

# Nucleosylaminosäuren als Bausteine zur Synthese modifizierter Oligonucleotide



## Dissertation

zur Erlangung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
„Doctor rerum naturalium“  
der Georg-August-Universität Göttingen

Im Promotionsprogramm  
Biomolecules: Structure-Function-Dynamics

vorgelegt von  
**Boris Schmidtgall**  
aus Nishnjaja Tura  
Göttingen, im März 2014

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2010 bis Dezember 2011 am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen und in der Zeit von Januar 2012 bis März 2014 am Department Chemie der Universität Paderborn unter der Leitung von Prof. Dr. Christian Ducho angefertigt.

**Betreuungsausschuss:**

Prof. Dr. Christian Ducho, Department für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken

Prof. Dr. Ulf Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

Dr. Claudia Höbartner, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen

**Mitglieder des Prüfungskomitees:**

Referent: Prof. Dr. Christian Ducho, Department für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken

Korreferent: Prof. Dr. Ulf Diederichsen, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

**Weitere Mitglieder des Prüfungskomitees:**

Dr. Claudia Höbartner, Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen

Prof. Dr. Kai Tittmann, Albrecht-von-Haller-Institut für Pflanzenwissenschaften, Georg-August-Universität Göttingen

Prof. Dr. Guido Clever, Institut für Anorganische Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

Prof. Dr. Claudia Steinem, Institut für Organische und Biomolekulare Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2014

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:  
„Nucleosylaminosäuren als Bausteine zur Synthese modifizierter Oligonucleotide“  
selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel  
angefertigt habe.

Göttingen, den \_\_\_\_\_

Boris Schmidtgal

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Christian Ducho für die interessante Aufgabenstellung, seine stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft und die angenehme Atmosphäre in seinem Arbeitskreis.

Herrn Prof. Dr. Ulf Diederichsen danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Für die schnellen und zuverlässigen Messungen zahlreicher NMR-Spektren danke ich der NMR-Abteilung um Herrn Dipl.-Chem.Reinhard Machinek in Göttingen sowie der NMR-Abteilung um Herrn Dr. Hans Egold in Paderborn. Ebenso gilt mein Dank der Abteilung für Zentrale Analytik und Massenspektrometrie um Herrn Dr. Holm Frauendorf in Göttingen und der Abteilung für Massenspektrometrie um Herrn Dr. Heinz Weber in Paderborn für die Aufnahme vieler Massenspektren.

Bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Ducho Martin Büschleb, Anke Lemke, Yevgeniy Lesch, Christin Leyerer, Anne Ochmann, Oliver Ries, Malte-Ole Schneemann, Anatol Spork, Daniel Wiegmann, Marius Wirth und Stephanie Wohnig bedanke ich mich für das angenehme Arbeitsklima und die hilfreichen Diskussionen.

Für die engagierte und kompetente Unterstützung bei der Synthese und Untersuchung der modifizierten Oligonucleotide bedanke ich mich bei Frau Dr. Claudia Höbartner und Herrn Dr. Falk Wachowius.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Freunden in Göttingen und Paderborn für die moralische Unterstützung und meiner Frau Julia für die schöne gemeinsame Zeit während des gesamten Studiums in Hamburg, Göttingen und Paderborn.

---

$[\alpha]_D^{20}$	Drehwert (Polarimetrie)
A	Adenin
Å	Angström
AAV	allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
aeg	aminoethylglycin
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Äq	Äquivalente
ber.	berechnet
Bidest.	bidestillatus, doppelt destilliert
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BOM	Benzyloxymethyl
BMT	5-Bezylmercaptotetrazol
BNA	bicyclic nucleic acid
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
Cbz	Benzyloxycarbonyl
D-CNA	dioxaphosphiran constrained nucleic acid
C	Cytosin
°C	Grad Celsius
°C/Mod.	Grad Celsius pro Duplex-Modifikation
CD	Circulardichroismus
COSY	Correlation Spectroscopy
CPG	controlled pore glass
d	dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCA	dichloroacetic acid
DCM	Dichlormethan
$\Delta$	Differenz
$\delta$	chemische Verschiebung in ppm
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-para-benzochinon

dest.	destilliert
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethyl-4-aminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DMTr	4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl
DNA	deoxyribonucleic acid
DNG	deoxynucleic guanidine
DNmt	deoxynucleic methylthiourea
DPPA	Diphenylphosphorylazid
dU	2'-Desoxyuridin
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ENA	ethylene nucleic acid
ESI	Elektrosprayionisation (MS)
EtOAc	Ethylacetat
$\epsilon$	molarer dekadischer Extinktionskoeffizient in [L/(mol·cm)]
FDA	food and drug administration
et al.	und andere
FmocCl	9-Fluorenylmethoxycarbonyl chlorid
FmocOSu	<i>N</i> -(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimid
FT	Fouriertransformation
g	Gramm
G	Guanin
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
h	Stunde(n)
Hex	Hexan
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	high pressure liquid chromatography
HSQC	heteronuclear single quantum coherence (NMR)
Hz	Hertz
IBX	2-Iodoxybenzoesäure
<i>i</i>	<i>iso</i>
IR	Infrarot

---

<i>J</i>	skalare Kopplungskonstante
Kat.	Katalysator
konz.	konzentriert
KO <sup>t</sup> Bu	Kalium- <i>tert</i> -Butanolat
$\lambda$	Wellenlänge in Nanometern
LNA	locked nucleic acid
lys	Lysin
m	Multiplett
M	molar
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
min	Minute(n)
miRNA	mikro-RNA
mL	Milliliter
MPI	Max-Planck-Institut
mRNA	messenger-RNA
MS	Massenspektrometrie
Ms	Methylsulfonsäure
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl in [cm <sup>-1</sup> ]
NAA	Nucleosylaminosäure
NaH	Natriumhydrid
N-Konformation	northern-Konformation (bei Riboseringen)
NMR	nuclear magnetic resonance
NEt <sub>3</sub>	Triethylamin
$\Omega$	Ohm
ON	Oligonucleotid
<i>p</i>	para
PE	Petrolether
PNA	peptide nucleic acid
pm	Pikometer
PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
ppm	parts per million
PMO	Phosphordiamidat-Morpholino-Oligonucleotid
Pr	Propyl
PS-ON	Phosphorthioat-Oligonucleotid

q	Quartett
qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
$R_f$	Retentionsfaktor (Dünnschichtchromatographie)
RISC	RNA-induced silencing complex
RNA	ribonucleic acid
RNAi	RNA-Interferenz
RNG	ribonucleic guanidine
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde/Singulett
s.	siehe
Sdp.	Siedepunkt
S-Konformation	southern-Konformation (bei Riboseringen)
Smp.	Schmelzpunkt
t	triplett
<i>t</i>	<i>tert</i>
T	Thymin
TAA	thymidinyl amino acid
Tab.	Tabelle
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBE	Tris-Borsäure-EDTA
TEN	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, EDTA, NaCl
<i>tert</i> -BuOH	<i>tert</i> -Butanol
TFA	trifluor acetic acid
TFO	triplex forming oligonucleotides
Tf <sub>2</sub> O	Trifluoressigsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
T <sub>m</sub>	Schmelzpunkt von Duplices (Nucleinsäuren und chem. Analoga)
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethan-1,2-diamin (Tetramethylethyldiamin)
TMS	Trimethylsilyl
TOCSY	total correlation spectroscopy
t <sub>R</sub>	Retentionszeit (HPLC)
UV	Ultraviolette elektromagnetische Strahlung
VIS	Sichtbare elektromagnetische Strahlung
W	Watt



# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Kenntnisstand</b> .....	<b>4</b>
2.1 Arten von Modifikationen der Nucleinsäuren.....	4
2.2 Modifikationen der Desoxyriboseeinheit.....	5
2.3 Nucleobasenmodifikationen .....	9
2.4 Rückgratmodifikationen.....	13
2.4.1 Anionische Rückgratmodifikationen.....	14
2.4.2 Elektroneutrale Rückgratmodifikationen .....	15
2.4.3 Kationische und zwitterionische Rückgratmodifikationen .....	19
2.4.4 Modifikationen des gesamten Zuckerphosphatrückgrats.....	22
2.5 Nucleosylaminosäure (NAA)-modifizierte ON .....	26
2.5.1 Nucleosylaminosäuren .....	27
2.5.2 Synthese NAA-modifizierter ON .....	29
2.5.3 Erste Untersuchungen NAA-modifizierter ON.....	31
<b>3 Zielsetzung und Planung der Arbeit</b> .....	<b>33</b>
3.1 Zielsetzung der Arbeit .....	33
3.2 Planung der Arbeit .....	35
3.2.1 NAA als Bausteine für die Synthese zwitterionischer ON .....	35
3.2.2 NAA-Derivate für die Synthese uniform kationischer ON.....	43
<b>4 Resultate und Diskussion</b> .....	<b>46</b>
4.1 Synthese von Reagenzien .....	46
4.1.1 Synthese des Phosphitylierungs-Reagenzes.....	46
4.1.2 Synthese der Phosphonate .....	46
4.1.3 Synthese der Oxidationsmittel IBX und DMP.....	48
4.2 Synthese der NAA-Bausteine für den Aufbau zwitterionischer ON .....	49
4.2.1 Synthese der 3'-O-TBDMS-Thymidinaldehyde .....	49
4.2.2 Synthese der 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA.....	51
4.2.3 Asymmetrische Hydrierung der 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA.....	54
4.2.4 Umschützung der NAA .....	56
4.2.5 Synthese der 3'-Aminonucleoside .....	60
4.3 Synthese der NAA-Bausteine für den Aufbau oligokationischer ON .....	78
4.3.1 Synthese der 3'-N <sub>3</sub> -Thymidinaldehyde .....	78
4.3.2 Synthese der geschützten 3'-NHCbz-Thymidinaldehyde .....	79

---

4.3.3	Synthese der 3'-N <sub>3</sub> - und 3'-NHCbz-5',6'-Didehydro-TAA.....	81
4.3.4	Asymmetrische Hydrierung der 5'-6'-Didehydro-TAA .....	83
4.3.5	Umschützung der TAA.....	86
4.4	Synthese der NAA-modifizierten ON.....	89
4.5	Untersuchung der NAA-modifizierten ON .....	93
4.5.1	Schmelzkurvenanalyse .....	93
4.5.2	Circulardichroismus-(CD)-Spektroskopie.....	100
4.5.3	Abschließende Beurteilung der NAA-Modifikation .....	104
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>106</b>
<b>6</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>116</b>
<b>7</b>	<b>Experimentalteil.....</b>	<b>122</b>
7.1	Allgemeines .....	122
7.1.1	Präparative Methoden .....	122
7.1.2	Edukte und Reagenzien .....	122
7.1.3	Lösungsmittel.....	123
7.1.4	Absolute Lösungsmittel.....	123
7.1.5	Chromatographie .....	124
7.1.6	Instrumentelle Analytik.....	125
7.1.7	Allgemeine Arbeitsvorschriften .....	130
7.2	Synthesen .....	131
7.2.1	Synthese der Reagenzien.....	131
7.2.2	Synthese der 3'-O-TBDMS-Thymidinylaminosäuren (TAA).....	139
7.2.3	Synthese der 3'-Aminonucleoside .....	162
7.2.4	Dimere .....	192
7.2.5	Synthese der NAA (6'S)-104 und (6'R)-104.....	233
7.2.6	Oligonucleotide .....	260
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>265</b>
<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>282</b>
9.1	HPLC-Chromatogramme .....	282
9.1.1	Verbindungen (6'S)-117 und (6'R)-117.....	282
9.1.2	Oligonucleotide .....	284
9.2	Daten zur Schmelzkurvenanalyse.....	303
9.2.1	Schmelzpunkte der untersuchten Duplices.....	303
9.2.2	Schmelzkurvendiagramme .....	307
9.3	Circulardichroismus-Spektren .....	343

---

9.3.1 DNA-DNA-Duplicates .....	344
9.3.2 DNA-RNA-Duplicates .....	359
9.4 Lebenslauf .....	369



# 1 Einleitung

Nucleinsäuren sind aufgrund ihrer zentralen Bedeutung für sämtliche physiologische Prozesse in Organismen und ihrer ungewöhnlichen molekularen Eigenschaften nach wie vor ein attraktiver Forschungsgegenstand. Die Entdeckung dieser Biopolymere gelang *Miescher* im Jahre 1869 durch Fällung mit verdünnter Salzsäure aus einem Zellextrakt.<sup>[1]</sup> Danach lag das Hauptaugenmerk über 80 Jahre auf der Bestimmung der Struktur dieses Makromoleküls. Zuerst wurden die Einzelbausteine von *Kosel* isoliert und beschrieben.<sup>[2-3]</sup> Genauere Aussagen über deren Konnektivität im Polymer (Primärstruktur) konnten von *Levene* durch Ammonolyse von DNA und Charakterisierung der Monomere gemacht werden.<sup>[4]</sup> Eine weitere Beobachtung, die einen wichtigen Hinweis auf das Prinzip der Basenpaarung darstellte, machte *Chargaff* im Jahr 1950: Innerhalb einer lebenden Spezies ist das Stoffmengenverhältnis von Adenosin zu Thymin und dasjenige von Cytidin zu Guanosin stets 1:1.<sup>[5]</sup> Nur zwei Jahre später folgte die dreidimensionale Strukturaufklärung der DNA-Doppelhelix durch *Watson* und *Crick*, wobei die Charakterisierung sich ausschließlich auf die rechtsgängige B-Helix der DNA bezog. Diese Arbeit diente als Ausgangspunkt für die Entschlüsselung vieler Details der Informationsübertragung von der DNA zum Protein.<sup>[6]</sup> Seitdem ist das Interesse an einem tieferen Verständnis der Eigenschaften von Nucleinsäuren keinesfalls zurückgegangen, sondern wurde durch zahlreiche überraschende Entdeckungen gesteigert. Bereits vier Jahre nach der Charakterisierung der B-DNA-Struktur wurde nachgewiesen, dass Polynucleotide spontan zu Tripelhelices aggregieren können.<sup>[7]</sup> Ein weiterer faszinierender Aspekt der Nucleinsäurestruktur war die von *Wang* beobachtete linksgängige Z-Konformation der DNA.<sup>[8]</sup> In dieser Zeit ging die Motivation für die Erforschung der Strukturprinzipien von Nucleinsäuren mit der Erwartung einher, dadurch zu einer gründlichen Einsicht in die Vorgänge der Proteinbiosynthese zu gelangen. Die Forschung beschränkte sich allerdings auf die natürlich vorkommenden Nucleinsäuren. Denn die zur Synthese von Nucleinsäureanaloga notwendigen Methoden waren damals noch nicht etabliert. Erst durch die Entwicklung der festphasengestützten Synthese von Oligonucleotiden (ON) Ende der 1970er Jahre konnte der Aufwand für die chemische Synthese von Nucleinsäuren und deren chemische Analoga deutlich minimiert werden.<sup>[9]</sup> Auf diese Weise wurde der Weg für die intensive Untersuchung chemisch modifizierter Nucleinsäure-Analoga bereitet.

Die Gründe für das zunehmende wissenschaftliche Interesse an Nucleinsäure-Analoga waren vielseitig. Mit der Entdeckung, dass die Proteinbiosynthese durch Einschleusen bestimmter Nucleotidsequenzen in die Zelle reguliert werden kann,<sup>[10]</sup> kam die Hoffnung auf ein rationales Prinzip für die Konzeption von Therapeutika auf. Das Design würde demnach auf den grundlegenden *Watson-Crick*-Regeln der Duplexbildung beruhen. Folglich sollten die in eine Zelle eingebrachten ON durch Hybridisierung mit komplementären mRNA-Molekülen deren Translation verhindern. Die Entwicklung von Oligonucleotid-basierten Therapeutika erschien auch aufgrund der hohen Selektivität der Erkennung komplementärer Stränge durch Nucleinsäuren sinnvoll, da dies eine gute Grundlage für geringe Nebenwirkungen sein könnte. Zudem sollte die Inhibierung auf der Ebene der Transkription oder Translation eine wesentlich effizientere Vorgehensweise sein als etwa die Inhibierung eines Enzyms, da ein mRNA-Molekül in  $10^2$ - $10^4$  Proteine translatiert wird.<sup>[11]</sup> Ein weiterer Anreiz für die Entwicklung von Oligonucleotid-basierten Therapeutika ergab sich durch die Entdeckung der RNA-Interferenz (RNAi) durch *Fire* und *Mello*.<sup>[12]</sup> Bei diesem Vorgang wird die Expression von mRNA durch eine RISC(RNA-induced-silencing complex)-vermittelte Hydrolyse inhibiert. Der Enzymkomplex RISC wird von kleinen RNA-Molekülen (20-30 bp) aktiviert, die zur mRNA-Zielsequenz komplementär sind. Mittlerweile ist die Stummschaltung von Genen durch RNAi zu einem Routineverfahren für die Genfunktionsanalyse geworden.<sup>[13]</sup> Die Notwendigkeit der chemischen Modifikation von Nucleinsäuren für die Wirkstoffentwicklung rührt daher, dass unmodifizierte Nucleinsäuren eine geringe Halbwertszeit (ca. 5 min) in biologischen Medien und eine unzureichende Membrangängigkeit aufweisen.<sup>[14]</sup> Motiviert durch diese Sachverhalte sind viele Nucleinsäure-Analoga auf ihre potentielle Verwendbarkeit als Wirkstoffe gegen unterschiedliche Krankheiten untersucht worden, wenn auch nur mit mäßigem Erfolg. Mögliche Gründe hierfür sind die unterschätzte Komplexität der Sekundärstruktur von Nucleinsäuren und deren artifiziieller Analoga sowie pharmakokinetische Aspekte.

Neben ihrer Einfachheit, Reversibilität und Spezifität ist die Hybridisierung von Nucleinsäuren äußerst empfindlich gegenüber Fehlpaarungen. Zudem zeichnen Nucleinsäure-Einzelstränge sich durch eine ausgeprägte konformationelle Flexibilität aus, während Doppelstränge bis zu einer Länge von ca. 150 bp (Persistenzlänge) ausgesprochen rigide sind.<sup>[15]</sup> Diese Eigenschaften ermöglichen die Verwendung der Nucleinsäuren als Bausteine für programmierbare Nanokonstrukte.<sup>[16]</sup> Dazu gehören

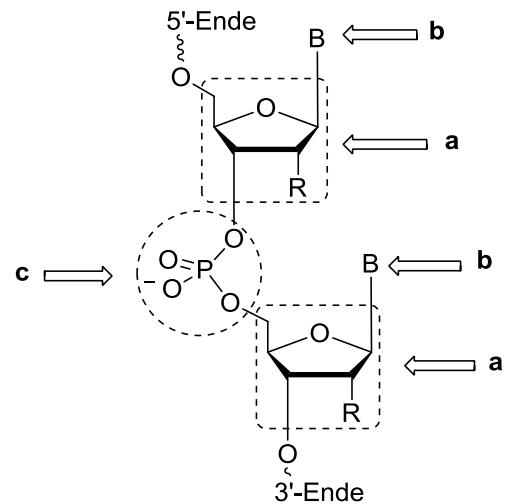
statische Bauelemente wie 3D-Gitter, die für die Röntgenstrukturanalyse von schwer- oder nicht-kristallisierbaren Gastmolekülen genutzt werden können oder dynamische Einheiten wie Pinzetten<sup>[17]</sup> oder Scheren.<sup>[15]</sup> Chemische Modifikationen ermöglichen ein vielseitigeres Design solcher Nanoarchitekturen. Darüber hinaus werden modifizierte ON zur Detektion und Funktionsanalyse genetischen Materials eingesetzt.<sup>[18]</sup> Hierbei können Oligonucleotidanaloga mit erhöhter Affinität zu Nucleinsäuren für die Entwicklung möglichst empfindlicher, sequenzspezifischer DNA- oder RNA-Detektoren nützlich sein. Auf dieser Grundlage beruhen Detektionssysteme, die z. B. in der Forensik oder der Umweltanalytik Gebrauch finden. Ein Maß für die Affinität von ON gegenüber komplementären Strängen stellt der  $T_m$ -Wert dar. Dieser ist definiert als die Temperatur, bei welcher die Hälfte der DNA- oder RNA-Doppelstränge denaturiert ist.<sup>[19]</sup>

Trotz der umfangreichen Kenntnisse über die strukturellen und dynamischen Eigenschaften der Nucleinsäuren sind einige grundlegende Fragen nach wie vor ungeklärt. Zahlreiche Arbeiten sind der Frage nach dem Ursprung dieser Biopolymere gewidmet. Insbesondere mit ihrer limitierten chemischen Stabilität lässt sich eine Entstehung unter geologischen Bedingungen kaum vereinbaren.<sup>[20]</sup> Daher wurden die chemisch robusteren PNA (peptide nucleic acids, s. Kap. 2.4.4) als Vorgänger der genetischen Moleküle in Betracht gezogen und in diesem Zusammenhang untersucht.<sup>[21]</sup> Weitere interessante Erörterungen zur Beschaffenheit der Nucleinsäurestruktur stammen von *Westheimer* und *Benner*.<sup>[22-23]</sup> In der ersteren Veröffentlichung<sup>[22]</sup> wird unter Vergleich mit denkbaren alternativen Internucleotidbrücken begründet, weshalb gerade Phosphate die verknüpfende Einheit zwischen den Nucleotiden darstellen. In dem Artikel von *Benner*<sup>[23]</sup> wird eine Hypothese zur Erklärung der polyanionischen Struktur der Nucleinsäuren diskutiert. Auch in diesem Zusammenhang können sich die Erkenntnisse aus Untersuchungen modifizierter ON als nützlich erweisen. So schrieb *Benner*: „The paradigm of physical organic chemistry, which involves systematic synthesis of analogs of DNA and examining their properties, could be used to test the Watson-Crick model.“<sup>[23]</sup> Im Folgenden sollen einige Aspekte der chemischen Modifikationen der Nucleinsäurestruktur angeführt und deren Relevanz für das Verständnis der strukturellen Eigenschaften dieser Biopolymere diskutiert werden. Im Sinne einer Einschränkung sollen nur solche Modifikationen diskutiert werden, die die Bildung helikaler Strukturen ermöglichen und deren Rückgrat isoster zur DNA/RNA ist.

## 2 Kenntnisstand

### 2.1 Arten von Modifikationen der Nucleinsäuren

Durch chemische Modifikationen können gezielte Veränderungen der Eigenschaften von ON erfolgen. Entsprechend der jeweiligen Zielsetzung (z. B. Optimierung der oben beschriebenen Parameter von ON) sind zahlreiche chemisch modifizierte Analoga dargestellt worden, die in drei Gruppen eingeteilt werden können (Abb. 2.1). Eine Vielzahl von Variationen sind an der (Desoxy-)Riboseeinheit durchgeführt worden (a). Diese Modifikationen führen häufig zu einer Veränderung der Vorzugskonformation der Nucleinsäuren. Zudem kann die Lipophilie durch das Einführen von entsprechenden Resten an der 2'-Position (Substituent R, Abb. 2.1) deutlich erhöht werden. Zu der zweiten Gruppe modifizierter ON sind solche mit derivatisierten Stickstoffbasen zu zählen (b). Sie ermöglichen u. a. eine Manipulation der  $\pi$ -Stacking-Interaktionen der Nucleobasen. Dadurch kann insbesondere die Affinität von ON zu komplementären Strängen oder auch Duplices erhöht werden. Am gründlichsten untersucht worden sind Modifikationen des polyanionischen Rückgrats der Nucleinsäuren (c). Solche Veränderungen können die Beständigkeit gegenüber hydrolytischem Abbau (Spaltung des Phosphatdiesters) durch intrazellulär vorkommende Endonucleasen oder Exonucleasen erhöhen, wenn die Erkennung der Nucleinsäurestruktur durch das jeweilige Enzym gestört wird oder wenn die neue Einheit gegenüber der hydrolytischen Spaltung weniger empfindlich ist als die Phosphatdiestereinheit. Zudem kann eine Reduzierung des polyanionischen Charakters dieser Makromoleküle deren Membrangängigkeit bedeutend erhöhen. Schließlich sind Modifikationen untersucht worden, in denen zugleich die Desoxyriboseeinheit und die Phosphateinheit ersetzt worden sind.



B = A, C, G, T  
R = H, OH

⇨ chemisch modifizierte Bereiche

- a: Modifikation der (Desoxy-)Riboseeinheit
- b: Modifikation der Stickstoffbase
- c: Modifikation der Verbrückung

**Abb. 2.1:** Einteilung der Arten von Modifikationen.



## 2.2 Modifikationen der Desoxyriboseeinheit

Ursächlich für die topologische Vielfalt der Sekundärstrukturen von Nucleinsäuren ist neben ungewöhnlichen Basenpaarungsmustern und der freien Rotierbarkeit der Phosphatdiesterbindungen die konformationelle Flexibilität der Zuckereinheit. So kann der Abstand der Phosphatdiestereinheiten um bis zu 1 Å in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Ringkonformeren der (Desoxy-)Riboseeinheit variieren.<sup>[24]</sup> Sie kann daher als dehnbares Element des Nucleinsäure-Rückgrats bezeichnet werden. Die Derivatisierungsmöglichkeiten der (Desoxy-)Riboseeinheit sind bedeutend vielseitiger als im Fall der Verbrückungen oder der Basenmodifikationen. Zu den drei wichtigsten Strategien sind Substitution von 4'-O, Modifikationen an der 2'-Position und die Verknüpfung von C-Atomen des Furanoserings durch zusätzliche Ringsysteme zu zählen. Die Substitution von 4'-O durch ein Schwefel- oder Selenatom führte hinsichtlich struktureller Parameter zu überraschenden Ergebnissen. In beiden Fällen nahmen die auf diese Weise modifizierten Nucleotideinheiten **1** und **2** (Abb. 2.2) bevorzugt die für die B-Helix-Struktur typische C-2'-*endo*-Konformation ein.<sup>[25-26]</sup> Es erscheint naheliegend, dass eine solche Vorzugskonformation zu einer Destabilisierung der A-Helix bzw. zur Stabilisierung einer B-Helix führen sollte. Ein möglicher Grund dafür kann der geringere zu erwartende Betrag an Reorganisationsenergie im Fall der B-Helix sein. Bei Untersuchungen der thermischen Stabilität von DNA/RNA-Hybriden mit punktuell eingebauten 4'-S- oder 4'-Se-Nucleosiden wurden jedoch eine erhöhte Affinität gegenüber RNA-Strängen und eine verminderte Affinität gegenüber DNA-Strängen beobachtet.<sup>[26-27]</sup> Ein weiterer unerwarteter Befund war die durch die Einführung von Selenatomen anstelle von 4'-O hervorgerufene Störung der Basenstapelung.<sup>[26]</sup>

Eine ausgeprägte Steigerung der Affinität von ON gegenüber komplementären RNA-Sequenzen wurde durch die Einführung von Fluoratomen an der 2'-Position von Nucleosiden erreicht (Abb. 2.2). Substituenten mit hoher Elektronegativität in 2'-Position bewirken eine Verschiebung des Gleichgewichts in Richtung der mit der A-Helix kompatiblen 3'-*endo*-Konformation der Nucleotiduntereinheit.<sup>[28]</sup> Hierbei handelt es sich anscheinend um einen stereoelektronischen Effekt, denn die antiperiplanare Anordnung von 2'-F und 3'-H sollte energetisch begünstigt sein. Eine erhebliche Steigerung der Duplex-Stabilität liegt vor allem im Fall von uniformen 2'-F-ON vor.<sup>[29]</sup> Es wurden noch zahlreiche Modifikationen an der 2'-Position untersucht,

darunter auch 2'-O-Alkyl-Derivate. Dieser Ansatz wurde mit dem Ziel verfolgt, die Membrangängigkeit der ON zu erhöhen.

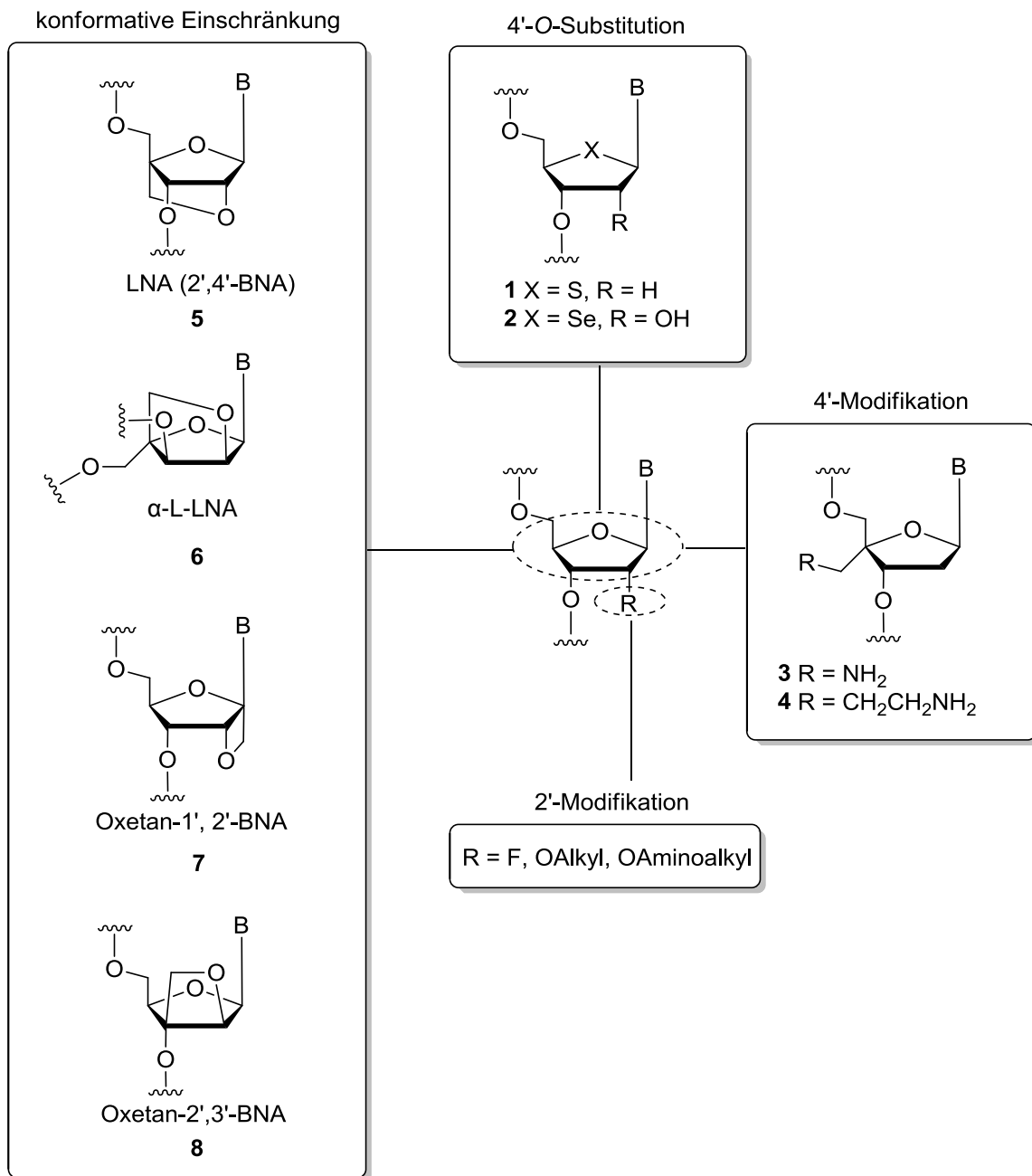


Abb. 2.2: Motive zur Variation der (Desoxy-)Riboseeinheit.

Die Untersuchung von Alkylresten unterschiedlicher Größe in 2'-Position ergab abnehmende Duplexstabilitäten bei zunehmendem sterischen Anspruch der Alkylreste.<sup>[28]</sup> Als Begründungen wurden sterische Interaktionen der Alkylgruppe mit anderen Teilen der Duplex sowie eine Störung der Hydrathülle der Helix angeführt.<sup>[28]</sup> Positiv geladene Substituenten in 2'-Position wie O-Aminoalkyl-Einheiten fördern die Bildung von Tripelhelices mit Nucleinsäure-Doppelsträngen, wobei es zu einer

spezifischen Wechselwirkung des kationischen Rests mit der benachbarten Phosphatdiesterseinheit (*pro-R-O-Atom*) eines der beiden Gegenstränge kommt. Dadurch resultiert sowohl eine thermodynamische Stabilisierung der Triplices als auch eine Beschleunigung der Assoziation um den Faktor 1000.<sup>[30]</sup> Die Einführung von Aminoalkyl-Einheiten in 4'-Position (Abb. 2.2, Strukturen **3** und **4**) wurde von *Matsuda* realisiert. Auf diese Weise modifizierte DNA-Einzelstränge bildeten mit komplementären RNA-Strängen bei geringer Ionenstärke (0.01 M NaCl) Duplices von größerer Stabilität ( $\Delta T_m = 0$  bis  $+4.5$  °C/Mod.) als unmodifizierte Hybride. Dagegen war bei höherer Ionenstärke generell eine Destabilisierung der Duplices zu beobachten.<sup>[31]</sup>

Hinsichtlich der Duplexstabilität zeichnete sich das Konzept der konformativen Einschränkung als besonders erfolgreich aus. Die auf dieser Grundlage von *Wengel*<sup>[32-33]</sup> und *Imanishi*<sup>[34]</sup> voneinander unabhängig entwickelten ON, die aus bicyclischen Nucleotiden bestehen oder diese enthalten, werden allgemein als „LNA“ (locked nucleic acids) (Abb. 2.2, Strukturen **5** und **6**) oder „BNA“ (bicyclic nucleic acids) bezeichnet (Abb. 2.2, Strukturen **7** und **8**).<sup>[35-36]</sup> Allerdings wurde bereits vor der synthetischen Realisierung dieser Nucleinsäure-Analoga angenommen, dass die Reduktion der Entropieabnahme bei der Hybridisierung zu einer erheblichen Duplex-Stabilisierung führen könnte.<sup>[37]</sup> Wird die Riboseeinheit eines Nucleotids über eine Verknüpfung zwischen 2'-C und 4'-C auf der  $\beta$ -Seite kovalent verbunden, erfolgt eine Festlegung dieser Einheit auf die 3'-*endo*-Konformation (N-Konformation). Der entgegengesetzte Effekt, nämlich die Festlegung auf die 2'-*endo*-Konformation, kann durch Anbringen einer analogen Verknüpfung auf der  $\alpha$ -Seite der Riboseeinheit bewirkt werden. In diesem Fall werden die ON als „ $\alpha$ -L-LNA“ bezeichnet. Zusätzlich ist bei  $\alpha$ -L-LNA die Konfiguration in 3'-Position umgekehrt zu derjenigen von LNA. Wie bereits erwähnt, erscheint es naheliegend, dass die Vorzugskonformation der Nucleotide sich im Sinne einer Stabilisierung der Duplex auswirken sollte, sofern die bevorzugte Konformation der (Desoxy-)Riboseeinheit (3'-*endo* (N) oder 2'-*endo* (S)) zu der Helixart (A oder B) „passt“. Erstaunlicherweise fanden *Rajwanshi* et al. bei dem Vergleich der beiden Isomere  $\alpha$ -L-LNA und LNA hinsichtlich der Hybridisierung mit RNA-Strängen heraus, dass die signifikante Erhöhung der Duplexstabilität in beiden Fällen recht ähnlich ist ( $\Delta T_m = +5.3$  für  $\alpha$ -L-LNA bzw.  $\Delta T_m = +7.3$  °C/Mod. für LNA mit komplementärer RNA).<sup>[36]</sup> Auch im Fall von Duplices aus LNA und DNA wurde eine deutliche Stabilisierung von  $\Delta T_m/\text{mod.} = +3$  bis  $+5$  °C beobachtet.<sup>[33]</sup>

Diese Befunde wären auf Basis der Geometrie nicht erwartet worden, da die Riboseeinheit der  $\alpha$ -L-LNA in einer für die Hybridisierung mit RNA-Strängen „ungeeigneten“ Konformation (S-Konformation) festgelegt ist. Ebenso sollte auch die Präorganisation von LNA-Bausteinen (N-Konformation) nicht mit der B-Helix-Geometrie harmonieren. Die Gegenwart der Verknüpfungen zwischen 2'-C und 4'-C zog jedoch in beiden Fällen keine Störung der Helixstruktur nach sich.<sup>[38]</sup> Vielmehr wurde gezeigt, dass die Präorganisation der Riboseringe bei der Helix die entsprechende Geometrie induziert. Während  $\alpha$ -L-LNA die B-Helix-Form hervorruft,<sup>[38]</sup> weisen LNA-Bausteine die Neigung auf, die A-Helix-Struktur einzuführen.<sup>[39]</sup> Darüber hinaus zeichnet die LNA sich gegenüber natürlichen Nucleinsäuren durch eine erhöhte Mismatch-Erkennung aus.<sup>[32]</sup> Allerdings bilden LNA-modifizierte ON sehr stabile Homoduplices oder Haarnadel-Strukturen, insbesondere wenn LNA-LNA-Paarungen innerhalb der Duplex vorliegen.<sup>[40]</sup> LNA sind bereits im Rahmen von Untersuchungen zu einem potentiellen Krebstherapeutikum *in vivo* auf ihre Wirksamkeit geprüft worden.<sup>[41]</sup> Allerdings wurde für LNA-ON auch Lebertoxizität nachgewiesen.<sup>[42]</sup> Aktuell befinden sich fünf verschiedene LNA-basierte Therapeutika in der klinischen Testphase.<sup>[40]</sup> Weitere potentielle Anwendungen der LNA sind die Entwicklung von hochaffinen miRNA-Detektoren<sup>[43]</sup> oder spezifischen Proben<sup>[44]</sup> für die real-time qPCR (quantitative polymerase chain reaction). Aufbauend auf dem Konzept der konformationellen Restriktion wurden weitere Versuche unternommen, um allgemeine Verbesserungen der biophysikalischen und pharmakologischen Eigenschaften von ON zu erzielen. Es wurden Oxetan-Ringe<sup>[45]</sup> zur Verknüpfung von 1'-C und 2'-C oder 2'-C und 3'-C an der (Desoxy-)Riboseeinheit eingeführt oder die entsprechenden Ringe erweitert, wie im Fall der „ENA“ (ethylene nucleic acids).<sup>[46]</sup> Die ENA sind den LNA recht ähnlich, wobei ihr entscheidender Vorteil in der wesentlich höheren Nuclease-Stabilität liegt.<sup>[47]</sup> Das Potential in diesem Bereich scheint aber noch nicht erschöpft zu sein. *Kumar* et al. berichteten über eine Strategie zum Einbau von Interkalatoren in Oligonucleotide über eine neuartige Variante von  $\alpha$ -L-LNA. Durch diese Derivatisierung wurde infolge der Verstärkung des  $\pi$ -Stacking der Stickstoffbasen die thermische Stabilität der mit komplementären DNA-Strängen gebildeten Tripelhelices drastisch erhöht (bis zu +19.5 °C/Mod.).<sup>[48]</sup> Es sind auch Rückgratmodifikationen bekannt, die eine vollständige Ersetzung des (Desoxy-)Ribose-phosphat-Rückgrats implizieren. Einige Beispiele für solche Analoga sind in Kap. 2.4.4 angeführt.

