



Synthese von Zuckernucleotiden

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Saskia Wolf

vorgelegt dem Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2012

Synthese von Zuckernucleotiden

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Saskia Wolf

vorgelegt dem Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2012

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier
2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Wittko Francke

Datum der Disputation: 23.03.2012

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Chris Meier gilt mein besonderer Dank für die interessante, herausfordernde Themenstellung und vor allem für den gewährten wissenschaftlichen Freiraum sowie die zahlreichen konstruktiven Diskussionen. Zudem danke ich für die hervorragenden experimentellen Bedingungen, die das Anfertigen dieser Arbeiten erst ermöglicht haben.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Wittko Francke danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens. Herrn Prof. Dr. Ulrich Hahn und Frau Dr. Brita Werner danke ich für die Teilnahme am Dissertationskolloquium.

Allen Mitgliedern der NMR- und MS-Abteilungen danke ich für die Durchführung der zahlreichen Experimente. Hervorzuheben sind hierbei Eva Juhas, Vera Priegnitz und Silke Weidner, die durch ihre schnelle, ordentliche Arbeitsweise und ihre unkomplizierte Art die Messungen der NMR-Verfolgungen zum Erfolg werden ließen.

Für die äußerst kritische und sehr intensive Auseinandersetzung mit diesem Manuskript möchte ich ganz besonders Frau Dipl.-Chem. Johanna Huchting danken.
Danke Johanni!

Den gesamten „Ackermeiers“ (AK Meier) danke ich für das -meist- phänomenale Arbeitsklima, die stete Hilfsbereitschaft und die grandiose Zusammenarbeit.

Auch hierbei sind einige Viele hervorzuheben: Die „Gurken“ (Alter vor Schönheit: Edwain Rios Morales, Rosmirt Sielaff, Cristina Arbelo Román und Katharina Höfler), die „525-Mädels“ und der „Junge“ Matthew Young sowie Ivo Sarac, der mir bei meinen PC-Problemen immer zur Seite stand.

Danke für diese schöne Zeit!

Natürlich danke ich auch meiner gesamten Familie und meinen Freunden für ihr stetes Interesse und ihren Zuspruch während der langen Zeit meiner Ausbildung.

Meinen Eltern danke ich für weit mehr als finanzielle Zuwendungen und mentale Ermutigungen. Dabei geht mein Dank sowohl an meine Mutter als auch an meinen Vater, die mich jeweils auf ihre Art eine selbstlose und uneingeschränkte Unterstützung spüren ließen.

Dies im Einzelnen aufzuzählen, wird mir nicht gelingen!

Jan, auch Dir möchte ich danken. Dafür, dass es Dich in meinem Leben gibt!

- *Meinen Eltern* -

*„Was Du ererbt von Deinen Vätern hast,
erwirb es, um es zu besitzen.“*

Johann Wolfgang von Goethe

Abkürzungen und Symbole

A	Adenosin (Nucleosid), Adenin (Nucleobase)
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcCl	Acetylchlorid
ACV	Acyclovir
ADP	Adenosindiphosphat
Äq.	Äquivalente
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome
AMP	Adenosinmonophosphat
Ar	aromatisch
ATP	Adenosintri-phosphat
ax	axial
AZT	3'-Desoxy-3'-Azido-Thymidin
B	Nucleobase
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
BSA	Benzoesulfonsäure
But	Butyl
C	Cytidin (Nucleosid), Cytosin (Nucleobase)
CDCl ₃	Deuteriochloroform
C ₆ D ₆	deuteriertes Benzol
CDP	Cytidindiphosphat
CMP	Cytidinmonophosphat
CMP-Neu5Ac	Cytidinmonophosphat- <i>N</i> -Acetylneuraminsäure
COSY	Korrelations-Spektroskopie (correlation spectroscopy)
CTP	Cytidintri-phosphat
<i>cyclo</i> Sal	<i>cyclo</i> -Saligenyl
δ	chemische Verschiebung
d	Desoxy (Nucleoside)
d	Dublett (NMR)
d	Tag(e)
DAST	Diethylaminotrifluorid

- Abkürzungen und Symbole -

DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	Dicyanoimidazol
dd	Dublett von Dublett (NMR)
dd	2',3'-Dideoxy (Nucleoside)
ddd	Dreifachdublett (NMR)
ddT	3'-Desoxy-Thymidin
dest.	destilliert
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	deutertes Dimethylsulfoxid
DMTr	4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl
DNA	Desoxyribonucleinsäure
D ₂ O	Deuteriumoxid
DP	Diphosphat
d4T	3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidin
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EE	Ethylacetat
EI	Elektronenionisation
ESI	Elektronensprayionisation
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
eq	äquatorial
FAB	fast atom bombardment
G	Guanosin (Nucleosid), Guanin (Nucleobase)
Gal	Galactose
GDP	Guanosindiphosphat
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Glc	Glucose
GMP	Guanosinmonophosphat
GTP	Guanosintriphosphat
h	Stunde(n)
HAART	highly active anti retroviral therapy
HIV	humanes Immundefizienz-Virus

- Abkürzungen und Symbole -

HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
Hz	Hertz
carba- <i>isoddA</i>	carbocyclisches 2',3'-Didesoxy- <i>N</i> ⁴ - <i>iso</i> -Adenosin
<i>isoddA</i>	2',3'-Didesoxy- <i>N</i> ⁴ - <i>iso</i> -Adenosin
<i>iPr</i>	<i>iso</i> -Propanol
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kern-Kern-Kopplungskonstante
Kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
LPS	Lipopolysaccharid
Lsg.	Lösung
M	Molar (mol/L)
m	milli
<i>m</i>	<i>meta</i>
m	Multipllett (NMR)
Man	Mannose
MALDI	matrix assisted laser desorption ionisation
MALDI-TOF	matrix assisted laser desorption ionisation - time of flight
<i>mCPBA</i>	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MeOD	deuteriertes Methanol
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
MP	Monophosphat
MS	Massenspektrometrie
MW	Mikrowelle
NaOMe	Natriummethanolat
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NDP	Nucleosiddiphosphat
neg.	negativ
Neu5Ac	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure
Neu5But	<i>N</i> -Butanoylneuraminsäure
Neu5Cycloprop	<i>N</i> -Cyclopropylcarbonylneuraminsäure
Neu5Gc	<i>N</i> -Glycolylneuraminsäure

- Abkürzungen und Symbole -

Neu5Pent	<i>N</i> -Pentanoylneuraminsäure
Neu5Prop	<i>N</i> -Propanoylneuraminsäure
NMP	Nucleosidmonophosphat
NMR	nuclear magnetic resonance
NRTI	nucleosidischer Reverse Transkriptase Inhibitor
NTP	Nucleosidtriphosphat
Nu	Nucleophil
Nucl.	Nucleosid
<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
P _i	Phosphat
PE	Petrolether
PEP	Phosphoenolpyruvat
pH	negativ dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
Ph	Phenyl
PhSH	Thiophenol
PP _i	Pyrophosphat
PTC	Phasentransferkatalyse
ppm	parts per million
q	Quadruplett (NMR)
quant.	quantitativ
R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
RP	reversed phase
RT	Reverse Transkriptase
Rt	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR)
SalOH	Salicylalkohol
SG	Schutzgruppe
Sdp	Siedepunkt
Smp	Schmelzpunkt
t	Triplet (NMR)
t	Zeit
T	Thymidin (Nucleosid), Thymin (Nucleobase)
TBA-HSO ₄	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
TBAF	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl

- Abkürzungen und Symbole -

TDP	Thymidindiphosphat
TEA	Triethylamin
<i>tert</i>	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMP	Thymidinmonophosphat
TP	Triphosphat
TTP	Thymidintriphosphat
U	Uridin (Nucleosid), Uracil (Nucleobase)
UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolett

1	Einleitung.....	1
2	Kenntnisstand.....	3
	2.1 Zuckernucleotide - Funktion und Vorkommen.....	3
	2.2 Synthese der Zuckernucleotide.....	8
	2.2.1 Synthese von Nucleosid <i>Di</i> Phosphat-Pyranosen (NDP-Pyranosen).....	8
	2.2.2 Synthese von Nucleosid <i>Mono</i> Phosphat-Pyranosen (NMP-Pyranosen).....	14
	2.3 Das <i>cycloSal</i> -Konzept.....	17
	2.3.1 <i>cycloSal</i> -Nucleotide.....	17
	2.3.2 <i>cycloSal</i> -Nucleotide im Prodrug-Konzept.....	17
	2.3.3 <i>cycloSal</i> -Nucleotide zur Darstellung von Zuckernucleotiden.....	20
3	Aufgabenstellung.....	24
4	Resultate und Diskussion.....	25
	4.1 Synthesestrategie.....	25
	4.2 Darstellung der 5-Nitro- <i>cycloSal</i> -Nucleosidmonophosphate.....	26
	4.2.1 Darstellung des 5-Nitro- <i>cycloSal</i> -Chlorphosphits.....	26
	4.2.2 Darstellung der geschützten Nucleoside.....	28
	4.2.3 Darstellung der 5-Nitro- <i>cycloSal</i> -Nucleosidmonophosphate.....	30
	4.3 Darstellung der Nucleophile.....	37
	4.3.1 Darstellung der Pyranosyl-Phosphate.....	37
	4.3.2 Darstellung der Neuraminsäure-Derivate.....	63
	4.4 Synthese der Nucleosid <i>Di</i> phosphat Pyranosen.....	71
	4.4.1 Synthese der natürlich vorkommenden NDP-Pyranosen.....	71
	4.4.2 Synthese der modifizierten NDP-Pyranosen.....	77
	4.4.3 Modifizierung an NDP-Pyranosen.....	84
	4.5 Versuch der Synthese von CDP-Cholin	86
	4.6 Synthese der Nucleosid <i>Mono</i> phosphat Pyranosen.....	90
	4.6.1 Optimierung der Syntheseroute zur Darstellung der CMP-Neu5Ac.....	91
	4.6.2 Darstellung der modifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate.....	102
	4.6.3 Biochemische Tests unter Verwendung einer Polysialyltransferase.....	105
5	Fazit.....	112
6	Zusammenfassung.....	113
7	Summary.....	118
8	Experimenteller Teil.....	122

8.1 Allgemeines.....	122
8.1.1 Edukte und Reagenzien.....	122
8.1.2 Lösungsmittel.....	122
8.1.3 Absolute Lösungsmittel.....	122
8.1.4 Chromatographie.....	123
8.1.5 Spektroskopie.....	124
8.1.6 Spektrometrie.....	125
8.1.7 Geräte.....	125
8.2 Synthesen.....	126
8.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	126
8.2.2 Synthese der <i>cycloSal</i> -Verbindungen.....	133
8.2.3 Synthese der Nucleophile.....	154
8.2.4 Synthese der Nucleosid Diphosphat Pyranosen.....	200
8.2.5 Synthese der Cytidin Monophosphat Neuraminsäuren.....	221
9 Gefahrstoffverzeichnis.....	228
10 Literaturverzeichnis.....	239

1 Einleitung

Die im allgemeinen Sprachgebrauch als „Zucker“ bezeichneten Verbindungen der Zusammensetzung $C_6H_{12}O_6$ übernehmen in biologischen Systemen eine Vielzahl von Funktionen. Daher verwundert es nicht, dass diese Verbindungsklasse zunehmend an Bedeutung gewinnt und ihre chemische Synthese unausweichlich ist. Aus diesem Grund stellt die erste Synthese eines Zuckers im Laboratorium, die dem russischen Chemiker Aleksandr Michailovic Butlerov 1861 bei der Umsetzung von Formaldehyd mit Calciumhydroxid gelang, einen Schlüsselschritt auf dem Gebiet der Chemie der Kohlenhydrate dar.^[1]

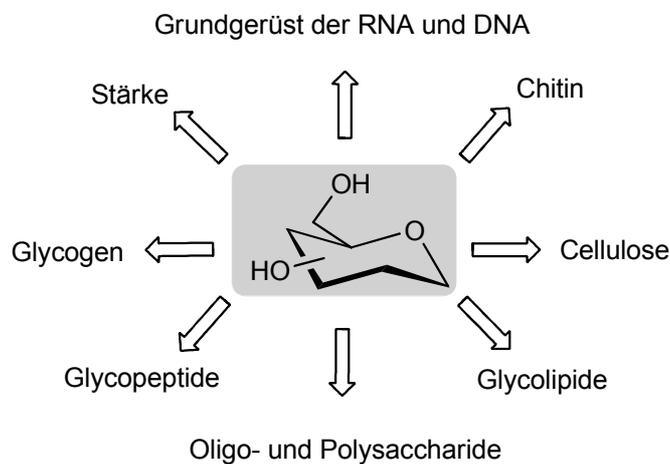


Abbildung 1: Beispiele der verschiedenen Vorkommen von Kohlenhydraten

Heutzutage bilden Kohlenhydrate neben Nucleinsäuren, Proteinen und Lipiden eine der vier Hauptklassen der Biomoleküle. Kohlenhydrate erfüllen wichtige biologische Funktionen und somit kann man sie als die eventuell bedeutungsvollste, vor allem aber vielseitigste Klasse der Biomoleküle bezeichnen.

In lebenden Organismen dienen sie beispielsweise als Energiequelle und Energiespeicher, wie die Stärke und das Glycogen. Zusätzlich findet man sie als Stützsubstanzen, wie die Cellulose und das Chitin sowie als Intermediate im Metabolismus.^[2] Als Ribosen sind sie zudem ein Teil des Grundgerüsts der RNA und DNA. Außerdem kommen sie sowohl in Verbindung mit Peptiden - als Glycopeptide - wie auch mit Lipiden - als Glycolipide - vor und erfüllen hier wichtige Funktionen in entscheidenden biologischen Prozessen, wie zum

Beispiel der Antigen-Antikörper-Reaktion und der Signaltransduktion.^[3,4] Des Weiteren sind Kohlenhydrate Bestandteile von Zellwänden und spielen dort eine wichtige Rolle in Erkennungsprozessen.^[5]

Aufgrund des sehr breiten Aufgabenspektrums, welches die Kohlenhydrate erfüllen, bedarf es einer enormen strukturellen Vielfalt. Diese wird sowohl durch die Art der Verknüpfung der Monomere, wie auch kombinatorisch durch die Reihenfolge der Zusammensetzung der verschiedenen Kohlenhydratbausteine zu Oligo- bzw. Polysacchariden erzeugt. Dadurch verfügt die Natur über ein großes Potenzial die verschiedensten biologischen Informationen zu kodieren und weiterzugeben.^[6]

2 Kenntnisstand

2.1 Zuckernucleotide - Funktion und Vorkommen

In ihrer aktivierten Form liegen die Grundbausteine der Kohlenhydrate als so genannte Zuckernucleotide vor. Dabei handelt es sich um Verbindungen, in denen eine Pyranose über eine Phosphat- oder Pyrophosphat-Einheit mit einem Nucleosid verbunden ist (Abbildung 2).

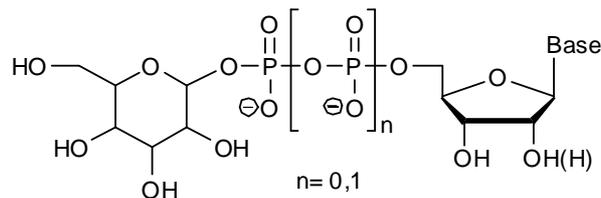


Abbildung 2: Allgemeine Struktur eines Zuckernucleotides

In den meisten Fällen handelt es sich bei Zuckernucleotiden um Nucleosid*Di*Phosphat-Pyranosen (NDP-Pyranosen). Der Glycosylrest wird in diesen durch die anomere Phosphatestergruppe für enzymatische Übertragungsreaktionen aktiviert. Der Nucleosidrest dient diesen Enzymen - meist Glycosyltransferasen - als zusätzliches Erkennungsmerkmal für die spezifische Umsetzung.

Die Glycosyltransferasen, die bei Säugetieren anzutreffenden sind, beschränken sich im Wesentlichen auf acht Zuckernucleotide: UDP- α -D-Glc, UDP- α -D-Gal, UDP- α -D-GlcNAc, UDP- α -D-GalNAc, UDP- α -D-GlcUA, GDP- α -D-Man, GDP- β -L-Fuc und CMP- β -D-Neu5Ac.^[5] Diese aktivierten Monosaccharide erfüllen zwei, für den aufbauenden Stoffwechsel essentielle Funktionen: Zum einen sind sie an der Biosynthese von Desoxyzuckern, Aminodesoxyzuckern, verzweigt-kettigen Zuckern und Harnsäuren beteiligt. Zum anderen stellen NDP-Zucker die entscheidenden Bausteine zur Biosynthese von Oligo- und Polysacchariden dar.^[7]

Die Glycogenbiosynthese (Abbildung 3), ist ein Beispiel für die Entstehungsweise der Oligo- und Polysaccharide unter der Beteiligung der NDP-Pyranosen als Schlüsselsubstanzen. Sie ist insbesondere vom argentinischen Biochemiker *Luis F. Leloir* untersucht und aufgeklärt worden. Der erste, 1948 von *Leloir* entdeckte „aktivierte Zucker“ dieses Typs war Uridindiphosphat- α -D-Glucose 1.^[8]

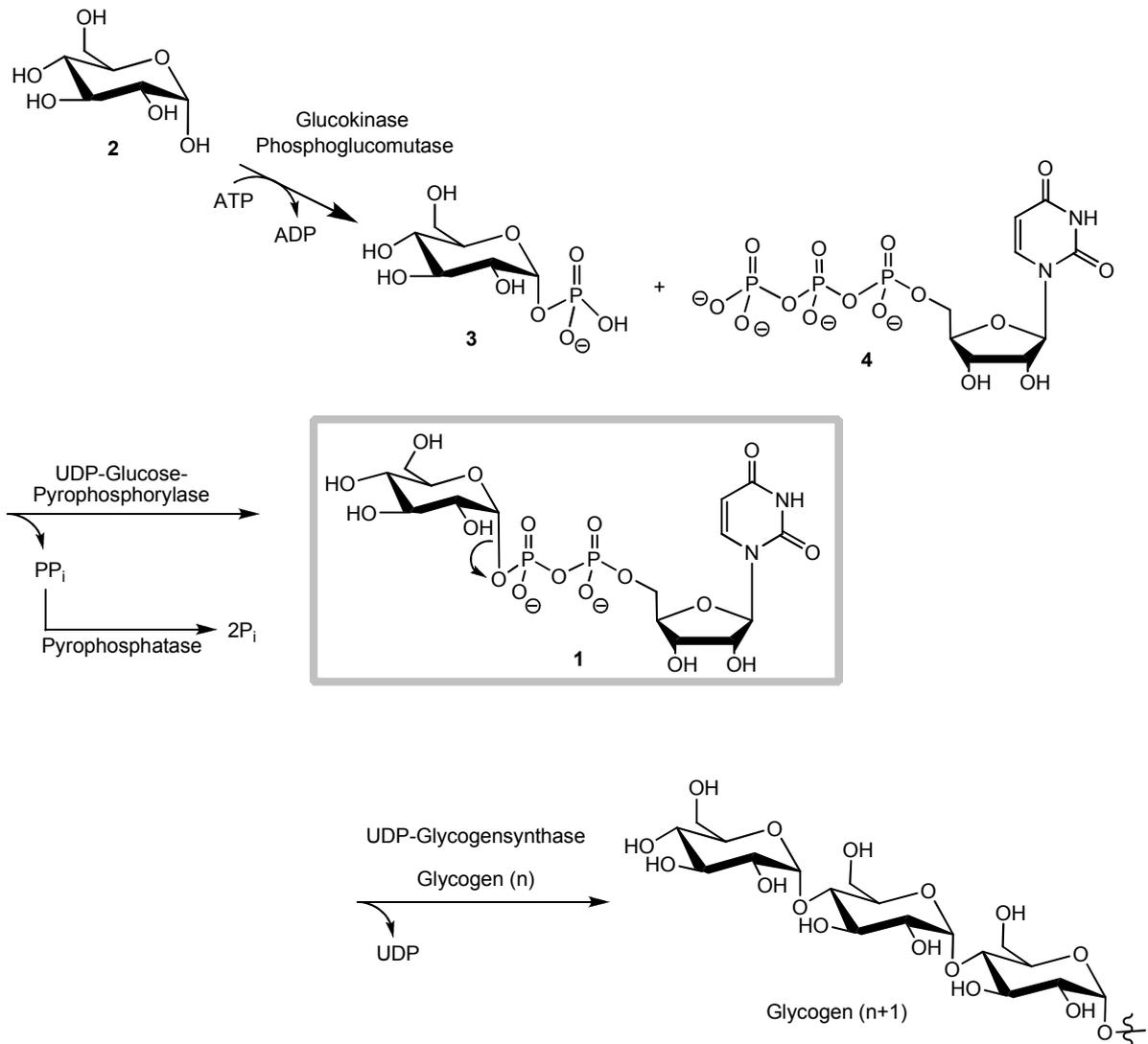


Abbildung 3: Glycogenbiosynthese

Zum Aufbau einer glycosidischen Bindung muss Glucose **2** durch die Glucokinase unter Verbrauch von ATP phosphoryliert werden. Der Phosphatrest befindet sich dabei zunächst in der 6-Position und wird mit Hilfe der Phosphoglucomutase in die 1-Position umgelagert. Anschließend bildet sich aus dem Glucose-Phosphat **3** und Uridintriphosphat **4** unter katalytischer Hilfe von UDP-Glucose-Pyrophosphorylase und unter Freisetzung von Pyrophosphat Uridindiphosphat- α -D-Glucose **1**. Die Triebkraft dieser Reaktionskette ist die irreversible Spaltung des freigesetzten Pyrophosphats durch die Pyrophosphatase. Das entstandene Zuckernucleotid dient letztlich als aktivierter Glycosyldonor, der die Glycosyleinheit mit Hilfe der Glycosyltransferase - hier der UDP-Glycogensynthase - auf die wachsende Glycogenkette überträgt, wobei die Bildung der neuen glycosidischen Bindung katalysiert wird.^[9]

Auf einem der eben beschriebenen Glycogenbiosynthese analogem Weg erfolgt die Synthese von Lipopolysacchariden, welche zu den Hauptbestandteilen der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien gehören (Abbildung 4).

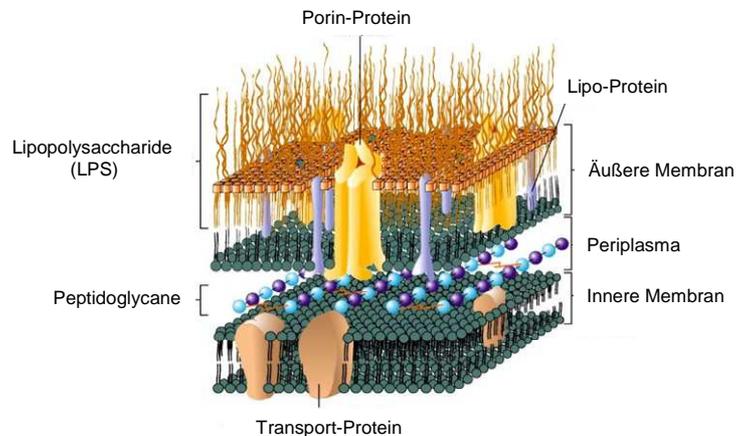


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Zellwand eines gramnegativen Bakteriums^[10]

Die Lipopolysaccharide bestehen aus einem hydrophoben Anteil (Lipid A) und einer hydrophilen Kohlenhydratkomponente, die sich in eine Kernregion und das O-Antigen unterteilen lässt (Abbildung 5).^[11] Das polymere O-Antigen stellt einen hochvariablen Teil dar, welcher 3-20 Hexoseeinheiten aus D-Galactose **5**, D-Mannose **6**, und D-Rhamnose **7** enthält und spezifisch für eine bestimmte Spezies von Bakterien ist. Das O-Antigen bestimmt zudem die Oberflächeneigenschaften und die Immunität des Bakteriums. Die Kernregion beinhaltet den strukturell konservativen Teil. Als Zuckerbausteine findet man in der inneren Kernregion Glucosamin **8** und verschiedene Heptosen. In der äußeren Kernregion werden hingegen D-Glucose **2**, D-Galactose **5** und N-Acetyl-Glucosamin **9** gefunden. Zum Aufbau dieser Kernregion werden Oligosaccharidketten benötigt, die mit Hilfe von Zuckernucleotiden und Glycosyltransferasen - auf analoge Weise wie für Glycogen zuvor dargestellt - aufgebaut werden.

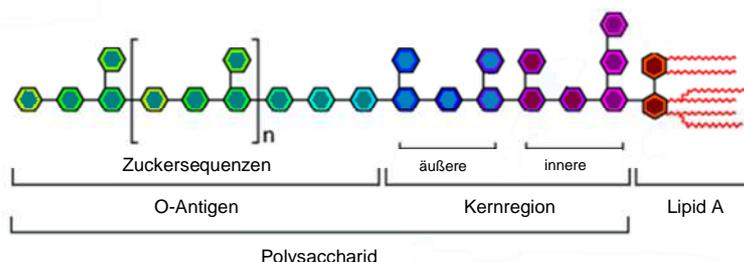


Abbildung 5: Schematische Darstellung eines Lipopolysaccharides

Eine Aktivierung als NucleosidMonoPhosphat-Pyranose (NMP-Pyranose) erfolgt im Allgemeinen bei 3-Desoxy-2-Glyculosonaten, wie Sialinsäure-verknüpften Verbindungen. Als wichtigster Vertreter sei hier die CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** genannt (Abbildung 6), deren Glycon-Rest in jeder Spezies zu finden ist. CMP-Neu5Ac **10** stellt die einzige natürliche Verbindung einer Sialinsäure dar, die als β -Anomer vorliegt, wodurch sie im Organismus vor dem Abbau durch α -spezifische Sialidasen geschützt ist.^[12]

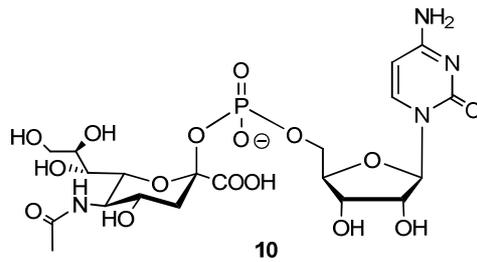


Abbildung 6: CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**

Da Sialinsäuren in höheren Tieren und einigen Mikroorganismen häufig als terminale Kohlenhydrate in Glycokonjugaten vorkommen und hier entscheidende biologische Funktionen erfüllen, stellt CMP-Neu5Ac **10** als aktivierter Sialinsäuredonor, ein besonders interessantes Zielmolekül für pharmakologische Studien dar.^[13,14] Die Gruppe der Sialinsäuren besteht aus einer Vielzahl von *N*- bzw. *O*-acylierten Derivaten der Neuraminsäure, welches alle acide Aminozucker mit einem Grundgerüst aus neun Kohlenstoffatomen sind.^[15] Modifikationsmöglichkeiten ergeben sich zum einen durch die Wahl des sich an der Aminofunktion befindenden Restes (Abbildung 7). Hier ist neben dem gebräuchlichen Acetyl-Rest (**11**) auch häufig ein Glycolyl-Rest (**12**) zu finden, der in Säugetieren, allerdings nicht im Menschen, anzutreffen ist. Zum anderen wird die ebenfalls in der 9-Position acetylierte Form (**13**) der Neu5Ac gefunden.

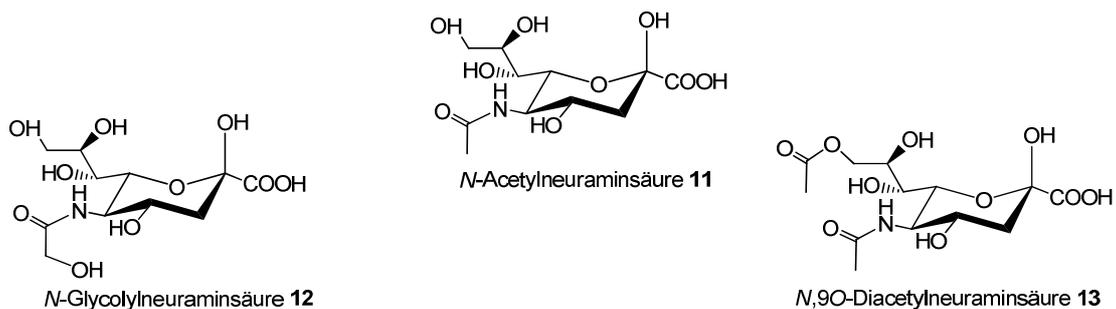


Abbildung 7: Die wichtigsten Derivate der Neuraminsäure

Da die terminale Position der Sialinsäuren in Glycokonjugaten sie zu einem wichtigen Liganden für Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen macht, beruht die hohe Diversität wahrscheinlich auf der erforderlichen Spezifität dieser Erkennungsprozesse (Abbildung 8).^[15]

Sialinsäurehaltige Glycokonjugate sind daher an einer Reihe von fundamentalen physiologischen und pathologischen Vorgängen von entscheidender Bedeutung. Beispielsweise seien die Zell-Zell-Erkennung, die Embryogenese, die Organbildung und die Immunabwehr genannt. Außerdem spielen sie bei Entzündungsprozessen oder auch beim Eindringen von Pathogenen eine große Rolle.^[16]

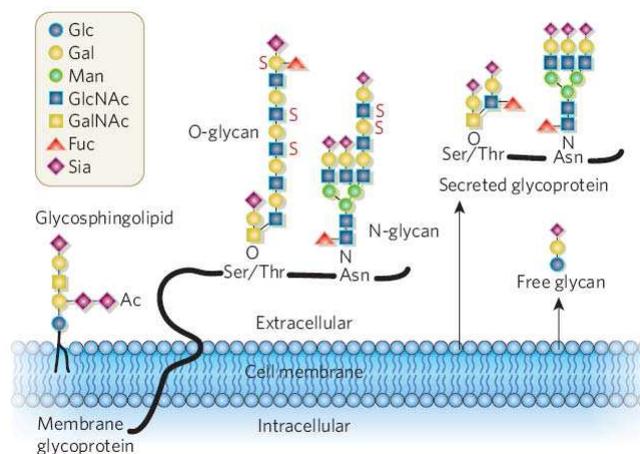


Abbildung 8: Sialinsäuren als terminale Kohlenhydrate auf der Zelloberfläche^[17]

2.2 Synthese der Zuckernucleotide

2.2.1 Synthese von NucleosidDiphosphat-Pyranosen (NDP-Pyranosen)

Die NucleosidDiphosphat-Pyranosen (NDP-Pyranosen) sind über eine Pyrophosphat-Einheit verknüpft. Vertreter dieser Substanzklasse sind sowohl natürlich vorkommende, wie auch analoge Verbindungen, die Modifikationen an der Pyranose, am Nucleosid oder der Pyrophosphat-Brücke aufweisen können.

2.2.1.1 Enzymatische Synthesen

Die Vorteile enzymatischer Synthesen der NDP-Pyranosen sind neben dem Verzicht auf Schutzgruppen die hohe Regio- und Stereospezifität der Reaktion.

Eine enzymatische Synthese zur Darstellung von NDP-Zuckern wurde von *Thiem et al.* beschrieben.^[18] Für die Synthese von GDP-β-L-Fucose **14** wird β-L-Fucose **15** hierbei durch die Fucose-Kinase unter Verbrauch von ATP in L-Fucose-β-Phosphat **16** überführt. Das bei dieser Reaktion entstehende ADP, welches die Kinase inhibiert, kann mit Phosphoenolpyruvat zu ATP regeneriert werden. Durch die GDP-Fucose-Pyrophosphorylase wird Fucose-Phosphat **16** in einer zweiten enzymatischen Reaktion zu GDP-β-L-Fucose **14** umgesetzt.

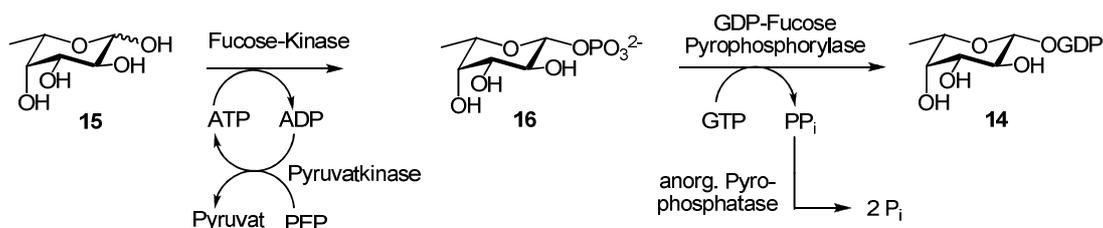


Abbildung 9: Enzymatische Synthese nach *Thiem et al.*

Ein großer Nachteil enzymatischer Synthesen besteht allerdings in der begrenzten Verfügbarkeit der Enzyme durch Isolierung aus natürlichen Quellen oder durch Klonierung.^[19,20] Zudem verhindert der Mangel an einer generell anwendbaren enzymatischen Synthesemöglichkeit, besonders in Bezug auf nicht natürliche Donorsubstrate, den Fortschritt dieser Methode.^[21]

Für eine generell anwendbare Darstellung von NDP-Zuckern sind daher chemische Synthesen unumgänglich.

2.2.1.2 Chemische Synthesen

Die Darstellung der Nucleosiddiphosphat-Pyranosen ist grundsätzlich auf zwei verschiedenen Wegen möglich, wobei in beiden Fällen eine Aktivierung einer der beiden Bausteine erfolgen muss.

Zum einen kann durch Aktivierung der Pyranose (Abbildung 10, Route A, links) und anschließender Umsetzung mit einem Nucleosiddiphosphat die NDP-Pyranose entstehen. Hierbei wird die Bindung der anomeren Position der Pyranose neu gebildet, wodurch die Bildung anomerer Produkte erschwert ist.

Zum anderen ist die Darstellung der gewünschten Verbindung durch Aktivierung des Nucleotides möglich. Hierbei erfolgt die Aktivierung zum Beispiel als Nucleosidphosphormorpholidat, -amidat^[22], -anhydrid^[23] oder -ester^[24]. Dieser folgt ein nucleophiler Angriff eines Pyranose-Phosphats, wobei die Diphosphat-Bindung entsteht (Abbildung 10, Route B, rechts).

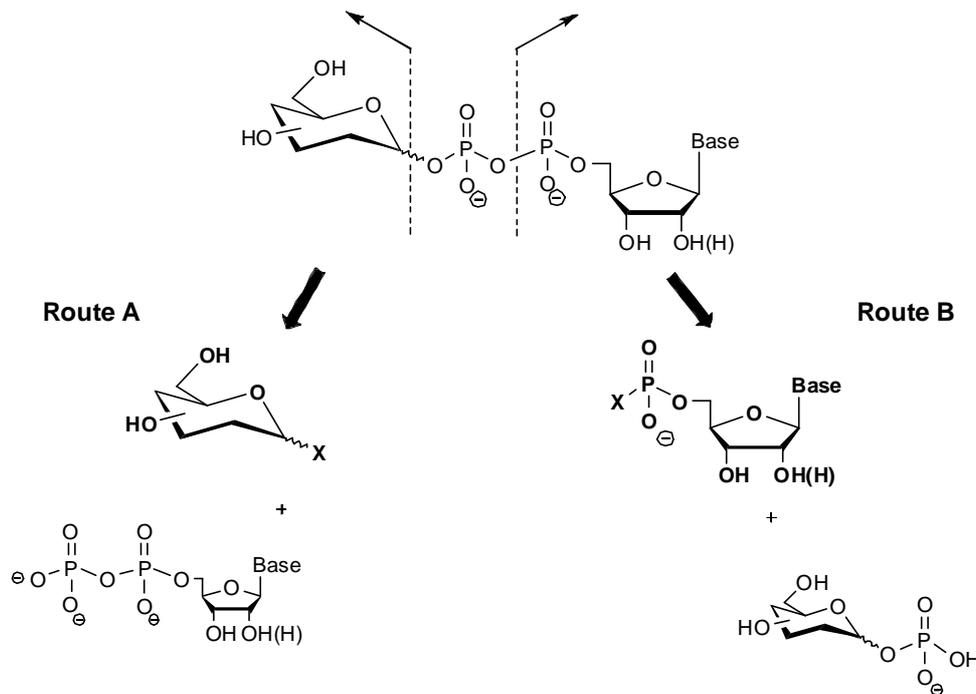


Abbildung 10: Wege zur Darstellung der Nucleosiddiphosphat-Pyranosen

Sowohl für die Route A, wie auch für die Route B gibt es zahlreiche bereits publizierte Ansätze von verschiedenen Arbeitsgruppen. Im Folgenden seien allerdings nur die bedeutendsten Ansätze auszugsweise beschrieben.

Synthesen von NDP-Pyranosen durch Aktivierung der Pyranose

Die bekannteste Synthesestrategie zur Darstellung von NDP-Pyranosen durch Aktivierung der Pyranose ist die NDP-Halogenose-Methode nach *Hindsgaul et al.*^[25]

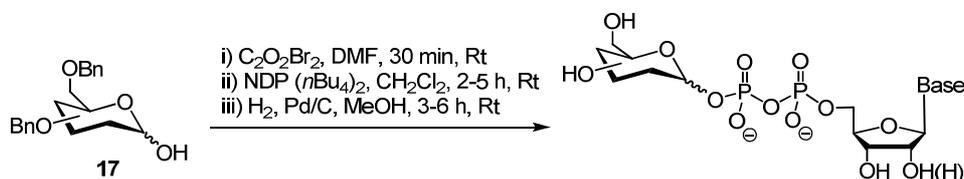


Abbildung 11: NDP-Halogenose-Methode nach *Hindsgaul et al.*

Hierbei wird ein Monosaccharid am anomeren Zentrum halogeniert, wodurch es gegenüber nucleophiler Angriffe der Nucleosiddiphosphate aktiviert ist. Diese Per-O-benzylglycopyranosylbromide werden aus dem reduzierenden Zucker **17** mit Hilfe von Oxalylbromid in DMF dargestellt und anschließend in Dichlormethan mit den jeweiligen Nucleosiddiphosphaten, welche als Tetra-*n*-butylammoniumsalze vorliegen, umgesetzt (Abbildung 11). Die benzylierten Produkte lassen sich nach der Kupplung ohne Zersetzung an Kieselgel reinigen und anschließend durch katalytische Hydrierung entschützen. Die Umsetzung zu den entsprechenden Zuckernucleotiden benötigt zwar nur wenige Stunden, jedoch sind die Ausbeuten mit 10-30% nur moderat. Außerdem besteht bei dieser Methode keine Möglichkeit zur Stereokontrolle am anomeren Zentrum, sodass man die Nucleosiddiphosphatzucker als untrennbare α/β -Gemische erhält, wobei dieses Verhältnis abhängig vom gewählten pH-Wert der Reaktion ist. Die Anomerenverhältnisse liegen dabei zwischen 1:1-1:3 (α/β), wobei die Bildung des α -Anomers bei niedrigerem pH-Wert bevorzugt ist.

Eine Weiterentwicklung dieser Methode wurde von *Jakeman et al.* publiziert.^[26] Dabei wurden Acetyl- bzw. Benzoyl-Schutzgruppen statt der ursprünglichen Benzyl-Schutzgruppen zur Nutzung des Nachbargruppeneffektes verwendet, um anomerenreine Zielverbindungen zu erhalten (Abbildung 12).

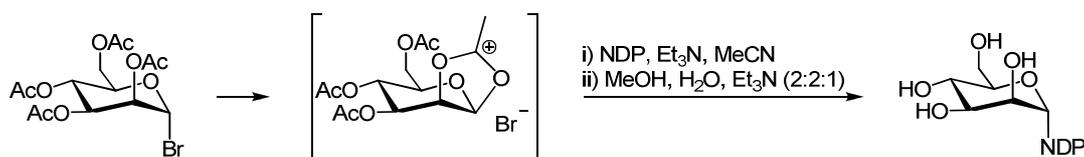


Abbildung 12: Stereoselektive Synthese von NDP- α -D-Mannose nach *Jakeman et al.*

Dadurch gelang es, die vier Zuckernucleotide UDP- α -D-Man, GDP- α -D-Man, UDP- β -L-Fuc, GDP- β -L-Fuc in ebenso lediglich moderaten Ausbeuten bis zu 38% darzustellen. Zwar ist die Stereokontrolle durch den Nachbargruppeneffekt von Vorteil, dennoch ist dieses kein allgemeingültiger Ansatz zur Darstellung anomerer reiner NDP-Pyranosen, da auf diesem Wege einzig die 1,2-*trans*-konfigurierten Produkte erhalten werden können.

Eine Aktivierung der Pyranose ist nicht ausschließlich durch halogenierte Zucker zu erreichen. *Klaffke et al.* verwendeten 1,2-Anhydrozucker **18** zur Umsetzung mit Nucleosiddiphosphaten.^[27] Auf diesem Wege konnten für die noch geschützten NDP-Pyranosen zwar relativ gute Ausbeuten im Bereich von 40-60% erzielt werden, allerdings wurden auch hier lediglich Anomerengemische erhalten, die wenig bis keine Stereoselektivität (5:3-1:1 (α/β)) aufwiesen.

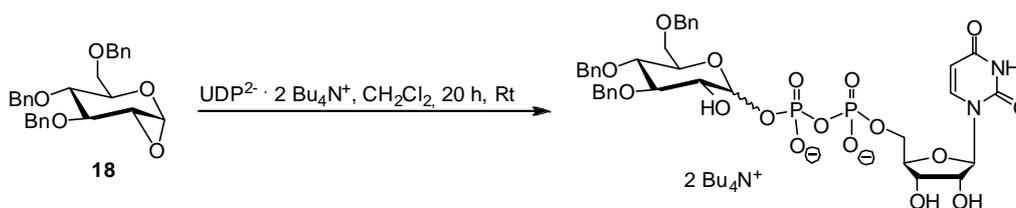


Abbildung 13: Verwendung von 1,2-Anhydrozuckern nach *Klaffke et al.*

Eine alternative Synthesestrategie stellt die Methode nach *Ferrières et al.* dar.^[28] Hierbei wird eine Furanose **19** mit Mercaptobenzimidazol aktiviert und anschließend ungeschützt mit einem Nucleosiddiphosphat in DMF umgesetzt (Abbildung 14). Die Ausbeuten sind mit bis zu 37% allerdings ebenfalls nicht ausreichend. Außerdem besteht bei dieser Methode ebenso keine Kontrolle der Stereochemie am anomeren Zentrum.

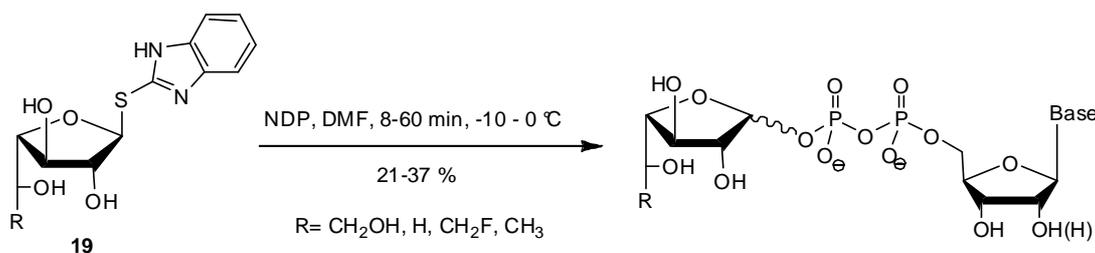


Abbildung 14: Die Mercaptobenzimidazol-Methode

Aus diesen Beispielen lässt sich also erkennen, dass die Route A zwar generell geeignet ist, um NDP-Pyranosen darzustellen, die Ausbeuten jedoch meist nur moderat sind. Die Problematik der Stereokontrolle kann nur in einigen wenigen Fällen umgangen werden, womit eine allgemeingültige und vor allem flexible Anwendung ausscheidet.

Synthesen von NDP-Pyranosen durch Aktivierung des Nucleotides

Bei der Darstellung von NDP-Pyranosen durch Aktivierung des Nucleotides handelt es sich um eine Kondensation zweier Monophosphatbausteine unter Bildung der Pyrophosphat-Bindung. Daher ist es möglich, das Zuckerphosphat anomerenrein einzusetzen und somit ein anomerenreines Produkt zu erhalten.

Die im Generellen angewendete und weitverbreitete Synthese von NDP-Pyranosen nach *Moffat* und *Khorana* nutzt Nucleosidphosphormorpholide als aktivierten Baustein.^[22,29] Dabei wird das jeweilige Nucleosid-5'-phosphormorpholidat **20**, welches als *N,N*-Dicyclohexyl-carboxamidinium-Salz vorliegt, mit einem ungeschützten Pyranosyl-Phosphat zur gewünschten NDP-Pyranose umgesetzt (Abbildung 15).

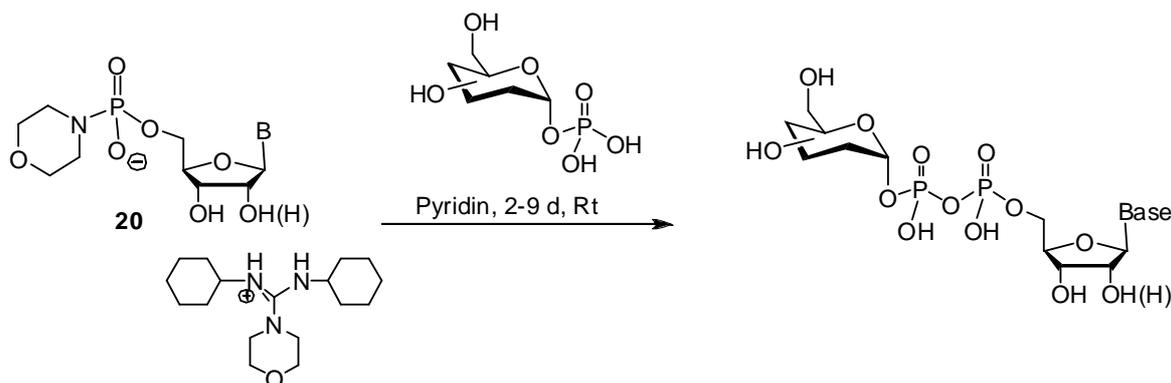


Abbildung 15: Phosphormorpholidat-Methode nach *Moffat* und *Khorana*

Die Reaktionszeiten dieser Methode sind mit mehreren Tagen sehr lang und die Ausbeuten wieder nur moderat, was mit Nebenreaktionen oder hydrolytischer Spaltung des bereits entstandenen NDP-Zuckers zu erklären ist. Allerdings konnten auf diesem Weg schon zahlreiche Zuckernucleotide dargestellt werden.^[30] Ebenso ist diese Syntheseroute auch für Modifikationen geeignet, so dass keine Beschränkung auf natürliche Zuckernucleotide vorliegt.

Zur Steigerung der Ausbeuten wurde lange Zeit nach einem geeigneten Katalysator gesucht, der zwar die Reaktionszeiten verkürzen, aber auch das recht instabile Produkt intakt lassen sollte. Dieses gelang *Wittmann* und *Wong* durch die Verwendung von 1*H*-Tetrazol, welches sowohl als Brönstedt-Säure, wie auch als Nucleophil agieren kann, was ausschlaggebend für die katalytische Wirkung zu sein scheint. Hierbei ließ sich die Reaktionszeit auf 1-2 Tage verkürzen.^[31] Allerdings konnte dieses Ergebnis in Experimenten unserer Arbeitsgruppe nicht reproduziert werden.^[32,33]

Eine weitere Methode, bei der das Nucleotid als Phosphoramidit **21** aktiviert wird, wurde von *van der Marel et al.* beschrieben.^[34] Hierbei wird ein anomerenreines Pyranosyl-Phosphat mit dem Phosphoramidit **21**, unter Verwendung von Dicyanoimidazol als Aktivierungsreagenz, gekuppelt. Nach erfolgter Kupplung wird mit Hilfe von *tert*-Butylhydroperoxid zum Phosphat oxidiert. Diese Oxidation stellt einen erheblichen Nachteil für die allgemeine Anwendbarkeit dar, denn der Einsatz oxidationsempfindlicher unnatürlicher Pyranosen ist nicht möglich. Auf diesem Weg konnten drei Zuckernucleotide mit guten Ausbeuten von 63%, 71% und 73% dargestellt werden.

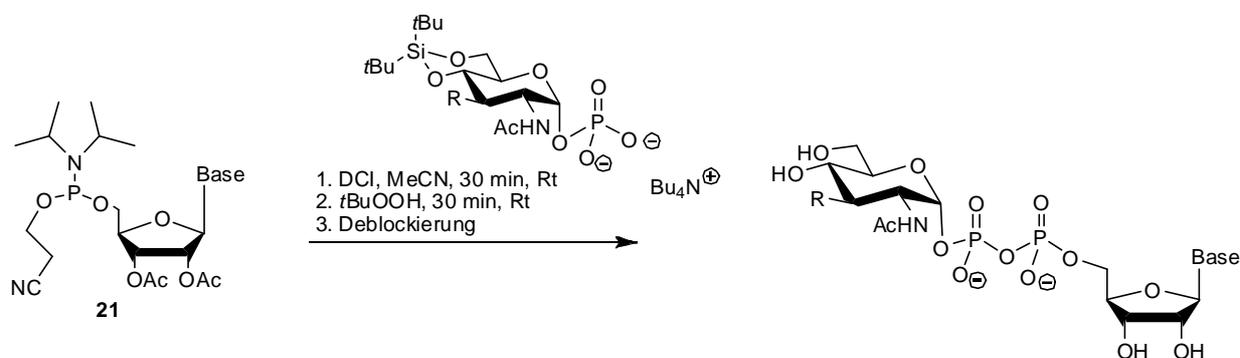


Abbildung 16: Methode nach *van der Marel et al.*

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass unter den hier beschriebenen Methoden keine generell anwendbare Synthesestrategie zur Darstellung von NDP-Pyranosen existiert, die einen effizienten Zugang zu diesen Verbindungen gewährleistet, der zuverlässig in Bezug auf Stereochemie und Ausbeute ist sowie einen Zugang zu modifizierten Derivaten liefert.

2.2.2 Synthese von NucleosidMonoPhosphat-Pyranosen (NMP-Pyranosen)

Bei den NucleosidMonoPhosphat-Pyranosen (NMP-Pyranosen) ist die Pyranose lediglich über ein Phosphat mit dem Nucleosid verbunden. Der populärste Vertreter dieser Verbindungsklasse ist die CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** als aktivierter Sialinsäuredonor.^[35,36]

An dieser Stelle werden nur Beispiele zur Darstellung der CMP-Neu5Ac **10** als Repräsentant für NMP-Pyranosen aufgeführt.

2.2.2.1 Enzymatische Synthesen

Die Synthese von CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** erfolgte zuerst enzymatisch nach *Kean et al.*, durch die CMP-Neu5Ac-Synthetase, welche den nucleophilen Angriff der anomeren Hydroxygruppe von β -Neu5Ac **22** auf das α -Phosphat von CTP in Gegenwart von Mg^{2+} oder Mn^{2+} -Ionen katalysiert.^[37,38] Durch die zugesetzte Pyrophosphorylase erfolgt eine irreversible Spaltung des freigesetzten Pyrophosphates, worin die Triebkraft der Reaktion liegt (Abbildung 17).

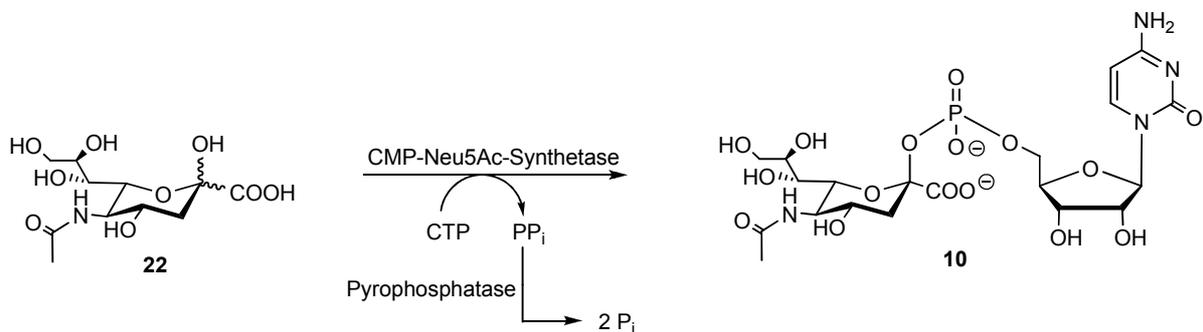


Abbildung 17: Enzymatische Synthese nach *Kean et al.*

Optimierungen dieser Synthese ergaben gute Ausbeuten und lieferten CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** im Grammaßstab.^[39-42]

Auf enzymatischem Weg konnten zwar schon einige an der Aminofunktion der Neuraminsäure modifizierte Derivate dargestellt werden, allerdings liegen auch bei dieser enzymatischen Synthese die Nachteile in der begrenzten Bioverfügbarkeit der Enzyme und ihrer hohen Substratspezifität.^[43]

2.2.2.2 Chemische Synthesen

Nachfolgend werden zwei Ansätze zur chemischen Synthese von CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** vorgestellt, die auch auf analoge Verbindungen übertragbar sind. Bei diesen beiden Ansätzen handelt es sich, wie zuvor für die NDP-Pyranosen beschrieben (siehe Abschnitt 2.2.1.2, Seite 9), um Synthesen, die entweder nach der Route A (Aktivierung der Pyranose) oder nach der Route B (Aktivierung des Nucleotides) verlaufen.

Synthese von CMP-*N*-Acetylneuraminsäure durch Aktivierung der Pyranose

Ein Ansatz zur Synthese von CMP-Neu5Ac **10**, der die Aktivierung der Neuraminsäure nutzt, geht auf *Schmidt et al.* zurück. Dabei werden aktivierte Sialinsäuredonoren in Form von Dialkylphosphiten **23** verwendet. Diese werden in einem Gemisch aus DMF und Acetonitril mit peracetyliertem Cytidinmonophosphat **24** (CMP) zum gewünschten Produkt umgesetzt (Abbildung 18).^[44]

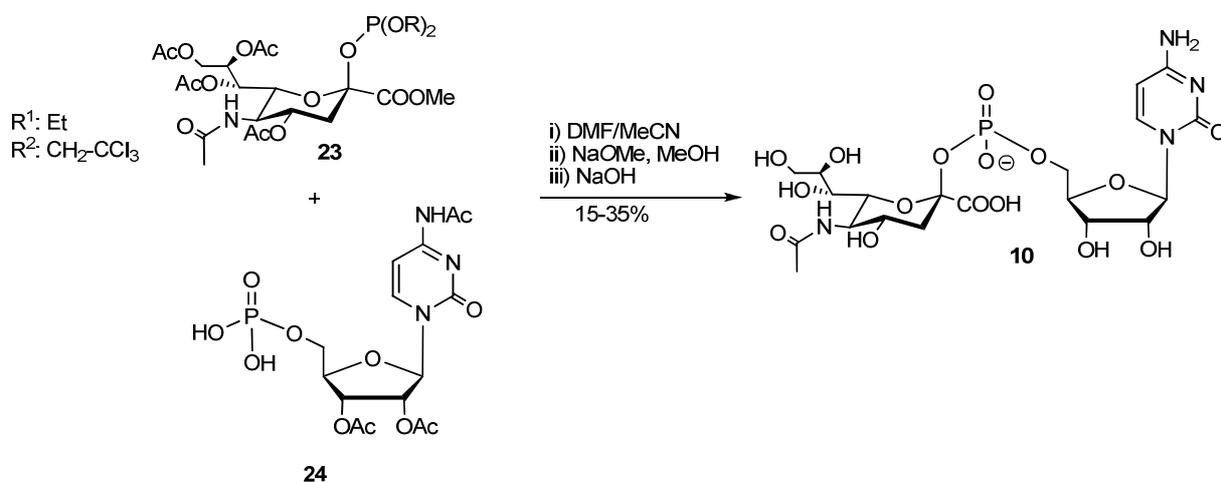


Abbildung 18: Synthese von CMP-Neu5Ac **10** nach *Schmidt et al.*

Die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen erfolgt basisch unter der Verwendung von Natriummethanolat in Methanol. Die Abspaltung des Methylesters wird durch Verseifung mit Natronlauge vollzogen. Es werden Gesamtausbeuten zwischen 15-35% erzielt, wobei das Produkt hierbei als reines β -Anomer erhalten wird. Mit dieser Syntheseroute ließen sich bereits mehrere Derivate der Neu5Ac **22** mit den Nucleosiden Uridin **25**, Guanosin **26** und Adenosin **27** darstellen. Allerdings waren bei allen diesen Synthesen die Ausbeuten höchstensfalls moderat.

Synthese von CMP-N-Acetylneuraminsäure durch Aktivierung des Nucleotides

Bei der Aktivierung des Nucleotides zur Darstellung von CMP-Neu5Ac **10** wird von der Verwendung des vollständig geschützten Halbacetals der Neuraminsäure **28** ausgegangen, welches mit einem Nucleosid-5'-Phosphoramidit umgesetzt wird (Abbildung 19).

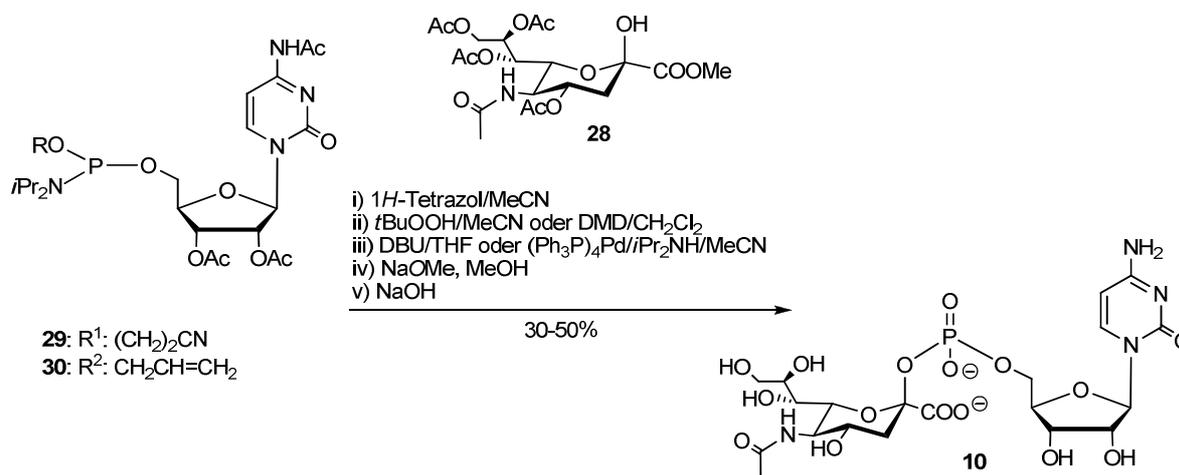


Abbildung 19: Synthese von CMP-Neu5Ac **10** aus Nucleosidphosphoramiditen

Kajihara et al. verwendeten für das Phosphoratom die Cyanoethyl-Schutzgruppe **29**,^[45] *Halcomb et al.* hingegen setzten allylgeschützte Nucleosidphosphoramidite **30** ein.^[46] Es konnten bei beiden Ansätzen β -anomerenreine Verbindungen erhalten werden, jedoch lagen die Ausbeuten nach Oxidation und Entschützung bei lediglich 30-50%. Die Nachteile beider Methoden bestehen zum einen in der erhöhten Eliminierungstendenz des vor der Entschützung vorliegenden Phosphattriesters im Vergleich zu einer Phosphatdiestergruppierung,^[47] zum anderen geht der auf Stufe des Zuckernucleotids nötige Oxidationsschritt mit zusätzlichen Produktverlusten einher.

Aufgrund der großen biologischen und pharmakologischen Bedeutung der Zuckernucleotide wird deutlich, dass eine universell anwendbare und vor allem effiziente und zuverlässige Synthesemethode zur Darstellung derartiger Verbindungen von großem Interesse ist. Die in unserer Arbeitsgruppe entwickelten *cycloSal*-Nucleotide stellen als reaktive Phosphatdonatoren sehr aussichtsreiche Schlüsselverbindungen für eine breit anwendbare Methode zur Synthese solcher mono- oder diphosphat-verbrückten Zuckernucleotide dar.

2.3 Das *cycloSal*-Konzept

2.3.1 *cycloSal*-Nucleotide

***cycloSal*igenyl-Nucleosidmonophosphate** (*cycloSal*-NMP), im Folgenden auch als *cycloSal*-Nucleotide oder *cycloSal*-Triester bezeichnet, stellen ebenfalls aktivierte Nucleotide dar. Die Grundstruktur ist in Abbildung 20 gezeigt. Die Nomenklatur folgt nicht den IUPAC-Regeln, sondern ist willkürlich festgelegt.^[48]

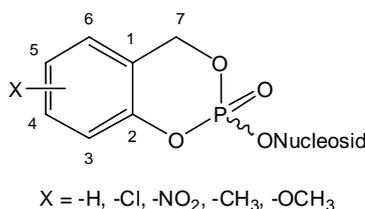


Abbildung 20: Grundstruktur der *cycloSal*-Nucleotide

2.3.2 *cycloSal*-Nucleotide im Prodrug-Konzept

Die virale Erkrankung AIDS, die durch das HI-Virus ausgelöst wird, kann heute mit einer Kombinationstherapie, der sogenannten Highly Active Anti Retroviral Therapy (HAART) behandelt werden. Da Viren im Gegensatz zu Bakterien keine Lebewesen sind, besitzen sie keinen Stoffwechsel und können sich nicht eigenständig reproduzieren. Hierfür nutzen die Viren Wirtszellen, indem sie ihre genetische Information in ihnen replizieren. Die virale DNA wird dafür in das Genom der Wirtszelle integriert.

Das HI-Virus ist ein RNA-Virus, bei welchem die RNA mit Hilfe der Reversen Transkriptase zunächst in DNA übersetzt werden muss. An der Stelle der reversen Transkription lässt sich in den Mechanismus der Virusreplikation eingreifen, indem diese durch Nucleosidische Reverse Transkriptase Inhibitoren (NRTIs) gehemmt wird. Diese NRTIs gehören zu den ersten anti-HIV-Wirkstoffen und werden in der HAART eingesetzt, um die Bildung resistenter Virenstämme zu verhindern.^[49]

Als bereits klinisch eingesetzte Wirkstoffe sind beispielsweise d4T **31** (3'-Desoxy-2',3'-Didehydrothymidin) und AZT **32** (3'-Azido-3'-Desoxythymidin) zu nennen (Abbildung 21).

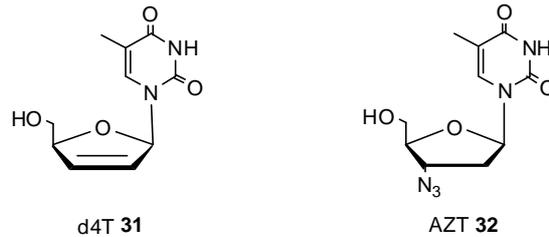


Abbildung 21: Antiviral aktive Nucleosidanaloga

Die oben genannten Nucleosidanaloga haben das Fehlen der 3'-Hydroxylgruppe gemeinsam. Dies führt beim Einbau in den wachsenden DNA-Strang einen Strangabbruch herbei.

Allerdings werden diese Verbindungen erst durch Überführen in die 5'-Triphosphate zu aktiven Wirkstoffen, da diese die Substrate für die DNA-Polymerasen darstellen. Zur Bildung des Triphosphates werden zelleigene Kinasen benötigt. Allerdings ist bei vielen Nucleosidanaloga einer der Schritte der Phosphorylierung gehemmt, wodurch nur sehr wenig der aktiven Spezies in der Zelle gebildet wird. Dieses ist in Abbildung 22 am Beispiel des d4T 31 dargestellt, bei welchem der erste Phosphorylierungs-Schritt gehemmt ist.^[50]

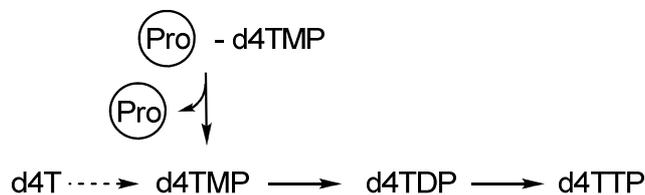


Abbildung 22: Schematische Darstellung des Prodrug-Konzeptes

Daher ist es sinnvoll nicht das Nucleosidanalogon, sondern bereits dessen Monophosphat in die Zelle zu bringen, wodurch eine erheblich größere Menge des Triphosphats gebildet werden kann und der Wirkstoff eine deutlich höhere Aktivität zeigt. Aufgrund der negativen Ladung des Nucleosidmonophosphates ist es ihm allerdings nicht möglich, die lipophile Zellmembran zu passieren. Auf dieser Tatsache aufbauend wurden Prodrug-Konzepte entwickelt, die die negative Ladung am Phosphat durch lipophile Gruppen „maskieren“, wodurch dem Wirkstoff ermöglicht wird, durch die Zellmembran zu gelangen. Die Spaltung innerhalb der Zelle und die damit verbundene Freisetzung des Phosphates ermöglicht die Phosphorylierung bis hin zum Triphosphat. Gleichzeitig wird die negative Ladung zurückgebildet, wodurch es zu einem „Einschluss“ des Nucleotides in der Zelle kommt.

Es gibt verschiedene Beispiele für solche Prodrug-Konzepte, bei denen die negative Ladung am Phosphat maskiert ist. Eines davon ist das *cycloSal*-Konzept nach Meier *et al.*, welches *cycloSal*-Nucleotide verwendet.^[48]

Im Gegensatz zu anderen kommt das *cycloSal*-Konzept ohne eine enzymatisch katalysierte Aktivierung und ohne einen zweiten Aktivierungsschritt aus (Abbildung 23). Bei den *cycloSal*-Nucleotiden handelt es sich um cyclische Phosphatriesterderivate, in denen ein Salicylalkohol als Maske mit einem Nucleosidmonophosphat zweifach cyclisch verestert ist. Durch den aromatischen Ring in diesen Verbindungen ist für eine ausreichende Lipophilie gesorgt, um einen passiven Zellmembrantransport zu ermöglichen.^[51]

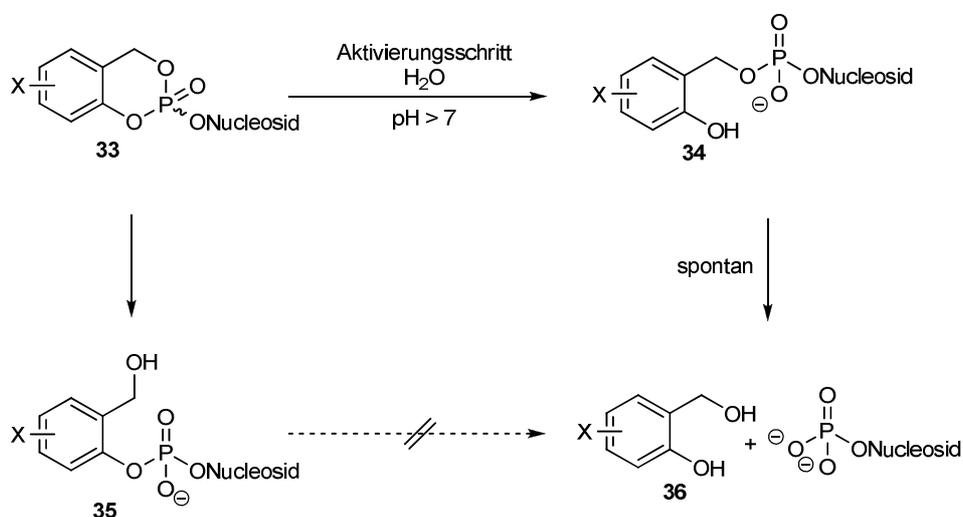


Abbildung 23: Hydrolyseweg von *cycloSal*-Nucleotiden

Die phenylische Phosphatesterbindung stellt die labilste der drei Phosphatesterbindungen dar. Aus diesem Grund wird die Freisetzung des Nucleotids aus dem Phosphatriester **33** durch eine selektive hydrolytische Spaltung der phenylischen Phosphatesterbindung eingeleitet, woraus ein mesomeriestabilisierter 2-Hydroxybenzylphosphatdiester **34** resultiert. Die Bevorzugung dieser Gruppe als beste Austrittsgruppe begründet sich durch die Mesomeriestabilisierung im Intermediat **34**. Der alternative Bruch der Benzylesterbindung von **33** würde hingegen zu einem 2-Hydroxymethylphenylphosphatdiester **35** führen. Diese Spaltung ist jedoch eher unwahrscheinlich, da die Phosphatestergruppe als äußerst schwacher Donorsubstituent in *ortho*-Position zum Benzylester dessen Hydrolyse stark verlangsamt. Als Konsequenz des ersten Hydrolyseschrittes wird aus dem schwachen Donorsubstituenten - Phosphatestergruppe - ein starker

Donorsubstituent - Hydroxylgruppe. Diese Umpolung im Aromaten induziert nach einer intramolekularen Protonenübertragung schließlich die spontane Spaltung der benzylicischen Phosphatesterbindung, die das Nucleotid und nach Reaktion mit Wasser auch den Salicylalkohol **36** liefert. Aufgrund der negativen Ladung an der Phosphatgruppe des Phenylphosphatdiesters **35**, ist dieser gegen einen erneuten Angriff eines Hydroxid-Ions auf das Phosphoratom inert, weshalb es auf diesem Weg nicht zur Freisetzung des Nucleotids und des Salicylalkohols **36** kommt.^[52]

2.3.3 *cycloSal*-Nucleotide zur Darstellung von Zuckernucleotiden

Aufbauend auf der Tatsache, dass die Freisetzung des Nucleotides beim *cycloSal*-Konzept nicht auf einer enzymatischen Reaktion beruht, sondern auf einer chemisch induzierten Kaskadenreaktion durch einen nucleophilen Angriff von Hydroxid-Ionen auf das Phosphoratom, ist ein synthetischer Nutzen als aktivierter Phosphat-Baustein gegeben. Bei der Verwendung von anderen Nucleophilen, wie beispielsweise deprotonierten Pyranosen oder Pyranose-Phosphaten, ergeben sich als Produkte mono- oder diphosphatverbrückte Zuckernucleotide (Abbildung 24).

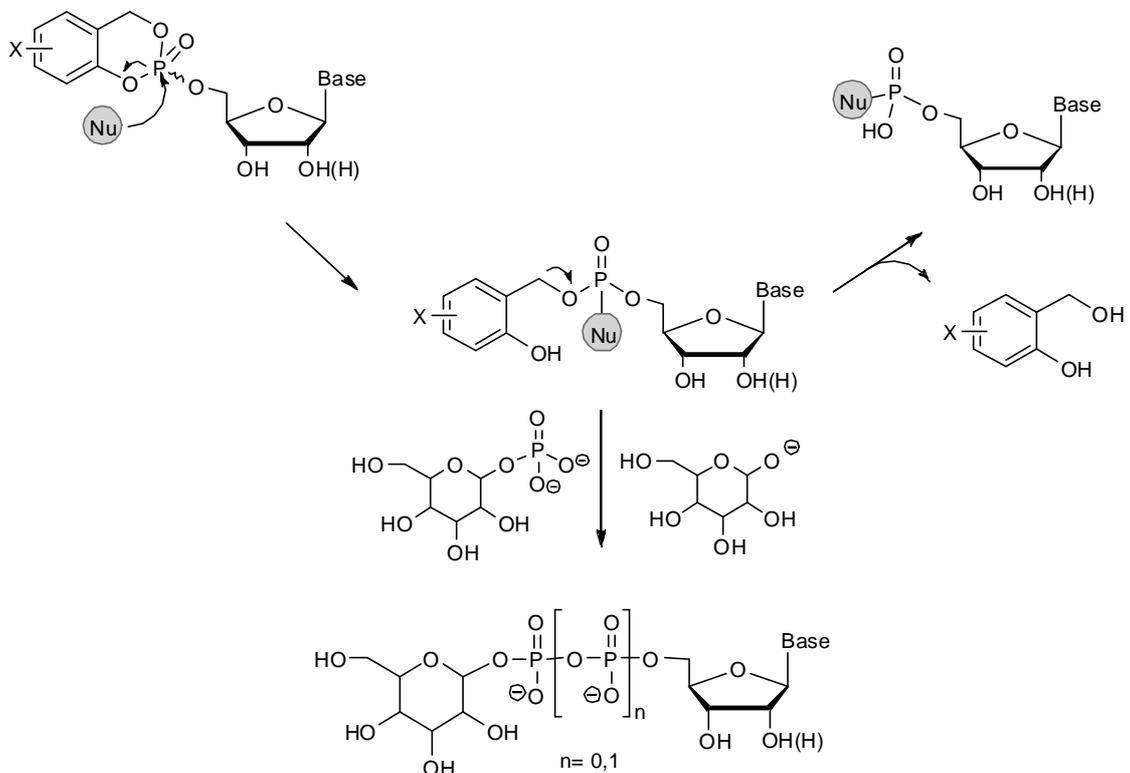
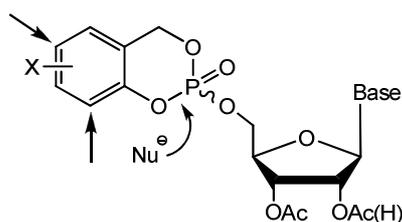


Abbildung 24: Darstellung von Zuckernucleotiden mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden

Für synthetische Zwecke werden reaktive Verbindungen benötigt, damit der Triester vorzugsweise schnell und vollständig abreagiert. Aus diesem Grund müssen die Halbwertszeiten der *cycloSal*-Nucleotide minimiert werden. Dieses ist durch eine möglichst geringe Elektronendichte am Phosphoratom zu erreichen. Die Elektrophilie des Phosphoratoms und somit das Hydrolyseverhalten des *cycloSal*-Phosphatriesters kann über den *cycloSal*-Substituenten X am Aromaten gesteuert werden (Abbildung 25). Ebenso ist die Stabilität der Phenylphosphatesterbindung, also des gebildeten Phenolates, davon abhängig.^[52]



Donor in *o*-/ *p*-Position = langsame Reaktion

Akzeptor in *o*-/ *p*-Position = schnelle Reaktion

Abbildung 25: Hydrolyseweg von *cycloSal*-Nucleotiden

Im Fall von Donorsubstituenten in 3- oder 5-Position hydrolysieren die Verbindungen recht langsam zum Nucleotid, da sie Elektronendichte in das aromatische System geben und dadurch die Phenylphosphatesterbindung stabilisieren. Ein Beispiel hierfür ist das 3-Methyl-*cycloSal*-Nucleotid. Das 5-Nitro-*cycloSal*-Nucleotid ist als Beispiel für akzeptorsubstituierte Verbindungen zu nennen. Dieses weist aufgrund der Stabilisierung des Phenolates eine schnelle Umsetzung auf. Grund hierfür könnte die mesomere Grenzstruktur sein, welche für das *o*-Methyl-substituierte Derivat nicht formulierbar ist (Abbildung 26).

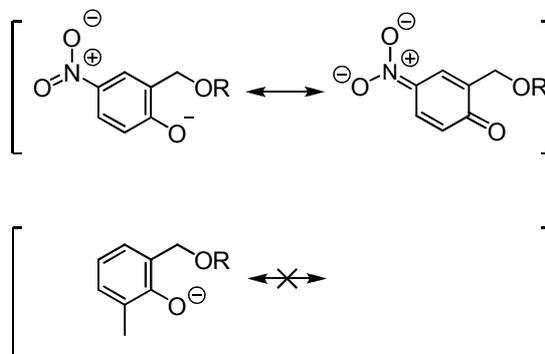


Abbildung 26: Mesomeriestabilisierung des Phenolates

Silke Wendicke gelang erstmals die Darstellung von NDP-Pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Nucleotiden. Sie konnte auf diesem Weg verschiedene Thymidindiphosphat-Pyranosen in Ausbeuten von 42-56% darstellen. Die Reaktionszeit betrug nur 3-5 h. Die deutlich kürzeren Reaktionszeiten bei höheren Ausbeuten stellen im Vergleich zu der bisher führenden, kommerziell angewandten Morpholidat-Methode (siehe Abschnitt 2.2.1.2, Seite 12) einen enormen Vorteil dar.^[32,33]

Das Syntheseprotokoll sah zu diesem Zeitpunkt wie folgt aus:

- Vorlage des *cycloSal*-Nucleotids mit Chlor- oder Nitro-Substituent
- Hinzufügen von 1.2 Äquivalenten Pyranosyl-Phosphat
- DMF als Lösungsmittel
- Rühren bei 50 °C für 3-5 h
- Extraktion mit Dichlormethan/Wasser
- Spaltung der Acetyl-Gruppen mit Gemisch aus MeOH/H₂O/Et₃N (7:3:1) bei Rt
- Säulenchromatographische Reinigung an RP-18 Kieselgel

Die Optimierungen dieses Syntheseprotokolls gelang in eigenen Vorarbeiten. Die dabei veränderten Reaktionsbedingungen ergaben eine Steigerung der Ausbeuten auf bis zu 85%. Auf diesem Wege konnten diverse Cytidindiphosphat-Pyranosen in hoher Qualität erhalten werden.^[53]

Das optimierte Syntheseprotokoll folgt den Punkten:

- Intensive Vortrocknung der Edukte an der Lyophylle
- Intensive Trocknung der Edukte im Reaktionsgefäß (~ 2 h)
- Vorlage des Pyranosyl-Phosphats
- Verwendung von 2.0 Äquivalenten des Nucleophils
- Hinzufügen des *cycloSal*-Nucleotides mit Nitro-Substituent
- DMF als Lösungsmittel
- Rühren bei Rt für 18-26 h
- Extraktion mit Ethylacetat/Wasser
- Spaltung der Acetyl-Gruppen mit Gemisch aus MeOH/H₂O/Et₃N (7:3:1) bei Rt
- Säulenchromatographische Reinigung an RP-18 Kieselgel

Tanja Zismann konnte zudem den Methylsulfon-Substituenten in der 5-Position erfolgreich einführen. Die *cycloSal*-Nucleotide mit diesem Substituenten ergaben nur leicht schlechtere Ausbeuten, als die zuvor mit dem Nitro-Triester erzielten. Da die Methylsulfon-Gruppe im Gegensatz zu der Nitro-Gruppe ein schwächerer Akzeptor ist, gelang es diesen Triester mit angesäuertem Lösungsmittel chromatographisch zu reinigen.^[54]

Dieses konnte von Svenja Warnecke allerdings auch für *cycloSal*-Nucleotide, die den Nitro-Substituenten enthalten, festgestellt werden. Aufgrund der hohen Reaktivität von *cycloSal*-Monophosphaten mit Nitro-Substituent und der sehr hohen Reinheit der Rohprodukte werden diese Verbindungen meist als solche eingesetzt. Jedoch kann eine Methode zum Reinigen solcher labilen und feuchtigkeitsempfindlichen Verbindungen von großem Vorteil sein. Dieses gelang mit einem Laufmittelgemisch aus Dichlormethan und Methanol (0-5%) und einem Zusatz von etwa 1% Essigsäure.^[55]

Außerdem konnte Svenja Warnecke in ihrer Dissertation diverse Beispiele für die Verwendung verschiedenster Nucleophile, wie Phosphat, Pyrophosphat, Nucleosidmono-, di- und triphosphat sowie deprotonierten Pyranosen geben.^[56] Bei der Umsetzung von *cycloSal*-Nucleotiden mit deprotonierten Pyranosen entstehen die monophosphat-verbrückten Zuckernucleotide. Dieses gelang für die üblicherweise verwendeten Pyranosen in guten Ausbeuten, wobei sich bei allen Zielverbindungen eine starke Präferenz der β -Anomere zeigte. Bei den Verbindungen der Glucose und der Galactose wurden somit β -anomerenreine Produkte erhalten, lediglich bei der Mannose wurde ein α/β -Gemisch gefunden. Die Darstellung der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** gelang allerdings noch nicht überzeugend, so dass dieses weiterer Optimierung bedarf.

Im vorangegangenen Abschnitt lässt sich erkennen, dass die *cycloSal*-Methode diverse phosphorylierte Biomoleküle liefern kann. Im Vergleich zu den beschriebenen Syntheserouten für Zuckernucleotide ist es hier möglich, anomerenreine Verbindungen in guten Ausbeuten und kurzen Reaktionszeiten ohne Katalysatorzusatz zu synthetisieren. Aus diesem Grund ist die *cycloSal*-Methode zur Darstellung von Zuckernucleotiden im Vergleich zu anderen, literaturbekannten Synthesen von großem Vorteil.

3 Aufgabenstellung

Ausgehend von der Tatsache, dass *cycloSal*-Phosphatriester als aktivierte Nucleotide zur Synthese dienen, konnte bereits gezeigt werden, dass sie von den verschiedensten Nucleophilen angegriffen werden können. Bei der Verwendung von deprotonierten Pyranosen oder Pyranose-Phosphaten entstehen hierbei mono- oder diphosphat-verbrückte Zuckernucleotide in kurzen Reaktionszeiten und guten bis sehr guten Ausbeuten.

Diese - in eigenen Vorarbeiten - optimierte Methode sollte nun zur Darstellung zahlreicher NDP-Pyranosen dienen. Hierbei sollten zunächst natürliche Pyranosen und Nucleoside verwendet werden. Im Anschluss sollte diese Route auch auf analoge Verbindungen übertragen werden. Dabei sind zum einen Modifikationen an der Pyranose, zum anderen Variationen auf der Nucleosid-Seite denkbar. Durch diese Vorgehensweise sollte die Allgemeingültigkeit der Syntheseroute bewiesen und modifizierte Zuckernucleotide erhalten werden, welche sich für biochemische Anwendungen eignen.

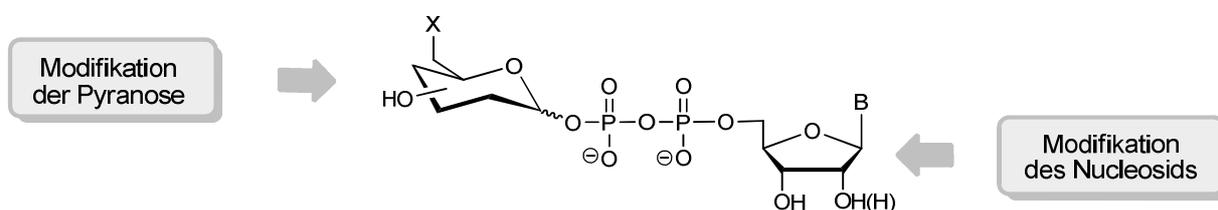


Abbildung 27: Struktur der Zielverbindungen

Die größte Herausforderung dieser Arbeit stellte die Darstellung von CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** dar. Diese sollte zunächst in ihrer natürlich vorkommenden Form synthetisiert werden. Bei erfolgreicher Synthese sollten verschiedene Modifikationen an der Aminofunktion angebracht werden und somit Derivate der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure dargestellt werden.

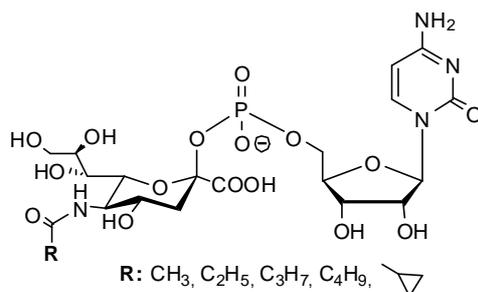


Abbildung 28: CMP-Neuraminsäure mit verschiedenen Modifikationsmöglichkeiten

4 Resultate und Diskussion

4.1 Synthesestrategie

Zur Darstellung der Zuckernucleotide sollte eine konvergente Synthesestrategie angewendet werden, welche grundsätzlich auf der Verwendung von zwei Bausteinen beruht (Abbildung 29). Hierfür wurden 5-Nitro-*cycloSal*-Nucleosidmonophosphate verwendet, welche durch den Acceptor-Substituenten aktivierte Nucleosidmonophosphate darstellen. Je nach eingesetztem Nucleophil lassen sich die unterschiedlichsten Zielverbindungen darstellen. Durch den nucleophilen Angriff verschiedener Pyranosyl-Phosphate gelingt die Darstellung zahlreicher NDP-Pyranosen. Fungieren die reinen Pyranosen - nach Deprotonierung - als Nucleophile, können NMP-Pyranosen als Zielverbindungen erhalten werden.

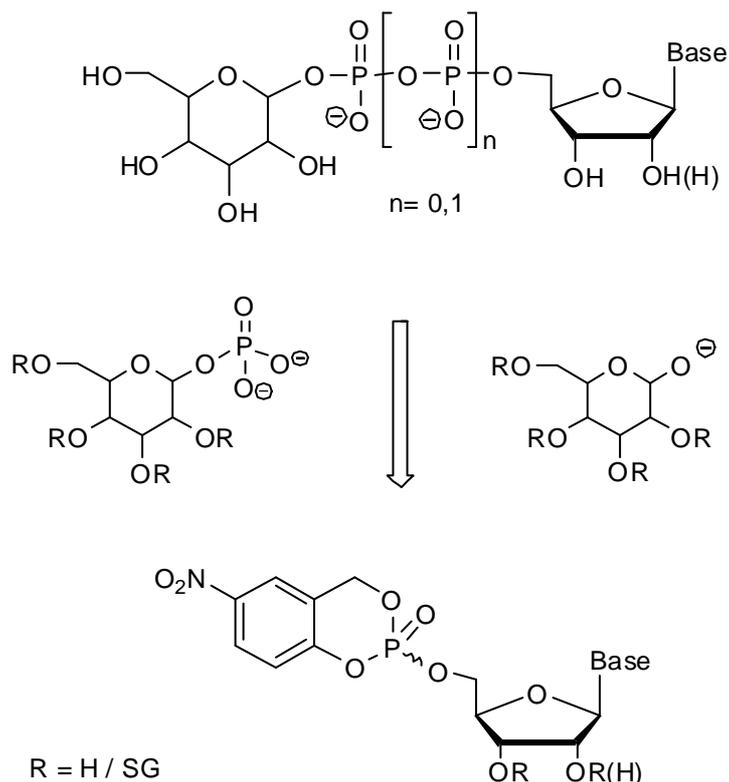


Abbildung 29: Konvergente Synthesestrategie zur Darstellung der Zuckernucleotide

Im Folgenden wird nun zunächst detailliert auf die Darstellung der 5-Nitro-substituierten *cycloSal*-Nucleotide eingegangen. Im weiteren Verlauf werden die Synthesen der verschiedenen Nucleophile beschrieben.

4.2 Darstellung der 5-Nitro-cycloSal-Nucleosidmonophosphate

Die Darstellung der *cycloSal*-Phosphatriester erfolgte ebenfalls konvergent und unter Ausnutzung der hohen Reaktivität von P(III)-Reagenzien. Hierzu war eine Oxidation des Phosphors im Anschluss an die erfolgte Kupplung eines *cycloSal*-Chlorphosphits mit einem geschützten Nucleosid notwendig.^[57]

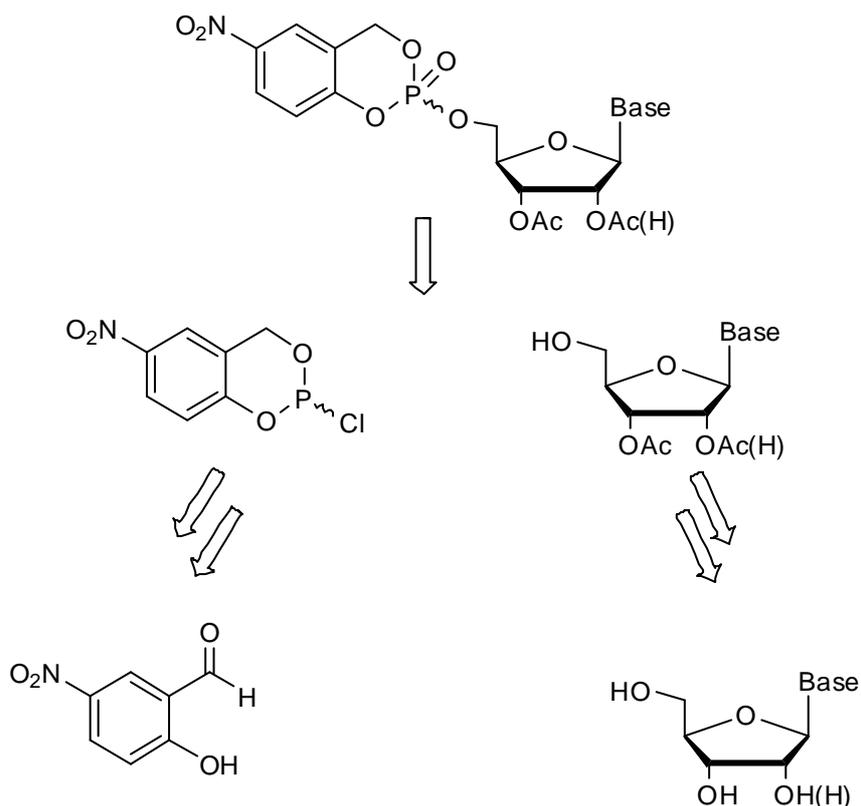


Abbildung 30: Retrosyntheschema zur Darstellung der *cycloSal*-Phosphatriester

Zuerst wird nun die Synthese des *cycloSal*-Chlorphosphits und im Anschluss die Reaktionssequenz der geschützten Nucleoside beschrieben, bevor auf die Darstellung der *cycloSal*-Nucleotide eingegangen wird.

4.2.1 Darstellung des 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphits

Salicylalkohole **36** stellen die Grundbausteine der *cycloSal*-Nucleotide dar. Die einfachste Möglichkeit zur Darstellung der Salicylalkohole **36** besteht in der Reduktion der entsprechenden, kommerziell erhältlichen Salicylaldehyd- oder Salicylsäure-Derivate mit gängigen Reduktionsmitteln.

Im Fall des Nitro-Substituenten wurde von 5-Nitro-Salicylaldehyd **37** ausgegangen, welcher mit Natriumborhydrid in Ethanol über Nacht bei Raumtemperatur reduziert wurde. Nach Umkristallisation aus Wasser lag die Ausbeute bei bis zu 98%.^[58]

Durch weitere Umsetzung mit Phosphortrichlorid erhielt man aus dem 5-Nitro-Salicylalkohol **38** anschließend das 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **39**. Die Reaktion fand in Diethylether statt und wurde bei einer Temperatur von -20 °C durchgeführt. Zum Abfangen des entstehenden Chlorwasserstoffs wurde Pyridin in Diethylether zugetropft, wodurch Pyridiniumchlorid ausfiel. Durch eine ausreichende Verdünnung und die tiefe Temperatur wurde die intramolekulare Ringschlussreaktion begünstigt.^[48,50]

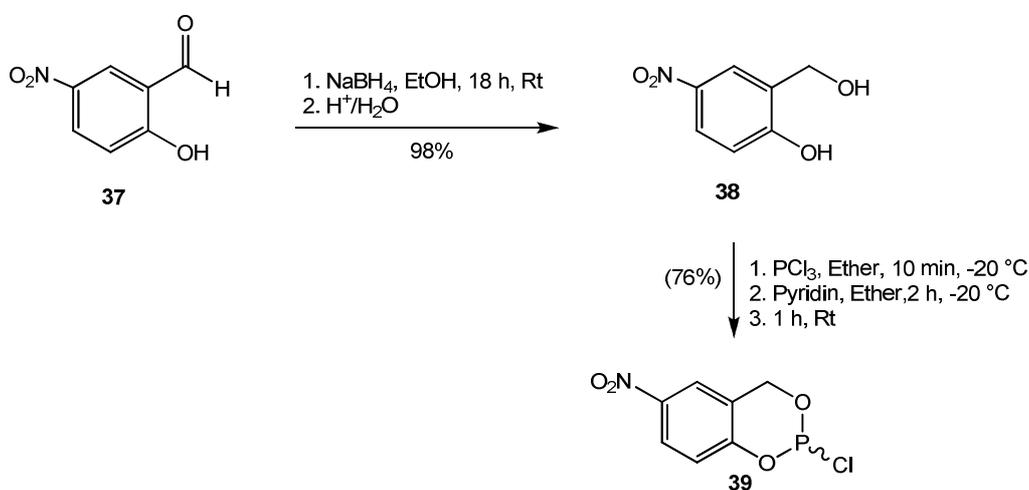


Abbildung 31: Syntheschema zur Darstellung des 5-Nitro-*cyclo*Sal-Chlorphosphits **39**

Das nach Schlenkfiltration und Entfernung des Lösungsmittels resultierende *cyclo*Sal-Chlorphosphit ist außerordentlich feuchtigkeits- und sauerstoffempfindlich, weshalb auf eine Reinigung verzichtet werden musste und die Rohprodukte für die Synthese der entsprechenden *cyclo*Sal-Nucleotide eingesetzt wurden. Die Rohsubstanzen wiesen meist nur geringe Verunreinigungen auf. Im ³¹P-NMR-Spektrum zeigten sie ein typisches Signal für Phosphor(III)-Verbindungen dieser Art im Bereich um 140 ppm.

