⁶⁴

Atom 1	Atom 2	Länge	Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel
S1	C8	1.658(3)	O1	P1	O2	114.83(10)
S2	C8	1.739(3)	O1	P1	N1	112.98(11)
P1	O1	1.4642(19)	O2	P1	N1	107.94(11)
P1	O2	1.5980(19)	O1	P1	N2	110.15(11)
P1	N1	1.625(2)	O2	P1	N2	99.61(11)
P1	N2	1.697(2)	N1	P1	N2	110.53(11)
N1	C14	1.454(3)	C5	O2	P1	118.55(16)
N1	H1	0.8800	C14	N1	P1	124.56(17)
N2	C8	1.367(3)	P1	N1	H1	117.7

Tab. 5 Bindungslängen (pm) und Winkel (°) von (S_P)-**79d**

Außer der Phosphordiamidate **79d** enthielt das in Abb. 57 (S. 46) abgebildete ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches ein Nebenprodukt **78d** bei -12.6 ppm (Abb. 61).

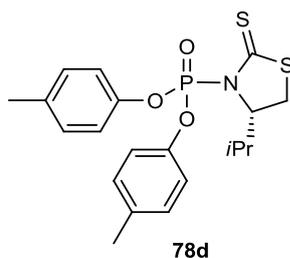


Abb. 61 Unerwartete Bildung des Nebenproduktes **78d** bei der Synthese der Phosphordiamidate **79d**

Die Bildung ähnlicher Nebenprodukte wurde bereits bei der Synthese der Phosphorchloridat-Derivate **65f,h,i,k** beobachtet (Kap. 4.4.3, S. 43). Wie bereits erwähnt, hat das Nebenprodukt einen ähnlichen R_f -Wert wie das Phosphorchloridat-Derivat, so dass keine säulenchromatographische Trennung erfolgen konnte. Aus diesem Grund wäre es denkbar, dass das Nebenprodukt **78d** bereits in dem Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** vorhanden war. Die ^1H - und ^{31}P -NMR-Spektren des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** bestätigten das Gegenteil und enthielten kein Nebenprodukt **78d**. Daraus folgt, dass die Bildung des Nebenproduktes **78d** während der Umsetzung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d** mit (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** entstanden ist. Die Tatsache, dass das Phosphorchloridat und das Nebenprodukt einen ähnlichen R_f -Wert aufweisen, stellt einen weiteren Nachteil dar. Der Verlauf der Reaktion kann nicht dünnschichtchromatographisch verfolgt werden, weil es nicht eindeutig ist, ob es sich um das Edukt oder das Nebenprodukt handelt.

4.5.1 Reaktionsoptimierung zur Synthese des Phosphordiamidat-Derivates (R_P)-**79d**

Die in Abb. 56 (S. 46) dargestellte Synthese der Phosphordiamidate **79d** führte zur bevorzugten Bildung des R_P -Diastereomers. Aufgrund der niedrigen Ausbeute an (R_P)-**79d** (32%) wurden weitere Optimierungsversuche durchgeführt. Um die Aufarbeitung zu vereinfachen, wurde auf die Isolierung des Minderdiastereomers (S_P)-**79d** verzichtet.

Zuerst wurden die Äquivalente an TEA und die Konzentration der Reaktionsmischung verändert (Tab. 6). Nach der Zugabe von TEA bei 0 °C wurde die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

Konzentration	TEA, Äq.	Ausbeute an (<i>R_P</i>)- 79d (%)
0.11 M	2	32%
0.11 M	3	40%
0.036 M	3	23%

Tab. 6 Änderung der Reaktionsparameter zur Synthese des Phosphordiamidates (*R_P*)-**79d**

Die Änderung der Äquivalente der Base TEA führte zu einer geringfügigen Verbesserung der isolierten Ausbeute an (*R_P*)-**79d**. Im Gegensatz dazu verringerte die Konzentrationsänderung die isolierte Ausbeute bis 23%. Die Verdünnung der Reaktionsmischung hat folglich einen negativen Einfluss auf die Bildung des Phosphordiamidates (*R_P*)-**79d**.

Anschließend erfolgten ³¹P-NMR Experimente aus dem Rohgemisch der Reaktion. Die Experimente wurden mit 3 Äq. TEA und der Konzentration 0.11 M durchgeführt, wobei das Lösungsmittel und die Temperatur geändert wurden. In diesem Fall erfolgte keine Aufarbeitung der Rohgemische.

Lösungsmittel	Temperatur	Reaktionszeit	Umsatz (%) ^a an	
			(<i>R_P</i>)- 79d	78d
CH ₂ Cl ₂	Rt	2 h	34	50
CH ₂ Cl ₂	-20 °C	2 h	42	40
CH ₂ Cl ₂	-40 °C	2 h	35	46
CH ₂ Cl ₂	-78 °C	2 h	29	50
CH ₂ Cl ₂	35 °C (MW) ^b	80 min	3	97
CH ₂ Cl ₂	35 °C (MW) ^b	10 min	39	39
CH ₂ Cl ₂	60 °C (MW) ^b	2 min	39	42
CHCl ₃	0 °C	2 h	29	47
CH ₃ CN	0 °C	2 h	50	32

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches. ^b Mikrowellenansätze.

Tab. 7 Versuch der Optimierung des Umsatzes an Phosphordiamidat (*R_P*)-**79d** mittels Lösungsmittel- bzw. Temperaturänderung

Tab. 7 zeigt den Einfluss des Lösungsmittels sowie der Temperatur auf die Bildung des Hauptdiastereomers (*R_P*)-**79d** und des ungewünschten Nebenprodukts **78d**. Die erhaltenen Umsätze des Hauptdiastereomers (*R_P*)-**79d** überschritten 50% nicht, wobei die niedrigen Ausbeuten mit der Bildung des Nebenproduktes **78d** korrelieren.

Besonders bei der Mikrowellenreaktion, die bei 35 °C in Dichlormethan durchgeführt wurde, wechselten die Verhältnisse in die entgegengesetzte Richtung. Das Nebenprodukt der Reaktion wurde unter diesen Reaktionsbedingungen das Hauptprodukt des Ansatzes mit einem Umsatz von 97%. Anhand der Lösungsmittel- bzw. Temperaturänderung konnte der Umsatz an Phosphordiamidat (R_P)-**79d** nicht signifikant verbessert werden, weshalb weitere Reaktionsparameter geändert wurden.

Als nächstes erfolgte die Konzentrationserhöhung der Reaktionsmischung, wobei im Gegensatz zu Tab. 6 die Reaktionsmischung konzentriert wurde (Tab. 8). Die Experimente wurden mit 3 Äq. TEA in Dichlormethan durchgeführt, wobei nach der Zugabe der Base bei 0 °C die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Konzentration wurde stets auf die Menge an Phosphorchloridat-Derivat (R_P)/(S_P)-**65d** in Dichlormethan bezogen.

Konzentration	Reaktionszeit	Ausbeute an (R_P)- 79d (%)
0.3 M	22 h	31
0.5 M	18 h	53
0.6 M	16 h	55
0.7 M	16 h	56
0.8 M	24 h	58
0.9 M	19 h	58

Tab. 8 Auswirkung der Konzentrationsänderung auf die Ausbeute an Phosphordiamidat (R_P)-**79d**

Die Konzentrationsänderung führte zur Verbesserung der isolierten Ausbeute an Phosphordiamidat (R_P)-**79d** im Vergleich zu den in Tab. 6 dargestellten Konzentrationen. Die optimale Konzentration an Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** in Dichlormethan war 0.7 M. Die Ansätze bei der Konzentration 0.8 M und 0.9 M ergaben 2% mehr an isolierter Ausbeute, aber erwiesen sich als sehr unpraktisch bei der Durchführung. Diese Experimente enthielten kaum Dichlormethan, so dass die Reaktionsmischung nur schwer gerührt werden konnte.

Anschließend wurden die Äquivalente der Base TEA geändert. Es wurden 5 Äq. TEA verwendet und mit dem vorher beschriebenen Ansatz (Tab. 8, c = 0.7 M) verglichen. Das Experiment wurde in Dichlormethan mit der Konzentration von 0.7 M

durchgeführt, wobei nach der Zugabe der Base bei 0 °C die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt wurde (Tab. 9).

Base, Äq.	Ausbeute an (<i>R_P</i>)- 79d (%)	Umsatz (%) ^a an (<i>R_P</i>)- 79d 78d	
TEA, 3	56	78	14
TEA, 5	52	85	7

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches.

Tab. 9 Änderung der Basenäquivalente zur Synthese des Phosphordiamidates (*R_P*)-**79d**

Bei Verwendung von 5 Äq. an TEA konnte kein signifikanter Unterschied des Umsatzes an Phosphordiamidat (*R_P*)-**79d** (85% vs. 78%) festgestellt werden. Nach der säulenchromatographischen Reinigung war die isolierte Ausbeute etwas schlechter (52% statt 56%). Möglicherweise erschwert die Erhöhung der Basenäquivalente die Reinigung des Produktes.

Nach der Reaktionsoptimierung wurden die besten Reaktionsbedingungen zur Synthese des Phosphordiamidat-Derivates **79d** festgestellt. Die Reaktion fand in Dichlormethan (c = 0.7 M) mit der Verwendung von 3 Äq. TEA statt. Die Zugabe der Base erfolgte bei 0 °C, gefolgt von 16 h Rühren bei Raumtemperatur.

4.5.2 Bildung der Diastereomeregemische der Phosphordiamidat-Derivate (*R_P*)-**79d**, (*S_P*)-**79d**

Die Bildung der Phosphordiamidat-Derivate **79d** wurde mit der Synthese der Diastereomeregemische nachgewiesen. Die Darstellung des Diastereomeregemisches erfolgte aus dem literaturbekannten Phosphoramidat **14** und dem chiralen Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a**. Die zweistufige Synthese des Phosphoramidates **14** erfolgte nach der Methode von *McGuigan*.¹⁷ Zuerst erfolgte die Bildung des Phosphordichloridates **12**, gefolgt von der Umsetzung mit (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13**. Das Phosphoramidat **14** wurde als ein 1:1 Diastereomeregemisch synthetisiert und reagierte mit 1 Äq. des chiralen Auxiliars (*S*)-**51a** zu einem 1.4:1 Diastereomeregemisch der Phosphordiamidat-Derivate **79d** (Abb. 62).

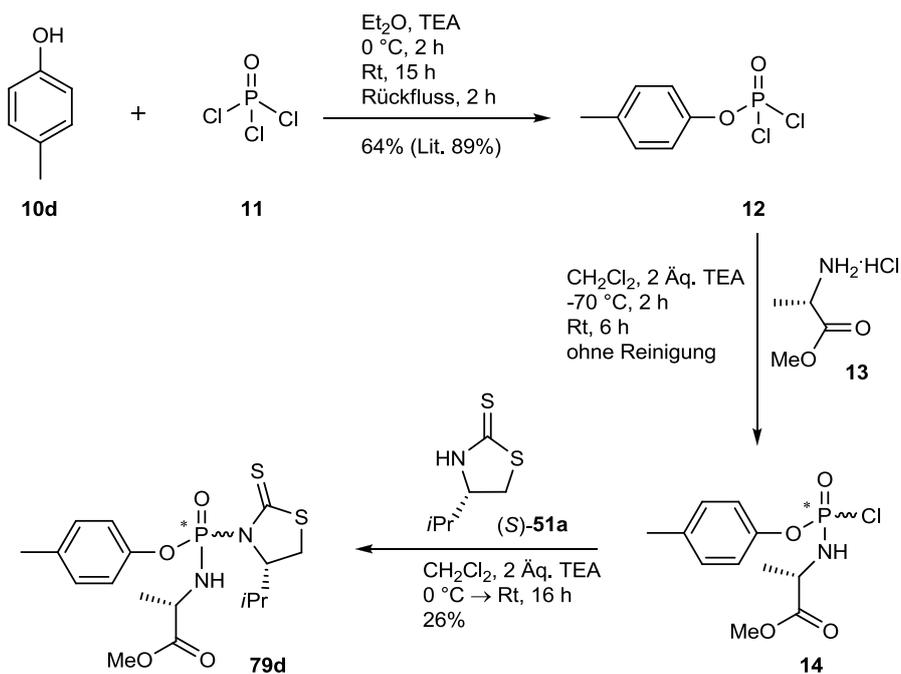


Abb. 62 Allgemeines Syntheschema zur Darstellung der Phosphordiamidate **79d** als Diastereomergemisch

Die chemische Verschiebung der Diastereomere im ^{31}P -NMR lag bei 1.41 ppm für das S_P -Diastereomer und -0.86 ppm für das R_P -Diastereomer (Abb. 63). Auf diese Weise konnte bestätigt werden, dass die vorher identifizierten Verbindungen den Phosphordiamidaten **79d** entsprechen.

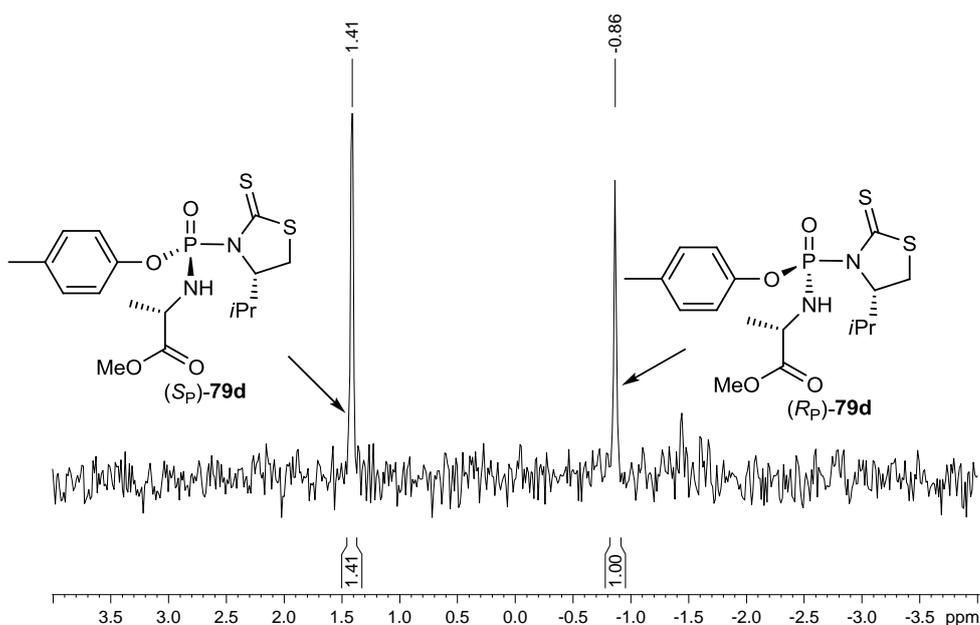


Abb. 63 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches der Phosphordiamidate **79d** als Diastereomergemisch

4.5.3 Übertragung auf andere aromatische Reste unter Bildung der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

Die besten Reaktionsbedingungen zur Synthese der Phosphordiamidate **79d** wurden auf weitere Phenol- und Naphthol-Derivate übertragen. Die Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** erfolgte aus dem nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42) erhaltenen, angereichertem Diastereomerenmisch an Phosphorchloridat-Derivaten (R_P)/(S_P)-**65a-m** und (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (Abb. 64).

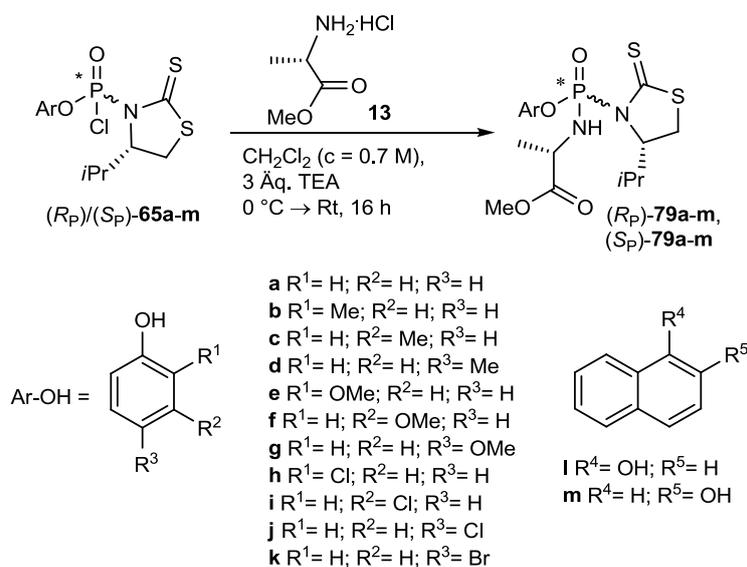


Abb. 64 Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

	Umsatz (%) ^a	<i>d.e.</i> (%) ^a	Ausbeute an (<i>S_P</i>)- 79	Ausbeute an (<i>R_P</i>)- 79
a	39	74	5	25
b	54	30	25	28
c	66	81	5	38
d	78	81	6	46
e	64	85	2	28
f	68	78	5	38
g	60	72	11	41
h	55	15	8	13
i	46	25	7	18
j	58	52	3	23
k	36	44	4	17
l	62	28	15	28
m	59	72	6	30

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches.

Tab. 10 Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

Im Vergleich zu den Phosphorchloridat-Derivaten (*R_P*)/(*S_P*)-**65a-m** sind die Diastereomerenüberschüsse in fast allen Fällen gesunken. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass der *d.e.*-Wert der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** von der Substitution am Aromatenring abhängig ist. In Analogie zu den Phosphorchloridat-Derivaten (*R_P*)/(*S_P*)-**65a-m** zeigten die 2-substituierten einen erheblichen Verlust der Diastereoselektivität im Vergleich zu den 4-substituierten Derivaten. Die einzige Ausnahme bildete die Darstellung des 2-Methoxyphenol-Phosphordiamidat-Derivates **79e**, das den besten *d.e.*-Wert aller Phosphordiamidat-Derivate ergab (85% *d.e.*). Des Weiteren zeigten die 3-substituierten Phosphordiamidat-Derivate im Wesentlichen ähnliche *d.e.*-Werte wie die 4-Substituierten. Zur besseren Übersicht wurden die erhaltenen Diastereomerenüberschüsse der Phosphorchloridat-Derivate (*R_P*)/(*S_P*)-**65a-m** und der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** graphisch dargestellt (Abb. 65).

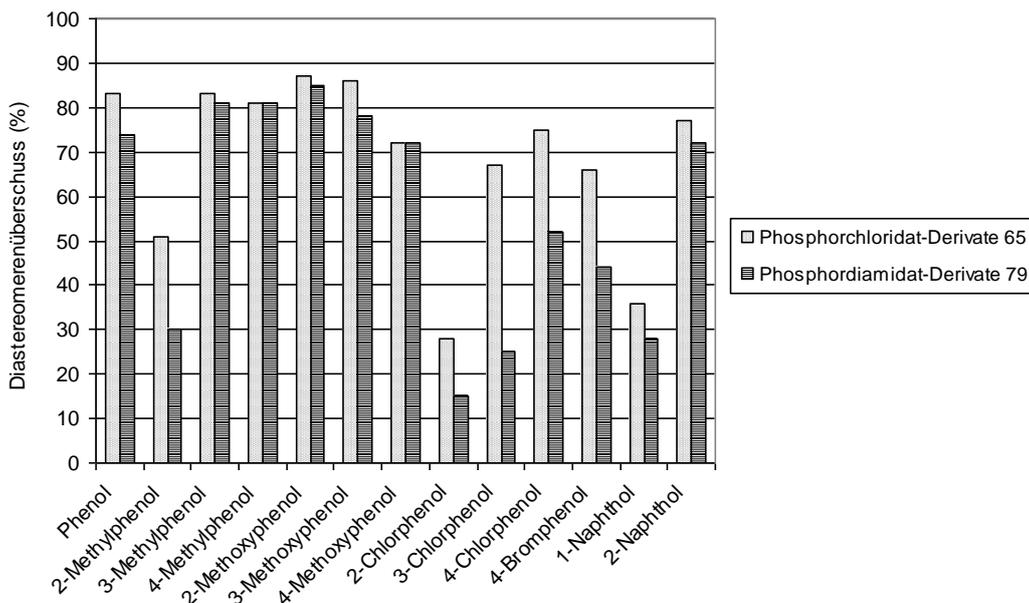


Abb. 65 Graphische Darstellung der Diastereomerenüberschüsse der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65a-m** und Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

Abb. 65 stellt den deutlichen Verlust der Diastereoselektivität bei der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** dar. Signifikant verschieden sind die *d.e.*-Werte der 2-Methylphenol-Derivate **79b** und der Chlor- bzw. Brom-Derivate **79b,h-k**. Wie bereits in Kap. 4.5 (S. 49) dargestellt, wurde außer der gewünschten Phosphordiamidat-Derivate **79d** die unerwartete Bildung des Nebenproduktes **78d** beobachtet. Der erhebliche Verlust der Diastereoselektivität könnte auf die Bildung des Nebenproduktes **78a-m** zurückgeführt werden, weshalb der Verlust an Diastereoselektivität mit dem Reaktionsmechanismus korreliert werden kann.

4.5.4 Mechanismus der Bildung von Phosphordiamidat-Derivaten

Die vermuteten Reaktionen, die zur Bildung der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** führen, sind in Abb. 66 dargestellt.

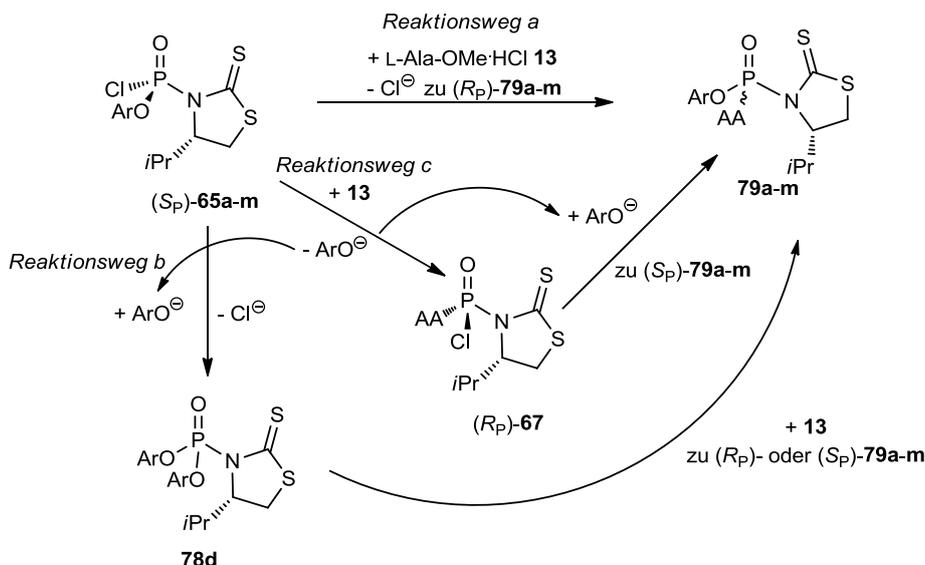


Abb. 66 Mögliche Reaktionsmechanismen zur Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

Der Reaktionsweg a stellt den erwarteten Additions-Eliminierungs-Mechanismus dar. Das angereicherte Diastereomerenmisch der Phosphorchloridat-Derivate $(R_P)/(S_P)\text{-65a-m}$, die vor allem das S_P -Diastereomer enthält, würde nach dem nucleophilen Angriff des Aminosäureester-Hydrochlorides **13** zur Synthese des R_P -konfigurierten Hauptdiastereomers der Phosphordiamidat-Derivate $(R_P)\text{-79a-m}$ führen. Die Diastereomerenverhältnisse der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** würden anhand dieses Reaktionsmechanismus erhalten bleiben, wobei dieselbe *d.e.*-Werte bei den Phosphorchloridat-Derivaten $(R_P)/(S_P)\text{-65a-m}$ zu erwarten wären. Aus diesem Grund finden möglicherweise parallel dazu andere Reaktionen statt. Der Verlust an Diastereoselektivität könnte mit den Reaktionswegen b und c erklärt werden. Der Reaktionsweg b führt zuerst zur Bildung des Nebenproduktes **78d**, das achiral am Phosphoratom ist. Aus diesem Grund könnte die weitere Umsetzung des Nebenproduktes **78d** mit dem Aminosäureester-Hydrochlorid **13** zur Bildung beider Phosphordiamidat-Diastereomere **79a-m** führen. Die Reaktion von ähnlichen Phosphoramidaten wurde bereits von Jones und Smannoo veröffentlicht.^{65,66} Die Phosphorylierung von Alkoholen mit *N*-Phosphoryloxazolidinon **80** führte unter der katalytischen Einwirkung von Kupfer(II)-Komplexen zur Bildung des chiralen Phosphatresters **82** (Abb. 67).

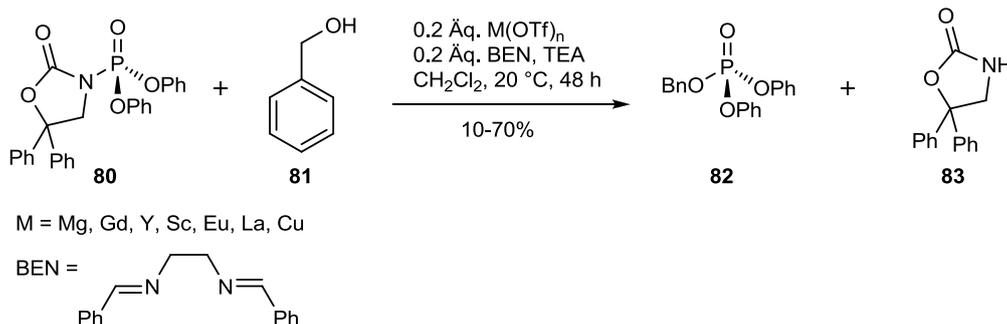


Abb. 67 Katalytische Syntheseroute zur Synthese des Phosphatriesters **82** nach Jones

Die unselektive Bildung beider Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** könnte den Verlust an Diastereoselektivität erklären. Um diese Vermutung zu bestätigen wurde als Beispiel das isolierte Nebenprodukt **78d** unter denselben Reaktionsbedingungen, wie bei der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**, mit dem Aminosäureester-Hydrochlorid **13** versetzt (Abb. 68). Selbst nach mehreren Tagen konnte allerdings keine Umsetzung des Nebenproduktes **78d** im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches beobachtet werden.

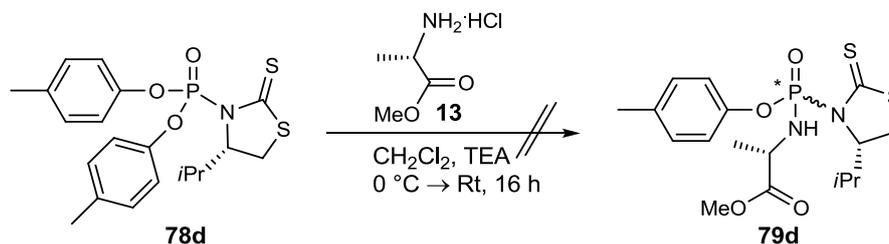


Abb. 68 Versuch der Umsetzung des Phosphoramidates **78d** mit (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** zur Darstellung der Phosphordiamidat-Derivate **79d**

Der Reaktionsweg b konnte folglich nicht bestätigt werden, so dass vermutlich der Reaktionsweg c mit dem Diastereoselektivitätsverlust zusammenhängt. Der Reaktionsweg c würde nach der Freisetzung des Phenolat-Restes zur Bildung des chiralen Phosphorchloridates (R_P)-**67** führen. Nach dem Additions-Eliminierungs-Mechanismus würde die Umsetzung unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom erfolgen und dementsprechend zur Bildung des R_P -konfigurierten Phosphorchloridates (R_P)-**67** führen. Die anschließende Umsetzung mit dem freigesetzten Phenolation würde unter erneuter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom ablaufen und zur Bildung des Phosphordiamidates (S_P)-**79a-m** führen. Die doppelte Inversion der Konfiguration würde die Bildung des Minderdiastereomers (S_P)-**79a-m** begünstigen, wobei der Verlust an

Diastereoselektivität auf diese Weise erklärt werden könnte. Zur Bestätigung dieser Vermutung wäre die Synthese des Phosphorchloridates (R_P)-**67** und die weitere Umsetzung mit dem Phenolation notwendig. Wie in Abb. 34 (S. 28) gezeigt, konnte die Darstellung des Phosphorchloridates (R_P)-**67** nicht erfolgreich durchgeführt werden. Die Bildung des Phosphorchloridates (R_P)-**67** kann nur indirekt durch die Bildung des Nebenproduktes **78d** nachgewiesen werden. Die verwendeten Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65a-m** enthielten im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine weiteren Signale der freien Phenol-Derivate, weswegen die Freisetzung der Phenolate aus der Bildung des Phosphorchloridates (R_P)-**67** erfolgen muss.

4.5.5 Absolute Konfiguration am Phosphoratom der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m**

Die Diastereomere (S_P)-**79g** und (S_P)-**79i** konnten aus Dichlormethan/Petrolether kristallisiert werden. Weitere Kristallisationsversuche der isolierten Minderdiastereomere führten nicht zu Einkristallstrukturanalysen. Die Kristallisation der Hauptdiastereomere der Phosphoramidat-Derivate **79a-m** war nicht möglich, weil es sich um Öle handelt. Beide Einkristallstrukturanalysen bestätigten die vorherige Annahme, dass das Minderdiastereomer S_P -konfiguriert ist. Dementsprechend weist das Hauptdiastereomer der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** die R_P -Konfiguration auf. Abb. 69 stellt die Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidat-Derivates (S_P)-**79g** dar.

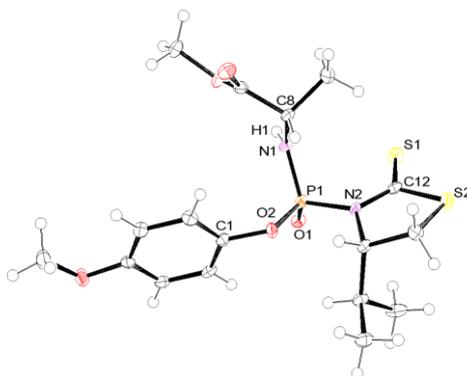


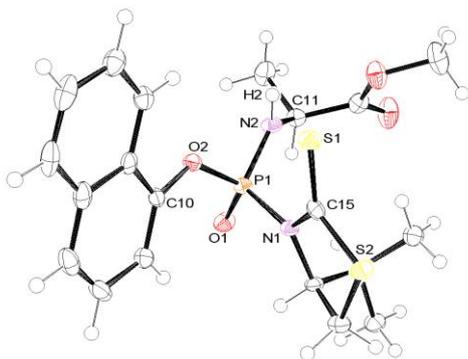
Abb. 69 Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidat-Derivates (S_P)-**79g**

Tab. 11 fasst einige Bindungslängen und Winkel zusammen.

Atom 1	Atom 2	Länge	Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel
S1	C12	1.650(3)	O1	P1	O2	115.92(12)
S2	C12	1.739(3)	O1	P1	N1	113.96(13)
P1	O1	1.462(2)	O2	P1	N1	106.41(12)
P1	O2	1.587(2)	O1	P1	N2	115.49(13)
P1	N1	1.617(2)	O2	P1	N2	94.59(11)
P1	N2	1.713(2)	N1	P1	N2	108.54(12)
O2	C1	1.409(3)	C1	O2	P1	121.60(17)
N1	C8	1.459(4)	C8	N1	P1	123.63(19)
N1	H1	0.8800	P1	N1	H1	118.2

Tab. 11 Bindungslängen (pm) und Winkel (°) von (*S_P*)-**79g**

Die in Abb. 70 dargestellte Einkristallstrukturanalyse gehört zu dem Minderdiastereomer des Phosphordiamidat-Derivates (*S_P*)-**79I**.


Abb. 70 Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidat-Derivates (*S_P*)-**79I**

Tab. 12 fasst einige Bindungslängen und Winkel zusammen.

Atom 1	Atom 2	Länge	Atom 1	Atom 2	Atom 3	Winkel
S1	C15	1.649(2)	O1	P1	O2	117.55(8)
S2	C15	1.747(2)	O1	P1	N2	115.06(9)
P1	O1	1.4635(15)	O2	P1	N2	100.34(8)
P1	O2	1.5807(15)	O1	P1	N1	106.85(8)
P1	N2	1.6125(17)	O2	P1	N1	103.92(8)
P1	N1	1.7091(16)	N2	P1	N1	112.71(8)
O2	C10	1.400(3)	C10	O2	P1	127.11(13)
N1	C15	1.367(3)	C15	N1	P1	124.30(14)
N2	C11	1.461(2)	C11	N2	P1	123.00(13)

Tab. 12 Bindungslängen (pm) und Winkel (°) von (*S_P*)-**79I**

4.5.6 Übertragung auf das Benzylester-Derivat

Der Austausch des Methylester-Restes gegen den Benzylester sollte beweisen, dass die Verwendung anderer Ester in ähnlicher Weise zur Synthese der entsprechenden Phosphordiamidat-Derivate führt. Zuerst erfolgte die Synthese des (S)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (S)-**84** unter Verwendung von Thionylchlorid und Benzylalkohol **81** nach Literaturvorschrift (Abb. 71).⁶⁷

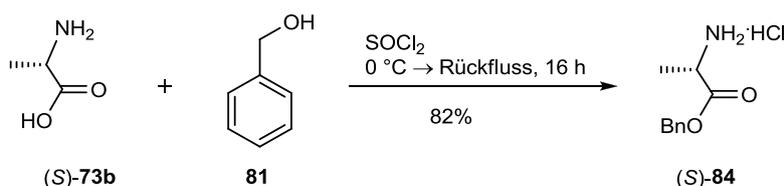


Abb. 71 Synthese des (S)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (S)-**84** mit Thionylchlorid

Die weitere Umsetzung mit den Phosphorchloridat-Derivaten (R_P)/(S_P)-**65b,d**, erhalten nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42), führte zu geringeren Umsetzungen und signifikanten Verlusten der Diastereomerenüberschüsse (Abb. 72). Die erzielten Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse sind in Tab. 13 zusammengefasst.

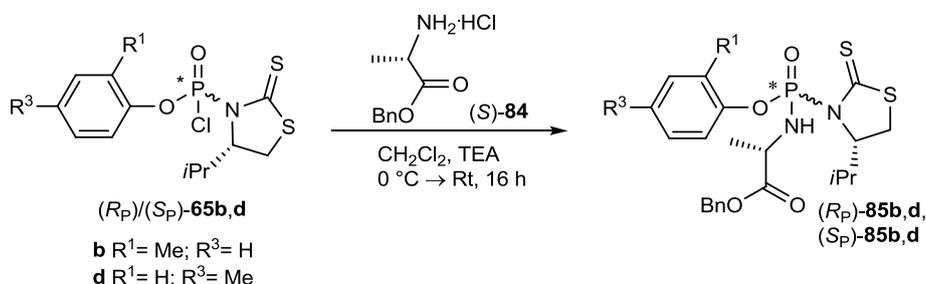


Abb. 72 Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85b,d**

	Umsatz (%) ^a	d.e. (%) ^a	Ausbeute (%) an (S_C , S_P)- 85	Ausbeute (%) an (R_C , S_P)- 85	Ausbeute (%) an (S_C , R_P)- 85
b	37	17	3	-	17
d	46	52	0.2	1	30

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches.

Tab. 13 Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85b,d**

Im Vergleich zu den Methylester-Phosphordiamidat-Derivaten **79b,d** (Kap. 4.5.3, S. 55) sind die Umsätze der Phosphordiamidat-Derivate **85b,d** deutlich niedriger.

Zusätzlich wurde ein signifikanter Verlust an Diastereoselektivität beobachtet. Die eingesetzten Edukte, die Phosphorchloridat-Derivate **65b,d**, wiesen jeweils 51% bzw. 81% *d.e.* auf. Des Weiteren bereitete die Synthese von **85d** die unerwartete Bildung einer weiteren phosphorhaltigen Verbindung, die in den Fraktionen des Minderdiastereomers (S_P)-**85d** stets enthalten war. Aufgrund der sehr ähnlichen R_f -Werte war eine Trennung der neuen phosphorhaltigen Verbindung von dem Minderdiastereomer (S_P)-**85d** schwierig. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen konnten beide Verbindungen teilweise voneinander getrennt werden. Aufgrund der wiederholten säulenchromatographischen Reinigungen kam es zu erheblichen Ausbeutenverlusten, wobei die Isolierung von (S_P)-**85d** in 0.2% und der weiteren phosphorhaltigen Verbindung in 1% Ausbeute erfolgte. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der beiden Verbindungen zeigte allerdings, dass es sich in beiden Fällen um Phosphordiamidat-Derivate handelte. Die Bildung der weiteren phosphorhaltigen Verbindung deutete auf eine mögliche Racemisierung eines Stereozentrums des Phosphordiamidat-Derivates **85d** während der Reaktion hin. Von den drei Stereozentren, die bei den Phosphordiamidat-Derivaten **85d** enthalten sind, lag die Vermutung nahe, dass es sich um das Stereozentrum der α -Aminosäure handelte.

Um diese Hypothese zu bestätigen, war die Synthese der D-Phosphordiamidat-Derivate (R_C)-**85d** notwendig. Zuerst sollte die Synthese des (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (*R*)-**84** stattfinden, die analog zur Synthese von (*S*)-**84** erfolgen sollte (Abb. 71, S. 61). Aufgrund von unbekanntem Gründen führte die Verwendung von Thionylchlorid und Benzylalkohol nicht zur gewünschten Bildung von (*R*)-**84**. Mehrere Wiederholungen der literaturbekannten Synthese scheiterten. Aus diesem Grund erfolgte die Synthese des (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (*R*)-**84** nach der Methode von *Joullié* (Abb. 73).⁶⁸

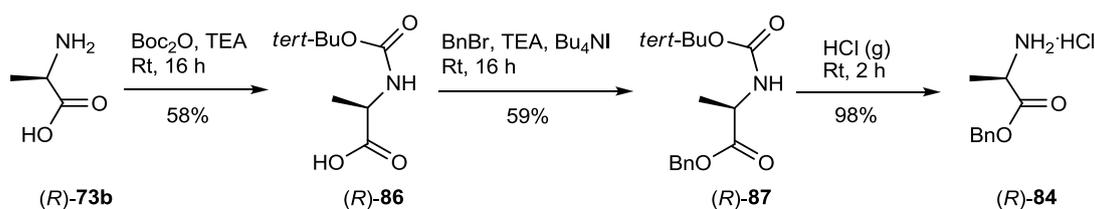


Abb. 73 Synthese des (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (*R*)-**84** nach der Methode von *Joullié*

Die Darstellung erfolgte nach einer dreistufigen Synthese, wobei zuerst die Aminofunktion der Aminosäure mit der *tert*-Butyloxycarbonyl-Gruppe (Boc) geschützt

wurde. Die erzielte Ausbeute an (*R*)-**86** von 58% war sehr niedrig im Vergleich zu der beschriebenen Literatúrausbeute, die als „quantitative“ angegeben wurde. Der Grund für den erheblichen Ausbeuteverlust lag möglicherweise an dem verwendeten Di-*tert*-butyldicarbonat. Das Edukt (*R*)-**73b** wurde nicht vollständig umgesetzt und konnte reisoliert werden. Folglich war mit großer Sicherheit das verwendete Di-*tert*-butyldicarbonat teilweise zersetzt. Die weitere Umsetzung mit Benzylbromid führte zu dem Boc-geschützten D-Alaninbenzylester (*R*)-**87** in 59% Ausbeute. In diesem Fall konnte das Produkt säulenchromatographisch gereinigt werden und wurde in sehr hoher Reinheit erhalten. Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Chlorwasserstoff lieferte das gewünschte (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*R*)-**84** in einer Ausbeute von 98%.

Die weitere Umsetzung des (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (*R*)-**84** mit dem Phosphorchloridat (*R_P*)/(*S_P*)-**65d**, erhalten nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42), führte zu den Phosphordiamidat-Derivaten (*R_C*, *S_P*)-**85d** und (*R_C*, *R_P*)-**85d** (Abb. 74). Die Trennung der beiden Diastereomere konnte leider auch nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen nicht vollständig erzielt werden.

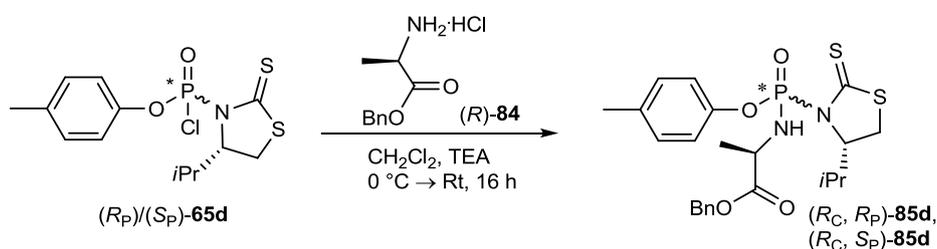


Abb. 74 Synthese der Phosphordiamidat-Derivate (*R_C*)-**85d**

	Umsatz (%) ^a	d.e. (%) ^a	Ausbeute (%) an (<i>R_C</i> , <i>S_P</i>)- 85	Ausbeute (%) an (<i>R_C</i> , <i>R_P</i>)- 85
d	90	81	9 ^b	68 ^c

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches. ^b Diastereomerenüberschuss angereichert bis ≥95%.
^c Diastereomerenüberschuss angereichert bis 75%.

Tab. 14 Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate (*R_C*)-**85d**

Die Reaktion führte zu einem Umsatz von 90% und zu einem Diastereomerenverhältnis von 1:9 (81% d.e.). Die chemische Verschiebungen der Diastereomere im ³¹P-NMR-Spektrum waren 1.17 ppm und 0.19 ppm. Die vorher

unbekannte phosphorhaltige Verbindung besaß im ^{31}P -NMR-Spektrum die chemische Verschiebung von 0.19 ppm. Die Bildung des S_P -konfigurierten R_C -Diastereomers (R_C, S_P)-**85d** bestätigte die Vermutung, dass bei der Synthese von L-Phosphordiamidat-Derivaten (S_C)-**85d** eine Racemisierung des Aminosäurestereozentrums stattfand. Die erzielte Umsetzung und der erhaltene Diastereomerenüberschuss bei der Synthese der D-Phosphordiamidat-Derivate (S_C)-**85d** deuteten auf eine mögliche Beeinflussung der Aminosäureester-Synthese auf die Darstellung der Phosphordiamidat-Derivate **85d** hin. Infolgedessen wurde (*S*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*S*)-**84** erneut synthetisiert, aber dieses Mal nach der Methode von *Joullié* in Analogie zu der Synthese von (*R*)-**84** (Abb. 75).⁶⁸

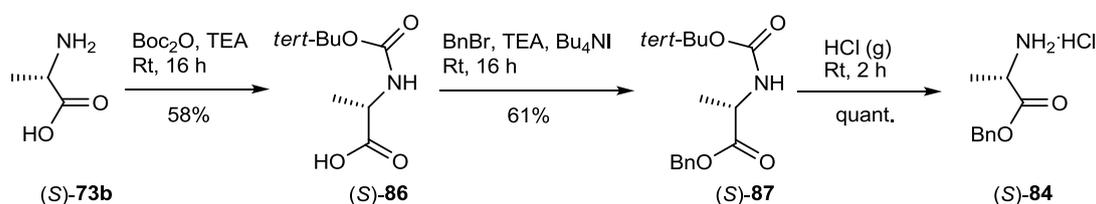


Abb. 75 Synthese des (*S*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorides (*S*)-**84** nach der Methode von *Joullié*

Die Umsetzung der Phosphorchloridat-Derivate (R_P)/(S_P)-**65b,d**, erhalten nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42), mit (*S*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*S*)-**84** wurde wiederholt (Abb. 76). Die Reaktionen ergaben sehr unterschiedliche Umsätze und Diastereomerenüberschüsse als vorher erzielt (Tab. 15).

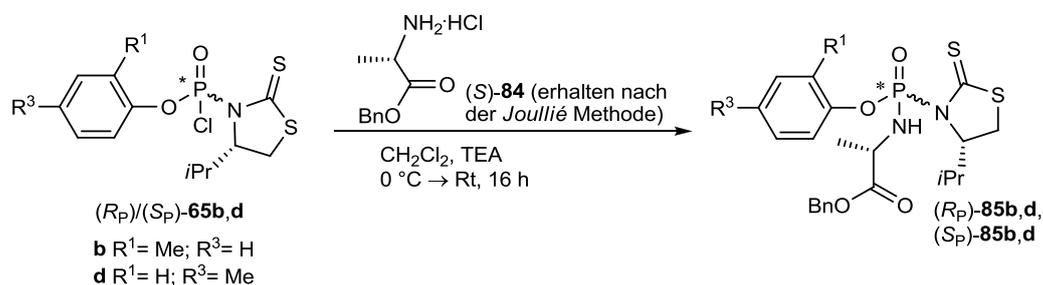


Abb. 76 Erneute Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85b,d**

	Umsatz (%) ^a	d.e. (%) ^a	Ausbeute (%) an (S _P)- 85	Ausbeute (%) an (R _P)- 85
b	95	48	16	55
d	93	81	5	70

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches.

Tab. 15 Einfluss der Aminosäureester-Synthese auf die Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85b,d**

Die in Tab. 15 gezeigten Umsätze und *d.e.*-Werte unterscheiden sich signifikant von den vorher erzielten (Tab. 13, S. 61) und ergaben die Schlussfolgerung, dass der Syntheseweg zur Darstellung des Aminosäureester-Hydrochlorides (*S*)-**84** eine wichtige Rolle auf die weitere Umsetzung mit den Phosphorchloridat-Derivaten (*R_P*)/(*S_P*)-**65b,d** spielt. Möglicherweise handelt es sich um Verunreinigungen, die obwohl nur in geringem Maß enthalten, eine entscheidende negative Auswirkung auf die weiteren Umsetzungen haben. Die ³¹P-NMR-Spektren der Rohgemische stellen den erheblichen Unterschied dar (Abb. 77-78).

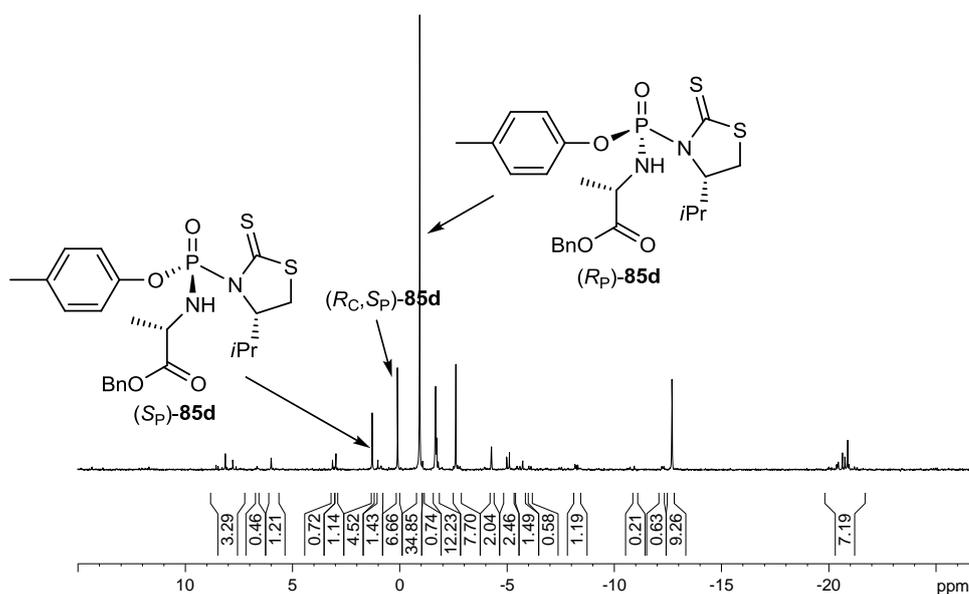


Abb. 77 ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches der Phosphordiamidat-Derivate **85d** unter Verwendung von (*S*)-**84**, synthetisiert nach der Thionylchlorid Methode

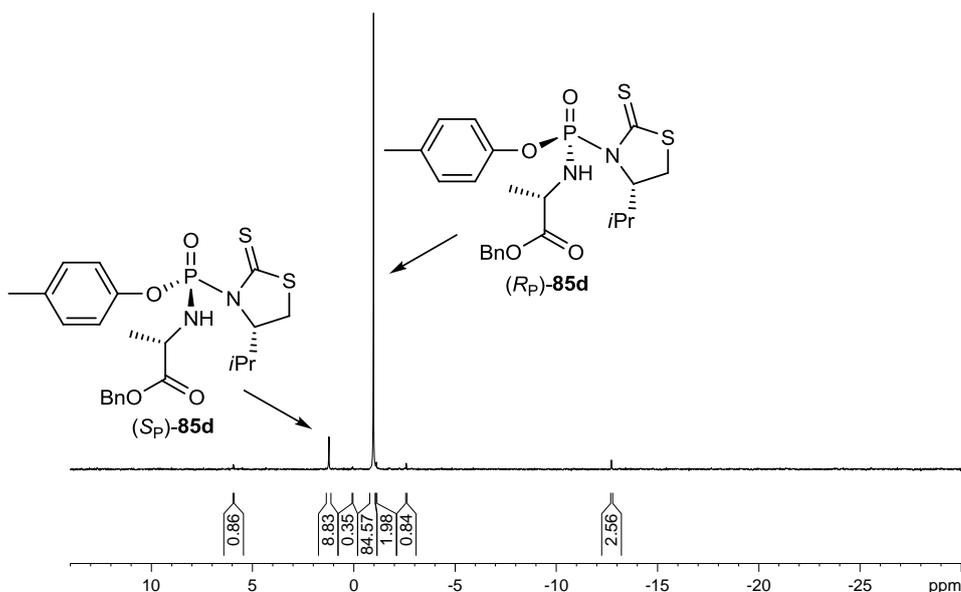


Abb. 78 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches der Phosphordiamidat-Derivate **85d** unter Verwendung von (S) -**84**, synthetisiert nach der Methode von *Joullié*

Der einzige Unterschied zwischen den beiden Synthesen liegt an dem verwendeten Aminosäureester-Hydrochlorid (S) -**84**, das mittels zwei Synthesemethoden dargestellt worden ist. Die Verwendung von (S) -**84**, das nach der Thionylchlorid-Methode erhalten wurde, führte zur Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85d** in 46% Umsatz und 52% *d.e.*. Im Gegensatz dazu führte die Verwendung von (S) -**84**, der nach der Methode von *Joullié* dargestellt wurde, zur Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **85d** in 93% Umsatz und 81% *d.e.*. Des Weiteren erfolgte bei der anschließenden Umsetzung keine Racemisierung des Aminosäureesters während der Synthese. Diese erheblichen Unterschiede bestätigen, dass die Synthese des Aminosäureester-Hydrochlorides einen entscheidenden Einfluss auf die Bildung der Phosphordiamidat-Derivate hat. Diese Erkenntnis wurde leider erst am Ende der Arbeit gewonnen und konnte somit nicht für die anderen Derivate angewendet werden.

4.6 Diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

Die Umsetzung von 1 Äq. R_P -Phosphordiamidat (R_P) -**79d** mit 1.5 Äq. Nucleosidanalogen d4T **1** führte zur diastereoselektiven Synthese des

S_P -Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**. Die Darstellung erfolgte in THF/Acetonitril (1:1) mit 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid (Abb. 79).

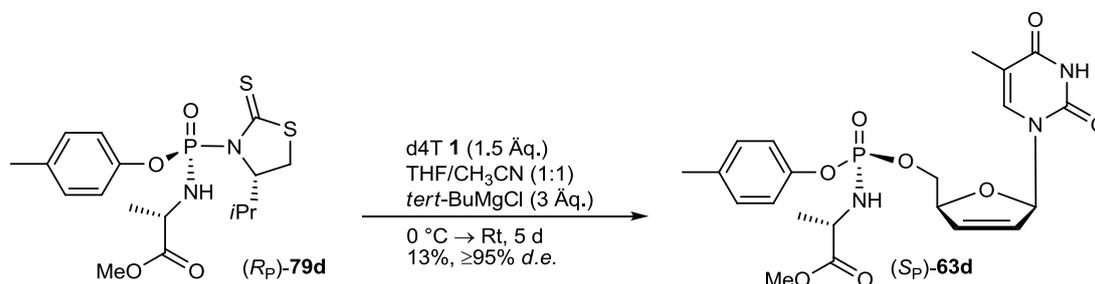


Abb. 79 Diastereoselektive Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphat (S_P)-**63d**

Die Base *tert*-Butylmagnesiumchlorid wurde in Analogie zur Methode von *Uchiyama* verwendet.⁶⁹ Die Aufarbeitung des Rohgemisches erfolgte nach 5 d, obwohl laut Dünnschichtchromatographie noch erhebliche Mengen der Edukte vorhanden waren. Das erhaltene Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63d** wurde in 13% Ausbeute und mit einem Diastereomerenüberschuss von $\geq 95\%$ erhalten (Abb. 80).

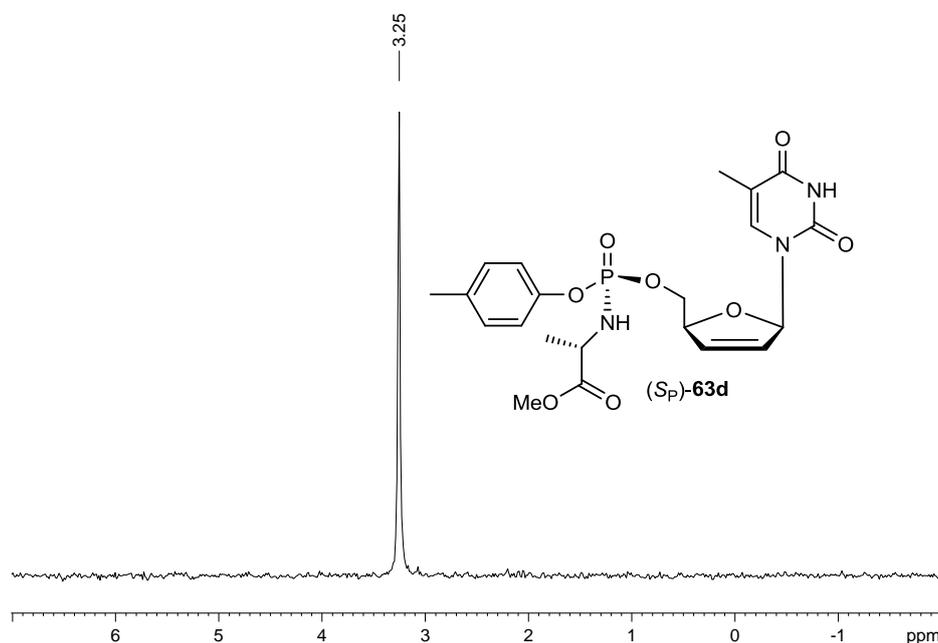


Abb. 80 ^{31}P -NMR-Spektrum des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Der *d.e.*-Wert konnte nicht aus dem Rohgemisch bestimmt werden. Das ^{31}P -NMR-Signal des als Ausgangsverbindung verwendeten Phosphordiamidates (R_P)-**79d** war im Vergleich zum Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63d** erheblich größer, so

dass die Bestimmung des *d.e.*-Wertes aus dem Rohgemisch aufgrund der niedrigen Ausbeute an Produkt (S_P)-**63d** nicht erfolgen konnte. Aus diesem Grund erfolgte die Bestimmung des *d.e.*-Wertes erst nach der säulenchromatographischen Reinigung. Die Zuordnung der absoluten Konfiguration am Phosphoratom konnte nicht anhand einer Einkristallstrukturanalyse bestimmt werden, weil das Pronucleotid nicht kristallisiert werden konnte. Unter der Annahme, dass die Reaktion unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom erfolgt, wurde die S_P -Konfiguration für das synthetisierte Pronucleotid postuliert. Außerdem wurde bei dieser Reaktion der Additions-Eliminierungs-Mechanismus angenommen. Eine detaillierte Beschreibung des Mechanismus wird in Kap. 4.6.8 (S. 88) gegeben.

Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte zusätzlich ein Nebenprodukt **88** in sehr geringer Menge erhalten werden. Es handelte sich um eine phosphorhaltige Verbindung, die im ^1H -NMR-Spektrum die Signale aller Protonen des Phosphordiamidates (R_P)-**79d** und des Nucleosidanalogons d4T **1** zeigte. Die chemische Verschiebung im ^{31}P -NMR-Spektrum war hauptsächlich -1.03 ppm, wobei ein weiteres Signal bei 3.66 ppm in geringerer Intensität vorhanden war. Das FAB-Spektrum zeigte Massenfragmente bei 613.3, 609.2, 483.1 und 460.2. Leider führten die $^1\text{H}, ^1\text{H}$ - und $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -Korrelationsspektren zu keiner Schlussfolgerung, so dass die unbekannte Verbindung **88** nicht identifiziert werden konnte.

Das Minderdiastereomer bei der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79d** wurde ebenfalls mit dem Nucleosidanalogon d4T **1** umgesetzt. Die Kupplung des S_P -Phosphordiamidates (S_P)-**79d** mit d4T **1** führte zur diastereoselektiven Synthese des R_P -Arylphosphoramidat-Pronucleotides (R_P)-**63d** in 22% Ausbeute (Abb. 81).