## 2.3 Nucleobasenmodifikationen

Chemische Modifikationen von Basen wurden zunächst mit der Zielsetzung konzipiert, Triplex-bildende Oligonucleotide (TFO) herzustellen. TFO könnten als Reagenzien für die Einführung ortsspezifischer Mutationen<sup>[49]</sup> oder als antivirale Wirkstoffe<sup>[50]</sup> eingesetzt werden. Die Interaktionen der Nucleobasen über  $\pi$ -Stapelkräfte und Wasserstoffbrückenbindungen sind von zentraler Bedeutung für die Duplexbildung und es erscheint naheliegend, dass eine Vergrößerung des  $\pi$ -Elektronensystems zu einer Erhöhung der  $\pi$ -Stapelkräfte und folglich zu einer größeren Duplexstabilität führen würde. Daher wurden einige vergrößerte Ringsysteme synthetisiert oder diverse Untereinheiten an verschiedenen Positionen der Nucleobasen eingeführt. Die Auswirkung von Substituenten an Pyrimidinbasen auf die Duplexstabilität ist sowohl von der Position als auch von der Art der Substituenten abhängig. Während Halogene in Position 5 keinen Einfluss zeigen, verursacht das Vorhandensein einer Propargylgruppe (Abb. 2.3, Struktur **9**) in der gleichen Position eine Stabilisierung von DNA/RNA-Duplices um +0.9 bis +2.6 °C/Mod.<sup>[28]</sup> Ein vergleichbar stabilisierender Effekt konnte bei DNA/RNA-Duplices mit 5-Methylthiazol-substituiertem dU **10** (Abb. 2.3) beobachtet werden.<sup>[51]</sup> Substitution des H-Atoms in 6-Position durch eine Methylgruppe oder das Einführen einer Propylen-Verbrückung zwischen der 5- und der 6-Position (Abb. 2.3, Strukturen **11** und **12**) führten zu deutlich herabgesetzten  $T_m$ -Werten (-2.7 bis -3.9 °C/Mod.) von DNA/RNA-Duplices.<sup>[28]</sup> Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Einschränkung der konformativen Flexibilität der Nucleobasen, die aufgrund des sterischen Anspruchs der Reste in 6-Position nicht mehr die *anti*-Konformation einnehmen konnten.<sup>[52]</sup> Auch kationische Substituenten sind an Pyrimidin-Nucleobasen – bevorzugt an den Positionen 4 oder 5 – eingeführt worden. Dazu gehören  $\omega$ -Aminoethyl-<sup>[53]</sup> **13**, Spermin-<sup>[54]</sup> **14** und 1-Propargylamino-Gruppen<sup>[55]</sup> **15** oder über einen Propargyllinker verknüpfte Guanidineinheiten<sup>[56]</sup> **16** (Abb. 2.3). Solche Substitutionen erhöhen generell die thermische Stabilität von DNA/DNA- und DNA/RNA-Duplices. Auch wird bis auf wenige Ausnahmen<sup>[57]</sup> die Tendenz zur Triplexbildung gesteigert. Die Vermutung, dass die Ursache dafür in der positiven Ladung liegt, wurde durch den Nachweis verringerter Stabilität der entsprechend modifizierten Duplices bei höheren pH-Werten bestätigt.<sup>[54-55]</sup> Im Fall von komplett zwitterionischen Oligonucleotiden wurde die interessante Beobachtung gemacht, dass die Duplexstabilität gegenüber der Ionenstärke der Lösung nahezu unempfindlich ist.<sup>[53]</sup>

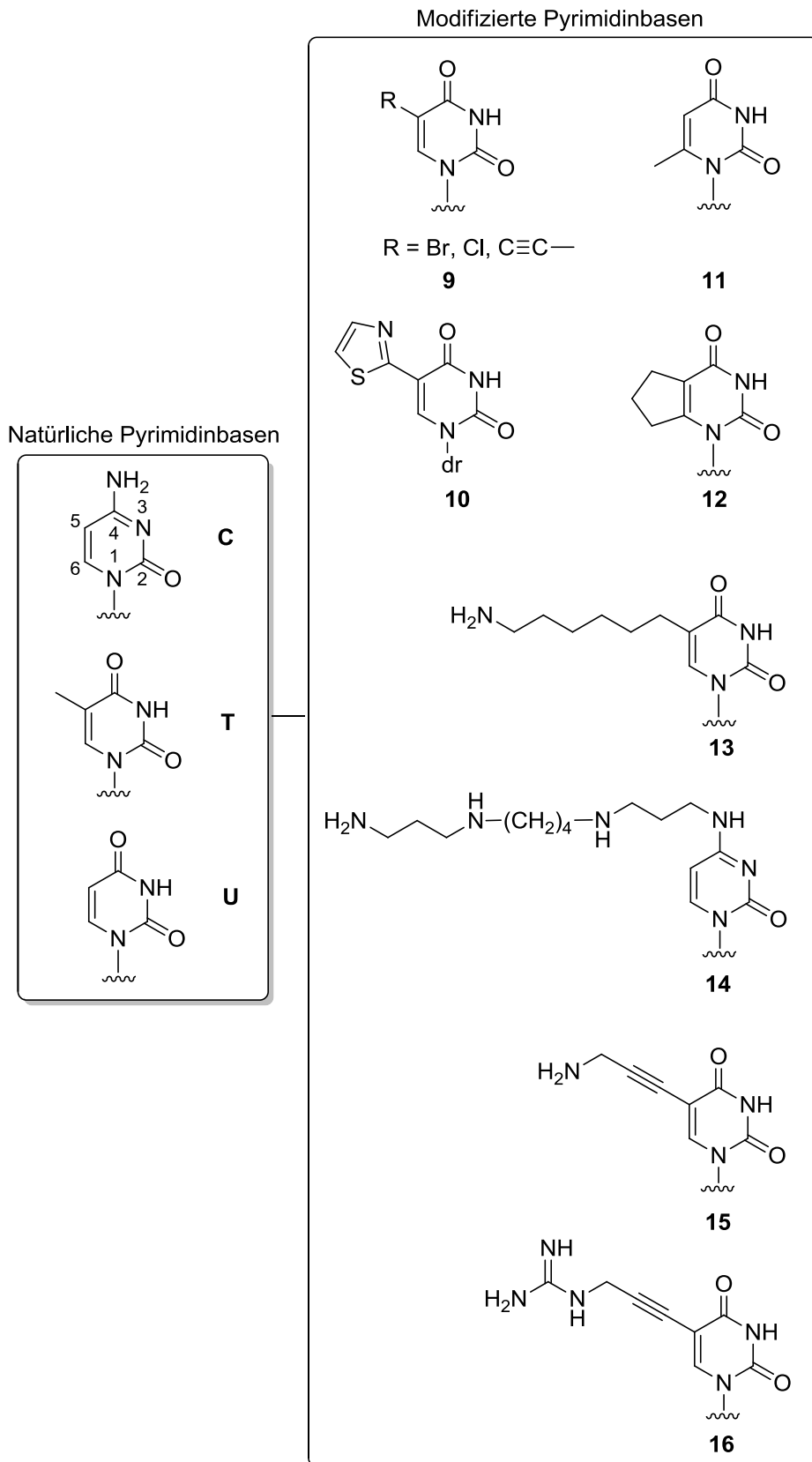
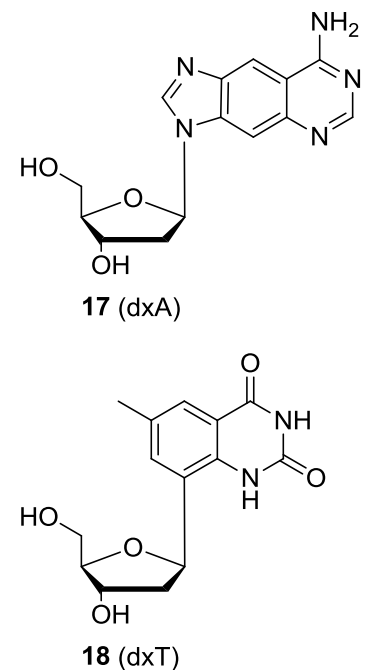
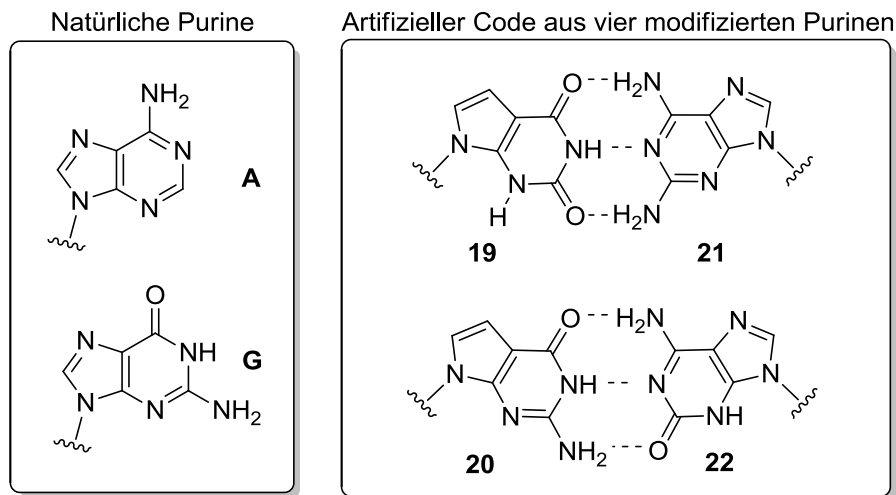


Abb. 2.3: Einige Motive zur Variation der Pyrimidinbasen.

Bei Erweiterungen der Nucleobasen durch Ringsysteme können generell zwei Auswirkungen erwartet werden. Zum einen kann die Helixstruktur durch größere Basen aufgrund ihres sterischen Anspruchs verzerrt werden, woraus eine Destabilisierung resultieren würde. Zum anderen kann die Stabilität durch zusätzliche Stapelkräfte erhöht werden. Um das Verhältnis dieser gegenläufigen Effekte zu analysieren, wurden um einen Benzolring erweiterte Derivate **17** (dxA) und **18** (dxT) (Abb. 2.4) von Thymidin und Desoxyadenosin synthetisiert und in verschiedene ON eingeführt.<sup>[58]</sup> Bei vereinzelter Modifikation natürlicher Duplices durch **17** (dxA) oder **18** (dxT) resultierte eine Destabilisierung der Duplex, während 10 bp-Duplices, die nur aus **17** (dxA)-T- und **18** (dxT)-dA-Basenpaaren aufgebaut waren, deutlich erhöhte thermische Stabilitäten ( $\Delta T_m = +3.4$  bis  $+5$  °C/Mod.) aufwiesen, obwohl der Abstand gegenüberliegender Desoxyriboseeinheiten mit 12.9 Å um etwa 2 Å größer ist als bei der B-Helix.<sup>[58]</sup> Auf diese Weise konnte gezeigt werden, dass genetische Systeme nicht notwendigerweise auf die Größenparameter bekannter Helices beschränkt sind. Nach ähnlichen Prinzipien wurden weitere artifizielle genetische Systeme konzipiert, um Hypothesen zur graduellen Entstehung des natürlich vorkommenden, genetischen Vier-Basen-Systems experimentell zu prüfen oder eine Grundlage für neuartige Informationsverarbeitungssysteme zu schaffen. Ein alternativer genetischer Code, der nur Purinbasen enthält, wurde von *Heuberger* und *Switzer* untersucht.<sup>[59]</sup> Dabei wurden 7-Deazapurine **19** und **20**, Isoguanin **21** und Diaminopurin **22** verwendet (Abb. 2.5), um Basenpaarungen nach dem *Hoogsteen*-Muster auszuschließen und damit einhergehende komplexe Assoziationen wie Triplices oder Quadruplices zu verringern. Entgegen den Erwartungen traten jedoch in einigen Fällen Selbstassoziation und Ausbildung von Strukturen höherer Ordnung auf.<sup>[59]</sup> Auch erscheint es unklar, wie ein solches System durch chemische Prozesse graduell den natürlichen Vier-Basen-Code hervorgebracht haben könnte.

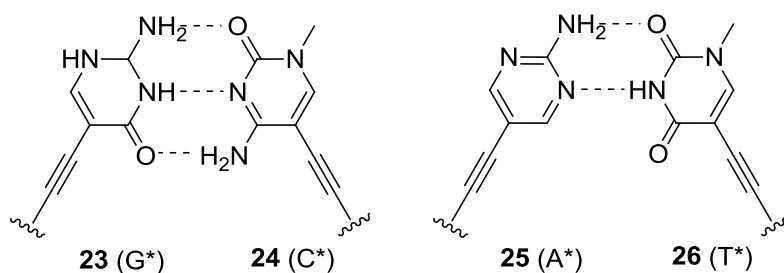


**Abb. 2.4:** Strukturen der modifizierten Nucleoside dxA und dxT mit vergrößerten Basen.



**Abb. 2.5:** Strukturen der natürlichen Purine und Paarung der vier nicht-natürlichen Purinbasen **19-22**.

Ein artifizielles genetisches System mit vier Pyrimidin-Basen **23-26** (Abb. 2.6), die über Alkynyl-Linker durch eine C-glykosidische Bindung an die Desoxyriboseeinheit gebunden waren, wurde von *Doi et al.* konzipiert.<sup>[60]</sup> Experimentelle Daten ließen auf ähnliche Eigenschaften der Duplices (rechtsgängige Helices, vergleichbare thermische Stabilität) wie im Fall der kanonischen Basen schließen.<sup>[60]</sup> Im Unterschied zum natürlichen System beruht die molekulare Erkennung in diesem artifiziellem System jedoch nicht auf der Größenkompatibilität der Nucleobasen, sondern ausschließlich auf Wasserstoff-Brückenbindungen. Dennoch wurde im Fall von Mismatches eine vergleichbar große Destabilisierung der Duplices nachgewiesen.<sup>[60]</sup> Aufgrund der C-glykosidischen Bindungen sollten diese Nucleinsäure-Analoga gegenüber dem Abbau durch Mikroorganismen unempfindlich sein und könnten daher als Material für die Informationsspeicherung genutzt werden.



**Abb. 2.6:** Paarung der vier nicht-natürlichen Pyrimidinbasen **23-26**.

Es ist noch eine große Vielzahl an Nucleobasenmodifikationen bekannt, auf die hier jedoch aufgrund der vergleichsweise geringen Relevanz für den Kontext der Arbeit nicht eingegangen werden soll.

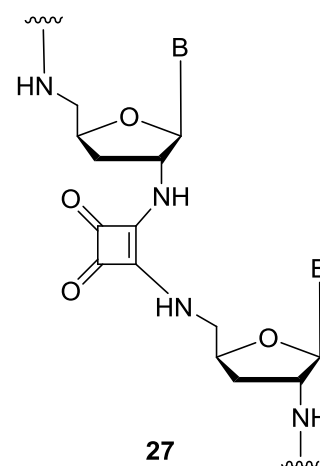


## 2.4 Rückgratmodifikationen

Ungeachtet ihrer geringen Reaktivität – sei es als Abgangsgruppe in nucleophilen Substitutionen und Eliminierungen oder auch als Nucleophil – sind Phosphatgruppen in sämtlichen biochemischen Prozessen eine vielseitig verwendete molekulare Einheit. Zahlreiche chemische Aktivierungsprozesse im Lipid-, Aminosäure- und Kohlehydratstoffwechsel verlaufen unter Beteiligung von Phosphatgruppen. Auch auf der Ebene der genetischen Moleküle DNA und RNA sind die Phosphate essentiell. Beispiele dafür sind die Wechselwirkung der DNA mit den Histonoktameren oder die Schlüsselfunktion der Phosphatdiester bei der Replikation, Transkription und der Spleißreaktion von mRNA-Vorläufern. Daher schrieb *Westheimer* in einer vielzitierten Veröffentlichung:<sup>[22]</sup> „Granted that Phosphates are ubiquitous in biochemistry, what do they do? The answer is that they can do everything.“ Ein wichtiges Charakteristikum von natürlichen Phosphatdiesterbrücken ist deren hohe Acidität. Folglich sollten unmodifizierte ON unter physiologischen Bedingungen von ausgeprägt anionischer Natur sein. Massenspektrometrischen Untersuchungen zufolge sind im zeitlichen Mittel nur 20-30% der Phosphatdiesterbrücken einer aus 20 Nucleotiden bestehenden Sequenz deprotoniert, woraus eine tatsächliche Ladung von -4 bis -6 resultieren würde.<sup>[61]</sup> Es ist jedoch fraglich, ob dieser Befund die tatsächliche Situation in der Zelle widerspiegelt. Die negative Ladung von Phosphatdiesterbrücken führt bei einer Wechselwirkung zweier ON zur Repulsion und folglich zur Destabilisierung von DNA- bzw. RNA-Doppelsträngen. In der Zelle wird die negative Ladung der Phosphatdiester durch das Vorhandensein von Kationen wie  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  oder  $\text{Mg}^{2+}$  teilweise abgeschirmt. Des Weiteren bewirkt die negative Ladung der Phosphatdiester auch eine Repulsion von Nucleophilen. Dies ist besonders für die Inertheit genetischen Materials gegenüber der unkatalysierten und folglich unkontrollierten Hydrolysereaktion notwendig. Ein Vergleich der Hydrolyseraten des einfach negativ geladenen Dimethylphosphations und derjenigen des neutralen Trimethylphosphats erwies, dass die negativ geladene Spezies unter alkalischen Bedingungen um einen Faktor von  $10^5$  langsamer hydrolysiert wird.<sup>[62]</sup>

In zahlreichen Arbeiten umfasste die Konzeption von artifiziellen Internucleosidbrücken neben der Erhöhung der Nucleasestabilität auch oft die Eliminierung der negativen Ladung oder deren Ersetzung durch positive Ladung, um eine Erhöhung des  $T_m$ -Werts von Hybriden der ON mit DNA- oder RNA-Strängen zu

ermöglichen oder ihre Membrangängigkeit zu verbessern. Eine wichtige Randbedingung stellt dabei die einzuhaltende strukturelle Ähnlichkeit der artifizellen Verbrückungen mit den natürlichen dar. Anderenfalls kann die strukturelle Verzerrung der gebildeten Doppelhelix zu einer empfindlichen Störung der Geometrie der Basenpaarung führen, wodurch die thermische Stabilität der Duplex herabgesetzt wird. Als typisches Beispiel hierfür sei die 2'-5'-Squaryldiamid-Modifikation **27** (Abb. 2.7) angeführt.<sup>[63]</sup> Diese Analoga bilden deutlich weniger stabile ( $\Delta T_m = -15.3 \text{ °C/Mod.}$ ) und strukturell verzerrte Duplices mit komplementären DNA-Strängen.<sup>[63]</sup> Zwar argumentieren die Autoren, dass die Squaryldiamid-Modifikation im Hinblick auf elektronische Eigenschaften der Phosphatdiester-Einheit ähnlich sei. Doch erscheint es naheliegend, dass die planare Anordnung der Atome der Squarylamideinheit und die eingeschränkte Rotationsfreiheit der N-C-Bindungen mit partiellem Doppelbindungscharakter zu ungünstigen Torsionswinkeln führen, die eine Verzerrung der Helixgeometrie verursachen.

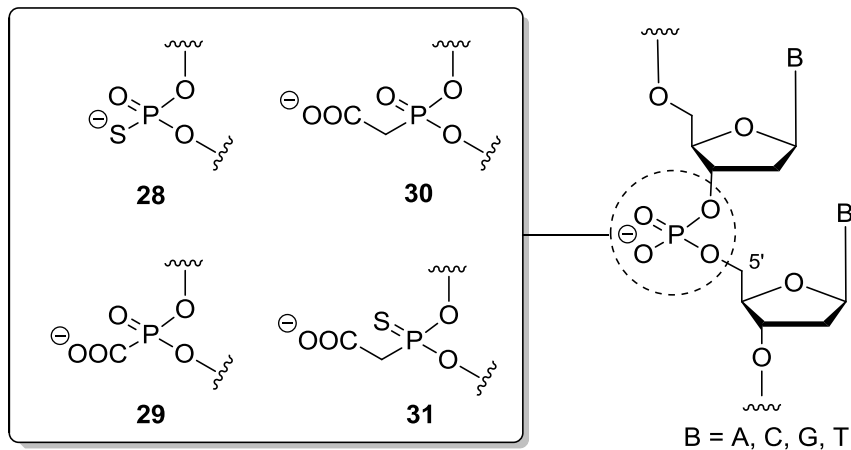


**Abb. 2.7:** 2'-5'-Squaryldiamid-Verbrückung **27**.

### 2.4.1 Anionische Rückgratmodifikationen

Ausgehend von der Annahme, dass für eine Verwendung von Oligonucleotid-Analoga als Therapeutika deren Struktur derjenigen natürlicher Nucleinsäuren möglichst ähnlich sein müsse, wurden Nucleinsäureanaloga mit geringfügig modifizierten Verbrückungen hergestellt. In vielen Fällen wurde nur ein Sauerstoffatom durch eine andere chemische Einheit substituiert, ohne dabei die negative Ladung zu entfernen oder durch eine positive zu ersetzen. Zu dieser Klasse gehören die bereits Ende der 1980er Jahre von *Eckstein* etablierten Phosphorthioat-ON **28** (PS-ON, Abb. 2.8).<sup>[64]</sup> Sie sind aufgrund ihrer erhöhten Stabilität gegenüber intrazellulär vorkommenden Nucleasen und der Stimulierung des RNaseH-vermittelten Abbaus von RNA-Zielsequenzen nach wie vor ein Gegenstand der medizinischen Forschung.<sup>[65]</sup> Der von der Firma ISIS-Pharmaceuticals entwickelte Wirkstoff Fomivirsen (Vitravene®) gehört zu den Phosphorthioaten und wurde durch die FDA zur Behandlung von Cytomegalovirus-Retinitis zugelassen. Aufgrund des stereogenen Charakters der PS-ON-Einheit sind zwei stereoisomere Verbrückungen

möglich. Uniforme  $S_p$ -Phosphorthioate bilden mit komplementären RNA-Strängen bedeutend weniger stabile Duplices als uniforme  $R_p$ -Phosphorthioate.<sup>[66]</sup> Weitere ON mit negativ geladenen Verbrückungen sind die von *Caruthers* untersuchten Phosphonoformiate<sup>[67]</sup> **29**, Phosphonoacetate<sup>[68]</sup> **30** und Thiophosphonoacetate<sup>[68]</sup> **31** (Abb. 2.8).



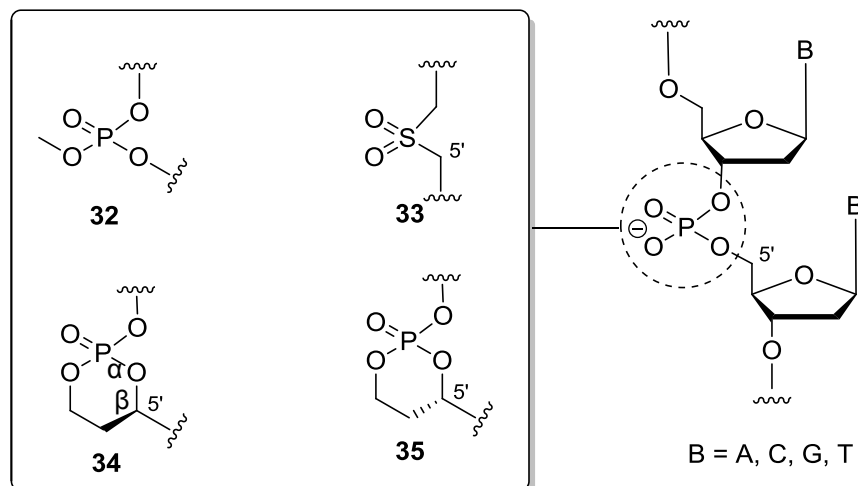
**Abb. 2.8:** Anionische Rückgratmodifikationen **28-31**.

Gemeinsame Merkmale dieser Internucleotidbrücken sind deren stereogener Charakter und eine am Phosphoratom befindliche Carboxylatgruppe (Formyl- oder Acetylgruppe). Während die Phosphonoformiate **29** (Abb. 2.8) leicht stabilisierend auf DNA/RNA-Duplices wirken, wurde im Fall der anderen Modifikationen eine leichte Verringerung der Duplex-Stabilität (-0.3 bis -1.8 °C/Mod.) verzeichnet. Insgesamt erweisen sich Brückenmodifikationen, in denen die negative Ladung und das Phosphoratom beibehalten werden, hinsichtlich ihrer Eigenschaften den Phosphatdiestern als relativ ähnlich.

## 2.4.2 Elektroneutrale Rückgratmodifikationen

Ein anderer Ansatz für die Konzeption modifizierter Internucleotidbrücken besteht darin, die negative Ladung zu eliminieren, ohne dabei die Phosphatdiestereinheit komplett zu ersetzen. Der ausgeprägt anionische Charakter der unmodifizierten Nucleinsäuren verhindert deren Diffusion durch die Zellmembran. Auch die zelluläre Aufnahme von ON, die über Rezeptor-vermittelte, adsorptive Endocytose verläuft, ist schwach ausgeprägt und strukturspezifisch.<sup>[69]</sup> Daher wurden zahlreiche

elektroneutrale Internucleotidbrücken konzipiert, um die Bioverfügbarkeit der Oligonucleotide zu verbessern.<sup>[70]</sup> Abgesehen von eher anwendungsbezogenen Arbeiten sind auch Untersuchungen an elektroneutralen Internucleotidbrücken durchgeführt worden, um die Relevanz der negativen Ladung für die physikochemischen Eigenschaften der Nucleinsäuren einschätzen zu können. Die bereits Ende der 1970er Jahre synthetisierten uniformen Methylphosphonate **32** (Abb. 2.9) – damals noch zu potentiellen bioanalytischen Zwecken – wiesen im Vergleich zu natürlichen Nucleinsäuren eine wesentlich geringere Löslichkeit in Wasser auf.<sup>[71]</sup> Zudem konnte anhand der Röntgenstrukturanalyse von Methylphosphonat-modifizierten Dinucleotideinheiten gezeigt werden, dass die Hydrathülle der Methylphosphonateinheiten stark verzerrt ist.<sup>[72-73]</sup> Ähnliche Phänomene wurden auch bei den gründlich untersuchten Dimethylensulfonen **33** (Abb. 2.9) beobachtet. Des Weiteren wurde gezeigt, dass die Löslichkeit uniformer Dimethylensulfon-modifizierter ON von ihrer Primärstruktur abhängig ist. Dies steht im Gegensatz zu Nucleinsäuren, deren physikalische Eigenschaften (Wasserlöslichkeit, Basenpaarung, Geschwindigkeit in der Gelelektrophorese) bei gleicher Länge nahezu sequenzunabhängig sind.<sup>[23]</sup>



**Abb. 2.9:** Elektroneutrale Rückgratmodifikationen **32-35**.

Auch das Aggregationsverhalten der uniformen elektroneutralen Dimethylensulfone **33** (Abb. 2.9) unterscheidet sich deutlich von demjenigen natürlicher Nucleinsäuren. Oligomere von acht oder mehr Monomeren tendieren zur Bildung sehr stabiler Sekundärstrukturen durch Faltung und nicht durch Hybridisierung mit komplementären Strängen.<sup>[23]</sup> Dies geschieht auch dann, wenn die Basensequenz

nicht auf eine Bildung von Haarnadel-Strukturen schließen lässt. Werden dagegen neutrale Modifikationen unter Beibehaltung des Phosphatdiesters vereinzelt in Nucleinsäure-Duplices eingeführt, resultiert fast ausschließlich eine Duplex-Destabilisierung.<sup>[28]</sup> Eine weitere interessante Rückgratmodifikation, in der die negative Ladung unter Erhalt der Phosphatdiestereinheit eliminiert wurde, ist die  $\alpha,\beta$ -D-CNA (dioxaphosphorinan constrained nucleic acids). Durch die Einführung einer Ethyleneinheit, die das C-5'-Atom mit einem Sauerstoffatom der Phosphatdiestereinheit verknüpft, konnten zwei konformationell eingeschränkte und ungeladene Internucleotidbrücken unterschiedlicher Konfiguration ( $R_{C5'}/S_p$  **34** und  $S_{C5'}/R_p$  **35**, Abb. 2.9) erhalten werden.<sup>[74]</sup> Auf diese Weise wurden die Torsionswinkel  $\alpha$  (P-O-Bindung, Abb. 2.9) und  $\beta$  (5'-C-O-Bindung, Abb. 2.9) entsprechend der jeweiligen Geometrie der Phosphatdiestereinheit festgelegt. Die  $R_{C5'}/S_p$  Einheit **34** wurde als „kanonisch“ bezeichnet, da sie die Phosphatdiestereinheit in der *gauche* (-)-Konformation ( $g^-$ ) festlegt, die auch in gewöhnlichen A- und B-Helixformen unmodifizierter Nucleinsäuren vorliegt. Die Einführung einer einzigen Modifikation dieses Typs ergab im Fall von DNA/DNA-Duplices (9mer) eine deutliche ( $\Delta T_m = +2.9$  bis  $+5.9$  °C/Mod) und im Fall von DNA/RNA-Duplices (9mer) eine geringe Erhöhung ( $\Delta T_m = +0.9$  °C/Mod.) der thermischen Stabilität.<sup>[74-75]</sup> Im Gegensatz dazu wurden sowohl DNA/DNA- als auch DNA/RNA-Duplices durch die Einführung einer „nicht-kanonischen“  $S_{C5'}/R_p$ -Einheit **35** ( $g^+$ -Konformation) deutlich destabilisiert ( $\Delta T_m = -9.0$  bzw.  $-6.1$  °C).<sup>[74-75]</sup> Anhand von einem 3D-Strukturmodell und CD-spektroskopischen Untersuchungen konnte bestätigt werden, dass die „kanonische“ D-CNA bei der Hybridisierung keine signifikante Veränderung der Torsionswinkel herbeiführt und insbesondere mit der B-Helixform kompatibel ist, während die „nicht-kanonische“ D-CNA strukturelle Verzerrungen verursacht, die auch bei Interaktionen der Nucleinsäuren mit Proteinen beobachtet werden.<sup>[74]</sup> Außerdem stabilisiert die nicht-kanonische D-CNA-Modifikation Haarnadelstrukturen beträchtlich ( $\Delta T_m = +7.4$  °C), sofern sie in der loop-Region lokalisiert ist.<sup>[75]</sup>

Es sind vermehrt auch neutrale Internucleotidbrücken untersucht worden, in denen eine komplette Ersetzung der Phosphatdiestereinheit vorgenommen wurde. Einer der wichtigsten Repräsentanten dieser Klasse sind die von *de Mesmaeker* entwickelten Amid-Verbrückungen **36-38** (Abb. 2.10).<sup>[76]</sup> Sie gehören zu den punktuellen Rückgrat-Modifikationen, deren Einbau durch Einfügen von Amid-verknüpften Nucleosid-Dimeren in eine Nucleotidsequenz mittels festphasengestützter ON-

Synthese möglich ist. Innerhalb einer solchen Sequenz liegen demnach alternierende Phosphatdiester- und Amidbrücken vor. Die Hauptgründe für die intensiven Untersuchungen dieser Variante der Verbrückung sind neben deren Elektroneutralität die Nicht-Stereogenität und der ausgesprochen hohe Grad an Inertheit gegenüber Hydrolyse (Nuclease-Abbau). Der Einfluss der Amid-Verbrückung auf die thermische Stabilität der DNA/RNA-Hybride ist insbesondere von der Position der Amidbindung innerhalb der Verbrückung abhängig.<sup>[76-78]</sup> Die besten Resultate hinsichtlich der Duplexstabilität mit komplementären RNA-Strängen wurden erzielt, wenn die Amidbindung in der Mitte der Verbrückung (Abb. 2.10 Struktur **36**) angeordnet war ( $\Delta T_m = +0.5$  bis  $+3$  °C/Mod.).<sup>[76]</sup> Als Begründung hierfür wurde eine durch die Amidbindung induzierte Vorzugskonformation (3'-endo) der Riboseeinheit diskutiert.<sup>[78]</sup> Die Vorzugskonformation rührt daher, dass die hinsichtlich der Rotation eingeschränkte Amidbindung bevorzugt in der *trans*-Konformation vorliegt und die Torsionswinkel der anderen Bindungen der Verbrückung verzerrt. Dies wurde anhand von molekularmechanischen Simulationen bestätigt.<sup>[76]</sup> Die dadurch erzeugte Geometrie der (Desoxy-)Riboseeinheit (3'-endo) ist vorteilhaft für die Hybridisierung im Sinne einer A-Helix. Dazu passt auch der Befund, dass modifizierte DNA/RNA-Duplices durch die Modifikation **36** stabilisiert und DNA/DNA-Duplices destabilisiert wurden.<sup>[77]</sup> Andere Positionen der Amidbindung **37** und **38** (Abb. 2.10) führten hingegen in den meisten Fällen zu einer Destabilisierung ( $\Delta T_m = -0.5$  bis  $-2.9$  °C/Mod.) von DNA/DNA- und von DNA/RNA-Duplices.<sup>[78-79]</sup>

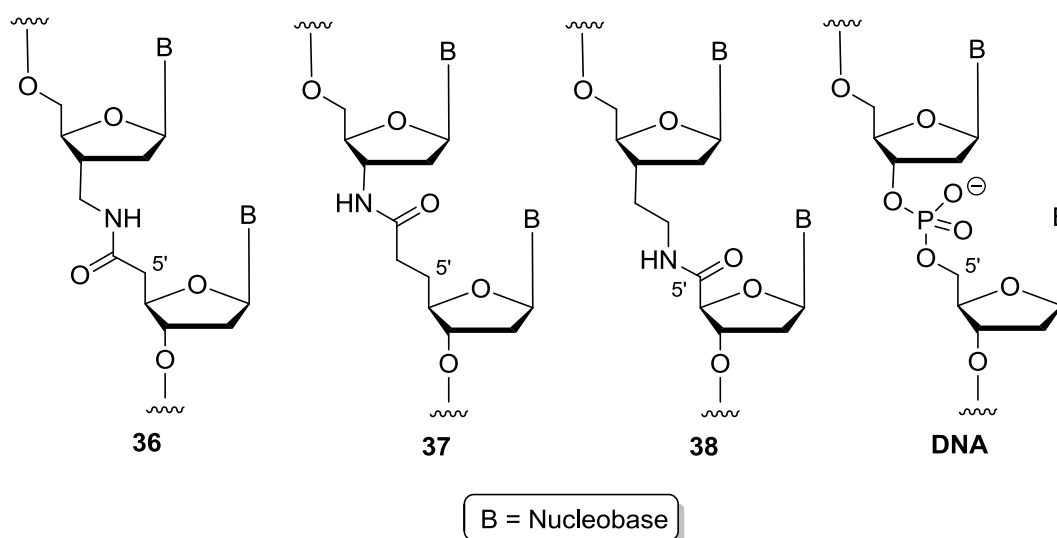


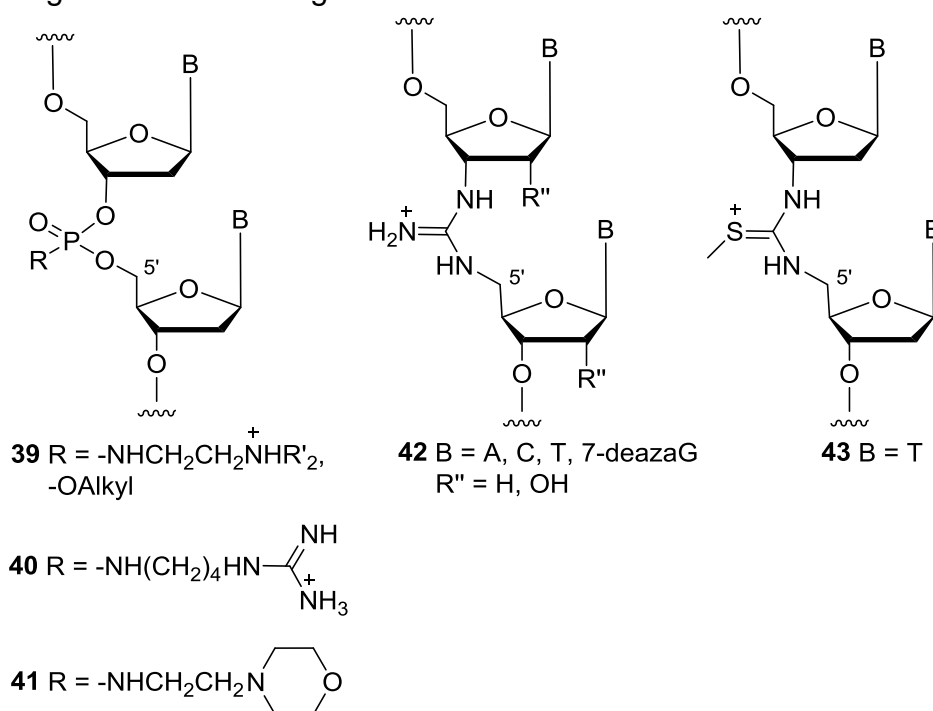
Abb. 2.10: Amidmodifikationen **36-38** nach *De Mesmaeker*.