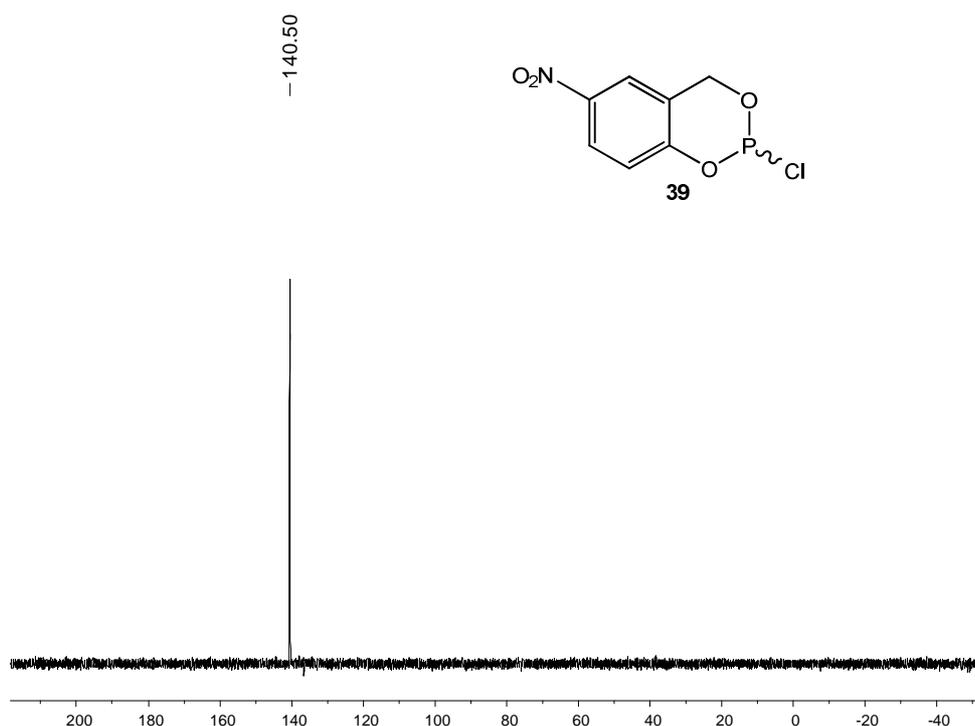


Abbildung 32: ^{31}P -NMR-Spektrum des 5-Nitro-*cycloSal*-Chlorphosphits **39**

4.2.2 Darstellung der geschützten Nucleoside

Sowohl bei der Umsetzung des *cycloSal*igenylchlorphosphits mit einem Nucleosid zu den entsprechenden *cycloSal*-Nucleotiden, als auch bei der nachfolgenden Umsetzung dieses *cycloSal*-Nucleotids mit den Nucleophilen sollten Nebenreaktionen an anderen funktionellen Gruppen des Nucleosids vermieden werden. Die nucleophilen Gruppen im Nucleosid mussten demzufolge entsprechend blockiert werden (siehe Seite 26, Abbildung 30, rechte Hälfte). Dieses konnte durch Anwendung einer orthogonalen Schutzgruppenstrategie erreicht werden. Als Schutzgruppe wurde die basenlabile Acetylfunktion verwendet, da diese im letzten Syntheseschritt gemeinsam mit den Schutzgruppen am Nucleophil, welches ebenfalls in acetylgeschützter Form eingesetzt wurde, abgespalten werden konnte.^[59-62]

Ausgehend von den Nucleosiden Uridin **25**, Cytidin **40** und Adenosin **27** wurden zunächst selektiv die 5'-Hydroxyfunktionen als *tert*-Butyldimethylsilylether geschützt. Dieses geschah durch Umsetzung der Nucleoside mit 1.2 Äquivalenten TBDMS-Cl in Pyridin bei Raumtemperatur und ergab die Verbindungen **41**, **42** und **43**. Durch

weitere Umsetzung - ebenfalls in Pyridin - mit 6.0-9.0 Äquivalenten Essigsäureanhydrid (3.0 Äquivalente pro zu acetylierender Gruppe) wurden im folgenden Schritt die vollgeschützten Produkte **44**, **45** und **46** erhalten. Hierbei wurde bei der Verwendung von Cytidin und Adenosin neben den 2'- und 3'-Hydroxyfunktionen auch die exocyclische Aminofunktion acetyliert.

Diese Reaktionssequenz wurde zum einen mit einer zwischenzeitlichen Isolierung der TBDMS-geschützten Nucleoside durchgeführt. Zum anderen konnten die beiden Blockierungs-Schritte auch in einer Eintopfreaktion vollzogen werden, was eine zeitliche Ersparnis mit sich brachte und nicht zu Komplikationen oder Ausbeuteverlusten führte.

Die Abspaltung der Silyl-Schutzgruppe erfolgte mit Triethylamintrihydrofluorid in einem Gemisch aus Tetrahydrofuran und Dichlormethan im Verhältnis 1:1 bei Raumtemperatur durch Bildung der stark bevorzugten Silicium-Fluor-Bindung. Durch säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel gelang die Abtrennung der während der Reaktion entstandenen Triethylammoniumsalze.

Die gewünschten 5'-Hydroxy-freien Verbindungen **47**, **48** und **49** konnten in Gesamtausbeuten von 58-75% ausgehend von den Nucleosiden erhalten werden.

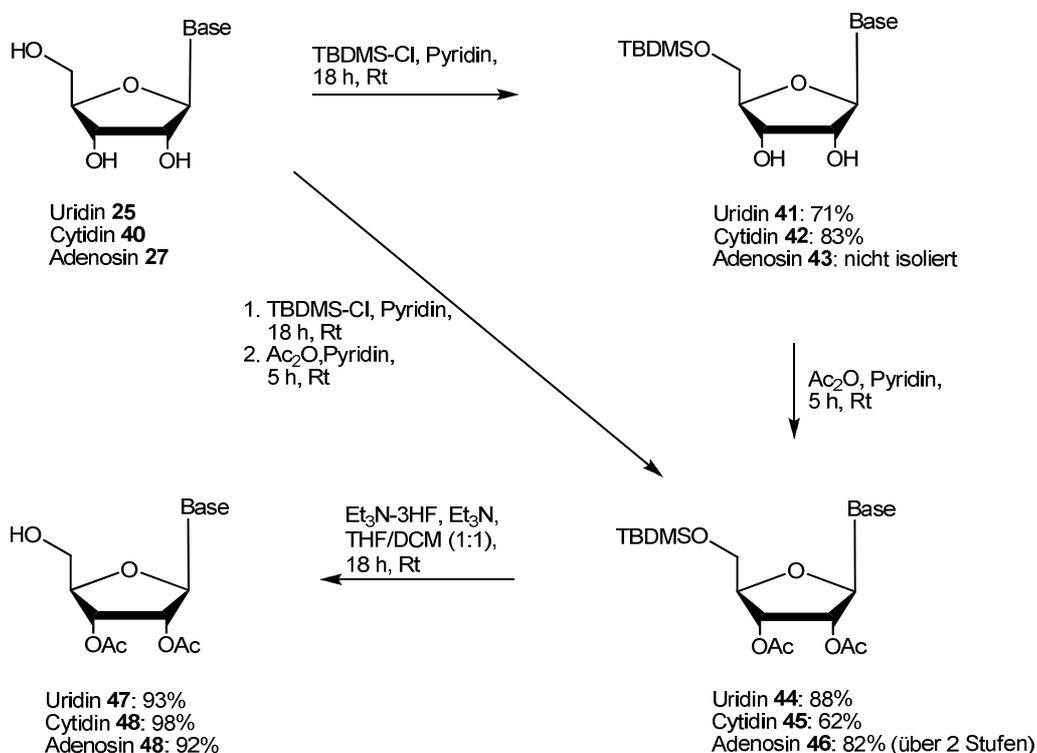


Abbildung 33: Syntheschema zur Darstellung der geschützten Nucleoside

4.2.3 Darstellung der 5-Nitro-cycloSal-Nucleosidmonophosphate

Die Darstellung der cycloSal-Triester gelang durch Kupplung des cycloSal-Chlorphosphits mit den geschützten Nucleosiden und anschließender Oxidation zur P(V)-Verbindung.^[55]

Dazu wurden die Nucleosidderivate in Acetonitril gelöst und bei -20 °C mit 2.0 Äquivalenten der „Hünig-Base“ Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Im Anschluss wurden 2.0 Äquivalente des 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphits **39** - ebenfalls gelöst in Acetonitril - hinzugegeben und zu dem korrespondierenden Phosphitriester umgesetzt. Nach vollständiger Umsetzung der Nucleoside bei Raumtemperatur wurde die Phosphor(III)-Verbindung in einer Eintopfreaktion mit 4.0 Äquivalenten Oxone[®] zum Phosphatriester oxidiert. Oxone[®] ist ein gemischtes Salz mit der Zusammensetzung 2KHSO₅·KHSO₄·K₂SO₄, wobei KHSO₅ die aktive Komponente ist. Diese Oxidation wurde bei -10 °C bis Raumtemperatur für 15 Minuten durchgeführt und lieferte die gewünschten Verbindungen nach Extraktion mit Wasser und Ethylacetat in Ausbeuten bis zu 96%.

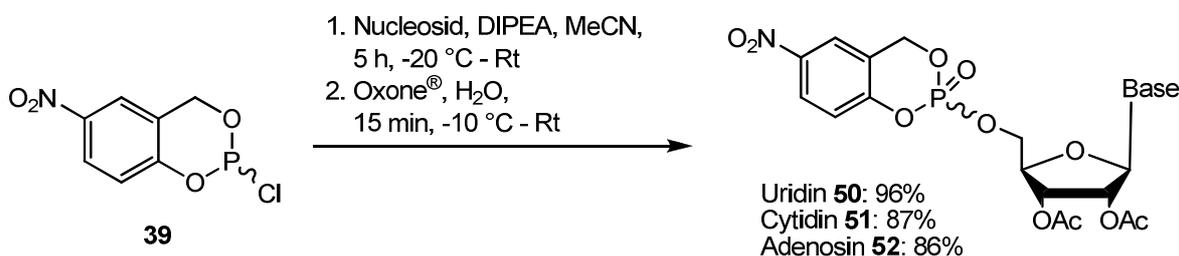


Abbildung 34: Syntheschema zur Darstellung der cycloSal-Nucleotide

Aufgrund der hohen Reaktivität - bedingt durch den Nitro-Substituenten - ist die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel erschwert. Durch einen Zusatz größerer Mengen Essigsäure (0.5-1%) zum Eluenten gelingt eine Reinigung der labilen Verbindungen zwar, jedoch werden die reinen Verbindungen dann nur noch in Ausbeuten von circa 50% erhalten, da eine Zersetzung der Produkte auch unter diesen Bedingungen nicht vollständig verhindert werden kann.

Sowohl die ³¹P-NMR- als auch die ¹H-NMR-Spektren zeigen allerdings saubere Produkte, bestehend aus zwei Diastereomeren. Deshalb werden die anschließenden Kupplungen zu den Zuckernucleotiden ohne vorhergehende Reinigung des Triesters durchgeführt.

In Abbildung 35 ist exemplarisch das ³¹P-NMR-Spektrum für das Rohprodukt des 5-Nitro-cycloSal-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphat **50** gezeigt.

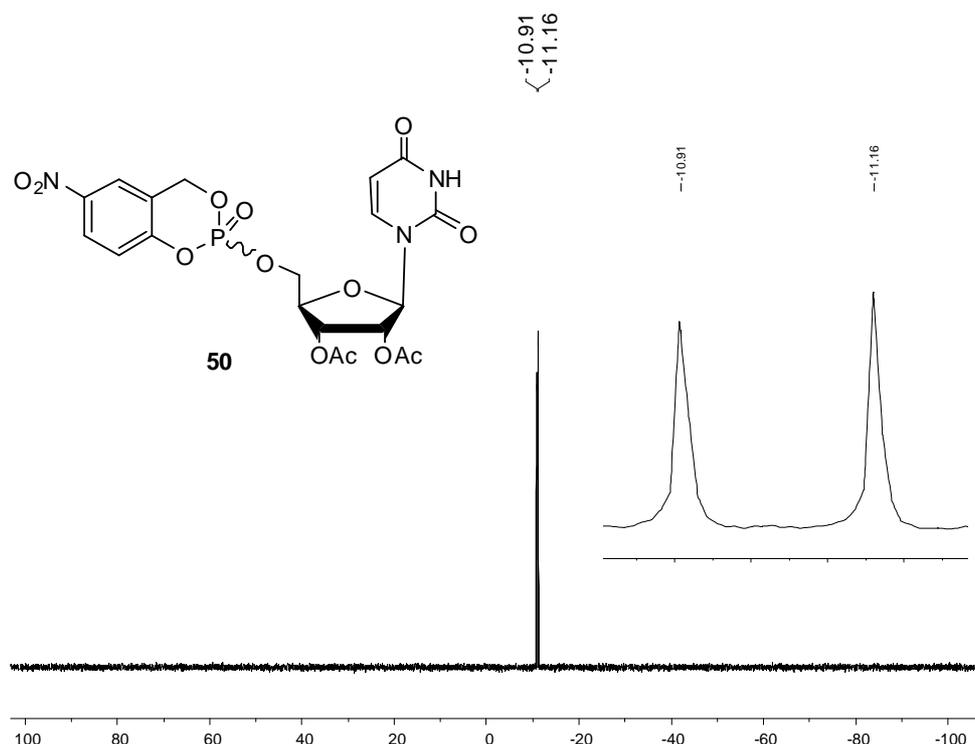


Abbildung 35: ^{31}P -NMR-Spektrum des 5-Nitro-cycloSal-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphats **50**

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit sollten neben der Darstellung der natürlich vorkommenden Zuckernucleotide sowohl Modifikationen an der Pyranosyl-Einheit, als auch an der nucleosidischen Seite vorgenommen werden. Auf die Hintergründe wird in Abschnitt 4.4.2 (Seite 77) ausführlich eingegangen.

Um solche Zuckernucleotid-Derivate zu erhalten, die ihre Modifikation auf Seiten des Nucleosids tragen, wurde die Syntheseroute zum 5-Nitro-cycloSal-Phosphattriester auf Nucleosidanaloga übertragen. Hierbei konnten für die meisten analogen Strukturen keine Unterschiede die Synthese betreffend festgestellt werden. Allerdings lagen die Ausbeuten bei der Darstellung der cycloSal-Verbindungen der Nucleosidanaloga zum Teil deutlich unter den zuvor erzielten Ausbeuten für die unmodifizierten Bausteine.

Das Nucleosidanalogen AZT **32** wurde von TCI Europe bezogen. Die Nucleosidanaloga *isoddA* **53** und *carba-isoddA* **54** wurden in früheren Arbeiten bereits synthetisiert und waren somit vorhanden.

Lediglich d4T **31** und ddT **55** wurden nach bekannter Syntheseroute erneut synthetisiert.^[63] Im Folgenden ist diese Route aufgrund der standardmäßigen Anwendung wiederum verkürzt zusammengefasst.

Es wurde von Thymidin **56** ausgegangen, welches zunächst in Pyridin suspendiert und bei 0 °C mit Methylchlorid versetzt wurde. Nach vollständiger Reaktion wurde das Rohprodukt durch Zugabe von Wasser ausgefällt und aus Aceton umkristallisiert. Hierbei wurde nur eine Ausbeute von 49% erzielt, was auf unvollständiges Auskristallisieren zurückzuführen ist. Das gebildete 3',5'-O-Mesylthymidin **57** wurde mit Natriumhydroxid zum 3',5'-Anhydrothymidin **58** umgesetzt. Die Umkristallisation aus Ethanol lieferte das Produkt in einer Ausbeute von 85%. Durch Umsetzung mit Kalium-*tert*-butanolat wird aus Verbindung **58** das gewünschte Nucleosidanalogon d4T **31** erhalten. Nach wässriger Aufarbeitung wurde das Produkt mit einer Ausbeute von 78% erhalten.

Zur Darstellung von ddT **55** wurde das erhaltene d4T **31** in Ethanol gelöst und unter Wasserstoffatmosphäre umgesetzt. Als Katalysator diente hierbei Palladium auf Aktivkohle. Das Produkt wurde nach Aufarbeitung mit einer Ausbeute von 58% isoliert.

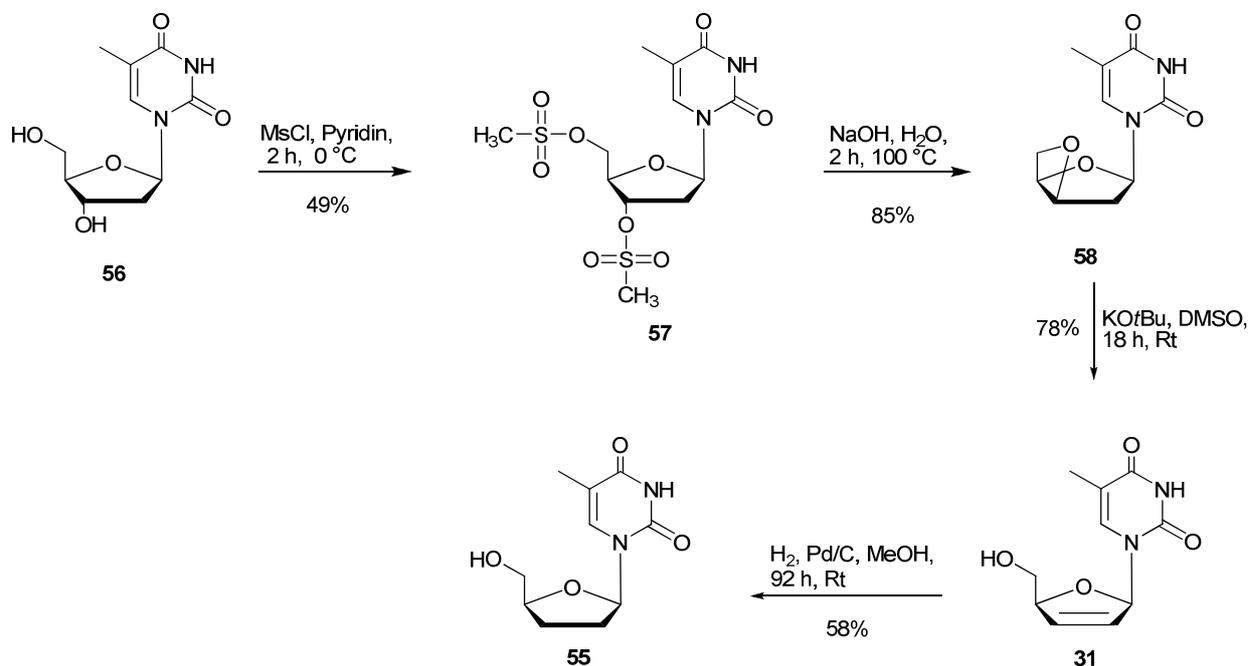


Abbildung 36: Syntheschema zur Darstellung der Nucleosidanaloga d4T **31** und ddT **55**

In Abbildung 37 sind die modifizierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate **58-62** mit den erzielten Ausbeuten abgebildet.

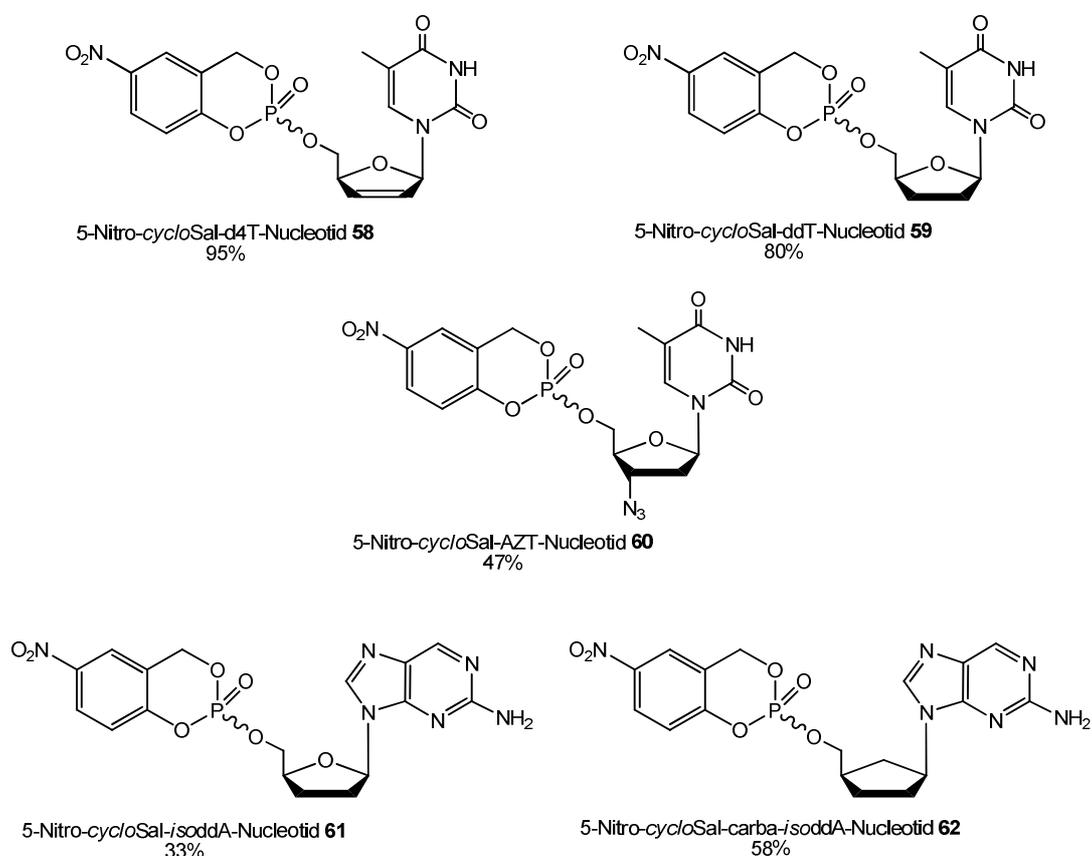


Abbildung 37: *cycloSal*-Phosphatriester mit modifiziertem Nucleosid

Die Abbildungen 38 und 39 zeigen ebenfalls exemplarisch die erfolgreiche Darstellung des 5-Nitro-*cycloSal*-d4T-Nucleosidmonophosphats **58**, ebenfalls als Rohprodukt.

Das ^{31}P -NMR-Spektrum weist die typischen zwei Signale im Bereich um -10 ppm auf. Im ^1H -NMR-Spektrum ist zu erkennen, dass auch die Qualität der modifizierten *cycloSal*-Verbindungen sehr hoch ist und somit die nötige Reinheit für die Kupplung mit einem Nucleophil gegeben ist.

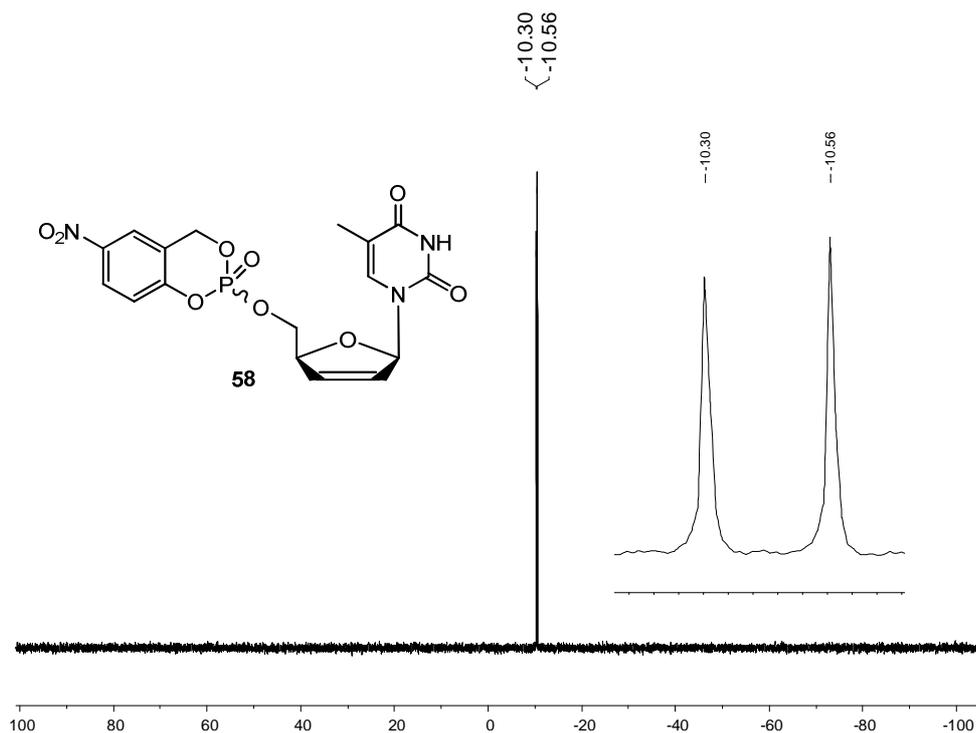


Abbildung 38: ^{31}P -NMR-Spektrum des 5-Nitro-cycloSal-d4T-Nucleosidmonophosphats 58

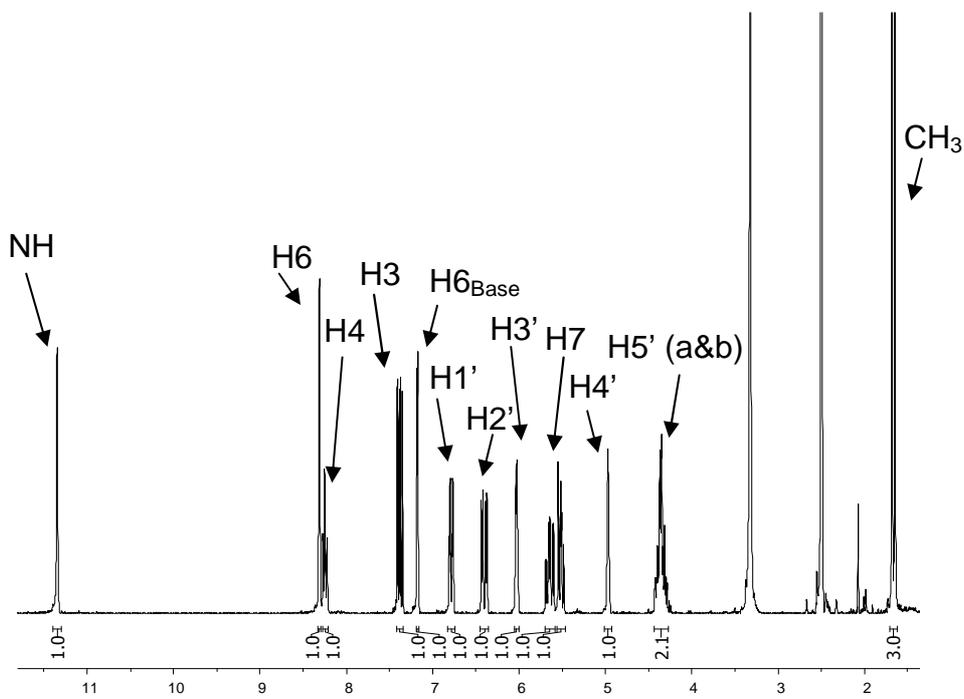
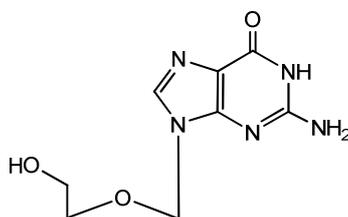


Abbildung 39: ^1H -NMR-Spektrum des 5-Nitro-cycloSal-d4T-Nucleosidmonophosphats 58

Neben den zuvor beschriebenen Nucleosidanaloga sollte zudem Acyclovir **59** in die *cycloSal*-Verbindung überführt werden.



59

Abbildung 40: Acyclovir **59**

Dazu wurde zunächst das Standard-Syntheseprotokoll verwendet, wodurch zwar das gewünschte Produkt erhalten werden konnte, die Reinheit allerdings bei weitem nicht ausreichte, um die anschließende Kupplung zum NDP-Zucker durchführen zu können.

Daher wurde das normalerweise verwendete Acetonitril zuerst durch *N,N*-Dimethylformamid und später gegen ein Gemisch aus *N,N*-Dimethylformamid und Tetrahydrofuran im Verhältnis 2:1 ersetzt. Da auch durch diesen Lösungsmittelwechsel kein zufriedenstellendes Ergebnis erzielt werden konnte, sollte die exocyclische Aminofunktion mit einer Schutzgruppe versehen werden. Dadurch sollte eine bessere Löslichkeit des eingesetzten Nucleosidanalogs erreicht werden und Nebenreaktionen vermindert.

Zunächst lag es nahe, die Acetylgruppe für die Blockierung zu verwenden, da sich diese nach vollzogener Kupplung zusammen mit den Acetyl-Schutzgruppen der Pyranosyl-Einheit abspalten lassen würde. Dafür wurde Acyclovir **59** mit 1.0 Äquivalente Essigsäureanhydrid für 3 Stunden bei 0 °C gerührt.^[64] Es wurde das lediglich an der Aminofunktion acetylgeschützte Produkt erhalten, welches ohne weitere Reinigung für die Synthese zum *cycloSal*-Nucleotid diente. Aus bisher ungeklärten Gründen konnte auf diesem Wege kein Produkt isoliert werden.

Um eine noch bessere Löslichkeit des Nucleosids zu erzielen und dadurch das *cycloSal*-Nucleotid synthetisieren zu können, wurde die Dimethoxytrityl-Gruppe verwendet. Die Einführung dieser Schutzgruppe gelang durch Umsetzung von Acyclovir **59** mit 4.0 Äquivalenten Dimethoxytrityl-Chlorid unter Zusatz von 0.1 Äquivalenten 4-(Dimethylamino)pyridin in Pyridin.^[65] Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und lieferte zunächst das an der 5'-Hydroxy- und an der exocyclischen Aminofunktion geschützte Produkt. Durch weitere

Umsetzung mit Benzoehsulfonsäure gelang es, selektiv den Ether an der 5'-Position zu spalten, sodass eine Reaktion zur *cycloSal*-Verbindung möglich war. Leider ergab auch dieser Ansatz wieder nur ein stark verunreinigtes Produkt, welches wiederum nicht für die weitere Kupplung genutzt werden konnte.

Aus diesen Gründen wurde auf die Darstellung der NDP-Pyranosen aus *cycloSal*-Nucleotiden mit Acyclovir als Nucleosidanalogen verzichtet.

4.3 Darstellung der Nucleophile

Bei den Kupplungsreaktionen der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate lassen sich je nach eingesetztem Nucleophil die unterschiedlichsten Zielverbindungen darstellen. Für die Darstellung von Zuckernucleotiden ist einerseits der nucleophile Angriff verschiedener Pyranosyl-Phosphate möglich, wodurch *diphosphat*-verbrückte Zielverbindungen entstehen. Um *monophosphat*-verbrückte Zuckernucleotide zu erhalten, müssen deprotonierte Pyranosen als Nucleophile eingesetzt werden.

4.3.1 Darstellung der Pyranosyl-Phosphate

Zunächst werden die verschiedenen Methoden zur Darstellung anomenreiner Glycopyranosyl-Phosphate im Allgemeinen beschrieben, bevor auf die konkrete Darstellung der verwendeten Pyranosyl-Phosphate eingegangen wird.

Bei der Bildung einer glycosidischen Bindung auf chemischem Weg, ist der Anteil des entstehenden β -Anomers geringer, als vermutet werden würde. Dieses ist verwunderlich, wenn man bedenkt, dass eigentlich die β -Anomere aufgrund der sterisch günstigeren äquatorialen Stellung der Substituenten die thermodynamisch bevorzugten Produkte sind. Zurückzuführen ist dieses Phänomen auf den anomeren Effekt, welcher sich orbitaltheoretisch erklären lässt.

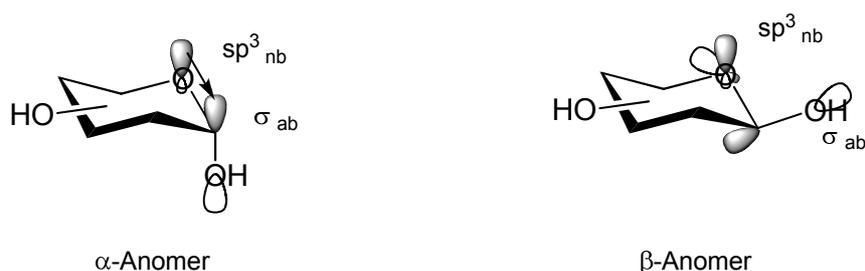


Abbildung 41: Der anomere Effekt

Eine thermodynamische Stabilisierung des α -Anomers wird dementsprechend dadurch erreicht, dass - wie in Abbildung 41 gezeigt - im α -Anomer Elektronendichte aus dem besetzten nichtbindenden, axial-ständigen p-Orbital am Ringsauerstoffatom (sp^3_{nb}) in das antibindende σ -Orbital der C1-OH-Bindung (σ_{ab}) verschoben werden kann. Dadurch kommt es gleichzeitig zu einer Abnahme des Bindungsgrades der C1-OH-Bindung. Diese Verteilung der Elektronendichte aus einem der

nichtbindenden Orbitale des Ringsauerstoffs ist im β -Anomer aufgrund der Geometrie nicht möglich. Daraus ergibt sich folglich nicht nur eine bevorzugte Bildung des α -Anomers, vielmehr ist auch eine nucleophile Substitution am C1 des α -Anomers im Vergleich zum β -Anomer benachteiligt, da der Angriff eines Nucleophils auf das antibindende σ -Orbital der C1-OH-Bindung stattfindet. Im α -Anomer besitzt dieses Orbital schon Elektronendichte und kann durch die geringere Elektrophilie somit weniger leicht angegriffen werden.

Der anomere Effekt wird durch die Wahl der Lösungsmittel, der Substituenten und der Temperatur beeinflusst, weshalb anteilig meist auch das β -Anomer entsteht, sodass Glycoside im Allgemeinen als Anomerengemische vorliegen. Allerdings ist es wünschenswert anomereneine Pyranosyl-Phosphate für die Kupplung zu den NDP-Pyranosen einzusetzen, da unter biochemischen Aspekten nur ein Anomer relevant ist und von den jeweiligen Enzymen umgesetzt wird. Zwar sollten sich die Anomere durch Säulenchromatographie grundsätzlich voneinander trennen lassen, da sie Diastereomere sind. Allerdings wäre diese Trennung wohl meist problematisch und langwierig. Zudem würde das unerwünschte Anomer als Nebenprodukt abfallen und somit die Gesamtausbeute mindern.

4.3.1.1 Methoden zur Darstellung von Pyranosyl-Phosphaten

Zur Darstellung der anomereneinen Glycopyranosyl-Phosphate gibt es zwei Ansätze. Entweder werden die Kohlenhydrate mit einer freien Hydroxyfunktion als Acceptoren in einer Phosphorylierungsreaktion umgesetzt oder der Saccharidbaustein trägt eine geeignete Abgangsgruppe am anomeren Zentrum und reagiert als Donor in einer entsprechenden Glycosylierungsreaktion. Beim Acceptorverfahren lassen sich einerseits Phosphor(V)-Verbindungen, andererseits Phosphor(III)-Verbindungen einsetzen, die anschließend vom intermediär erzeugten Phosphit zum Phosphat oxidiert werden.

Die Trichloracetimidat-Methode

Eine Möglichkeit zur selektiven Darstellung von α - bzw. β -Anomeren der Glycopyranosyl-Phosphate bietet die Trichloracetimidat-Methode. Dabei handelt es sich um eine Methode nach dem Donorverfahren, die auf *Schmidt* zurückgeht.^[66]

An dieser Stelle wird der Vollständigkeit halber zwar auf diesen Ansatz eingegangen, die präparativen Synthesen zur Darstellung von Pyranosyl-Phosphaten beschränkten sich allerdings auf andere Methoden.

Die Herstellung der Trichloracetimide nutzt das Prinzip der einfachen Addition von Alkoholatanionen an elektronenarme Nitrile.

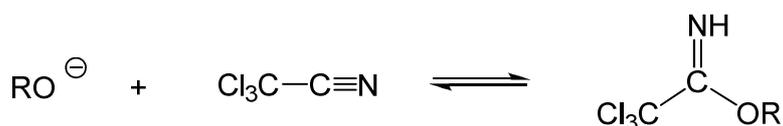


Abbildung 42: Darstellung von Trichloracetimidaten

Als Ausgangsverbindung wird eine kommerziell erhältliche Methyl- α -D-Glycopyranose verwendet, welche durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und anschließender Umsetzung mit Benzylbromid vollständig benzyliert wird. Durch selektive Entschützung der anomeren Hydroxyfunktion mittels Trifluormethansulfonsäure können die Vorläufermoleküle generiert werden.^[67] Nun ist es möglich, die Stereochemie am anomeren Zentrum bei der Umsetzung mit Trichloracetonitril in Abhängigkeit von der eingesetzten Base und den Reaktionsbedingungen zu kontrollieren.^[68,69]

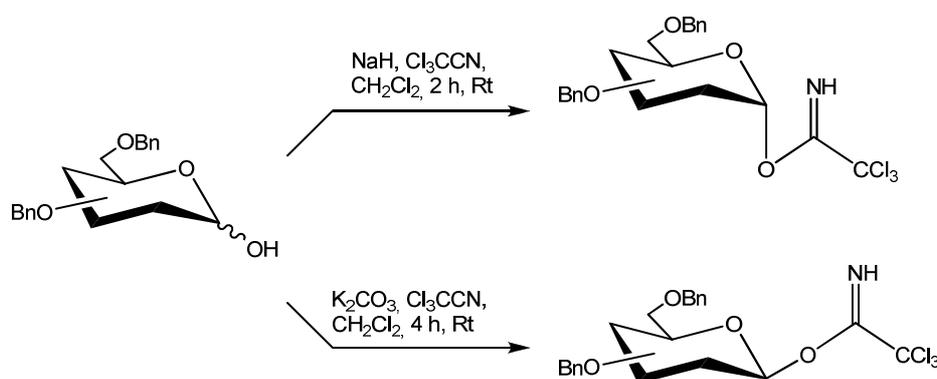


Abbildung 43: Glycosylierungen nach der Trichloracetimidat-Methode

So ergibt die Reaktion mit Trichloracetonitril in Dichlormethan und Natriumhydrid als Base nach 2 Stunden das reine α -Anomer. Wird die Reaktion mit Kaliumcarbonat als Base durchgeführt, erhält man nach 4 Stunden das β -Anomer. Nach der initialen Bildung der jeweiligen Alkoholate hat das β -Alkoholat durch die resultierenden Dipole eine deutlich höhere Nucleophilie und addiert sich daher schneller an das Nitrilderivat

als das α -Alkoholat. Das primär gebildete β -Trichloracetimidat anomerisiert dann unter Basenkatalyse zum thermodynamisch stabileren α -Produkt. Durch den Einsatz von Kaliumcarbonat als schwache Base wird zwar die Bildung des β -Imidates erreicht, die Rückreaktion und damit die Anomerisierungsreaktion sind jedoch innerhalb von 4 Stunden nicht möglich. Man erhält folglich das β -Produkt in einer kinetisch kontrollierten Reaktion.

Die Einführung der Phosphatgruppe an C1 gelingt durch Umsetzung der Trichloracetimide mit Dibenzylphosphat in Dichlormethan bei Raumtemperatur.^[66] Aufgrund der verwendeten Benzyl-Schutzgruppen, ist ein Nachbargruppeneffekt auszuschließen, weshalb eine Inversion der Konfiguration am anomeren Zentrum stattfinden sollte. Im weiteren Verlauf müssen die Benzyl-Schutzgruppen entfernt werden. Dieses ist leider nicht selektiv nur am eingeführten Phosphat möglich, weshalb ein ungeschütztes Pyranosyl-Phosphat resultiert. Aufgrund der zahlreichen freien Hydroxyfunktionen ist die Löslichkeit für die im Anschluss folgenden Kupplungsreaktionen mit einem aktivierten Nucleotid somit eingeschränkt. Aus diesem Grund wurde auf zwei andere Methoden zur Darstellung der Nucleophile zurückgegriffen.

Die Königs-Knorr-Methode

Ebenfalls nach dem Donorverfahren verläuft die Darstellung von β -Anomeren der Pyranosyl-Phosphate nach der Königs-Knorr-Methode.^[70] Dazu werden acetylierte Glycosylhalogenide, meist Bromide, die aufgrund des anomeren Effektes als α -Anomere vorliegen mit Dibenzylphosphat umgesetzt.^[71] Das vorhandene Silbercarbonat bewirkt die Spaltung des Bromides, was mit einem Ausfallen von Silberbromid einhergeht.^[72] Durch die Verwendung der Acetyl-Schutzgruppen wird durch Nutzung des Nachbargruppeneffektes nach Bildung des Oxocarbeniumintermediats ausschließlich das β -Phosphat erhalten. Dieses liegt aufgrund des eingesetzten Reagenzes mit Benzyl-Schutzgruppen am Phosphat vor. Durch anschließende hydrogenolytische Spaltung wird das Glycopyranosyl- β -Phosphat gebildet. Die Reaktion ist in Bezug auf die Stereochemie am anomeren Kohlenstoffatom also ausgesprochen selektiv. Die meisten kinetischen Untersuchungen sprechen für einen monomolekularen Mechanismus.

Die Phosphoramidit-Methode

Nach dem Acceptorverfahren kann die Phosphorylierung der freien anomeren Hydroxyfunktion über die Phosphoramidit-Methode erfolgen, bei der ein Amin als Abgangsgruppe dient. Die Phosphoramidit-Methode ist eine gut durchführbare Methode zur Darstellung von Glycopyranosyl-Phosphaten, die den Vorteil bietet, die geschützten α - und β -konfigurierten Phosphate in nur einer Reaktion zu synthetisieren.^[73] Hierzu werden peracetylierte Pyranosen eingesetzt, welche zunächst selektiv am anomeren Zentrum entschützt werden. Die 1-OH-freien Verbindungen werden mit Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 4,5-Dicyanoimidazol als Aktivator umgesetzt^[74] und im Anschluss direkt mit *meta*-Chlorperbenzoesäure zur Phosphor(V)-Verbindung oxidiert.^[75] Das erhaltene benzylgeschützte Phosphat fällt als Anomerengemisch an, wobei die Bildung des α -Anomers bevorzugt ist. Durch die Benzyl-Schutzgruppen am Phosphat ist es in den meisten Fällen möglich, die Anomere vor der hydrogenolytischen Debenzylierung säulenchromatographisch zu trennen.

In Abbildung 44 sind nochmals die beiden zuletzt beschriebenen Methoden dargestellt.

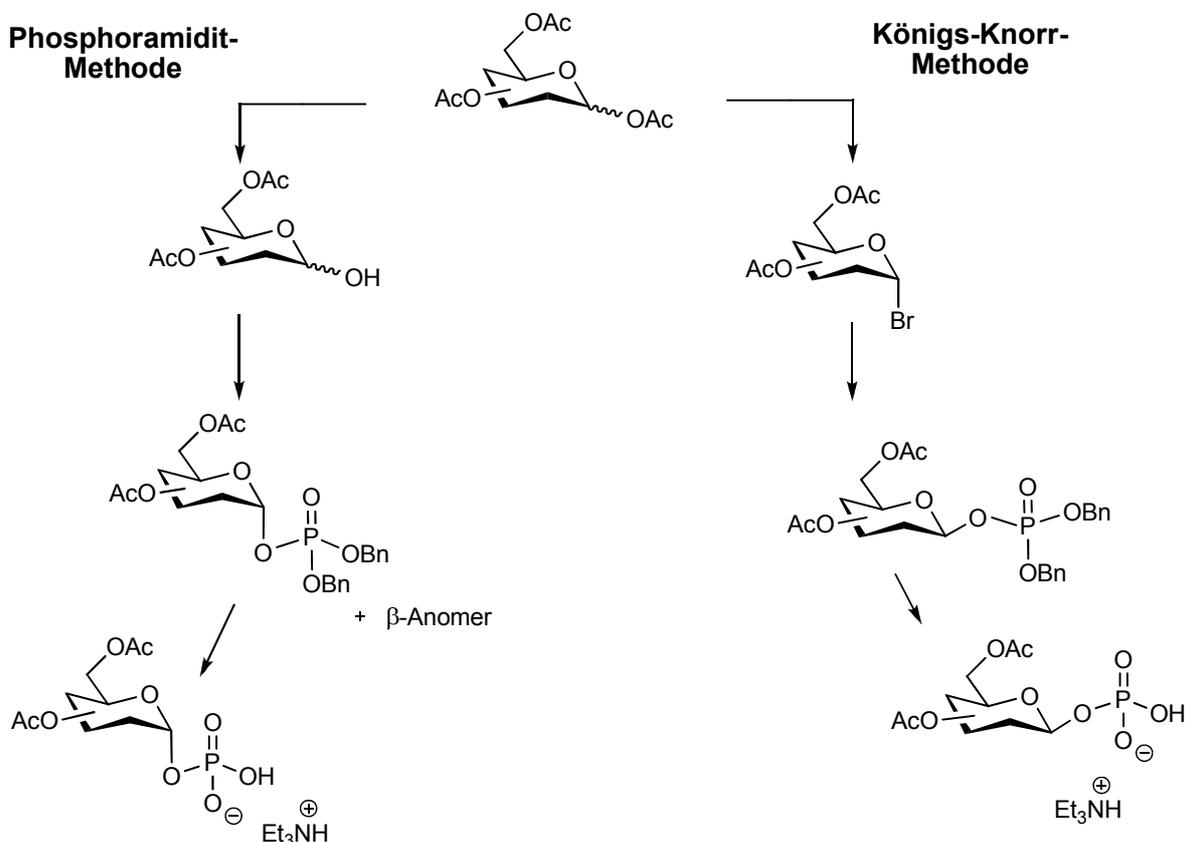


Abbildung 44: Verwendete Methoden zur Darstellung der Pyranosyl-Phosphate

4.3.1.2 Synthesen der Pyranosyl-Phosphate

Zu Beginn dieser Arbeit wurden zunächst die natürlich vorkommenden Pyranosen, wie Glucose, Galactose und Mannose verwendet und in ihre jeweiligen Phosphate überführt.

Darstellung der Pyranosyl- α -Phosphate

Die Darstellung der α -Anomere erfolgte nach der zuvor beschriebenen Phosphoramidit-Methode.^[73] Hierzu wurden die Pyranosen peracetyliert, indem sie in Pyridin gelöst und mit einem Überschuss (3.0 Äquivalente pro Hydroxy-Gruppe) an Essigsäureanhydrid versetzt wurden.^[64] Nach Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur konnten die peracetylierten Pyranosen als Anomerengemische in durchweg guten Ausbeuten erhalten werden.

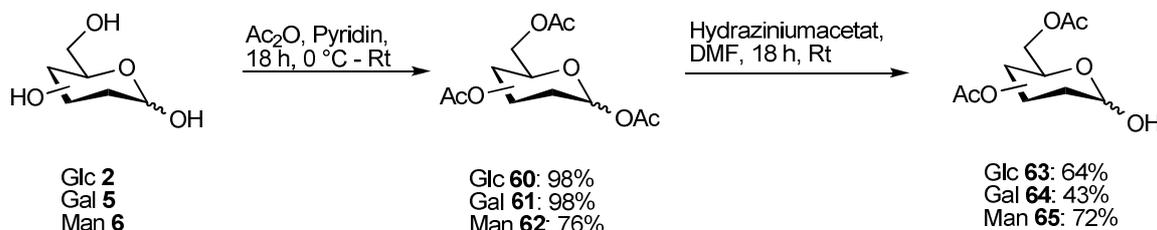
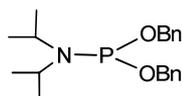


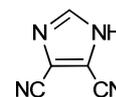
Abbildung 45: Darstellung der 1-OH-freien Verbindungen

Zur selektiven Entschützung des anomeren Zentrums finden sich in der Literatur zahlreiche Möglichkeiten, wobei hier die Aminolyse mit Hydraziniumacetat Anwendung gefunden hat.^[76] Durch Umsetzung mit 1.2 Äquivalenten Hydraziniumacetat in *N,N*-Dimethylformamid wurden die 1-OH-freien Verbindungen wiederum als Anomerengemische erhalten. Zur vollständigen Lösung des Hydraziniumacetats wurde kurz auf 50 °C erhitzt und im Anschluss über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Ausbeuten für diesen Schritt bewegen sich meist nur im moderaten Bereich, da meist keine vollständige Umsetzung stattfand. Das Edukt - die peracetylierte Pyranose - konnte reisoliert werden. Eine Alternative wurde in der Verwendung von Benzylamin gesucht.^[77] Allerdings ging dies mit aufwendigen Säulenchromatographien einher, die nicht in allen Fällen ein vollständiges Entfernen des im Überschuss eingesetzten Benzylamins mit sich führten.

Im nächsten Schritt wurden die erhaltenen 1-OH-freien Verbindungen **63-65** mit 1.5 Äquivalenten Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66** zur Reaktion gebracht.



Dibenzy-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66**



4,5-Dicyanoimidazol **67**

Abbildung 46: Reagenzien der Phosphoramidit-Methode

Für diese Phosphorylierungsreaktion wurde ein Aktivator benötigt. Aufgrund der Einstufung von 1*H*-Tetrazol als explosionsgefährliche Verbindung und der Toxizität dieser Substanz wurde hierfür das in der Oligonucleotidchemie standardmäßig eingesetzte Dicyanoimidazol **67** verwendet. Nach vollständiger Umsetzung wurden die intermediär entstandenen Phosphitriester mit Hilfe von *meta*-Chlorperbenzoesäure in einer Eintopfreaktion zu den entsprechenden benzylgeschützten Phosphatriestern oxidiert. Hierbei wurden für die Derivate der Glucose und der Galactose α/β -Gemische erhalten, die säulenchromatographisch mittels Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten voneinander getrennt werden konnten. Lediglich das Mannose-Derivat konnte aufgrund der axialen Stellung an C2 ausschließlich als reines α -Anomer erhalten werden.

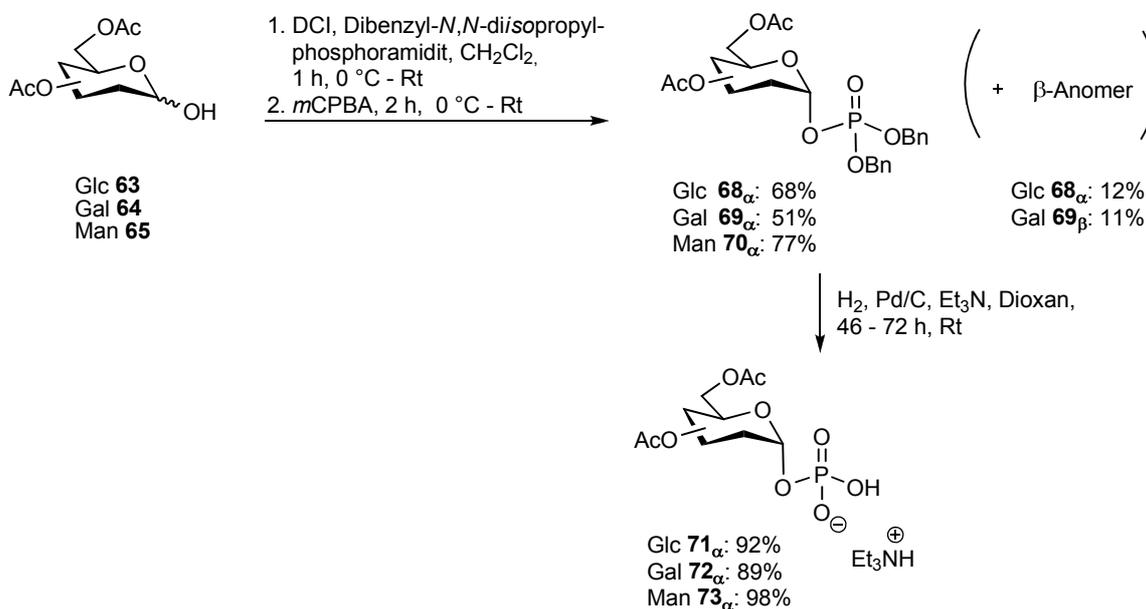


Abbildung 47: Syntheschema zur Darstellung der Pyranosyl- α -Phosphate

Die anschließende hydrogenolytische Spaltung der Benzyl-Schutzgruppen mit Hilfe von Palladium auf Aktivkohle wurde in Gegenwart von Triethylamin durchgeführt und gelang in sehr guten Ausbeuten. Die gewünschten freien Phosphate konnten nach Aufarbeitung und Gefriertrocknung in sauberer Form erhalten werden.

In den Abbildungen 48 und 49 sind exemplarisch die NMR-Spektren für das 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat **72 α** in Form des Triethylammoniumsalzes gezeigt.

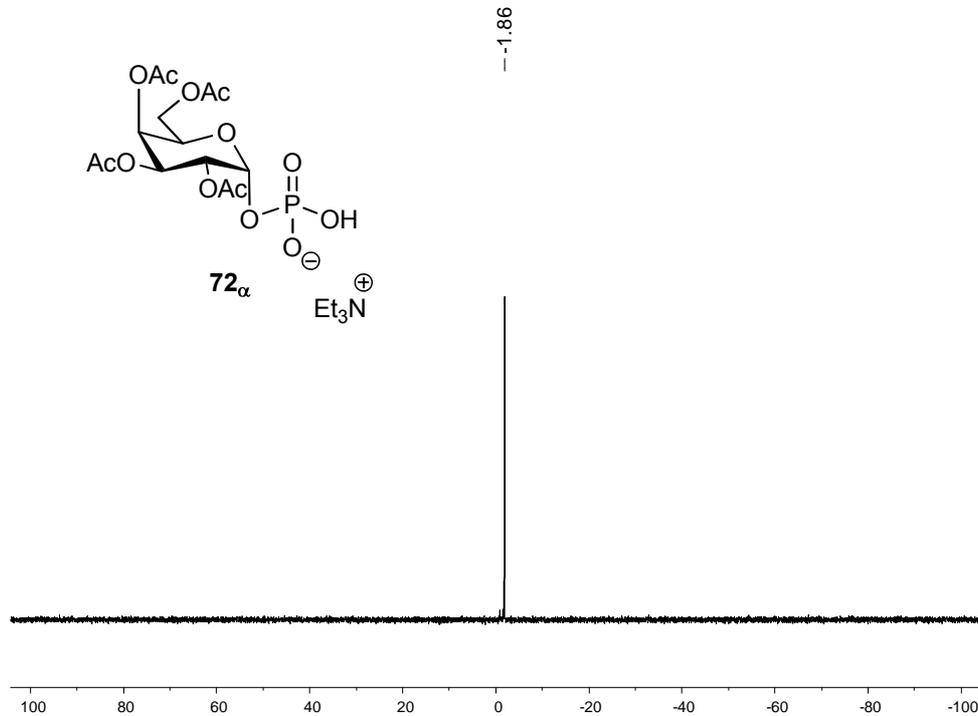


Abbildung 48: ^{31}P -NMR-Spektrum des 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphats **72 α**

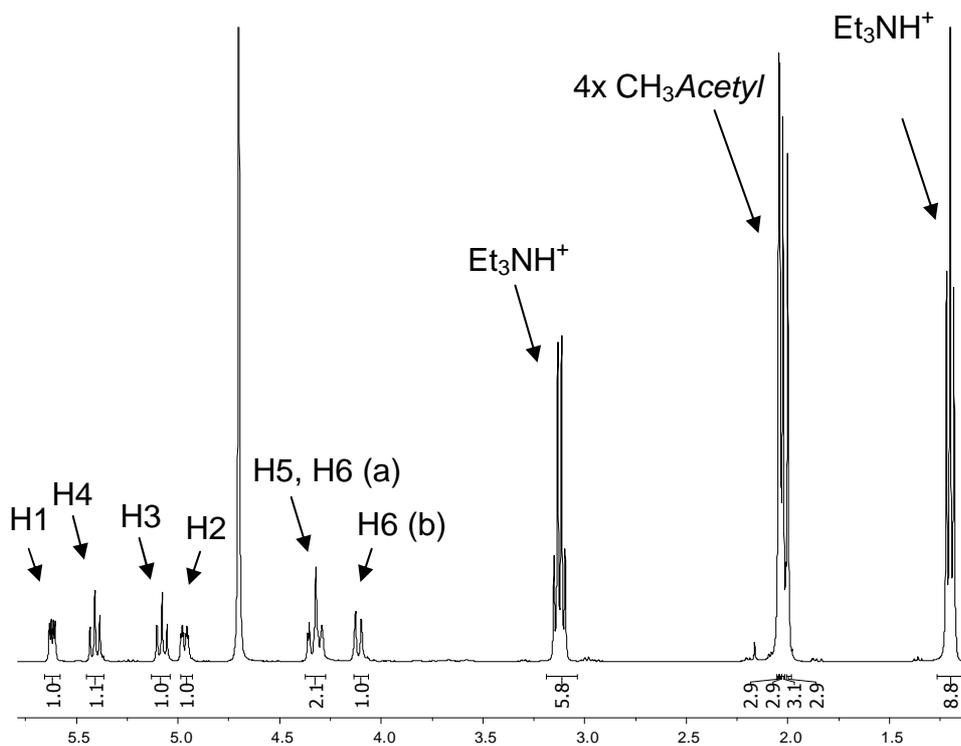


Abbildung 49: ^1H -NMR-Spektrum des 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphats **72 α**

Darstellung der Pyransoyl- β -Phosphate

Die β -Anomere der Pyranosyl-Phosphate konnten über den bereits erwähnten Königs-Knorr-Weg erhalten werden.^[70] Allerdings wurden auf diesem Weg nur die Derivate der Glucose und der Galactose umgesetzt, da für Mannose aufgrund der axialen Stellung der Hydroxygruppe an C2 keine β -Phosphate erhalten werden können.

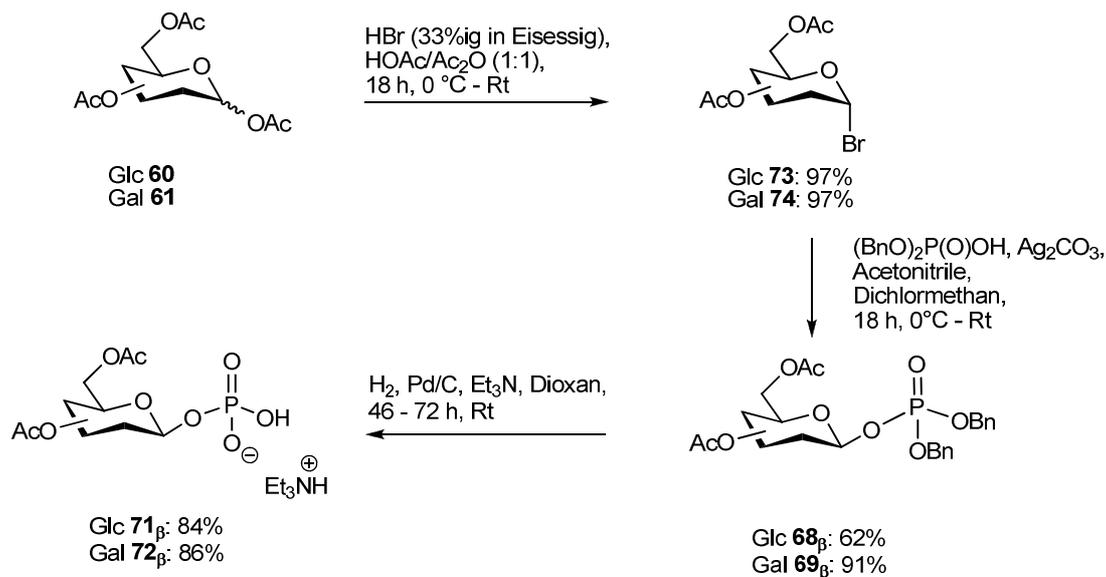


Abbildung 50: Syntheschema zur Darstellung der Pyransoyl- β -Phosphate

Es wurde wiederum von den peracetylierten Verbindungen **60** und **61** ausgegangen, die im ersten Schritt am anomeren Zentrum bromiert werden mussten. Dies gelang durch Lösen der entsprechenden Pyranose in einem Gemisch aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid (1:1) und Versetzen mit 5.0 Äquivalenten Bromwasserstoff (als 33%ige Lösung in Eisessig).^[71] Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss gerührt. Nach Aufarbeitung konnten die Bromide als Rohprodukte in guten Ausbeuten erhalten werden. Aufgrund ihrer Labilität wurde auf eine Reinigung verzichtet und die erhaltenen Substanzen direkt mit 1.8 Äquivalenten Dibenzylphosphat in Anwesenheit von ebenfalls 1.8 Äquivalenten Silbercarbonat zur Reaktion gebracht.^[72] Nach hydrogenolytischer Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen am Phosphat bei Raumtemperatur mit Dioxan als Lösungsmittel, 2.0 Äquivalenten Triethylamin und einer katalytischen Menge Palladium auf Kohle unter Wasserstoffatmosphäre konnten die β -Phosphate mit Triethylammonium als Gegenion in guten Ausbeuten erhalten werden.

Die Abbildungen 51 und 52 zeigen die ^{31}P -NMR- und die ^1H -NMR-Spektren des Glucose-Derivats 71_β als Beispiel für β -Phosphate.

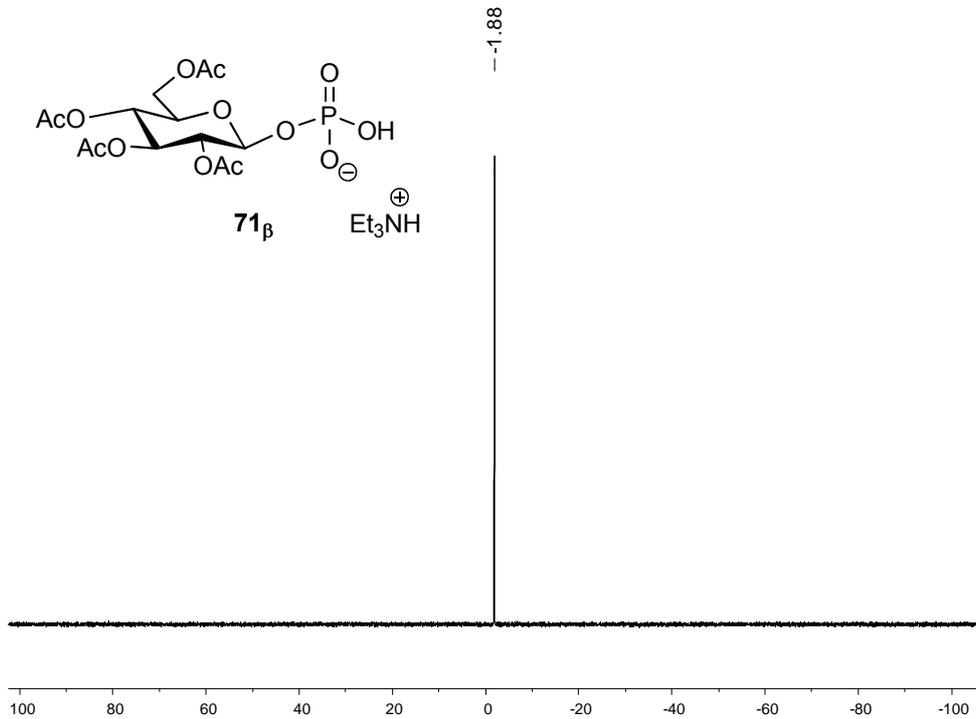


Abbildung 51: ^{31}P -NMR-Spektrum des 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphats 71_β

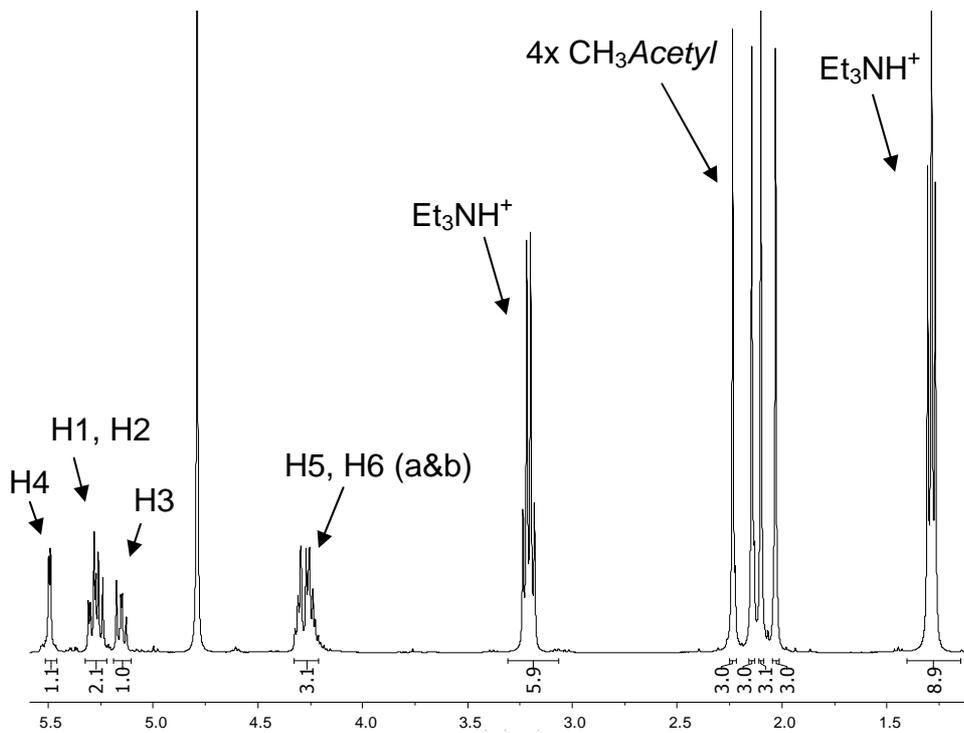


Abbildung 52: ^1H -NMR-Spektrum des 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphats 71_β

Darstellung modifizierter Pyranosyl-Phosphate

Die Synthese der Zuckernucleotide sollte im späteren Verlauf der Arbeit auch auf die Verwendung von Nucleosidanaloga sowie von modifizierten Nucleophilen ausgedehnt werden. Die Gründe für diese Vorgehensweise werden in Abschnitt 4.4.2 (Seite 77) ausführlich besprochen.

Um Zuckernucleotide mit modifizierter Pyranose zu erhalten, sollten die Nucleophile vor der Kupplungsreaktion mit dem *cycloSal*-Nucleotid bereits in modifizierter Form vorliegen. Hierzu wurden verschiedene Modifikationen - sowohl die Art der Modifikation, wie auch ihre Position betreffend - verwendet. Im Folgenden werden die Synthesen der Reihe nach beschrieben und dabei ausgeführt, weshalb die jeweilige Modifikation gewählt wurde.

Synthese von L-Galactose- β -Phosphat

Um mit einer möglichst geringen Modifikation zu beginnen, sollte zunächst ein L-konfiguriertes Pyranosyl-Phosphat synthetisiert werden. Hierbei sollte festgestellt werden, ob die Konfiguration der Nucleophile einen Einfluss auf die anschließenden Kupplungsreaktionen haben.

Als Ausgangsverbindung diente L-Galactono-1,4-Lacton **75**, welches durch Reduktion mit Natriumborhydrid und anschließender Peracetylierung mit einer Ausbeute von 84% über die 2 Stufen in Verbindung **76** überführt werden konnte.^[78] Die peracetylierte L-Galactose **76** wurde nach den bereits beschriebenen Königs-Knorr-Bedingungen in das korrespondierende β -Phosphat **77** überführt.^[70] Dies gelang durch Bromierung, Umsetzung mit Dibenzylphosphat und abschließender hydrogenolytischer Abspaltung der Benzyl-Schutzgruppen in einer Ausbeute von 47% über 3 Stufen. Das erhaltene Produkt **77** diente im Anschluss als Nucleophil in einer Kupplungsreaktion mit einem aktivierten Nucleotid.

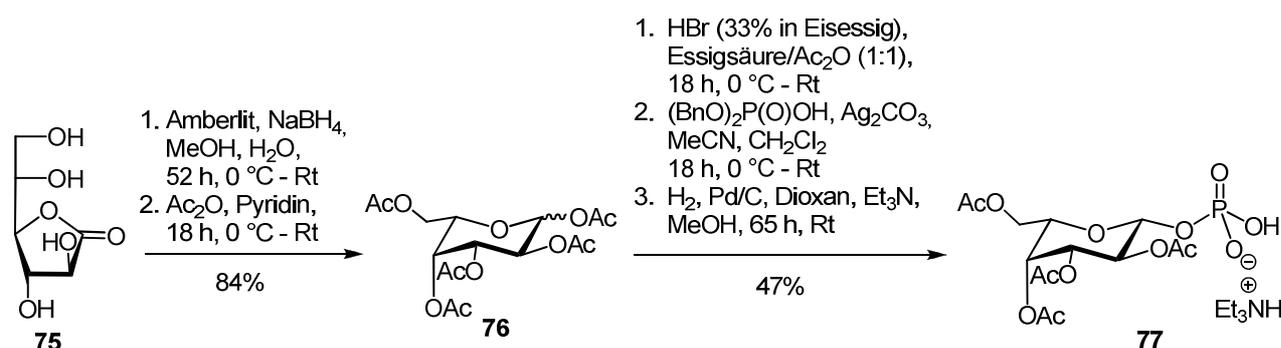


Abbildung 53: Syntheschema zur Darstellung des L-Galactose- β -Phosphats **77**

Synthese der 2-Desoxy-2-Fluor-Glycopyranosyl-Phosphate

Der Ersatz von Wasserstoff durch Fluor in Naturstoffen ist wegen der hohen Elektronegativität des Fluors bei fast gleichbleibendem Raumanpruch von großem Interesse für biochemische und pharmakologische Untersuchungen.^[79,80] Durch Einführung des elektronegativen Fluor-Substituenten lassen sich beispielsweise die elektronischen Eigenschaften von Molekülen modulieren.^[81] Die Fluorierung von Verbindungen findet daher vielfach Anwendung in der Organischen Synthesechemie.^[82] Kohlenhydrate mit einem Fluoratom in Nachbarstellung zum anomeren Zentrum zeigen Inhibitoraktivität gegen bestimmte Glycosyltransferasen und ermöglichen Einblicke in Enzymmechanismen.^[83] Unterschiedliche Anwendungen von ¹⁸F-markierten Verbindungen wurden in der Positronemissionstomographie (PET) beschrieben.^[84] [¹⁸F]-Fluorglucose wird hierbei zur Verfolgung des Glucosemetabolismus in Organen eingesetzt. Die Methode ist weit verbreitet und wird in der Onkologie, Kardiologie und Neurologie genutzt. Zudem fanden ¹⁸F-markierte Steroide Einsatz in der Tomographie von Brust- und Prostata Tumoren.

Aus diesen Gründen sollten Zuckeranaloga mit einem Fluoratom in der 2-Position für die Darstellung von NDP-Pyranosen verwendet werden. Ausgehend von Glucose und Galactose wurden - um eine Einführung des Fluoratoms in die 2-Position zu ermöglichen - zunächst die Glycale hergestellt. Dies gelang durch Peracetylierung, anschließende Bromierung am anomeren Zentrum und abschließende Reduktion mit Zink und *N*-Methylimidazol.^[85] Die Ausbeuten über 3 Stufen lagen für Glucal bei 67% und für Galactal bei 34%.

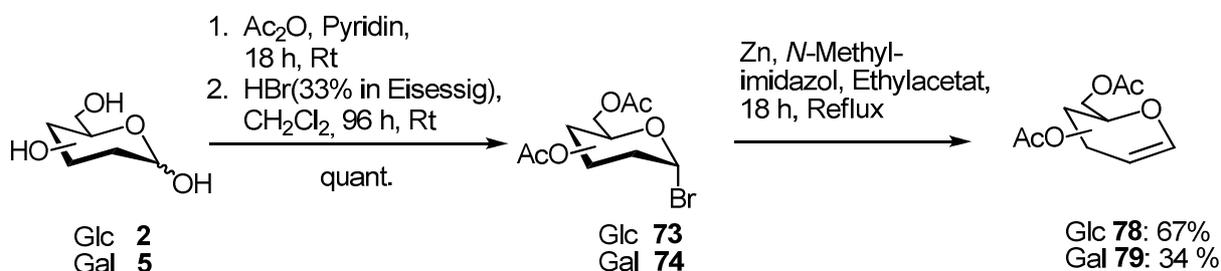
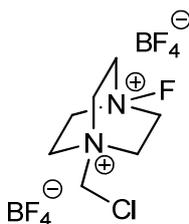


Abbildung 54: Syntheschema zur Darstellung der Glycale **78** und **79**

Zur Einführung des Fluoratoms wurden die Glycale **78** und **79** mit Selectfluor[®] **80** zur Reaktion gebracht. Selectfluor[®] **80** ist ein elektrophiles Fluorierungsreagenz, das aufgrund seiner Stabilität ein einfach zu handhabender, käuflich erhältlicher Feststoff ist. Im Gegensatz zu anderen elektrophilen Fluorierungsreagenzien, beispielsweise Perchlorylfluorid, Trifluoromethylhypofluorit, Xenondifluorid oder elementarem Fluor, ist Selectfluor[®] **80** weder toxisch noch explosiv oder teuer.^[86,87]



80

Abbildung 55: Selectfluor[®] **80**

Für die Umsetzungen wurden 2.0 Äquivalente Selectfluor[®] **80** verwendet. Im Fall vom Galactal **79** verlief die Reaktion aufgrund der axialen Stellung der 4-Hydroxygruppe hochselektiv zum 2-äquatorial konfigurierten Produkt.



Abbildung 56: Syntheschema zur Darstellung der fluorierten Galactose **81**

Mechanistisch gesehen findet eine *syn*-Addition an die Doppelbindung des Galactals **79** statt. Aus sterischen Gründen greift Selectfluor[®] **80** von der gegenüberliegenden Seite der axialen Gruppe elektrophil an, wobei die äquatorial fluorierte Zwischenverbindung **82** in der thermodynamisch stabileren ⁴C₁-Konformation gebildet wird, die dann unter heterolytischer Dissoziation zu dem energetisch günstigeren fluorierten Carbokation umgesetzt wird. Anschließend greift eine Hydroxygruppe das positiv geladene, anomere C-Atom des cyclischen Carboxoniumions nucleophil an, wobei die Produkte gebildet werden.^[88,89]

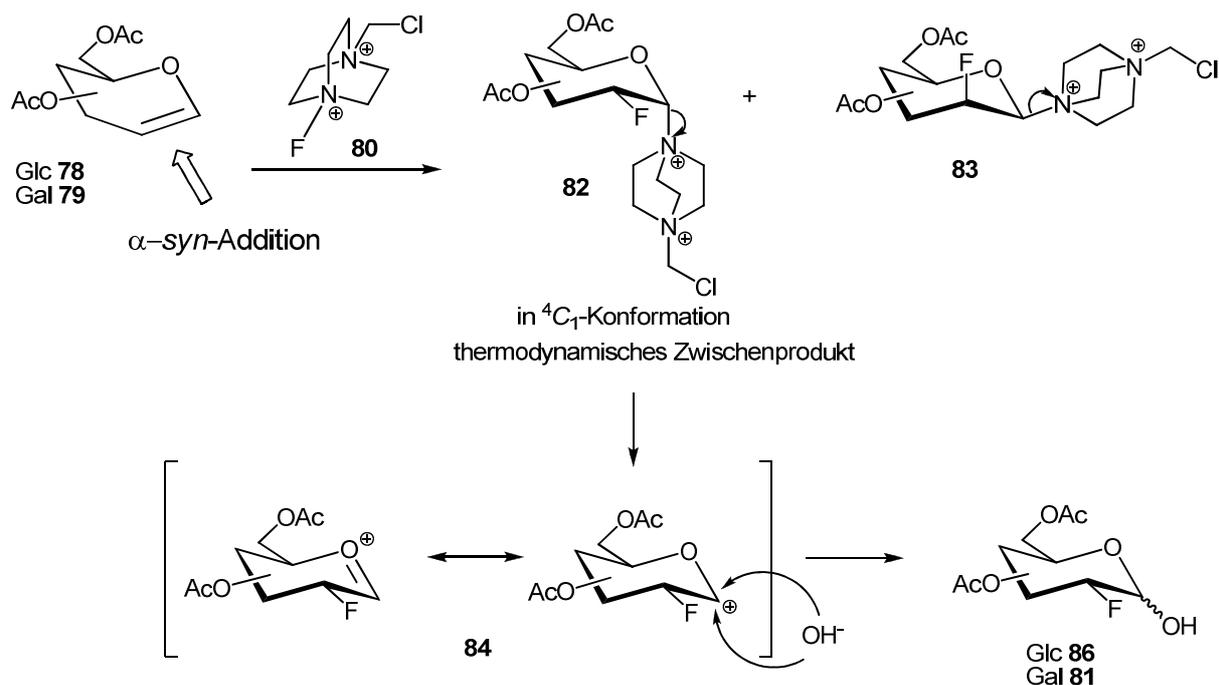


Abbildung 57: Reaktionsmechanismus zur elektrophilen Fluorierung mit Selectfluor[®] **80**

Im Fall vom Glucal **78** verlief die elektrophile Fluorierung aufgrund der äquatorialen Stellung aller Hydroxygruppen nicht selektiv. Da es keinen Unterschied in der sterischen Hinderung für die beiden Seiten gibt, kann Selectfluor[®] **80** von beiden Seiten elektrophil angreifen. Es werden die äquatorial fluorierte Zwischenverbindung **82** und die axial fluorierte Zwischenverbindung **83**, jeweils in der thermodynamisch stabileren 4C_1 -Konformation, gebildet und anschließend unter heterolytischer Dissoziation zu den energetisch günstigen fluorierten Carbokationen umgesetzt. Anschließend kann der nucleophile Angriff sowohl bei der Glucose-, wie auch bei der Galactose-Verbindung von beiden Seiten des cyclischen Carboxoniumions stattfinden. Aufgrund der axialen Stellung des Substituenten an der 2-Position erfolgt der nucleophile Angriff bei der *manno*-konfigurierten Verbindung **83** nur von der entgegengesetzten Seite der axialen Gruppe und bildet somit ausschließlich das α -Anomer.

Bei der Umsetzung vom Glucal **78** mit Selectfluor[®] **80** wurde demnach eine Mischung aus dem α -Anomer der 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-Mannose **85** und einem α/β -Gemisch von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-Glucose **86** im Verhältnis 1:1 erhalten. Die Trennung der Verbindungen **85** und **86** konnte durch Acetylierung der anomeren Position und anschließende Säulenchromatographie erfolgen. Nach erfolgter Separierung konnte durch Reaktion mit Hydraziniumacetat die gewünschte freie Hydroxygruppe an C1 zurückgewonnen werden.

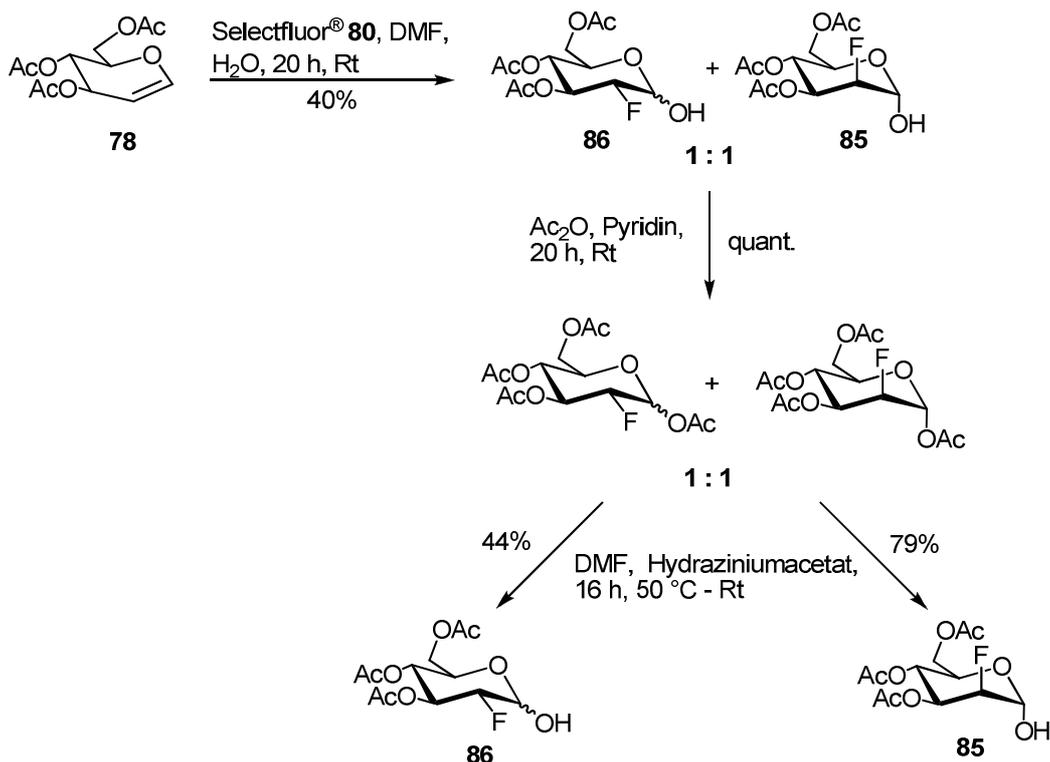


Abbildung 58: Syntheschema zur Darstellung der fluorierten Glucose **86** und Mannose **85**

Ziel war es, aufgrund der in der Natur vorkommenden α -konfigurierten Zuckernucleotide, die α -Phosphate der fluorierten Verbindungen zu erhalten, weshalb zur Phosphorylierung der Verbindungen **81**, **85** und **86** auf die bereits beschriebene Phosphoramidit-Methode zurückgegriffen wurde.^[73] Dazu wurden diese mit Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66** in Gegenwart von Dicyanoimidazol **67** als Aktivator phosphoryliert und im Anschluss mit *meta*-Chlorperbenzoesäure oxidiert. In allen Fällen entstand das thermodynamisch stabilere α -Phosphat im Überschuss. Die Phosphorylierung erfolgte im Fall der *manno*-fluorierten Verbindung **85** α -anomerenrein mit einer Ausbeute von 78%, was auf die besonders günstige *trans*-diaxiale Stellung der Substituenten an C1 und C2 zurückzuführen ist.

Um die Anomerengemische der Gluco- und Galacto-Derivate **87** und **88** säulenchromatographisch zu trennen, wurden verschiedene Gradienten des Laufmittels Petrolether und Ethylacetat verwendet. Allerdings konnten die Anomere trotz mehrfacher Versuche nicht voneinander getrennt werden und wiesen beide ein Verhältnis von $\alpha:\beta=1:0.4$ auf. Das Anomerengemisch des benzylgeschützten Phosphats **87** wurde mit einer Ausbeute von 65% und das Anomerengemisch des benzylgeschützten Phosphats **88** mit einer Ausbeute von 69% erhalten.

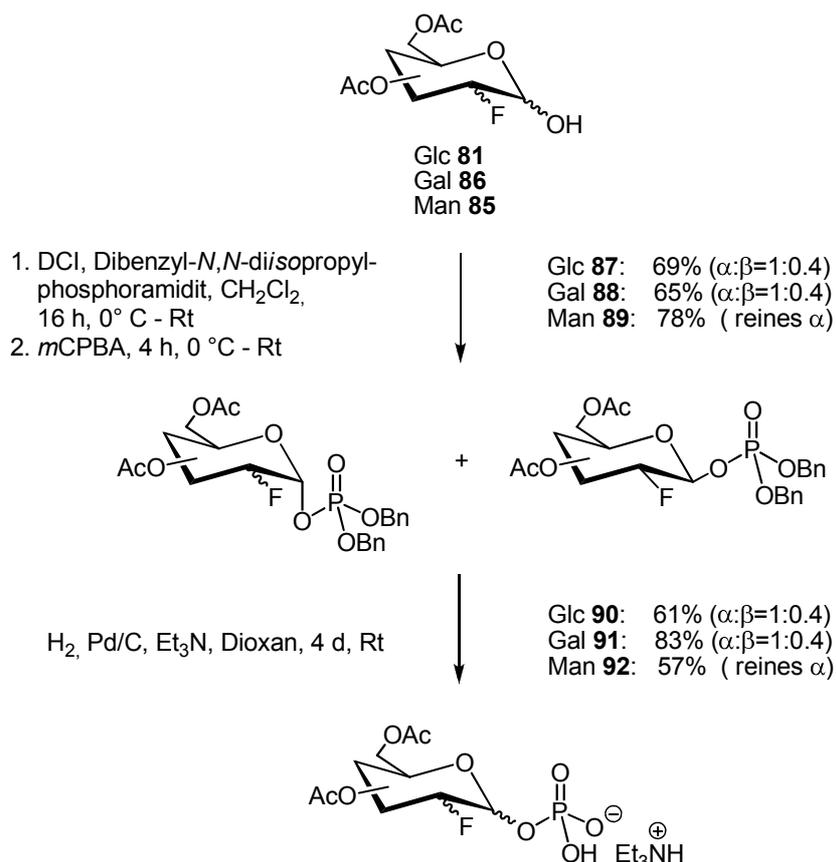


Abbildung 59: Syntheschema zur Darstellung der fluorierten Pyranosyl-Phosphate

Nach hydrogenolytischer Spaltung der Benzyl-Schutzgruppen wurden die Phosphate erhalten. Hierbei wurde das 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucosyl-Phosphat **90** in Form des Triethylammoniumsalzes in einer Ausbeute von 61% erhalten. Das Anomerenverhältnis blieb unverändert bei $\alpha:\beta=1:0.4$. Gleiches konnte für 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactosyl-Phosphat **91** in Form des Triethylammoniumsalzes beobachtet werden, welches in einer Ausbeute von 83% dargestellt werden konnte. Das 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannosyl-Phosphat **92** wurde α -anomerenrein in Form des Triethylammoniumsalzes in einer Ausbeute von 57% erhalten

Zwar können aufgrund der erhaltenen Anomerenmische nach erfolgreichen Kupplungen zu den NDP-Pyranosen ebenfalls nur Anomerenmische erhalten werden, dennoch kann die Einführung dieser Modifikation das große Anwendungsspektrum der Synthesemethode zeigen (siehe Abschnitt 4.4.2.2, Seite 80-83).

Versuch der Synthese von 6-Desoxy-6-Fluor-Glucopyranosyl-Phosphat

Die in der Natur größtenteils vorkommenden Positionen einer Fluorierung sind die 2-Position und die 6-Position. Daher lag es nah, nach der erfolgreichen Darstellung der 2-fluorierten Derivate ebenfalls die Einführung eines Fluoratoms in die 6-Position synthetisch zu erzielen und davon ausgehend die jeweiligen Pyranosyl-Phosphate darzustellen.

Hierfür wurde ein gänzlich anderer Weg eingeschlagen, der auf einer nucleophilen Substitution beruht. Es ist eine gängige Methode, freie Hydroxygruppen durch Fluor zu substituieren, was in der Regel mit Hilfe von Diethylaminoschwefeltrifluorid **93** (DAST) gelingt. Als Flüssigkeit ist DAST **93** leichter zu handhaben als das gasförmige und giftige Schwefeltetrafluorid, das alternativ verwendet wird.^[90]

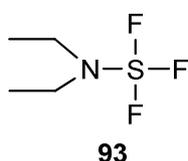


Abbildung 60: DAST **93**

Unabdingbar ist hierfür natürlich der Baustein **94**, der durch selektive Blockierung der 6-Position mittels TBDMS-Cl und anschließender „one-pot“ Acetylierung aller freien Hydroxyfunktionen, gefolgt von der selektiven Entschützung der 6-Position erhalten werden kann.^[91]

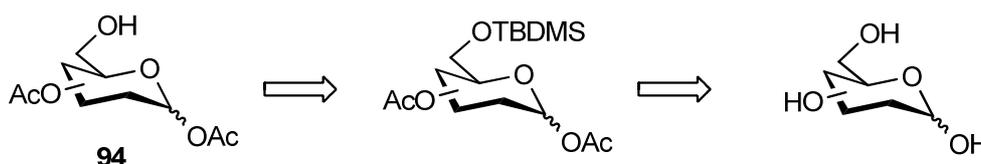


Abbildung 61: Retrosyntheschema zur Darstellung der 6-OH-freien Verbindungen **94**

Die Darstellung des 6-OH-freien Bausteins **94** ist jedoch aufgrund einer hohen 4,6-Wanderungstendenz bei *gluco*- und *manno*-konfigurierten Derivaten der Acetylgruppe stark limitiert.^[92] Das Nebenprodukt (die 4-OH-freie Verbindung **95**) wird bereits während der Abspaltung der TBDMS-Gruppe mittels Triethylamin-Trihydrofluorid gebildet. Während der säulenchromatographischen Aufarbeitung nimmt die Bildung von Verbindung **95** weiter zu. Daher ist die Darstellung des 6-OH-freien Bausteins **94** auf Kleinstmengen beschränkt. Zudem wird auch bei einer schnellen Umsetzung und Chromatographie immer ein Gemisch aus beiden Verbindungen erhalten.

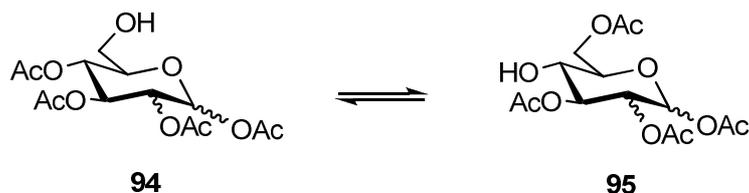


Abbildung 62: 4,6-Wanderung der Acetylgruppe

Daher sollte von der in 6-Position tosylierten Verbindung ausgegangen werden. Alle anderen Hydroxyfunktionen waren mit Acetylgruppen blockiert, um eine selektive Fluorierung zu erzielen. Nach erfolgreicher Einführung des Fluoratoms in die 6-Position sollten die peracetylierten Verbindungen in die korrespondierenden Phosphate überführt werden, was sowohl nach der Phosphoramidit-Methode (für die α -Anomere), wie auch auf dem Königs-Knorr-Weg (für die β -Anomere) gelingen sollte.

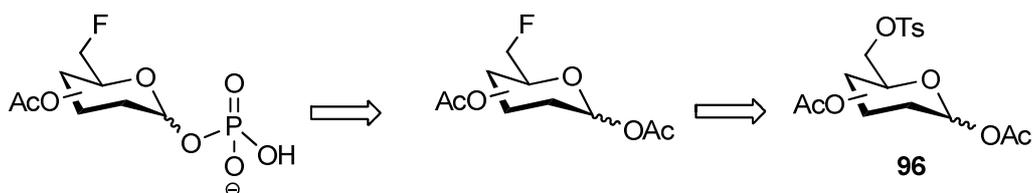


Abbildung 63: Retrosyntheseschema zur Einführung des Fluoratoms in die 6-Position

Die Fluorierung sollte durch Umsetzung mit Tetra-*n*-Butylammoniumfluorid **97** (TBAF) ebenfalls durch eine nucleophile Substitution der Tosylgruppe erfolgen. TBAF **97** ist ein Reagenz zur Fluorierung durch nucleophile Substitution einer geeigneten Abgangsgruppe und verspricht schnelle Reaktionen bei Raumtemperatur. Neben seiner Funktion als Fluorid-Ionenquelle dient TBAF **97** auch als Phasentransferkatalysator. Es ist zugleich eine milde Base und löslich in organischen Lösungsmitteln.