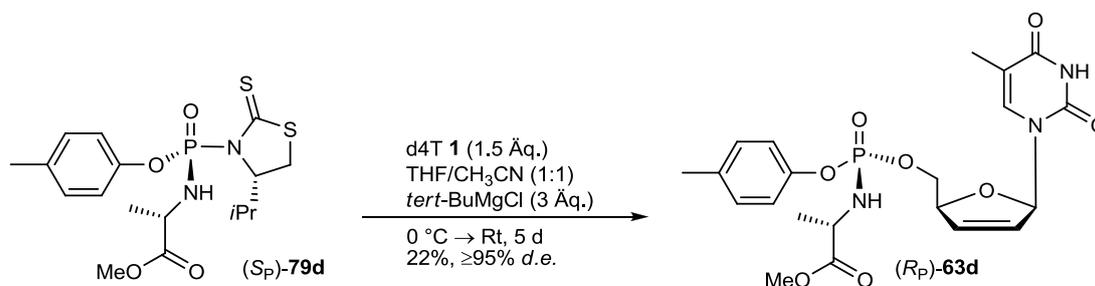


Abb. 81 Diastereoselektive Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin 5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphat (R_P)-**63d**

Die Bestimmung des Diastereomerenüberschusses erfolgte in gleicher Weise nach der säulenchromatographischen Reinigung und ergab $\geq 95\%$ d.e.. In Abb. 82 ist das ^{31}P -NMR-Spektrum der Zielverbindung abgebildet, wobei eine Verunreinigung bei 3.44 ppm zu erkennen ist. Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Verschiebungen gehört dieses Signal nicht zu dem S_P -konfigurierten Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63d**.

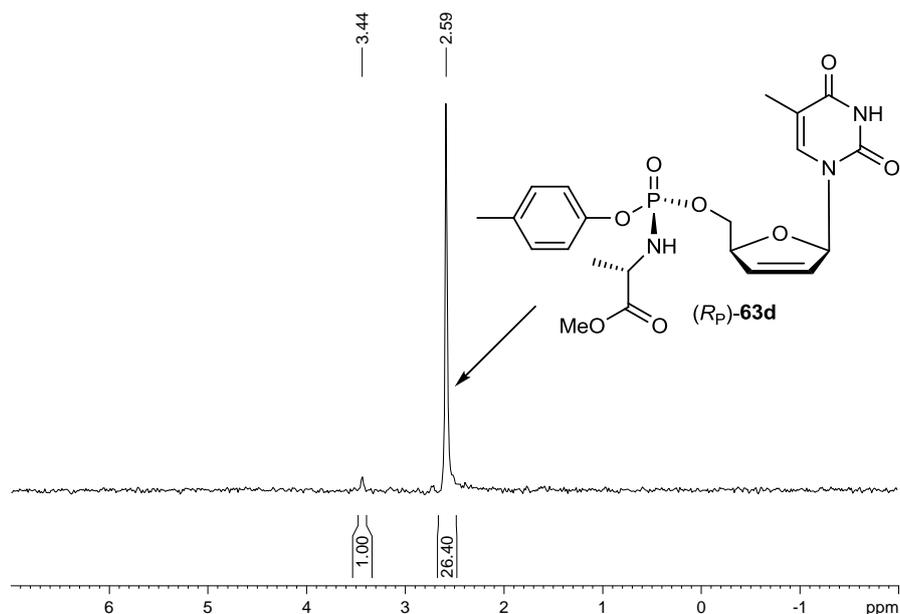


Abb. 82 ^{31}P -NMR-Spektrum des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (R_P)-**63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Bei der Umsetzung erfolgte keine Isolierung weiterer Nebenprodukte, was möglicherweise zu der ungefähr doppelten Ausbeute an R_P -konfigurierten Arylphosphoramidat-Pronucleotid (R_P)-**63d** im Vergleich zu dem S_P -konfigurierten (S_P)-**63d** führte. In diesem Fall konnte gleichfalls beobachtet werden, dass noch erhebliche Mengen der Edukte vorhanden waren.

Die in Abb. 83 gezeigte Van-der-Waals-Darstellung der Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidates (S_P)-**79d** zeigt, dass insbesondere zwischen dem Phenolrest und dem Thiazolidin-2-thion-Ring ausreichender Platz für einen nucleophilen Angriff des Nucleosidanalogons d4T **1** zur Verfügung steht.

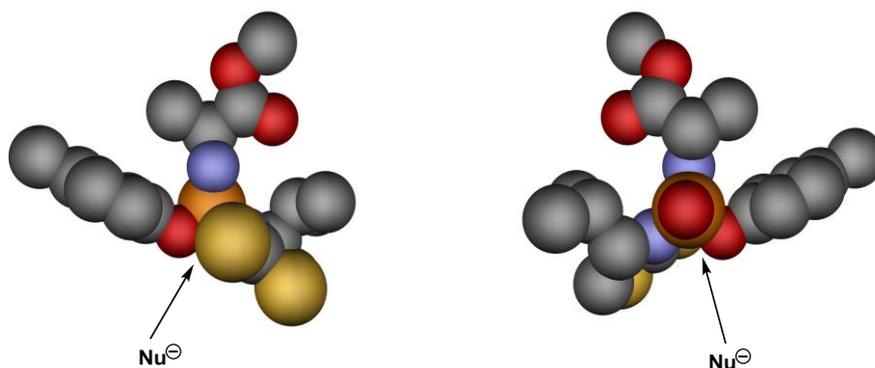


Abb. 83 Van-der-Waals-Darstellung der Einkristallstrukturanalyse des Phosphordiamidates (S_P)-**79d** aus zwei Blickwinkeln; die Wasserstoffatome sind aus Übersichtsgründen nicht dargestellt

4.6.1 Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** nach *McGuigan*

Die Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** als Diastereomergemische erfolgte nach der Methode von *McGuigan*.⁷⁰ Zum einen sollte bewiesen werden, dass anhand der säulenchromatographischen Reinigung keine Anreicherung eines Diastereomers möglich ist. Zum anderen sollte durch den Vergleich der erhaltenen chemischen Verschiebungen im ^{31}P -NMR-Spektrum die Bildung der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** bestätigt werden (Abb. 84).

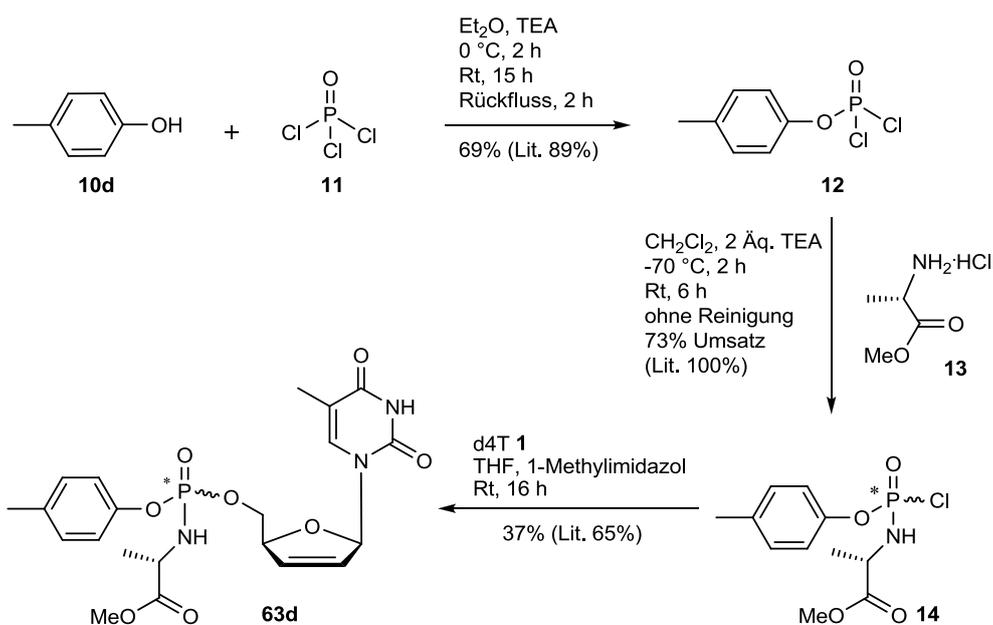


Abb. 84 Synthese des Diastereomergemisches der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** nach der Methode von *McGuigan*

Die in der Literatur angegebenen Ausbeuten konnten nicht reproduziert werden. Besonders die Darstellung des Phosphorchloridates **14** bereitete Schwierigkeiten. Der erzielte Umsatz von 73% wurde aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bestimmt (Abb. 85). Auch nach wiederholten Ansätzen konnte die Literatursausbeute von 100% nicht erzielt werden.

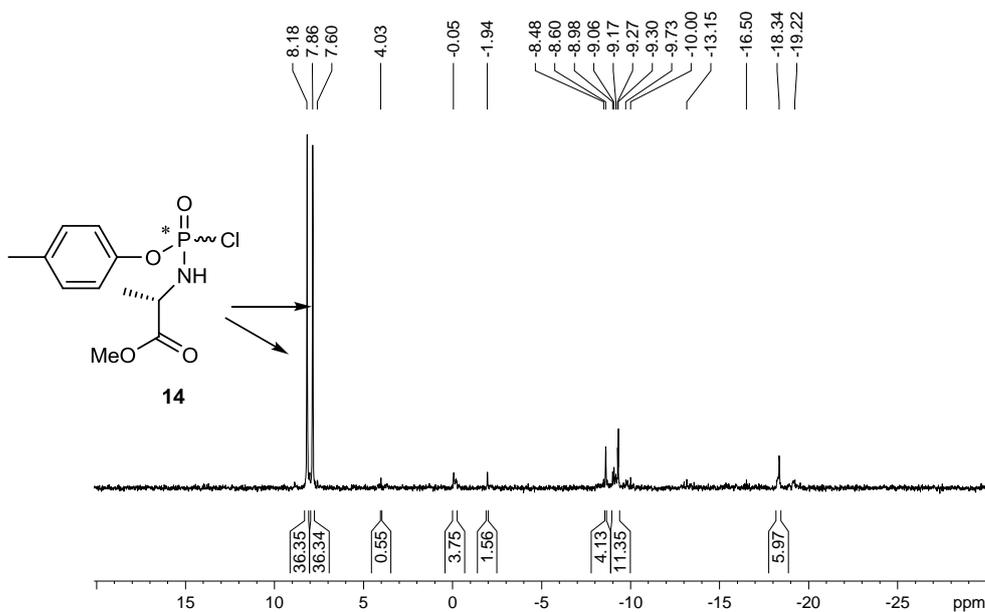


Abb. 85 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches des Phosphorchloridates **14**

Aufgrund der Reaktivität der Verbindung konnte keine chromatographische Reinigung des Phosphorchloridates **14** erfolgen und wurde als Rohgemisch weiter umgesetzt. Die Kupplung mit d4T **1** in THF und 1-Methylimidazol als Base führte zur Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** in 37% Ausbeute. Die Syntheseroute lieferte ein 1.1:1 Diastereomergemisch, das mittels säulenchromatographischer Reinigung nicht getrennt werden kann. Abb. 86 zeigt das ^{31}P -NMR-Spektrum der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d**. Die Werte entsprachen den in der Literatur angegebenen chemischen Verschiebungen.⁷¹

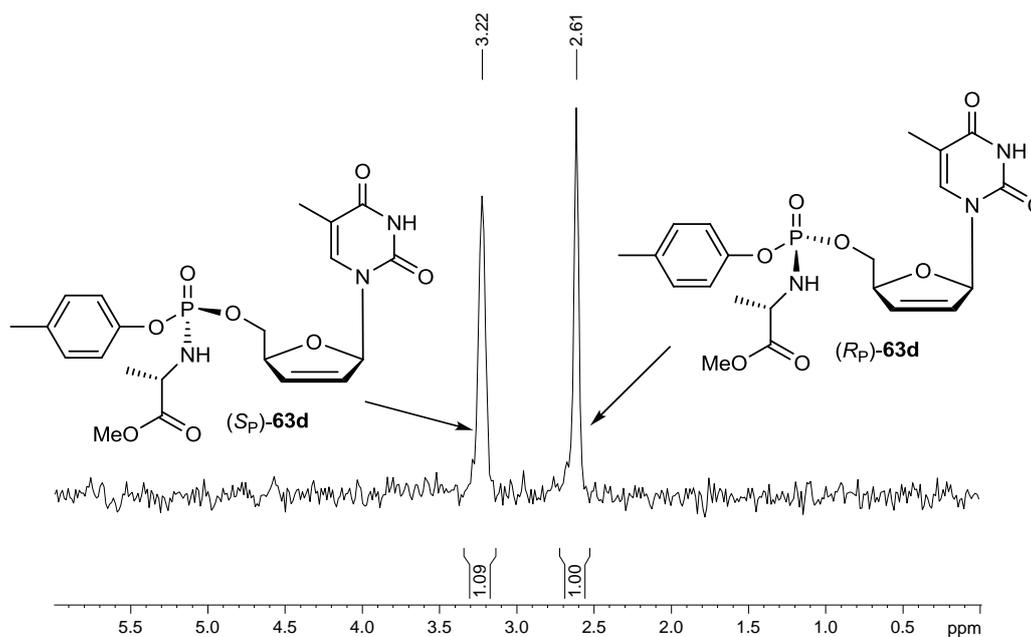


Abb. 86 ^{31}P -NMR-Spektrum des Diastereomerengemisches der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Auf diese Weise konnte bestätigt werden, dass die Anreicherung eines Diastereomers mittels säulenchromatographischer Reinigung nicht möglich ist. Des Weiteren wurde die Bildung der Pronucleotide mit den chemischen Verschiebungen im ^{31}P -NMR-Spektrum des Diastereomerengemisches bestätigt.

4.6.2 Vergleich der Syntheserouten

Das synthetisierte Diastereomerengemisch der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d**, erhalten nach der Methode von *McGuigan*, wurde mit den während dieser Arbeit diastereoselektiv synthetisierten Diastereomeren verglichen. Die Trennung der Diastereomere **63d** erfolgte durch analytische HPLC unter Verwendung von 82% Wasser und 18% Acetonitril isokratisch über 60 min (Methode II, S. 121) und ermöglichte die Berechnung der unterschiedlichen Diastereomerenüberschüsse.

Die in Abb. 87 gezeigten Chromatogramme stellen den Vergleich zwischen den beiden Syntheserouten dar.

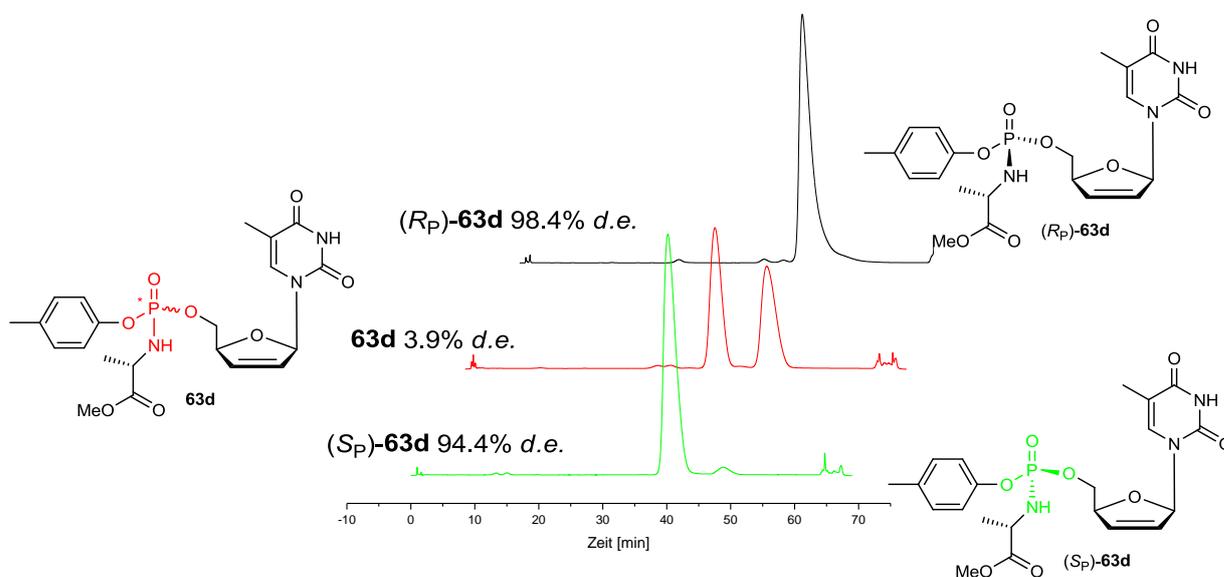


Abb. 87 HPLC-Chromatogramme der nach zwei unterschiedlichen Syntheserouten dargestellten Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d**

Die Diastereomenüberschüsse der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** sind in Abhängigkeit der verwendeten Synthesemethode signifikant verschieden. Die literaturbekannte Synthese nach *McGuigan* liefert ein Diastereomergemisch mit 3.9% *d.e.* in 65% Ausbeute, wobei die tatsächliche Ausbeute von jedem Diastereomer bei 32% liegt. Im Gegensatz dazu liefert die in dieser Arbeit entwickelte diastereoselektive Synthese das S_P -konfigurierte Diastereomer (S_P)-**63d** in 94.4% *d.e.* und 13% Ausbeute und das R_P -konfigurierte (R_P)-**63d** in $\geq 95\%$ *d.e.* und 22% Ausbeute. Insgesamt sind die erzielten Ausbeuten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** nach der diastereoselektiven Synthese deutlich geringer als die von *McGuigan*. Der entscheidende Unterschied liegt am Diastereomenüberschuss der dargestellten Pronucleotide, wobei die diastereoselektive Synthese nahezu diastereomerenreine Verbindungen liefert. Zusätzlich hat die diastereoselektive Synthese den Vorteil, dass die Edukte nach der säulenchromatographischen Reinigung reisoliert werden können.

4.6.3 Übertragung auf andere Reste und antivirale Aktivität der Diastereomere

Die verwendeten Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** wurden auf weitere Phosphordiamidat-

Derivate **79b,g,I** (Kap. 4.5.3, S. 54) übertragen. Es sollte festgestellt werden, ob die Substituenten am Aromaten die Stereoselektivität beeinflussen (Abb. 88).

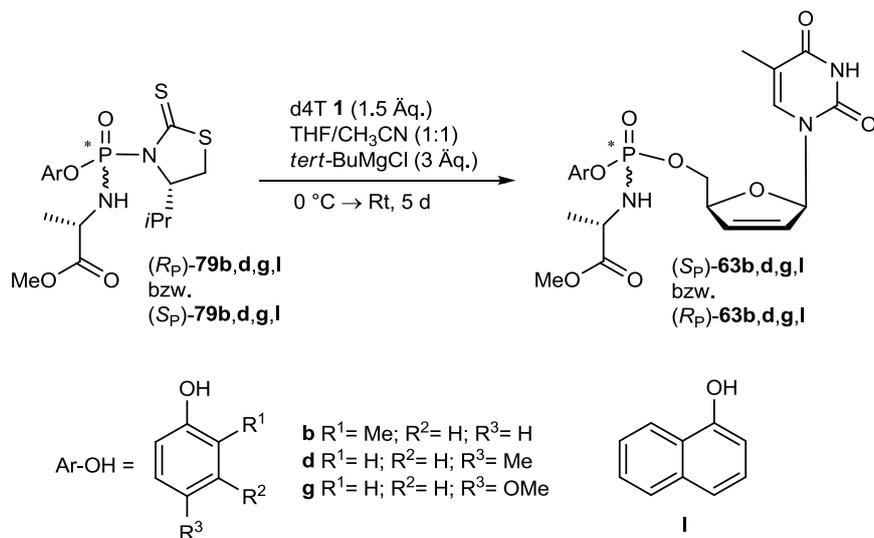


Abb. 88 Diastereoselektive Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I**

Unter der Annahme des Additions-Eliminierungs-Reaktionsmechanismus lieferten die Hauptdiastereomere der Phosphordiamidat-Derivate (R_P) -**79b,d,g,I** die S_P -konfigurierten Phosphoramidat-Pronucleotide (S_P) -**63b,d,g,I**. Umgekehrt lieferten die Minderdiastereomere der Phosphordiamidat-Derivate (S_P) -**79b,d,g,I** stets die R_P -konfigurierten Phosphoramidat-Pronucleotide (R_P) -**63b,d,g,I**. Die unterschiedlichen chemischen Verschiebungen im ^{31}P -NMR-Spektrum erleichtern die Unterscheidung der Pronucleotid-Diastereomere **63b,d,g,I**, weil die absolute Konfiguration am Phosphoratom nicht anhand einer Einkristallstrukturanalyse bestimmt werden konnte. In Tab. 16 sind die erhaltenen Ausbeuten der diastereoselektiv synthetisierten Phosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I** zusammengestellt.

(S_P) - 63	δ (^{31}P) (ppm)	Ausbeute (%)	<i>d.e.</i> (%) ^{a,b}	(R_P) - 63	δ (^{31}P) (ppm)	Ausbeute (%)	<i>d.e.</i> (%) ^{a,c}
b	3.01	7	94	b	2.65	30	≥ 95
d	3.25	13	≥ 95	d	2.59	22	≥ 95
g	3.59	14	≥ 95	g	2.96	38	≥ 95
I	3.27	16	≥ 95	I	2.87	29	≥ 95

^a *d.e.*-Wert bestimmt aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung. ^b Die Edukte sind die Phosphordiamidat-Derivate (R_P) -**79b,d,g,I** mit $\geq 95\%$ *d.e.*. ^c Die Edukte sind die Phosphordiamidat-Derivate (S_P) -**79b,d,g,I** mit $\geq 95\%$ *d.e.*.

Tab. 16 Chemische Verschiebungen der Phosphorsignale im ^{31}P -NMR-Spektrum, isolierte Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I**

Im Allgemeinen wurden die R_P -konfigurierten Phosphoramidat-Pronucleotide (R_P)-**63b,d,g,I** in ungefähr doppelter Ausbeute als die S_P -konfigurierten erhalten. Gleichzeitig konnten die Pronucleotide als nahezu diastereomerenreine Verbindungen mit Diastereomerenüberschüssen von $\geq 95\%$ dargestellt werden. Das Phosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63b** stellte eine Ausnahme dar und wurde lediglich in 94% *d.e.* erhalten. Die individuell dargestellten Diastereomere der Phosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I** sowie die Referenzverbindung d4T **1** wurden auf ihre antivirale Aktivität gegen HIV-1, HIV-2 und Murines Sarcom-Virus (MSV) *in vitro* getestet. Die antiviralen Messungen erfolgten in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. J. Balzarini an der Universität Leuven in Belgien. In Tab. 17 sind die antiviralen Daten gegen HIV-1 und HIV-2 infizierte CEM/0-Wildtypzellen und HIV-2 infizierte Thymidin-Kinase-defiziente CEM-Zellen sowie gegen MSV in C3H/3T3 Zellen zusammengefasst.

	EC ₅₀ (μM) ^a			CC ₅₀ (μM) ^b	
	CEM/0		CEM/TK	C3H/3T3	CEM/0
	HIV-1	HIV-2	HIV-2	MSV	
(S_P)- 63b	1.3 ± 0.21	1.1 ± 0.44	1.9 ± 1.2	9.8 ± 7.0	>250
(R_P)- 63b	1.3 ± 0.14	1.3 ± 0.14	2.9 ± 2.3	4.0 ± 2.7	>250
(S_P)- 63d	0.12 ± 0.049	0.14 ± 0.014	0.032 ± 0.022	1.8 ± 0.6	79 ± 6.4
(R_P)- 63d	0.82 ± 0.0	0.46 ± 0.30	2.1 ± 1.7	1.8 ± 1.2	>250
(S_P)- 63g	0.15 ± 0.014	0.14 ± 0.085	0.048 ± 0.0085	2.0 ± 0.0	77 ± 7.8
(R_P)- 63g	1.1 ± 0.34	0.86 ± 0.049	1.9 ± 2.1	5.3 ± 5.7	235 ± 21
(S_P)- 63I	0.15 ± 0.0071	0.16 ± 0.0071	0.13 ± 0.0	0.53 ± 0.13	70 ± 1.4
(R_P)- 63I	0.12 ± 0.049	0.45 ± 0.52	0.25 ± 0.12	0.72 ± 0.11	107 ± 5.7
d4T 1	0.84 ± 0.078	0.75 ± 0.49	132 ± 4.9	2.5 ± 1.4	>250

^a 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation. ^b 50% cytotoxische Konzentration.

Tab. 17 Antivirale *in vitro*-Aktivitäten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I** und der Referenzverbindung d4T **1**

Wie erwartet waren alle Phosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,I** antiviral aktiv und zeigten vergleichbare Werte wie die Referenzverbindung d4T **1** in CEM/0-Wildtypzellen. Im Gegensatz zu der Referenzverbindung d4T **1** wurde eine antivirale Aktivität der Pronucleotide in HIV-2 infizierten CEM/TK-defizienten Zellen erzielt. Der Verlust an Aktivität von d4T **1** ist bereits literaturbekannt³⁵ und liegt am Fehlen des Enzyms Thymidin-Kinase, das für den ersten Phosphorylierungsschritt von d4T **1** zu d4TMP zuständig ist.

Die antivirale Aktivität der Pronucleotid-Diastereomere **63d,g** in HIV-2 infizierten CEM/TK-defizienten Zellen war signifikant verschieden. Das S_P -Diastereomer zeigte eine 65-fach (**63d**) bzw. 40-fach (**63g**) verstärkte antivirale Aktivität gegenüber dem R_P -Diastereomer. Die effizientere Freisetzung des d4TMP korreliert in diesen Fällen mit der Toxizität der Verbindungen. Die S_P -Diastereomere (S_P)-**63d,g** hatten einen CC_{50} -Wert unterhalb 100 μ M und waren dementsprechend cytotoxischer als die R_P -konfigurierten. Im Gegensatz zu diesen erheblichen Unterschieden zeigten die Diastereomere der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63b,l** ähnliche Toxizitäten sowie antivirale Aktivitäten in HIV-2 infizierten CEM/TK-defizienten Zellen.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen war die antivirale Aktivität der Diastereomere in C3H/3T3-Zellen ähnlich und ergab keine signifikanten Unterschiede. Möglicherweise ist die Freisetzung des Nucleosidmonophosphates von der Zelllinie abhängig. Dieser Effekt wurde bereits von *McGuigan et al.* bei einer Reihe von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden von d4T beschrieben.³³ Zum Beispiel war das Arylphosphoramidat-Pronucleotid So324 5-fach weniger antiviral aktiv gegen MSV in C3H-Zellen im Vergleich zu dem entsprechenden Nucleosidanalogen d4T.⁷² Wie in Kap. 2.3 (S. 7) abgebildet, hängt die Metabolisierung des Pronucleotides ausschließlich von den beteiligten Enzymen ab, dessen Quantität in murinen und humanen Zellen sehr unterschiedlich ist.

Aufgrund der unterschiedlichen Ergebnisse war es notwendig, weitere Arylphosphoramidat-Pronucleotide als diastereomerenreine Verbindungen zu synthetisieren, um die antivirale Aktivität zu vergleichen. Zu diesem Zweck wurden die Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63j,k** und **89b,d** dargestellt (Abb. 89).

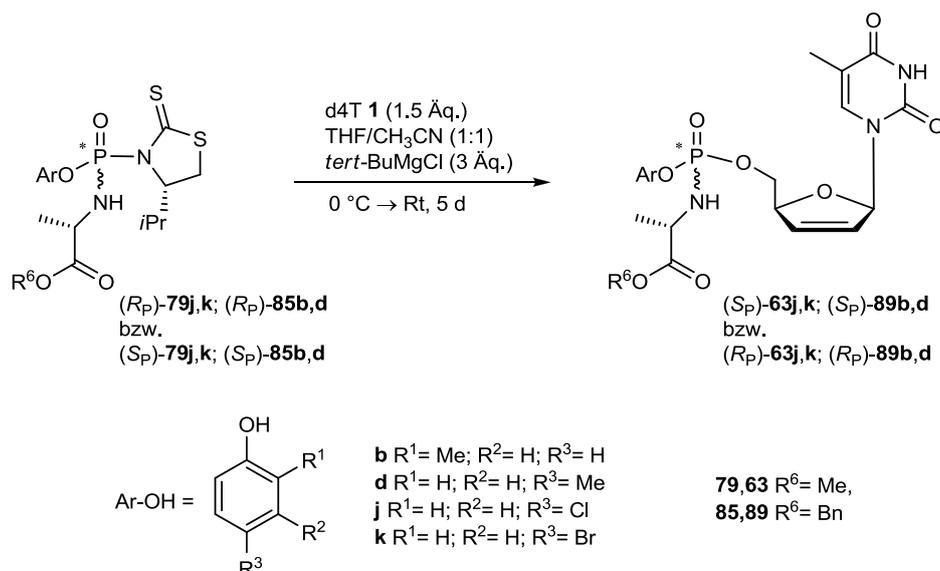


Abb. 89 Diastereoselektive Synthese der Arylphosphoramidat-Proneucleotide **63j,k** und **89b,d**

Tab. 18 stellt sowohl die erhaltenen Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse als auch die chemischen Verschiebungen im ³¹P-NMR-Spektrum der Arylphosphoramidat-Proneucleotide **63j,k** und **89b,d** dar. Im Allgemeinen wurde genau wie zuvor beobachtet, dass die R_P-konfigurierten Arylphosphoramidat-Proneucleotide (R_P)-**63j,k** und (R_P)-**89b,d** in besserer Ausbeute als die S_P-konfigurierten erhalten wurden. In einigen Fällen waren die Diastereomerenüberschüsse im Gegensatz zu den vorher erzielten etwas schlechter, wobei das Arylphosphoramidat-Proneucleotid (R_P)-**89b** in nur 85% *d.e.* isoliert werden konnte.

(S _P)-	δ (³¹ P) (ppm)	Ausbeute (%)	<i>d.e.</i> (%) ^{a,b}	(R _P)-	δ (³¹ P) (ppm)	Ausbeute (%)	<i>d.e.</i> (%) ^{a,c}
63j	3.13	20	95	63j	2.62	26	≥95
63k	3.13	15	93	63k	2.56	50	≥95
89b	2.98	11	≥95	89b	2.59	28	85
89d	3.27	14	94	89d	2.62	44	≥95

^a *d.e.*-Wert bestimmt aus dem ³¹P-NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung. ^b Die Edukte sind die Phosphordiamidat-Derivate (R_P)-**79j,k** und (R_P)-**85b,d** mit ≥95% *d.e.*. ^c Die Edukte sind die Phosphordiamidat-Derivate (S_P)-**79j,k** und (S_P)-**85b,d** mit ≥95% *d.e.*.

Tab. 18 Chemische Verschiebungen der Phosphorsignale im ³¹P-NMR-Spektrum, isolierte Ausbeuten und Diastereomerenüberschüsse der Arylphosphoramidat-Proneucleotide **63j,k** und **89b,d**

Die Diastereomere der Arylphosphoramidat-Proneucleotide **63j,k** und **89b,d** sowie die Referenzverbindung d4T **1** wurden auf ihre antiviralen Aktivität gegen HIV-1 und

HIV-2 *in vitro* getestet. Die antiviralen Messungen erfolgten in einer unterschiedlichen Messreihe, wodurch die Referenzwerte von d4T **1** verschieden sind.

	EC ₅₀ (μM) ^a			CC ₅₀ (μM) ^b
	CEM/0		CEM/TK	CEM/0
	HIV-1	HIV-2	HIV-2	
(S _P)- 63j	0.021 ± 0.0085	0.030 ± 0.014	0.035 ± 0.0078	54 ± 2.8
(R _P)- 63j	0.13 ± 0.071	0.18 ± 0.028	0.18 ± 0.099	190 ± 18
(S _P)- 63k	0.042 ± 0.030	0.074 ± 0.0035	0.031 ± 0.013	60 ± 4.2
(R _P)- 63k	0.14 ± 0.078	0.17 ± 0.064	0.14 ± 0.085	144 ± 2.1
(S _P)- 89b	0.45 ± 0.12	0.58 ± 0.0071	0.45 ± 0.0	101 ± 8.5
(R _P)- 89b	0.19 ± 0.035	0.40 ± 0.0	0.27 ± 0.0	98 ± 11
(S _P)- 89d	0.029 ± 0.024	0.073 ± 0.0078	0.047 ± 0.028	71 ± 4.9
(R _P)- 89d	0.11 ± 0.035	0.11 ± 0.035	0.13 ± 0.071	115 ± 9.2
d4T 1	0.51 ± 0.31	0.89 ± 0.11	140 ± 156	>250

^a 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation. ^b 50% cytotoxische Konzentration.

Tab. 19 Antivirale *in vitro*-Aktivitäten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63j,k** und **89b,d** und der Referenzverbindung d4T **1**

Die Diastereomere der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63j,k** und **89b,d** wiesen ähnliche antivirale Werte in HIV-2 infizierten CEM/TK-defizienten Zellen auf. Die S_P-Diastereomere (S_P)-**63j,k** und (S_P)-**89d** zeigten eine 5- bzw. 3-fach bessere antivirale Aktivität gegenüber den R_P-Diastereomeren. Im Gegensatz zu der vorher beobachteten Korrelation der antiviralen Aktivität mit der Toxizität, konnte bei den Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **89b,d** keine Abhängigkeit festgestellt werden.

Trotz unterschiedlicher Ergebnisse wurde beobachtet, dass die Stereoinformation am Phosphoratom der Arylphosphoramidat-Pronucleotide einen Einfluss auf die antivirale Aktivität und Toxizität der Verbindungen hat. Weitere Experimente waren erforderlich, um die verschiedenen antiviralen Werte zu begründen. Folglich wurden Hydrolysestudien der Pronucleotide in CEM/0-Wildtypzellen durchgeführt.

4.6.4 Hydrolysestudien der synthetisierten Arylphosphoramidat-Pronucleotide

Der Mechanismus zur Freisetzung des Nucleosidmonophosphates wurde bereits in Kap. 2.3 (S. 7) beschrieben. Die Aktivierung der Arylphosphoramidat-Pronucleotide

erfolgt enzymatisch, wobei zwei Enzyme an der Metabolisierung beteiligt sind. Die Hydrolysestudien der Pronucleotid-Diastereomere erfolgten in humanen Lymphozyten-Zellen des Wildtyps (CEM/0), dieselbe Zelllinie, die für die antiviralen Messungen gegen HIV-1 und HIV-2 verwendet wurde. Der enzymatische Abbau der Pronucleotide könnte eine Erklärung für die verschiedenen antiviralen Werte der Diastereomere liefern. In Tab. 20 sind die Halbwertszeiten der Pronucleotide zu finden.⁷³

(S _P)-	CEM/TK ⁻ HIV-2	Halbwerts- zeit [h]	(R _P)-	CEM/TK ⁻ HIV-2	Halbwerts- zeit [h]
63b	1.9 ± 1.2	2.6	63b	2.9 ± 2.3	2.8
63d	0.032 ± 0.022	1.3	63d	2.1 ± 1.7	5.8
63g	0.048 ± 0.0085	1.9	63g	1.9 ± 2.1	11.7
63l	0.13 ± 0.0	2.2	63l	0.25 ± 0.12	0.7
63j	0.035 ± 0.0078	2.7	63j	0.18 ± 0.099	1.4
63k	0.031 ± 0.013	2.2	63k	0.14 ± 0.085	1.4
89b	0.45 ± 0.0	1.3	89b	0.27 ± 0.0	0.4
89d	0.047 ± 0.028	0.6	89d	0.13 ± 0.071	0.2

Tab. 20 Antivirale Aktivität gegen HIV-2 in CEM/TK-defizienten Zellen und Halbwertszeiten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63, 89**

Wie erwartet, wurden die Benzylester-Derivate **89b,d** schneller als die Methylester-Derivate **63** abgebaut. Der beobachtete Effekt ist bereits in der Literatur beschrieben.³⁵

Grundsätzlich konnte kein allgemeiner Zusammenhang beobachtet werden. Ausnahmsweise zeigten die gemessenen Halbwertszeiten der **63d,g** Diastereomere den erwarteten Effekt. Die S_P-konfigurierten Pronucleotide (S_P)-**63d,g** zeigten deutlich bessere antivirale Aktivitäten als die R_P-konfigurierten. Folglich sollten die S_P-Diastereomere geringere Halbwertszeiten als die R_P-Diastereomere aufweisen. Auf diese Weise würde eine schnellere Aktivierung der S_P-Pronucleotide die effektivere Freisetzung der Nucleosidmonophosphate ermöglichen, gefolgt von der enzymatischen Metabolisierung zum Nucleosidtriphosphat. Da der Effekt nur bei den Pronucleotiden **63d,g** beobachtet wurde, kann allerdings keine allgemeine Aussage erfolgen.

4.6.5 Übertragung auf andere Nucleosidanaloga

Die diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden sollte auf weitere Nucleosidanaloga übertragen werden. Das Nucleosidanalogen d4T **1** wurde zunächst gegen AZT **15** ersetzt. Das Hauptdiastereomer der Synthese der Phosphordiamidat-Derivate (R_P)-**79d** wurde unter den vorher beschriebenen Reaktionsbedingungen (Abb. 79, S. 67) mit AZT **15** umgesetzt. Das Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**16** wurde in 11% Ausbeute und 95% *d.e.* erhalten (Abb. 90).

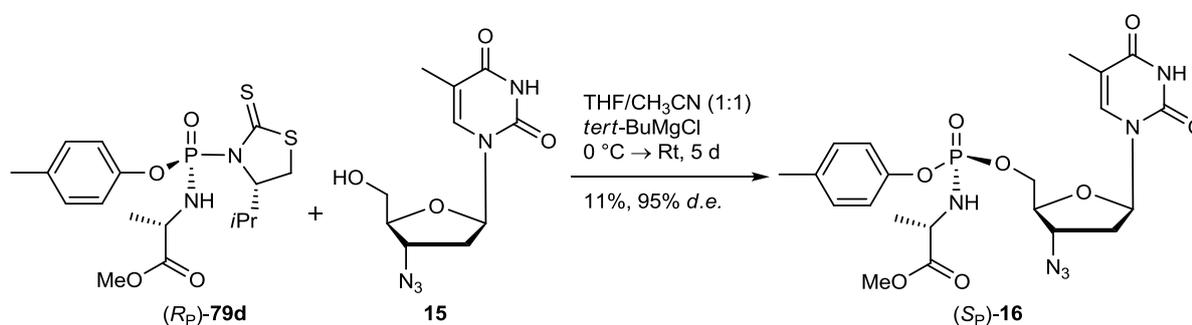


Abb. 90 Diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**16**

Anschließend erfolgte die Synthese des Nucleosidanalogs ddU **91**, das nach der katalytischen Hydrierung von d4U **90** an Palladium/Aktivkohle in quantitativer Ausbeute erhalten wurde.⁷⁴ Das Nucleosidanalogen d4U **90** wurde bereits in unserer Arbeitsgruppe nach literaturbekannter Vorschrift synthetisiert.⁷⁵ Die Kupplung des dargestellten ddU **91** mit dem Phosphordiamidat-Derivat (R_P)-**79d** führte zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**92**, das ebenfalls in 11% Ausbeute und 95% *d.e.* erhalten werden konnte (Abb. 91).

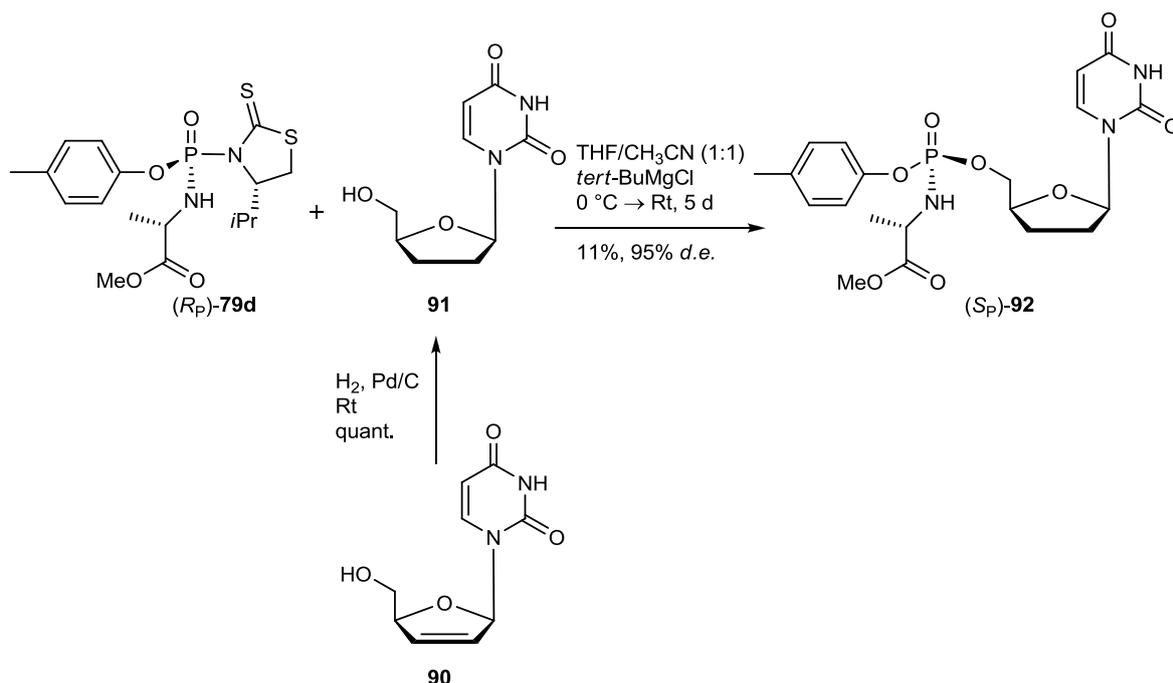


Abb. 91 Diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*S_P*)-**92**

Die Pronucleotide (*S_P*)-**16** und (*S_P*)-**92** wurden ebenfalls in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. J. Balzarini gegen HIV-1 und HIV-2 *in vitro* getestet. Als Referenzverbindungen wurden ddU **91** und AZT **15** getestet (Tab. 21).

	EC ₅₀ (μM) ^a			CC ₅₀
	CEM/0		CEM/TK ⁻	(μM) ^b
	HIV-1 (III _B)	HIV-2 (ROD)	HIV-2 (ROD)	CEM/0
(<i>S_P</i>)- 92	21 ± 7.1	14 ± 4.9	26 ± 0.0	112 ± 1.4
ddU 91 ^c	>250	>250	>250	>250
(<i>S_P</i>)- 16	0.43 ± 0.28	0.31 ± 0.13	4.6 ± 0.071	113 ± 3.5
AZT 15	0.016 ± 0.0	0.084 ± 0.080	>250	>250

^a 50% effektive Konzentration zur Unterdrückung der Virusreplikation. ^b 50% cytotoxische Konzentration. ^c Die Messung der antiviralen Aktivität erfolgte in einer unterschiedlichen Messreihe.

Tab. 21 Antivirale *in vitro*-Aktivitäten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide (*S_P*)-**92** und (*S_P*)-**16** und der Referenzverbindungen ddU **91** und AZT **15**

Das Arylphosphoramidat-Pronucleotid (*S_P*)-**16** zeigte schlechtere antivirale Werte in CEM/0-Wildtypzellen als die Referenzverbindung AZT **15**. Allerdings verlor AZT **15** vollständig die antivirale Aktivität in CEM/TK-defizienten Zellen,¹⁷ während die antivirale Aktivität des Pronucleotides (*S_P*)-**16** etwa 10-fach geringer war. Das

Pronucleotid (S_P)-**92** zeigte in beiden Zellreihen schlechtere antivirale Werte als das Pronucleotid (S_P)-**16** und als AZT **15**.

Anschließend erfolgten Hydrolysestudien der synthetisierten Pronucleotide in Analogie zu den bereits in Kap. 4.6.4 (S. 78) dargestellten Verbindungen (Tab. 22).

	CEM/TK HIV-2	Halbwertszeit [h]
(S _P)- 92	26 ± 0.0	1.0
(S _P)- 16 ^a	4.6 ± 0.071	1.2

^a Die gemessene Fraktion enthielt Verunreinigungen.

Tab. 22 Antivirale Aktivität gegen HIV-2 in CEM/TK-defizienten Zellen und Halbwertszeiten der Arylphosphoramidat-Pronucleotide (S_P)-**92** und (S_P)-**16**

Die Halbwertszeiten der Pronucleotide deuteten auf eine schnelle Metabolisierung der Verbindungen zum Nucleosidmonophosphat hin. *McGuigan et al.* bestätigten bereits die Freisetzung des Nucleosidmonophosphates aus ähnlichen Arylphosphoramidat-Pronucleotiden.⁷⁶ Die schlechte antivirale Aktivität korreliert mit der fehlenden Metabolisierung des Nucleosidmonophosphates, wobei die Bildung des Nucleosiddiphosphates den kinetisch gehemmten Metabolisierungsschritt darstellt.^{77,78}

4.6.6 Änderung des *iso*-Propylrestes am chiralen Auxiliar gegen eine Methylgruppe

Die chemische Ausbeute der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** sollte durch die Änderung der *iso*-Propylgruppe gegen einen weniger sterisch gehinderten Rest verbessert werden. Aus diesem Grund sollte der Einfluss der Substitution am chiralen Auxiliar auf die diastereoselektive Synthese der Pronucleotide **63d** untersucht werden. Die sterisch anspruchsvolle *iso*-Propylgruppe des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (S)-**51a** wurde gegen eine Methylgruppe ersetzt. Hierfür wurde 4-Methylthiazolidin-2-thion (S)-**51b** als chirales Auxiliar verwendet, welches über zwei Stufen nach der Methode von *Delaunay* synthetisiert wurde (Kap. 4.2, S. 31). Zuerst wurde L-Alanin (S)-**73b** mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert, wobei das Alaninol (S)-**74b** in 52% Ausbeute und sehr hoher Reinheit erhalten wurde.⁷⁹ Die weitere Umsetzung des Aminoalkohols (S)-**74b** mit

Kohlenstoffdisulfid führte zur Bildung des Auxiliars (S)-**51b** in 87% Ausbeute.⁶¹ Abb. 92 stellt den durchgeführten Syntheseweg ausgehend von (S)-**51b** dar.

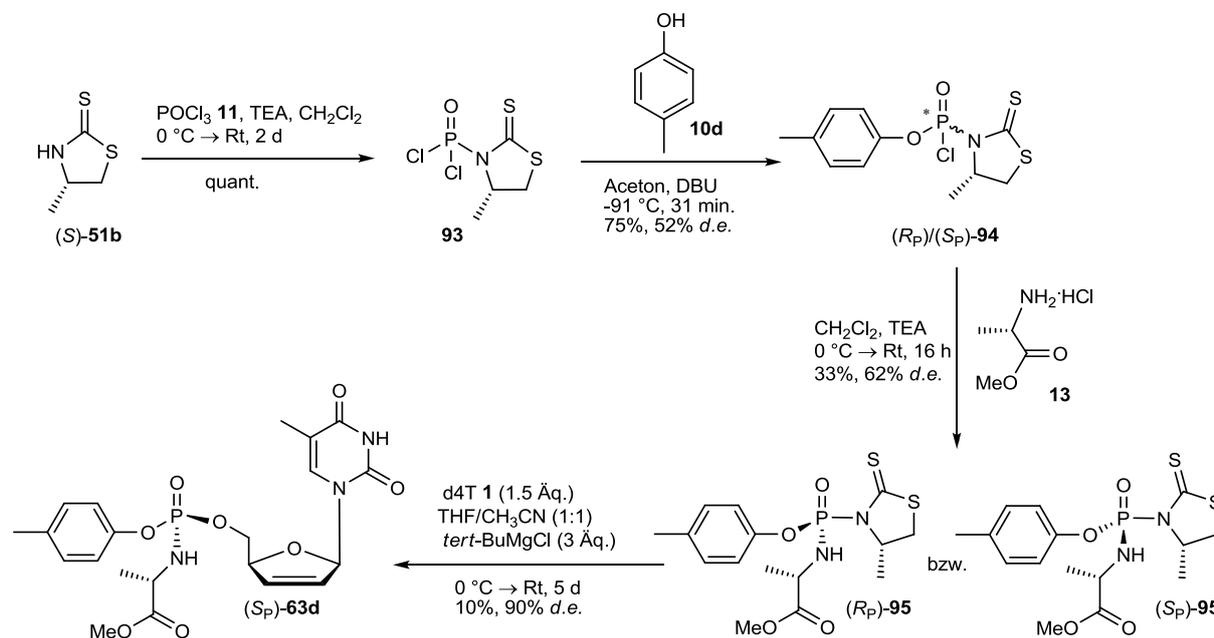


Abb. 92 Syntheschema zur diastereoselektiven Synthese von (S_P)-**63d** bei Verwendung von 4-Methylthiazolidin-2-thion (S)-**51b** als chirales Auxiliar

Die Syntheseroute wurde in Analogie zu dem *iso*-Propyl-Derivat (S)-**51a** durchgeführt, wobei die Syntheseschritte unter denselben Reaktionsbedingungen erfolgten. Die Umsetzung des chiralen Auxiliars mit einem Überschuss an Phosphorylchlorid **11** führte zur quantitativen Bildung des Phosphordichloridates **93**. Der einzige Unterschied lag in der längeren Reaktionsdauer, die 2 d betrug. Die anschließende Umsetzung des Phosphordichloridates **93** mit 4-Methylphenol **10d** wurde nach Variante 1 (Kap. 4.4.3, S. 42) durchgeführt und lieferte die Diastereomere des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**94** in 75% Ausbeute und 52% *d.e.*. Im Vergleich zu der Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**, führte der Austausch der *iso*-Propylgruppe gegen den Methylrest zu einem deutlichen Verlust der Diastereoselektivität (81% vs. 52% *d.e.*). Der in Abb. 48 (S. 38) dargestellte Übergangszustand veranschaulicht die Wichtigkeit der *iso*-Propylgruppe gegenüber einem nucleophilen Angriff des Phenol-Derivats. Die Verwendung des Methylrestes begünstigt den nucleophilen Angriff aus der pro-S_P Seite offensichtlich nur in mäßigem Maß. Folglich sinkt der Diastereomerenüberschuss der Reaktion.

Nach der säulenchromatographischen Reinigung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**94** wurde der Diastereomerenüberschuss bis 76% erhöht. Die weitere Umsetzung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**94** mit (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** lieferte die Phosphordiamidat-Derivate **95** in 38% Gesamtausbeute und 62% *d.e.*. Die Diastereomere konnten nach der säulenchromatographischen Reinigung getrennt werden, wobei der Diastereomerenüberschuss bis $\geq 95\%$ erhöht werden konnte. Aufgrund der niedrigen Ausbeute an (S_P)-**95** (5%) erfolgte der weitere Syntheseschritt ausschließlich mit dem Phosphordiamidat (R_P)-**95**. Die Umsetzung des Phosphordiamidates (R_P)-**95** mit d4T **1** führte zur Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** in 10% Ausbeute und 90% *d.e.* (Abb. 93).

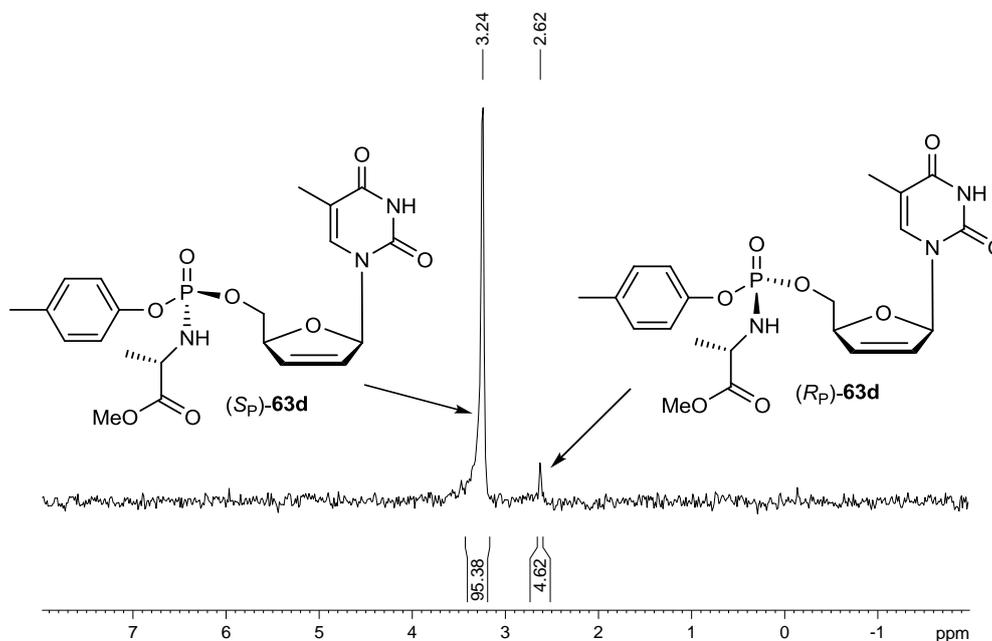


Abb. 93 ^{31}P -NMR-Spektrum des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung bei Verwendung von (S)-**51b** als chirales Auxiliär

Der Austausch der *iso*-Propylgruppe gegen den Methylrest am Thiazolidin-2-thion-Auxiliär erwies sich als unvorteilhaft. Die Verwendung von 4-Methylthiazolidin-2-thion (S)-**51b** führte zu schlechteren Diastereomerenüberschüssen und niedrigeren Ausbeuten im Vergleich zu 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (S)-**51a**.

4.6.7 Einfluss der Base auf die Diastereoselektivität

Die in Abb. 79 (S. 67) dargestellte diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** wurde unter Verwendung von *tert*-Butylmagnesiumchlorid durchgeführt. Die Verwendung des Grignard-Reagenzes wurde bereits für die Synthese von Pronucleotiden eingesetzt. *McGuigan et al.* verwendeten das Grignard-Reagenz zur Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden.⁸⁰ Darüber hinaus veröffentlichten *Erion et al.* die stereoselektive Synthese von HepDirect[®]-Pronucleotiden, bei der ebenfalls *tert*-Butylmagnesiumchlorid als Base Anwendung fand.⁸¹

Die Verwendung einer Base ist von entscheidender Bedeutung für die diastereoselektive Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d**, weil die Reaktion ohne eine vorherige Deprotonierung des Nucleosidanalogons nicht stattfindet. Die Zugabe von 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid ermöglicht den Beginn der Reaktion, aber nicht die vollständige Umsetzung der Edukte. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine Gleichgewichtsreaktion, die aus unbekanntem Gründen nur zu einer bestimmten Umsetzung führt. Diese Annahme wurde durch die Reisolierung des eingesetzten Phosphordiamidates bestätigt, welches nach einer zusätzlichen säulenchromatographischen Reinigung reisolieren konnte. In den besten Fällen konnten bis zu 66% an reisolierbarem Edukt erhalten werden. Der niedrige Umsatz könnte an der Verwendung der Base *tert*-Butylmagnesiumchlorid liegen, weswegen andere Basen für die Reaktion getestet wurden (Abb. 94).

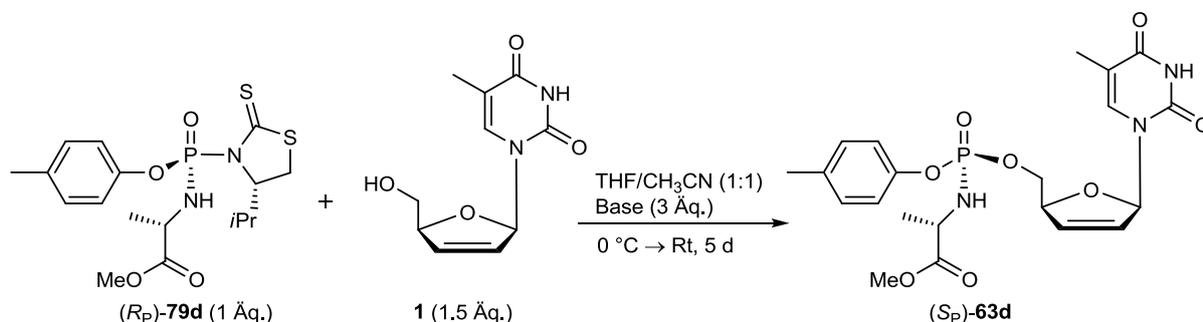


Abb. 94 Änderung der Base zur diastereoselektiven Synthese von (S_P)-**63d**

Base, 3 Äq.	Ausbeute an (S _P)- 63d (%)	d.r. ^a	d.e. (%) ^a
<i>tert</i> -BuMgCl	13	- ^b	≥95
NaH	7	1:0.6	25
NaH, 3 Äq. 15-Krone-5	28	1:1.1	7
DBU	20	1:0.6	25

^a Werte bestimmt aus dem ³¹P-NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung. ^b Nur ein Diastereomer in ³¹P-NMR-Spektrum zu beobachten.