Dieser Sachverhalt wurde ebenfalls anhand der Vorzugskonformationen der Internucleosidbrücken **37** und **38** begründet.<sup>[78-79]</sup> Substitutionen von Phosphateinheiten durch Amide wurden auch an RNA/RNA-Doppelsträngen durchgeführt. Überraschenderweise traten selbst bei der Substitution von zehn Phosphateinheiten durch Amide in einem 26mer nur geringfügige Veränderungen der physikochemischen Eigenschaften wie Hydratation, Duplexstabilität ( $\Delta T_m = -0.5 \text{ °C/Mod.}$ ) oder Geometrie auf.<sup>[80]</sup> Insgesamt wird also deutlich, dass bei singulären oder alternierenden elektroneutralen Brücken-Modifikationen die Auswirkung der Vorzugskonformation über den elektrostatischen Effekt dominiert. Ein uniform ungeladenes Rückgrat führt hingegen zu Eigenschaften des Biopolymers, die für Proteine typisch sind.

### 2.4.3 Kationische und zwitterionische Rückgratmodifikationen

Im Unterschied zu den bisher angeführten neutralen oder negativ geladenen Rückgratmodifikationen sind bisher nur vereinzelt Methoden entwickelt worden, um Nucleinsäureanaloga mit einem zwitterionischen oder vollständig kationischen Rückgrat herzustellen. Obwohl die ersten Oligonucleotide mit kationischen Internucleotidbrücken bereits 1988 von *Letsinger* etabliert worden sind, beschränken sich die bisher veröffentlichten Arbeiten auf Phosphoramidate<sup>[81-85]</sup> **39-41**, DNG/RNG<sup>[86-89]</sup> (deoxyribonucleic/ribonucleic guanidine) **42** und DNmt<sup>[86,90-92]</sup> (deoxynucleic methylthiourea) **43** (Abb. 2.11). Die Phosphoramidate sind zunächst synthetisiert worden, um die Auswirkung komplementär geladener Rückgratstrukturen auf die Hybridisierung zweier DNA-Einzelstränge zu untersuchen.<sup>[81]</sup> Bei physiologischen Bedingungen sind Doppelstränge aus DNA und Phosphoramidat-Analoga stabiler ( $\Delta T_m = +2$  bis  $+3 \text{ °C/Mod.}$ ) als unmodifizierte Duplices. Die Variation der Parameter des Mediums ergab, dass die Affinität der oligokationischen Stränge gegenüber unmodifizierten DNA-Sequenzen im Wesentlichen von zwei Parametern abhängig ist: der Ionenstärke und dem pH-Wert. Während die thermische Stabilität natürlicher DNA-Doppelstränge mit zunehmender Ionenstärke ansteigt, zeigt sich im Fall komplementär geladener Rückgratstrukturen der entgegengesetzte Trend.<sup>[81]</sup> Für eine Duplex, in der ein Strang in jeder zweiten Position eine positiv geladene Phosphoramidat-Einheit aufwies, wurde eine ausgeprägte Unempfindlichkeit gegenüber der Variation der Ionenstärke gezeigt.

Dieses Ergebnis wurde durch eine spätere Arbeit<sup>[93]</sup> von *Michel* und *Gryaznov* an zwitterionischen Phosphoramidaten bestätigt und stimmt sehr gut mit den Befunden der Untersuchungen an Basen-modifizierten, zwitterionischen ON überein (s. 2.3). Eine plausible Begründung dafür ist durch den Einfluss des zwitterionischen Ladungsmusters auf die Entropieänderung der Hybridisierung gegeben.<sup>[53]</sup> Infolge der Assoziation zweier negativer Polymere wird die Ladungsdichte erhöht. Dies wird durch die Anlagerung zusätzlicher Kationen aus der Lösung kompensiert. Diese zusätzlichen Kationen gehen bei der Dissoziation des Doppelstrangs wieder in den hydratisierten Zustand über. Dieser Effekt trägt zur Entropiezunahme bei der Dissoziation zweier gleichnamig geladener Polymere bei. Da die Assoziation eines zwitterionischen mit einem uniform geladenen Strang nicht zu einer Erhöhung der Ladungsdichte führt, lagern sich keine zusätzlichen Kationen an und der Beitrag zur Entropieänderung entfällt. Die Auswirkung des pH-Werts entspricht ebenfalls den Erwartungen. Mit steigendem pH-Wert wurde eine abnehmende Stabilität von Duplices mit ergänzendem Ladungsmuster verzeichnet.<sup>[81]</sup>



**Abb. 2.11:** Kationische Rückgratmodifikationen **39-43**.

Auch hier ist eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Untersuchungen an zwitterionischen, Basen-modifizierten ON gegeben (s. Kap. 2.3). Die Phosphoramidat-Modifikation ermöglicht zudem die Variation ihres Protolyseverhaltens, da an dem Linker verschiedene basische Untereinheiten mit



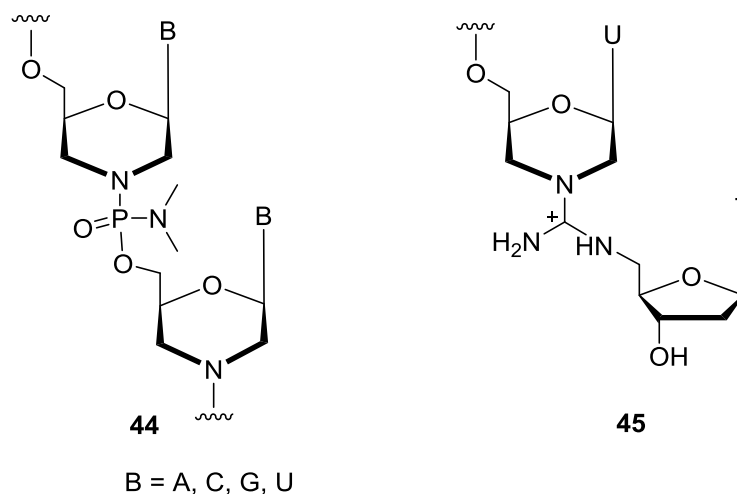
unterschiedlichen  $pK_b$ -Werten eingeführt werden können. Dazu gehören die stark basischen *N,N*-Dialkyl-ethylendiamin-Gruppen<sup>[82-83]</sup> **39** und Guanidin-Reste<sup>[85]</sup> **40** oder die schwächer basischen Morpholidate<sup>[81]</sup> **41** (Abb. 2.11). Spätere Arbeiten fokussierten sich vorwiegend auf die Verwendung von Phosphoramidat-Analoga als TFO für die Entwicklung von therapeutischen Wirkstoffen.<sup>[82-84]</sup>

Eine erhebliche Abwandlung im Vergleich zur Struktur der Phosphatdiester stellen die von *Bruice* entwickelten DNG/RNG **42** und DNmt **43** dar (Abb. 2.11).<sup>[86]</sup> Die DNG/RNG-Internucleosidbrücken liegen wegen ihrer hohen Basizität bei physiologischen Bedingungen als Kationen vor. Die einzige strukturelle Gemeinsamkeit der Guanidin- bzw. Methylthioharnstoffbrücken mit natürlichen Phosphatdiestern ist die Anzahl der zwischen den Nucleosiden liegenden Bindungen. Aufgrund ihrer trigonal-planaren Geometrie beträgt der Bindungswinkel dieser Modifikationen  $120^\circ$  im Unterschied zu den  $109^\circ$  der tetraedrischen Phosphateinheit. Folglich ist der Abstand benachbarter Nucleobasen etwas größer als bei Nucleinsäuren. Ungeachtet dessen bilden uniforme DNG/RNG und DNmt mit komplementären DNA- und RNA-Strängen sehr stabile Duplices ( $\Delta T_m = \sim 15\text{--}20^\circ\text{C}/\text{Mod.}$ ) und Tripelhelices.<sup>[86]</sup> Nach *Bruice* ist dies auf die Coulomb-Attraktion ungleichnamiger Ladungen zurückzuführen. Der überaus große Unterschied zu anderen kationischen Verbrückungen hinsichtlich der Duplexstabilisierung wird mit einer optimalen Interaktion der Guanidin- bzw. Methylthioharnstoff-Einheit mit den Phosphatdiestern des komplementären DNA- oder RNA-Strangs erklärt.<sup>[86]</sup> Allerdings erscheint die ausschließlich auf der Coulomb-Attraktion beruhende Argumentation fragwürdig. Durchaus denkbar ist ein Einfluss der geometrischen Faktoren: Die Guanidin- und Methylharnstoff-Einheiten dürften die freie Rotation der Polymerbausteine einschränken. Trotz der recht hohen Affinität gegenüber natürlichen DNA-Strängen weisen uniforme DNG/RNG und DNmt eine empfindliche Erkennung von Fehlpaarungen auf. Schon eine einzige Fehlpaarung im Inneren einer Sequenz aus acht A-T-Basenpaaren DNG-modifizierter ON resultierte in einem um  $14.8^\circ\text{C}$  niedrigeren  $T_m$ -Wert.<sup>[87]</sup> Etwas weniger empfindlich waren DNmt-modifizierte ON mit einem Absinken des  $T_m$ -Werts um  $9^\circ\text{C}$  bei 20% C-Mismatch-Positionen innerhalb einer 19meren Oligo-AT-Sequenz.<sup>[91]</sup> Die von *Bruice* entwickelten Modifikationen wurden auch vereinzelt über die Phosphoramidit-Strategie in DNA-Sequenzen eingeführt.<sup>[88,92]</sup> Solche z. T. zwitterionischen Chimären bilden bei niedrigen Ionenstärken mit komplementären DNA-Strängen Duplices von

ähnlicher Stabilität wie unmodifizierte DNA/DNA-Doppelstränge.<sup>[88,92]</sup> Bei steigender Ionenstärke nahmen die  $T_m$ -Werte singulär DNG/RNG- oder DNmt-modifizierter DNA-Doppelstränge ab ( $\Delta T_m = -0.8$  bis  $-1.7$  °C/Mod.).<sup>[88,92]</sup>

#### 2.4.4 Modifikationen des gesamten Zuckerphosphatrückgrats

In den bisher beschriebenen Nucleinsäuremodifikationen wurden nur Teile der natürlichen Nucleinsäurestruktur ersetzt oder derivatisiert. Es sind jedoch auch zahlreiche Nucleinsäureanaloge entwickelt worden, in denen das Zuckerphosphatrückgrat komplett ersetzt worden ist. Eine der ersten Rückgratarchitekturen dieser Klasse ist die Phosphordiamidat-Morpholino-Modifikation (PMO) **44** (Abb. 2.12). Bei den PMO ist der Furanring durch einen Morpholinring ersetzt und anstelle eines Sauerstoffatoms liegt eine Dimethylaminoeinheit an der Verbrückung vor. Die Verbindung ist somit elektroneutral. Die Affinität uniformer PMO gegenüber nativen RNA-Strängen ist im Vergleich mit derjenigen von unveränderten DNA-Strängen leicht erhöht (ca.  $+0.2$  °C/Mod.).<sup>[94]</sup> PMO sind besonders für die medizinische Forschung von Interesse, da gezeigt werden konnte, dass sie als Agentien zur Korrektur des Spleißvorgangs von mRNA-Vorläufern eingesetzt werden können.<sup>[95-96]</sup> In einer neueren Publikation sind die strukturell ähnlichen, jedoch kationischen und singulär in DNA-Sequenzen eingeführten Morpholinoamidine **45** beschrieben worden (Abb. 2.12).<sup>[97]</sup>

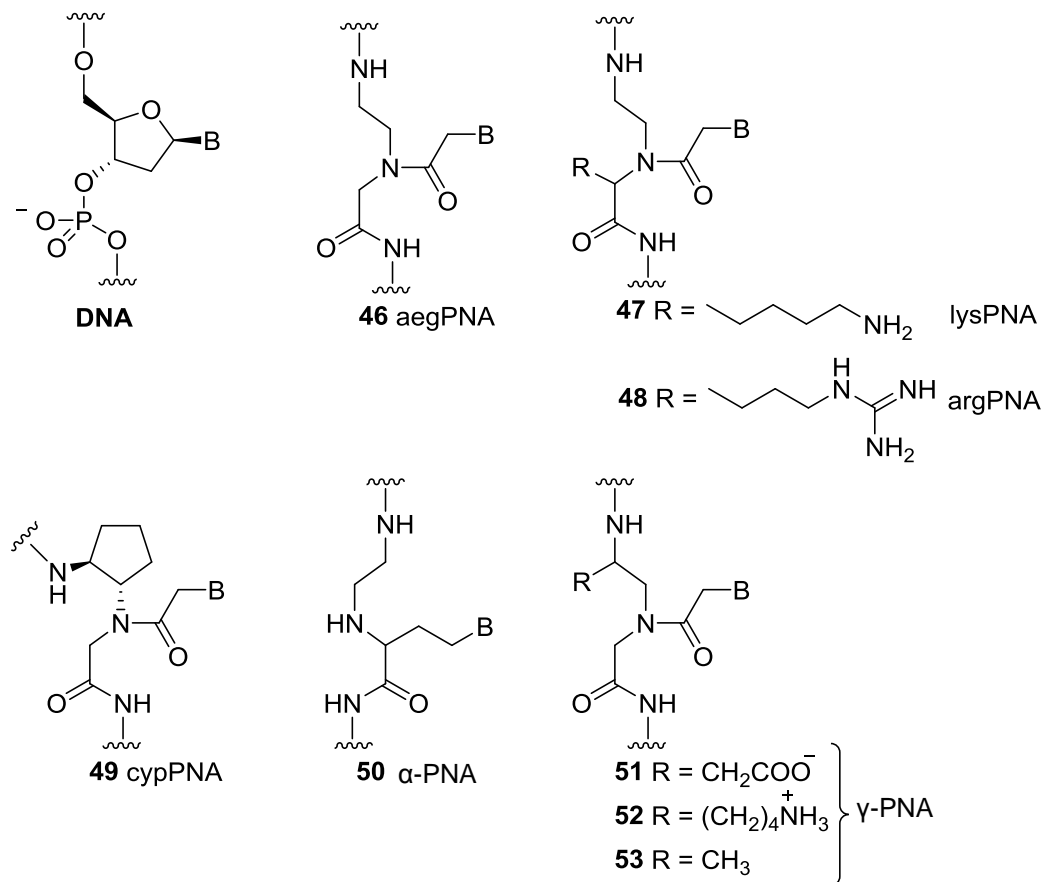


**Abb. 2.12:** Strukturen der Morpholino-Modifikationen **44** und **45**.

Die Stabilität der mit komplementärer DNA gebildeten Duplices ist stark abhängig von der Position der Modifikation innerhalb des Strangs. Am 3'-Ende befindliche Modifikationen führten zu einer leichten Erhöhung der thermischen Duplex-Stabilität ( $\Delta T_m = +1.5 \text{ °C/Mod.}$ ), während Modifikationen in der Mitte der Sequenz eine erhebliche Destabilisierung ( $\Delta T_m = -8.0 \text{ °C}$ ) ergaben.<sup>[97]</sup>

Einer der am gründlichsten untersuchten und in der Literatur beschriebenen Typen von artifiziellen Nucleinsäuren ist die PNA (peptide nucleic acids). Die anfänglich von *Nielsen* als potentieller Triplexbildner konzipierte aeg(*N*-(2-Aminoethyl)glycin)PNA **46** (Abb. 2.13) ist ein acyclisches Nucleinsäure-Analogon mit einem elektroneutralen Polypeptid-Rückgrat.<sup>[98]</sup> Ähnlich wie andere uniform elektroneutrale Nucleinsäure-Analoga zeichnen PNA-Stränge sich durch Basensequenz-abhängige physikalische Eigenschaften (Löslichkeit, Mobilität in der Elektrophorese) und die Tendenz zur Faltung (> 20 Monomere) aus.<sup>[23]</sup> Die aegPNA weist zum einen flexible Einfachbindungen aber auch hinsichtlich der Rotation eingeschränkte Amidbindungen im Rückgrat auf und bildet sehr stabile Duplices mit Nucleinsäuren und Homoduplices gemäß den *Watson-Crick*-Prinzipien.<sup>[99-100]</sup> Für ein 15mer, das alle vier Nucleobasen enthielt, waren die Stabilitäten der PNA/DNA-Duplex ( $\Delta T_m = +16.2 \text{ °C}$ ) und der PNA/RNA-Duplex ( $\Delta T_m = +21.7 \text{ °C}$ , im Vergleich mit RNA/DNA) bedeutend höher als diejenigen natürlicher Duplices.<sup>[101]</sup> Dieser Effekt wurde der fehlenden elektrostatischen Abstoßung bei der Hybridisierung der PNA mit Nucleinsäuren zugeschrieben, da die Entropieänderung dieses Vorgangs für PNA/Nucleinsäure-Duplices nahezu derjenigen von Nucleinsäure-Duplices gleicht.<sup>[101]</sup> Interessanterweise ist die thermische Stabilität von PNA-Homoduplices noch wesentlich höher als diejenige der PNA/Nucleinsäure-Hybride, wie der Vergleich der  $T_m$ -Werte von Duplices 10merer gemischter Sequenzen zeigte (PNA/PNA  $T_m = 67 \text{ °C}$ , PNA/DNA  $T_m = 51 \text{ °C}$ , DNA/DNA  $T_m = 33.5 \text{ °C}$ ).<sup>[102]</sup> Die hohe Stabilität von PNA/DNA-Hybriden ist auch der Grund dafür, dass es (besonders bei Homopyrimidinen) zu „invasiven“ Bildungen von (PNA)<sub>2</sub>/DNA-Triplices kommt, d. h. der Verdrängung eines komplementären DNA-Stranges durch eine PNA-Sequenz und die Anlagerung eines weiteren PNA-Stranges über *Hoogsten*-Basenpaarungen.<sup>[100]</sup> Die Einführung von Fehlpaarungen führt sowohl bei PNA-Homoduplices als auch bei Nucleinsäure-Assoziaten zu einer deutlichen Stabilitätsminderung ( $\sim 8\text{-}20 \text{ °C}$ ), die stets größer ist als bei natürlichen Nucleinsäure-Doppelsträngen.<sup>[101-102]</sup> Des Weiteren konnte anhand der Messung von Wasserstoff-

Austauschraten mittels NMR-Spektroskopie belegt werden, dass die Geschwindigkeit sowohl der Dissoziation als auch der Assoziation von aegPNA/DNA-Duplices langsamer ist als im Fall von DNA-Doppelsträngen.<sup>[103]</sup> Insgesamt deuten diese Daten (thermische Stabilität, Mismatch-Erkennung, Hybridisierungskinetik) auf eine höhere Rigidität der aegPNA im Vergleich zur DNA hin. Untersuchungen der Strukturen von Assoziaten der PNA mit Nucleinsäuren mittels Röntgenstrukturanalyse oder NMR-Spektroskopie haben ergeben, dass die aegPNA sich der Helixgeometrie der jeweiligen komplementären Nucleinsäure anpasst. Für PNA/RNA-Duplices wurde die A-Form der Helix experimentell bestätigt.<sup>[104]</sup>



**Abb. 2.13:** Strukturen der im Text beschriebenen PNA **46-53**.

PNA/DNA-Hybride ergeben eine Helixgeometrie, die sowohl Merkmale der A-Helix als auch der B-Helix aufweist.<sup>[105]</sup> Dagegen wurde mittels Röntgenstruktur-Untersuchungen für die PNA/PNA-Helix eine bis zum damaligen Zeitpunkt unbekannte Form nachgewiesen: die P-Helix.<sup>[106]</sup> Sie unterscheidet sich von den häufig vorkommenden A- und B-Formen durch ihren etwas größeren Durchmesser (28 Å, A-Form: 25.5 Å, B-Form: 23.7 Å), eine sehr große Ganghöhe (8.3 Å, A-Form:

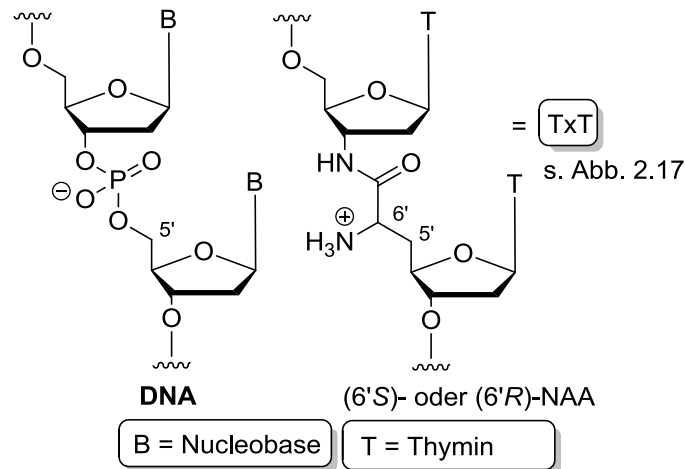
2.3 Å, B-Form: 3.4 Å) und sehr lange Windungen (58 Å, A-Form: 25.3 Å, B-Form: 35.4 Å) mit einer hohen Basenzahl/Windung (18 bp/turn, A-Form: 11 bp/turn, B-Form: 10 bp/turn).<sup>[106]</sup> Da die aegPNA achiral ist, liegen die linksgängigen und rechtsgängigen PNA/PNA-Duplices in der kristallisierten Form im Verhältnis 1:1 vor.<sup>[106]</sup> Es wurde ebenfalls eine große Vielzahl an strukturellen Varianten der aegPNA hergestellt und analysiert. Positive Ladungen wurden am Rückgrat der PNA angebracht, indem die Glycineinheit durch Lysin (lysPNA **47**, Abb. 2.13) oder Arginin (argPNA **48**, Abb. 2.13) ausgetauscht wurde, um die Membranpermeabilität der PNA zu verbessern.<sup>[107-108]</sup> Die konformationelle Beweglichkeit des Rückgrats wurde durch das Einführen von Ringstrukturen (z. B. Cyclopentan, cypPNA **49**, Abb. 2.13) eingeschränkt<sup>[99]</sup> oder die Anknüpfungposition der Nucleobase wurde auf das  $\alpha$ -C-Atom der Aminosäureeinheit verlagert, sodass  $\alpha$ PNA<sup>[109]</sup> **50** (Abb. 2.13) erhalten wurde. Verglichen mit der aegPNA erwiesen sich die meisten der genannten Derivate der PNA als weniger geeignete Hybridisierungspartner für Nucleinsäuren. Eine der wenigen Substitutionen am PNA-Rückgrat, mit der eine Verbesserung der Hybridisierungseigenschaften einherging, war die  $\gamma$ -PNA **51-53** (Abb. 2.13).<sup>[110-111]</sup> Eine Verbesserung der Affinität war insbesondere bei (S)-Konfiguration an der  $\gamma$ -Position gegeben. Durch diese Chiralitätszentren wird eine Präorganisation der PNA für die rechtsgängige Helix induziert.<sup>[111]</sup> Folglich wird die Entropieabnahme der Assoziation geringer. Kürzlich wurde auch  $\gamma$ -PNA (Substituent in  $\gamma$ -Position) mit negativ oder positiv geladenem Rückgrat hergestellt, um die Relevanz elektrostatischer Effekte auf die Duplexstabilität von PNA/Nucleinsäure-Doppelsträngen zu untersuchen.<sup>[112]</sup> Dabei ergab sich, dass die Affinität von  $\gamma$ -PNA mit positiv geladenem Rückgrat gegenüber Nucleinsäuren bei geringer Ionenstärke maximal ist und zu hohen Ionenstärken hin abnimmt. Dagegen verhielt es sich mit negativ geladenen  $\gamma$ -PNA-Strängen umgekehrt. Für die Affinität elektroneutraler Stränge gegenüber Nucleinsäuren wurden eine schwache Abnahme zu hoher Ionenstärke hin (PNA/DNA) oder annähernd gleich bleibende Werte (PNA/RNA) verzeichnet. Durch diese Ergebnisse wurde die bereits früher aufgestellte Hypothese<sup>[113]</sup> bestätigt, dass die durch Wasserstoffbrückenbindungen vermittelte Präorganisation des PNA-Rückgrats die Ursache für die erhöhte Stabilität von PNA/Nucleinsäure-Duplices ist und nicht hauptsächlich die Coulomb-Attraktion oder -Repulsion.<sup>[112]</sup>

Wie die bisherigen Ausführungen zeigen, gibt es bei den Eigenschaften von Nucleinsäure-Analoga auffallende Übereinstimmungen. Das vollständige Entfernen der negativen Ladung führt zu Nucleinsäuren mit Protein-ähnlichen Eigenschaften. Der Austausch von negativer Ladung durch positive kehrt die Abhängigkeit der Affinität zu Nucleinsäuren von der Ionenstärke um. Die Hybridisierung zwittrionischer oder ungeladener ON mit Nucleinsäuren ist nahezu unabhängig von der Ionenstärke. Konformative Restriktionen erhöhen die Affinität und Mismatch-Empfindlichkeit, wenn die Kompatibilität der induzierten Vorzugskonformation mit der Helixgeometrie gegeben ist. In vielen Fällen wurde gezeigt, dass elektroneutrale Modifikationen der Verbrückung zu einer Abschwächung der molekularen Erkennung und Eignung zur Funktion als Templat führen. Auf diesen Erkenntnissen aufbauend formulierte *Benner* eine Hypothese über den Zusammenhang des polyanionischen Charakters von Nucleinsäuren und ihrer Funktion als Templat in der Replikation: „The polyanionic nature of the backbone appears to be critical to prevent the single strands from folding, permitting them to act as templates, guiding the interaction between two strands to form a duplex in a way that simple rules to guide the molecular recognition event, and buffering the sensitivity of its physicochemical properties to changes in sequence.“ Allerdings sind die Befunde über die Eigenschaften der Nucleinsäuren und ihrer Analoga noch nicht ausreichend für genaue Aussagen über die Relevanz des oligoanionischen Charakters von genetischen Molekülen. Insbesondere fehlt es an experimentellen Daten zu den Eigenschaften kationischer Brückenmodifikationen, die hinsichtlich ihrer Eigenschaften der Phosphatdiestereinheit möglichst ähnlich wären.

## 2.5 Nucleosylaminosäure (NAA)-modifizierte ON

Als ein weiterer Beitrag zu der oben angeführten Fragestellung wurde in der Arbeitsgruppe *Ducho* die neuartige NAA(nucleosyl amino acid)-Modifikation konzipiert und in DNA-Sequenzen eingeführt (Abb. 2.14).<sup>[114]</sup> Bei dieser Rückgratmodifikation handelt es sich um ein Derivat der von *De Mesmaeker* entwickelten Amid-Verbrückung **37** (Abb. 2.10), die als ein geeignetes Mimetikum der Phosphatdiestereinheit gilt. Die NAA-Internucleosid-brücke ist isoster zur Phosphatdiestereinheit und unterscheidet sich von den bisher beschriebenen Amid-Modifikationen **36-38** (Abb. 2.10) durch ihren stereogenen Charakter und die primäre

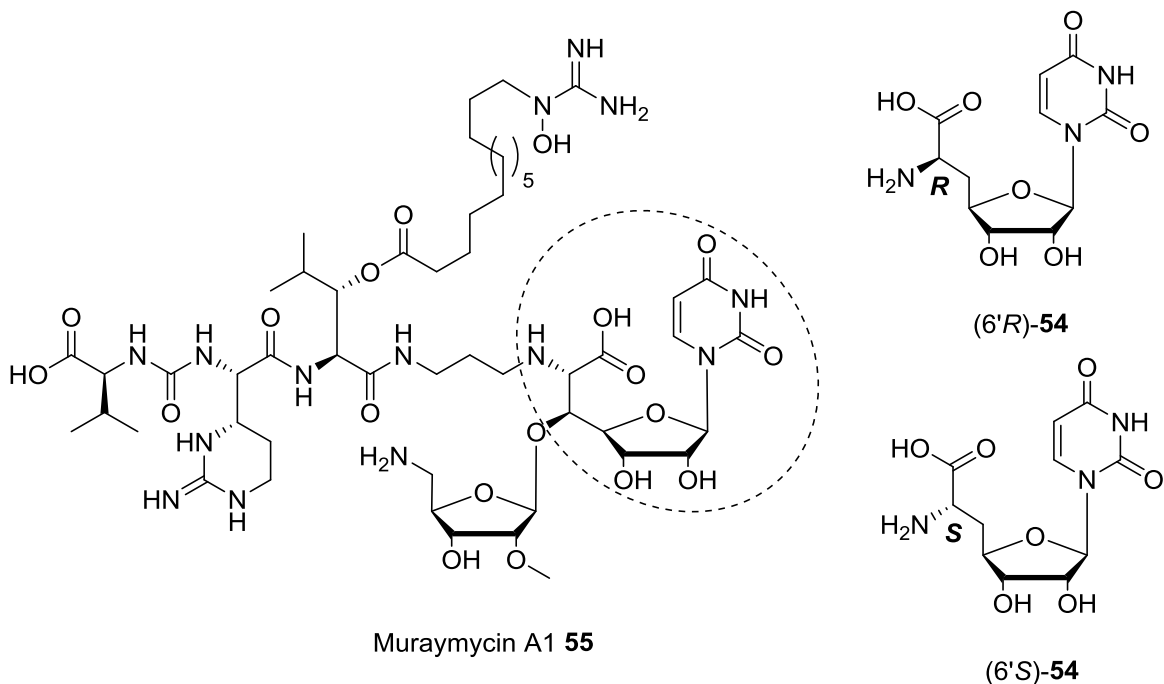
Aminogruppe in der 6'-Position, die bei physiologischem pH-Wert positiv geladen ist (Abb. 2.14).