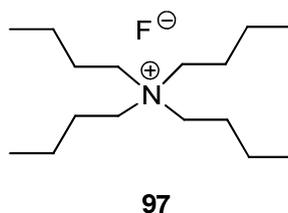


Abbildung 64: TBAF **97**

Das Tosylat stellt hierbei einen Kompromiss aus einem einerseits relativ stabilen, isolierbaren und lagerfähigem Synthesebaustein und andererseits einer recht reaktiven Verbindung mit guter Austrittsgruppe dar. Weitaus bessere

Austrittsgruppen hingegen sind Triflate, welche allerdings aufgrund ihrer sehr hohen Reaktivität wenig lagerbeständig sind und daher „one-pot“ weiter umgesetzt werden sollten.^[93]

In ersten Versuchen wurde auf konventionelle Reaktionsbedingungen vertraut, wozu Verbindung **96** in bereits vorgefertigter 1 M TBAF-Lösung in Tetrahydrofuran gelöst wurde. Es wurden 2.0 Äquivalente dieser Lösung verwendet und die Reaktionslösung sowohl für 90 Minuten wie auch für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Da in beiden Fällen keine vollständige Umsetzung des Eduktes beobachtet werden konnte, wurde ein weiterer Ansatz mit 5.0 Äquivalenten für 4 Tage bei 66 °C gerührt. Leider wurde auch dabei nur ein Edukt/Produkt-Gemisch erhalten, weshalb für eine vollständige Umsetzung des Edukts weitere Reaktionen unter Verwendung der Mikrowelle bei 150 W durchgeführt wurden. Hierfür wurden zunächst wieder 2.0 Äquivalente an TBAF **97** (1 M in THF) eingesetzt und verschiedene Temperaturen angewendet. Mit zunehmender Temperatur der Mikrowellenreaktionen (40 °C, 60 °C, 80 °C) verschob sich das Edukt/Produkt-Verhältnis zu Gunsten des Produkts. Wurde die Temperatur weiter erhöht (100 °C, 120 °C), kam es zu einer Zersetzung des Edukts. Daher wurden die weiteren Ansätze bei einer Temperatur von 80 °C durchgeführt. Hierbei wurden bei einer verlängerten Reaktionsdauer mittels Dünnschichtchromatographie neben dem Edukt/Produkt-Gemisch zusätzlich Nebenprodukte detektiert. Diese Spots hatten geringere R_f -Werte als das Edukt bzw. Produkt. Aufgrund der basischen Reaktionsbedingungen kann hier eine partielle Deacetylierung von sowohl Edukt als auch Produkt vermutet werden. Zur Vermeidung der Deacetylierung wurde dem Reaktionsansatz Essigsäure zur Pufferung der basischen Reaktionsbedingungen beigegeben. Hier wurden zwar erneut Nebenprodukte erhalten, allerdings auch kein negativer Einfluss auf die Reaktion festgestellt, weshalb der Zusatz von Essigsäure beibehalten wurde. Auch die Erhöhung auf 3.0 Äquivalente TBAF **97** führte zu keiner vollständigen Umsetzung des Eduktes. Unter Verwendung von 5.0 Äquivalenten TBAF **97** konnte zum ersten Mal ein vollständiger Umsatz des Edukts erreicht werden. Nach der säulenchromatographischen Reinigung des Reaktionsansatzes konnte das Produkt mit einer Ausbeute von 10% isoliert werden. Dabei handelte es sich um 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Fluor-D-Glucose **98**, also die am anomeren Zentrum bereits deacetylierte Verbindung.

In den Abbildungen 65 und 66 sind das ^{19}F -NMR- sowie das ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung zu sehen.

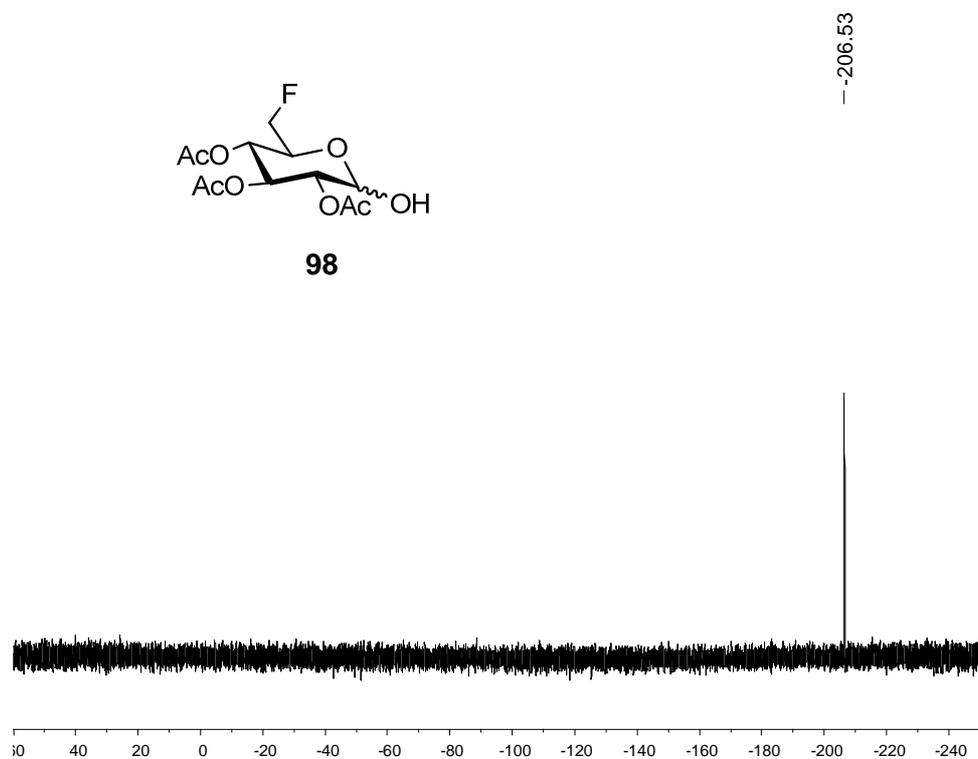


Abbildung 65: ^{19}F -NMR-Spektrum der 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Fluor-D-Glucose **98**

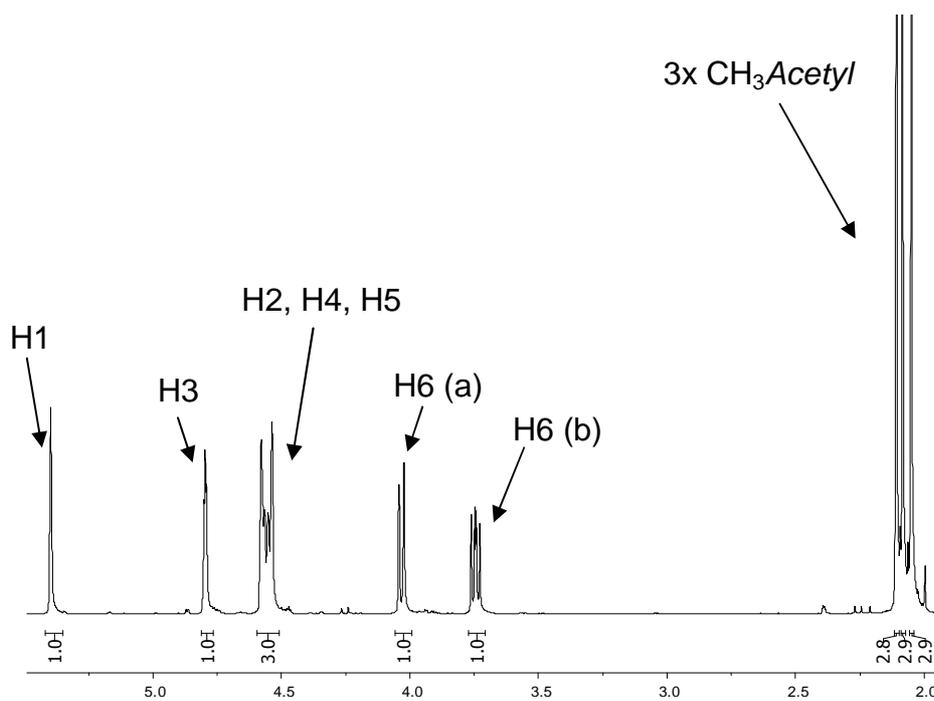


Abbildung 66: ^1H -NMR-Spektrum der 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Fluor-D-Glucose **98**

Die niedrige Ausbeute ist auf die Bildung der deacetylierten Nebenprodukte zurückzuführen, welche bei der säulenchromatographischen Reinigung abgetrennt wurden. Leider konnte auch der Zusatz größerer Mengen Essigsäure die teilweise Deacetylierung nicht verhindern. Aus diesem Grund wurde in direktem Anschluss an die Fluorierung unter Standardbedingungen peracetyliert. Auch daraus ergaben sich allerdings keine zufriedenstellenden Ergebnisse.

Die Abspaltung der anomeren Acetylgruppe aufgrund der basischen Bedingungen während der Reaktion ist für die Weiterverwendung zur Synthese des α -Zuckerphosphats durchaus geeignet, da hierzu die anomere OH-Gruppe ungeschützt vorliegen muss. Allerdings konnte diese Synthese zu keinem Zeitpunkt mit befriedigender Ausbeute durchgeführt werden. Des Weiteren erwies sich die Reproduktion als schwierig, insbesondere bei großen Reaktionsansätzen.

Synthese von 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat

Die Aufklärung der Biosynthese des in höher entwickelten Pflanzen, Cyanobakterien und Prokaryoten vorkommenden Membranlipids Sulfochinovosyl-diacylglycerol **99** ist von besonderem Interesse.^[94] In Analogie zur Biosynthese von anderen Glycosiden wird angenommen, dass eine sulfonhaltige NDP-Pyranose an der Biosynthese des Lipids beteiligt ist.^[95] Die Verfügbarkeit dieser NDP-Sulfo-Pyranose würde eine Untersuchung dieser Annahme ermöglichen. Für die Darstellung dieses Zuckernucleotids wird demnach ein sulfonhaltiges Pyranosyl-Phosphat benötigt.

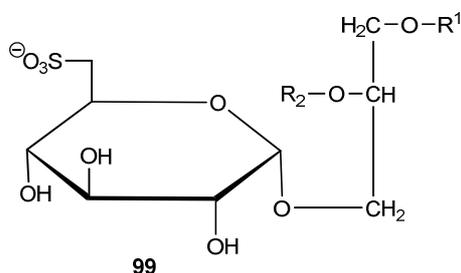


Abbildung 67: Sulfochinovosyldiacylglycerol **99**

Für die im weiteren Verlauf dieser Arbeit durchgeführte Kupplungsreaktion zur Darstellung einer NDP-Sulfo-Pyranose, wurde das in der Arbeitsgruppe um *Schmidt et al.* synthetisierte 6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **100**

verwendet.^[96] Die Syntheseroute zur Darstellung dieser Verbindung umfasst insgesamt 13 Stufen, wobei die Darstellung des Phosphats durch die Trichloracetimidat-Methode erfolgt. Die Einführung der Sulfogruppe in der 6-Position gelingt durch Substitution eines Triflats gegen ein Thiol, welches durch Luftsauerstoff sofort zum Disulfid oxidiert wird. Durch anschließende Oxidation mittels *meta*-Chlorperbenzoesäure gelingt es, die Disulfidbrücke des Disulfids in die Sulfogruppe zu überführen.^[97]

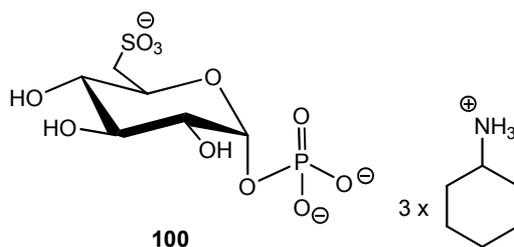


Abbildung 68: 6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **100**

Es ist zu erkennen, dass Verbindung **100** nicht in Form des gewöhnlich verwendeten Triethylammonium-Salzes vorliegt. Zudem befinden sich freie Hydroxygruppen in den Positionen 2, 3 und 4 und eine negative Ladung an der Sulfogruppe. Durch diese Veränderungen kann es bei der Kupplungsreaktion bedingt durch die extrem hohe Polarität der Verbindung **100** zu Schwierigkeiten bezüglich der Löslichkeit kommen. Für die anschließende Umkehrphasenchromatographie bleibt zusätzlich abzuwarten, wie sich das Zuckernucleotid mit den Cyclohexylammonium-Gegenionen verhält.

Aus diesen Gründen sollte eine neue Syntheseroute entwickelt werden, um den Baustein **101** zu erhalten (Abbildung 69). Dabei sollte das gewünschte Pyranosyl-Phosphat auf einem linearen Syntheseweg über lediglich 6 Stufen dargestellt werden, wiederum ausgehend vom tosylierten Baustein **96**. Den Schlüsselschritt stellte dabei die Einführung des Schwefelatoms in die 6-Position dar. Diese sollte durch Substitution der Tosylgruppe durch eine Thioacetylgruppe erfolgen, woraus die Zwischenstufe **102** resultiert. Im weiteren Reaktionsverlauf musste eine Verbindung erzeugt werden, die sowohl die selektive Phosphorylierung an C1 sowie die Oxidation des Schwefelatoms toleriert. Durch vollständige Deacetylierung der Verbindung **102** sollte zunächst das Thiol generiert werden, welches durch spontane Oxidation an Luft zum Disulfid weiterreagiert. Durch direkte Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin sollten alle freien Hydroxygruppen peracetyliert und

Verbindung **103** erhalten werden. Im nachfolgenden Schritt musste dann wiederum die anomere Position selektiv entschützt werden, um das benzylgeschützte Phosphat nach der Phosphoramidit-Methode erhalten zu können. Die bei dieser Methode notwendige Oxidation des intermediär erhaltenen Phosphits zum Phosphat gelingt im Allgemeinen mit *meta*-Chlorperbenzoesäure. Dieses sollte im gleichen Schritt das Disulfid oxidativ spalten und nach hydrogenolytischer Spaltung der Benzylschutzgruppen das gewünschte 2,3,4,6-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **101** in Form des Triethylammoniumsalzes ergeben.

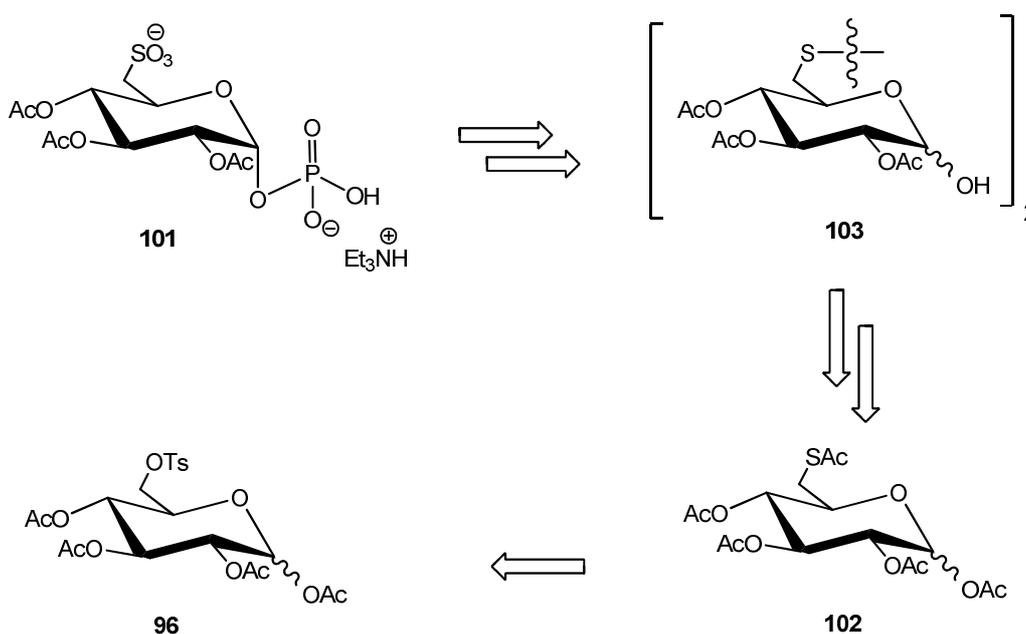


Abbildung 69: Retrosyntheseschema zur Darstellung des 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphats **101** in Form des Triethylammoniumsalzes

Der erste Schritt dieser Reaktionssequenz - die Substitution der Tosylgruppe durch Thioacetat – gelang durch Umsetzung der Verbindung **96** mit Kaliumthioacetat in 5 Stunden bei 95 °C mit einer sehr guten Ausbeute von 98%. Das als Nebenprodukt anfallende Kaliumtosylat konnte durch Waschen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung abgetrennt werden.^[98]

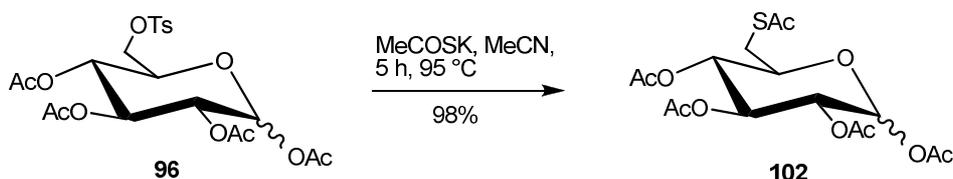


Abbildung 70: Synthese der 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl-D-Glucose **102**

Die eingeführte Thioacetylgruppe sollte im weiteren Verlauf der Syntheseroute durch die Oxidation des Schwefelatoms in die Sulfogruppe überführt werden. Hierfür war zunächst die Abspaltung der Acetylgruppe am Schwefel notwendig. Da diese Spaltung nicht selektiv am Schwefel stattfindet, wurde vorerst vollständig deacetyliert und durch spontane Oxidation an Luft das Disulfid **105** gebildet. Aufgrund der hohen Polarität des vollständig deacetylierten Disulfids wurde dieses nicht isoliert, sondern direkt nach Standardbedingungen peracetyliert.^[98]

Die Deacetylierung gelang unter unterschiedlichen Bedingungen. Sowohl die Verwendung von Natriumhydroxid als Base und Ethanol als Lösungsmittel, als auch der Einsatz von Natriummethanolat als Base und Methanol als Lösungsmittel ergaben das gewünschte Produkt **106** nach Peracetylierung in Ausbeuten um 65%. Die Verwendung einer Lösung aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 lieferte nach Peracetylierung das Disulfid **106** in einer Ausbeute von 76%.

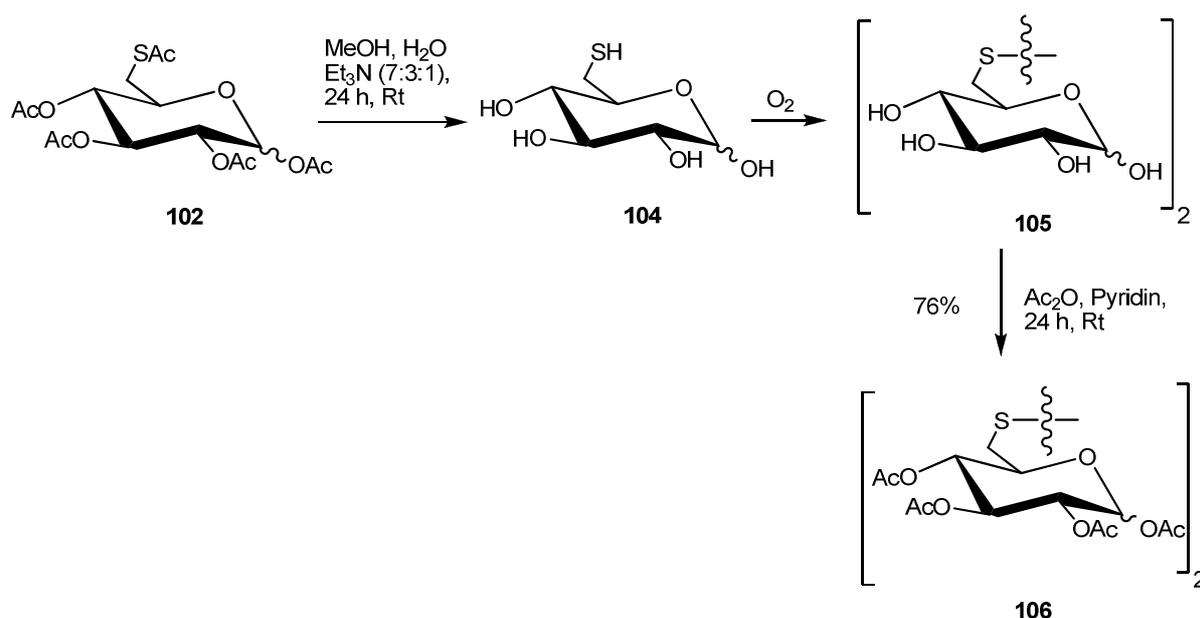


Abbildung 71: Synthese des peracetylierten Disulfids **106**

Die Entschützung der anomeren Hydroxygruppe gelang mit 2.4 Äquivalenten Hydraziniumacetat, das entspricht 1.2 Äquivalenten pro anomeren Zentrum. Hierzu wurde **106** in *N,N*-Dimethylformamid gelöst und die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.^[76] Es konnte lediglich eine Ausbeute von 39% erzielt werden. Leider ergab auch die Umsetzung mit Benzylamin nur eine Ausbeute von 25%, der noch Reste des überschüssigen Benzylamins anhafteten.^[77]

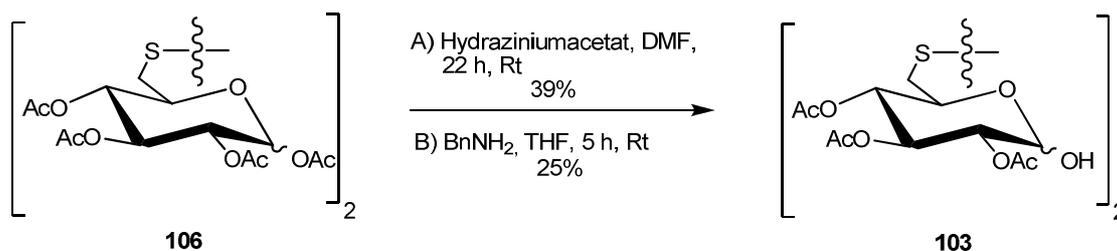


Abbildung 72: Synthese der 1-OH-freien Verbindung **103**

Die Phosphorylierung nach der Phosphoramidit-Methode gelang durch Umsetzung von Verbindung **103** mit Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66** in Gegenwart von Dicyanoimidazol **67** als Aktivator.^[73] Die anschließende Oxidation mit Hilfe von *meta*-Chlorperbenzoesäure oxidierte zum einen die entstandene P(III)- zur P(V)-Verbindung. Zum anderen konnte gleichzeitig die oxidative Spaltung der Disulfidbrücke vollzogen werden, wodurch die Bildung der Sulfogruppe gelang. Die Entstehung des Produkts **107** konnte mittels NMR-spektroskopischen Methoden (¹H-NMR, ¹³C-NMR und ³¹P-NMR) nachgewiesen werden. Es wurde eine Anomerenmischung der beiden Phosphate erhalten. Leider gelang es auch durch wiederholte Säulenchromatographie mit Petrolether und Ethylacetat verschiedener Gradienten nicht, die Anomere voneinander zu trennen. Zudem wies das ³¹P-NMR-Spektrum zu den Signalen der beiden Anomere bei -2.84 ppm und -3.30 ppm ein zusätzliche Signal bei 7.69 ppm auf, welches wohl dem oxidierten Phosphoramidit – dem Phosphoramidat - zuzuordnen ist. Daher kann keine konkrete Ausbeute für diesen Schritt angegeben werden. Unter Berücksichtigung dessen, sollte die Ausbeute in einem Bereich zwischen 50% und 60% liegen.

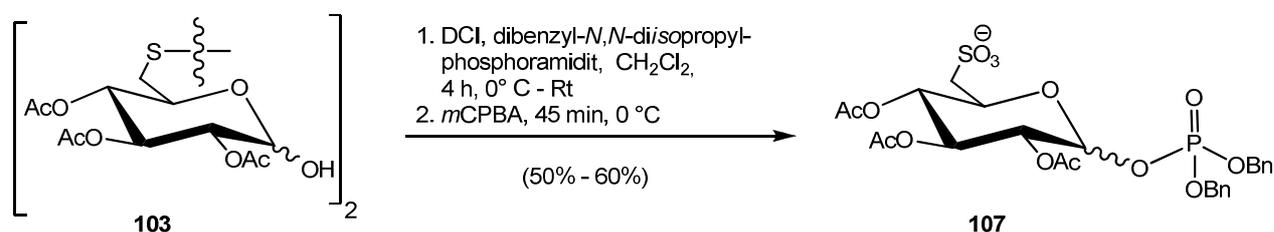


Abbildung 73: Synthese des benzylgeschützten Phosphats **107** als Anomeregemisch

Da das gewünschte sulfonierte Zuckernucleotid zu diesem Zeitpunkt schon ausgehend vom Pyranosyl-Phosphat **100**, erhalten aus der Arbeitsgruppe um *Schmidt et al.*, synthetisiert wurde, sollte hier nur noch ein grundsätzlich praktikablerer, neuer Syntheseweg entwickelt werden, der eine verkürzte

Reaktionssequenz aufweisen und das sulfonierte Pyranosyl-Phosphat in einer durch die Acetylgruppen bedingt besseren Löslichkeit liefern sollte.

Aus diesem Grund wurde die erhaltene Anomerenmischung der benzylgeschützten Phosphate einer hydrogenolytischen Spaltung unterzogen. Hierbei konnte das 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **101** in Form des Triethylammoniumsalzes zwar erhalten werden, allerdings kam es zur Bildung weiterer Nebenprodukte, die nicht von der Anomerenmischung des Phosphates entfernt werden konnten.

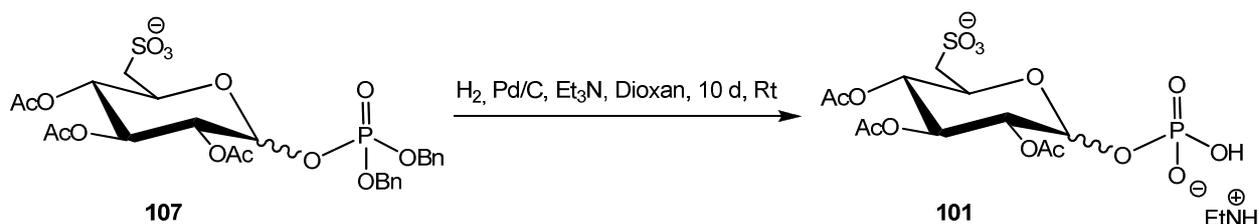


Abbildung 74: Synthese des Pyranosyl-Phosphats **101** als Anomeregemisch

Im Vergleich zu der 13-stufigen Syntheseroute nach *Schmidt et al.*, könnte diese Reaktionssequenz einen Zugang über lediglich 6 Stufen liefern, allerdings bedarf es noch Optimierungen.

Das gewünschte Produkt würde zudem in einer besseren Löslichkeit vorliegen, bedingt durch die Acetylschutzgruppen in den Positionen 2, 3 und 4. Da das Syntheseprotokoll zu den Zielverbindungen eine abschließende Entschützung vorsieht, sollte auf diesem Weg die Darstellung der NDP-Sulfo-Pyranosen möglich sein.

4.3.2 Darstellung der Neuraminsäure-Derivate

Im Verlauf dieser Arbeit sollte die Syntheseroute zur Darstellung von NDP-Pyranosen auf NMP-Pyranosen übertragen und somit *monophosphat*-verbrückte Zuckernucleotide hergestellt werden. Der populärste Vertreter dieser Verbindungsklasse ist die CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** als aktivierter Sialinsäuredonor. Aus diesem Grund war es zunächst nötig, die natürlich vorkommende *N*-Acetylneuraminsäure **22** mit entsprechenden Schutzgruppen zu versehen, sodass Nebenreaktionen ausgeschlossen werden konnten. Des Weiteren sollten auch von diesem Nucleophil modifizierte Derivate für die anschließenden Kupplungsreaktionen synthetisiert werden.

Darstellung des geschützten Neuraminsäure

Für eine selektive Reaktion der C2-Hydroxygruppe mit dem *cycloSal*-Nucleotid wurden alle nicht an der Umsetzung beteiligten reaktiven Positionen zunächst blockiert. Zusätzlich ist dadurch eine Verbesserung der Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln gewährleistet.

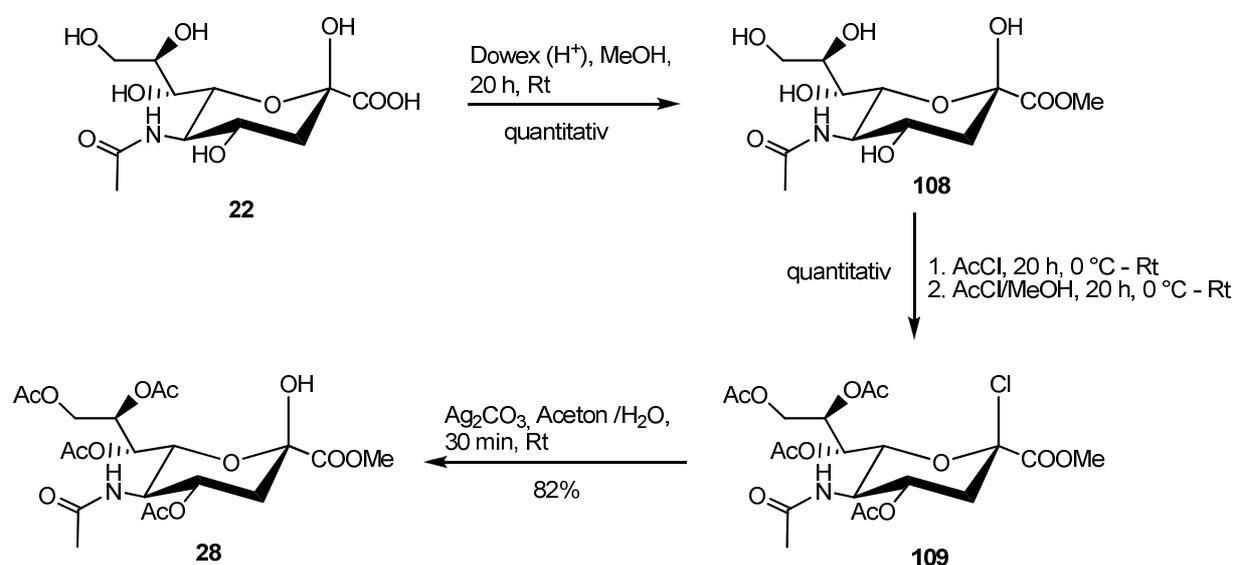


Abbildung 75: Syntheschema zur Darstellung der geschützten Neuraminsäure **28**

Der erste Schritt besteht in der Veresterung der Säurefunktion in Methanol in Anwesenheit des sauren Ionentauschers Dowex [50W-X8 (H⁺)] als Katalysator.^[99] Der resultierende Methyl ester **108** entstand quantitativ und konnte ohne weitere Reinigung direkt peracetyliert werden. Hierzu wurde der Methyl ester **108** bei 0 °C in Acetylchlorid suspendiert und über Nacht in einer geschlossenen Reaktionsapparatur

bei Raumtemperatur gerührt. Nach der Entfernung des Acetylchlorids unter vermindertem Druck wurde der erhaltene Feststoff erneut bei 0 °C mit Acetylchlorid und Methanol versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur im verschlossenen Reaktionsgefäß gerührt.^[100] Auch diese Reaktion verlief quantitativ und lieferte die vollgeschützte Verbindung **109**. Es handelt sich hierbei um eine Additions-Eliminierungs-Reaktion, bei der ein nucleophiler Angriff der Alkoholfunktion am Carbonylkohlenstoffatom des Acetylchlorids erfolgt. Nach der Peracetylierung erfolgte eine S_N1-artige Substitution der acetylgeschützten Hydroxyfunktion am anomeren Zentrum durch das intermediär erzeugte HCl. Hierbei entstand aufgrund seiner höheren Stabilität selektiv das β-Anomer. Die Wiedereinführung der Hydroxygruppe an C2 gelang in einem Aceton/Wasser-Gemisch (4:1) in Gegenwart von Silbercarbonat bei Raumtemperatur.^[101] Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das gewünschte Produkt **28** in einer sehr guten Ausbeute von 82% über die drei Stufen erhalten. Die Bildung des schwerlöslichen Silberchlorids war dabei die Triebkraft der Reaktion. Aufgrund des anomeren Effektes wurde das vollständig geschützte Halbacetal der Neuraminsäure **28** als β-Anomer erhalten.

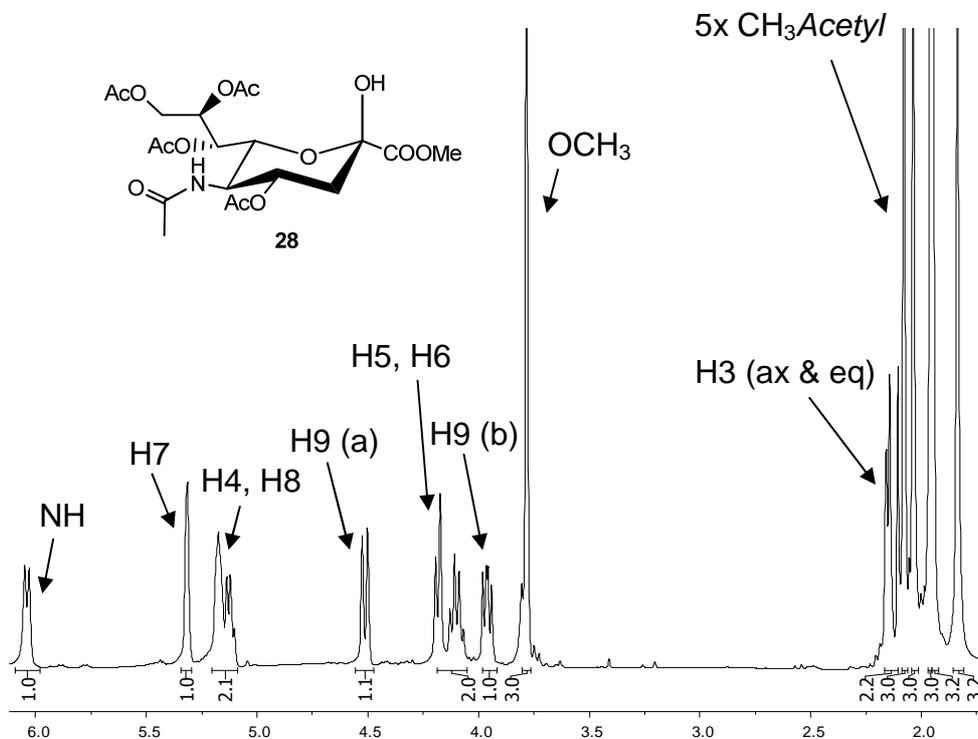


Abbildung 76: ¹H-NMR-Spektrum der geschützten Neuraminsäure **28**

An dieser Stelle soll nicht detaillierter auf die zuvor beschriebene Reaktionssequenz eingegangen werden, da es sich dabei um eine bereits etablierte Syntheseroute handelt. Aus diesem Grund wird mit der Reaktionssequenz zur Modifizierung der Neuraminsäure fortgefahren.

Darstellung der modifizierten Neuraminsäure-Derivate

Die Gruppe der Sialinsäuren besteht aus einer Vielzahl von *N*- bzw. *O*-acylierten Derivaten der Neuraminsäure, welche alle acide Aminosucker mit einem Grundgerüst aus neun Kohlenstoffatomen sind.^[15] Modifikationsmöglichkeiten ergeben sich vor allem durch die Wahl des sich an der Aminofunktion befindenden Restes. Hier ist neben dem gebräuchlichen Acetyl-Rest (**11**) auch häufig ein Glycolyl-Rest (**12**) zu finden. Dieser ist in Säugetieren, allerdings nicht im Menschen, anzutreffen. Aus diesem Grund sollten modifizierte Neuraminsäure-Derivate synthetisiert werden, deren Modifikation sich an der Aminogruppe befindet. Bei den gewünschten Modifikationen handelt es sich um die *N*-Propanoyl- (**110**), die *N*-Butanoyl- (**111**) und die *N*-Pentanoyl-Gruppe (**112**) sowie die *N*-Cyclopropylcarbonyl-Gruppe (**113**).

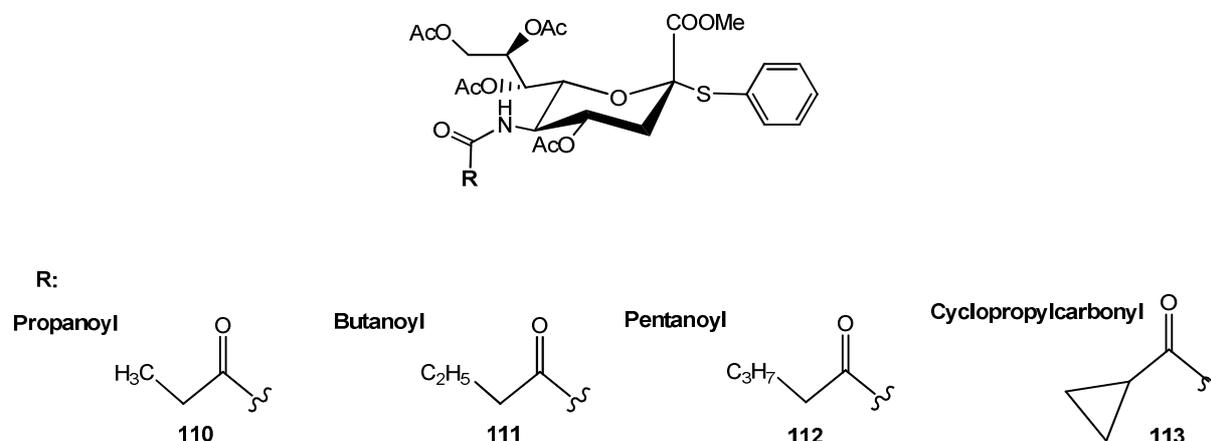


Abbildung 77: Gewünschte Modifikationen

Um Modifikationen an der Aminofunktion einführen zu können, ist die Spaltung der Acetylgruppe unabdingbar. Allerdings resultiert daraus das freie Amin, welches in der offenkettigen Form der Neuraminsäure die Ketofunktion an C2 angreifen würde. Unter Wasserabspaltung bildet sich ein äußerst stabiler Fünfring, eine Schiff'sche Base **114** (Abbildung 78).^[102]

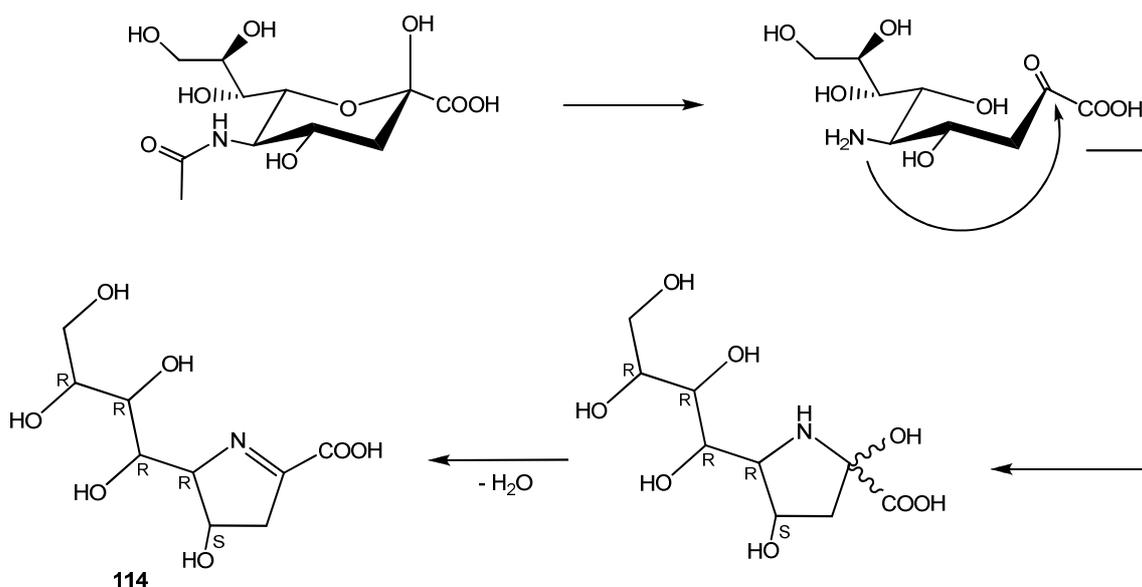


Abbildung 78: Schema zur Bildung der Schiff'schen Base **114** bei freiem Amin der Neuraminsäure

Zur Vermeidung dieser Reaktion soll die Ringöffnung durch eine glycosidische Schutzgruppe verhindert werden. Diese muss sowohl stark basischen als auch stark sauren Bedingungen standhalten, weshalb O-Glycoside aufgrund ihrer Säurelabilität nicht in Frage kommen. Gleichzeitig muss sich die Schutzgruppe nach vollzogener Modifizierung selektiv abspalten lassen.

Aus vorherigen Arbeiten war bekannt, dass sich Thioglycoside deshalb besonders gut eignen.^[103] Sie erfüllen die Anforderung der Stabilität unter sauren und basischen Bedingungen und lassen sich innerhalb kurzer Zeit durch NBS in Aceton mit Wasser abspalten.^[104] Der Schwefel in Thioglycosiden ist ein weiches Nucleophil und reagiert daher selektiv mit weichen Elektrophilen wie Schwermetallkationen und Halogenen. Sauerstoffatome in Kohlenhydraten stellen dagegen harte Nucleophile dar und können daher selektiv neben dem Schwefel funktionalisiert werden.^[105]

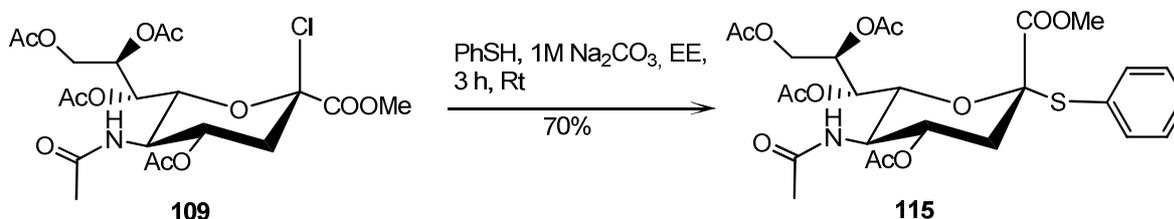


Abbildung 79: Reaktionsschema zur Darstellung des Thiophenylglycosids der Neuraminsäure **115**

Die Darstellung des Thioglycosids **115** gelang wiederum durch Reaktion des peracetylierten Neuraminsäure-Chlorids **109**. Dieses wurde mit Thiophenol umgesetzt, wodurch das Thiophenylglycosid **115** entstand.^[100,106] Das Chlorid wurde dabei in einer phasentransferkatalysierten Glycosylierung unter anomerer Inversion gegen das Thiophenol ausgetauscht. Aus diesem Grund entsteht aus 1,2-*cis* acetylierten Glycosylhalogeniden das 1,2-*trans* Thioglycosid. Als Zwei-Phasen-System wurde Ethylacetat/Wasser verwendet, wobei Tetra-*n*-butylammoniumhydrogensulfat als Phasentransferkatalysator diente. Die Verbindung **115** konnte in einer Ausbeute von 70% dargestellt werden. Die vergleichsweise geringe Ausbeute dieser phasentransferkatalysierten Reaktion lässt sich durch die Bildung des Glycals der Neuraminsäure **116** (siehe Abbildung 80) erklären, die bei basisch katalysierten Reaktionen von Neuraminsäurehalogeniden durch Eliminierung des axialen Protons an C3 und konzertierter Eliminierung des Chlorids an C2 unter basischen Bedingungen immer zu finden ist.^[107]

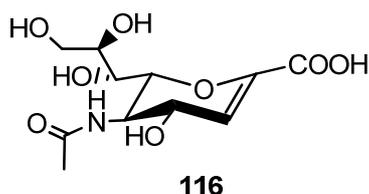


Abbildung 80: Glycal der Neuraminsäure **116**

Das nach vollständiger Entschützung der Neuraminsäure erhaltene freie Amin sollte ohne Isolierung in einer Eintopfreaktion direkt zur Modifizierung verwendet werden. Sollte die vollständige Entschützung beziehungsweise die anschließende Reaktion zum modifizierten Derivat nicht vollständig verlaufen, würde das Edukt erhalten werden. Dieses sollte im Vergleich zu den verwendeten Modifikationen eine geringere Polarität aufweisen, weshalb eine säulenchromatographische Trennung möglich sein sollte.

Zur vollständigen Deacetylierung des Thioglycosids **115** wurde dieses in Methanol gelöst und mit 9.0 Äquivalenten Methansulfonsäure versetzt. Es wurde für 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt und die Bildung des freien Amins dünschichtchromatographisch durch Ansprühen mit Ninhydrin-Lösung detektiert. Bei längeren Reaktionszeiten ging die Konzentration des Amins zurück und es kam zur Bildung von Zersetzungsprodukten. Daher wurde nach 24 Stunden auf Raumtemperatur abgekühlt und durch Zugabe von Triethylamin neutralisiert. Durch

weitere Zugabe von Triethylamin wurden die für die Acylierung notwendigen basischen Bedingungen geschaffen. Die Modifizierung konnte durch die Verwendung der jeweiligen kommerziell erhältlichen Anhydride erfolgen. Lediglich das Anhydrid der Cyclopropylcarbonyl-Modifikation wurde aus Cyclopropane Säurechlorid mit TBA-Br und 20%-iger NaOH in einer phasentransferkatalysierten Synthese hergestellt und konnte in einer Ausbeute von 39% erhalten werden.

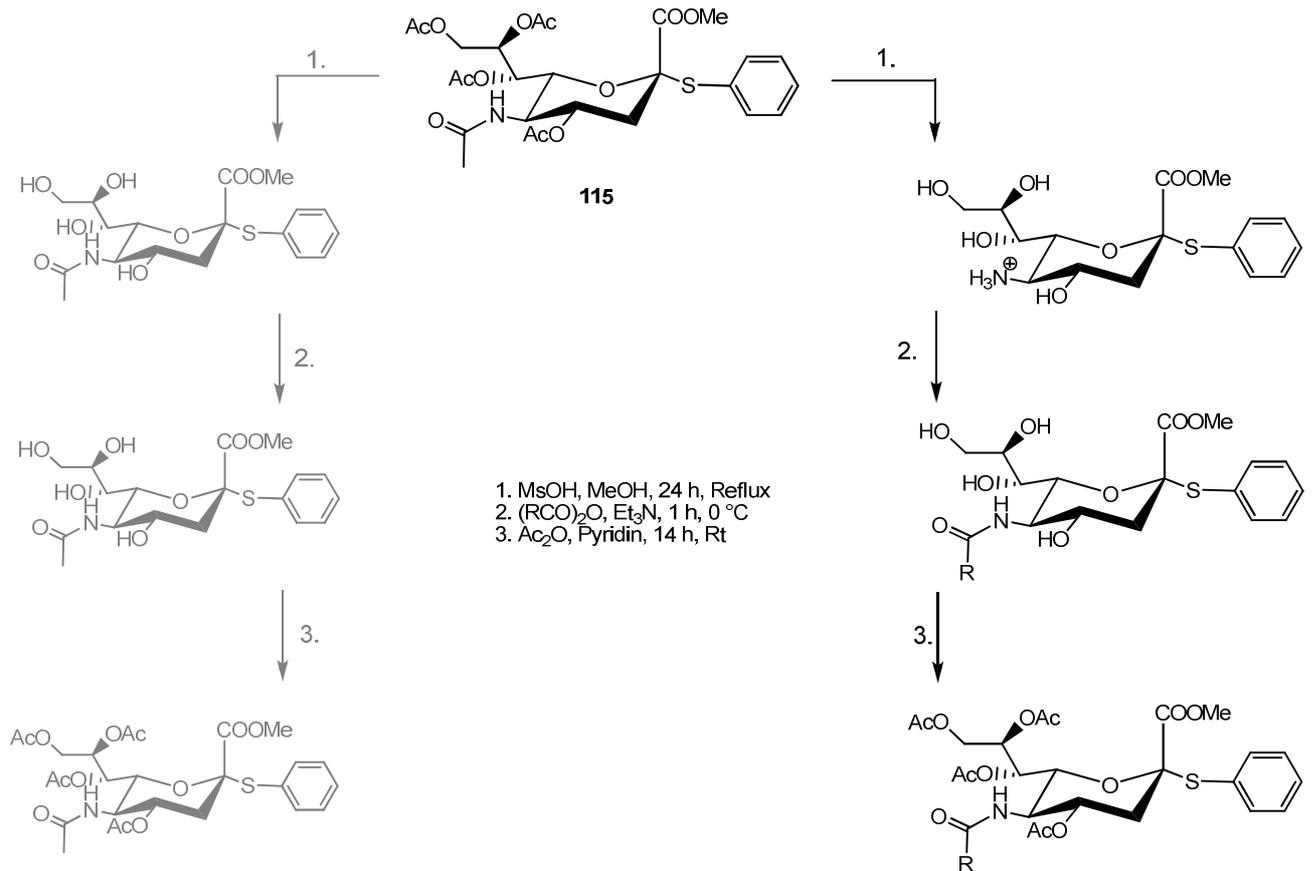


Abbildung 81: Übersicht zur Einführung der Modifikationen an der Neuraminsäure

Zur Erhöhung der Selektivität und zur Vermeidung einer vorzeitigen Veresterung des Acylierungsmittels mit dem alkoholischen Lösungsmittel, wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und anschließend mit 2.0 Äquivalenten des jeweiligen Anhydrids versetzt. Nach vollständiger Umsetzung des Amins wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Essigsäureanhydrid in Pyridin peracetyliert. Die Ausbeuten lagen nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung bei bis zu 77% (Abbildung 81).

Um die für die anschließende Kupplungsreaktion benötigte Hydroxyfunktion an C2 zurückzugewinnen, wurden die Thioglycoside **117-120** nach erfolgreicher Modifizierung und Säulenchromatographie wieder gespalten. Dieses gelang durch Reaktion mit 2.3 Äquivalenten NBS in einem Gemisch aus Aceton und Wasser im Verhältnis 20:1. Die modifizierten Neuraminsäure-Derivate **121-124** konnten in Ausbeuten zwischen 30% und 83% erhalten werden.^[104] Diese Ausbeuten stellen nicht durchweg gute Ergebnisse dar, allerdings wurde jede Synthese lediglich einmal durchgeführt und ist somit nicht repräsentativ.

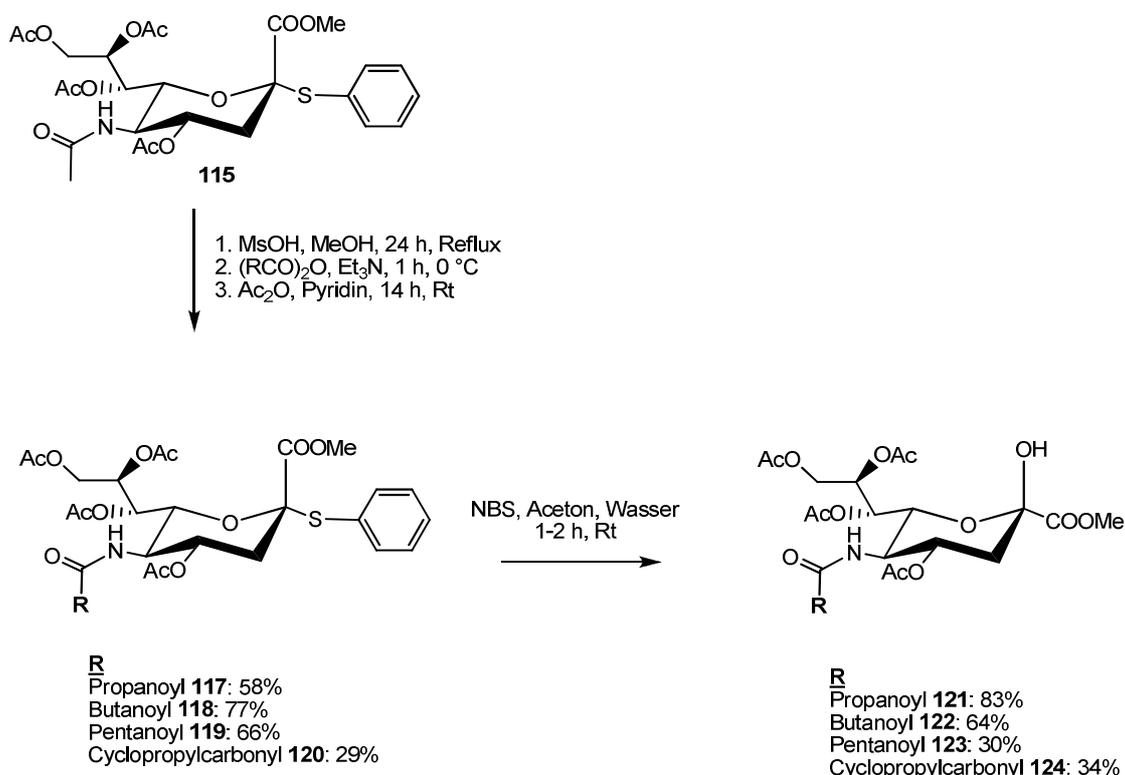


Abbildung 82: Syntheschema zur Darstellung der modifizierten Neuraminsäure-Derivate

Abbildung 83 zeigt das ¹H-NMR-Spektrum der 2-OH-freien *N*-propanoyl-modifizierten Neuraminsäure **121**. Auch die anderen modifizierten Derivate konnten in reiner Form erhalten werden und somit als Nucleophile in der anschließenden Kupplungsreaktion eingesetzt werden.

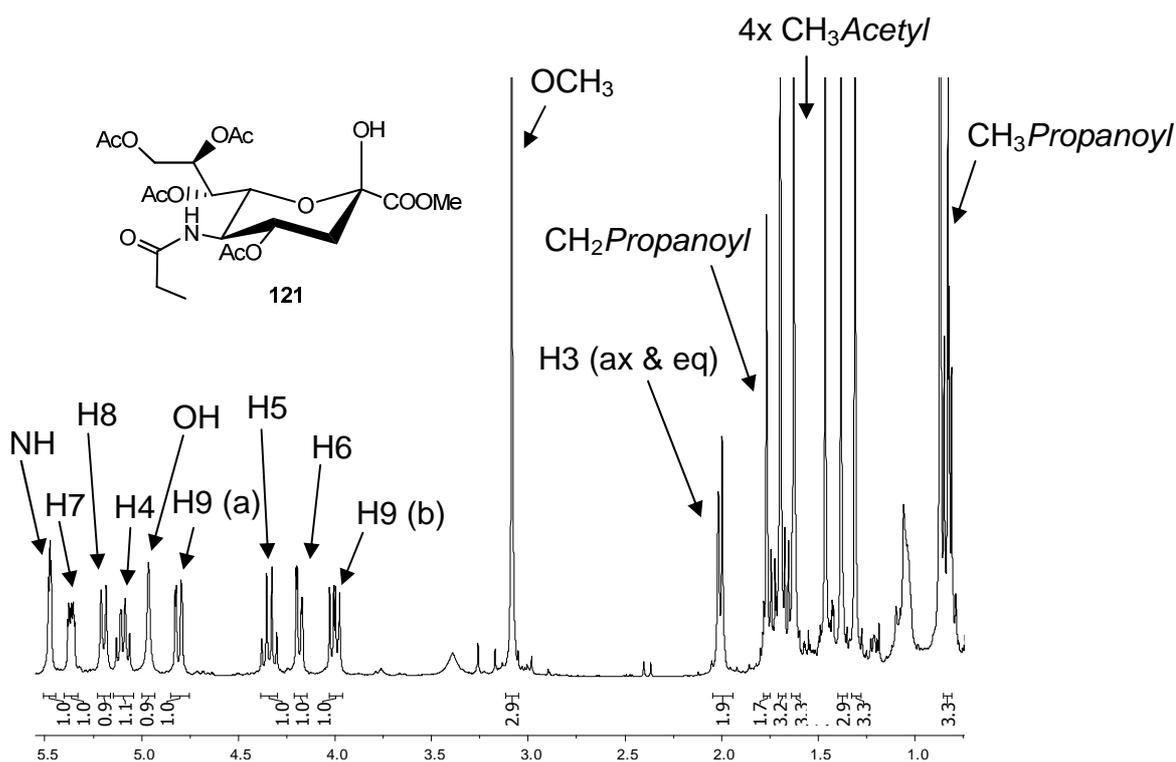


Abbildung 83: ¹H-NMR-Spektrum des Methyl-5-*N*-propanoyl-4,7,8,9-tetra-*O*Ac-3,5-dideoxy-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylat **121**

Im vorangegangenen Abschnitt wurden zunächst die Synthesen zur Darstellung der *cycloSal*-Nucleotide und im weiteren Verlauf die Synthesen zur Darstellung der verschiedenen Nucleophile beschrieben. Es lagen folglich die beiden Bausteine vor, die für die anschließenden Kupplungsreaktionen benötigt wurden. Im Folgenden werden die Synthesen der verschiedenen Zielverbindungen beschrieben.

4.4 Synthese der Nucleosid Diphosphat Pyranosen

Wie bereits erläutert wurde das *cycloSal*-Konzept ursprünglich als Prodrug-System zur intrazellulären Freisetzung von Nucleosidmonophosphaten entwickelt.^[48] Da diese Freisetzung lediglich aus dem Angriff eines Nucleophils - OH⁻ - resultiert und somit nicht auf einer enzymatischen Aktivierung basiert, kann diese Methode auch zur Darstellung von Nucleosidmonophosphaten im Labormaßstab herangezogen werden.

4.4.1 Synthese der natürlich vorkommenden NDP-Pyranosen

Silke Wendicke führte die Synthese der NDP-Pyranosen in ihrer Dissertation erstmals mit Hilfe eines *cycloSal*-aktivierten Nucleosidmonophosphats und einem Glycosyl-Phosphat durch.^[32,33] Dabei wurden die Synthesen sowohl in Pyridin als auch in *N,N*-Dimethylformamid durchgeführt. Es stellte sich heraus, dass Pyridin eine Nebenreaktion mit dem *cycloSal*-Triester eingeht, die zur Bildung eines unreaktiven Phosphatdiesters führt. Die Reaktion wurde dementsprechend in *N,N*-Dimethylformamid bei 50 °C und mit einem Überschuss von 1.2 Äquivalenten des jeweiligen Pyranosyl-Phosphats durchgeführt, die zu dem vorgelegten Triester getropft wurden. Die Reaktionszeit betrug lediglich 3 bis 5 Stunden. Da kein Einfluss des Gegenions auf die Ausbeute festgestellt werden konnte, wurden die NDP-Zucker weiterhin als Triethylammoniumsalze synthetisiert, um eine möglichst einfache Isolierung zu gewährleisten. Es wurden standardmäßig Acetylgruppen als Schutzgruppen für *cycloSal*-Triester und Pyranosyl-Phosphat verwendet, da sich diese nach der Synthese leicht gemeinsam abspalten lassen. Die anschließende Isolierung der stark polaren Produkte gelang durch Umkehrphasenchromatographie an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent. Die Ausbeuten der Kupplungsreaktionen mit anschließender Deacetylierung bewegten sich um 50%.

Es konnte damit gezeigt werden, dass die Synthese der NDP-Pyranosen mit *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierte Schlüsselbausteine eine zuverlässige, reproduzierbare Methode liefert. Um die Ausbeuten weiter zu steigern, wurde die Reaktionssequenz in eigenen Vorarbeiten optimiert. Daraus ergab sich folgendes Syntheseprotokoll^[53], welches auch in dieser Arbeit Anwendung gefunden hat:

Die Reaktionen wurden weiterhin unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Allerdings wurden 2.0 Äquivalente des jeweiligen acetylgeschützten Pyranosyl-Phosphats in Form des Triethylammoniumsalzes eingesetzt. Aufgrund der stark hygroskopischen Eigenschaften der Pyranosyl-Phosphate wurden diese zuvor mehrere Stunden im Vakuum getrocknet. Nach dem Lösen in absolutem *N,N*-Dimethylformamid wurde für 1 Stunde über aktiviertem Molekularsieb 4Å stehen gelassen, um Reste an Feuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wurde 1.0 Äquivalent des *cycloSal*-Nucleosidmonophosphats, ebenfalls gelöst in absolutem *N,N*-Dimethylformamid, langsam zu der Lösung des Pyranosyl-Phosphats getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur gerührt und der Umsatz dünnschichtchromatographisch verfolgt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1). Nach vollständiger Umsetzung des Triesters - nach 18 bis 26 Stunden - wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde zur Abspaltung der Schutzgruppen in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Gefriertrocknung wurde das Rohprodukt mittels Umkehrphasenchromatographie an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 M Ammoniumacetat-Lösung (2:1). Durch nachfolgende Gefriertrocknung wurden die reinen Produkte als farblose Feststoffe erhalten.

Diese neuen Synthesebedingungen wurden in eigenen Vorarbeiten zunächst an einigen natürlich vorkommenden Zuckerphosphaten getestet. Hierfür wurde das 5-Nitro-*cycloSal*-*N*⁴-Ac-2',3'-di-OAc-Cytidinmonophosphat **51** verwendet, wodurch CDP-Glycopyranosen synthetisiert werden konnten. Es konnte eine deutliche Steigerung der Ausbeuten erzielt werden, welche bei 67 - 86% lagen.^[108]

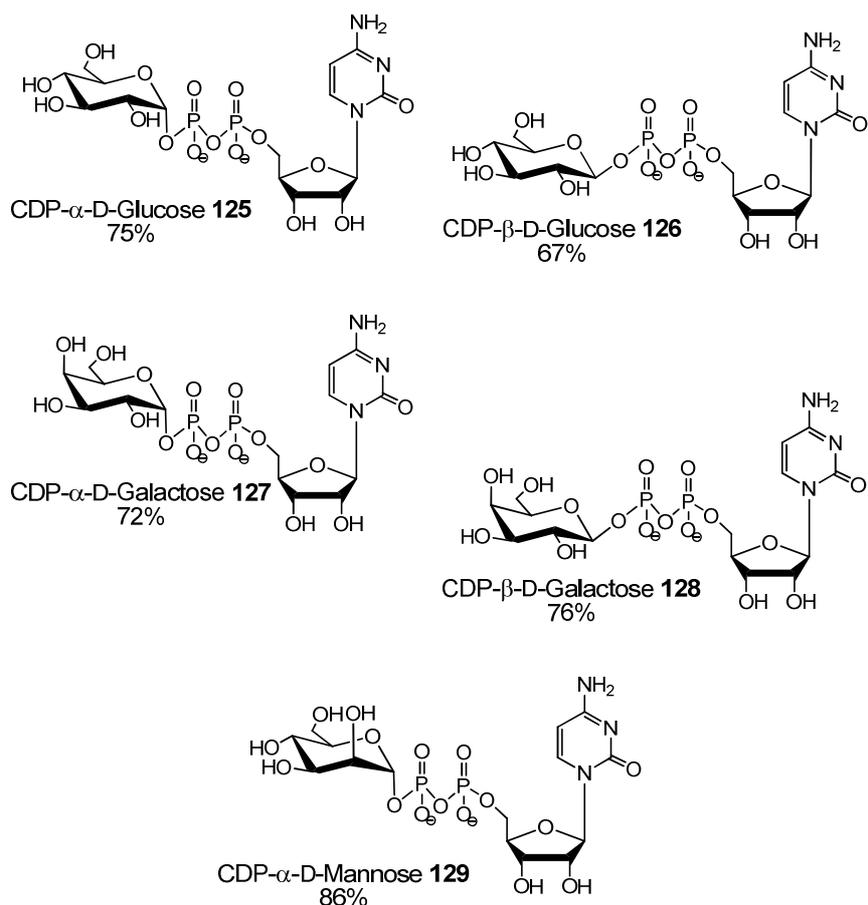


Abbildung 84: Cytidin-Derivate einiger natürlich vorkommender NDP-Pyranosen

Zu Beginn dieser Arbeit wurden die Kupplungsbedingungen auf weitere, natürlich vorkommende Zuckerphosphate angewendet, um die Darstellung der Cytidin-Derivate zu vervollständigen. Um aufzuzeigen, dass diese Bedingungen auch auf andere, natürliche Nucleoside übertragen werden können, bei denen es sich nicht um Pyrimidinnucleoside handelt, sollten ebenfalls die Adenosin-Derivate - als Vertreter für Purinnucleoside - dargestellt werden.

Die Synthesen wurden allesamt nach dem zuvor beschriebenen Syntheseprotokoll durchgeführt. Die gewünschten NDP-Pyranosen konnten dadurch in zum Teil sehr guten Ausbeuten von bis zu 88% dargestellt werden.^[109]

Die natürlich vorkommenden NDP-Pyranosen sind in den Abbildungen 84 (C-Derivate) und 85 (A-Derivate) mit den erzielten Ausbeuten abgebildet.

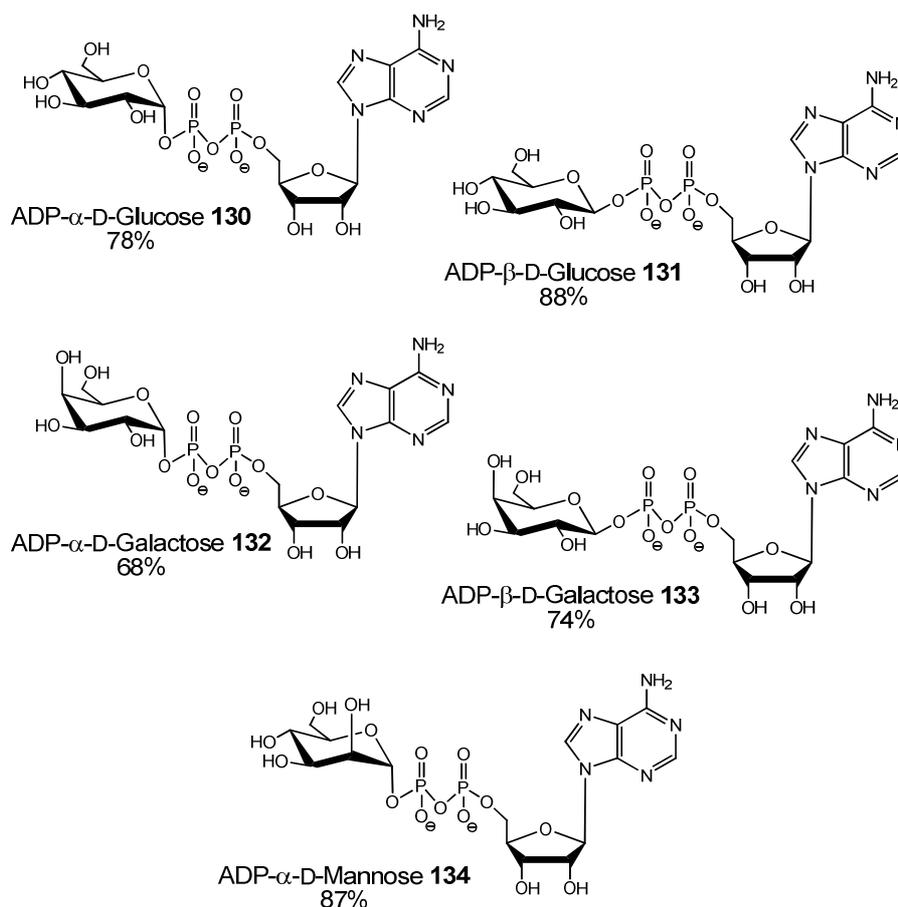


Abbildung 85: Adenosin-Derivate einiger natürlich vorkommender NDP-Pyranosen

Nachdem die Isolierung der NDP-Zucker durch Umkehrphasenchromatographie gelang, sollten sie durch sorgfältige Analytik charakterisiert werden. Der Nachweis, dass es sich bei den synthetisierten Verbindungen tatsächlich um Zuckernucleotide handelt, wurde zunächst mit Hilfe von NMR-spektroskopischen Methoden in deuteriertem Wasser gegeben.

Im Folgenden werden exemplarisch die Spektren von ADP- α -D-Mannose **134** abgebildet und erläutert.

Im protonenkoppelten ^{31}P -NMR-Spektrum zeigten alle Zuckernucleotide ein charakteristisches Bild aus zwei Signalen. Die beiden Phosphoratome erzeugen durch geminale Phosphorkopplung zwei Dubletts mit charakteristischen Kopplungskonstanten von $^2J_{\text{PP}} \sim 20$ Hz im Bereich von -10 bis -13 ppm.

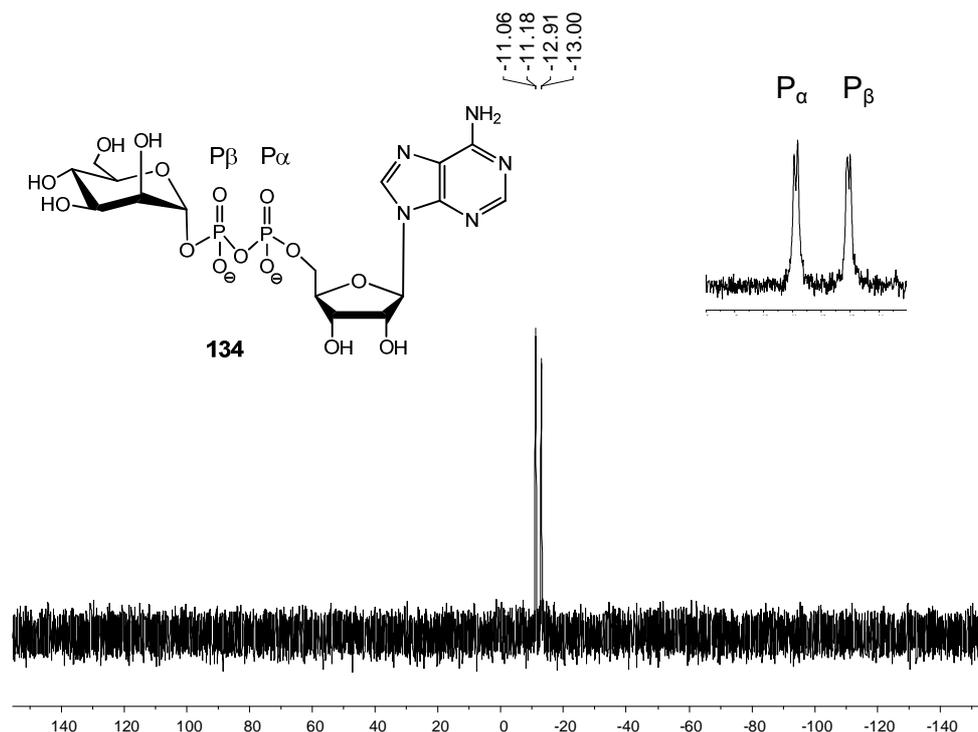


Abbildung 86: ^{31}P -NMR-Spektrum der ADP- α -D-Mannose **134**

In den Abbildungen 87 und 88 sind das ^1H -NMR- und das ^{13}C -NMR-Spektrum von ADP- α -D-Mannose **134** gezeigt.

Das ^1H -NMR-Spektrum liefert einen Signalsatz mit sieben Protonen, die der α -D-Mannose zu zuordnen sind und einen Signalsatz mit acht Protonen des Adenosins. Es ist zu erkennen, dass durch die Chromatographie an RP-18 Kieselgel ein Austausch der Triethylammonium-Gegenionen stattgefunden haben muss. Es wird davon ausgegangen, dass dieser Austausch gegen Natrium- bzw. Kalium-Gegenionen vollzogen worden ist, die im ^1H -NMR-Spektrum nicht sichtbar sind.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind die typischen Dubletts zu erkennen, die sich aus den Kopplungen der Kohlenstoffatome des Zuckers (C1, C2) und des Nucleosids (C4', C5') mit den Phosphoratomen ergeben.

Neben den NMR-spektroskopischen Untersuchungen diente die Massenspektrometrie zur Charakterisierung der NDP-Zucker. Die polaren Zuckernucleotide benötigen sehr schonende Ionisierungsmethoden, sodass z. B. die Elektronensprayionisation (ESI) im Negativmodus geeignet ist.

Durch diese analytischen Untersuchungen konnten die synthetisierten Nucleosiddiphosphatpyranosen eindeutig charakterisiert werden.

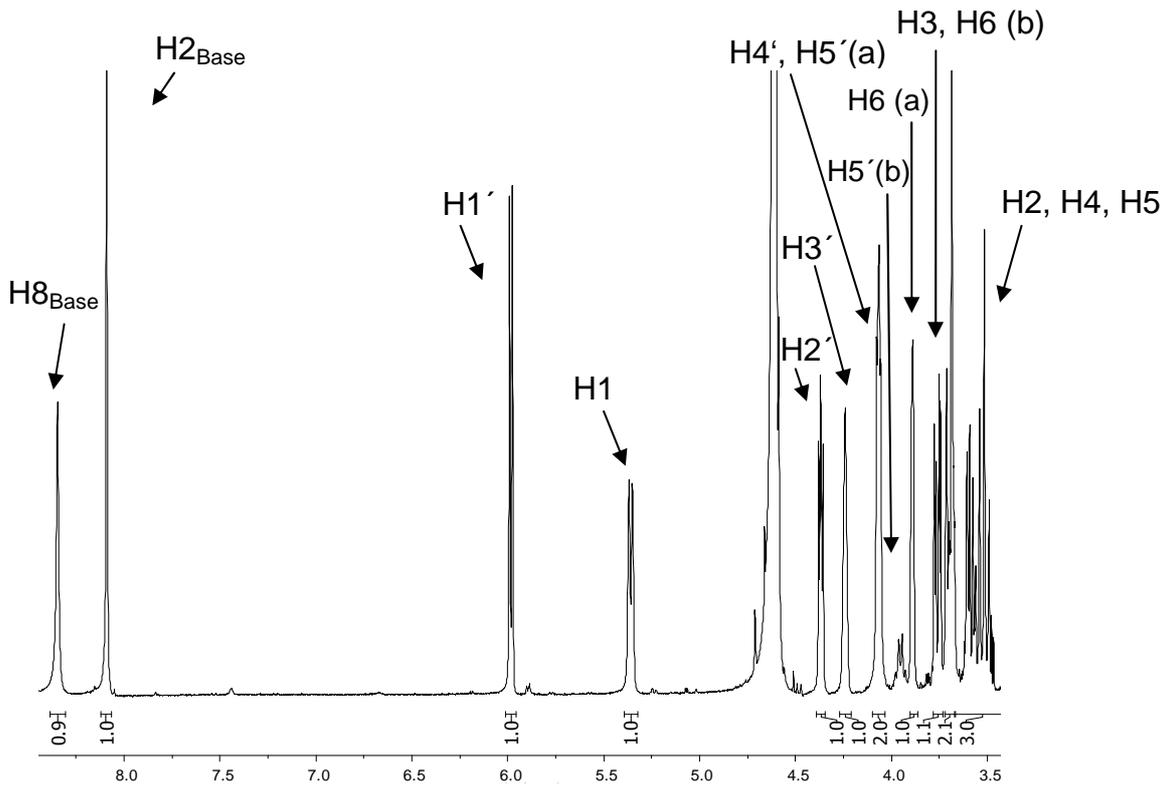


Abbildung 87: ^1H -NMR-Spektrum der ADP- α -D-Mannose 134

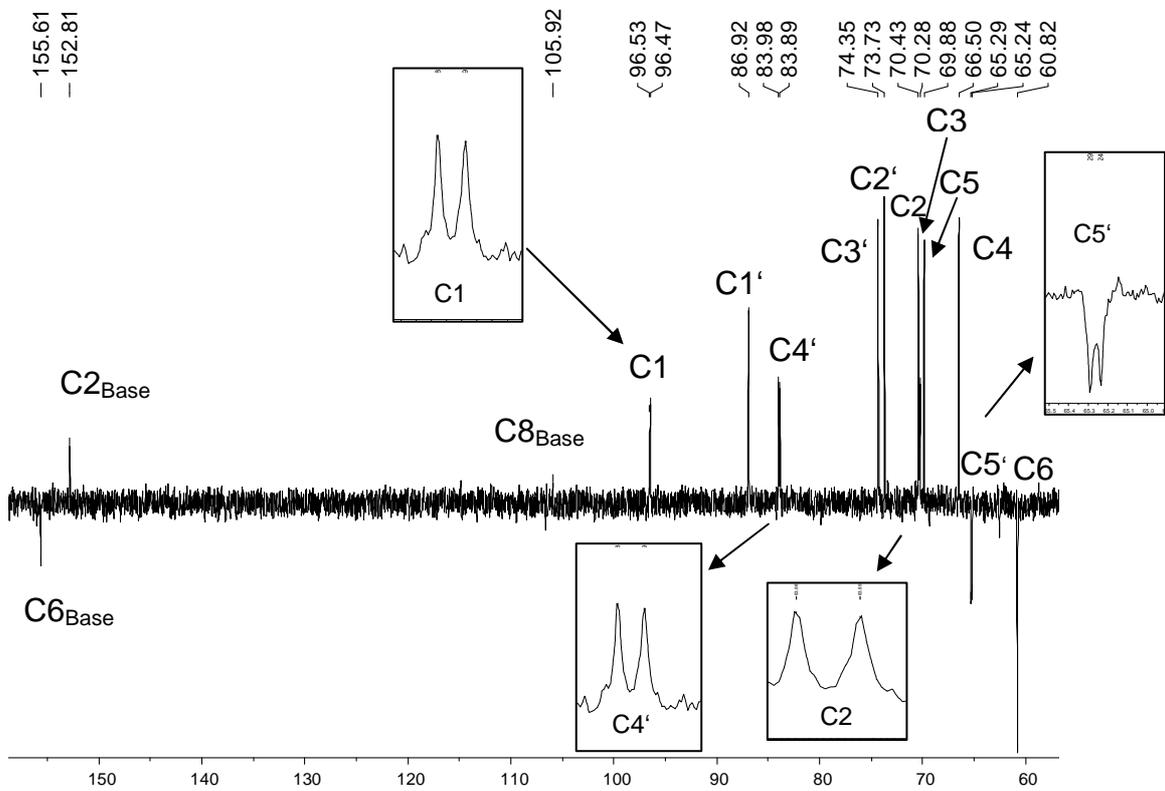


Abbildung 88: ^{13}C -NMR-Spektrum der ADP- α -D-Mannose 134

4.4.2 Synthese der modifizierten NDP-Pyranosen

Nach der erfolgreichen Darstellung der Cytidin- und Adenosin-Derivate der natürlich vorkommenden NDP-Pyranosen, sollten modifizierte Zuckernucleotide synthetisiert werden. Dieses sollte aus zwei Gründen erfolgen: Zum einen sollte durch die Umsetzung modifizierter Bausteine eine allgemeingültige Anwendbarkeit der Methode gezeigt werden. Zum anderen verspricht der Einsatz modifizierter Zuckernucleotide interessante biologische Anwendungsbereiche.

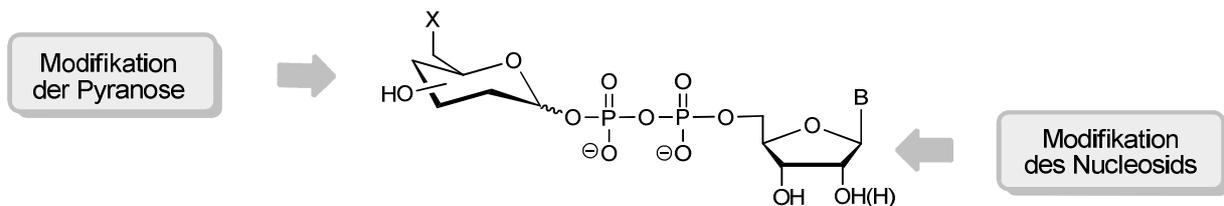


Abbildung 89: Modifizierte NDP-Pyranosen

Bei dem Einsatz von Nucleosidanaloga ist es von besonderem Interesse zu sehen, in welcher Weise der Enzym-Substrat-Komplex in die Biosynthese von Oligosacchariden involviert ist. Hierbei kann untersucht werden, ob die selektive Bindung der NDP-Pyranose durch eine Glycosyltransferase durch Modifikationen am Heterocyclus oder durch Modifikationen an der Zucker-Einheit des Nucleosids beeinflusst wird. Durch die Darstellung von NDP-Pyranosen, die ihre Modifikation an der Pyranose tragen, ergibt sich die Möglichkeit der gezielten Markierung. Diese Markierung kann beispielsweise fluoreszenzbasiert sein oder auf der Verwendung von radioaktiven Gruppen beruhen. Wenn es nun zu einem Übertrag auf die Oligosaccharid-Kette kommt, wird die modifizierte Pyranose im idealen Fall in diesen Strang eingebaut, wodurch sich zahlreiche Anwendungen ergeben. Allerdings kann es auch vorkommen, dass die Glycosyltransferase, die für die Verlängerung der wachsenden Oligosaccharid-Kette verantwortlich ist, das modifizierte Zuckernucleotid nicht erkennt bzw. umsetzt, wodurch es zu einer Inhibition der Verlängerung kommen könnte.

Aufgrund der Vielzahl an Möglichkeiten, die sich aus der Verwendung von modifizierten NDP-Pyranosen ergeben, sollten im Rahmen dieser Arbeit einige Modifikationen - sowohl am Nucleosid, wie auch an der Pyranose - Anwendung finden.

4.4.2.1 Synthese der NDP-Pyranosen mit modifiziertem Nucleosid

Für die Darstellung der NDP-Pyranosen mit modifiziertem Nucleosid wurden die im Vorfeld synthetisierten *cycloSal*-Triester **58-62** (siehe Abschnitt 4.2.3, Seite 31-36) verwendet. Die dabei verwendeten Nucleosidanaloga sind AZT **32**, d4T **31**, ddT **55**, *isoddA* **53** und *carba-isoddA* **54**. Bei diesen Nucleosidanaloga handelt es sich um Verbindungen, denen die 3'-Hydroxygruppe fehlt. Mit dem carbocyclischen Nucleosidanalogon *carba-isoddA* **54** wurde zudem ein Derivat verwendet, bei dem der Ringsauerstoff durch eine Methylengruppe ersetzt ist. Bei den Kupplungsreaktionen sollte überprüft werden, ob die Modifikationen einen Einfluss auf den Erfolg der Reaktion haben und das Syntheseprotokoll gegebenenfalls angepasst werden muss.

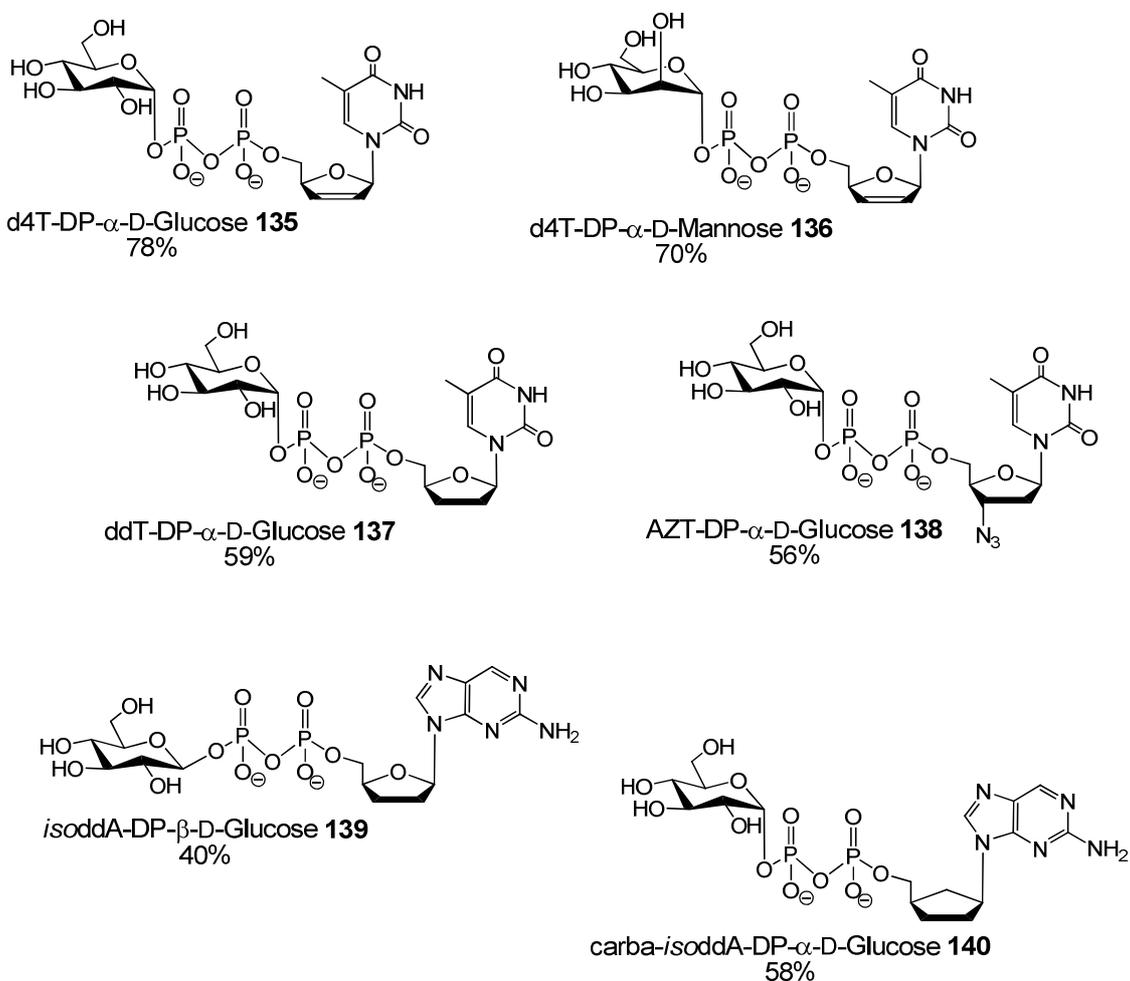


Abbildung 90: NDP-Pyranosen mit modifiziertem Nucleosid

Die aus den modifizierten Nucleosiden resultierenden *cycloSal*-Verbindungen **58-62** wurden nach gängigem Syntheseprotokoll mit Glycosyl-Phosphaten umgesetzt, wodurch die α - bzw. β -Anomere der NDP-Pyranosen **135-140** synthetisiert werden konnten (Abbildung 89). Die Darstellung gelang für alle Verbindungen, wobei sich die Ausbeuten für die d4T-DP-Pyranosen **135** und **136** im gleichen Bereich bewegten, wie für die unmodifizierten Derivate. Für die anderen Nucleosidanaloga wurden allerdings niedrigere Ausbeuten erzielt, was an der geringfügig schlechteren Qualität der *cycloSal*-Verbindungen liegen könnte.^[110]

In den folgenden Abbildungen sind die ^{31}P -NMR- und ^1H -NMR-Spektren für d4T-DP- α -D-Glucose **135** gezeigt. Es ist zu erkennen, dass auch diese Zielverbindungen in guter Reinheit erhalten werden konnten.

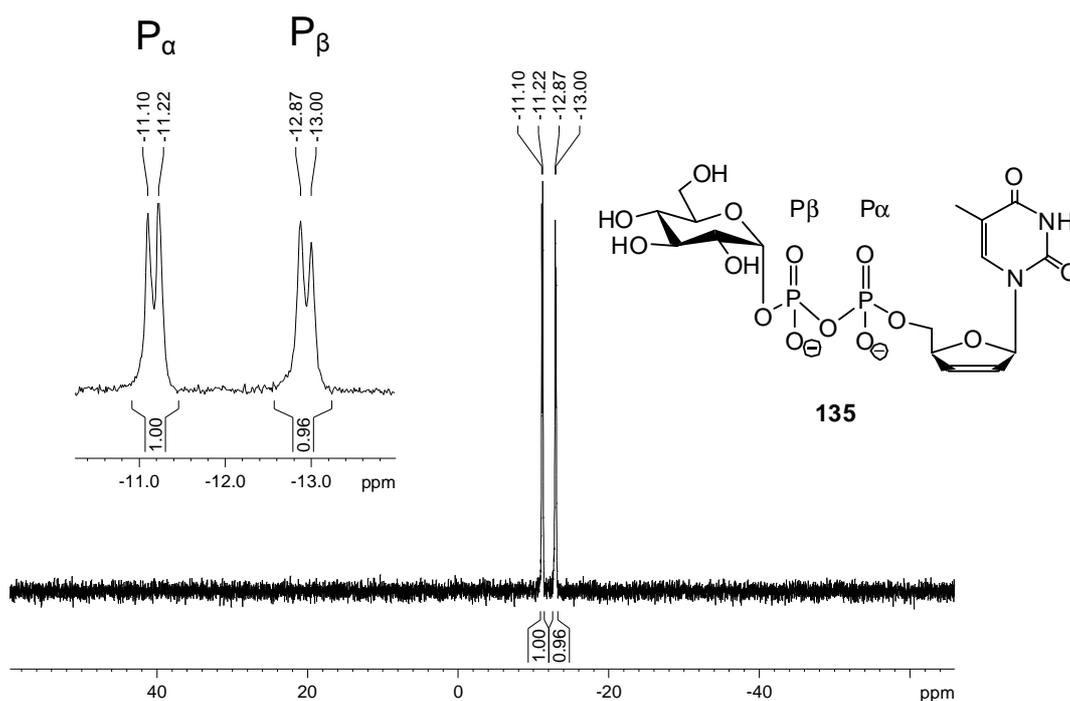


Abbildung 91: ^{31}P -NMR-Spektrum der d4T-DP- α -D-Glucose **135**

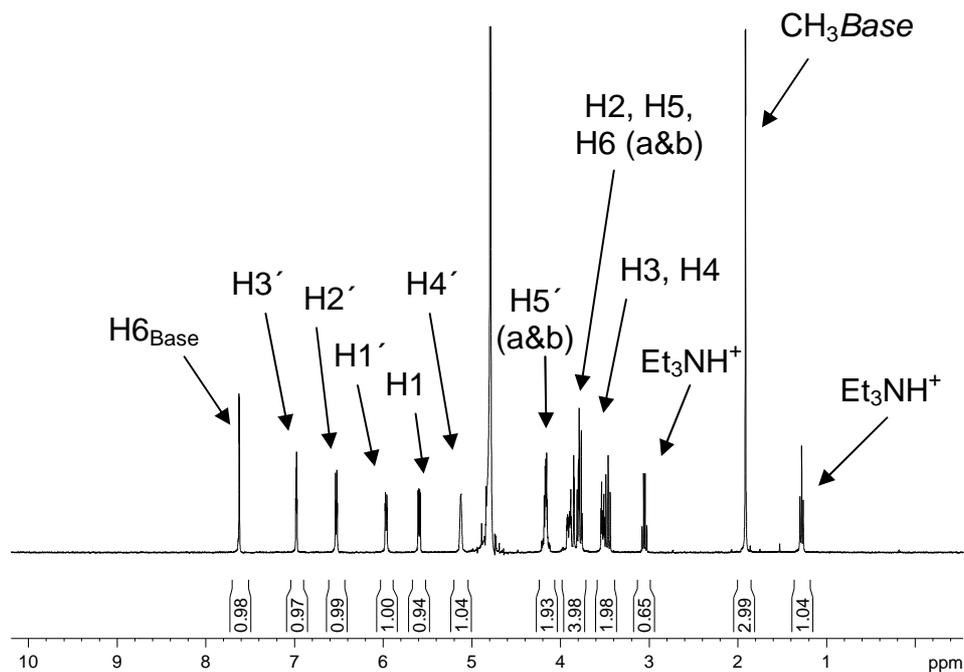


Abbildung 92: ^1H -NMR-Spektrum der d4T-DP- α -D-Glucose **135**

4.4.2.2 Synthese der NDP-Pyranosen mit modifizierter Pyranose

Für die Darstellung der NDP-Pyranosen mit modifizierter Pyranose wurden die in Abschnitt 4.3.1.2 (Seite 47-62) synthetisierten Nucleophile verwendet.

Zunächst wurde L-Galactose- β -Phosphat **77** verwendet. Dabei handelt es sich um eine geringe Modifikation, bestehend aus einem L-konfigurierten Pyranosyl-Phosphat.

Bei der Verwendung der an der 2-Position fluorierten Pyranosyl-Phosphate **90-92** als Derivate der Glucose **2**, der Galactose **5** und der Mannose **6**, sollte zunächst die allgemeingültige Anwendbarkeit gezeigt werden. Darüber hinaus wurden die Verbindungen an einen Kooperationspartner für die Verwendung in biochemischen Tests übersendet.

Zur Darstellung der UDP- α -D-Sulfoquinovose **141** wurde das in der Arbeitsgruppe um Schmidt *et al.* synthetisierte 6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **100** verwendet. Gerade bei diesem Pyranosyl-Phosphat war es interessant zu sehen, ob die zusätzliche negative Ladung der Sulfonatgruppe eine Anpassung des Syntheseprotokolls erfordert. Zudem sollte der Einfluss des Cyclohexylammonium-Gegenionens in Bezug auf Umsatz und Chromatographie untersucht werden.