Tab. 23 Einfluss der Basenänderung auf die Ausbeute und Diastereomerenüberschüsse des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**

Tab. 23 zeigt den Einfluss der Änderung der Base auf die Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**. Zunächst wurde die Reaktion mit Natriumhydrid durchgeführt. Die Base wurde bereits für die Deprotonierung von Nucleosiden erfolgreich verwendet.⁸² Die Verwendung von 3 Äq. Natriumhydrid führte trotz Verwendung des diastereomerenreinen Phosphordiamidates (R_P)-**79d** zu einer schlechteren Ausbeute (7%) und zum signifikanten Verlust der Stereochemie am Phosphoratom des Pronucleotides **63d** (25% d.e.).

Dieses erstaunliche Ergebnis führte zur Verwendung von Natriumhydrid und Kronenether 15-Krone-5.⁸³ Der Kronenether komplexiert das Natriumkation unter Bildung eines Metallkomplexes. Die Umsetzung führte zu einer signifikanten Erhöhung der Ausbeute an Arylphosphoramidat-Pronucleotid **63d** (28%), aber zu einem ähnlichen Verlust an Stereoinformation. Das erhaltene Diastereomergemisch wurde im 1:1.1 Verhältnis erhalten.

Als nächstes wurde DBU als sterisch anspruchsvolle, nicht nucleophile Base verwendet. Das Arylphosphoramidat-Pronucleotid **63d** wurde in 20% Ausbeute als 1:0.6 Diastereomergemisch erhalten (Abb. 95).

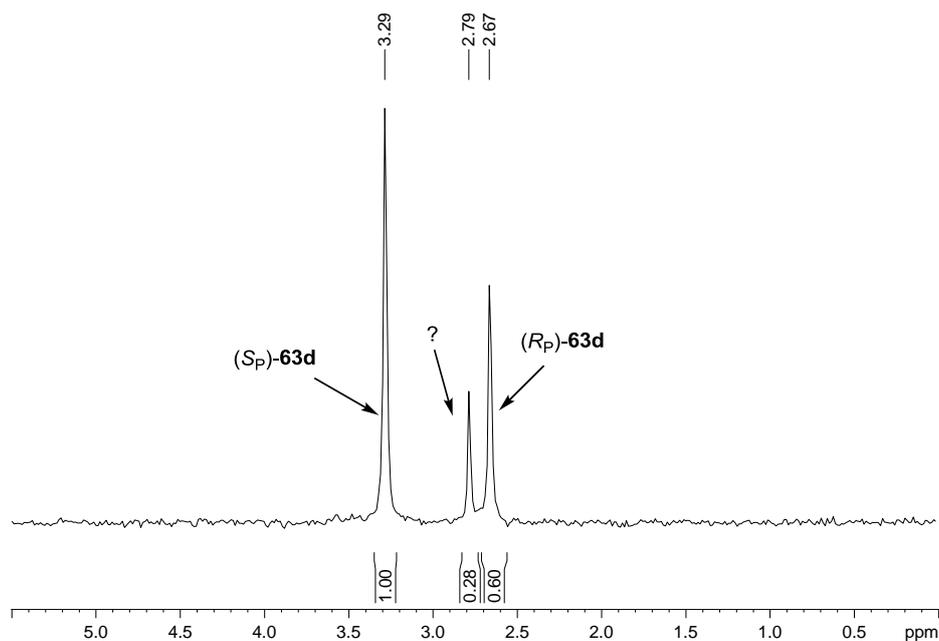


Abb. 95 ^{31}P -NMR-Spektrum des Phosphoramidat-Pronucleotides **63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung unter Verwendung von DBU als Base

Zusätzlich ist in Abb. 95 ein weiteres unbekanntes Nebenprodukt bei 2.79 ppm zu erkennen. Im Vergleich zu *tert*-Butylmagnesiumchlorid führte die Verwendung der in Tab. 23 (S. 86) dargestellten Basen zum nahezu vollständigen Verlust der Stereochemie am Phosphoratom des Arylphosphoramidat-Pronucleotides **63d**. Obwohl das Phosphordiamidat (R_P)-**79d** als diastereomerenreine Verbindung vorlag, führte die weitere Umsetzung zur Bildung des Arylphosphoramidat-Pronucleotides **63d** als Diastereomergemisch, in Analogie zu der von *McGuigan et al.* veröffentlichten Syntheseroute.⁷⁰ Des Weiteren lagen die isolierten Ausbeuten an Pronucleotid **63d** unter 30%, so dass die Ausbeute nur leicht verbessert werden konnte. Der Verlust an Stereoinformation am Phosphoratom wurde bereits mit dem Reaktionsmechanismus korreliert.⁵⁶ *Rios Morales* beobachtete ebenfalls die Isomerisierung von *cycloSal*-Pronucleotiden bei der Verwendung von unterschiedlichen Basen und stellte die Hypothese auf, dass die Isomerisierung auf die Bildung des planaren Metaphosphat-Ions zurückzuführen sein könnte.

4.6.8 Mechanismus zur Bildung von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

Die nucleophile Substitution am tetrakoordinierten pentavalenten Phosphorzentrum wird anhand des More O'Ferrall-Jencks-Diagramms beschrieben (Abb. 96).^{84,85}

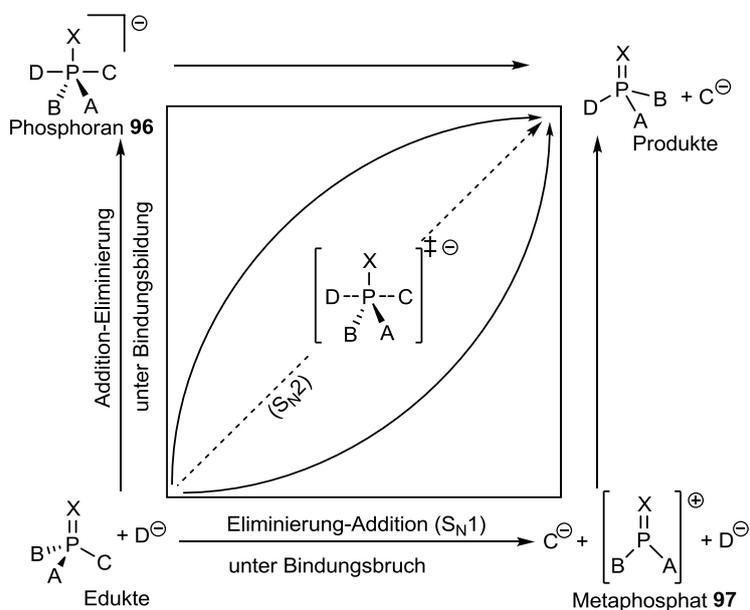


Abb. 96 More O'Ferrall-Jencks-Diagramm

Das More O'Ferrall-Jencks-Diagramm fasst drei Reaktionsmechanismen zusammen: Additions-Eliminierungs-Mechanismus, S_N2(P)-Mechanismus und Eliminierungs-Additions-Mechanismus (S_N1(P)).

Der Additions-Eliminierungs-Mechanismus führt zuerst zur Bildung eines pentakoordinierten Phosphoran-Intermediates **96**, das eine trigonal-bipyramidale Geometrie aufweist. Anschließend erfolgt die Abspaltung der Abgangsgruppe C unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom (Abb. 97).

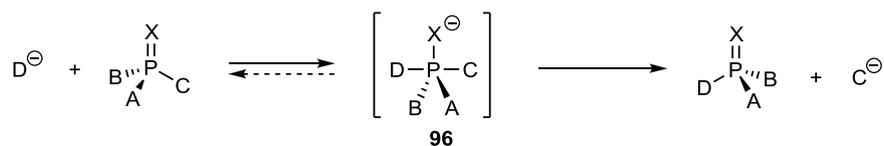


Abb. 97 Additions-Eliminierungs-Mechanismus

Der S_N2(P)-Mechanismus ist dem S_N2-Mechanismus beim Kohlenstoff vergleichbar und verläuft über einen trigonal-bipyramidalen Übergangszustand unter

gleichzeitigem Bindungsbruch und -bildung. Dieser konzertierte Mechanismus verläuft ebenfalls unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom (Abb. 98).

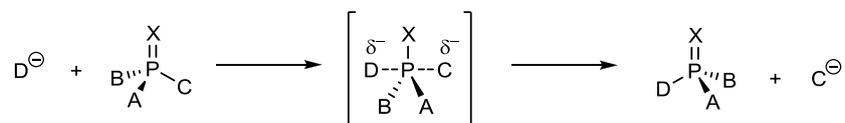


Abb. 98 $S_N2(P)$ -Mechanismus

Der $S_N1(P)$ - oder Eliminierungs-Additions-Mechanismus ist dem S_N1 -Mechanismus beim Kohlenstoff vergleichbar und führt zunächst durch Abspaltung der Abgangsgruppe zur Bildung des planaren Metaphosphat-Intermediates **97**. Der anschließende nucleophile Angriff führt zum Verlust der Stereoinformation am Phosphoratom unter vollständiger Racemisierung (Abb. 99).

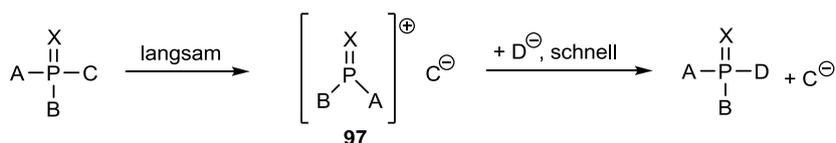


Abb. 99 Eliminierungs-Additions-Mechanismus ($S_N1(P)$)

Die Unterscheidung zwischen den drei Mechanismen ist besonders zwischen dem Additions-Eliminierungs-Mechanismus und dem $S_N2(P)$ -Mechanismus kompliziert. Im Gegensatz dazu, kann der $S_N1(P)$ -Mechanismus in der Regel durch bestimmte Merkmale erkannt werden: das Edukt sollte acide Protonen und eine gute Austrittsgruppe (z. B. Cl) enthalten oder der Bindungsbruch muss unter Protonierung der Abgangsgruppe oder Katalyse erleichtert werden. Zusätzlich ermöglichen verschiedene Faktoren wie Lösungsmittel, Basen etc. die Unterscheidung zwischen den Mechanismen. Zum Beispiel führte die Hydrolyse des chiralen Phosphorthiochloridates **98** in wässrigem Dimethoxyethan, vermutlich über den $S_N2(P)$ -Mechanismus, zur Bildung des chiralen Phosphoramidothioates **101** unter Inversion der Konfiguration am Phosphoratom. Dagegen führt die Hydrolyse unter basischen Reaktionsbedingungen zuerst zur Bildung des planaren Metaphosphat-Intermediates **100**, gefolgt von der Bildung des racemischen Produkts **101**, was einem $S_N1(P)$ -Mechanismus entspricht.⁸⁶

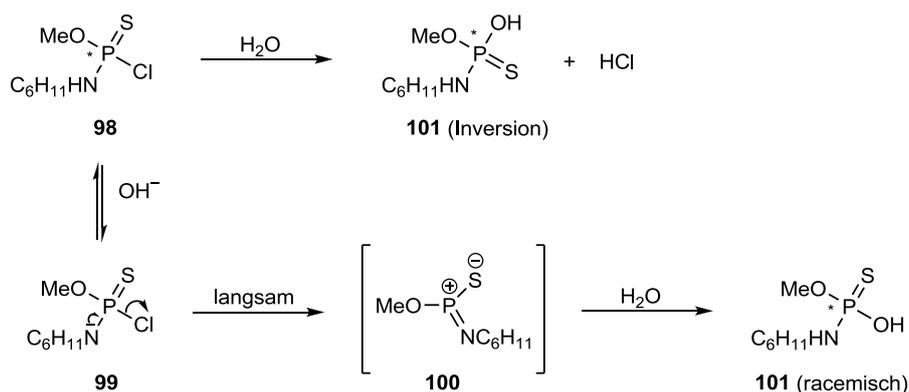


Abb. 100 Unterscheidung der Reaktionsmechanismen anhand der erhaltenen Stereoinformation am Phosphoramidothioat **101**

Die auftretende Racemisierung bei der Bildung der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** unter Verwendung von NaH und DBU konnte ebenfalls auf die Bildung eines planaren Metaphosphat-Intermediats zurückgeführt werden. Die Stereoinformation des Phosphoratoms am Phosphordiamidat-Derivat (R_P)-**79d** würde anhand des $S_N1(P)$ -Mechanismus verloren gehen und zur Bildung des racemischen Arylphosphoramidat-Pronucleotides **63d** führen (Abb. 101).

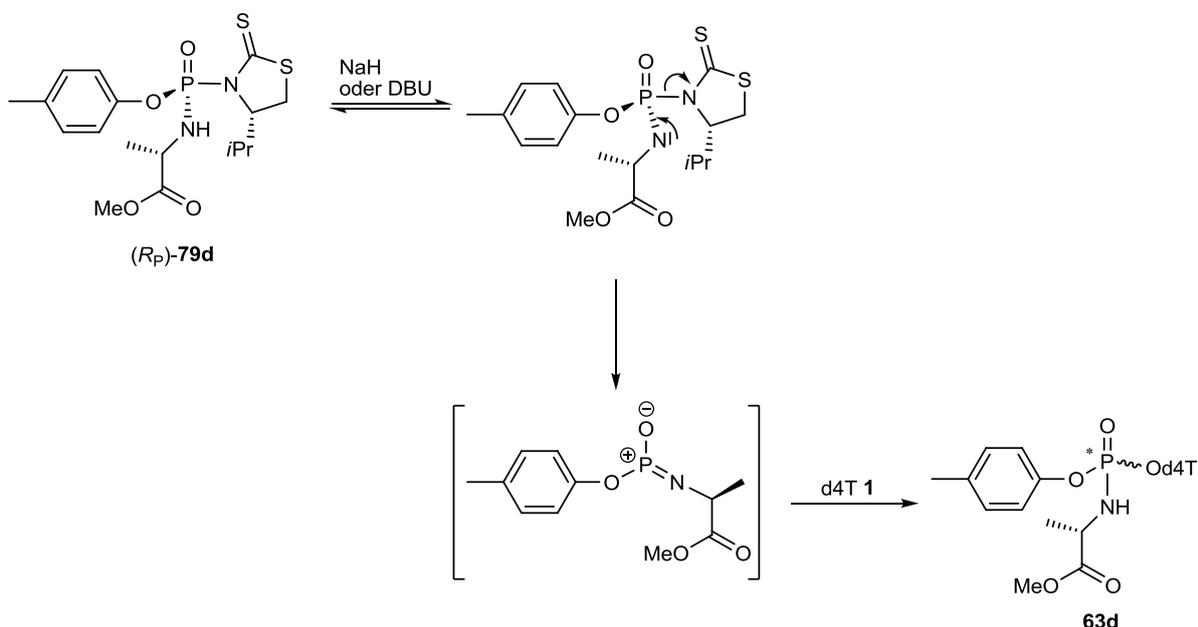


Abb. 101 Verlust der Stereoinformation am Phosphordiamidat (R_P)-**79d** nach dem $S_N1(P)$ -Mechanismus

Rios Morales beobachtete ebenfalls eine analoge Isomerisierung bei der Darstellung von *cycloSal*-Pronucleotiden, obwohl kein acides Proton im Edukt vorhanden war. Die Isomerisierung wurde trotzdem auf die Bildung des planaren Metaphosphat-Ions

zurückgeführt, dessen Entstehung durch Lösungsmittel, Katalysatoren, Basen usw. favorisiert wurde.⁵⁶

4.6.9 Reaktionsoptimierung zur Synthese von S_P -Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

Das Ziel war die Erhöhung der isolierten Ausbeute an Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63d** unter Erhalt des Diastereomerenüberschusses ($\geq 95\%$ d.e.). Zuerst wurden das Lösungsmittel und die Äq. an Nucleosidanalogen d4T **1** bzw. an *tert*-Butylmagnesiumchlorid verändert (Abb. 102).

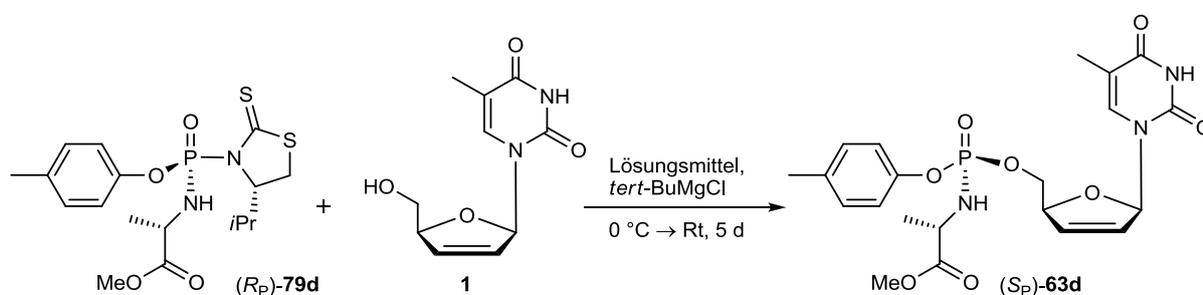


Abb. 102 Reaktionsoptimierung zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**

Lösungsmittel	Konzentration	<i>tert</i> -BuMgCl, Äq.	d4T 1 , Äq.	Ausbeute an (S_P)- 63d (%)	d.e. (%) ^a
THF/CH ₃ CN	0.075 M	3	1.5	13	≥ 95
THF/CH ₃ CN	0.2 M	3	1.5	15	95
THF/CH ₃ CN	0.075 M	1.5	1.5	2	≥ 95
THF/CH ₃ CN	0.075 M	6	3	15	≥ 95
Ethylacetat	0.075 M	3	1.5	0	-
THF	0.075 M	3	1.5	6	≥ 95
DMF	0.075 M	3	1.5	21	46

^a d.e.-Wert bestimmt aus dem ³¹P-NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung.

Tab. 24 Verschiedene Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**

Tab. 24 fasst die geänderten Reaktionsparameter zusammen. Die Ansätze wurden mit folgenden konstanten Bedingungen durchgeführt: 1 Äq. Phosphordiamidat (R_P)-**79d** ($\geq 95\%$ d.e.), Reaktionstemperatur von 0 °C bis Rt und Reaktionszeit von

5 d. Zunächst wurde die Konzentration der Reaktionsmischung geändert. Die konzentrierte Reaktionsmischung ($c = 0.2 \text{ M}$) führte zu keiner signifikanten Verbesserung der Ausbeute an Arylphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63d**. Es folgte die Änderung der Äq. an *tert*-Butylmagnesiumchlorid in Abhängigkeit der Äq. an d4T **1**. Die Verwendung von 1.5 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid und d4T **1** führte zu einem signifikanten Ausbeuteverlust an Pronucleotid (S_P)-**63d** bis 2%. Dieses Ergebnis bestätigte, dass die Base im Überschuss zu dem Nucleosidanalogen verwendet werden soll. Anschließend wurden 3 Äq. d4T **1** anstatt 1.5 Äq. und 6 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid anstatt 3 Äq. verwendet, wobei keine deutliche Verbesserung der Ausbeute beobachtet werden konnte.

Der Lösungsmittelwechsel hatte einen negativen Einfluss auf die Bildung des Pronucleotides (S_P)-**63d**. Bei der Verwendung von Ethylacetat konnte keine Umsetzung beobachtet werden. Zusätzlich führte die Verwendung von reinem Tetrahydrofuran zu einer niedrigeren Ausbeute an Pronucleotid (S_P)-**63d** (6%). Die Ausbeute wurde im Fall von DMF bis 21% gesteigert, aber die Lösungsmitteländerung wurde von einem deutlichen Verlust an Stereoinformation begleitet. Der Diastereomerenüberschuss des Pronucleotides **63d** betrug nur 46% *d.e.*. Folglich hat das Lösungsmittelgemisch THF/ CH_3CN einen entscheidenden Einfluss auf die diastereoselektive Synthese des Pronucleotides (S_P)-**63d**.

Der nächste Optimierungsversuch bestand darin, unterschiedliche Zusätze in das Reaktionsgemisch hinzuzufügen (Tab. 25).

Lösungsmittel	Base, Äq.	d4T 1 , Äq.	Zusatz, Äq.	Reaktionszeit	Ausbeute an (S_P)- 63d (%)
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$	TEA, 0.95	0.95	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$, 0.5 BEN, 0.5	keine Reaktion nach 22 d	0
CH_2Cl_2	TEA, 3	3	$\text{Cu}(\text{OTf})_2$, 1 BEN, 1	keine Reaktion nach 15 d	0
THF/ CH_3CN	<i>tert</i> -BuMgCl, 3	1.5	TiCl_4 , 1	5 d	0
THF/ CH_3CN	<i>tert</i> -BuMgCl, 3	-	d4T-DMA-Addukt, 1.5	5 d	21 ($\geq 95\%$ <i>d.e.</i>) ^a

^a *d.e.*-Wert bestimmt aus dem ³¹P-NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung.

Tab. 25 Verwendete Zusätze bei der diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**

Rios Morales erzielte die diastereoselektive Synthese von *cycloSal*-Pronucleotiden mittels Lewis-Säure-Katalyse.⁵⁶ Als Katalysator wurde der Kupfer(II)-Triflat/BEN-Komplex verwendet. Die besten Ergebnisse wurden in Dichlormethan/Acetonitril oder Dichlormethan mit TEA als Base erzielt. Die optimierten, katalytischen Reaktionsparameter wurden für die Umsetzung des Phosphordiamidates (R_P)-**79d** mit d4T **1** verwendet. Selbst nach mehreren Wochen erfolgte keine Umsetzung der Edukte. Der Grund lag möglicherweise darin, dass die Reaktionsbedingungen ungeeignet für die Abspaltung des Thiazolidin-2-thion-Auxiliars waren. Eine weitere Möglichkeit zur Katalyse stellte die Zugabe von Titan-tetrachlorid,⁸⁷ aber diese führte zur vollständigen Zersetzung der Edukte. Als nächstes wurde das d4T-DMA-Addukt **103** zugegeben. Das Addukt wurde ursprünglich für die Reinigung des Nucleosidanalogons d4T **1** verwendet, weil die Synthese von d4T **1** nach *Mansuri et al.* ebenfalls zur Bildung des unerwünschten Nebenproduktes **102** führte (Abb. 103).⁸⁸

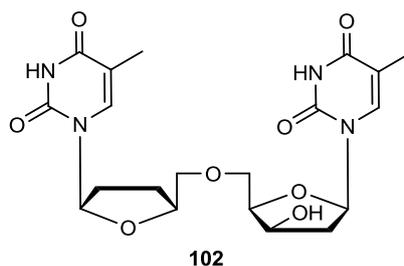


Abb. 103 Literaturbekanntes Nebenprodukt 5'-O-(stavudin-5''-yl)-threo-thymidin **102** bei der Synthese von d4T **1**

Das Nebenprodukt **102** ist bereits literaturbekannt und hat einen ähnlichen R_f -Wert wie d4T **1**, so dass die säulenchromatographische Reinigung erschwert ist. Die wiederholten chromatographischen Reinigungen lieferten ebenfalls reines d4T **1**, aber die Reinigung nach Literaturvorschrift mittels Adduktbildung stellte eine einfachere Variante dar (Abb. 104).⁸⁹

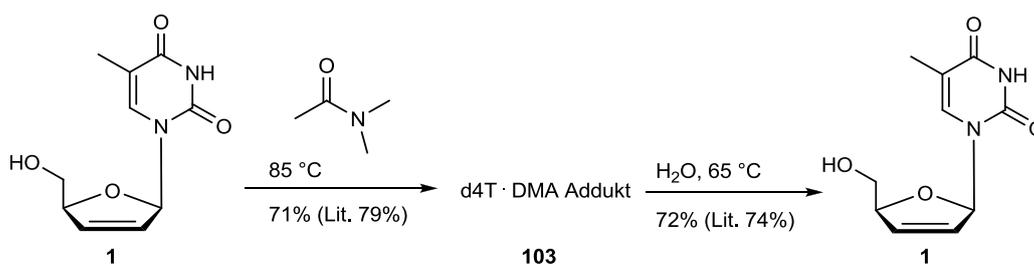


Abb. 104 Reinigung des d4T **1** mittels Addukt-Bildung bzw. Zersetzung

Das verunreinigte d4T **1** bildet mit *N,N*-Dimethylacetamid (DMA) ein Addukt mit der Zusammensetzung von d4T und DMA im Verhältnis 1:0.75, das als Feststoff ausfällt und abgetrennt werden kann. Das Nebenprodukt **102** dagegen bildet kein Addukt und bleibt in Lösung. Die hydrolytische Zersetzung des d4T·DMA-Adduktes **103** erfolgt in Wasser bei 65 °C und liefert d4T **1** in sehr hoher Reinheit. Da die Reinigung von d4T **1** stets über das d4T·DMA-Addukt **103** erfolgte, lag das Addukt **103** in höherer Menge vor und wurde anstatt von d4T **1** verwendet. Der Austausch lieferte das Arylphosphoramidat-Pronucleotid (*S_P*)-**63d** in 21% Ausbeute und in $\geq 95\%$ *d.e.*.

Anschließend wurde das Phosphordiamidat-Derivat (*R_P*)-**79g**, das im Gegensatz zu (*R_P*)-**79d** eine Methoxy-Gruppe in *para*-Position besitzt, mit d4T **1** unter verschiedenen Reaktionsbedingungen umgesetzt (Tab. 26). Im Gegensatz zu den vorherigen Ansätzen wurde das Pronucleotid nicht aus dem Rohgemisch isoliert, aber der Umsatz wurde mittels HPLC untersucht (Methode III, S. 122). Die Bestimmung des Umsatzes mittels HPLC des Rohgemisches vereinfachte die Reaktionsverfolgung und ermöglichte die Messung unterschiedlicher Ansätze in kürzester Zeit.

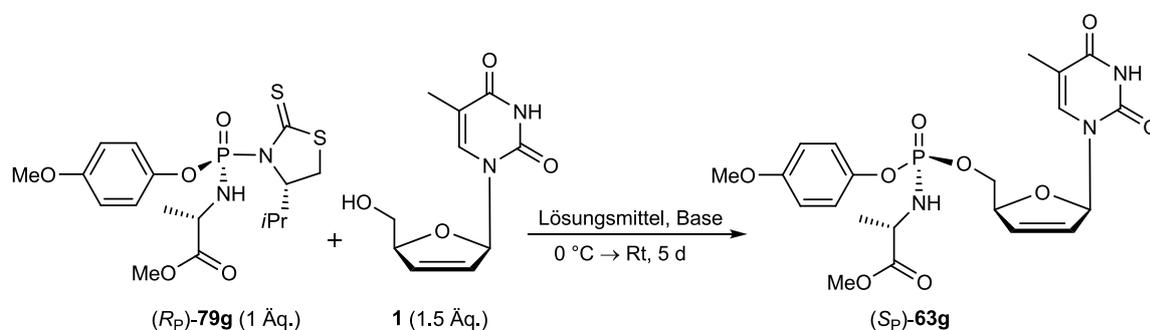


Abb. 105 Reaktionsoptimierung zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*S_P*)-**63g**

Lösungsmittel	Base, 3 Äq.	Zusatz, Äq.	Umsatz (HPLC) an (S _P)- 63g (%)
THF/CH ₃ CN	<i>tert</i> -BuMgCl	-	13*
THF/CH ₃ CN	<i>tert</i> -BuMgCl	DMAP 0.5 Äq.	9
THF/CH ₃ CN	<i>tert</i> -BuMgCl	[(CH ₃) ₂ CHO] ₃ TiCl, 1	0
CH ₃ CN	<i>tert</i> -BuMgCl	-	2
CH ₂ Cl ₂ /CH ₃ CN (2:1)	<i>tert</i> -BuMgCl	-	1
CH ₂ Cl ₂	TEA	Mg(OTf) ₂ , 1 BEN, 1	0
THF/CH ₃ CN	TEA	-	0
THF/CH ₃ CN	DIPEA	-	0
THF/CH ₃ CN	<i>n</i> BuMgCl	-	13
THF/CH ₃ CN	KO ^t Bu	-	0**
THF/CH ₃ CN	LDA	-	0

* 14% isolierte Ausbeute nach Säulenchromatographie. ** keine Bildung des Produktes, Zersetzung des Phosphordiamidat-Derivates (R_P)-**79g**.

Tab. 26 Bestimmung des Umsatzes an Aryphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63g** aus dem Rohgemisch mittels HPLC

Zuerst wurde der Ansatz, der bereits in Abb. 88 (S. 74) gezeigt wurde, ohne Veränderungen gemessen. Die Reaktionskonstanten waren 1 Äq. Phosphordiamidat (R_P)-**79g**, 1.5 Äq. d4T **1** und 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid in einem Lösungsmittelgemisch von THF/CH₃CN (1:1). Die Bestimmung des Umsatzes mittels HPLC ergab 13% an Pronucleotid (S_P)-**63g**, wobei der berechnete Wert fast dem nach der säulenchromatographischen Reinigung isoliertem Wert von 14% entsprach. Anschließend erfolgte die Zugabe von 0.5 Äq. 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP), was zu einem niedrigeren Umsatz von 9% an Pronucleotid (S_P)-**63g** führte. Die Zugabe von 1 Äq. Chlortitan-triisopropoxid inhibierte die Bildung des Pronucleotides (S_P)-**63g** und führte zu keiner Umsetzung der Edukte. Zusätzlich wurden weitere Lösungsmittel getestet, um die in S. 91 gezeigte Lösungsmittelabhängigkeit der Reaktion zu ergänzen. Die Verwendung von reinem Acetonitril oder einem Dichlormethan/Acetonitril-Gemisch (2:1) führte zu erheblichen Ausbeuteverlusten (2% bzw. 1% Umsatz). Jedoch wurde ein weiterer Ansatz in Dichlormethan mit 3 Äq. TEA und 1 Äq. der Lewis-Säure Magnesiumtriflat und BEN als Ligand durchgeführt. Das Experiment führte erneut zu keiner Umsetzung der Edukte. Dasselbe Ergebnis wurde bei Verwendung von 3 Äq. der Basen TEA,

DIPEA, KO^tBu und LDA erhalten. Bei der Verwendung von KO^tBu erfolgte zusätzlich die vollständige Zersetzung des Phosphordiamidat-Derivates (*R_P*)-**79g**. Im Gegensatz dazu führte die Verwendung von 3 Äq. *n*-Butylmagnesiumchlorid zur Bildung des Pronucleotides (*S_P*)-**63g** in 13% Umsatz. Der Nachteil der durchgeführten HPLC-Messungen aus den Rohgemischen lag darin, dass der Diastereomerenüberschuss des Pronucleotides (*S_P*)-**63g** nicht bestimmt werden konnte. Infolgedessen erfolgte die säulenchromatographische Reinigung des Ansatzes mit 3 Äq. *n*-Butylmagnesiumchlorid, wobei das Pronucleotid (*S_P*)-**63g** in nur 5% Ausbeute und einem Diastereomerenüberschuss von $\geq 95\%$ isoliert werden konnte.

Ein weiterer Reaktionsparameter der Ausbeuteoptimierung war die Reaktionszeit. Es sollte festgestellt werden, ob die Reaktionsdauer unter den unveränderten Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*S_P*)-**63g** tatsächlich 5 Tage beträgt. Insgesamt wurden vier Ansätze getestet (Tab. 27).

Reaktionszeit	Umsatz (HPLC) an (<i>S_P</i>)- 63g (%)	Ausbeute an (<i>S_P</i>)- 63g (%) ^a
1 d	2	-
3 d	8	-
5 d	13	14
13 d	10	18

^a Ausbeute bestimmt nach der säulenchromatographischen Reinigung.

Tab. 27 Verfolgung der Reaktionsdauer aus dem Rohgemisch mittels HPLC

Anhand des Umsatzes konnte festgestellt werden, dass die Reaktion mindestens 5 Tage braucht. Eine längere Reaktionszeit führte zu keinem signifikanten Unterschied. Zusätzlich wurde untersucht, ob eine Erhöhung der Temperatur zu einer besseren Ausbeute führt. Die Experimente wurden in der Mikrowelle durchgeführt, wobei die Reaktionszeit konstant bei 1 h lag (Tab. 28).

Temperatur	Umsatz (HPLC) an (S _P)- 63g (%)	Ausbeute (isoliert) an (S _P)- 63g (%) ^b
50 °C (MW) ^a	2	-
65 °C (MW) ^a	1	-
80 °C (MW) ^a	5	5
95 °C (MW) ^a	1	-

^a Mikrowellenansätze. ^b Ausbeute bestimmt nach der säulenchromatographischen Reinigung.

Tab. 28 Versuch der Ausbeuteoptimierung an Aryphosphoramidat-Pronucleotid (S_P)-**63g** durch Erhöhung der Temperatur

Es wurde beobachtet, dass eine Erhöhung der Temperatur einen negativen Einfluss auf die Bildung des Pronucleotides (S_P)-**63g** hat. Aus diesem Grund wurden die weiteren Versuche bei 0 °C gestartet und bei Raumtemperatur weiter gerührt.

Zum Schluss erfolgte die Zugabe weiterer Zusätze, wobei die Reaktionskonstanten 1 Äq. Phosphordiamidat-Derivat (R_P)-**79g**, 1.5 Äq. d4T **1** und 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid in einem Lösungsmittelgemisch von THF/CH₃CN (1:1) waren.

Zusatz, Äq.	Umsatz (HPLC) an (S _P)- 63g (%)	Ausbeute (isoliert) an (S _P)- 63g (%)	d.e. (%) ^a
Ni(II)acac, 1; BEN, 1	24	20	≥95
Ni(II)acac, 1	- ^b	24	9
BEN, 1	22	14	≥95
BEN, 1; d4T-DMA-Addukt, 1	19	15	≥95
Auxiliar,* 0.2	- ^b	21	71
Auxiliar,* 1	16	13	≥95
AgOTf, 1	- ^b	16	94
HgAc ₂ , 1	8	7	90
HAuCl ₄ ·H ₂ O, 1	3	2	38
AgClO ₄ , 1	3	3	94

* Zugabe des 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thions (S)-**51a**. ^a d.e.-Wert bestimmt aus dem ³¹P-NMR-Spektrum nach der säulenchromatographischen Reinigung. ^b Umsatz konnte nicht bestimmt werden.

Tab. 29 Unterschiedliche Zusätze zum Versuch der Ausbeuteoptimierung des Aryphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63g**

Tab. 29 fasst den Einfluss der Zusätze auf die Ausbeute und den Diastereomerenüberschuss des Pronucleotides (S_P)-**63g** zusammen. Der Zusatz von

Nickel(II)acetylacetonat als Lewis-Säure und BEN als Ligand führte zur Bildung des Pronucleotides (S_P)-**63g** in 20% Ausbeute und $\geq 95\%$ *d.e.*. Allerdings führte die Verwendung von reinem Nickel(II)acetylacetonat zu einer ähnlichen Ausbeute, aber zum vollständigen Verlust des Diastereomerenüberschusses (9%). Im Gegensatz dazu führte der Zusatz von reinem BEN zu 14% Ausbeute und zum Erhalt der Stereoinformation ($\geq 95\%$ *d.e.*). Ergänzend wurde die Verwendung von BEN mit dem bereits gezeigten d4T·DMA-Addukt **103**, anstatt von d4T **1**, getestet. Der Ansatz führte zu vernachlässigbaren Veränderungen, aber ebenfalls zum Erhalt des Diastereomerenüberschusses.

Anschließend wurde der Einfluss der Zugabe an chiraalem Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a** untersucht. Nach der Zugabe von 0.2 Äq. (**S**)-**51a** wurde das Pronucleotid (S_P)-**63g** in 21% Ausbeute, aber lediglich mit einem Diastereomerenüberschuss von 71% erhalten. Andererseits führte die Zugabe von 1 Äq. (**S**)-**51a** zur schlechteren Ausbeute an Pronucleotid (S_P)-**63g**, aber zum Erhalt der Stereochemie ($\geq 95\%$ *d.e.*). Aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse konnte keine allgemeine Aussage gemacht werden. Allerdings erfolgte ein weiteres Experiment mit 1 Äq. Pronucleotid (S_P)-**63g** und 1 Äq. 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a** in THF/CH₃CN (1:1) mit 3 Äq. der Base *tert*-Butylmagnesiumchlorid. Wie erwartet zeigte nach 5 d das ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches keine Isomerisierung des Pronucleotides (S_P)-**63g**. Folgend ist die auftretende Isomerisierung bei der Verwendung von 0.2 Äq. (**S**)-**51a** nicht auf die Isomerisierung des Pronucleotides (S_P)-**63g** während der Reaktion zurückzuführen.

Die Verwendung von Silbertriflat, Quecksilberacetat, Goldsäure und Silberperchlorat hatte einen negativen Einfluss sowohl auf die Ausbeute als auch auf den Diastereomerenüberschuss. Besonders Goldsäure führte zu einer hohen Isomerisierung des gebildeten Pronucleotides (S_P)-**63g** (38% *d.e.*).

4.6.10 Einfluss des chiralen Auxiliars auf die diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden

Das chirale Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** wurde gegen (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** ersetzt. Das Ziel war der Vergleich der beiden chiralen Auxiliare in Bezug auf das Austrittsvermögen nach dem nucleophilen Angriff des Nucleosidanalogons. Das chirale Auxiliar **57** sollte zunächst analog zu (*S*)-**51a** in der entwickelten diastereoselektiven Syntheseroute verwendet werden. Abb. 106 stellt das geplante Syntheschema zur diastereoselektiven Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **108** dar.

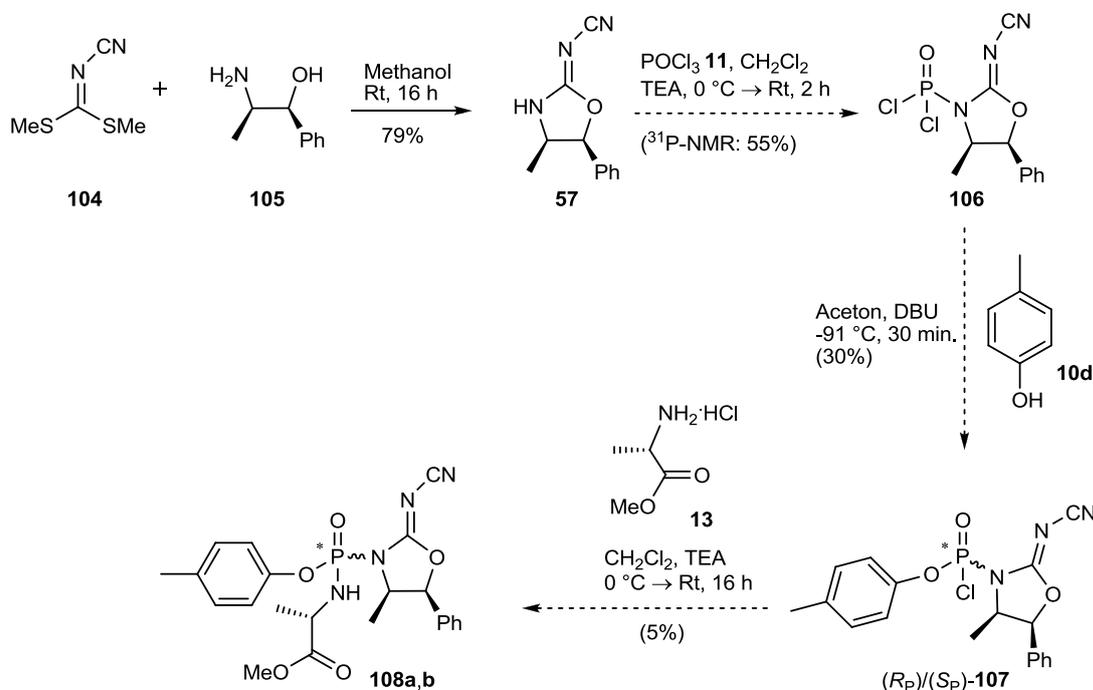


Abb. 106 Versuch der diastereoselektiven Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **108**

Die Synthese des (*N*-cyanimino)oxazolidin-Auxiliars **57** erfolgte nach der Methode von *Rios Morales* aus Dimethylcyanothioimidat **104** und (1*S*,2*R*)-2-Amino-1-phenyl-propanol (1*S*,2*R*)-**105** in 79% Ausbeute.⁵⁶ Die weitere Umsetzung mit einem Überschuss an Phosphorylchlorid **11** in Dichlormethan mit 1.1 Äq. TEA lieferte nicht nur das gewünschte Phosphordichloridat **106**, sondern unter anderem auch das doppelt substituierte Nebenprodukt **109**. Die säulenchromatographische Trennung des Rohgemisches war aufgrund der Reaktivität der Verbindungen nicht möglich. Zusätzlich führten weitere Reinigungsschritte zur Zersetzung des Produktes **106**. Das

^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches zeigte die Bildung des Phosphordichloridates **106** bei -2.2 ppm und des Nebenproduktes **109** bei -6.6 ppm (Abb. 107).

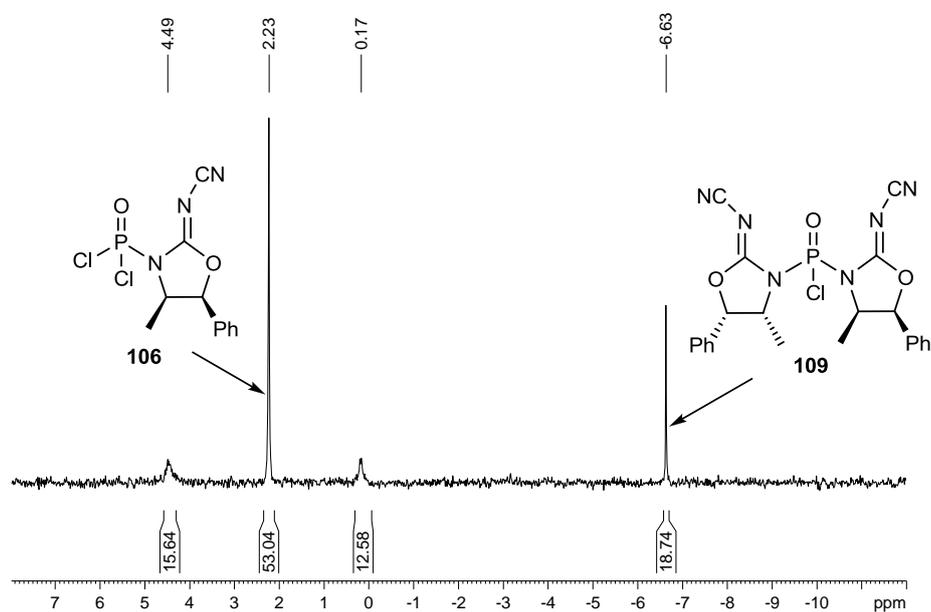


Abb. 107 ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches bei der Umsetzung des (*N*-cyanimino)oxazolidin-Auxiliars **57** mit Phosphorylchlorid **11**

Die ungewünschte Bildung des Nebenproduktes **109** in erheblichen Mengen führte zur Änderung verschiedener Reaktionsparameter, um die Bildung des Phosphordichloridates **106** zu begünstigen (Abb. 108).

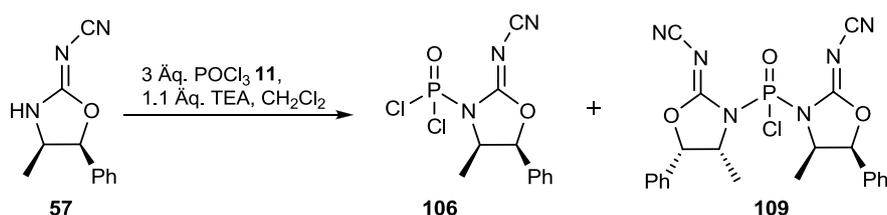


Abb. 108 Optimierungsversuche zur bevorzugten Bildung des Phosphordichloridates **106**

Konzentration	Temperatur	Reaktionszeit	Umsatz (%) ^a an	
			106	109
0.348 M	0 °C → Rt	1 d	53	19
0.348 M	0 °C → Rt	2 d	42	4
0.348 M	-52 °C → Rt	1 d	38	-
0.174 M	0 °C → Rt	1 d	12	4
0.348 M	0 °C → Rt	2 h	55	19

^a Daten entnommen aus dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemisches.

Tab. 30 Änderung der Reaktionsbedingungen zur Synthese des Phosphordichloridates **106**

Tab. 30 stellt die Änderung der Reaktionsbedingungen und dessen Einfluss auf die Bildung des Phosphordichloridates **106** dar. Die Temperaturänderung (0 °C bis Rt gegen -52 °C bis Rt) führte zu keiner Verbesserung der Ausbeute an Phosphordichloridat **106**. Des Weiteren hatte die Konzentrationsänderung einen negativen Einfluss auf die Bildung des Produktes **106**. Die Verdünnung der Reaktionsmischung ($c = 0.174 \text{ M}$) führte zu der niedrigsten Umsetzung aller Experimente und lieferte das Phosphordichloridat **106** in nur 12% Umsatz. Die Reaktionszeit der Umsetzung stellt möglicherweise einen wichtigen Faktor dar. Neben der Produkt- und Nebenproduktbildung zeigten die ³¹P-NMR-Spektren der Rohgemische die Bildung von weiteren unbekanntem Verbindungen. Dieses Ergebnis deutet möglicherweise auf die Zersetzung des Produktes **106** während der Reaktion hin, so dass selbst die Reaktionszeit von 2 h eventuell zu lang sein könnte. Aufgrund der Schwierigkeiten, das Phosphordichloridat **106** in besserer Ausbeute zu erhalten, wurden keine weiteren Ansätze getestet.

Der Ansatz mit dem besten Umsatz von 55% an **106** reagierte mit 4-Methylphenol **10d** und führte zur Bildung des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**107**, welches als verunreinigte Verbindung in 30% Ausbeute nach der säulenchromatographischen Reinigung erhalten werden konnte. Eine erneute Säulenchromatographie führte zur vollständigen Zersetzung des Produktes, weshalb keine weiteren Reinigungsschritte durchgeführt wurden. Das ³¹P-NMR-Spektrum zeigte das Hauptsignal bei -4.33 ppm sowie weitere unbekannte Signale (Abb. 109).

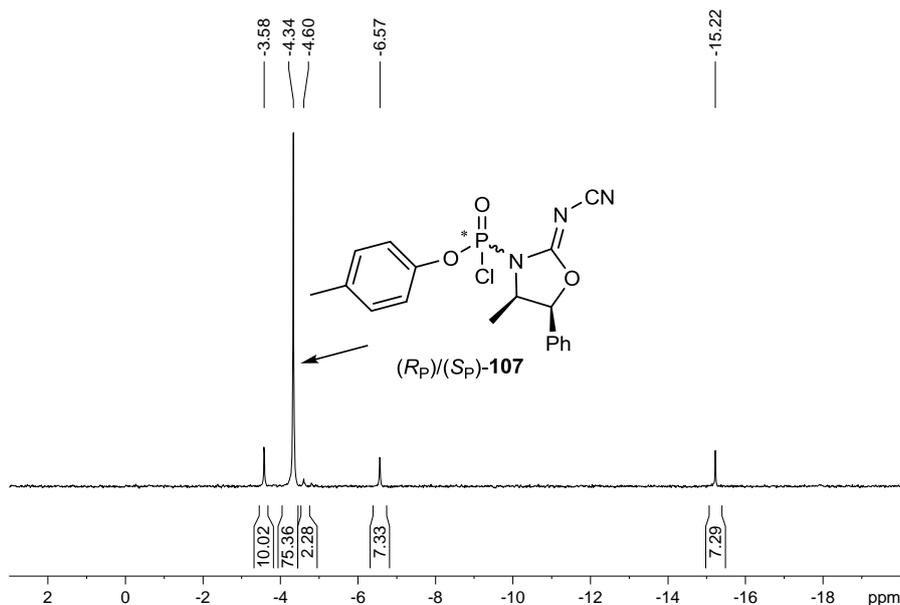


Abb. 109 ^{31}P -NMR-Spektrum des verunreinigten Phosphorchloridat-Derivates $(R_P)/(S_P)$ -**107**

Der Diastereomerenüberschuss konnte nicht bestimmt werden, weil die chemische Verschiebung des zweiten Diastereomers, aufgrund der fehlenden Synthese des Diastereomergemisches von $(R_P)/(S_P)$ -**107**, nicht zugeordnet werden konnte. Die anschließende Kupplung mit 1 Äq. (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** in Dichlormethan mit 3 Äq. TEA führte zur Bildung vieler phosphorhaltigen Verbindungen, die nicht identifiziert werden konnten. Nach der säulenchromatographischen Reinigung war es möglich, nur ein Phosphordiamidat-Derivat **108** in 5% Ausbeute mit einer chemischen Verschiebung im ^{31}P -NMR-Spektrum von -2.17 ppm in verunreinigter Form zu erhalten (Abb. 110).

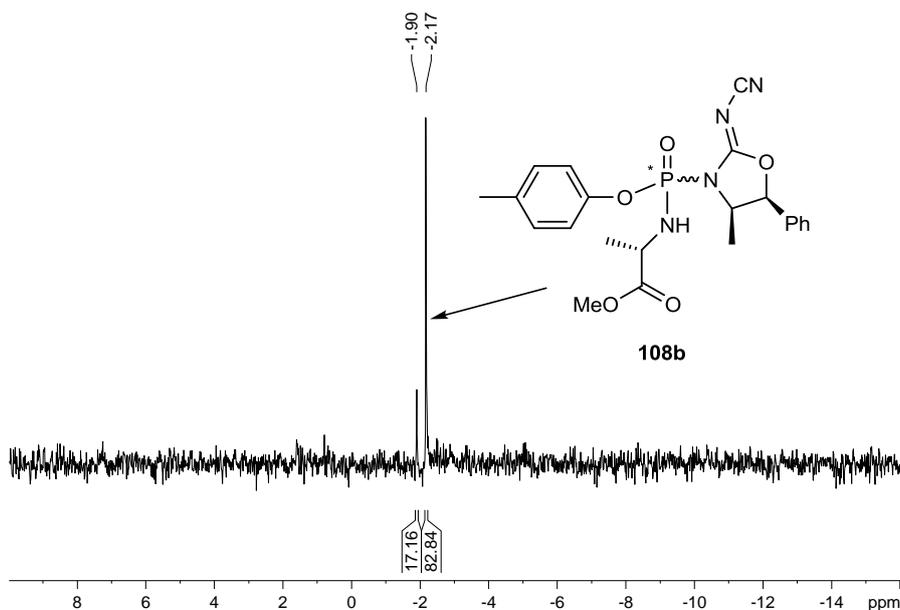


Abb. 110 ^{31}P -NMR-Spektrum des verunreinigten Phosphordiamidat-Derivates **108b**

Zusätzlich wurde die Detektion des Phosphordiamidat-Derivates **108b** durch die schwache UV-Aktivität erschwert. Die Verbindung konnte nur mit Kaliumpermanganat-Lösung sichtbar gemacht werden. Die Produktmenge reichte nicht für die weitere Umsetzung mit dem Nucleosidanalogen aus. Außerdem konnte das andere Diastereomer nicht isoliert werden. Aus diesem Grund wurde eine konvergente Syntheseroute verwendet, um die Phosphordiamidat-Derivate **108** zu synthetisieren. Abb. 111 stellt die Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **108** als Diastereomergemisch dar.

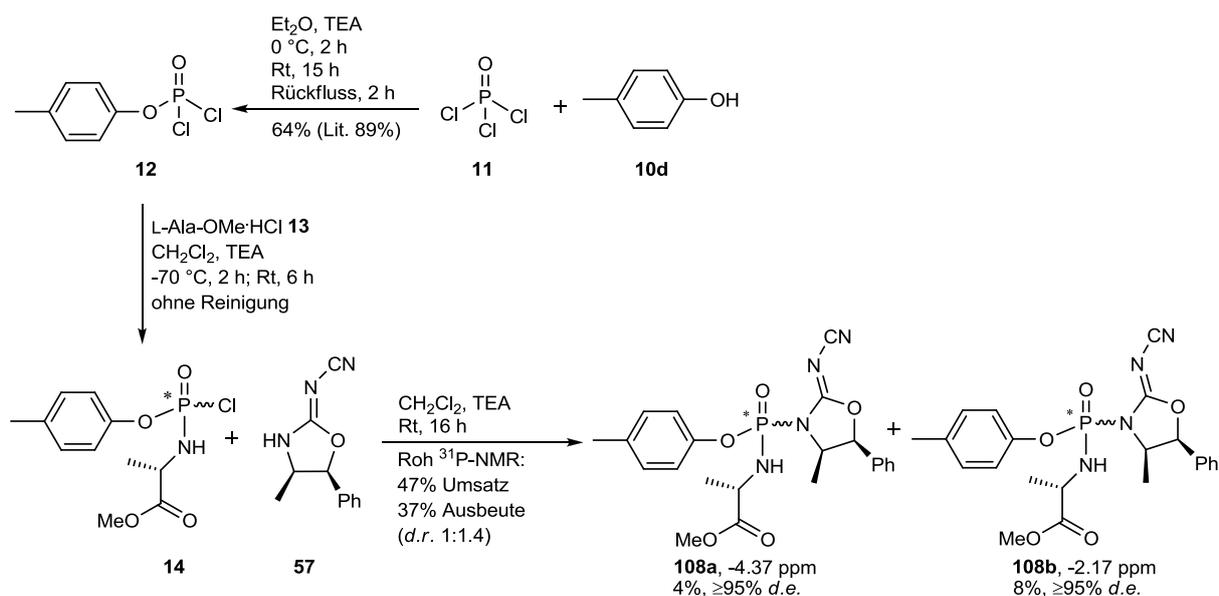


Abb. 111 Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **108** aus Phosphorchloridat **14**

Die Syntheseroute basierte auf dem literaturbekannten Phosphorchloridat **14**, das nach der Methode von *McGuigan* als 1:1 Diastereomergemisch synthetisiert wurde.¹⁷ Wie bereits erwähnt (Kap. 4.6.1, S. 71), kann die säulenchromatographische Reinigung des Phosphorchloridates **14** aufgrund der Reaktivität der Verbindung nicht erfolgen, weshalb das Rohprodukt für die weitere Umsetzung mit dem (*N*-cyanimino)oxazolidin-Auxiliar **57** verwendet wurde. Die Umsetzung lieferte die Phosphordiamidat-Derivate **108** in 47% Umsatz im Diastereomerenverhältnis von 1:1.4. Die wiederholten säulenchromatographischen Reinigungen führten zu erheblichen Ausbeuteverlusten, wobei die Diastereomere nicht vollständig voneinander getrennt werden konnten. Das eine Diastereomer konnte in 4% Ausbeute als diastereomerenreine Verbindung isoliert werden (Abb. 112).

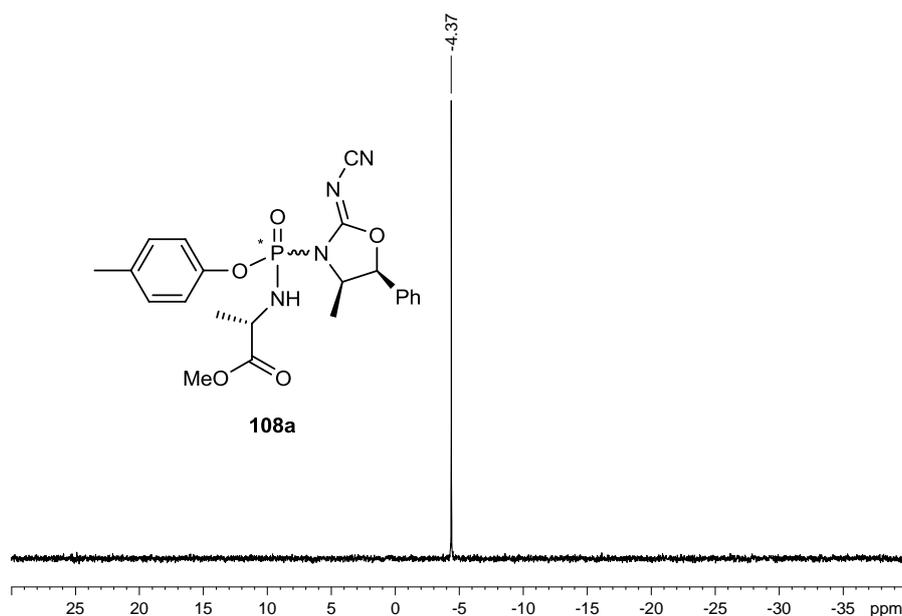


Abb. 112 ³¹P-NMR-Spektrum des Phosphordiamidat-Derivates **108a** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Aufgrund fehlender Kristalle konnte die absolute Konfiguration am Phosphoratom nicht anhand einer Einkristallstrukturanalyse zugeordnet werden. Das andere Diastereomer konnte in 8% Ausbeute als diastereomerenreine Verbindung isoliert werden (Abb. 113).