**Abb. 2.14:** Strukturen der NAA-Modifikation und der DNA im Vergleich.

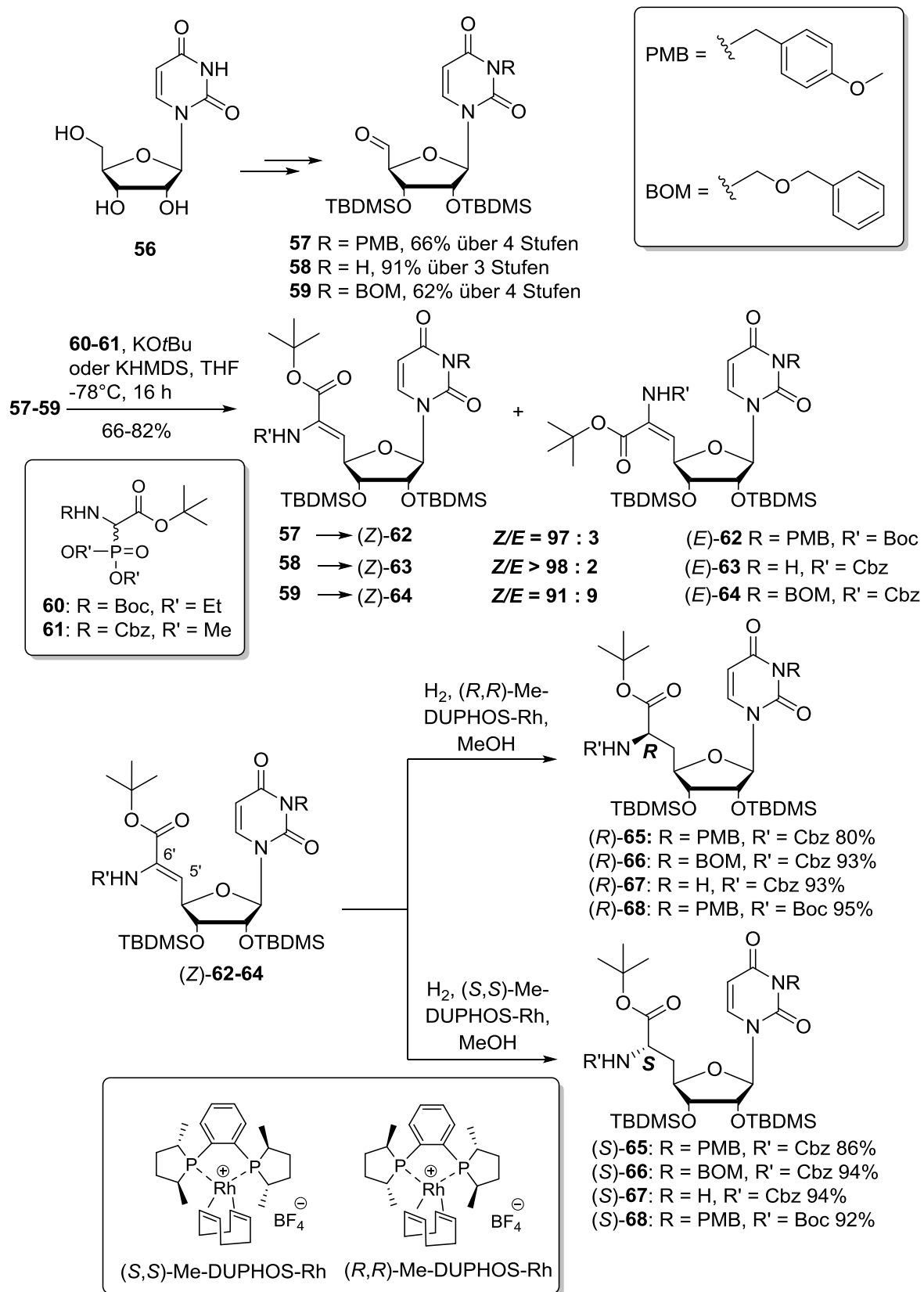
## 2.5.1 Nucleosylaminosäuren

Das Verknüpfen einer Glycin-Einheit über das  $\alpha$ -C-Atom mit einem in 5'-Position formal desoxygenierten Nucleosid über eine C-C-Einfachbindung ergibt Verbindungen des Typs **54** (Abb. 2.15), für welche von *Ducho* und Mitarbeitern der Begriff Nucleosylaminosäuren (NAA) eingeführt wurde.<sup>[115]</sup> In der Natur kommen NAA als Substrukturen in den antibiotisch wirksamen Muraymycinen (z. B. Muraymycin A1 **55**, Abb. 2.15), Caprazymycinen oder Liposidomycinen vor.<sup>[116]</sup>



**Abb. 2.15:** Strukturen des Muraymycins A1 und der davon abgeleiteten Nucleosylaminosäuren **54**.

Im Rahmen von Studien zur Synthese verschiedener Muraymycin-Analoga ist eine generelle Methode zur Darstellung verschiedener Uridinyl-Aminosäurederivate entwickelt worden (Abb.2 16).



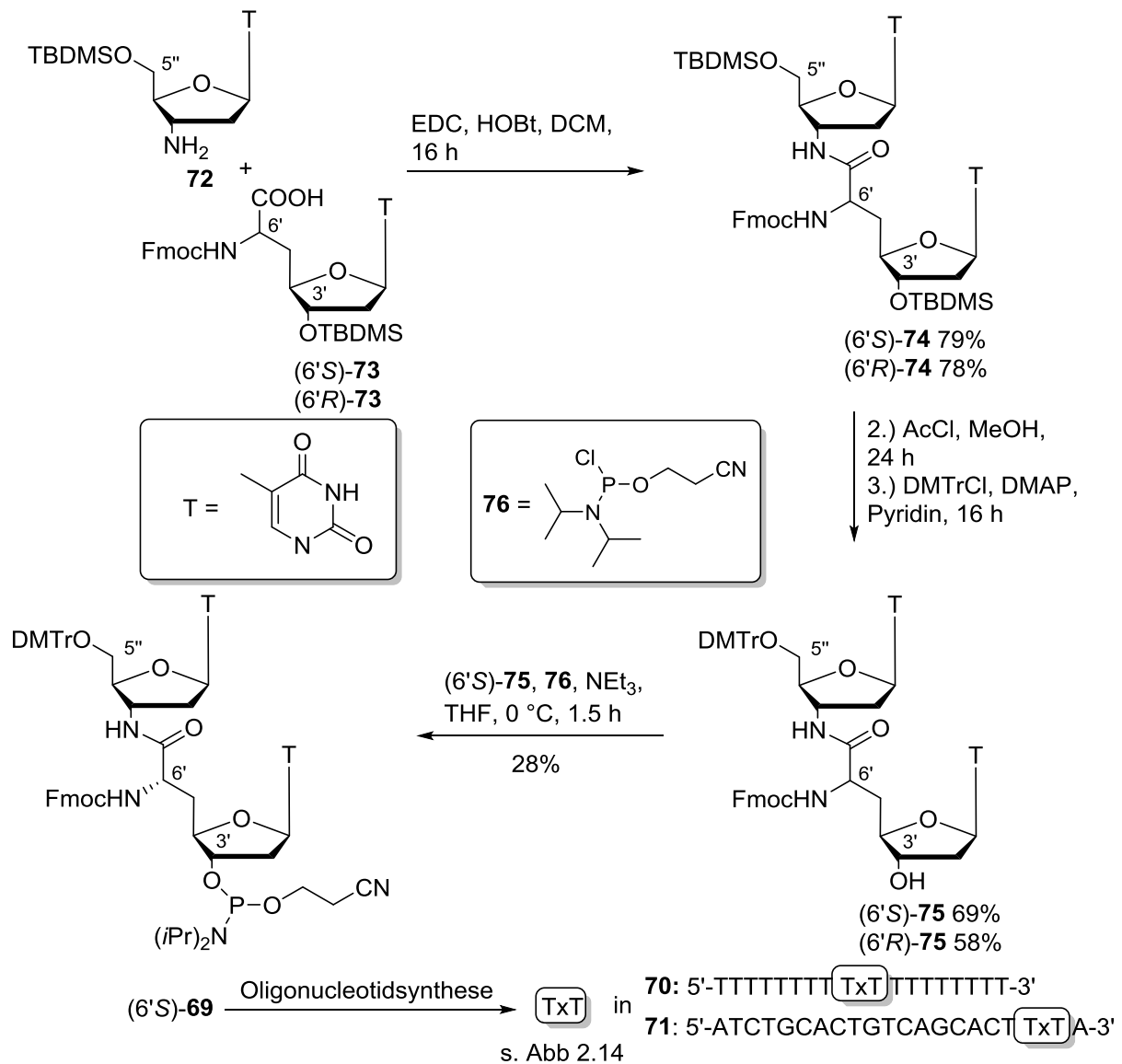
**Abb. 2.16:** Synthese der vollständig geschützten Uridinylaminosäuren **65-68**.



Ausgehend von Uridin **56** wurden die Aldehyde **57-59** in vier Stufen mit guten bis exzellenten Gesamtausbeuten erhalten.<sup>[117-118]</sup> Durch die anschließende *Wittig-Horner*-Reaktion der Aldehyde **57-59** mit den Phosphonaten **60** oder **61** wurden die Didehydroaminosäuren **62-64** mit hoher (*Z*)-Selektivität erhalten.<sup>[115,118]</sup> Darauf folgte eine asymmetrische Hydrierung der 5',6'-Doppelbindung der Didehydroaminosäuren in Gegenwart der chiralen Katalysatoren (*S,S*)- bzw. (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh<sup>[119]</sup>, sodass (6'*S*)- oder (6'*R*)-Uridinylaminosäuren **65-68** in sehr hoher Diastereoselektivität erhalten wurden. Die beiden letztgenannten Reaktionen stellen die gerüstbildenden Schlüsselschritte des Verfahrens dar (Abb. 2.16).<sup>[115,118]</sup>

### 2.5.2 Synthese NAA-modifizierter ON<sup>[114]</sup>

Die positionsselektive Einführung der NAA-Rückgratmodifikation in DNA-Sequenzen gelang durch die Synthese des Phosphoramidit-Bausteins (6'*S*)-**69** und dessen Verwendung für die Darstellung der ON **70** und **71** durch automatisierte DNA-Synthese. Der Phosphoramidit-Baustein (6'*S*)-**69** wurde durch Peptidkupplung des 3'-Aminonucleosids **72** mit der Thymidinylaminosäure (6'*S*)-**73** zu Verbindung (6'*S*)-**74**, der nachfolgenden Spaltung beider Silylether, einer regioselektiven Einführung der DMTr-Gruppe in 5''-Position unter Bildung von (6'*S*)-**75** und einer Phosphitylierung in 3'-Position erhalten (Abb. 2.17). Die Synthese des epimeren Phosphoramiditbausteins (6'*R*)-**69** wurde zunächst nur bis zur Vorstufe (6'*R*)-**75** ausgeführt. Während die Synthese des Aminonucleosids **72** nach einem Verfahren der Arbeitsgruppe um *Matsuda*<sup>[120]</sup> durchgeführt wurde, kam in der Synthese der Thymidinylaminosäuren (6'*S*)-**73** und (6'*R*)-**73** die oben beschriebene Vorgehensweise nach *Spork* und *Ducho* zum Einsatz (Abb. 2.16).



**Abb. 2.17:** Synthese des Phosphoramiditbausteins (6'*S*)-**69** und der NAA-modifizierten ON **70** und **71**.

Ausgehend von Thymidin **77** wurde der Aldehyd **78** in vier Stufen mit einer Ausbeute von 53% erhalten. Dieser wurde anschließend in einer hoch diastereoselektiven *Wittig-Horner*-Reaktion<sup>[121-122]</sup> mit dem Phosphonat **79** zur geschützten Didehydroaminosäure (*Z*)-**80** umgesetzt (*Z/E* = 28:1). Nachfolgend wurde die 5',6'-Doppelbindung in Gegenwart der chiralen Katalysatoren (*S,S*)- bzw. (*R,R*)-DuPHOS-Rh unter Bildung der vollständig geschützten NAA (6'*S*)- bzw. (6'*R*)-**81** reduziert. In beiden Fällen war die Diastereomerenreinheit der NAA **81** sehr hoch (d.r. > 95%). Nach drei weiteren Schritten, welche der Abspaltung bzw. der Einführung von Schutzgruppen dienten, wurden die Nucleosylaminosäuren (6'*S*)-**73** und (6'*R*)-**73** erhalten (Abb. 2.18).

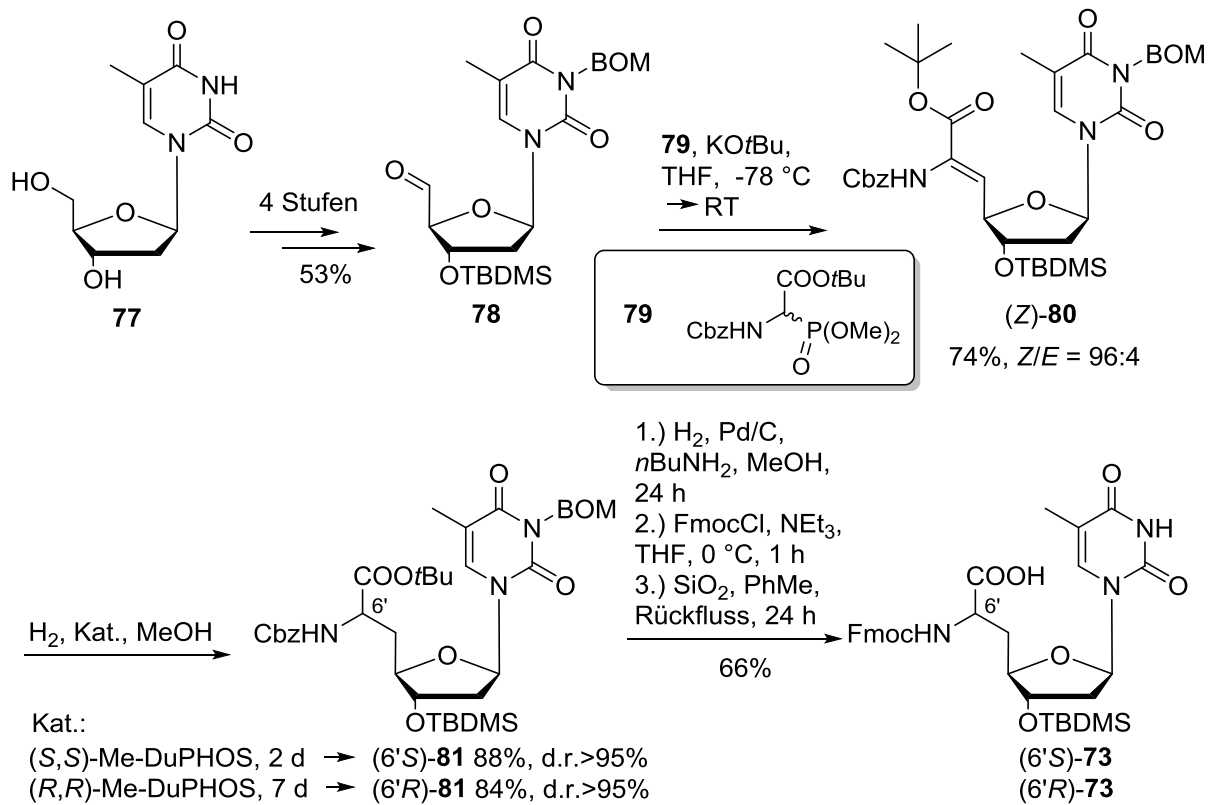


Abb. 2.18: Synthese der NAA (6'S)- und (6'R)-73.

### 2.5.3 Erste Untersuchungen NAA-modifizierter ON

Die thermodynamische Stabilität der aus **70** und **71** mit den jeweils komplementären Sequenzen gebildeten Doppelstränge (**D1** und **D2**) sowie entsprechender unmodifizierter Referenz-Doppelstränge (**D3** und **D4**) ist anhand von  $T_m$ -Wert-Messungen dokumentiert worden (Abb. 2.19).

modifizierte Duplex:		Referenz:	
<b>D1</b>	5'-TTTTTTTTT <b>x</b> TTTTTTTTT-3' 3'-AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA-5'	<b>D3</b>	5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTT-3' 3'-AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA-5'
<b>D2</b>	5'-ATCTGCACTGTCAGCACTT <b>x</b> TA-3' 3'-TAGACGTGACAGTCGTGAAAT-5'	<b>D4</b>	5'-ATCTGCACTGTCAGCACTTTA-3' 3'-TAGACGTGACAGTCGTGAAAT-5'

x = NAA-Verbrückung

Abb. 2.19: Strukturen der analysierten DNA-Doppelstränge **D1-D4**.

Der Vergleich der  $T_m$ -Werte von **D1** und **D3** ergab als Differenz  $\Delta T_m = -3.1^\circ\text{C}$ , womit – zumindest für diese Sequenz – eine Destabilisierung der Helix durch die Rückgratmodifikation gezeigt wurde. Die Differenz der  $T_m$ -Werte zwischen **D2** und **D4**

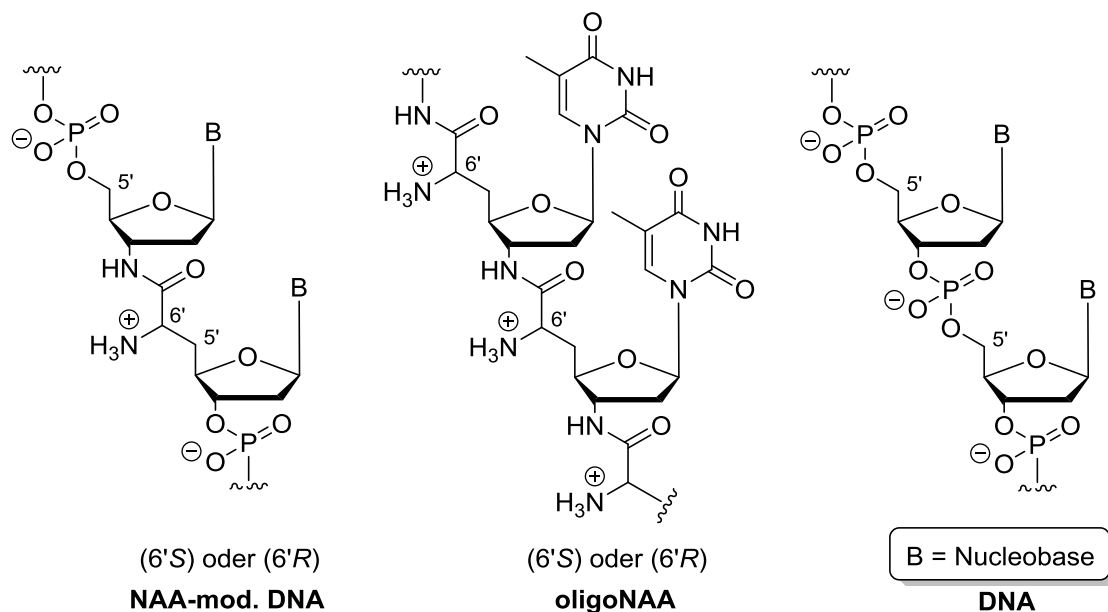
beträgt hingegen nur  $-0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Die Duplex-Stabilität ist in diesem Fall also nicht beeinträchtigt. Anhand dieser Daten konnte jedoch keine generelle Beurteilung der eingeführten Rückgrat-Modifikation vorgenommen werden. Des Weiteren ist der Einfluss der NAA-Verbrückung auf die B-Helix-Struktur der Duplices mittels CD-Spektroskopie untersucht worden. Eine deutliche Beeinträchtigung der Helix-Struktur konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

## 3 Zielsetzung und Planung der Arbeit

### 3.1 Zielsetzung der Arbeit

#### *Nucleosylaminosäuren als Bausteine zur Synthese modifizierter Oligonucleotide*

Das Ziel dieser Arbeit war die Synthese einer Reihe von Nucleosylaminosäure(NAA)-modifizierten Nucleinsäure-Analoga mit zwitterionischer (NAA-mod. DNA) bzw. oligokationischer (oligoNAA) Ladung des Rückgrats und die Untersuchung ihrer Eigenschaften (Abb. 3.1). Diese Modifikationen können als Verknüpfung von 3'-Aminonucleosiden mit Nucleosylaminosäuren (NAA, s. Abb. 2.17) über eine Amid-Bindung beschrieben werden. Im Fall der NAA-mod. DNA, die gemäß dem bereits früher etablierten Verfahren<sup>[114]</sup> synthetisiert werden sollte, ist die Einführung von NAA-Modifikationen an maximal jeder zweiten Position möglich, sodass Oligomere mit gemischtem Ladungsmuster entstehen. In Ergänzung dazu wurde ein Vorgehen zur Synthese von Oligomeren konzipiert, in denen jede Phosphatdiester-Einheit durch NAA-Modifikationen ersetzt ist. Diese Oligomere besitzen ein durchgehendes Polypeptid-Rückgrat und können daher auch als PNA-artig aufgefasst werden. Im Unterschied zu bisher beschriebenen PNA-artigen Oligomeren wurden die Furanose-Ringe beibehalten, sodass ebenfalls eine größere strukturelle Verwandtschaft zu Nucleinsäuren besteht.



**Abb. 3.1:** Strukturen der ON-Analoga NAA-mod. DNA und oligoNAA im Vergleich mit der DNA.

Bei beiden konzipierten Nucleinsäure-Analoga entspricht die Anzahl der Bindungen zwischen den zwei Furanose-Ringen derjenigen der natürlichen Phosphatdiester-Verbrückung. Der stereokontrollierte Aufbau der Chiralitätszentren in 6'-Position von NAA-mod. DNA und oligoNAA ist ein wichtiger Bestandteil der weiterführenden Synthesepaltung. Untersuchungen der biophysikalischen Eigenschaften NAA-modifizierter ON-Analoga sollen zu einem tiefgründigeren Verständnis der Relevanz des oligoanionischen Charakters von Nucleinsäuren beitragen. Die NAA-Modifikation ist in diesem Zusammenhang aufgrund verschiedener Aspekte eine vielversprechende, neuartige Rückgratmodifikation von Nucleinsäuren. Diese Modifikation ermöglicht den Aufbau von Nucleinsäure-Analoga, in denen positive Ladungen direkt im Rückgrat der Nucleinsäure-Analoga befindlich sind. Untersuchungen von Duplices mit eingeführten NAA-Modifikationen dürften daher ein realistisches Bild der Auswirkung positiver Ladungen anstelle der negativen Ladung der Phosphatdiester auf die Duplex-Stabilität ergeben. Im Gegensatz dazu waren positive Ladungen in vielen der bisher synthetisch realisierten zwitterionischen oder positiv geladenen Nucleinsäureanaloga entweder an der Nucleobase eingeführt oder über verschiedene Linker an der 2'-Position bzw. an der Verbrückung angebracht. Es war daher oft schwierig genaue Aussagen über den Zusammenhang der räumlichen Ausrichtung der positiven Ladung und beobachteten Eigenschaften der Analoga zu machen. Die einzigen bisher bekannten Modifikationen, in welchen die positiven Ladungen direkt im Rückgrat befindlich sind – die DNG und DNmt von *Bruice* – weisen jedoch stärkere Abweichungen von der typischen Nucleinsäurestruktur auf.<sup>[86]</sup> Daher können die erhöhten Affinitäten dieser Analoga auch auf geometrische Faktoren zurückzuführen sein (s. Kap. 2.4.3). Hingegen deutet die Beschaffenheit der NAA-Modifikation an, dass es sich um ein gutes Mimetikum der Phosphatdiester-Einheit handeln könnte. Untersuchungen an elektroneutralen Modifikationen ähnlichen Typs durch *De Mesmaeker*<sup>[70,76-79,123]</sup> und *Rozners*<sup>[80]</sup> haben auf eindrucksvolle Weise gezeigt, dass es sich bei Amid-Verbrückungen um sehr gute Mimetika von Phosphatdiestern handelt (s. Kap. 2.4.2). Die konformationelle Flexibilität von Amid-Verbrückungen ist im Vergleich zu Phosphatdiestern nur geringfügig reduziert. Auch die Isosterie zur Phosphatdiesterverknüpfung ist in hinreichendem Maß gegeben, sodass nahezu keine Störung der Basenpaarung auftreten sollte. Im Folgenden ist die detaillierte Planung der Synthese und Untersuchung der zwei Typen von Oligomeren (NAA-mod. DNA in Kap. 3.2.1 und oligoNAA in Kap. 3.2.2) beschrieben.

## 3.2 Planung der Arbeit

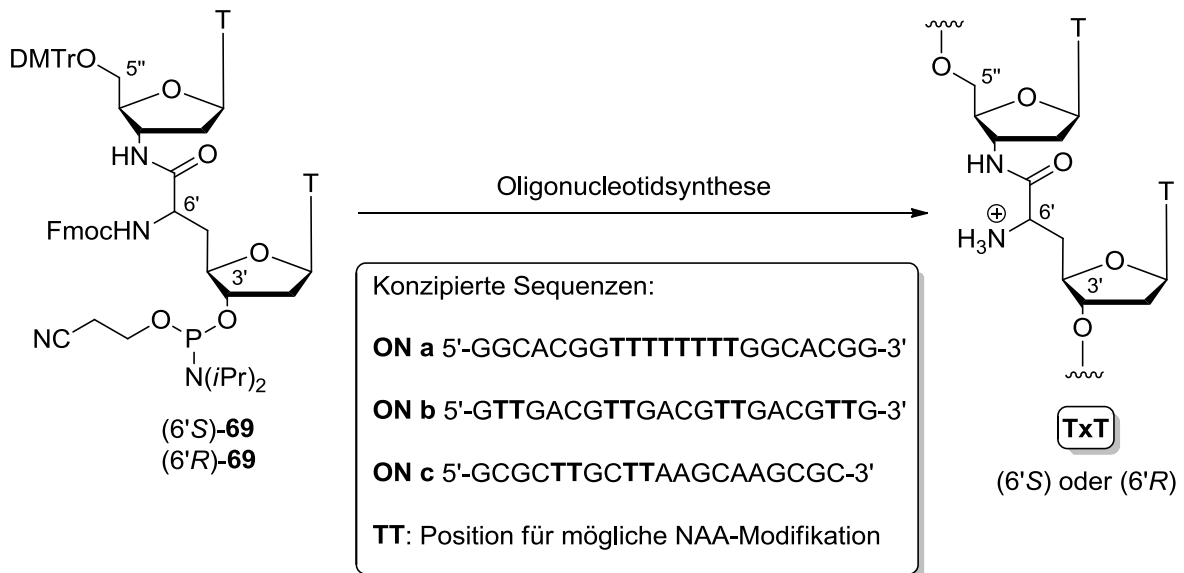
### 3.2.1 NAA als Bausteine für die Synthese zwitterionischer ON

#### 3.2.1.1 Überlegungen zur Wahl der Sequenzen der modifizierten ON

Für eine weiterführende Untersuchung der Eigenschaften der zuvor beschriebenen NAA-Verbrückung wären die Synthese von weiteren NAA-modifizierten zwitterionischen Oligonucleotiden und die Analyse ihres Hybridisierungsverhaltens sowie struktureller Eigenschaften notwendig. Insbesondere wurde angestrebt, Erkenntnisse über den Einfluss der folgenden Faktoren auf die Eigenschaften von NAA-modifizierten Nucleinsäure-Duplices zu gewinnen:

1. Stereochemie der NAA-Verbrückung (Konfiguration des Stereozentrums in 6'-Position der NAA-Modifikation (s. Abb. 3.2))
2. Anzahl der NAA-Modifikationen und ihre Position/Distanz im Strang
3. Basensequenz

Zu diesem Zweck war die Synthese von 24 ON vorgesehen, die in 3 verschiedene Typen **ON a-ON c** (Abb. 3.2) unterteilt werden können. Als Verfahren für die Herstellung der ON sollte analog zur Vorarbeit die von *Beaucage* und *Caruthers* entwickelte Phosphoramidit-Methode verwendet werden.<sup>[9]</sup> Dabei war die Wahl der Sequenzen zunächst dadurch eingeschränkt, dass ein synthetisches Verfahren nur für die T-T-dimeren Phosphoramiditbausteine (6'*S*)-**69** und (6'*R*)-**69** (Abb. 3.2) etabliert war. Ferner waren die nachfolgend angeführten Randbedingungen zu berücksichtigen. Die aus modifizierten ON mit komplementären DNA- und RNA-Strängen gebildeten Duplices sollten selbst im Fall einer erheblichen Destabilisierung der Duplex deutlich oberhalb der Raumtemperatur liegende  $T_m$ -Werte aufweisen. Dies ist von Vorteil, da selbst bei einer größeren Zahl an Modifikationen der Nachweis der Hybridisierung wahrscheinlicher ist und auch eine eventuelle Assoziation zu höher geordneten Komplexen (Triplices, Quadruplices) bei niedrigeren Temperaturen beobachtet werden kann. Zudem können die experimentellen Bedingungen für die Aufnahme von CD-Spektren einfach gehalten werden. Daher wurden Sequenzen der Länge von 20-22 Monomeren eingeplant.



Nr.	Sequenz	6'-Konfiguration von x	ON-Typ
1	5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'	S	<b>ON a</b>
2		R	
3	5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'	S	
4		R	
5	5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'	S	
6		R	
7	5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'	S	
8		R	
9	5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'	S	
10		R	
11	5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'	S	<b>ON b</b>
12		R	
13	5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'	S	
14		R	
15	5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'	S	
16		R	
17	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'	S	
18		R	
19	5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'	S	
20		R	
21	5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'	S	<b>ON c</b>
22		R	
23	5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'	S	
24		R	

**Abb. 3.2:** Zu synthetisierende NAA-modifizierte ON.

Des Weiteren wurden die Nucleobasensequenzen so gewählt, dass die Bildung von Haarnadel-Strukturen oder Selbstassoziation vermieden werden (außer im Fall von



**ON c**, Abb. 3.2), um ausschließlich die Hybridisierung mit komplementären DNA- oder RNA-Strängen sicherzustellen. Der Sequenztyp **ON a** ist ein 22mer und weist eine Gapmer-Struktur mit acht aufeinander folgenden Thymidin-Bausteinen in der Mitte auf. Innerhalb dieser acht T-Einheiten ist eine variable Positionierung von maximal vier NAA-Modifikationen möglich. Neben der Variation der Position und Anzahl der NAA-Brücken ist auch die Anordnung der NAA-Modifikationen in unterschiedlichen Abständen innerhalb der Folge der acht T-Einheiten möglich. Auf diese Weise sollten mögliche Auswirkungen unterschiedlicher Distanzen der positiven Ladungen auf die Eigenschaften der Duplex nachweisbar sein. Dazu war die Synthese der **ON a** (Nr. 1-8, Abb. 3.2) vorgesehen. Anhand der Sequenzen mit vier NAA-Substitutionen (Nr. 9 und 10, Abb. 3.2) sollte der Effekt einer erhöhten Anzahl von NAA-Verbrückungen beobachtet werden können. Der Sequenztyp **ON b** ist ein 21mer, in dem vier dimere T-T-Einheiten in einem regelmäßigen Abstand von vier Nucleotiden angeordnet sind. Durch die Synthese der **ON b** (Nr. 11-18, Abb. 3.2) sollte eine Reihe von Oligonucleotiden erhalten werden, anhand derer Auswirkungen unterschiedlicher Positionierungen einer NAA-Modifikation auf die Eigenschaften der Nucleinsäure-Duplex beobachtet werden können. Die Sequenzen mit vier NAA-Modifikationen vom Typ **ON b** (Nr. 19 und 20, Abb. 3.2) sollten ebenfalls dazu verwendet werden, die Auswirkung einer höheren Anzahl an NAA-Brücken nachzuweisen. Die palindromen Sequenzen vom Typ **ON c** besitzen zwei Stellen, an denen eine Einführung von NAA-Einheiten möglich ist. Durch die Bildung von Duplices aus diesen Sequenzen durch Selbstassoziation können zwei positive Ladungen in gegenüber liegenden Strängen befindlich sein, nicht jedoch im selben Strang. Um beobachten zu können, wie die NAA-Modifikation sich auf Duplices unterschiedlicher Basensequenzen auswirkt, wäre die Synthese weiterer modifizierter ON, in denen die NAA-Einheit sich an anderen Positionen als zwischen zwei Thymidin-Bausteinen befinden würde, sinnvoll. Die Voraussetzung hierfür wäre die Entwicklung von Synthesewegen für Analoga der Phosphoramiditbausteine **69** mit anderen Nucleobasen als Thymin.

### 3.2.1.2 Überlegungen zur Synthese der Phosphoramidit-Bausteine (6'S)-69 und (6'R)-69

Die in Abb. 3.2 angeführten Strukturen (6'S)- und (6'R)-TxT sollten in einer für die festphasengestützte Oligonucleotid-Synthese verwendbaren Form dargestellt werden. Die literaturbekannte Phosphoramidit-Strategie<sup>[9]</sup> für die ON-Synthese nach *Caruthers* erfordert eine Dimethoxytrityl-Schützung an 5''-O und die Derivatisierung von 3'-O zu einer  $\beta$ -Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidit-Funktionalität.<sup>[124]</sup> Zudem sollte die basenlabile Fmoc-Schutzgruppe<sup>[125]</sup> an der 6'-Aminofunktion eingeführt werden, um Nebenreaktionen während der ON-Synthese zu vermeiden. Die Entfernung der Fmoc-Gruppe geschieht bei der basenvermittelten Abspaltung (wässrige Ammoniaklösung/Ethanol 3:1, 55 °C, 24 h) der ON von der festen Phase. Im Verlauf der erneuten Synthese der Phosphoramiditbausteine (6'S)- und (6'R)-69 sollte das etablierte Verfahren<sup>[114]</sup> optimiert werden. Hierfür wurden insbesondere hinsichtlich zweier Aspekte Verbesserungsmöglichkeiten angenommen. Im etablierten Verfahren wurden die *Wittig-Horner*-Reaktion und die asymmetrische Hydrierung der 5',6'-Doppelbindung – die beiden Schlüsselschritte der Synthese der NAA **81** – mit geschützter Nucleobase durchgeführt (s. Abb. 2.18). Kurz vor Beginn dieser Arbeit konnte die gleiche Reaktionssequenz an entsprechenden Basen-ungeschützten Uridin-Analoga mit hervorragenden Ergebnissen sowohl hinsichtlich der Ausbeute als auch der Stereoselektivität durchgeführt werden.<sup>[118]</sup> Daher erschien es naheliegend, diese Vorgehensweise auch auf die Synthese der Thymidin-Analoga (6'S)- und (6'R)-73 zu übertragen. Dies würde die Synthese insgesamt deutlich vereinfachen, da bei der hydrogenolytischen Spaltung der Schutzgruppen von (6'S)- und (6'R)-83 kein *n*-Butylamin zur Reaktion mit entstehendem Formaldehyd hinzugefügt werden müsste, dessen vollständige Entfernung nur durch chromatographische Reinigung möglich ist. Außerdem wäre die Einführung der BOM-Schutzgruppe an der Nucleobase bei der Synthese des Aldehyds **84** nicht mehr notwendig (Abb. 3.3).

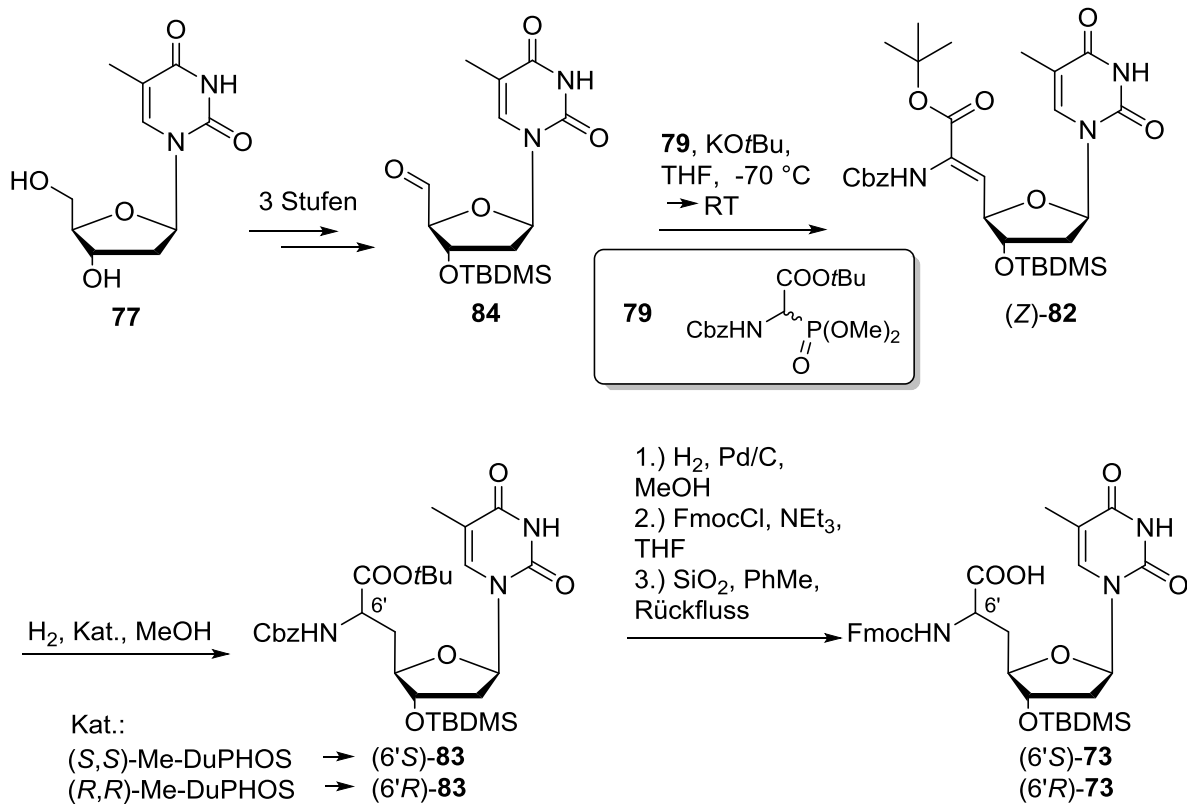


Abb. 3.3: Geplante Synthese der NAA 73 ohne BOM-Schützung.