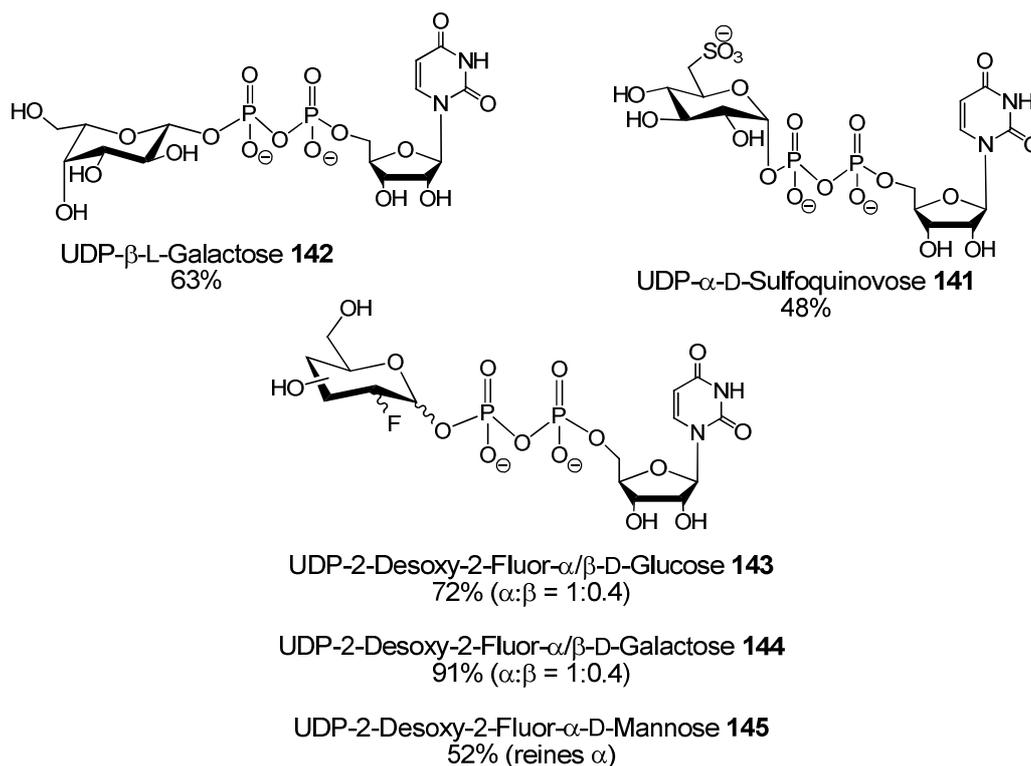


Abbildung 93: NDP-Pyranosen mit modifizierter Pyranose

Die verschiedenen Kupplungsreaktionen der modifizierten Nucleophile mit *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten wurden nach üblichem Syntheseprotokoll durchgeführt und ergaben in allen Fällen die gewünschten Produkte.^[110]

Die UDP-β-L-Galactose **142** konnte dabei durch Kupplung des L-Galactose-β-Phosphats **77** mit dem 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphat **50** in einer Ausbeute von 63% erhalten werden. Im Vergleich zu den D-konfigurierten Zuckernucleotiden der β-Galactose mit den Nucleosiden Cytidin und Adenosin, die in Ausbeuten von 76% und 74% erhalten werden konnten, liegt die Ausbeute zwar leicht darunter, aber alle bewegen sich in einem ähnlichen Bereich.

Die Synthese der fluorierten NDP-Pyranosen gelang durch Umsetzung der fluorierten Pyranosyl-Phosphate **90-92** mit Verbindung **50**. Die Derivate der Glucose und der Galactose wurden als Anomerengemische erhalten, da die Phosphate der fluorierten Glucose und Galactose leider ebenfalls nur als Anomerengemische vorlagen. Das jeweilige α/β -Verhältnis der eingesetzten Phosphate blieb dabei in den Zuckernucleotide bestehen. Die Ausbeuten für das Glucose-Derivat **143** und das Galactose-Derivate **144** waren mit 72% und 91% sehr gut. Dagegen fiel das Mannose-Derivat **145** mit lediglich 52% stark ab. Allerdings konnte in diesem Fall aufgrund der axial-stehenden Hydroxygruppe an der 2-Position das reine α -Phosphat

synthetisiert werden. Darauffolgend konnte auch die anomenreine Zielverbindung erhalten werden.

Die Kupplungsreaktion des 6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat **100** mit 5-Nitro-cycloSal-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphat **50** gelang lediglich in einer moderaten Ausbeute von 48%. Ein Grund hierfür ist neben der zusätzlichen negativen Ladung an der 6-Position sicherlich die schlechte Löslichkeit des eingesetzten Pyranosyl-Phosphats. Aufgrund der freien Hydroxygruppen an den Positionen 2, 3 und 4 weist diese Verbindung eine hohe Polarität auf und war nur bedingt in *N,N*-Dimethylformamid löslich. Während der Umkehrphasenchromatographie an RP-18 Kieselgel konnten keine Unterschiede im Elutionsverhalten aufgrund der unüblichen Cyclohexylammonium-Gegenionen festgestellt werden.

Im Folgenden sind die ^{31}P -NMR- und ^1H -NMR-Spektren für UDP- α -D-Sulfoquinovose **141** gezeigt. Die Zielverbindungen mit modifizierter Pyranose konnten in gleicher Weise mit akzeptabler Reinheit erhalten werden.

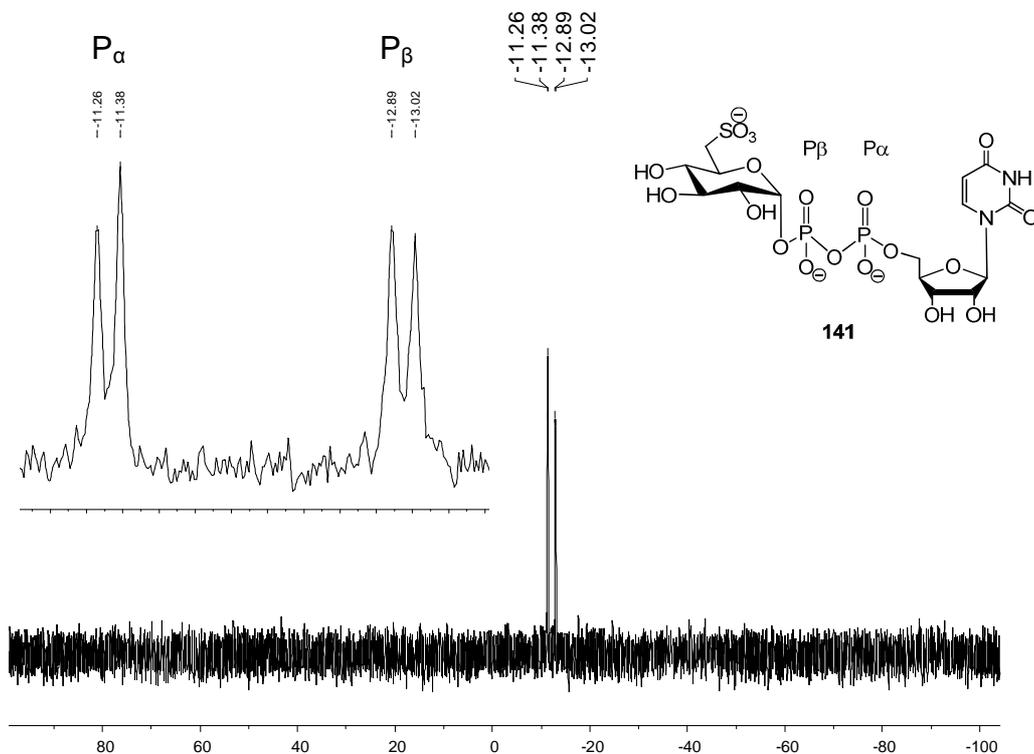


Abbildung 94: ^{31}P -NMR-Spektrum der UDP- α -D-Sulfoquinovose **141**

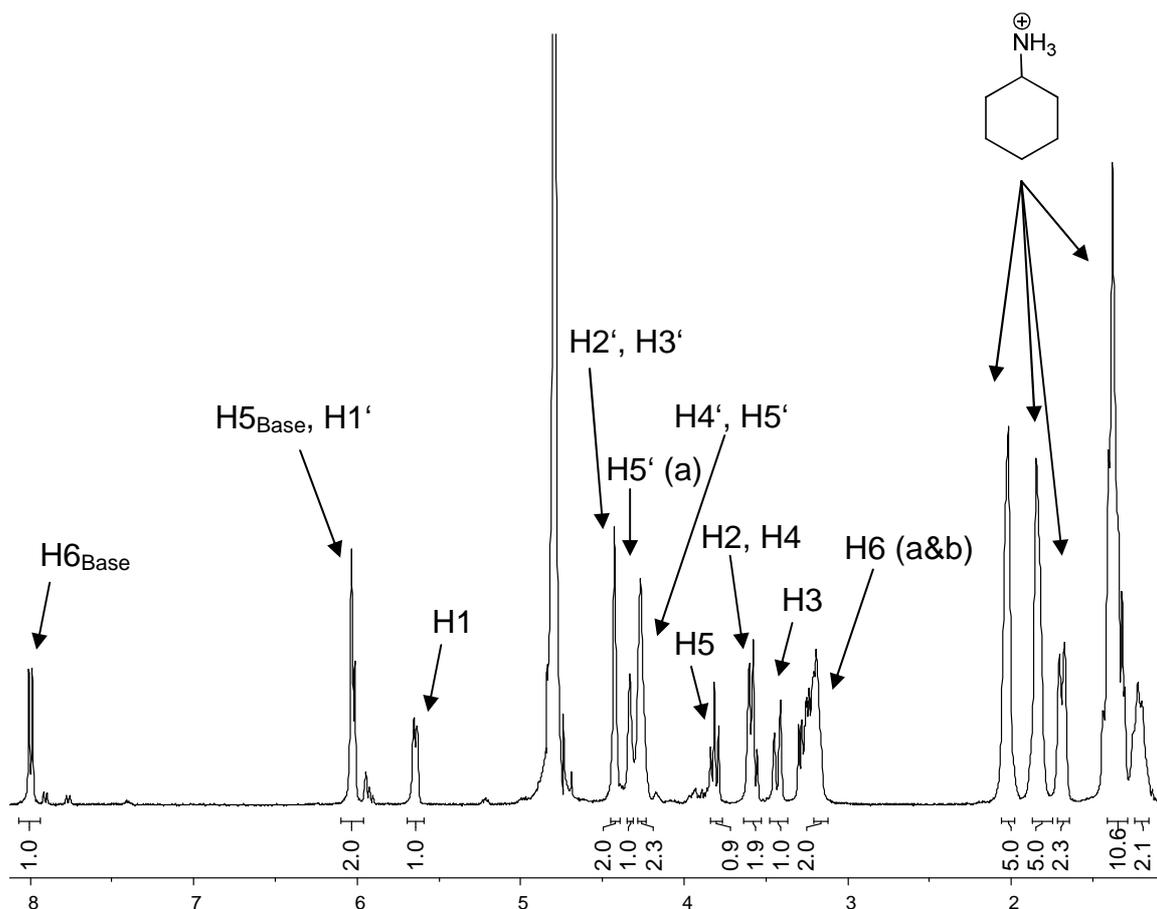


Abbildung 95: ^1H -NMR-Spektrum der UDP- α -D-Sulfoquinovose 141

Aus den in Abschnitt 4.4 beschriebenen Ergebnissen lässt sich ablesen, dass die Methode zur Darstellung von NDP-Pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden eine breite und allgemeingültige Anwendbarkeit besitzt. Es konnte gezeigt werden, dass sich neben den natürlichen Zuckernucleotiden verschiedene modifizierte Zielverbindungen synthetisieren lassen. Dabei bewegen sich die Ausbeuten meist im selben Bereich wie für die unmodifizierten Derivate und liegen nur in einigen Fällen unter den Erwartungen. Bei diesen Synthesen stellte weniger die abschließende Kupplung den limitierenden Faktor dar, als die Synthesen der separierten α - und β -Pyranosyl-Phosphate.

4.4.3 Modifizierung an NDP-Pyranosen

In den vorangegangenen Abschnitten wurden die Synthesen zur Darstellung modifizierter NDP-Pyranosen beschrieben, bei denen von einem bereits modifizierten Baustein ausgegangen wurde. In diesem Abschnitt soll nun zunächst ein unmodifiziertes Zuckernucleotid synthetisiert werden, welches erst im Anschluss modifiziert werden soll. Im Fall von modifizierten Bausteinen, die sich aufgrund ihrer Modifikation nicht als Nucleophil eignen, ergeben sich hieraus noch weitere Möglichkeiten der Modifizierung. Folglich können somit weitere Anwendungsgebiete erschlossen werden.

In Abschnitt 4.4.2.2 (Seite 80-83) wurde bereits die Synthese zur Darstellung der UDP- α -D-Sulfoquinovose **141** beschrieben. Um den Einfluss eines Sulfo-Substituenten mit dem Einfluss einer Sulfatgruppe vergleichen zu können, sollte zusätzlich die Sulfat-Gruppe in der 6-Position eingeführt werden. Hierzu wurde zunächst die UDP- α -D-Glucose **1** synthetisiert. Die Darstellung von Verbindung **1** wurde unter Anwendung des standardmäßig verwendeten Syntheseprotokolls durch Kupplung von 5-Nitro-*cyclo*Sal-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphat **50** mit α -D-Glucopyranosyl-Phosphat **71 α** erzielt.

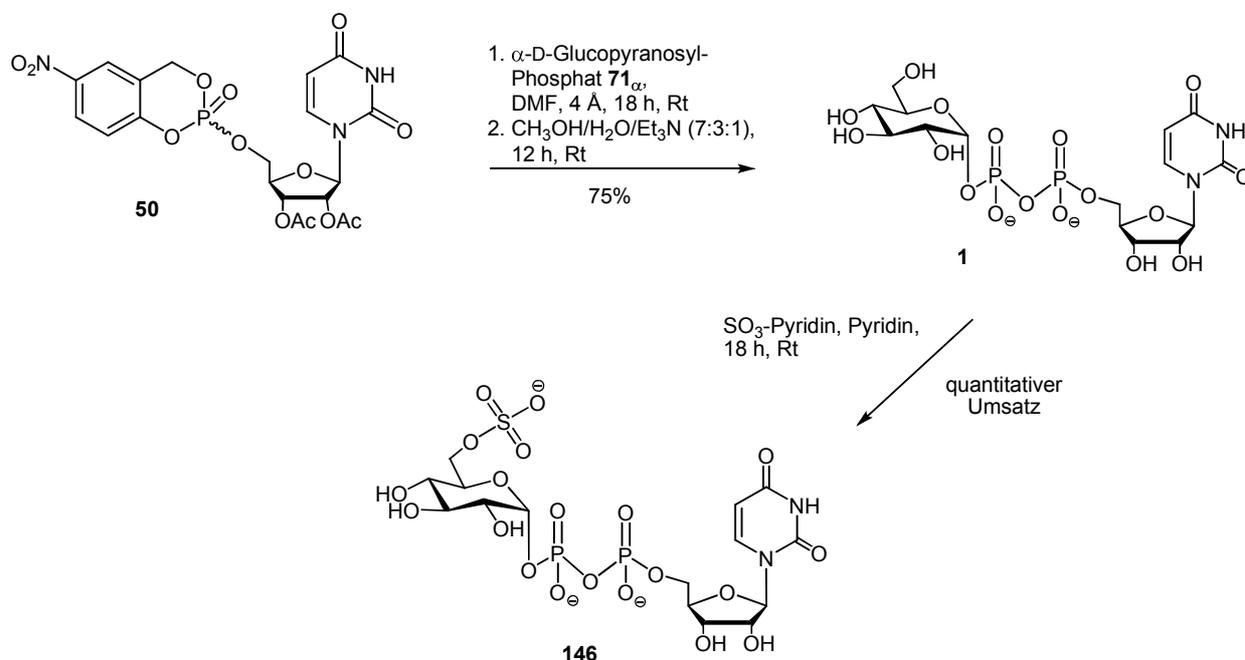


Abbildung 96: Reaktionsschema zur Darstellung der UDP-6-Sulfat- α -D-Glucose **146**

Das Kupplungsprodukt sollte nach Abspaltung der Acetylenschutzgruppen und Chromatographie an RP-18 Kieselgel sulfatiert werden. Dieses gelang durch Verwendung des Schwefel-Trioxid-Pyridin-Komplexes.^[111] Die Reaktionslösung wurde für 22 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich der Sulfatester in der 6-Position bildete. Die deutlich höhere Reaktivität der primären Hydroxygruppe an der 6-Position gegenüber den restlichen freien Hydroxygruppen lässt eine selektive Sulfatierung ohne den Einsatz von Schutzgruppen zu. Die Reaktion verlief in Pyridin, welches eine ausreichend hohe Basizität besitzt, um die O-H-Bindung zu lockern und somit die Nucleophilie des Sauerstoffs zu erhöhen. Es konnte ein quantitativer Umsatz beobachtet werden. Allerdings wird an dieser Stelle keine Ausbeute angegeben, da es sich nur um einen sehr kleinen Reaktionsansatz handelte. Es sollte dadurch lediglich die prinzipielle Darstellung modifizierter NDP-Pyranosen auf diesem gänzlich anderen Weg eröffnet werden. Ergänzende Ergebnisse konnten innerhalb der Arbeitsgruppe von *Nathalie Lunau* erhalten werden. Hierbei wurde GDP-6-Amino-5-Desoxy- β -L-Galactose über die *cycloSal*-Methode synthetisiert und anschließend mit einem Farbstoff markiert.^[112]

4.5 Versuch der Synthese von CDP-Cholin

Beim CDP-Cholin **147** handelt es sich ebenfalls um ein Nucleosiddiphosphat-Konjugat, bei welchem Cytidin als Nucleosid darstellt. Die Pyranose ist in diesem Fall gegen Cholin ausgetauscht.

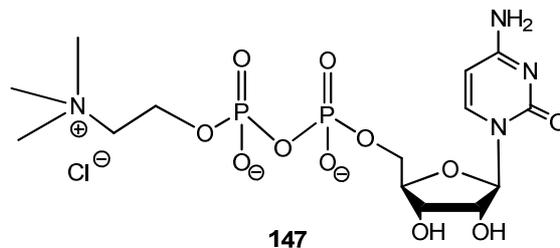


Abbildung 97: CDP-Cholin **147**

Die Verbindung ist wasserlöslich und besitzt eine sehr gute Bioverfügbarkeit. CDP-Cholin **147** stellt ein Zwischenprodukt des Zellmembranstoffwechsels dar, welches als essentieller Baustein für die Biosynthese von Zellmembran-Phospholipiden benötigt wird.^[113] CDP-Cholin **147** wird endogen synthetisiert und stellt den limitierenden Schritt der Phosphatidylcholin-Synthese dar, welches der wichtigste Stoffwechselschritt zum Aufbau und zur Reparatur von Zellmembranen ist.^[114] Pharmazeutische Studien zeigten, dass oral appliziertes CDP-Cholin **147** sehr schnell absorbiert wird.^[115] Exogen appliziertes CDP-Cholin **147** wird hydrolysiert und als Cholin und Cytidin absorbiert. Cholin und Cytidin können weiter verstoffwechselt werden und passieren beispielsweise die Blut-Hirn-Schranke, um im Gehirn zu CDP-Cholin **147** resynthetisiert zu werden. Aufgrund seiner Wirkungsweise stellt CDP-Cholin **147** ein entzündungshemmendes Arzneimittel dar. Es wird bei Erkrankungen des Zentralen Nervensystems sowie bei Schlaganfällen^[116] oder Herzinfarkten verabreicht.^[117] In jüngster Zeit wird es auch zur Behandlung der Alzheimer-Erkrankung eingesetzt.^[118] In toxikologischen Tests hat sich CDP-Cholin **147** als sehr sicher erwiesen.^[119] In Deutschland ist CDP-Cholin **147** als diätetisches Lebensmittel mit dem Handelsnamen „Ceraxon[®]“ erhältlich.

Die Kupplungsreaktionen zeigten sich, wie in den vorangegangenen Abschnitten beschrieben, sehr unempfindlich gegenüber Modifikationen an den entsprechenden Bausteinen. Daher sollte im weiteren Verlauf eine signifikantere Art der Modifikation Anwendung finden. Hierzu wurde die Darstellung des CDP-Cholins **147** gewählt, da

es sich aus den im Vorfeld beschriebenen Gründen um eine äußerst interessante Verbindung handelt. Der entwickelte Synthesepfad (Abbildung 98) sah eine Kupplung des 5-Nitro-*cycloSal-N⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidinmonophosphats* **51** mit dem Cholin-Phosphat **148** vor. Dieses Phosphat **148** sollte durch Phosphorylierung von Cholinchlorid **149** erhalten werden.

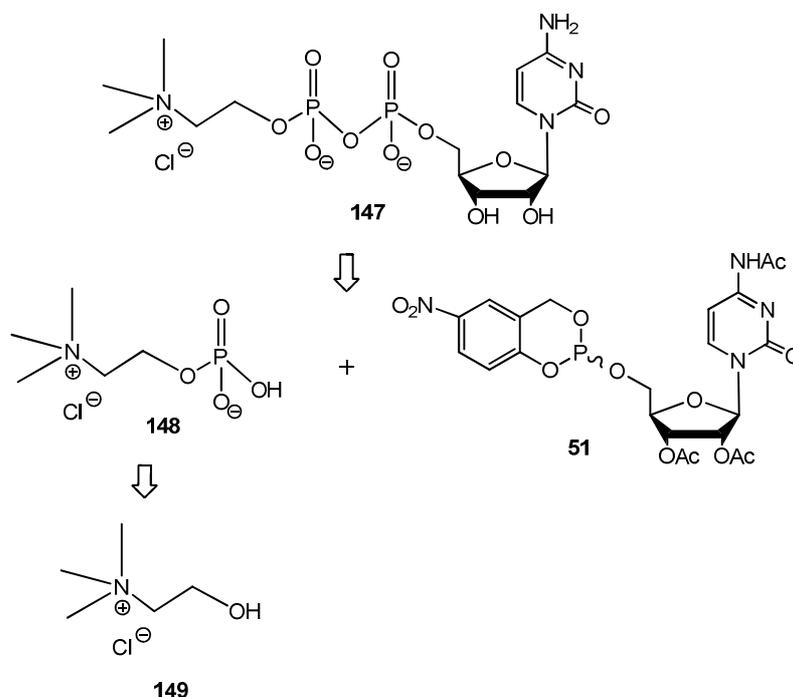
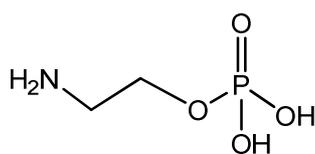


Abbildung 98: Retrosyntheseschema zur Darstellung des CDP-Cholins **139**

Die Darstellung des Phosphats **148** sollte zunächst über den Phosphoramidit-Weg erfolgen, da diese Syntheseroute aus der Darstellung der Pyranosyl-Phosphate bekannt war. Hierzu wurde Cholinchlorid **149** in Dichlormethan gelöst und mit Dibenzyl-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66** sowie DCI **67** als Aktivator versetzt. Nach vollständiger Umsetzung wurde mittels *meta*-Chlorperbenzoesäure oxidiert. Das benzylgeschützte Produkt konnte leider nur in einer sehr schlechten Ausbeute von 10% erhalten werden, der zudem noch Verunreinigungen anhafteten. Aus diesem Grund wurde auf die anschließende hydrogenolytische Spaltung der Schutzgruppen verzichtet. Die Überführung des Cholinchlorids **149** in das Cholin-Phosphat **148** sollte zudem nach der Methode von Sowa und Ouchi möglich sein.^[120] Hierfür wird Phosphorylchlorid mit Acetonitril, Pyridin und Wasser in einem genauen Verhältnis von 2:2:1 versetzt und anschließend die zu phosphorylierende Verbindung hinzugegeben. Nach wässriger Aufarbeitung konnte allerdings auch in diesem Fall kein Produkt erhalten werden.

Aus diesem Grund wurde das käuflich-erwerbliche Cholin-Phosphat **148** in Form des Calcium-Gegenions verwendet. Da der Stickstoff des Cholins eine positive Ladung trägt, war ein Austausch des Gegenions gegen Triethylammonium leider nicht möglich. Die Kupplungsreaktionen wurden in dem üblicherweise verwendeten Lösungsmittel *N,N*-Dimethylformamid und zudem in Dimethylsulfoxid durchgeführt. Da in beiden Fällen kein Produkt erhalten werden konnte, sollte versucht werden, die Nucleophilie des Cholin-Phosphats **148** durch bestimmte Zusätze zu erhöhen. Hierzu wurden EDTA sowie die Kronenether 15-Krone-5 und 18-Krone-6 verwendet. Leider wurde auch durch diese Zusätze kein Produkt erhalten. Die NMR-Spektren zeigten in allen Fällen lediglich eine Reisolierung des eingesetzten Cholin-Phosphats **148**.

Es ist davon auszugehen, dass die positive Ladung innerhalb des Cholin-Phosphats **148** für diese unzufriedenstellenden Ergebnisse verantwortlich ist. Daher sollte zunächst das Colamin-Phosphat **150** als ein Vorläufermolekül verwendet werden.



150

Abbildung 99: Colamin-Phosphat **150**

Zunächst wurde sowohl die direkte Reaktion des Colamin-Phosphats **150** mit 5-Nitro-*cycloSal-N*⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidinmonophosphats **51** sowie die Umsetzung des Colamin-Phosphats **150** mit Triethylammonium-Gegenionen mit der *cycloSal*-Verbindung versucht. Bei beiden Versuchen wurde wie schon in den vorangegangenen Fällen lediglich das eingesetzte Phosphat zurück erhalten.

Im Folgenden wurde die Aminofunktion mit einer Schutzgruppe versehen. Dadurch sollte eine bessere Löslichkeit des eingesetzten Colamin-Phosphats **150** und die Vermeidung etwaiger Nebenreaktionen erreicht werden. Auch in diesem Fall sollte die Acetylgruppe für die Blockierung verwendet werden, da sich diese nach vollzogener Kupplung zusammen mit den Acetylschutzgruppen des Nucleosids abspalten lassen würde. Durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur ergab sich ein Gemisch aus dem gewünschten Produkt, welches lediglich an der Aminofunktion acetylgeschützt vorlag, und dem ebenfalls am Phosphat acetylgeschützten Nebenprodukt.^[64] Die selektive Spaltung der Acetylgruppen am Phosphat gelang durch Lösen in Wasser und Versetzen der

Reaktionslösung mit etwas Triethylamin. Das erhaltene Produkt wurde ohne weitere Reinigung für die anschließende Kupplungsreaktion eingesetzt. Aufgrund der erheblichen Schwierigkeiten im Vorfeld wurde das erhaltene Rohprodukt nach Abspaltung der Schutzgruppen und Aufarbeitung NMR-spektroskopisch untersucht. Das resultierende ^{31}P -NMR-Spektrum zeigte ein Gemisch aus dem im Überschuss eingesetzten Phosphat und dem gewünschten Produkt **151** (Abbildung 100).

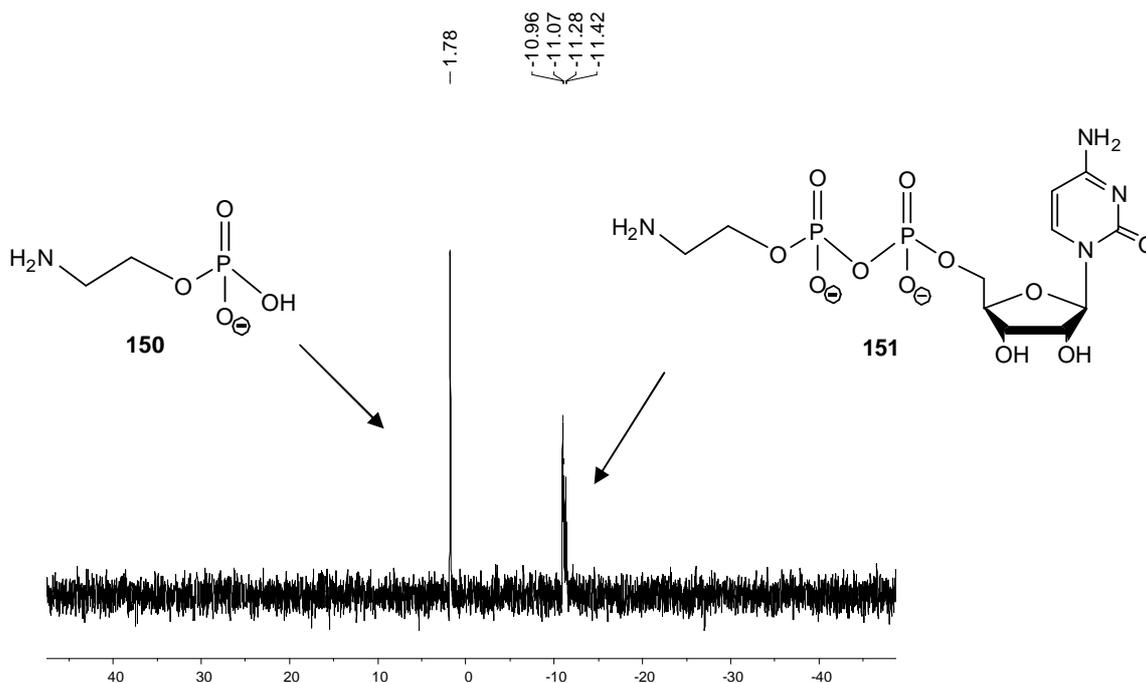


Abbildung 100: ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches

Nach diesem positiven Ergebnis erfolgte eine Reinigung an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent. Die Produktfraktionen wurden durch Gefriertrocknung erhalten, wiesen allerdings im ^{31}P -NMR-Spektrum allesamt lediglich Signale für das eingesetzte Phosphat auf. Es bleibt nun zu klären, ob es zu einer Zersetzung des Produktes während der Chromatographie gekommen ist und weshalb in einem solchen Fall keine Signale für das dabei entstehende Nucleotid zu erkennen waren. Außerdem stellt sich die Frage, ob diese Zersetzung lediglich in diesem Fall eintrat oder ob auch bei den im Vorfeld durchgeführten Kupplungsreaktionen zunächst die gewünschten Produkte gebildet wurden und erst durch die anschließende Chromatographie nicht mehr nachweisbar waren.

Es ist zu erkennen, dass gerade die Darstellung dieses pharmazeutisch so interessanten Bausteins noch weiterer Arbeiten bedarf und dieses Zielmolekül eine große Herausforderung an die etablierte *cycloSal*-Methode darstellt.

4.6 Synthese der Nucleosid *Mono*phosphat Pyranosen

Nachdem in den vorangegangenen Abschnitten auf die Darstellung der *diphosphat*-verbrückten Zielverbindungen eingegangen wurde, sollen im Folgenden die Synthesen zur Darstellung der *monophosphat*-verbrückten Zuckernucleotide beschrieben werden.

Hierzu wurde von *Svenja Warnecke* im Rahmen ihrer Dissertation eine Syntheseroute entwickelt.^[55] Solche Verbindungen entstehen bei der Umsetzung von *cycloSal*-Nucleotiden mit deprotonierten Pyranosen. Es wurden je 4.0 Äquivalente der entsprechenden Glycopyranosen und 4.0 Äquivalenten gewaschenes Natriumhydrid verwendet, welches in absolutem Dichlormethan gelöst wurde. Das *cycloSal*-Nucleotid wurde ebenfalls in absolutem Dichlormethan gelöst und zu der deprotonierten Pyranose getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur vollständigen Umsetzung, etwa 2 Stunden, bei Raumtemperatur gerührt. Nach Extraktion wurden die vereinigten wässrigen Phasen gefriergetrocknet. Zur Abspaltung der Acetylschutzgruppen, wurde das Rohprodukt in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent. Dieses gelang für die üblicherweise verwendeten Pyranosen Glucose, Galactose und Mannose in guten Ausbeuten. Bei den Verbindungen der Glucose und der Galactose wurden β -anomerenreine Produkte erhalten, lediglich bei der Mannose wurde ein α/β -Gemisch gefunden.

Eine Aktivierung als Nucleosid*Mono*phosphat-Pyranose (NMP-Pyranose) erfolgt in der Natur im Allgemeinen bei 3-Desoxy-2-Glyculosonaten, wie Sialinsäure-verknüpften Verbindungen. Als wichtigster Vertreter sei hier die CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** (CMP-Neu5Ac) genannt, deren Glycon-Rest in jeder Spezies zu finden ist.^[12] Die Darstellung dieser CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** gelang auf der zuvor erwähnten Syntheseroute allerdings nicht, sodass es weiterer Optimierung bedarf.

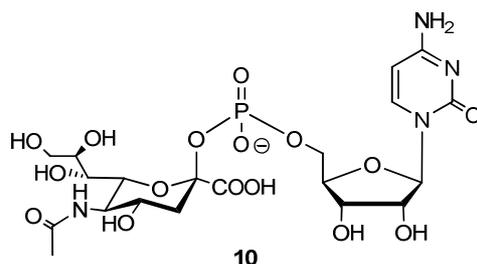


Abbildung 101: CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**

Im Rahmen dieser Arbeit sollte demnach zunächst eine Optimierung der Syntheseroute zur Darstellung der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** vollzogen werden. Nach erfolgreicher Synthese dieser natürlich vorkommenden Verbindung sollten verschiedene Modifikationen an der Aminofunktion angebracht werden und somit Derivate der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** dargestellt werden.

4.6.1 Optimierung der Syntheseroute zur Darstellung der CMP-Neu5Ac

Um eine Kupplungsreaktion durchführen zu können, sollte das Nucleophil mit entsprechenden Schutzgruppen versehen werden, um Nebenreaktionen zu vermeiden und eine möglichst gute Löslichkeit zu erreichen. Zur Darstellung der CMP-Neu5Ac **10** wurde daher 5-Nitro-*cycloSal-N⁴Ac-2',3'-di-OAc*-Cytidinmonophosphat **51** mit dem Baustein **28** zur Reaktion gebracht. Bei diesem Baustein handelt es um die 2-OH-freie Verbindung der Neuraminsäure, bei welcher die Säuregruppe als Methyl ester und alle übrigen Hydroxyfunktionen in acetylierter Form vorliegen (siehe Abschnitt 4.3.2, Seite 63-65).

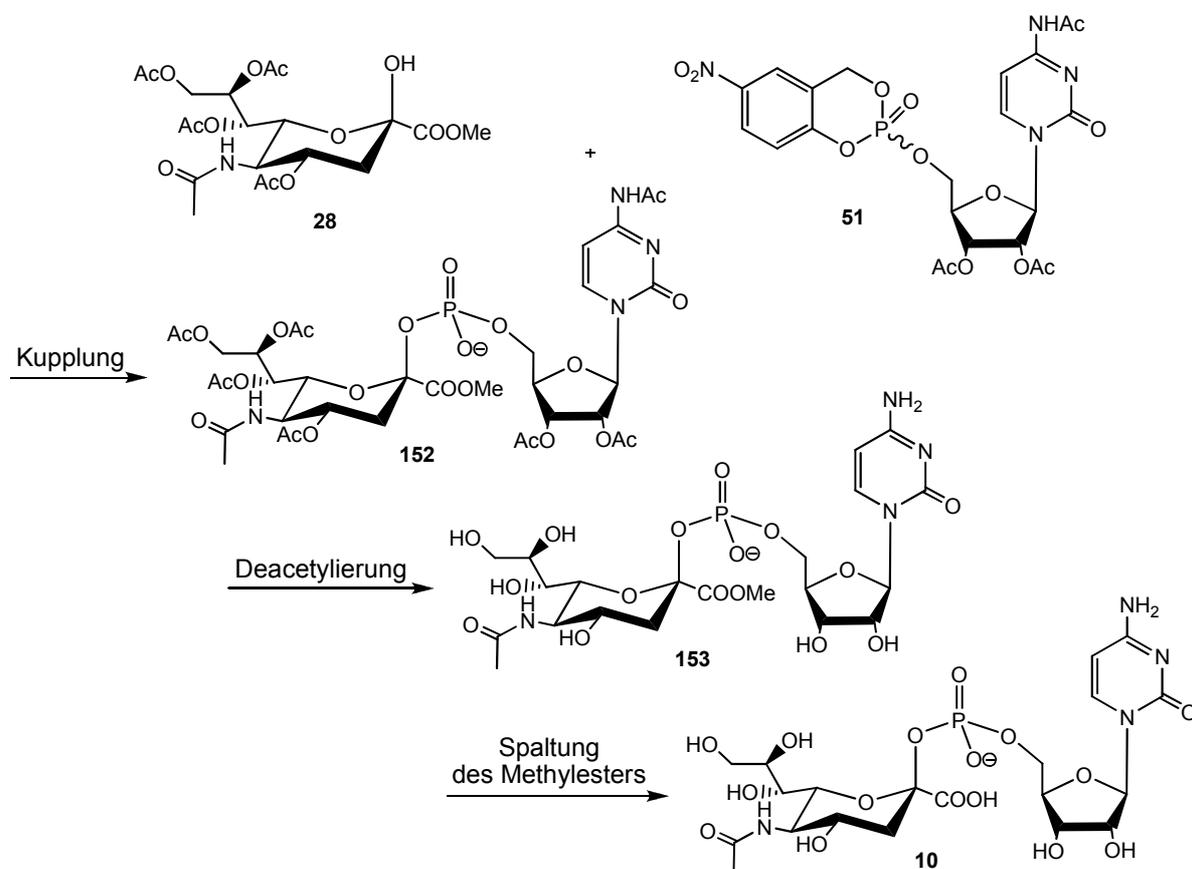


Abbildung 102: Reaktionsschema zur Darstellung der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**

Zur Veranschaulichung der Reaktion ist in Abbildung 102 ein Überblick über die durchzuführenden Reaktionsschritte gegeben. Nach erfolgter Kupplung der beiden Bausteine sollten zunächst die Acetyl-Schutzgruppen gespalten werden. Im Anschluss sollte die Deblockierung der Säurefunktion erfolgen und das erhaltene, vollständig entschützte Produkt mittels Umkehrphasenchromatographie an RP-18 Kieselgel und Wasser als Eluent gereinigt werden.

Das chemische Verhalten der CMP-Neu5Ac **10** wurde von *Schauer et al.* im Hinblick auf neutrale und basische Bedingungen intensiv untersucht.^[121] Ein besonderes Merkmal der Neuraminsäure ist dabei das Fehlen der funktionellen Gruppe an C3.^[122,123] Da die verbrückende Phosphateinheit zwischen Neuraminsäure und Nucleosid eine gute Abgangsgruppe darstellt, kann es unter basischen Bedingungen zu einer Eliminierungsreaktion des Zuckernucleotids kommen. Hierdurch entstehen das Glycal **116** der Neuraminsäure und Cytidinmonophosphat **24** (Abbildung 103, linke Seite). Zusätzlich wurde ein direkter Angriff eines Nucleophils am Phosphoratom beobachtet, was einen Zerfall des Zuckernucleotids zur Neuraminsäure **22** und dem Nucleosidmonophosphat **24** zur Folge hat (Abbildung 103, rechte Seite).

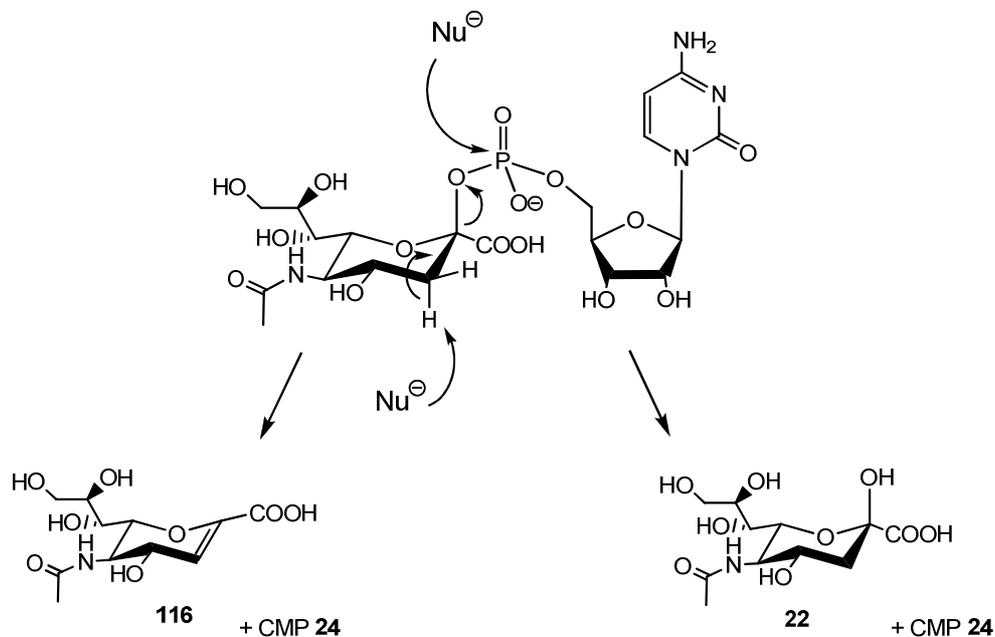


Abbildung 103: Mögliche Zerfallsmechanismen von CMP-N-Acetylneuraminsäure **10**

Es ist zu erkennen, dass sich die Darstellung der CMP-N-Acetylneuraminsäure **10** nicht ganz trivial gestaltet. Die anfänglichen Versuche, die Reaktionssequenz ohne

Isolierung der Zwischenstufen durchzuführen, scheiterten vollständig. Im ^{31}P -NMR-Spektrum wurde wiederholt lediglich das Nucleotid (CMP **24**) und ein unbekanntes Nebenprodukt bei +3.8 ppm nachgewiesen (siehe Abschnitt 4.6.1.1, Seite 101-102). Die ^1H -NMR-Spektren zeigten teils das Vorhandensein der Neuraminsäure **22** und teils die Bildung des Glycals **116** Aufgrund der Doppelbindung zwischen C2 und C3 lässt sich dieses Glycal **116** im ^1H -NMR-Spektrum leicht durch ein Dublett bei circa 6 ppm identifizieren, welches vom Proton an C3 erzeugt wird.

Aus diesem Grund wurde die Reaktionssequenz zunächst schrittweise durchgeführt und jeder einzelne Schritt mittels NMR-spektroskopischen Methoden detailliert untersucht.

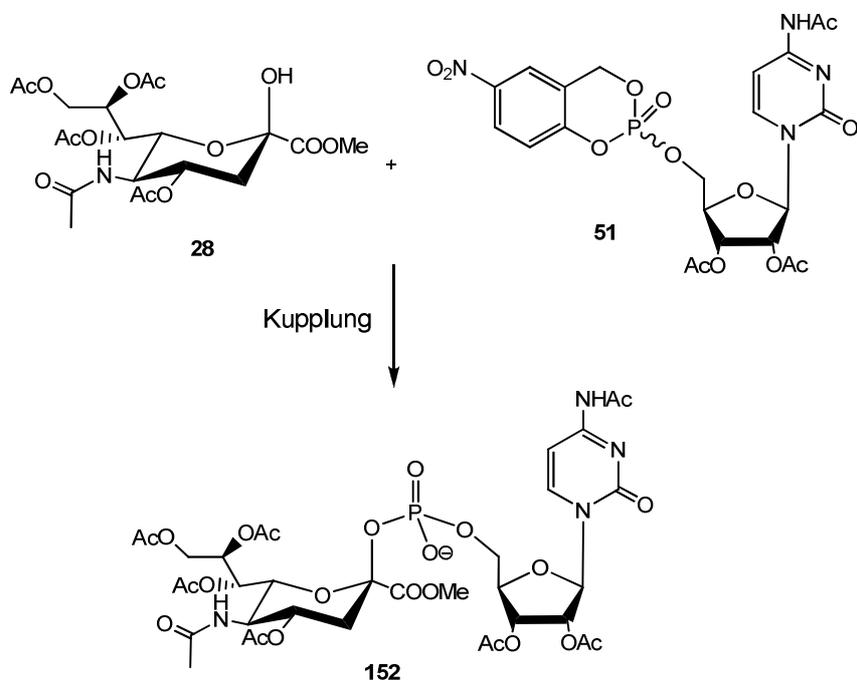


Abbildung 104: Reaktionsschema zur Darstellung des Kupplungsprodukts **152**

Als Vorbereitung für die Kupplungsreaktion wurden die Edukte im Vakuum und über Molekularsieb vorgetrocknet. Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. Im Gegensatz zu der zuvor beschriebenen Methode zur Darstellung von NMP-Pyranosen (siehe Seite 90) sollten die eingesetzten Äquivalente reduziert werden. Daher wurden jeweils 2.0 Äquivalente der geschützten Neuraminsäure **28** und 2.0 Äquivalente an Natriumhydrid als Base verwendet. Durch die Verwendung der starken Base sollte die Deprotonierung schnell erfolgen und somit eine schnelle Reaktion gewährleistet werden. Allerdings kommt es durch diese starke Base beim Lösungsvorgang zu einer

Zersetzung der Neuraminsäure, weshalb zunächst auf eine Temperatur von $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt werden muss. Als Lösungsmittel wurde ein Gemisch aus absolutem Dichlormethan und absolutem *N,N*-Dimethylformamid im Verhältnis 5:1 verwendet. Nach einer Deprotonierungszeit von circa 1 Stunde, wurde das 5-Nitro-*cycloSal*-*N*⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, ebenfalls gelöst in Dichlormethan, zu der deprotonierten Neuraminsäure hinzuge tropft. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur vollständigen Umsetzung der *cycloSal*-Verbindung (DC-Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1), etwa 4 Stunden, bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene Rückstand in Wasser gelöst und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrfach mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden anschließend erneut gefriergetrocknet. Im Anschluss wurde zunächst mittels NMR-Spektroskopie überprüft, ob die Reaktion erfolgreich verlaufen ist. Aufgrund der starken Verunreinigungen durch die vorhandenen Salze lässt sich an dieser Stelle allerdings noch keine Aussage über die Ausbeute treffen. Das durch Kupplung der beiden Bausteine erhaltene vollständig geschützte Produkt **152** ergab im ³¹P-NMR-Spektrum ein Signal bei -5.65 ppm .

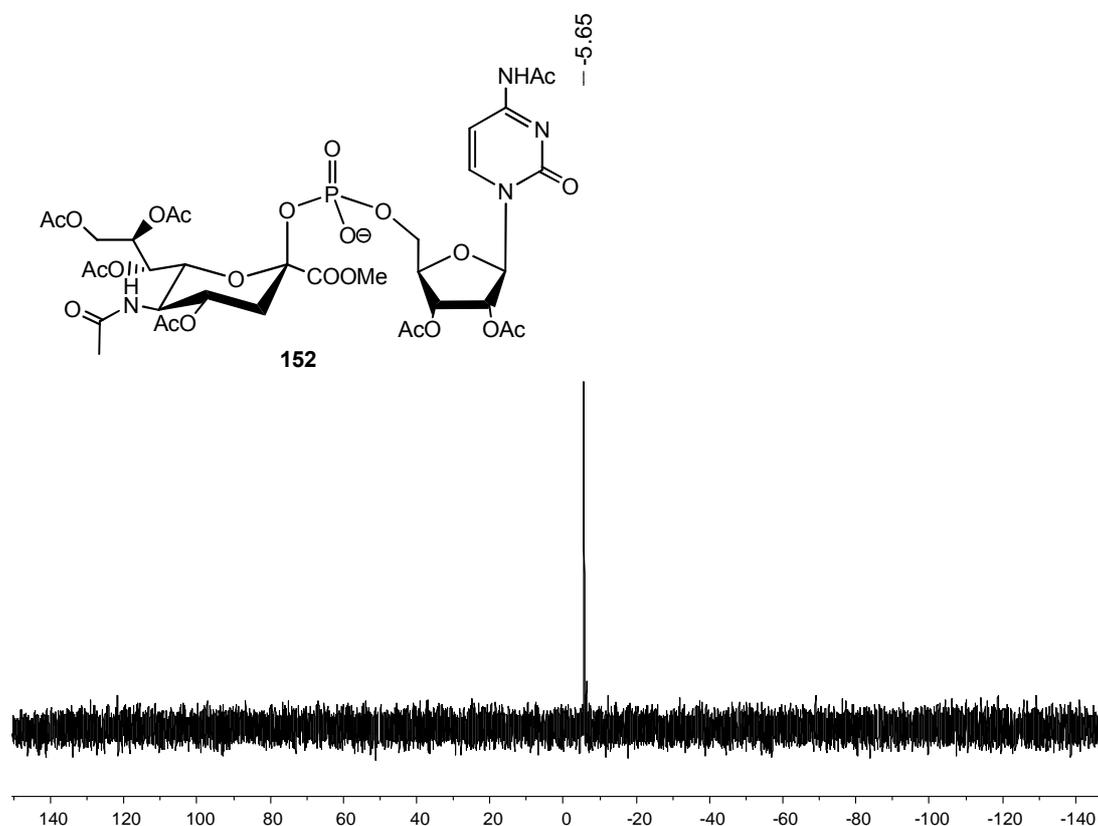


Abbildung 105: ³¹P-NMR-Spektrum des Kupplungsprodukts **152**

Dieses ist tatsächlich auf das gewünschte Produkt zurückzuführen, da die Nucleotide in einem Bereich um 0 ppm auftreten würden. Zudem wurden im ^{13}C -NMR-Spektrum die typischen Dubletts der Signale für C2 und C3 der Neuraminsäure und C4' und C5' des Nucleosids erhalten, die durch Kopplung der Kohlenstoffatome mit dem Phosphoratom resultieren. Damit war die wichtigste Voraussetzung zur Darstellung der CMP-N-Acetylneuraminsäure **10** mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden - die erfolgreiche Kupplungsreaktion - gegeben.

Als nächster Schritt sollte die Abspaltung der Schutzgruppen erfolgen. Hierfür wurde zunächst in der Literatur nach geeigneten Methoden zur Entschützung des Kupplungsprodukts gesucht. Es stellte sich heraus, dass zur Entschützung von acetylierten Neuraminsäuremethylester-Derivaten im Allgemeinen zunächst die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen basisch durch Natriummethanolat in Methanol nach *Zemplén et al.* erfolgt.^[124] Im Anschluss wird der verbleibende Methylester durch Verseifung mit verdünnter Natronlauge gespalten. Diese Abspaltbedingungen werden auch von *Schmidt et al.* angewendet, wobei hier nach vollständiger Reaktion zur Aufarbeitung jeweils mit Amberlite neutralisiert wird.^[125]

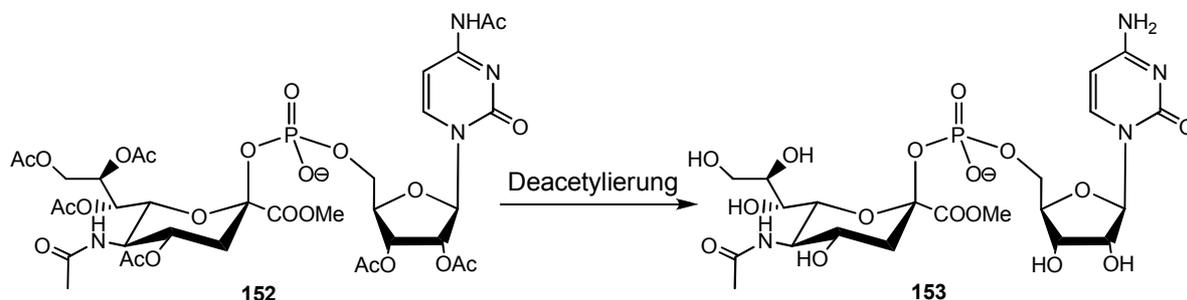


Abbildung 106: Reaktionsschema zur Abspaltung der Acetylschutzgruppen

Zunächst sollten die bereits publizierten Bedingungen Anwendung finden, weshalb das nach Extraktion und Gefriertrocknung erhaltene Reaktionsgemisch mit einer frisch präparierten Natriummethanolat-Lösung (0.1 M) versetzt wurde. Die Reaktionslösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Amberlite neutralisiert. Das daraus resultierende ^{31}P -NMR-Spektrum zeigte nur das Vorhandensein des Nucleotids **24** sowie des Nebenprodukts bei +3.8 ppm an. Es wurden weitere Experimente durchgeführt, die die Verwendung von 0.5 M Natriummethanolat-Lösung vorsahen. Die Reaktionszeiten variierten zwischen 4 Stunden und 18 Stunden, als einzusetzende Äquivalente wurden 3.0 Äquivalente beziehungsweise 6.0 Äquivalente verwendet. In

allen Fällen wurde mit Amberlite neutralisiert und in keinem dieser Fälle wurde das gewünschte Produkt erhalten. Daher wurde eine Reaktionsverfolgung mittels ^{31}P -NMR-Spektroskopie durchgeführt, bei welcher das Rohgemisch des Kupplungsprodukts in deuteriertem Methanol gelöst und mit 3.0 Äquivalenten beziehungsweise 6.0 Äquivalenten einer 0.5 M Natriummethanolat-Lösung versetzt wurde. Nach der Aufnahme eines Start-Werts, erfolgte die Probennahme stündlich. Es war deutlich eine Umsetzung zu erkennen, bei welcher eine Verschiebung des Signals von -5.65 ppm zu -4.18 ppm stattfand. Im Fall der Verwendung von 6.0 Äquivalenten wurde trotz unvollständigem Umsatz schon nach relativ kurzer Zeit (2 Stunden) eine zusätzliche Zersetzung des Produkts (unter anderem zum Nebenprodukt bei +3.8 ppm) beobachtet, weshalb das Hauptaugenmerk im Folgenden auf der Verwendung von 3.0 Äquivalenten lag.

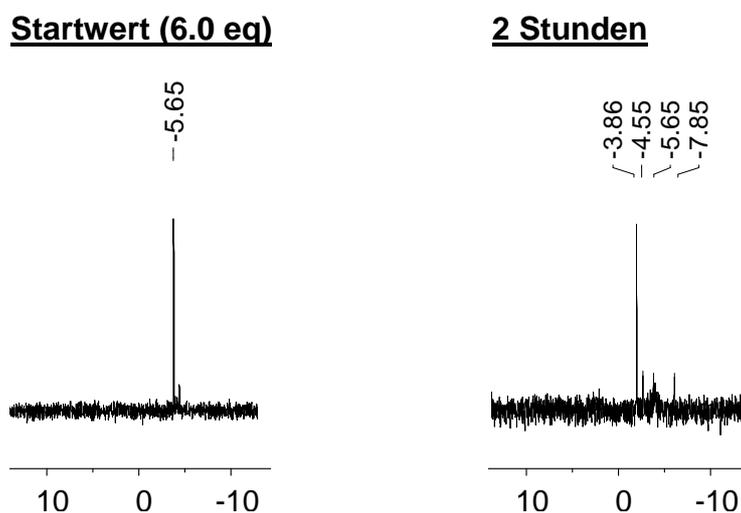


Abbildung 107: ^{31}P -NMR-Verfolgung der Acetylgruppen-Abspaltung (6.0 Äquivalente)

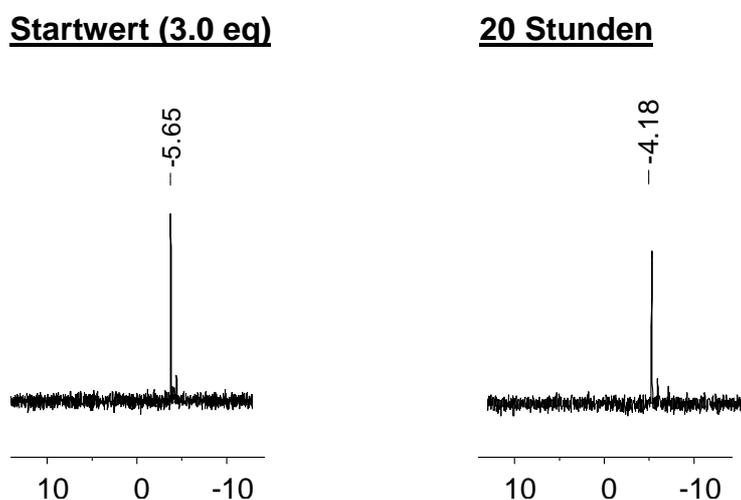


Abbildung 108: ^{31}P -NMR-Verfolgung der Acetylgruppen-Abspaltung (3.0 Äquivalente)

Bei der Verwendung von 3.0 Äquivalenten zeigte die NMR-spektroskopische Reaktionsverfolgung schon nach 1 Stunde eine vollständige Umsetzung zum deacetylierten Methylester **153**. Diese schnelle Reaktion konnte in den folgenden Experimenten zwar nicht reproduziert werden, allerdings wurde der vollständige Umsatz meist nach einer Reaktionszeit von circa 20 Stunden erreicht. Auch nach dieser recht langen Zeit konnten keine Zersetzungsprodukte nachgewiesen werden. Die Ansätze, die für die Verfolgung mittels ^{31}P -NMR-Spektroskopie verwendet wurden, wurden nach vollständiger Spaltung der Acetylgruppen mit Amberlite neutralisiert und erneut einer ^{31}P -NMR-Untersuchung unterzogen. Dabei zeigte sich eine nahezu vollständige Zersetzung des zuvor gebildeten Phosphatdiesters zum Nucleotid **24**, welche nur auf der Verwendung des Amberlites beruhen kann. Im Folgenden wurde daher auf eine Neutralisation mit Amberlite verzichtet und lediglich das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Wasser versetzt und anschließend gefriergetrocknet.

Bei der Anwendung dieses Syntheseprotokolls entstanden in den meisten Fällen die gewünschten Produkte - die deacetylierten Methylester **153** - die eine ^{31}P -NMR-Verschiebung von -4.18 ppm aufwiesen. In wenigen Ausnahmen wurden im ^{31}P -NMR-Spektrum allerdings Signale bei -4.58 ppm gefunden. Es stellte sich hierbei heraus, dass diese Signale dem vollständig entschützten Produkt **10** zuzuordnen sind. Dies verwunderte zuerst, da die verwendete Natriummethanolat-Lösung nicht in der Lage ist einen Methylester zu spalten. Es wurde zwar absolutes Methanol zur Herstellung dieser Lösung, wie auch zum Lösen des Rohgemischs verwendet, allerdings wurde die Reaktion nicht unter Inertgas durchgeführt. Dies schien der Grund für die teilweise unterschiedlichen Ergebnisse trotz gleicher Reaktionsführung zu sein. Es wird davon ausgegangen, dass sich durch die Luftfeuchtigkeit während der relativ langen Reaktionszeit - mal mehr und mal weniger - Natronlauge bildete. Dies kann durch Reaktion des Natriummethanolats mit der Feuchtigkeit aus der Luft erfolgen und somit den Methylester verseifen.

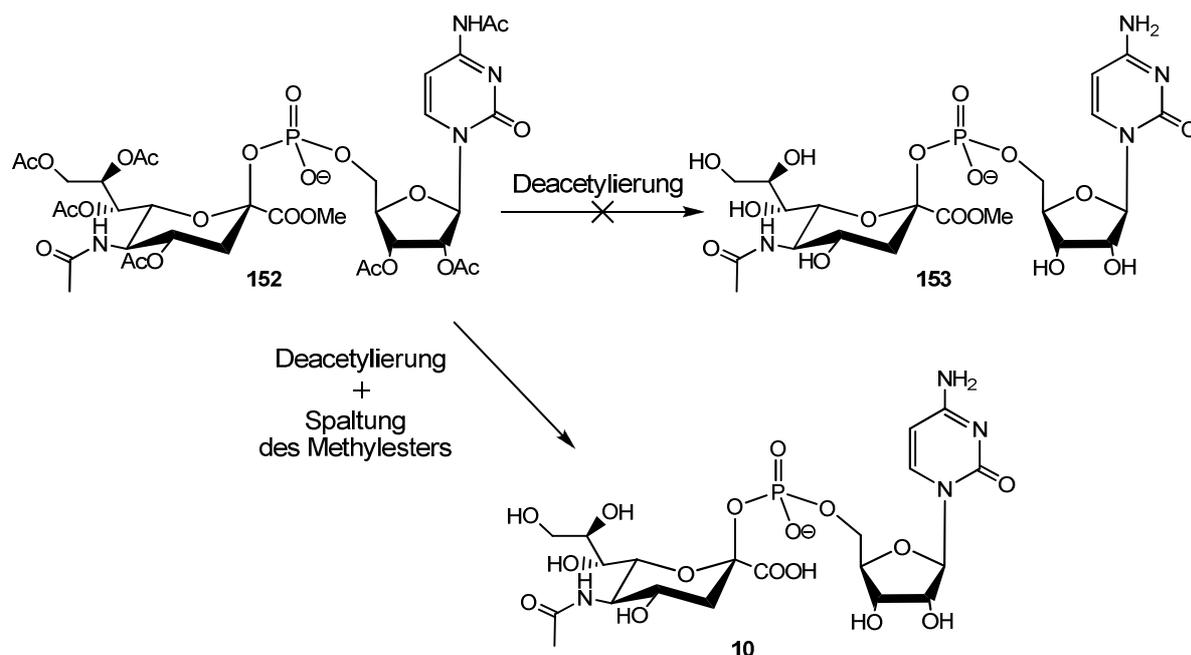


Abbildung 109: Reaktionsschema zur Abspaltung der Schutzgruppen

Aus diesem Grund wurden in den folgenden Ansätzen nach einer Reaktionsdauer von circa 20 Stunden 3.0 Äquivalente Wasser zur Reaktionslösung gegeben, um die Bildung der Natronlauge auf jeden Fall zu gewährleisten. Im Anschluss wurde für weitere 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und erneut ohne vorherige Neutralisation mit Amberlite das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt und anschließend gefriergetrocknet. Die anschließende ^{31}P -NMR-Untersuchung ergab jeweils ein Signal bei -4.58 ppm, welches dem vollständig entschützten Produkt **10** zugeordnet werden konnte.

Aufgrund der Labilität des Produktes wurden vor der abschließenden Chromatographie Untersuchungen bezüglich der Stabilität vorgenommen. Hierzu wurden die Reaktionsgemische der vollständig entschützten Produkte **10** in deuteriertem Wasser gelöst und mit einigen Spaltelspitzen des jeweiligen Materials, welches als stationäre Phase zur Chromatographie verwendet werden sollte, versetzt. Es wurde zum einen RP-18 Kieselgel angewendet, wobei zunächst reines Wasser den Eluenten darstellte. Außerdem wurde in einem zweiten Ansatz mit einem Zusatz von Triethylamin gearbeitet, um den pH-Wert möglichst im neutralen beziehungsweise eher leicht basischen Bereich zu halten. Des Weiteren wurde Sephadex verwendet, wobei sowohl NH-20 als auch G-15 getestet wurden, da diese in der Literatur für die Isolierung von CMP-Neu5Ac **10** bereits Verwendung fanden.^[126-129] Auch in diesem Experiment wurde eine spektroskopische Verfolgung mittels ^{31}P -NMR durchgeführt. Es war zu erkennen, dass die erhaltene

Zielverbindung in allen Fällen über die für eine chromatographische Reinigung benötigte Zeit stabil war, weshalb im Folgenden RP-18 Kieselgel und Wasser als Eluent verwendet wurde.

Anhand der Erkenntnisse aus den zuvor durchgeführten Optimierungen, stellte sich das folgende Syntheseprotokoll zur Darstellung der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** als optimal heraus: Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Feuchtigkeit auszuschließen. 2.0 Äquivalente des vorgetrockneten, geschützten Neuraminsäure-Derivats **28** wurden mit ebenfalls 2.0 Äquivalenten gewaschenem Natriumhydrid zunächst eine Stunde im Vakuum getrocknet. Anschließend wurde bei -50 °C ein Gemisch aus absolutem Dichlormethan und absolutem *N,N*-Dimethylformamid im Verhältnis 5:1 hinzugegeben und die Lösung bei dieser Temperatur für 1 Stunde zur Deprotonierung gerührt. Das *cycloSal*-Nucleotid **51** wurde ebenfalls einige Zeit im Vakuum getrocknet und anschließend, gelöst in absolutem Dichlormethan, zu der deprotonierten Neuraminsäure getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur vollständigen Umsetzung der *cycloSal*-Verbindung **51** (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) etwa 4 Stunden bei -50 °C bis Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene Rückstand in Wasser gelöst und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrfach mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden anschließend erneut gefriergetrocknet. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurde das Rohprodukt in möglichst wenig absolutem Methanol gelöst und mit 3.0 Äquivalenten einer frisch hergestellten 0.5 M Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach einer Reaktionszeit von etwa 20 Stunden wurden 3.0 Äquivalente Wasser hinzugefügt und für weitere 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde die Reaktionslösung mit Wasser verdünnt und erneut gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 M Ammoniumacetat-Lösung (2:1). Durch nachfolgende Gefrier Trocknung wurde das reine Produkt als farbloser Feststoff erhalten. Das Zielprodukt **10** konnte durch diese Reaktionssequenz - Kupplung, Abspaltung der Schutzgruppen und Umkehrphasenchromatographie - in einer sehr guten Ausbeute von 85% synthetisiert werden.

Die folgenden Abbildungen zeigen die ^{31}P -NMR- und ^1H -NMR-Spektren der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**.

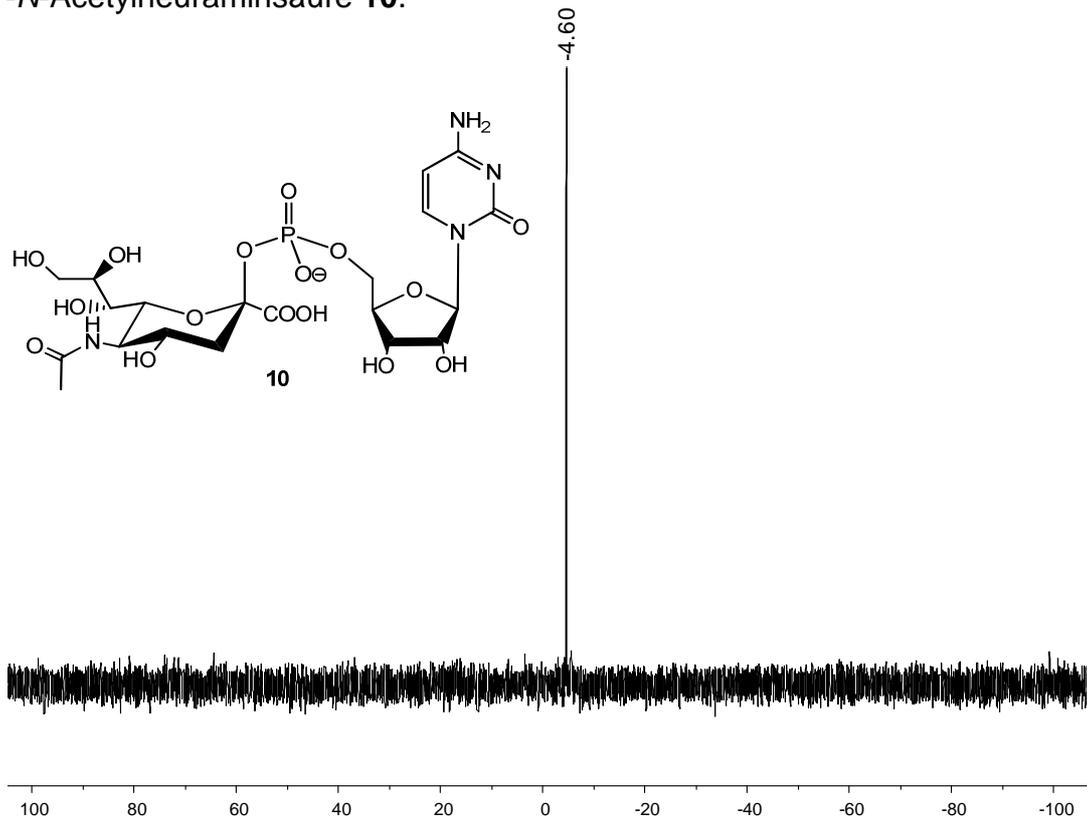


Abbildung 110: ^{31}P -NMR-Spektrum der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**

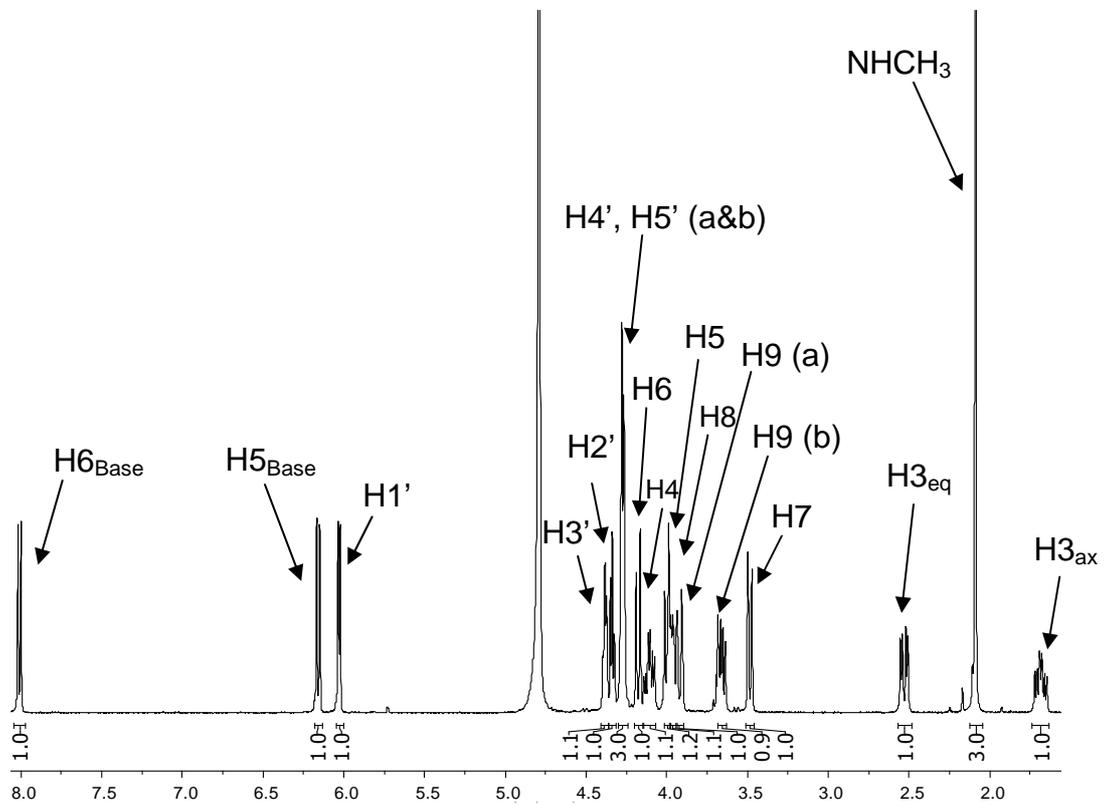


Abbildung 111: ^1H -NMR-Spektrum der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10**

4.6.1.1 Zersetzung der CMP-N-Acetylneuraminsäure 10

Während der Optimierungsarbeiten an dem Syntheseprotokoll zur Darstellung der CMP-Neu5Ac **10** wurde wiederholt ein Nebenprodukt erhalten, welches im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Signal bei einem Wert von +3.8 ppm zeigte. In den dazugehörigen ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren wurden sowohl Signale gefunden, die dem Nucleosid zuzuordnen sind, sowie Signale, die vom Neuraminsäure-Rest stammen. Bei der massenspektrometrischen Untersuchung des isolierten Nebenprodukts konnte leider kein eindeutiger Wert erhalten werden. Aus diesem Grund wurde in der Literatur nach bereits identifizierten Nebenprodukten gesucht, die bei der Synthese von CMP-Neuraminsäure **10** entstehen können. Der erst kürzlich publizierte Artikel von *Yamamoto et al.* beschäftigt sich mit Hydrolysestudien der CMP-Neu5Ac **10** mittels Experimenten, in denen Isotopen-gelabelte Verbindungen eingesetzt werden.^[130] Die Ergebnisse legen nahe, dass während der Hydrolyse ein 5-gliedriges, cyclisches Intermediat **154** gebildet werden kann. Dieses entsteht durch Angriff der freien Säurefunktion an dem Phosphoratom, wie in Abbildung 112 zu sehen ist.

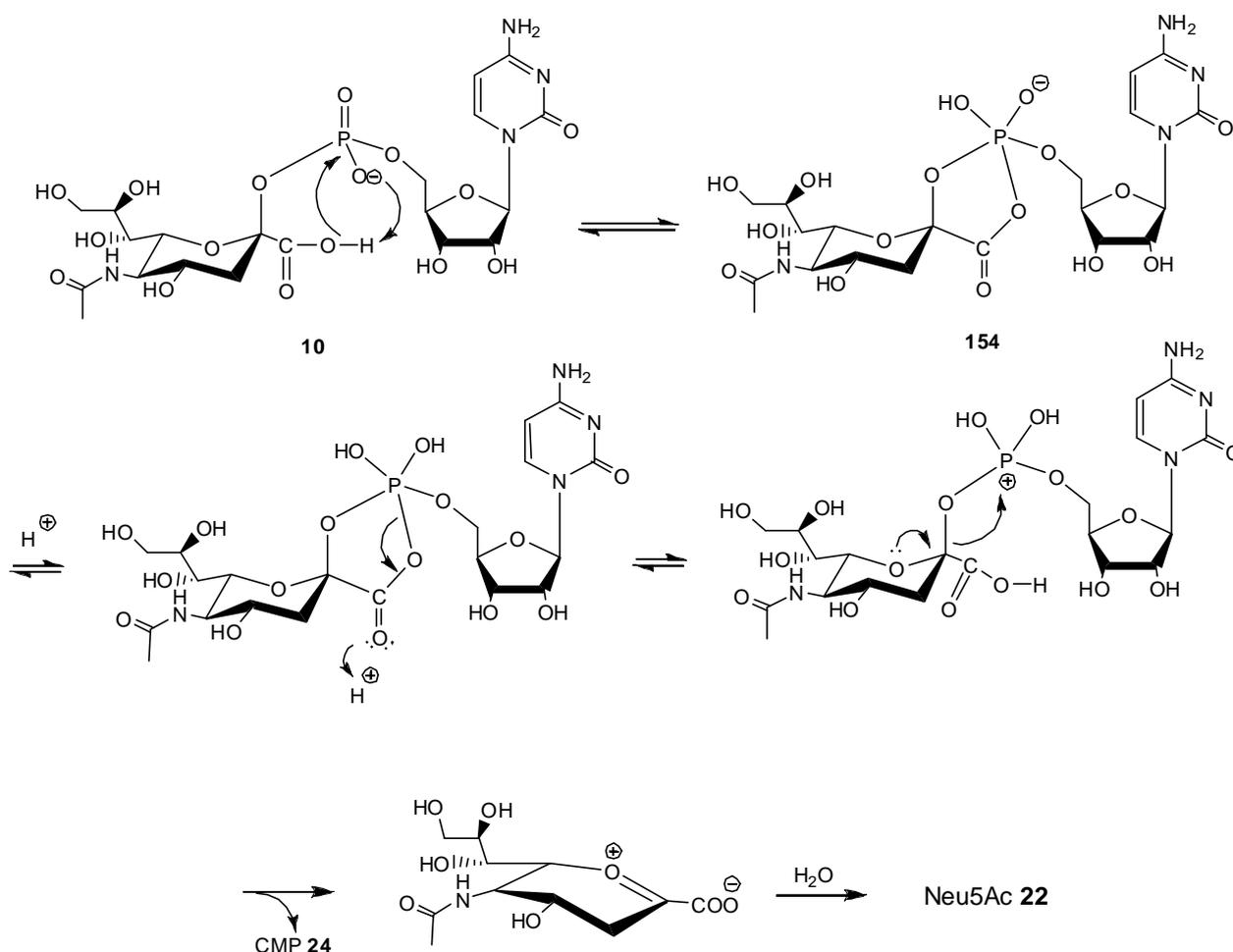


Abbildung 112: Postulierter Hydrolysemechanismus der CMP-N-Acetylneuraminsäure **10**

Bei dem Signal von +3.8 ppm im ^{31}P -NMR-Spektrum könnte es sich um das Intermediat **154** handeln, welches lediglich im sauren Medium dem weiteren Hydrolysemechanismus folgen kann. Da auf die Neutralisation mit Amberlite verzichtet wurde, herrscht während der gesamten Syntheseroute ein basisches Milieu, weswegen der Zerfall eventuell auf der Stufe des Intermediats **154** zum Erliegen kommt. Diese Vermutung würde sich mit den erhaltenen Ergebnissen während der Optimierung decken. Hierbei wurde das Nebenprodukt nur in den Fällen erhalten, in denen auf die Neutralisation mittels Amberlite verzichtet wurde. Durch Verwendung von Amberlite mit einhergehender Neutralisation bzw. eventuellem Ansäuern der Reaktionslösung, wurde dieses Nebenprodukt nicht detektiert. Unter diesen Umständen wurde ausschließlich das Nucleotid (CMP **24**) erhalten. Dieses ist allerdings nur eine Vermutung und lässt sich zum jetzigen Zeitpunkt nicht weiter belegen.

Nach der erfolgreich durchgeführten Optimierung des Syntheseprotokolls zur Darstellung der CMP-Neu5Ac **10**, sollte dieses auf die Verwendung von modifizierten Neuraminsäure-Derivaten zur Kupplung mit der *cycloSal*-Verbindung übertragen werden. Hierbei sollten verschiedene Modifikationen an der Aminofunktion angebracht werden und somit Derivate der CMP-*N*-Acetylneuraminsäure dargestellt werden. Dieses wird im folgenden Abschnitt beschrieben.

4.6.2 Darstellung der modifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate

CMP-Neu5Ac **10** stellt als aktivierter Sialinsäuredonor ein besonders interessantes Zielmolekül für pharmakologische Studien dar. Modifikationsmöglichkeiten ergeben sich vor allem durch die Wahl des sich an der Aminofunktion befindenden Acetyl-Rests. Hier ist neben dem gebräuchlichen Acetyl-Rest (**11**) auch häufig ein Glycolyl-Rest (**12**) zu finden. Aus diesem Grund sollten modifizierte Neuraminsäure-Derivate synthetisiert werden. Die daraus erhaltenen CMP-Neuraminsäure-Derivate sollten von einem Kooperationspartner in biochemischen Tests angewendet werden. Bei den gewünschten Modifikationen handelt es sich um die *N*-Propanoyl- (**110**), die *N*-Butanoyl- (**111**) und die *N*-Pentanoyl-Gruppe (**112**) sowie die *N*-Cyclopropylcarbonyl-Gruppe (**113**). Die Darstellung der modifizierten Nucleophile mit den eben genannten Resten wurde bereits in Abschnitt 4.3.2 (Seite 65-70) detailliert beschrieben.

Zur Kupplung wurde das im Vorfeld optimierte Syntheseprotokoll angewendet, weshalb auf die genaue Durchführung an dieser Stelle nicht mehr eingegangen werden soll. Es konnten in allen Fällen die sauberen Produkte erhalten werden. Die Ausbeuten lagen allerdings zum Teil unter der Ausbeute von 85%, die für die unmodifizierte CMP-Neu5Ac **10** erhalten wurde. Zum einen ist dies eventuell auf die nicht ganz so hohe Qualität der dargestellten modifizierten Bausteine zurückzuführen. Zum anderen wurden die Synthesen mit den jeweiligen modifizierten Nucleophilen der Neuraminsäure lediglich einmal durchgeführt. Die Reaktionssequenz zur unmodifizierten CMP-Neu5Ac **10** wurde aufgrund der Optimierung in zahllosen Wiederholungen erprobt. Außerdem wurden die bei der Chromatographie erhaltenen Mischfraktionen der modifizierten Kupplungsprodukte nicht erneut chromatographiert, was bei den erhaltenen Mischfraktionen der CMP-Neu5Ac **10** zum Teil der Fall war, weshalb hier die Ausbeuten selbstverständlich höher sind.

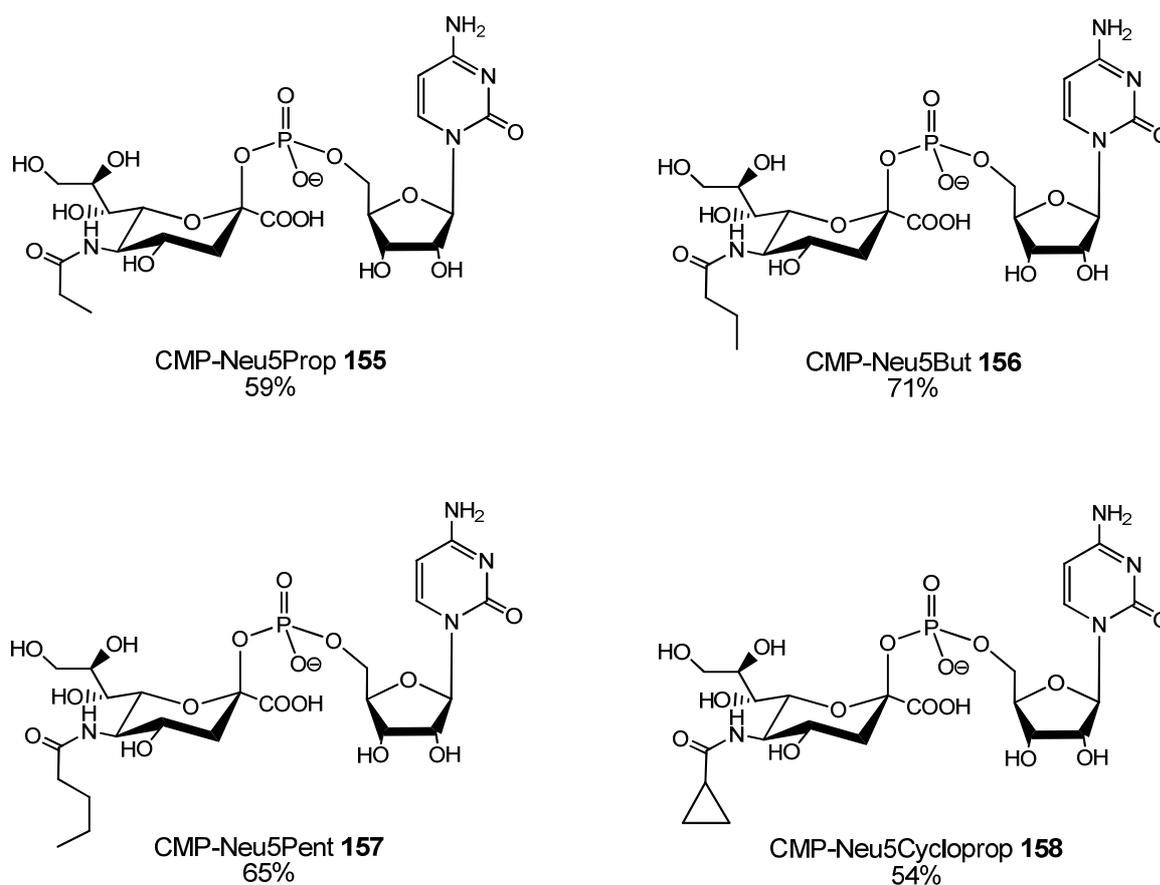


Abbildung 113: Modifizierte CMP-Neuraminsäure-Derivate

Die Abbildung 113 zeigt die erhaltenen, modifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate. Die Cylopropylcarbonyl-Modifikation lieferte mit 54% die geringste der Ausbeute. Ebenso hinter der Erwartung zurück blieb die Propanoyl-Modifikation mit einer Ausbeute von 59%. Lediglich die Ausbeuten der CMP-Neu5But **156** und CMP-Neu5Pent **157** lagen mit 71% und 65% im Bereich der Erwartungen.

Es sei jedoch festgehalten, dass trotz der geringeren Ausbeuten im Vergleich zur unmodifizierten Zielverbindung die Ausbeuten für eine solche Art von labilen Verbindungen, die zudem noch Modifikationen beinhalten, durchaus zufriedenstellend sind und einen großen Erfolg darstellen.

Diese Ergebnisse sollen nun in Bezug zu bereits publizierten Arbeiten von *Wong et al.*^[131] und *Chen et al.*^[43] gesetzt werden. *Wong et al.* setzten bereits an der Aminofunktion modifizierte Neuraminsäure-Bausteine ein, die nach dem von *Halcomb et al.*^[46] (siehe Abschnitt 2.2.2.2, Seite 16) publizierten Weg zu den entsprechend modifizierten Derivaten der CMP-Neuraminsäure umgesetzt wurden. Hierbei konnte die unmodifizierte Verbindung **10** in einer Ausbeute von 25% erhalten werden. Als Modifikationen wurden *N*-Glycolyl-Neuraminsäure (Neu5Gc), *N*-*tert*-Butoxycarbonylamino-Neuraminsäure (Neu5Boc) sowie Neuraminsäure mit einer Azid-Gruppe an der 5-Position verwendet. Die Ausbeuten lagen bei 27%, 26% und 9%. Im Vergleich hierzu liegen die mit der *cycloSal*-Methode erzielten Ausbeuten deutlich darüber. *Chen et al.* verwendeten eine chemoenzymatische Methode, die auf der Verwendung von modifizierten Derivaten des *N*-Acetyl-Mannosamins beruht. Diese modifizierten Derivate werden in einer chemoenzymatischen Synthese zu den entsprechenden *N*-modifizierten Derivaten der CMP-Neuraminsäure umgesetzt. Unter den drei verwendeten Enzymen konnte lediglich mit der CMP-Neuraminsäure-Synthetase aus *Neisseria meningitidis* eine zufriedenstellende Umsetzung für alle verwendeten Modifikationen erreicht werden. Mit dieser Methode konnten gute synthetische Ausbeuten erhalten werden, die sich auf Werte im Bereich um 80% beliefen. Allerdings können auch bei dieser enzymatischen Synthese die Nachteile in der begrenzten Bioverfügbarkeit des Enzyms liegen. Zum Anderen könnte es möglich sein, dass bestimmte Derivate nicht von diesem Enzym umgesetzt werden und somit einige Modifikationen nicht auf diesem chemoenzymatischen Weg zugänglich sind.

4.6.3 Biochemische Tests unter Verwendung einer Polysialyltransferase

Die biochemischen Tests wurden an der Medizinischen Hochschule Hannover am Institut für Zelluläre Chemie in der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Gerardy-Schahn durchgeführt. Hierzu wurde eine Polysialyltransferase (MBP-PST) verwendet, die in *Neisseria meningitidis* (Meningokokken) vorkommt.^[132] Dies sind gramnegative Bakterien, die als Diplokokken auftreten.^[133] Diplokokken sind paarweise gelagerte kugelförmige Bakterien. Meningokokken besiedeln den Nasen-Rachen-Raum beim Menschen und können schwere Krankheiten auslösen. Die Meningokokken-Familie besteht aus 13 verschiedene Typen, die sich aufgrund ihrer Oberflächenstruktur unterscheiden.^[134] Diese Oberflächenstruktur besteht unter anderem aus speziellen Zuckermolekülen. In Deutschland sind bislang drei Impfstoffe erhältlich, die im Wesentlichen auf aus dem Bakterium *Neisseria meningitidis* isolierten Oberflächen von Poly- bzw. Oligosacchariden basieren.

Die Polysialyltransferase gehört zur Familie der Glycosyltransferasen. Als Donor wird hier die *monophosphat-verbrückte* CMP-Neuraminsäure **10** verwendet. Die Neuraminsäure-Reste werden dabei durch das Enzym auf eine wachsende Kette übertragen, welche als Akzeptor fungiert. Im Fall einer Sialyltransferase, die eine α -2,8-Verknüpfung hervorruft, wird die Polysialinsäure (PolySia) erhalten. Dabei handelt es sich um ein unverzweigtes Polymer, welches einen Polymerisationsgrad von bis zu 200 Resten besitzt. Es ist ein polyanionisches Molekül und liegt in einer helikalen Konformation vor. In Abbildung 117 ist schematisch die Übertragung der Sialinsäure-Reste (Sia) durch die Polysialyltransferase gezeigt.

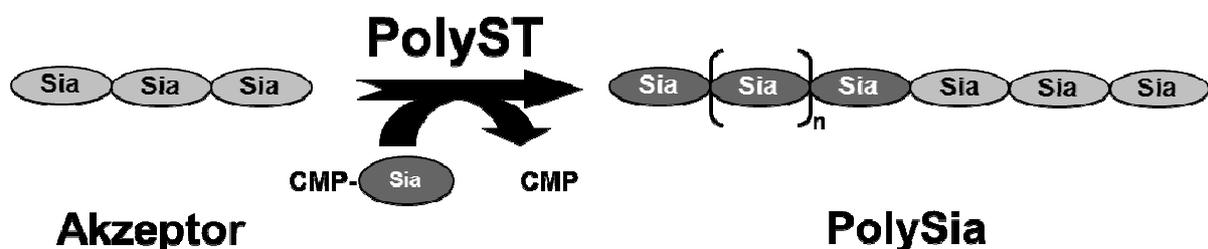


Abbildung 117: Schematische Darstellung der Übertragung von Sia durch die Polysialyltransferase

Ziel dieser biochemischen Tests war es, den Einfluss der verschiedenen CMP-Neuraminsäure-Derivate zu untersuchen. Hierbei sollte zunächst überprüft werden, ob die selbst synthetisierte CMP-Neu5Ac **10** in gleicher Weise von dem Enzym erkannt und umgesetzt wird, wie die Substanz, die von Sigma-Aldrich bezogen wurde. Hieraus sollten Rückschlüsse auf Reinheit und Qualität der Verbindung gezogen werden. Zudem sollte überprüft werden, ob die bei der Synthese verwendeten Schutzgruppen (Acetylgruppen und Methylester) Auswirkungen auf die PolyST haben. In einem letzten Experiment sollten dann die modifizierten CMP-Neu5X-Derivate **155-158** eingesetzt werden, um eventuelle Einflüsse der verschiedenen Reste der Aminofunktion zu erforschen.

In den durchgeführten Experimenten sollte der fluoreszenzmarkierte Akzeptor **159** verwendet werden, um eine Detektion mittels UV-Absorption zu ermöglichen. Somit sollte die Verfolgung der Arbeitsweise der PolyST durch die HPLC realisierbar sein.

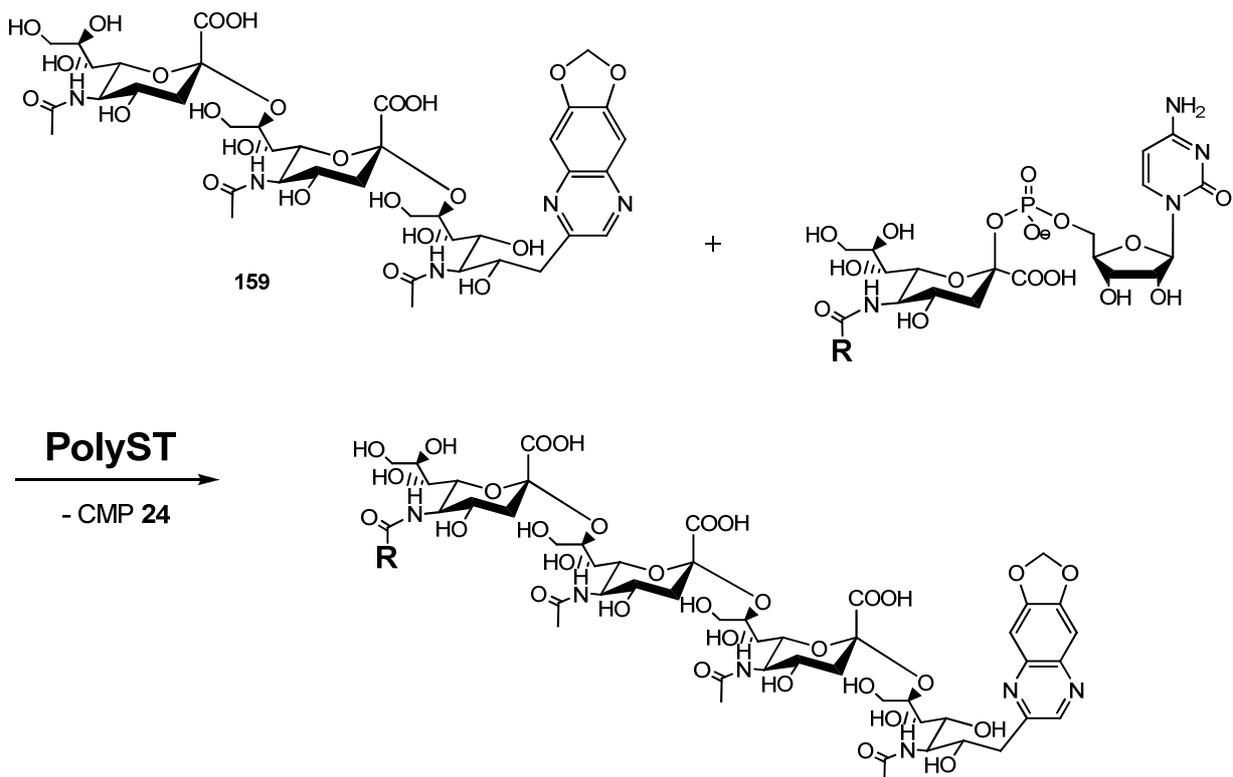


Abbildung 118: Reaktionsschema zum Ablauf der möglichen Übertragung durch die PolyST

Zur Durchführung des Experiments wurde ein Assay aus dem Akzeptor **159**, dem jeweiligen synthetisierten Derivat und der PolyST in einem Puffer bestehend aus Tris/HCl (pH 7), MgCl₂, KCl und Glycerol angesetzt. Es wurden Proben nach

1 Minute, 5 Minuten, 10 Minuten, 30 Minuten und 60 Minuten sowie nach 24 Stunden Inkubationszeit genommen. Die entnommenen Proben wurden in einen Stop-Puffer bestehend aus Tris/Hcl (pH 8) und EDTA gegeben und eingefroren. Durch Erwärmung auf 50 °C für 10 Minuten und anschließende Zentrifugation für 20 Minuten wurden die Proben aufbereitet und konnten im Anschluss mittels HPLC vermessen werden. Hierfür diente die Säule CarboPac PA-100 (Dionex) als stationäre Phase und eine Gemisch aus zwei Puffern (20mM NaNO₃, 1M NaNO₃) als Eluent.