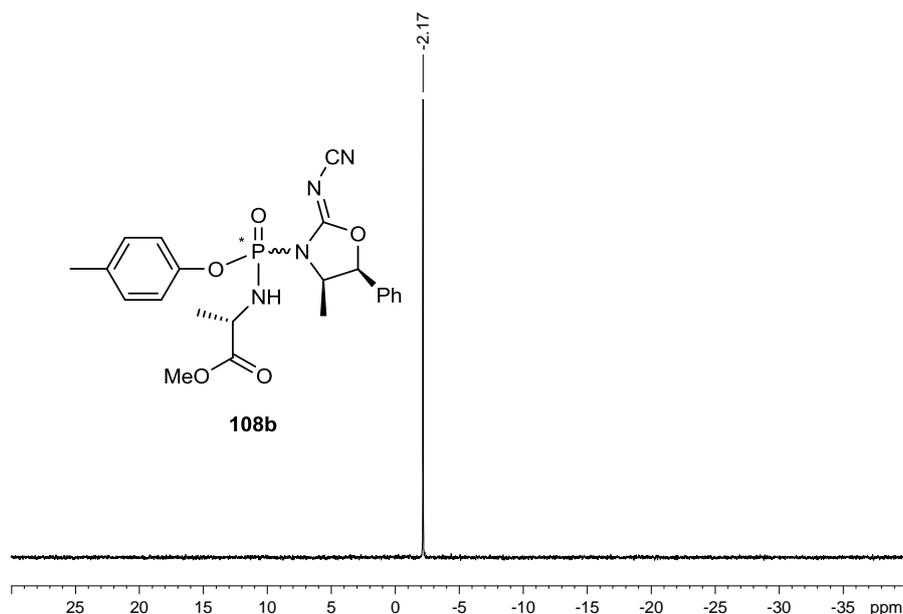


Abb. 113 ^{31}P -NMR-Spektrum des Phosphordiamidat-Derivates **108b** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Die weitere Umsetzung der separierten Phosphordiamidat-Derivate **108** mit d4T **1** sollte unter den bisher besten Reaktionsbedingungen zur Abspaltung des chiralen Auxiliars **57** erfolgen. *Rios Morales* optimierte die Reaktionsparameter, um bessere Ausbeuten bei der diastereoselektiven Synthese von *cycloSal*-Pronucleotiden zu erzielen.⁵⁶ Es wurde festgestellt, dass die Verwendung von 3 Äq. d4T **1**, 3 Äq. TEA und 1 Äq. des Kupfer(II)-Triflat/BEN-Komplexes in Dichlormethan die besten Ergebnisse lieferten. Erstaunlicherweise erfolgte keine Reaktion der separierten Phosphordiamidat-Derivate **108** mit d4T **1** unter den genannten Reaktionsbedingungen.

Die weitere Umsetzung der Phosphordiamidat-Derivate **108** erfolgte nach den vorher beschriebenen Reaktionsbedingungen zur diastereoselektiven Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63d** (Abb. 79, S. 67). Die Umsetzung von 1 Äq. Phosphordiamidat **108a** mit 1.5 Äq. d4T **1** in THF/Acetonitril (1:1) mit 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid führte zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** (Abb. 114).

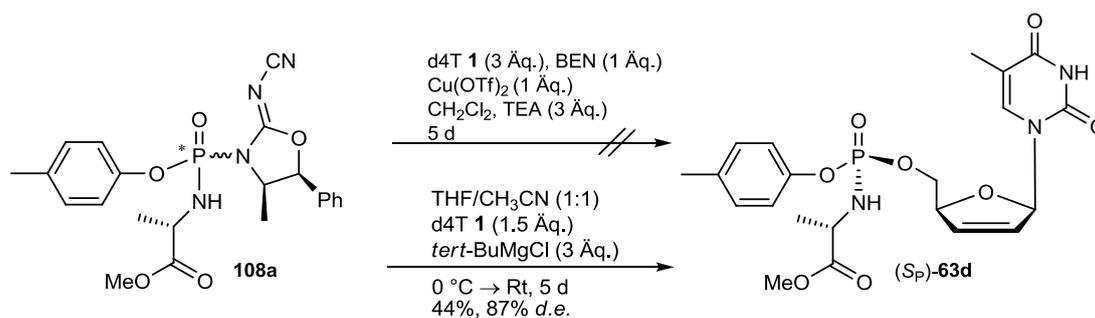


Abb. 114 Diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*S_P*)-**63d** unter Abspaltung des (*N*-cyanimino)oxazolidin-Auxiliars **57**

Das erhaltene Arylphosphoramidat-Pronucleotid (*S_P*)-**63d** wurde in 44% Ausbeute und mit einem Diastereomerenüberschuss von 87% erhalten (Abb. 115).

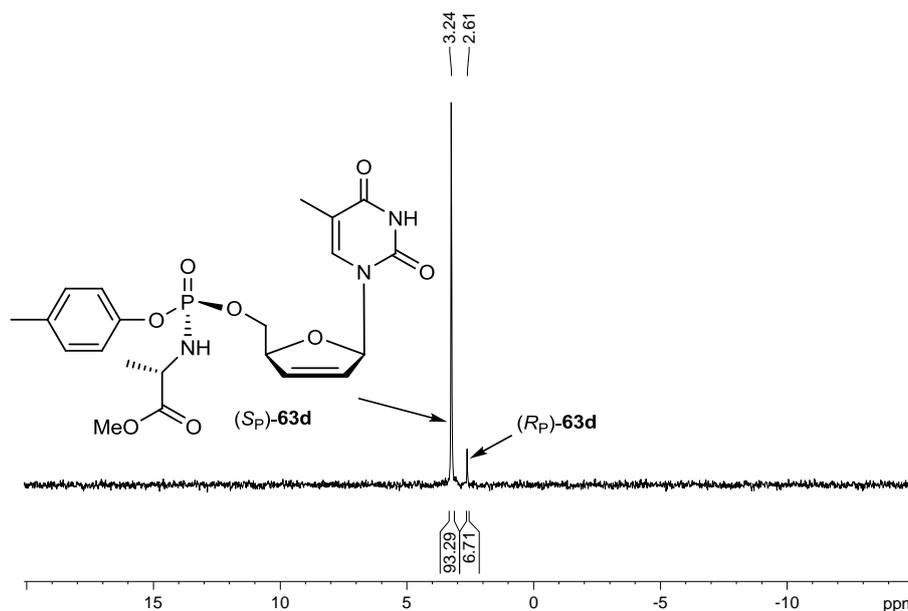


Abb. 115 ³¹P-NMR-Spektrum des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*S_P*)-**63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Ungewöhnlicherweise führte die Kupplung des zweiten Phosphordiamidat-Derivates **108b** mit d4T **1** zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*R_P*)-**63d** ebenfalls in einer Ausbeute von 44% (Abb. 116).

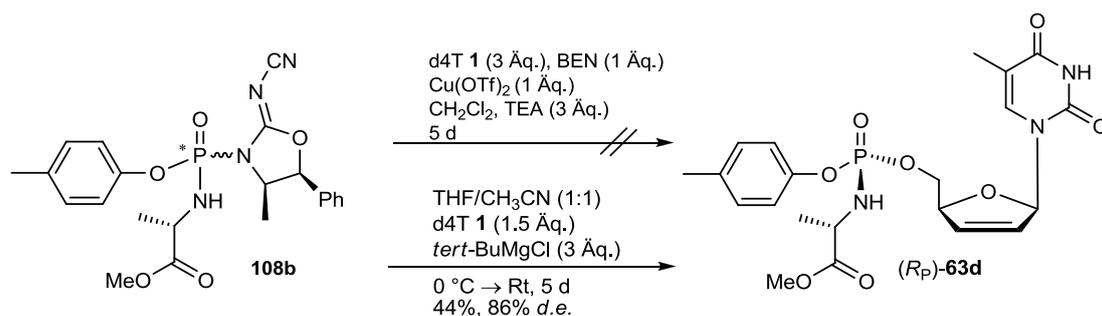


Abb. 116 Diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*R_P*)-**63d** unter Abspaltung des (*N*-cyanimino)oxazolidin-Auxiliars **57**

Der Diastereomerenüberschuss des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*R_P*)-**63d** wurde gleichfalls aus dem ³¹P-NMR-Spektrum bestimmt und ergab 86% (Abb. 117).

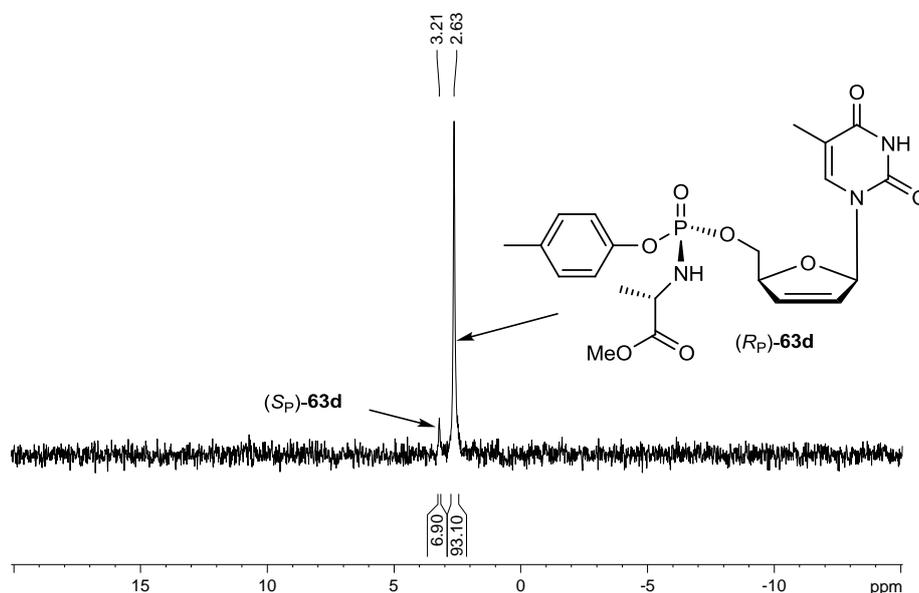


Abb. 117 ³¹P-NMR-Spektrum des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (*R_P*)-**63d** nach der säulenchromatographischen Reinigung

Der Austausch des chiralen Auxiliars 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** gegen (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** erwies sich als äußerst vorteilhaft. Der Wechsel führte zu deutlich höheren Ausbeuten an Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **63**, obwohl die Umsetzungen zu geringfügig schlechteren Diastereomerenüberschüssen führten. Der Stereoinformationsverlust wurde bereits bei der diastereoselektiven Synthese von *cycloSal*-Pronucleotiden beschrieben.⁵⁶ *Rios Morales* beobachtete signifikant verschiedene Diastereomerenüberschüsse in Abhängigkeit von den verwendeten Reaktionsbedingungen. Aus diesem Grund kann eventuell der

Stereoinformationsverlust beeinflusst werden, so dass die Pronucleotide in besseren Diastereomerenüberschüssen erhalten werden könnten.

4.6.11 Vergleich der Phosphordiamidat-Derivate **79d** und **108**

Die mögliche Korrelation zwischen der chemischen Verschiebung des Phosphoratoms im ^{31}P -NMR-Spektrum und dem Austrittsvermögen der Abgangsgruppe wurde bereits von *Rios Morales* für eine Reihe von *cycloSal*-Phosphorimiden beschrieben.⁵⁶ Der Vergleich der Phosphordiamidat-Derivate **79d** und **108** ergab eine ähnliche Schlussfolgerung. Der Wechsel des chiralen Auxiliars 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** gegen (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** führte zur Verschiebung des Phosphorsignals zum höheren Feld (Abb. 118).

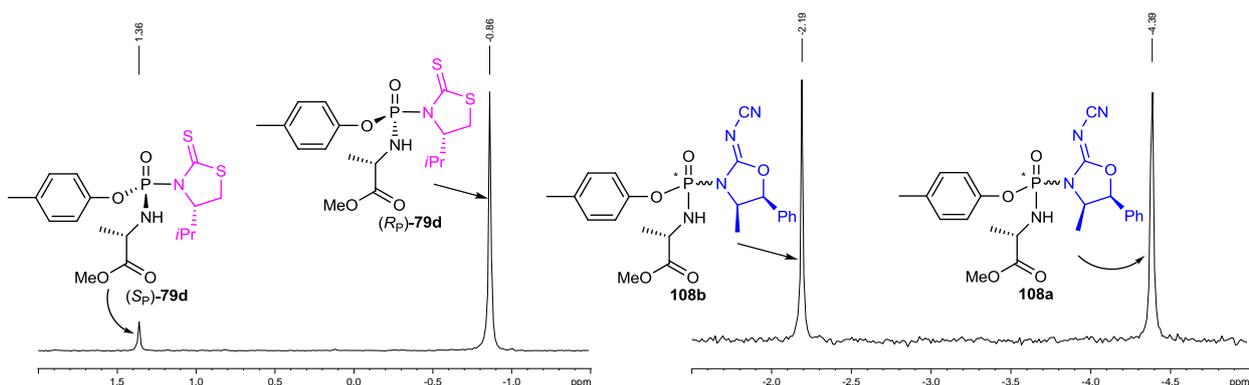


Abb. 118 Chemische Verschiebungen der Phosphorsignale im ^{31}P -NMR-Spektrum der Phosphordiamidat-Derivate **79d** und **108**

Der stärkere elektronenziehende Effekt der N-CN-Gruppe bewirkt eine effizientere Aktivierung des Phosphoratoms der Phosphordiamidat-Derivate **108**. Obwohl die chemischen Verschiebungen der Diastereomere **108** einen Unterschied von 2.2 ppm aufwiesen, war ihre Reaktivität ähnlich. Diese Beobachtung ist entgegengesetzt zu den Phosphordiamidat-Derivaten **79d**. Das *S*_P-Diastereomer (*S*_P)-**79d** führt zu ungefähr doppelter Ausbeute an Arylphosphoramidat-Pronucleotid **63d** im Vergleich zu dem *R*_P-Diastereomer. Dieser Reaktivitätsunterschied ist anhand der chemischen Verschiebung des Phosphorsignals nicht erklärbar, da theoretisch das *R*_P-Diastereomer (*R*_P)-**79d**, aufgrund der Verschiebung des Phosphorsignals zum höheren Feld, eine erhöhte Reaktivität aufweisen sollte.

Die höhere Reaktivität der Phosphordiamidat-Derivate **108** spiegelt sich in den besseren Ausbeuten an Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **63d** wieder. Der Nachteil der Umsetzungen lag an den Diastereomerenüberschüssen der Pronucleotide, die unter den beschriebenen Reaktionsbedingungen bis 86-87% gesunken sind. Möglicherweise kann dem Verlust an Diastereoselektivität durch die Änderung der Reaktionsbedingungen entgegengewirkt werden, so dass zukünftig Diastereomerenüberschüsse von $\geq 95\%$ erzielt werden könnten.

4.7 Fallbeispiel

Anhand der antiviralen Untersuchungen wurde im Rahmen dieser Arbeit beobachtet, dass das aktive Diastereomer des Arylphosphoramidat-Pronucleotides die S_P -Konfiguration besitzt (Tab. 17, S. 75 und Tab. 19, S. 78). Die diastereoselektive Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** ist in Abb. 119 beispielhaft als Zielverbindung mit den optimierten Reaktionsbedingungen dargestellt.

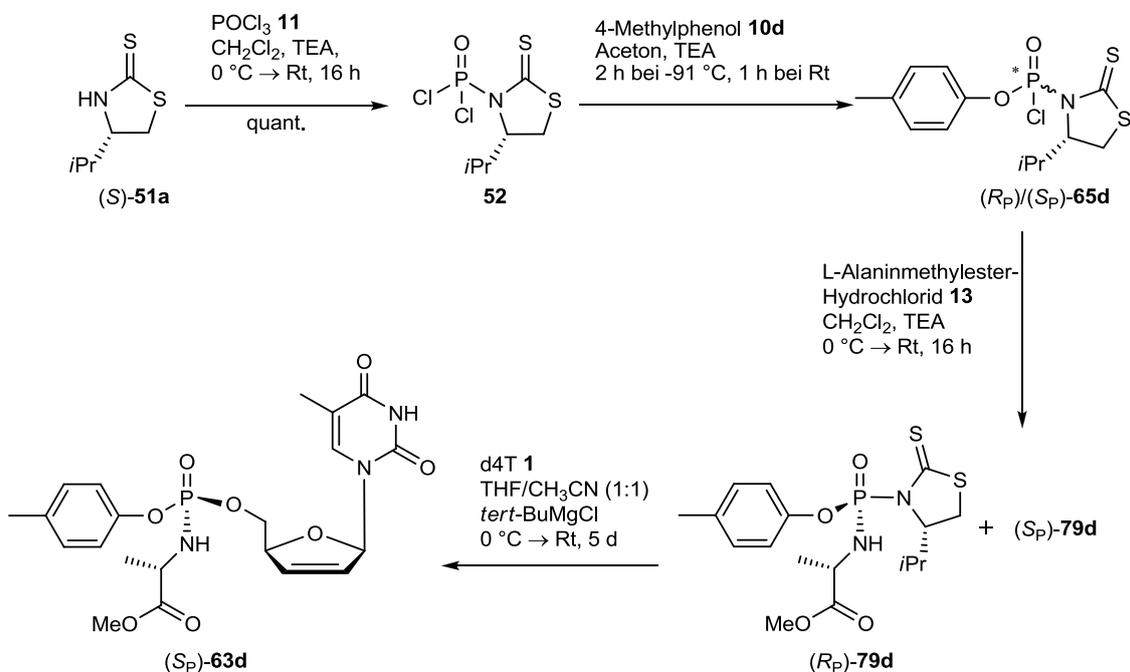


Abb. 119 Syntheseroute zur diastereoselektiven Darstellung des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d** mit den optimierten Reaktionsbedingungen

Die Syntheseroute basierte auf dem chiralen Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (S)-**51a**, welches über zwei Stufen nach der Methode von *Delaunay* synthetisiert wurde (Kap. 4.2, S. 31). Die Umsetzung von 1 Äq. (S)-**51a** mit 3 Äq. Phosphorylchlorid **11** und 1.1 Äq. Triethylamin nach der Methode von *Thomann* führte zur quantitativen Bildung des Phosphordichloridates **52** (Kap. 4.3, S. 34). Es folgte die diastereoselektive Synthese des Phosphorchloridates (R_P)/(S_P)-**65d**. Es wurden 1 Äq. Phosphordichloridat **52** und 1 Äq. 4-Methylphenol **10d** in Aceton unter Verwendung von 1 Äq. TEA umgesetzt. Das Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d** wurde in einer Ausbeute von 58% und 92% *d.e.* erhalten (Kap. 4.4.3, S. 40).

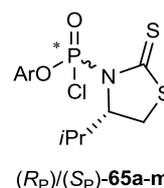
Die anschließende Umsetzung mit 1 Äq. des angereicherten Diastereomeregemisches an Phosphorchloridat (R_P)/(S_P)-**65d**, 1 Äq. (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** und 3 Äq. Triethylamin in Dichlormethan ($c = 0.7 \text{ M}$) führte zur Bildung der Phosphordiamidat-Derivate **79d**. (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** ist zwar kommerziell erhältlich, aber in Kap. 4.5.6 (S. 65) wurde bereits beschrieben, dass die Synthese des Aminosäureester-Hydrochlorides einen entscheidenden Einfluss auf die Bildung der Phosphordiamidat-Derivate hatte. Aus diesem Grund sollte das Aminosäureester-Derivat nach der Methode von *Joullié* synthetisiert werden. Die Trennung der Diastereomere des Phosphordiamidates **79d** erfolgte säulenchromatographisch, weswegen das Phosphordiamidat (R_P)-**79d** als diastereomerenreine Verbindung isoliert wurde ($\geq 95\% \text{ d.e.}$). Die Umsetzung von 1 Äq. Phosphordiamidat (R_P)-**79d** mit 1.5 Äq. Nucleosidanalogon d4T **1** in THF/Acetonitril (1:1) und 3 Äq. *tert*-Butylmagnesiumchlorid führte zur diastereoselektiven Synthese des Arylphosphoramidat-Pronucleotides (S_P)-**63d**. Die Ausbeute war zwar niedrig (13%), aber das Pronucleotid lag nahezu diastereomerenrein ($\geq 95\% \text{ d.e.}$) vor. Die Verbesserung der Ausbeute war unter Verwendung von (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** als chirales Auxiliar möglich. Leider führte die Umsetzung aber zu einem schlechteren Diastereomerenüberschuss (87% *d.e.*, Kap. 4.6.10, S. 106).

5. Zusammenfassung

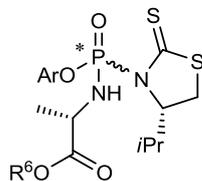
Die Arylphosphoramidat-Pronucleotide des Typs nach *McGuigan* stellen ein erfolgreiches Pronucleotid-System dar. Die literaturbekannte Synthese liefert stets ein Diastereomeregemisch der Pronucleotide, das in den meisten Fällen nicht separiert werden kann. In einigen Fällen konnte die Trennung der Diastereomere erzielt werden, wobei beobachtet wurde, dass die Diastereomere signifikant verschiedene biologische Aktivitäten und Toxizitäten aufweisen. Aus diesem Grund ist die diastereoselektive Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide von großem Interesse.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung der ersten diastereoselektiven Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden. Die Syntheseroute basiert auf der Verwendung von chiralen Auxiliaren, wobei der Schwerpunkt der Arbeit auf dem Einsatz von 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** lag.

Das chirale Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (*S*)-**51a** wurde zuerst nach der Methode von *Thomann* an Phosphorylchlorid gekuppelt unter Bildung des Phosphordichloridates **52**. Die anschließende Umsetzung mit unterschiedlichen Phenol-Derivaten **10a-k** und Naphthol-Derivaten **10l,m** führte zur diastereoselektiven Synthese der Phosphorchloridat-Derivate (*R_P*)/(*S_P*)-**65a-m**, wobei die Trennung der Diastereomere nicht erzielt werden konnte. Die Substitution am Aryl-Derivat spielte eine entscheidende Rolle in Bezug auf die auftretende Diastereoselektivität. Die 3- und 4-substituierten Derivate wurden in höheren Diastereomerenüberschüssen als die 2-substituierten erhalten. Das 2-Methoxyphenol-Phosphorchloridat (*R_P*)/(*S_P*)-**65e** bildete eine Ausnahme und wurde mit dem besten *d.e.*-Wert von 86% erhalten. Im Allgemeinen erwiesen sich die 3- und 4-substituierten Derivate somit als besser geeignet für die diastereoselektive Synthese.



Die Kupplung des angereicherten Diastereomergemisches an Phosphorchloridat-Derivaten (R_P)/(S_P)-**65a-m** mit (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** bzw.

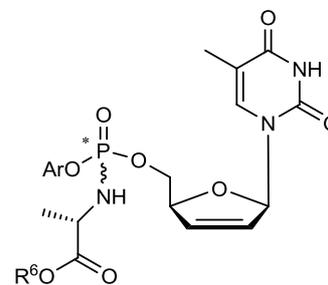


(R_P)-**79a-m**, (S_P)-**79a-m** $R^6 = \text{Me}$
 (R_P)-**85b,d**, (S_P)-**85b,d** $R^6 = \text{Bn}$

(S)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid **84** führte zur diastereoselektiven Synthese der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** bzw. Benzylphosphordiamidat-Derivate **85b,d**. Die Diastereomere konnten mittels säulenchromatographischer Reinigung als diastereomerenreine Verbindungen ($\geq 95\%$ d.e.) erhalten

werden. Die Diastereomerenüberschüsse der Phosphordiamidat-Derivate **79a-m** waren im Vergleich zu den Phosphorchloridaten (R_P)/(S_P)-**65a-m** um einen signifikanten Betrag gesunken. Eine mögliche Erklärung basierte auf dem postulierten Reaktionsmechanismus, der den Verlust der Diastereoselektivität anhand der Bildung der Intermediate **78d** und (R_P)-**67** veranschaulicht (Kap. 4.5.4, S. 57).

Die diastereoselektive Synthese der Arylphosphoramidat-Pronucleotide **63b,d,g,j-l** und **89b,d** erfolgte aus den separierten diastereomerenreinen Phosphordiamidat-Derivaten und dem Nucleosidanalogon d4T **1**. Die individuell dargestellten Diastereomere der Arylphosphoramidat-Pronucleotide wurden auf ihre antivirale Aktivität gegen HIV-1 und HIV-2 in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. J. Balzarini in Leuven (Belgien) getestet. Die Diastereomere zeigten in Abhängigkeit vom Phenol- und Ester-Rest verschiedene antivirale Aktivitäten in Thymidin-Kinase-defizienten



(S_P)-**63b,d,g,j-l**, (R_P)-**63b,d,g,j-l** $R^6 = \text{Me}$
 (S_P)-**89b,d**, (R_P)-**89b,d** $R^6 = \text{Bn}$

CEM-Zellen. Im Allgemeinen waren die S_P -konfigurierten Diastereomere der 4-substituierten Pronucleotide aktiver als die R_P -konfigurierten, wobei der Unterschied einen bis zu 65-fachen Betrag annahm. Im Gegensatz dazu lieferten die 2-Methyl- und 1-Naphthol-Pronucleotide ähnliche antivirale Aktivitäten. Allerdings bestätigten die Messungen, dass die antivirale Aktivität abhängig von der Stereoinformation am Phosphoratom ist und dementsprechend, dass die diastereoselektive Synthese von Arylphosphoramidat-Pronucleotiden von großem Vorteil ist.

Aufgrund der nicht zufriedenstellenden Ausbeuten der nahezu diastereomerenreinen Arylphosphoramidat-Pronucleotide, insbesondere der S_P -konfigurierten, wurden verschiedene Änderungen vorgenommen. Zuerst wurde die *iso*-Propylgruppe des chiralen Auxiliars 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a** gegen einen Methylrest ersetzt. Im Allgemeinen führte die Verwendung von 4-Methylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51b** als chirales Auxiliar zu schlechteren Diastereomerenüberschüssen und niedrigeren Ausbeuten im Vergleich zu 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a**. Das Ergebnis bestätigte, dass die *iso*-Propylgruppe des chiralen Auxiliars eine wichtige Rolle in Bezug auf den Erhalt der Stereoinformation am Phosphoratom spielt.

Verschiedene Reaktionsparameter wurden gewechselt, um die Ausbeuteoptimierung an S_P -konfigurierten Arylphosphoramidat-Pronucleotiden zu erzielen. Besonders die Lösungsmittel- und Basenänderungen lieferten unerwartete Ergebnisse. Die Verwendung von unterschiedlichen Zusätzen unter theoretischer Reaktionskatalyse scheiterte und führte zu signifikanten Verlusten der Diastereomerenüberschüsse. Der Verlust der Stereoinformation des diastereomerenreinen Phosphordiamidat-Derivates (R_P)-**79d** während der Reaktion wurde mit dem Reaktionsmechanismus korreliert. Die Isomerisierung wurde anhand des $S_N1(P)$ -Mechanismus unter Bildung des Metaphosphations erklärt (Kap. 4.6.8, S. 90).

Anschließend wurde das chirale Auxiliar 4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion (**S**)-**51a** durch (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin **57** ersetzt. Aufgrund der Reaktivität des Auxiliars **57** wurden die Phosphordiamidat-Derivate **108** mit einer konvergenten Syntheseroute als Diastereomeregemisch synthetisiert. Die weiteren Umsetzungen der getrennten Phosphordiamidat-Derivate **108** mit d4T **1** führten zur Verbesserung der Ausbeute bis zu 44% an Arylphosphoramidat-Pronucleotiden **63d**. Allerdings führte die Ausbeuteoptimierung zu einem Verlust an Diastereomerenüberschuss bis 86% bzw. 87%. Jedoch ist es bereits literaturbekannt, dass der Stereoinformationsverlust durch Änderung der Reaktionsbedingungen beeinflusst werden kann. Folglich könnten zukünftig Diastereomerenüberschüsse von $\geq 95\%$ erzielt werden.

6. Summary

Pronucleotides are membrane-permeable nucleotide precursors which allow the intracellular delivery of nucleoside monophosphates. Their subsequent conversion leads to the 5'-di- and 5'-triphosphates. The latter are the ultimately biological active compounds. Several pronucleotide strategies have been reported in order to improve the biological activity of nucleoside analogues. The arylphosphoramidate pronucleotides has been proven as a successful prodrug-system. Due to the chiral center at the phosphorus atom and to the additional chiral centers in the nucleoside analogues, these pronucleotides as well as further prodrug-system exist as a mixture of diastereomers. *McGuigan et al.* reported in 1992 the synthesis of the arylphosphoramidate pronucleotides as a mixture of two diastereomers in a ratio of 1:1. However, in most cases the chromatographic separation has been a very difficult or even impossible task to achieve. Importantly, in cases in that the individual diastereomers were obtained, it was found that the biological activity, toxicity and pharmacokinetic profiles correlate with the configuration at the phosphorus atom. For this reason the development of a diastereoselective synthesis of arylphosphoramidate pronucleotides is required.

This thesis describes the first diastereoselective synthesis of arylphosphoramidate pronucleotides. The synthetic route is mainly based on the chiral auxiliary (S)-4-isopropylthiazolidine-2-thione, which is converted in three steps into the stereochemically pure phosphorodiamidates. The formation of these key intermediates has been investigated in dependence on phenol derivatives **10a-m** and L-alanine methyl or benzyl ester hydrochloride (S)-**13**, (S)-**84** attached to the phosphorodiamidate moiety. The phosphorodiamidate intermediates were finally reacted separately with the nucleoside analog 3'-deoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T) **1** to give the corresponding arylphosphoramidate prodrugs **63b,d,g,j-l** and **89b,d** as almost diastereomerically pure compounds (up to $\geq 95\%$ *d.e.*).

The individually prepared diastereomers were evaluated against HIV-1- and HIV-2-infected CEM/0 and HIV-2-infected CEM/TK-deficient cells *in vitro*. As expected, all arylphosphoramidate prodrugs showed antiviral activity against HIV-1 and HIV-2 in

wild-type CEM/0 cells and were more active against HIV-2 in CEM/TK-deficient cells compared to the parental d4T **1**. In dependence on the phenolic residue, the obtained anti-HIV activity data of the diastereomers showed significant antiviral potencies in CEM/TK-deficient cells. These differences verified the relevance of the phosphorus configuration on the antiviral activity and proved the importance of the diastereoselective synthesis of arylphosphoramidate pronucleotides.

Due to the low yields of the arylphosphoramidate pronucleotides, particularly of the S_P -configured, different reaction conditions were changed. The use of (S)-4-methylthiazolidine-2-thione (S)-**51b** led to worse yield and diastereoselectivity. In addition to this, the change of the solvent and base led to unexpected results. Moreover, the use of different additives in order to catalyse the reaction failed. Finally a different chiral auxiliary was used. The use of (4*R*,5*S*)-4-methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidine **57** led first to the synthesis of the stereochemically pure phosphorodiamidates **108**. The further reaction with d4T **1** led to a significant improvement of the yield of arylphosphoramidate pronucleotides, but to a decrease of the diastereoselectivity (86% *d.e.*). However, the diastereoselectivity could be improved by changing the reaction conditions.

7. Experimentalteil

7.1. Allgemeines

7.1.1. Edukte und Reagenzien

Sämtliche Edukte und Reagenzien wurden, soweit nicht anders angegeben, von den Firmen Acros, Aldrich, Fluka und Merck in Synthesequalität bezogen und ohne weitere Reinigung für die Synthese verwendet. 2'-Desoxythymidin wurde von der Firma Mitsui Chemicals erworben.

Benzylalkohol: 3 h unter Rückfluss über Magnesium getrocknet, unter Vakuum destilliert und über Molekularsieb (4 Å) unter Lichtausschluss aufbewahrt.

1,7-Diazabicyclo[5.4.0]undec-5-en (DBU): unter Inertgas destilliert, über Molekularsieb (4 Å) und unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Diisopropylethylamin (DIPEA): mehrere Tage unter Rückfluss über Natrium/Benzophenon erhitzt, unter Inertgas destilliert, über Molekularsieb (4 Å) und unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Phosphorylchlorid: unter Inertgas destilliert und unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Thionylchlorid: unter Vakuum destilliert und unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Triethylamin: mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, unter Inertgas destilliert, über Molekularsieb (4 Å) und unter Lichtausschluss aufbewahrt.

7.1.2. Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung (Arbeitsschritte ohne Inertgasbedingungen, Chromatographie) gereinigt.

Dichlormethan: über Calciumchlorid getrocknet und destilliert.

Ethylacetat: über Calciumchlorid getrocknet und destilliert.

Methanol: destilliert

Petrolether: destilliert

7.1.3. Absolute Lösungsmittel

Die folgenden absoluten Lösungsmittel wurden für Reaktionen unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss verwendet.

Aceton: unter Rückfluss 2 h über Phosphorpentoxid getrocknet, unter Stickstoffatmosphäre destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Acetonitril: mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, unter Stickstoffatmosphäre destilliert und über Molekularsieb (3 Å) aufbewahrt.

Dichlormethan: mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, unter Stickstoffatmosphäre destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

Diethylether: unter Rückfluss über Natrium/Benzophenon erhitzt, unter Stickstoffatmosphäre destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

N,N-Dimethylformamid: Fluka Nr. 40248, absolut über Molekularsieb.

Dimethylsulfoxid: Fluka Nr. 41648, absolut über Molekularsieb.

Methanol: Sigma-Aldrich Nr. 65542, absolut über Molekularsieb.

Tetrahydrofuran: unter Rückfluss über Kalium/Benzophenon erhitzt, unter Stickstoffatmosphäre destilliert und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

7.1.4. Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr. 5554 oder Macherey-Nagel Alugram[®] Xtra SIL G/UV₂₅₄; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Laufstrecke betrug 6-8 cm. Alle R_f-Werte wurden bei

Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm. Die nicht UV-aktiven Substanzen wurden mit einer 0.5%iger Kaliumpermanganat-Lösung in Wasser oder Ninhydrin (1% in Wasser) angefärbt. Als Färbereagenz für nucleosidische Substanzen wurde ein Gemisch aus *p*-Methoxybenzaldehyd (0.7 mL), Ethanol (99.8%, 27 mL), konz. Schwefelsäure (1.0 mL) und Essigsäure (0.3 mL) verwendet und anschließend mit Wärme behandelt.

Säulenchromatographie

Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (230-400 mesh, Korngröße 0.040-0.063 mm, Merck) nach dem Flash-Verfahren durchgeführt. Es wurden stets destillierte Lösungsmittel verwendet.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde an einer VWR-Hitachi LaChromElite durchgeführt.

Software: EZChrom Elite

Pumpe: L-2130

Automatischer Probenwechsler: Autosampler L-2200

Detektion: Diode Array Detector L-2455

Säule: Nucleodur[®] C18 Isis, 5 µm (Macherey-Nagel)

Lösungsmittel: Acetonitril (Sigma-Aldrich, „HPLC grade“), Wasser (Honeywell 10313921, Wasser GC für die Gaschromatographie)

Methoden:

Methode I: Wasser/Acetonitril Gradient: 0-80% CH₃CN (0-60 min), 80-0% CH₃CN (60-65 min), 0% CH₃CN (65-70 min), Flussrate 0.5 mL/min. UV-Detektion bei 265 nm.³⁶

Methode II: Von 0 bis 60 min isokratisch Wasser/Acetonitril 82:18 v/v, von 60 bis 63 min Wasser mit einem Acetonitril-Gradienten (18-100%), 63 bis 64 min mit Acetonitril (100%), dann von 65 bis 69 min isokratisch Acetonitril/Wasser 82:18 v/v, Flussrate 0.5 mL/min. UV-Detektion bei 265 nm.

Methode III: Wasser/Acetonitril: 0-60.4% CH₃CN (0-4 min), 60.4-60.7% CH₃CN (4-4.5 min), 60.7-60.8% CH₃CN (4.5-5.5 min), 60.8-60.9% CH₃CN (5.5-6.5 min), 60.9-61% CH₃CN (6.5-10.5 min), 60.9-61.1% CH₃CN (10.5-11.5 min), 61.1-61.2% CH₃CN (11.5-12.5 min), 61.2-61.3% CH₃CN (12.5-13.5 min), 61.3-62% CH₃CN (13.5-14 min), 62-100% CH₃CN (14-15 min), 100% CH₃CN (15-16 min), 100-0% CH₃CN (16-19 min), 0% CH₃CN (19-24 min), Flussrate 0.5 mL/min. UV-Detektion bei 265 nm.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie an chiraler stationärer Phase

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

Software: Chromatography Data Station

Interface: D-7000

Pumpe: L-7100

Automatischer Probenwechsler: L-7200

Detektion: Diode Array Detector L-7455

Säule: CHIRALPAK[®] OD (250 x 4.6 mm, 5 µm, CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe, Deutschland), Cellulose-*tris*-(3,5-dimethylphenyl)carbammat gebunden auf ultrareinem Kieselgel mit 100 µm Porengröße.

Lösungsmittel: *n*-Hexan (Sigma-Aldrich, „HPLC grade“), 2-Propanol (Honeywell 10311056, 2-Propanol GC für die Spektroskopie)

Methode: Von 0 bis 40 min isokratisch *n*-Hexan/2-Propanol 80:20 v/v, 40 bis 45 min *n*-Hexan/2-Propanol 60:40 v/v, dann von 45 bis 50 min *n*-Hexan/2-Propanol 80:20 v/v, Flussrate 1 mL/min. UV-Detektion bei 276 nm.

7.1.5. Spektroskopie

Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden in der spektroskopischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie der Universität Hamburg aufgenommen. Folgende Geräte standen zur Verfügung:

¹H-NMR: Bruker AMX 400 (400 MHz), Bruker AV 400 (400 MHz), Bruker DMX 500

(500 MHz). Die chemische Verschiebung wurde auf CDCl_3 ($\delta = 7.26$ ppm) und $\text{DMSO}-d_6$ ($\delta = 2.50$ ppm) kalibriert.

^{13}C -NMR: Bruker AMX 400 (101 MHz), Bruker AV 400 (101 MHz). Die chemische Verschiebung wurde auf CDCl_3 ($\delta = 77.16$ ppm) und $\text{DMSO}-d_6$ ($\delta = 39.52$ ppm) kalibriert.

^{31}P -NMR: Bruker AMX 400 (162 MHz). Die chemische Verschiebung wurde gegen einen externen Standard von 85%iger Phosphorsäure angegeben.

Die Zuordnung der Signale erfolgte durch $^1\text{H}, ^1\text{H}$ - sowie $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -Korrelationsspektren (H,H-COSY, HSQC, HMBC).

Massenspektrometrie (MS)

Die EI-Massenspektren wurden an einem VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer (doppeltfokussiert) aufgenommen.

Die FAB-Massenspektren wurden an einem doppeltfokussierenden Spektrometer VG/70-250F der Firma VG Analytical aufgenommen. Als Matrix wurde *meta*-Nitrobenzylalkohol verwendet.

Die ESI-Massenspektren wurden an einem Agilent Technologies ESI-TOF 6224 Massenspektrometer der Firma Finnigan aufgenommen.

Infrarotspektroskopie (IR)

Die IR-Spektren wurden an einem Alpha-P FT-IR Spektrometer der Firma Bruker aufgenommen.

7.1.6. Weitere verwendete Geräte

Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung wässriger oder wasserhaltiger Lösungen wurde an einer Christ Alpha 2-4-Gefriertrocknungsanlage durchgeführt.

Schmelzpunktbestimmung

Schmelzpunkte wurden an einem Schmelzpunktbestimmer apotec der Firma Otto Stein durchgeführt.

Thermomixer

Es wurde ein Eppendorf Thermomixer 5436 verwendet.

Zentrifuge

Es wurde eine Biofuge *pico* der Firma Heraeus verwendet.

Polarimeter

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden an einem A. Krüss Optronic P8000 Polarimeter gemessen.

Röntgenkristallstrukturanalyse

Die Röntgenkristallstrukturanalysen wurden am Institut für Anorganische Chemie mit einem Bruker-APEX Gerät aufgenommen.

7.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

7.2.1 Darstellung der Aminoalkohole (AAV 1)^{60,80}

Unter Schutzgasatmosphäre wurde Lithiumaluminiumhydrid (2.0 Äq.) in abs. THF suspendiert. Bei 0 °C wurde die Aminosäure **73** (1.0 Äq.) zu der Suspension in kleinen Portionen gegeben. Die Reaktionsmischung wurde unter Rückfluss 24 h erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde vorsichtig eine 10%-ige KOH-Lösung langsam bei 0 °C zugegeben, bis die heftige Reaktion aufhörte, gefolgt von demineralisiertem Wasser. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit THF gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Hilfe einer Kugelrohrdestillation gereinigt.

7.2.2 Darstellung der chiralen Auxiliare (AAV 2)⁶¹

Eine Lösung des Aminoalkohols **74** (1.0 Äq.) in einer 1 M KOH-Lösung wurde mit Schwefelkohlenstoff (5.0 Äq.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf 100 °C für 40 h erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung

viermal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach der Filtration wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 2:1) gereinigt.

7.2.3 Darstellung der Aryl-[(S)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat-Derivate (AAV 3)

Variante 1: Eine Lösung von [(S)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.0 Äq.) und Aryl-Derivat **10** (1.0 Äq.) in abs. Aceton wurde auf -91 °C gekühlt und mit DBU (1.0 Äq.) tropfenweise versetzt. Nach 25 min bis 75 min (abhängig von **10**, Reaktionskontrolle dünnschichtchromatographisch Petrolether 50-70/Ethylacetat, 1:3) bei -91 °C wurde die Reaktionsmischung auf eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und an der Ölpumpe eingeeengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch (Säule mit 1.5 cm Durchmesser und 54 cm Länge) an ~23 g Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 2:1) gereinigt. Die Produktfraktionen wurden an der Ölpumpe eingeeengt.

Variante 2: Eine Lösung von [(S)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.0 Äq.) und Aryl-Derivat **10** (1.0 Äq.) in abs. Aceton wurde auf -91 °C gekühlt. Anschließend wurde tropfenweise Triethylamin (1.0 Äq.) hinzugegeben und 2 h bei -91 °C und dann 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch (Säule mit 1.5 cm Durchmesser und 54.5 cm Länge) an ~23 g Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 2:1) gereinigt. Die Produktfraktionen wurden an der Ölpumpe eingeeengt.

7.2.4 Darstellung der Aryl-*N*-[(*S*)-alaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphordiamidat-Derivate (AAV 4)

Eine Mischung des Aryl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat-Derivates **65** (1.0 Äq.) und (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** bzw. (*S*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*S*)-**84** (1.0 Äq.) in abs. Dichlormethan wurde auf 0 °C gekühlt. Triethylamin (3.0 Äq.) wurde tropfenweise hinzugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde in eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 2:1) gereinigt. Die Benzylester-Derivate wurden säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 4:1) gereinigt. Falls erforderlich wurde das *S_P*-Diastereomer erneut säulenchromatographisch an Kieselgel (Dichlormethan) gereinigt.

7.2.5 Darstellung der 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(aryl)-(alaninyl)phosphoramidat-Derivate (AAV 5)

Unter Schutzgasatmosphäre wurde d4T **1** (1.5 Äq.) in THF/CH₃CN (1:1) gelöst und tropfenweise bei 0 °C mit einer *tert*-Butylmagnesiumchlorid-Lösung in THF (1.7 M, 3.0 Äq.) versetzt. Die Suspension wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Eine Lösung des Aryl-*N*-[(*S*)-alaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]-phosphordiamidat-Derivates **79** bzw. **85** (1.0 Äq.) in THF/CH₃CN (1:1) wurde bei 0 °C zur Nucleosid-Suspension gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 5 d bei Raumtemperatur gerührt, anschließend in eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH, 39:1) gereinigt. Das Produkt wurde gefriergetrocknet.

7.3. Synthesen

7.3.1 Synthese von (S)-Valinol (S)-74a

Die Darstellung erfolgte nach AAV 1 mit 6.45 g (0.169 mol, 2.0 Äq.) Lithiumaluminiumhydrid, 10.0 g (85.4 mmol, 1.0 Äq.) (S)-Valin (S)-73a und 150 mL abs. THF.

Ausbeute: 6.27 g (60.7 mmol, 71%) eines farblosen Öls.

Summenformel: C₅H₁₃NO. Molgewicht: 103.17 g/mol. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +24.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz,

DMSO-*d*₆) = 4.40 (brs, 1H, -OH), 3.36 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 10.4 Hz,

³J_{H-H} = 4.6 Hz, H1b), 3.13 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 10.4 Hz, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, H1a), 2.41-2.37

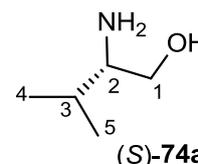
(m, 1H, H2), 1.60-1.48 (m, 1H, H3), 1.22 (brs, 2H, -NH₂), 0.84 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz,

H4 oder H5), 0.81 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H4 oder H5). ¹³C-NMR δ [ppm] (101 MHz,

DMSO-*d*₆) = 64.5 (C1), 57.9 (C2), 30.0 (C3), 19.6, 17.6 (C4 und C5). MS (EI): 104,

72, 60, 43, 42. IR (NaCl): ν [cm⁻¹] = 3354, 2960, 1596, 1466, 1389, 1369, 1053, 922,

873.



7.3.2 Synthese von (S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion (S)-51a

Die Darstellung erfolgte nach AAV 2 mit 1.50 g (14.5 mmol, 1.0 Äq.) (S)-Valinol (S)-74a, 4.39 mL (72.6 mmol, 5.0 Äq.) Schwefelkohlenstoff und 75 mL KOH-Lösung.

Ausbeute: 2.35 g (14.6 mmol, 99%) eines farblosen Feststoffes.

Summenformel: C₆H₁₁NS₂. Molgewicht: 161.29 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.59. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -31.0^\circ$ (c = 1.0,

CHCl₃). ¹H-NMR δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃) = 4.09-4.00 (m, 1H, H4),

3.53 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 10.9 Hz, ³J_{H-H} = 7.9 Hz, H5b), 3.35 (dd, 1H,

²J_{H-H} = 10.9 Hz, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, H5a), 2.00-1.92 (m, 1H, H6), 1.04 (d, 3H,

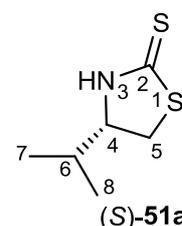
³J_{H-H} = 6.6 Hz, H7 oder H8), 1.01 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR

δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃) = 70.0 (C4), 36.4 (C5), 32.3 (C6), 19.0, 18.5 (C7 und C8).

MS (ESI): ber.: 162.0406 (M + H⁺), gef.: 162.0406 (M + H⁺). IR (KBr): ν [cm⁻¹] = 3150,

2956, 2867, 1498, 1476, 1387, 1374, 1307, 1277, 1216, 1161, 1146, 1109, 1058,

1037, 1025, 978, 921, 889, 840, 702, 663, 621, 600, 539.



7.3.3 Synthese von (S)-Alaninol (S)-74b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 1 mit 0.85 g (22 mmol, 2.0 Äq.) Lithiumaluminiumhydrid, 0.99 g (11 mmol, 1.0 Äq.) (S)-Alanin (S)-73b und 150 mL abs. THF.

Ausbeute: 0.44 g (5.8 mmol, 52%) eines farblosen Öls. Summenformel:

C_3H_9NO . Molgewicht: 75.11 g/mol. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +41.7^\circ$ (c = 1.0,

$CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$) = 3.54 (dd, 1H,

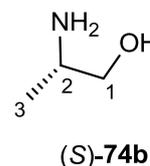
$^2J_{H-H} = 10.4$ Hz, $^3J_{H-H} = 4.0$ Hz, H1b), 3.24 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 10.7$ Hz,

$^3J_{H-H} = 7.9$ Hz, H1a), 3.04-2.97 (m, 1H, H2), 1.80 (brs, 3H, $-NH_2$ und $-OH$), 1.05 (d,

3H, $^3J_{H-H} = 6.4$ Hz, H3). ^{13}C -NMR δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$) = 68.5 (C1), 48.4 (C2),

20.3 (C3). MS (EI): 76, 60, 44, 37. IR (NaCl): ν [cm^{-1}] = 3350, 2964, 1596, 1459,

1378, 1059, 833.



7.3.4 Synthese von (S)-4-Methylthiazolidin-2-thion (S)-51b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 2 mit 1.35 g (17.9 mmol, 1.0 Äq.) (S)-Alaninol (S)-74b, 5.43 mL (89.9 mmol, 5 Äq.) Schwefelkohlenstoff und 68 mL KOH-Lösung.

Ausbeute: 2.08 g (15.6 mmol, 87%) eines gelblichen Feststoffes.

Summenformel: $C_4H_7NS_2$. Molgewicht: 133.24 g/mol. DC: R_f -Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.46. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -13.1^\circ$ (c = 1.0,

$CHCl_3$). 1H -NMR δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$) = 8.20 (brs, 1H, $-NH$),

4.40-4.35 (m, 1H, H4), 3.62 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.2$ Hz, $^3J_{H-H} = 7.6$ Hz, H5b), 3.20 (dd,

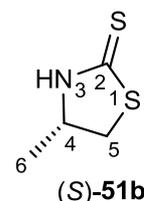
1H, $^2J_{H-H} = 11.2$ Hz, $^3J_{H-H} = 7.6$ Hz, H5a), 1.42 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.4$ Hz, H6). ^{13}C -NMR

δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$) = 200.9 (C2), 59.9 (C4), 40.4 (C5), 19.8 (C6). MS (ESI):

ber.: 134.0093 (M + H^+), gef.: 134.0094 (M + H^+). IR (KBr): ν [cm^{-1}] = 3116, 2967,

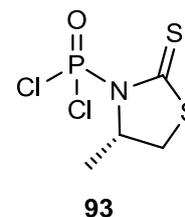
1483, 1443, 1379, 1323, 1282, 1225, 1159, 1142, 1098, 1026, 996, 899, 742, 686,

659, 562, 541, 426.



7.3.5 Synthese von [(S)-4-Methylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **93**

Unter Schutzgasatmosphäre wurden (S)-4-Methylthiazolidin-2-thion (S)-**51b** (0.40 g, 3.0 mmol, 1.0 Äq.) in 6 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit Phosphorylchlorid (0.84 mL, 9.0 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Triethylamin (0.46 mL, 3.3 mmol, 1.1 Äq.) wurde in 6 mL abs. Dichlormethan gelöst und tropfenweise bei 0 °C zur ersten



Lösung gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 d bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde die gelbe Lösung an der Ölpumpe eingengt und mit 0.5 mL abs. Dichlormethan und 15 mL abs. Diethylether versetzt. Das ausgefallene Triethylammoniumchlorid wurde unter Schutzgas filtriert und mit 5 mL abs. Diethylether gewaschen. Das Filtrat wurde an der Ölpumpe eingengt und vom überschüssigen Phosphorylchlorid befreit. Die Reaktivität lässt eine Reinigung und nähere Charakterisierung des Rohprodukts nicht zu. Aufgrund des ^{31}P -NMR-Spektrums wurde daher eine vollständige Umsetzung angenommen. Aussehen: gelbes Öl. Summenformel: $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NOPS}_2$. Molgewicht: 250.11 g/mol. ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): 3.50.

7.3.6 Synthese von 4-Methylphenyl-[(S)-4-methylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat **94**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-Methylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **93** (0.75 g, 3.0 mmol, 1.0 Äq.) und *p*-Kresol **10d** (0.31 g, 2.9 mmol, 0.9 Äq.) in 5.5 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.41 mL, 2.7 mmol, 0.9 Äq.) wurde die Reaktionsmischung 31 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.74 g (2.3 mmol, 75%) eines gelben Öls.

Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{ClNO}_2\text{PS}_2$. Molgewicht:

321.78 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.55. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +103.4^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

^1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 7.24-7.13 (m, 4H,

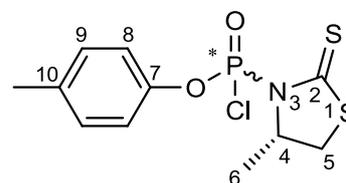
CH-arom.), 5.31-5.20 (m, 1H, H4), 3.83 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.1$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, H5b),

2.95 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.1$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 2.6$ Hz, H5a), 2.34 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.65 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 6.3$ Hz, H6). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 130.5 (C9), 120.4 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 5.1$ Hz, C8), 66.3 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 8.1$ Hz, C4), 38.3 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 9.5$ Hz, C5), 20.8

(CH_3 -Ph), 19.1 (C6). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -2.53, -2.11 (*d.r.* = 7:1,



(R_P)/(S_P)-**94**

76% *d.e.*). MS (EI): 323, 322, 263, 222, 133, 86, 55, 42. IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2981, 1500, 1280, 1101, 952, 592, 534.

7.3.7 Synthese von 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-methylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-95, (*S_P*)-95

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 4-Methylphenyl-[(*S*)-4-methylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **94** (0.71 g, 2.0 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.28 g, 2.0 mmol) und Triethylamin (0.85 mL, 6.1 mmol) in 2.9 mL abs. Dichlormethan.

(*R_P*)-95:

Ausbeute: 0.26 g (0.67 mmol, 33%) eines gelben Öls.

Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4\text{PS}_2$. Molgewicht:

388.44 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat,

1:3): 0.36. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +152.6^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 7.19-7.06 (m, 4H, *CH*-arom.), 5.14-5.05 (m, 1H, H4), 4.97 (dd, 1H,

$^2J_{\text{H-P}} = 8.8$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, *NH*-Ala), 4.27-4.15 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.78 (dd, 1H,

$^2J_{\text{H-H}} = 11.1$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, H5b), 3.67 (s, 3H, OCH_3 -Ala), 2.89 (d, 1H,

$^2J_{\text{H-H}} = 11.1$ Hz, H5a), 2.30 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.41 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, CH_3 -Ala),

1.25 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.3$ Hz, 3H, H6). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 203.1 (d,

$^2J_{\text{C-P}} = 6.2$ Hz, C2), 173.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 10.8$ Hz, CO_2Me -Ala), 147.6 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 8.5$ Hz,

C7), 135.4 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C10), 130.2 (C9), 121.0 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.8$ Hz, C8), 66.1 (d,

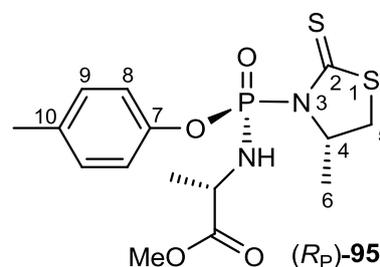
$^2J_{\text{C-P}} = 6.2$ Hz, C4), 52.5 (OCH_3 -Ala), 50.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 3.1$ Hz, *CH*-Ala), 38.7 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 8.5$ Hz, C5), 20.9 (CH_3 -Ph), 20.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.1$ Hz, CH_3 -Ala), 19.5 (C6).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -0.88. MS (ESI): *ber.*: 411.0573 ($\text{M} + \text{Na}^+$),

gef.: 411.0571 ($\text{M} + \text{Na}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3300, 2981, 1741, 1504, 1357, 1326,

1268, 1234, 1199, 1143, 1103, 1044, 984, 926, 820, 731, 696, 573, 529, 482.



(S_P)-95:

Ausbeute: 60 mg (0.16 mmol, 5%) eines farblosen

 Feststoffes. Summenformel: C₁₅H₂₁N₂O₄PS₂.

 Molgewicht: 388.44 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.48. Drehwert:

 $[\alpha]_{589}^{20} = +35.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). Smp.: 124 °C.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.21-7.08 (m, 4H,

 CH-arom.), 5.28 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 9.1 Hz, ³J_{H-H} = 7.3 Hz, NH-Ala), 4.92-4.80 (m, 1H,

 H4), 4.31-4.18 (m, 1H, CH-Ala), 3.72 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.33 (dd, 1H,

²J_{H-H} = 11.1 Hz, ³J_{H-H} = 7.4 Hz, H5b), 2.74 (d, 1H, ²J_{H-H} = 11.1 Hz, H5a), 2.32 (s, 1H,

 CH₃-Ph), 1.46 (d, ³J_{H-H} = 6.3 Hz, H6), 1.40 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR:

 δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 203.0 (d, ²J_{C-P} = 5.4 Hz, C2), 147.9 (CO₂Me-Ala), 135.5

 (d, ⁵J_{C-P} = 1.5 Hz, C10), 130.3 (C9), 120.6 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C8), 65.9 (d,

²J_{C-P} = 6.2 Hz, C4), 52.5 (OCH₃-Ala), 50.2 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 38.5 (d,

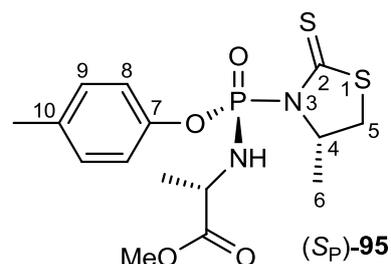
³J_{C-P} = 7.7 Hz, C5), 21.1 (d, ³J_{C-P} = 6.9 Hz, CH₃-Ala), 20.9 (CH₃-Ph), 19.6 (C6).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 0.72. MS (ESI): ber.: 411.0573 (M + Na⁺),

 gef.: 411.0575 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3310, 3264, 2994, 2972, 1738, 1505,

1412, 1362, 1322, 1251, 1231, 1138, 1117, 1051, 1016, 970, 942, 920, 873, 830,

756, 693, 630, 587, 573, 518, 486.