Der zweite zu optimierende Aspekt des etablierten Verfahrens zur Synthese der Phosphoramidit-Reagenzien (6'S)- und (6'R)-69 war der letzte Schritt der Reaktionssequenz: die Phosphitylierung. Diese Reaktion wurde zunächst unter basischen Bedingungen (NEt<sub>3</sub>) durchgeführt. Es resultierte jedoch eine teilweise Spaltung der Fmoc-Gruppe, sodass die Ausbeute mit 28% nicht zufriedenstellend war. Daher wurde für die Phosphitylierung ein mild saures Verfahren (Phosphitylierungs-Reagenz **85**, Dicyanoimidazol **86**, Abb. 3.4) als Alternative vorgesehen.

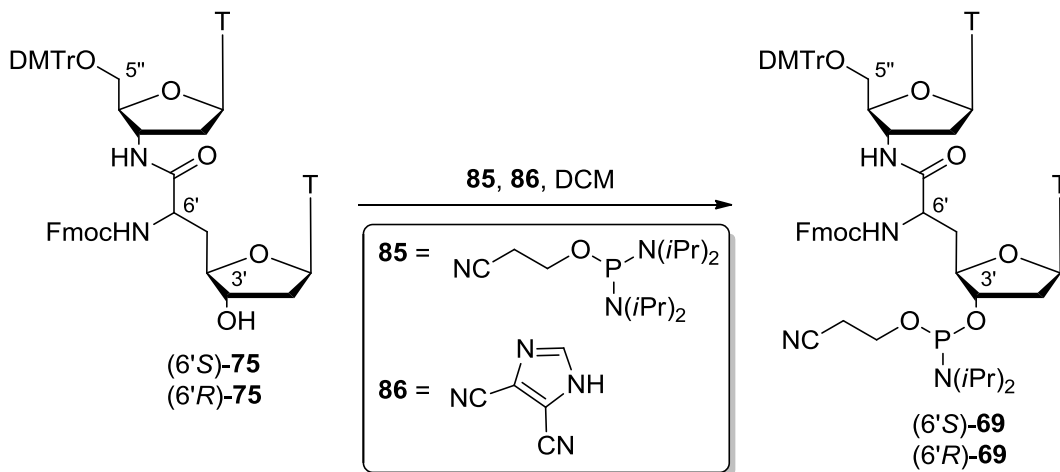
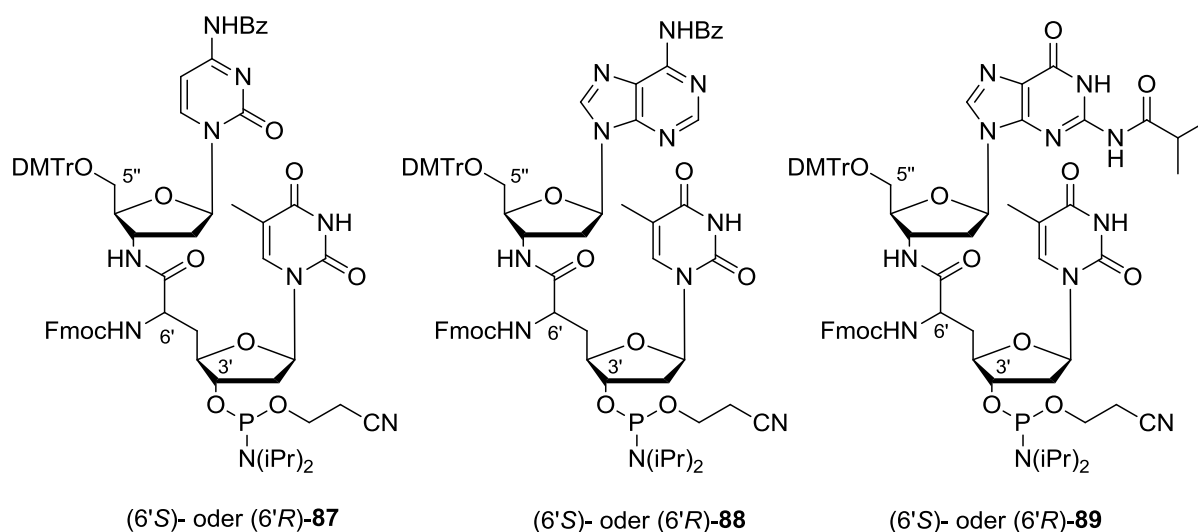


Abb. 3.4: Alternative Vorgehensweise zur Phosphitylierung von (6'S)- und (6'R)-75.

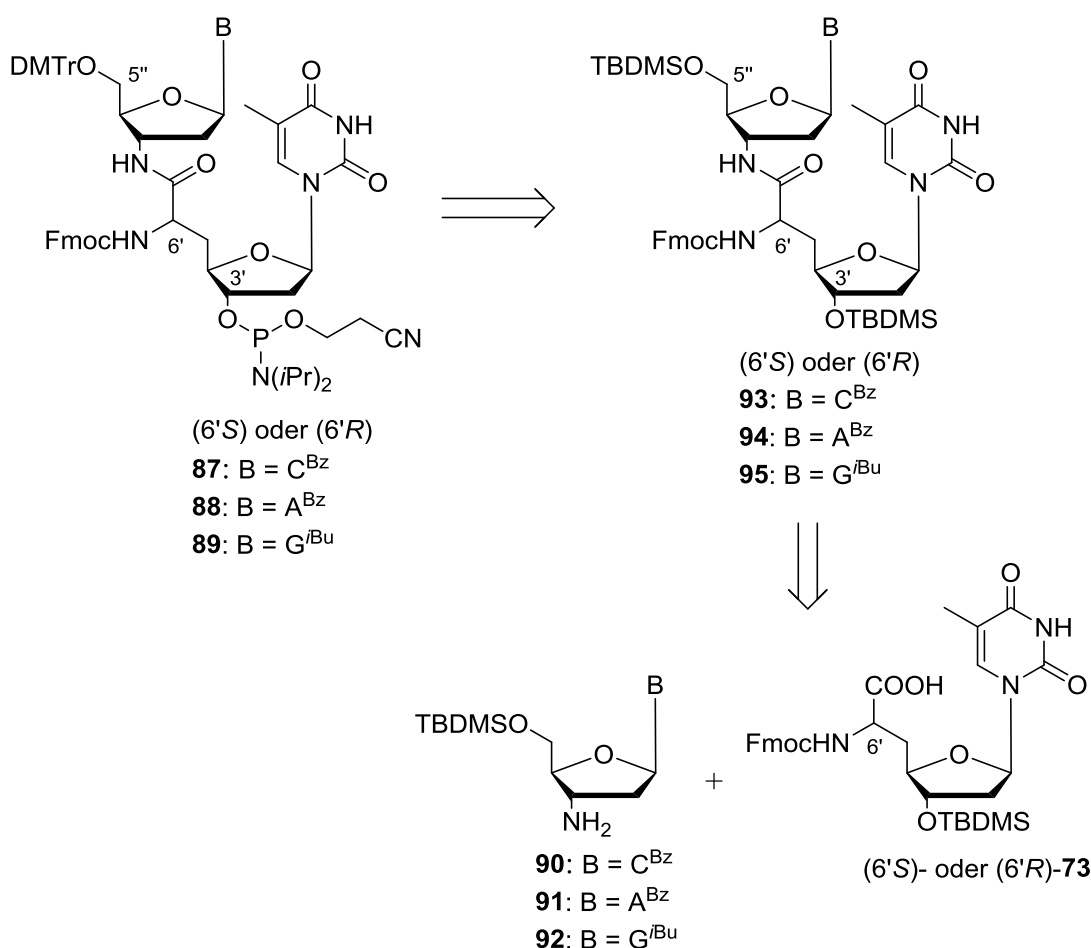
### 3.2.1.3 Überlegungen zur Synthese der weiteren Phosphoramidit-Bausteine

Das etablierte Syntheseverfahren für die Phosphoramiditbausteine (6'S)- und (6'R)-**69** ermöglichte nur die Synthese von ON mit NAA-Modifikationen zwischen zwei Thymidin-Einheiten. Um die Herstellung von ON mit NAA-Modifikationen zwischen anderen Nucleosiden zu realisieren, wurde die Synthese von Phosphoramiditbausteinen mit anderen Nucleobasen als Thymin angestrebt. Im Sinne eines dem Zeitplan angemessenen Syntheseaufwands wurden die Zielverbindungen zunächst auf (6'S)- und (6'R)-**87-89** beschränkt (Abb. 3.5).



**Abb. 3.5:** Weitere Phosphoramiditreagenzien **87-89** zur Synthese NAA-modifizierter ON.

Ein weiterer Grund für diese Einschränkung waren erhebliche Schwierigkeiten bei Syntheserversuchen von Nucleosylaminosäuren mit anderen Nucleobasen anstelle von Uracil oder Thymin.<sup>[126-127]</sup> Daher sollten vorerst die zugänglichen Thymidylaminosäuren (6'S)- und (6'R)-**73** und die 3'-Aminonucleoside des Cytosins **90**, Adenosins **91** und Guanosins **92** für den Aufbau der Zielverbindungen **87-89** verwendet werden. Die hierfür vorgesehene Synthesestrategie sollte sich prinzipiell an der bereits erfolgreich verwendeten Vorgehensweise zur Synthese der Thymidin-Dimere (6'S)- und (6'R)-**69** orientieren.<sup>[114]</sup> Diese bestand aus einer Peptidkupplung des 3'-Aminothymidins mit den NAA **73**, nachfolgender Spaltung der Silylether an 5''- und an 3'-Position, einer regioselektiven Einführung einer DMTr-Gruppe an 5''-Position und schließlich der Phosphitylierung am 3'-O (Abb. 2.17 und Abb. 3.6).



**Abb. 3.6:** Retrosynthese der Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**87-89**.

Allerdings wurde angenommen, dass aufgrund der Säurelabilität der *N*-glykosidischen Bindung von Purin-2'-Desoxynucleosiden andere Methoden für die Spaltung der 3'-O- und 5''-O-Silylether von **93** und **94** (Abb. 3.6) verwendet werden müssten als die früher eingesetzte Säure-katalysierte Solvolyse in MeOH.<sup>[128]</sup>

### 3.2.1.4 Planung der Synthese der 3'-Aminonucleoside **90-92**

Im Gegensatz zum Thymin weisen die Nucleobasen Adenin, Cytosin und Guanin exocyclische Aminogruppen auf, die aufgrund ihrer Nucleophilie bekanntermaßen Nebenreaktionen bei der ON-Synthese verursachen. Daher wurden Schutzgruppen für diese Funktionalitäten vorgesehen. Diese wurden auch hier so gewählt, dass eine Kompatibilität mit der Methode zur Synthese der ON gegeben war. Gleichzeitig sollten die Schutzgruppen unter den Bedingungen der Abspaltung vom Träger entfernt werden können. Für diesen Zweck haben sich die Benzoyl- (für Adenin und Cytosin) und die *i*Bu-(Isobutyryl)-Schutzgruppen (für Guanin) bewährt.<sup>[129-130]</sup> Über

die stereoselektive Darstellung der 3'-Aminonucleoside **90-92** (Abb. 3.5) ist bereits in einigen Veröffentlichungen berichtet worden.<sup>[131-136]</sup> Insbesondere erscheint die Vorgehensweise von *Richert* aufgrund ihrer Einfachheit im Vergleich zu den anderen Methoden als vorteilhaft.<sup>[137]</sup> Demnach verläuft die Synthese von 3'-Amino-5'-O-(TBDMS)-2'-desoxycytidin **90** über die bicyclische Verbindung **96**, deren Ringöffnung durch  $\text{NaN}_3$  unter Einführung der Azid-Funktionalität in 3'-Position, nachfolgende Umschützung in 5'-Position und Reduktion des Azids **97** zum Amin **90** (Abb. 3.6).

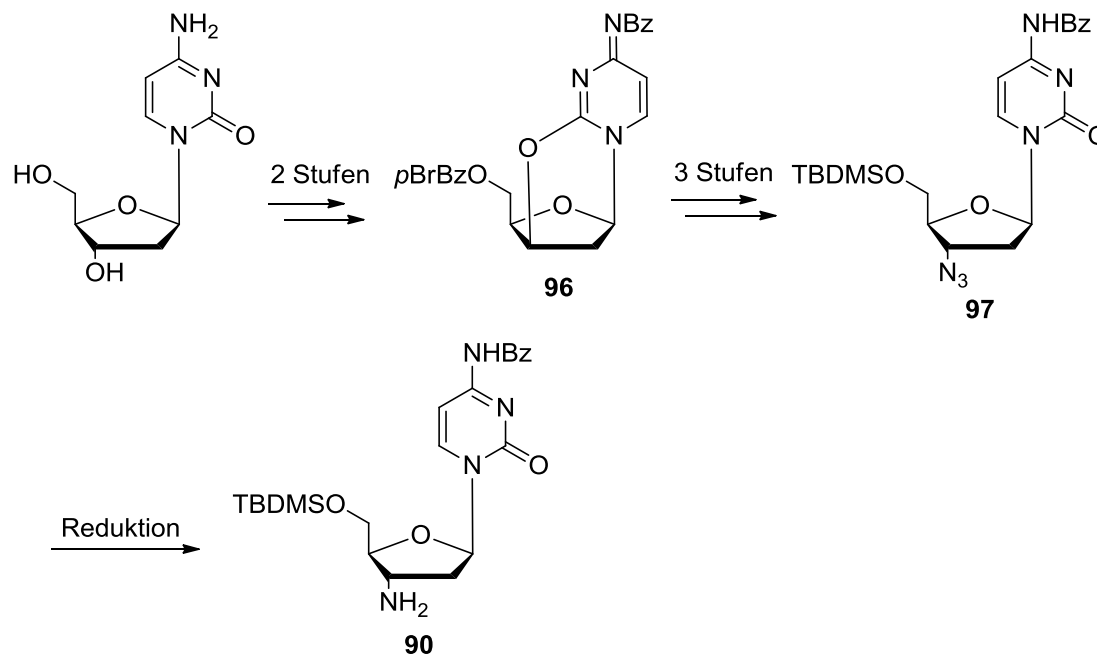
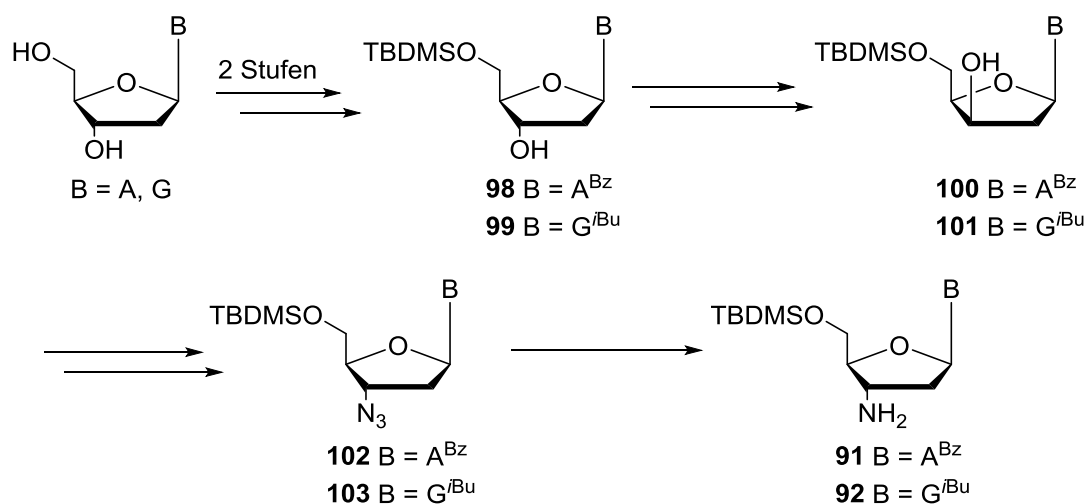


Abb. 3.7: Syntheseweg für das Cytidin-Derivat **90**.

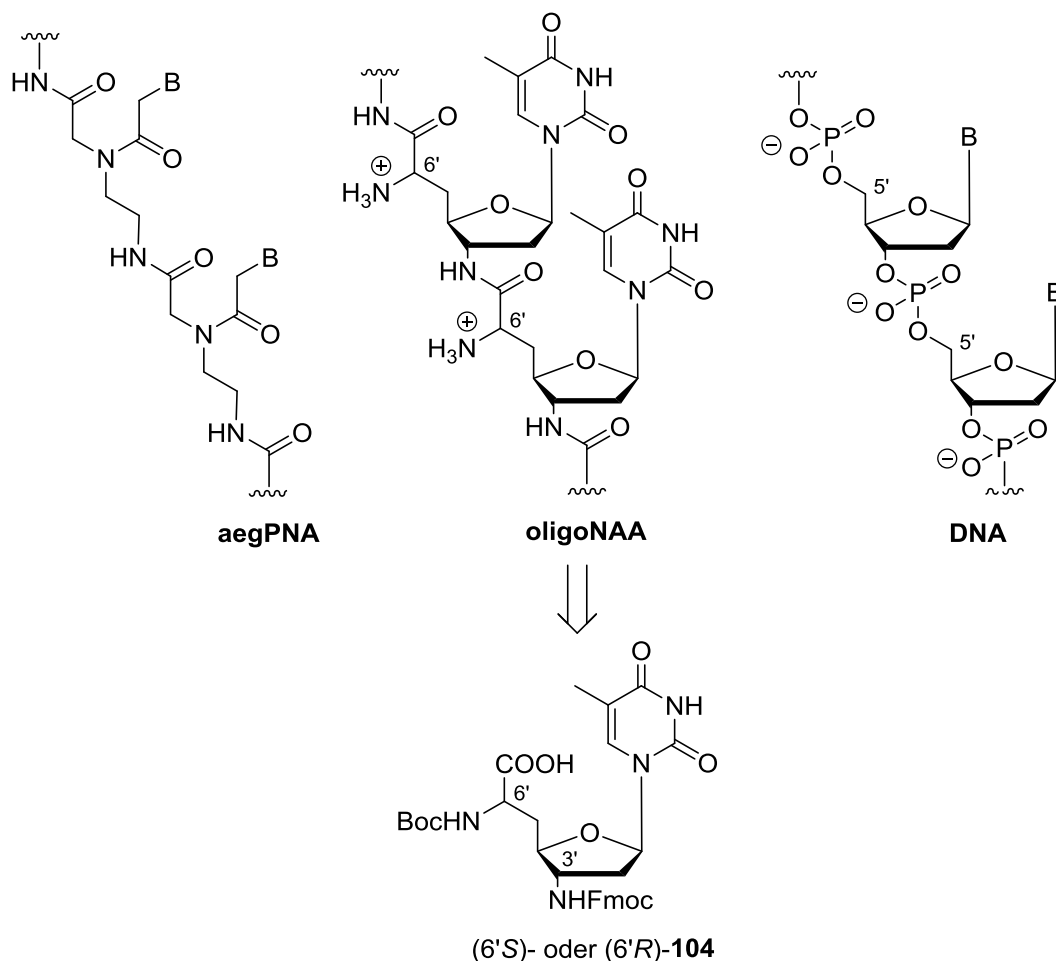
Im Unterschied dazu beinhaltet die Synthesestrategie für den Zugang zu den Purin-3'-Aminonucleosiden **91** und **92** die Synthese der geschützten Verbindungen **98** und **99**, Inversion der Konfiguration am 3'-C durch eine DMP-Oxidation zum 3'-Keton und anschließende Naborhydrid-Reduktion zu den *xylo*-Verbindungen **100** und **101**. Die Substitution der 3'-Hydroxygruppen dieser *xylo*-Derivate durch Azideinheiten und deren Reduktion sollten die 3'-Aminonucleoside **91** und **92** ergeben. Zur Aktivierung der 3'-Hydroxygruppen der *xylo*-Verbindungen sind zahlreiche unterschiedliche Reagenzien verwendet worden. Eine eindeutige Präferenz für eine der Aktivierungsmethoden allein auf Basis der publizierten Daten war nicht möglich.



**Abb. 3.8:** Bekannter Syntheseweg für die Verbindungen **91** und **92**.

### 3.2.2 NAA-Derivate für die Synthese uniform kationischer ON

Die bisher veranschaulichte Methode zur Herstellung NAA-modifizierter Oligonucleotide ermöglicht nur die Synthese zwitterionischer ON, da die kationische NAA-Modifikation maximal in jeder zweiten Position einer Sequenz angeordnet sein kann. In Ergänzung dazu wurde ein Oligomer (oligoNAA) konzipiert, das an jeder monomeren Einheit eine positive Ladung trägt und sowohl der DNA als auch der PNA strukturell verwandt ist (Abb. 3.9). Die Synthese eines solchen Nucleinsäure-Analogons sollte unter Verwendung der Bausteine (6'S)- oder (6'R)-**104** durch Festphasen-Peptidsynthese durchgeführt werden können. Bei den Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**104** handelt es sich um NAA-Derivate, an deren 3'-Position die Hydroxygruppe durch eine Aminogruppe ersetzt ist. Die geplante Verwendung dieser Bausteine für die Oligopeptidsynthese gemäß der Fmoc-Strategie<sup>[138]</sup> erfordert eine Fmoc-Schätzung der zu kuppelnden  $NH_2$ -Gruppe (3'-Position) und eine säurelabile Schutzgruppe (Boc) an der nicht reagierenden  $NH_2$ -Gruppe (6'-Position). Letztere Schutzgruppe sollte bei der Abspaltung der Oligomere vom Träger vollständig entfernt werden können.

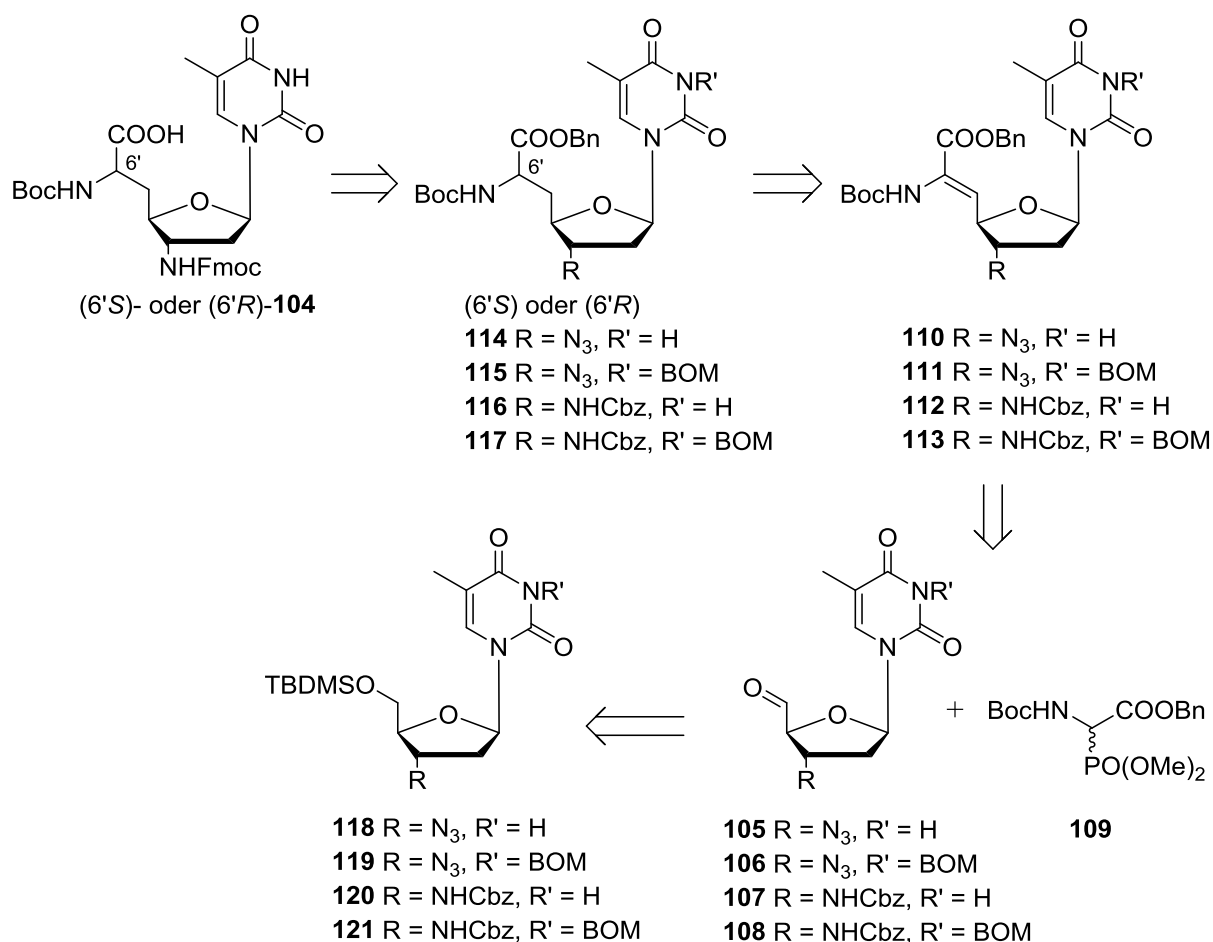


**Abb. 3.9:** Strukturen der oligoNAA, aegPNA und DNA; Retrosynthese der oligoNAA.

Für die Synthese der Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**104** sind prinzipiell zwei Strategien in Betracht gezogen worden, die im Wesentlichen auf der bewährten Methode zur generellen Herstellung von NAA beruhen. Dies impliziert wiederum die Kondensation eines Nucleosylaldehyds **105-108** mit dem Phosphonat **109** in einer *Wittig-Horner*-Reaktion, eine asymmetrische Hydrierung der resultierenden 5',6'-Doppelbindung von **110-113** unter Bildung der (6'S)- und (6'R)-NAA **114-117** und anschließende Schutzgruppenmanipulation für den Zugang zu den Zielverbindungen (6'S)- und (6'R)-**104** (Abb. 3.10). Der Unterschied der beiden Vorgehensweisen liegt in der Wahl der funktionellen Gruppe in 3'-Position und der sich daraus ergebenden Länge der Syntheseroute. Die erste Möglichkeit besteht darin, eine Azidogruppe an der 3'-Position einzusetzen. Demnach wäre Azid **118** das Startmaterial, welches in nur drei Stufen aus Thymidin zugänglich ist. In der alternativen Vorgehensweise wird **120** als Ausgangsmaterial verwendet. An dessen 3'-Position befindet sich eine NHCbz-Funktionalität anstelle der Azidogruppe. Die Synthese dieser Verbindung aus Thymidin ist um zwei Stufen länger als diejenige



des Azids **118**. Beide Syntheserouten sollten durchgeführt und miteinander verglichen werden. Des Weiteren sollte auch hier geprüft werden, ob eine Synthese der Zielverbindungen **104** auch ohne die Verwendung von Nucleobasen-Schutzgruppen möglich ist.



**Abb. 3.10:** Retrosynthese der Bausteine **104** für die Synthese von polyNAA.

Insgesamt sind die Schutzgruppen so gewählt worden, dass in dem vorletzten Schritt eine möglichst große Zahl in einer Reaktion reaktiv (Bn, BOM, Cbz) abgespalten werden kann. Die Synthese sollte vorerst auf Thymidinderivate beschränkt werden, um dem zeitlichen Rahmen der Arbeit gerecht zu werden. Nach Synthese der Zielverbindungen sollen im Rahmen einer Kooperation mit Dr. T. Grossmann (CGC Dortmund) zukünftig 16mere Oligo-T-Sequenzen (all-6'S oder all-6'R) aus den modifizierten Bausteinen hergestellt und deren Hybridisierungseigenschaften untersucht werden.

## 4 Resultate und Diskussion

### 4.1 Synthese von Reagenzien

#### 4.1.1 Synthese des Phosphitylierungs-Reagenzes

Das für die mild-saure Phosphitylierung von Dinucleosiden (s. Kap 4.4) verwendete Reagenz 2-Cyanoethyl-*N,N,N,N*-tetraisopropylphosphordiamidit **85** („Bis-Reagenz“) wurde nach einem bekannten Verfahren synthetisiert.<sup>[139]</sup> Demnach wurde Phosphortrichlorid in absolutem Diethylether und in Gegenwart von Pyridin als Base zuerst mit einem Äq. 3-Hydroxypropionitril zur Reaktion gebracht. Nach einer Filtration unter Argon wurde das resultierende Zwischenprodukt **122** wiederum in absolutem Diethylether mit zwei Äq. Diisopropylamin zu **85** umgesetzt, welches nochmals durch Filtration unter Argon von dem als Niederschlag anfallenden Pyridiniumsalz befreit wurde. Die Ausbeute der Reaktionssequenz betrug 66% über zwei Schritte (Abb. 4.1).

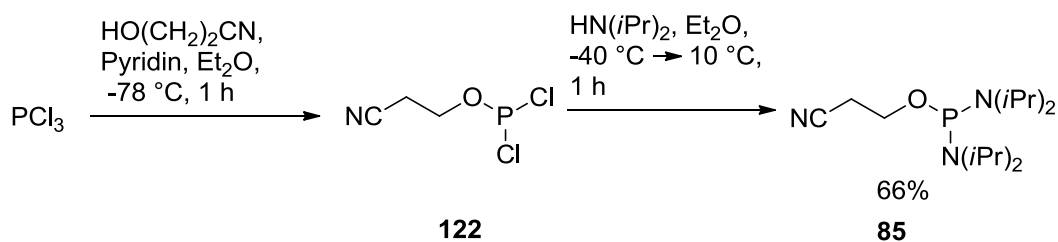


Abb. 4.1: Synthese des Phosphitylierungs-Reagenzes **85**.

#### 4.1.2 Synthese der Phosphonate

Die Synthese der Phosphonate **79** und **109** erfolgte gemäß in der Literatur beschriebenen Methoden.<sup>[140-143]</sup> Ausgehend vom O-Methylaminal **123**, das in der Arbeitsgruppe *Ducho* zu den regelmäßig synthetisierten Verbindungen gehörte, wurde durch Erhitzen mit Phosphor(III)-chlorid in Toluol und nachfolgender Zugabe von Trimethylphosphit in einer *Michaelis-Arbuzov*-artigen<sup>[144]</sup> Reaktion der Glycinmethylester **124** in einer Ausbeute von 76% erhalten (Abb. 4.2).<sup>[140]</sup> Um zum Phosphonat **79** zu gelangen, bedurfte es einer Umwandlung des Methylesters in einen *tert*-Butylester. Hierzu wurde gemäß einer von *Spork* optimierten Methode vorgegangen.<sup>[141]</sup> Zunächst erfolgte eine Verseifung des Methylesters von **124** durch wässrige Natriumhydroxid-Lösung in Dioxan (Abb. 4.2).<sup>[142]</sup> Durch die anschließende

saure Aufarbeitung wurde die Carboxylation in die entsprechende Carbonsäure überführt, die ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Veresterung eingesetzt werden konnte. Die Aktivierung der Carbonsäure erfolgte durch *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (EEDQ), während *tert*-Butanol, das als Nucleophil fungierte, als Lösungsmittel eingesetzt wurde.<sup>[143]</sup>

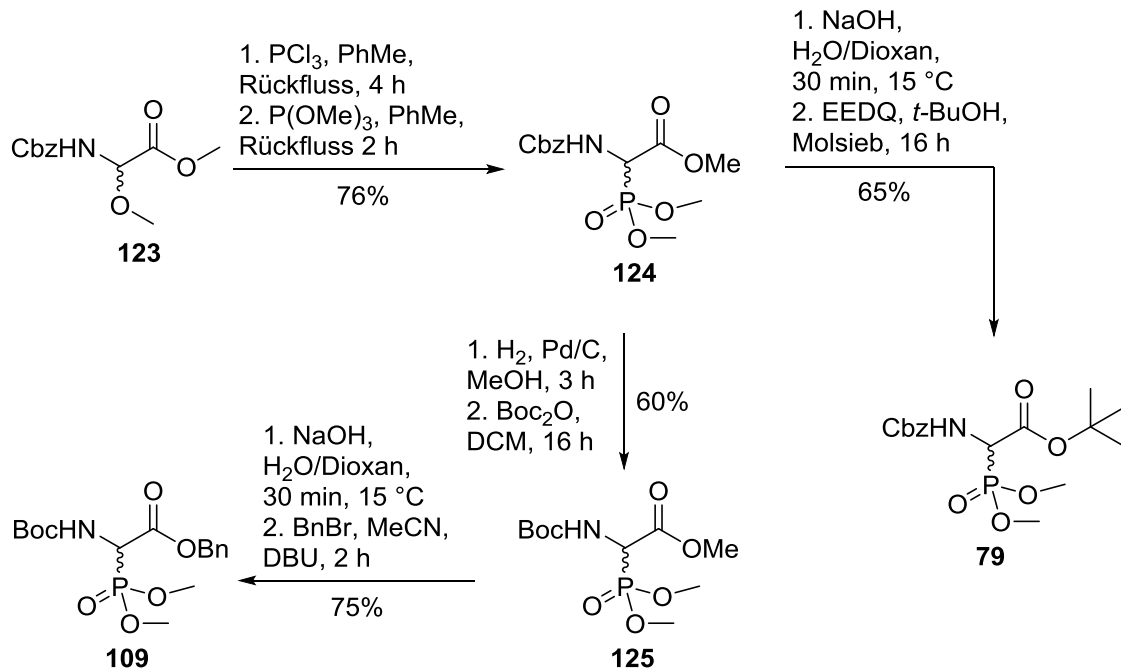
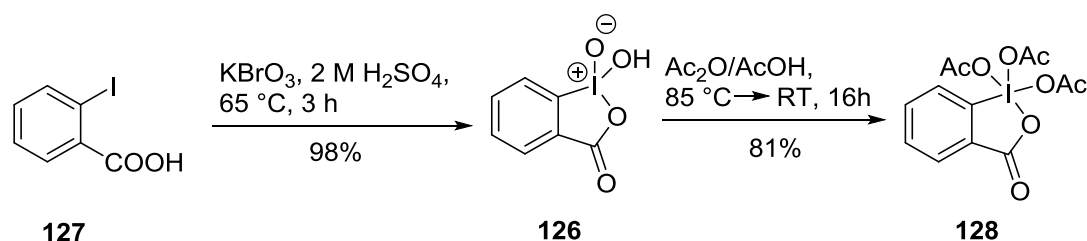


Abb. 4.2: Synthesen der Phosphonate **109** und **79**.

Auf diese Weise konnte das Phosphonat **79** in einer Ausbeute von 65% über zwei Stufen erhalten werden. Dagegen beinhaltete der Syntheseweg zum Phosphonat **109** den Austausch beider Schutzgruppen des Methylesters **124**. Zuerst erfolgte die Entfernung der Cbz-Schutzgruppe durch heterogen katalysierte Hydrogenolyse in Methanol unter gewöhnlichen Bedingungen (1 bar  $\text{H}_2$ , 10% Pd/C). Aufgrund der bekannten Labilität des erhaltenen Zwischenprodukts<sup>[140]</sup> wurde auf eine Reinigung verzichtet und das Rohprodukt direkt mit Di-*tert*-butyl-dicarbonat umgesetzt, sodass **125** in einer Ausbeute von 60% über zwei Stufen generiert wurde. Die Verseifung des Methylesters von **125** wurde analog zum bereits oben beschriebenen Verfahren durchgeführt, während die darauf folgende Veresterung durch eine Alkylierung mit Benzylbromid in Gegenwart von DBU als Base erfolgte.<sup>[145]</sup> Die Ausbeute dieser zweistufigen Reaktion betrug 75%.