Bei den zu untersuchenden Verbindungen handelte es sich zum einen um die vollständig geschützte CMP-Neu5Ac **152**, den Methylester **153** dieser Verbindung sowie das vollständig entschützte Produkt **10**. Zum anderen sollten die vier modifizierten Derivate der CMP-Neuraminsäure **155-158** untersucht werden (siehe Abbildung 119). Als Vergleichsprobe diente die kommerziell erhältliche CMP-Neu5Ac **10**, die von Sigma-Aldrich bezogen wurde.

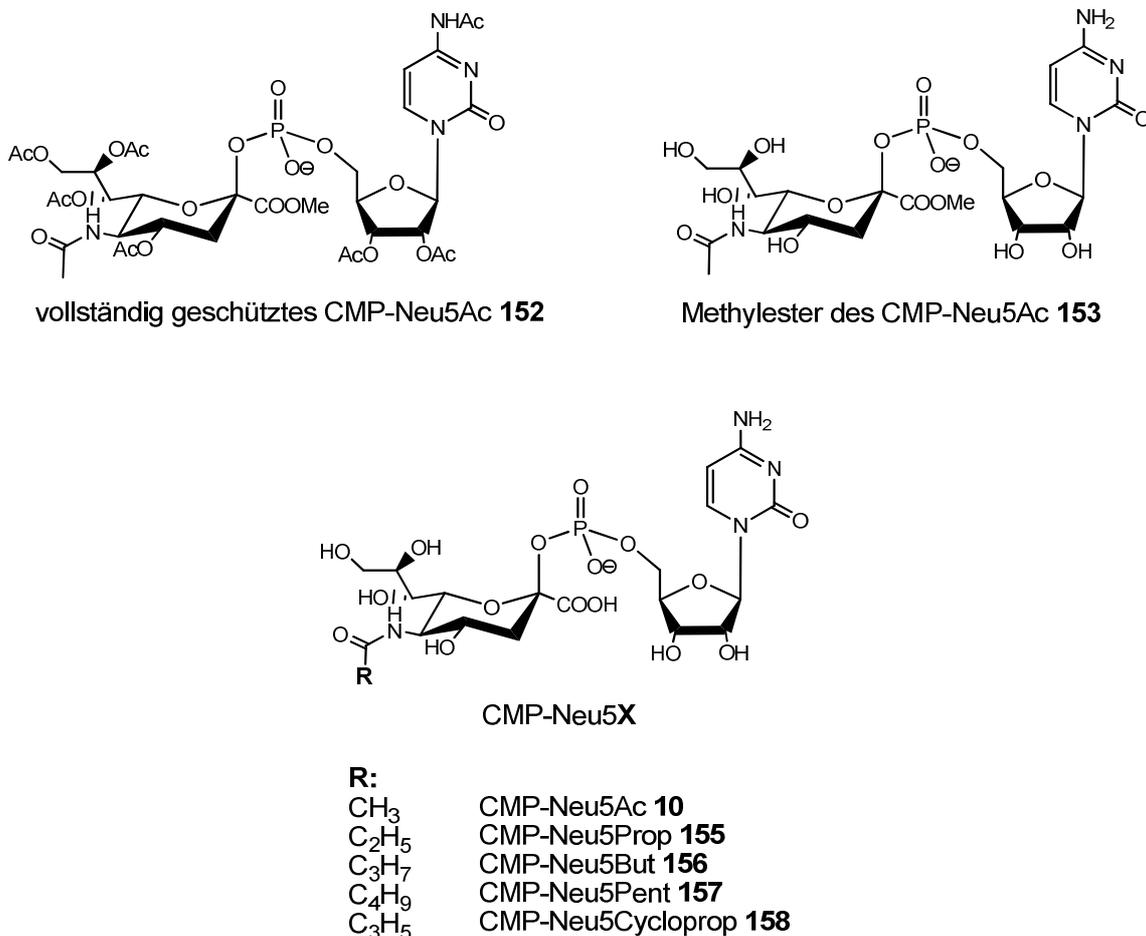


Abbildung 119: Derivate der CMP-Neuraminsäure für die biochemischen Tests

Die Chromatogramme, die für die vollständig entschützte CMP-Neu5Ac **10** erhalten wurden, zeigen die bereits bekannten Verläufe. Hierbei wird deutlich, dass ein Neuraminsäure-Rest auf den Akzeptor übertragen wird und dass die nächste Übertragung entweder auf denselben erfolgen kann oder ein neues Molekül des Akzeptors verlängert wird. Dies geschieht in Folge in gleicher Weise, weshalb die charakteristischen Chromatogramme entstehen.

Abbildung 121 zeigt die Chromatogramme für die Substanz bezogen von Sigma-Aldrich. Das Chromatogramm nach 1 Minute Inkubationszeit (schwarz) zeigt fast ausschließlich den Akzeptor **159** (**x** in der schematischen Darstellung in Abbildung 120) bei einer Retentionszeit von 2.4 Minuten. Nach 5 Minuten Inkubationszeit weist das Chromatogramm (gelb) eine deutliche Übertragung auf den Akzeptor **159** (bzw. **x**) und auf bereits verlängerte Akzeptoren (**x + 1**, **x + 2** usw.) auf wodurch sich die Retentionszeiten verlängern. In den Chromatogrammen nach 10 Minuten Inkubationszeit (blau) bzw. 30 Minuten Inkubationszeit (grün) ist das Fortschreiten dieses Prozesses zu erkennen. Nach 60 Minuten Inkubationszeit zeigt das Chromatogramm (rot) lediglich geringe Mengen des eingesetzten Akzeptors **159** (bzw. **x**) an. Da durch mehrfache Übertragungen eine Vielzahl von unterschiedlich verlängerten Verbindungen (**x + n**) entstanden ist, lassen sich keine einzelnen Maxima mit konkreten Retentionszeiten mehr entnehmen und es ist lediglich ein breites Maximum in einem Bereich von 17-21 Minuten zu erkennen.

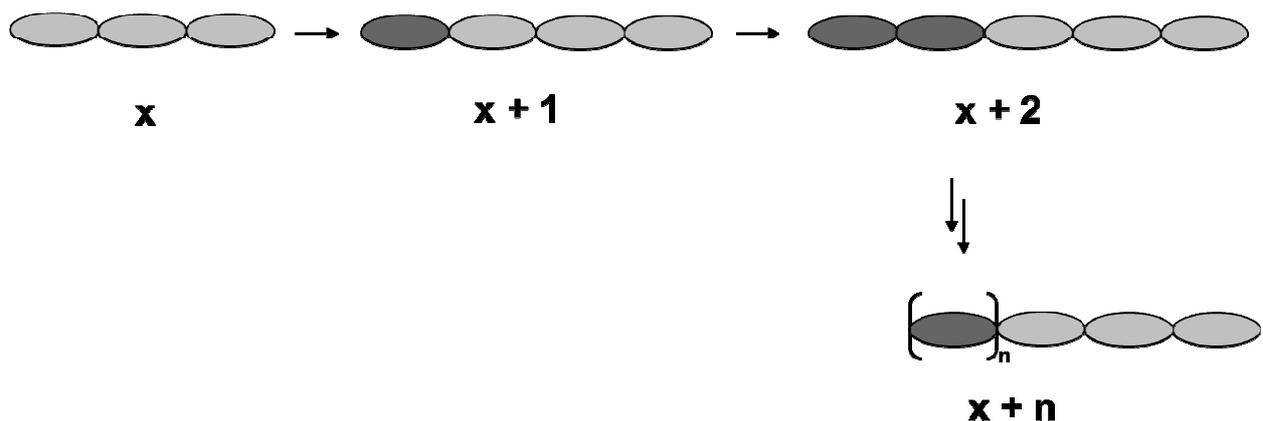


Abbildung 120: Schematische Darstellung der Übertragung

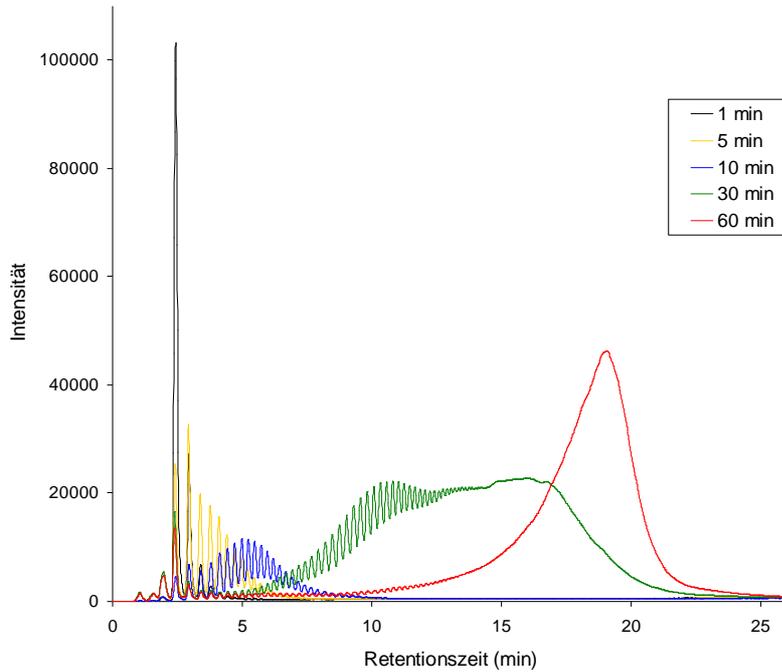


Abbildung 121: HPLC-Chromatogramme der CMP-Neu5Ac **10**, bezogen von Sigma-Aldrich

Die Abbildung 122 zeigt das Chromatogramm für die selbst synthetisierte Verbindung. Es ist zu erkennen, dass die gleichen Verläufe erhalten werden, die Übertragung der selbst synthetisierten Substanz allerdings eine etwas längere Zeit benötigt. Da die jeweiligen Experimente jedoch nur als Einzelbestimmungen durchgeführt wurden, lässt sich an dieser Stelle noch keine generelle Aussage zu diesen Ergebnissen ableiten.

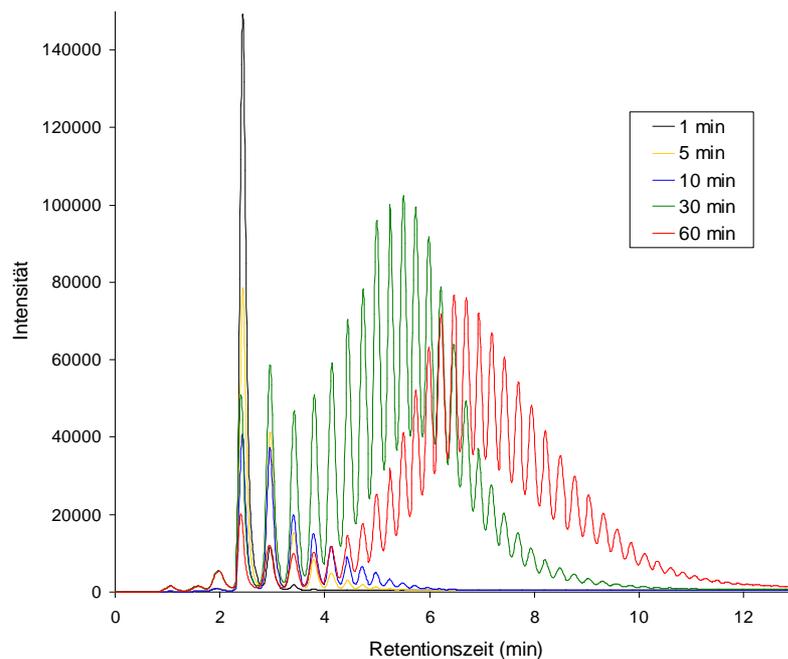


Abbildung 122: HPLC-Chromatogramme der selbst synthetisierten CMP-Neu5Ac **10**

Im Folgenden wurden in gleicher Weise das vollständig geschützte CMP-Neu5Ac-Derivat **152** sowie der Methylester der CMP-Neu5Ac **153** behandelt. Die Chromatogramme zeigen beim Methylester **153** zwar eine minimale Übertragung des Neuraminsäure-Rests an, allerdings fand dieser extrem verlangsamt statt. Bei dem vollständig geschützten Produkt **152** kam es hingegen zu keiner Übertragung (Abbildung 123).

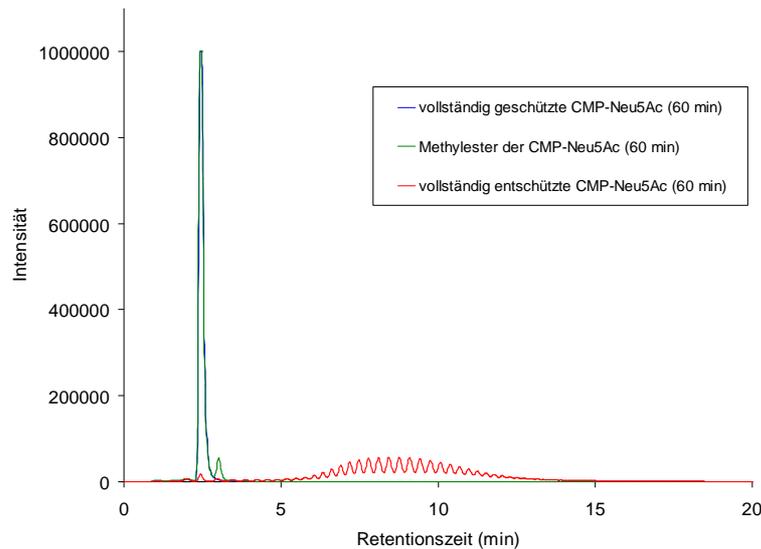


Abbildung 123: HPLC-Chromatogramme der CMP-Neu5Ac-Derivate **152** und **153**

Nun war es sehr interessant, die Acyl-modifizierten Derivate zu untersuchen. Hierfür wurde dasselbe Experiment durchgeführt. Die Chromatogramme für die vier modifizierten Verbindungen **155-158** sind in Abbildung 124 dargestellt.

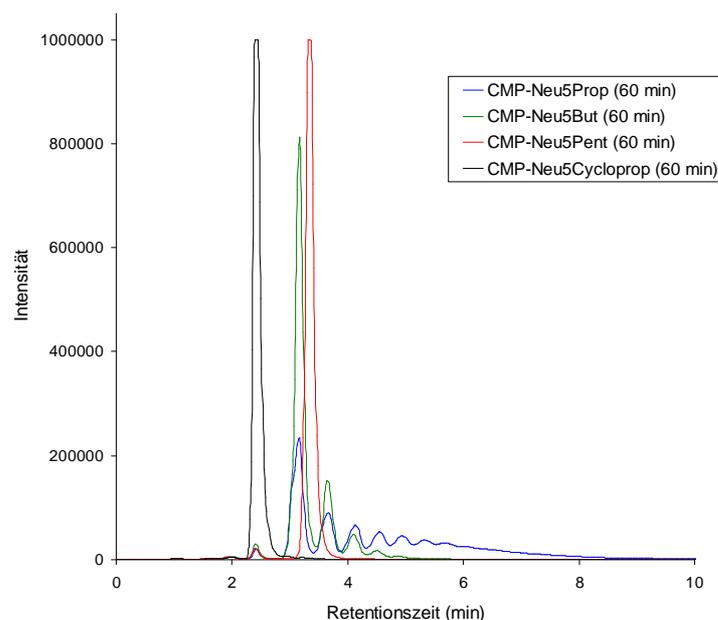


Abbildung 124: HPLC-Chromatogramme der modifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate

In diesem Fall wird deutlich, dass die Übertragung für die Propanoyl-Modifikation **155** (blau) und die Butanoyl-Modifikationen **156** (grün) zwar langsamer stattfindet, diese Modifikationen aber eine Übertragung zulassen. Das Ergebnis entspricht ebenso den Erwartungen, da es sich bei diesen beiden Modifikationen um die weniger prägnanten handelt. Im Fall der Cyclopropylcarbonyl-Modifikation **158** (schwarz) ist eindeutig zu erkennen, dass keine Übertragung stattfindet und das Substrat somit aller Wahrscheinlichkeit nach nicht vom Enzym erkannt und umgesetzt wird. Auch dieses Ergebnis ist nachvollziehbar, da es sich bei dieser cyclischen Modifikation um eine signifikante Modifikation handelt. Im Fall der Pentanoyl-Modifikation **157** (rot) trat ein überraschendes Ergebnis ein: Die erste Übertragung fand in gewohnter Weise statt, allerdings stoppte die Übertragung danach. Es bleibt noch zu klären, ob es sich bei $x + 1$ (vgl. Abbildung 120), um ein Derivat handelt, welches das Enzym nicht mehr als Akzeptor erkennt, oder ob der sterisch anspruchsvollere Rest an der Aminofunktion eine zweite Übertragung verhindert, da der Raumanspruch dieses nicht zulässt.

Aus den Ergebnissen der biochemischen Tests wird deutlich, wie interessant die Verwendung von modifizierten Derivaten der Zuckernucleotide sein kann und zu welch unerwarteten Ergebnissen diese führen können.

5 Fazit

Aus den beschriebenen Ergebnissen lässt sich ablesen, dass die Methode zur Darstellung von NDP-Pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden eine breite und nahezu allgemeingültige Anwendbarkeit besitzt. Es konnte gezeigt werden, dass sich neben den natürlichen Zuckernucleotiden die verschiedensten modifizierten Zielverbindungen synthetisieren lassen.

Das optimierte Syntheseprotokoll zur Darstellung von NDP-Pyranosen wurde dafür in dieser Arbeit zunächst auf die Darstellung weiterer natürlich vorkommender CDP-Pyranosen und ADP-Pyranosen ausgebaut. Zudem gelang im weiteren Verlauf die Darstellung modifizierter NDP-Pyranosen, wobei sich die Modifikation sowohl am Nucleosid wie auch an der Pyranose befinden konnte. Außerdem wurde eine Grundlage zur Darstellung des pharmazeutisch angewendeten CDP-Cholins geschaffen, bei welcher der Pyransoyl-Rest gegen den Cholin-Rest getauscht wurde und es sich somit um eine sehr prägnante Modifikation handelte. Ebenso bedeutend ist die Einführung einer Modifikation an bereits synthetisierten NDP-Pyranosen, welches ebenfalls in dieser Arbeit gelang.

Die spätere Übertragung des Konzeptes auf die Darstellung *monophosphat*-verbrückter Zuckernucleotide gelang nach aufwendiger Optimierung ebenfalls für die natürlich vorkommende CMP-Neu5Ac **10** sowie für modifizierte CMP-Neuraminsäure-Derivate. Es konnte somit wiederum das breite Synthespektrum dieser Methode belegt werden. Zudem werden durch die anschließenden biochemischen Tests neue Anwendungsgebiete für diese Verbindungen erschlossen.

6 Zusammenfassung

In ihrer aktivierten Form liegen die Grundbausteine der Kohlenhydrate als so genannte Zuckernucleotide vor. Dabei handelt es sich um Verbindungen, in denen eine Pyranose über eine Phosphat- oder Pyrophosphat-Einheit mit einem Nucleosid verbunden ist. In den meisten Fällen handelt es sich bei Zuckernucleotiden um Nucleosid*D*iphosphat-Pyranosen (NDP-Pyranosen). Der Glycosylrest wird in diesen durch die anomere Phosphatestergruppe für enzymatische Übertragungsreaktionen aktiviert. Der Nucleosidrest dient diesen Enzymen - meist Glycosyltransferasen - als zusätzliches Erkennungsmerkmal für die spezifische Umsetzung. Eine Aktivierung als Nucleosid*Mono*phosphat-Pyranose (NMP-Pyranose) erfolgt im Allgemeinen bei 3-Desoxy-2-Glyculosonaten, wie Sialinsäure-verknüpften Verbindungen. Als wichtigster Vertreter sei hier die CMP-*N*-Acetylneuraminsäure **10** genannt, deren Glycon-Rest in jeder Spezies zu finden ist. Da Sialinsäuren in höheren Tieren und einigen Mikroorganismen häufig als terminale Kohlenhydrate in Glycokonjugaten vorkommen und hier entscheidende biologische Funktionen erfüllen, stellt CMP-Neu5Ac **10** als aktivierter Sialinsäuredonor ein besonders interessantes Zielmolekül für pharmakologische Studien dar.

Aufgrund der großen biologischen und pharmakologischen Bedeutung der Zuckernucleotide wird deutlich, dass eine generell anwendbare und vor allem effiziente und zuverlässige Synthesemethode zur Darstellung derartiger Verbindungen von großem Interesse ist. Die in unserer Arbeitsgruppe entwickelten *cycloSal*-Nucleotide stellen als reaktive Phosphatdonatoren sehr aussichtsreiche Schlüsselverbindungen für eine Methode zur Synthese solcher Verbindungen dar, die die genannten Bedingungen erfüllt. Durch einen nucleophilen Angriff von beispielsweise deprotonierten Pyranosen oder Pyranose-Phosphaten ergeben sich als Produkte *mono*- oder *diphosphat*verbrückte Zuckernucleotide. In eigenen Vorarbeiten konnte ein optimiertes Syntheseprotokoll zur Darstellung von NDP-Pyranosen entwickelt werden. Hierbei wird eine konvergente Synthesestrategie angewendet, welche grundsätzlich auf der Verwendung von zwei Bausteinen beruht. Im Allgemeinen ist einer dieser Bausteine das jeweilige 5-Nitro-*cycloSal*-Nucleotid, welches je nach eingesetztem Nucleophil die unterschiedlichsten Zielverbindungen ergeben kann.

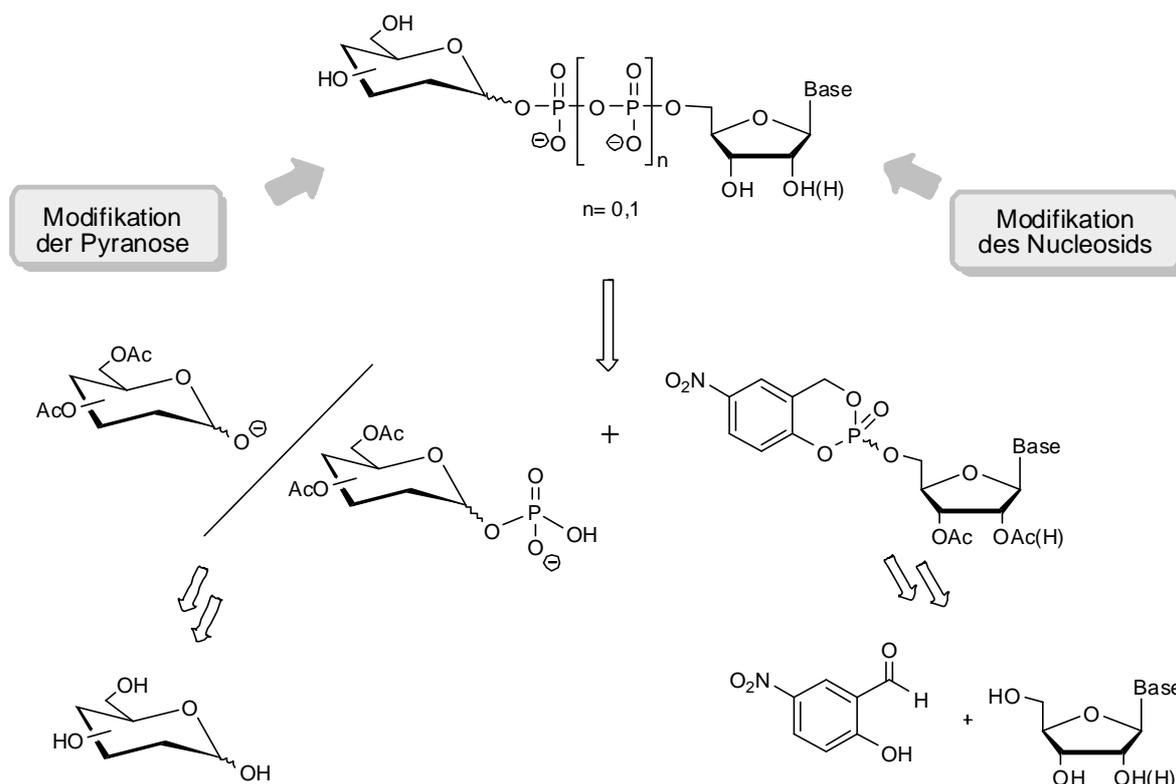


Abbildung 116: Darstellung von Zuckernucleotiden mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden

Die Darstellung der *cycloSal*-Nucleotide wurde durch Umsetzung der reaktiven P(III)-Verbindung – dem *cycloSal*-Chlorphosphit – mit geschützten Nucleosiden und anschließender Oxidation mit Oxone[®] erreicht. Hierfür wurde der 5-Nitro-Salicylaldehyd durch Reaktion mit Natriumborhydrid zum entsprechenden Salicylalkohol reduziert, welcher wiederum durch Umsetzung mit Phosphor(III)-Chlorid das *cycloSal*-Chlorphosphit lieferte. Die geschützten Nucleoside wurden durch eine orthogonale Schutzgruppenstrategie erhalten, bei der die Nucleoside als Ausgangsverbindungen dienten. Nach der Blockierung der 5'-Hydroxygruppe mit TBDMS-Cl wurden die verbleibenden funktionellen Gruppen durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Die abschließende Spaltung des Silylethers durch Triethylamin-Trihydrofluorid lieferte die 5'-Hydroxy-freien geschützten Nucleoside (Abschnitt 4.2, Seite 26-36).

Die Darstellung der Pyranosyl-Phosphate gelang auf zwei unterschiedlichen Wegen. Die Phosphoramidit-Methode sollte durch Umsetzung mit *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit **66** die benzylgeschützten Phosphate als anomere Mischung liefern, die mittels Säulenchromatographie voneinander getrennt werden konnten. Durch die abschließende hydrogenolytische Spaltung der Schutzgruppen

wurden die reinen α -Phosphate erhalten. Die Königs-Knorr-Methode lieferte einen Zugang zu den β -Phosphaten, indem die peracetylierten Pyranosen in die entsprechenden Bromide überführt wurden, welche mit Dibenzylphosphat umgesetzt wurden. Durch die Verwendung der Acetyl-Schutzgruppen wurden durch den Nachbargruppeneffekt ausschließlich die benzylgeschützten β -Phosphate erhalten, welche wiederum einer hydrogenolytischen Spaltung der Schutzgruppen unterzogen wurden (Abschnitt 4.3, Seite 37-62).

Die in eigenen Vorarbeiten optimierte Methode sollte nun zunächst zur Darstellung zahlreicher NDP-Pyranosen dienen. Hierbei sollten zuerst natürliche Pyranosen und Nucleoside verwendet werden. Im Anschluss sollte diese Route auch auf analoge Verbindungen übertragen werden, wobei zum einen Modifikationen an der Pyranose, zum anderen Variationen auf der Nucleosid-Seite Anwendung finden sollten. Dieses sollte aus zwei Gründen erfolgen: Zum einen sollte durch die Umsetzung modifizierter Bausteine die Allgemeingültigkeit der Syntheseroute bewiesen werden. Zum anderen verspricht der Einsatz modifizierter Zuckernucleotide interessante biologische Anwendungsbereiche.

Zunächst wurden dementsprechend die Cytidin- und Adenosin-Derivate der natürlich vorkommenden NDP-Pyranosen synthetisiert, wobei durchweg sehr gute Ausbeuten von bis zu 88% erreicht wurden (Abschnitt 4.4.1, Seite 71-76).

Um modifizierte NDP-Pyranosen zu erhalten, wurden die Nucleosidanaloga AZT **32**, d4T **31**, ddT **55**, *isoddA* **53** und *carba-isoddA* **54** verwendet. Die resultierenden *cycloSal*-Verbindungen **58-62** wurden nach dem Standardprotokoll umgesetzt, wodurch die entsprechenden modifizierten Zielverbindungen **135-140** synthetisiert werden konnten. Die Darstellung gelang für alle Verbindungen, wobei für die d4T-Derivate Ausbeuten im gleichen Bereich wie für die unmodifizierten Derivate erhalten werden konnten. Für die anderen Derivate wurden niedrigere Ausbeuten erzielt, was an der geringfügig schlechteren Qualität der *cycloSal*-Verbindungen liegen könnte (Abschnitt 4.4.2.1, Seite 78-80).

Für die Darstellung der NDP-Pyranosen mit modifizierten Pyranosen wurden die im Vorfeld synthetisierten Phosphate der L-Galactose, der fluorierten Glucose, Galactose und Mannose sowie der Sulfoquinovose verwendet. Dabei konnte UDP- β -L-Galactose **142** in einer Ausbeute von 63% erhalten werden. Die Synthese

der fluorierten NDP-Pyranosen lieferte die Zielverbindungen der Glucose und der Galactose als Anomerengemische, da die Phosphate leider ebenfalls nur als Anomerengemische erhalten werden konnten. Das jeweilige α/β -Verhältnis der eingesetzten Phosphate blieb dabei in den Zuckernucleotiden bestehen. Die Ausbeuten für das Glucose-Derivat **143** und das Galactose-Derivate **144** waren mit 72% und 91% sehr gut. Das Mannose-Derivat **145** ergab lediglich eine Ausbeute von 52%. Die Darstellung der UDP- α -D-Sulfoquinovose **141** gelang lediglich in einer moderaten Ausbeute von 48%. Ein Grund hierfür ist neben der zusätzlichen negativen Ladung an der 6-Position sicherlich die schlechte Löslichkeit des eingesetzten Pyranosyl-Phosphats (Abschnitt 4.4.2.2, Seite 80-83).

Um in biochemischen Tests den Einfluss eines Sulfo-Substituenten mit dem Einfluss einer Sulfat-Gruppe vergleichen zu können, sollte zusätzlich die Sulfat-Gruppe eingeführt werden. Dieses gelang durch Synthese der unmodifizierten UDP- α -D-Glucose **1** (75%) und anschließender Sulfatierung der 6-Position durch den Schwefel-Trioxid-Pyridin-Komplex. Die Einführung einer Modifikation an bereits synthetisierten NDP-Pyranosen gelang somit ebenso in dieser Arbeit (Abschnitt 4.4.3, Seite 84-85).

Außerdem wurde eine Grundlage zur Darstellung des pharmazeutisch bereits angewendeten CDP-Cholins **147** geschaffen, bei welcher der Pyranosyl-Rest gegen den Cholin-Rest getauscht ist (Abschnitt 4.5, Seite 86-89).

Aus den beschriebenen Ergebnissen lässt sich ablesen, dass die Methode zur Darstellung von NDP-Pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden eine breite und allgemeingültige Anwendbarkeit besitzt. Es konnte gezeigt werden, dass sich neben den natürlichen Zuckernucleotiden die verschiedensten modifizierten Zielverbindungen synthetisieren lassen. Dabei bewegen sich die Ausbeuten meist im selben Bereich wie für die unmodifizierten Derivate und liegen nur in einigen Fällen unter den Erwartungen. Bei diesen Synthesen stellte weniger die abschließende Kupplung den limitierenden Faktor dar, als die Synthesen der separierten α - und β -Pyranosyl-Phosphate.

Durch Übertragung des Syntheseprotokolls auf die Darstellung von *NMP*-Pyranosen konnte *CMP-N*-Acetylneuraminsäure **10** dargestellt werden. Dieses gelang nach Optimierung in einer sehr guten Ausbeute von 85% (Abschnitt 4.6.1, Seite 91-102). Durch Verwendung modifizierter Bausteine für die Kupplungsreaktion konnten zusätzlich modifizierte *CMP*-Neuraminsäure-Derivate erhalten werden, die sich in den Acyl-Resten an der Aminofunktion unterschieden. Bei den Modifikationen handelte es sich um die *N*-Propanoyl- (**110**), die *N*-Butanoyl- (**111**) und die *N*-Pentanoyl-Gruppe (**112**) sowie die *N*-Cyclopropylcarbonyl-Gruppe (**113**). Die Ausbeuten lagen allerdings mit 54% bis 71% unter der Ausbeute, die für die unmodifizierte *CMP*-Neu5Ac **10** erhalten wurde. Es sei jedoch festgehalten, dass trotz der geringeren Ausbeuten im Vergleich zur unmodifizierten Zielverbindung die Ausbeuten für eine solche Art von labilen Verbindungen, die zudem noch Modifikationen beinhalten, sehr zufriedenstellend sind (Abschnitt 4.6.2, Seite 102-104).

Durch die Verwendung der Derivate in biochemischen Tests konnten interessante Ergebnisse erhalten werden. Die *N*-Propanoyl- und *N*-Butanoyl-modifizierten Verbindungen **155** und **156** wurden in gleicher Weise wie die unmodifizierte *CMP*-Neu5Ac **10** durch das Enzym PolyST auf den Akzeptor übertragen. Diese Übertragung fand allerdings deutlich verlangsamt statt. Die *N*-Cyclopropylcarbonyl-modifizierte Verbindung **158** wurde aller Wahrscheinlichkeit nach nicht vom Enzym erkannt und somit nicht umgesetzt. Im Fall der *N*-Pentanoyl-Gruppe fand die erste Übertragung in gewohnter Weise statt, allerdings stoppte die Übertragung danach (Abschnitt 4.6.3, Seite 105-111). Durch den Einsatz weiterer modifizierter Verbindungen können sich somit die verschiedensten Anwendungsgebiete ergeben.

Durch diese Arbeit wurde somit eine generell anwendbare Syntheseroute geschaffen, die die Darstellung von Zuckernucleotiden und ihren auf verschiedenste Weise modifizierten Derivaten in kurzer Reaktionszeit mit guten bis sehr guten Ausbeuten und in anomenreiner Form ermöglicht.

7 Summary

In their activated form the basic modules of carbohydrates are sugar nucleotides. These are compounds built of pyranoses and nucleosides which are linked via a phosphate- or a diphosphate-bridge. In most cases, sugar nucleotides are nucleoside *diphosphate*-pyranoses (NDP-pyranoses), in which the anomeric phosphate ester group activates the glycosyl residue for enzymatic reactions. The nucleoside residue serves these enzymes - mostly glycosyltransferases - as an additional feature for identification in specific conversions. Activation as a nucleoside *monophosphate*-pyranose (NMP-pyranoses) occurs in general using 3-deoxy-2-glycurosonates, like sialic acid-linked compounds. The most representative substance for monophosphates-linked sugar nucleotides is the CMP-*N*-acetyl neuraminic acid **10**. The glycon residue of this compound is found in every species. In all higher mammals and a few micro organisms terminal carbohydrates in glycol conjugates are often sialic acids. This is the reason for the high importance of these compounds and their essential biological functions. As an activated sialic acid donor, CMP-Neu5Ac **10** is a highly important target molecule for pharmacological studies.

Due to the great biological and pharmacological relevance of sugar nucleotides, a generally applicable and, above all, efficient and reliable synthetic method for the preparation of such compounds is of great interest. The *cycloSal*-nucleotides developed in our group are, key intermediates for a synthesis of such substances. This method fulfils all mentioned conditions. *Mono*- or *diphosphate*-linked sugar nucleotides are formed by a nucleophilic attack of deprotonated pyranoses or pyranosyl-phosphates. In my own preliminary work an optimized synthetic protocol was developed. A convergent strategy is applied, which uses two building blocks. Generally, one of those is the 5-nitro-*cycloSal*-nucleotide. Depending on the used nucleophile, various numbers of target structures can be obtained.

Preparation of *cycloSal*-nucleotides was achieved by conversion of the reactive P(III)-compound - *cycloSal*-chlorophosphite - with a protected nucleoside followed by oxidation with oxone[®]. For this purpose, 5-nitro-salicyl aldehyde was reduced with sodium borohydride to the corresponding salicyl alcohol, which is converted into *cycloSal*-chlorophosphite by reaction with phosphorous(III)-chloride.

Protected nucleosides were obtained via an orthogonal strategy, starting from the nucleosides. After blocking of the 5'-hydroxyl function with TBDMS-Cl, all remaining functional groups were acetylated with acetic anhydride. Final cleavage of silyl ethers was done with triethylamine-trihydrofluoride (4.2, p. 26-36).

Preparation of pyranosyl-phosphates succeeded via two different routes. The phosphoramidite-method should deliver the benzyl protected α -anomers by conversion with *bis*-(benzyl)-*N,N*-diisophosphoramidite **66**. Resulting anomeric mixtures were separated via column chromatography. Anomerically pure α -phosphates were obtained after final hydrogenolysis. The Königs-Knorr-method provided access to β -phosphates. Peracetylated pyranoses were transferred into the according bromides, which were converted with dibenzyl phosphate. Due to the application of acetyl groups, neighboring group participation delivered benzyl protected β -phosphates. Again, hydrogenolysis led to anomeric pure β -phosphates (4.3, p. 37-62).

My own preliminary optimized method should serve for the synthesis of numerous NDP-pyranoses. First, naturally occurring pyranoses as well as nucleosides were used. Afterwards, this route was transferred to analogue structures, with modifications at the pyranose or at the nucleoside. There are two reasons for this. On the one hand, the general applicability of this method should be proved. On the other hand, the use of modified sugar nucleotides offers interesting biological field of application.

Initially, cytidine- and adenosine-derivatives were synthesized with naturally occurring pyranoses in consistently very good yields up to 88% (4.4.1, p. 71-76).

To synthesize modified NDP-pyranoses, nucleoside analogues AZT **32**, d4T **31**, ddT **55**, *isoddA* **53** and *carba-isoddA* **54** were used. The resulting *cycloSal*-compounds **58-62** were converted by standard protocol to modified

target compounds **135-140**. Best results were achieved for d4T-derivatives with yields corresponding to those of unmodified target compounds. For all other derivatives, yields were found to be a little lower. Maybe lower quality of *cycloSal*-compounds could be the reason (4.4.2.1, p. 78-80).

For the preparation of NDP-pyranoses with modified pyranoses, pre-synthesized modified pyranosyl-phosphates of L-galactose, fluorinated glucose, galactose and mannose as well as sulfoquinovose were used. UDP- β -L-galactose **142** was obtained in a yield of 63%. Synthesis of fluorinated NDP-pyranoses yielded target compounds of glucose and galactose as anomeric mixtures, because of used anomeric mixtures of the pyranosyl-phosphates. The α/β -ratio of the used phosphates remained in sugar nucleotides. Yields were found to be in a good range, with 72% for the glucose-derivate **143** and 91% for the galactose-derivate **144**. Mannose-derivate **145** only led to a yield of 52%. Preparations of UDP- α -D-sulfoquinovose **141** succeeded in a moderate yield of 48%. A reason for this could be the additional negative charge at the 6-position and the bad solubility of the used pyranosyl-phosphate (4.4.2.2, p. 80-83).

To compare the influence of sulfo-substituent with the influence of a sulfate-group in biochemical experiments, the unmodified UDP- α -D-glucose **1** (75%) was synthesized and sulfated at the 6-position. This reaction succeeded when using a sulfur trioxide-pyridine complex. The success of this reaction also demonstrates the possibility of carrying out additional synthetic steps on NDP-pyranoses (4.4.3, p. 84-85).

Besides, a basis for the synthesis of pharmaceutically used CDP-choline **147** was developed. Pyranosyl-residue is changed against choline-residue (4.5, p. 86-89).

The results described above show the general applicability of the *cycloSal*-method for the synthesis of NDP-pyranoses. It could be proven that naturally occurring sugar nucleotides and different modified target compounds can be synthesized using this method. Yields mostly range in the same range as for unmodified derivatives and only in a few cases were lower than expected. The main limitation to this synthesis was not the final coupling reaction, but rather the preparation of separated α - and β -pyranosyl-phosphates.

The synthesis of CMP-*N*-acetyl neuraminic acid **10** succeeded by transferring the synthetic protocol to the preparation of NMP-pyranoses. After optimization, a very good yield of 85% was achieved (4.6.1, p. 91-102). Using modified building blocks for coupling reactions, modified CMP-neuraminic acid derivatives could be obtained with modifications of acyl-residues of the amino function. *N*-propanoyl- (**110**), *N*-butanoyl- (**111**) and *N*-pentanoyl- (**112**) as well as *N*-cyclopropylcarbonyl-modifications (**113**) were used. Yields were between 54% and 71%. Despite lower yields in comparison to unmodified CMP-Neu5Ac **10**, yields are satisfactory for such labile and modified compounds (4.6.2, p. 102-104).

Application of those modified target compounds in biochemical experiments delivered interesting results. Derivates with *N*-propanoyl- and *N*-butanoyl-modified compounds **155** and **156** were transferred to an acceptor via the enzyme PolyST in the same way as unmodified CMP-Neu5Ac **10**. However, this process was slowed down considerably. The *N*-cyclopropylcarbonyl-modified compound **158** was not recognized by the enzyme and was not transferred. In case of the *N*-pentanoyl-group, the first transfer took place in the usual manner. Nevertheless, after this first transfer it stopped (4.6.3, p. 105-111). Using further modified compounds could therefore offer different interesting application fields.

This work describes a generally applicable synthetic route for sugar nucleotides and different modified derivatives in short reaction times with good to very good yields and in anomeric pure forms.

8 Experimenteller Teil

8.1 Allgemeines

8.1.1 Edukte und Reagenzien

Essigsäureanhydrid:	$C_4H_6O_3$, Sdp: 140 °C, unter Inertgas destilliert
Acetylchlorid:	C_2H_3ClO , Sdp: 51 °C, unter Inertgas destilliert
Diisopropylethylamin:	$C_8H_{19}N$, Sdp: 127 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet und destilliert
Phosphor(III)-chlorid:	PCl_3 ; Sdp: 76 °C, unter Inertgas destilliert
Triethylamin:	$C_6H_{15}N$; Sdp: 89 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet und destilliert

8.1.2 Lösungsmittel

Dichlormethan, Ethylacetat, Methanol und Petrolether wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung destilliert. Alle anderen Lösungsmittel wurden ohne weitere Reinigung eingesetzt.

8.1.3 Absolute Lösungsmittel

Acetonitril:	C_2H_3N ; Sdp: 81-82 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 3 Å gelagert
Chloroform- <i>d</i> ₁ :	$CDCl_3$, Sdp: 61 °C, über Molekularsieb 4 Å getrocknet
Dichlormethan:	CH_2Cl_2 ; Sdp: 40 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert
Diethylether:	$C_4H_{10}O$; Sdp: 35 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Kalium getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert
<i>N,N</i> -Dimethylformamid:	C_3H_7NO ; Sdp: 153 °C, Sigma-Aldich 40248, absolut über Molekularsieb

Dimethylsulfoxid- d_6 :	$(CD_3)_2SO$, Sdp: 190 °C, Eurisotop D010ES, absolut über Molekularsieb
1,4-Dioxan:	$C_4H_8O_2$; Sdp: 101 °C; mehrere Tage über Kalium getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert
Methanol:	CH_4O ; Sdp: 64 °C, Sigma-Aldich 65542, absolut über Molekularsieb
Pyridin:	C_5H_5N ; Sdp: 116 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert
Tetrahydrofuran:	C_4H_8O ; Sdp: 65 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Kalium getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert
Toluol:	C_7H_8 ; Sdp: 111 °C, mehrere Tage unter Rückfluss über Natrium getrocknet, destilliert und über Molekularsieb 4 Å gelagert

8.1.4 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie:

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (Merck Nr. 5554, Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Alle R_f -Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm und 366 nm. Als Färbereagenz 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.

Zentrifugale präparative Dünnschichtchromatographie:

Zur Trennung von Substanzgemischen mit Rohausbeuten von maximal 4 g stand ein Chromatotron der Firma Harrison Research, Modell 7924 T zur Verfügung. Als Trennmateriale diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF254 (Merck Nr. 7749) in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Durchmesser: 20 cm). Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

Säulenchromatographie:

Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (Korngröße 0.040-0.063 nm, 230-400 mesh) unter Verwendung von destillierten Lösungsmitteln durchgeführt.

Umkehrphasenchromatographie:

Für Dünnschichtchromatogramme wurde RP-18 F_{254 s} DC-Folie der Firma Merck verwendet. Für die Säulenchromatographie wurde LiChroprep RP-18 (40-63 µm, Merck) eingesetzt.

8.1.5 Spektroskopie

Kernresonanzspektroskopie (NMR):

Die NMR-Spektren wurden in der spektroskopischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie sowie des Instituts für Anorganische Chemie der Universität Hamburg auf Geräten der Firma Bruker aufgenommen.

Auf dem Modell AMX 400 wurden 400 MHz-¹H-NMR-, 101 MHz-¹³C-NMR- und 162 MHz-³¹P-NMR-Spektren gemessen.

Auf dem Modell DRX 500 wurden HH-COSY-, HMQC- und HMBC-Korrelationsspektren aufgenommen.

Die chemische Verschiebung δ [ppm] wurde auf die Lösungsmittelsignale kalibriert, wobei DMSO-*d*₆ auf 2.50 (¹H) bzw. 39.52 (¹³C) ppm, CDCl₃ auf 7.26 (¹H) bzw. 77.16 (¹³C) ppm, MeOD auf 3.31 (¹H) bzw. 49.05 (¹³C) ppm und D₂O auf 4.79 (¹H) ppm gesetzt wurde. Die in D₂O gemessenen ¹³C-NMR-Spektren wurden nicht kalibriert. Die Verschiebungen der ³¹P-NMR-Signale wurden gegen einen externen Standard (85%-iger Phosphorsäure) angegeben.

Infrarotspektroskopie (IR):

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

8.1.6 Spektrometrie

Massenspektrometrie (MS):

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

Die HR-ESI-Massenspektren wurden an einem ThermoQuest MAT 95XL Massenspektrometer der Firma Finnigan sowie an einem Agilent Technologies ESI-TOF 6224 Massenspektrometer (Negativ- oder Positiv-Modus) aufgenommen.

Die HR-FAB-Massenspektren wurden an einem VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer mit einer MCA Methode und einer *meta*-Nitrobenzylalkohol-Matrix gemessen.

8.1.7 Geräte

Gefriertrocknung:

Wässrige Lösungen wurden an einer Christ-Alpha 2-4 Gefriertrocknungsanlage gefriergetrocknet.

Polarimeter:

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Krüss Optronic Polarimeter P 8000 in 10 cm Küvetten mit einer Natriumlampe bei einer Wellenlänge von 589 nm gemessen.

Schmelzpunktbestimmung:

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunkt-Messgerät apotec der Firma Otto Stein ermittelt.

8.2 Synthesen

8.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Synthese von 5'-OTBDMS-geschützten Nucleosiden

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Das zu schützende Nucleosid wurde zunächst dreimal mit absolutem Pyridin coevaporiert und anschließend in absolutem Pyridin suspendiert (4.5 mL pro mmol Nucleosid).

Es wurden portionsweise 1.2 Äquivalente *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 7:4) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt mehrmals mit Toluol und anschließend mit Dichlormethan codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr wahrgenommen werden konnte. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 2: Synthese der vollgeschützten Nucleoside

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 1.0 Äquivalent des 5'-OTBDMS-geschützten Nucleosids wurde in absolutem Pyridin gelöst, mit Essigsäureanhydrid (4.5 Äquivalente pro Hydroxy- bzw. Aminogruppe) versetzt und bis zur vollständigen Reaktion bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 19:1) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt mehrmals mit Toluol und anschließend mit Dichlormethan codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr wahrgenommen werden konnte. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 3: Spaltung von *tert*-Butyldimethylsilylethern

1.0 Äquivalent des zu spaltenden Silylethers wurde in einem Gemisch aus Dichlormethan und Tetrahydrofuran (1:1) gelöst, mit 6.0 Äquivalenten Triethylamin-Trihydrofluorid versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach

vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH) gereinigt.

AAV 4: Synthese der *cycloSal*-Monophosphate

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas und mit einem Zusatz von aktiviertem Molekularsieb 3 Å durchgeführt. Das zu veresternde Nucleosid wurde in absolutem Acetonitril gelöst und bei -20 °C mit 2.0 Äquivalenten DIPEA sowie 2.0 Äquivalenten des entsprechenden *cycloSal*-Chlorphosphites, ebenfalls gelöst in absolutem Acetonitril, langsam versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Umsetzung des Nucleosids (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden bei -10 °C 4.0 Äquivalente Oxone[®] (2.0 Äquivalente pro zu oxidierendem Phosphoratom), gelöst in Wasser, zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Kältebad wieder entfernt und die erhaltene Suspension 15 min gerührt. Nach beendeter Oxidation (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) wurde das Reaktionsgemisch direkt mit Ethylacetat extrahiert und anschließend mit kaltem Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde nochmals in Dichlormethan aufgenommen und von unlöslichen Bestandteilen durch Filtration befreit. Im Anschluss erfolgte eine Gefriertrocknung aus Acetonitril und Wasser (1:2).

AAV 5: Peracetylierung von Glycopyranosen

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Die entsprechende Glycopyranose wurde in absolutem Pyridin gelöst und bei 0 °C mit Essigsäureanhydrid (3.0 Äquivalente pro Hydroxy-Gruppe) tropfenweise versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:1) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand mehrmals mit Toluol und anschließend mit Dichlormethan codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr wahrgenommen werden konnte. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat aufgenommen und gründlich mit gesättigter Natriumchloridlösung und anschließend mit Wasser

gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 6: Selektive Deacetylierung der anomeren Hydroxygruppe peracetylierter Glycopyranosen

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Die zu entschützende peracetylierte Glycopyranose wurde in absolutem *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 1.2 Äquivalenten Hydraziniumacetat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde zum Lösen des Hydraziniumacetats kurzzeitig auf 50 °C erwärmt und im Anschluss über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:1) wurde das Reaktionsgemisch mit Ethylacetat verdünnt und zweimal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene ölige Rückstand wurde mehrfach mit Toluol und anschließend mit Dichlormethan coevaporiert und säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 7: Anomere Bromierung peracetylierter Glycopyranosen

Die peracetylierten Glycopyranosen wurden in einem Gemisch aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid (1:1) gelöst. Bei 0 °C wurden 5.0 Äquivalente Bromwasserstoff (in Form von 33%-iger HBr in Eisessig) zugegeben. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde Eiswasser zum Reaktionsgemisch gegeben und dreimal zügig mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend dreimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit.

AAV 8: Darstellung der Glycale

Die peracetylierten Glycopyranosylbromide wurden in Ethylacetat gelöst und mit 8.0 Äquivalenten Zink und 1.0 Äquivalent *N*-Methylimidazol, ebenfalls gelöst in Ethylacetat, versetzt. Es wurde für 2 Tage unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde über Celite[®] filtriert und mit Ethylacetat gespült. Die organische Phase wurde je dreimal mit 5%-iger Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknung über

Natriumsulfat wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 9: Elektrophile Fluorierung von Glycalen

1.0 Äquivalent des entsprechenden Glycals wurde in einem Gemisch aus *N,N*-Dimethylformamid und Wasser (3:2) gelöst und unter Wasserkühlung mit 1.6 Äquivalenten Selectfluor[®] **80** versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und der Umsatz dünnschichtchromatographisch verfolgt (PE/EE, 1:1). Nach vollständiger Umsetzung des Glycals wurde die Reaktionslösung kurz zum Sieden erhitzt, mit Wasser verdünnt und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Es wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt.

AAV 10: Anomere Phosphylierung von Monosacchariden mit Hilfe von *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurde 1.0 Äquivalent der entsprechenden 1-OH-freien Glycopyranose in absolutem Dichlormethan gelöst und mit 1.2 Äquivalenten Dicyanoimidazol versetzt. Unter Eiskühlung wurden 1.5 Äquivalente *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit langsam zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:1) wurden unter erneuter Eiskühlung 1.5 Äquivalente *m*-Chlorperbenzoesäure in kleinen Portionen zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:1) mit Diethylether verdünnt. Es wurde solange mit Natriumsulfit-Lösung gewaschen bis keine Peroxide mehr vorhanden waren. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EE) gereinigt. Mit dieser Variante konnten beide Anomere nach Säulenchromatographie getrennt voneinander erhalten werden, wobei das α -Anomer im Überschuss gebildet wurde.

AAV 11: Anomere Phosphatylierung von Monosacchariden mit Hilfe von Dibenzylphosphat

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. In Anwesenheit von Molekularsieb 3 Å wurden 1.8 Äquivalente Dibenzylphosphat in einem Gemisch aus absolutem Dichlormethan und absolutem Acetonitril (1:1) gelöst. Unter Eiskühlung und starkem Rühren wurde 1.0 Äquivalent des Glycopyranosylbromids, gelöst in absolutem Dichlormethan, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde mit 1.8 Äquivalenten Silbercarbonat versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite[®] filtriert, das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch (PE/EE), wobei das β-Phosphat in reiner Form isoliert werden konnte.

AAV 12: Hydrogenolytische Spaltung von Benzyl-Schutzgruppen

Ein Äquivalent der jeweiligen benzylgeschützten Pyranosyl-Phosphate wurde in einer Stickstoffatmosphäre in 1,4-Dioxan gelöst und mit 2.0 Äquivalenten Triethylamin versetzt. Abschließend wurde die Reaktionslösung je nach Ansatzgröße mit ein bis drei Spatelspitzen Pd/C (10%ig) versetzt und im Ultraschallbad aktiviert. Der Reaktionsansatz wurde mit leichtem H₂-Überdruck bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 7:2) wurde die Suspension über Celite[®] filtriert. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan aufgenommen und fünfmal mit Wasser extrahiert. Das Produkt konnte aus den vereinigten wässrigen Phasen durch Gefriertrocknung gewonnen werden.

AAV 13: Umacylierung der Aminofunktion der Neuraminsäure

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 1.0 Äquivalent des Thioglycosids **115** wurde in abs. Methanol gelöst, mit 9.0 Äquivalenten Methansulfonsäure versetzt und über Nacht bei 60 °C gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH, 5:3) verfolgt und das gebildete Amin durch Besprühen mit Ninhydrin-Lösung detektiert. Durch Zugabe von Triethylamin wurde die Reaktionslösung neutralisiert und anschließend in einen basischen pH-Bereich überführt. Die Lösung wurde bei 0 °C mit 1.8 Äquivalenten des jeweiligen Anhydrids versetzt und zwei Stunden unter Eiskühlung gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH, 5:3) verfolgt. Die Lösung wurde eingeeengt, der Rückstand in Pyridin gelöst und nach AAV 5 peracetyliert. Durch

Zugabe von Methanol bei 0 °C wurde die Reaktion abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand mit Toluol codestilliert. Nach Trocknung im Vakuum wurde der erhaltene Rückstand in Chloroform gelöst und mit 1M Salzsäure und anschließend mit Wasser gewaschen. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (EE) gereinigt.

AAV 14: Spaltung des Thioglycosides modifizierter Neuraminsäure-Derivate

1.0 Äquivalent der *N*-Alkanoylneuraminsäurethioglycoside wurde in Aceton und Wasser (20:1) gelöst. Die Lösung wurde mit 2.3 Äquivalenten NBS versetzt und für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (EE) verfolgt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Chloroform gelöst. Es wurde je zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/Aceton) gereinigt.

AAV 15: Synthese der Nucleosid Diphosphat Pyranosen

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 2.0 Äquivalente des jeweiligen acetylgeschützten Glycosyl-Phosphats (in Form des Triethylammoniumsalzes), welches zuvor mehrere Stunden im Vakuum getrocknet wurde, wurden in absolutem *N,N*-Dimethylformamid gelöst und für eine Stunde über aktiviertem Molekularsieb 4 Å gelagert. Anschließend wurde 1.0 Äquivalent des *cyclo*Sal-Nucleosidmonophosphats, ebenfalls zuvor mehrere Stunden im Vakuum getrocknet und anschließend gelöst in absolutem *N,N*-Dimethylformamid, langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur gerührt und dünnschichtchromatographisch verfolgt (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1). Nach vollständiger Umsetzung des Triesters (18-26 h) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die wässrige Phase wurde gefriergetrocknet. Das nach Gefrier Trocknung erhaltene Zuckernucleotid wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1) aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Gefrier Trocknung wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und

1 M Ammoniumacetat-Lösung (2:1). Durch nachfolgende Gefriertrocknung wurden die reinen Produkte als farblose Feststoffe erhalten.

AAV 16: Synthese der Cytidin Monophosphat Neuraminsäuren

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. In Anwesenheit von aktiviertem Molekularsieb 4 Å wurde das jeweilige vorgetrocknete geschützte Neuraminsäure-Derivat (2.0 Äquivalente) mit gewaschenem Natriumhydrid (2.0 Äquivalente) zunächst eine Stunde im Vakuum getrocknet. Anschließend wurde bei -50 °C ein Gemisch aus absolutem Dichlormethan und absolutem *N,N*-Dimethylformamid (5:1) hinzugegeben und die Lösung bei dieser Temperatur für eine Stunde zur Deprotonierung gerührt. Das *cyclo*Sal-Nucleotid wurde ebenfalls einige Zeit im Vakuum getrocknet und anschließend, gelöst in abs. Dichlormethan, zu der deprotonierten Neuraminsäure getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) für etwa vier Stunden bei -50 °C bis Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der erhaltene Rückstand in Wasser gelöst und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrfach mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden anschließend erneut gefriergetrocknet.

Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurde das Rohprodukt in möglichst wenig absolutem Methanol gelöst und mit 3.0 Äquivalenten einer frisch hergestellten 0.5 M Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach einer Reaktionszeit von etwa 20 Stunden wurden 3.0 Äquivalente Wasser hinzugefügt und für weitere vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde die Reaktionslösung mit Wasser verdünnt und erneut gefriergetrocknet.

Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an RP-18-Silicagel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 M Ammoniumacetat-Lösung (2:1). Durch nachfolgende Gefriertrocknung wurden die reinen Produkte als farblose Feststoffe erhalten.

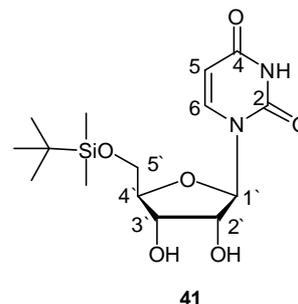
8.2.2 Synthese der *cycloSal*-Verbindungen

8.2.2.1 Synthese der modifizierten Nucleoside

Synthese von 5'-OTBDMS-Uridin **41**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 1 durchgeführt. Es wurden 5.00 g (20.5 mmol) Uridin **25** und 4.77 g (24.6 mmol) TBDMS-Cl eingesetzt.

Ausbeute: 5.24 g (14.6 mmol, 71%) eines gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₅H₂₆N₂O₆Si ; **Molgewicht:** 358.46 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 7:3): 0.55; **Schmelzpunkt:** 78 °C; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 40 ° (c = 0.12, MeOH).

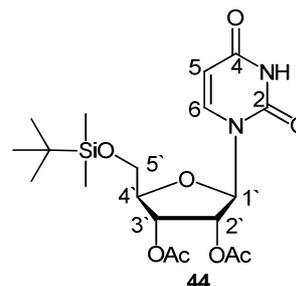


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.34 (s, 1H, NH), 7.77 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H6), 5.76 (d, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H1'), 5.56 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H5), 5.46 (d, ³J_{HH} = 5.1 Hz, 1H, 2'OH), 5.11 (d, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1H, 3'OH), 4.00-3.83 (m, 5H, H2', H3', H4', H5'), 0.89 (s, 9H, CH₃*t*Bu), 0.08 (s, 6H, CH₃*Silyl*). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 150.5 (C2), 140.2 (C4), 140.1 (C6), 101.5 (C5), 87.8 (C1'), 84.1 (C3'), 73.7 (C5'), 69.5 (C2'), 62.6 (C4'), 25.7 (CH₃*t*Bu), 17.9 (C_q*t*Bu), -5.6 (CH₃*Silyl*). **IR** ν/cm⁻¹: 2928, 1689, 1459, 1253, 1108, 827. **HRMS (FAB)** ber.: 358.1798 [M], gef.: 358.1632.

Synthese von 5'-OTBDMS-2',3'-di-OAc-Uridin **44**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 2 durchgeführt. Es wurden 5.24 g (14.6 mmol) 5'-OTBDMS-Uridin **41** und 17.5 mL (18.9 g, 184 mmol) Essigsäureanhydrid verwendet.

Ausbeute: 6.19 g (13.9 mmol, 88%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₉H₃₀N₂O₈Si; **Molgewicht:** 442.54 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.61; **Schmelzpunkt:** 56 °C.

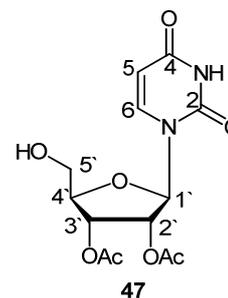


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.45 (s, 1H, NH), 7.75 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H6), 6.01 (d, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 1H, H1'), 5.68 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H5), 5.34 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 1H, H2'), 5.30 (dd, ³J_{HH} = 5.4 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H3'), 4.20 (d, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H4'), 3.87-3.79 (m, 2H, H5'), 2.10, 2.02 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃Acetyl), 0.89 (s, 9H, CH₃*t*Bu), 0.09 (s, 6H, CH₃Silyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.4, 169.2 (2x C=OAcetyl), 162.7 (C2), 150.3 (C4), 139.8 (C6), 102.4 (C5), 85.5 (C1'), 82.4 (C4'), 72.3 (C2'), 70.6 (C3'), 62.7 (C5'), 25.6 (CH₃*t*Bu), 20.3, 20.1 (2x CH₃Acetyl), 17.8 (C_q*t*Bu), -5.7 (CH₃Silyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2930, 1748, 1689, 1459, 1232, 1087, 829. **HRMS (FAB)** ber.: 443.1844 [M+H]⁺, gef.: 443.1837.

Synthese von 2',3'-di-OAc-Uridin 47

Die Reaktion wurde gemäß AAV 3 durchgeführt. Es wurden 6.19 g (13.9 mmol) 5'-OTBDMS-2',3'-di-OAc-Uridin **44** und 13.1 mL (12.9 g, 80.4 mmol) Triethylamin-Trihydrofluorid verwendet.

Ausbeute: 4.22 g (12.9 mmol, 93%) eines leicht gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₃H₁₆N₂O₈; **Molgewicht:** 328.27 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.33; **Schmelzpunkt:** 132 °C; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 4.3 ° (c = 0.11, CHCl₃).

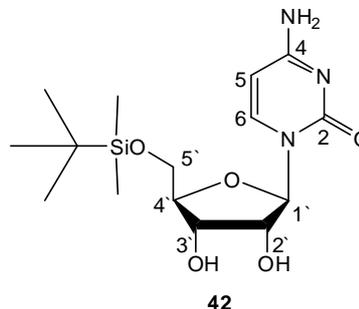


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.43 (s, 1H, NH), 7.91 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H6), 6.02 (d, ³J_{HH} = 6.4 Hz, 1H, H1'), 5.74 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H5), 5.38-5.33 (m, 2H, H2', H3'), 4.15 (s, 1H, H4'), 3.68-3.62 (m, 2H, H5'), 2.11, 2.03 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.5, 169.3 (2x C=OAcetyl), 150.6 (C6), 150.5 (C4), 140.3 (C2), 102.6 (C5), 85.4 (C1'), 83.1 (C4'), 72.3 (C3'), 71.0 (C2'), 60.8 (C5'), 20.4, 20.2 (2x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2159, 1699, 1671, 1540, 1373, 1210, 1044, 811. **HRMS (FAB)** ber.: 328.0898 [M], gef.: 328.0891.

Synthese von 5'-OTBDMS-Cytidin **42**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 1 durchgeführt. Es wurden 4.00 g (16.5 mmol) Cytidin **40** und 3.83 g (19.8 mmol) TBDMS-Cl eingesetzt.

Ausbeute: 4.76 g (13.3 mmol, 83%) eines gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{15}H_{27}N_3O_5Si$; **Molgewicht:** 357.48 g/mol; **DC:** R_f -Wert ($CH_2Cl_2/MeOH$, 7:3): 0.55; **Schmelzpunkt:** 148 °C; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -33^\circ$ ($c = 0.11$, MeOH).

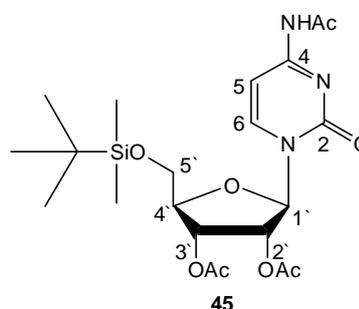


1H -NMR δ /ppm (400 MHz, $DMSO-d_6$): 7.81 (d, $^3J_{HH} = 7.4$ Hz, 1H, H6), 7.10 (s, 2H, NH_2), 5.36 (d, $^3J_{HH} = 5.4$ Hz, 1H, 2'OH), 4.97 (d, $^3J_{HH} = 5.6$ Hz, 1H, 3'OH), 5.77 (d, $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, H1'), 5.67 (d, $^3J_{HH} = 7.4$ Hz, 1H, H5), 3.91-3.85 (m, 4H, H2', H3', H4', H5'), 3.72-3.75 (m, 1H, H5'), 0.89 (s, 9H, CH_3tBu), 0.08 (s, 6H, CH_3Silyl). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, $DMSO-d_6$): 165.6 (C2), 155.3 (C4), 140.7 (C6), 93.6 (C5), 89.2 (C1'), 83.2 (C3'), 74.5 (C2'), 68.9 (C4'), 62.1 (C5'), 25.9 (CH_3tBu), 18.1 ($CqtBu$), -5.6 (CH_3Silyl). **IR** ν/cm^{-1} : 3344, 2929, 1647, 1494, 1256, 1117, 836. **HRMS (FAB)** ber.: 358.1798 $[M+H]^+$, gef.: 358.1823.

Synthese von 5'-OTBDMS- N^4 Ac-2',3'-di-OAc-Cytidin **45**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 2 durchgeführt. Es wurden 4.50 g (12.6 mmol) 5'-OTBDMS-Cytidin **42** und 16.5 mL (17.8 g, 170 mmol) Essigsäureanhydrid verwendet.

Ausbeute: 3.62 g (7.49 mmol, 62%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{21}H_{33}N_3O_8Si$; **Molgewicht:** 483.20 g/mol; **DC:** R_f -Wert ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1): 0.54; **Schmelzpunkt:** 77 °C; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = +35^\circ$ ($c = 0.12$, MeOH).



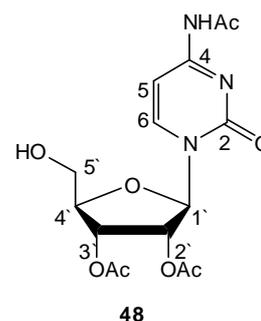
1H -NMR δ /ppm (400 MHz, $DMSO-d_6$): 10.90 (s, 1H, $NHAc$), 8.13 (d, $^3J_{HH} = 7.5$ Hz, 1H, H6), 7.16 (d, $^3J_{HH} = 7.5$ Hz, 1H, H5), 5.94 (d, $^3J_{HH} = 4.6$ Hz, 1H, H1'), 5.30 (dd, $^3J_{HH} = 5.3$ Hz, $^3J_{HH} = 4.6$ Hz, 1H, H2'), 5.23 (dd, $^3J_{HH} = 5.4$ Hz, $^3J_{HH} = 5.3$ Hz, 1H,

H3'), 4.19-4.17 (m, 1H, H4'), 3.86 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 11.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, H5'), 3.73 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 11.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, H5'), 2.03, 1.99, 1.98, (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl), 0.80 (s, 9H, CH₃tBu), 0.01 (s, 6H, CH₃Silyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.2, 169.3, 171.1 (3x C=OAcetyl), 162.7 (C2), 154.3 (C4), 144.7 (C6), 95.8 (C5), 88.1 (C1'), 82.3 (C3'), 73.5 (C2'), 69.8 (C4'), 62.2 (C5'), 25.6 (CH₃tBu), 24.4, 20.3, 20.2, (3x CH₃Acetyl), 17.9 (C_qtBu), -5.7 (CH₃Silyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2931, 2859, 1754, 1675, 1493, 1233, 1086, 836. **HRMS (FAB)** ber.:483.2115 [M], gef.: 483.2037.

Synthese von *N*⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidin 48

Die Reaktion wurde gemäß AAV 3 durchgeführt. Es wurden 3.00 g (6.20 mmol) 5'-OTBDMS-*N*⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidin **45** und 6.35 mL (6.27 g, 39.0 mmol) Triethylamin-Trihydrofluorid verwendet.

Ausbeute: 2.25 g (6.09 mmol, 98%) eines leicht gelblichen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₅H₁₉N₃O₈; **Molgewicht:** 369.33 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.39; **Schmelzpunkt:** 166 °C; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = -40 ° (c = 0.12, MeOH).

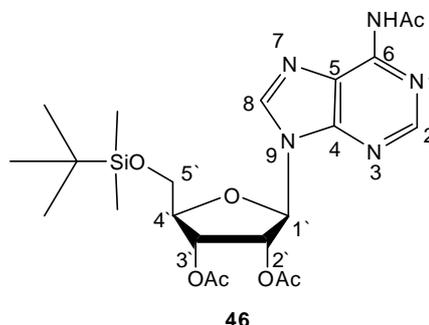


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9.19 (s, 1H, NHAc), 8.11 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, H6), 7.38 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, H5), 5.97 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, 1H, H1'), 5.56 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, 1H, H3'), 5.46 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 5.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, 1H, H2'), 4.21-4.19 (m, 1H, H4'), 3.94 (d, $^2J_{\text{HH}} = 11.5$ Hz, 1H, H5'), 3.78 (d, $^2J_{\text{HH}} = 11.5$ Hz, 1H, H5'), 2.18, 2.05, 2.02 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.2, 169.5, 171.3 (3x C=OAcetyl), 162.8 (C2), 154.5 (C4), 145.6 (C6), 96.0 (C5), 88.0 (C1'), 82.9 (C3'), 73.3 (C2'), 70.3 (C4'), 60.3 (C5'), 24.4, 20.4, 20.3, (3x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3474, 1746, 1656, 1497, 1375, 1245, 1077, 789. **HRMS (FAB)** ber.: 369.1250 [M], gef.: 369.1172.

Synthese von 5'-OTBDMS-N⁶Ac-2',3'-di-OAc-Adenosin **46**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 1 und AAV 2 durchgeführt. Es wurden 3.00 g (11.2 mmol) Adenosin **27**, 2.00 g (13.4 mmol) TBDMS-Cl, 14.3 mL (15.4 g, 151 mmol) Essigsäureanhydrid und 50 mL Pyridin eingesetzt.

Ausbeute: 4.66 g (9.18 mmol, 82%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₂H₃₃N₅O₇Si; **Molgewicht:** 507.61 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.73.

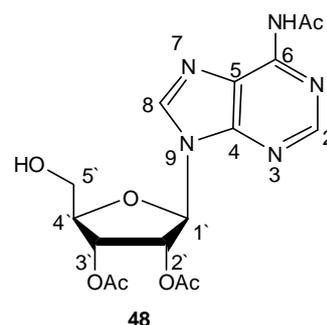


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 8.69 (s, 1H, H2), 8.62 (s, 1H, NHAc), 8.37 (s, 1H, H8), 6.39 (d, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 1H, H1'), 5.77 (dd, ³J_{HH} = 6.8 Hz, ³J_{HH} = 5.2 Hz, 1H, H2'), 5.53 (dd, ³J_{HH} = 5.2 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H3'), 4.33-4.32 (m, 1H, H4'), 3.96 (dd, ²J_{HH} = 11.6 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H5'), 3.89 (dd, ²J_{HH} = 11.6 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H5'), 2.61, 2.15, 2.03 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl), 0.95 (s, 9H, CH₃tBu), 0.15 (s, 6H, CH₃Silyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 170.0, 169.5 (3x C=OAcetyl), 152.8 (C2), 151.5 (C4), 149.4 (C6), 140.9 (C8), 121.8 (C5), 85.1 (C1'), 84.3 (C4'), 74.4 (C2'), 72.0 (C3'), 26.1 (CH₃tBu), 25.8, 20.8, 20.5 (3x CH₃Acetyl), 18.5 (C_qtBu), -5.3 (CH₃Silyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2928, 2856, 1747, 1702, 1605, 1584, 1464, 1371, 1330, 1117, 1007, 976, 830. **MS (FAB)** ber.: 508.6 [M+H]⁺, gef.: 508.4.

Synthese von N⁶-Ac-2',3'-di-OAc-Adenosin **48**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 3 durchgeführt. Es wurden 4.00 g (7.92 mmol) 5'-OTBDMS-N⁶Ac-2',3'-di-OAc-Adenosin **46**, 7.70 mL (7.62 g, 47.0 mmol) Triethylamin-Trihydrofluorid, 20 mL Dichlormethan und 20 mL THF verwendet.

Ausbeute: 2.8 g (7.1 mmol, 92%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₁₉N₅O₇; **Molgewicht:** 393.40 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.62.

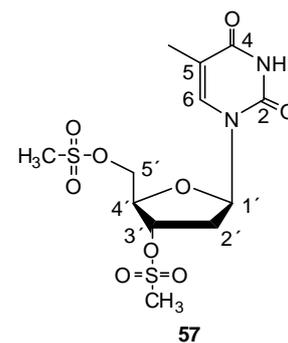


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10.76 (s, 1H, NHAc), 8.71 (s, 1H, H8), 8.68 (s, 1H, H2), 6.31 (d, ³*J*_{HH} = 6.5 Hz, 1H, H1'), 5.96 (dd, ³*J*_{HH} = 6.5 Hz, ³*J*_{HH} = 5.6 Hz, 1H, H2'), 5.45 (dd, ³*J*_{HH} = 5.6 Hz, ³*J*_{HH} = 3.0 Hz, 1H, H3'), 5.42 (t, ³*J*_{HH} = 5.4 Hz, 1H, OH), 4.27-4.25 (m, 1H, H4'), 3.77-3.72 (m, 1H, H5'), 3.69-3.63 (m, 1H, H5'), 2.26, 2.21, 1.99 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.5, 169.2, 168.9 (3x C=OAcetyl), 151.9 (C2), 151.6 (C4), 149.8 (C6), 123.6 (C5), 85.1 (C1'), 83.7 (C4'), 72.6 (C2'), 71.1 (C3'), 60.9 (C5'), 24.3, 20.4, 20.2 (3x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3250, 3119, 2930, 2858, 1746, 1702, 1606, 1585, 1485, 1370, 1211, 1083, 952, 917. **MS (FAB)** ber.: 394.4 [M+H]⁺, gef.: 394.3.

Synthese von 3',5'-Di-O-Mesyl-Thymidin 57

Es wurden 7.50 g (31.0 mmol) Thymidin **56** in 75 mL absolutem Pyridin. Bei 0 °C wurden über 30 Minuten 5.10 mL (7.50 g, 65.0 mmol) Mesylchlorid langsam zutropft und die Lösung für 1 Stunde bei 0 °C gerührt. Die Lösung wurde über Nacht bei -4 °C gelagert. Nach Filtration wurde die Hälfte des Lösungsmittels unter vermindertem Druck entfernt. Die Lösung wurde erneut auf 0 °C abgekühlt und in 150 mL Eiswasser gegossen, wobei ein farbloser Niederschlag ausfiel. Der Niederschlag wurde nach einer Stunde abfiltriert und dreimal mit Eiswasser gewaschen. Das Rohprodukt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet und aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 6.08 g (15.3 mmol, 49%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₂H₁₈N₂O₉S₂; **Molgewicht:** 398.05 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.45; **Schmelzpunkt:** 182 °C; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 9.2 ° (c = 0.11, DMSO).



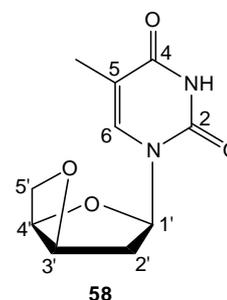
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.42 (s, 1H, NH), 7.53 (d, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, H6), 6.23 (dd, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 1H, H1'), 5.32-5.29 (m, 1H, H3'), 4.47-4.45 (m, 2H, H5'), 4.39-4.38 (m, 1H, H4'), 3.32, 3.33 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃Mesyl), 2.51-2.49 (m, 1H, H2'), 1.80 (d, ³*J*_{HH} = 1.3 Hz, 3H, CH₃Thymin). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 163.6 (C4), 150.4 (C2), 135.8 (C6), 110.1 (C5), 84.0 (C1'), 80.5 (C4'), 79.4 (C3'), 68.5 (C5'), 37.7, 36.8 (2x CH₃Mesyl), 12.0

(CH₃Thymin). IR ν/cm^{-1} : 3028, 1719, 1689, 1354, 1167, 1093, 937, 823. HRMS (FAB) ber.: 399.0526 [M+H]⁺, gef.: 399.0518.

Synthese von 3',5'-Anhydro-Thymidin **58**

Es wurden 2.03 g (50.0 mmol) Natriumhydroxid in 100 mL Wasser gelöst und 6.08 g (15.2 mmol) 3',5'-Di-O-Mesyl-Thymidin **57** portionsweise zugegeben. Die Lösung wurde für 75 Minuten unter Rückfluss gerührt. Nachdem die Lösung wieder auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde mit konz. Salzsäure neutralisiert und fünfmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 2.91 mg (12.3 mmol, 85%); **Summenformel:** C₁₀H₁₂N₂O₄; **Molekulargewicht:** 224.08 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.55; **Schmelzpunkt:** 192 °C; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -76$ °(c = 0.12, DMSO).



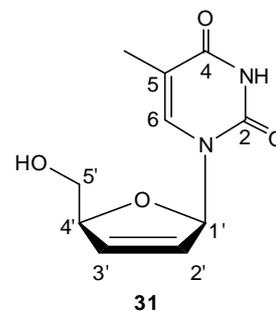
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.41 (s, 1H, NH), 8.02 (d, ⁴J_{HH} = 0.9 Hz, 1H, H6), 6.52-6.49 (m, 1H, H1'), 5.48 (m, 1H, H3'), 4.90-4.88 (m, 1H, H4'), 4.69 (dd, ²J_{HH} = 7.8 Hz, ³J_{HH} = 4.1 Hz, 1H, H5'), 4.03 (dd, ²J_{HH} = 7.8 Hz, ³J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, H5'), 2.48-2.46 (m, 2H, H2'), 1.79 (d, ⁴J_{HH} = 0.9 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 163.9 (C4), 151.0 (C2), 136.6 (C6), 109.7 (C5), 88.3 (C1'), 86.9 (C3'), 79.9 (C4'), 75.4 (C5'), 37.0 (C2'), 12.4 (CH₃). IR ν/cm^{-1} : 3039, 2875, 1679, 1464; 1418, 1268, 1086, 949, 854, 756. HRMS (FAB) ber.: 225.0870 [M+H]⁺, gef.: 225.0879.

Synthese von 3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidin (d4T) **31**

2.91 g (13.0 mmol) 3',5'-Anhydro-Thymidin **58** wurden in 30 mL absolutem Dimethylsulfoxid gelöst und 2.31 g (20.8 mmol) KO^tBu zugegeben. Die Lösung wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Es wurden 100 mL auf 0 °C gekühltes Toluol zugegeben und für 45 Minuten gerührt. Die Reaktionslösung wurde zur Auskristallisation für drei Tage im

Kühlschrank gelagert und anschließend filtriert. Der farblose Niederschlag wurde in Wasser gelöst, mit 2 M Salzsäure neutralisiert und gefriergetrocknet. Der Rückstand wurde in Ethylacetat suspendiert und mittels Filtration über Kieselgel gereinigt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck abgetrennt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH, 19:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.92 g (8.57 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₀H₁₂N₂O₄; **Molgewicht:** 224.21 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.38; **Schmelzpunkt:** 159 °C; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 32 ° (c = 0.13, DMSO).

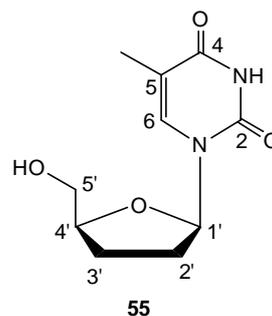


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.28 (s, 1H, NH), 7.64 (d, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H, H6), 6.83-6.81 (m, 1H, H1'), 6.41-6.39 (m, 1H, H3'), 5.91-5.89 (m, 1H, H2'), 5.01-4.99 (m, 1H, 5'-OH), 4.78-4.76 (m, 1H, H4'), 3.61-3.59 (m, 2H, H5'), 1.72 (d, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 163.8 (C4), 150.7 (C2), 136.7 (C6), 134.9 (C3'), 125.9 (C2'), 108.9 (C5), 88.9 (C1'), 87.2 (C4'), 62.2 (C5'), 12.1 (CH₃). **IR** ν/cm⁻¹: 3036, 1686, 1460, 1334, 1224, 1072, 1033, 976, 804. **HRMS (FAB)** ber.: 224.0797 [M], gef.: 224.0651.

Synthese von 3'-Desoxy-Thymidin (ddT) 55

Es wurden 580 mg (2.59 mmol) 3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidin **31** in 38 mL absolutem Ethanol gelöst, zwei Spatelspitzen Pd/C (5% Pd, 60% H₂O) als Katalysator zugegeben und unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach 3 Tagen wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH, 19:1) gereinigt. Der erhaltene Feststoff wurde gefriergetrocknet.

Ausbeute: 340 mg (1.51 mmol, 58%), eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₀H₁₄N₂O₄; **Molgewicht:** 226.23 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.31; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 7.8 °(c = 0.11, DMSO).

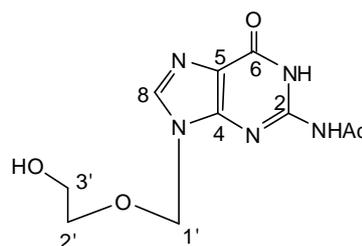


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.20 (s, 1H, NH), 7.82-7.80 (m, 1H, H₆), 5.97 (dd, ³J_{HH} = 6.8 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H_{1'}), 4.03-3.97 (m, 1H, H_{4'}), 3.70-3.65 (m, 1H, H_{5'}), 3.55-3.50 (m, 1H, H_{5'}), 2.27-2.22 (m, 1H, H_{2'}), 1.95-1.85 (m, 3H, H_{3'}, H_{2'}), 1.77 (d, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 163.8 (C₄), 150.4 (C₂), 136.3 (C₆), 108.6 (C₅), 84.7 (C_{1'}), 81.2 (C_{4'}), 62.0 (C_{5'}), 31.6 (C_{3'}), 24.8 (C_{2'}), 12.3 (CH₃). **IR** ν/cm⁻¹: 3082, 1685, 1588, 1465, 1346, 1301, 1248, 1085, 1028, 994, 936. **HRMS (FAB)** ber.: 227.1026 [M+H]⁺, gef.: 227.1035.

Synthese von 5'-OAc-Acyclovir

Es wurden 2.52 g (11.2 mmol) Acyclovir **59** in Pyridin gelöst und mit 1.0 Äquivalenten Essigsäureanhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung (CH₂Cl₂/ MeOH, 9:1) konnte das gewünschte Produkt erhalten werden.

Ausbeute: 2.27 g (8.51 mmol, 76%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₀H₁₃N₅O₄; **Molgewicht:** 267.24 g/mol.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10.68 (s, 1H, NH), 7.76 (s, 1H, H₈), 5.37-5.32 (m, 2H, H_{1'}), 4.16-4.40 (m, 1H, H_{3'}), 3.98-4.04 (m, 1H, H_{3'}), 3.74-3.62 (m, 2H, H_{2'}), 1.72 (s, 3H, CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.3 (C=OAcetyl), 157.2 (C₆), 153.9 (C₂), 151.4 (C₄), 137.6 (C₈), 131.1 (C₅), 71.7 (C_{1'}), 67.3 (C_{3'}), 59.7 (C_{2'}), 20.2 (CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3445; 3066; 1692; 1545; 1403; 1318; 1256; 1087; 751. **HRMS (FAB)** ber.: 268.1040 [M+H]⁺, gef.: 268.1089.

Synthese von *N*²,5'-*O*-*di*-DMTr-Acyclovir

Es wurden 1.26 g (5.59 mmol) Acyclovir **59** mit 100 mL Pyridin versetzt. Zu dieser Lösung wurden 71 mg (0.58 mmol) DMAP hinzugegeben und die Lösung kurz gerührt. Anschließend wurden 6.90 g (22.5 mmol) DMTr-Cl hinzugegeben und die Lösung bei Raumtemperatur für 22 Stunden gerührt. Zur Aufarbeitung wurden 30 mL Methanol hinzugegeben und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Anschließend wurde mit Toluol und Dichlormethan codestilliert. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan und 1% Et₃N aufgenommen und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die weitere Reinigung erfolgte durch Flashchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1, 1% Et₃N).

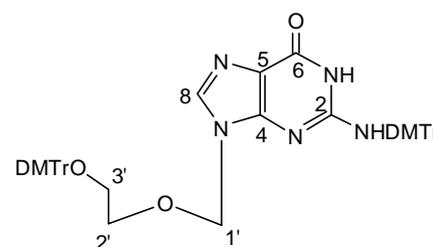
Ausbeute: 1.15 g (1.49 mmol, 25%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₅₀H₄₇N₅O₇;

Molgewicht: 829.94 g/mol; **DC:** R_f-Wert

(CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.47; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 25 °

(c = 0.15, CHCl₃).

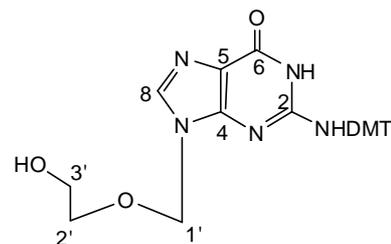


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10.57 (s, 1H, NH), 7.75 (s, 1H, H₈), 7.33-7.28 (m, 4H, H_{Ar}), 7.23-7.11 (m, 12H, H_{Ar}), 6.98-6.96 (m, 1H, H_{Ar}), 6.93-6.90 (m, 4H, H_{Ar}), 6.78-6.75 (d, 4H, H_{Ar}), 4.93 (s, 2H, H_{1'}), 3.74 (s, 6H, 2x OCH₃), 3.59 (s, 6H, 2x OCH₃), 3.11 (s, 2H, H_{3'}), 2.71 (s, 2H, H_{2'}). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 157.9 (C₆), 135.6 (C₈), 129.6 (C_{Ar}), 129.5 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 116.4 (C_{Ar}), 113.0 (C_{Ar}), 112.7 (C_{Ar}), 69.0 (C_{1'}), 68.6 (C_{3'}), 62.0 (C_{2'}), 54.8 (OCH₃), 45.6 (C₂_{Base}, C₄_{Base}, C₅_{Base}). **IR** ν/cm⁻¹: 2932, 1681, 1604, 1505, 1244, 1173, 1029, 825, 700. **HRMS (FAB)** ber.: 830.3548 [M+H]⁺, gef.: 830.3565.

Synthese von *N*²-DMTr-Acyclovir

Es wurden 1.00 g (1.31 mmol) *N*²,5'-*O*-*di*-DMTr-Acyclovir in 2 mL Dichlormethan gelöst. Zu der Lösung wurden 5 mL 2%iger BSA-Lösung hinzugegeben. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 7:3) wurde säulenchromatographisch gereinigt (CH₂Cl₂/MeOH, 8:2, 1% Et₃N).

Ausbeute: 0.19 g (0.36 mmol, 27%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₉H₂₉N₅O₅; **Molgewicht:** 527.57 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.42; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 51 ° (c = 0.11, CHCl₃).



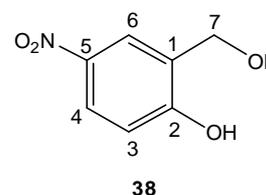
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10.61 (s, 1H, NH), 7.68 (s, 1H, H₈), 7.31-7.26 (m, 4H, H_{Ar}), 7.62 (s, 1H, NH_{DMTTr}), 7.19-7.17 (m, 5H, H_{Ar}), 6.87-6.85 (m, 4H, H_{Ar}), 4.87 (s, 2H, H_{1'}), 4.53-4.50 (m, 1H, OH), 3.71 (s, 6H, 2x OCH₃), 3.21-3.18 (m, 2H, H_{3'}), 2.94-2.92 (m, 2H, H_{2'}). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 157.5 (C₆), 150.6 (C₂), 150.0 (C₅), 145.0 (C₄), 136.8 (C_{Ar}), 129.6 (C_{Ar}), 129.6 (C_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 116.3 (C₈), 112.7 (C_{Ar}), 76.2 (C_{1'}), 70.9 (C_{3'}), 69.1 (C_{2'}), 59.7, 54.8 (OCH₃). **IR** ν/cm⁻¹: 1675, 1603, 1507, 1248, 1158, 1031, 827. **HRMS (FAB)** ber.: 528.2241 [M+H]⁺, gef.: 528.2267.

8.2.2.2 Synthese des cycloSal-Chlorphosphits

Synthese von 5-Nitro-Salicylalkohol **38**

Es wurden 5.00 g (30.0 mmol) 5-Nitro-Salicylaldehyd **37** in 150 mL absolutem Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung wurden 1.12 g (29.5 mmol) Natriumborhydrid gegeben und das Reaktionsgemisch anschließend über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges Natriumborhydrid wurde durch Zugabe von 1 N Salzsäure (10 mL) zerstört und die Reaktionslösung angesäuert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. Diese Codestillation wurde insgesamt dreimal wiederholt. Das Rohprodukt wurde aus Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: 4.91 g (29.0 mmol, 98%) eines gelben, kristallinen Feststoffes; **Summenformel:** C₇H₇NO₄; **Molgewicht:** 169.13 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.49; **Schmelzpunkt:** 127 °C.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 8.21-8.20 (m, 1H, H6), 8.01 (dd, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H4), 6.93 (d, ³J_{HH} = 8.8 Hz, 1H, H3), 4.51 (s, 2H, H7). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 160.5 (C2), 139.7 (C5), 130.3 (C1), 124.0 (C4), 122.7 (C6), 114.7 (C3), 57.5 (C7). **IR** ν/cm⁻¹: 3429, 3198, 1593, 1331, 1280, 1023, 931, 643. **HRMS (FAB)** ber.: 170.0448 [M+H]⁺, gef.: 170.0453.

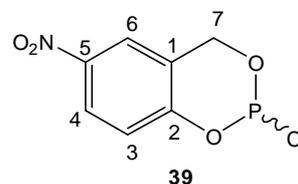
Synthese von 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit 39

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt, um Sauerstoff und Feuchtigkeit auszuschließen. Es wurden 765 mg (4.52 mmol) 5-Nitro-Salicylalkohol **38** in 70 mL absolutem Diethylether vorgelegt und auf -20 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden 1.2 Äquivalente frisch destilliertes Phosphor(III)-chlorid (0.440 mL, 0.680 g, 4.97 mmol) zugegeben und für 10 Minuten gerührt. Anschließend wurden ebenfalls bei -20 °C über einen Zeitraum von 1 Stunde 2.3 Äquivalente absolutem Pyridin (0.800 mL, 0.780 g, 9.81 mmol), gelöst in

5 mL absolutem Diethylether, zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 1.5 Stunden gerührt. Der Ansatz wurde über Nacht bei -20 °C gelagert, um ein möglichst vollständiges Ausfallen des entstandenen Pyridinhydrochlorids herbeizuführen, welches nachfolgend unter Schutzgas mittels einer Umkehrfritte abfiltriert wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung zu dem cycloSal-Nucleosidmonophosphat umgesetzt.

Ausbeute: 800 mg eines noch verunreinigten, farblosen Feststoffes als Gemisch von zwei Enantiomeren;

Summenformel: C₇H₅ClNO₄P; **Molgewicht:** 233.55 g/mol.



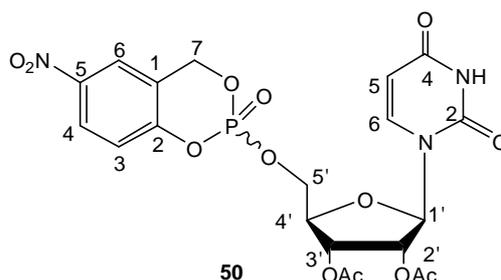
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 8.18 (dd, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H4), 7.98 (d, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H6), 7.13 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 1H, H3), 5.52 (dd, ²J_{HH} = 14.2 Hz, ³J_{HP} = 2.6 Hz, 1H, H7), 5.14 (dd, ²J_{HH} = 14.2 Hz, ³J_{HP} = 9.6 Hz, 1H, H7). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): 140.7.