7.3.8 Synthese von [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat 52

Unter Schutzgasatmosphäre wurden (S)-4-iso-Propylthiazolidin-

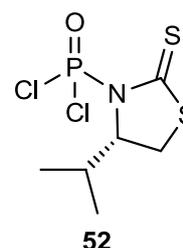
2-thion (S)-51a (0.80 g, 4.9 mmol, 1.0 Äq.) in

12 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit Phosphorylchlorid

(1.39 mL, 14.8 mmol, 3.0 Äq.) versetzt. Triethylamin (0.76 mL,

5.5 mmol, 1.1 Äq.) wurde in 12 mL abs. Dichlormethan gelöst und

tropfenweise bei 0 °C zur ersten Lösung gegeben. Die



Reaktionsmischung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde

die gelbe Lösung an der Ölpumpe eingeeengt und mit 1 mL abs. Dichlormethan und

15 mL abs. Diethylether versetzt. Das ausgefallene Triethylammoniumchlorid wurde

unter Schutzgas filtriert und mit 5 mL abs. Diethylether gewaschen. Das Filtrat wurde

an der Ölpumpe eingeeengt und vom überschüssigen Phosphorylchlorid befreit. Die

Reaktivität lässt eine Reinigung und nähere Charakterisierung des Rohprodukts nicht

 zu. Aufgrund des ³¹P-NMR-Spektrums wurde daher eine vollständige Umsetzung

angenommen. Aussehen: gelbes Öl. Summenformel: $C_6H_{10}Cl_2NOPS_2$. Molgewicht: 278.16 g/mol. ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 3.70.

7.3.9 Synthese von Phenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat **65a**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.38 g, 4.96 mmol) und Phenol **10a** (0.47 g, 4.9 mmol) in 9.2 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.75 mL, 4.9 mmol) wurde die Reaktionsmischung 40 min bei $-91\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt.

Ausbeute: 1.57 g (4.68 mmol, 94%) eines gelben Öls.

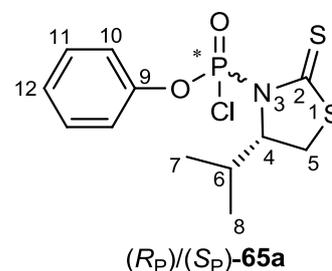
Summenformel: $C_{12}H_{15}ClNO_2PS_2$. Molgewicht:

335.81 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.6. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +24.8^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). 1H -NMR:

δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 7.44-7.35 (m, 2H, CH-arom.), 7.34-7.27 (m, 3H, CH-arom.), 5.03-4.93 (m, 1H, H4), 3.66

(dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.6$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, H5b), 3.18-3.11 (m, 1H, H5a), 2.58-2.43 (m, 1H, H6), 1.13 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.0$ Hz, H7 oder H8), 1.09 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.0$ Hz, H7 oder H8). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 130.2 (d, $^4J_{C-P} = 1.6$ Hz, C11), 126.7 (d, $^5J_{C-P} = 1.5$ Hz, C12), 120.8 (d, $^3J_{C-P} = 5.4$ Hz, C10), 75.4 (d, $^2J_{C-P} = 7.7$ Hz, C4), 32.7 (C6), 32.3 (d, $^3J_{C-P} = 9.2$ Hz, C5), 19.3, 17.2 (C7, C8). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -1.73, -1.61 (*d.r.* = 1:9.6, 81% *d.e.*). MS (ESI): ber.: 357.9868 ($M + Na^+$), gef.: 357.9848 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2963, 1734, 1588, 1487, 1469, 1359, 1280, 1208, 1182, 1157, 1113, 1081, 1024, 1008, 949, 855, 764, 687, 598, 582, 558, 533, 493, 438.



7.3.10 Synthese von Phenyl N-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79a, (S_P)-79a

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit Phenyl [(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat **65a** (0.55 g, 1.65 mmol), (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.23 g, 1.6 mmol) und Triethylamin (0.69 mL, 4.9 mmol) in 2.4 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79a:

Ausbeute: 0.166 g (0.412 mmol, 25%) eines farblosen

Öls. Summenformel: C₁₆H₂₃N₂O₄PS₂. Molgewicht:

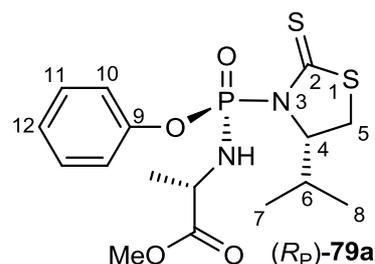
402.47 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.51. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +91.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.37-7.28 (m, 4H, CH-arom.), 7.22-7.16 (m, 1H, CH-arom.), 5.10 (dd, 1H,

²J_{H-P} = 8.9 Hz, ³J_{H-H} = 8.9 Hz, NH-Ala), 4.99-4.92 (m, 1H, H4), 4.26-4.13 (m, 1H, CH-Ala), 3.69-3.62 (m, 1H, H5b), 3.65 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.17-3.09 (m, 1H, H5a), 2.39-2.27 (m, 1H, H6), 1.43 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 0.98 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, H7 oder H8), 0.88 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR:

δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 129.8 (C11), 125.7 (C12), 121.2 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 75.1 (d, ²J_{C-P} = 7.1 Hz, C4), 52.5 (OCH₃-Ala), 50.7 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 8.2 Hz, C5), 20.7 (d, ³J_{C-P} = 2.4 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.8 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.91. MS (ESI): ber.: 425.0735 (M + Na⁺), gef.: 425.0733 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2964, 2901, 1741, 1590, 1488, 1373, 1315, 1269, 1232, 1200, 1143, 1106, 1079, 1024, 1007, 990, 930, 905, 864, 847, 767, 738, 690, 596, 572, 507.


(S_P)-79a:

Ausbeute: 31 mg (0.078 mmol, 5%). Summenformel:

C₁₆H₂₃N₂O₄PS₂. Molgewicht: 402.47 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.61. Drehwert:

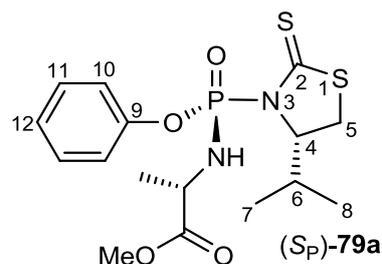
$[\alpha]_{589}^{20} = +96.2^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.38-7.28 (m, 4H, CH-arom.),

7.24-7.17 (m, 1H, CH-arom.), 5.39 (dd, ²J_{H-P} = 8.3 Hz,

³J_{H-H} = 8.3 Hz, 1H, NH-Ala), 4.64-4.56 (m, 1H, H4), 4.34-4.21 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.16 (dd, ²J_{H-H} = 11.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, 1H, H5b), 2.98-2.92 (m, 1H, H5a), 2.40-2.27 (m, 1H, H6), 1.38 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.00 (d, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, 3H, H7 oder H8), 0.97 (d, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, 3H, H7 oder H8). ¹³C-NMR:

δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 129.8 (C11), 125.9 (d, ⁵J_{C-P} = 1.5 Hz, C12), 121.0 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 74.8 (d, ²J_{C-P} = 6.9 Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.3 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 32.6 (C6), 32.5 (d, ³J_{C-P} = 6.9 Hz, C5), 21.7 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, CH₃-Ala), 19.2, 17.1 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃):



1.36. MS (ESI): ber.: 425.0735 ($M + Na^+$), gef.: 425.0734 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2967, 2901, 1744, 1591, 1488, 1394, 1374, 1314, 1274, 1233, 1203, 1141, 1112, 1082, 929, 773, 692, 597, 516.

7.3.11 Synthese von 2-Methylphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65b**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.38 g, 4.96 mmol) und *o*-Kresol **10b** (0.54 g, 4.9 mmol) in 9.2 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.75 mL, 4.9 mmol) wurde die Reaktionsmischung 45 min bei $-91\text{ }^{\circ}C$ gerührt.

Ausbeute: 1.35 g (3.86 mmol, 78%). Summenformel:

$C_{13}H_{17}ClNO_2PS_2$. Molgewicht: 349.84 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.62. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +123.6^{\circ}$ ($c = 1.25$, $CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm]

(400 MHz, $CDCl_3$): 7.40-7.36 (m, 1H, *CH*-arom.), 7.25-7.22

(m, 1H, *CH*-arom.), 7.21-7.12 (m, 2H, H12, H14), 5.07-5.01

(m, 1H, H4), 3.82-3.70 (m, 1H, H5b), 3.25-3.16 (m, 1H, H5a), 2.60-2.50 (m, 1H, H6),

2.38 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.16-1.08 (m, 6H, H7, H8). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz,

$CDCl_3$): 132.2 (d, $^4J_{C-P} = 1.4$ Hz, C11 oder C13), 127.3 (d, $^4J_{C-P} = 1.4$ Hz, C11 oder

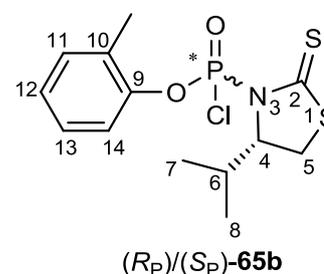
C13), 126.4 (d, $^5J_{C-P} = 1.9$ Hz, C12), 120.2 (d, $^3J_{C-P} = 3.6$ Hz, C14), 75.5 (d,

$^2J_{C-P} = 7.7$ Hz, C4), 32.7 (C6), 32.2 (C5), 19.3, 17.2 (C7, C8), 17.0 (CH_3 -Ph).

^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -2.16, -1.66 (*d.r.* = 1:3.9, 59% *d.e.*). MS (FAB):

ber.: 350.0205 ($M + H^+$), gef.: 350.0206 ($M + H^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2963, 1735,

1489, 1283, 1209, 1103, 1082, 955, 759, 604, 539, 492.



7.3.12 Synthese von 2-Methylphenyl-*N*-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-79b, (*S_P*)-79b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 2-Methylphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65b** (0.56 g, 1.6 mmol), (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.22 g, 1.6 mmol) und Triethylamin (0.67 mL, 4.8 mmol) in 2.3 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79b:

Ausbeute: 0.187 g (0.449 mmol, 28%). Summenformel:

C₁₇H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht: 416.50 g/mol. DC: R_F-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.46. Drehwert:

[α]_D²⁰ = +131.4 ° (c = 1.2, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.43 (d, 1H, ³J_{H-H} = 8.1 Hz, CH-arom.), 7.18 (d, 1H, ³J_{H-H} = 7.4 Hz, CH-arom.),

7.16-7.12 (m, 1H, H12), 7.09-7.04 (m, 1H, H14), 5.22 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.2 Hz,

³J_{H-H} = 8.2 Hz, NH-Ala), 5.06-5.01 (m, 1H, H4), 4.25-4.16 (m, 1H, CH-Ala), 3.67 (dd,

1H, ²J_{H-H} = 11.5 Hz, ³J_{H-H} = 9.4 Hz, H5b), 3.64 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.18 (d, 1H,

²J_{H-H} = 11.4 Hz, H5a), 2.55-2.48 (m, 1H, H6), 2.36 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.43 (d, 3H,

³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala), 1.08 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 1.04 (d, 3H,

³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 131.6, 126.9,

125.2 (C-arom.), 120.4 (d, ³J_{C-P} = 2.9 Hz, C14), 75.2 (d, ²J_{C-P} = 7.0 Hz, C4), 52.5

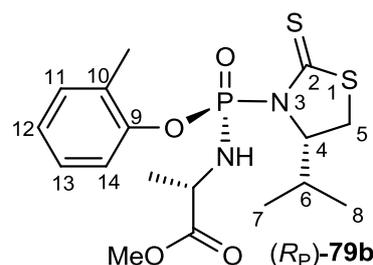
(OCH₃-Ala), 50.8 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 33.2 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 8.6 Hz, C5),

20.5 (d, ³J_{C-P} = 2.8 Hz, CH₃-Ala), 19.1 (C7), 17.1 (CH₃-Ph), 16.0 (C8). ³¹P-NMR:

δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.96. MS (FAB): ber.: 417.1072 (M + H⁺), gef.: 417.1092

(M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2960, 1742, 1269, 1223, 1104, 1081, 931, 758, 604,

519.


(S_P)-79b:

Ausbeute: 0.169 g (0.405 mmol, 25%). Summenformel:

C₁₇H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht: 416.50 g/mol. DC: R_F-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.56. Drehwert:

[α]_D²⁰ = +55.7 ° (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.35-7.32 (m, 1H, CH-arom.),

7.22-7.18 (m, 1H, CH-arom.), 7.17-7.11 (m, 1H, H12),

7.10-7.05 (m, 1H, H14), 5.41 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, NH-Ala),

4.80-4.75 (m, 1H, H4), 4.34-4.23 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.54-3.44

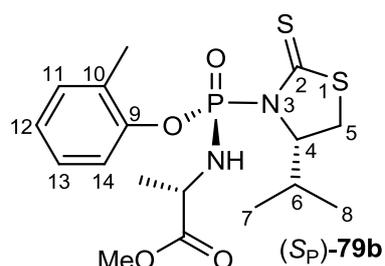
(m, 1H, H5b), 3.08-3.03 (m, 1H, H5a), 2.35 (s, 3H, CH₃-Ph), 2.01-1.91 (m, 1H, H6),

1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 1.05-1.02 (m, 6H, H7, H8). ¹³C-NMR: δ [ppm]

(101 MHz, CDCl₃): 131.8, 126.7, 125.2 (C-arom.), 119.6 (d, ³J_{C-P} = 3.0 Hz, C14), 74.7

(d, ²J_{C-P} = 6.8 Hz, C4), 52.5 (OCH₃-Ala), 50.2 (d, ²J_{C-P} = 3.0 Hz, CH-Ala), 32.4 (C6),

32.1 (d, ³J_{C-P} = 6.9 Hz, C5), 21.7 (d, ³J_{C-P} = 4.3 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 18.4 (C7, C8),



16.8 (CH₃-Ph). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 0.66. MS (FAB): ber.: 417.1072 (M + H⁺), gef.: 417.1068 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3191, 2960, 1741, 1490, 1262, 1221, 1106, 1080, 927, 757, 603, 522.

7.3.13 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(2-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (**S_P**)-63b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 2-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-**79b** (0.13 g, 0.31 mmol), d4T **1** (0.10 g, 0.46 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.54 mL, 0.92 mmol) und 4.1 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 14 mg (0.031 mmol, 7%) einer

farblosen Watte. Summenformel: C₂₁H₂₆N₃O₈P.

Molgewicht: 479.42 g/mol. DC: R_f-Wert

(Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.51. Drehwert:

[α]_D²⁰ = -20.7 ° (c = 0.1, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 8.36 (brs, 1H, NH), 7.29-7.28

(m, 1H, H6), 7.24-7.21 (m, 1H, CH-arom.),

7.20-7.17 (m, 1H, CH-arom.), 7.15-7.10 (m, 1H,

H10), 7.08-7.05 (m, 1H, H12), 7.04-7.02 (m, 1H, H1'),

6.39-6.36 (m, 1H, H2'), 5.93-5.90 (m, 1H, H3'),

5.07-5.02 (m, 1H, H4'), 4.39-4.28 (m, 2H, H5'),

4.05-3.95 (m, 1H, CH-Ala), 3.72 (s, 3H, OCH₃-Ala),

3.60 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 10.2 Hz, ³J_{H-H} = 10.2 Hz,

NH-Ala), 2.26 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.74 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.2 Hz,

CH₃-Th), 1.34 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 135.7 (C6),

133.4 (C3'), 131.5 (C9 oder C11), 127.3 (C2'),

127.0 (d, ⁴J_{C-P} = 1.5 Hz, C9 oder C11),

125.2 (C10), 119.7 (d, ³J_{C-P} = 2.7 Hz, C12),

111.4 (C5), 89.7 (C1'), 84.6 (d, ³J_{C-P} = 8.5 Hz,

C4'), 66.7 (d, ²J_{C-P} = 4.9 Hz, C5'),

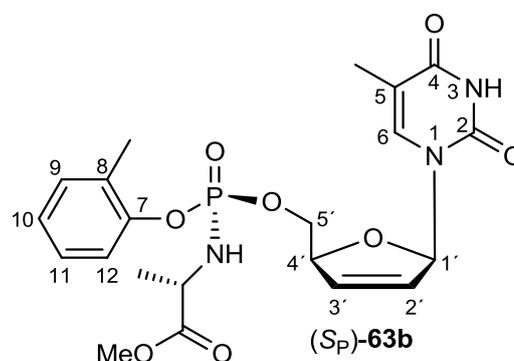
52.6 (OCH₃-Ala), 50.2 (d, ²J_{C-P} = 1.6 Hz,

CH-Ala), 21.0 (d, ³J_{C-P} = 5.0 Hz, CH₃-Ala),

16.4 (CH₃-Ph), 12.1 (CH₃-Th).

³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 3.01, 2.65 (*d.r.* = 44.7:1, 95% *d.e.*).

MS (FAB): ber.: 480.1536 (M + H⁺), gef.: 480.1550 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3197, 3064, 2954, 1683, 1227, 1109, 1085, 1033, 928, 759. HPLC: t_R = 27.0 min (Methode I).



7.3.14 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(2-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (R_P)-63b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 2-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (S_P)-**79b** (0.15 g, 0.36 mmol), d4T **1** (0.12 g, 0.54 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.64 mL, 1.1 mmol) und 4.8 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 51 mg (0.11 mmol, 30%) einer farblosen Watte. Summenformel: C₂₁H₂₆N₃O₈P.

Molgewicht: 479.42 g/mol. DC: R_f-Wert

(Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.45. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = -6.8^\circ$ ($c = 0.32$, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 8.52 (brs, 1H, NH), 7.29-7.26

(m, 1H, CH-arom.), 7.22 (d, 1H, ⁴J_{H-H} = 1.3 Hz,

H6), 7.21-7.16 (m, 1H, CH-arom.), 7.16-7.10 (m, 1H, H10), 7.09-7.03 (m, 1H, H12),

7.02-6.98 (m, 1H, H1'), 6.29-6.25 (m, 1H, H2'), 5.93-5.87 (m, 1H, H3'), 5.02-4.95 (m,

1H, H4'), 4.25 (dd, 2H, ³J_{H-H} = 6.6 Hz, ⁴J_{H-H} = 3.8 Hz, H5'), 4.07-3.95 (m, 1H,

CH-Ala), 3.71 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.70-3.69 (m, 1H, NH-Ala), 2.28 (s, 3H, CH₃-Ph),

1.86 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.3 Hz, CH₃-Th), 1.38 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR:

δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 163.7 (C4), 150.8 (C2), 135.6 (C6), 133.3 (C2'), 131.6

(C9 oder C11), 127.6 (C3'), 127.2 (C9 oder C11), 125.2 (C10), 119.8 (d,

³J_{C-P} = 2.3 Hz, C12), 111.6 (C5), 90.0 (C1'), 84.8 (d, ³J_{C-P} = 8.5 Hz, C4'), 67.4 (d,

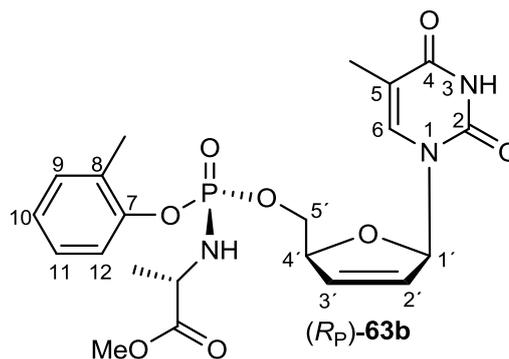
²J_{C-P} = 6.2 Hz, C5'), 52.8 (OCH₃-Ala), 50.2 (d, ²J_{C-P} = 1.5 Hz, CH-Ala), 21.2 (d,

³J_{C-P} = 4.6 Hz, CH₃-Ala), 16.5 (CH₃-Ph), 12.5 (CH₃-Th). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz,

CDCl₃): 2.65. MS (FAB): ber.: 480.1536 (M + H⁺), gef.: 480.1534 (M + H⁺). IR (ATR):

ν [cm⁻¹] = 2988, 2901, 1686, 1452, 1394, 1243, 1228, 1083, 1038, 935, 761, 574,

507. HPLC: t_R = 27.4 min (Methode I).



7.3.15 Synthese von 3-Methylphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65c**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und 3-Methylphenol **10c** (0.27 mL, 2.6 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 6.9 mL abs. Aceton.

Nach Zugabe von DBU (0.39 mL, 2.6 mmol) wurde die Reaktionsmischung 75 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 1.08 g (3.09 mmol, 83%) eines gelben Öls.

Summenformel: $C_{13}H_{17}ClNO_2PS_2$. Molgewicht:

349.84 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.64. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +87.4^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). 1H -NMR

(400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.25-7.20 (m, 2H, CH-arom.),

7.11-7.02 (m, 2H, CH-arom.), 4.99-4.93 (m, 1H, H4), 3.62

(dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.5$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, H5b), 3.15-3.10 (m, 1H, H5a), 2.54-2.43 (m,

1H, H6), 2.33 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.09 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, H7 oder H8), 1.06 (d, 3H,

$^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 149.6 (C9), 140.6

(C11), 129.8 (d, $^4J_{C-P} = 2.0$ Hz, C13), 127.5 (d, $^5J_{C-P} = 2.7$ Hz, C12), 121.3 (d,

$^3J_{C-P} = 5.5$ Hz, C10), 117.6 (d, $^3J_{C-P} = 5.5$ Hz, C14), 75.3 (d, $^2J_{C-P} = 8.2$ Hz, C4), 32.6

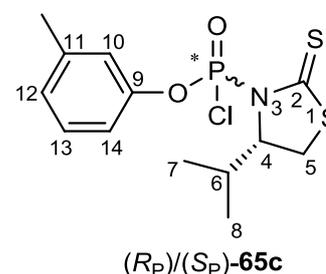
(C6), 32.2 (d, $^3J_{C-P} = 9.2$ Hz, C5), 21.5 (CH_3 -Ph), 19.3, 17.2 (C7, C8). ^{31}P -NMR

(162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = -1.71, -1.84 ($d.r. = 12:1$, 85% $d.e.$). MS (FAB):

ber.: 350.0205 (M + H^+), gef.: 350.0208 (M + H^+). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3151, 2962,

2874, 1611, 1584, 1486, 1310, 1275, 1239, 1210, 1139, 1115, 1084, 1011, 957, 866,

780, 684, 662, 564.



7.3.16 Synthese von 3-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-**79c**, (S_P)-**79c**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 3-Methylphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65c** (0.98 g, 2.8 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.39 g, 2.8 mmol) und Triethylamin (1.2 mL, 8.4 mmol) in 4.0 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-**79c**:

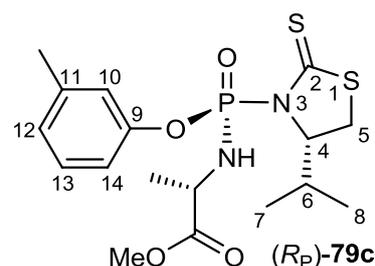
Ausbeute: 0.445 g (1.07 mmol, 38%) eines gelben Öls.

Summenformel: $C_{17}H_{25}N_2O_4PS_2$. Molgewicht:

416.10 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat,

1:3): 0.44. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +114^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.23-7.17



IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2960, 1743, 1586, 1269, 1229, 1132, 1110, 1080, 1009, 990, 951, 872, 784, 731, 689, 606, 508.

7.3.17 Synthese von 4-Methylphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat **65d**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (0.35 g, 1.3 mmol) und *p*-Kresol **10d** (0.14 g, 1.3 mmol) in 2.4 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.19 mL, 1.3 mmol) wurde die Reaktionsmischung 25 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.375 g (1.07 mmol, 84%) eines gelben Öls.

Summenformel: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{ClNO}_2\text{PS}_2$. Molgewicht:

349.84 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.6. Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +85.9$ ° ($c = 1.0$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$:

δ [ppm] (400 MHz, CDCl_3): 7.24-7.14 (m, 4H, CH-arom.),

5.01-4.95 (m, 1H, H4), 3.65 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.4$ Hz,

$^3J_{\text{H-H}} = 8.5$ Hz, H5b), 3.17-3.12 (m, 1H, H5a), 2.59-2.46 (m, 1H, H6), 2.34 (s, 3H,

CH_3 -Ph), 1.12 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, H7 oder H8), 1.08 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, H7

oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 203.1 (C2), 136.5 (C12), 130.6 (d,

$^4J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C11), 120.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.3$ Hz, C10), 75.3 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.2$ Hz, C4), 32.6

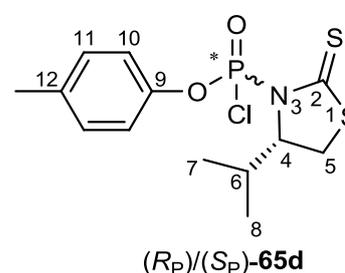
(C6), 32.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 9.5$ Hz, C5), 20.9 (CH_3 -Ph), 19.3, 17.2 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$:

δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): -1.58, -1.41 ($d.r. = 1:9$, 80% $d.e.$). MS (FAB):

ber.: 350.0205 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 350.0204 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2963, 1501,

1466, 1359, 1282, 1209, 1158, 1112, 1080, 1018, 951, 856, 818, 752, 692, 637, 601,

534, 493, 463, 425.



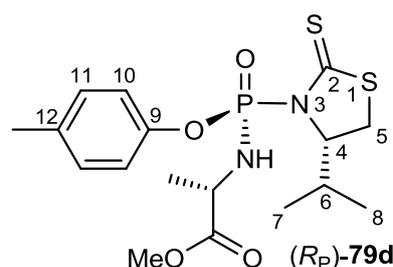
7.3.18 Synthese von 4-Methylphenyl-N-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79d, (S_P)-79d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 4-Methylphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65d** (1.53 g, 4.37 mmol), (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.61 g, 4.4 mmol) und Triethylamin (1.83 mL, 13.2 mmol) in 6.3 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79d:

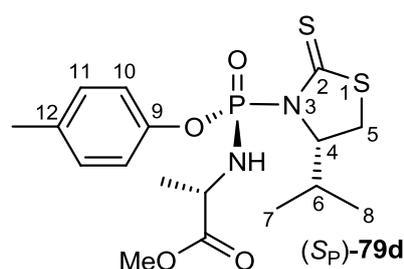
Ausbeute: 0.842 g (2.02 mmol, 46%) eines farblosen Öls. Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht: 416.50 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.48. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +114^\circ$ (c = 0.54, CHCl₃).

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.17-7.04 (m, 4H, CH-arom.), 5.06 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.7 Hz, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, NH-Ala), 4.94-4.88 (m, 1H, H4), 4.20-4.09 (m, 1H, CH-Ala), 3.65-3.57 (m, 1H, H5b), 3.63 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.12-3.05 (m, 1H, H5a), 2.34-2.29 (m, 1H, H6), 2.28 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 0.94 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, H7 oder H8), 0.80 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 204.4 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C2), 173.0 (d, ³J_{C-P} = 10.8 Hz, CO₂Me-Ala), 147.8 (d, ²J_{C-P} = 7.7 Hz, C9), 135.1 (d, ⁵J_{C-P} = 1.5 Hz, C12), 130.0 (C11), 120.7 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 74.9 (d, ²J_{C-P} = 6.9 Hz, C4), 52.4 (OCH₃-Ala), 50.4 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 33.1 (C6), 31.0 (d, ³J_{C-P} = 8.5 Hz, C5), 20.8 (CH₃-Ala), 20.5 (d, ³J_{C-P} = 2.3 Hz, CH₃-Ph), 18.9, 15.6 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.86. MS (FAB): ber.: 417.1072 (M + H⁺), gef.: 417.1071 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2959, 1741, 1504, 1372, 1268, 1233, 1199, 1143, 1106, 990, 925, 821, 729, 696, 590, 572, 557, 490.


(S_P)-79d:

Ausbeute: 0.114 g (0.274 mmol, 6%). Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht: 416.50 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.59. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +75.2^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). Smp.: 74 °C.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.20-7.10 (m, 4H, CH-arom.), 5.36 (dd, ²J_{H-P} = 8.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, 1H, NH-Ala), 4.63-4.55 (m, 1H, H4), 4.33-4.20 (m, 1H, CH-Ala), 3.72 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.16 (dd, ²J_{H-H} = 11.4 Hz, ³J_{H-H} = 8.3 Hz, 1H, H5b), 2.98-2.92 (m, 1H, H5a), 2.39-2.33 (m, 1H, H6), 2.32 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.38 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, CH₃-Ala), 0.99 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, H7), 0.97 (d, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, 3H, H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 135.4 (d, ⁵J_{C-P} = 1.6 Hz, C12), 130.3 (C11), 120.5 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 74.8 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.3 (d, ²J_{C-P} = 3.0 Hz, CH-Ala), 32.6 (C6), 32.5 (d, ³J_{C-P} = 6.9 Hz, C5), 21.7 (d,



$^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 20.9 (CH_3 -Ph), 19.2, 17.1 (C7, C8). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 1.43. MS (ESI): ber.: 439.0898 ($M + Na^+$), gef.: 439.0893 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3318, 2948, 1753, 1504, 1372, 1256, 1226, 1200, 1111, 1084, 999, 911, 823, 592, 554, 491.

7.3.19 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-63d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79d (0.17 g, 0.41 mmol), d4T 1 (0.13 g, 0.58 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.70 mL, 1.2 mmol) und 5.3 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 26 mg (0.055 mmol, 13%) einer farblosen Watte. Summenformel:

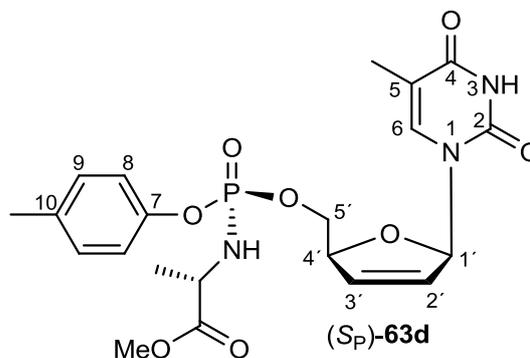
$C_{21}H_{26}N_3O_8P$. Molgewicht: 479.42 g/mol.

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

0.4. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -28.3^\circ$ ($c = 0.58$,

$CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.52$ (brs, 1H, *NH*-Th), 7.32 (d,

1H, $^4J_{H-H} = 1.3$ Hz, H6), 7.09 (d, 2H, $^3J_{H-H} = 8.7$ Hz, H8), 7.06-7.01 (m, 3H, H9, H1'), 6.37-6.33 (m, 1H, H2'), 5.90-5.85 (m, 1H, H3'), 5.06-5.00 (m, 1H, H4'), 4.41-4.26 (m, 2H, H5'), 4.02-3.91 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.70 (s, 3H, OCH_3 -Ala), 3.63 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 10.8$ Hz, $^3J_{H-H} = 10.1$ Hz, *NH*-Ala), 2.30 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.81 (s, 3H, CH_3 -Th), 1.31 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, CH_3 -Ala). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 174.1 (CO_2Me -Ala), 163.8 (C4), 150.9 (C2), 136.1 (C6), 135.1 (C7), 133.6 (C3'), 130.3 (C9), 127.4 (C2'), 120.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.7$ Hz, C8), 89.8 (C1'), 84.9 (d, $^3J_{C-P} = 9.1$ Hz, C4'), 66.6 (d, $^2J_{C-P} = 4.6$ Hz, C5'), 52.7 (OCH_3 -Ala), 50.4 (*CH*-Ala), 21.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 20.8 (CH_3 -Ph), 12.4 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 3.25. MS (FAB): ber.: 480.1536 ($M + H^+$), gef.: 480.1546 ($M + H^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3193, 2952, 1686, 1507, 1464, 1243, 1218, 1150, 1109, 1085, 1034, 1015, 996, 925, 823, 781, 693, 575, 488, 422. HPLC: $t_R = 27.3$ min (Methode I).



7.3.20 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (R_P)-63d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (S_P)-**79d** (0.20 g, 0.48 mmol), d4T **1** (0.16 g, 0.71 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.87 mL, 1.4 mmol) und 6.5 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 52 mg (0.11 mmol, 22%) einer farblosen Watte. Summenformel:

C₂₁H₂₆N₃O₈P. Molgewicht: 479.42 g/mol. DC:

R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.34.

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -14.1^\circ$ (c = 0.51, CHCl₃).

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.16 (brs, 1H, NH-Th), 7.26-7.25 (m, 1H, H₆),

7.04-7.02 (m, 4H, CH-arom.), 7.02-6.98 (m, 1H, H_{1'}), 6.30-6.26 (m, 1H, H_{2'}),

5.92-5.88 (m, 1H, H_{3'}), 5.02-4.97 (m, 1H, H_{4'}), 4.29-4.24 (m, 2H, H_{5'}), 4.05-3.92 (m,

1H, CH-Ala), 3.71 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.58 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 10.6 Hz, ³J_{H-H} = 10.6 Hz,

NH-Ala), 2.31 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.86 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.2 Hz, CH₃-Th), 1.36 (d, 3H,

³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 135.8 (C₆), 133.3

(C_{2'}), 130.4 (C₉), 127.6 (C_{3'}), 119.9 (d, ³J_{C-P} = 4.4 Hz, C₈), 111.5 (C₁₀), 90.0 (C_{1'}),

84.8 (d, ³J_{C-P} = 8.0 Hz, C_{4'}), 67.3 (d, ²J_{C-P} = 5.9 Hz, C_{5'}), 52.7 (OCH₃-Ala), 50.2

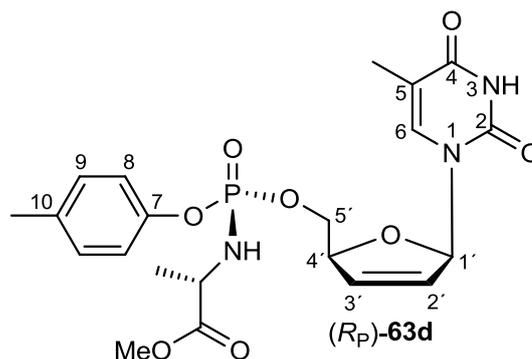
(CH-Ala), 21.2 (d, ³J_{C-P} = 4.4 Hz, CH₃-Ala), 20.9 (CH₃-Ph), 12.5 (CH₃-Th). ³¹P-NMR:

δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 2.59. MS (ESI): ber.: 502.1350 (M + Na⁺), gef.: 502.1354

(M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3189, 2953, 1686, 1507, 1464, 1245, 1217, 1150,

1109, 1086, 1065, 1036, 1015, 998, 927, 823, 781, 692, 575, 489, 419. HPLC:

t_R = 28.1 min (Methode I).



7.3.21 Synthese von 2-Methoxyphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65e**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und 2-Methoxyphenol **10e** (0.41 mL, 3.7 mmol) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.56 mL, 3.7 mmol) wurde die Reaktionsmischung 45 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 1.21 g (3.31 mmol, 89%) eines gelben Öls.

Summenformel: $C_{13}H_{17}ClNO_3PS_2$. Molgewicht:

365.84 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.5. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +43.9^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). 1H -NMR

(400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.36-7.30 (m, 1H, CH-arom.),

7.24-7.17 (m, 1H, CH-arom.), 7.02-6.90 (m, 2H, CH-arom.),

5.07-5.01 (m, 1H, H4), 3.89 (s, 3H, OCH_3 -Ph), 3.72 (dd, 1H,

$^2J_{H-H} = 11.6$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.6$ Hz, H5b), 3.21-3.14 (m, 1H, H5a), 2.60-2.47 (m, 1H, H6),

1.13 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8), 1.08 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 202.9 (d, $^2J_{C-P} = 5.9$ Hz, C2), 150.7 (d,

$^3J_{C-P} = 4.4$ Hz, C10), 139.3 (d, $^2J_{C-P} = 10.2$ Hz, C9), 127.3 (d, $^5J_{C-P} = 2.2$ Hz, C12),

122.1 (d, $^4J_{C-P} = 5.1$ Hz, C13), 121.1 (d, $^3J_{C-P} = 1.5$ Hz, C14), 113.3 (d, $^4J_{C-P} = 1.5$ Hz,

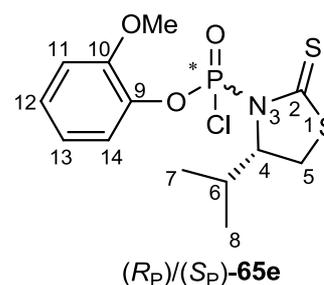
C11), 75.3 (d, $^2J_{C-P} = 8.1$ Hz, C4), 56.4 (OCH_3 -Ph), 32.7 (C6), 32.2 (d, $^3J_{C-P} = 9.5$ Hz,

C5), 19.3, 17.1 (C7, C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = -2.02, -2.53

($d.r. = 19.8:1$, 90% $d.e.$). MS (FAB): ber.: 366.0154 ($M + H^+$), gef.: 366.0167 ($M + H^+$).

IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3164, 2964, 2840, 1699, 1604, 1499, 1457, 1259, 1199, 1173,

1111, 1020, 975, 909, 794, 750, 729, 570, 486.



7.3.22 Synthese von 2-Methoxyphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-79e, (*S_P*)-79e

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 2-Methoxyphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65e** (0.85 g, 2.3 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.32 g, 2.3 mmol) und Triethylamin (0.96 mL, 6.9 mmol) in 3.3 mL abs. Dichlormethan.

(*R_P*)-79e:

Ausbeute: 0.278 g (0.643 mmol, 28%) eines gelben Öls.

Summenformel: $C_{17}H_{25}N_2O_5PS_2$. Molgewicht:

432.49 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

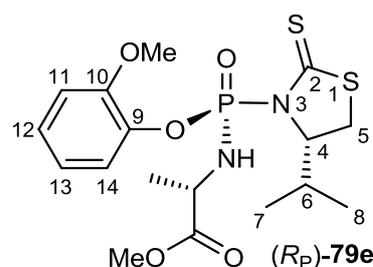
0.36. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +31.9^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). 1H -NMR

(400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.34-7.30 (m, 1H,

CH-arom.), 7.17-7.11 (m, 1H, CH-arom.), 6.96-6.86 (m,

2H, CH-arom.), 5.33 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 8.8$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.8$ Hz, NH-Ala), 5.06-4.99 (m,

1H, H4), 4.22-4.08 (m, 1H, CH-Ala), 3.87 (s, 3H, OCH_3 -Ph), 3.69-3.61 (m, 1H, H5b),



3.63 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 3.20-3.14 (m, 1H, H5a), 2.64-2.53 (m, 1H, H6), 1.41 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 1.09 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7 oder H8), 1.06 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 204.1 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 5.9$ Hz, C2), 173.3 ($\text{CO}_2\text{Me-Ala}$), 126.4 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C12), 122.9 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 3.3$ Hz, C13), 120.9 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 1.4$ Hz, C14), 113.0 (C11), 75.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.6$ Hz, C4), 56.1 ($\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 52.5 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.9$ Hz, CH-Ala), 33.0 (C6), 31.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.8$ Hz, C5), 20.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 2.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.2, 16.3 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.11. MS (FAB): ber.: 433.1021 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 433.1038 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2960, 1742, 1501, 1456, 1373, 1259, 1231, 1200, 1143, 1107, 1080, 919, 795, 752, 601, 493.

(S_P)-79e:

Ausbeute: 14.8 g (34.2 μmol , 2%) eines gelben Öls.

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_5\text{PS}_2$. Molgewicht:

432.49 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.43. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +80^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$

(400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.35-7.31 (m, 1H,

CH arom.), 7.18-7.09 (m, 1H, CH arom.), 6.98-6.84 (m,

2H, CH arom.), 5.32 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-P}} = 8.8$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, NH-Ala), 4.79-4.73 (m,

1H, H4), 4.33-4.20 (m, 1H, CH-Ala), 3.87 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 3.72 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ph}$),

3.45 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.5$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 8.5$ Hz, H5b), 3.06-3.03 (m, 1H, H5a), 2.46-2.36

(m, 1H, H6), 1.34 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 1.03 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7

oder H8), 0.99 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 126.4 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1.6$ Hz, C12), 122.4 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 4.0$ Hz, C13), 120.9 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 2.3$ Hz, C14), 113.1 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C11), 74.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.5$ Hz, C4), 56.2

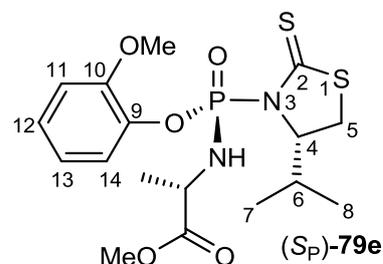
($\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 52.6 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.4$ Hz, CH-Ala), 32.8 (C6), 32.3 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 7.0$ Hz, C5), 21.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.9$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.2, 17.0 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$

(162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.01. MS (FAB): ber.: 433.1021 ($\text{M} + \text{H}^+$),

gef.: 433.1019 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2962, 1744, 1503, 1458, 1374, 1264,

1234, 1204, 1174, 1146, 1111, 1083, 933, 755.



7.3.23 Synthese von 3-Methoxyphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65f**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und 3-Methoxyphenol **10f** (0.29 mL, 2.6 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.39 mL, 2.6 mmol) wurde die Reaktionsmischung 75 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.961 g (2.63 mmol, quantitativ) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₃H₁₇ClNO₃PS₂. Molgewicht:

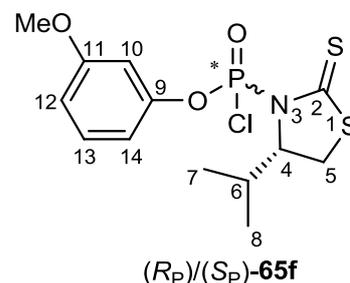
365.84 g/mol. DC: R_F-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.61. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +65.6^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR

(400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.30-7.23 (m, 1H, CH-arom.), 6.94-6.80 (m, 3H, CH-arom.), 5.01-4.95 (m, 1H, H4), 3.80 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.66 (dd, 1H,

²J_{H-H} = 11.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, H5b), 3.19-3.11 (m, 1H, H5a), 2.56-2.46 (m, 1H, H6), 1.12 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8), 1.09 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 160.9 (C11), 150.5 (C9), 130.4 (C13), 112.8 (d, ⁵J_{C-P} = 1.9 Hz, C12), 112.7 (d, ³J_{C-P} = 5.5 Hz, C14), 106.6 (d, ³J_{C-P} = 6.5 Hz, C10), 75.3 (d, ²J_{C-P} = 8.3 Hz, C4), 55.7 (OCH₃-Ph), 32.6 (C6), 32.2 (d, ³J_{C-P} = 9.2 Hz, C5), 19.3, 17.2 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -1.66, -1.92 (d.r. = 14.1:1, 87% d.e.). MS (FAB): ber.: 366.0154 (M + H⁺), gef.: 366.0168 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3151, 2963, 2837, 1606, 1588, 1488, 1260, 1212, 1189, 1136, 1078, 1035, 967, 855, 839, 769, 683, 564.

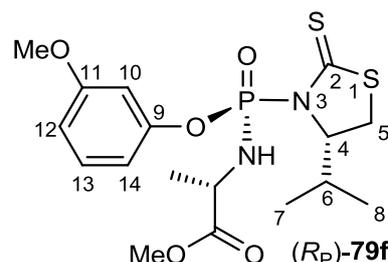


7.3.24 Synthese von 3-Methoxyphenyl-N-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79f, (S_P)-79f

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 3-Methoxyphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65f** (0.80 g, 2.2 mmol), (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.31 g, 2.2 mmol) und Triethylamin (0.92 mL, 6.6 mmol) in 3.1 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79f:

Ausbeute: 0.365 g (0.844 mmol, 38%) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₅PS₂. Molgewicht: 432.49 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.40. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +95.9^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

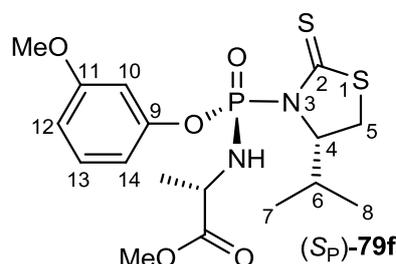


¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.23-7.14 (m, 1H, CH-arom.), 6.91-6.83 (m, 2H, CH-arom.), 6.75-6.67

(m, 1H, CH-arom.), 5.09 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 7.5 Hz, ³J_{H-H} = 7.5 Hz, NH-Ala), 4.97-4.89 (m, 1H, H4), 4.24-4.12 (m, 1H, CH-Ala), 3.76 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.67-3.59 (m, 1H, H5b), 3.63 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.15-3.07 (m, 1H, H5a), 2.39-2.27 (m, 1H, H6), 1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 0.96 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8), 0.87 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.7 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 204.5 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C2), 173.0 (d, ³J_{C-P} = 10.8 Hz, CO₂Me-Ala), 160.6 (C11), 150.9 (d, ²J_{C-P} = 7.7 Hz, C9), 129.9 (C13), 113.1 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C14), 111.8 (C12), 106.7 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 74.9 (d, ²J_{C-P} = 6.9 Hz, C4), 55.5 (d, ⁶J_{C-P} = 3.9 Hz, OCH₃-Ph), 52.4 (d, ⁵J_{C-P} = 3.1 Hz, OCH₃-Ala), 50.5 (CH-Ala), 33.2 (C6), 31.1 (d, ³J_{C-P} = 8.1 Hz, C5), 21.0 (CH₃-Ph), 20.6 (d, ³J_{C-P} = 2.4 Hz, CH₃-Ala), 19.0, 15.6 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -0.99. MS (FAB): ber.: 433.1021 (M + H⁺), gef.: 433.1037 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2960, 1741, 1606, 1589, 1486, 1373, 1267, 1232, 1131, 1109, 1080, 1041, 967, 909, 850, 728, 506.

(S_P)-79f:

Ausbeute: 47 mg (0.11 mmol, 5%) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₅PS₂. Molgewicht: 432.49 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.52. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +80^\circ$ (c = 0.5, CHCl₃).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.25-7.20 (m, 1H, CH-arom.), 6.93-6.85 (m, 2H, CH-arom.), 6.79-6.74

(m, 1H, CH-arom.), 5.40 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.8 Hz, ³J_{H-H} = 8.8 Hz, NH-Ala), 4.63-4.57 (m, 1H, H4), 4.33-4.22 (m, 1H, CH-Ala), 3.79 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.72 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.18 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 11.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, H5b), 2.99-2.93 (m, 1H, H5a), 2.39-2.27 (m, 1H, H6), 1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala), 0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 0.96 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 204.9 (d, ²J_{C-P} = 5.4 Hz, C2), 160.7 (C11), 150.9 (d,

$^2J_{C-P} = 6.9$ Hz, C9), 129.9 (C13), 113.1 (C14), 112.3 (C12), 106.7 (C10), 74.9 (d, $^2J_{C-P} = 6.3$ Hz, C4), 55.6 (d, $^6J_{C-P} = 6.2$ Hz, OCH₃-Ph), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.7 (CH-Ala), 32.6 (d, $^3J_{C-P} = 7.7$ Hz, C5), 32.5 (C6), 21.7 (CH₃-Ala), 19.1 (d, $^4J_{C-P} = 6.1$ Hz, C7 oder C8), 17.1 (d, $^4J_{C-P} = 6.9$ Hz, C7 oder C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.31. MS (FAB): ber.: 433.1021 (M + H⁺), gef.: 433.1008 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961, 1743, 1607, 1485, 1268, 1231, 1129, 1111, 1080, 965, 907, 726, 686, 510.

7.3.25 Synthese von 4-Methoxyphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]-phosphorchloridat **65g**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (0.62 g, 2.2 mmol) und 4-Methoxyphenol **10g** (0.28 g, 2.2 mmol) in 4.1 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.34 mL, 2.2 mmol) wurde die Reaktionsmischung 45 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.702 g (1.92 mmol, 86%). Summenformel:

C₁₃H₁₇ClNO₃PS₂. Molgewicht: 365.84 g/mol. DC:

R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.59. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +146.3^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). 1H -NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.32-7.20 (m, 2H, CH-arom.),

6.90-6.86 (m, 2H, CH-arom.), 5.00-4.94 (m, 1H, H4),

3.80 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.64 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.5$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, H5b), 3.17-3.12

(m, 1H, H5a), 2.57-2.46 (m, 1H, H6), 1.12 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, H7 oder H8), 1.08

(d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 121.6 (d,

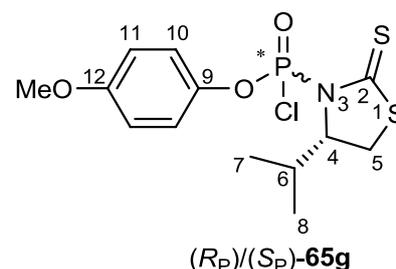
$^3J_{C-P} = 5.0$ Hz, C10), 114.9 (d, $^4J_{C-P} = 1.5$ Hz, C11), 75.2 (d, $^2J_{C-P} = 7.7$ Hz, C4), 55.6

(OCH₃-Ph), 32.5 (C6), 32.1 (d, $^3J_{C-P} = 9.5$ Hz, C5), 19.1, 17.0 (C7, C8). ^{31}P -NMR:

δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -1.03, -0.88 (d.r. = 1:7, 75% d.e.). MS (FAB):

ber.: 366.0154 (M + H⁺), gef.: 366.0149 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2963, 1734,

1500, 1283, 1209, 1176, 1112, 1081, 1030, 950, 830, 601, 534, 499.



7.3.26 Synthese von 4-Methoxyphenyl-N-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79g, (S_P)-79g

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 4-Methoxyphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65g** (0.67 g, 1.8 mmol), (S)-Alaninmethylester-

Hydrochlorid **13** (0.25 g, 1.8 mmol) und Triethylamin (0.76 mL, 5.5 mmol) in 2.6 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79g:

Ausbeute: 0.324 g (0.749 mmol, 41%).

Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₅PS₂. Molgewicht:

432.49 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat,

1:3): 0.40. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +119.0^\circ$ (c = 1.0,

CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃):

7.25-7.21 (m, 2H, CH-arom.), 6.86-6.80 (m, 2H,

CH-arom.), 5.08 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.4 Hz, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, NH-Ala), 4.97-4.91 (m, 1H,

H4), 4.24-4.12 (m, 1H, CH-Ala), 3.78 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.67 (s, 3H, OCH₃-Ala),

3.66-3.61 (m, 1H, H5b), 3.14-3.10 (m, 1H, H5a), 2.35-2.26 (m, 1H, H6), 1.42 (d, 3H,

³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 0.98 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, H7 oder H8), 0.87 (d, 3H,

³J_{H-H} = 7.0 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 122.0 (d,

³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 114.7 (C11), 75.1 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C4), 55.8 (OCH₃-Ph), 52.6

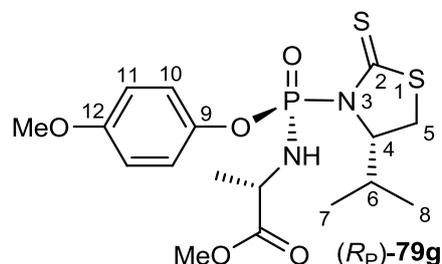
(OCH₃-Ala), 50.6 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 33.4 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 7.7 Hz, C5),

20.7 (d, ³J_{C-P} = 2.3 Hz, CH₃-Ala), 19.2, 15.7 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz,

CDCl₃): -0.54. MS (FAB): ber.: 433.1021 (M + H⁺), gef.: 433.1020 (M + H⁺). IR (ATR):

ν [cm⁻¹] = 3316, 2958, 1741, 1502, 1269, 1232, 1194, 1106, 1079, 935, 832, 591,

573, 513.



(S_P)-79g:

Ausbeute: 88 mg (0.20 mmol, 11%).

Summenformel: C₁₇H₂₅N₂O₅PS₂. Molgewicht:

432.49 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat,

1:3): 0.51. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +82.9^\circ$ (c = 0.5,

CHCl₃). Smp.: 104 °C. ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz,

CDCl₃): 7.25-7.22 (m, 2H, CH-arom.), 6.87-6.82 (m,

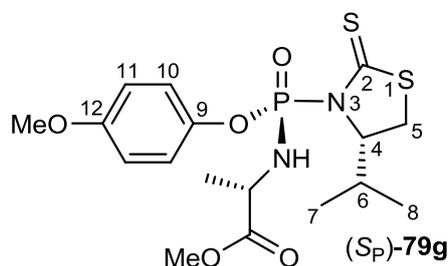
2H, CH-arom.), 5.37 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, NH-Ala), 4.60-4.56 (m,

1H, H4), 4.32-4.23 (m, 1H, CH-Ala), 3.79 (s, 3H, OCH₃-Ph), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala),

3.64 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 11.3 Hz, ³J_{H-H} = 9.3 Hz, H5b), 3.12 (td, 1H, ²J_{H-H} = 11.4 Hz,

³J_{H-H} = 8.5 Hz, H5a), 2.37-2.29 (m, 1H, H6), 1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, CH₃-Ala),

0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 0.96 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8).



^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 121.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C10), 114.6 (C11), 74.7 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.4$ Hz, C4), 55.6 ($\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 52.5 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.2 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.7$ Hz, CH-Ala), 32.4 (C6), 32.3 (C5), 21.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.1, 16.9 (C7, C8). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): 1.82. MS (FAB): ber.: 433.1021 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 433.1024 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3339, 2957, 1745, 1723, 1504, 1256, 1232, 1196, 1113, 1087, 1069, 1004, 934, 917, 829, 588, 563, 517.

7.3.27 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methoxyphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-63g

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methoxyphenyl- N -[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79g (0.10 g, 0.23 mmol), d4T **1** (0.08 g, 0.3 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.41 mL, 0.69 mmol) und 3.1 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 16 mg (0.033 mmol, 14%)

einer farblosen Watte. Summenformel:

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$. Molgewicht: 495.42 g/mol.

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol,

9:1): 0.51. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -20.7^\circ$

($c = 0.1$, CHCl_3). ^1H -NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl_3): 8.68 (brs, 1H, NH-Th),

7.32 (d, 1H, $^4J_{\text{H-H}} = 1.2$ Hz, H6), 7.10-7.05

(m, 2H, H8), 7.04-7.01 (m, 1H, H1'), 6.84-6.79 (m, 2H, H9), 6.37-6.33 (m, 1H, H2'),

5.90-5.86 (m, 1H, H3'), 5.05-5.00 (m, 1H, H4'), 4.40-4.26 (m, 2H, H5'), 4.02-3.91 (m,

1H, CH-Ala), 3.77 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 3.70 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 3.64 (dd, 1H,

$^2J_{\text{H-P}} = 10.7$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 10.7$ Hz, NH-Ala), 1.82 (d, 3H, $^4J_{\text{H-H}} = 1.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Th}$), 1.30

(d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 163.8 (C4),

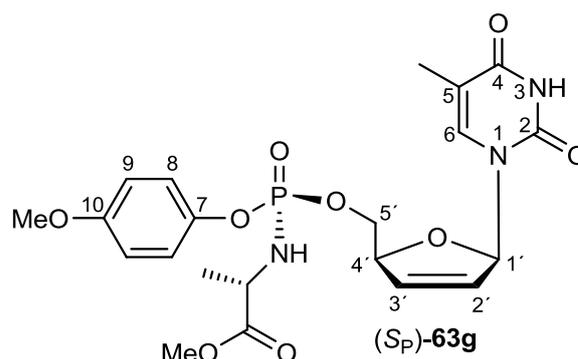
157.0 (C10), 150.9 (C2), 143.8 (C7), 136.1 (C6), 133.6 (C2'), 127.4 (C3'), 121.3 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 4.4$ Hz, C8), 114.8 (C9), 111.4 (C5), 89.7 (C1'), 84.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.5$ Hz, C4'),

66.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C5'), 55.8 ($\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 52.8 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.4 (CH-Ala), 21.1

(d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 12.4 ($\text{CH}_3\text{-Th}$). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3):

3.59. MS (FAB): ber.: 496.1485 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 496.1487 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR):



ν [cm^{-1}] = 3203, 3050, 2953, 1686, 1505, 1245, 1204, 1150, 1085, 1031, 935, 834, 781, 513, 488. HPLC: t_R = 25.0 min (Methode I).

7.3.28 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methoxyphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (R_P)-63g

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methoxyphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (S_P)-79g (0.11 g, 0.26 mmol), d4T **1** (0.08 g, 0.4 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.45 mL, 0.77 mmol) und 3.4 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 48 mg (0.098 mmol, 38%)

einer farblosen Watte. Summenformel:

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$. Molgewicht: 495.42 g/mol.