### 4.1.3 Synthese der Oxidationsmittel IBX und DMP

Für die Oxidation von primären und sekundären Alkoholen hat sich die hypervalente Iod(V)-Verbindung *o*-Iodoxybenzoesäure (IBX) **126** als vielseitig verwendbares Reagenz erwiesen.<sup>[146]</sup> Auch in dieser Arbeit wurde es vielfach für die Oxidation der 5'-Hydroxygruppe verschiedener Nucleosid-Derivate zu den entsprechenden Aldehyden verwendet. Für die Herstellung von IBX wurde auf eine in der Literatur beschriebene Vorgehensweise zurückgegriffen.<sup>[147]</sup> Dieser Methode folgend wurde IBX durch die Oxidation von *o*-Iodbenzoesäure **127** in saurer (2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), wässriger Suspension durch Kaliumbromat nach einfacher Filtration der Reaktionslösung in hervorragender Ausbeute von 98% erhalten. Aufgrund der Explosivität von IBX wurde darauf geachtet, dass die Substanz nicht in trockener Form erhitzt wird (z. B. an den Rändern der Reaktionslösung).



**Abb. 4.3:** Synthese der Reagenzien IBX **126** und DMP **128**.

Die Synthese des Dess-Martin-Periodinan-Reagenz (DMP) **128** wurde in der gleichen Publikation beschrieben wie diejenige des IBX. Gemäß dieser Methode wurde IBX in einem 2:1-Gemisch aus Acetanhydrid und Essigsäure auf 85 °C erwärmt und anschließend über Nacht abgekühlt, sodass das DMP als grobkörniger Niederschlag in einer Ausbeute von 81% erhalten wurde. DMP ist weniger polar als IBX und daher insbesondere für die Oxidation von primären und sekundären Alkoholen in Lösungsmitteln mäßiger Polarität geeignet. DMP fand besonders bei der Oxidation der 3'-Hydroxygruppe von Purinnucleosid-Derivaten zu den entsprechenden Ketonen Anwendung.

## 4.2 Synthese der NAA-Bausteine für den Aufbau zwitterionischer ON

### 4.2.1 Synthese der 3'-O-TBDMS-Thymidinylaldehyde

Die Methode zur Synthese des BOM-geschützten Thymidinylaldehyds **78** (Abb. 4.4) wurde bereits in der Vorarbeit etabliert.<sup>[114]</sup> Gemäß dieser Strategie wurden durch Reaktion mit TBDMS-Chlorid zugleich an 5'-O und an 3'-O des Thymidins **77** Silylether generiert, sodass die Verbindung **129** in quantitativer Ausbeute erhalten wurde (Abb. 4.4). Als Lösungsmittel wurde das mild-basische Pyridin verwendet, welches den gebildeten Chlorwasserstoff neutralisiert und dadurch die thermodynamische Triebkraft der Reaktion erhöht. Zwecks Reaktionsbeschleunigung wurde Imidazol zugesetzt, das in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion ein reaktives Imidazol-TBDMS-Intermediat bildet. Anschließend wurde an 3-N die BOM-Schutzgruppe unter Bildung von **130** in einer Ausbeute von 96% eingeführt. Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine chemoselektive N-Alkylierung durch Benzyloxymethylchlorid unter basischen Bedingungen (NaH). Für die Chemoselektivität dieser Reaktion sprechen die <sup>13</sup>C-NMR-Befunde. Bei O-Alkylierungen wäre eine Änderung der chemischen Verschiebung von C-4 (163.5) bzw. C-2 (150.9) im Vergleich zum Edukt **130** zu erwarten. Dies wurde jedoch nicht beobachtet. Im nächsten Schritt erfolgte die selektive Spaltung des Silylethers in 5'-Position, um zum Alkohol **131** zu gelangen (Abb. 4.4). Hierfür wurden im Gegensatz zur früher verwendeten Methode nach *Zhu*<sup>[148]</sup> (TFA in H<sub>2</sub>O/THF) mildere Reaktionsbedingungen gemäß der von *Khan*<sup>[128]</sup> publizierten Vorgehensweise eingesetzt. In dieser Reaktion aktiviert der durch Zugabe von katalytischen Mengen Acetylchlorid in Methanol gebildete Chlorwasserstoff durch Protonierung des Sauerstoffatoms die Si-O-Bindung, sodass anschließend eine Nucleophile Substitution durch Methanol am Si-Atom erfolgt. Diese Reaktion ist insbesondere entropisch begünstigt. Ein Vorteil dieser Methode gegenüber derjenigen von *Zhu* (TFA in H<sub>2</sub>O/THF) ist die vollständige Löslichkeit des Edukts im verwendeten Lösungsmittel. Zudem ist die Neutralisation der geringen Menge an Acetylchlorid im Vergleich zu der Methode von *Zhu* (viel TFA) sehr günstig. Die Ausbeute der 5'-O-Silyletherspaltung von **130** nach *Khan* war jedoch mit 59% nur geringfügig höher als diejenige der zuvor verwendeten TFA-vermittelten Reaktion (53%). Auch für die Synthese der Basen-ungeschützten Verbindung **132** wurde die Silyletherspaltung durch katalytische Mengen Acetylchlorid in Methanol

angewendet. In diesem Fall war die Ausbeute mit 66% etwas höher als bei der Basen-geschützten Verbindung **131** (Abb. 4.4). Interessanterweise ergaben selektive 5'-O-TBDMS-Entschützungen von Ribonucleosid-Derivaten stets bedeutend höhere Ausbeuten (73-99%) als im Fall der hier diskutierten Desoxyribonucleosid-Derivate.<sup>[141,148]</sup> Ein möglicher Grund hierfür ist die gegenseitige sterische Abschirmung der 2'- und 3'-O-TBDMS-Einheiten.

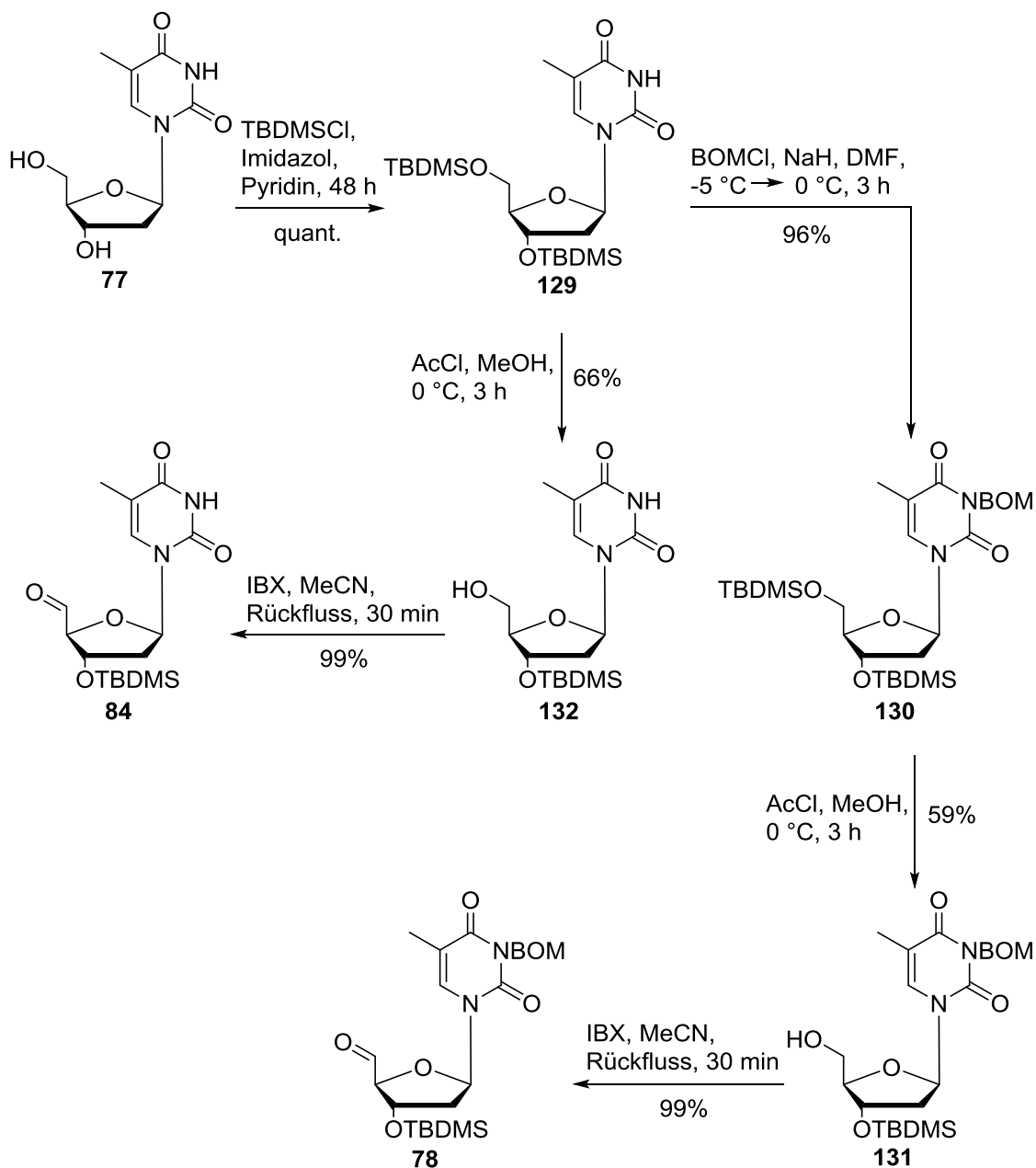


Abb. 4.4: Synthese der Aldehyde **78** und **84**.

Schließlich wurden die beiden 5'-Alkohole **131** und **132** durch kurzes Erhitzen in einer Suspension aus IBX in Acetonitril mit annähernd quantitativen Ausbeuten in die entsprechenden Aldehyde **78** und **84** überführt (Abb. 4.4).<sup>[149]</sup> Auf eine

chromatographische Reinigung dieser Verbindungen wurde aufgrund ihrer Labilität verzichtet. Außerdem war deren  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch ermittelte Reinheit für die weitere Verwendung stets ausreichend.

#### 4.2.2 Synthese der 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA

Die Darstellung der 5',6'-Didehydro-TAA (*E/Z*)-**80** und (*E/Z*)-**82** erfolgte gemäß der von *Schmidt* etablierten Phosphorylginester-Methode.<sup>[142]</sup> Hierbei stellt die *Wittig-Horner*-Reaktion der Thymidylaldehyd **78** und **84** mit dem Phosphonat **79** in THF den Schlüsselschritt dar. Zur Deprotonierung des Phosphonats **79** in  $\alpha$ -Position wurde die sterisch anspruchsvolle Base Kalium-*tert*-butanolat verwendet (Abb. 4.5). In beiden Fällen wurde die Reaktion bei  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  angesetzt und über einen langen Zeitraum (16 h) auf Raumtemperatur erwärmt.

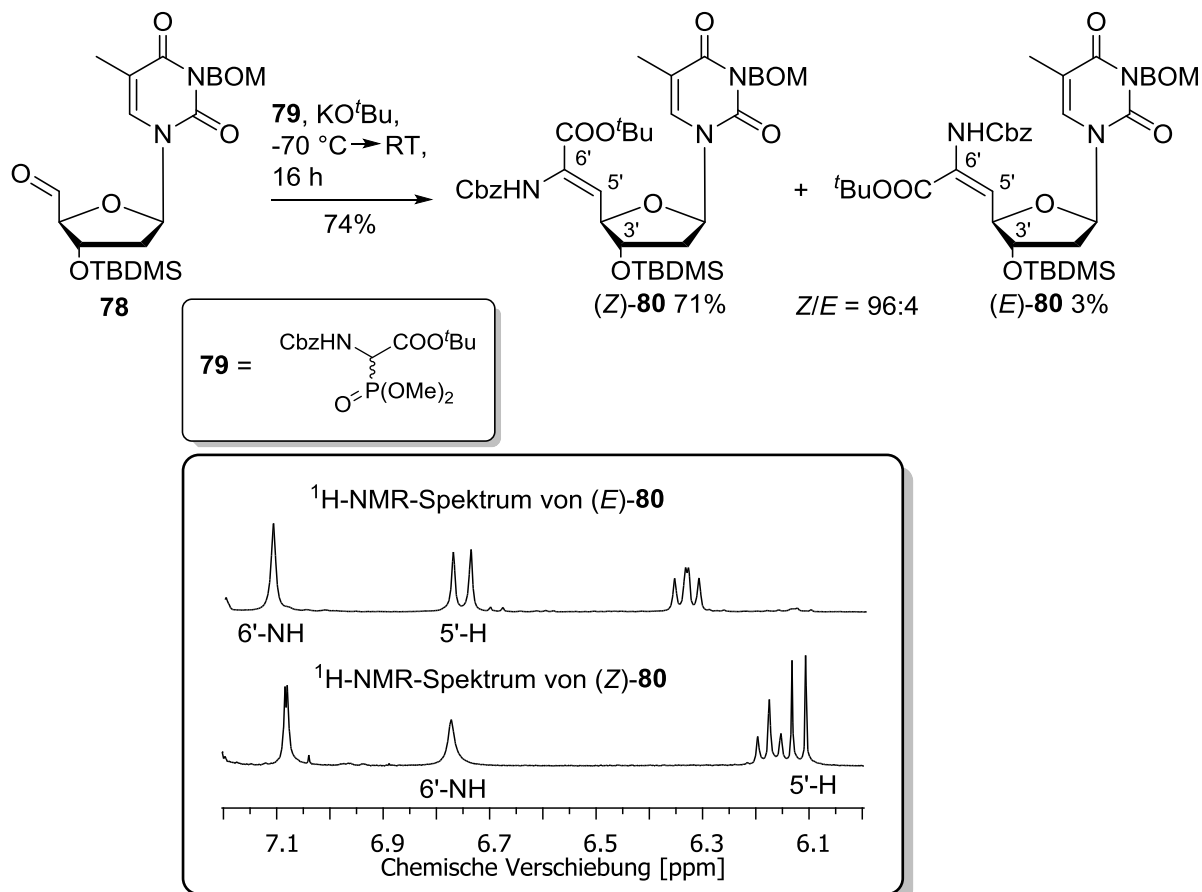


Abb. 4.5: Synthese der Didehydroaminosäure (*Z*)-**80**.

Alle beteiligten Reagenzien (Phosphonat, Aldehyd, Base) wurden in äquimolaren Mengen eingesetzt. Die Reaktionsbedingungen wurden so gewählt, um einer *E-Z*-

Isomerisierung entgegenzuwirken, die bei einem Überschuss an Base möglich wäre. Es ist bekannt, dass unter sauren oder basischen Bedingungen bei Raumtemperatur (*E/Z*)-Isomerengemische mit einem (*E*)-Anteil von 20% und in seltenen Fällen sogar einem Überschuss an (*E*)-Isomer entstehen können.<sup>[150]</sup> Die Bildung des (*E*)-Isomers ist unerwünscht, da dessen nachfolgende asymmetrische Hydrierung wesentlich langsamer und mit geringerer Diastereoselektivität verläuft als diejenige des (*Z*)-Isomers.<sup>[119,150]</sup> Die Kondensation des Basen-geschützten Aldehyds **78** mit dem Phosphonat ergab ein Gemisch der (*E/Z*)-Olefine **80** in einem Verhältnis von *Z/E* = 96:4 (Rohprodukt), dessen Trennung durch Chromatographie an Kieselgel gelang. Die Ausbeute des weiterverwendeten (*Z*)-Isomers betrug 71%. Beide Komponenten konnten anhand von <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Untersuchungen unterschieden werden. Die Zuordnung der jeweiligen Konfiguration erfolgte auf Basis der von *Mazurkiewicz* aufgestellten Kriterien.<sup>[151]</sup> Demnach gilt für die chemische Verschiebung der olefinischen β-Protonen (5'-H im Fall von **80**) und der am Carbamat-Stickstoff befindlichen Protonen von *N*-Acyl-α,β-Didehydroamino-säureestern in CDCl<sub>3</sub>:

- 1.)  $\delta_{\beta\text{H}}(\text{E}) > \delta_{\beta\text{H}}(\text{Z})$
- 2.)  $\delta_{\text{NH}}(\text{E}) > \delta_{\text{NH}}(\text{Z})$

Dies bedeutet, dass die Signale der beiden Protonen im Fall der (*E*)-Konfiguration der Doppelbindung stets weiter Tieffeld-verschoben sind. Für die beiden Isomere der BOM-geschützten Verbindung **80** wurden diese Kriterien erfüllt (Abb. 4.5). Ferner stimmt das Resultat dieser Umsetzung gut mit den Befunden der Reaktion des analogen Uridinylaldehyds **58** mit dem Phosphonat **61** überein. Dort wurde in etwas höherer Ausbeute (82%) ausschließlich die (*Z*)-Didehydroamino-säure **64** erhalten (Abb. 2.16).<sup>[118]</sup>

Etwas andere Ergebnisse wurden bei der *Wittig-Horner*-Reaktion des Basen-ungeschützten Aldehyds **84** mit dem Phosphonat **79** erhalten (Abb. 4.6). Die Ausbeute der Reaktion lag mit 67% etwas niedriger als im Fall des geschützten Aldehyds **78**. Auch in dieser Reaktion wurde ein *E/Z*-Diastereomerengemisch erhalten, wobei sich eine vollständige Trennung der beiden Komponenten durch Säulenchromatographie als nicht praktikabel erwies. Erst nach mehreren Trennungen konnte das in geringerer Menge vorliegende (*E*)-Diastereomer für die



NMR-spektroskopische Charakterisierung angereichert werden. Das Diastereomerenverhältnis wurde aus den Verhältnissen der  $^1\text{H}$ -NMR-Signale zu  $Z/E = 91:9$  (Rohprodukt) bestimmt. Die Zuordnung der Konfiguration konnte auch in diesem Fall anhand der Kriterien von *Mazurkiewicz* vorgenommen werden (Abb. 4.6). Die in der Abb. 4.6 angegebene Ausbeute von 67% bezieht sich auf das (*E/Z*)-Diastereomergemisch, das auch in weiteren Experimenten in dieser Form eingesetzt wurde.

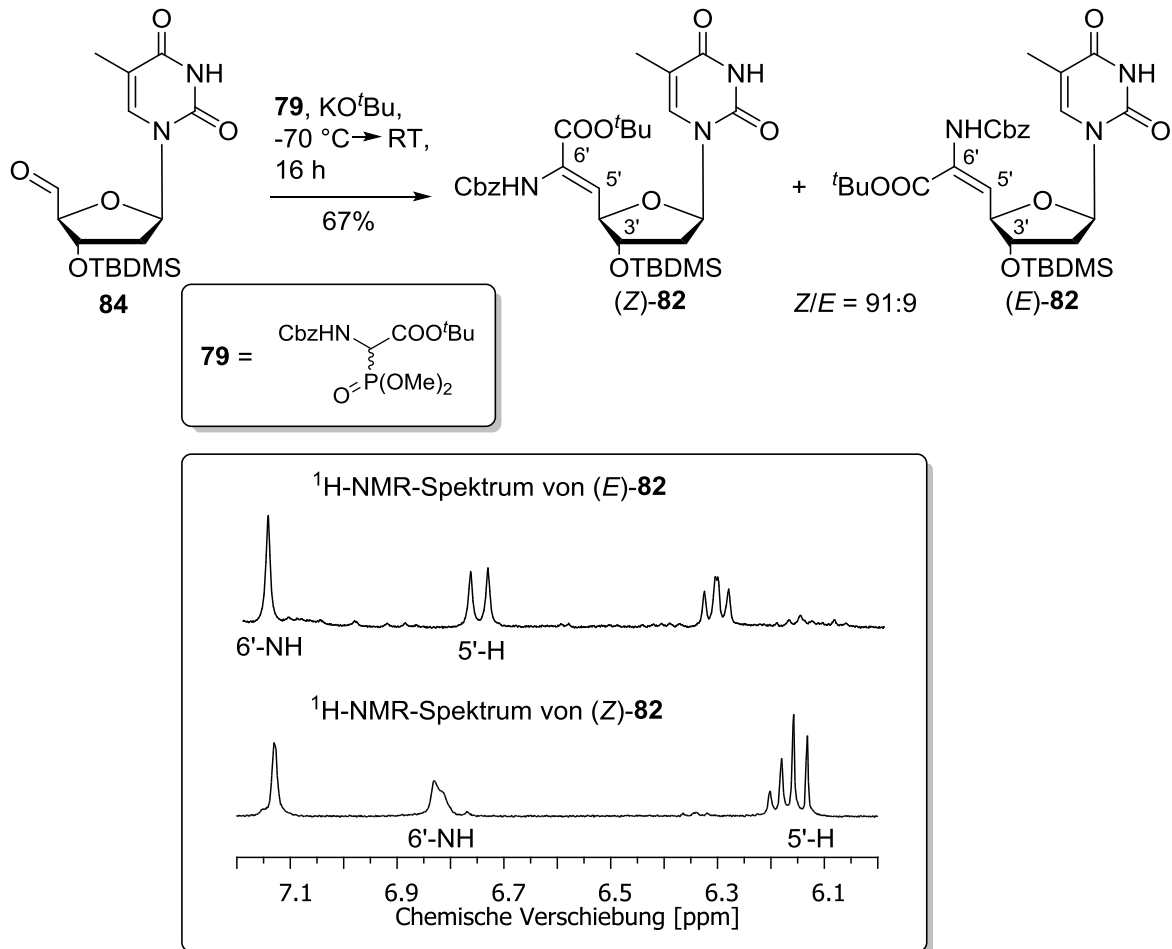


Abb. 4.6: Synthese der Basen-ungeschützten Didehydroaminosäure (*Z*)-82.

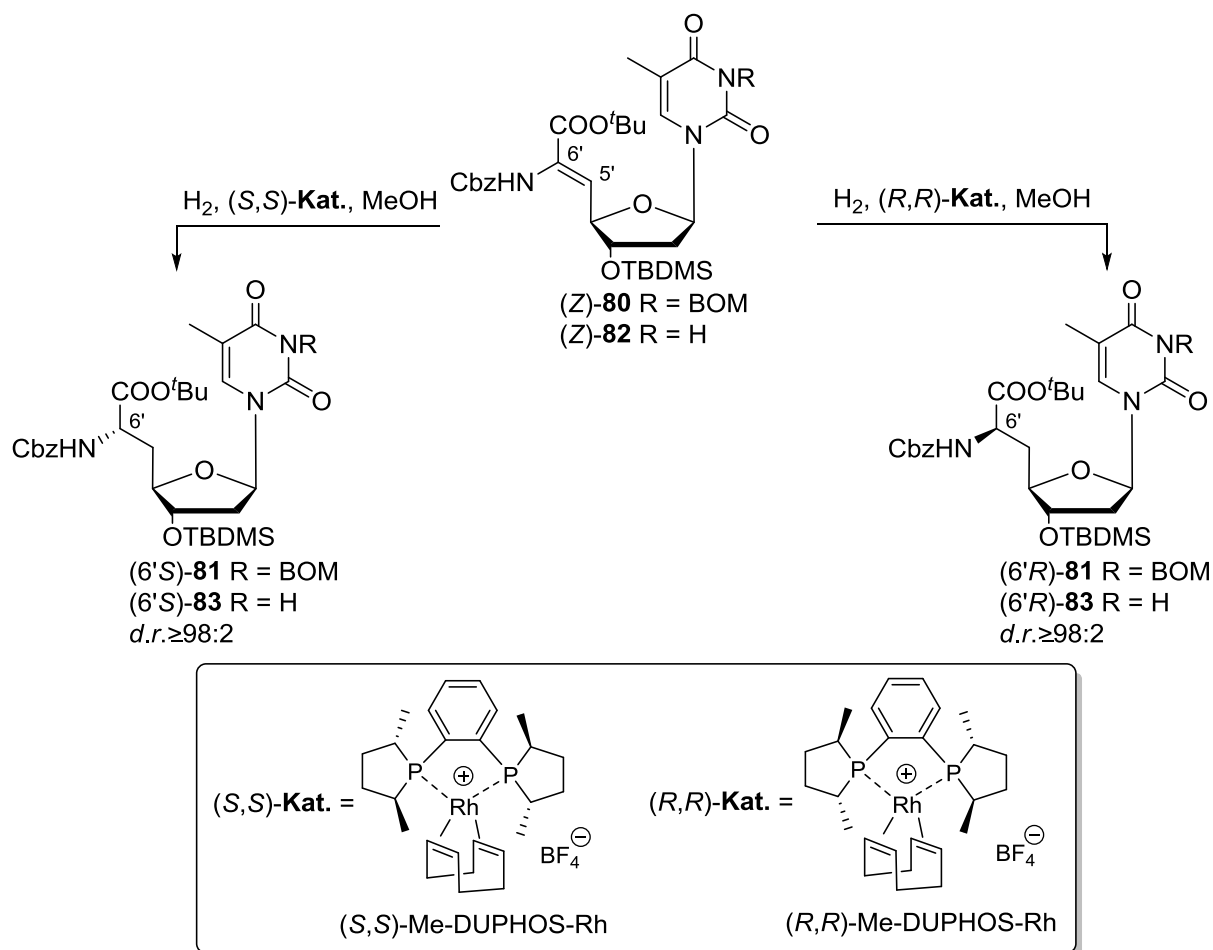
Das erhaltene Verhältnis der (*E/Z*)-Diastereomere 82 ist im Hinblick auf die Ergebnisse mit analogen Basen-ungeschützten Uridinderivaten überraschend. Denn für die *Wittig-Horner*-Reaktion des Phosponats 79 mit dem analogen ungeschützten Uridinylaldehyd 59 (Abb. 2.16) wurden sowohl bezüglich der Ausbeuten (82%) als auch der Diastereoselektivität (ausschließlich (*Z*)-Produkt) die besten Resultate erzielt.<sup>[118]</sup> Der Vergleich der *Wittig-Horner*-Reaktionen der Thymidinylaldehyde 78 und 84 mit denjenigen der Uridinylaldehyde 58 und 59 bestätigt ferner die Zuverlässigkeit der (*Z*)-Selektivität der *Wittig-Horner*-Reaktion, da auch im Fall

verschiedener Uridinylaldehyde unter ähnlichen Reaktionsbedingungen stets ein großer Überschuss an (*Z*)-Isomer gebildet wurde.<sup>[141]</sup>

### 4.2.3 Asymmetrische Hydrierung der 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA

Die 5',6'-Doppelbindungen der (*Z*)-Didehydro-TAA wurden durch Reaktion mit Wasserstoff unter katalytischer Wirkung der chiralen, kationischen Rhodium(I)-Komplexe (*S,S*)-MeDuPHOS-Rh oder (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh in Methanol reduziert.<sup>[152]</sup> Diese Reaktionen wurden unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) und aufgrund der Oxidationsempfindlichkeit der Katalysatoren bei striktem Sauerstoffausschluss geführt. Des Weiteren wurde, wie bereits oben ausgeführt, die Gegenwart einer größeren Menge an (*E*)-Didehydroaminosäure im Reaktionsgemisch vermieden. Es gilt als hinlänglich bekannt, dass die katalytische Wirkung des (*S,S*)-Komplexes mit sehr hoher Selektivität zur Bildung der jeweiligen L-Aminosäuren führt, während durch die Verwendung des enantiomeren (*R,R*)-Komplexes D-Aminosäuren erhalten werden.<sup>[152-154]</sup> Daher wurde ausgehend von diesen Befunden auch für die synthetisierten (6'*S*)- und (6'*R*)-NAA **81** (Abb. 2.18) diese Zuordnung getroffen.<sup>[114]</sup> Die Korrektheit dieser Annahme wurde kürzlich anhand von Röntgenstrukturuntersuchungen an Derivaten der Uridinylaminosäuren (6'*S*)- und (6'*R*)-**67** (Abb. 2.16) weiter bestätigt.<sup>[118]</sup> Erwartungsgemäß waren die beobachteten Reaktionsgeschwindigkeiten der Hydrierungen aufgrund der doppelten Stereodifferenzierung der Reaktion recht unterschiedlich. Während die Reduktion der BOM-geschützten Verbindung (*Z*)-**80** in Gegenwart von 1-2 mol% (*S,S*)-Me-DuPHOS-Rh bereits nach 2 Tagen vollständig abgelaufen war, bedurfte die asymmetrische Reduktion des gleichen Substrats unter Katalyse durch 1-2 mol% (*R,R*)-Me-DuPHOS einer Reaktionsdauer von 7 Tagen. Daher erscheint es naheliegend, dass der Übergangszustand der Reaktion zu (6'*S*)-**81** energieärmer ist als derjenige der Bildung von (6'*R*)-**81**. In diesem Zusammenhang wird von einem *matched pair* (schnellere Reaktion) oder einem *mismatched pair* (langsamere Reaktion) gesprochen. Ein Hinweis auf eine schwach ausgeprägte, intrinsische Stereoselektivität (Substratkontrolle) wurde durch die Hydrierung von (*Z*)-**80** in Gegenwart des achiralen Wilkinson-Katalysators Rh(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl erhalten. Dabei resultierte ein 2:1-Gemisch der (6'*S*)- und (6'*R*)-NAA **81**. Diese kinetischen Faktoren

wirkten sich jedoch in keiner Weise auf die Resultate der asymmetrischen Hydrierungen von (*Z*)-**80** aus. Die beiden Diastereomere (*6'S*)-**81** und (*6'R*)-**81** wurden in sehr hohen Ausbeuten (94% bzw. 99%) und hervorragenden Diastereoselektivitäten (*d.r.*  $\geq$  98:2) erhalten. Die gleichen Reaktionen wurden auch mit der 5',6'-Didehydroaminosäure (*Z*)-**82** durchgeführt, deren Nucleobase ungeschützt war.



Nr.	Katalysator	R	Reaktionszeit	Produkt	Ausbeute
1	(S,S)-Me-DuPHOS-Rh	BOM	2 d	(6' <i>S</i> )- <b>81</b>	94%
2		H	9 d	(6' <i>S</i> )- <b>83</b>	92%
3	(R,R)-Me-DuPHOS-Rh	BOM	7 d	(6' <i>R</i> )- <b>81</b>	99%
4		H	21 d	(6' <i>R</i> )- <b>83</b>	77%

**Abb. 4.7:** Asymmetrische Hydrierung von (*Z*)-**80** und (*Z*)-**82**.

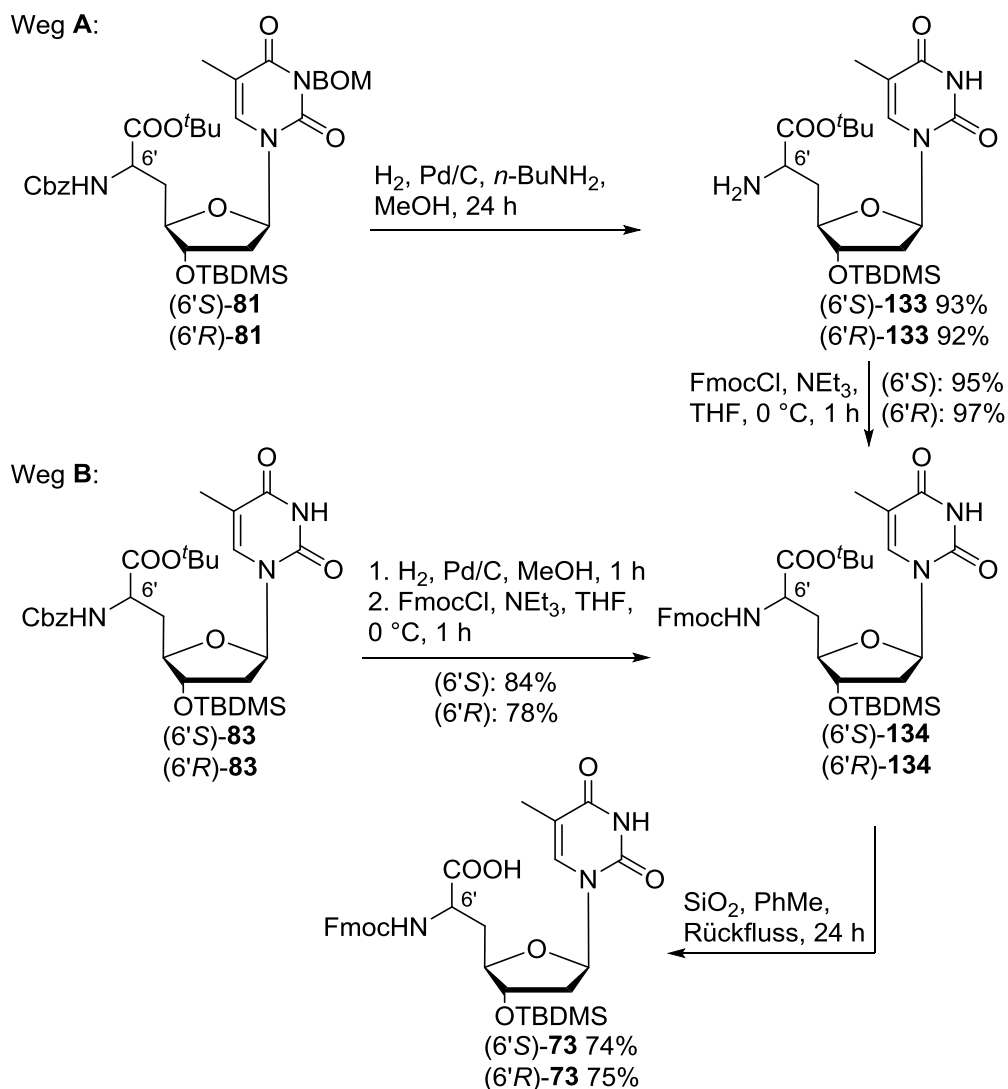
Dieser Unterschied in der Struktur der Nucleobase verursachte eine wesentlich geringere Reaktivität der Verbindung (*Z*)-**82** in der asymmetrischen Hydrierung. Wurde als katalytische Spezies der Komplex (S,S)-Me-DuPHOS-Rh eingesetzt, betrug die Reaktionszeit 9 Tage. Bedeutend länger (21 Tage) dauerte die Reduktion

von (*Z*)-**82** unter katalytischer Wirkung von (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh. Zudem musste die Menge an Katalysator (4 mol%) im Reaktionsgemisch gegenüber den Bedingungen der Hydrierung von (*Z*)-**80** (1-2 mol%) deutlich erhöht werden, damit die Reaktion in akzeptablen Zeiträumen durchgeführt werden konnte. Dabei wurde die Menge an Katalysator durch Portionsweise Zugabe im Abstand von 2-3 Tagen erhöht bis die Reaktion vollständig abgelaufen war. Im Gegensatz zu der Reaktion des BOM-geschützten Substrats (*Z*)-**80** wurden die Resultate der Hydrierungen durch die längere Reaktionszeit geringfügig beeinträchtigt. Während die Diastereomerenreinheit der erhaltenen Verbindungen (*6'S*)-**82** und (*6'R*)-**82** weiterhin hoch (*d.r.*  $\geq$  98:2) war, ergab besonders die (*R,R*)-Me-DuPHOS-vermittelte Reduktion eine deutlich geringere Ausbeute (77%) als im Fall des BOM-geschützten Substrats (*Z*)-**80**. Dieser Sachverhalt erschwerte besonders die Synthese der Verbindungen (*6'S*)- und (*6'R*)-**83** in größerem Maßstab ( $> 1$  g). Auch diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit den Befunden entsprechender Untersuchungen an Uridin-abgeleiteten 5',6'-Didehydroaminosäuren (*6'S*)- und (*6'R*)-**67** (Abb. 2.16) überein.<sup>[141]</sup> Eine mögliche Erklärung für die geringere Reaktivität der Basen-ungeschützten Didehydro-NAA besteht in einer koordinativen Interaktion der ungeschützten Nucleobase mit dem Metallzentrum der katalytischen Spezies.