8.2.2.3 Synthese der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate

Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-di-OAc-Uridinmonophosphat **50**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 400 mg (1.21 mmol) 2',3'-di-OAc-Uridin **47**, 560 mg (2.42 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-Chlorphosphit **39**, 0.420 mL (0.320 g, 2.42 mmol) DIPEA, 2.90 g (4.84 mmol) Oxone[®] und 40 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 636 mg (1.18 mmol, 96% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Warte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₂₀H₂₀N₃O₁₃P; **Molgewicht:** 541.36 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.66.

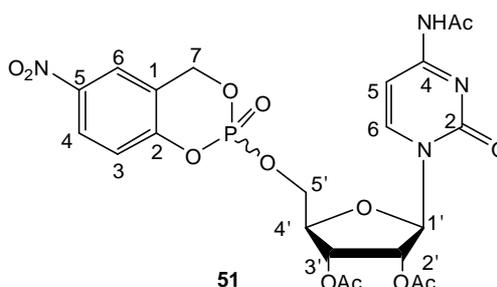


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 8.46 (s, 2x 1H, 2x NH), 8.26-8.25 (m, 1x 1H, 1x H_{4Ar}), 8.24-8.23 (m, 1x 1H, 1x H_{4Ar}), 8.09-8.08 (m, 2x 1H, 2x H_{6Ar}), 7.38 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1x 1H, 1x H_{6Base}), 7.36 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1x 1H, 1x H_{6Base}), 7.24 (d, ³J_{HH} = 9.1 Hz, 1x 1H, 1x H_{3Ar}), 7.23 (d, ³J_{HH} = 9.1 Hz, 1x 1H, 1x H_{3Ar}), 5.94 (d, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 5.93 (d, ³J_{HH} = 6.8 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 5.74 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1x 1H, 1x H_{5Base}), 5.72 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1x 1H, 1x H_{5Base}), 5.53-5.47 (m, 2x 2H, 2x H_{7Ar}), 5.39 (dd, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 4.8 Hz, 1x 1H, 1x H_{3'}), 5.32 (dd, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1x 1H, 1x H_{3'}), 5.30-5.26 (m, 2x 1H, 2x H_{2'}), 4.62-4.54 (m, 1x 2H, 1x H_{5'}), 4.52-4.42 (m, 1x 2H, 1x H_{5'}), 4.35-4.30 (m, 2x 1H, 2x H_{4'}), 2.13, 2.11, 2.09, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3 (4x C=OAcetyl), 164.6 (2x C_{4Base}), 153.6 (2x C_{2Ar}), 150.7 (2x C_{2Base}), 141.6 (2x C_{5Ar}), 139.2 (2x C_{6Base}), 131.1 (2x C_{1Ar}), 125.7 (2x C_{4Ar}), 121.5 (2x C_{6Ar}), 119.5 (2x C_{3Ar}), 103.4 (2x C_{5Base}), 88.3 (2x C_{1'}), 80.4 (2x C_{4'}), 72.4 (2x C_{2'}), 69.5 (2x C_{3'}), 68.1 (2x C_{7Ar}), 67.4 (2x C_{5'}), 20.5, 20.4 (4x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 10.32, - 10.69. **IR** ν/cm⁻¹: 3434, 2926, 1751, 1701, 1627, 1561, 1486, 1377, 1248, 1091, 1034, 940, 909, 816. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 542.0807 [M+H]⁺, gef.: 542.0806.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-N⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidinmonophosphat 51

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 400 mg (1.07 mmol) N⁴Ac-2',3'-di-OAc-Cytidin **48**, 500 mg (2.14 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.380 mL (0.290 g, 2.140 mmol) DIPEA, 2.63 g (4.28 mmol) Oxone[®] und 20 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 550 mg (0.950 mmol, 87% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₂₂H₂₃N₄O₁₃P; **Molgewicht:** 582.41 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.37.

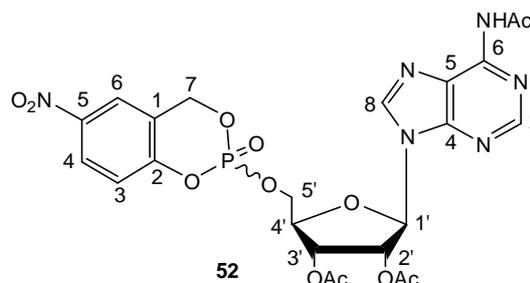


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 9.19 (s, 2x 1H, 2x NHAc), 8.01 (d, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 2x 1H, 2x H₆_{Base}), 7.40-7.33 (m, 4x 1H, 2x H₃_{Ar}, 2x H₅_{Base}), 7.17-7.13 (m, 4x 1H, 2x H₄_{Ar}, 2x H₆_{Ar}), 5.86 (d, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 5.81 (d, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 5.50-5.45 (m, 2x 2H, 2x H₇_{Ar}), 5.41 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 2x 1H, 2x H_{2'}), 5.32 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 2x 1H, 2x H_{3'}), 4.50-4.29 (m, 2x 3H, 2x H_{5'}, 2x H_{4'}), 2.12 (s, 2x 3H, 2x CH₃), 2.11, 2.06, 2.04, 2.03, 2.01, 1.99 (6x s, 6x 3H, 6x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.0, 169.3, 169.2 (6x C=OAcetyl), 163.0 (2x C₂_{Base}), 154.1 (2x C₄_{Base}), 146.7 (1x C₆_{Base}), 146.6 (1x C₆_{Base}), 129.4 (2x C₄_{Ar}), 128.3 (2x C₁_{Ar}), 128.2 (2x C₅_{Ar}), 126.1 (2x C₂_{Ar}), 125.9 (2x C₆_{Ar}), 120.0 (2x C₃_{Ar}), 91.3 (1x C₅_{Ar}), 91.0 (1x C₅_{Ar}), 79.3 (2x C_{1'}), 72.5 (2x C_{4'}), 69.2 (2x C_{2'}), 68.9 (2x C_{3'}), 68.1 (d, ²J_{CP} = 6.6 Hz, 1x C₇_{Ar}), 68.0 (d, ²J_{CP} = 6.6 Hz, 1x C₇_{Ar}), 66.8 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, 1x C_{5'}), 66.5 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, 1x C_{5'}), 29.7, 20.3, 20.2 (6x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): -10.02, -10.29. **IR** ν/cm⁻¹: 2363, 1751, 1670, 1489, 1347, 1235, 1035, 939, 816, 748. **HRMS (FAB)** ber.: 581.0926 [M-H]⁻, gef.: 581.1223.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-N⁶Ac-2',3'-di-OAc-Adenosinmonophosphat **52**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 250 mg (0.640 mmol) N⁶Ac-2',3'-di-OAc-Adenosin **49**, 300 mg (1.28 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.220 mL (0.170 g, 1.28 mmol) DIPEA, 1.56 g (2.56 mmol) Oxone[®] und 20 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 330 mg (0.550 mmol, 86% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₂₃H₂₃N₆O₁₂P; **Molgewicht:** 606.41 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.54.

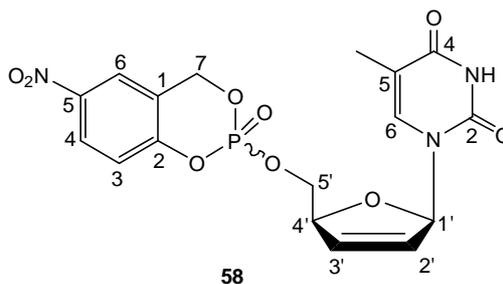


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 10.74 (s, 1x 1H, 1x NHAc), 10.71 (s, 1x 1H, 1x NH), 8.60 (s, 1x 1H, 1x H₈_{Base}), 8.59 (s, 1x 1H, 1x H₈_{Base}), 8.58 (s, 1x 1H, 1x H₂_{Base}), 8.56 (s, 1x 1H, 1x H₂_{Base}), 8.18-8.11 (m, 2x 2H, 2x H₆_{Ar}, 2x H₄_{Ar}), 7.23 (d, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 1x 1H, 1x H₃_{Ar}), 7.18 (d, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 1x 1H, 1x H₃_{Ar}), 6.29 (d, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 6.27 (d, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 1x 1H, 1x H_{1'}), 5.99 (dd, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ³J_{HH} = 5.4 Hz, 2x 1H, 2x H_{2'}), 5.69-5.38 (m, 2x 3H, 2x H_{3'}, 2x H₇_{Ar}), 4.55-4.49 (m, 2x 2H, 2x H_{5'}), 4.44-4.43 (m, 2x 1H, 2x H_{4'}), 2.27, 2.26, 2.11, 2.09, 2.03, 2.02 (6x s, 6x 3H, 6x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 169.3, 169.2, 168.8 (6x C=OAcetyl), 153.8 (1x C₂_{Ar}), 153.7 (1x C₂_{Ar}), 151.8 (2x C₂_{Base}), 151.2 (2x C₆_{Base}), 149.7 (2x C₄_{Base}), 143.4 (2x C₅_{Ar}), 141.8 (2x C₈_{Base}), 125.3 (1x C₄_{Ar}), 125.2 (1x C₄_{Ar}), 123.6 (1x C₅_{Base}), 123.5 (1x C₅_{Base}), 122.2 (2x C₆_{Ar}), 121.9 (2x C₁_{Ar}), 119.4 (1x C₃_{Ar}), 119.3 (1x C₃_{Ar}), 86.0 (2x C_{1'}), 79.8 (d, ³J_{CP} = 7.0 Hz, 1x C_{4'}), 79.7 (d, ³J_{CP} = 7.0 Hz, 1x C_{4'}), 71.9 (2x C_{2'}), 69.2 (1x C_{3'}), 69.1 (1x C_{3'}), 67.9 (d, ²J_{CP} = 7.0 Hz, 1x C₇_{Ar}), 67.8 (d, ²J_{CP} = 7.0 Hz, 1x C₇_{Ar}), 66.9 (d, ²J_{CP} = 6.2 Hz, 1x C_{5'}), 66.8 (d, ²J_{CP} = 6.2 Hz, 1x C_{5'}), 24.3, 20.3, 20.1 (6x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): - 10.33, - 11.97. **IR** ν/cm⁻¹: 3083, 2928, 2359, 1746, 1609, 1587, 1525, 1295, 1230, 1087, 1030, 996, 937, 816. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 607.1184 [M+H]⁺, gef.: 607.1184.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidinmonophosphat 58

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 143 mg (0.640 mmol) 3'-Desoxy-2',3'-didehydro-Thymidin **31**, 295 mg (1.27 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.220 mL (0.170 g, 1.27 mmol) DIPEA, 1.55 g (2.52 mmol) Oxone[®] und 20 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 265 mg (0.610 mmol, 95% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₂₀H₂₀N₃O₁₃P; **Molgewicht:** 541.36 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.29.

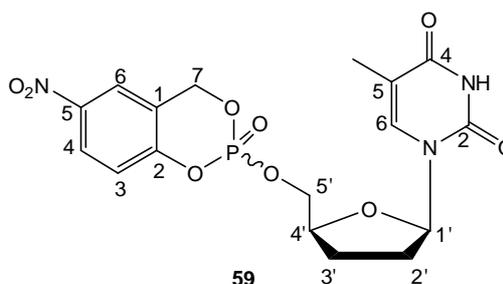


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.35 (s, 2x 1H, 2x NH), 8.31 (dd, ⁴J_{HH} = 2.9 Hz, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, 2x 1H, 2x H_{6Ar}), 8.25 (dd, ³J_{HH} = 9.1 Hz, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, 2x 1H, 2x H_{4Ar}), 7.38 (d, ³J_{HH} = 9.1 Hz, 2x 1H, 2x H_{3Ar}), 7.18-7.16 (m, 2x 1H, 2x H_{6Base}), 6.81-6.76 (m, 2x 1H, 2x H_{1'}), 6.44-6.37 (m, 2x 1H, 2x H_{2'}), 6.05-6.01 (m, 2x 1H, 2x H_{3'}), 5.69-5.60 (m, 1x 2H, 1x H_{7Ar}), 5.55-5.48 (m, 1x 2H, 1x H_{7Ar}), 4.97-4.96 (m, 2x 1H, 2x H_{4'}), 4.40-4.31 (m, 2x 2H, 2x H_{5'}), 1.68 (d, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1x 3H, 1x CH₃), 1.65 (d, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1x 3H, 1x CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 163.6 (2x C_{4Base}), 153.9 (2x C_{5Ar}), 150.5 (2x C_{2Base}), 143.4 (2x C_{2Ar}), 135.5 (2x C_{6Base}), 132.5 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz, 2x C_{1Ar}), 127.3 (3x C_{2'}), 125.4 (2x C_{4Ar}), 122.4 (2x C_{6Ar}), 119.8 (2x C_{3'}), 119.4 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz, 2x C_{3Ar}), 109.5 (2x C_{5Base}), 89.2 (2x C_{1'}), 83.9 (d, ³J_{CP} = 7.5 Hz, 2x C_{4'}), 68.8 (d, ³J_{CP} = 6.4 Hz, 2x C_{5'}), 67.5 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz, 2x C_{7Ar}), 11.8 (2x CH₃). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): -10.31, -10.56. **IR** ν/cm⁻¹: 3082; 1685; 1588; 1465; 1345; 1248; 1085; 1028; 994; 936. **HRMS (FAB)** ber.: 438.0697 [M+H]⁺, gef: 438.0709.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-Dideoxy-Thymidinmonophosphat **59**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 180 mg (0.800 mmol) 3'-Dideoxy-Thymidin **55**, 450 mg (1.93 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.280 mL (0.210 g, 1.55 mmol) DIPEA, 2.13 g (3.46 mmol) Oxone[®] und 30 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 282 mg (0.640 mmol, 80% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₁₇H₁₈N₃O₉P; **Molgewicht:** 439.08 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.47.

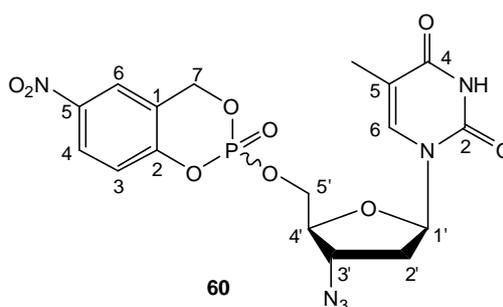


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 11.29 (s, 2x 1H, 2x NH), 8.31 (s, 2x 1H, 2x H_{6Ar}), 8.27-8.23 (m, 2x 1H, 2x H_{3Ar}), 7.45-7.37 (m, 2x 2H, 2x H_{6Base}, 2x H_{4Ar}), 6.00-5.97 (m, 2x 1H, 2x H_{1'}), 5.72-5.62 (m, 1x 2H, 1x H_{7Ar}) 5.57-5.52 (m, 1x 2H, 1x H_{7Ar}), 4.47-4.29 (m, 2x 2H, 2x H_{5'}), 4.19-4.17 (m, 2x 1H, 2x H_{4'}), 2.29-2.24 (m, 2x 1H, 2x H_{2'}), 2.03-1.91(m, 2x 2H, 2x H_{2'}, 2x H_{3'}), 1.87-1.82 (m, 2x 1H, 2x H_{3'}), 1.75 (s, 1x 3H, 1x CH₃), 1.72 (s, 1x 3H, 1x CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 164.2 (2x C_{4Base}), 154.5 (2x C_{5Ar}), 150.9 (2x C_{2Base}), 144.0 (2x C_{2Ar}), 136.3 (2x C_{6Base}), 127.8 (2x C_{4Ar}), 126.0 (2x C_{6Ar}), 123.1 (d, ³J_{CP} = 5.2 Hz, 2x C_{1Ar}), 120.2 (d, ³J_{CP} = 86.5 Hz, 2x C_{3Ar}), 109.5 (2x C_{5Base}), 85.4 (2x C_{1'}), 78.2 (d, ³J_{CP} = 7.2 Hz, 2x C_{4'}), 69.9 (d, ³J_{CP} = 5.7 Hz, 2x C_{5'}), 68.4 (d, ³J_{CP} = 7.3 Hz, 2x C_{7Ar}), 30.7 (2x C_{2'}), 25.7 (2x C_{3'}), 12.6 (2x CH₃). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): - 10.57, - 10.95. **IR** ν/cm⁻¹: 3448; 3075; 1686; 1589; 1528; 1483; 1346; 1256; 1090; 1034; 938. **HRMS (FAB)** ber.: 440.0853 [M+H]⁺, gef.: 440.0855.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-3'-Azido-Thymidinmonophosphat **60**

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 190 mg (0.70 mmol) 3'-Desoxy-3'-Azido-Thymidin **32**, 330 mg (1.41 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.250 mL (0.190 g, 1.40 mmol) DIPEA, 1.75 mg (2.85 mmol) Oxone[®] und 15 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 157 mg (0.330 mmol, 47% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₁₇H₁₇N₆O₉P; **Molgewicht:** 480.08 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.55.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 8.26 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2x 1H, 2x H_{4Ar}), 8.08 (s, 2x 1H, 2x H_{6Base}), 7.24-7.21 (m, 2x 2H, 2x H_{3Ar}, 2x H_{6Ar}), 6.09-6.07 (m, 2x 1H, 2x H_{1'}), 5.52-5.45 (m, 2x 2H, 2x H_{7Ar}), 4.52-4.32 (m, 2x 3H, 2x H_{4'}, 2x H_{5'}), 4.06-4.02 (m, 2x 1H, 2x H_{3'}), 2.48-2.42 (m, 2x 2H, 2x H_{2'}), 1.25 (s, 2x 3H, 2x CH₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 166.3 (2x C_{4Base}), 158.8 (d, ³J_{CP} = 5.7 Hz, 2x C_{2Ar}), 153.3 (2x C_{2Base}), 141.3 (2x C_{5Ar}), 135.5 (2x C_{4Ar}), 130.4 (2x C_{1Ar}), 126.8 (2x C_{3Ar}), 121.6 (2x C_{6Base}), 119.4 (2x C_{6Ar}), 103.4 (2x C_{5Base}), 85.2 (2x C_{1'}), 81.9 (2x C_{3'}), 73.7 (2x C_{2'}), 68.1 (2x C_{4'}), 67.8 (2x C_{7Ar}), 59.9 (2x C_{5'}), 29.7 (2x CH₃). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): - 10.13, - 10.29. **IR** ν/cm⁻¹: 3044; 2105; 1677; 1460; 1336; 1253; 1071; 1033; 907; 846. **HRMS (FAB)** ber.: 481.0867 [M+H]⁺, gef: 481.0869.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-2',3'-Dideoxy-N⁴-iso-Adenosinmonophosphat 61

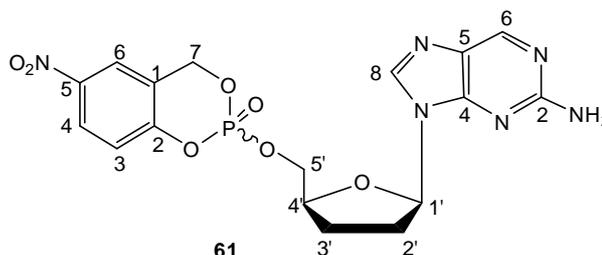
Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 40 mg (0.17 mmol) 2',3'-Dideoxy-N⁴-iso-Adenosine **53**, 80 mg (0.34 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.060 mL (0.050 g, 0.32 mmol) DIPEA, 420 mg (0.680 mmol) Oxone[®] und 15 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 25 mg (0.060 mmol, 33%

bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren;

Summenformel: C₁₇H₁₇N₆O₆O₇P;

Molgewicht: 448.09 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.25.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 8.69 (s, 2x 1H, 2x H₆_{Base}), 8.53 (s, 2x 1H, 2x H₈_{Base}), 8.22-8.20 (m, 2x 1H, 2x H₃_{Ar}), 7.34-7.30 (m, 2x 1H, 2x H₄_{Ar}), 7.23-7.21 (m, 2x 1H, 2x H₆_{Ar}), 6.53 (s, 2x 2H, 2x NH₂), 6.15 (dd, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ⁴J_{HH} = 3.8 Hz, 2x 1H, 2x H₁'), 5.59-5.32 (m, 2x 2H, 2x H₇_{Ar}), 4.13-4.08 (m, 2x 1H, 2x H₄'), 3.45-3.35 (m, 2x 2H, 2x H₅'), 2.36-2.26 (m, 2x 2H, 2x H₂'), 2.12-2.02 (m, 2x 2H, 2x H₃').
¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 160.2 (2x C₂_{Base}), 152.6 (2x C₄_{Base}), 149.8 (2x C₆_{Base}), 148.6 (2x C₂_{Ar}), 140.8 (2x C₈_{Base}), 140.3 (2x C₅_{Ar}), 131.4 (2x C₁_{Ar}), 130.5 (2x C₄_{Ar}), 126.8 (2x C₅_{Base}), 124.6 (2x C₃_{Ar}), 117.2 (2x C₆_{Ar}), 83.7 (2x C₁'), 81.9 (2x C₄'), 68.6 (2x C₇_{Ar}), 58.6 (2x C₅'), 31.7 (2x C₂'), 25.8 (2x C₃'). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): - 10.90, - 11.05. **IR** ν/cm⁻¹: 2929; 2104; 1660; 1616; 1589; 1522; 1429; 1337; 1252; 1035. **HRMS (FAB)** ber.: 449.0969 [M+H]⁺, gef: 449.0988.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-2',3'-Dideoxy-N⁴-carba-iso-Adenosinmonophosphat 62

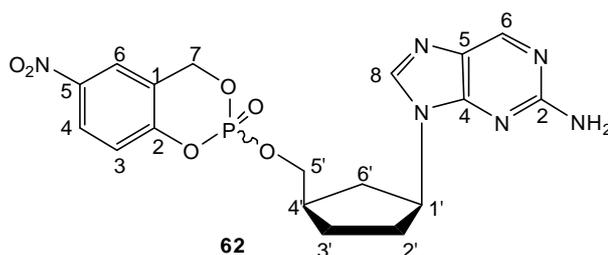
Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 148 mg (0.640 mmol) 2',3'-Dideoxy-N⁴-carba-isoAdenosin **54**, 295 mg (1.27 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.220 mL (0.170 g, 1.26 mmol) DIPEA, 1.55 mg (2.52 mmol) Oxone[®] und 20 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 165 mg (0.370 mmol, 58%

bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) einer farblosen Watte als Gemisch von zwei Diastereomeren;

Summenformel: C₁₈H₁₉N₆O₆P;

Molgewicht: 446.11 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.26.

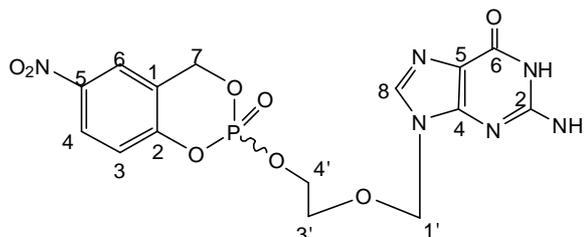


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, DMSO-*d*₆): 8.57(s, 2x 1H H, 2x H₆_{Base}), 8.16 (s, 2x 1H, 2x H₈_{Base}), 7.25 (d, ³J_{HH} = 2.9 Hz, 2x 1H, H₄_{Ar}), 7.23 (d, ³J_{HH} = 2.9 Hz, 2x 1H, H₃_{Ar}), 7.06-7.04 (m, 2x 1H, 2x H₆_{Ar}), 6.53 (s, 2x 2H, 2x NH₂), 5.70-5.58 (m, 2x 2H, 2x H₇_{Ar}), 4.74-4.71 (m, 2x 1H, 2x H_{1'}), 4.29-4.21 (m, 2x 2H, 2x H_{6'}), 2.43-2.39 (m, 2x 1H, 2x H_{4'}), 2.31-2.24 (m, 2x 2H, 2x H_{5'}), 2.14-1.99 (m, 2x 2H, 2x H_{2'}), 1.75-1.64 (m, 2x 2H, 2x H_{3'}). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, DMSO-*d*₆): 160.0 (2x C₂_{Base}), 152.9 (2x C₄_{Base}), 149.3 (2x C₆_{Base}), 143.4 (2x C₂_{Ar}), 139.6 (2x C₈_{Base}), 138.3 (2x C₅_{Ar}), 129.9 (2x C₃_{Ar}), 127.2 (2x C₅_{Base}), 124.8 (2x C₄_{Ar}), 124.3 (2x C₆_{Ar}), 121.8 (2x C₁_{Ar}), 76.8 (2x C_{6'}), 73.8 (d, ³J_{CP} = 5.6 Hz, 2x C₇_{Ar}), 55.5 (2x C_{1'}), 38.9 (2x C_{4'}), 32.3 (2x C_{5'}), 31.1 (2x H_{2'}), 26.6 (2x H_{3'}). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, DMSO-*d*₆): - 10.84, - 10.86. **IR** ν/cm⁻¹: 3082; 1660; 1524; 1344; 1296; 1249; 1025; 935; 904. **HRMS (FAB)** ber.: 447.1176 [M+H]⁺, gef: 447.1190.

Synthese von 5-Nitro-cycloSal-Acyclovirmonophosphat

Die Reaktion wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 122 mg (0.540 mmol) Acyclovir **59**, 250 mg (1.07 mmol) 5-Nitro-cycloSal-Chlorphosphit **39**, 0.200 mL (0.153 g, 1.07 mmol) DIPEA, 1.32 g (2.14 mmol) Oxone[®] und 20 mL Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden.

Ausbeute: 65 mg (0.14 mmol, 26% bezogen auf das nicht chromatographierte Produkt) eines stark verunreinigtes Produkts als Gemisch von zwei Diastereomeren; **Summenformel:** C₁₅H₁₅N₆O₈P; **Molgewicht:** 438.29 g/mol.



³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 11.21, - 11.33.

Aufgrund der starken Verunreinigungen war keine umfassende Charakterisierung möglich. Dieses Ergebnis wurde ebenso unter Verwendung der folgenden Reaktionsbedingungen erhalten:

Variante A: Ersatz des Lösungsmittels Acetonitril gegen *N,N*-Dimethylformamid.

Variante B: Einsatz des an der Aminofunktion Acetyl-geschützten Acyclovirs.

Variante C: Einsatz des an der Aminofunktion DMTr-geschützten Acyclovirs.

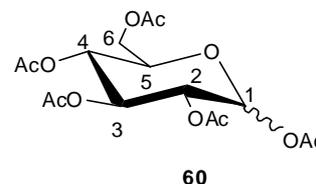
8.2.3 Synthese der Nucleophile

8.2.3.1 Synthese der Glucose-Derivate

Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Glucopyranose **60**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 5 durchgeführt. Es wurden 4.00 g (22.2 mmol) D-Glucose **2**, 31.5 mL (34.0 g, 0.330 mol) Essigsäureanhydrid und 40 mL Pyridin eingesetzt.

Ausbeute: 8.51 g (21.8 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₂O₁₁; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.75; **Schmelzpunkt:** 105 °C; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 2:1; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 57 (c = 1.0, CHCl₃).

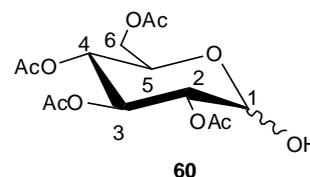


α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.29 (d, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H1), 5.44 (dd, ³J_{HH} = 9.0 Hz, ³J_{HH} = 9.0 Hz, 1H, H3), 5.13-5.05 (m, 2H, H2, H4), 4.28-4.21 (m, 1H, H6), 4.11-4.04 (m, 2H, H5, H6), 2.15, 2.06, 2.01, 1.99, 1.98, (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl). **α-¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 169.7, 169.4, 168.8, 168.3 (5x C=OAcetyl), 89.1 (C1), 72.9 (C5), 69.9 (C3), 69.3 (C2), 68.0 (C4), 61.6 (C6), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5, 19.9 (5x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 1740, 1369, 1206, 1136, 1043, 1009, 930, 899. **MS (FAB)** ber.: 413.1 [M+Na], gef.: 413.2.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Glucopyranose **63**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 6 durchgeführt. Es wurden 3.00 g (7.69 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Glucopyranose **60**, 850 mg (9.23 mmol) Hydraziniumacetat und 7 mL DMF eingesetzt.

Ausbeute: 1.71 g (4.92 mmol, 64%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₁₄H₂₀O₁₀; **Molgewicht:** 348.3 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.62; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 4:1; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 55 (c = 1.0, CHCl₃).



α - $^1\text{H-NMR}$ δ/ppm (400 MHz, CDCl_3): 5.45 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, 1H, H3), 5.37 (d, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1H, H1), 5.00 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, 1H, H4), 4.79 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1H, H2), 4.21-4.14 (m, 2H, H5, H6), 4.08-4.03 (m, 1H, H6), 2.01, 2.00, 1.96, 1.94, (4x s, 4x 3H, 4x CH_3Acetyl). **α - $^{13}\text{C-NMR}$** δ/ppm (101 MHz, CDCl_3): 171.0, 170.8, 170.3, 169.8 (4x $\text{C}=\text{OAcetyl}$), 89.9 (C1), 71.2 (C5), 70.0 (C2), 68.6 (C4), 66.9 (C3), 62.0 (C6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.3 (4x CH_3Acetyl). **IR** ν/cm^{-1} : 3466, 2960, 1740, 1433, 1366, 1210, 1152, 1029, 943, 910, 599. **MS (FAB)** ber.: 331.3 [M-OH], gef.: 331.2.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Glucopyranosyl-Phosphat **68 α**

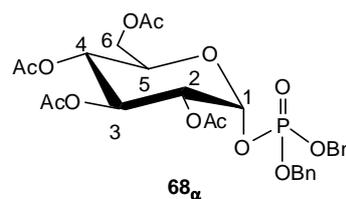
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 2.83 g (8.14 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Glucopyranose **63**, 39.6 mL (9.91 mol) Dicyanoimidazol (0.25 M in MeCN), 4.25 mL (4.28 g, 12.4 mmol) *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 80 mL Dichlormethan verwendet. Die Reaktionszeit betrug 2 Stunden. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 2.30 g (13.4 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure verwendet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten 68% des α -Anomers und 12% des β -Anomers isoliert werden.

Ausbeute: 3.38 g (5.56 mmol, 68%) eines farblosen Öls;

Summenformel: $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{13}\text{P}$; **Molgewicht:** 608.53 g/mol;

DC: R_f -Wert (PE/EE, 1:1): 0.31; **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +63^\circ$ ($c = 0.16$, CHCl_3).



$^1\text{H-NMR}$ δ/ppm (400 MHz, CDCl_3): 7.37-7.31 (m, 10H, $\text{H}_{\text{Ar}}\text{Benzyl}$), 5.90 (dd, $^3J_{\text{HP}} = 6.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 1H, H1), 5.47 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.9$ Hz, 1H, H3), 5.12-5.05 (m, 5H, 2x CH_2Benzyl , H2), 4.99-4.95 (m, 1H, H4), 4.15 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 1H, H6), 4.04 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, H5), 3.92 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, H6), 2.01, 2.00, 1.98, 1.88 (4x s, 4x 3H, 4x CH_3Acetyl). **$^{13}\text{C-NMR}$** δ/ppm (101 MHz, CDCl_3): 170.9, 170.4, 170.2, 169.8 (4x $\text{C}=\text{OAcetyl}$), 129.2, 128.9, 128.5, 128.4 (6x $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Benzyl}$), 94.3

(d, $^2J_{CP} = 5.3$ Hz, C1), 70.2 (C5), 70.3 (d, $^2J_{CP} = 4.5$ Hz, CH₂Benzyl), 70.2 (d, $^2J_{CP} = 4.7$ Hz, CH₂Benzyl), 70.1 (C4), 67.2 (d, $^3J_{CP} = 2.9$ Hz, C2), 68.1 (C3), 61.6 (C6), 21.0, 20.9, 20.7 (4x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): -1.42. **IR** ν/cm⁻¹: 2956, 1744, 1369, 1213, 1161, 1009, 950, 737, 696, 597, 495. **MS (FAB)** ber.: 609.2 [M+H]⁺, gef.: 609.1

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-α-D-Glucopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 71_α

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 120 mg (0.200 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc-α-D-Glucopyranosyl-Phosphat **68_α** und 55.0 μL (39.9 mg, 0.390 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 3 mL Dioxan verwendet.

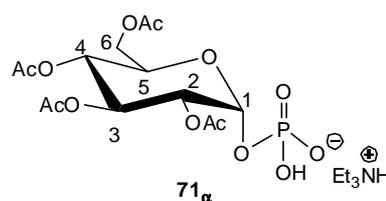
Ausbeute: 96 mg (0.18 mmol, 92%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P;

Molgewicht: 529.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:2):

0.15; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein;

Drehwert: [α]_D²⁰ = +90 ° (c = 1.0, MeOH).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, D₂O): 5.63 (dd, $^3J_{HP} = 7.8$ Hz, $^3J_{HH} = 3.5$ Hz, 1H, H1), 5.44 (dd, $^3J_{HH} = 10.0$ Hz, $^3J_{HH} = 9.8$ Hz, 1H, H3), 5.10 (dd, $^3J_{HH} = 9.8$ Hz, $^3J_{HH} = 9.8$ Hz, 1H, H4), 5.23 (ddd, $^3J_{HH} = 10.0$ Hz, $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, $^4J_{HP} = 2.1$ Hz, 1H, H2), 4.40-4.32 (m, 2H, H5, H6), 4.16-4.13 (m, 1H, H6), 3.15 (q, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 6H, CH₂NEt₃), 2.08, 2.07, 2.05, 2.03, (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.23 (t, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 9H, CH₃NEt₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, D₂O): 174.1, 173.7, 173.2, 173.1 (4x C=OAcetyl), 91.7 (d, $^2J_{CP} = 5.1$ Hz, C1), 70.9, 70.8 (C2, C3), 68.4 (C5), 68.2 (C4), 62.1 (C6), 47.0 (CH₂NEt₃), 20.6, 20.5, 20.4, 19.9 (4x CH₃Acetyl), 8.6 (CH₃NEt₃). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, D₂O): 0.05. **IR** ν/cm⁻¹: 2982, 1741, 1365, 1214, 1030, 908, 817, 695, 580, 519. **MS (FAB)** ber.: 530.2 [M+H]⁺, gef.: 530.0.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -Brom-D-Glucose **73**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 7 durchgeführt. Dazu wurden 6.76 g (17.3 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Glucopyranose **60**, 16 mL HOAc/Ac₂O (1:1) und 16.0 mL (91.0 mmol) HBr-Lösung verwendet.

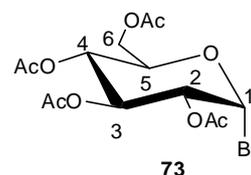
Ausbeute: 6.89 g (17.1 mmol, 97%) orangefarbener Kristalle;

Summenformel: C₁₄H₁₉BrO₉; **Molgewicht:** 411.23 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 2:1): 0.35; **Schmelzpunkt:** 78 °C;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = + 19^\circ (c = 1.0, \text{CHCl}_3)$.



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.59 (d, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, H1), 5.54 (dd, ³J_{HH} = 9.9 Hz, ³J_{HH} = 9.9 Hz, 1H, H3), 5.15 (dd, ³J_{HH} = 10.1 Hz, ³J_{HH} = 9.6 Hz, 1H, H4), 4.82 (dd, ³J_{HH} = 10.1 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, H2), 4.33-4.26 (m, 2H, H5, H6), 4.13-4.08 (m, 1H, H6), 2.09, 2.08, 2.04, 2.02 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl).

¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 169.8, 169.7, 169.4 (4x C=OAcetyl), 86.5 (C1), 72.1 (C3), 70.6 (C5), 70.2 (C2), 67.2 (C4), 60.9 (C6), 20.6, 20.6, 20.5, 20.5 (4x CH₃Acetyl). **IR** ν /cm⁻¹: 2962, 1783, 1363, 1222, 1107, 1036, 922, 552.

HRMS (FAB) ber.: 411.0285 [M+H]⁺, gef.: 411.0272.

Synthese von Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphat **68_{\beta}**

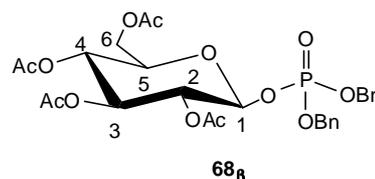
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 11 durchgeführt. Es wurden 3.15 g (8.46 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -Brom-D-Glucose **73**, gelöst in 25 mL Dichlormethan und 3.48 g (12.5 mmol) Dibenzylphosphat, gelöst in 40 mL Dichlormethan und 40 mL Acetonitril sowie 3.45 g (12.5 mmol) Silbercarbonat verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 Stunden.

Ausbeute: 3.19 g (5.24 mmol, 62%) eines farblosen

Sirups; **Summenformel:** C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.53 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.40;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = - 4.3^\circ (c = 1.0, \text{CHCl}_3)$.

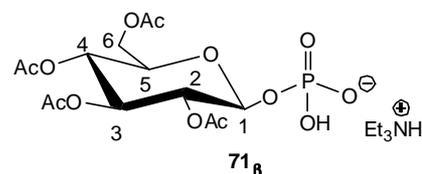


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.30-7.22 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.35-5.34 (m, 1H, H4), 5.27-5.24 (m, 2H, H1,H2), 5.02-4.94 (m, 5H, 2x CH₂Benzyl, H3), 4.10-4.00 (m, 2H, H6), 4.00-3.93 (m, 1H, H5), 2.17, 1.98, 1.97, 1.84 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CHCl₃): 170.2, 170.1, 169.9, 169.5 (4x C=OAcetyl), 128.7-127.8 (10x C_{Ar}Benzyl), 99.8 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C1), 71.8 (C5), 70.5 (C3), 69.7-69.6 (dd, ³J_{CP} = 5.9 Hz, 2x CH₂Benzyl), 68.7 (d, ³J_{CP} = 8.8 Hz, C2), 66.7 (C4), 61.1 (C6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (4x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 3.18. **IR** ν/cm⁻¹: 1742, 1368, 1211, 1009, 887, 738, 697, 597, 500. **MS (FAB)** ber.: 609.2 [M+Na], gef.: 609.1.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-β-D-Glucopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 71_β

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 3.15 g (5.24 mmol) Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc-β-D-Glucopyranosyl-Phosphat **68_β** und 1.50 mL (1.07 g, 10.5 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 30 mL Dioxan verwendet.

Ausbeute: 2.34 g (4.42 mmol, 84%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₀H₃₆O₁₃PN; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 7:2): 0.12; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 6.8° (c = 1.0, MeOH).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.41 (d, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, H4), 5.23-5.16 (m, 2H, H2, H1), 5.07 (dd, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H3), 3.12 (q, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 4H, CH₂Et₃N), 4.24-4.15 (m, 3H, H5, H6), 2.16, 2.06, 2.02, 1.95 (4x s, 4x 3 H, 4x CH₃Acetyl), 1.21 (t, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 9H, CH₃Et₃N). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CHCl₃): 173.6, 173.3, 173.2, 172.8 (4x C=OAcetyl), 95.5 (d, ²J_{CP} = 3.7 Hz, C1), 71.1 (C5), 71.0 (C2), 70.1 (d, ⁴J_{HP} = 8.0 Hz, C3), 68.0 (C4), 61.8 (C6), 46.8 (CH₂Et₃N), 20.4, 20.3, 20.2, 20.1 (4x CH₃Acetyl), 8.3 (CH₃Et₃N). **³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 1.88. **IR** ν/cm⁻¹: 2984, 1739, 1368, 1214, 1040, 922, 816, 731, 591, 515, 404. **MS (FAB):** ber.: 530.2 [M+H]⁺, gef.: 530.0.

8.2.3.2 Synthese der Galactose-Derivate

Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Galactopyranose 61

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 5 durchgeführt. Es wurden 10.0 g (55.5 mmol) D-Galactose **5**, 90.0 mL (97.1 g, 0.950 mol) Essigsäureanhydrid und 70 mL Pyridin eingesetzt.

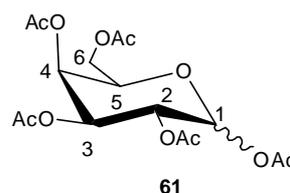
Ausbeute: 21.2 g (54.2 mmol, 98%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₂O₁₁; **Molgewicht:**

390.34 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.29;

Schmelzpunkt: 74 °C; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 7:1;

Drehwert: [α]_D²⁰ = + 31 (c = 1.0, CHCl₃).



α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.35 (d, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H1), 5.49-5.47 (m, 1H, H3), 5.32-5.31 (m, 2H, H2, H4), 4.34-4.30 (m, 1H, H6), 4.12-4.05 (m, 2H, H5, H6), 2.14, 2.13, 2.02, 2.00, 1.98 (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl). **α-¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.0, 169.8, 169.5, 168.8 (5x C=OAcetyl), 89.7 (C1), 68.8 (C5), 67.4 (C3), 67.3 (C2), 66.5 (C4), 61.2 (C6), 22.0, 21.2, 21.0, 20.3, 20.0 (5x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2963, 1736, 1370, 1209, 1136, 1036, 933, 603, 483, 417. **MS (FAB)** ber.: 391.1 [M+H]⁺, gef.: 391.3.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Galactopyranose 64

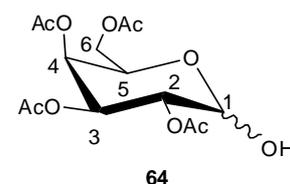
Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 6 durchgeführt. Es wurden 21.2 g (54.2 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Galactopyranose **61**, 6.30 g (68.0 mmol) Hydraziniumacetat und 30 mL DMF eingesetzt.

Ausbeute: 8.09 g (23.2 mmol, 43%) eines farblosen Sirups;

Summenformel: C₁₄H₂₀O₁₀; **Molgewicht:** 348.30 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.46; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 3:1;

Drehwert: [α]_D²⁰ = + 70 °(c = 1.0, CHCl₃).



α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.52 (d, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, H1); 5.47 (d, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H3), 5.41 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H2), 5.14 (dd,

$^3J_{\text{HH}} = 10.8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 3.5 \text{ Hz}$, 1H, H4), 4.48-4.46 (m, 1H, H6), 4.13-4.07 (m, 2H, H5, H6), 2.14, 2.09, 2.05, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). α -¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.1, 170.5, 170.2, 170.1 (4x C=OAcetyl), 90.6 (C1), 71.0 (C3), 70.0 (C2), 68.4 (C4), 66.2 (C5), 61.8 (C6), 21.0, 20.7, 20.6, 20.5 (4x CH₃Acetyl). IR ν /cm⁻¹: 3468, 2957, 1741, 1433, 1368, 1210, 1152, 1029, 943, 910, 735, 599. MS (FAB) ber.: 331.3 [M-OH], gef.: 331.1.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat **69 α**

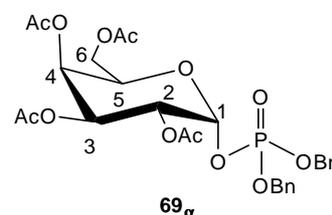
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 8.00 g (23.0 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Galactopyranose **64**, 112 mL (28.0 mmol) Dicyanoimidazol (0.25 M in MeCN), 12.0 mL (12.1 g, 35.0 mmol) *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 250 mL Dichlormethan verwendet. Die Reaktionszeit betrug 3.5 Stunden. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 6.50 g (38.0 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure verwendet. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten 51% des α -Anomers und 11% des β -Anomers isoliert werden.

Ausbeute: 4.85 mg (7.98 mmol, 51%) eines farblosen Öls;

Summenformel: C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.53 g/mol;

DC: R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.31; **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +7.8^\circ$ (c = 0.48, CHCl₃).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.37-7.34 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.95 (dd, $^3J_{\text{HP}} = 6.8 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 3.3 \text{ Hz}$, 1H, H1), 5.45 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.2 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 1.2 \text{ Hz}$, 1H, H3), 5.33 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 10.9 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 3.2 \text{ Hz}$, 1H, H4), 5.24-5.19 (m, 1H, H2), 5.11-5.05 (m, 4H, CH₂Benzyl), 4.32-4.27 (m, 1H, H6), 4.07 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 11.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 6.5 \text{ Hz}$, 1H, H5), 3.96 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 11.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 6.7 \text{ Hz}$, 1H, H6), 2.14, 2.03, 2.00, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). ¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 169.2, 168.8, 168.5, 167.6 (4x C=OAcetyl), 128.4, 128.0, 127.8, 127.6, 127.4, 127.0 (6x C_{Ar}Benzyl), 95.0 (C1), 75.8, 75.5 (2x CH₂Benzyl), 68.5 (C5), 68.3 (C2), 68.2 (C3), 65.8 (C4), 59.7 (C6), 22.1, 21.6, 21.4, 20.5 (4x CH₃Acetyl). ³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, CDCl₃): -2.89. IR ν /cm⁻¹: 2956, 1744, 1369, 1213, 1161, 1009, 950, 737, 696, 597, 495. MS (FAB) ber.: 609.2 [M+H]⁺, gef.: 609.3

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes **72 α**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 3.00 g (4.90 mmol) *bis*-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat **69 α** und 1.50 mL (1.13 g, 11.0 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 25 mL Dioxan verwendet.

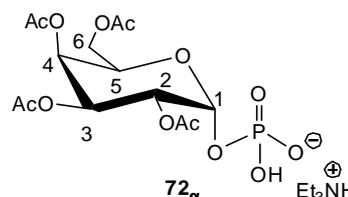
Ausbeute: 2.32 mg (4.36 mmol, 89%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P;

Molgewicht: 529.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1):

0.34; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +53^\circ$ (c = 0.69, MeOH).

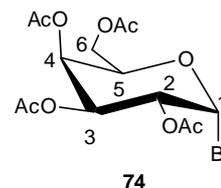


¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 5.63 (dd, ³J_{HP} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H1), 5.46 (d, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H3), 5.31 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H4), 5.12 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H2), 4.50 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 1H, H5), 4.16 (dd, ²J_{HH} = 11.5 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1H, H6), 4.10 (dd, ²J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1H, H6), 3.09 (q, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 10H, CH₂Et₃N), 2.11, 2.03, 1.98, 1.93 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.17 (t, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 15H, CH₃Et₃N). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 173.6, 173.3, 173.1, 172.9 (4x C=OAcetyl), 91.9 (C1), 68.7 (C4), 68.1 (C2), 67.9 (C3), 66.9 (C5), 61.9 (C6), 46.6 (CH₂Et₃N), 20.2, 20.1, 20.0, 19.9 (4x CH₃Acetyl), 8.2 (CH₃Et₃N). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -1.86. **IR** ν /cm⁻¹: 2982, 1741, 1365, 1214, 1030, 908, 817, 695, 580, 519. **MS (FAB)** ber.: 530.2 [M+H]⁺, gef.: 530.3.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -Brom-D-Galactose **74**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 7 durchgeführt. Dazu wurden 9.43 g (24.2 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Galactopyranose **61**, 20 mL HOAc/Ac₂O (1:1) und 20 mL (0.11 mol) HBr-Lösung verwendet.

Ausbeute: 9.59 g (23.3 mmol, 97%) eines goldgelben Sirups;
Summenformel: C₁₄H₁₉BrO₉; **Molgewicht:** 411.21 g/mol; **DC:**
R_f-Wert (PE/EE, 2:1): 0.32; **Anomerenverhältnis:**
α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 19 °(c = 1.0, CHCl₃).

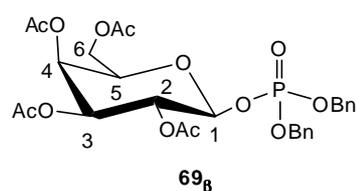


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.68 (d, ³J_{HH} = 4.1 Hz, 1H, H1), 5.51-4.49 (m, 1H, H4), 5.39 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.2 Hz, 1H, H3), 5.04 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H2), 4.49-4.45 (m, 1H, H5), 4.18 (dd, ²J_{HH} = 11.4 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 1H, H6), 4.10 (dd, ²J_{HH} = 11.4 Hz, ³J_{HH} = 6.6 Hz, 1H, H6), 2.14, 2.10, 2.05, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.0, 169.8, 169.7 (4x C=OAcetyl), 88.1 (C1), 71.0 (C5), 67.9 (C3), 67.7 (C2), 66.9 (C4), 60.8 (C6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 (4x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2965, 1750, 1433, 1372, 1221, 1127, 1081. **MS (FAB)** ber.: 411.0 [M+H]⁺, gef.: 411.1.

Synthese von Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc-β-D-Galactopyranosyl-Phosphat 69_β

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 11 durchgeführt. Es wurden 4.70 g (11.4 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc-α-Brom-D-Galactose **74**, gelöst in 40 mL Dichlormethan und 5.17 g (18.6 mmol) Dibenzylphosphat, gelöst in 50 mL Dichlormethan und 50 mL Acetonitril sowie 5.12 g (18.6 mmol) Silbercarbonat verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 Stunden.

Ausbeute: 6.32 mg (10.4 mmol, 91%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.17 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.40; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 1.8 °(c = 1.0, CHCl₃).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.27-7.24 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.28 (dd, ³J_{HP} = 8.3 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, H1), 5.15-5.13 (m, 1H, H3), 5.07-5.04 (m, 6H, H2, H4, 2x CH₂Benzyl), 4.19-4.14 (m, 1H, H6), 4.05-4.03 (m, 1H, H6), 3.74 (ddd, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ³J_{HH} = 4.8 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H5), 2.03, 2.02, 2.00, 1.89 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CHCl₃): 170.4, 170.0, 169.4, 169.3

(4x C=OAcetyl), 128.7-127.8 (10x C_{Ar}Benzyl), 96.3 (d, ²J_{CP} = 4.6 Hz, C1), 72.7 (C5), 72.4 (d, ⁴J_{CP} = 1.5 Hz, C3), 69.7 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, CH₂Benzyl), 69.1 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, CH₂Benzyl), 67.8 (C4), 61.5 (C6), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (4x CH₃Acetyl). ³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 3.24. IR ν/cm⁻¹: 1743, 1455, 1367, 1210, 1009, 882, 738, 696, 597, 496. MS (FAB) ber.: 609.2 [M+Na], gef.: 609.1.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-β-D-Galactopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 72_β

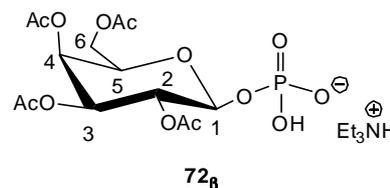
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 6.31 g (10.4 mmol) Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc-β-D-Galactopyranosyl-Phosphat **69_β** und 2.90 mL (2.07 g, 20.8 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 70 mL Dioxan verwendet.

Ausbeute: 4.73 g (8.93 mmol, 86%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆O₁₃PN;

Molgewicht: 529.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 7:2): 0.16; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein;

Drehwert: [α]_D²⁰ = + 6.3° (c = 1.0, MeOH).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.33 (dd, ³J_{HH} = 10.5 Hz, ³J_{HH} = 9.7 Hz, 1H, H3), 5.19 (dd, ³J_{HP} = 8.8 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H1), 5.05 (dd, ³J_{HH} = 10.5 Hz, ³J_{HH} = 9.7 Hz, 1H, H4), 4.94-4.91 (m, 1H, H2), 4.33 (dd, ²J_{HH} = 12.9 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H6), 4.15 (dd, ²J_{HH} = 12.9 Hz, ³J_{HH} = 2.9 Hz, 1H, H6), 4.03 (ddd, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H5), 3.11 (q, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 6H, CH₂Et₃N), 2.13, 2.12, 2.10, 2.07 (4x s, 4x 3 H, 4x CH₃Acetyl), 1.20 (t, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 9H, CH₃Et₃N). ¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, CHCl₃): 173.8, 173.1, 172.9, 172.8 (4x C=OAcetyl), 95.2 (d, ²J_{CP} = 4.4 Hz, C1), 73.0 (C3), 72.1 (d, ³J_{CP} = 8.0 Hz, C2), 71.6 (C5), 68.1 (C4), 61.8 (C6), 46.0 (CH₂Et₃N), 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (4x CH₃Acetyl), 8.3 (CH₃Et₃N). ³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 1.88. IR ν/cm⁻¹: 2987, 1740, 1366, 1213, 1031, 909, 821, 696, 580, 519. MS (FAB): ber.: 530.2 [M+H]⁺, gef.: 530.0.

8.2.3.3 Synthese der Mannose-Derivate

Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Mannopyranose **62**

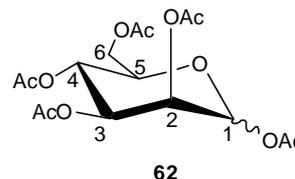
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 5 durchgeführt. Es wurden 1.00 g (5.55 mmol) D-Mannose **6**, 8.30 mL (9.04 g, 88.0 mmol) Essigsäureanhydrid und 15 mL Pyridin eingesetzt.

Ausbeute: 1.65 g (4.23 mmol, 76%) eines farblosen Sirups;

Summenformel: C₁₆H₂₂O₁₁; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 30:1): 0.49; **Anomerenverhältnis:**

α/β ≈ 5:1; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 37 °(c = 1.0, CHCl₃).



α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.13 (d, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H1), 5.38-5.33 (m, 2H, H3, H4), 5.26-5.24 (m, 1H, H2), 4.37-4.32 (m, 1H, H6), 4.12-4.09 (m, 1H, H6), 4.05-4.03 (m, 1H, H5), 2.15, 2.13, 2.11, 2.06, 2.03 (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl).

α-¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.4 170.9, 170.3, 169.8 (5x C=OAcetyl), 90.3 (C1), 77.2 (C5), 71.1 (C3), 68.3 (C2), 66.1 (C4), 62.5 (C6), 21.3, 20.1, 20.9, 20.6 (5x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2992, 1740, 1433, 1367, 1206, 1146, 1024, 970, 599.

MS (FAB) ber.: 389.1 [M-H]⁻, gef.: 389.0.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Mannopyranose **65**

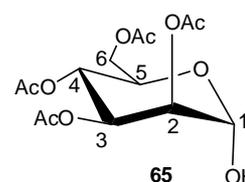
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 6 durchgeführt. Es wurden 2.00 g (5.12 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-D-Mannopyranose **62**, 566 mg (6.15 mmol) Hydraziniumacetat und 7 mL DMF eingesetzt.

Ausbeute: 1.28 g (3.67 mmol, 72%) eines farblosen Sirups;

Summenformel: C₁₄H₂₀O₁₀; **Molgewicht:** 348.30 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.43; **Anomerenverhältnis:**

α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 19 °(c = 1.0, CHCl₃).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.33 (dd, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H3), 5.32-5.31 (m, 3H, H1, H2, H4), 4.27-4.20 (m, 2H, H5, H6), 4.15-4.12 (m, 1H, H6), 2.15, 2.10, 2.04, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz,

CDCl₃): 171.0, 170.4, 170.2, 170.0 (4x C=OAcetyl), 92.3 (C1), 70.2 (C2), 68.9 (C3), 68.6 (C5), 66.3 (C4), 62.6 (C6), 21.0, 20.9, 20.8 (4x CH₃Acetyl). IR v/cm⁻¹: 3475, 2958, 1739, 1452, 1370, 1211, 1152, 1029, 944, 912, 603, 599. MS (FAB) ber.: 331.3 [M-OH], gef.: 331.2.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Mannopyranosyl-Phosphat **70 α**

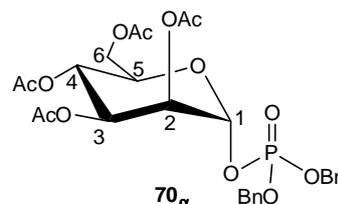
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 1.90 g (5.45 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc-D-Mannopyranose **65**, 26.2 mL (6.54 mmol) Dicyanoimidazol (0.25 M in MeCN), 2.70 mL (2.83 g, 8.18 mmol) *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 10 mL Dichlormethan verwendet. Die Reaktionszeit betrug 4 Stunden. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 1.41 g (8.18 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure verwendet.

Ausbeute: 2.55 g (4.19 mmol, 77%) eines farblosen Öls;

Summenformel: C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.53 g/mol;

DC: R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.35; **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = +41^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.34-7.37 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.60 (dd, ³J_{HP} = 6.5 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, H1), 5.29-5.28 (m, 3H, H2, H3, H4), 5.10-5.07 (m, 4H, 2x CH₂Benzyl), 4.25-4.24 (m, 1H, H6), 4.06-4.00 (m, 1H, H5), 3.92 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, 1H, H6), 1.99, 2.03, 2.04, 2.15 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 169.7, 169.6 (4x C=OAcetyl), 128.9, 128.8, 128.3, 128.1 (C_{Ar}Benzyl), 94.7 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C1), 70.3 (C5), 70.1 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, CH₂Benzyl), 69.9 (d, ²J_{CP} = 5.6 Hz, CH₂Benzyl), 68.8 (d, ³J_{CP} = 11.7 Hz, C2), 68.3 (C3), 65.3 (C4), 61.8 (C6), 20.8, 20.7, 20.6 (4x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, CDCl₃): - 3.10. IR v/cm⁻¹: 2956, 1744, 1369, 1213, 1161, 1009, 950, 737, 696, 597, 495. MS (FAB) ber.: 609.2 [M+H]⁺, gef.: 609.1

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Mannopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes **73 α**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 1.00 g (1.64 mmol) bis-(Benzyl)-2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Mannopyranosyl-Phosphat **70 α** und 455 μ L (332 mg, 3.28 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 10 mL Dioxan verwendet.

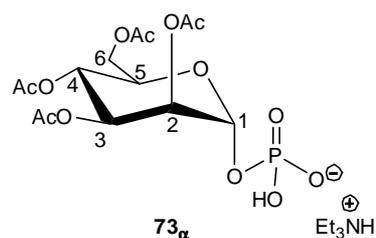
Ausbeute: 852 mg (1.61 mmol, 98%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₃₆NO₁₃P;

Molgewicht: 529.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH,

7:2): 0.45; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +26^\circ$ (c = 0.69, MeOH).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 5.54 (d, ³J_{HP} = 6.3 Hz, 1H, H1), 4.37-3.80 (m, 4H, H5, H6, H2, H4), 3.68-3.64 (m, 1H, H6), 3.10 (q, 6H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₂Et₃N), 1.95, 2.02, 2.08, 2.13 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.36 (t, 9H, ³J_{HH} = 7.3 Hz, CH₃Et₃N).

¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, D₂O): 171.9, 171.8, 171.7 (4x C=OAcetyl), 94.1 (d, ³J_{CP} = 5.5 Hz, C1), 77.4 (d, ³J_{CP} = 9.2 Hz, C2), 69.7 (C3), 69.3 (C4), 66.4 (C5), 62.6 (C6), 46.1 (CH₂Et₃N), 21.3, 21.2, 21.1, 21.0 (4x CH₃Acetyl), 8.9 (CH₃Et₃N).

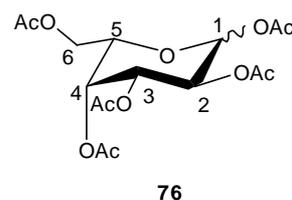
³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, D₂O): -1.37. **IR** ν /cm⁻¹: 2982, 1741, 1365, 1214, 1030, 908, 817, 695, 580, 519. **MS (FAB)** ber.: 530.2 [M+H]⁺, gef.: 530.3.

8.2.3.4 Synthese der L-Galactose und ihrer Derivate

Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-OAc-L-Galactopyranose **76**

Es wurden 10.0 g (56.0 mmol) L-Galactono- γ -lacton **75** in 60 mL Methanol und 250 mL Wasser gelöst und auf 0 °C gekühlt. Die Reaktionslösung wurde mit 50 - 100 mL Amberlite versetzt, sodass der pH-Wert zwischen 3 und 5 lag. Anschließend wurden 2.28 g (73.7 mmol) Natriumborhydrid portionsweise zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und fünfmal mit Methanol coevaporiert. Die anschließende Acetylierung erfolgte nach AAV 5 mit 80.0 mL (86.3 g, 0.840 mol) Essigsäureanhydrid und 100 mL Pyridin.

Ausbeute: 18.3 g (46.9 mmol, 84%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₂O₁₁; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.57; **Schmelzpunkt:** 154 °C; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 2:1; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 31 °(c = 1.2, CHCl₃).

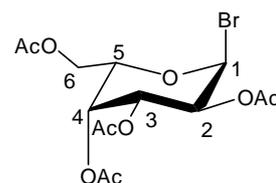


β-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.79 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H1), 5.36 (dd, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, H3), 4.86-4.84 (m, 4H, H2, H4, H5, H6), 4.72 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H6), 2.30, 2.29, 2.28, 2.03, 1.99 (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl). **β-¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.0, 169.8, 169.5, 168.8 (5x C=OAcetyl), 89.7 (C1), 68.8 (C5), 67.4 (C3), 67.3 (C2), 66.5 (C4), 61.2 (C6), 22.0, 21.2, 21.0, 20.3, 20.0 (5x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2939, 1698, 1382, 1212, 1146, 1027, 953, 611, 453, 407. **MS (FAB)** ber.: 391.1 [M+H]⁺, gef.: 391.2.

Darstellung von 2,3,4,6-Tetra-OAc-α-Brom-L-Galactose

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 7 durchgeführt. Dazu wurden 15.0 g (38.0 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-OAc-L-Galactopyranose **76**, 15 mL HOAc/Ac₂O (1:1) und 30 mL (0.17 mol) HBr-Lösung verwendet.

Ausbeute: 15.2 g (37.0 mmol, 96%) eines bräunlichen Sirups; **Summenformel:** C₁₄H₁₉BrO₉; **Molgewicht:** 411.20 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 2:1): 0.48; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 36 °(c = 1.0, CHCl₃).

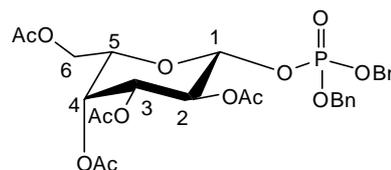


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.83 (d, ³J_{HH} = 3.9 Hz, 1H, H1), 5.99-5.49 (m, 1H, H4), 5.41-5.39 (m, 1H, H3), 5.12-5.09 (m, 1H, H2), 4.59-4.55 (m, 1H, H5), 4.18-4.09 (m, 2H, H6), 2.31, 2.29, 2.28, 2.17 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.3, 170.9, 169.8, 169.7 (4x C=OAcetyl), 92.1 (C1), 78.0 (C5), 69.1 (C3), 68.2 (C2), 67.5 (C4), 62.8 (C6), 21.7, 21.4, 20.9, 20.1 (4x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3016, 1802, 1453, 1396, 1241, 1134, 1076. **MS (FAB)** ber.: 411.0 [M+H]⁺, gef.: 411.5.

Synthese von Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc- β -L-Galactopyranosyl-Phosphat

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 11 durchgeführt. Es wurden 5.00 g (12.1 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -Brom-L-Galactose, gelöst in 30 mL Dichlormethan und 6.10 g (21.9 mmol) Dibenzylphosphat, gelöst in 50 mL Dichlormethan und 50 mL Acetonitril sowie 6.00 g (21.9 mmol) Silbercarbonat verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 4.90 mg (8.05 mmol, 66%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₈H₃₃O₁₃P; **Molgewicht:** 608.17 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.53; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein;



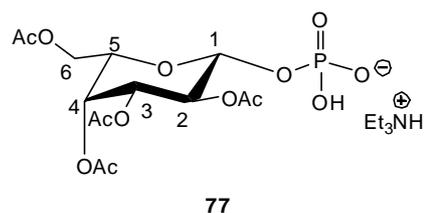
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +9.7^\circ$ (c = 0.73, CHCl₃).

¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.34-7.32 (m, 10H, H_{Ar}Benzy), 6.30 (d, ⁴J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H1), 5.51 (d, ⁴J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H3), 5.46-5.44 (m, 2H, H2, H4), 5.43-5.40 (m, 4H, 2x CH₂Benzy), 5.20-5.14 (m, 2H, H5, H6), 5.02-5.00 (m, 1H, H6), 2.18, 2.14, 2.09, 2.04 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CHCl₃): 175.4, 174.1, 172.4, 171.6 (4x C=OAcetyl), 131.4-130.8 (10x C_{Ar}Benzy), 94.3 (d, ²J_{CP} = 4.3 Hz, C1), 73.7 (C5), 72.9 (d, ⁴J_{CP} = 1.8 Hz, C3), 70.6 (d, ²J_{CP} = 5.7 Hz, CH₂Benzy), 69.0 (d, ²J_{CP} = 5.7 Hz, CH₂Benzy), 66.3 (C4), 61.7 (C6), 23.3, 22.0, 21.7, 20.5 (4x CH₃Acetyl). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, CDCl₃): -3.21. **IR** ν /cm⁻¹: 1803, 1463, 1367, 1212, 1069, 898, 758, 694, 572, 434. **MS (FAB)** ber.: 609.2 [M+Na], gef.: 609.4.

Synthese von 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -L-Galactopyranosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 77

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 750 g (1.23 mmol) Dibenzyl-2,3,4,6-Tetra-OAc- β -L-Galactopyranosyl-Phosphat und 0.340 mL (0.250 g, 2.47 mmol) Triethylamin eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 15 mL Dioxan verwendet.

Ausbeute: 478 g (0.910 mmol, 74%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{20}H_{36}O_{13}PN$; **Molgewicht:** 529.47 g/mol; **DC:** R_f -Wert ($CH_2Cl_2/MeOH$, 7:2): 0.09; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 0.98$, MeOH).



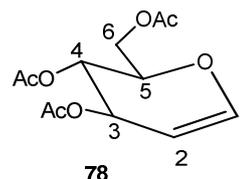
1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 5.52-5.49 (m, 1H, H1), 5.31-5.24 (m, 2H, H2, H3), 5.15 (dd, $^3J_{HH} = 9.9$ Hz, $^3J_{HH} = 8.2$ Hz, 1H, H4), 4.30-4.24 (m, 3H, H5, H6), 3.22 (q, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 6H, CH_2Et_3N), 2.24, 2.15, 2.11, 2.04 (4x s, 4x 3 H, 4x $CH_3Acetyl$), 1.29 (t, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 9H, CH_3NEt_3). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 173.5, 173.3, 173.2, 172.7 (4x $C=OAcetyl$), 95.4 (d, $^2J_{CP} = 4.1$ Hz, C1), 71.0 (C3), 70.9 (C4), 70.0 (d, $^3J_{CP} = 7.6$ Hz, C2), 67.9 (C5), 61.8 (C6), 46.7 (CH_2Et_3N), 20.3, 20.1, 20.0, 19.9 (4x $CH_3Acetyl$), 8.2 (CH_3NEt_3). **^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): -1.32. **IR** ν/cm^{-1} : 3008, 2156, 1633, 1366, 1211, 1028, 929, 838, 699, 574, 523. **MS (FAB)** ber.: 530.2 $[M+H]^+$, gef.: 530.1.

8.2.3.5 Synthese der fluorierten Zuckerphosphate

Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-D-Glucal 78

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 8 durchgeführt. Dazu wurden 6.89 g (16.8 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -Brom-D-Glucose 73, 10.0 g (0.15 mol) Zink und 2.10 mL (2.16 g, 25.0 mmol) *N*-Methylimidazol verwendet.

Ausbeute: 3.07 g (11.2 mmol, 67%) farbloser Kristalle; **Summenformel:** $C_{12}H_{16}O_7$; **Molgewicht:** 272.25 g/mol; **DC:** R_f -Wert (PE/EE, 2:1): 0.55; **Schmelzpunkt:** 53 °C; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$ ($c = 0.14$, $CHCl_3$).



1H -NMR δ /ppm (400 MHz, $CDCl_3$): 6.43 (dd, $^3J_{HH} = 6.3$ Hz, $^4J_{HH} = 1.3$ Hz, 1H, H1), 5.31-5.29 (m, 1H, H3), 5.18 (dd, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, $^3J_{HH} = 5.8$ Hz, 1H, H4), 4.81 (dd, $^3J_{HH} = 6.3$ Hz, $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, H2), 4.36 (dd, 1H, $^2J_{HH} = 12.1$ Hz, $^3J_{HH} = 5.6$ Hz,

H6), 4.24-4.20 (m, 1H, H6), 4.16 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 12.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, H5), 2.05, 2.04, 2.01 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.3, 169.5 (3x C=OAcetyl), 145.5 (C1), 98.9 (C2), 67.3 (C3), 67.1 (C4), 61.3 (C6), 60.2 (C5), 20.9, 20.7, 20.6 (3x CH₃Acetyl). **IR** ν /cm⁻¹: 1735, 1649, 1368, 1211, 1028, 818, 600. **HRMS (FAB)** ber.: 273.0974 [M+H]⁺, gef.: 273.0970.

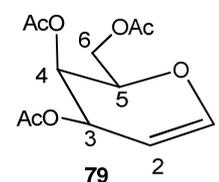
Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-D-Galactal 79

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 8 durchgeführt. Dazu wurden 9.59 g (23.3 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactosyl-Bromid **74**, 10.0 g (0.15 mol) Zink und 2.10 mL (2.16 g, 25.0 mmol) *N*-Methylimidazol verwendet.

Ausbeute: 2.06 g (7.57 mmol, 32%) eines hellgelben Öls;

Summenformel: C₁₂H₁₆O₇; **Molgewicht:** 272.25 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 2:1): 0.80; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -33^\circ$ (c = 0.12, CHCl₃).

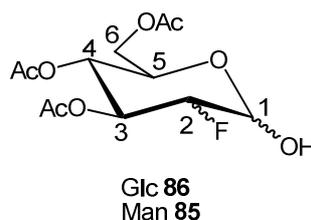


¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.45 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1H, H1), 5.55-5.53 (m, 1H, H3), 5.42-5.40 (m, 1H, H4), 4.71 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, H2), 4.33-4.28 (m, 1H, H6), 4.33-4.18 (m, 2H, H5, H6), 2.11, 2.07, 2.01 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.2, 170.1 (3x C=OAcetyl), 145.4 (C1), 98.8 (C2), 63.8 (C3), 63.7 (C4), 61.8 (C6), 60.3 (C5), 20.8, 20.7, 20.6 (3x CH₃Acetyl). **IR** ν /cm⁻¹: 1736, 1650, 1369, 1212, 1146, 1030. **HRMS (FAB)** ber.: 273.0974 [M+H]⁺, gef.: 273.0970.

Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose 86 und 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Mannose 85

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 9 durchgeführt. Es wurden 1.00 g (3.67 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-D-Glucal **78**, 2.08 g (5.87 mmol) Selectfluor[®] **80** sowie 3 mL DMF und 2 mL Wasser eingesetzt. Hierbei entstand ein Gemisch aus 3,4,6-Tri-OAc-2-desoxy-2-fluor- α / β -D-Glucose **86** und 3,4,6-Tri-OAc-2-desoxy-2-fluor- α -D-Mannose **85**, welches im Folgenden durch Acetylierung an den anomeren Zentren getrennt werden konnte.

Ausbeute: 450 mg (1.47 mmol, 40%) eines farblosen Öls als Gemisch; **Summenformel:** C₁₂H₁₇FO₈; **Molgewicht:** 308.26 g/mol.

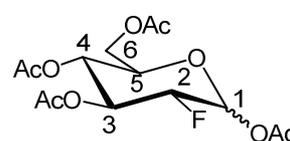


Synthese von 1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose und 1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Mannose

Es wurden 452 mg (1.47 mmol) des Gemisches von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α/β -D-Glucose **86** und 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose **85** in 7.20 mL abs. Pyridin gelöst und mit 3.6 mL (3.9 g, 0.040 mol) Essigsäureanhydrid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde mehrmals mit Toluol codestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr wahrgenommen werden konnte. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EE; 5:1→3:1) gereinigt, wobei das Gluco- und das Manno-Produkt voneinander getrennt werden konnten.

1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose

Ausbeute: 286 mg (0.820 mmol) eines farblosen Öls;
Summenformel: C₁₄H₁₉FO₉; **Molgewicht:** 350.29 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.41; **Anomerenverhältnis:** $\alpha/\beta \approx 1:0.4$.



α -¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.40 (d, ³J_{HH} = 3.9 Hz, 1H, H1), 5.53 (dd, ³J_{HH} = 19.6 Hz, ³J_{HH} = 9.6 Hz, 1H, H3), 5.06 (dd, ³J_{HH} = 19.6 Hz, ³J_{HH} = 10.5 Hz, 1H, H4), 4.65 (ddd, ²J_{HF} = 48.3 Hz, ³J_{HH} = 9.6 Hz, ³J_{HH} = 3.9 Hz, 1H, H2), 4.29-4.25 (m, 2H, H6), 4.11-4.06 (m, 1H, H5), 2.19, 2.14, 2.07, 2.06 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl).
 α -¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 91.3, 91.1 (4x C=OAcetyl), 88.3 (C1), 85.3 (C2), 70.6 (C3), 69.5 (C5), 67.4 (C4), 61.3 (C6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (4x CH₃Acetyl).
 α -¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -201.5 (dd, ²J_{FH} = 48.3 Hz, ³J_{FH} = 12.0 Hz).
IR ν /cm⁻¹: 2937, 1744, 1673, 1368, 1207, 1032, 936, 893.
HRMS (FAB) ber.: 350.1013 [M+H]⁺, gef.: 350.1002.

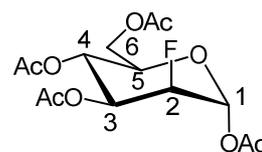
1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose

Ausbeute: 260 mg (0.740 mmol) eines farblosen Öls;

Summenformel: C₁₄H₁₉FO₉; **Molgewicht:** 350.29 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.31, **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein.



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.27 (dd, ³J_{HF} = 6.4 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H1), 5.35 (dd, ³J_{HH} = 6.9 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H4), 5.19 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H3), 4.81 (ddd, ²J_{HF} = 48.5 Hz, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H2), 4.28-4.24 (m, 1H, H6), 4.15-4.13 (m, 1H, H6), 4.08 (dd, ³J_{HH} = 6.9 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H5), 2.17, 2.11, 2.09, 2.05 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 90.3 (4x C=OAcetyl), 89.9 (C1), 84.9 (C2), 70.7 (C5), 69.5 (C3), 65.2 (C4), 61.7 (C6), 20.8, 20.7 (4x CH₃Acetyl). **¹⁹F-NMR** δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -202.9 (ddd, ²J_{FH} = 48.5 Hz, ³J_{FH} = 26.9 Hz, ³J_{FH} = 6.4 Hz). **IR** ν /cm⁻¹: 2937, 1744, 1673, 1368, 1207, 1032, 936, 893. **HRMS (FAB)** ber.: 350.1012 [M+H]⁺, gef.: 350.1005.

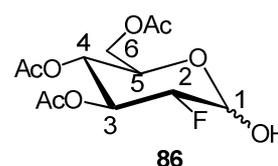
Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose 86

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 6 durchgeführt. Es wurden 286 mg (0.820 mmol) 1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose, 90.7 mg (0.980 mmol) Hydraziniumacetat und 5 mL DMF eingesetzt.

Ausbeute: 110 mg (0.360 mmol, 44%) eines gelblichen Öls;

Summenformel: C₁₂H₁₇FO₈; **Molgewicht:** 308.26 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.48, **Anomerenverhältnis:** α / β \approx 1:0.2.



α -¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.60 (dd, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H3), 5.48 (d, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1H, H1), 5.03 (dd, ³J_{HH} = 9.7 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H4), 4.38 (ddd, ²J_{FH} = 49.3 Hz, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1H, H2), 4.17-4.13 (m, 2H, H6), 4.10 (s, 1H, H5), 2.09, 2.07, 2.04 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **α -¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.1 (3x C=OAcetyl), 88.7 (C1), 86.8 (C2), 72.6 (C4), 70.3 (C3), 67.3 (C6), 60.4 (C5), 21.3, 20.7, 20.6 (3x CH₃Acetyl). **α -¹⁹F-NMR** δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -199.5 (dd, ²J_{FH} = 49.3 Hz, ³J_{FH} = 12.2 Hz). **IR** ν /cm⁻¹: 3434, 2955, 3076, 1739, 1368, 1213, 1159, 1026, 909. **HRMS (FAB)** ber.: 309.0986 [M+H]⁺, gef.: 309.0994.

Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose **85**

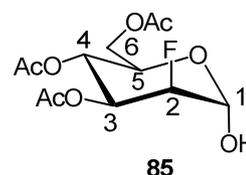
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 6 durchgeführt. Es wurden 398 mg (1.14 mmol) 1,3,4,6-Tetra-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose, 127 mg (1.37 mmol) Hydraziniumacetat und 6 mL DMF eingesetzt.

Ausbeute: 278 mg (0.900 mmol, 79%) eines gelblichen Öls;

Summenformel: C₁₂H₁₇FO₈; **Molgewicht:** 308.26 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.36, **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein.



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.35 (d, ³J_{HH} = 4.4 Hz, 1H, H3), 5.27 (d, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H1), 4.67 (d, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H2), 4.20-4.17 (m, 1H, H4), 4.30 (s, 2H, H6), 4.10 (s, 1H, H5), 2.10, 2.05, 2.04, (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl).

¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.9, 170.2, 169.6 (3x C=OAcetyl), 88.1 (C2), 69.7 (C3), 69.5 (C4), 65.9 (C1), 62.3 (C6), 60.4 (C5), 20.7, 20.6 (3x CH₃Acetyl).

¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -203.7 (ddd, ²J_{FH} = 49.5 Hz, ³J_{FH} = 29.3 Hz, ³J_{FH} = 6.6 Hz). **IR** ν /cm⁻¹: 3434, 2960, 1693, 1739, 1369, 1217, 1044, 975, 915.

HRMS (FAB) ber.: 309.0986 [M+H]⁺, gef.: 309.0987.

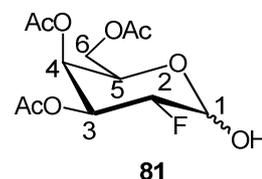
Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactose **81**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 9 durchgeführt. Es wurden 1.00 g (3.67 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-D-Galactal **79**, 2.08 g (5.87 mmol) Selectfluor[®] **80** sowie 3 mL DMF und 2 mL Wasser eingesetzt.

Ausbeute: 0.34 g (1.1 mmol, 30%) eines farblosen Öls;

Summenformel: C₁₂H₁₇FO₈; **Molgewicht:** 308.26 g/mol; **DC:**

R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.30; **Anomerenverhältnis:** α / β \approx 1:0.2.



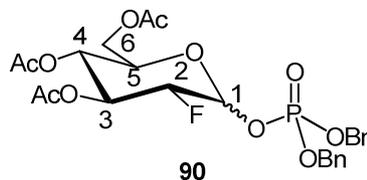
α -¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.53 (dd, ²J_{FH} = 49.0 Hz, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H2), 5.40 (d, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H3), 4.64 (d, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 1H, H1), 4.49 (ddd, ³J_{HH} = 13.2 Hz, ³J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 6.2 Hz, 1H, H5), 4.15-4.10 (m, 3H, H4, H6), 2.14, 2.09, 2.04 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **α -¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃):

170.0 (3x C=OAcetyl), 90.9 (C2), 86.7 (C1), 68.8 (C3), 66.5 (C5), 61.6 (C6), 67.4 (C4), 20.7, 20.6, 20.5 (CH₃Acetyl). α -¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -206.9 (ddd, ²J_{FH} = 49.0 Hz, ³J_{FH} = 11.0 Hz, ³J_{FH} = 4.0 Hz). IR ν /cm⁻¹: 3428, 2965, 1740, 1370, 1214, 1153, 1039, 951, 910, 769. HRMS (FAB) ber.: 309.0986 [M+H]⁺, gef.: 309.0986.

Synthese von bis-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucosyl-Phosphat 90

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 246 mg (0.790 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose **81**, 3.8 mL (0.96 mmol) Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril), 0.390 mL (0.570 g, 1.65 mmol) bis-(Benzyl)-N,N-diisopropylaminophosphoramidit und 20 mL Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 207 mg (1.19 mmol) m-Chlorperbenzoesäure verwendet. Trotz mehrfacher chromatographischer Trennungen gelang es nicht, die Anomere voneinander zu trennen.

Ausbeute: 314 mg (0.550 mmol, 69%) eines farblosen Öls als Gemisch von zwei Anomeren; **Summenformel:** C₂₆H₃₀FO₁₁P; **Molgewicht:** 568.48 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1, v/v): 0.35; **Anomerenverhältnis:** $\alpha/\beta \approx 1:0.4$; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = +54^\circ$ (c = 0.10, CHCl₃).



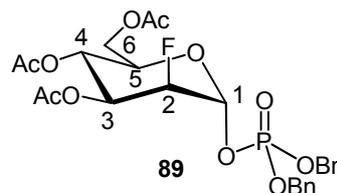
α -¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.36-7.34 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.97 (dd, ³J_{HF} = 6.7 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, H1), 5.53 (dd, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H3), 5.42-5.33 (m, 1H, H5), 5.12-5.08 (m, 4H, CH₂Benzyl), 5.01 (dd, ³J_{HH} = 6.1 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H4), 4.45 (ddd, ²J_{HF} = 48.5 Hz, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, H2), 4.07-3.99 (m, 1H, H6), 3.86 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H6), 2.08, 2.03, 2.00 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). α -¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 169.9, 169.5 (3x C=OAcetyl), 128.6, 128.5, 128.1, 127.9 (6x C_{Ar}Benzyl), 95.9 (C5), 93.8 (C1), 92.2 (C2), 70.1 (C3), 69.8 (CH₂Benzyl), 69.6 (CH₂Benzyl), 67.1 (C4), 61.0 (C6), 20.7, 20.6, 20.5 (3x CH₃Acetyl). α -³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, CDCl₃): -2.80. α -¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): -200.1 (dd, ²J_{FH} = 48.5 Hz, ³J_{FH} = 12.0 Hz).

IR ν/cm^{-1} : 2980, 2392, 1740, 1370, 1210, 1165, 1010, 915, 720.
HRMS (FAB) ber.: 569.1588 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 569.1581.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannosyl-Phosphat **89**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 197 mg (0.640 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose **85**, 3.1 mL (0.77 mmol) Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril), 0.32 mL (0.47 g, 0.96 mmol) *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 20 mL Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 165 mg (0.960 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure verwendet.

Ausbeute: 284 mg (0.500 mmol, 78%) eines farblosen Öls; **Summenformel:** $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{FO}_{11}\text{P}$; **Molgewicht:** 568.48 g/mol; **DC:** R_f -Wert (PE/EE, 1:1): 0.42; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein.

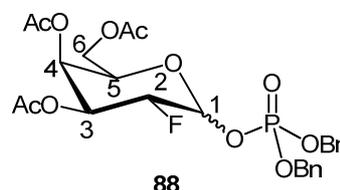


$^1\text{H-NMR}$ δ/ppm (400 MHz, CDCl_3): 7.36 (s, 10H, $\text{H}_{\text{Ar}}\text{Benzyl}$), 5.74 (dd, $^3J_{\text{HF}} = 7.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1H, H1), 5.39-5.26 (m, 1H, H4), 5.17-5.03 (m, 5H, CH_2Benzyl , H3), 4.42 (ddd, $^2J_{\text{FH}} = 46.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1H, H2), 4.10 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1H, H6), 4.03-3.96 (m, 2H, H5, H6), 2.09, 2.03, 2.00 (3x s, 3x 3H, 3x CH_3Acetyl). **$^{13}\text{C-NMR}$** δ/ppm (101 MHz, CDCl_3): 128.9, 128.7, 128.7 (3x C= OAcetyl), 128.2, 128.1 (6x $\text{C}_{\text{Ar}}\text{Benzyl}$), 94.3 (C1), 85.5 (C2), 70.3 (C5), 69.9 (CH_2Benzyl), 69.9 (CH_2Benzyl), 68.9 (C3), 64.9 (C4), 61.4 (C6), 20.7, 20.6, 20.5 (3x CH_3Acetyl). **$^{31}\text{P-NMR}$** δ/ppm (162 MHz, CDCl_3): - 3.12. **$^{19}\text{F-NMR}$** δ/ppm (200 MHz, CDCl_3): - 203.2 (ddd, $^2J_{\text{FH}} = 46.9$ Hz, $^3J_{\text{FH}} = 27.4$ Hz, $^3J_{\text{FH}} = 7.2$ Hz). **IR** ν/cm^{-1} : 2959, 1736, 1458, 1369, 1234, 1162, 1093, 1059, 946, 738.
HRMS (FAB) ber.: 568.1510 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 568.1505.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactosyl-Phosphat **88**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 10 durchgeführt. Es wurden 340 mg (1.10 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactose **86**, 5.30 mL (1.32 mmol) Dicyanoimidazol (0.25 M in Acetonitril), 0.540 mL (0.790 g, 1.65 mmol) *bis*-(Benzyl)-*N,N*-diisopropylaminophosphoramidit und 20 mL Dichlormethan eingesetzt. Zur Oxidation des Pyranosylphosphits wurden 285 mg (1.65 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure verwendet. Trotz mehrfacher chromatographischer Trennungen gelang es nicht, die Anomere voneinander zu trennen.

Ausbeute: 406 mg (0.710 mmol, 65%) eines farblosen Öls als Gemisch von zwei Anomeren; **Summenformel:** C₂₆H₃₀FO₁₁P; **Molgewicht:** 568.48 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:1): 0.35; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 1:0.4; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 71 ° (c = 0.10, CHCl₃).



α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 7.34-7.30 (m, 10H, H_{Ar}Benzyl), 5.94 (dd, ³J_{HP} = 6.4 Hz, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H1), 5.37-5.25 (m, 2H, H3, H4), 5.02-5.00 (m, 4H, CH₂Benzyl), 4.76 (ddd, ²J_{HF} = 55.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, H2), 4.17 (d, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 1H, H5), 3.96-3.92 (m, 1H, H6), 3.81 (dd, ²J_{HH} = 11.3 Hz, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 1H, H6), 2.03, 1.96, 1.83 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). **α-¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 169.8, 154.4, 151.2 (3x C=OAcetyl), 128.7, 128.6, 128.0, 127.9 (6x C_{Ar}Benzyl), 94.2 (C1), 69.8 (CH₂Benzyl), 69.7 (CH₂Benzyl), 68.3 (C5), 67.9 (C3), 67.5 (C4), 60.9 (C6), 20.5 (3x CH₃Acetyl). **α-³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 2.64. **α-¹⁹F-NMR** δ/ppm (200 MHz, CDCl₃): - 207.1 (ddd, ²J_{FH} = 55.0 Hz, ³J_{FH} = 10.0 Hz, ³J_{FH} = 7.0 Hz). **IR** ν/cm⁻¹: 2931, 1746, 1370, 1213, 1152, 1009, 945, 889, 735. **HRMS (FAB)** ber.: 569.1588 [M+H]⁺, gef.: 569.1604.

Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes **90**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 314 mg (0.550 mmol) *bis*-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucosyl-Phosphat **87**, 0.15 mL (0.11 g, 1.1 mmol) Triethylamin und 2 Spatelspitzen

Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 4 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 96 Stunden.

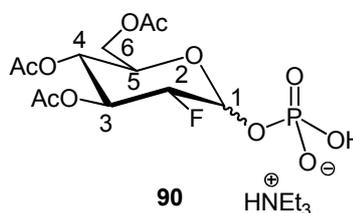
Ausbeute: 165 mg (0.340 mmol, 61%) eines farblosen

Öls als Gemisch von zwei Anomeren; **Summenformel:**

$C_{18}H_{33}FNO_{11}P$; **Molgewicht:** 489.43 g/mol;

Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta \approx 1:0.4$; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = +112^\circ (c = 0.10, H_2O)$.



α - 1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 5.68 (dd, $^3J_{HF} = 7.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.6$ Hz, 1H, H1), 5.46 (dd, $^3J_{HH} = 9.9$ Hz, $^3J_{HH} = 3.2$ Hz, 1H, H3), 5.03 (d, $^3J_{HH} = 9.9$ Hz, 1H, H4), 4.70 (ddd, $^2J_{HF} = 48.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.6$ Hz, $^3J_{HH} = 3.2$ Hz, 1H, H2), 4.36-4.31 (m, 2H, H6), 4.11 (d, $^3J_{HH} = 10.8$ Hz, 1H, H5), 3.13 (q, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 6H, CH_2Et_3N), 2.06, 2.04, 1.99 (3x s, 3x 3H, 3x $CH_3Acetyl$), 1.21 (t, $^3J_{HH} = 7.3$ Hz, 9H, CH_3Et_3N). **α - ^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 173.5, 171.7, 169.7 (3x $C=OAcetyl$), 91.6 (C1), 86.1 (C2), 71.5 (C3), 71.2 (C5), 67.9 (C4), 61.8 (C6), 46.8 (CH_2Et_3N), 20.2, 20.1 (3x $CH_3Acetyl$), 8.3 (CH_3Et_3N). **α - ^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): -1.53. **α - ^{19}F -NMR** δ /ppm (200 MHz, D_2O): -200.6 (dd, $^2J_{FH} = 48.5$ Hz, $^3J_{FH} = 11.8$ Hz). **IR** ν/cm^{-1} : 2981, 2349, 1737, 1451, 1367, 1218, 1161, 1107, 1031, 952, 835. **HRMS (ESI $^+$)** ber.: 487.1629 $[M-2H]^+$, gef.: 487.0495.

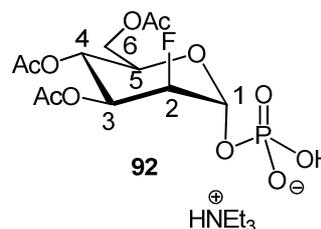
Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 92

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 284 mg (0.500 mmol) *bis*-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannosyl-Phosphat **89**, 0.14 mL (0.10 g, 1.0 mmol) Triethylamin und 2 Spatelspitzen Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 4 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 96 Stunden.

Ausbeute: 143 mg (0.290 mmol, 59%) eines farblosen Öls;

Summenformel: $C_{18}H_{33}FNO_{11}P$; **Molgewicht:**

489.43 g/mol; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, D₂O): 5.58 (d, ³J_{HH} = 6.1 Hz, 1H, H1), 5.40 (d, ³J_{HH} = 10.1 Hz, 1H, H3), 5.21 (d, ³J_{HH} = 10.1 Hz, 1H, H4), 4.97 (s, 1H, H2), 4.40 (dd, ²J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H6), 4.33-4.29 (m, 1H, H5), 4.11 (d, ²J_{HH} = 12.5 Hz, 1H, H6), 3.13 (q, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 6H, CH₂Et₃N), 2.04, 2.01, 1.98 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl), 1.21 (t, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 9H, CH₃Et₃N). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, D₂O): 173.8, 173.1, 172.8 (3x C=OAcetyl), 92.8 (C1), 86.6 (C2), 69.9 (C4), 68.8 (C3), 65.8 (C5), 61.8 (C6), 46.8 (CH₂Et₃N), 20.2 (3x CH₃Acetyl), 8.3 (CH₃Et₃N). **α-³¹P-NMR** δ/ppm (162 MHz, D₂O): - 5.18. **¹⁹F-NMR** δ/ppm (200 MHz, D₂O): - 202.7 (ddd, ²J_{FH} = 48.4 Hz, ³J_{FH} = 28.0 Hz, ³J_{FH} = 2.2 Hz). **IR** ν/cm⁻¹: 2980, 2347, 1734, 1452, 1367, 1216, 1162, 1108, 1030, 914, 835. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 487.1629 [M-2H]⁺, gef.: 487.0491.

Synthese von 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactosyl-Phosphat in Form des Triethylammoniumsalzes 91

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 durchgeführt. Es wurden 830 mg (1.46 mmol) bis-(Benzyl)-3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactosyl-Phosphat **88**, 0.410 mL (0.300 g, 2.92 mmol) Triethylamin und 2 Spatelspitzen Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 18 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 96 h.

Ausbeute: 595 mg (1.22 mmol, 83%) eines farblosen Öls

als Gemisch von zwei Anomeren; **Summenformel:**

C₁₈H₃₃FNO₁₁P;

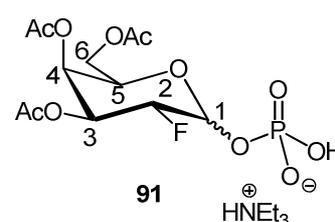
Molgewicht:

489.43 g/mol;

Anomerenverhältnis: α/β ≈ 1:0.4;

Drehwert:

[α]_D²⁰ = + 104 °(c = 0.10, H₂O).