DC: R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol,

9:1): 0.34. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -17.5^\circ$

($c = 0.53$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl_3): 8.48 (brs, 1H, *NH*-Th), 7.25-7.24 (m, 1H, H6), 7.14-7.08 (m, 2H,

H8), 7.02-6.98 (m, 1H, H1'), 6.85-6.79 (m, 2H, H9), 6.29-6.26 (m, 1H, H2'), 5.92-5.88

(m, 1H, H3'), 5.02-4.96 (m, 1H, H4'), 4.29-4.23 (m, 2H, H5'), 4.03-3.92 (m, 1H,

CH-Ala), 3.77 (s, 3H, OCH_3 -Ph), 3.71 (s, 3H, OCH_3 -Ala), 3.65 (dd, 1H,

$^2J_{\text{H-P}} = 10.0$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 10.0$ Hz, *NH*-Ala), 1.86 (d, 3H, $^4J_{\text{H-H}} = 1.3$ Hz, CH_3 -Th), 1.36

(d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1$ Hz, CH_3 -Ala). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 163.7 (C4),

157.0 (C10), 150.9 (C2), 144.0 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.0$ Hz, C7), 135.8 (C6), 133.2 (C2'), 127.6

(C3'), 121.1 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C8), 114.9 (C9), 111.6 (C5), 90.0 (C1'), 84.8 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 8.5$ Hz, C4'), 67.2 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 5.4$ Hz, C5'), 55.8 (OCH_3 -Ph), 52.8 (OCH_3 -Ala),

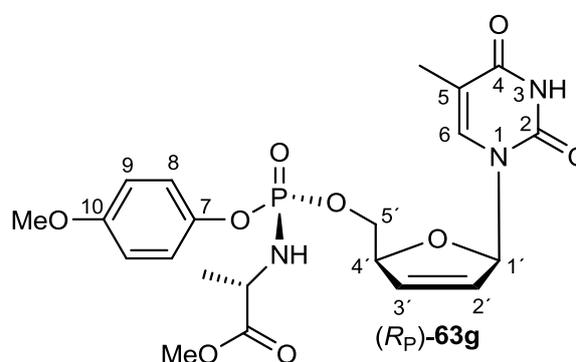
50.2 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, *CH*-Ala), 21.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 12.5 (CH_3 -Th).

$^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): 2.96. MS (FAB): ber.: 496.1485 ($\text{M} + \text{H}^+$),

gef.: 496.1485 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 1685, 1504, 1463, 1244, 1204, 1149,

1109, 1087, 1065, 1031, 937, 884, 834, 781, 737, 693, 639, 574, 519. HPLC:

t_R = 25.8 min (Methode I).

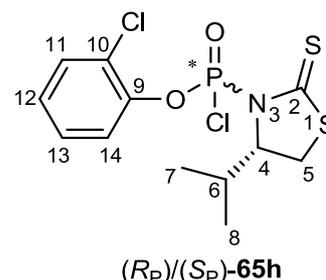


7.3.29 Synthese von *o*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65h**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und *o*-Chlorphenol **10h** (0.33 g, 2.6 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.39 mL, 2.6 mmol) wurde die Reaktionsmischung 52 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 1.11 g (3.01 mmol, quantitativ) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₂H₁₄Cl₂NO₂PS₂. Molgewicht: 370.25 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.56. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -6.6^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.51-7.44 (m, 2H, *CH*-arom.), 7.33-7.26 (m, 1H, *CH*-arom.), 7.24-7.18 (m, 1H, *CH*-arom.), 5.11-5.02 (m, 1H, H4), 3.83-3.69 (m, 1H, H5b), 3.27-3.17 (m, 1H, H5a), 2.59-2.43 (m, 1H, H6), 1.14 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.6 Hz, H7 oder H8), 1.09 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 131.3 (d, ⁴J_{C-P} = 5.5 Hz, C11), 128.2 (C13), 127.4 (d, ⁵J_{C-P} = 1.9 Hz, C12), 122.1 (d, ³J_{C-P} = 3.7 Hz, C14), 75.5 (d, ²J_{C-P} = 7.3 Hz, C4), 32.5 (C6), 32.5 (d, ³J_{C-P} = 9.2 Hz, C5), 19.2, 17.0 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -1.94, -2.83 (*d.r.* = 2:1, 34% *d.e.*). MS (FAB): ber.: 369.9659 (M + H⁺), gef.: 369.9652 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2968, 1752, 1259, 1224, 1207, 1111, 1084, 960, 949, 922, 858, 747, 553, 525, 492, 475.



7.3.30 Synthese von *o*-Chlorphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-**79h**, (*S_P*)-**79h**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit *o*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65h** (1.04 g, 2.80 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.39 g, 2.8 mmol) und Triethylamin (1.17 mL, 8.39 mmol) in 4.0 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79h:

Ausbeute: 0.163 g (0.373 mmol, 13%) eines gelben Öls.

Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht:

436.91 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.46. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +65.9^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR

(400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.57-7.53 (m, 1H, CH-arom.), 7.43-7.39 (m, 1H, CH-arom.), 7.26-7.21 (m,

1H, CH-arom.), 7.14-7.09 (m, 1H, CH-arom.), 5.36 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.3 Hz,

³J_{H-H} = 8.3 Hz, NH-Ala), 5.07-5.01 (m, 1H, H4), 4.26-4.18 (m, 1H, CH-Ala), 3.68 (dd,

1H, ²J_{H-H} = 11.6 Hz, ³J_{H-H} = 9.3 Hz, H5b), 3.66 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.23-3.17 (m, 1H,

H5a), 2.64-2.54 (m, 1H, H6), 1.44 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.2 Hz, CH₃-Ala), 1.12 (d, 3H,

³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 1.05 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR

(101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 204.4 (d, ²J_{C-P} = 6.6 Hz, C2), 173.1 (d, ³J_{C-P} = 10.9 Hz,

CO₂Me-Ala), 146.5 (d, ²J_{C-P} = 7.3 Hz, C9), 130.9 (C11), 127.7 (d, ⁴J_{C-P} = 1.4 Hz,

C13), 126.4 (C12), 122.4 (d, ³J_{C-P} = 3.7 Hz, C14), 75.2 (d, ²J_{C-P} = 7.2 Hz, C4), 52.6

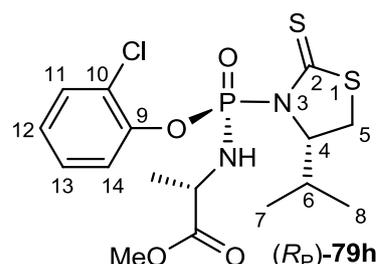
(OCH₃-Ala), 50.7 (d, ²J_{C-P} = 2.9 Hz, CH-Ala), 33.2 (C6), 31.3 (d, ³J_{C-P} = 8.0 Hz, C5),

20.5 (d, ³J_{C-P} = 2.2 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 16.1 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = -0.38. MS (ESI): ber.: 459.0345 (M + Na⁺), gef.: 459.0346 (M + Na⁺). IR

(ATR): ν [cm⁻¹] = 3299, 2960, 1742, 1478, 1372, 1262, 1214, 1145, 1110, 1084,

1057, 922, 753, 730, 601, 573, 513.


(S_P)-79h:

Ausbeute: 99 mg (0.23 mmol, 8%) eines gelben Öls.

Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht:

436.91 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat,

1:3): 0.51. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +108^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.45-7.41 (m, 2H,

CH-arom.), 7.25-7.21 (m, 1H, CH-arom.), 7.16-7.10 (m,

1H, CH-arom.), 5.37 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.3 Hz, ³J_{H-H} = 8.3 Hz, NH-Ala), 4.86-4.80 (m,

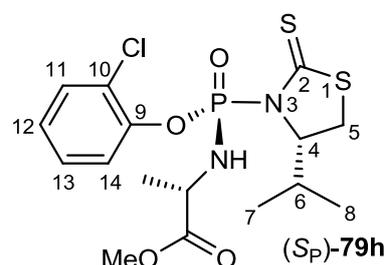
1H, H4), 4.32-4.23 (m, 1H, CH-Ala), 3.72 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.59 (dd, 1H,

²J_{H-H} = 11.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, H5b), 3.13-3.08 (m, 1H, H5a), 2.46-2.36 (m, 1H, H6),

1.39 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala), 1.05 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 1.01

(d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 131.2

(C11), 127.8 (d, ⁴J_{C-P} = 1.5 Hz, C13), 126.3 (C12), 122.0 (d, ³J_{C-P} = 2.9 Hz, C14),



74.7 (d, $^2J_{C-P} = 7.3$ Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.5 (d, $^2J_{C-P} = 2.2$ Hz, CH-Ala), 32.9 (C6), 32.5 (d, $^3J_{C-P} = 7.3$ Hz, C5), 21.6 (d, $^3J_{C-P} = 3.6$ Hz, CH₃-Ala), 19.2, 17.0 (C7, C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 0.77. MS (ESI): ber.: 459.0345 (M + Na⁺), gef.: 459.0342 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3283, 2961, 1742, 1477, 1276, 1260, 1214, 1141, 1110, 1081, 1059, 921, 754, 734, 599, 569, 519.

7.3.31 Synthese von *m*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65i**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und *m*-Chlorphenol **10i** (0.33 g, 2.6 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.39 mL, 2.6 mmol) wurde die Reaktionsmischung 60 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.803 g (2.17 mmol, quantitativ) eines gelben

Öls. Summenformel: C₁₂H₁₄Cl₂NO₂PS₂. Molgewicht:

370.25 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.62. Drehwert: $[\alpha]_{D}^{20} = +62.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ^1H -NMR

(400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.34-7.19 (m, 4H, CH-arom.),

5.01-4.94 (m, 1H, H4), 3.67 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.6$ Hz,

$^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, H5b), 3.21-3.14 (m, 1H, H5a), 2.53-2.45 (m, 1H, H6), 1.10 (d, 3H,

$^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8), 1.07 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). ^{13}C -NMR

(101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 202.9 (d, $^2J_{C-P} = 5.1$ Hz, C2), 149.6 (d, $^2J_{C-P} = 8.8$ Hz,

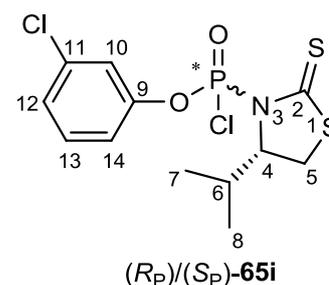
C9), 135.2 (C11), 130.7 (C13), 126.9 (C12), 121.2 (d, $^3J_{C-P} = 5.9$ Hz, C10), 119.0 (d,

$^3J_{C-P} = 5.3$ Hz, C14), 75.1 (d, $^2J_{C-P} = 8.0$ Hz, C4), 32.5 (C6), 32.1 (d, $^3J_{C-P} = 9.5$ Hz,

C5), 19.1, 17.0 (C7, C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -1.85. MS (FAB):

ber.: 369.9659 (M + H⁺), gef.: 369.9647 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2963, 1734,

1548, 1468, 1283, 1209, 1113, 1081, 955, 777, 674, 609, 573, 542, 491, 443.



7.3.32 Synthese von *m*-Chlorphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-79i, (*S_P*)-79i

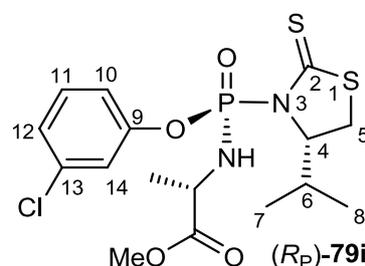
Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit *m*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65i** (0.61 g, 1.7 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-

Hydrochlorid **13** (0.23 g, 1.7 mmol) und Triethylamin (0.68 mL, 4.9 mmol) in 2.3 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79i:

Ausbeute: 0.127 g (0.291 mmol, 18%) eines farblosen Öls. Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht: 436.91 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.52. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +90.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.36-7.31 (m, 1H, CH-arom.), 7.29-7.15 (m, 3H, CH-arom.), 5.12 (dd, 1H,



²J_{H-P} = 8.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, NH-Ala), 4.98-4.91 (m, 1H, H4), 4.24-4.11 (m, 1H, CH-Ala), 3.70-3.62 (m, 1H, H5b), 3.66 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.17-3.11 (m, 1H, H5a), 2.40-2.28 (m, 1H, H6), 1.42 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.3 Hz, CH₃-Ala), 0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8), 0.91 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 204.8 (d, ²J_{C-P} = 6.6 Hz, C2), 173.1 (d, ³J_{C-P} = 10.3 Hz, CO₂Me-Ala), 150.6 (d, ²J_{C-P} = 7.3 Hz, C9), 134.9 (C11), 130.5 (C13), 125.9 (C12), 121.7 (d, ³J_{C-P} = 4.4 Hz, C10), 119.5 (d, ³J_{C-P} = 5.1 Hz, C14), 74.9 (d, ²J_{C-P} = 7.3 Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.6 (d, ²J_{C-P} = 2.2 Hz, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.3 (d, ³J_{C-P} = 8.1 Hz, C5), 20.6 (d, ³J_{C-P} = 2.9 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.8 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.64. MS (FAB): ber.: 437.0525 (M + H⁺), gef.: 437.0521 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961, 1742, 1586, 1469, 1393, 1265, 1231, 1205, 1145, 1108, 1081, 1003, 991, 938, 869, 849, 779, 731, 677, 607, 572, 538, 505, 446.

(S_P)-79i:

Ausbeute: 53 mg (0.12 mmol, 7%). Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht: 436.91 g/mol. DC:

R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.61. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +77.6^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.35-7.31 (m, 1H, CH-arom.),

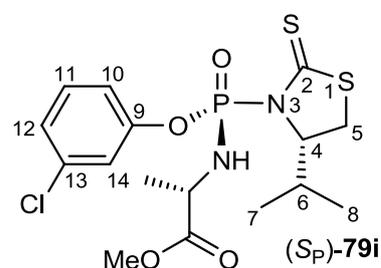
7.31-7.27 (m, 1H, CH-arom.), 7.22-7.17 (m, 2H,

CH-arom.), 5.38 (dd, ²J_{H-P} = 8.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, 1H, NH-Ala), 4.69-4.61 (m, 1H,

H4), 4.33-4.19 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.29 (dd, ²J_{H-H} = 11.7 Hz,

³J_{H-H} = 8.6 Hz, 1H, H5b), 3.05-2.98 (m, 1H, H5a), 2.40-2.27 (m, 1H, H6), 1.37 (d,

³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.01 (d, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, 3H, H7 oder H8), 0.98 (d,



$^3J_{\text{H-H}} = 6.8$ Hz, 3H, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl_3): 204.9 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 5.8$ Hz, C2), 173.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.1$ Hz, $\text{CO}_2\text{Me-Ala}$), 150.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 8.1$ Hz, C9), 135.1 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C11), 130.6 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C13), 126.1 (d, $^5J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C12), 121.6 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.1$ Hz, C10), 119.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.2$ Hz, C14), 74.7 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.6$ Hz, C4), 52.7 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.9$ Hz, CH-Ala), 32.7 (C6), 32.6 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.4$ Hz, C5), 21.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.5$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.2, 17.0 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl_3): 1.34. MS (FAB): ber.: 437.0525 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 437.0519 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2961, 1742, 1585, 1468, 1434, 1408, 1373, 1271, 1229, 1203, 1140, 1109, 1079, 1003, 989, 933, 868, 849, 799, 779, 738, 676, 609, 555, 511, 446.

7.3.33 Synthese von *p*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65j**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und *p*-Chlorphenol **10j** (0.33 g, 2.6 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.39 mL, 2.6 mmol) wurde die Reaktionsmischung 52 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.875 g (2.36 mmol, 91%) eines gelben Öls.

Summenformel: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{NO}_2\text{PS}_2$. Molgewicht:

370.25 g/mol. DC: R_f -Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.56. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +38.2$ ° ($c = 1.0$, CHCl_3). $^1\text{H-NMR}$

(400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.29-7.24 (m, 2H, *CH*-arom.), 7.21-7.16 (m, 2H, *CH*-arom.), 4.93-4.85

(m, 1H, H4), 3.57 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.5$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 4.2$ Hz, H5b), 3.14-3.04 (m, 1H, H5a),

2.49-2.34 (m, 1H, H6), 1.04 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7 oder H8), 1.00 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 130.2 (d,

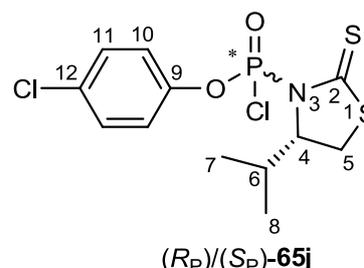
$^4J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C11), 122.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.1$ Hz, C10), 75.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.3$ Hz, C4), 32.7

(C6), 32.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 9.5$ Hz, C5), 19.3, 17.2 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = -1.53, -1.58 (*d.r.* = 5.9:1, 70% *d.e.*). MS (FAB): ber.: 369.9659 ($\text{M} + \text{H}^+$),

gef.: 369.9653 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2963, 1733, 1483, 1281, 1206, 1114,

1080, 949, 831, 771, 596, 528, 494.



7.3.34 Synthese von *p*-Chlorphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-79j, (*S_P*)-79j

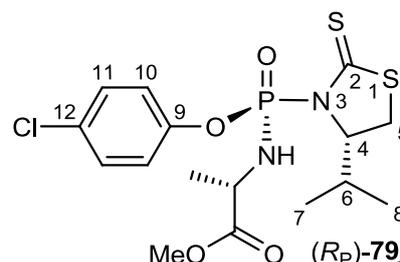
Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit *p*-Chlorphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65j** (0.78 g, 2.1 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.30 g, 2.1 mmol) und Triethylamin (0.89 mL, 6.4 mmol) in 3.0 mL abs. Dichlormethan.

(*R_P*)-79j:

Ausbeute: 0.211 g (0.482 mmol, 23%) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht: 436.91 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.44. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +96.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.30-7.16 (m, 4H, CH-arom.), 5.12 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.4 Hz,

³J_{H-H} = 8.4 Hz, NH-Ala), 4.92-4.85 (m, 1H, H4), 4.16-4.07 (m, 1H, CH-Ala), 3.63-3.57 (m, 1H, H5b), 3.60 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.17-3.09 (m, 1H, H5a), 2.33-2.20 (m, 1H, H6), 1.42 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.3 Hz, CH₃-Ala), 0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, H7 oder H8), 0.89 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 129.9 (C11), 122.6 (d, ³J_{C-P} = 4.4 Hz, C10), 75.0 (d, ²J_{C-P} = 6.6 Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.6 (d, ²J_{C-P} = 2.9 Hz, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.3 (d, ³J_{C-P} = 8.8 Hz, C5), 20.7 (d, ³J_{C-P} = 2.2 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.7 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -0.58. MS (ESI): ber.: 459.0345 (M + Na⁺), gef.: 459.0345 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3316, 2959, 1741, 1485, 1404, 1268, 1232, 1205, 1144, 1108, 1080, 865, 833, 703, 640, 523, 431.



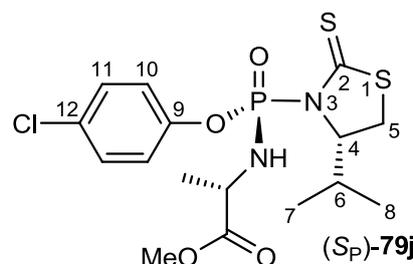
(*S_P*)-79j:

Ausbeute: 27 mg (0.064 mmol, 3%) eines gelben Öls.

Summenformel: C₁₆H₂₂ClN₂O₄PS₂. Molgewicht: 436.91 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.58. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +62.7^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.35-7.20

(m, 4H, CH-arom.), 5.39 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, NH-Ala), 4.67-4.56 (m, 1H, H4), 4.32-4.18 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.25 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 11.4 Hz, ³J_{H-H} = 8.3 Hz, H5b), 3.04-2.94 (m, 1H, H5a), 2.39-2.26 (m, 1H, H6),



1.38 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 0.99 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.8$ Hz, H7 oder H8), 0.97 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.8$ Hz, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 204.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 5.4$ Hz, C2), 148.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.9$ Hz, C9), 129.9 (C11), 122.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C10), 74.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.2$ Hz, C4), 52.7 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.3 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 3.1$ Hz, CH-Ala), 32.7 (C6), 32.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 6.9$ Hz, C5), 21.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.2, 17.0 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.43. MS (ESI): ber.: 459.0345 ($\text{M} + \text{Na}^+$), gef.: 459.0343 ($\text{M} + \text{Na}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3289, 2959, 1742, 1485, 1289, 1230, 1204, 1139, 1110, 1081, 920, 835, 534, 496.

7.3.35 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(*p*-chlorphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-63j

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit *p*-Chlorphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79j (0.21 g, 0.47 mmol), d4T 1 (0.16 g, 0.70 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.83 mL, 1.4 mmol) und 6.2 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 47 mg (0.094 mmol, 20%)

einer farblosen Watte. Summenformel:

$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClN}_3\text{O}_8\text{P}$.

Molgewicht:

499.84 g/mol.

DC:

R_f -Wert

(Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.6.

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -37^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 8.19 (brs, 1H, NH), 7.32-7.27

(m, 3H, CH- arom.), 7.15-7.09 (m, 2H, CH- arom. , H6), 7.04-6.99 (m, 1H, H1'),

6.38-6.32 (m, 1H, H2'), 5.93-5.87 (m, 1H, H3'), 5.08-5.00 (m, 1H, H4'), 4.41-4.27 (m,

2H, H5'), 4.01-3.88 (m, 1H, CH-Ala), 3.71 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 3.59 (dd, 1H,

$^2J_{\text{H-P}} = 10.5$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 10.5$ Hz, NH-Ala), 1.82 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Th}$), 1.32 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 174.0 ($\text{CO}_2\text{Me-Ala}$),

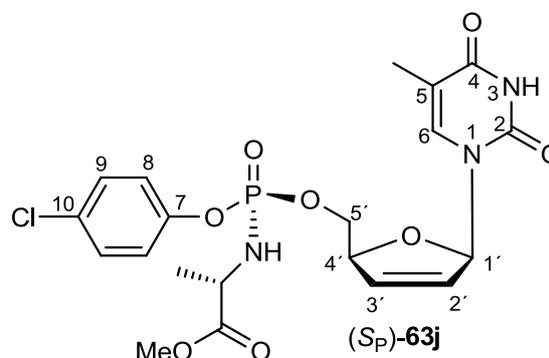
163.6 (C4), 150.8 (C2), 135.9 (C6), 133.4 (C2'), 129.9 (C9), 127.6 (C3'), 121.7 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C8), 111.4 (C5), 89.8 (C1'), 84.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.5$ Hz, C4'), 66.8 (d,

$^2J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C5'), 52.8 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, CH-Ala), 21.1 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 5.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 12.5 ($\text{CH}_3\text{-Th}$). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.13,

2.59 (*d.r.* = 37:1, 95% *d.e.*). MS (ESI): ber.: 522.0809 ($\text{M} + \text{Na}^+$), gef.: 522.0807



(M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3197, 3073, 2928, 1684, 1487, 1218, 1151, 1111, 1087, 1034, 1013, 996, 924, 836, 772, 642, 575, 546, 487, 420, 401. HPLC: t_R = 28.4 min (Methode I).

7.3.36 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(*p*-chlorphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (*R_P*)-63j

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit *p*-Chlorphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*S_P*)-79j (45 mg, 0.11 mmol), d4T 1 (35 mg, 0.16 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.18 mL, 0.31 mmol) und 1.4 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 14 mg (0.028 mmol, 26%)

einer farblosen Watte. Summenformel:

C₂₀H₂₃ClN₃O₈P.

Molgewicht:

499.84 g/mol.

DC:

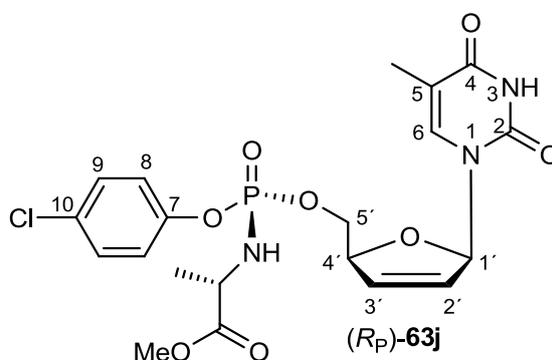
R_f-Wert

(Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.5.

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -33^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 8.49 (brs, 1H, NH), 7.32-7.27 (m, 2H, CH-arom.), 7.23-7.19 (m, 1H, H6), 7.18-7.12 (m, 2H, CH-arom.), 7.04-6.98 (m, 1H, H1'), 6.32-6.26 (m, 1H, H2'), 5.96-5.87 (m, 1H, H3'), 5.06-4.95 (m, 1H, H4'), 4.34-4.20 (m, 2H, H5'), 4.03-3.91 (m, 1H, CH-Ala), 3.75-3.67 (m, 1H, NH-Ala), 3.71 (s, 3H, OCH₃-Ala), 1.87 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.4 Hz, CH₃-Th), 1.36 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 163.5 (C4), 150.8 (C2), 135.6 (C6), 133.1 (C2'), 129.9 (C9), 127.8 (C3'), 121.6 (d, ³J_{C-P} = 5.3 Hz, C8), 111.6 (C5), 90.1 (C1'), 84.7 (d, ³J_{C-P} = 7.8 Hz, C4'), 67.5 (d, ²J_{C-P} = 5.4 Hz, C5'), 52.8 (OCH₃-Ala), 50.3 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 21.2 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, CH₃-Ala), 12.5 (CH₃-Th). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.62. MS (ESI): ber.: 522.0804 (M + Na⁺), gef.: 522.0802 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2987, 2901, 1740, 1685, 1487, 1451, 1405, 1394, 1382, 1242, 1225, 1150, 1078, 1066, 1056, 923, 836, 772, 644, 539, 488, 419. HPLC: t_R = 28.5 min (Methode I).



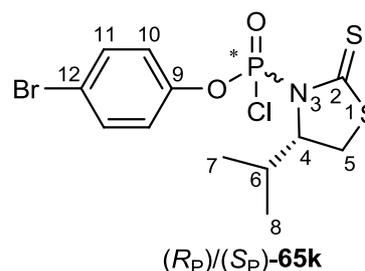
7.3.37 Synthese von *p*-Bromphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65k**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.73 g, 6.20 mmol) und *p*-Bromphenol **10f** (0.75 g, 4.3 mmol, 0.7 Äq., Abweichung von der AAV 3) in 11.5 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.65 mL, 4.3 mmol) wurde die Reaktionsmischung 50 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 1.80 g (4.35 mmol, quantitativ) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₂H₁₄ClBrNO₂PS₂. Molgewicht: 414.71 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.62. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -10.4^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.55-7.42 (m, 2H, CH-arom.), 7.23-7.13 (m, 2H, CH-arom.), 5.00-4.92

(m, 1H, H4), 3.70-3.61 (m, 1H, H5b), 3.33-3.23 (m, 1H, H5a), 2.53-2.39 (m, 1H, H6), 0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8), 0.96 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 133.1 (d, ⁴J_{C-P} = 1.5 Hz, C11), 122.5 (d, ³J_{C-P} = 5.4 Hz, C10), 75.2 (d, ²J_{C-P} = 7.7 Hz, C4), 32.2 (C6), 32.0 (d, ³J_{C-P} = 10.0 Hz, C5), 18.8, 18.2 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -1.75, -1.81 (d.r. = 4.5:1, 64% d.e.). MS (ESI): ber.: 435.8973 (M + Na⁺), gef.: 435.8968 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3153, 2963, 1480, 1266, 1205, 1161, 1115, 1037, 1008, 924, 828, 758, 614, 555.

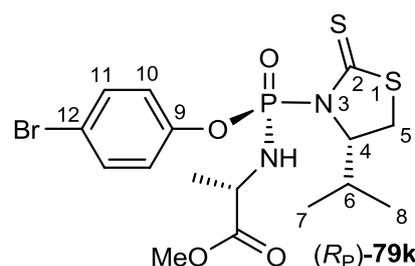


7.3.38 Synthese von *p*-Bromphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-**79k**, (*S_P*)-**79k**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit *p*-Bromphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65k** (1.47 g, 3.56 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.50 g, 3.6 mmol) und Triethylamin (1.50 mL, 10.7 mmol) in 5.1 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79k:

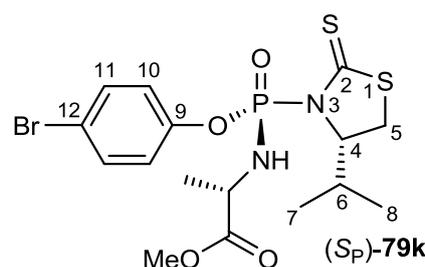
Ausbeute: 0.298 g (0.620 mmol, 17%) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₆H₂₂BrN₂O₄PS₂. Molgewicht: 481.36 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.50. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = 88.6^\circ$ (c = 0.5, CHCl₃).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.46-7.41 (m, 2H, CH-arom.), 7.21-7.17 (m, 2H, CH-arom.), 5.11 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, NH-Ala), 4.96-4.91 (m, 1H, H4), 4.22-4.12 (m, 1H, CH-Ala), 3.68-3.63 (m, 1H, H5b), 3.66 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.15-3.12 (m, 1H, H5a), 2.36-2.27 (m, 1H, H6), 1.41 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.3 Hz, CH₃-Ala), 0.98 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, H7 oder H8), 0.89 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 204.8 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C2), 173.1 (d, ³J_{C-P} = 10.8 Hz, CO₂Me-Ala), 149.2 (d, ²J_{C-P} = 7.7 Hz, C9), 132.7 (C11), 122.9 (d, ³J_{C-P} = 4.7 Hz, C10), 118.7 (d, ⁵J_{C-P} = 1.5 Hz, C12), 75.0 (d, ²J_{C-P} = 6.9 Hz, C4), 52.6 (OCH₃-Ala), 50.6 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 8.5 Hz, C5), 20.7 (d, ³J_{C-P} = 2.4 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.7 (C7, C8). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -0.66. MS (ESI): ber.: 482.9994 (M + H⁺), gef.: 482.9997 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3316, 2958, 1741, 1481, 1267, 1232, 1204, 1143, 1107, 1065, 1010, 991, 923, 830, 631, 520, 499.

(S_P)-79k:

Ausbeute: 68 mg (0.14 mmol, 4%) eines gelben Öls. Summenformel: C₁₆H₂₂BrN₂O₄PS₂. Molgewicht: 481.36 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.61. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = 75.4^\circ$ (c = 0.5, CHCl₃).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.49-7.43 (m, 2H, CH-arom.), 7.22-7.17 (m, 2H, CH-arom.), 5.39 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.6 Hz, ³J_{H-H} = 8.6 Hz, NH-Ala), 4.63-4.58 (m, 1H, H4), 4.32-4.20 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.24 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 11.4 Hz, ³J_{H-H} = 8.4 Hz, H5b), 3.01-2.98 (m, 1H, H5a), 2.38-2.27 (m, 1H, H6), 1.38 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, CH₃-Ala), 0.99 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8), 0.97 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, H7 oder H8). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 132.9 (C11), 122.8 (d, ³J_{C-P} = 5.3 Hz, C10), 74.8 (d, ²J_{C-P} = 6.9 Hz, C4), 52.7 (OCH₃-Ala), 50.3 (d, ²J_{C-P} = 2.3 Hz, CH-Ala), 32.7 (C6), 32.5 (d, ³J_{C-P} = 6.9 Hz, C5), 21.8 (d,

$^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 19.2, 17.0 (C7, C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 1.33. MS (ESI): ber.: 482.9994 ($M + H^+$), gef.: 482.9997 ($M + H^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3300, 2958, 1742, 1481, 1313, 1268, 1230, 1202, 1138, 1110, 1080, 1010, 990, 918, 832, 612, 528, 495.

7.3.39 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(*p*-bromphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-63k

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit *p*-Bromphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79k (0.15 g, 0.32 mmol), d4T **1** (0.11 g, 0.48 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.56 mL, 0.96 mmol) und 4.3 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 26 mg (0.047 mmol, 15%) einer farblosen Watte. Summenformel:

$C_{20}H_{23}BrN_3O_8P$. Molgewicht: 544.29 g/mol.

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

0.68. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -31^\circ$ ($c = 0.3$,

$CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$):

δ [ppm] = 8.52 (brs, 1H, NH), 7.43 (d, 2H,

$^3J_{H-H} = 8.8$ Hz, CH -arom.), 7.29-7.27 (m, 1H, H6), 7.07 (d, 2H, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz,

CH -arom.), 6.37-6.32 (m, 1H, H2'), 5.92-5.86 (m, 1H, H3'), 5.07-5.00 (m, 1H, H4'),

4.40-4.27 (m, 2H, H5'), 4.03-3.90 (m, 1H, CH -Ala), 3.77-3.64 (m, 1H, NH -Ala), 3.71

(s, 3H, OCH_3 -Ala), 1.82 (s, 3H, CH_3 -Th), 1.32 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.1$ Hz, CH_3 -Ala).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 163.6 (C4), 150.8 (C2), 135.9 (C6), 133.4

(C2'), 132.9 (C9), 127.6 (C3'), 122.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.7$ Hz, C8), 111.4 (C5), 89.8 (C1'),

84.7 (d, $^3J_{C-P} = 8.4$ Hz, C4'), 66.8 (d, $^2J_{C-P} = 4.6$ Hz, C5'), 52.8 (OCH_3 -Ala), 50.4 (d,

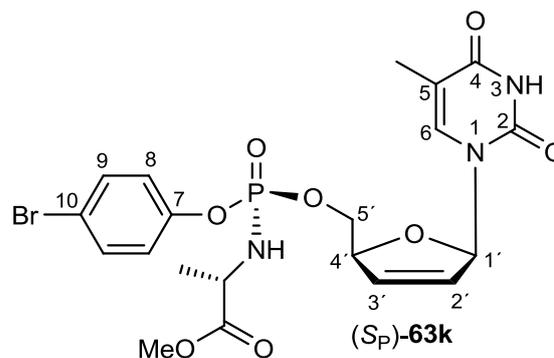
$^2J_{C-P} = 1.5$ Hz, CH -Ala), 21.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.7$ Hz, CH_3 -Ala), 12.5 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR

(162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 3.13, 2.54 (*d.r.* = 27.2:1, 93% *d.e.*). MS (ESI):

ber.: 566.0304 ($M + Na^+$), gef.: 566.0293 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3201, 3066,

2952, 2924, 1686, 1484, 1244, 1218, 1151, 1111, 1086, 1068, 1034, 1010, 996, 924,

834, 783, 489. HPLC: $t_R = 29.5$ min (Methode I).



7.3.40 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-dideohydrothymidin-5'-(*p*-bromphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (*R_P*)-63k

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit *p*-Bromphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*S_P*)-79k (0.13 g, 0.26 mmol), d4T 1 (88 mg, 0.39 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.46 mL, 0.79 mmol) und 3.5 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 74 mg (0.14 mmol, 50%) einer farblosen Watte. Summenformel:

C₂₀H₂₃BrN₃O₈P. Molgewicht: 544.29 g/mol.

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

0.61. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -22.5^\circ$ (c = 0.3,

CHCl₃). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 8.83 (brs, 1H, NH), 7.46-7.40 (m, 2H, CH-arom.), 7.21 (d, 1H,

⁴J_{H-H} = 1.0 Hz, H6), 7.12-7.06 (m, 2H, CH-arom.), 7.02-6.98 (m, 1H, H1'), 6.32-6.24

(m, 1H, H2'), 5.94-5.87 (m, 1H, H3'), 5.03-4.96 (m, 1H, H4'), 4.33-4.19 (m, 2H, H5'),

4.03-3.91 (m, 1H, CH-Ala), 3.80 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 11.3 Hz, ³J_{H-H} = 9.5 Hz, NH-Ala),

3.71 (s, 3H, OCH₃-Ala), 1.86 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.0 Hz, CH₃-Th), 1.36 (d, 3H,

³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 163.6 (C4), 150.8

(C2), 135.6 (C6), 133.1 (C2'), 132.9 (C9), 127.8 (C3'), 122.0 (d, ³J_{C-P} = 5.3 Hz, C8),

118.3 (d, ⁵J_{C-P} = 1.5 Hz, C10), 111.6 (C5), 90.1 (C1'), 84.7 (d, ³J_{C-P} = 8.5 Hz, C4'),

67.5 (d, ²J_{C-P} = 5.5 Hz, C5'), 52.8 (OCH₃-Ala), 50.3 (d, ²J_{C-P} = 1.5 Hz, CH-Ala), 21.1

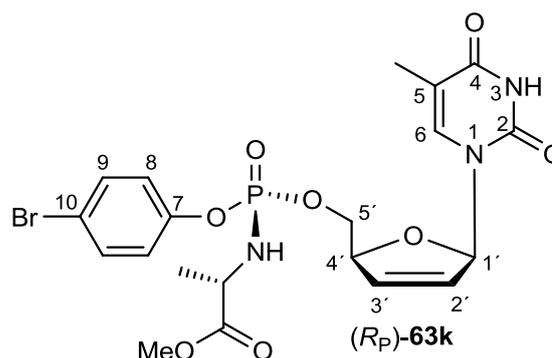
(d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, CH₃-Ala), 12.5 (CH₃-Th). ³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃):

δ [ppm] = 2.58. MS (ESI): ber.: 566.0304 (M + Na⁺), gef.: 566.0306 (M + Na⁺). IR

(ATR): ν [cm⁻¹] = 3047, 2952, 1740, 1687, 1484, 1467, 1245, 1216, 1151, 1111,

1087, 1067, 1035, 1010, 925, 835, 783, 767, 695, 575, 538, 489, 418. HPLC:

t_R = 29.8 min (Methode I).



7.3.41 Synthese von 1-Naphthyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat 65l

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(*S*)-4-*iso*-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat 52 (0.18 g, 0.64 mmol) und 1-Naphthol 10l (93 mg,

0.64 mmol) in 1.2 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.10 mL, 0.64 mmol) wurde die Reaktionsmischung 41 min bei -91 °C gerührt.

Ausbeute: 0.145 g (0.376 mmol, 58%) eines gelben Öls.

Summenformel: C₁₆H₁₇ClNO₂PS₂. Molgewicht: 385.87 g/mol.

DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.58. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +109.8^\circ$ (c = 0.2, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 8.48-8.31 (m, 1H, H15), 7.89-7.83 (m,

1H, H18), 7.77-7.75 (m, 1H, H12), 7.63-7.51 (m, 3H,

CH-arom.), 7.47-7.39 (m, 1H, H11), 5.15-5.07 (m, 1H, H4),

3.88-3.73 (m, 1H, H5b), 3.29-3.18 (m, 1H, H5a), 2.65-2.53 (m, 1H, H6), 1.19-1.10 (m,

6H, H7, H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 127.8 (C18), 127.2 (C17), 127.0

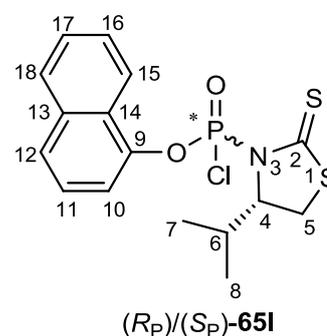
(C16), 126.6 (C12), 125.3 (d, ⁴J_{C-P} = 2.4 Hz, C11), 122.6 (C15), 116.1 (d,

³J_{C-P} = 4.5 Hz, C10), 75.6 (d, ²J_{C-P} = 8.3 Hz, C4), 32.8 (C6), 32.3 (d, ³J_{C-P} = 10.0 Hz,

C5), 19.3, 17.2 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -1.39, -1.28

(d.r. = 1:1.6, 22% d.e.). MS (FAB): ber.: 386.1 (M + H⁺), gef.: 386.0 (M + H⁺). IR

(ATR): ν [cm⁻¹] = 2963, 1733, 1284, 1208, 1114, 1075, 1038, 1012, 931, 795, 767, 603.



7.3.42 Synthese von 1-Naphthyl-N-[(S)-methoxyalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79I, (S_P)-79I

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 1-Naphthyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65I** (0.30 g, 0.78 mmol), (S)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.11 g, 0.78 mmol) und Triethylamin (0.32 mL, 2.3 mmol) in 1.0 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-79I:

Ausbeute: 97 mg (0.21 mmol, 28%) eines gelben Öls.

Summenformel: C₂₀H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht:

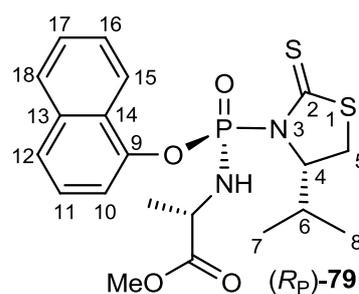
452.53 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.52. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +208.9^\circ$ (c = 0.2, CHCl₃).

¹H NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): δ = 8.48-8.43 (m,

1H, H15), 7.85-7.81 (m, 1H, H18), 7.70-7.66 (m, 1H,

H12), 7.58-7.49 (m, 3H, CH-arom.), 7.40 (t, 1H, ³J_{H-H} = 8.0 Hz, H11), 5.23 (dd, 1H,



$^2J_{\text{H-P}} = 8.6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-H}} = 8.6 \text{ Hz}$, *NH*-Ala), 5.12-5.07 (m, 1H, H4), 4.26-4.15 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.72 (s, 3H, *OCH*₃-Ala), 3.46 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.4 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-H}} = 9.2 \text{ Hz}$, H5b), 3.24-3.19 (m, 1H, H5a), 2.59-2.49 (m, 1H, H6), 1.43 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.1 \text{ Hz}$, *CH*₃-Ala), 1.07 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9 \text{ Hz}$, H7 oder H8), 1.05 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9 \text{ Hz}$, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 127.7 (C18), 126.8 (C17), 126.6 (C16), 125.5 (C12), 125.3 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 1.9 \text{ Hz}$, C11), 122.7 (C15), 115.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.7 \text{ Hz}$, C10), 75.3 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.0 \text{ Hz}$, C4), 52.5 (*OCH*₃-Ala), 50.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.6 \text{ Hz}$, *CH*-Ala), 33.3 (C6), 31.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.6 \text{ Hz}$, C5), 20.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.0 \text{ Hz}$, *CH*₃-Ala), 19.1, 16.1 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.32. MS (FAB): ber.: 453.1072 (M + H⁺), gef.: 453.1082 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3299, 2959, 1740, 1270, 1223, 1109, 1075, 1041, 921, 797, 769, 528.

(S_P)-79I:

Ausbeute: 53 mg (0.12 mmol, 15%) eines farblosen

Feststoffes. Summenformel: C₂₀H₂₅N₂O₄PS₂. Molgewicht:

452.53 g/mol. DC: R_F-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3):

0.60. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +105.5^\circ$ (c = 0.25, CHCl₃).

Smp.: 97 °C. ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃):

8.41-8.35 (m, 1H, H15), 7.85-7.80 (m, 1H, H18), 7.68 (d,

1H, $^3J_{\text{H-H}} = 8.0 \text{ Hz}$, H12), 7.58-7.49 (m, 3H, *CH*-arom.), 7.40 (t, 1H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8 \text{ Hz}$,

H11), 5.52 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-P}} = 8.8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8 \text{ Hz}$, *NH*-Ala), 4.85-4.80 (m, 1H, H4),

4.36-4.25 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.72 (s, 3H, *OCH*₃-Ala), 3.46 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.5 \text{ Hz}$,

$^3J_{\text{H-H}} = 8.6 \text{ Hz}$, H5b), 3.09-3.04 (m, 1H, H5a), 2.48-2.38 (m, 1H, H6), 1.30 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 7.3 \text{ Hz}$, *CH*₃-Ala), 1.04 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0 \text{ Hz}$, H7 oder H8), 1.01 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 7.0 \text{ Hz}$, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 127.7 (C18), 127.0

(C17), 126.6 (C16), 125.5 (C12), 125.3 (d, $^4J_{\text{C-P}} = 1.9 \text{ Hz}$, C11), 122.9 (C15), 115.5

(d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.8 \text{ Hz}$, C10), 74.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.4 \text{ Hz}$, C4), 52.7 (*OCH*₃-Ala), 50.4 (d,

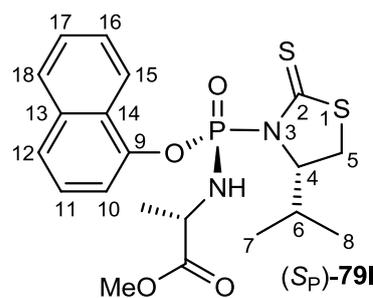
$^2J_{\text{C-P}} = 2.8 \text{ Hz}$, *CH*-Ala), 32.9 (C6), 32.4 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.3 \text{ Hz}$, C5), 21.7 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 4.6 \text{ Hz}$, *CH*₃-Ala), 19.2, 16.9 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃):

1.21. MS (FAB): ber.: 453.1072 (M + H⁺), gef.: 453.1088 (M + H⁺). IR (ATR):

ν [cm⁻¹] = 3323, 3057, 2960, 1728, 1261, 1230, 1110, 1081, 1050, 1011, 926, 796,

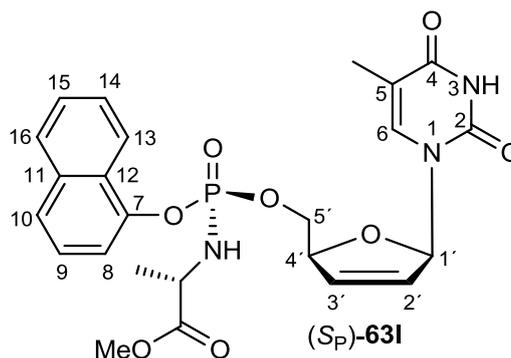
773, 522, 497.



7.3.43 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(1-naphthyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-63I

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 1-Naphthyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-79I (0.14 g, 0.31 mmol), d4T 1 (0.10 g, 0.46 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.54 mL, 0.92 mmol) und 4.1 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 26 mg (0.050 mmol, 19%) einer farblosen Watte. Summenformel: C₂₄H₂₆N₃O₈P. Molgewicht: 515.45 g/mol. DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.44. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +11.0^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃). ¹H-NMR:



δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.06-8.00 (m, 2H, H13, NH-Th), 7.87-7.83 (m, 1H, H16), 7.69-7.65 (m, 1H, H10), 7.55-7.49 (m, 2H, CH-arom.), 7.48-7.44 (m, 1H, H8), 7.39 (t, 1H, ³J_{H-H} = 7.8 Hz, H9), 7.29-7.27 (m, 1H, H6), 7.04-7.01 (m, 1H, H1'), 6.38-6.34 (m, 1H, H2'), 5.90-5.87 (m, 1H, H3'), 5.09-5.05 (m, 1H, H4'), 4.48-4.34 (m, 2H, H5'), 4.09-3.98 (m, 1H, CH-Ala), 3.63 (s, 3H, OCH₃-Ala), 3.58 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 10.9 Hz, ³J_{H-H} = 10.9 Hz, NH-Ala), 1.62 (d, 3H, ⁴J_{H-H} = 1.2 Hz, CH₃-Th), 1.26 (d, 3H, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 135.8 (C6), 133.5 (C3'), 128.1 (C16), 127.5 (C2'), 126.9, 126.7 (C-arom.), 125.5 (d, ⁴J_{C-P} = 2.2 Hz, C9), 125.3 (C10), 121.4 (C13), 115.3 (C8), 89.9 (C1'), 84.8 (C4'), 67.1 (C5'), 52.7 (OCH₃-Ala), 50.5 (d, ²J_{C-P} = 2.2 Hz, CH-Ala), 21.2 (CH₃-Ala), 12.3 (CH₃-Th). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 3.27. MS (FAB): ber.: 516.1536 (M + H⁺), gef.: 516.1536 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 3206, 3057, 2953, 2923, 2854, 1686, 1231, 1149, 1083, 1030, 1012, 993, 923, 772. HPLC: t_R = 30.0 min (Methode I).

7.3.44 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(1-naphthyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (R_P)-63I

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 1-Naphthyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (S_P)-79I (0.19 g, 0.43 mmol), d4T 1 (0.14 g, 0.64 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.75 mL, 1.3 mmol) und 5.7 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 64 mg (0.13 mmol, 29%) einer farblosen Warte. Summenformel:

$C_{17}H_{25}N_2O_4PS_2$. Molgewicht: 515.45 g/mol. DC:

R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.41.

Drehwert: $[\alpha]_{D}^{20} = -2.8^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).

1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): 8.75 (brs, 1H, *NH*-Th), 8.15-7.99 (m, 1H, H13), 7.92-7.77 (m, 1H, H16), 7.72-7.60 (m, 1H, H10), 7.59-7.45

(m, 3H, *CH*-arom.), 7.44-7.33 (m, 1H, H9), 7.31-7.19 (m, 1H, H6), 7.07-6.93 (m, 1H,

H1'), 6.34-6.20 (m, 1H, H2'), 5.97-5.83 (m, 1H, H3'), 5.09-4.93 (m, 1H, H4'),

4.43-4.22 (m, 2H, H5'), 4.17-3.97 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.96-3.79 (m, 1H, *NH*-Ala), 3.65

(s, 3H, OCH_3 -Ala), 1.79 (s, 3H, CH_3 -Th), 1.40-1.28 (m, 3H, CH_3 -Ala). ^{13}C -NMR:

δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 173.9 (d, $^3J_{C-P} = 7.5$ Hz, CO_2Me -Ala), 163.7 (C4), 150.9

(C2), 146.4 (d, $^2J_{C-P} = 6.9$ Hz, C7), 135.6 (C6), 134.9 (C-arom., quartär), 133.2 (C2'),

128.1 (C3'), 127.7, 126.8, 125.7, 125.6 (C-arom.), 125.2 (d, $J_{C-P} = 11.6$ Hz, C-arom.),

121.2 (C13), 115.1 (d, $^3J_{C-P} = 16.8$ Hz, C8), 111.6 (C-arom., quartär), 90.0 (C1'), 84.7

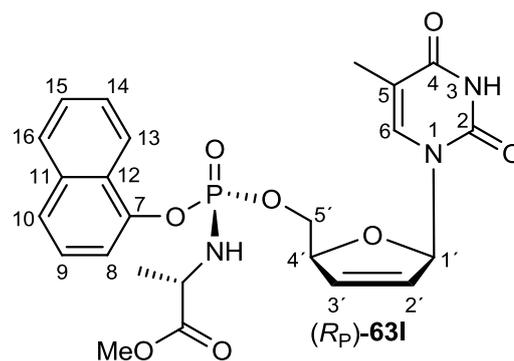
(C4'), 67.1 (d, $^2J_{C-P} = 4.6$ Hz, C5'), 52.6 (OCH_3 -Ala), 50.3 (*CH*-Ala), 21.2 (CH_3 -Ala),

12.4 (s, CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 2.87. MS (ESI):

ber.: 538.1350 ($M + Na^+$), gef.: 538.1342 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 1684, 1463,

1229, 1084, 1032, 1012, 922, 771, 569, 539, 490, 418. HPLC: $t_R = 30.5$ min

(Methode I).



7.3.45 Synthese von 2-Naphthyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat 65m

Die Darstellung erfolgte nach AAV 3 (Variante 1) mit [(S)-4-iso-Propylthiazolidin-2-thion]phosphordichloridat **52** (1.03 g, 3.72 mmol) und 2-Naphthol **10m** (0.54 g, 3.7 mmol) in 6.9 mL abs. Aceton. Nach Zugabe von DBU (0.56 mL, 3.7 mmol) wurde die Reaktionsmischung 45 min bei $-91^\circ C$ gerührt.

Ausbeute: 0.930 g (2.41 mmol, 65%) eines farblosen

Feststoffes. Summenformel: $C_{16}H_{17}ClNO_2PS_2$.

Molgewicht: 385.87 g/mol. DC: R_f -Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.6. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +145.4^\circ$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$). 1H -NMR (400 MHz,

$CDCl_3$): δ [ppm] = 7.90-7.77 (m, 4H, CH-arom.),

7.56-7.44 (m, 3H, CH-arom.), 5.05-5.00 (m, 1H, H4),

3.65 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.6$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, H5b), 3.15 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.5$ Hz,

$^3J_{H-H} = 2.5$ Hz, H5a), 2.60-2.50 (m, 1H, H6), 1.14 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, H7 oder H8),

1.11 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, H7 oder H8). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$):

δ [ppm] = 131.8 (d, $^4J_{C-P} = 1.5$ Hz, C13), 130.4 (C11), 127.9 (d, $J_{C-P} = 2.9$ Hz,

C-arom.), 127.2, 126.4 (C-arom.), 120.0 (d, $^3J_{C-P} = 5.1$ Hz, C10), 117.9 (d,

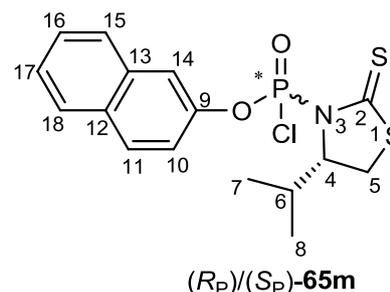
$^3J_{C-P} = 5.9$ Hz, C14), 75.4 (d, $^2J_{C-P} = 7.3$ Hz, C4), 32.7 (C6), 32.3 (d, $^3J_{C-P} = 9.5$ Hz,

C5), 19.3, 17.2 (C7, C8). ^{31}P -NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = -1.46, -1.65

($d.r. = 26.8:1$, 93% $d.e.$). MS (FAB): ber.: 386.0208 ($M + H^+$), gef.: 386.0205 ($M + H^+$).

IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 3152, 2963, 2873, 1631, 1598, 1508, 1463, 1241, 1208, 1156,

1121, 969, 932, 882, 859, 809, 748, 730, 686, 566, 472.



7.3.46 Synthese von 2-Naphthyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-79m, (*S_P*)-79m

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 2-Naphthyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65m** (0.77 g, 2.0 mmol), (*S*)-Alaninmethylester-Hydrochlorid **13** (0.28 g, 2.0 mmol) und Triethylamin (0.83 mL, 6.0 mmol) in 2.8 mL abs. Dichlormethan.

(*R_P*)-79m:

Ausbeute: 0.278 g (0.614 mmol, 30%) eines

gelben Öls. Summenformel: $C_{20}H_{25}N_2O_4PS_2$.

Molgewicht: 452.53 g/mol. DC: R_f -Wert

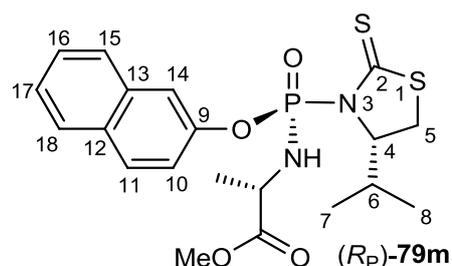
(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.55. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +90.3^\circ$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). 1H -NMR

(400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.84-7.75 (m, 4H,

CH-arom.), 7.51-7.42 (m, 3H, CH-arom.), 5.17 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 8.5$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz,

NH-Ala), 5.02-4.96 (m, 1H, H4), 4.26-4.15 (m, 1H, CH-Ala), 3.67 (dd, 1H,



$^2J_{\text{H-H}} = 11.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-H}} = 9.3 \text{ Hz}$, H5b), 3.52 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-Ph}$), 3.16-3.13 (m, 1H, H5a), 2.44-2.34 (m, 1H, H6), 1.43 (s, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 0.98 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0 \text{ Hz}$, H7 oder H8), 0.85 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.8 \text{ Hz}$, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 204.7 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.6 \text{ Hz}$, C2), 173.1 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 10.3 \text{ Hz}$, $\text{CO}_2\text{Me-Ala}$), 147.8 (d, $J_{\text{C-P}} = 8.0 \text{ Hz}$, C-arom., quartär), 133.9, 131.4 (C-arom., quartär), 129.9, 127.9, 127.7, 126.8, 125.8 (C-arom.), 120.9 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.3 \text{ Hz}$, C10), 117.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.1 \text{ Hz}$, C14), 75.1 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.3 \text{ Hz}$, C4), 52.5 ($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.7 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.9 \text{ Hz}$, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.8 \text{ Hz}$, C5), 20.7 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.0 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.1, 15.7 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -0.60. MS (FAB): ber.: 453.1072 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 453.1089 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2959, 1741, 1598, 1510, 1464, 1372, 1272, 1231, 1209, 1144, 1108, 1081, 968, 934, 839, 731, 622, 589, 572, 555, 527, 476.

(S_P)-79m:

Ausbeute: 51 mg (0.11 mmol, 6%) eines farblosen

Feststoffes. Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{PS}_2$.

Molgewicht: 452.53 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.57. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +90.4^\circ$ (c = 0.5, CHCl_3). Smp.: 98 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.86-7.74

(m, 4H, CH-arom.), 7.53-7.44 (m, 3H, CH-arom.), 5.46 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-P}} = 8.8 \text{ Hz}$,

$^3J_{\text{H-H}} = 8.8 \text{ Hz}$, NH-Ala), 4.65-4.60 (m, 1H, H4), 4.37-4.25 (m, 1H, CH-Ala), 3.73 (s,

3H, $\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 3.07 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-H}} = 11.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-H}} = 8.3 \text{ Hz}$, H5b), 2.93-2.90 (m, 1H,

H5a), 2.40-2.30 (m, 1H, H6), 1.38 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 0.99 (d, 3H,

$^3J_{\text{H-H}} = 6.9 \text{ Hz}$, H7 oder H8), 0.97 (d, 3H, $^3J_{\text{H-H}} = 6.9 \text{ Hz}$, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$

(101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 130.0, 127.9, 127.8, 127.0, 125.9 (C-arom.), 120.7 (d,

$^3J_{\text{C-P}} = 5.4 \text{ Hz}$, C10), 117.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.4 \text{ Hz}$, C14), 74.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.2 \text{ Hz}$, C4), 52.7

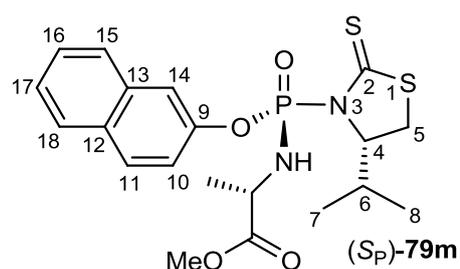
($\text{OCH}_3\text{-Ala}$), 50.4 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 3.0 \text{ Hz}$, CH-Ala), 32.7 (C6), 32.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.7 \text{ Hz}$, C5),

21.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.6 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{-Ala}$), 19.2, 17.1 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3):

δ [ppm] = 1.52. MS (FAB): ber.: 453.1072 ($\text{M} + \text{H}^+$), gef.: 453.1080 ($\text{M} + \text{H}^+$). IR

(ATR): ν [cm^{-1}] = 3321, 2946, 1752, 1597, 1508, 1464, 1406, 1258, 1225, 1110,

1084, 995, 961, 922, 886, 775, 745, 693, 621, 553, 524, 492, 474.