#### 4.2.4 Umschätzung der NAA

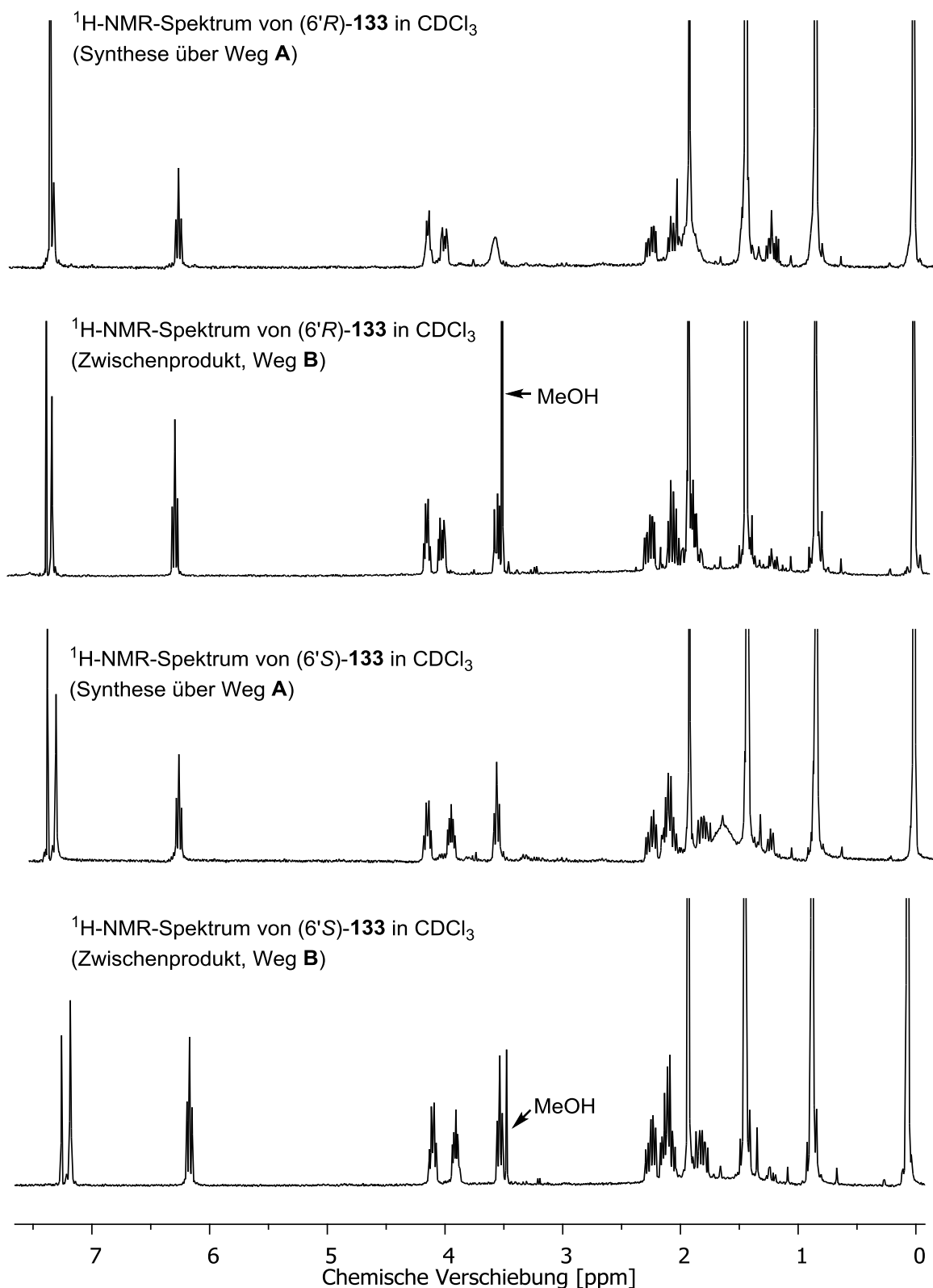
Gemäß der älteren Strategie zur Synthese der NAA **73** (Weg **A**, Abb. 4.8) wurden zunächst die reaktiv spaltbaren BOM und Cbz-Schutzgruppen unter Bildung von **133** simultan entfernt. Unter gewöhnlichen Bedingungen der heterogen katalysierten Hydrogenolyse ( $H_2$ , 10% Pd/C, MeOH) trat dabei als Nebenreaktion eine Methylierung der 6'-NH<sub>2</sub>-Gruppe durch Reaktion mit Formaldehyd auf, der bei der Spaltung der BOM-Gruppe freigesetzt wurde.<sup>[114]</sup> Daher wurde dem Reaktionsgemisch *n*-Butylamin in großem Überschuss (20 Äq) zugesetzt, das zum Abfangen des Formaldehyds diente. Zudem bewirkte die Gegenwart von *n*-Butylamin im Reaktionsgemisch eine deutliche Beschleunigung der Umsetzung. Eine mögliche Begründung hierfür ist die Erhöhung der Triebkraft der Reaktion durch das Entfernen einer Komponente auf der Produktseite. Bei dieser Vorgehensweise wurden die entschützten (*6'S*)- und (*6'R*)-NAA **133** in sehr guten Ausbeuten von 93% bzw. 92% erhalten. Allerdings konnte das *n*-Butylamin nur durch chromatographische

Reinigung vollständig entfernt werden. Dies war notwendig, da selbst geringe Mengen an *n*-Butylamin auf die nachfolgende Einführung der Fmoc-Schutzgruppe am 6'-NH störend wirken würden. Daher ermöglichte die Abwesenheit der BOM-Schutzgruppe in den Verbindungen **83** die Reaktionsführung ohne *n*-Butylamin. Folglich konnten die reaktiv entschützten NAA **133** für die nachfolgende Fmoc-Schutzung ohne chromatographische Reinigung weiterverwendet werden (Weg **B**, Abb. 4.8).



**Abb. 4.8:** Synthese der NAA (6'*S*)- und (6'*R*)-**73** über die Wege **A** und **B**.

Durch Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren konnte bestätigt werden, dass unabhängig vom gewählten Reaktionsweg (**A** oder **B**) identische Produkte **134** erhalten wurden (Abb. 4.9).



**Abb. 4.9:** Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der unterschiedlich hergestellten NAA **133**.

Nach Abspaltung der Cbz- und der BOM-Schutzgruppen wurde zunächst an der NH<sub>2</sub>-Funktionalität von (6'*S*)- und (6'*R*)-**134** die basenlabile Fluorenylmethoxycarbonyl-(Fmoc)-Schutzgruppe eingeführt (Abb. 4.8). Hierzu wurden die TAA **133** in THF bei 0 °C in Gegenwart eines Überschusses an Triethylamin (2.5 Äq) mit

Fmoc-Chlorid zur Reaktion gebracht. Besonders wichtig war dabei das Einhalten der niedrigen Reaktionstemperatur und einer kurzen Reaktionszeit (30 min-1 h), da anderenfalls das überschüssige Triethylamin zu einer Spaltung des gebildeten Carbamats führte. Die Spaltung des Carbamats ist irreversibel und thermodynamisch wegen der Bildung von CO<sub>2</sub> und Dibenzofulven stark begünstigt.<sup>[125]</sup> Die Produkte wurden in Ausbeuten von 95% ((6'*S*)-NAA **134**) bzw. 97% ((6'*R*)-NAA **134**) erhalten. Die Ausbeuten der direkt geführten Reaktionsfolge ausgehend von **83** waren mit 84% (von (6'*S*)-**83**) und 78% (von (6'*R*)-**83**) etwas geringer als ausgehend von den BOM-geschützten Verbindungen **81** über zwei Stufen. Nach Einführung der Fmoc-Gruppe wurden sämtliche NMR-Spektren bei erhöhten Temperaturen aufgenommen (T > 50 °C). Bei Raumtemperatur hingegen lagen in den <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der NAA **134** zwei deutlich getrennte Signalsätze von Rotameren mit unterschiedlicher Intensität (Verhältnis ca. 3:1) vor. Hierbei stellt sich die Frage, weshalb dieses Phänomen bei Vorliegen der Cbz-Schutzgruppe nicht beobachtet wurde. Dies kann durch eine deutliche Erhöhung der Rotationsbarriere der C-N-Bindung bei Ersatz der Cbz- durch die Fmoc-Schutzgruppe plausibel gemacht werden. Im Fall der Cbz-Schutzgruppe wäre die Rotationsbarriere recht klein, da die Koaleszenztemperatur unterhalb der Raumtemperatur liegt. Dagegen lassen sich die Befunde bei Vorliegen der Fmoc-Gruppe durch eine höhere Rotationsbarriere (höhere Koaleszenztemperatur) deuten. Bekanntlich wird die Höhe der Rotationsbarriere um die amidische C-N-Bindung auch durch elektronische Effekte von Substituenten am N-Atom beeinflusst.<sup>[155]</sup> Aufgrund der identischen Substituenten am N-Atom wurde jedoch in dem hier diskutierten Fall angenommen, dass vor allem der sterische Anspruch der Carbamat-Einheiten den Unterschied ausmacht. Zur Entschützung der Carboxygruppe der NAA **134** war die Spaltung des *tert*-Butylesters erforderlich. Dies wurde durch Erhitzen der NAA in Toluol unter Rückfluss für 24 h mit Kieselgel (1.6 g/mmol NAA) erreicht (Abb. 4.8). Die NAA **73** wurden in Ausbeuten von 74% ((6'*S*)-NAA **73**) und 75% ((6'*R*)-NAA **73**) erhalten. Andere Verfahren zur Spaltung von *t*-Butyl-Schutzgruppen in aprotisch-unpolaren Solventien beruhen auf der Aktivierung der C<sub>tert</sub>-O-Bindung durch Lewis-acide, stark hygroskopische Salze (z. B. MgI<sub>2</sub> oder ZnBr<sub>2</sub>),<sup>[156-157]</sup> die nach längerer Lagerung und häufiger Verwendung Wasser enthalten können und daher zur Spaltung von TBDMS-Schutzgruppen führen. Methoden zur Spaltung des *tert*-Butyl-Esters durch Säuren in protischen Lösungsmitteln wurden nicht untersucht, da dies generell mit der Gegenwart von TBDMS-Schutzgruppen in den Verbindungen **134** unvereinbar ist (Abb. 4.8). Darüber

hinaus ist auch eine alkalische Methode zur Spaltung von *tert*-Butylestern bekannt.<sup>[158]</sup> Wegen der basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe wurde jedoch auf die Anwendung dieser Vorgehensweise verzichtet. Es sei noch erwähnt, dass die Synthese der NAA **73** über die Route mit der BOM-Schutzgruppe im Fall von (6'*S*)-**73** zu geringfügig schlechteren Ergebnissen führte (9 Stufen, 31%) als die Route ohne BOM-Schutzgruppe (8 Stufen, 34%). Bei (6'*R*)-**73** erwies sich jedoch die Synthese mit BOM-Schutzgruppe als deutlich vorteilhaft (27%) gegenüber der Synthese ohne BOM-Schutzgruppe (20%). Auch der höhere Verbrauch an Katalysator bei der asymmetrischen Hydrierung und deren längere Reaktionszeit sprechen gegen die Schutzgruppenfreie Methode.

### 4.2.5 Synthese der 3'-Aminonucleoside

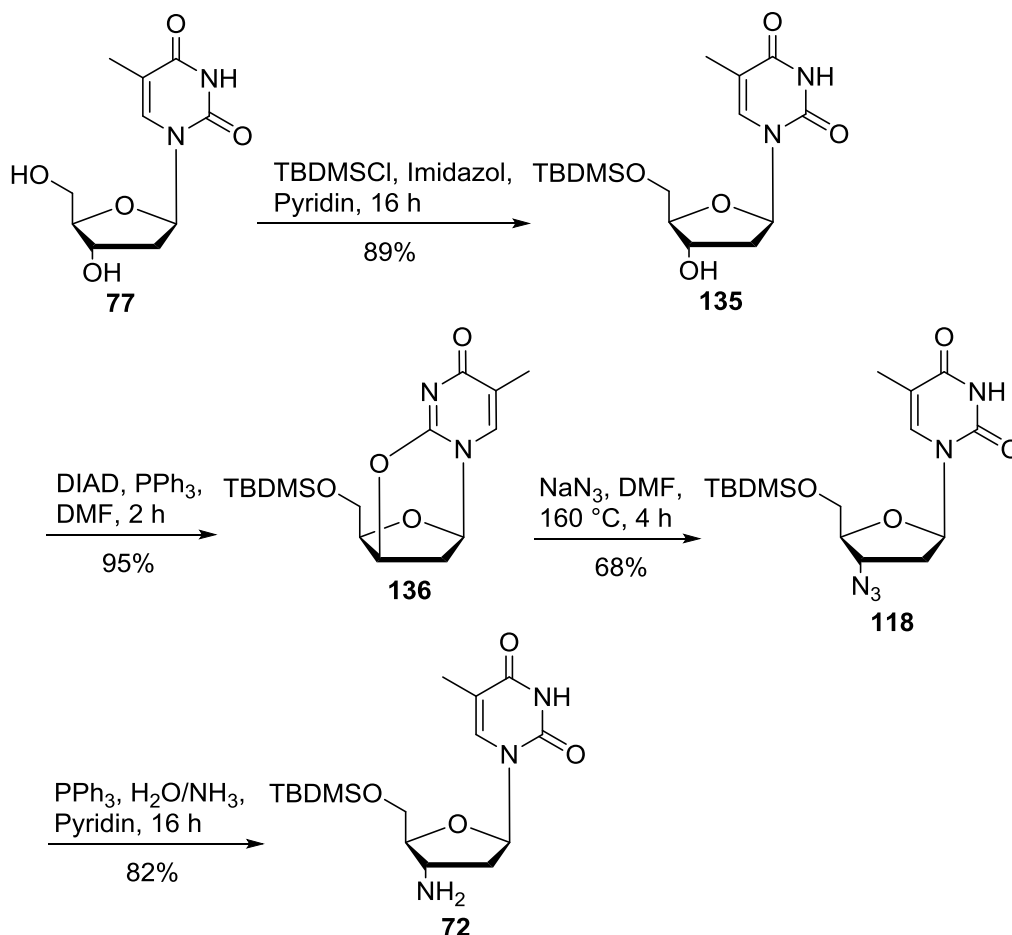
Gemäß der in Kap. 3.2.1.4 veranschaulichten Strategie sollte die Herstellung der Dinucleosid-Bausteine durch Peptid-Kupplung der NAA **73** (Abb. 4.8) mit verschiedenen 3'-Aminonucleosiden erfolgen. Hinsichtlich der Synthesemethoden gibt es einen grundlegenden Unterschied zwischen der Vorgehensweise, die zur Herstellung von 3'-Aminonucleosiden mit Pyrimidinbasen verwendet wird und derjenigen zur Herstellung von 3'-Aminonucleosiden mit Purinbasen. Obwohl in der Literatur Synthesen derartiger Verbindungen beschrieben sind, ergaben sich unerwartete Schwierigkeiten, die es zu bewältigen galt.

#### 4.2.5.1 Synthese der Pyrimidin-3'-Aminonucleoside

Für die Synthese des 5'-O-TBDMS-3'-Aminothymidins und des analogen Basengeschützten Cytidin-Derivats wurde generell nach der in Kap. 3.2.1.4 geschilderten Methode vorgegangen (Abb. 3.7, 4.10 und 4.11). Die Synthese des Thymidin-Derivats war mit nur vier Stufen bedeutend kürzer als diejenige des Cytidin-Derivats. Zuerst wurde in Analogie zu der Silylierung in Kap. 4.2.1 an der 5'-Position ein Silylether erzeugt. In diesem Fall war die erhaltene Ausbeute an **135** mit 89% etwas geringer als bei der zuvor diskutierten Zweifach-Silylierung. Der Grund dafür ist die selbst bei geringem Überschuss an Reagenz (TBDMSCl) stattfindende Reaktion zum zweifach silylierten Thymidin. Es folgte die Überführung des monosilylierten Thymidins **135** in die tricyclische Anhydro-Verbindung **136**. Bei dieser Reaktion



handelt es sich um eine intramolekulare nucleophile Substitution der Hydroxygruppe durch das 2-O der Nucleobase. Für diesen Vorgang bedarf es der Aktivierung der Hydroxygruppe an 3'-Position. Dazu wurde im Sinne einer *Mitsunobu*-Reaktion<sup>[159-160]</sup> die Kombination aus Triphenylphosphin und DIAD in DMF als Lösungsmittel verwendet. Gegenüber der zuvor eingesetzten, zweistufigen Reaktionsführung über die Bildung des 3'-O-Methansulfonsäureesters und dessen nachfolgende Substitution in basischem Milieu (nach *Matsuda*<sup>[120]</sup>) stellt dies eine bequemere Alternative dar. Auch die Ausbeute dieser Reaktion ist mit 95% bedeutend höher als diejenige der früher angewendeten Reaktionsfolge (77%). Die erhaltene Anhydroverbindung **136** weist eine mäßige Ringspannung auf und ist auf der  $\beta$ -Seite wirksam abgeschirmt, sodass die nachfolgende  $S_N2$ -artige Ringöffnungsreaktion durch Natriumazid nur unter Bildung des (3'*S*)-konfigurierten Azidothymidins **118** verläuft.



**Abb. 4.10:** Synthese des 5'-O-TBDMS-3'-Aminothymidins **72**.

Als Lösungsmittel wurde im Unterschied zum früher verwendeten 9:1-Gemisch aus DMF/H<sub>2</sub>O reines DMF eingesetzt, sodass die Ausbeute mit 68% etwas höher lag als

in der Vorarbeit (57%). Die Verwendung von Lithiumazid anstelle von Natriumazid führt bekanntermaßen zu deutlich besseren Ausbeuten. Dieser Sachverhalt ist leicht verständlich, wenn die beiden Kationen  $\text{Na}^+$  und  $\text{Li}^+$  hinsichtlich ihrer Oxophilie verglichen werden. Das Lithiumion stabilisiert das bei der Substitution gebildete Oxyanion wesentlich besser als das Natriumion. Dennoch wurde das Natriumazid wegen seiner leichten Verfügbarkeit und vergleichsweise sicheren Handhabung bevorzugt. Um die Azidfunktion von **118** in ein Amin zu überführen, wurde von einer Staudinger-Reduktion<sup>[161-162]</sup> Gebrauch gemacht. Bei dieser Reaktion wird das entsprechende Azid in basischem Milieu (Pyridin) durch Triphenylphosphin reduziert. Die Hydrolyse des intermediär gebildeten Iminophosphorans wird durch Zugabe von wässriger Ammoniak-Lösung (25%) bewirkt. Die Reaktion besitzt auf Grund der stabilen Produkte (Stickstoff, Triphenylphosphinoxid, Amin) eine große Triebkraft. Daher wurde die wässrige Ammoniak-Lösung bei 0 °C über einen Zeitraum von ca. 30 min. zugegeben. Die Reaktion verlief mit einer guten Ausbeute von 82% an 3'-Aminothymidin **72**. Die Synthese des geschützten 3'-Aminodesoxycytidins **90** unterscheidet sich durch zwei Aspekte von derjenigen des oben beschriebenen Thymidin-Derivats **72**. Zum einen besteht wegen möglicher Nebenreaktionen in der ON-Synthese die Notwendigkeit, die exocyclische 4-Aminogruppe des Cytosins zu schützen. Zum anderen erfolgt die Einführung der TBDMS-Schutzgruppe am 5'-O gemäß der zugrunde gelegten Synthesepanung nach *Richert*<sup>[137]</sup> erst im vorletzten Schritt. Daher begann die Synthese des 3'-Aminocytidin-Derivats **90** mit der Einführung einer Benzoyl-Gruppe an der 4-Aminogruppe der Nucleobase des Desoxycytidins **137** (Abb. 4.11). Für diese Transformation hat sich die Methode der transienten Schützung etabliert.<sup>[163]</sup> Dabei werden die 5'- und 3'-Hydroxygruppen unter mild-alkalischen Bedingungen (Pyridin) in sehr labile Silylether (TMS) überführt, sodass anschließend nur die exocyclische Aminogruppe der Nucleobase für die Reaktion mit Benzoylchlorid zur Verfügung steht. Die Abspaltung der Silylether erfolgte durch Zugabe von Wasser unter Kühlung des Reaktionsgemischs auf 0 °C. Die gesamte Reaktionsfolge konnte als Eintopfverfahren durchgeführt werden. Abweichend vom publizierten Verfahren wurde das resultierende Rohprodukt chromatographisch gereinigt, da dessen Umkristallisation stets ein hohes Maß an Verunreinigung durch Benzoesäure nach sich zog. Die Verbindung **138** konnte auf diese Weise in einer Ausbeute von 75% erhalten werden. Es folgte in ähnlicher Weise zur erläuterten Synthese des Anhydrothymidins **136** (Abb. 4.10) die Cyclisierung des *N*-4-Benzoyldesoxycytidins **138** zur Verbindung **96**. Im Unterschied

zum Ringschluss des Thymidin-Derivats **135** wurden hier je zwei Portionen DIAD und Triphenylphosphin in einem zeitlichen Abstand von 1 h hinzugefügt, wobei mit der ersten Portion *p*-Brombenzoesäure dazugegeben wurde (Abb. 4.11).

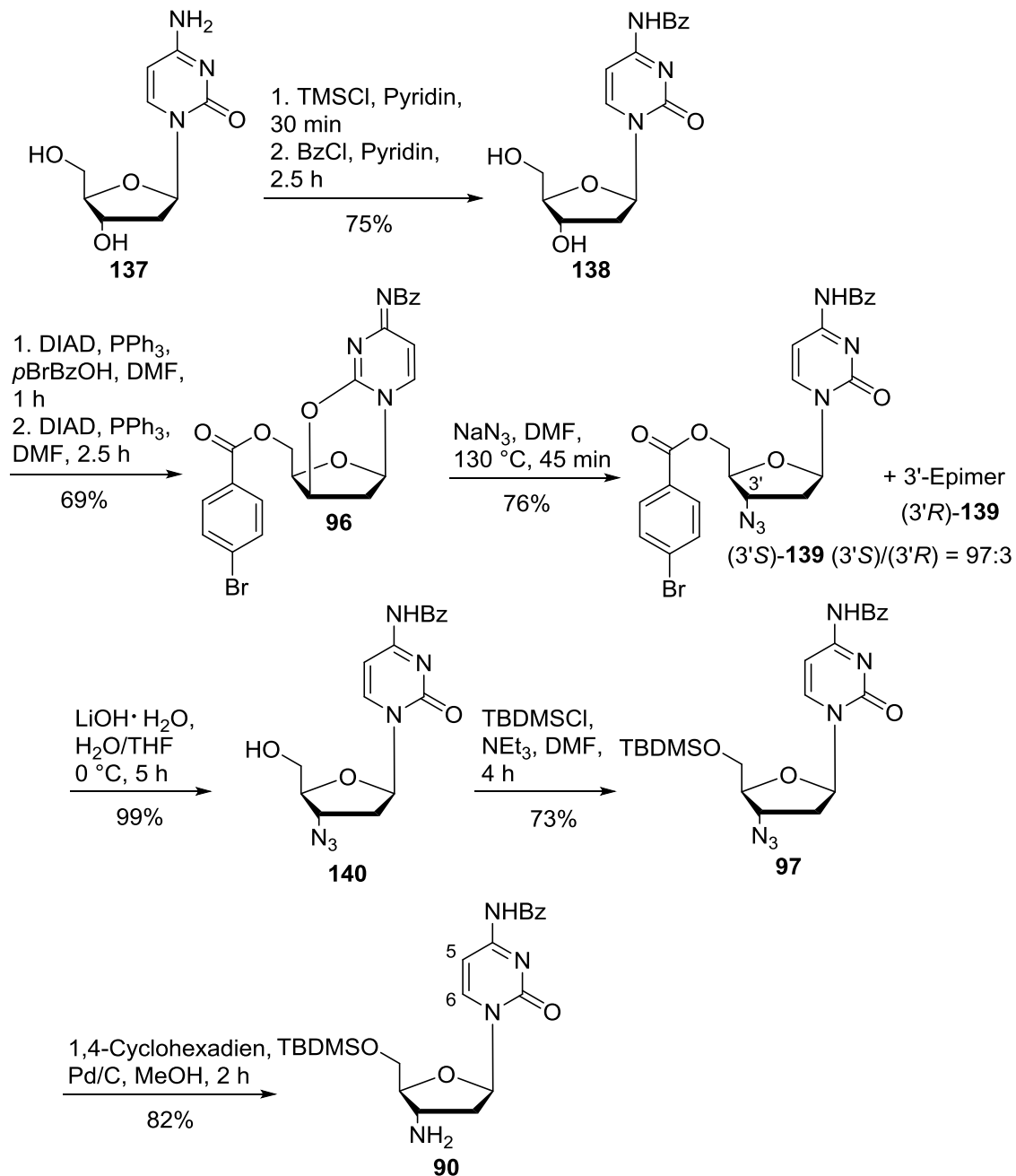


Abb. 4.11: Synthese des geschützten 3'-Aminocytidins **90**.

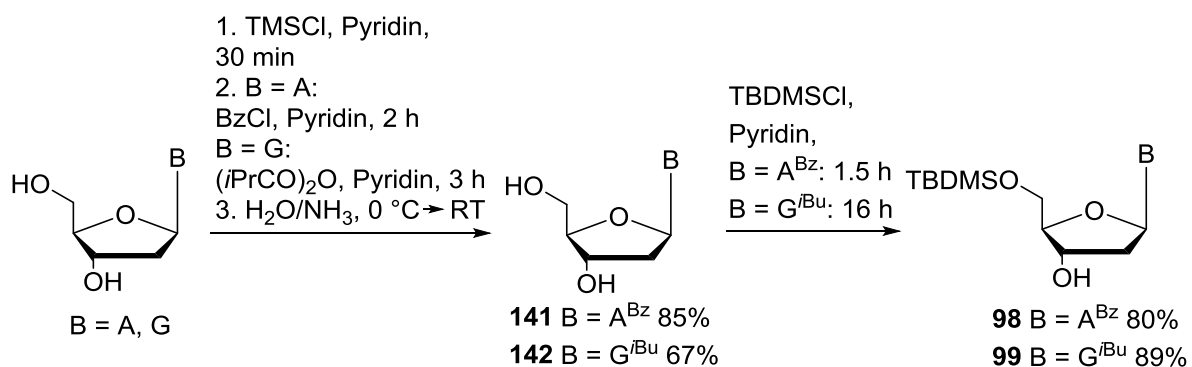
Die erste Teilreaktion diente der Einführung einer Esterfunktion an der 5'-Position durch Nucleophile Substitution der Hydroxygruppe, während die zweite Teilreaktion die bereits erwähnte Cyclisierung der Verbindung herbeiführte. Beide Teilreaktionen verliefen gemäß dem Mechanismus der *Mitsunobu*-Reaktion (s.o.). Zur Reinigung des Rohprodukts von **96** wurde eine Fällung aus Diethylether verwendet. Dieses

Vorgehen ist aufgrund der hohen Polarität der Verbindung **96** und folglich sehr geringen Löslichkeit in Diethylether gegenüber der gewöhnlichen Chromatographie an Kieselgel vorteilhaft, da sämtliche Verunreinigungen (Hydrazin-Derivat, Triphenylphosphinoxid) aufgrund ihrer Lipophilie in Diethylether gelöst bleiben. Die stereoselektive Einführung der Azidfunktion an 3'-Position zur Bildung von (3'S)-**139** wurde unter milderen Bedingungen (kürzere Reaktionszeit, niedrigere Temperatur) durchgeführt als die analoge Reaktion zum 3'-Azidothymidin **118** (Abb. 4.10). Es erscheint naheliegend, dass der Grund hierfür darin liegt, dass das Benzoylgeschützte Cytosin eine bessere Abgangsgruppe als Thymin darstellt, denn die negative Ladung kann auch auf die Acylgruppe übertragen werden. Folglich wird der Übergangszustand der Reaktion besser stabilisiert. Interessanterweise wurde bei dieser Reaktion in geringer Menge (3% des Rohprodukts) das 3'-epimere Azid (3'R)-**139** erhalten. Eine plausible Erklärung für diesen Befund ist ein teilweiser Verlauf der Reaktion über den S<sub>N</sub>1-Mechanismus. Nur wenn in geringen Mengen unter vorgelagerter Ringöffnung ein Carbokation am 3'-C gebildet wird, kann das Nucleophil unter Retention der Konfiguration am 3'-C eintreten. Diese Annahme harmoniert überdies gut mit der bereits erwähnten Tatsache, dass das Benzoylgeschützte Cytosin eine wesentlich bessere Abgangsgruppe darstellt als Thymin. Um in 5'-Position eine TBDMS-Schutzgruppe einführen zu können, wurde zunächst der *p*-Brombenzoesäureester durch Einwirkung von Lithiumhydroxid-Monohydrat in einem THF/Wasser-Lösungsmittel-Gemisch gespalten. Abweichend von der publizierten Vorschrift nach *Richert*<sup>[137]</sup> wurde die Reaktion durchgängig in dem Temperaturintervall von 0 °C-5 °C geführt. Das Produkt **140** wurde in einer exzellenten Ausbeute von 99% erhalten und konnte auch ohne chromatographische Reinigung in der nächsten Reaktion verwendet werden. Die Generierung des TBDMS-Ethers am 5'-O von **140** ergab überraschenderweise unter den Standard-Bedingungen (Pyridin, TBDMSCl) selbst nach einer Reaktionszeit von 16 h eine unvollständige Umsetzung und nur mäßige Ausbeute (54%). Eine deutliche Verbesserung der Ausbeute auf 73% und Verkürzung der Reaktionszeit auf 4 h ermöglichte der Ersatz von Pyridin durch DMF und die Zugabe von NEt<sub>3</sub> als Base. Für die abschließende Reduktion der 3'-Azidgruppe von **97** zum Amin wurde mit der Transfer-Reduktion durch 1,4-Cyclohexadien in Methanol unter heterogener Katalyse durch Pd/C auf ein relativ mildes Verfahren zurückgegriffen.<sup>[164]</sup> Auf diesem Weg wurde das Produkt **90** in einer guten Ausbeute von 82% erhalten. Andere Methoden wurden wegen möglicher Nebenreaktionen nicht untersucht. Bei der Staudinger-

Reaktion wäre die Spaltung der Benzoyl-Schutzgruppe durch die wässrige Ammoniak-Lösung zu erwarten. Bei der heterogen katalysierten (Pd/C) Hydrogenolyse von Cbz-Schutzgruppen durch molekularen Wasserstoff in Methanol trat im Fall von Uridin-Derivaten die Reduktion der 6,5-Doppelbindung der Nucleobase als Begleiterscheinung auf.<sup>[141]</sup> Beide Nebenreaktionen wurden durch die Verwendung der Transfer-Hydrierung vermieden.

#### 4.2.5.2 Synthese der Purin-3'-Aminonucleoside

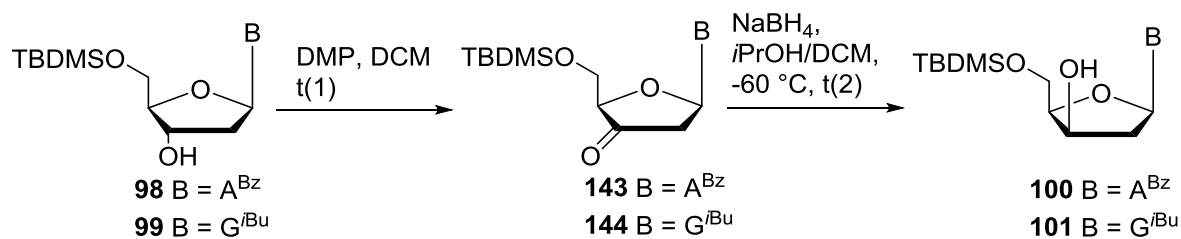
Die Synthese der Purin-3'-Aminonucleoside sollte gemäß der in Kap. 3.1.3.2 beschriebenen Vorgehensweise erfolgen. Wie bereits im Zusammenhang mit der Synthese des geschützten 3'-Amino-2'-desoxycytidins erläutert, ist eine Schützung der exocyclischen Aminogruppen der Nucleobasen erforderlich. Während für das Adenin wie im Fall des Cytosins die Benzoyl-Schutzgruppe vorgesehen war, sollte die Aminogruppe des Guanins mit einer Isobutyryl-Schutzgruppe versehen werden. Hierfür wurde die generelle Methode zur Acylierung von Nucleobasen-Aminogruppen verwendet, die bereits im Kontext mit der Synthese des geschützten 2'-Desoxy-3'-aminocytidins **90** erläutert wurde (Kap. 4.2.5.1, Abb. 4.11). Die Acylierung des 2'-Desoxyadenosins lieferte das Produkt **141** in einer Ausbeute von 85%, während die entsprechende Reaktion zur Bildung des 2'-Desoxyguanosin-Derivats **142** mit einer Ausbeute von 67% verlief (Abb. 4.12).



**Abb. 4.12:** Synthese der 5'-O-geschützten Purinnucleoside **98** und **99**.

Auch in diesen Fällen erwies sich die Reinigung der Rohprodukte durch Umkristallisation als ineffizient, sodass von der aufwendigeren Chromatographie Gebrauch gemacht wurde. Es folgte die selektive Bildung eines Silylethers (TBDMS) in 5'-Position unter üblichen Bedingungen (TBDMSCl, Pyridin). Sowohl das silylierte

2'-Desoxyadenosin **98** als auch das entsprechende 2'-Desoxyguanosin-Derivat **99** wurden in guten Ausbeuten (80% bzw. 89%) isoliert. Die anschließende Transformation, deren Produkte die 2'-Desoxy-3'-*xylo*-Derivate **100** und **101** waren, stellt eine Inversion der Konfiguration am 3'-C-Atom dar. Hierfür wurde ein zweistufiges Eintopf-Verfahren angewendet. Diese Reaktionsfolge erwies sich als sehr empfindlich und bedurfte einer Optimierung (Abb. 4.13).