α-¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, D₂O): 5.74 (dd, ³J_{HF} = 7.5 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, H1), 5.50 (d, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H4), 5.37 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H3), 4.94 (ddd, ²J_{HF} = 49.1 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, H2), 4.52 (t, ³J_{HH} = 6.2 Hz, 1H, H5), 4.19-4.14 (m, 2H, H6), 3.11 (q, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 6H, CH₂Et₃N), 2.12, 2.08, 2.01 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl), 1.20 (t, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 9H, CH₃Et₃N). **α-¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, D₂O): 170.8, 168.2, 164.5 (3x C=OAcetyl), 128.3 (C1), 122.2 (C2),

69.2 (C4), 68.7 (C3), 67.1 (C5), 61.9 (C6), 46.7 (CH₂Et₃N), 20.1, 19.9 (3x CH₃Acetyl), 8.2 (CH₃Et₃N). α -³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 1.61. α -¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, D₂O): - 207.1 (ddd, ²J_{FH} = 40.0 Hz, ³J_{FH} = 14.0 Hz, ³J_{FH} = 7.5 Hz). IR ν /cm⁻¹: 2983, 2383, 1742, 1451, 1371, 1217, 1167, 1044, 914, 815, 722. HRMS (ESI⁺) ber.: 487.1629 [M-2H]⁺, gef.: 487.0489.

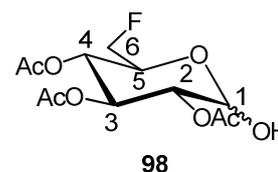
Synthese von 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Fluor-D-Glucose 98

Eine 1 M-Lösung aus TBAF in Tetrahydrofuran (5.0 Äquivalente) wurde vorgelegt und 1.0 Äquivalente 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-O-Tosyl-D-Glucose **96** sowie 5.0 Äquivalente Essigsäure hinzugegeben. Die Umsetzung wurde bei einer Temperatur von 80 °C für 180 Minuten unter Verwendung der Mikrowelle bei 150 W durchgeführt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde nach AAV 5 peracetyliert. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Ethylacetat.

Es handelte sich bei allen Experimenten lediglich um Testansätze. Aufgrund der geringen Ansatzgröße wurde auf die Angabe der Einwaagen und Ausbeuten sowie eine weitergehende Charakterisierung verzichtet. Die Konfiguration am anomeren Zentrum konnte NMR-spektroskopisch nicht bestimmt werden.

Gestalt: farbloses Öl; **Summenformel:** C₁₂H₁₇FO₈;

Molgewicht: 308.26 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE, 1:3): 0.70.



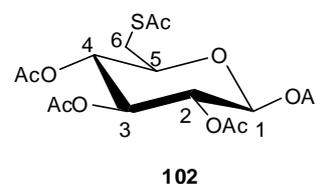
¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.46 (m, 1 H, H1), 4.86 (m, 1 H, H3), 4.64-4.59 (m, 3H, H2, H4, H5), 4.12 (m, 1 H, H6), 3.81 (m, 1 H, H6), 2.17, 2.15, 2.15 (3x s, 3x 3H, 3x CH₃Acetyl). ¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.0, 169.6, 169.0 (3x C=OAcetyl), 99.4 (C1), 73.9 (C5), 70.6 (C4), 69.8 (C3), 69.4 (C2), 65.5 (C6), 20.9, 20.8, 20.8 15 (3x CH₃Acetyl). ¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, CDCl₃): = - 206.53.

8.2.3.6 Synthese von 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glycopyranosyl-Phosphat

Synthese von 1,2,3,4,-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-glucose 102

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 2.02 g (4.02 mmol) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-O-6-Tosyl-D-Glucose **96** wurden in 40 mL absolutem Acetonitril gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe von 1.47 g (12.9 mmol, 3.2 Äquivalente) Kaliumthioacetat wurde die Reaktionslösung für 5 Stunden bei 95 °C zum Rückfluss erhitzt. Der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1) verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch mit 100 mL CH₂Cl₂ verdünnt, dreimal mit gesättigter Natriumchloridlösung und anschließend mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum säulenchromatographisch mit CH₂Cl₂/MeOH (9:1) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 1.59 g (3.93 mmol, 98%) eines hellbraunen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₆H₂₂O₁₀S; **Molgewicht:** 406.41 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1): 0.91; **Schmelzpunkt:** 124 °C; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein.



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.67 (d, ³J_{HH} = 8.3 Hz, 1H, H1), 5.21 (d, ³J_{HH} = 9.4 Hz, 1H, H3), 5.10 (m, 1H, H2), 5.02 (d, ³J_{HH} = 9.6 Hz, 1H, H4), 3.80 (ddd, ³J_{HH} = 9.6 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 3.1 Hz, 1H, H5), 3.22 (dd, ²J_{HH} = 14.4 Hz, ³J_{HH} = 3.1 Hz, 1H, H6), 3.13 (dd, ²J_{HH} = 14.4 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1H, H6), 2.33 (s, 3H, CH₃SAcetyl), 2.11, 2.08, 2.02, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, CDCl₃): 91.6 (C1), 73.8 (C5), 72.8 (C3), 70.2 (C2), 69.8 (C4), 30.4 (CH₃SAcetyl), 29.7 (C6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (4x 4x CH₃Acetyl). **IR** ν /cm⁻¹: 2967, 1740, 1686, 1367, 1217, 1071, 1038. **HRMS (FAB)** ber.: 347.0801 [M-OAc]⁺, gef.: 347.0795.

7.2.3 Synthese von 6,6'-Dithiobis-(6-Desoxy-D-Glucose) **105**

Variante A: 496 mg (1.22 mmol, 1.0 Äquivalente) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-Glucose **102** wurden in einem Gemisch aus 2.5 mL NaOH (1 M) und 3.3 mL EtOH gelöst und für 4.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsumsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt.

Variante B: 100 mg (0.246 mmol, 1.0 Äquivalente) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-Glucose **102** wurden in einem Gemisch aus 0.5 mL NaOH (1 M) und 0.7 mL EtOH gelöst und für 70 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsumsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt.

Variante C: 104 mg (0.256 mmol, 1.0 Äquivalente) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-Glucose **102** wurden in einem Gemisch aus 0.5 mL NaOH (1 M) und 0.7 mL EtOH gelöst und für 24 Stunden bei 40 °C unter Rückfluss gerührt. Der Reaktionsumsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt.

Variante D: 110 mg (0.271 mmol, 1.0 Äquivalente) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-Glucose **102** wurden mit 1 mL frisch zubereiteter Natriummethanolatlösung (0.5 M) versetzt und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsumsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt.

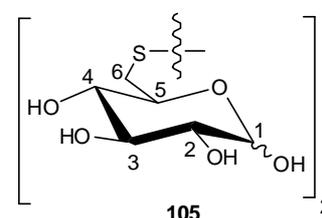
Variante E: 1.01 g (2.49 mmol, 1.0 Äquivalente) 1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-6-Thioacetyl- β -D-Glucose **102** wurden in einem Gemisch aus 7 mL MeOH, 3 mL H₂O und 1 mL Et₃N gelöst und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsumsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt.

Nach beendeter Reaktion wurden alle Reaktionsgemische unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit, mit wenig destilliertem Wasser versetzt und anschließend gefriergetrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

Die Charakterisierung erfolgte auf Grund der direkten Weiterverarbeitung des Rohproduktes nur massenspektrometrisch.

Summformel: C₁₂H₂₂O₁₀S₂; **Molgewicht:** 390.43 g/mol.

HRMS (FAB) ber.: 390.0654 [M], gef.: 390.0644.



Synthese von Dithiobis-(1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-D-glucose) 106

Die Reaktionen wurden gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 5 durchgeführt.

Das nach Variante A erhaltenen Rohprodukt wurde in 7 mL Pyridin gelöst und mit 0.92 mL (9.7 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt.

Das nach Variante B erhaltenen Rohprodukt wurde in 3 mL Pyridin gelöst und mit 0.18 mL (2.0 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt.

Das nach Variante C erhaltenen Rohprodukt wurde in 3 mL Pyridin gelöst und mit 0.19 mL (2.0 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt.

Das nach Variante D erhaltenen Rohprodukt wurde in 6 mL Pyridin gelöst und mit 0.20 mL (2.2 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt.

Das nach Variante E erhaltenen Rohprodukt wurde in 10 mL Pyridin gelöst und mit 1.88 mL (19.9 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt.

Ausbeute: Variante A: 301 mg (0.415 mmol, 68%) einer

gelblichen Watte als Gemisch von drei Diastereomeren,

Variante B: 81 mg (1.1 mmol, 93%) einer gelblichen Watte

als Gemisch von drei Diastereomeren, Variante C: 51 mg

(0.070 mmol, 55%) einer gelblichen Watte als Gemisch von

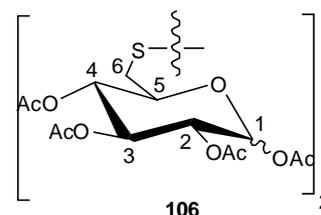
drei Diastereomeren, Variante D: 62 mg (0.085 mmol, 63%)

einer gelblichen Watte als Gemisch von drei Diastereomeren, Variante E: 689 mg

(1.05 mmol, 76%) einer gelblichen Watte als Gemisch von drei Diastereomeren;

Summformel: C₂₈H₃₈O₁₈S₂; **Molgewicht:** 726.72 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE/EE 1:3):

0.71; **Schmelzpunkt:** 68 °C; **Anomerenverhältnis:** α/β ≈ 0.6:1.0.



Die Zuordnung der ¹H- und ¹³C-NMR-Signale erfolgte jeweils nur anteilig für das α-Anomer bzw. β-Anomer mit der höchsten Intensität, da die exakte Zuordnung der jeweiligen Signale für die einzelnen Diastereomere (αα, ββ, αβ) nicht möglich war.

α-Anteil ¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 6.31 (d, ³J_{HH} = 2.9 Hz, 2H, H1), 5.46 (d, ³J_{HH} = 9.9 Hz, 2H, H3), 5.09-5.07 (m, 2H, H2), 5.06-5.04 (m, 2H, H4), 4.18-4.14 (m, 2H, H5), 2.93 (dd, ²J_{HH} = 16.3 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 2H, H6), 2.82 (dd, ²J_{HH} = 16.3 Hz, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 2H, H6), 2.12, 2.11, 2.06, 2.06, 2.03, 2.02, 2.01, 2.00 (8x s, 8x 3H, 8x CH₃Acety). **β-Anteil ¹H-NMR** δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.72 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 2H,

H1), 5.28-5.22 (m, 2H, H3), 5.14-5.09 (m, 2H, H2), 5.06-5.00 (m, 2H, H4), 3.88 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 10.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, 2H, H5), 2.99 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 14.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, 1H, H6), 2.86 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 18.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 1H, H6), 2.12, 2.11, 2.06, 2.06, 2.03, 2.02, 2.01, 2.00 (8x s, 8x 3H, 8x CH₃Acetyl). **α -Anteil $^{13}\text{C-NMR}$** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.2, 169.8, 169.7, 169.5, 169.3, 169.0 (8x C=OAcetyl), 89.0 (C1), 70.9 (C4), 70.3 (C5), 69.8 (C2), 69.4 (C3), 41.3 (C6), 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (8x CH₃Acetyl). **β -Anteil $^{13}\text{C-NMR}$** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.2, 169.8, 169.7, 169.5, 169.3, 169.0 (8x C=OAcetyl), 91.5 (C1), 73.1 (C5), 72.9 (C3), 70.9 (C4), 70.4 (C2), 41.6 (C6), 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (8x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm^{-1} : 2954, 1747, 1430, 1367, 1244, 1206, 1069, 1031. **HRMS (FAB)** ber.: 726.1499 [M], gef.: 726.1514.

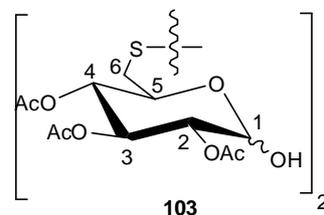
Synthese von Dithiobis-(2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-D-glucose) 103

Variante A: 105 mg (0.145 mmol, 1.0 Äquivalente) Dithiobis-(1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-D-glucose) **106** wurden in 3 mL Tetrahydrofuran gelöst. Nach der Zugabe von 0.047 mL (0.46 mmol, 3.0 Äquivalente) Benzylamin wurde die Reaktionslösung für 7.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Umsatz wurde mittels Dünnschichtchromatographie (PE/EE, 1:2) verfolgt. Nachdem die Reaktion beendet war, wurde die Reaktionslösung eingeengt, mit Ethylacetat versetzt, zweimal mit 1 M Salzsäure, einmal mit Wasser, zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und erneut mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum säulenchromatographisch (PE/EE, 1:3) gereinigt.

Variante B: Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 701 mg (0.965 mmol, 1.0 Äquivalent) Dithiobis-(1,2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-D-glucose) **106** wurden in 10 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 213 mg (2.32 mmol, 2.4 Äquivalente) Hydraziniumacetat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde solange auf 50 °C erwärmt, bis das Hydraziniumacetat vollständig gelöst war. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt und für 24 Stunden gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:2) wurde die Reaktionslösung mit 10 mL Ethylacetat verdünnt, zweimal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Die organische

Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum mehrfach mit Toluol und Dichlormethan codestilliert. Der erhaltene ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE, 1:3) gereinigt.

Ausbeute: Variante A: 23 mg (0.036 mmol, 25%) einer farblosen Watte als Gemisch von drei Diastereomeren, Variante B: 239 mg (0.372 mmol, 39%) einer farblosen Watte als Gemisch von drei Diastereomeren; **Summformel:** $C_{24}H_{34}O_{16}S_2$; **Molgewicht:** 642.65 g/mol; **DC:** R_f -Wert (PE/EE 1:3): 0.52; **Schmelzpunkt:** 84 °C; **Anomerenverhältnis:** $\alpha/\beta \approx 1.0:0.4$.



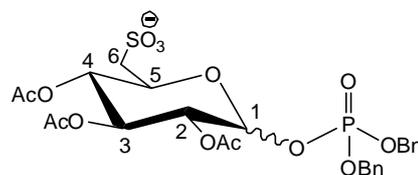
Die Zuordnung der 1H - und ^{13}C -NMR-Signale erfolgte jeweils nur anteilig für das α -Anomer bzw. β -Anomer mit der höchsten Intensität, da die exakte Zuordnung der jeweiligen Signale für die einzelnen Diastereomere ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\alpha\beta$) nicht möglich war.

α -Anteil 1H -NMR δ /ppm (400 MHz, $CDCl_3$): 5.54 (d, $^3J_{HH} = 9.8$ Hz, 2H, H3), 5.48 (d, $^3J_{HH} = 3.6$ Hz, 2H, H1), 4.94 (d, $^3J_{HH} = 9.7$ Hz, 2H, H4), 4.89-4.84 (m, 2H, H2), 4.34-4.30 (m, 2H, H5), 2.97 (dd, $^2J_{HH} = 14.2$ Hz, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, 2H, H6), 2.86 (dd, $^2J_{HH} = 14.2$ Hz, $^3J_{HH} = 3.5$ Hz, 2H, H6), 2.09, 2.09, 2.06, 2.05, 2.01, 2.01 (6x s, 6x 3H, 6x CH_3 Acetyl). **β -Anteil 1H -NMR** δ /ppm (400 MHz, $CDCl_3$): 5.25 (d, $^3J_{HH} = 9.5$ Hz, 2H, H3), 5.03 (d, $^3J_{HH} = 9.6$ Hz, 2H, H4), 4.88-4.85 (m, 2H, H2), 4.78 (d, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, 1H, H1), 3.79 (ddd, $^3J_{HH} = 9.6$ Hz, $^3J_{HH} = 5.9$ Hz, $^3J_{HH} = 3.7$ Hz, 2H, H5), 3.06 (dd, $^2J_{HH} = 14.7$ Hz, $^3J_{HH} = 5.9$ Hz, 2H, H6), 2.91 (dd, $^2J_{HH} = 14.7$ Hz, $^3J_{HH} = 3.7$ Hz, 2H, H-6), 2.09, 2.09, 2.06, 2.05, 2.01, 2.01 (6x s, 6x 3H, 6x CH_3 Acetyl). **α -Anteil ^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, $CDCl_3$): 171.2, 170.6, 170.5, 170.2, 170.2, 170.1 (6x C=OAcetyl), 95.5 (C1), 72.3 (C4), 71.4 (C2), 69.6 (C3), 68.1 (C5), 43.3 (C6), 21.0, 20.9, 20.9, 20.9, 20.8, 20.7 (6x CH_3 Acetyl). **β -Anteil ^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, $CDCl_3$): 171.2, 170.6, 170.5, 170.2, 170.2, 170.1 (6x C=OAcetyl), 90.0 (C1), 72.3 (C5), 71.9 (C3), 71.7 (C4), 71.4 (C2), 42.9 (C6), 21.0, 20.9, 20.9, 20.9, 20.8, 20.7 (6x CH_3 Acetyl). **IR** ν/cm^{-1} : 3675, 2987, 2901, 1743, 1380, 1227, 1050. **HRMS (FAB)** ber.: 642.1289 [M], gef.: 642.1281.

Synthese von *bis*-(Benzyl)-2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo-D-Glucopyranosyl-Phosphat **107**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 300 mg (0.467 mmol, 1.0 Äquivalente) Dithiobis-(2,3,4-Tetra-OAc-6-Desoxy-D-glucose) **103** wurden in 5 mL absolutem Dichlormethan gelöst und mit 4.5 mL (1.1 mmol, 2.4 Äquivalente) Dicyanoimidazol (0.25 M in THF) versetzt. Unter Eiskühlung wurden 380 μ L (1.13 mmol, 2.4 Äquivalente) *bis*-Benzyl-*N,N*-Diisopropylphosphoramidit langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und bei dieser Temperatur für 3.5 Stunden gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle: PE/EE, 1:2) erfolgte unter erneuter Eiskühlung die Zugabe von 484 mg (2.80 mmol, 6.0 Äquivalente) *m*CPBA in kleinen Portionen. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 45 Minuten bei dieser Temperatur gerührt. Der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE, 1:2) verfolgt. Nachdem die Reaktion beendetet war, wurde das Reaktionsgemisch mit 10 mL Diethylether verdünnt und mit gesättigter Natriumsulfit-Lösung gewaschen, bis keine Peroxide mehr vorhanden waren. Anschließend wurde die organische Phase dreimal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und anschließend mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte durch zweifache säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 20:1 und PE/EE). Mit dieser Variante konnten beide Anomere erhalten werden.

Ausbeute: 326 mg (0.518 mmol, 55%) eines gelben Öls; **Summformel:** $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{14}\text{PS}$; **Molgewicht:** 629.55 g/mol; **DC:** R_f -Wert (PE/EE 8:1): 0.80; **Anomerenverhältnis:** $\alpha/\beta \approx 1.0:0.7$.



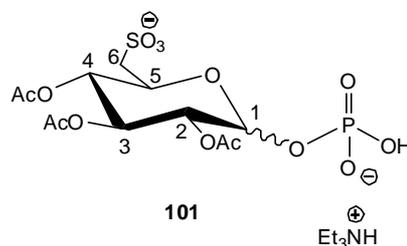
α - $^1\text{H-NMR}$ δ/ppm (400 MHz, CDCl_3): 7.42-7.29 (m, 10H, H_{Aryl}), 5.95 (dd, $^3J_{\text{HP}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, 1H, H1) 5.50-5.45 (m, 1H, H3), 5.10-5.00 (m, 4H, 2x CH_2Benzyl), 5.02-4.95 (m, 2H, H2, H4), 4.66-4.60 (m, 1H, H5), 3.76-3.66 (m, 1H, H6), 3.54-3.43 (m, 1H, H6), 2.10, 2.07, 2.02 (3x s, 3x 3H, 3x CH_3Acetyl). α - $^{13}\text{C-NMR}$ δ/ppm (101 MHz, CDCl_3): 169.8, 169.4, 169.3 (3x $\text{C}=\text{OAcetyl}$), 128.0, 128.5, 128.7 (je 2x C_{Aryl}), 93.0 (C1), 70.0 (C5), 69.8 (C4), 69.7 (C2), 67.5 (2x CH_2Benzyl), 68.3 (C3),

63.5 (C6), 20.5, 20.4, 20.3 (3x CH₃Acetyl). ³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, CDCl₃): - 2.84, - 3.30. IR ν/cm⁻¹: 2961, 1750, 1325, 1212, 997, 951, 736, 696.

Synthese von 2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo-D-Glycopyranosyl-Phosphat **101**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 326 mg (518 μmol, 1.0 Äquivalente) *bis*-(Benzyl)-2,3,4-Tri-OAc-6-Desoxy-6-Sulfo-D-Glycopyranosyl-Phosphat **107** wurden in 5 mL absolutem Dioxan gelöst mit 0.15 mL (1.1 mmol, 2.0 Äquivalente) Triethylamin tropfenweise versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Pd/C (10%) versetzt und im Ultraschallbad aktiviert. Der Reaktionsansatz wurde mit leichtem H₂-Überdruck bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionszeit betrug 10 Tage (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH, 14:1). Nach beendeter Reaktion wurde überschüssiges Pd/C durch Filtration über Celite entfernt. Das Rohprodukt wurde in Dichlormethan aufgenommen und fünfmal mit Wasser extrahiert. Aus den vereinten Fraktionen konnte das Produkt durch Gefriertrocknung erhalten werden. Dieses Rohprodukt wies starke Verunreinigungen auf, weshalb im Folgenden auf eine ausführliche Charakterisierung verzichtet wird.

Ausbeute: 80 mg (0.14 mmol, 27%) eines gelben Öls als Gemisch zweier Anomere; **Summformel:** C₁₂H₁₈O₁₄PS; **Molgewicht:** 448.30 g/mol; **DC:** R_f-Wert (CH₂Cl₂/MeOH, 14:1): 0.66.



³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, D₂O): - 1.09, - 3.14. IR ν/cm⁻¹: 3395, 2986, 1748, 1214, 1020. HRMS (ESI) ber.: 572.1179 [M+Na+Et₃NH]⁺, gef.: 572.0351.

8.2.3.7 Synthese eines Derivats des Colamin-Phosphats

Synthese von NAc-Colamin-Phosphat

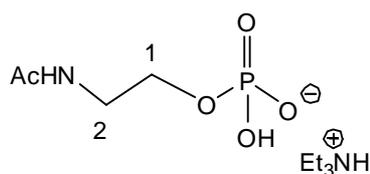
Es wurden 500 mg (2.06 mmol) Colamin-Phosphat **142** in Form des Triethylammonium-Salzes in Pyridin gelöst und mit 0.83 mL (0.90 g, 8.8 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde mit Toluol und anschließend mit Dichlormethan codestilliert. Der erhaltene Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Das Rohprodukt wurde durch Gefriertrocknung erhalten.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung zeigte die Entstehung eines Gemischs aus dem gewünschten Produkt und dem ebenfalls am Phosphat acetylgeschützten Nebenprodukt.

Die selektive Spaltung der Acetylgruppen am Phosphat gelang durch Lösen in Wasser und Versetzen der Reaktionslösung mit etwas Triethylamin. Die Reaktionslösung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, eingefroren und einer Gefriertrocknung unterzogen. Das erhaltene Produkt wurde ohne weitere Reinigung für die anschließende Kupplungsreaktion eingesetzt. Aus diesem Grund wird im Folgenden sowohl auf eine ausführliche Charakterisierung als auch auf die Angabe einer Ausbeute verzichtet.

Gestalt: farbloser Feststoff; **Summenformel:** C₄H₉NO₅P;

Molgewicht: 182.09 g/mol.



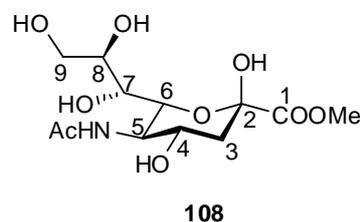
³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, D₂O): 1.78.

8.2.3.8 Synthese der Neuraminsäure-Derivate

Synthese von Methyl-5-Acetamido-3,5-Didesoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylonate **108**

Es wurden 1.00 g (3.24 mmol,) *N*-Acetylneuraminsäure **22** mit 1.00 g gewaschenem Ionentauscher (Dowex, W50X8, H⁺) in 32 mL wasserfreiem Methanol suspendiert und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC-Kontroll: EtOH/AcOH/H₂O, 4:1:1) wurde der Ionentauscher abfiltriert, mit Methanol gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1.05 g (3.24 mmol, 100%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₂H₂₁NO₉; **Molgewicht:** 323.32 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EtOH/AcOH/H₂O, 4:1:1): 0.77; **Schmelzpunkt:** 178 °C; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -43^\circ$ (c = 1.0, MeOH).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, MeOD): 4.07-3.98 (m, 2H, H₄, H₆), 3.83-3.79 (m, 2H, H₅, H₉), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (ddd, ³J_{HH} = 8.9 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, 1H, H₈), 3.61 (dd, ²J_{HH} = 11.2 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H₉), 3.48 (dd, ³J_{HH} = 8.9 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 1H, H₇), 2.22 (dd, ²J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 4.8 Hz, 1H, H_{3eq}), 2.02 (s, 3H, CH₃Acetyl), 1.89 (dd, ²J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 11.4 Hz, 1H, H_{3ax}). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, MeOD): 175.2 (C=OAcetyl), 171.9 (C₁), 96.8 (C₂), 72.2 (C₆), 71.8 (C₈), 70.3 (C₇), 68.0 (C₄), 65.0 (C₉), 54.5 (C₅), 53.2 (OCH₃), 40.8 (C₃), 22.7 (CH₃Acetyl). **IR** ν /cm⁻¹: 3324, 2936, 2881, 1736, 1632, 1541, 1428, 1370, 1273, 1144, 1122, 1025, 993, 941, 893, 615. **MS (FAB)** ber.: 324.3 [M+H]⁺, gef.: 324.2.

Synthese von Methyl-5-Acetamido-4,7,8,9-Tetra-OAc-2-Chlor-3,5-Dideoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylonate **109**

Es wurden 1.00 g (3.09 mmol) *N*-Acetylneuraminsäuremethylester **108** bei 0 °C in 60 mL Acetylchlorid gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend in einer verschlossenen Reaktionsapparatur für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Abbruch der Reaktion erfolgte durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum. Anschließend wurde der erhaltene Rückstand bei 0 °C wieder in 15 mL Acetylchlorid

gelöst und zusätzlich mit 0.3 mL wasserfreiem Methanol versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde erneut in einer verschlossenen Reaktionsapparatur für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der erhaltene Rückstand wurde dreimal mit Toluol coevaporiert und anschließend gründlich im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.57 g (3.09 mmol, 100%) eines farblosen

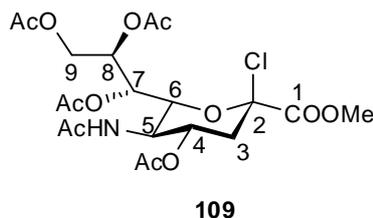
Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₂₈ClNO₁₂;

Molgewicht: 509.96 g/mol; **DC:** R_f-Wert (Toluol/Aceton,

1:1): 0.51; **Schmelzpunkt:** 61 °C; **Anomerenverhältnis:**

β-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 58 ° (c = 1.0,

CHCl₃).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.52 (d, ³J_{HH} = 10.4 Hz, 1H, NH), 5.47 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, 1H, H7), 5.43-5.36 (m, 1H, H4), 5.17 (ddd, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H8), 4.42 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H9), 4.35 (dd, ³J_{HH} = 10.4 Hz, ³J_{HH} = 2.2 Hz, 1H, H5), 4.24-4.17 (m, 1H, H6), 4.06 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1H, H9), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.78 (dd, ²J_{HH} = 13.9 Hz, ³J_{HH} = 4.8 Hz, 1H, H3_{eq}), 2.27 (dd, ²J_{HH} = 13.9 Hz, ³J_{HH} = 11.3 Hz, 1H, H3_{ax}), 2.12, 2.07, 2.05, 2.04, 1.91 (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl).
¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.1, 170.7, 170.5, 170.1, 169.8 (5x C=OAcetyl), 165.6 (C1), 96.8 (C2), 74.1 (C6), 70.1 (C8), 68.9 (C7), 67.0 (C4), 62.2 (C9), 53.9 (OCH₃), 49.0 (C5), 40.8 (C3), 23.3, 21.0, 20.9 (5x CH₃Acetyl).
IR ν/cm⁻¹: 2958, 1741, 1656, 1445, 1436, 1369, 1207, 1031, 943, 885, 767, 661, 595, 500, 429. **MS (FAB)** ber.: 510.1 [M+H]⁺, gef.: 510.0.

Synthese von Methyl-5-Acetamido-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy-β-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylonat **28**

Die Umsetzung erfolgte in einem mit Aluminiumfolie ummantelten Reaktionsgefäß. Es wurden 1.50 g (2.94 mmol) des Chlorids **109** in 73 mL Aceton und 18 mL destilliertem Wasser gelöst, mit 2.43 g (8.83 mmol) Silbercarbonat versetzt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über Celite filtriert, mit Ethylacetat gewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die

Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit einem Gemisch aus Petrolether und Aceton (1:1).

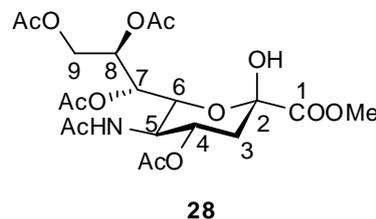
Ausbeute: 1.18 g (2.41 mmol, 82%) eines farblosen

Feststoffes; **Summenformel:** C₂₀H₂₉NO₁₃; **Molgewicht:**

491.41 g/mol; **DC:** R_f-Wert (Aceton/PE, 1:1): 0.30;

Schmelzpunkt: 172 °C; **Anomerenverhältnis:**

β-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = + 23 ° (c = 1.0, CHCl₃).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 5.78 (d, ³J_{HH} = 9.4 Hz, 1H, NH), 5.35 (dd, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 1.9 Hz, 1H, H7), 5.25-5.17 (m, 2H, H4, H8), 4.51 (dd, ²J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, 1H, H9), 4.21-4.14 (m, 2H, H5, H6), 4.02 (dd, ²J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, H9), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 2.24-2.17 (m, 2H, H3), 2.13, 2.09, 2.02, 2.01, 1.89 (5x s, 5x 3H, 5x CH₃Acetyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 171.1, 171.0, 170.9, 170.5, 170.4 (5x C=OAcetyl), 169.2 (C1), 95.0 (C2), 71.4 (C8), 71.2 (C6), 69.5 (C4), 68.2 (C7), 62.8 (C9), 53.6 (OCH₃), 49.7 (C5), 36.7 (C3), 23.3, 21.1, 20.9 (5x CH₃Acetyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3352, 2961, 1736, 1659, 1542, 1435, 1369, 1209, 1154, 1125, 1071, 1030, 945, 595. MS (FAB) ber.: 492.4 [M+H]⁺, gef.: 492.3.

Synthese von Thiophenyl-(Methyl-5-Acetamido-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy-α-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) 115

Es wurden zu 1.70 g (3.30 mmol) Methyl-5-Acetamido-4,7,8,9-Tetra-OAc-2-Chlor-3,5-Didesoxy-β-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylonat **109**, 1.17 g (3.45 mmol) TBA-HSO₄, gelöst in 20 mL Ethylacetat und 20 mL 1M Natriumcarbonatlösung, gegeben. Die Lösung wurde mit 1.72 mL (1.86 g, 16.8 mmol) Thiophenol versetzt. Nach 3 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde mit Ethylacetat verdünnt, dreimal mit gesättigter Natriumchloridlösung und anschließend zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die erste säulenchromatographische Reinigung erfolgte zuerst mit Diethylether, um das verbliebene Thiophenol abzutrennen. Nach erfolgreicher Abtrennung wurde das Produkt mit Ethylacetat eluiert. Die zweite

säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit einem Laufmittelgemisch aus Dichlormethan und Methanol (15:1).

Ausbeute: 2.48 g (4.14 mmol, 70%) eines farblosen

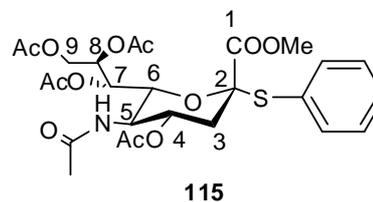
Feststoffes; **Summenformel:** $C_{26}H_{33}NO_{12}S$;

Molgewicht: 583.60 g/mol; **DC:** R_f -Wert

($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1): 0.35; **Schmelzpunkt:** 76 °C;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = +22^\circ$ ($c = 0.09$, $CHCl_3$).



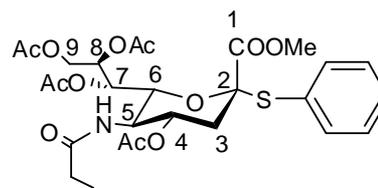
1H -NMR δ /ppm (400 MHz, C_6D_6): 7.64 (dd, $^3J_{HH} = 8.4$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 2H, H_{ortho}), 7.16 (dd, $^3J_{HH} = 8.4$ Hz, $^3J_{HH} = 8.0$ Hz, 2H, H_{meta}), 7.07 (dddd, $^4J_{HH} = 8.4$ Hz, $^3J_{HH} = 8.4$ Hz, $^3J_{HH} = 8.0$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1H, H_{para}), 5.78-5.74 (m, 1H, H8), 5.49 (d, $^3J_{HH} = 5.5$ Hz, 1H, H7), 4.83-4.78 (m, 1H, H4), 4.78-4.73 (m, 1H, H9), 4.45 (dd, $^2J_{HH} = 12.3$ Hz, $^3J_{HH} = 5.7$ Hz, 1H, H9), 4.33 (d, $^3J_{HH} = 10.4$ Hz, 1H, H5), 4.06 (d, $^3J_{HH} = 10.3$ Hz, 1H, NH), 3.92 (d, $^3J_{HH} = 10.4$ Hz, 1H, H6), 3.20 (s, 3H, OCH_3), 2.97 (dd, $^2J_{HH} = 12.8$ Hz, $^3J_{HH} = 4.1$ Hz, 1H, H_{3eq}), 2.02 (dd, $^2J_{HH} = 12.8$ Hz, $^3J_{HH} = 12.0$ Hz, 1H, H_{3ax}), 2.06, 2.04, 1.89, 1.66, 1.65 (5x s, 5x 3H, 5x $CH_3Acetyl$).

^{13}C -NMR δ /ppm (101 MHz, C_6D_6): 172.0, 171.0, 169.7, 169.5, 168.0 (5x $C=OAcetyl$), 163.4 ($C=OEster$), 136.2, 129.6, 128.9 (3x $C_{Ar}Phenyl$), 93.7 (C2), 75.2 (C6), 70.6 (C8), 69.5 (C4), 67.6 (C7), 62.2 (C9), 51.9 (OCH_3), 49.3 (C5), 38.7 (C3), 22.6, 20.6, 20.4, 20.2, 20.0 (5x $CH_3Acetyl$). **IR** ν/cm^{-1} : 1737, 1368, 1215, 1127, 1033, 753, 692, 594. **MS (FAB)** ber.: 584.2 $[M+H]^+$, gef.: 584.2.

Synthese von Thiophenyl-(Methyl-5-N-Propanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) 117

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 13 durchgeführt. Dazu wurde 1.00 g (1.72 mmol) Thioglycosid **115** in 10 mL Methanol gelöst und mit 1.00 mL (1.48 g, 15.4 mmol) Methansulfonsäure versetzt. Nach Bildung des freien Amins wurden 0.400 mL (408 mg, 3.100 mmol) Propionsäureanhydrid zugesetzt. Die anschließende Acetylierung erfolgte mit 2.00 mL (2.16 g, 21.0 mmol) Essigsäureanhydrid in 12 mL Pyridin. Der Abbruch erfolgte durch Zugabe von 3 mL Methanol.

Ausbeute: 292 mg (0.490 mmol, 28%) eines gelblichen Sirups; **Summenformel:** C₂₇H₃₅NO₁₂S; **Molgewicht:** 597.63 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.44; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 18 °(c = 1.0, CHCl₃).



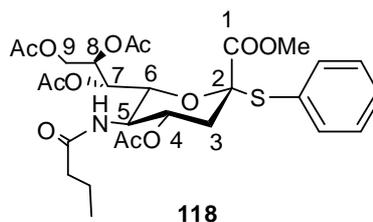
117

¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 7.64 (dd, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, H_{ortho}), 7.20–7.13 (m, 2H, H_{meta}), 7.10–7.04 (m, 1H, H_{para}), 5.69–5.64 (m, 1H, H8), 5.50 (dd, ³J_{HH} = 7.1 Hz, ³J_{HH} = 2.1 Hz, 1H, H7), 4.88–4.80 (m, 1H, H4), 4.76 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H9), 4.46 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H9), 4.40–4.31 (m, 1H, H5), 3.95 (dd, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 2.1 Hz, 1H, H6), 3.20 (s, 3H, OCH₃), 2.98 (dd, ²J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H_{3eq}), 2.06–2.01 (m, 1H, H_{3ax}), 1.96, 1.93 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃Acetyl), 1.87–1.80 (m, 2H, CH₂Propanoyl) 1.78, 1.55 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃Acetyl), 1.03 (dd, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 5.6 Hz, 3H, CH₃Propanoyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 165.4 (C1), 137.1 (C_{ortho}), 130.2 (C_{meta}), 129.6 (C_{para}), 88.6 (C2), 76.0 (C6), 71.4 (C8), 70.2 (C4), 68.4 (C7), 62.8 (C9), 52.7 (OCH₃), 49.4 (C5), 39.3 (C3), 30.1 (C2Propanoyl), 21.4, 21.1, 21.0, 20.8 (4x CH₃Acetyl), 11.2 (C3Propanoyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3295, 2926, 1737, 1659, 1540, 1439, 1369, 1217, 1128, 1033, 953, 753, 692, 602. **HRMS (FAB)** ber.: 597.1880 [M], gef.: 597.1872.

Synthese von Thiophenyl-(Methyl-5-N-Butanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy-α-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) 118

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 13 durchgeführt. Dazu wurde 1.00 g (1.73 mmol) Thioglycosid **115** in 10 mL Methanol gelöst und mit 1.00 mL (1.48 g, 15.4 mmol) Methansulfonsäure versetzt. Nach Bildung des freien Amins wurden 0.510 mL (0.491 mg, 3.10 mmol) Buttersäureanhydrid zugesetzt. Die anschließende Acetylierung erfolgte mit 2.00 mL (2.16 g, 21.0 mmol) Essigsäureanhydrid in 12 mL Pyridin. Der Abbruch erfolgte durch Zugabe von 3 mL Methanol.

Ausbeute: 477 mg (0.780 mmol, 45%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₈H₃₇NO₁₂S; **Molgewicht:** 611.66 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.66; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 16 °(c = 1.0, CHCl₃).

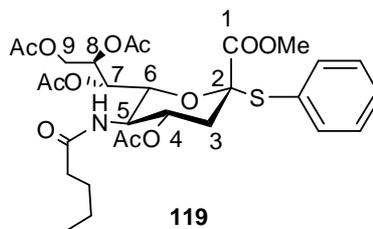


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 7.64 (d, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 2H, H_{ortho}), 7.21–7.14 (m, 2H, H_{meta}), 7.10–7.02 (m, 1H, H_{para}), 5.68–5.65 (m, 1H, H8), 5.50 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H7), 4.88 (ddd, ³J_{HH} = 11.2 Hz, ³J_{HH} = 11.2 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H4), 4.76 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H9), 4.47 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H9), 4.38–4.30 (m, 1H, H5), 3.99 (dd, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, H6), 3.21 (s, 3H, OCH₃), 3.00 (dd, ²J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H_{3eq}), 2.05–2.01 (m, 1H, H_{3ax}), 1.96, 1.93, 1.78, 1.57 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.88–1.83 (m, 1H, CH₂Butanoyl), 1.71–1.66 (m, 1H, CH₂Butanoyl), 1.62–1.51 (m, 2H, CH₂Butanoyl), 0.83 (dd, ³J_{HH} = 7.3 Hz, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃Butanoyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 172.6 (C1), 137.0 (C_{ortho}), 130.2 (C_{meta}), 129.5 (C_{para}), 75.8 (C6), 71.2 (C8), 70.1 (C4), 68.3 (C7), 62.8 (C9), 52.6 (OCH₃), 49.3 (C5), 39.4 (C3), 38.8 (C2Butanoyl), 20.9, 20.6, 20.4, 20.4 (4x CH₃Acetyl), 19.4 (C3Butanoyl), 14.9 (C4Butanoyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3360, 2962, 1737, 1656, 1537, 1439, 1369, 1218, 1129, 1034, 753, 692, 603. **HRMS (FAB)** ber.: 611.2036 [M], gef.: 611.2031.

Synthese von Thiophenyl-(Methyl-5-N-Pentanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy-α-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) 119

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 13 durchgeführt. Dazu wurde 2.20 g (3.77 mmol) Thioglycosid **115** in 22 mL Methanol gelöst und mit 2.20 mL (3.26 g, 33.9 mmol) Methansulfonsäure versetzt. Nach Bildung des freien Amins wurden 0.040 mL (0.038 mg, 6.79 mmol) Valeriansäureanhydrid zugesetzt. Die Acetylierung erfolgte mit 5.40 mL (5.83 g, 57.0 mmol) Essigsäureanhydrid in 11 mL Pyridin. Der Abbruch erfolgte durch Zugabe von 3 mL Methanol.

Ausbeute: 2.24 g (3.58 mmol, 95%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₉H₃₉NO₁₂S; **Molgewicht:** 625.68 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.28; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_D²⁰ = - 22 °(c = 0.90, CHCl₃).



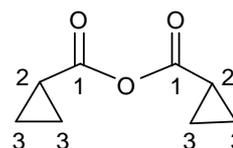
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 7.54 (d, ³J_{HH} = 8.3 Hz, 2H, H_{ortho}), 7.18 (dd, ³J_{HH} = 8.3 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 2H, H_{meta}), 7.11 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H_{para}), 5.55 (ddd, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H8), 5.45 (dd, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H7), 4.92 (ddd, ³J_{HH} = 12.1 Hz, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H4), 4.60 (dd, ²J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 2.6 Hz, 1H, H9), 4.54 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H9), 4.32 (dd, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 10.6 Hz, 1H, H5), 4.12 (dd, ³J_{HH} = 10.8 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H6), 3.33 (s, 3H, OCH₃), 2.84 (dd, ²J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H3_{eq}), 2.15 (dd, ³J_{HH} = 12.8 Hz, ³J_{HH} = 12.1 Hz, 1H, H3_{ax}), 2.07-2.05 (m, 2H CH₂Pentanoyl), 1.99, 1.84, 1.77, 1.70 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.47-1.38 (m, 2H, CH₂Pentanoyl), 1.14-1.05 (m, 2H, CH₂Pentanoyl), 0.69 (dd, ³J_{HH} = 7.1 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 3H, CH₃Pentanoyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 175.0 (C1), 137.9 (C_{ortho}), 131.2 (C_{meta}), 129.8 (C_{para}), 76.1 (C6), 72.0 (C8), 70.8 (C4), 68.7 (C7), 62.4 (C9), 52.2 (OCH₃), 49.8 (C5), 39.6 (C3), 38.5 (C2Pentanoyl), 21.7, 21.2, 20.8, 20.7 (4x CH₃Acetyl), 19.1 (C3Pentanoyl), 14.9 (C4Pentanoyl), 13.1 (C5Pentanoyl). **IR** ν/cm⁻¹: 3201, 3043, 2959, 1726, 1651, 1430, 1367, 1215, 1033, 751. **MS (FAB)** ber.: 626.1 [M+H]⁺, gef.: 626.2.

Synthese von Cyclopropylcarbonsäureanhydrid

Zu einer Emulsion aus 416 mg (1.29 mmol) TBA-Br, 2.5 mL 20%-iger NaOH und 10 mL Dichlormethan wurde bei -10 °C eine Lösung aus 1.16 mL (1.34 g, 12.8 mmol) Cyclopropylcarbonsäurechlorid und 10 mL Dichlormethan getropft. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend für 2 Stunden bei -10 °C gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt, zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lsg. und anschließend zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 767 mg (4.98 mmol, 39%) eines farblosen Sirups;

Summenformel: C₈H₁₀O₃; **Molgewicht:** 154.16 g/mol.



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, CDCl₃): 1.32-1.26 (m, 2H, 2x H₂), 0.91-0.87 (m, 4H, 2x H₃), 0.45-0.40 (m, 4H, 2x H₃). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, CDCl₃): 170.6 (2x C₁), 14.0 (2x C₂), 9.8 (4x C₃).

Synthese von Thiophenyl-(Methyl-5-*N*-Cyclopropylcarbonyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) **120**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 13 durchgeführt. Dazu wurde 1.00 g (1.73 mmol) Thioglycosid **115** in 10 mL Methanol gelöst und mit 1.00 mL (1.48 g, 15.4 mmol) Methansulfonsäure versetzt. Nach Bildung des freien Amins wurden 479 mg (3.11 mmol) Cyclopropylcarbonsäureanhydrid zugesetzt. Die Acetylierung erfolgte mit 2.00 mL (2.16 g, 21.0 mmol) Essigsäureanhydrid in 12 mL Pyridin. Der Abbruch erfolgte durch Zugabe von 3 mL Methanol.

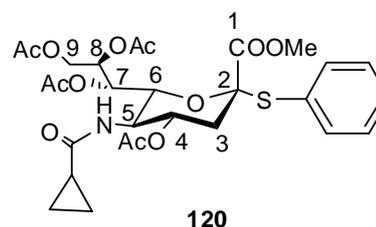
Ausbeute: 305 mg (0.500 mmol, 29%) eines farblosen

Sirups; **Summenformel:** C₂₈H₃₅NO₁₂S; **Molgewicht:**

609.64 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.28;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein; **Drehwert:**

[α]_D²⁰ = + 37 ° (c = 1.0, CHCl₃).



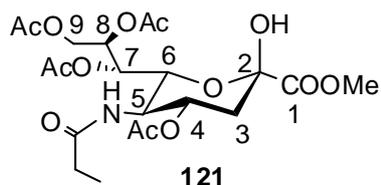
¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 7.61 (dd, ³J_{HH} = 8.2 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, H_{ortho}), 7.28-7.17 (m, 2H, H_{meta}), 7.15-7.06 (m, 1H, H_{para}), 5.65-5.60 (m, 1H, H₈), 5.50 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H₇), 4.92-4.89 (m, 1H, H₄), 4.73 (dd, ²J_{HH} = 12.1 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H₉), 4.43 (dd, ²J_{HH} = 12.1 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H₉), 4.38-4.33 (m, 1H, H₅), 3.95 (dd, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H₆), 3.23 (s, 3H, OCH₃), 2.96 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 4.9 Hz, 1H, H_{3eq}), 2.06–2.01 (m, 1H, H_{3ax}), 1.96, 1.93, 1.78, 1.55 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.54-1.48 (m, 1H, CHCyclopropylcarbonyl), 0.93-0.89 (m, 2H, CH₂Cyclopropylcarbonyl), 0.48-0.43 (m, 2H, CH₂Cyclopropylcarbonyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 165.8 (C₁), 137.6 (C_{ortho}), 129.9 (C_{meta}), 129.4 (C_{para}), 90.3 (C₂), 76.5 (C₆), 71.0 (C₈), 69.8 (C₄), 68.8 (C₇), 63.1 (C₉), 52.2 (OCH₃), 49.0 (C₅), 39.8 (C₃), 21.0, 20.9, 20.8, 20.6 (4x

CH₃Acetyl), 14.3 (CHCyclopropylcarbonyl), 10.8, 10.1 (2x CH₂Cyclopropylcarbonyl).
IR ν/cm^{-1} : 3373, 2950, 1692, 1655, 1498, 1463, 1372, 1201, 1154, 1048, 751, 675, 574. **MS (FAB)** ber.: 609.2 [M], gef.: 609.4.

Synthese von Methyl-5-*N*-Propanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat 121

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 14 durchgeführt. Es wurden 292 mg (0.490 mmol) Thiophenyl-(Methyl-5-*N*-Propanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) **117** in 10 mL Aceton und 0.7 mL Wasser gelöst und mit 209 mg (1.17 mmol) NBS versetzt.

Ausbeute: 38 mg (0.076 mmol, 15%) eines farblosen Sirups; **Summenformel:** C₂₁H₃₁NO₁₃; **Molgewicht:** 505.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.40; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -23^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).

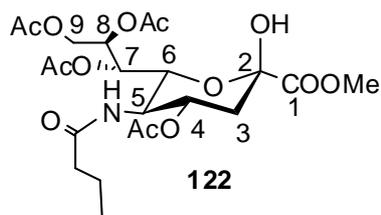


¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 5.72 (dd, ³J_{HH} = 3.8 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H7), 5.62 (ddd, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H8), 5.32 (ddd, ³J_{HH} = 10.4 Hz, ³J_{HH} = 10.4 Hz, ³J_{HH} = 6.4 Hz, 1H, H4), 4.60 (ddd, ³J_{HH} = 10.5 Hz, ³J_{HH} = 10.4 Hz, ³J_{HH} = 10.4 Hz, 1H, H5), 4.40 (dd, ³J_{HH} = 10.5 Hz, ³J_{HH} = 2.4 Hz, 1H, H6), 4.25 (dd, ²J_{HH} = 12.2 Hz, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H9), 3.32 (s, 3H, OCH₃), 2.27-2.21 (m, 2H, H_{3ax}/H_{3eq}), 2.01-1.84 (m, 2H, CH₂Propanoyl); 1.94, 1.88, 1.71, 1.62 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl) 1.08 (dd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 3H, CH₃Propanoyl).
¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 95.7 (C2), 73.5 (C8), 72.6 (C6), 69.7 (C4), 69.0 (C7), 63.5 (C9), 53.1 (OCH₃), 49.7 (C5), 37.1 (C3), 30.0 (C2Propanoyl), 21.1, 20.9, 20.7, 20.7 (4x CH₃Acetyl), 10.1 (C3Propanoyl). **IR** ν/cm^{-1} : 3353, 2960, 1738, 1656, 1536, 1369, 1214, 1032, 603. **HRMS (FAB)** ber.: 506.1868 [M+H]⁺, gef.: 506.1896.

Synthese von Methyl-5-*N*-Butanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat 122

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 14 durchgeführt. Es wurden 170 mg (0.280 mmol) Thiophenyl-(Methyl-5-*N*-Butanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) **118** in 6.5 mL Aceton und 0.35 mL Wasser gelöst und mit 128 mg (0.720 mmol) NBS versetzt.

Ausbeute: 91 mg (0.18 mmol, 64%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₂H₃₃NO₁₃; **Molgewicht:** 519.50 g/mol; **DC:** R_f-Wert (PE:EE 2:1): 0.09; **Schmelzpunkt:** 72 °C; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -29^\circ$ (c = 1.0, CHCl₃).



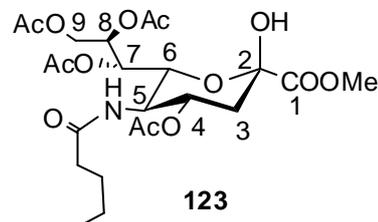
¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, C₆D₆): 5.66 (dd, ³J_{HH} = 4.3 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H7), 5.61 (ddd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H8), 5.40-4.25 (m, 1H, H4), 5.03 (dd, ²J_{HH} = 11.9 Hz, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H9), 4.58 (ddd, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 10.2 Hz, ³J_{HH} = 10.2 Hz, 1H, H5), 4.32 (dd, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H6), 4.24 (dd, ²J_{HH} = 11.9 Hz, ³J_{HH} = 7.9 Hz, 1H, H9), 3.29 (s, 3H, OCH₃), 2.25-2.20 (m, 2H, H_{3ax}/H_{3eq}), 1.92, 1.87, 1.70, 1.63 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.92-1.79 (m, 2H, CH₂Butanoyl), 1.65-1.58 (m, 2H, CH₂Butanoyl), 0.83 (dd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 3H, CH₃Butanoyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, C₆D₆): 95.7 (C2), 73.4 (C6), 72.5 (C8), 69.8 (C4), 69.0 (C7), 63.7 (C9), 53.2 (OCH₃), 49.7 (C5), 38.9 (C3), 37.2 (C2Butanoyl), 21.2, 21.0, 20.9, 20.8 (4x CH₃Acetyl), 19.5 (C3Butanoyl), 14.3 (CH₃Butanoyl). **IR** ν /cm⁻¹: 2958, 2924, 1737, 1655, 1370, 1211, 1033, 603. **MS (FAB)** ber.: 519.2 [M+H]⁺, gef.: 520.2.

Synthese von Methyl-5-*N*-Pentanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat 123

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 14 durchgeführt. Es wurden 2.35 mg (3.76 mmol) Thiophenyl-(Methyl-5-*N*-Pentanoyl-4,7,8,9-Tetra-

OAc-3,5-Didesoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) **119** in 40 mL Aceton und 2 mL Wasser gelöst und mit 1.75 g (9.78 mmol) NBS versetzt.

Ausbeute: 611 mg (1.10 mmol, 30%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{23}H_{35}NO_{13}$; **Molgewicht:** 533.53 g/mol; **DC:** R_f -Wert (EE): 0.34; **Schmelzpunkt:** 94 °C; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -17^\circ$ (c = 1.2, $CHCl_3$).



1H -NMR δ /ppm (400 MHz, C_6D_6): 5.81 (dd, $^3J_{HH} = 4.7$ Hz, $^3J_{HH} = 2.3$ Hz, 1H, H7), 5.61 (ddd, $^3J_{HH} = 7.7$ Hz, $^3J_{HH} = 4.7$ Hz, $^3J_{HH} = 1.9$ Hz, 1H, H8), 5.47-5.44 (m, 1H, H4), 5.08 (dd, $^2J_{HH} = 11.9$ Hz, $^3J_{HH} = 1.9$ Hz, 1H, H9), 4.93 (d, $^3J_{HH} = 10.1$ Hz, 1H, NH), 4.51 (ddd, $^3J_{HH} = 10.7$ Hz, $^3J_{HH} = 10.1$ Hz, $^3J_{HH} = 10.1$ Hz, 1H, H5), 4.47 (dd, $^3J_{HH} = 10.7$ Hz, $^3J_{HH} = 2.3$ Hz, 1H, H6), 4.28 (dd, $^2J_{HH} = 11.9$ Hz, $^3J_{HH} = 7.7$ Hz, 1H, H9), 3.40 (s, 3H, OCH_3), 2.34-2.27 (m, 2H, H_{3ax}/H_{3eq}), 2.13-2.02 (m, 2H, CH_2 Pentanoyl), 1.97, 1.92, 1.73, 1.71 (4x s, 4x 3H, 4x CH_3 Acetyl), 1.61-1.55 (m, 2H, CH_2 Pentanoyl), 1.24-1.20 (m, 2H, CH_2 Pentanoyl), 0.82 (dd, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, $^3J_{HH} = 7.8$ Hz, 3H, CH_3 Pentanoyl). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, C_6D_6): 95.2 (C2), 72.9 (C6), 71.9 (C8), 69.7 (C4), 68.5 (C7), 63.6 (C9), 53.4 (OCH_3), 49.4 (C5), 38.7 (C3), 37.3 (C_2 Pentanoyl), 21.4, 21.0, 20.8, 20.6 (4x CH_3 Acetyl), 19.4 (C_3 Pentanoyl), 14.6 (C_4 Pentanoyl), 12.7 (CH_3 Pentanoyl). **IR** ν/cm^{-1} : 3360, 2964, 1735, 1655, 1374, 1211, 1152, 1033. **MS (FAB)** ber.: 534.2 $[M+H]^+$, gef.: 534.2.

Synthese von Methyl-5-N-Cyclopropylcarbonyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat **124**

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 14 durchgeführt. Es wurden 453 mg (0.740 mmol) Thiophenyl-(Methyl-5-N-Cyclopropylcarbonyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- α -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat) **120** in 2 mL Aceton und 0.1 mL Wasser gelöst und mit 0.340 mg (1.92 mmol) NBS versetzt.

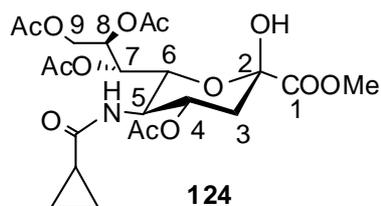
Ausbeute: 259 mg (0.250 mmol, 34%) eines farblosen

Sirups; **Summenformel:** C₂₂H₃₁NO₁₃; **Molgewicht:**

517.48 g/mol; **DC:** R_f-Wert (EE): 0.25;

Anomerenverhältnis: β-anomerenrein; **Drehwert:**

[α]_D²⁰ = - 13 °(c = 1.0, CHCl₃).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, C₆D₆): 5.68 (dd, ³J_{HH} = 3.4 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H7), 5.60 (ddd, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ³J_{HH} = 3.4 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H8), 5.32 (ddd, ³J_{HH} = 10.3 Hz, ³J_{HH} = 10.3 Hz, ³J_{HH} = 6.7 Hz, 1H, H4), 5.20 (d, ³J_{HH} = 10.3 Hz, 1H, NH), 5.11-5.09 (m, 1H, H9), 4.64 (ddd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 10.3 Hz, ³J_{HH} = 10.3 Hz, 1H, H5), 4.40 (dd, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1H, H6), 4.25 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H9), 3.28 (s, 3H, OCH₃), 2.24-2.20 (m, 2H, H_{3ax}/H_{3eq}), 1.94, 1.88, 1.71, 1.62 (4x s, 4x 3H, 4x CH₃Acetyl), 1.52-1.43 (m, 1H, CHCyclopropylcarbonyl), 0.73-0.58 (m, 4H, CH₂Cyclopropylcarbonyl). **¹³C-NMR** δ/ppm (101 MHz, C₆D₆): 98.1 (C2), 76.4 (C8), 74.2 (C6), 70.8 (C4), 69.7 (C7), 64.8 (C9), 55.4 (OCH₃), 50.7 (C5), 36.9 (C3), 20.6, 20.4, 20.5, 19.8 (4x CH₃Acetyl), 15.7 (CHCyclopropylcarbonyl), 11.9, 10.7 (2x CH₂Cyclopropylcarbonyl). **IR** ν/cm⁻¹: 2987, 1865, 1728, 1635, 1398, 1104, 1203, 1182, 1033, 1048, 754, 684, 570. **MS (FAB)** ber.: 517.2 [M], gef.: 517.1.

8.2.4 Synthese der Nucleosid Diphosphat Pyranosen

Anmerkung: Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen wiesen häufig den Verlust der Triethylammonium-Gegenionen auf, weshalb davon ausgegangen wird, dass ein Austausch gegen Alkalimetall-Gegenionen oder Protonen stattgefunden hat. Aus diesem Grund wird sich im weiteren Verlauf lediglich auf die Darstellung der Anionen beschränkt. Die Ausbeuten berechnen sich nach den im $^1\text{H-NMR}$ sichtbaren Gegenionen bzw. einen Austausch gegen Protonen.

8.2.4.1 Synthese der unmodifizierten NDP-Pyranosen

Synthese von UDP- α -D-Glucose 1

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 134 mg (0.372 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 100 mg (0.193 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 6 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 78 mg (0.14 mmol, 75%) eines

farblosen Feststoffes; **Summenformel:**

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_{17}\text{P}_2^{2-}$;

Molgewicht:

564.29 g/mol;

DC: R_f -Wert

(*iso*Propanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

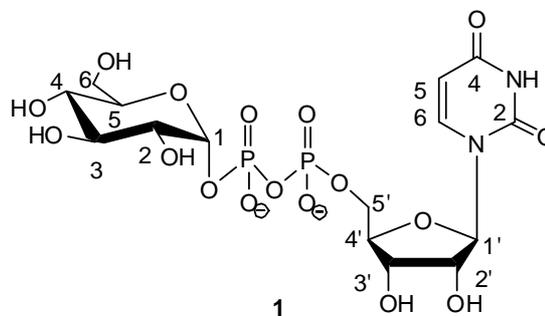
2:1): 0.27;

Anomerenverhältnis:

α -anomerenrein;

Drehwert:

$[\alpha]_D^{20} = -7.2^\circ$ ($c = 0.30$, H_2O).



$^1\text{H-NMR}$ δ /ppm (400 MHz, D_2O): 7.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, $\text{H}_{6\text{Base}}$), 6.01-5.98 (m, 2H, $\text{H}_{5\text{Base}}$, $\text{H}_{1'}$), 5.63 (dd, $^3J_{\text{HP}} = 7.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, 1H, H_1), 4.40-4.39 (m, 2H, $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{3'}$), 4.31-4.30 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 4.27-4.21 (m, 2H, $\text{H}_{5'}$), 3.93-3.90 (m, 1H, H_5), 3.87 (d, $^3J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, H_3), 3.82-3.77 (m, 2H, H_4 , H_6), 3.56 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, H_2), 3.49 (d, $^3J_{\text{HH}} = 9.6$ Hz, 1H, H_6). **$^{13}\text{C-NMR}$** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 162.4 ($\text{C}_{4\text{Base}}$), 152.1 ($\text{C}_{2\text{Base}}$), 141.7 ($\text{C}_{6\text{Base}}$), 102.8 ($\text{C}_{5\text{Base}}$), 95.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 6.4$ Hz, C_1), 88.6 ($\text{C}_{1'}$), 83.4 ($\text{C}_{3'}$), 83.3 ($\text{C}_{2'}$), 73.9 (C_3), 73.0 (d, $^3J_{\text{CP}} = 7.7$ Hz, $\text{C}_{4'}$), 71.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 9.0$ Hz, C_2), 69.8 (C_5), 69.4 (C_4), 65.1 (d,

$^2J_{CP} = 5.3$ Hz, C5'), 60.5 (C6). $^{31}\text{P-NMR}$ δ/ppm (162 MHz, D_2O): - 11.23 (d, $^2J_{PP} = 19.7$ Hz, P_β), - 12.88 (d, $^2J_{PP} = 19.7$ Hz, P_α). **IR** ν/cm^{-1} : 3328, 2964, 2388, 1624, 1214, 1157, 964, 813, 706, 588. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 565.0477 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 565.0437.

Synthese von CDP- α -D-Glucose 125

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt, allerdings wurden 2.9 Äq. anstatt 2.0 Äq. des Pyranosylphosphates eingesetzt. Es wurden 70 mg (0.27 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 55 mg (0.093 mmol) 5-Nitro-cycloSal-*N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden.

Ausbeute: 52.0 mg (0.070 mmol, 75%)

eines farblosen Feststoffes;

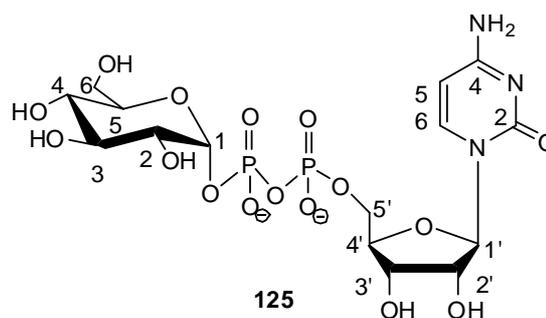
Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{16}\text{P}_2^{2-}$;

Molgewicht: 563.30 g/mol; **DC** R_f -Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

2:1): 0.17; **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -15^\circ$

($c = 0.10$, H_2O).



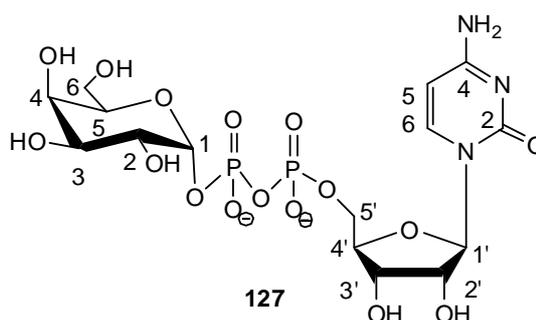
$^1\text{H-NMR}$ δ/ppm (400 MHz, D_2O): 8.13 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.28-6.27 (m, 1H, H5_{Base}), 5.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 3.6$ Hz, 1H, $\text{H1}'$), 5.61 (dd, $^3J_{\text{HP}} = 6.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, H1), 4.38-4.30 (m, 4H, $\text{H2}'$, $\text{H3}'$, $\text{H4}'$, $\text{H5}'$), 4.23-4.20 (m, 1H, $\text{H5}'$), 3.91-3.87 (m, 1H, H5), 3.85 (d, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, H3), 3.80-3.76 (m, 2H, H4 , H6), 3.54 (ddd, $^4J_{\text{HP}} = 9.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, H2), 3.47 (d, $^3J_{\text{HH}} = 9.7$ Hz, 1H, H6).

$^{13}\text{C-NMR}$ δ/ppm (101 MHz, D_2O): 163.5 (C4_{Base}), 142.6 (C2_{Base}), 96.2 (C6_{Base}), 89.3 (C5_{Base}), 83.0 (d, $^2J_{\text{CP}} = 9.1$ Hz, C1), 76.5 (C5), 75.3 (C3), 74.3 ($\text{C1}'$), 73.6 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.3$ Hz, $\text{C4}'$), 69.5 ($\text{C3}'$, C4), 69.3 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8.1$ Hz, C2), 64.7 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, $\text{C5}'$), 60.8 (C6), 46.7 ($\text{C2}'$). $^{31}\text{P-NMR}$ δ/ppm (162 MHz, D_2O): - 12.42 (d, $^2J_{\text{PP}} = 20.9$ Hz, P_β), - 14.00 (d, $^2J_{\text{PP}} = 20.9$ Hz, P_α). **IR** ν/cm^{-1} : 3430, 2924, 2348, 1654, 1240, 1153, 984, 807, 746, 640. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 564.0637 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 564.0637.

Synthese von CDP- α -D-Galactose 127

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 146 mg (0.283 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat **72 α** , 80 mg (0.14 mmol) 5-Nitro-cycloSal-N^tAc-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 Stunden.

Ausbeute: 57 mg (0.10 mmol, 72%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₁₅H₂₃N₃O₁₆P₂²⁻; **Molgewicht:** 563.30 g/mol; **DC:** R_f-Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.19; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = +7.6^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.86 (d, ³J_{HH} = 7.9 Hz, 1H, H_{6Base}), 6.02 (d, ³J_{HH} = 7.9 Hz, 1H, H_{5Base}), 5.85 (d, ³J_{HH} = 4.4 Hz, 1H, H_{1'}), 5.35 (dd, ³J_{HP} = 6.9 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, H₁), 4.23-4.21 (m, 1H, H_{3'}), 4.19-4.17 (m, 1H, H_{2'}), 4.17-4.14 (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}), 4.09-4.05 (m, 1H, H_{5'}), 3.76-3.61 (m, 4H, H₃, H₅, H₆), 3.41-3.39 (m, 1H, H₂), 3.35-3.31 (m, 1H, H₄). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 165.2 (C_{2Base}), 156.6 (C_{4Base}), 141.6 (C_{2Base}), 96.4 (C_{6Base}), 94.6 (d, ²J_{CP} = 5.5 Hz, C₁), 89.2 (C_{1'}), 82.6 (d, ³J_{CP} = 9.2 Hz, C_{4'}), 72.7 (d, ³J_{CP} = 5.2 Hz, C₂), 72.6 (C₅), 72.3 (C₃), 74.2 (C_{2'}), 69.2 (C₄), 69.1 (C_{3'}), 64.5 (d, ²J_{CP} = 4.6 Hz, C_{5'}), 60.3 (C₆). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.18 (d, ²J_{PP} = 13.6 Hz, P _{β}), -12.80 (d, ²J_{PP} = 13.6 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3218, 1648, 1422, 1231, 1077, 1035, 915, 861, 713, 601, 498. **MS (FAB)** ber.: 564.1 [M+H]⁺, gef.: 564.3.

Synthese von ADP- α -D-Glucose 130

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 200 mg (0.550 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 168 mg (0.282 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Sal-N⁶Ac-2',3'-OAc-Adenosinmonophosphat **52** und 6 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 170 mg (0.223 mmol, 78%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₅P₂²⁻;

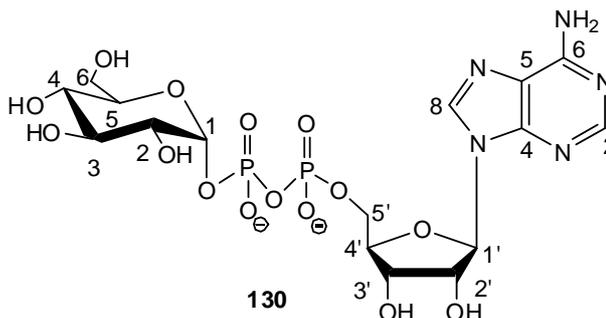
Molgewicht: 587.33 g/mol; **DC:** R_f-

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-

Lsg. (1M), 2:1): 0.47;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +22^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.51 (s, 1H, H₈_{Base}), 8.23 (s, 1H, H₂_{Base}), 6.13 (d, ³J_{HH} = 5.5 Hz, 1H, H_{1'}), 5.63 (dd, ³J_{HP} = 4.1 Hz, ³J_{HH} = 3.9 Hz, 1H, H₁), 4.57-4.51 (m, 1H, H_{2'}), 4.43-4.41 (m, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 4.27-4.16 (m, 3H, H_{4'}, H_{5'}, H₆), 3.80-3.75 (m, 3H, H₃, H₅, H₆), 3.50-3.45 (m, 2H, H₂, H₄). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 154.5 (C₆_{Base}), 151.4 (C₂_{Base}), 148.8 (C₄_{Base}), 147.5 (C₅_{Base}), 118.5 (C₈_{Base}), 95.6 (d, ²J_{CP} = 6.4 Hz, C₁), 87.1 (C_{1'}), 84.0 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz C_{4'}), 74.4 (C_{3'}), 73.8 (C_{2'}), 72.8 (C₄), 71.7 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz, C₂), 70.4 (C₃), 69.2 (C₅), 65.2 (d, ²J_{CP} = 5.5 Hz, C_{5'}), 61.5 (C₆). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 11.18 (d, ²J_{PP} = 17.2 Hz, P_β), - 12.88 (d, ²J_{PP} = 17.2 Hz, P_α). **IR** v/cm⁻¹: 3421, 2679, 2492, 1686, 1654, 1608, 1477, 1243, 1081, 925, 815, 719, 503. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 588.0750 [M+H]⁺, gef.: 588.0747.

Synthese von ADP- β -D-Glucose 131

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt, allerdings wurden 3.5 Äq. anstatt 2.0 Äq. des Pyranosylphosphates eingesetzt. Es wurden 150 mg (0.356 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphat **71 β** , 60 mg (0.10 mmol) 5-Nitro-cycloSal-N⁶Ac-2',3'-OAc-Adenosinmonophosphat **52** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 20 Stunden.

Ausbeute: 65 mg (0.09 mmol, 88%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₅P₂²⁻;

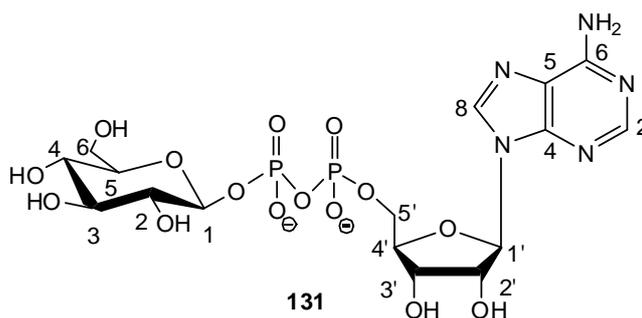
Molgewicht: 587.33 g/mol; **DC:** R_f-Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-

Lsg. (1M), 2:1):

0.48; **Anomerenverhältnis:**

β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$

(c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.57 (s, 1H, H₈_{Base}), 8.28 (s, 1H, H₂_{Base}), 6.14 (d, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, H1'), 5.01 (dd, ³J_{HP} = 7.5 Hz, ³J_{HH} = 7.5 Hz, 1H, H1), 4.52 (d, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1H, H2'), 4.40 (s, 1H, H3'), 4.25-4.22 (m, 2H, H4', H6), 3.88 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HP} = 10.5 Hz, 1H, H5'), 3.67 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HP} = 12.3 Hz, 1H, H5'), 3.49-3.46 (m, 3H, H2, H4, H6), 3.37-3.34 (m, 2H, H3, H5). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 154.5 (C₂_{Base}), 151.4 (C₆_{Base}), 148.8 (C₄_{Base}), 147.5 (C₈_{Base}), 129.8 (C₅_{Base}), 97.9 (d, ²J_{CP} = 6.4 Hz, C1), 87.0 (C1'), 84.0 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz C4'), 76.5 (C4), 75.2 (C5), 74.4 (C2'), 73.6 (C3'), 70.4 (d, ³J_{CP} = 8.6 Hz, C2), 69.4 (C3), 65.2 (d, ²J_{CP} = 5.5 Hz, C5'), 61.5 (C6). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.75 (d, ²J_{PP} = 16.9 Hz, P _{β}), -10.56 (d, ²J_{PP} = 16.9 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3408, 2679, 2492, 1654, 1607, 1478, 1422, 1242, 1081, 925, 816, 719, 504. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 588.0750 [M+H]⁺, gef.: 588.0734.

Synthese von ADP- α -D-Galactose 132

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 146 mg (0.281 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- α -D-Galactopyranosyl-Phosphat **72** $_{\alpha}$, 80 mg (0.14 mmol) 5-Nitro-cycloSal-N⁶Ac-2',3'-OAc-Adenosinmonophosphat **52** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 26 Stunden.

Ausbeute: 53 mg (0.063 mmol, 68%)

eines farblosen Feststoffes;

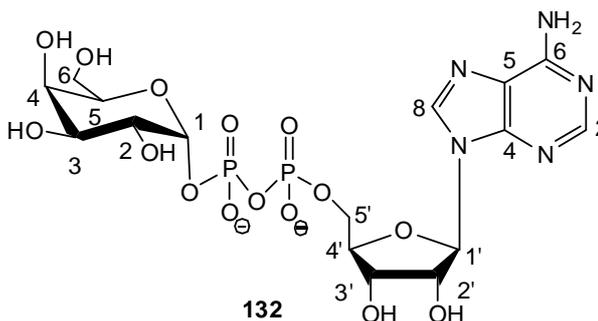
Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₅P₂²⁻;

Molgewicht: 587.33 g/mol; **DC:** R_f-

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.22;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 0.1$ (c = 1.1, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.38 (s, 1H, H₈_{Base}), 8.13 (s, 1H, H₂_{Base}), 6.05 (d, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 1H, H_{1'}), 5.49 (dd, ³J_{HP} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H₁), 4.70-4.67 (m, 1H, H_{2'}), 4.46 (dd, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, H_{3'}), 4.32-4.29 (m, 1H, H_{4'}), 4.15-4.13 (m, 2H, H_{5'}), 3.78-3.62 (m, 4H, H₃, H₅, H₆), 3.43-3.40 (m, 1H, H₂), 3.34 (dd, ³J_{HH} = 10.6 Hz, ³J_{HH} = 9.6 Hz, 1H, H₄). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 152.6 (C₂_{Base}), 151.5 (C₆_{Base}), 148.1 (C₄_{Base}), 140.8 (C₈_{Base}), 120.2 (C₅_{Base}), 95.6 (d, ²J_{CP} = 8.8 Hz, C₁), 87.1 (C_{1'}), 84.0 (d, ³J_{CP} = 9.5 Hz, C_{4'}), 74.4 (C_{2'}), 72.9 (C₃/C₅), 72.8 (C₃/C₅), 71.7 (d, ³J_{CP} = 8.1 Hz, C₂), 70.4 (C_{3'}), 65.3 (d, ²J_{CP} = 6.6 Hz, C_{5'}), 60.4 (C₆), 69.2 (C₄). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.26 (d, ²J_{PP} = 21.7 Hz, P _{β}), -12.80 (d, ²J_{PP} = 21.7 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3183, 2130, 1645, 1605, 1477, 1421, 1334, 1230, 1076, 1034, 915, 819, 719, 637, 500. **MS (ESI⁺)** ber.: 588.1 [M+H]⁺, gef.: 588.3.

Synthese von ADP- β -D-Galactose 133

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 190 mg (0.364 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Galactopyranosyl-Phosphat **72 β** , 104 mg (0.182 mmol) 5-Nitro-cycloSal-N⁶Ac-2',3'-OAc-Adenosinmonophosphat **52** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 26 Stunden.

Ausbeute: 99 mg (0.26 mmol, 74%)

eines farblosen Feststoffes;

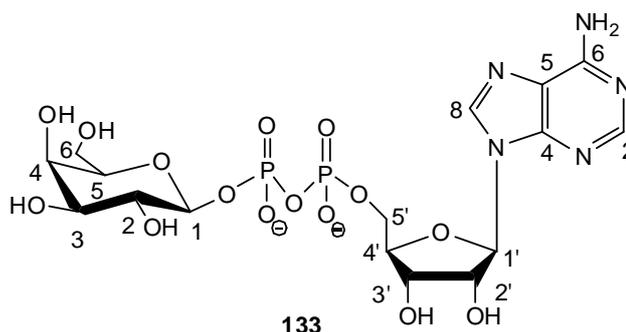
Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₅P₂²⁻;

Molgewicht: 587.33 g/mol; **DC:** R_f-

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.46;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -0.3^\circ$ (c = 1.1, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.41 (s, 1H, H₈_{Base}), 8.15 (s, 1H, H₂_{Base}), 6.05 (d, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1H, H₁'), 4.93 (dd, ³J_{HP} = 5.0 Hz, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1H, H₁), 4.71-4.69 (m, 1H, H₂'), 4.45 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1H, H₃'), 4.32-4.30 (m, 1H, H₄'), 4.15 (dd, ³J_{HP} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 2H, H₅'), 3.80 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, H₆), 3.59 (dd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1H, H₆), 3.47-3.38 (m, 2H, H₅, H₄), 3.31-3.26 (m, 2H, H₃, H₂). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 155.6 (C₂_{Base}), 152.8 (C₆_{Base}), 149.2 (C₄_{Base}), 139.5 (C₈_{Base}), 118.7 (C₅_{Base}), 97.9 (d, ²J_{CP} = 6.2 Hz, C₁), 86.9 (C₁'), 76.5 (C₃'), 75.3 (C₄), 74.4 (C₂'), 73.7 (d, ³J_{CP} = 7.7 Hz C₄'), 73.6 (d, ³J_{CP} = 8.5 Hz, C₂), 70.5 (C₃), 69.5 (C₅), 65.3 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, C₅'), 60.8 (C₆). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 11.23 (d, ²J_{PP} = 21.8 Hz, P _{β}), - 12.91 (d, ²J_{PP} = 21.8 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3186, 1644, 1478, 1232, 1055, 941, 820, 716, 638, 507. **MS (ESI⁺)** ber.: 588.1 [M+H]⁺, gef.: 588.3.

Synthese von ADP- α -D-Mannose 134

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 160 mg (0.303 mmol) α -D-Mannopyranosyl-Phosphat **73 α** , 92 mg (0.15 mmol) 5-Nitro-cycloSal-N⁶Ac-2',3'-OAc-Adenosinmonophosphat **52** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 19 Stunden.

Ausbeute: 78 mg (0.13 mmol, 87%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₅P₂²⁻;

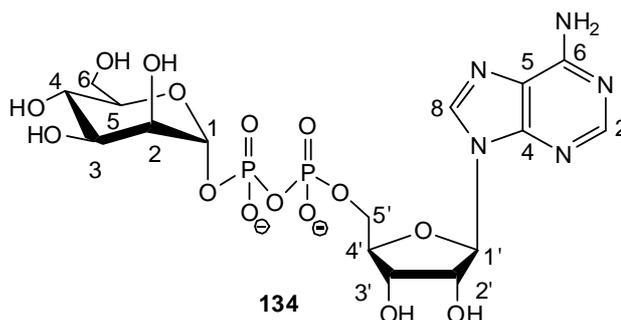
Molgewicht: 587.33 g/mol; **DC:** R_f-

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-

Lsg. (1M), 2:1): 0.43;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +32.0^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



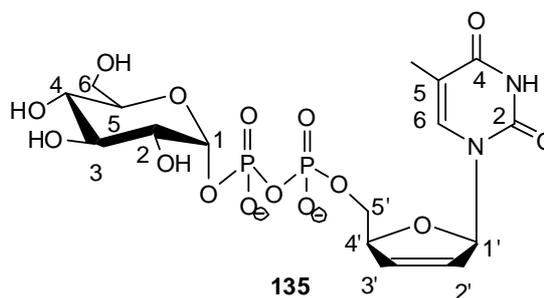
¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.54 (s, 1H, H8_{Base}), 8.28 (s, 1H, H2_{Base}), 6.16 (d, ³J_{HH} = 5.9 Hz, 1H, H1'), 5.54 (d, ³J_{HP} = 6.8 Hz, 1H, H1), 4.55 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ³J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H2'), 4.43-4.42 (m, 1H, H3'), 4.26-4.24 (m, 2H, H4', H5'), 4.07-4.06 (m, 1H, H5'), 3.94 (dd, ³J_{HH} = 9.8 Hz, ⁴J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, H6), 3.90-3.87 (m, 2H, H3, H6), 3.80-3.65 (m 3H, H2, H4, H5). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 156.6 (C6_{Base}), 152.8 (C2_{Base}), 106.6 (C8_{Base}), 96.5 (d, ²J_{CP} = 5.5 Hz, C1), 86.9 (C1'), 83.9 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz C4'), 74.3 (C3'), 73.7 (C2'), 70.4 (d, ³J_{CP} = 5.5 Hz, C2), 70.3 (C3), 69.9 (C5), 66.5 (C4), 65.3 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, C5'), 60.8 (C6). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.40 (d, ²J_{PP} = 13.4 Hz, P_β), -13.76 (d, ²J_{PP} = 13.4 Hz, P_α). **IR** ν /cm⁻¹: 3398, 2938, 2679, 2492, 1686, 1508, 1477, 1421, 1242, 1083, 924, 818, 720, 504. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 589.0822 [M+2H]⁺, gef.: 589.0839.

8.2.4.2 Synthese der NDP-Pyranosen mit modifizierten Nucleosiden

Synthese von d4T-DP- α -D-Glucose 135

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 95.0 mg (0.37 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 80 mg (0.18 mmol) 5-5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidinmonophosphat **58** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 78 mg (0.14 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{16}H_{22}N_2O_{15}P_2^{2-}$; **Molgewicht:** 544.30 g/mol; **DC:** R_f -Wert (*iso*Propanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.43; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$ ($c = 0.10, H_2O$).



1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 7.62 (d, $^4J_{HH} = 1.1$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.99-6.97 (m, 1H, H3'), 6.54-6.52 (m, 1H, H2'), 5.97 (m, 1H, H1'), 5.59 (dd, $^3J_{HP} = 7.3$ Hz, $^3J_{HH} = 3.5$ Hz, 1H, H1), 5.12 (d, $^4J_{HH} = 1.3$ Hz, 1H, H4'), 4.21-4.12 (m, 2H, H5'), 3.93-3.78 (m, 4H, H2, H5, H6), 3.54-3.44 (m, 2H, H3, H4), 1.91 (d, $^4J_{HH} = 1.1$ Hz, 3H, CH₃). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 183.7 (C4_{Base}), 181.8 (C2_{Base}), 138.2 (C6_{Base}), 134.3 (C3'), 125.3 (C2'), 111.6 (C5_{Base}), 95.5 (d, $^2J_{CP} = 6.7$ Hz, C1), 90.0 (C1'), 85.9 (d, $^3J_{CP} = 8.8$ Hz, C2), 72.9 (C4), 71.7 (d, $^3J_{CP} = 8.4$ Hz, C4'), 69.3 (C3/C5), 66.5 (d, $^2J_{CP} = 6.1$ Hz, C5'), 60.4 (C6), 11.5 (CH₃). **^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): -11.30 (d, $^2J_{PP} = 20.6$ Hz, P _{β}), -13.00 (d, $^2J_{PP} = 20.6$ Hz, P _{α}). **IR** ν/cm^{-1} : 3232, 2100, 1686, 1471, 1230, 1043, 914, 737, 505. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 545.0579 [M+H]⁺, gef.: 545.0570.

Synthese von d4T-DP- α -D-Mannose 136

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 99 mg (0.28 mmol) α -D-Mannopyranosyl-Phosphat, 60 mg (0.14 mmol) 5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-2',3'-Didehydro-Thymidinmonophosphat **58** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 22 Stunden.

Ausbeute: 53 mg (0.10 mmol, 70%) eines

farblosen Feststoffes; **Summenformel:**

$C_{16}H_{22}N_2O_{15}P_2^{2-}$;

Molgewicht:

544.30 g/mol;

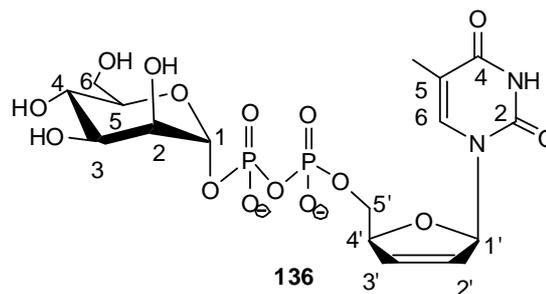
DC: R_f -Wert

(*iso*Propanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

2:1): 0.69; **Anomerenverhältnis:**

α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -3.9^\circ$

($c = 0.10$, H_2O).

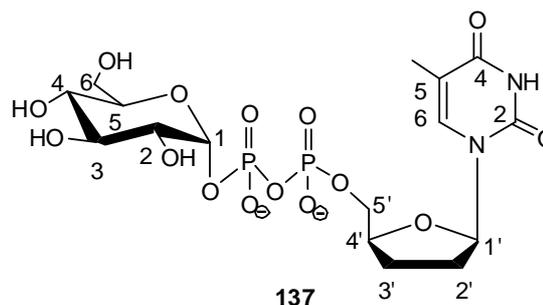


1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 7.47 (d, $^4J_{HH} = 4.1$ Hz, 1H, H_{6Base}), 6.99-6.97 (m, 1H, $H_{3'}$), 6.52 (d, $^3J_{HH} = 6.1$ Hz, 1H, $H_{2'}$), 5.96 (d, $^3J_{HH} = 6.1$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.50 (dd, $^3J_{HP} = 7.7$ Hz, $^3J_{HH} = 1.3$ Hz, 1H, H_1), 4.98 (dd, $^4J_{HP} = 8.0$ Hz, $^3J_{HH} = 3.0$ Hz, 1H, $H_{4'}$), 4.19-4.11 (m, 2H, $H_{5'}$), 3.91-3.77 (m, 4H, H_2 , H_5 , H_6), 3.50-3.42 (m, 2H, H_3 , H_4), 1.92 (s, 3H, CH_3). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 166.3 (C_{4Base}), 151.9 (C_{2Base}), 138.2 (C_{6Base}), 134.3 ($C_{3'}$), 125.3 ($C_{2'}$), 102.8 (C_{5Base}), 95.6 (d, $^2J_{CP} = 6.8$ Hz, C_1), 86.2 (d, $^3J_{CP} = 9.3$ Hz, C_2), 88.4 ($C_{1'}$), 72.6 (C_4), 71.7 (d, $^3J_{CP} = 7.6$ Hz, $C_{4'}$), 69.8 (C_3), 69.4 (C_5), 65.1 (d, $^2J_{CP} = 5.7$ Hz, $C_{5'}$), 60.5 (C_6), 11.6 (CH_3). **^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): -11.66 (d, $^2J_{PP} = 19.8$ Hz, P_β), -13.91 (d, $^2J_{PP} = 19.8$ Hz, P_α). **IR** ν/cm^{-1} : 3228, 2123, 1701, 1469, 1228, 917, 743, 512. **HRMS (ESI $^+$)** ber.: 545.0579 [$M+H$] $^+$ gef.: 545.0572.

Synthese von ddT-DP- α -D-Glucose 137

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 94 mg (0.36 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 80 mg (0.18 mmol) 5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-Thymidinmonophosphat **59** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 58 mg (0.11 mmol, 59%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{16}H_{24}N_2O_{15}P_2^{2-}$; **Molgewicht:** 546.31 g/mol; **DC:** R_f -Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.54; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = + 4.6^\circ$ (c = 0.10, H₂O).

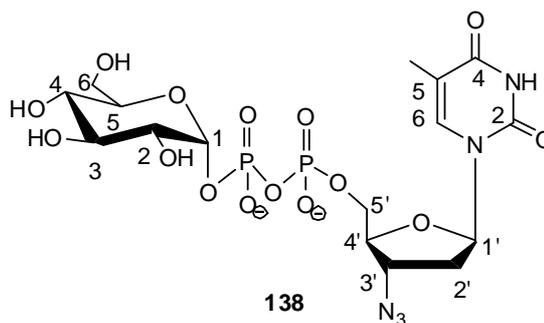


¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.78 (d, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.14 (dd, $^3J_{HH} = 7.0$ Hz, $^4J_{HH} = 4.0$ Hz 1H, H1'), 5.61 (dd, $^3J_{HP} = 7.3$ Hz $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, H1), 4.39-4.38 (m, 1H, H5'), 4.26 (ddd, $^2J_{HH} = 11.3$ Hz, $^3J_{HH} = 5.6$ Hz, $^4J_{HH} = 2.8$ Hz, 1H, H6), 4.12 (ddd, $^2J_{HH} = 11.3$ Hz, $^3J_{HH} = 6.2$ Hz, $^4J_{HH} = 4.7$ Hz, 1H, H6), 3.94-3.85 (m, 2H, H4, H5'), 3.82-3.76 (m, 2H, H3, H5), 3.53 (ddd, $^4J_{HP} = 9.8$ Hz, $^3J_{HH} = 3.3$ Hz, $^4J_{HH} = 3.2$ Hz, 1H, H2), 3.49-3.44 (m, 1H, H4'), 2.47-2.40 (m, 1H, H2'), 2.19-2.12 (m, 2H, H3'), 2.08-2.03 (m, 1H, H2'), 1.95(s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 168.9 (C4_{Base}), 150.8 (C2_{Base}), 137.2(C6_{Base}), 95.5 (d, $^2J_{CP} = 6.8$ Hz, C1), 88.1 (C1'), 80.2 (d, $^3J_{CP} = 8.6$ Hz, C2), 111.3 (C5_{Base}), 72.9 (C4), 72.8 (C5), 71.7 (d, $^3J_{CP} = 8.5$ Hz, C4'), 69.3 (C3), 66.9 (d, $^2J_{CP} = 5.8$ Hz, C5'), 60.4 (C6), 31.1 (C2'), 25.0 (C3'), 11.7 (CH₃). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 11.09 (d, $^2J_{PP} = 21.1$ Hz, P _{β}), - 12.91 (d, $^2J_{PP} = 21.1$ Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3246, 2107, 1681, 1475, 1232, 1081, 1046, 1002, 918, 505, 418. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 547.0736 [M+H]⁺, gef.: 547.0734.

Synthese von AZT-DP- α -D-Glucose 138

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 87 mg (0.33 mmol) α -D-Glucopyranosyl-Phosphat, 80 mg (0.17 mmol) 5-Nitro-cycloSal-3'-Desoxy-3'-Azido-Thymidinmonophosphat **6** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden.

Ausbeute: 59 mg (0.11 mmol, 56%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** $C_{16}H_{23}N_5O_{15}P_2^{2-}$; **Molgewicht:** 587.33 g/mol; **DC:** R_f -Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.52; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = + 8.7^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.74 (s, 1H, H6_{Base}), 6.28 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 1H, H1'), 5.61 (dd, ³J_{HP} = 6.7 Hz, ³J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H1), 4.57 (dd, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ³J_{HH} = 5.3 Hz, 1H, H3'), 4.21-4.20 (m, 3H, H4', H5', H6), 4.92-4.85 (m, 2H, H5', H6), 3.80-3.76 (m, 2H, H3, H5), 3.55-3.51 (m, 1H, H2), 3.46 (dd, ³J_{HH} = 9.6 Hz, ³J_{HH} = 9.6 Hz, 1H, H4), 2.50 (dd, ³J_{HH} = 6.3 Hz, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 2H, H2'), 1.94 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 166.6 (C4_{Base}), 151.7 (C2_{Base}), 137.3 (C6_{Base}), 111.8 (C5_{Base}), 95.6 (d, ²J_{CP} = 6.5 Hz, C1), 85.7 (C1'), 85.0 (C3'), 83.0 (d, ³J_{CP} = 9.0 Hz, C2), 79.2 (C2'), 74.0 (C4), 72.9 (d, ³J_{CP} = 6.8 Hz, C4'), 71.7 (d, ²J_{CP} = 8.1 Hz, C5'), 60.4 (C6), 69.4 (C3), 69.3 (C5), 11.7 (CH₃). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.26 (d, ²J_{PP} = 19.8 Hz, P _{β}), -12.85 (d, ²J_{PP} = 19.8 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3271, 2102, 1681, 1470, 1232, 1080, 1050, 915, 834, 508, 413. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 588.0750 [M+H]⁺ gef.: 588.0747.

Synthese von *isoddA*-DP- β -D-Glucose 139

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 38 mg (0.093 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphat **71 β** , 20 mg (0.042 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-Dideoxy-*N*⁴-*iso*-Adenosinmonophosphat **61** und 3 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 20 Stunden.