7.3.47 Synthese von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-L-Alanin (**S**)-86

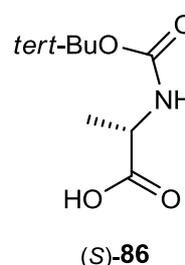
Unter Schutzgasatmosphäre wurde L-Alanin (**S**)-73b (2.50 g, 28.1 mmol) in 67 mL abs. Tetrahydrofuran und 20 mL abs. Methanol suspendiert. Triethylamin (5.98 mL, 42.9 mmol) wurde dazugegeben und die Suspension 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Di-*tert*-butyldicarbonat (6.12 g, 28.1 mmol) gelöst in 8 mL abs. Tetrahydrofuran zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde mit 50 mL einer 10%-igen Kaliumhydrogensulfat-Lösung versetzt und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Ausbeute: 3.101 g (16.39 mmol, 58%). Summenformel: C₈H₁₅NO₄.

Molgewicht: 189.21 g/mol. DC: R_f-Wert

(*n*-Butanol/Essigsäure/Wasser, 4:1:1): 0.72. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +23.4^\circ$

(*c* = 1.0, CHCl₃). Die spektroskopischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.⁹⁰



7.3.48 Synthese von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-L-Alaninbenzylester (**S**)-87

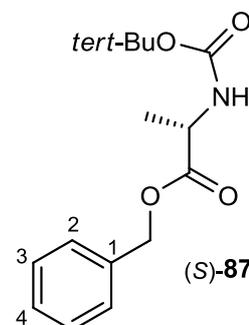
Unter Schutzgasatmosphäre wurden *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-L-Alanin (**S**)-86 (3.032 g, 16.02 mmol), Benzylbromid (2.68 mL, 22.4 mmol), Triethylamin (3.12 mL, 22.4 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (0.592 g, 16.0 mmol) mit 55 mL abs. Tetrahydrofuran versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch getrennt (Petrolether/Ethylacetat, 8:1 bis 4:1).

Ausbeute: 2.748 g (9.837 mmol, 61%). Summenformel:

C₁₅H₂₁NO₄. Molgewicht: 279.33 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 4:1): 0.39. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -8.5^\circ$

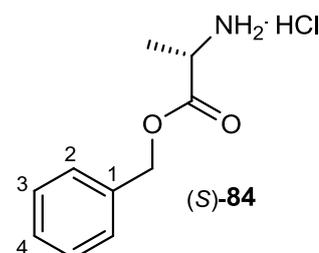
(*c* = 1.0, CHCl₃). Die spektroskopischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.⁹¹



7.3.49 Synthese von (S)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (S)-84

N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-L-Alaninbenzylester (S)-87 (2.265 g, 8.109 mmol) wurde in 30 mL Ethylacetat (HPLC-grade) gelöst. Es wurde HCl (g) in die Lösung für 2 h eingeleitet. Die HCl-Darstellung erfolgte *in situ* mit 8 g Ammoniumchlorid und 8 mL Schwefelsäure.

Ausbeute: 1.787 g (8.286 mmol, quant.). Summenformel: C₁₀H₁₄ClNO₂. Molgewicht: 215.68 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 4:1): 0.0. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -13.1^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). Die spektroskopischen Daten stimmen mit den Literaturdaten überein.⁶⁸



7.3.50 Synthese von 2-Methylphenyl-N-[(S)-benzylalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-85b, (S_P)-85b

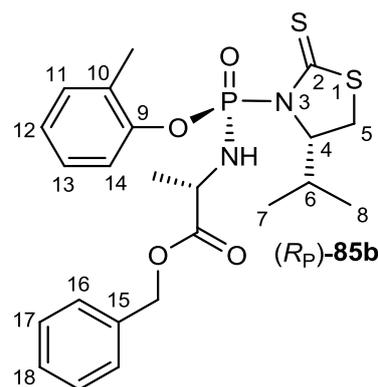
Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 2-Methylphenyl-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65b** (0.523 g, 1.49 mmol), (S)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (S)-84 (0.32 g, 1.49 mmol) und Triethylamin (0.62 mL, 4.5 mmol) in 2.1 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-85b:

Ausbeute: 0.405 g (0.822 mmol, 55%). Summenformel: C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.56. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +131.9^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.37-7.27 (m, 6H, CH-arom.), 7.19-7.02 (m, 3H, CH-arom.), 5.27 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.5 Hz, ³J_{H-H} = 8.5 Hz, NH-Ala), 5.14-4.99 (m, 3H, H4, CH₂-Bn), 4.31-4.16 (m, 1H, CH-Ala), 3.66 (dd,

1H, ²J_{H-H} = 11.3 Hz, ³J_{H-H} = 9.5 Hz, H5b), 3.21-3.14 (m, 1H, H5a), 2.57-2.46 (m, 1H, H6), 2.34 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.44 (d, ³J_{H-H} = 7.3 Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.08 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, H7 oder H8), 1.04 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 204.5 (d, ²J_{C-P} = 6.4 Hz, C2), 172.5 (d, ³J_{C-P} = 11.9 Hz, CO₂Bn-Ala), 149.1 (d, ²J_{C-P} = 7.4 Hz, C9), 135.4 (C10), 131.6 (C11), 129.7 (d, J_{C-P} = 7.2 Hz, C-arom., quartär), 128.7, 128.5, 128.2, 126.9, 125.2 (C-arom.), 120.3



(d, $^3J_{C-P} = 3.7$ Hz, C14), 75.2 (d, $^2J_{C-P} = 7.3$ Hz, C4), 67.3 (CH₂-Bn), 50.9 (d, $^2J_{C-P} = 2.8$ Hz, CH-Ala), 32.2 (C6), 31.2 (d, $^3J_{C-P} = 8.2$ Hz, C5), 20.6 (d, $^3J_{C-P} = 1.8$ Hz, CH₃-Ala), 19.1 (C7), 17.1 (CH₃-Ph), 16.0 (C8). $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -0.95. MS (ESI): ber.: 515.1204 (M + Na⁺), gef.: 515.1198 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2962, 1740, 1491, 1373, 1269, 1235, 1224, 1177, 1142, 1105, 1082, 990, 934, 757, 734, 697, 605, 574, 518.

(S_P)-85b:

Ausbeute: 0.118 g (0.239 mmol, 16%). Summenformel:

C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.61. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = +74.5^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃). $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.38-7.31 (m, 5H, CH-arom.),

7.22-7.03 (m, 4H, CH-arom.), 5.45 (dd, $^2J_{H-P} = 8.6$ Hz,

$^3J_{H-H} = 8.6$ Hz, 1H, NH-Ala), 5.16 (s, 2H, CH₂-Bn),

4.79-4.72 (m, 1H, H4), 4.39-4.28 (m, 1H, CH-Ala), 3.46 (dd, $^2J_{H-H} = 11.6$ Hz,

$^3J_{H-H} = 8.4$ Hz, 1H, H5b), 3.06-3.00 (m, 1H, H5a), 2.37-2.33 (m, 1H, H6), 2.35 (s, 3H,

CH₃-Ph), 1.40 (d, $^3J_{H-H} = 7.3$ Hz, 3H, CH₃-Ala), 0.96 (d, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, 3H, H7 oder

H8), 0.95 (d, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, 3H, H7 oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃):

204.4 (d, $^2J_{C-P} = 5.1$ Hz, C2), 172.8 (d, $^3J_{C-P} = 9.4$ Hz, CO₂Bn-Ala), 148.9 (d,

$^2J_{C-P} = 7.3$ Hz, C9), 135.5 (C10), 131.9 (C11), 130.3 (d, $J_{C-P} = 6.5$ Hz, C-arom.,

quartär), 128.7, 128.5, 128.3, 126.8 (C-arom.), 125.3 (d, $^5J_{C-P} = 1.5$ Hz, C12), 119.7

(d, $^3J_{C-P} = 2.9$ Hz, C14), 74.8 (d, $^2J_{C-P} = 6.6$ Hz, C4), 67.3 (CH₂-Bn), 50.5 (d,

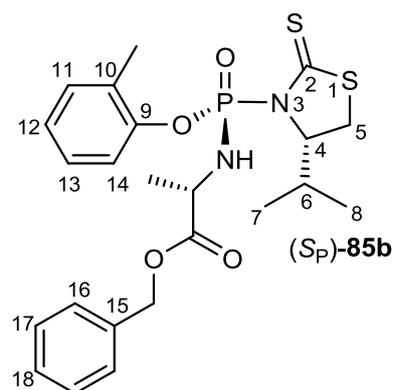
$^2J_{C-P} = 3.7$ Hz, CH-Ala), 32.7 (C6), 32.3 (d, $^3J_{C-P} = 8.0$ Hz, C5), 21.8 (d,

$^3J_{C-P} = 4.4$ Hz, CH₃-Ala), 19.2 (C7), 16.9 (C8), 16.2 (CH₃-Ph). $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm]

(162 MHz, CDCl₃): 0.65. MS (FAB): ber. 493.1385 (M + H⁺), gef.: 493.1379 (M + H⁺).

IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2964, 1742, 1586, 1492, 1456, 1407, 1393, 1374, 1314, 1272,

1233, 1179, 1140, 1109, 1081, 989, 932, 848, 803, 758, 698, 606, 524.



7.3.51 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(2-methylphenyl)-(benzylalaninyl)phosphoramidat (S_P)-89b

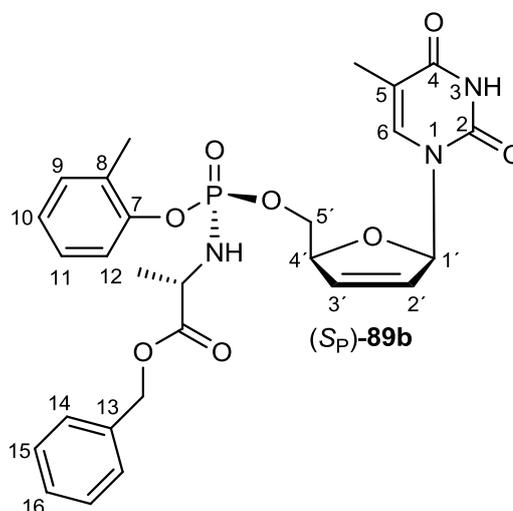
Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 2-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-benzylalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-85b (0.22 g, 0.44 mmol), d4T 1 (0.15 g, 0.66 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.78 mL, 1.3 mmol) und

5.9 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 27 mg (0.049 mmol, 11%) einer farblosen Warte. Summenformel: C₂₇H₃₀N₃O₈P. Molgewicht: 555.52 g/mol. DC: R_f-Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1) 0.4. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = -26.2^\circ$ (c = 0.1, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.32$ (brs, 1H, NH-Th), 7.39-7.28 (m, 6H, CH-arom., H6), 7.24-6.98 (m, 5H, CH-arom., H1'), 6.37-6.28 (m, 1H, H2'), 5.93-5.83 (m, 1H, H3'), 5.17 (d, 1H, ²J_{H-H} = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 5.12 (d, 1H,

²J_{H-H} = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 5.03-4.94 (m, 1H, H4'), 4.39-4.18 (m, 2H, H5'), 4.13-3.99 (m, 1H, CH-Ala), 3.58 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 10.1 Hz, ³J_{H-H} = 10.1 Hz, NH-Ala), 2.24 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.75 (s, 3H, CH₃-Th), 1.35 (d, 3H, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, CH₃-Ala). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 173.5 (d, ³J_{C-P} = 6.6 Hz, CO₂Bn-Ala), 163.5 (C4), 150.8 (C2), 135.9 (C6), 135.3 (C8), 133.6 (C2'), 131.6 (C-arom.), 129.3 (d, J_{C-P} = 5.8 Hz, C-arom., quartär), 128.8 (d, ⁴J_{C-P} = 9.4 Hz, C11), 128.4 (C-arom.), 127.5 (C3'), 127.2, 125.3 (C-arom.), 119.9 (d, ³J_{C-P} = 2.2 Hz, C12), 111.5 (C5), 89.9 (C1'), 84.8 (d, ³J_{C-P} = 8.1 Hz, C4'), 67.6 (CH₂-Bn), 66.9 (d, ²J_{C-P} = 4.9 Hz, C5'), 50.5 (CH-Ala), 21.2 (d, ³J_{C-P} = 5.1 Hz, CH₃-Ala), 16.6 (CH₃-Ph), 12.3 (CH₃-Th). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 2.95. MS (ESI): ber.: 578.1672 (M + Na⁺), gef.: 578.1667 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2949, 2821, 1685, 1493, 1455, 1243, 1229, 1183, 1146, 1110, 1085, 1033, 1015, 996, 931, 837, 803, 781, 756, 697, 575, 546, 519, 488, 418. HPLC: t_R = 35.7 min (Methode I).



7.3.52 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(2-methylphenyl)-(benzylalaninyl)phosphoramidat (Rp)-89b

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 2-Methylphenyl-N-[(S)-benzylalaninyl]-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (Sp)-85b (74 mg, 0.15 mmol), d4T 1 (50 mg, 0.22 mmol), tert-Butylmagnesiumchlorid (0.26 mL, 0.45 mmol) und 1.9 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 19 mg (0.033 mmol, 22%) einer farblosen Warte. Summenformel:

$C_{27}H_{30}N_3O_8P$. Molgewicht: 555.52 g/mol. DC:

R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1) 0.6.

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -13.8^\circ$ ($c = 0.1$, $CHCl_3$).

1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.46$

(brs, 1H, NH -Th), 7.39-7.27 (m, 6H, CH -arom.),

7.22-7.19 (m, 1H, H6), 7.18-7.02 (m, 4H,

CH -arom.), 6.99-6.95 (m, 1H, H1'), 6.23-6.17

(m, 1H, H2'), 5.88-5.81 (m, 1H, H3'), 5.10 (d,

1H, $^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 5.05 (d, 1H, $^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 4.94-4.88 (m,

1H, H4'), 4.24-4.18 (m, 2H, H5'), 4.10-3.98 (m, 1H, CH -Ala), 3.72 (dd, 1H,

$^2J_{H-P} = 10.4$ Hz, $^3J_{H-H} = 10.4$ Hz, NH -Ala), 2.26 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.83 (s, 3H, CH_3 -Th),

1.39 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.9$ Hz, CH_3 -Ala). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 173.3 (d,

$^3J_{C-P} = 7.3$ Hz, CO_2 Bn-Ala), 163.6 (C4), 150.8 (C2), 149.1 (C7), 135.6 (C6), 135.2

(C8), 133.3 (C2'), 131.6 (C-arom.), 129.2 (d, $J_{C-P} = 6.5$ Hz, C-arom., quartär), 128.8

(d, $^4J_{C-P} = 7.3$ Hz, C11), 128.4 (C-arom.), 127.5 (C3'), 127.2, 125.3 (C-arom.), 119.9

(d, $J_{C-P} = 2.7$ Hz, C-arom.), 111.6 (C5), 90.0 (C1'), 84.7 (d, $^3J_{C-P} = 8.2$ Hz, C4'), 67.5

(CH_2 -Bn), 67.4 (d, $^2J_{C-P} = 5.5$ Hz, C5'), 50.4 (d, $^2J_{C-P} = 1.8$ Hz, CH -Ala), 21.2 (d,

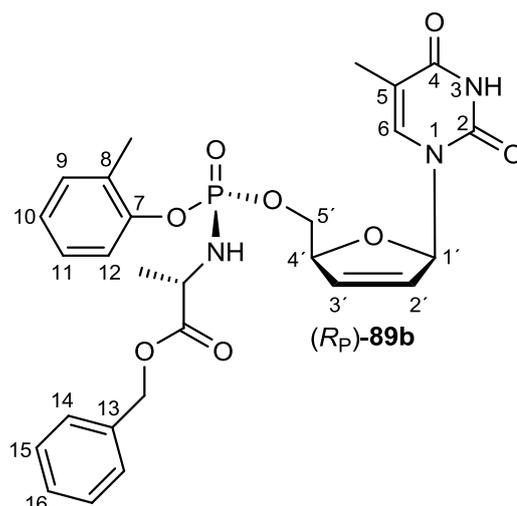
$^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 16.5 (CH_3 -Ph), 12.5 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz,

$CDCl_3$): 2.95, 2.59 ($d.r. = 1:12$, 85% $d.e.$). MS (ESI): ber.: 578.1663 ($M + Na^+$),

gef.: 578.1651 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2987, 2972, 2901, 1685, 1493, 1453,

1406, 1394, 1382, 1242, 1228, 1183, 1145, 1108, 1079, 1066, 1045, 933, 881, 756,

697, 488, 419. HPLC: $t_R = 36.6$ min (Methode I).



7.3.53 Synthese von 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-benzylalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-85d, (*S_P*)-85d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 4-Methylphenyl-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65d** (0.72 g, 2.0 mmol), (*S*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*S*)-**84** (0.44 g, 2.0 mmol) und Triethylamin (0.85 mL, 6.1 mmol) in 2.9 mL abs. Dichlormethan.

(R_P)-85d:

Ausbeute: 0.703 g (1.43 mmol, 70%). Summenformel:

C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.69. Drehwert:

[α]_D²⁰ = +75.4 ° (c = 1.0, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.38-7.31 (m, 3H, CH-arom.),

7.31-7.27 (m, 2H, CH-arom.), 7.20-7.14 (m, 2H,

CH-arom.), 7.11-7.04 (m, 2H, CH-arom.), 5.17-5.07 (m,

3H, NH-Ala, CH₂-Bn), 4.98-4.89 (m, 1H, H4), 4.31-4.15

(m, 1H, CH-Ala), 3.63 (dd, 1H, ²J_{H-H} = 11.6 Hz, ³J_{H-H} = 9.6 Hz, H5b), 3.14-3.08 (m,

1H, H5a), 2.39-2.32 (m, 1H, H6), 2.30 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.44 (d, ³J_{H-H} = 7.4 Hz, 3H,

CH₃-Ala), 0.98 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, H7 oder H8), 0.88 (d, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, 3H, H7

oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 135.5, 135.2 (d, J_{C-P} = 1.4 Hz,

C-arom., quartär), 130.2 (C-arom., quartär), 128.7, 128.5, 128.2 (C-arom.), 120.8 (d,

³J_{C-P} = 4.4 Hz, C10), 75.1 (d, ²J_{C-P} = 7.3 Hz, C4), 67.3 (CH₂-Bn), 50.8 (d,

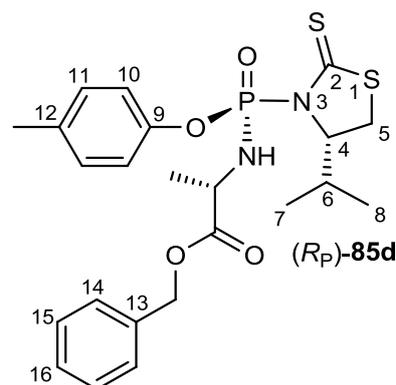
²J_{C-P} = 2.9 Hz, CH-Ala), 33.3 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 8.1 Hz, C5), 20.9 (CH₃-Ph), 20.7

(d, ³J_{C-P} = 2.2 Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.7 (C7, C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz,

CDCl₃): -0.84. MS (FAB): ber.: 492.1306, gef.: 492.1299. IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961,

1739, 1504, 1271, 1233, 1197, 1139, 1107, 1079, 990, 821, 696, 591, 573, 557, 514,

495.


(S_P)-85d:

Ausbeute: 55 mg (0.11 mmol, 5%). Summenformel:

C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_f-Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.73. Drehwert:

[α]_D²⁰ = +78.8 ° (c = 0.26, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm]

(400 MHz, CDCl₃): 7.32-7.24 (m, 5H, CH-arom.),

7.14-7.09 (m, 2H, CH-arom.), 7.08-7.02 (m, 2H,

CH-arom.), 5.34 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 8.3 Hz,

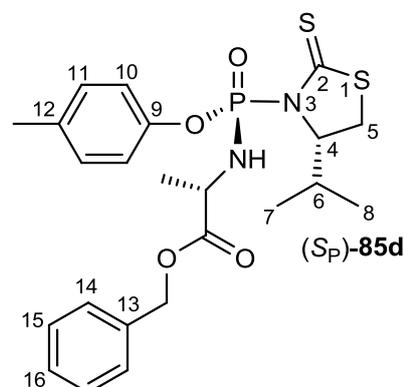
³J_{H-H} = 8.3 Hz, NH-Ala), 5.09 (s, 2H, CH₂-Bn),

4.54-4.46 (m, 1H, H4), 4.31-4.19 (m, 1H, CH-Ala), 3.08 (dd, ²J_{H-H} = 11.4 Hz,

³J_{H-H} = 8.3 Hz, 1H, H5b), 2.89-2.83 (m, 1H, H5a), 2.25 (s, 3H, CH₃-Ph), 2.24-2.15 (m,

1H, H6), 1.32 (d, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, 3H, CH₃-Ala), 0.85 (d, ³J_{H-H} = 6.8 Hz, 3H, H7 oder

H8), 0.83 (d, ³J_{H-H} = 7.0 Hz, 3H, H7 oder H8). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃):



130.3, 128.8, 128.6, 128.4 (C-arom.), 120.7 (d, $^3J_{C-P} = 5.4$ Hz, C10), 74.8 (d, $^2J_{C-P} = 6.4$ Hz, C4), 67.3 (CH₂-Bn), 50.5 (d, $^2J_{C-P} = 3.6$ Hz, CH-Ala), 32.6 (d, $^3J_{C-P} = 7.3$ Hz, C5), 32.5 (C6), 21.8 (d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH₃-Ala), 20.9 (CH₃-Ph), 19.2, 17.1 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 1.44. MS (ESI): ber.: 515.1199 (M + Na⁺), gef.: 515.1197 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961, 2929, 1741, 1504, 1455, 1408, 1373, 1313, 1271, 1232, 1197, 1136, 1109, 1079, 987, 940, 918, 822, 736, 696, 591, 577, 559, 541, 509.

7.3.54 Synthese von 4-Methylphenyl-*N*-[(*R*)-benzylalaninyl]-[(*S*)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R*_C, *R*_P)-85d, (*R*_C, *S*_P)-85d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 4 mit 4-Methylphenyl-[(*S*)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]phosphorchloridat **65d** (1.59 g, 4.55 mmol), (*R*)-Alaninbenzylester-Hydrochlorid (*R*)-**84** (0.98 g, 4.5 mmol) und Triethylamin (1.90 mL, 13.6 mmol) in 6.5 mL abs. Dichlormethan.

(*R*_C, *R*_P)-85d:

Ausbeute: 1.535 g (3.12 mmol, 68%). Summenformel:

C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_F-Wert

(Dichlormethan): 0.17. $^1\text{H-NMR}$: δ [ppm] (400 MHz,

CDCl₃): 7.39-7.31 (m, 5H, *CH*-arom.), 7.21-7.16 (m, 2H,

CH-arom.), 7.13-7.08 (m, 2H, *CH*-arom.), 5.18 (d, 1H,

$^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH₂-Bn), 5.13 (d, 1H, $^2J_{H-H} = 12.6$ Hz,

CH₂-Bn), 5.08 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 9.0$ Hz, $^3J_{H-H} = 6.5$ Hz,

NH-Ala), 4.78-4.71 (m, 1H, H4), 4.28-4.16 (m, 1H,

CH-Ala), 3.49 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.3$ Hz, $^3J_{H-H} = 9.6$ Hz, H5b),

3.02-2.96 (m, 1H, H5a),

2.32 (s, 3H, CH₃-Ph), 2.29-2.22 (m, 1H, H6), 1.34 (dd, $^3J_{H-P} = 9.0$ Hz, $^3J_{H-H} = 7.0$ Hz,

3H, CH₃-Ala), 0.94 (d, $^3J_{H-H} = 7.0$ Hz, 3H, H7 oder H8), 0.81 (d, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, 3H, H7

oder H8). $^{13}\text{C-NMR}$: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 204.9 (d, $^2J_{C-P} = 6.4$ Hz, C2), 173.1

(d, $^3J_{C-P} = 3.7$ Hz, CO₂Bn-Ala), 147.1 (d, $J_{C-P} = 8.2$ Hz, C-arom., quartär), 135.3

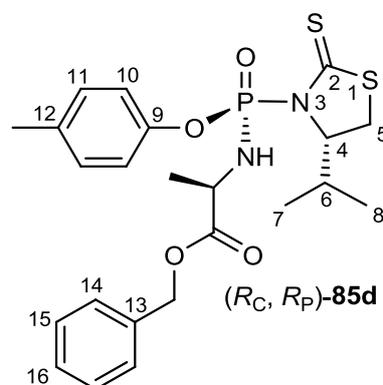
(C-arom., quartär), 135.2 (d, $J_{C-P} = 1.9$ Hz, C-arom., quartär), 130.2, 128.7, 128.5,

128.2 (C-arom.), 120.9 (d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, C10), 75.1 (d, $^2J_{C-P} = 6.4$ Hz, C4), 67.4

(CH₂-Bn), 50.8 (CH-Ala), 33.3 (C6), 31.2 (d, $^3J_{C-P} = 8.4$ Hz, C5), 20.9 (CH₃-Ph), 20.1

(d, $^3J_{C-P} = 9.3$ Hz, CH₃-Ala), 19.1, 15.7 (C7, C8). $^{31}\text{P-NMR}$: δ [ppm] (162 MHz,

CDCl₃): 1.16, 0.18 (*d.r.* = 1:7, 75% *d.e.*). MS (FAB): ber.: 493.1385 (M + H⁺),



gef.: 493.1399 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961, 2874, 1740, 1504, 1373, 1269, 1235, 1213, 1198, 1138, 1108, 1080, 990, 927, 822, 733, 696, 594, 573, 558, 514, 495.

(R_C, S_P)-85d:

Ausbeute: 0.213 g (0.432 mmol, 9%). Summenformel:

C₂₃H₂₉N₂O₄PS₂. Molgewicht: 492.59 g/mol. DC: R_f-Wert

(Dichlormethan): 0.50. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +111.7^\circ$

(c = 0.5, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃):

7.39-7.30 (m, 5H, CH-arom.), 7.22-7.16 (m, 2H, CH-arom.),

7.14-7.08 (m, 2H, CH-arom.), 5.18 (d, 1H, ²J_{H-H} = 12.6 Hz, CH₂-Bn),

5.14 (d, 1H, ²J_{H-H} = 12.3 Hz, CH₂-Bn),

5.08 (dd, 1H, ²J_{H-P} = 9.5 Hz, ³J_{H-H} = 6.9 Hz,

NH-Ala), 4.79-4.72 (m, 1H, H4), 4.28-4.17 (m, 1H, CH-Ala), 3.50 (dd, ²J_{H-H} = 11.3 Hz,

³J_{H-H} = 9.8 Hz, 1H, H5b), 3.02-2.96 (m, 1H, H5a), 2.32 (s, 3H, CH₃-Ph),

2.30-2.22 (m, 1H, H6), 1.34 (dd, ³J_{H-H} = 7.1 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.4 Hz, 3H, CH₃-Ala),

0.94 (d, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, 3H, H7 oder H8), 0.82 (d, ³J_{H-H} = 6.9 Hz, 3H, H7 oder H8).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 130.2, 128.8, 128.5, 128.2 (C-arom.),

120.9 (d, ³J_{C-P} = 4.6 Hz, C10), 75.1 (d, ²J_{C-P} = 7.2 Hz, C4), 67.4 (CH₂-Bn),

50.9 (CH-Ala), 33.2 (C6), 31.2 (d, ³J_{C-P} = 8.2 Hz, C5),

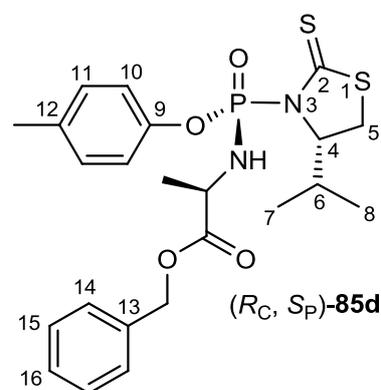
20.9 (CH₃-Ph), 20.1 (d, ³J_{C-P} = 9.1 Hz, CH₃-Ala), 19.2, 15.8 (C7,

C8). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 0.18. MS (ESI): ber.: 515.1199 (M + Na⁺),

gef.: 515.1190 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2961, 1740, 1504, 1455, 1373, 1316,

1268, 1235, 1213, 1199, 1138, 1108, 1080, 1018, 989, 927, 822, 731, 696, 594, 573,

558, 515, 496.



(R_C, S_P)-85d

7.3.55 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(benzylalaninyl)phosphoramidat (S_P)-89d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-benzylalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R_P*)-85d (0.16 g, 0.33 mmol), d4T 1 (0.11 g, 0.49 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.57 mL, 0.98 mmol) und 4.36 mL abs. THF/CH₃CN.

Ausbeute: 26 mg (0.046 mmol, 14%) einer farblosen Watte. Summenformel: $C_{27}H_{30}N_3O_8P$.

Molgewicht: 555.52 g/mol. DC: R_f -Wert

(Dichlormethan/Methanol, 9:1) 0.5. Drehwert:

$[\alpha]_{589}^{20} = -8.4^\circ$ ($c = 0.3$, $CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm]

(400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.49$ (brs, 1H, *NH*-Th),

7.38-7.28 (m, 6H, *CH*-arom., H6), 7.10-6.98

(m, 5H, *CH*-arom., H1'), 6.33-6.29 (m, 1H, H2'),

5.87-5.82 (m, 1H, H3'), 5.14 (d, 1H,

$^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 5.10 (d, 1H,

$^2J_{H-H} = 12.5$ Hz, CH_2 -Bn), 4.99-4.94 (m, 1H, H4'), 4.36-4.21 (m, 2H, H5'), 4.08-3.96

(m, 1H, *CH*-Ala), 3.60 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 10.8$ Hz, $^3J_{H-H} = 10.8$ Hz, *NH*-Ala), 2.29 (s, 3H,

CH_3 -Ph), 1.79 (s, 3H, CH_3 -Th), 1.32 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.1$ Hz, CH_3 -Ala). ^{13}C -NMR:

δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 173.4 (d, $^3J_{C-P} = 7.7$ Hz, CO_2 Bn-Ala), 163.6 (C4), 150.8

(C2), 136.0 (C6), 135.4 (C-arom., quartär), 135.0 (d, $J_{C-P} = 1.5$ Hz, C-arom., quartär),

133.5 (C2'), 130.3 (C-arom.), 128.8 (d, $^4J_{C-P} = 10.8$ Hz, C9), 128.7 (C-arom.), 127.5

(C3'), 120.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.7$ Hz, C8), 111.4 (C-arom., quartär), 89.8 (C1'), 84.9 (d,

$^3J_{C-P} = 8.4$ Hz, C4'), 67.5 (CH_2 -Bn), 66.7 (d, $^2J_{C-P} = 4.6$ Hz, C5'), 50.5 (*CH*-Ala), 21.1

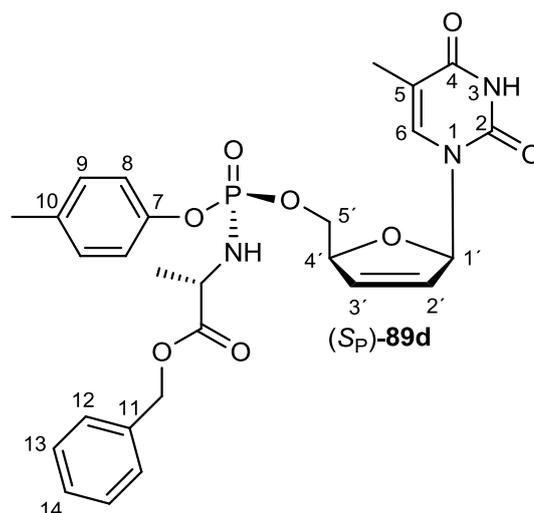
(d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, CH_3 -Ala), 20.8 (CH_3 -Ph), 12.4 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm]

(162 MHz, $CDCl_3$): 3.18, 2.26 (*d.r.* = 33:1, 94% *d.e.*). MS (ESI): ber.: 578.1663

($M + Na^+$), gef.: 578.1660 ($M + Na^+$). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 1687, 1507, 1452, 1243,

1219, 1146, 1109, 1086, 1035, 1015, 996, 927, 823, 781, 697, 488, 397. HPLC:

$t_R = 36.1$ min (Methode I).



7.3.56 Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-didehydrothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(benzylalaninyl)phosphoramidat (*R_P*)-89d

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-benzylalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*S_P*)-85d (0.11 g, 0.24 mmol), d4T 1 (79 mg, 0.35 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.41 mL, 0.71 mmol) und 3.14 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 58 mg (0.10 mmol, 44%) einer farblosen Warte. Summenformel:

$C_{27}H_{30}N_3O_8P$. Molgewicht: 555.52 g/mol.

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

0.6. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -6.9^\circ$ ($c = 0.3$,

$CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz,

$CDCl_3$): $\delta = 8.01$ (brs, 1H, NH-Th),

7.40-7.29 (m, 5H, CH-arom.), 7.25-7.22

(m, 1H, H6), 7.12-7.02 (m, 4H, CH-arom.),

7.00-6.95 (m, 1H, H1'), 6.22-6.17 (m, 1H,

H2'), 5.88-5.82 (m, 1H, H3'), 5.15 (d, 1H, $^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 5.15 (d, 1H,

$^2J_{H-H} = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 4.97-4.90 (m, 1H, H4'), 4.29-4.15 (m, 2H, H5'), 4.07-3.95

(m, 1H, CH-Ala), 3.56 (dd, 1H, $^2J_{H-P} = 11.1$ Hz, $^3J_{H-H} = 9.7$ Hz, NH-Ala), 2.30 (s, 3H,

CH_3 -Ph), 1.84 (d, 3H, $^4J_{H-H} = 1.0$ Hz, CH_3 -Th), 1.36 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.1$ Hz, CH_3 -Ala).

^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 135.8 (C-arom.), 133.3 (C2'), 130.4 (C-arom.),

128.8 (d, $^4J_{C-P} = 5.9$ Hz, C9), 128.5 (C-arom.), 127.6 (C3'), 119.9 (d, $^3J_{C-P} = 4.4$ Hz,

C8), 89.9 (C1'), 84.8 (d, $^3J_{C-P} = 8.1$ Hz, C4'), 67.6 (CH_2 -Bn), 67.2 (d, $^2J_{C-P} = 5.8$ Hz,

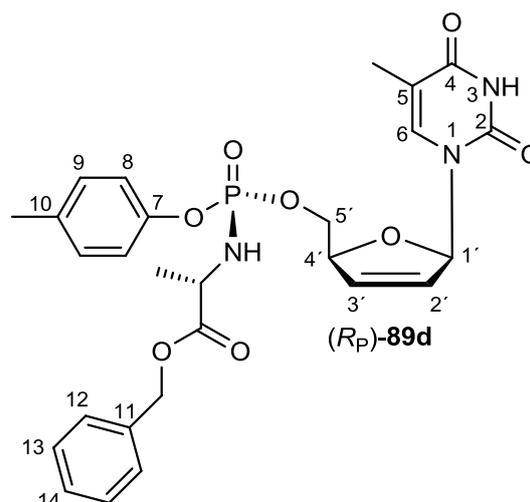
C5'), 50.4 (d, $^2J_{C-P} = 1.4$ Hz, CH-Ala), 21.2 (d, $^3J_{C-P} = 4.4$ Hz, CH_3 -Ala), 20.9

(CH_3 -Ph), 12.5 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): 2.62. MS (ESI):

ber.: 578.1663 (M + Na⁺), gef.: 578.1664 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2987, 2926,

1686, 1507, 1454, 1245, 1219, 1145, 1109, 1084, 1066, 1037, 1016, 998, 928, 822,

781, 753, 738, 697, 575, 488, 418. HPLC: $t_R = 36.7$ min (Methode I).



7.3.57 Synthese von 3'-Desoxy-3'-azidothymidin-5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (Sp)-16

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (*R*_P)-79d (0.15 g, 0.36 mmol), AZT 15 (0.14 g, 0.55 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.64 mL, 1.0 mmol) und 4.8 mL abs. THF/ CH_3CN .

Ausbeute: 14 mg (0.028 mmol, 11%) einer farblosen Watte. Summenformel:

$C_{21}H_{27}N_6O_8P$. Molgewicht: 522.45 g/mol.

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

0.5. Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = +21.7^\circ$ ($c = 0.1$,

$CHCl_3$). 1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz,

$CDCl_3$): 8.41 (brs, 1H, *NH*-Th), 7.36 (d, 1H,

$^4J_{H-H} = 1.2$ Hz, H6), 7.15-7.04 (m, 4H,

CH-arom.), 6.21 (dd, 1H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, H1'), 4.38-4.31 (m, 3H, H4',

H5'), 4.12-4.00 (m, 2H, H3', *CH*-Ala), 3.71 (s, 3H, OCH_3 -Ala), 3.63 (dd, 1H,

$^2J_{H-P} = 10.1$ Hz, $^3J_{H-H} = 10.1$ Hz, *NH*-Ala), 2.40-2.33 (m, 1H, H2'a), 2.31 (s, 3H,

CH_3 -Ph), 2.20-2.11 (m, 1H, H2'b), 1.90 (s, 3H, CH_3 -Th), 1.36 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.2$ Hz,

CH_3 -Ala). ^{13}C -NMR: δ [ppm] (101 MHz, $CDCl_3$): 135.4 (C6), 130.4 (C9), 119.9 (d,

$^3J_{C-P} = 4.4$ Hz, C8), 84.9 (C1'), 82.6 (d, $^4J_{C-P} = 7.3$ Hz, C3'), 65.8 (d, $^2J_{C-P} = 5.1$ Hz,

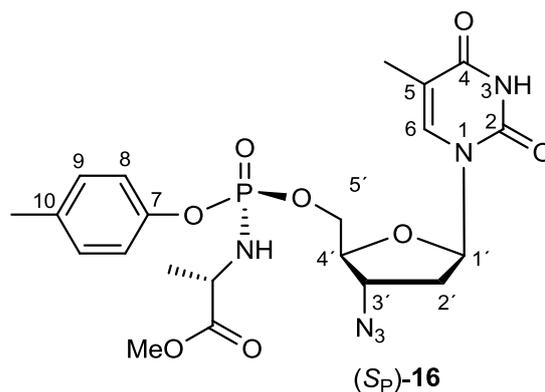
C5'), 60.5 (C4'), 52.8 (OCH_3 -Ala), 50.5 (d, $^2J_{C-P} = 1.5$ Hz, *CH*-Ala), 37.5 (C2'), 21.1

(d, $^3J_{C-P} = 4.3$ Hz, CH_3 -Ala), 20.8 (CH_3 -Ph), 12.6 (CH_3 -Th). ^{31}P -NMR: δ [ppm]

(162 MHz, $CDCl_3$): 2.92. MS (ESI): ber.: 523.1628 ($M + H^+$), gef.: 523.1697 ($M + H^+$).

IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2102, 1682, 1507, 1466, 1253, 1206, 1150, 1102, 1049, 1012,

927, 823, 558, 491, 417. HPLC: $t_R = 31.9$ min (Methode I).



7.3.58 Synthese von 3'-Desoxyuridin 5'-(4-methylphenyl)-(methoxyalaninyl)phosphoramidat (S_P)-92

Die Darstellung erfolgte nach AAV 5 mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(*S*)-4-*iso*-propylthiazolidin-2-thion]phosphordiamidat (R_P)-**79d** (0.10 g, 0.24 mmol), ddU **91** (78 mg, 0.37 mmol), *tert*-Butylmagnesiumchlorid (0.43 mL, 0.73 mmol) und 3.2 mL abs. THF/ CH_3CN .

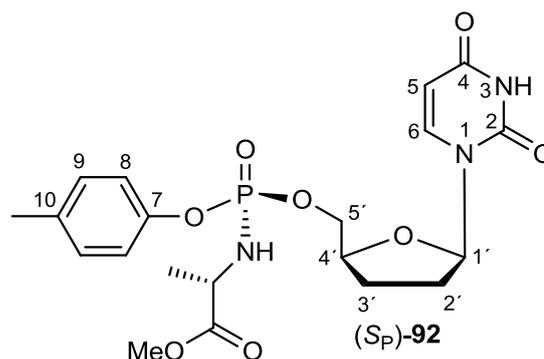
Ausbeute: 12 mg (0.026 mmol, 10%) einer farblosen Watte. Summenformel:

$C_{20}H_{26}N_3O_8P$. Molgewicht: 467.41 g/mol. DC:

R_f -Wert (Dichlormethan/Methanol, 9:1): 0.4.

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{20} = -6.0^\circ$ ($c = 0.3$, $CHCl_3$).

1H -NMR: δ [ppm] (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.69$



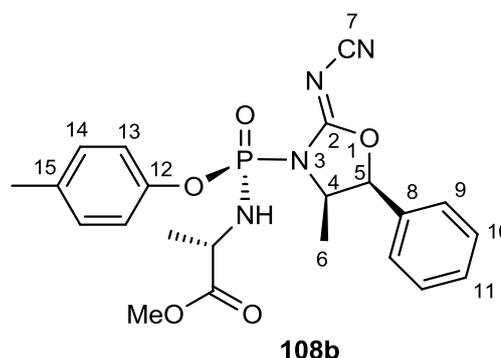
(brs, 1H, *NH-U*), 7.63 (d, 1H, $^3J_{H-H} = 8.2$ Hz, H6), 7.13-7.04 (m, 4H, *CH*-arom.), 6.09-6.04 (m, 1H, H1'), 5.69-5.62 (m, 1H, H5), 4.42-4.35 (m, 1H, H5'a), 4.32-4.26 (m, 1H, H4'), 4.25-4.19 (m, 1H, H5'b), 4.08-3.99 (m, 1H, *CH*-Ala), 3.71 (s, 4H, *OCH*₃-Ala, *NH*-Ala), 2.41-2.33 (m, 1H, H2'a), 2.30 (s, 3H, *CH*₃-Ph), 2.09-2.02 (m, 1H, H3'), 2.01-1.88 (m, 1H, H2'b), 1.36 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 7.0$ Hz, *CH*₃-Ala). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 174.1 (*CO*₂Me-Ala), 163.2 (C2), 150.3 (C4), 139.9 (C6), 134.9 (C10), 130.4 (C9), 119.8 (d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, C8), 102.2 (C5), 86.2 (C1'), 79.1 (d, $^3J_{C-P} = 8.3$ Hz, C4'), 67.1 (d, $^2J_{C-P} = 5.5$ Hz, C5'), 52.7 (*OCH*₃-Ala), 50.5 (*CH*-Ala), 32.4 (C2'), 25.3 (C3'), 21.1 (d, $^3J_{C-P} = 4.6$ Hz, *CH*₃-Ala). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 2.90. MS (ESI): ber.: 490.1356 (M + Na⁺), gef.: 490.1352 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 1678, 1507, 1459, 1378, 1263, 1216, 1151, 1099, 1044, 1003, 926, 818, 555, 521, 419. HPLC: t_R = 27.4 min (Methode I).

7.3.59 Synthese von 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]-[(4*R*,5*S*)-4-methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin-3-yl]phosphordiamidat 108a, 108b

Es wurde (4*R*,5*S*)-4-Methyl-5-phenyl-2-(*N*-cyanimino)oxazolidin (4*R*,5*S*)-**57** (0.42 g, 2.1 mmol, 1.0 Äq.) in 10 mL abs. Dichlormethan suspendiert, mit Triethylamin (0.35 mL, 2.5 mmol, 1.2 Äq.) versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension zu einer Lösung mit 4-Methylphenyl-*N*-[(*S*)-methoxyalaninyl]phosphorchloridat **14** (0.60 g, 2.1 mmol, 1.0 Äq.) in 15 mL abs. Dichlormethan gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 1.5:1) gereinigt.

108b:

Ausbeute: 77 mg (0.17 mmol, 8%) eines farblosen Öls. Summenformel: C₂₂H₂₅N₄O₅P. Molgewicht: 456.43 g/mol. DC: R_f-Wert (Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.5. Drehwert: [α]₅₈₉²⁰ = +90.7° (c = 0.5, CHCl₃). ¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.42-7.33 (m, 3H, *CH*-arom.), 7.19-7.10 (m, 6H, *CH*-arom.), 5.98



(d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 1H, H5), 4.69-4.59 (m, 1H, H4), 4.28-4.17 (m, 2H, CH-Ala, NH-Ala), 3.77 (s, 3H, OCH₃-Ala), 2.31 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.47 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.8$ Hz, 3H, CH₃-Ala), 0.60 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 6.8$ Hz, 3H, H6). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 173.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 3.1$ Hz, CO₂Me-Ala), 163.1 (d, $J_{\text{C-P}} = 7.7$ Hz, C-arom.), 147.3 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.7$ Hz, C12), 135.9, 132.4 (C-arom., quartär), 130.4, 129.3, 128.8, 126.0 (C-arom.), 120.8 (d, $J_{\text{C-P}} = 4.6$ Hz, C-arom.), 113.3 (C7), 85.8 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.7$ Hz, C5), 59.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, C4), 52.8 (OCH₃-Ala), 50.8 (CH-Ala), 20.9 (CH₃-Ph), 19.9 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 9.2$ Hz, CH₃-Ala), 16.6 (C6). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -2.16. MS (ESI): ber.: 479.1455 (M + Na⁺), gef.: 479.1462 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2988, 2901, 2209, 1742, 1632, 1506, 1456, 1413, 1271, 1250, 1215, 1191, 1145, 1099, 1066, 1056, 1017, 947, 824, 757, 722, 699, 639, 589, 552.

108a:

Ausbeute: 35 mg (0.078 mmol, 4%).

Summenformel: C₂₂H₂₅N₄O₅P. Molgewicht:

456.43 g/mol.

DC: R_f-Wert

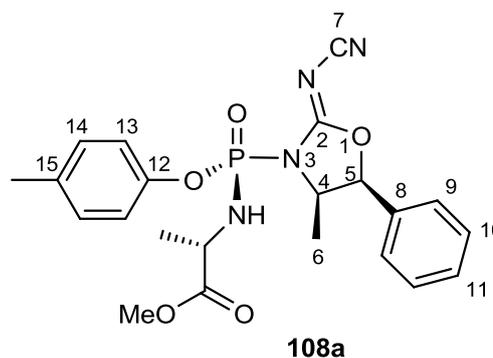
(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.56. Drehwert:

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +190.6^\circ$ (c = 0.28, CHCl₃). ¹H-NMR:

δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.43-7.35 (m, 3H, CH-arom.), 7.23-7.13 (m, 6H, CH-arom.), 5.41

(d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 1H, H5), 4.51-4.42 (m, 1H, H4), 4.42-4.30 (m, 1H, CH-Ala), 4.13 (dd, 1H, $^2J_{\text{H-P}} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 10.4$ Hz, NH-Ala), 3.78 (s, 3H, OCH₃-Ala), 2.35 (s, 3H, CH₃-Ph), 1.42 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, 3H, CH₃-Ala), 1.01 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 6.8$ Hz, 3H, H6).

¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 173.6 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 8.0$ Hz, CO₂Me-Ala), 162.5 (d, $J_{\text{C-P}} = 7.9$ Hz, C-arom.), 147.5 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 7.3$ Hz, C12), 136.0 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.2$ Hz, C-arom.), 131.6 (C-arom., quartär), 130.7, 129.5, 128.9, 125.8 (C-arom.), 120.2 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 5.1$ Hz, C13), 112.8 (C7), 85.5 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.3$ Hz, C5), 60.6 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 2.3$ Hz, C4), 52.8 (OCH₃-Ala), 50.8 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 1.5$ Hz, CH-Ala), 21.1 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.4$ Hz, CH₃-Ala), 20.9 (CH₃-Ph), 16.6 (C6). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -4.37. MS (ESI): ber.: 479.1455 (M + Na⁺), gef.: 479.1454 (M + Na⁺). IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 2987, 2207, 1743, 1629, 1505, 1456, 1411, 1266, 1244, 1190, 1146, 1096, 1068, 1053, 1014, 975, 942, 930, 822, 722, 698, 639, 586, 562, 504, 475.



7.3.60 Synthese von 4-Methylphenyl-bis-[(S)-4-iso-propylthiazolidin-2-thion]-phosphordiamidat **64**

Eine Lösung von 4-Methylphenylphosphordichloridat **12** (0.21 g, 0.93 mmol, 1.0 Äq.) wurde in 3 mL abs. Dichlormethan gelöst. Zur Lösung wurden 4-iso-Propylthiazolidin-2-thion (S)-**51a** (0.30 g, 1.9 mmol, 2.0 Äq.) und 4-(Dimethylamino)-pyridin (68 mg, 0.56 mmol, 0.6 Äq.) gegeben. Triethylamin (0.39 mL, 2.8 mmol, 3.0 Äq.) wurde tropfenweise bei 0 °C hinzugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit 16 mL Diethylether versetzt. Die Mischung wurde filtriert und das Filtrat eingeeengt. Das Rohprodukt wurde in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/Ethylacetat, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.293 g (0.617 mmol, 66%) eines gelben

Feststoffes. Summenformel: $C_{19}H_{27}N_2O_2PS_4$.

Molgewicht: 474.66 g/mol. DC: R_f -Wert

(Petrolether/Ethylacetat, 1:3): 0.6. 1H -NMR: δ [ppm]

(400 MHz, $CDCl_3$): 7.33-7.28 (m, 2H, CH-arom.),

7.18-7.11 (m, 2H, CH-arom.), 5.06-4.92 (m, 2H, H4),

3.94 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.3$ Hz, $^3J_{H-H} = 8.5$ Hz, H5b), 3.72 (dd, 1H, $^2J_{H-H} = 11.3$ Hz,

$^3J_{H-H} = 9.5$ Hz, H5b), 3.21-3.13 (m, 1H, H5a), 2.96-2.91 (m, 1H, H5a), 2.51-2.37 (m,

1H, $CH(CH_3)_2$), 2.34 (s, 3H, CH_3 -Ph), 1.78-1.66 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.16 (d, 3H,

$^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, (CH_3) -iPr), 1.13 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, (CH_3) -iPr), 0.80 (d, 3H,

$^3J_{H-H} = 7.0$ Hz, (CH_3) -iPr), 0.52 (d, 3H, $^3J_{H-H} = 6.8$ Hz, (CH_3) -iPr). ^{13}C -NMR: δ [ppm]

(101 MHz, $CDCl_3$): 130.4 (C-arom.), 121.5 (d, $J_{C-P} = 3.9$ Hz, C-arom.), 77.0 (d,

$^2J_{C-P} = 3.0$ Hz, C4), 76.0 (d, $^2J_{C-P} = 7.7$ Hz, C4), 33.7 ($CH(CH_3)_2$), 33.5 (d,

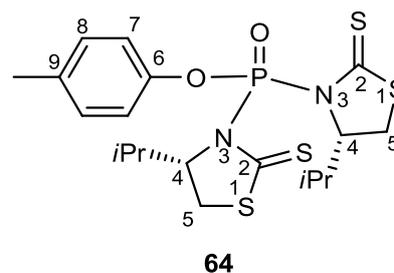
$^3J_{C-P} = 8.3$ Hz, C5), 32.9 ($CH(CH_3)_2$), 30.2 (d, $^3J_{C-P} = 8.5$ Hz, C5), 21.0 (CH_3 -Ph),

19.4, 19.1, 18.0, 15.5 ((CH_3) -iPr). ^{31}P -NMR: δ [ppm] (162 MHz, $CDCl_3$): -12.5. MS

(FAB): ber.: 475.0771 (M + H⁺), gef.: 475.0753 (M + H⁺). IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 2961,

1504, 1364, 1343, 1284, 1222, 1188, 1162, 1128, 1111, 1079, 1022, 990, 951, 936,

862, 825, 596, 570, 508, 497, 467.



7.4. Reaktionsoptimierung

7.4.1 Versuch der Reaktionsoptimierung zur Synthese von Arylphosphoramidat- Pronucleotiden mittels HPLC

Das Ziel der durchgeführten Reaktionsoptimierung war die Erhöhung der chemischen Ausbeute an Phosphoramidat-Pronucleotid. Die Bestimmung der Ausbeute aus der Rohmischung erfolgte mittels analytischer *reversed phase* HPLC. Zuerst wurde eine Verdünnungsreihe des Phosphoramidat-Pronucleotides angefertigt, um eine Kalibriergerade zu erhalten. Die Stammlösung des Pronucleotides war eine 1.0 mM-Lösung in Acetonitril. Die Verdünnung der Stammlösung führte zu 9 weiteren Konzentrationen (bis 0.1 mM). Alle Lösungen wurden durch analytische HPLC gemessen. Die Auftragung der Konzentration gegen die Chromatogrammfläche ergab die erforderliche Kalibriergerade.

Verschiedene Reaktionsparameter der Arbeitsvorschrift AAV 5 wurden geändert. Die Reaktionsmischungen wurden nach der durchgeführten Reaktionszeit in eine gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Anschließend wurde der Rückstand an der Ölpumpe getrocknet. Der Rückstand wurde dann in Acetonitril gelöst, wobei die Konzentration der Lösung 57.8 mM, bezogen auf das Phosphordiamidat, betrug. Es wurden zweimal 10 μL dieser Lösung mit 150 μL Acetonitril verdünnt. Die Lösung wurde einzeln filtriert (Whatman[®] Spartan 13/0.2 RC, 0.2 μm) und der Spritzenfilter mit 50 μL Acetonitril gespült. 10 μL der erhaltenen Lösung wurden durch analytische HPLC gemessen (Methode III). Die Konzentration des Phosphoramidat-Pronucleotides konnte aus der Verdünnungsreihe erhalten werden. Die Berechnung des praktischen Umsatzes erfolgte aus dem y-Wert der Gleichung mal die Verdünnungsfaktoren 16 und 1.3125. Der endgültige Umsatz wurde erhalten in dem der praktische Umsatz geteilt durch die theoretische und mit 100% multipliziert wurde.

7.5. Hydrolyseexperimente

7.5.1 Hydrolyse in humanem Zellextrakt⁷⁶

Es wurden 200 μL Zellextrakt (CEM/0, pH = 6.8) mit 200 μL PBS-Puffer (40 mM, pH = 6.8) versetzt. Die Hydrolyse wurde durch die Zugabe von 200 μL Pronucleotid-Lösung (300 μM in 15% DMSO) und kurzes Durchmischen (Vortex) gestartet. Die Probe wurde bei 37 °C im Thermomixer inkubiert. Nach 0 min, 30 min, 1 h und 2 h wurde die Hydrolyse durch Zugabe von 200 μL kaltem Methanol gestoppt. Die Probe wurde dann für 5 min bei 0 °C gelagert und für 10 min bei 13000 rpm zentrifugiert. Der Überstand wurde filtriert (Whatman[®] Spartan 13/0.2 RC, 0.2 μm) und mittels analytischer *reversed phase* HPLC untersucht (Injektion: 95 μL , Methode III). Die Auswertung erfolgte aus der Peakfläche des Pronucleotides, die gegen die Hydrolysedauer (in Stunden) graphisch aufgetragen wurde. Die Geschwindigkeitskonstante k wurde aus der exponentiellen Trendlinie erhalten und zur Berechnung der Hydrolyse-Halbwertszeit $t_{1/2}$ verwendet. Da es sich um eine Reaktionskinetik erster Ordnung handelt, lautet die Gleichung zur Berechnung $t_{1/2} = \ln 2/k$.

8. Literatur

- ¹ E. De Clercq, Strategies in the Design of Antiviral Drugs, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 13-25.
- ² J. Balzarini, G.-J. Kang, M. Dalal, P. Herdewijn, E. De Clercq, S. Broder, D. G. Johns, The Anti-HTLV-III (Anti-HIV) and Cytotoxic Activity of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxyribonucleosides: A Comparison with Their Parental 2',3'-Dideoxyribonucleosides, *Mol. Pharmacol.* **1987**, *32*, 162-167.
- ³ J. Montaner, R. Hogg, E. Wood, T. Kerr, M. Tyndall, A. Levy, R. Harrigan, The case for expanding access to highly active antiretroviral therapy to curb the growth of the HIV epidemic, *Lancet* **2006**, *368*, 531-536.
- ⁴ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> (Letzter Zugriff 1.06.2011).
- ⁵ <http://www.who.int/inf-pr-1998/en/pr98-36.html> (Letzter Zugriff 1.06.2011).
- ⁶ M. Derudas, A. Brancale, L. Naesens, J. Neyts, J. Balzarini, C. McGuigan, Application of the phosphoramidate ProTide approach to the antiviral drug ribavirin, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2748-2755.
- ⁷ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html> (Letzter Zugriff 1.06.2011).
- ⁸ B. Lund, P. Kristjansen, H. Hansen, Clinical and preclinical activity of 2',2'-difluorodeoxycytidine (gemcitabine), *Cancer Treat. Rev.* **1993**, *19*, 45-55.
- ⁹ P. Huang, S. Chubb, L. W. Hertel, G. B. Grindey, W. Plunkett, Action of 2',2'-Difluorodeoxycytidine on DNA Synthesis, *Cancer Res.* **1991**, *51*, 6110-6117.
- ¹⁰ A. J. Wagstaff, D. Faulds, K. L. Goa, Aciclovir-a reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy, *Drugs* **1994**, *47*, 153-205.
- ¹¹ J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq, Differential Patterns of Intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine and 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine, Two Potent Anti-human Immunodeficiency Virus Compounds, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 6127-6133.
- ¹² C. Meier, *cycloSal*-Phosphates as chemical Trojan Horses for Intracellular Nucleotide and Glycosylmonophosphate Delivery-Chemistry Meets Biology, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *5*, 1081-1102.
- ¹³ M. D. Erion, K. R. Reddy, S. H. Boyer, M. C. Matelich, J. Gomez-Galeno, R. H. Lemus, B. G. Ugarkar, T. J. Colby, J. Schanzer, P. D. van Poelje, Design,

Synthesis, and Characterization of a Series of Cytochrome P450 3A-Activated Prodrugs (HepDirect Prodrugs) Useful for Targeting Phosph(on)ate-Based Drugs to the Liver, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5154-5163.

¹⁴ I. Lefebvre, C. Périgaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Girardet, A. Kim, G. Gosselin, J.-L. Imbach, Mononucleoside Phosphotriester Derivatives with S-Acyl-2-thioethyl Bioreversible Phosphate-Protecting Groups: Intracellular Delivery of 3'-Azido-2',3'-dideoxythymidine 5'-Monophosphate, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950.

¹⁵ S. Peyrottes, D. Egron, I. Lefebvre, G. Gosselin, J. L. Imbach, C. Périgaud, SATE Pronucleotide Approaches: An Overview, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 395-408.

¹⁶ J. L. Giradet, C. Périgaud, A. M. Aubertin, G. Gosselin, A. Kim, J. L. Imbach, Increase of the *anti*-HIV Activity of d4T in Human T-Cell Culture by the use of the SATE pronucleotide Approach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2981-2984.

¹⁷ C. McGuigan, R. N. Pathirana, J. Balzarini, E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1048-1052.

¹⁸ K. M. Fries, C. Joswig, R. F. Borch, Synthesis and biological evaluation of 5-fluoro-2'-deoxyuridine phosphoramidate analogues, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2672-2680.

¹⁹ S. C. Tobias, R. F. Borch, Synthesis and Biological Studies of Novel Nucleoside Phosphoramidate Prodrugs, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4475-4480.

²⁰ D. Farquhar, D. N. Srivastva, N. J. Kuttesch, P. P. Saunders, Biologically Reversible Phosphate-Protective Groups, *J. Pharm. Sci.* **1983**, *72*, 324-325.

²¹ Y. Hwang, P. A. Cole, Efficient Synthesis of Phosphorylated Prodrugs with BIS(POM)-phosphoryl Chloride, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1555-1556.

²² M. N. Arimilli, C. U. Kim, J. Dougherty, A. Mulato, R. Oliyai, J. P. Shaw, K. C. Kundy, N. Bischofberger, Synthesis, in vitro biological evaluation and oral bioavailability of 9-[2-(phosphonomethoxy)propyl]adenine (PMEA) prodrugs, *Antiviral Chem. Chemother.* **1997**, *8*, 557-564.

²³ A. Fridland, B. L. Robbins, R. V. Srinivas, M. Arimilli, C. Kim, N. Bischofberger, Antiretroviral Activity and Metabolism of bis(POC)PMPA, An Oral Bioavailable Prodrug of PMPA, *Antiviral Res.* **1997**, *34*, A49, 27.

²⁴ C. Meier, 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphinin-2-oxide—ein neues Konzept für lipophile, potentielle Prodrugs biologisch aktiver Nucleosidmonophosphate, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79.

- ²⁵ C. Meier, *cycloSal*-Pronucleotides- Design of the Concept, Chemistry, and Antiviral Activity, *Adv. Antivir. Drug Des.* **2004**, 4, 147-213.
- ²⁶ C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, K. G. Devine, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV1 in cell lines which are resistant to the action of AZT, *Antiviral Res.* **1992**, 17,311-321.
- ²⁷ C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmoodt, A. J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT inhibit HIV replication in cells where the nucleoside is poorly active, *J. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 701-704.
- ²⁸ D. Siccardi, M. Gumbleton, Y. Omid, C. McGuigan, Stereospecific chemical and enzymatic stability of phosphoramidate triester prodrugs of d4T in vitro, *Eur. J. Pharm. Sci.* **2004**, 22, 25-31.
- ²⁹ G. Birkus, R. Wang, X. Liu, N. Kutty, H. MacArthur, T. Cihlar, C. Gibbs, S. Swaminathan, W. Lee, M. McDermott, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 543-550.
- ³⁰ C. Congiatu, A. Brancale, C. McGuigan, Molecular modelling studies on the binding of some protides to the putative human phosphoramidase HINT1, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2007**, 26, 1121-1124.
- ³¹ C. McGuigan, D. Cahard, A. Salgado, E. De Clercq, J. Balzarini, Phosphoramidates as potent prodrugs of anti-HIV nucleotides: Studies in the amino region, *Antiviral Chem. Chemother.* **1996**, 7, 31-36.
- ³² X.-J. Zhou, K. Pietropaolo, J. Chen, S. Khan, J. Sullivan-Bólyai, D. Mayers, Safety and Pharmacokinetics of IDX184, a Liver-Targeted Nucleotide Polymerase Inhibitor of Hepatitis C Virus, in Healthy Subjects, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 76-81.
- ³³ C. McGuigan, H.-W. Tsang, D. Cahard, S. Turner, S. Velazquez, A. Salgado, L. Bidois, L. Naesens, E. De Clercq, J. Balzarini, Phosphoramidate derivatives of d4T as inhibitors of HIV: The effect of amino acid variation, *Antiviral Res.* **1997**, 35, 195-204.
- ³⁴ C. McGuigan, A. Salgado, C. Yarnold, T. Y. Harries, E. De Clercq, J. Balzarini, Novel nucleoside phosphoramidates as inhibitors of HIV-studies on the stereochemical requirements of the phosphoramidate amino acid, *Antiviral Chem. Chemother.* **1996**, 7, 184-188.
- ³⁵ C. McGuigan, P.W. Sutton, D. Cahard, K. Turner, G. O'Leary, Y. Wang, M. Gumbleton, E. De Clercq, J. Balzarini, Synthesis, anti-human immunodeficiency

virus activity and esterase lability of some novel carboxylic ester-modified phosphoramidate derivatives of stavudine (d4T), *Antiviral Chem. Chemother.* **1998**, *9*, 473-479.

³⁶ A. Q. Siddiqui, C. Ballatore, C. McGuigan, E. De Clercq, J. Balzarini, The Presence of Substituents on the Aryl Moiety of the Aryl Phosphoramidate Derivative of d4T Enhances Anti-HIV Efficacy in Cell Culture: A Structure-Activity Relationship, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 393-399.

³⁷ D. Cahard, C. McGuigan, J. Balzarini, Aryloxy Phosphoramidate Triesters as Pro-Tides, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 371-381.

³⁸ C. J. Allender, K. R. Brain, C. Ballatore, D. Cahard, A. Siddiqui, C. McGuigan, Separation of individual antiviral nucleotide prodrugs from synthetic mixtures using cross-reactivity of a molecularly imprinted stationary phase, *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435*, 107-113.

³⁹ N. Mesplet, Y. Saito, P. Morin, L. A. Agrofoglio, Liquid chromatographic separation of phosphoramidate diastereomers on a polysaccharide-type chiral stationary phase, *J. Chromatogr. A* **2003**, *983*, 115-124.

⁴⁰ G. Wulff, A. Sarhan, Über die Anwendung von enzymanalog gebauten Polymeren zur Racemattrennung, *Angew. Chem.* **1972**, *84*, 364.

⁴¹ H. Chapman, M. Kernan, E. Prisbe, J. Rohloff, M. Sparacino, T. Terhorst, R. Yu, Practical synthesis, separation, and stereochemical assignment of the PMPA prodrug GS-7340, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2001**, *20*, 621-628.

⁴² H. Chapman, M. Kernan, J. Rohloff, M. Sparacino, T. Terhorst, Purification of PMPA amidate prodrugs by SMB chromatography and X-ray crystallography of the diastereomerically pure GS-7340, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2001**, *20*, 1085-1090.

⁴³ C. Congiatu, A. Brancale, M. D. Mason, W. G. Jiang, C. McGuigan, Novel Potential Anticancer Naphthyl Phosphoramidates of BVdU: Separation of Diastereoisomers and Assignment of the Absolute Configuration of the Phosphorus Center, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 452-455.

⁴⁴ M. J. Sofia, D. Bao, W. Chang, J. Du, D. Nagarathnam, S. Rachakonda, P. G. Reddy, B. S. Ross, P. Wang, H-R. Zhang, S. Bansal, C. Espiritu, M. Keilman, A. M. Lam, H. M. Micolochick Steuer, C. Niu, M. J. Otto, P. A. Furman, Discovery of a β -D-2'-Deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 7202-7218.

- ⁴⁵ C. Gardelli, B. Attenni, M. Donghi, M. Meppen, B. Pacini, S. Harper, A. Di Marco, F. Fiore, C. Giuliano, V. Pucci, R. Laufer, N. Gennari, I. Marcucci, J. F. Leone, D. B. Olsen, M. MacCoss, M. Rowley, F. Narjes, Phosphoramidate Prodrugs of 2'-C-Methylcytidine for Therapy of Hepatitis C Virus Infection, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5394-5407.
- ⁴⁶ C. McGuigan, K. Madela, M. Aljarah, A. Gilles, A. Brancale, N. Zonta, S. Chamberlain, J. Vernachio, J. Hutchins, A. Hall, B. Ames, E. Gorovits, B. Ganguly, A. Kolykhalov, J. Wang, J. Muhammad, J. M. Patti, G. Henson, Design, synthesis and evaluation of a novel double pro-drug: INX-08189. A new clinical candidate for hepatitis C virus, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 4850-4854.
- ⁴⁷ W. J. Stec, A. Grajkowski, A. Kobylafiska, B. Karwowski, M. Koziolkiewicz, K. Misiura, A. Okruszek, A. Wilk, P. Guga, M. Boczkowska, Diastereomers of Nucleoside 3'-O-(2-Thio-1,3,2-Oxathia(selena)phospholanes): Building Blocks for Stereocontrolled Synthesis of Oligo(nucleoside phosphorothioate)s, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12019-12029.
- ⁴⁸ N. Iwamoto, N. Oka, T. Sato, T. Wada, Stereocontrolled Solid-Phase Synthesis of Oligonucleoside H-Phosphonates by an Oxazaphospholidine Approach, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 496-499.
- ⁴⁹ N. Oka, T. Wada, K. Saigo, Diastereocontrolled Synthesis of Dinucleoside Phosphorothioates Using a Novel Class of Activators, Dialkyl(cyanomethyl)ammonium Tetrafluoroborates, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4962-4963.
- ⁵⁰ K. Nakayama, W. J. Thompson, A Highly Enantioselective Synthesis of Phosphate Triesters, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6936-6942.
- ⁵¹ J. O. Thomann, Diastereoselektive Synthese von *cycloSal*-Nucleotiden, Dissertation, Hamburg, **2008**.
- ⁵² E. H. Rios Morales, C. Arbelo Román, J. Thomann, C. Meier, Linear Synthesis of Chiral *cycloSal*-Pronucleotides, *Chem. Eur. J.* **2011**, submitted.
- ⁵³ M. T. Crimmins, K. Chaudhary, Titanium Enolates of Thiazolidinethione Chiral Auxiliaries: Versatile Tools for Asymmetric Aldol Additions, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 775-777.
- ⁵⁴ R. J. G. Thatcher, R. Kluger, Mechanism and Catalysis of Nucleophilic Substitution in Phosphate Esters, *Adv. Phys. Org. Chem.*, **1989**, *25*, 99-265.

- ⁵⁵ C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini, *cycloSal*-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate (*cycloSal*-d4TMP): Synthesis and Antiviral Evaluation of a New d4TMP Delivery System, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1417-1427.
- ⁵⁶ E. H. Rios Morales, Stereoselektive Darstellung von *cycloSal*-Pronucleotiden mittels chiraler Austrittsgruppen, Dissertation, Hamburg, **2010**.
- ⁵⁷ N. Maezaki, A. Furusawa, Y. Hirose, S. Uchida, T. Tanaka, 3-Phosphono-2-(*N*-cyanimino)thiazolidine derivatives, new phosphorylating agents for alcohols, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3493-3498.
- ⁵⁸ E. H. Rios Morales, J. Balzarini, C. Meier, Diastereoselective Synthesis of *cycloSal*igenyl-Nucleosyl-Phosphotriesters, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1649-1659.
- ⁵⁹ Y. Wu, X. Shen, C.-J. Tang, Z.-L. Chen, Q. Hu, W. Shi, Synthesis of Natural Fragrant Molecules *cis*-3-Methyl-4-decanolide and *Aerangis* Lactone. General Enantioselective Routes to β,γ -*cis*-Disubstituted γ -Lactones and γ,δ -*cis*-Disubstituted δ -Lactones, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3802-3810.
- ⁶⁰ A.I. Meyers, D. A. Dickman, T. R. Bailey, Asymmetric Synthesis of 2-Alkylpyrrolidines and Piperidines. Synthesis of (+)-Metazocine, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7974-7978.
- ⁶¹ D. Delaunay, L. Toupet, M. Le Corre, Reactivity of β -Amino Alcohols with Carbon Disulfide. Study on the Synthesis of 2-Oxazolidinethiones and 2-Thiazolidinethiones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6604-6607.
- ⁶² R. S. Cahn, C. K. Ingold, V. Prelog, Specification of Molecular Chirality, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1966**, *5*, 385-415.
- ⁶³ R. S. Cahn, C. K. Ingold, Specification of Configuration about Quadricovalent Asymmetric Atoms, *J. Chem. Soc.* **1951**, 612-622.
- ⁶⁴ Die Einkristallstrukturen der Phosphordiamidate (S_P)-**79d,g,l** haben die CCDC-Nummer 774812-774814 an der Cambridge Crystallographic Data Centre.
- ⁶⁵ S. Jones, C. Smarmoo, Phosphorylation of Alcohols with *N*-Phosphoryl Oxazolidinones Employing Copper(II) Triflate Catalysis, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3271-3274.
- ⁶⁶ S. Jones, D. Selitsianos, A Simple and Effective Method for Phosphoryl Transfer Using $TiCl_4$ Catalysis, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3671-3673.
- ⁶⁷ C. McGuigan, A. Hassan-Abdallah, S. Srinivasan, Y. Wang, A. Siddiqui, S. M. Daluge, K. S. Gudmundsson, H. Zhou, Ed. W. McLean, J. P. Peckham,

- T. C. Burnette, H. Marr, R. Hazen, L. D. Condreay, L. Johnson, J. Balzarini, Application of Phosphoramidate ProTide Technology Significantly Improves Antiviral Potency of Carbocyclic Adenosine Derivatives, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 7215-7226.
- ⁶⁸ J. Adrio, C. Cuevas, I. Manzanares, M. M. Joullié, Total Synthesis and Biological Evaluation of Tamandarin B Analogues, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5129-5138.
- ⁶⁹ M. Uchiyama, Y. Aso, R. Noyori, Y. Hayakawa, O-Selective Phosphorylation of Nucleosides without *N*-Protection, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 373-379.
- ⁷⁰ C. McGuigan, D. Cahard, H. M. Sheeka, E. De Clercq, J. Balzarini, Aryl Phosphoramidate Derivatives of d4T Have Improved Anti-HIV Efficacy in Tissue Culture and May Act by the Generation of a Novel Intracellular Metabolite, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1748-1753.
- ⁷¹ T. K. Venkatachalam, P. Samuel, F. M. Uckun, Stereochemical influence on lipase-mediated hydrolysis and biological activity of stavudine and other stavudine phosphoramidates, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1763-1773.
- ⁷² J. Balzarini, H. Egberink, K. Hartmann, D. Cahard, T. Vahlenkamp, H. Thormar, E. De Clercq, C. McGuigan, Antiretrovirus Specificity and Intracellular Metabolism of 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine (Stavudine) and Its 5'-Monophosphate Triester Prodrug So324, *Mol. Pharmacol.* **1996**, *50*, 1207-1213.
- ⁷³ Y. Mehellou, R. Valente, H. Mottram, E. Walsby, K. I. Mills, J. Balzarini, C. McGuigan, Phosphoramidates of 2'- β -D-arabinouridine (AraU) as phosphate prodrugs, design, synthesis, in vitro activity and metabolism, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2439-2446.
- ⁷⁴ C. McGuigan, R. N. Pathirana, R. Snoeck, G. Andrei, E. De Clercq, J. Balzarini, Discovery of a New Family of Inhibitors of Human Cytomegalovirus (HCMV) Based upon Lipophilic Alkyl Furano Pyrimidine Dideoxy Nucleosides: Action via a Novel Non-Nucleosidic Mechanism, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1847-1851.
- ⁷⁵ Y. Mehellou, C. McGuigan, A. Brancale, J. Balzarini, Design, synthesis, and anti-HIV activity of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine (d4U), 2',3'-dideoxyuridine (ddU) phosphoramidate „ProTide“ derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3666-3669.
- ⁷⁶ Y. Mehellou, J. Balzarini, C. McGuigan, An investigation into the anti-HIV activity of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine (d4U) and 2',3'-dideoxyuridine (ddU) phosphoramidate 'ProTide' derivatives, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2548-2553.

- ⁷⁷ H. J. Jessen, T. Schulz, J. Balzarini, C. Meier, Bioreversible Protection of Nucleoside Diphosphates, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8719-8722; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8847-8850.
- ⁷⁸ X. Tan, C. K. Chu, F. D. Boudinot, Development and optimization of anti-HIV nucleoside analogs and prodrugs: A review of their cellular pharmacology, structure-activity relationships and pharmacokinetics, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *39*, 117-151.
- ⁷⁹ Y. Hsiao, L. S. Hegedus, Synthesis of Optically Active Imidazolines, Azapenamams, Dioxocyclams, and Bis-dioxocyclams, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3586-3591.
- ⁸⁰ M. Derudas, D. Carta, A. Brancale, C. Vanpouille, A. Lisco, L. Margolis, J. Balzarini, C. McGuigan, The Application of Phosphoramidate Proside Technology to Acyclovir Confers Anti-HIV Inhibition, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5520-5530.
- ⁸¹ K. R. Reddy, S. H. Boyer, M. D. Erion, Stereoselective synthesis of nucleoside monophosphate HepDirect™ prodrugs, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4321-4324.
- ⁸² Y. Hayakawa, Y. Aso, M. Uchiyama, R. Noyori, Facile Nucleoside Phosphorylation via hydroxyl activation, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1165-1168.
- ⁸³ H. C. Aspinall, N. Greeves, W.-M. Lee, E. G. McIver, P. M. Smith, An Improved Williamson Etherification of Hindered Alcohols Promoted by 15-Crown-5 and Sodium Hydride, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4679-4682.
- ⁸⁴ J. Emsley, D. Hall, *The Chemistry of Phosphorus*, Harper & Row, London, New York, **1976**, Ch. 3, 78-106, Ch. 8, 306-345.
- ⁸⁵ A. C. Hengge, I. Onyido, Physical Organic Perspectives on Phospho Group Transfer From Phosphates and Phosphinates, *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 61-74.
- ⁸⁶ A. F. Gerrard, N. K. Hamer, Evidence for a Planar Intermediate in Alkaline Solvolysis of Methyl *N*-Cyclohexylphosphoramidothioic Chloride, *J. Chem. Soc. B* **1968**, 539-543.
- ⁸⁷ A. Cosp, P. Romea, P. Talavera, F. Urpí, J. Vilarrasa, M. Font-Bardia, X. Solans, Enantioselective Addition of a Chiral Thiazolidinethione-Derived Titanium Enolate to Acetals, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 615-617.
- ⁸⁸ M. M. Mansuri, J. E. Starrett Jr., I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, R. Z. Sterzycki, V. Brankovan, T. S. Lin, E. M. August, W. H. Prusoff, J.-P. Sommadossi, J. C. Martin, 1-(2,3-Dideoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuranosyl)thymine. A Highly Potent and Selective Anti-HIV Agent, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 461-466.
- ⁸⁹ <http://www.freepatentsonline.com/6635753.html>

⁹⁰ Boc-Ala: M. Branik, H. Kessler, NMR- und IR-Untersuchungen von Boc-L- α -Aminosäuren, *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 2176-2188.

⁹¹ O. Hayashida, L. Sebo, J. Rebek, Molecular Discrimination of *N*-Protected Amino Acid Esters by a Self-Assembled Cylindrical Capsule: Spectroscopic and Computational Studies, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8291-8298.

9. Anhang

9.1 Einkristallstrukturdaten der Verbindung (S_P)-79d

Formel	C ₁₇ H ₂₅ N ₂ O ₄ PS ₂
Molekulargewicht	416.48
Messtemperatur	100 (2) K
Wellenlänge	0.71073 Å
Strahlung	Mo Kα
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	P2 ₁ y
Zellparameter	a = 5.6328 (16) Å, α = 90° b = 11.979 (3) Å, β = 99.491 (4)° c = 15.044 (4) Å, γ = 90°
Volumen	1001.2 (5) Å ³
Z	2
Berechnete Dichte	1.382
Absorptionskoeffizient	0.37 mm ⁻¹
F(000)	440
Kristallgröße	0.24 mm x 0.10 mm x 0.05 mm
Kristallbeschreibung	farblose Platten
Theta range	2.2°-25°
Indices	h = -6→6, k = -14→14, l = -17→12
Zahl der Reflexe, gesamt [ω scan mode]	5481
Zahl der Reflexe, unabhängig	3177
Absorptionskorrektur	SADABS (Bruker AXS 2008)
Programm zur Strukturlösung	SHELXS-97
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²
Programm zur Verfeinerung	SHELXS-97
Zahl der verfeinerten Parameter	240
Goodness-of-fit F ²	1.049
Final R indices [I > 2σ (I)]	R ₁ = 0.0315, ω R ₂ = 0.0643
R indices (all data)	R ₁ = 0.0367, ω R ₂ = 0.0667

Flack Parameter	-0.03 (7)
Restelektronendichte	0.20 und -0.24 e Å ³

Atomkoordinaten und isotrope bzw. Äquivalente isotrope Auslenkparameter

Atom	X	y	z	U_{iso}^*/U_{eq}
S1	1.42234(11)	0.92763(6)	0.95543(4)	0.01956(17)
S2	1.13874(13)	0.76054(6)	1.03889(5)	0.02253(17)
P1	0.96447(11)	0.91395(6)	0.78397(4)	0.01424(16)
O1	0.7360(3)	0.88735(15)	0.72625(12)	0.0180(4)
O2	0.9748(3)	1.03433(15)	0.83023(12)	0.0166(4)
O3	1.4312(4)	0.78351(17)	0.55140(12)	0.0252(5)
O4	1.3136(4)	0.69353(17)	0.66720(14)	0.0308(5)
N1	1.1946(4)	0.90290(19)	0.73210(13)	0.0143(5)
H1	1.3391	0.9094	0.7645	0.017
N2	1.0022(4)	0.83252(19)	0.87754(15)	0.0153(5)
C1	1.2142(5)	1.4153(3)	0.6339(2)	0.0298(7)
H1A	1.1275	1.4809	0.6506	0.045
H1B	1.1687	1.4013	0.5691	0.045
H1C	1.3879	1.4289	0.6481	0.045
C2	1.1497(5)	1.3138(2)	0.68650(19)	0.0210(6)
C3	1.3116(5)	1.2704(3)	0.75730(18)	0.0204(6)
H3	1.4636	1.3055	0.7742	0.024
C4	1.2563(5)	1.1764(2)	0.80430(18)	0.0175(6)
H4	1.3701	1.1462	0.8519	0.021
C5	1.0325(5)	1.1279(2)	0.78031(17)	0.0148(6)
C6	0.8656(5)	1.1699(2)	0.71088(19)	0.0211(7)
H6	0.7122	1.1357	0.6953	0.025
C7	0.9254(5)	1.2630(3)	0.66418(18)	0.0224(6)
H7	0.8116	1.2924	0.6163	0.027
C8	1.1836(5)	0.8453(2)	0.94931(18)	0.0167(6)
C9	0.8560(5)	0.7055(2)	0.97936(18)	0.0198(6)
H9A	0.8455	0.6242	0.9898	0.024
H9B	0.7183	0.7425	1.0004	0.024
C10	0.8529(5)	0.7293(2)	0.87931(18)	0.0171(6)
H10	0.6838	0.7469	0.8509	0.021
C11	0.9467(5)	0.6346(2)	0.82541(19)	0.0176(6)
H11	0.9713	0.6666	0.7662	0.021
C12	0.7564(5)	0.5424(2)	0.8055(2)	0.0213(7)
H12A	0.7235	0.5109	0.8624	0.032
H12B	0.8162	0.4835	0.7698	0.032
H12C	0.6079	0.5739	0.7717	0.032
C14	1.1786(5)	0.8831(2)	0.63597(18)	0.0160(6)
H14	1.0053	0.8696	0.6108	0.019
C13	1.1851(5)	0.5850(3)	0.8696(2)	0.0274(7)
H13A	1.2346	0.527	0.8306	0.041
H13B	1.167	0.5523	0.9278	0.041
H13C	1.3077	0.6438	0.879	0.041
C15	1.3156(5)	0.7769(2)	0.62226(17)	0.0183(6)
C16	1.5678(6)	0.6854(3)	0.5354(2)	0.0377(9)

H16A	1.4606	0.6204	0.527	0.057
H16B	1.6951	0.6727	0.5872	0.057
H16C	1.6402	0.6965	0.4811	0.057
C17	1.2595(5)	0.9844(2)	0.5880(2)	0.0217(7)
H17A	1.4294	0.9999	0.6111	0.033
H17B	1.1619	1.0492	0.5988	0.033
H17C	1.2395	0.9696	0.5231	0.033

9.2 Einkristallstrukturdaten der Verbindung (S_P)-79g

Formel	C ₁₇ H ₂₅ N ₂ O ₅ PS ₂
Molekulargewicht	432.48
Messtemperatur	100 (2) K
Wellenlänge	0.71073 Å
Strahlung	Mo Kα
Kristallsystem	Orthorhombic
Raumgruppe	P2ac2ab
Zellparameter	a = 5.6125 (17) Å, α = 90° b = 14.334 (4) Å, β = 90° c = 24.853 (7) Å, γ = 90°
Volumen	1999.5 (10) Å ³
Z	4
Berechnete Dichte	1.437
Absorptionskoeffizient	0.38 mm ⁻¹
F(000)	912
Kristallgröße	0.50 mm x 0.05 mm x 0.03 mm
Kristallbeschreibung	farblose Nadeln
Theta range	2.2°-25°
Indices	h = -6→6, k = -16→9, l = -29→29
Zahl der Reflexe, gesamt [ω scan mode]	10922
Zahl der Reflexe, unabhängig	3502
Absorptionskorrektur	SADABS (Bruker AXS 2008)
Programm zur Strukturlösung	SHELXS-97
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²
Programm zur Verfeinerung	SHELXS-97

Zahl der verfeinerten Parameter	249
Goodness-of-fit F^2	1.038
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0365$, $\omega R_2 = 0.0702$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0505$, $\omega R_2 = 0.0762$
Flack Parameter	0.01 (8)
Restelektronendichte	0.30 und -0.25 e \AA^3

Atomkoordinaten und isotrope bzw. Äquivalente isotrope Auslenkparameter

Atom	X	y	z	U_{iso}^*/U_{eq}
S1	1.01646(14)	0.25233(6)	0.67537(3)	0.02027(19)
S2	0.67633(15)	0.25422(6)	0.76596(3)	0.02088(19)
P1	0.80472(15)	0.04781(5)	0.64818(3)	0.01380(18)
O1	1.0550(4)	0.01989(13)	0.65053(7)	0.0157(5)
O2	0.6157(4)	-0.03288(13)	0.65764(7)	0.0146(5)
O3	0.5610(4)	0.08479(14)	0.49302(7)	0.0184(5)
O4	0.1799(4)	0.09984(14)	0.51926(8)	0.0204(5)
O5	0.6084(4)	-0.36884(14)	0.54820(8)	0.0209(5)
N1	0.7302(5)	0.09872(15)	0.59262(9)	0.0143(6)
H1	0.8391	0.1045	0.5674	0.017
N2	0.7070(5)	0.11461(15)	0.70089(8)	0.0130(6)
C1	0.6192(6)	-0.1156(2)	0.62704(11)	0.0137(7)
C2	0.4288(6)	-0.1335(2)	0.59394(11)	0.0158(7)
H2	0.3051	-0.0888	0.5899	0.019
C3	0.4188(6)	-0.21790(19)	0.56634(11)	0.0160(7)
H3	0.287	-0.2316	0.5437	0.019
C4	0.6025(6)	-0.28185(19)	0.57213(11)	0.0165(7)
C5	0.7941(6)	-0.2616(2)	0.60517(10)	0.0164(7)
H5	0.9204	-0.3053	0.6087	0.02
C6	0.8035(6)	-0.1785(2)	0.63307(10)	0.0167(7)
H6	0.9343	-0.1648	0.656	0.02
C7	0.4064(6)	-0.3946(2)	0.51573(12)	0.0244(8)
H7A	0.3972	-0.3535	0.4843	0.037
H7B	0.2603	-0.3886	0.537	0.037
H7C	0.4242	-0.4594	0.5037	0.037
C8	0.4926(6)	0.1356(2)	0.58205(11)	0.0133(7)
H8	0.3841	0.1148	0.6116	0.016
C9	0.4901(6)	0.24257(19)	0.58014(11)	0.0199(7)
H9A	0.5938	0.2642	0.551	0.03
H9B	0.5478	0.2674	0.6145	0.03
H9C	0.3271	0.2644	0.5738	0.03
C10	0.3900(6)	0.1024(2)	0.52876(12)	0.0156(7)
C11	0.4794(6)	0.0613(2)	0.43923(11)	0.0235(8)
H11A	0.3888	0.1137	0.4243	0.035
H11B	0.3772	0.0059	0.4409	0.035
H11C	0.6171	0.0483	0.4162	0.035
C12	0.8041(6)	0.2006(2)	0.71023(10)	0.0148(7)
C13	0.4548(6)	0.16367(19)	0.77475(11)	0.0175(7)

H13A	0.4346	0.149	0.8134	0.021
H13B	0.2994	0.1842	0.7601	0.021
C14	0.5452(5)	0.07740(19)	0.74415(10)	0.0127(7)
H14	0.4061	0.0462	0.7266	0.015
C15	0.6747(6)	0.0055(2)	0.77949(10)	0.0158(7)
H15	0.7344	-0.0447	0.7551	0.019
C16	0.5008(6)	-0.0401(2)	0.81902(11)	0.0210(7)
H16A	0.3632	-0.0646	0.7993	0.032
H16B	0.4469	0.0063	0.8453	0.032
H16C	0.5811	-0.0914	0.8378	0.032
C17	0.8888(6)	0.0444(2)	0.80932(12)	0.0256(8)
H17A	0.836	0.0923	0.8348	0.038
H17B	1.0002	0.072	0.7835	0.038
H17C	0.9684	-0.0061	0.8289	0.038

9.3 Einkristallstrukturdaten der Verbindung (S_P)-79I

Formel	C ₂₀ H ₂₅ N ₂ O ₄ PS ₂
Molekulargewicht	452.51
Messtemperatur	100 (2) K
Wellenlänge	0.71073 Å
Strahlung	Mo Kα
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	P2 ₁ y
Zellparameter	a = 9.0449 (19) Å, α = 90° b = 9.619 (2) Å, β = 108.47° c = 13.488 (3) Å, γ = 90°
Volumen	1113.1 (4) Å ³
Z	2
Berechnete Dichte	1.350
Absorptionskoeffizient	0.34 mm ⁻¹
F(000)	476
Kristallgröße	0.38 mm x 0.24 mm x 0.07 mm
Kristallbeschreibung	farbloser Block
Theta range	1.6°-25°
Indices	h = -10→10, k = -11→11, l = -16→16
Zahl der Reflexe, gesamt [ω scan mode]	10324
Zahl der Reflexe, unabhängig	3915

Absorptionskorrektur	SADABS (Bruker AXS 2008)
Programm zur Strukturlösung	SHELXS-97
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F^2
Programm zur Verfeinerung	SHELXS-97
Zahl der verfeinerten Parameter	266
Goodness-of-fit F^2	1.057
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0259$, $\omega R_2 = 0.0544$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0300$, $\omega R_2 = 0.0565$
Flack Parameter	0.06 (5)
Restelektronendichte	0.22 und -0.24 e \AA^3

Atomkoordinaten und isotrope bzw. Äquivalente isotrope Auslenkparameter

Atom	X	y	z	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
S1	-1.04129(6)	-0.34449(5)	-0.79272(4)	0.02089(12)
S2	-1.14915(6)	-0.53879(5)	-0.97019(4)	0.02109(12)
P1	-0.79778(6)	-0.60152(5)	-0.67814(4)	0.01626(12)
O1	-0.71374(16)	-0.73383(15)	-0.66376(11)	0.0226(3)
O2	-0.70251(16)	-0.46477(14)	-0.68140(11)	0.0180(3)
O3	-1.14648(17)	-0.55004(16)	-0.55516(12)	0.0297(4)
O4	-1.13593(18)	-0.77163(17)	-0.50383(14)	0.0368(4)
N1	-0.93572(18)	-0.60729(17)	-0.79878(12)	0.0155(3)
N2	-0.86975(19)	-0.56172(16)	-0.58670(12)	0.0186(4)
H2	-0.8899	-0.4738	-0.5783	0.022
C1	-0.6138(2)	-0.2806(2)	-0.76400(16)	0.0188(5)
C2	-0.6641(2)	-0.1834(2)	-0.70358(18)	0.0225(5)
H2A	-0.7168	-0.2147	-0.657	0.027
C3	-0.6379(2)	-0.0444(2)	-0.71120(18)	0.0266(5)
H3	-0.6732	0.0204	-0.6705	0.032
C4	-0.5584(3)	0.0029(2)	-0.77955(19)	0.0317(6)
H4	-0.5415	0.0997	-0.7852	0.038
C5	-0.5059(2)	-0.0886(3)	-0.83727(17)	0.0299(6)
H5	-0.4499	-0.0551	-0.8812	0.036
C6	-0.5334(2)	-0.2339(2)	-0.83327(16)	0.0241(5)
C7	-0.4845(2)	-0.3326(3)	-0.89445(16)	0.0285(5)
H7	-0.4304	-0.3023	-0.9405	0.034
C8	-0.5144(2)	-0.4710(3)	-0.88777(17)	0.0292(6)
H8	-0.4823	-0.5355	-0.9302	0.035
C9	-0.5922(2)	-0.5196(2)	-0.81903(16)	0.0227(5)
H9	-0.6124	-0.6159	-0.8147	0.027
C10	-0.6381(2)	-0.4258(2)	-0.75891(16)	0.0180(5)
C11	-0.9031(2)	-0.6649(2)	-0.51724(16)	0.0187(5)
H11	-0.8729	-0.7582	-0.5373	0.022
C12	-0.8061(3)	-0.6376(3)	-0.40343(16)	0.0299(6)
H12A	-0.6951	-0.6446	-0.3961	0.045
H12B	-0.8324	-0.7066	-0.3582	0.045

H12C	-0.8288	-0.5442	-0.3832	0.045
C13	-1.0741(3)	-0.6708(2)	-0.52532(17)	0.0223(5)
C14	-1.3110(3)	-0.5460(3)	-0.5640(2)	0.0397(6)
H14A	-1.3676	-0.6158	-0.6148	0.06
H14B	-1.3531	-0.4535	-0.5873	0.06
H14C	-1.3231	-0.5661	-0.4957	0.06
C15	-1.0306(2)	-0.4985(2)	-0.84372(17)	0.0179(5)
C16	-1.0614(2)	-0.7091(2)	-0.96933(16)	0.0217(5)
H16A	-1.1426	-0.7794	-1.001	0.026
H16B	-0.9866	-0.707	-1.0093	0.026
C17	-0.9770(2)	-0.7439(2)	-0.85387(15)	0.0170(4)
H17	-0.878	-0.7935	-0.8495	0.02
C18	-1.0692(2)	-0.8347(2)	-0.79990(16)	0.0180(4)
H18	-1.0038	-0.8438	-0.725	0.022
C19	-1.0916(3)	-0.9815(2)	-0.84613(18)	0.0237(5)
H19A	-1.1469	-1.0387	-0.8091	0.036
H19B	-0.9896	-1.0229	-0.8385	0.036
H19C	-1.1527	-0.9768	-0.9204	0.036
C20	-1.2255(2)	-0.7720(2)	-0.80074(17)	0.0236(5)
H20A	-1.2093	-0.6759	-0.7754	0.035
H20B	-1.2687	-0.8268	-0.7552	0.035
H20C	-1.2983	-0.7731	-0.8722	0.035

9.4 Einkristallstrukturdaten der Verbindung 64

Formel	$C_{19}H_{27}N_2O_2PS_4$
Molekulargewicht	474.64
Messtemperatur	100 K
Wellenlänge	0.71073 Å
Strahlung	Mo K α
Kristallsystem	orthorhombisch
Raumgruppe	P2ac2ab
Zellparameter	$a = 10.6377 (7) \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$ $b = 12.1589 (8) \text{ \AA}$, $\beta = 90^\circ$ $c = 17.8959 (3) \text{ \AA}$, $\gamma = 90^\circ$
Volumen	2314.7 (3) Å ³
Z	4
Berechnete Dichte	1.362
Absorptionskoeffizient	0.50 mm ⁻¹
F(000)	1000
Kristallgröße	0.29 mm x 0.22 mm x 0.17 mm

Kristallbeschreibung	farblose Platten
Theta range	2.0°-27.5°
Indices	h = -13→13, k = -15→15, l = -23→23
Zahl der Reflexe, gesamt [ω scan mode]	27724
Zahl der Reflexe, unabhängig	5252
Absorptionskorrektur	SADABS (Bruker AXS 2008)
Programm zur Strukturlösung	SHELXS-97
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F^2
Programm zur Verfeinerung	SHELXS-97
Zahl der verfeinerten Parameter	258
Goodness-of-fit F^2	1.06
Final R indices [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0309$, $\omega R_2 = 0.0676$
R indices (all data)	$R_1 = 0.0366$, $\omega R_2 = 0.0873$
Flack Parameter	0.05 (7)
Restelektronendichte	0.57 und -0.53 e \AA^3

Atomkoordinaten und isotrope bzw. Äquivalente isotrope Auslenkparameter

Atom	X	y	z	U_{iso}^*/U_{eq}
S1	0.35763 (6)	0.72955 (6)	0.95002 (4)	0.02097 (15)
S2	0.12084 (6)	0.84746 (6)	0.91673 (4)	0.02121 (15)
S3	0.04272 (6)	0.72163 (6)	0.67498 (4)	0.02006 (15)
S4	0.32027 (6)	0.71494 (6)	0.69241 (4)	0.02132 (15)
P1	0.28854 (6)	0.95155 (5)	0.77254 (3)	0.01292 (14)
O1	0.20935 (15)	1.04653 (14)	0.81070 (9)	0.0150 (4)
O2	0.39245 (15)	0.98550 (14)	0.72428 (9)	0.0159 (4)
N1	0.34336 (18)	0.87076 (17)	0.84246 (11)	0.0142 (4)
N2	0.16727 (18)	0.88403 (16)	0.73186 (11)	0.0136 (4)
C1	0.3889 (3)	1.4118 (2)	0.97962 (16)	0.0277 (7)
H1A	0.3235	1.4685	0.9779	0.042
H1B	0.4664	1.4406	0.9575	0.042
H1C	0.4046	1.3908	1.0317	0.042
C2	0.3459 (2)	1.3123 (2)	0.93612 (14)	0.0194 (6)
C4	0.3445 (2)	1.2070 (2)	0.82090 (14)	0.0181 (5)
H4	0.3722	1.1969	0.7709	0.022
C5	0.2631 (2)	1.1331 (2)	0.85361 (14)	0.0145 (5)
C6	0.2225 (2)	1.1452 (2)	0.92663 (14)	0.0203 (5)
H6	0.1671	1.0930	0.9485	0.024
C7	0.2645 (3)	1.2354 (2)	0.96740 (14)	0.0233 (6)
H7	0.2371	1.2447	1.0175	0.028
C8	0.0358 (2)	0.9284 (2)	0.72255 (14)	0.0154 (5)
H8	0.0147	0.9766	0.7661	0.019
C9	0.0187 (2)	0.9940 (2)	0.64952 (15)	0.0195 (6)
H9	0.0235	0.9413	0.6068	0.023

C10	0.1189 (3)	1.0818 (2)	0.63804 (15)	0.0258 (6)
H10A	0.0973	1.1266	0.5944	0.039
H10B	0.2006	1.0465	0.6300	0.039
H10C	0.1233	1.1289	0.6824	0.039
C11	-0.1129 (3)	1.0450 (2)	0.65001 (15)	0.0248 (6)
H11A	-0.1250	1.0866	0.6964	0.037
H11B	-0.1761	0.9865	0.6469	0.037
H11C	-0.1219	1.0945	0.6071	0.037
C12	-0.0472 (2)	0.8259 (2)	0.72442 (16)	0.0200 (6)
H12A	-0.1284	0.8398	0.6991	0.024
H12B	-0.0638	0.8028	0.7765	0.024
C13	0.1853 (2)	0.7803 (2)	0.70221 (13)	0.0160 (5)
C14	0.2712 (2)	0.8237 (2)	0.89744 (13)	0.0162 (5)
C15	0.4918 (2)	0.7333 (2)	0.88670 (14)	0.0198 (5)
H15A	0.5715	0.7318	0.9153	0.024
H15B	0.4901	0.6691	0.8527	0.024
C16	0.4808 (2)	0.8409 (2)	0.84195 (14)	0.0149 (5)
H16	0.5049	0.8245	0.7891	0.018
C17	0.5636 (2)	0.9374 (2)	0.86917 (14)	0.0177 (5)
H17	0.5420	1.0029	0.8380	0.021
C18	0.7025 (2)	0.9102 (2)	0.85456 (15)	0.0251 (6)
H18A	0.7270	0.8462	0.8845	0.038
H18B	0.7547	0.9734	0.8684	0.038
H18C	0.7144	0.8936	0.8014	0.038
C19	0.5410 (3)	0.9691 (2)	0.95116 (15)	0.0257 (6)
H19A	0.4517	0.9856	0.9586	0.038
H19B	0.5914	1.0340	0.9636	0.038
H19C	0.5655	0.9078	0.9836	0.038
C3	0.3852 (2)	1.2970 (2)	0.86275 (14)	0.0199 (6)
H3	0.4409	1.3488	0.8407	0.024

10. Gefahrstoffverzeichnis

Die folgende Liste umfasst Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Gefahrstoffe sind mit dem dazugehörigen Signalwort, mit dem jeweiligen GHS-Piktogrammen und deren H-Sätze und P-Sätzen gekennzeichnet. Die Stoffe, für die keine bekannte Einstufung vorliegt, sind als gefährlich einzustufen. Die Kontamination mit diesen Stoffen sowie die Freisetzung in die Umwelt sind unbedingt zu vermeiden.

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	Gefahr		H225, H319, H336, EUH066	P210, P233, P305+P351+ P338
Acetonitril	Gefahr		H225, H302+ H312+H332, H319	P210, P305+ P351+P338, P403+P235
(S)-Alanin	/	/	/	/
L- Alaninol	Gefahr		H314	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
Ammonium- chlorid	Achtung		H302, H319	P305+P351+ P338
3'-Azido-2',3'- dideoxy- thymidin	Achtung		H351	P281
Benzylalkohol	Achtung		H302, H332	P271
Benzylbromid	Achtung		H319, H335, H315	P305+P351+ P338, P302+ P352
4-Bromphenol	Achtung		H302, H315	P302+P352

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
2-Chlorphenol	Achtung		H302+H312+ H332, H411	P273, P302+ P352
3-Chlorphenol	Achtung		H302+H312+ H332, H411	P273, P302+ P352
4-Chlorphenol	Achtung		H302+H312+ H332, H411	P273, P302+ P352
1,8-Diaza- bicyclo[5.4.0]- undec-7-en	Gefahr		H301, H314	P280, P305+ P351+P338, P310
Dichlormethan	Achtung		H351	P281, P308+ P313
Diethylether	Gefahr		H224, H302, H336, EUH019, EUH066	P210, P240, P403+P235
<i>N,N</i> -Dimethyl- acetamid	Gefahr		H360D, H312, H332	P281, P201, P308+P313, P304+P340, P302+P352
<i>N,N</i> -Dimethyl- formamid	Gefahr		H360D, H226, H332, H312, H319	P201, P302+ P352, P305+ P351+P338, P308, P313
DIPEA	Gefahr		H225, H301, H314, H412	P210, P273, P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
DMAP	Gefahr		H301, H310, H315, H319	P280, P302+ P352, P305+ P351+P338
Essigsäure	Gefahr		H226, H314	P280, P305+ P351+P338, P310

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Ethanol	Gefahr		H225	P210
Ethylacetat	Gefahr	 	H225, H319, H336, EUH066	P240, P305+ P351+P338
Kalium	Gefahr	 	H260, H314, EUH014	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338, P402+ P404
Kalium- hydrogensulfat	Gefahr	 	H314, H335	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
Kaliumhydroxid	Gefahr	 	H302, H314, H290	P280, P305+ P351+P338, P301+P330+ P331
Kalium- permanganat	Gefahr	  	H272, H302, H410	P210, P273
Kalium- <i>tert</i> - butylat	Gefahr	  	H261, H302, H314, EUH014	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338, P402+ P404
Kieselgel	Gefahr		H350	P201, P202, P281, P308, P313, P405, P501
Kupfertriflat	Gefahr		H314	P280, P305+ P351+P338, P310

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Lithium- aluminium- hydrid	Gefahr	 	H260, H314	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338, P402+ P404
Magnesium- sulfat	/	/	/	/
Mesylchlorid	Gefahr	 	H330, H312, H301, H314, H335	P304+P340, P302+P352, P301+P330+ P331, P305+ P351+P338
Methanol	Gefahr	  	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P233, P240, P280, P302+P352, P304+P340, P403+P235
1-Methyl- imidazol	Gefahr	 	H302, H312, H315	P280, P301+ P330+P331, P302+P352, P305+P351+ P338
2-Methylphenol	Gefahr	 	H301, H311, H314	P280, P302+ P352, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
3-Methylphenol	Gefahr	 	H311, H301, H314	P280, P302+ P352, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
4-Methylphenol	Gefahr		H301, H311, H314	P280, P302+ P352, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
<i>p</i> -Methoxybenzaldehyd	Achtung		H302, H315, H319, H335	P261, P305+ P351+P338
2-Methoxyphenol	Achtung		H302, H315, H319	P302+P352, P305+P351+ P338
3-Methoxyphenol	Gefahr		H302, H311, H315, H319	P280, P302+ P352, P305+ P351+P338
4-Methoxyphenol	Achtung		H302, H317, H319	P302+P352, P305+P351+ P338
1-Naphthol	Gefahr		H302, H312, H315, H318, H335	P280, P260, P302+P352, P305+P351+ P338
2-Naphthol	Achtung		H302, H332, H400	P273
Natrium	Gefahr		H260, H314	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
Natriumhydrid	Gefahr		H260, H314	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338, P402+ P404

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Natriumhydroxid	Gefahr		H314, H290	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
Ninhydrin	Achtung		H302, H315, H319, H335	P261, P305+ P351+P338
Palladium/Kohle	Achtung		H315, H319	P305+P351+ P338
Petrolether	Gefahr		H225, H304, H336, H411, EUH066	P210, P273, P243, P301+ P310+P331
Phenol	Gefahr		H301, H311, H331, H314, H341, H373	P280, P302+ P352, P301+ P310+P331, P309, P310, P305+P351+ P338
Phosphorylchlorid	Gefahr		H330, H302, H314, H372, EUH014, EUH029	P233, P271, P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338
Salzsäure	Gefahr		H314, H335, H290	P301+ P330+ P331, P305+ P351+P338
Schwefelkohlenstoff	Gefahr		H225, H315, H319, H361, H372	P210, P233, P280, P302+ P352, P305+ P351+P338, P403+P235
Schwefelsäure	Gefahr		H290, H314	P301+P330+ P331, P305+ P351+P338

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat	Gefahr	 	H226, H330, H315, H319, H317	P210, P280, P304+P340, P305+P351+ P338, P302+ P352
<i>tert</i> -BuMgCl	Gefahr	 	H314, H260, H225, EUH019, EUH014	P301+P330+ P331, P280, P305+P351+ P338, P310, P402+P404, P210
Tetrabutyl- ammoniumiodid	Achtung		H302	P260, P262
Tetrahydrofuran	Gefahr	 	H225, H319, H335, EUH019	P233, P243, P305+P351+ P338
Thionylchlorid	Gefahr	 	H302, H332, H314, EUH014, EUH029	P301+P330+ P331, P305+ P351+P338
Titantetrachlorid	Gefahr		H314, EUH014	P280, P305+ P351+P338, P310, P301+ P330+P331
Triethylamin	Gefahr	  	H225, H332, H312, H302, H314, H335	P280, P301+ P330+P331, P302+P352, P305+P351+ P338

Verbindung	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Trimethylsilylchlorid	Gefahr		H225, H314, H335, EUH014	P280, P301+ P330+P331, P305+P351+ P338, P403+ P235
L-Valin	/	/	/	/
L-Valinol	Achtung		H319	P305+P351+ P338

Lebenslauf

Dipl.-Chem. Cristina Arbelo Román

geboren am 7. Juni 1980 in Barcelona (Spanien)

Abiturabschluss

Juli 1998

Gymnasium Serra de Marina in Premià de Mar,
Barcelona, Spanien. Abschluss: mit Auszeichnung.

Akademische Ausbildung

06/03-02/08

Universität Hamburg: Studium der Chemie

02/06-04/06

Forschungspraktikum der organischen Chemie am
University College Dublin, Irland (ERASMUS
Programm). Projekt: *Synthesis of macrocyclic
lactones* (in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Paul
Murphy).

07/07-02/08

Diplomarbeit an der Universität Hamburg am Institut
für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von
Prof. Dr. Chris Meier. Titel: „Diastereoselektive
Synthese von *cycloSal*-Phosphattriestern“.

seit 04/08

Doktorandin in Organischer Chemie in der
Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier, Universität
Hamburg

Universitäre Arbeiten

04/08-09/11

Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Department
Chemie der Universität Hamburg: Assistentin im
organisch chemischen Grundpraktikum, Assistentin
im anorganischen chemischen Grundpraktikum,
Assistentin im organischen Nebenfachpraktikum,
Assistentin im Integrierten Synthesepraktikum in
Anorganischer und Organischer Chemie sowie im
Fortgeschrittenpraktikum in Organische Chemie.

Publikationsliste

C. Arbelo Román, J. Balzarini, C. Meier, Diastereoselective Synthesis of Aryloxy Phosphoramidate Prodrugs of 3'-deoxy-2',3'-didehydrothymidine Monophosphate, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 7675-7681.

C. Arbelo Román, P. Wasserthal, J. Balzarini, C. Meier, Diastereoselective Synthesis of (Aryloxy)phosphoramidate Prodrugs, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, DOI: 10.1002/ejoc.201100614.

E. H. Rios Morales, C. Arbelo Román, J. Thomann, C. Meier, Linear Synthesis of Chiral *cycloSal*-Pronucleotides, *Chem. Eur. J.* **2011**, DOI: 10.1002/ejoc.201100334.

Posterbeiträge

E. H. Rios Morales, C. Arbelo Román, J. Balzarini, C. Meier, First Diastereoselective Synthesis of Two Types of Pronucleotides, 23. Internationale Konferenz über antivirale Forschung (ICAR) der Internationalen Gesellschaft für antivirale Forschung (ISAR), San Francisco, USA, 25.-28. April 2010. First Prize Award für E. H. Rios Morales; Poster auf der 23. Internationalen Konferenz über antivirale Forschung, San Francisco, USA (ICAR).

C. Arbelo Román, E. H. Rios Morales, J. Balzarini, C. Meier, Diastereoselective Synthesis of Two Types of Pronucleotides, 19. International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IRT), Lyon, Frankreich, 29. August - 3. September. *Auszeichnung*: A Best Poster Prize. Poster auf der 29. Internationalen Konferenz, Lyon, Frankreich (ITR).

Vortragsbeiträge

8. Hamburger Studententagung zur Medizin- und Biotechnologie, Hamburg, 4. Mai 2011. *Auszeichnung*: 2. Preis Vortrag für „Antiviral-aktive Trojanische Pferde“.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt und nur unter Zuhilfenahme der genannten Literatur und den angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

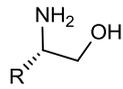
Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer mit den im Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

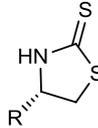
(Ort, Datum)

(Unterschrift)

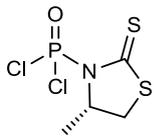
Verbindungsübersicht



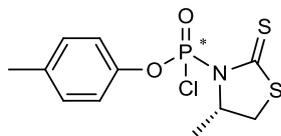
(S)-74a R= *i*Pr
(S)-74b R= Me



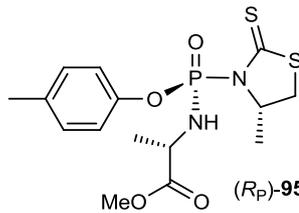
(S)-51a R= *i*Pr
(S)-51b R= Me



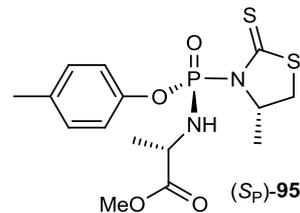
93



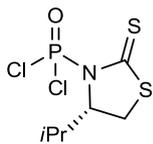
(*R*_P)/(*S*_P)-94



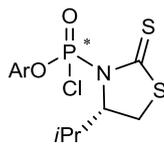
(*R*_P)-95



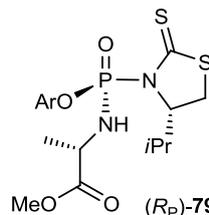
(*S*_P)-95



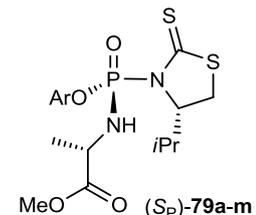
52



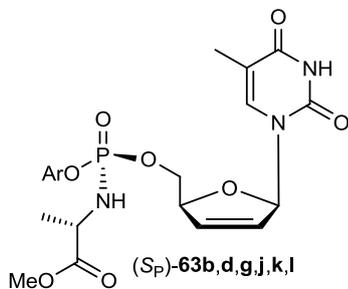
(*R*_P)/(*S*_P)-65a-m



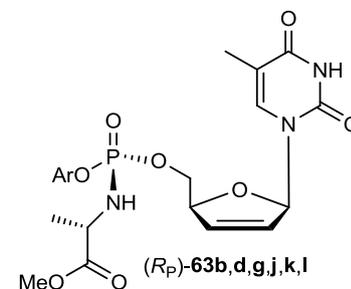
(*R*_P)-79a-m



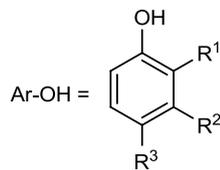
(*S*_P)-79a-m



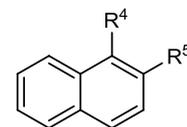
(*S*_P)-63b,d,g,j,k,l



(*R*_P)-63b,d,g,j,k,l



- a R¹= H; R²= H; R³= H
- b R¹= Me; R²= H; R³= H
- c R¹= H; R²= Me; R³= H
- d R¹= H; R²= H; R³= Me
- e R¹= OMe; R²= H; R³= H
- f R¹= H; R²= OMe; R³= H
- g R¹= H; R²= H; R³= OMe
- h R¹= Cl; R²= H; R³= H
- i R¹= H; R²= Cl; R³= H
- j R¹= H; R²= H; R³= Cl
- k R¹= H; R²= H; R³= Br



- l R⁴= OH; R⁵= H
- m R⁴= H; R⁵= OH