Ausbeute: 10 mg (0.02 mmol, 40%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₆H₂₃N₅O₁₃P₂²⁻;

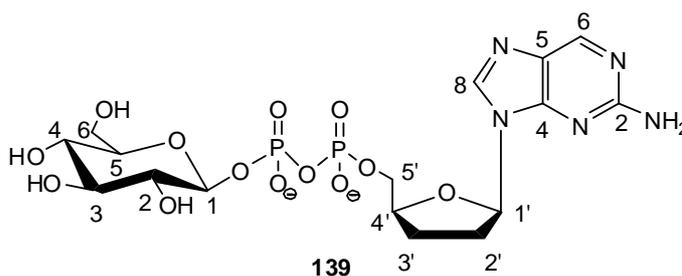
Molgewicht: 555.33 g/mol; **DC:** R_f-

Wert (*iso*Propanol/Ammoniumacetat-

Lsg. (1M), 2:1): 0.47;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 5.8^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.66 (s, 1H, H₆_{Base}), 8.42 (s, 1H, H₈_{Base}), 6.33 (dd, ³J_{HH} = 6.6 Hz, ⁴J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, H1'), 5.00 (dd, ³J_{HP} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H1), 4.24-4.19 (m, 1H, H5), 4.13-4.07 (m, 1H, H6), 3.89 (dd, ²J_{HH} = 12.4 Hz, ³J_{HH} = 2.2 Hz, 1H, H6), 3.56-3.49 (m, 3H, H4', H3, H4), 3.40-3.35 (m, 3H, H5', H2), 2.62-2.54 (m, 2H, H2'), 2.30-2.19 (m, 2H, H3'). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 160.4 (C₂_{Base}), 152.9 (C₄_{Base}), 149.7 (C₆_{Base}), 140.3 (C₈_{Base}), 126.1 (C₅_{Base}), 96.5 (d, ²J_{CP} = 6.7 Hz, C1), 83.9 (C1'), 73.6 (C5), 72.4 (d, ³J_{CP} = 6.1 Hz, C2), 72.3 (C3), 69.8 (d, ³J_{CP} = 2.9 Hz, C4'), 68.6 (C4), 65.1 (d, ²J_{CP} = 3.4 Hz, C5'), 60.2 (C6), 31.6 (C2'), 25.1 (C3'). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 11.12 (d, ²J_{PP} = 19.9 Hz, P _{β}), - 12.95 (d, ²J_{PP} = 19.9 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3516, 2924, 2853, 1620, 1581, 1429, 1052, 794, 640, 452, 414. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 556.0851 [M+H]⁺, gef.: 556.0870.

Synthese von carba-*isoddA*-DP- β -D-Glucose 140

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 275 mg (0.521 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -D-Glucopyranosyl-Phosphat **71 β** , 116 mg (0.260 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-Dideoxy-*N*⁴-carba-*iso*-Adenosinmonophosphat **62** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 20 Stunden.

Ausbeute: 82 mg (0.15 mmol,

58%) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₇H₂₅N₅O₁₂P₂²⁻;

Molgewicht: 553.56 g/mol; **DC:**

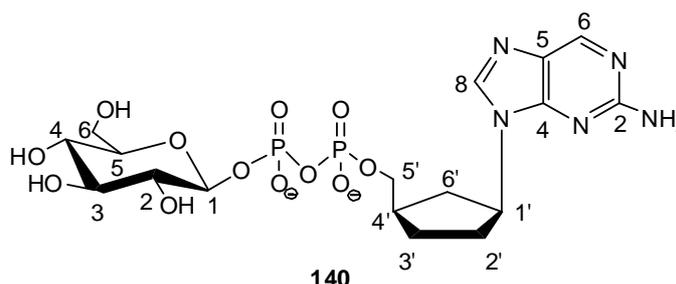
R_f-Wert (isoPropanol/

Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1):

0.22; **Anomerenverhältnis:**

β - anomerenrein ; **Drehwert:**

[α]_D²⁰ = - 2.3 °(c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.66 (s, 1H, H6_{Base}), 8.35 (s, 1H, H8_{Base}), 4.85 (dd, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, H1'), 4.80 (dd, ³J_{HP} = 8.5 Hz, ³J_{HH} = 7.1 Hz, 1H, H1), 3.97-3.96 (m, 2H, H6'), 3.84 (m, 1H, H5), 3.79-3.74 (m, 1H, H6), 3.58-3.56 (m, 4H, H2, H3, H4, H6), 2.50-2.44 (m, 2H, H4', H5'), 2.32-2.27 (m, 1H, H5'), 2.00-1.90 (m, 2H, H2'), 1.78-1.73 (m, 2H, H3'). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 163.4 (C2_{Base}), 150.9 (C4_{Base}), 149.2 (C6_{Base}), 143.3 (C8_{Base}), 129.1 (C5_{Base}), 98.5 (d, ²J_{CP} = 6.7 Hz, C1), 75.9 (C5), 72.4 (d, ³J_{CP} = 6.1 Hz, C2), 72.3 (C3), 69.9 (C6'), 68.6 (C4), 61.2 (C6), 54.9 (C1'), 37.8 (d, ³J_{CP} = 2.9 Hz, C4'), 35.1 (d, ²J_{CP} = 3.4 Hz, C5'), 31.3 (C2'), 26.1 (C3'). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 10.73 (d, ²J_{PP} = 19.6 Hz, P _{β}), - 12.98 (d, ²J_{PP} = 19.6 Hz, P _{α}). **IR** ν /cm⁻¹: 3257, 1613, 1509, 1454, 1421, 1224, 1047, 943, 789, 451. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 554.1059 [M+H]⁺, gef.: 554.1071.

8.2.4.3 Synthese der NDP-Pyranosen mit modifizierten Pyranosen

Synthese von UDP- β -L-Galactose 142

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt, allerdings wurden 1.7 Äq. anstatt 2.0 Äq. des Pyranosylphosphats eingesetzt. Es wurden 120 mg (0.223 mmol) 2,3,4,6-Tetra-OAc- β -L-Galactopyranosyl-Phosphat **77**, 70 mg (0.13 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 22 Stunden.

Ausbeute: 77 mg (0.082 mmol, 63%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: $C_{15}H_{22}N_2O_{17}P_2^{2-}$;

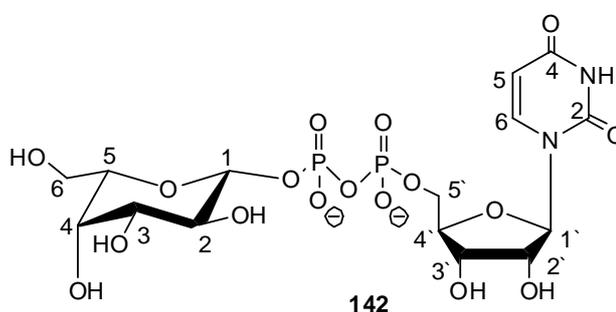
Molgewicht: 564.29 g/mol; **DC:** R_f -

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-

Lsg. (1M), 2:1): 0.35;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 3.8^\circ (c = 0.1, H_2O)$.



1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 8.00 (d, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.04-6.02 (m, 2H, H5_{Base}, H1'), 5.00 (dd, $^3J_{HP} = 7.7$ Hz, $^3J_{HH} = 7.7$ Hz, 1H, H1), 4.43-4.42 (m, 2H, H2', H3'), 4.33-4.26 (m, 3H, H4', H5'), 3.97-3.96 (m, 1H, H5), 3.89-3.63 (m, 5H, H2, H3, H4, H6). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 166.2 (C4_{Base}), 151.9 (C2_{Base}), 141.7 (C6_{Base}), 102.8 (C5_{Base}), 98.6 (d, $^2J_{CP} = 6.1$ Hz, C1), 88.4 (C1'), 83.4 (d, $^3J_{CP} = 9.1$ Hz, C4'), 75.9 (C2'), 73.8 (C3'), 72.4 (C4), 71.4 (d, $^3J_{CP} = 8.5$ Hz, C2), 69.8 (C3), 68.7 (C5), 65.1 (d, $^2J_{CP} = 5.5$ Hz, C5'), 61.3 (C6). **^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): - 11.16 (d, $^2J_{PP} = 19.6$ Hz, P $_{\beta}$), - 12.74 (d, $^2J_{PP} = 19.6$ Hz, P $_{\alpha}$). **IR** ν/cm^{-1} : 3213, 1680, 1462, 1231, 1035, 939, 815, 488, 414. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 565.0477 [M+2H]⁺, gef.: 565.0475.

Synthese von UDP-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucose 143

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 132 mg (0.342 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Glucopyranosyl-Phosphat **90**, 93 mg (0.17 mmol) 5-Nitro-cycloSal-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden.

Ausbeute: 97 mg (0.12 mmol, 72%)

eines farblosen Feststoffes;

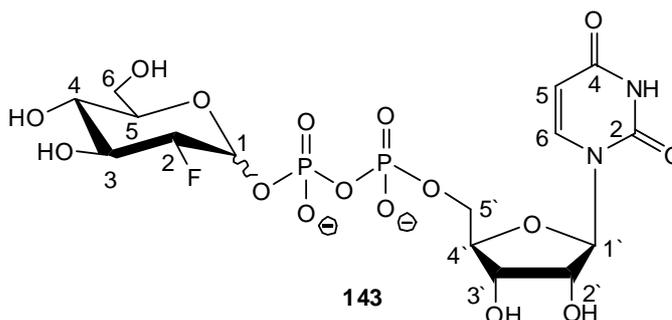
Summenformel: $C_{15}H_{21}FN_2O_{16}P_2^{2-}$;

Molgewicht: 566.28 g/mol; **DC:** R_f -

Wert (isoPropanol/ Ammoniumacetat-
Lsg. (1M), 2:1): 0.14;

Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta = 1:0.4$;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +7.5^\circ (c = 0.10, H_2O)$.



α - 1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 7.95 (d, $^3J_{HH} = 8.0$ Hz, 1H, $H_{6_{Base}}$), 6.03-6.01(m, 1H, $H_{5_{Base}}$), 5.97 (dd, $^3J_{HH} = 8.0$ Hz, $^4J_{HH} = 1.6$ Hz, 1H, $H_{1'}$), 5.79 (dd, $^3J_{HF} = 7.5$ Hz, $^3J_{HH} = 3.6$ Hz, 1H, H_1), 4.38 (d, $^3J_{HH} = 3.9$ Hz, 1H, $H_{3'}$), 4.32 (s, 2H, $H_{2'}$, $H_{4'}$), 4.24 (s, 1H, H_2), 3.99 (d, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz, 1H, H_3), 3.70-3.68 (m, 3H, H_5 , $H_{5'}$), 3.50-3.46 (m, 1H, H_6), 3.39-3.38 (m, 2H, H_4 , H_6). **α - ^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 170.6 ($C_{4_{Base}}$), 162.4 ($C_{2_{Base}}$), 141.4 ($C_{5_{Base}}$), 102.8 ($C_{6_{Base}}$), 92.6 (dd, $^2J_{CF} = 20.9$ Hz, $^2J_{CP} = 5.0$ Hz, C_1), 88.4 ($C_{1'}$), 83.2 (d, $^3J_{CP} = 9.3$ Hz, $C_{4'}$), 72.7 ($C_{2'}$), 64.9 (d, $^2J_{CP} = 5.8$ Hz, $C_{5'}$), 69.8 (d, $^3J_{CP} = 6.0$ Hz, C_2), 76.6 ($C_{3'}$), 73.8 (C_4), 70.9 (C_3), 68.7 (C_5), 60.1 (C_6). **α - ^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): - 11.59 (d, $^2J_{PP} = 19.8$ Hz, P_β), - 13.42 (d, $^2J_{PP} = 19.8$ Hz, P_α). **α - ^{19}F -NMR** δ /ppm (200 MHz, D_2O): - 200.0 (dd, $^2J_{FH} = 49.2$ Hz, $^3J_{FH} = 12.8$ Hz). **IR** ν/cm^{-1} : 3250, 1676, 1244, 1050, 972, 925, 814. **HRMS (ESI $^+$)** ber.: 567.0434 $[M+H]^+$, gef.: 567.0438.

Synthese von UDP-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactose 144

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 140 mg (0.253 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor-D-Galactopyranosyl-Phosphat **91**, 95 mg (0.18 mmol) 5-Nitro-cycloSal-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden.

Ausbeute: 91 mg (0.16 mmol, 91%)

eines farblosen Feststoffes;

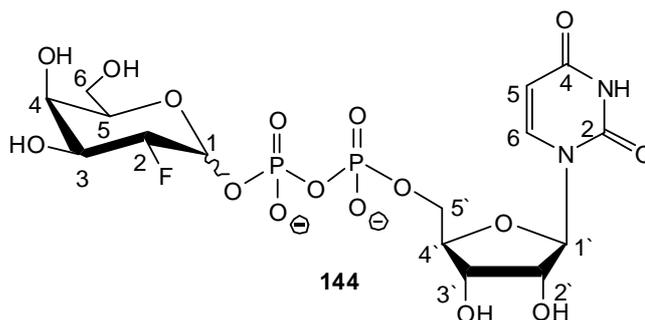
Summenformel: $C_{15}H_{21}FN_2O_{16}P_2^{2-}$;

Molgewicht: 566.28 g/mol; **DC:** R_f -

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.13;

Anomerenverhältnis: $\alpha/\beta = 1:0.4$;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -1.7^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



α -¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.96 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H₆_{Base}), 6.02-5.97 (m, 2H, H₅_{Base}, H1'), 5.84 (dd, ³J_{HF} = 7.5 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1H, H1), 4.67-4.63 (m, 1H, H3'), 4.40-4.38 (m, 2H, H2', H4'), 4.30-4.27 (m, 1H, H2), 4.25-4.19 (m, 3H, H5, H5'), 4.11-4.10 (m, 1H, H3), 4.02-3.97 (m, 1H, H6), 3.84-3.74 (m, 2H, H4, H6).

α -¹³C-NMR δ /ppm (101 MHz, D₂O): 166.0 (C₄_{Base}), 161.4 (C₂_{Base}), 141.5 (C₆_{Base}), 102.7 (C₅_{Base}), 92.8 (dd, ²J_{CF} = 22.3 Hz, ²J_{CP} = 5.4 Hz, C1), 88.4 (C1'), 87.2 (C3'), 83.2 (d, ³J_{CP} = 9.3 Hz, C4'), 76.0 (C4), 73.1 (C2'), 71.0 (d, ³J_{CP} = 18.0 Hz, C2), 69.7 (C3), 69.2 (C5), 64.9 (d, ²J_{CP} = 5.4 Hz, C5'), 60.8 (C6).

α -³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, D₂O): -11.57 (d, ²J_{PP} = 19.7 Hz, P_β), -13.30 (d, ²J_{PP} = 19.7 Hz, P_α).

α -¹⁹F-NMR δ /ppm (200 MHz, D₂O): -208.0 (ddd, ²J_{FH} = 57.0 Hz, ³J_{FH} = 16.0 Hz, ³J_{FH} = 5.0 Hz). **IR** ν /cm⁻¹: 3300, 1672, 1232, 1052, 982, 927, 859.

HRMS (ESI⁺) ber.: 567.0434 [M+H]⁺, gef.: 567.0440.

Synthese von UDP-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannose 145

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 74 mg (0.19 mmol) 3,4,6-Tri-OAc-2-Desoxy-2-Fluor- α -D-Mannopyranosyl-Phosphat **92**, 52 mg (0.091 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 4 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden.

Ausbeute: 38 mg (0.053 mmol,

52%) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₅H₂₁FN₂O₁₆P₂²⁻;

Molgewicht: 566.28 g/mol; **DC:** R_f-

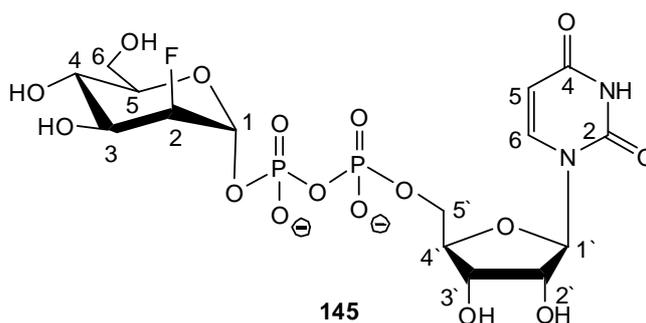
Wert (isoPropanol/

Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1):

0.12; **Anomerenverhältnis:**

α - anomerenrein ; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = + 2.0$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.00 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H6_{Base}), 6.02-6.0 (m, 2H, H5_{Base}, H1'), 5.65 (d, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1H, H1), 4.95 (s, 1H, H3'), 4.41-4.40 (s, 2H, H2', H4'), 4.32-4.23 (m, 3H, H5, H5'), 4.03 (dd, ²J_{HF} = 30.8 Hz, ⁴J_{HP} = 9.8 Hz, 1H, H2), 3.93-3.91 (m, 2H, H3, H6), 3.86-3.76 (m, 2H, H4, H6). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 166.2 (C4_{Base}), 151.8 (C2_{Base}), 141.6 (C6_{Base}), 102.7 (C5_{Base}), 93.5 (dd, ²J_{CF} = 30.8 Hz, ²J_{CP} = 9.8 Hz, C1), 90.3 (d, ³J_{CP} = 10.3 Hz, C2), 88.9 (C3'), 88.4 (C1'), 83.2 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz, C4'), 73.8 (C4), 73.6 (C2'), 69.6 (C3), 69.2 (C5), 64.9 (d, ²J_{CP} = 5.5 Hz, C5'), 60.3 (C6). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 11.49 (d, ²J_{PP} = 19.8 Hz, P _{β}), - 14.03 (d, ²J_{PP} = 19.8 Hz, P _{α}). **¹⁹F-NMR** δ /ppm (200 MHz, D₂O): - 204.7 (ddd, ²J_{FH} = 49.4 Hz, ³J_{FH} = 24.7 Hz, ⁴J_{FH} = 5.9 Hz). **IR** ν /cm⁻¹: 2982, 1682, 1065, 939, 801. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 566.0361 [M], gef.: 566.1430.

Synthese von UDP-6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glucose 141

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 215 mg (0.431 mmol), 6-Desoxy-6-Sulfo- α -D-Glucopyranosyl-Phosphat **100**, 92 mg (0.17 mmol) 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-OAc-Uridinmonophosphat **50** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden.

Ausbeute: 77 mg (0.08 mmol,

48%) eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: C₁₅H₂₁N₂O₁₉P₂S³⁻;

Molgewicht: 627.34 g/mol; **DC:**

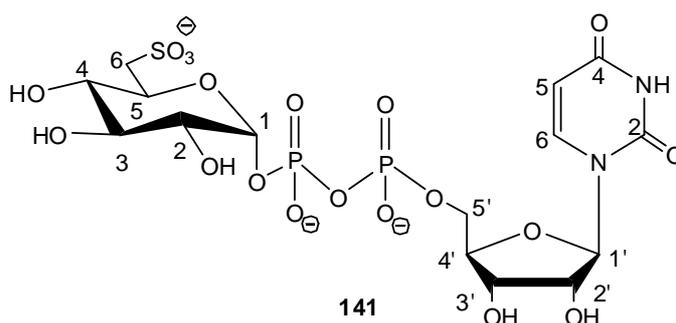
R_f-Wert (isoPropanol/

Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1):

0.14; **Anomerenverhältnis:**

α - anomerenrein ; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = + 12^\circ$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.99 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 1H, H6_{Base}), 6.03-6.02 (m, 2H, H5_{Base}, H1'), 5.64 (dd, ³J_{HP} = 8.1 Hz, ³J_{HH} = 3.1 Hz, 1H, H1), 4.44-4.42 (m, 2H, H2', H3'), 4.33-4.31 (m, 1H, H5'), 4.27-4.25 (m, 2H, H4', H5'), 3.81 (dd, ³J_{HH} = 9.5 Hz, ³J_{HH} = 9.5 Hz, 1H, H5), 3.61-3.55 (m, 2H, H2, H4), 3.43 (dd, ³J_{HH} = 15.0 Hz, ⁴J_{HH} = 3.1 Hz, 1H, H3), 3.30-3.18 (m, 2H, H6). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 166.3 (C4_{Base}), 151.9 (C2_{Base}), 102.8 (C5_{Base}), 95.7 (d, ²J_{CP} = 6.4 Hz, C1), 88.4 (C1'), 83.4 (d, ³J_{CP} = 9.1 Hz, C2), 73.8 (C6_{Base}), 72.7 (C2'), 71.8 (C4), 71.7 (d, ³J_{CP} = 7.6 Hz, C4'), 69.8 (C5), 69.4 (C3'), 65.1 (d, ²J_{CP} = 5.7 Hz, C5'), 51.9 (C3), 50.5 (C6). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 10.99 (d, ²J_{PP} = 20.7 Hz, P_β), - 12.87 (d, ²J_{PP} = 20.7 Hz, P_α). **IR** ν /cm⁻¹: 2933, 1677, 1453, 1034, 490. **HRMS (ESI⁺)** ber.: 629.0096 [M+2H]⁺, gef.: 629.0098.

Synthese von UDP-6-Sulfat- α -D-Glucose 146

30 mg (0.050 mmol) UDP- α -D-Glucose **1** wurden in 3 mL abs. Pyridin gelöst und mit 13 mg (0.081 mmol) eines Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplexes versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 22 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich das Sulfat in der 6-Position bildete.

Ausbeute: 34 mg (0.05 mmol, 100%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: $C_{15}H_{21}N_2O_{20}P_2S^{3-}$;

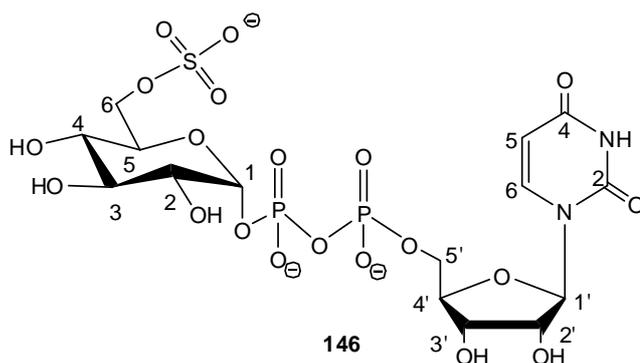
Molgewicht: 642.34 g/mol; **DC:** R_f -

Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-

Lsg: (1M), 2:1): 0.09;

Anomerenverhältnis: α -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -1.9^\circ$ (c = 0.10, H_2O).



1H -NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 8.01 (d, $^3J_{HH} = 8.2$ Hz, 1H, $H_{6_{Base}}$), 6.01-5.99 (m, 2H, $H_{5_{Base}}$, $H_{1'}$), 5.72-5.70 (m, 1H, H_{1}), 4.42-4.40 (m, 2H, $H_{2'}$, $H_{3'}$), 4.35-4.33 (m, 1H, $H_{5'}$), 4.30-4.28 (m, 2H, $H_{4'}$, $H_{5'}$), 3.79-3.76 (m, 3H, H_2 , H_4 , H_5), 3.31-3.19 (m, 3H, H_3 , H_6). **^{13}C -NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 161.5 ($C_{4_{Base}}$), 153.7 ($C_{2_{Base}}$), 102.3 ($C_{5_{Base}}$), 96.8 (d, $^2J_{CP} = 6.7$ Hz, C_1), 89.6 ($C_{1'}$), 84.7 (d, $^3J_{CP} = 9.6$ Hz, C_2), 75.8 ($C_{6_{Base}}$), 72.9 ($C_{2'}$), 72.8 (C_4), 71.6 (d, $^3J_{CP} = 7.3$ Hz, $C_{4'}$), 70.9 (C_5), 69.1 ($C_{3'}$), 67.3 (d, $^2J_{CP} = 6.1$ Hz, $C_{5'}$), 53.1 (C_3), 60.4 (C_6). **^{31}P -NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): -11.24 (d, $^2J_{PP} = 19.9$ Hz, P_β), -12.93 (d, $^2J_{PP} = 19.9$ Hz, P_α). **IR** ν/cm^{-1} : 2933, 1677, 1442, 1391, 1034, 613, 450. **HRMS (ESI $^+$)** ber.: 645.0046 [$M+2H$] $^+$, gef.: 645.0051.

8.2.4.4 Synthese von CDP-Colamin als Vorläufer für die Synthese von CDP-Cholin

Synthese von CDP-Colamin 151

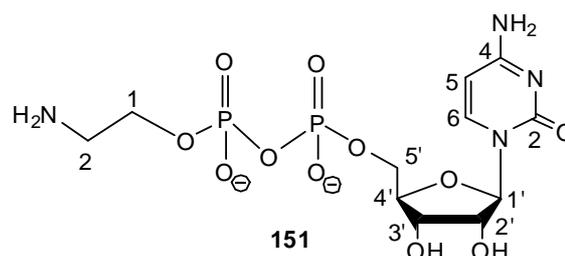
Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 15 durchgeführt. Es wurden 106 mg (0.274 mmol) *N*Ac-Colamin-Phosphat, 80 mg (0.14 mmol) 5-Nitro-*cycloSal-N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51** und 5 mL DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 23 Stunden.

Das ³¹P-NMR-Spektrum des Rohprodukts zeigte ein Gemisch aus dem im Überschuss eingesetzten Phosphat und dem gewünschten Produkt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an RP-18 Kieselgel konnte leider kein Produkt isoliert, sondern lediglich das eingesetzte Phosphat zurück erhalten werden. Aus diesem Grund wird im Folgenden sowohl auf eine ausführliche Charakterisierung als auch auf die Angabe einer Ausbeute verzichtet.

Gestalt: farbloser Feststoff;

Summenformel: C₁₁H₁₈N₄O₁₁P₂²⁻;

Molgewicht: 444.23 g/mol.



³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, D₂O): - 11.01 (d, ²J_{PP} = 20.5 Hz, P_β), - 11.35 (d, ²J_{PP} = 20.5 Hz, P_α).

8.2.5 Synthese der Cytidin Monophosphat Neuraminsäuren

Anmerkung: Bei der Darstellung der CMP-Neuraminsäure-Derivate sollten Natriumionen die Gegenionen darstellen. Da diese im $^1\text{H-NMR}$ nicht sichtbar sind, wird von der maximalen Anzahl dieser ausgegangen und die Ausbeuten somit auf zwei vorhandene Natrium-Gegenionen berechnet.

8.2.5.1 Synthese der unmodifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate

Synthese von CMP-Neu5Ac 10

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 16 durchgeführt. Es wurden 255 mg (0.521 mmol) Methyl-5-Acetamido-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylonat **28** und 13 mg (0.54 mmol) Natriumhydrid, gelöst in 10 mL Dichlormethan und 2 mL *N,N*-Dimethylformamid, und 150 mg (0.260 mmol) 5-Nitro-cycloSal-*N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, gelöst in 5 mL Dichlormethan, verwendet. Die Reaktionszeit betrug 4 Stunden. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 15 mL Methanol, 1.5 mL 0.5 M Natriummethanolat-Lösung und 15 μL Wasser verwendet.

Ausbeute: 145 mg (0.223 mmol, 85%)

eines farblosen Feststoffes;

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_{16}\text{P}^{2-}$;

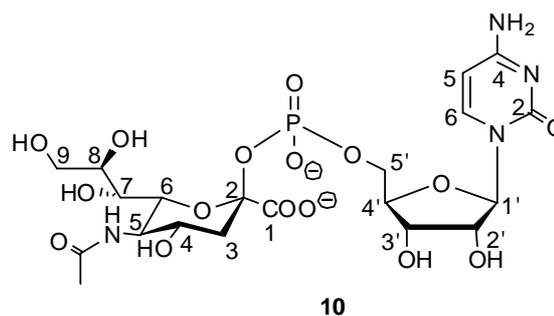
Molgewicht: 612.44 g/mol; **DC:** R_f -Wert

(*iso*Propanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

2:1): 0.74; **Anomerenverhältnis:**

β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -16^\circ$

($c = 0.10$, H_2O).



$^1\text{H-NMR}$ δ /ppm (400 MHz, D_2O): 8.00 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{6\text{Base}}$), 6.16 (d, 1H, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $\text{H}_{5\text{Base}}$), 6.03 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 4.39-4.37 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 4.35-4.33 (m, 1H, $\text{H}_{2'}$), 4.28-4.27 (m, 3H, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{5'}$), 4.18 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.4$ Hz, 1H, H_6), 4.00-3.98 (m, 1H, H_4), 3.92-3.90 (m, 1H, H_5), 3.81-8.80 (m, 1H, H_8), 3.71-3.65 (m, 1H, H_9), 3.56-3.55 (m, 1H, H_9), 3.49 (d, $^3J_{\text{HH}} = 9.4$ Hz, 1H, H_7), 2.53 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 13.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{3\text{eq}}$), 2.09 (s, 3H, NHCH_3), 1.70-1.67 (m, 1H, $\text{H}_{3\text{ax}}$). **$^{13}\text{C-NMR}$**

δ /ppm (101 MHz, D₂O): 181.5 (C₂_{Base}), 166.2 (C₄_{Base}), 141.7 (C₆_{Base}), 107.6 (C₅_{Base}), 89.1 (C1'), 83.0 (d, ²J_{CP} = 8.1 Hz, C5'), 75.4 (C3'), 74.3 (C6), 72.9 (C8), 71.7 (d, ²J_{CP} = 9.3 Hz, C2), 69.6 (C2'), 69.4 (C7), 68.3 (C4), 66.9 (d, ³J_{CP} = 3.1 Hz, C3), 64.9 (d, ³J_{CP} = 5.4 Hz, C4'), 63.0 (C9), 52.6 (C5), 22.2 (CH₃NHAcetyl). ³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 4.58. IR ν /cm⁻¹: 2987, 2922, 2170, 2041, 1627, 1411, 1231, 1065, 534, 453, 386. HRMS (ESI⁺) ber.: 615.1545 [M+H]⁺, gef.: 615.1542.

Im Folgenden sind die wichtigsten analytischen Daten für die geschützten Derivate angegeben, um eventuelle Reproduzierungsprozesse zu erleichtern.

Vollständig-geschützte CMP-Neu5Ac 152:

Summenformel: C₃₅H₄₆N₄O₂₃P⁻;

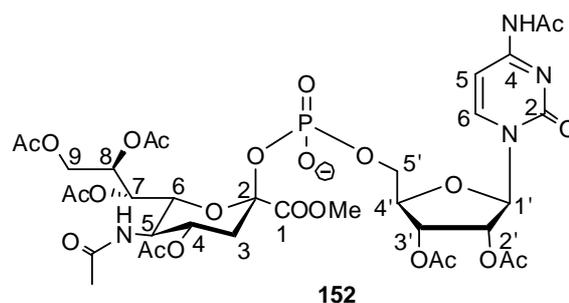
Molgewicht: 921.73 g/mol; **DC:** R_f-Wert

(isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

2:1): 0.77; **Anomerenverhältnis:**

β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = - 32^\circ$

(c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.46 (d, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, H₆_{Base}), 7.48 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H₅_{Base}), 6.28 (d, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1H, H1'), 5.55 (ddd, ²J_{HH} = 10.2 Hz, ³J_{HH} = 5.4 Hz, ³J_{HH} = 5.3 Hz, 2H, H₉), 5.49 (dd, ³J_{HH} = 5.3 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, 1H, H₈), 5.30-5.27 (m, 1H, H₇), 4.63-4.62 (m, 1H, H₃'), 4.53 (ddd, ²J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 11.5 Hz, ⁴J_{HH} = 2.2 Hz, 2H, H₄', H₅'), 4.42 (dd, ³J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, H₅'), 4.37-4.33 (m, 1H, H₂'), 4.27-4.23 (m, 1H, H₆), 3.99 (dd, ³J_{HH} = 10.5 Hz, ³J_{HH} = 10.5 Hz, 1H, H₄), 3.90 (d, ³J_{HH} = 2.2 Hz, H₅), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.70 (dd, ³J_{HH} = 13.4 Hz, ³J_{HH} = 4.9 Hz, 1H, H₃_{eq}), 2.29, 2.21, 2.20, 2.19, 2.13, 2.12, 2.05, 1.95 (8x s, 8x 3H, 8x CH₃Acetyl), 1.69-1.63 (m, 1H, H₃_{ax}). ³¹P-NMR δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 5.65. HRMS (ESI⁻) ber.: 921.2296 [M-H]⁻, gef.: 921.2294.

Methylester der CMP-Neu5Ac 153:

Summenformel: $C_{21}H_{32}N_4O_{16}P^-$;

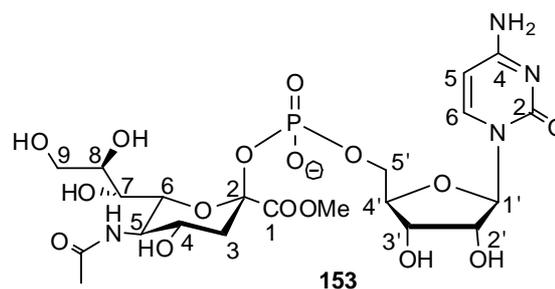
Molgewicht: 627.47 g/mol; **DC:** R_f -Wert

(isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M),

2:1): 0.69; **Anomerenverhältnis:**

β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$

(c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.85 (d, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.05 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, H5_{Base}), 5.94 (d, $^3J_{HH} = 3.7$ Hz, 1H, H1'), 4.26-4.22 (m, 3H, H2', H3', H5'), 4.17-4.15 (m, 2H, H4', H5'), 4.12 (d, $^3J_{HH} = 10.5$ Hz, H6), 4.07-4.00 (m, 1H, H4), 4.94-4.89 (m, 1H, H5), 3.87-3.83 (m, 2-3H, H8, H9), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.58 (dd, $^2J_{HH} = 12.1$ Hz, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, 1H, H9), 3.45 (d, $^3J_{HH} = 9.7$ Hz, 1H, H7), 2.47 (dd, $^2J_{HH} = 13.3$ Hz, $^3J_{HH} = 4.8$ Hz, 1H, H3_{eq}), 2.00 (s, 3H, NHCH₃), 1.77-1.69 (m, 3H, H3_{ax}). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): - 4.18. **HRMS (ESI)** ber.: 627.1556 [M-H]⁻, gef.: 627.1550.

8.2.5.2 Synthese der modifizierten CMP-Neuraminsäure-Derivate

Synthese von CMP-Neu5Prop 155

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 16 durchgeführt. Es wurden 113 mg (0.222 mmol) Methyl-5-*N*-Propanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat **121** und 5.4 mg (0.22 mmol) Natriumhydrid, gelöst in 5 mL Dichlormethan und 1 mL *N,N*-Dimethylformamid, und 65 mg (0.11 mmol) 5-Nitro-*cycloSal-N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, gelöst in 3 mL Dichlormethan, verwendet. Die Reaktionszeit betrug 3 Stunden. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 6.5 mL Methanol, 0.7 mL 0.5 M Natriummethanolat-Lösung und 6.5 μ L Wasser verwendet.

Ausbeute: 44 mg (0.061 mmol, 59%) eines

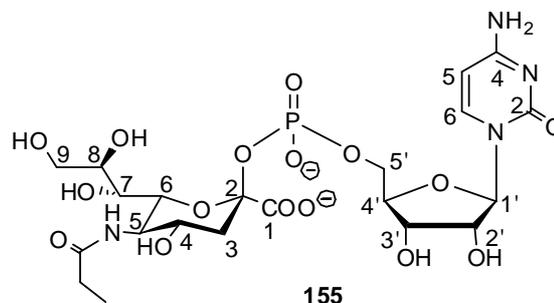
farblosen Feststoffes; **Summenformel:**

$C_{21}H_{31}N_4O_{16}P^{2-}$; **Molgewicht:** 626.46 g/mol;

DC: R_f -Wert (isoPropanol/
Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.83;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -24^\circ (c = 0.10, H_2O)$.



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 7.91 (d, ³J_{HH} = 7.5 Hz, 1H, H₆_{Base}), 6.07 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.5 Hz, H₅_{Base}), 5.94 (d, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1H, H_{1'}), 4.33-4.31 (m, 1H, H_{3'}), 4.30-4.29 (m, 1H, H_{2'}), 4.19-4.18 (m, 3H, H_{4'}, H_{5'}), 4.12-4.09 (m, 1H, H₆), 3.85-3.84 (m, 1H, H₄), 3.82-8.80 (m, 2H, H₅, H₈), 3.78-3.77 (m, 1H, H₉), 3.72-3.71 (m, 1H, H₉), 3.41 (dd, ³J_{HH} = 9.1 Hz, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1H, H₇), 2.44 (dd, ²J_{HH} = 13.3 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H₃_{eq}), 2.04-2.00 (m, 2H, CH₂Propanoyl), 1.61-1.57 (m, 1H, H₃_{ax}), 1.09 (ddd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 3.8 Hz, 3H, CH₃Propanoyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 178.7 (C₂_{Base}), 166.2 (C₄_{Base}), 141.6 (C₆_{Base}), 96.6 (C₅_{Base}), 89.1 (d, ²J_{CP} = 4.7 Hz, C₂), 83.5 (d, ²J_{CP} = 8.7 Hz, C_{5'}), 80.2 (C_{3'}), 74.4 (C₆), 74.3 (C₈), 71.8 (C_{1'}), 69.6 (C_{2'}), 69.3 (C₇), 68.8 (C₄), 66.7 (C₉), 64.9 (d, ³J_{CP} = 5.6 Hz, C_{4'}), 62.9 (d, ³J_{CP} = 2.8 Hz, C₃), 52.6 (C₅), 29.3 (C₂Propanoyl), 12.7 (C₃Propanoyl). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -4.54. **IR** ν /cm⁻¹: 2978, 2919, 2177, 2050, 1623, 1408, 1233, 1066, 466, 430, 496. **HRMS (ESI)** ber.: 627.1556 [M-H]⁻, gef.: 627.1547.

Synthese von CMP-Neu5But 156

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 16 durchgeführt. Es wurden 125 mg (0.24 mmol) Methyl-5-*N*-Butanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat **122** und 6.0 mg (0.24 mmol) Natriumhydrid, gelöst in 5 mL Dichlormethan und 1 mL *N,N*-Dimethylformamid, und 70 mg (0.12 mmol) 5-Nitro-cycloSal-*N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, gelöst in 3 mL Dichlormethan, verwendet. Die Reaktionszeit betrug 3 Stunden. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 7 mL Methanol, 0.75 mL 0.5 M Natriummethanolat-Lösung und 7 μ L Wasser verwendet.

Ausbeute: 44 mg (0.063 mmol, 71%) eines

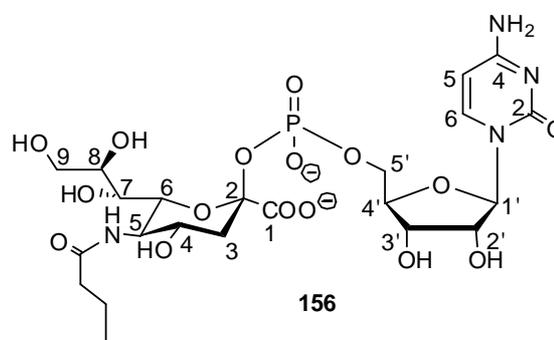
farblosen Feststoffes; **Summenformel:**

$C_{22}H_{33}N_4O_{16}P^{2-}$; **Molgewicht:** 640.49 g/mol;

DC: R_f -Wert (isoPropanol/
Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.81;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -21^\circ$ ($c = 0.10$, H_2O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D_2O): 7.91 (d, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, 1H, H6_{Base}), 6.07 (d, 1H, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, H5_{Base}), 5.94 (d, $^3J_{HH} = 4.5$ Hz, 1H, H1'), 4.33-4.28 (m, sH, H2', H3'), 4.19-4.18 (m, 3H, H4', H5'), 4.12-4.09 (m, 1H, H6), 3.93-3.91 (m, 1H, H4), 3.88 (dd, $^3J_{HH} = 6.8$ Hz, $^3J_{HH} = 2.4$ Hz, 1H, H5), 3.84-8.83 (m, 1H, H8), 3.73-3.71 (m, 1H, H9), 3.58-3.57 (m, 1H, H9), 3.49-3.48 (m, 1H, H7), 2.44 (dd, $^2J_{HH} = 13.3$ Hz, $^3J_{HH} = 4.7$ Hz, 1H, H3_{eq}), 2.25-2.21 (m, 2H, CH₂Butanoyl), 1.58-1.57 (m, 2H, CH₂Butanoyl), 1.11-1.08 (m, 1H H3_{ax}), 0.89-0.87 (m, 3H, CH₃Butanoyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D_2O): 181.5 (C2_{Base}), 166.2 (C4_{Base}), 141.6 (C6_{Base}), 100.6 (C5_{Base}), 100.1 (d, $^2J_{CP} = 8.4$ Hz, C2), 96.6 (C1'), 82.9 (d, $^2J_{CP} = 7.8$ Hz, C5'), 80.2 (C3'), 74.2 (C6), 73.0 (C8), 71.8 (C2'), 69.7 (C7), 69.3 (C4), 68.6 (d, $^3J_{CP} = 3.6$ Hz, C3), 64.9 (d, $^3J_{CP} = 5.6$ Hz, C4'), 62.9 (C9), 60.5 (C5), 37.9 (C2Butanoyl), 19.1 (C3Butanoyl), 12.9 (CH₃Butanoyl). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D_2O): - 4.51. **IR** ν/cm^{-1} : 3203, 2177, 2145, 2032, 1635, 1561, 1409, 1070, 512, 465, 430. **HRMS (ESI)** ber.: 641.1713 [M-H]⁻, gef.: 641.1687.

Synthese von CMP-Neu5Pent 157

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 16 durchgeführt. Es wurden 128 mg (0.240 mmol) Methyl-5-*N*-Pentanoyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Dideoxy-β-D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat **123** und 6.0 mg (0.24 mmol) Natriumhydrid, gelöst in 5 mL Dichlormethan und 1 mL *N,N*-Dimethylformamid, und 70 mg (0.12 mmol) 5-Nitro-*cycloSal-N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, gelöst in 3 mL Dichlormethan, verwendet. Die Reaktionszeit betrug 3 Stunden. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 7 mL Methanol, 0.75 mL 0.5 M Natriummethanolat-Lösung und 7 μL Wasser verwendet.

Ausbeute: 55 mg (0.083 mmol, 65%) eines

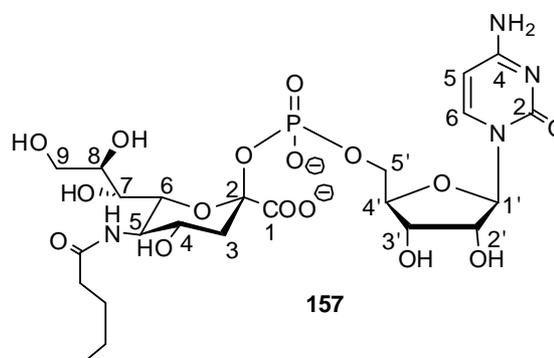
farblosen Feststoffes; **Summenformel:**

C₂₃H₃₅N₄O₁₆P²⁻; **Molgewicht:** 654.52 g/mol;

DC: R_f-Wert (isoPropanol/
Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.96;

Anomerenverhältnis: β-anomerenrein;

Drehwert: [α]_D²⁰ = - 33 °(c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ/ppm (400 MHz, D₂O): 7.76 (d, ³J_{HH} = 6.9 Hz, 1H, H₆_{Base}), 6.07 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.6 Hz, H₅_{Base}), 5.94 (d, ³J_{HH} = 4.4 Hz, 1H, H1'), 4.32 (d, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1H, H3'), 4.29 (d, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1H, H2'), 4.19-4.18 (m, 3H, H4', H5'), 4.10 (d, ³J_{HH} = 10.4 Hz, 1H, H6), 3.93-3.90 (m, 1H, H4), 3.85-3.81 (m, 2H, H5, H8), 3.77-3.76 (m, 1H, H9), 3.73-3.72 (m, 1H, H9), 3.47 (dd, ³J_{HH} = 9.7 Hz, ³J_{HH} = 9.7 Hz, 1H, H7), 2.79 (dd, ²J_{HH} = 13.2 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1H, H₃_{eq}), 2.44 (dd, ²J_{HH} = 13.2 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1H, H₃_{ax}), 2.28-2.24 (m, 2H, CH₂Pentanoyl), 1.58-1.52 (m, 2H, CH₂Pentanoyl), 1.31-1.25 (m, 2H, CH₂Pentanoyl), 0.87-0.83 (m, 3H, CH₃Pentanoyl).

¹³C-NMR δ/ppm (101 MHz, D₂O): 178.0 (C₂_{Base}), 166.2 (C₄_{Base}), 141.6 (C₆_{Base}), 96.6 (C₅_{Base}), 89.0 (C1'), 82.9 (d, ²J_{CP} = 8.1 Hz, C5'), 74.4 (C3'), 74.3 (C6), 73.0 (C8), 70.3 (d, ²J_{CP} = 10.5 Hz, C2), 69.3 (C2'), 68.9 (C7), 68.6 (C4), 66.7 (d, ³J_{CP} = 8.7 Hz, C3), 64.9 (d, ³J_{CP} = 5.4 Hz, C4'), 60.5 (C9), 52.6 (C5), 35.7 (C2Pentanoyl), 27.7 (C3Pentanoyl), 21.6 (C4Pentanoyl), 13.0 (CH₃Pentanoyl).

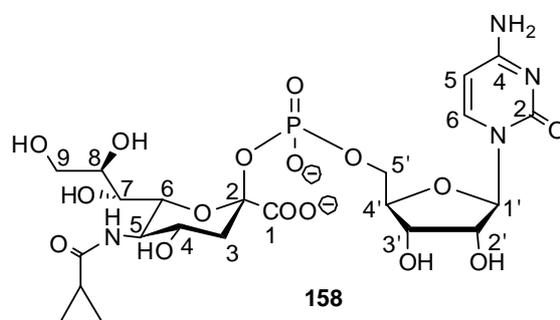
³¹P-NMR δ/ppm (162 MHz, D₂O): - 4.55. **IR** ν/cm⁻¹: 3266, 2930, 1622, 1376, 1215, 1035, 613, 565, 449.

HRMS (ESI⁺) ber.: 627.2015 [M+H]⁺, gef.: 657.1997.

Synthese von CMP-Neu5Cyclopropylcarbonyl 158

Die Reaktion wurde gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 16 durchgeführt. Es wurden 107 mg (0.211 mmol) Methyl-5-*N*-Cyclopropylcarbonyl-4,7,8,9-Tetra-OAc-3,5-Didesoxy- β -D-Glycero-D-Galacto-2-Nonulopyranosylat **124** und 5.0 mg (0.21 mmol) Natriumhydrid, gelöst in 5 mL Dichlormethan und 1 mL *N,N*-Dimethylformamid, und 60 mg (0.10 mmol) 5-Nitro-cycloSal-*N*⁴Ac-2',3'-OAc-Cytidinmonophosphat **51**, gelöst in 2 mL Dichlormethan, verwendet. Die Reaktionszeit betrug 5 Stunden. Zur Abspaltung der Schutzgruppen wurden 6 mL Methanol, 0.65 mL 0.5 M Natriummethanolat-Lösung und 6 μ L Wasser verwendet.

Ausbeute: 38 mg (0.052 mmol, 54%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C₂₂H₃₁N₄O₁₆P²⁻; **Molgewicht:** 638.47 g/mol; **DC:** R_f-Wert (isoPropanol/Ammoniumacetat-Lsg. (1M), 2:1): 0.71; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +12^{\circ}$ (c = 0.10, H₂O).



¹H-NMR δ /ppm (400 MHz, D₂O): 8.23 (d, ³J_{HH} = 7.8 Hz, 1H, H₆_{Base}), 6.26 (d, 1H, ³J_{HH} = 7.8 Hz, H₅_{Base}), 6.18 (d, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H_{1'}), 4.29-4.27 (m, 1H, H_{3'}), 4.25-4.23 (m, 1H, H_{2'}), 4.16-4.14 (m, 3H, H_{4'}, H_{5'}), 4.11-4.08 (m, 1H, H₆), 3.93-3.91 (m, 1H, H₄), 3.86-8.84 (m, 2H, H₅, H₈), 3.82-3.80 (m, 1H, H₉), 3.76-3.75 (m, 1H, H₉), 3.46 (m, 1H, H₇), 2.61 (dd, ²J_{HH} = 13.3 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H₃_{eq}), 1.64-1.63 (m, 1H, CHCyclopropylcarbonyl), 1.82-1.79 (m, 1H, H₃_{ax}), 0.88-0.85 (m, 4H, CH₂Cyclopropylcarbonyl). **¹³C-NMR** δ /ppm (101 MHz, D₂O): 173.6 (C₂_{Base}), 166.8 (C₄_{Base}), 141.3 (C₆_{Base}), 100.4 (C₅_{Base}), 89.9 (d, ²J_{CP} = 4.6 Hz, C₂), 84.7 (d, ²J_{CP} = 7.9 Hz, C_{5'}), 81.4 (C_{3'}), 74.9 (C₆), 74.6 (C₈), 69.8 (C_{1'}), 69.7 (C_{2'}), 69.5 (C₇), 69.0 (C₄), 66.0 (C₉), 64.3 (d, ³J_{CP} = 6.1 Hz, C_{4'}), 63.7 (d, ³J_{CP} = 2.8 Hz, C₃), 52.5 (C₅), 18.3 (CHCyclopropylcarbonyl), 13.6, 12.7 (2x CH₂Cyclopropylcarbonyl). **³¹P-NMR** δ /ppm (162 MHz, D₂O): -4.59. **IR** ν /cm⁻¹: 3292, 1637, 1445, 1197, 1137, 1048, 1021, 752, 735, 689, 626, 562, 457. **HRMS (ESI)** ber.: 639.1556 [M-H]⁻, gef.: 639.1557.

9 Gefahrstoffverzeichnis

Das folgende Verzeichnis umfasst Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Promotion gearbeitet wurde. Die Gefahrstoffe sind mit den jeweiligen Gefahrensymbolen sowie den H-Sätzen und P-Sätzen gekennzeichnet. Die Substanzen, für die keine Gefahreinschätzung bekannt ist, sind als gefährlich einzustufen. Es ist zu vermeiden, sich oder eine andere Person mit diesen Substanzen zu kontaminieren und diese Stoffe in die Umwelt einzubringen.

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	Gefahr		225-319-336- EU066	210-233- 305+351+338
Acetonitril	Gefahr		225- 302+312+332- 319	210- 305+351+338- 403+235
Acetylchlorid	Gefahr		EU014-225- 314	210-233-240- 241-242-243- 260-264-280- 301+330+331- 303+361+353
AZT	Achtung		351	281
Benzoesulfonsäure	Gefahr		301-315-318	280-301+310- 305+351+338
Benzol-d ₆	Gefahr		225-304-315- 319-340-350- 372	201-202-210- 233-240-241- 242-243-260- 264-280-281- 301+310-
Benzylamin	Gefahr		302+312-314	280- 301+330+331- 302+352- 305+351+338

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
<i>bis</i> -Benzyl- <i>N,N</i> -diisopropylphosphoramidit	Achtung		315-319-335	261-305+351+338
Bromwasserstoff in Eisessig (33%)	Gefahr		314-335	260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-403+233-405
Buttersäureanhydrid	Gefahr		EU014-314	260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405
Colamin-Phosphat	Gefahr		301-314	260-264-280-301+310-301+330+331-303+360+353-304+340-305+351+338-331-405-501
Cyclopropancarbonsäurechlorid	Gefahr		226-314	210-233-240-241-242-243-260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338
Deuteriochloroform	Achtung		351-302-373-315	302+352-314
1,8-Diazabicyclo[4.5.0]-undec-7-en	Gefahr		301-314	280-305+351+338-310

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Dichlormethan	Achtung		351	281-308+313
4,5-Dicyanidoimidazol	Gefahr		302	260-262
Diethylether	Gefahr		224-302-336- EU019-EU066	210-240- 403+235
Diisopropylethylamin	Gefahr		225-302-314- 412	210-233-240- 241-242-243- 260-264-273- 280-301+312- 301+330+331- 303+361+353- 304+340
4-(Dimethyl- amino)pyridin	Gefahr		301-310-315- 319-335	261-262-264- 280-301+310- 302+350- 304+340- 305+351+338- 321-330- 332+313- 337+313-361
N,N- Dimethylformamid	Gefahr		360D-226-332- 312-319	201-302+352- 305+351+338- 308+313
1,4-Dioxan	Gefahr		225-351-319- 335-EU019- EU066	210-281- 305+351+338- 308+313

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
EDTA	Achtung		319	264-280- 305+351+338- 337-313
Essigsäure	Gefahr		226-314	280- 305+351+338- 310
Essigsäureanhydrid	Gefahr		226-332-302- 314-335	280- 301+330+331- 305+351+338- 309+310
Ethanol	Gefahr		225	210
Ethylacetat	Gefahr		225-319-336- EU066	210-240- 305+351+338
Hydraziniumacetat	Gefahr		301-311-331- 350-410	201-261-273- 280-301+310- 311
iso-Propanol	Gefahr		225-319-336	210-233-240- 241-242-243- 264-280- 303+361+353- 305+351+338- 337+313- 370+378- 403+235
Kaliumthioacetat	Achtung		315-319-335	261- 305/351/338

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
15-Krone-5	Achtung		302-315-319	264-280- 301+312- 302+352- 305+351+338- 321-330- 332+313- 337+313-362- 501
18-Krone-6	Achtung		302-315-319- 335	261-264-280- 301+312- 302+352- 304+340- 305+351+338- 321-330- 332+313- 337+313-362- 403+233
Mesylchlorid	Gefahr		301-311-314- 330-335	260-264-280- 284-301+310- 301+330+331- 302+352- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 320-403+233
<i>meta</i> - Chlorperbenzoesäure	Achtung		242-315-317- 319-335	220-261-280- 305+351-338- 410-411+235
Methanol	Gefahr		225- 301+311+331	210-233-240- 280-302+352- 304+340- 309+310- 403+235

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Methanol- d_4	Gefahr		225-301- 311331-370	210-240-241- 242-243-260- 264-280- 301+310- 302+352- 307+311
Methansulfonsäure	Gefahr		314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405- 501
Natriumborhydrid	Gefahr		360FD	201-202-281- 308+313-405- 501
N-Bromsuccinimid	Gefahr		302-314	260-264-280- 301+312- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405
5-Nitro-Salicylaldehyd	Achtung		315-319	264-280- 302+352- 305+351+338- 321-332+313- 337+313-362
N-Methylimidazol	Gefahr		302-312-314	260-264-280- 301+312- 301+330+331- 310-321-405

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Natrium	Gefahr		260-314- EU014	280- 301+330+331- 305+351+338- 309+310- 370+378-422
Natriumhydrid	Gefahr		260-314	280- 301+330+331- 305+351+338- 402+404
Natriumhydroxid	Gefahr		314-290	280- 301+330+331- 305+351+338
Natriumhydroxid	Gefahr		314-290	280- 301+330+331- 309+310- 305+351+338
Ninhydrin	Achtung		302-315-319- 335	261- 305+351+338
Oxone®	Gefahr		302-314	260-264-280- 301+312- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405
Palladium/Kohle	Achtung		315-319	305+351+338
Petrolether	Gefahr		225-304-340- 350-361-373- 412	201-210-273- 281-301+/310- 308+313

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Propionsäureanhydrid	Gefahr		314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405
Pyridin	Gefahr		225- 302+312+332	210-233- 302+352
Salzsäure	Gefahr		314-335-290	280- 301+330+331- 309+310- 305+351+338
Schwefelsäure	Gefahr		290-314	301+330+331- 305+351+338
Schwefeltrioxid- Pyridin-Komplex	Gefahr		302-314	260-264-280- 301+312- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405- 501
Selectfluor®	Gefahr		302-317-318- 412	261-264-273- 280-301+312- 302+352- 305+351+338- 310-321-330- 333+313-336- 501
Silbercarbonat	Achtung		315-319-335	261-264-280- 302+352- 304+340- 305+351+338- 403+233-405

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Tetrabutylammoniumhydrogensulfat	Achtung		302-315-319-335	261-264-280-301+312-302+352-304+340-305+351+338-312-330-332+313-337+313-362-402+233
TBAF-Lösung (1 M in THF)	Gefahr		EU019-314	260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405
TBDMS-Cl	Gefahr		314	260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405
Tetrahydrofuran	Gefahr		225-319-335-EU019	210-233-243-305+351+338
Thiophenol	Gefahr		226-301-311-318-330	210-240-241-242-243-260-264-280-284-301+310-302+352-303+361+353-304+340

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Toluol	Gefahr		225-304-315- 336-361d-373	201-202-210- 233-240-241- 242-243-260- 264-280-281- 301+310- 302+352- 303+361+353
Trifluoressigsäure	Gefahr		314-332-412	260-264-273- 280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405- 501
Triethylamin	Gefahr		225-332-312- 302-314-335	210-280- 301+330+331- 302+352- 305+351+338- 309+310
Triethylamin- Trihydrofluorid	Gefahr		300-310-314- 330	260-262-264- 280-284- 301+310- 301+330+331- 302+350- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 320
Valeriansäureanhydrid	Gefahr		314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405

- Gefahrstoffverzeichnis -

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Wasserstoff	Gefahr		220	210-377-381-403
Zink	Achtung		410	273-391-501

10 Literaturverzeichnis

- [1] S. Neufeldt, *Chronologische Chemie: Entdecker und Entdeckungen*, 3. Aufl. Wiley-VCH, Weinheim **2003**.
- [2] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, 5 Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg/Berlin **2003**.
- [3] A. Varki, Biological Roles of Oligosaccharides: All Theories are Correct, *Glycobiology* **1993**, 3, 97-130.
- [4] K. Ohtsubo, J. D. Marth, Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease, *Cell* **2006**, 126, 855-864.
- [5] C.-H. Wong, R. L. Halkomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, Enzyme in der Organischen Synthese: Das Problem der Molekularen Erkennung von Kohlenhydraten (Teil 2), *Angew. Chem.* **1995**, 107, 569-593.
- [6] S. Alban, B. Classen, G. Brunner, W. Blaschek, Haemolytic complement assay for the differentiation between the complement modulating effects of an arabinogalactan-protein from *Echinacea purpurea* and heparin, *Planta Med.* **2002**, 68,1118-1124.
- [7] E. F. Neufeld, W. Z. Hassid, Biosynthesis of Saccharides from Glycopyranosyl Esters of Nucleotides, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1963**, 18, 309-356.
- [8] L. F. Leloir, Two Decades of Research on the Biosynthesis of Saccharides, *Science* **1971**, 172, 1299-1303.
- [9] D. Voet, J.G. Voet, *Biochemistry*, Wiley & Sons, New York **1995**.
- [10] <http://www.fortunecity.com/skyscraper/isp/1924/BacteriumZellwand2.jpg>, **27.12.2011**
- [11] M. Skurnik, L. Zhang, Molecular Genetics and Biochemistry of *Yersinia* Lipopolysaccharide, *APMIS* **1996**, 104, 849-872.

- [12] Y. Ichikawa, G. J. Shen, C. H. Wong, Enzyme-catalyzed synthesis of sialyl oligosaccharide with in situ regeneration of CMP-sialic acid, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4698-4700.
- [13] R. Schauer, Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man, *Zoology* **2004**, *107*, 49-64.
- [14] R. Schauer, J. P. Kamerling, Chemistry, biochemistry and biology of sialic acids, *New Comp. Biochem.* **1997**, *29b*, 243-402.
- [15] T. Angata, A. Varki, Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related α -Keto Acids: An Evolutionary Perspective, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 439-469.
- [16] S. Kelm, R. Schauer, Sialic acids in molecular and cellular interactions, *Int. Rev. Cytol.* **1997**, *175*, 137-240.
- [17] A. Varki, Glycan-based interactions involving vertebrate sialic-acid-recognizing proteins, *Nature* **2007**, *446*, 1023-1029.
- [18] R. Stiele, J. Thiem, Enzymatic Synthesis of β -L-Fucose-1-phosphate and GDP-fucose, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 467-471.
- [19] J. B. Lowe, Molecular Cloning, Expression, and Uses of Mammalian Glycosyltransferases, *Cell Biol.* **1991**, *2*, 289-307.
- [20] M. L. Field, L. J. Wainwright, Molecular Cloning of Eukaryotic Glycoprotein and Glycolipid Glycosyltransferases: a Survey, *Glycobiology* **1995**, *5*, 463-472.
- [21] J. E. Heidlas, K. W. Williams, G. M. Whitesides, Nucleoside Phosphate Sugars: Syntheses on Practical Scales for Use as Reagents in the Enzymatic Preparation of Oligosaccharides and Glycoconjugates, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 307-314.
- [22] J. G. Moffatt, H. G. Khorana, Nucleoside polyphosphates. VIII. New and improved syntheses of uridine diphosphate glucose and flavine adenine dinucleotide by use of nucleoside 5'-phosphoramidates, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3756-3761.

- [23] H.G. Khorana, *Some Recent Developments in the Chemistry of Phosphate Esters of Biological Interest*, Wiley, New York **1961**.
- [24] S. Hanessian, P-P. Liu, H. Ishida, One-Step, Stereocontrolled Synthesis of Glycosyl-1-Phosphates, Uridine-5'-diphosphogalactose and Uridine-5'-diphosphoglucose from Unprotected Glycosyl Donors, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 13296-13300.
- [25] M. Arlt, O. Hindsgaul, Rapid Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides in a Form Suitable for Enzymatic Oligosaccharide Synthesis, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 14-15.
- [26] S. C. Timmons, D. L. Jakeman, Stereoselective Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides via Direct Displacement of Acetylated Glycosyl Bromides, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1227-1230.
- [27] C. Ernst, W. Klaffke, A short route to nucleoside diphosphate activated D- and L-hexoses, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2973-2975.
- [28] P. Peltier, R. Daniellou, C. Nugier-Chauvin, V. Ferrières, Versatile Synthesis of Rare Nucleotide Furanoses, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5227-5230.
- [29] J. G. Moffat, H. G. Khorana, Nucleoside polyphosphates. XI. An improved general method for the synthesis of nucleotide coenzymes. Synthesis of uridine 5'-, cytidine 5'-, and guanosine 5'-diphosphate derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 649-658.
- [30] G. K. Wagner, T. Pesnot, R. Field, A survey of chemical methods for sugar-nucleotide synthesis, *Nat. Pro. Rep.* **2009**, *26*, 1172-1194.
- [31] V. Wittmann, C. H. Wong, 1H-Tetrazole as Catalyst in Phosphomorphilidate Coupling Reactions: Efficient Synthesis of GDP-Fucose, GDP-Mannose and UDP-Galactose, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2144-2147.
- [32] S. Wendicke, Neue Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren, *Dissertation*, Hamburg **2007**.

- [33] S. Wendicke, S. Warnecke, C. Meier, Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1523-1525; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *47*, 1500-1502.
- [34] H. Gold, P. van Delft, N. Meeuwenoord, J. Codée, D. Filippov, G. Eggink, H. Overkleef, G. van der Marel, Synthesis of Sugar Nucleotides by Application of Phosphoramidites, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9458-9460.
- [35] J. E. Heidlas, K. W. Williams, G. M. Whitesides, Nucleoside phosphate sugars: syntheses on practical scales for use as reagents in the enzymatic preparation of oligosaccharides and glycoconjugates, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 307-314.
- [36] R. Schauer, Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1982**, *40*, 131-234.
- [37] E. L. Kean, S. Roseman, The sialic acids. X. Purification and properties of cytidine 5'-monophosphosialic acid synthetase, *J. Biol. Chem.* **1966**, *241*, 5643-5650.
- [38] J. C. Feo-Manga, L. B. Rodriguez-Aparicio, M. A. Ferrero, Purification and partial characterization of CMP-Neu5Ac synthetase from rat brain, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *564*, 141-150.
- [39] H. H. Higa, J. C. Paulson, Sialylation of glycoprotein oligosaccharides with N-acetyl-, N-glycolyl-, and N-O-diacetylneuraminic acids, *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 8838-8848.
- [40] R. Schauer, M. Wember, C. F. do Amaral, Synthesis of CMP-glycosides of radioactive N-acetyl-, N-glycoloyl-, N-acetyl-7-O-acetyl- and N-acetyl-8-O-acetylneuraminic acids by CMP-sialate synthase from bovine submaxillary glands, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1972**, *353*, 883-886.
- [41] D. H. van den Eijnden, W. van Dijk, A convenient method for the preparation of cytidine 5'-monophospho-N-acetylneuraminic acid, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1972**, *353*, 1817-1820.

- [42] J. Thiem, W. Treder, Synthesis of the trisaccharide Neu-5-Ac- α (2 \rightarrow 6)Gal- β (1 \rightarrow 4)GlcNAc with immobilized enzymes, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 1100-1101.
- [43] H. Yu, H. Yu, R. Karpel, X. Chen, Chemoenzymatic synthesis of CMP-sialic acid derivatives by a one-pot two-enzyme system: comparison of substrate flexibility of three microbial CMP-sialic acid synthetases, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 6427-6435.
- [44] T. J Martin, H. Braun, R. R. Schmidt, A convenient synthesis of nucleoside monophosphate-*N*-acetylneuraminic acids (NMP-Neu5Ac), *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, 2, 1203-1208.
- [45] Y. Kajihara, T. Ebata, K. Koseki, H. Kodama, H. Matsushita, H. Hashimoto, Efficient Chemical Synthesis of CMP-Neu5Ac and CMP-(Neu5Ac α 2 \rightarrow 8Neu5Ac), *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 5732-5735.
- [46] M. D. Chappell, R. L. Halcomb, Synthesis of CMP-sialic acid conjugates: substrates for the enzymic synthesis of natural and designed sialyl oligosaccharides, *Tetrahedron* **1997**, 53, 11109-11120.
- [47] S. Hashimoto, T. Honda, S. Ikegami A rapid and efficient synthesis of 1,2-trans- β -linked glycosides via benzyl- or benzoyl-protected glycopyranosyl phosphates, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 11, 685-687.
- [48] C. Meier; 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphin-2-oxides – A New Concept for lipophilic, potential Prodrugs of biologically activ Nucleoside Monophosphates, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 77–79, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 70–73.
- [49] J. Balzarini, P. Herdewijn, C. E. DeClerq, 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.

- [50] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini, Cycloaligenyl-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.
- [51] C. Meier, *cycloSal*-Pronucleotides-Design of the Concept, Chemistry and Antiviral Activity, *Advances in Antiviral Drug Design*, Elsevier **2004**, *4*, 147-213.
- [52] C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, J. Balzarini, Cyclic Saligenylphosphotriesters of 2'-3'-Dideoxy-2'-3'-didehydrothymidine (d4T)—A New Pro-Nucleotide Approach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *2*, 99-104.
- [53] S. Wolf, Synthese von Cytidindiphosphatglycopyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren, *Diplomarbeit*, Hamburg **2008**.
- [54] T. Zismann, Synthese von Nucleosiddiphosphatglycosiden basierend auf acceptorsubstituierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphateestern, *Dissertation*, Hamburg **2011**.
- [55] S. Warnecke, Neue Synthese phosphorylierter Biokonjugate aus *cycloSal*-aktivierten Nucleotiden *Dissertation*, Hamburg **2010**.
- [56] S. Warnecke, C. Meier, Synthesis of Nucleoside Di- and Triphosphates and Dinucleoside Polyphosphates with *cycloSal*-Nucleotides, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3024-3030.
- [57] C. Meier, *cycloSal*-Pronucleotides- Design of Chemical Trojan Horses, *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 219-234.
- [58] C. Arenz, A. Giannis, Synthesis of First Selective Irreversible Inhibitor of Neutral Sphingomyelinase, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 137-140.
- [59] E. J. Corey, A. Venkateswarlu, Protection of hydroxyl groups as *tert*Butyldimethylsilyl derivatives, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.

- [60] M. C. Pirrung, S. W. Shuey, D. C. Lever, L. Fallon, A convenient procedure for the deprotection of silylated nucleosides and nucleotides using triethylamine trihydrofluoride, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1345-1346.
- [61] C. E. Elmquist, J. S. Stover, Z. Wang, C. J. Rizzo, Site-Specific Synthesis and Properties of Oligonucleotides Containing C8-Deoxyguanosine Adducts of the Dietary Mutagen IQ, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11189-11201.
- [62] K. K. Ogilvie, D. J. Iwacha; Use of the *tert*-Butyldimethylsilyl Group for Protecting the Hydroxyl Functions of Nucleosides, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *4*, 317-319.
- [63] M. M. Mansuri, J. E. Starrett Jr., I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, R. Z. Stersycki, V. Brabkovan, 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.
- [64] J. Coniche, G. A. Levy, Aryl Glycopyranosides by the Helferich Method, *Methods Carbohydr. Res.* **1963**, *2*, 345-347.
- [65] G. S. Ti, B. L. Gaffney, R. A. Jones, Transient Protection: Efficient One-Flask Syntheses of Protected Deoxynucleosides, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1316-1319.
- [66] R. R. Schmidt, M. Stumpp, Glycosylphosphate aus Glycosyl(trichloracetimidaten), *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 680-691.
- [67] K. Jansson, G. Noori, G. Magnusson, 2-(Trimethylsilyl)ethyl glycosides. Transformation into Glycopyranosyl Chlorides, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3181-3185.
- [68] R. R. Schmidt, New Methods of Glycoside and Oligosaccharide Syntheses - Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213-236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212-235.

- [69] R. R. Schmidt, B. Wegmann, K.-H. Jung, Stereospecific Synthesis of α - and β -Fucopyranosyl Phosphates and of GDP-Fucose via Trichloroacetimidate, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 121-124.
- [70] G. Baisch, R. Öhrlein, Convenient Chemoenzymatic Synthesis of β -Purine-diphosphate Sugars (GDP-fucose-analogues), *Bioorg. & Med. Chem.* **1997**, 5, 383-391.
- [71] M. L. Wolfrom, P. J. Cangliaro, Trifluoroacetyl as an *N*-protective Group in the Synthesis of Purine Nucleosides of 2-Amino-2-deoxy saccharides, *Carbohydr. Res.* **1969**, 11, 63-76.
- [72] K. Adelhorst, G. M. Whitesides, Large-scale Synthesis of beta-L-fucopyranosyl Phosphate and the Preparation of GDP-beta-L-fucose, *Carbohydr. Res.* **1993**, 242, 69-76.
- [73] J. W. Perich, R. B. Johns, A New Convenient And Efficient General Procedure for the Conversion of Alcohols into their Dibenzyl Phosphotriesters using *N,N*-Diethyl Dibenzyl Phosphoramidite, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 101-102.
- [74] M. M. Sim, H. Kondo, C.-H. Wong, Synthesis and Use of Glycosyl Phosphites: An Effective Route to Glycosyl Phosphates, Sugar Nucleotides, and Glycosides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260-2267.
- [75] K. Fukase, T. Kamikawa, Y. Iwai, Synthesis of Allyl 3-deoxy-D-manno-2-octulopyranosidic Acid 4- and 5-Phosphates, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, 64, 3267-3273.
- [76] G. Excoffier, D. Gagnaire, J. P. Uille, Coupure Selective par l'Hydrazine des Groupements Acetyles Anomères de Residues Glycosyles Acetyls, *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368-373.
- [77] B. Helferich, W. Portz, *N*-Glycoside II, *Chem. Ber.* **1953**, 86, 604-612.
- [78] H. Binch, K. Stangier, J. Thiem, Chemical synthesis of GDP-L-galactose and analogues, *Carbohydr. Res.* **1998**, 306, 409-419.

- [79] J. T. Welch, S. Eswarakrishnan, *Fluorine in bioorganic chemistry*, Wiley New York **1991**.
- [80] Ed. R. Riller, Y. Kobayashi, *Biochemical Aspects of Fluorine Chemistry*, Elsevier, Biochemical Press, Amsterdam **1982**.
- [81] V. M. Labroo, K. L. Kirk, L. A. Cohen, First direct fluorination of tyrosine-containing biologically active peptides, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, *113*, 581-583.
- [82] M. C. Jarema, K. T. Arndt, M. Savage, P. Lu, J. H. Miller, ^{19}F -NMR spectroscopic techniques, *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 6544-6548.
- [83] T. Hayashi, B. W. Murray, R. Wang, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 497-500.
- [84] R. L. van Heertum, E. A. Greenstein, R. S. Tikofsky, 2-Deoxy-Fluoroglucose-Positron Emission Tomography Imaging of the Brain: Current Clinical Applications with Emphasis on the dementias, *Sem. Nucl. Med.* **2004**, 300-312.
- [85] K. Heyns und J. Feldmann, *Starch/Stärke* **1980**, *32*, 40-47.
- [86] P. T. Nyffeler, S. G. Durón, M. D. Burkart, S. P. Vincent, C.-H. Wong, Selectfluor[®]: Mechanismus und Anwendungen, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1926-217; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 192-212.
- [87] M. D. Burkart, Z. Zhang, S.-C. Hung, C.-H. Wong, A New Method for the Synthesis of Fluoro-Carbohydrates and Glycosides Using Selectfluor, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11743-11746.
- [88] H. Dohi, R. Périon, M. Durka, M. Bosco, Y. Roué, F. Moreau, S. Grizot, A. Ducruix, S. Escaich, S. P. Vincent, Stereoselective Glycal Fluorophosphorylation: Synthesis of ADP-2-fluoroheptose, an Inhibitor of the LPS Biosynthesis, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9530-9539.

- [89] S. P. Vincent, M. D. Burkart, C.-Y. Tsai, Z. Zhang, C.-H. Wong, Electrophilic Fluorination-Nucleophilic Addition Reaction Mediated by Selectfluor: Mechanistic Studies and New Applications, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5264-5279.
- [90] M. Sharma, W. Korytnyk, A general and convenient method for synthesis of 6-fluoro-6-deoxyhexoses, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 573-576.
- [91] B. Neises, W. Steglich, 4-Dialkylaminopyridines as acylation catalysts. 5. Simple method for the esterification of carboxylic acids, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 553-555; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 522-524.
- [92] K. Yoshimoto, Y. Tsuda, Utilization of Sugars in Organic Synthesis. XI. General path of O-acyl migration in D-glucose derivatives: acyl migration of methyl mono-O-myristoyl- α - and β -D-glucopyranosides and mono-O-myristoyl-D-glucopyranoses, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 4324-4334.
- [93] A. S. Pilcher, H. L. Ammon, P. DeShong, Utilization of Tetrabutylammonium Triphenylsilyldifluoride as a Fluoride Source for Nucleophilic Fluorination, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5166-5167.
- [94] J. L. Harwood, *The biochemistry of plants, a comprehensive treatise: Lipids structure and functions*, Academic Press, New York **1980**, Vol. 4.
- [95] J. L. Harwood, R. G. Nicholls, The plant sulfolipid. A major component of the sulfur cycle, *Biochem. Soc. Trans.* **1979**, *7*, 440-447.
- [96] E. Heinz, H. Schmidt, M. Hoch, K. H. Jung, H. Binder, R. R. Schmidt, Synthesis of different nucleoside 5'-diphospho-sulfoquinovoses and their use for studies on sulfolipid biosynthesis in chloroplasts, *Eur. J. Biochem.* **1989**, *184*, 445-453.
- [97] M. Hoch, E. Heinz, R. R. Schmidt, Synthesis of 6-deoxy-6-sulfo- α -D-glucopyranosyl phosphate, *Carbohydr. Res.* **1989**, *191*, 21-28.

- [98] M. L. Gelmi, G. Fontana, D. Pocar, G. Pontremoli, S. Pellegrino, E. Bombardelli, A. Riva, W. Balduini, S. Carloni, M. Cimino, Novel 3-O-Glycosyl-3-demethylthiocolchinines as Ligands for Glycine and α -Aminonutyric Acid Receptors, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2245-2248.
- [99] R. Kuhn, P. Lutz, D. L. MacDonald, Synthesis of anomeric sialic acid methyl ketosides, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 611-617.
- [100] J. Rothermel, H. Faillard, Phase-transfer-catalyzed synthesis of aryl α -ketosides of *N*-acetylneuraminic acid. A 2-methylfluoran-6-yl glycoside of *N*-acetylneuraminic acid, 2-methyl-6-(5-acetamido-3,5-dideoxy- α -D-glycero-D – galacto – nonulopyrano – syronicacid) – xanthene – 9 – spiro - 1' - isobenzofuran-3'-one, a new substrate for neuraminidase assay, *Carbohydr. Res.* **1990**, *196*, 29-40.
- [101] J. M. Haberman, D. Y. Gin, Dehydrative Sialylation with C2-Hemi-Ketal Sialyl Donors, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2539-2541.
- [102] W. Gielen, Chemistry of neuraminic acids, *Z. Physiol. Chem.* **1967**, *348*, 329-333.
- [103] R. Schneider, C. C. Freyhardt, R. R. Schmidt, 5-azido derivatives of neuraminic acid - synthesis and structure, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1655-1661.
- [104] K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, A mild and general method for the synthesis of O-glycosides, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430-2434.
- [105] B. G. M. G. Rocío Meza, *Int. J. Quant. Chem.* **2005**, *104*, 29-37.
- [106] S. Cao, S. J. Meunier, F. O. Andersson, M. Letellier, R. Roy, Mild stereoselective syntheses of thioglycosides under PTC conditions and their use as active and latent glycosyl donors, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 2303-2312.

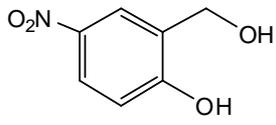
- [107] H. Paulsen, H. Tietz, Building blocks of oligosaccharides. Part 43. Synthesis of trisaccharide units from *N*-acetylneuraminic acid and *N*-acetyllactosamine *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 934-935; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 927-928.
- [108] S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, S. Warnecke, S. Wendicke, C. Meier, A convenient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates, *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 63-75.
- [109] S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, C. Meier, Reliable Synthesis of Various Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7656-7664.
- [110] S. Wolf, R. Molina Berrio, C. Meier, Synthesis of Nonnatural Nucleoside Diphosphate Sugars, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 6304-6313.
- [111] E. Beketow, Darstellung funktionalisierter Mono- und Disaccharid-Derivate und Untersuchung ihrer Rolle bei inter- sowie intrazellulären Erkennungsprozessen, *Dissertation*, Hamburg **2007**.
- [112] N. Lunau, *unveröffentlichte Ergebnisse, Dissertation in Vorbereitung*, Hamburg **2012**.
- [113] R. Jambou, F. El-Assaad, V. Combes, G. E. Grau, Citicoline (CDP-Choline): What role in the treatment of complications of infectious diseases, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2009**, *41*, 1467-1470.
- [114] P. K. Schmidli, P. Schurtenberger, P. L. Luisi, Liposome-Mediated Enzymatic Synthesis of Phosphatidylcholine as an Approach to Self-Replicating Liposomes, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8127-8130.
- [115] A. Davalos, J. Castillo, J. Alvarez-Sabin, Oral citicoline in acute ischemic stroke: an individual patient data pooling analysis of clinical trials, *Stroke* **2002**, *33*, 2850-2857.
- [116] R. Conant, A. G. Schauss, Therapeutic applications of citicoline for stroke and cognitive dysfunction in the elderly: a review of the literature, *Alt. Med. Rev.* **2004**, *9*, 17-31.

- [117] W. R. Schäbit, CDP-Cholin zur Behandlung des Schlaganfalls. *Psychopharmakologie*, **2009**, 3, 101-105.
- [118] X. A. Alvarez, R. Mouzo, V. Pichel, Double-blind placebo-controlled study with citicoline in APOE genotyped Alzheimer's disease patients. Effects on cognitive performance, brain bioelectrical activity, and cerebral perfusion. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol* **1999**, 21, 633-644.
- [119] J. J. Secades, J. L. Lorenzo, *Methods Find, Exp. Clin. Pharmacol.* **2006**, 28, 1-56.
- [120] T. Sowa, S. Ouchi, The Facile Synthesis of 5'-Nucleotides by Selective Phosphorylation of a Primary Hydroxyl Group of Nucleosides with Phosphoryl Chloride, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1975**, 48, 2048-2090.
- [121] J. M. Beau, R. Schauer, J. Haverkamp, J. P. Kamerling, L. Dorland, J. F. G. Vliegthart, Chemical behavior of cytidine 5'-monophospho-*N*-acetyl- β -D-neuraminic acid under neutral and alkaline conditions, *Eur. J. Biochem.* **1984**, 140, 203-208.
- [122] K. Okamoto, T. Goto, Glycosidation of sialic acid, *Tetrahedron* **1990**, 46, 5835-5857.
- [123] G. Pazynina, A. Tuzikov, A. Chinarev, P. Obukhova, N. Bovin, Simple stereoselective synthesis of α 2-6 sialooligosaccharides, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 8011-8013.
- [124] G. Zemplen, E. Pacsu, Saponification of acetylated sugars and related substances, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 62B, 1613-1614.
- [125] T. J. Martin, R. R. Schmidt, Convenient Chemical Synthesis of CMP-*N*-Acetylneuramate (CMP-Neu5Ac), *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1765-1768.
- [126] J. Tiralongo, S. Abo, B. Danylec, R. Gerady-Schahn, M. von Itzstein, A High-Throughput for Rat Liver Golgi and *Saccharomyces cerevisiae*-Expressed Murine CMP-*N*-Acetylneuraminic Avis Transport Proteins, *Anal. Biochem.* **2000**, 285, 21-32.

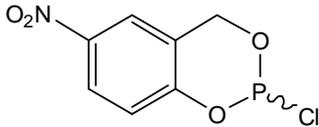
- [127] Y. Kajihara, T. Ebata, K. Koseki, H. Kodama, H. Matsushita, H. Hashimoto, Efficient Chemical Synthesis of CMP-Neu5Ac and CMP-(Neu5Ac2->8Neu5Ac), *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5732-5735.
- [128] A. J. Yates, J. K. Warner, Behavior of Sugar Derivatives in Procedures for Ganglioside Isolation, *Lipids* **1984**, *19*, 562-569.
- [129] M. J. Spiro, R. G. Spiro, Glycoprotein Biosynthesis: Studies on Thyroglobulin, *J. Biol. Chem.* **1969**, *243*, 6520-6528.
- [130] Y. Kajihara, S. Nishigaki, D. Hanzawa, G. Nakanishi, R. Okamoto, N. Yamamoto, Unique Self-Anhydride Formation in the Degradation of Cytidine-5'-monophosphosialic Acid (CMP-Neu5Ac) and Cytidine-5'-diphosphosialic Acid (CDP-Neu5Ac) and its Application in CMP-sialic Acid Analogue Synthesis, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7645-7655.
- [131] M. Izumi, G.-J. Shen, S. Wacowich-Sgarbi, T. Nakatani, O. Plettenburg, C.-H. Wong, Microbial Glycosyltransferases for Carbohydrate Synthesis: α -2,3-Sialyltransferase from *Neisseria gonorrhoeae*, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10909-10918.
- [132] F. Freiberger, H. Claus, A. Günzel, I. Oltmann-Norden, J. Vionnet, M. Mühlhoff, U. Vogel, W. F. Vann, R. Gerady-Schahn, K. Stummeyer, Biochemical characterization of a *Neisseria meningitidis* polysialyltransferase reveals novel functional motifs in bacterial sialyltransferases, *Mol. Microbiol.* **2007**, *65*, 1258-1275.
- [133] H. Miller Jr., *Neisseria meningitidis* isolated from case of acute conjunctivitis, *Publ. Health Rep.* **1955**, 1010.
- [134] H. W. Sherr, C. Fitting, The Growth of *Neisseria meningitidis* in simple chemically defined media, *J. Bacteriol.* 1949, *58*, 1-9.

- Anhang -

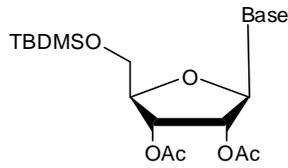
Verbindungsübersicht



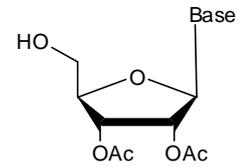
38



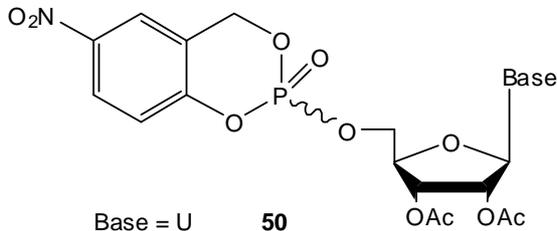
39



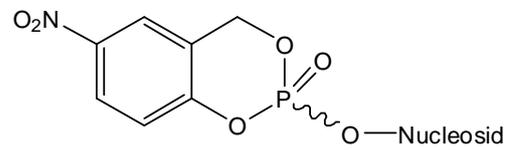
Base = U 44
Base = C^{NHAc} 45
Base = A^{NHAc} 46



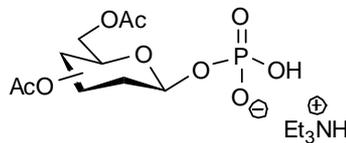
Base = U 47
Base = C^{NHAc} 48
Base = A^{NHAc} 49



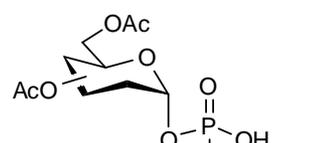
Base = U 50
Base = C^{NHAc} 51
Base = A^{NHAc} 52



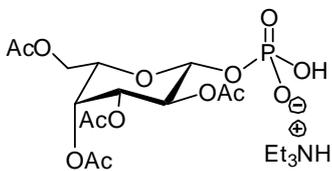
Nucleosid = d4T 58
Nucleosid = ddT 59
Nucleosid = AZT 60
Nucleosid = *isoddA* 61
Nucleosid = *carba-isoddA* 62



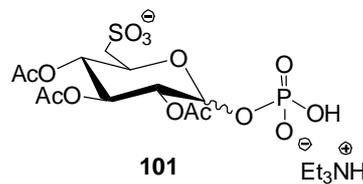
Glc 71 β
Gal 72 β



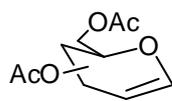
Glc 71 α
Gal 72 α
Man 73 α



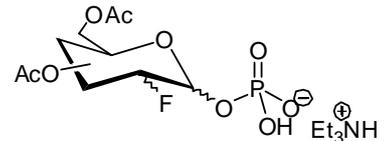
77



101

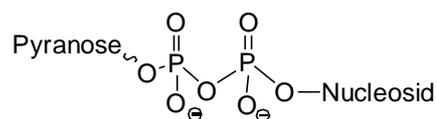


Glc 78
Gal 79

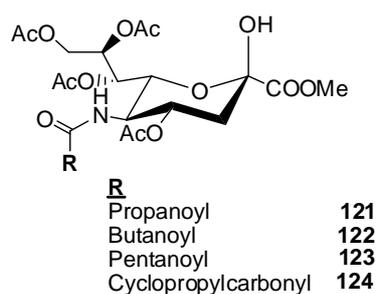
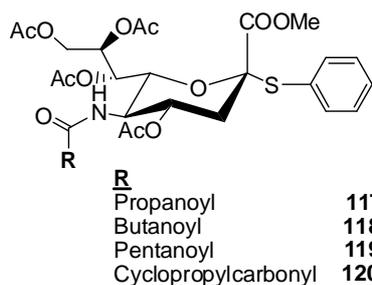
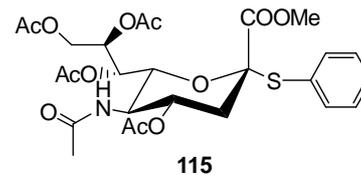
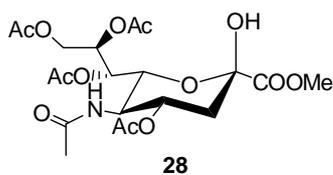
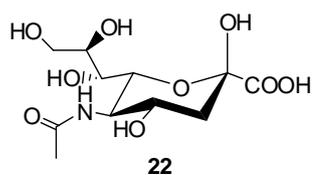


Glc 90
Gal 91
Man 92

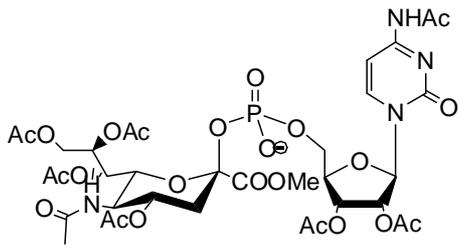
- Verbindungsübersicht -



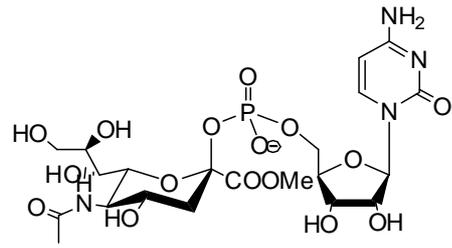
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = U	1
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = C	125
Pyranose = β -D-Glc	Nucleosid = C	126
Pyranose = α -D-Gal	Nucleosid = C	127
Pyranose = β -D-Gal	Nucleosid = C	128
Pyranose = α -D-Man	Nucleosid = C	129
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = A	130
Pyranose = β -D-Glc	Nucleosid = A	131
Pyranose = α -D-Gal	Nucleosid = A	132
Pyranose = β -D-Gal	Nucleosid = A	133
Pyranose = α -D-Man	Nucleosid = A	134
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = d4T	135
Pyranose = α -D-Man	Nucleosid = d4T	136
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = ddT	137
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = AZT	138
Pyranose = β -D-Glc	Nucleosid = <i>isoddA</i>	139
Pyranose = α -D-Glc	Nucleosid = <i>carba-isoddA</i>	140
Pyranose = β -L-Gal	Nucleosid = U	142
Pyranose = 2-Fluor-2-Desoxy-D-Glc	Nucleosid = U	143
Pyranose = 2-Fluor-2-Desoxy-D-Gal	Nucleosid = U	144
Pyranose = 2-Fluor-2-Desoxy- α -D-Man	Nucleosid = U	145
Pyranose = α -D-Sulfoquinovose	Nucleosid = U	141
Pyranose = 6-Sulfat- α -D-Glc	Nucleosid = U	146



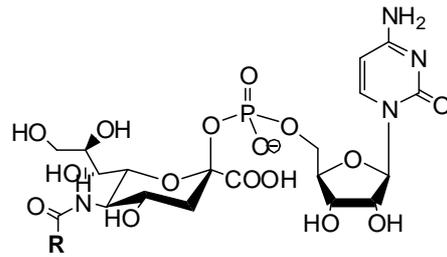
- Verbindungsübersicht -



152



153



R

CH ₃	CMP-Neu5Ac	10
C ₂ H ₅	CMP-Neu5Prop	155
C ₃ H ₇	CMP-Neu5But	156
C ₄ H ₉	CMP-Neu5Pent	157
C ₃ H ₅	CMP-Neu5Cycloprop	158

Lebenslauf

Persönliche Daten

Saskia Wolf
geboren am 18.08.1982 in Hamburg

Ausbildung

- | | |
|-------------------|---|
| 07/2008 – 03/2012 | Promotion an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Chris Meier
<i>Thema: Synthese von Zuckernucleotiden</i> |
| 10/2002 - 06/2008 | Studium der Chemie an der Universität Hamburg
Diplomarbeit am Institut für Organische Chemie
<i>Thema: Synthese von CDP-Pyranosen</i>
<i>Abschluss als Diplom-Chemikerin</i> |
| 06/2002 | Abitur am Gymnasium Willhöden, Hamburg |

Universitäre Arbeiten

- | | |
|--------------|---|
| seit 07/2008 | Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Universität Hamburg im Fachbereich für Organische Chemie: <ul style="list-style-type: none">• Assistentin im Integriertem Synthesepraktikum in Anorganischer und Organischer Chemie• Assistentin im Fortgeschrittenenpraktikum in Organischer Chemie• Assistentin im Organisch-chemischen Praktikum für Studierende mit Chemie im Nebenfach• Assistentin im Grundpraktikum Anorganischer und Analytischer Chemie |
|--------------|---|
-

Publikationen

- S. Wolf, R. Morrio Berrio, Synthesis of Nonnatural Nucleosid Diphosphate Sugars, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 6304-6313.
- S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, S. Warnecke, S. Wendicke, C. Meier, A Convenient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses and Other Polyphosphorylated Bioconjugates, *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, 89, 63-75.
- S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, C. Meier, Reliable Synthesis of Various Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 7656-7664.
- S. Wolf, C. Meier, New Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, 52, 579-580.

Patentanmeldung

deutsche Patentnummer: DE 1020080369322

internationale Patentnummer: WO 2010015245

Posterbeiträge

- S. Wolf, C. Meier, Synthesis of Sugar Nucleotides, *16th European Carbohydrate Symposium*, 03.-07.07.2011, Sorrento, Italien.
 - S. Wolf, C. Meier, Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *15th European Carbohydrate Symposium*, 19.-24.06.2009, Wien, Österreich.
 - S. Wolf, C. Meier, New Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *The Joint Symposium of the 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and the 35th Symposium on Nucleic Acids Chemistry*, 08.-12.09.2008, Kyoto, Japan.
-

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation „Synthese von Zuckernucleotiden“ selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet 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.

Saskia Wolf

Hamburg, im Januar 2012