Ergebnisse der Synthesen von **100** (B = A<sup>Bz</sup>)

Nr.	Edukt [g]	Äq (DMP)	Äq (NaBH <sub>4</sub> )	c(Edukt) [mmol/mL]	t(1) [h]	t(2) [h]	Ausbeute
1	0.050	3.0	2.5	0.106	7	16	< 60%*
2	0.100	2.25	2.0	0.106	3	3.5	< 61%*
3	0.100	2.25	2.0	0.106	4	3	< 63%*
4	0.200	2.25	2.0	0.106	3	16	< 20%*
5	0.200	1.5	2.0	0.106	4.5	16	74%
6	0.500	2.7	2.5	0.106	3	3	< 30%*
7	1.00	2.25	2.5	0.141	7	16	< 57%*
8	2.00	1.5	2.0	0.106	9	16	67%
9	2.00	1.5	2.0	0.106	14	7	75%

\*verunreinigt

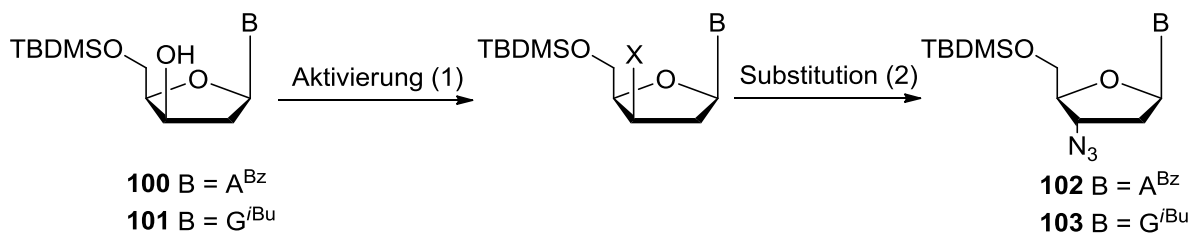
Ergebnisse der Synthesen von **101** (B = G<sup>Bu</sup>)

Nr.	Edukt [g]	Äq (DMP)	Äq (NaBH <sub>4</sub> )	c(Edukt) [mmol/mL]	t(1) [h]	t(2) [h]	Ausbeute
1	0.050	1.5	2.0	0.106	4	16	64%
2	0.200	1.5	2.0	0.106	3	16	50%
3	0.200	1.5	2.0	0.106	4.5	16	80%
4	1.00	1.5	2.0	0.141	4	16	70%
5	2.00	1.5	2.0	0.106	7	16	74%
6	2.00	1.5	2.0	0.106	8	16	80%

**Abb. 4.13:** Synthese der 2'-Desoxy-3'-*xylo*-Derivate **100** und **101**.

Im ersten Schritt erfolgte eine Oxidation der 3'-Hydroxygruppen der Verbindungen **98** und **99** zu den intermediär gebildeten Ketonen **143** und **144** durch DMP in DCM. Auf die Isolierung der Ketone wurde aufgrund ihrer Labilität verzichtet.<sup>[165-166]</sup> Im Unterschied zu der Vorschrift von *Richert* wurden für die Synthese der Verbindung **100** im optimierten Verfahren nur 1.5 Äq DMP eingesetzt. Reaktionen, in denen die angegebene Menge von 2.25 Äq DMP dazugegeben wurde, ergaben nur geringe bis mäßige Ausbeuten an **100** (20-60%) bei schlechter Reproduzierbarkeit. Zudem konnte bei einem Einsatz von mehr als 1.5 Äq an DMP das Produkt **100** nicht vollständig von den resultierenden Verunreinigungen befreit werden. Weitere Ungenauigkeiten in dem Protokoll von *Richert* betrafen das angegebene Zeitintervall für die Oxidation (3 h) und die Konzentration der Reaktionslösung (0.5 mmol/mL bezüglich der Edukte **98** und **99**). Bei kleinen Ansätzen (200 mg) war die Oxidation erst nach 4 h abgelaufen und bei größeren Ansätzen (> 1.5 g) nach mindestens 7 h. Die Reaktionsdauer der Oxidation war nachweislich abhängig von dem gewählten Reaktionsmaßstab. Des Weiteren wurden die besten Ergebnisse für die Reaktionsfolge bei einer bedeutend niedrigeren Konzentration der Reaktionslösung (0.106 mmol/mL bezüglich der Edukte **98** und **99**) erzielt. Nach der Oxidation wurde zum Desaktivieren des DMP und als Lösungsmittel für die nachfolgende Reaktion absolutes Isopropanol dazugegeben und die Temperatur der Reaktionsmischung auf -60 °C heruntergekühlt. Letzteres war für die Stereoselektivität der nachfolgenden Reduktion der Ketone zu den Desoxy-3'-xylo-derivaten durch Natriumborhydrid von grundlegender Bedeutung. Der nucleophile Angriff an der annähernd trigonal-planaren 3'-Ketogruppe durch das BH<sub>4</sub>-Anion verläuft bevorzugt über die weniger abgeschirmte α-Seite. Diese kinetische Diskriminierung nimmt zu tieferen Temperaturen hin deutlich zu. Nach einer Reaktionszeit von 16 h wurde das Natriumborhydrid durch Zugabe von Aceton gequencht und die Reaktion aufgearbeitet. Besonders wichtig ist das Einhalten der niedrigen Temperatur (-60 °C) über die gesamte Reaktionszeit bis zur Aufarbeitung. Ein Aufwärmen der Reaktion vor der Aufarbeitung führt zur teilweisen Zersetzung der gebildeten Produkte **100** und **101**. Eine mögliche Ursache für dieses Phänomen ist die Spaltung der N-glykosidischen Bindung durch Essigsäure, die bei der Reduktion von DMP freigesetzt wird. Folglich ist eine mild-alkalische Aufarbeitung (NaHCO<sub>3</sub>) unverzichtbar. Das optimierte Verfahren ermöglichte die Synthese der 2'-Desoxy-3'-xylo-nucleoside **100** und **101** in guten Ausbeuten von 72% bzw. 80%. Die wesentlichen Abweichungen gegenüber der Vorschrift nach *Richert* betrafen die

eingesetzte Menge an DMP (1.5 Äq), die Konzentration der Edukte **98** und **99** in DCM (0.106 mmol/mL) und die Zeitintervalle der Teilreaktionen (Oxidation: 4-7 h, Reduktion 16 h). Die erhaltenen Verbindungen **100** und **101** sollten wiederum unter Inversion der Konfiguration am 3'-C in die 2',3'-Dideoxy-3'-azidonucleoside **102** und **103** überführt werden. Die generelle Methode für diese Transformation besteht in einer Aktivierung der 3'-Hydroxygruppe und nachfolgender S<sub>N</sub>2-Reaktion mit einem Azid-Ion als Nucleophil (Abb. 4.14).



Nr.	(1)	(2)	X	Ausbeute	
				<b>102</b>	<b>103</b>
1	NaN <sub>3</sub> , DIAD, Ph <sub>2</sub> P(2-Py), DMF, 4 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>2</sub> (2-Py)	12%	0%
2	NaN <sub>3</sub> , DIAD, Ph <sub>2</sub> P(2-Py), THF, 4 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>2</sub> (2-Py)	0%	0%
3	LiN <sub>3</sub> , DIAD, PPh <sub>3</sub> , 5 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>3</sub>	0%	<46%*
4	DPPA, PPh <sub>3</sub> , DIAD, THF, 5 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>3</sub>	<11%*	<39%*
5	<i>n</i> -Bu <sub>4</sub> NN <sub>3</sub> , PPh <sub>3</sub> , DDQ, DCM, 16 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>3</sub>	0%	n. d.
6	LiN <sub>3</sub> , CBr <sub>4</sub> , PPh <sub>3</sub> , DMF, 24 h		<sup>+</sup> OPPh <sub>3</sub>	0%	0%
7	Tf <sub>2</sub> O, Pyridin, DCM, -30 °C, 15 min	LiN <sub>3</sub> , DMF, RT, 2 h	OSO <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	0%	0%
8	Tf <sub>2</sub> O, Pyridin, DCM, -30 °C, 15 min	<i>n</i> -Bu <sub>4</sub> NN <sub>3</sub> , Pyridin, DCM, -70 °C, 2.5 h	OSO <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	0%	0%
9	MsCl, DCM, NEt <sub>3</sub> , 0 °C, 2 h	<i>n</i> -Bu <sub>4</sub> NN <sub>3</sub> , DMF, 80 °C, 16 h	OSO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	24%	n. d.
10	MsCl, Pyridin, 4 h	NaN <sub>3</sub> , DMF, 110 °C, 1.5 h	OSO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	60%	69%

\*verunreinigt, n. d. = nicht durchgeführt

**Abb. 4.14:** Synthese der 2'-Desoxy-3'-Azidonucleoside **102** und **103**.

Das hierfür von *Richert* verwendete Verfahren impliziert eine Aktivierung der Hydroxygruppe gemäß der bereits erwähnten *Mitsunobu*-Reaktion durch eine Kombination aus Diphenyl-2-pyridylphosphin und DIAD in DMF. Als Azid-Quelle wurde dabei NaN<sub>3</sub> genutzt. Die berichteten Ergebnisse konnten jedoch nicht reproduziert werden, da unter den beschriebenen Bedingungen ein nahezu



untrennbares Gemisch resultierte. Das 2',3'-Dideoxyadenosin-Derivat **102** konnte auf diese Weise in einer maximalen Ausbeute von 12% erhalten werden, während das entsprechende Derivat des Guanosins nicht in einer akzeptablen Form isoliert werden konnte. Bei Ersatz des Lösungsmittels DMF durch THF wurde unter ansonsten gleichbleibenden Bedingungen kein Produkt erhalten. Daher wurde zunächst ein ähnliches Verfahren nach *Hirschbein* eingesetzt.<sup>[134]</sup> Anstelle von Diphenyl-2-pyridylphosphin wurde demnach das etwas elektronenreichere Triphenylphosphin (PPh<sub>3</sub>) verwendet und das nur wenig in DMF lösliche NaN<sub>3</sub> wurde durch das reaktivere und in DMF besser lösliche LiN<sub>3</sub> ersetzt. Es konnte jedoch auch in diesem Fall nur stark verunreinigtes Produkt in geringer Ausbeute bzw. kein Produkt erhalten werden. Eine alternative Azid-Quelle, die aufgrund ihrer guten Löslichkeit in organischen Solventien als vielversprechend erschien, ist Diphenylphosphorylazid (DPPA).<sup>[167]</sup> Dieses Reagenz wurde von *Strazewski* zur Einführung der Azid-Funktionalität an der 3'-Position eingesetzt.<sup>[168]</sup> Die Reaktion beider 2'-Desoxy-3'-*xylo*-nucleoside **100** und **101** mit einer Kombination aus DPPA, PPh<sub>3</sub> und DIAD in THF ergab jedoch ebenfalls geringe Ausbeuten (11% bzw. 39%) stark verunreinigter Produkte **102** und **103** (Abb. 4.14). Ein weiteres, prinzipiell ähnlich funktionierendes System zur Überführung verschiedener Funktionalitäten in Azide wurde von *Iranpoor* et al. beschrieben.<sup>[169]</sup> Demnach wird der Alkohol durch die Interaktion mit einem PPh<sub>3</sub>-DDQ(2,3-Dichlor-5,6-dicyanobenzochinon)-Komplex aktiviert. Als Azid-Quelle dient dabei das ausgesprochen reaktive aber relativ teure Salz Tetrabutylammoniumazid (TBAA), welches aufgrund der hohen Lipophilie des Tetrabutylammonium-Kations selbst in wenig polaren Lösungsmitteln als Solvens-getrenntes Ionenpaar vorliegt. Unter diesen Bedingungen konnte allerdings kein Produkt erhalten werden. Ein möglicher Grund ist die als Nebenreaktion stattfindende Spaltung des Silylethers. Zwar berichteten *Iranpoor* et al. von einer ausgeprägten Präferenz der Substitution sekundärer Alkohole in Gegenwart primärer Silylether durch N<sub>3</sub>. Aufgrund der sterischen Abschirmung der 3'-Hydroxygruppe ist es jedoch naheliegend, dass die Spaltung des 5'-Silylethers als Nebenreaktion ein signifikantes Ausmaß annimmt. Nach diesen Versuchen erscheint es plausibel, dass die Reaktionssysteme gemäß *Mitsunobu*-Reaktion vor allem wegen der schwer trennbaren Produktgemische generell unvorteilhaft sind. Die Ursache für den geringen Reaktionsumsatz könnte die unzureichende Acidität der Gegenionen (Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Diphenylphosphoryl-Kation) der eingesetzten Nucleophile sein. Gemäß dem bekannten Mechanismus der *Mitsunobu*-Reaktion wird ein zwitterionischer PPh<sub>3</sub>-

DIAD-Komplex **145** als Intermediat gebildet (Abb. 4.15).<sup>[170]</sup> Für die Stabilisierung dieser Spezies bedarf es eines ausreichend sauren Gegenions des Nucleophils. In der ursprünglich von *Mitsunobu* beschriebenen Reaktion wurden Carbonsäuren als Nucleophile eingesetzt, sodass die zwitterionische Spezies **145** durch das äußerst acide Proton sehr gut stabilisiert wurde.<sup>[159]</sup> Eine vergleichbare Stabilisierung ist bei einem Ersatz dieses Protons durch die erwähnten Kationen wahrscheinlich nicht gegeben.

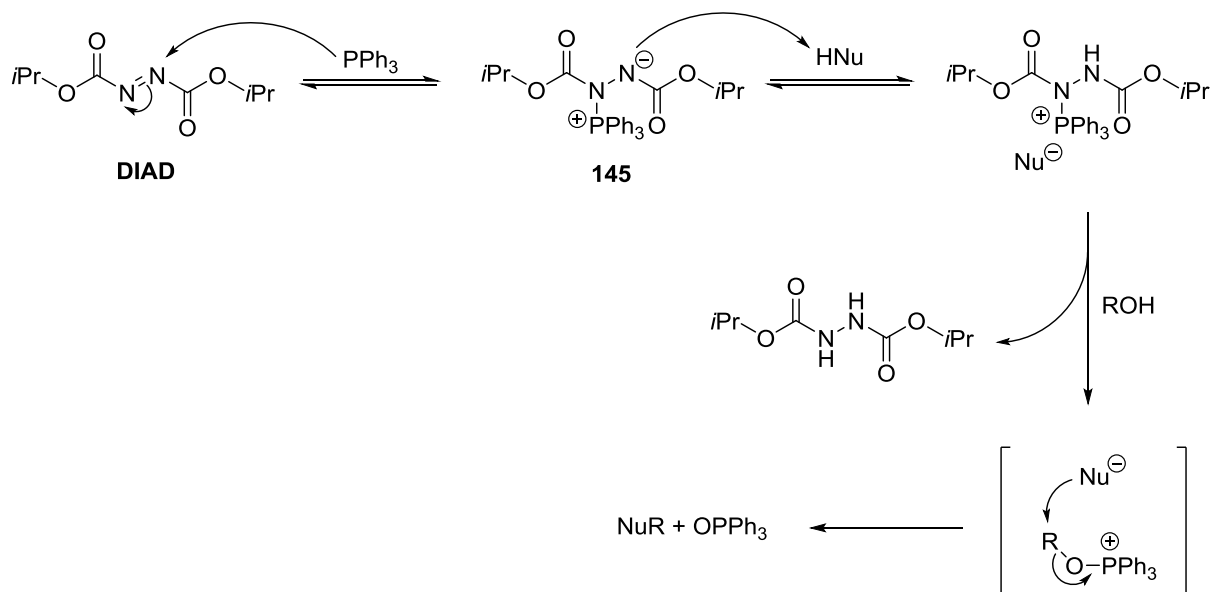


Abb. 4.15: Mechanismus der *Mitsunobu*-Reaktion.<sup>[170]</sup>

Folglich wurden gänzlich andere Verfahren auf ihre Brauchbarkeit für die Einführung der Azid-Funktionalität in der 3'-Position der 2'-Desoxy-3'-xylo-nucleoside untersucht. Eine interessante Variante der Substitution von Hydroxygruppen durch eine Azidfunktion unter Konfigurationsumkehr in 3'-Position, die ebenfalls getestet wurde, ist zu den Redoxkondensationen nach *Mukaiyama*<sup>[171]</sup> oder *Appel*-Reaktionen<sup>[172]</sup> zu zählen.<sup>[133]</sup> Bei dieser Reaktion, die in DMF geführt wurde und mechanistisch der *Mitsunobu*-Inversion verwandt ist, wird Triphenylphosphin durch eine Reaktion mit Tetrabromkohlenstoff zu Triphenylphosphoniumbromid oxidiert, das anschließend die Hydroxygruppe durch eine S<sub>N</sub>2-Reaktion unter Austritt des Bromidions aktiviert. Zusätzlich wurde zur Reaktion Lithiumazid dazugegeben, sodass das Azidion die aktivierte Phosphoniumspezies in 3'-Position substituieren sollte. Es wurde jedoch nur Zersetzung der Edukte **100** und **101** (Abb. 4.14) beobachtet. In den bisher diskutierten Reaktionen wurde die 3'-Hydroxygruppe stets durch reaktive Phosphonium-Intermediate aktiviert, die aus Redoxreaktionen hervorgegangen waren. Die prinzipiell andere Möglichkeit zur Überführung der Hydroxy-Funktionalität

in eine gute Abgangsgruppe ist die Bildung von Sulfonsäureestern. Eine Methode dieser Art stellt die Aktivierung der 3'-Hydroxygruppe durch die Bildung des Trifluormethansulfonsäure(Tf)-Esters mit anschließender Substitution der Abgangsgruppe durch das aus Lithiumazid generierte Azidion dar. Über die Anwendung dieser Vorgehensweise zur Einführung der Azid-Funktionalität an 3'-Position oder an 2'-Position von verschiedenen Purin-Nucleosidderivaten ist berichtet worden.<sup>[131-132,173]</sup> Dem Protokoll nach *Herdewijn* folgend wurde die Lösung des jeweiligen Nucleosids in DCM mit Pyridin als Base zunächst auf -30°C heruntergekühlt und mit Tf<sub>2</sub>O versetzt. Anschließend wurde das Gemisch auf Raumtemperatur gebracht und in DMF gelöstes Lithiumazid dazugegeben. Es wurde jedoch ausschließlich die Zersetzung der Edukte beobachtet. Auch die Reaktionsführung bei -70 °C und Einsatz von Tetrabutylammoniumazid anstelle von Lithiumazid unter ansonsten gleich bleibenden Bedingungen ergab keine Produkte **102** oder **103** (Abb. 4.14). Der Grund dafür ist die Labilität der intermediär gebildeten 3'-Triflat-Ester, die vor allem durch Eliminierung der Estereinheit zerfallen. Im Unterschied dazu waren die von *Herdewijn* verwendeten Substrate in 5'-Position durch einen Benzylester geschützt. Dieser Umstand ermöglicht die schnelle Stabilisierung der Triflatester durch die Seitengruppen-Substitution der Triflatestereinheit unter Entstehung eines anellierten Fünfrings, der im weiteren Verlauf durch das Azidion als Nucleophil geöffnet wird. Deutlich milder als die Aktivierung der Hydroxygruppe über den Triflat-Ester ist die Generierung des Methylsulfonsäure(Ms)-Esters. Dieses Verfahren wurde bereits in der Vorarbeit zur Synthese des 5'-O-TBDMS-3'-azidothymidins erfolgreich angewendet.<sup>[114]</sup> Die Reaktionsbedingungen für die Synthese des 3'-O-Ms-Esters des 5'-geschützten Thymidins (MsCl, DCM, NEt<sub>3</sub>, 0 °C, 2 h) ließen sich jedoch nicht auf die Herstellung des Purin-Nucleosids **102** übertragen. Zwar konnte die Bildung der entsprechenden 3'-O-Ms-Ester per Dünnschichtchromatogramm nachgewiesen werden. Allerdings konnte der 3'-O-Ms-Ester von **100** selbst nach direkter Weiterverwendung in der Nucleophilen Substitution mit TBAA in DMF nur in einer Ausbeute von 24% in das 2',3'-Dideoxy-3'-azidonucleosid überführt werden. Schließlich wurde die Bildung der 3'-O-Ms-Ester in Pyridin als Lösungsmittel durchgeführt. Im Unterschied zur Kombination aus DCM und NEt<sub>3</sub> ist Pyridin aufgrund ihrer geringeren Basizität die mildere Alternative. Unter diesen Bedingungen wurden die 3'-O-Ms-Ester (Ms-**100** bzw. Ms-**101**) der Verbindungen **100** und **101** in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten. Diese Verbindungen wurden aufgrund ihrer Labilität ohne

chromatographische Reinigung in der darauf folgenden Reaktion zu den 2',3'-Dideoxy-3'-azidonucleosiden **102** und **103** umgesetzt, die in akzeptablen Ausbeuten erhalten wurden (60% bzw. 69%). Die Reduktion der Azide zu den Zielverbindungen **91** und **92** gelang in hohen Ausbeuten (in beiden Fällen 92%) durch heterogen katalysierte Hydrierung unter Standardbedingungen (1 bar H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, Abb. 4.16).

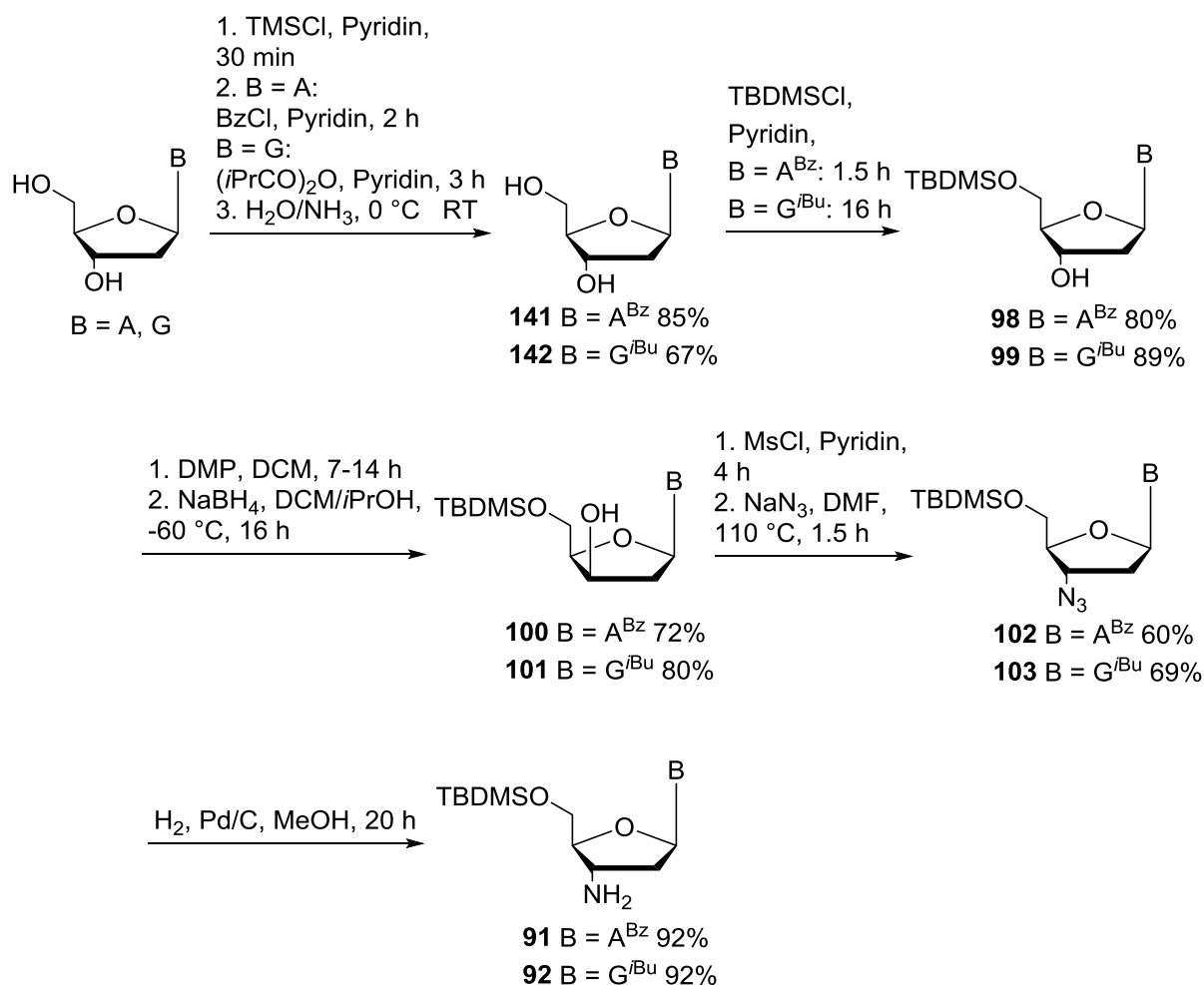
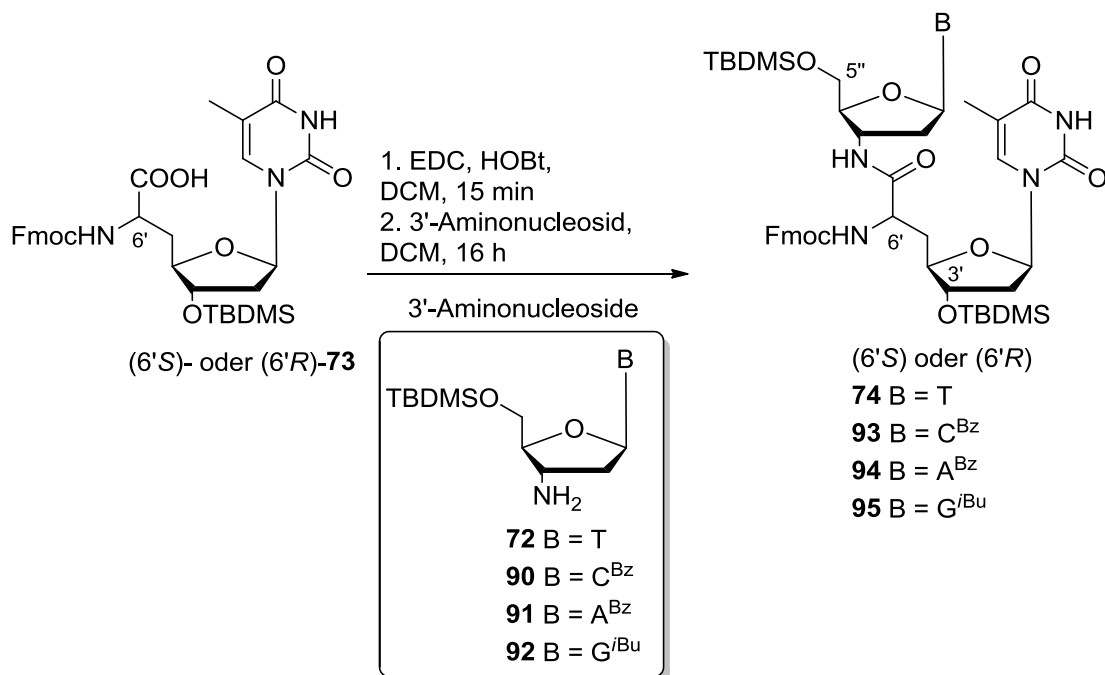


Abb. 4.16: Optimierte Synthese der Purin-2',3'-dideoxy-3'-aminonucleoside **91** und **92**.

#### 4.2.5.3 Synthese der NAA-verbrückten Dinucleoside (Dimere)

Dem Synthesepfad nach Kap. 3.2.1.3 weiter folgend wurden aus den bisher beschriebenen NAA **73** und den 3'-Aminonucleosiden **72** und **90-92** verschiedene Dinucleoside aufgebaut. Für die Verknüpfung der NAA mit den Nucleosiden wurde das gängige Verfahren zur Peptidkupplung verwendet. Zunächst wurden demnach die Carbonsäuren durch Reaktion mit EDC und HOBT in Aktivester überführt. Dies dient einer Unterdrückung von Nebenreaktionen wie Epimerisierungen, die bei

direkter Aktivierung durch z. B. DCC ein bedeutendes Ausmaß annehmen können. Die resultierenden Carbonsäure-HOBt Aktivester wurden mit 3'-Aminonucleosiden zur Reaktion gebracht, sodass über Peptidbindungen verknüpfte Dinucleoside **74**, **93-95** entstanden (Abb. 4.17). Diese zweistufige Reaktion wurde stets in DCM als Lösungsmittel geführt und ergab moderate bis gute Ausbeuten (58-79%). Die besten Ergebnisse wurden bei der Kupplung der NAA **73** mit dem 5'-geschützten 3'-Aminothymidin erzielt (79% bzw 78%). Etwas geringere Ausbeuten resultierten bei der Kupplung der NAA **73** mit 5'-geschützten Purin-3'-Aminonucleosiden (66-74%). Noch schlechtere Ergebnisse wurden bei der Bindungsknüpfung mit dem entsprechenden Cytidin-Derivat **90** (59% bzw. 63%) erhalten.



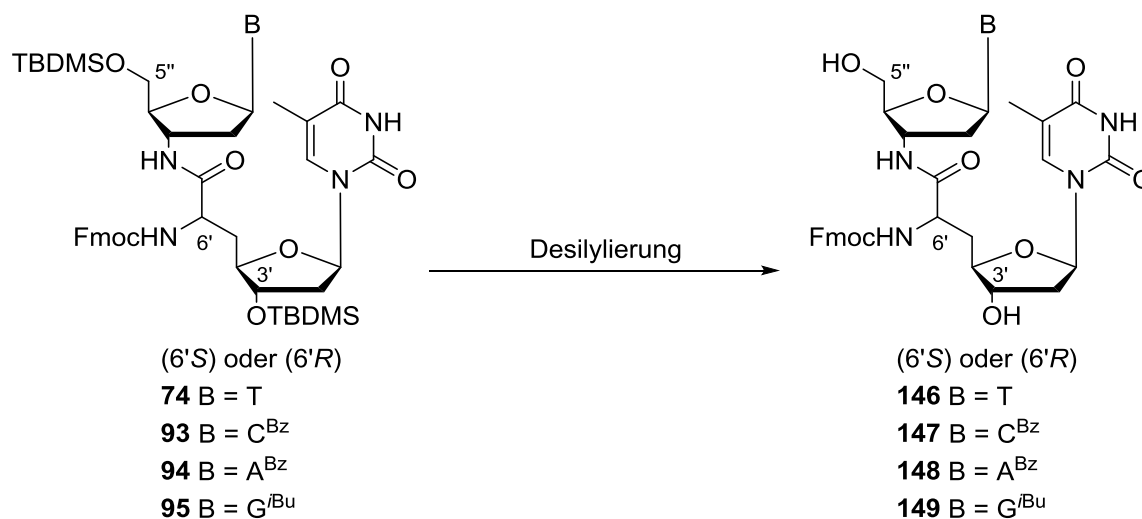
Nr.	3'-Aminonucleosid	Produkt	Ausbeute in %	
			(6'S)	(6'R)
1	<b>72</b> B = T	<b>74</b>	79	78
2	<b>90</b> B = C <sup>Bz</sup>	<b>93</b>	58	63
3	<b>91</b> B = A <sup>Bz</sup>	<b>94</b>	71	68
4	<b>92</b> B = G <sup>tBu</sup>	<b>95</b>	66	74

**Abb. 4.17:** Peptidkupplung der NAA **73** mit verschiedenen 3'-Aminonucleosiden zu **74**, **93-95**.

Bei der zuletzt erwähnten Reaktion wurde ein Nebenprodukt gebildet, dessen Charakterisierung aufgrund der äußerst komplexen NMR-Spektren im Rahmen dieser Arbeit nicht in Angriff genommen wurde. Die Trennung dieses Nebenprodukts von dem Hauptprodukt durch Chromatographie war nur unter Verlust an Ausbeute

möglich. Eine denkbare Ursache für diesen Befund sind Reaktionen an der Bz-geschützten exocyclischen Aminogruppe. Optimierungen der Peptidkupplung wurden aufgrund der geringen Menge an aufwändig herzustellenden NAA **73** nicht unternommen. Im nächsten Schritt wurden beide TBDMS-Schutzgruppen der Verbindungen **74**, **93-95** entfernt. Während für die 5'- und 3'-Desilylierung der Verbindung **74** weiterhin das bewährte Verfahren (kat. AcCl in MeOH) mit guten Resultaten angewendet wurde, bedurfte die gleiche Entschützung der Verbindungen **93-95** einer anderen Herangehensweise. Der Versuch, die sauer katalysierte Entschützung bei der Verbindung **93** anzuwenden, ergab ein untrennbares Produktgemisch. Eine mögliche Nebenreaktion ist die Spaltung der Benzoyl-Schutzgruppe. Die Verbindungen **94** und **95** erwiesen sich unter den gleichen Reaktionsbedingungen über einen Zeitraum von über 22 h als inert. Auch nach Zugabe von weiteren 0.25 Äquivalenten Acetylchlorid wurde im Verlauf von 7 h kein Reaktionsumsatz beobachtet. Bei weiterer Erhöhung der Menge an Acetylchlorid um 0.5 Äq wurde die Bildung zahlreicher Nebenprodukte per DC beobachtet. Daher wurden für die Desilylierungen mild-alkalische oder andere mild-saure Bedingungen mit Fluoridquellen als Spaltungsreagenzien auf ihre Eignung für diese Entschützung untersucht. Die Notwendigkeit der Kompatibilität dieser Methoden mit der ausgeprägt Basen-labilen Fmoc-Schutzgruppe an der 6'-Aminogruppe schränkte die Auswahl jedoch stark ein. So wurde z. B. TBAF in THF als für seine Basizität bekanntes System nicht in Erwägung gezogen. Eine weitere Einschränkung für Optimierungsversuche stellte die aufgrund der langen Synthese nur geringe Menge der Edukte **93-95** dar. Es wurde daher ausschließlich mit Ansätzen in einem Maßstab von ca. 10 mg Edukt gearbeitet. Ein als mild ausgewiesenes Spaltungsreagenz ist TAS-F (Tris(dimethylamino)sulfonium-difluortrimethylsilicat).<sup>[174]</sup> Bei der Reaktion mit TAS-F in DMF konnte bei allen Dinucleosiden jedoch ausschließlich Zersetzung des Edukts nachgewiesen werden. Der charakteristische, hellblau fluoreszierende Spot des Dibenzofulvens bei hohen  $R_f$ -Werten belegte die Abspaltung der Fmoc-Gruppe. Weitere vielversprechende Methoden zur selektiven Spaltung von Silylgruppen sind im Zusammenhang mit der ON-Synthese (RNA) erforscht worden.<sup>[175-176]</sup> Für die Entschützung von silylierten Nucleosiden und Nucleotiden ist der saure Triethylamin-Trihydrofluorid-Komplex (3HF-NEt<sub>3</sub>) verwendet worden.<sup>[177]</sup> Die Reaktion der Dimere **93-95** mit 10 Äq an 3HF-NEt<sub>3</sub> in THF ergab jedoch nach 26 h einen nur sehr geringem Umsatz. Möglicherweise war hier die Konzentration des 3HF-NEt<sub>3</sub>-Komplexes für diese Substrate zu gering. Ein Versuch, die Silyl-Spaltung nach dem

Protokoll der RNA-Entschützung in reinem 3HF-NEt<sub>3</sub><sup>[175]</sup> zu führen, wurde wegen der geringen verbliebenen Menge an Edukt nicht unternommen. Die besten Ergebnisse wurden bei Anwendung der Entschützungsmethode für synthetisierte RNA-Stränge mit Ammoniumfluorid in Methanol erhalten.<sup>[176]</sup>



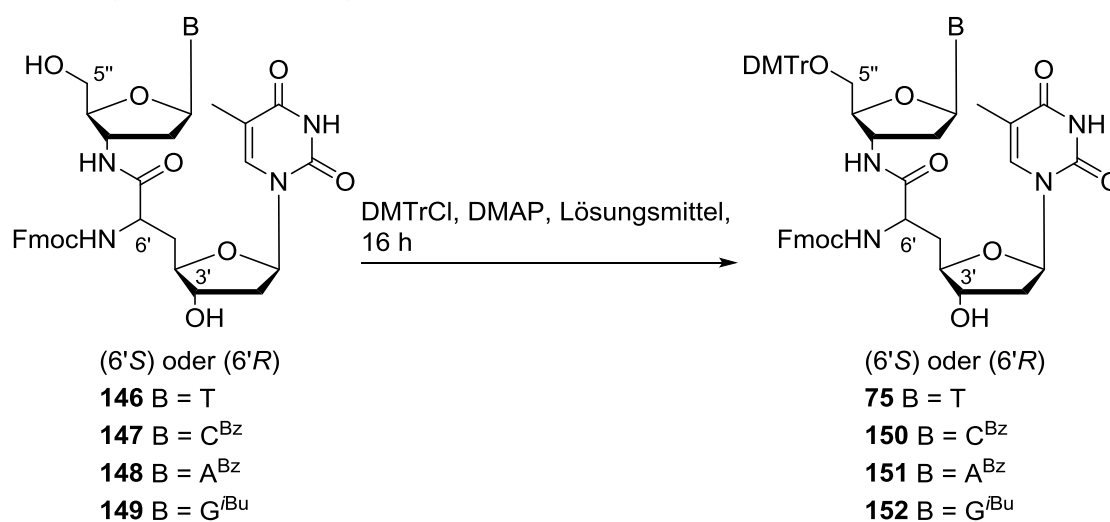
Nr.	Edukt	Bedingungen	Produkt	Ausbeute in %	
				(6'S)	(6'R)
1	<b>74</b> B = T	AcCl, MeOH, 24 h	<b>146</b> B = T	92	89
2	<b>93</b> B = C <sup>Bz</sup>	AcCl, MeOH, 24 h	<b>147</b> B = C <sup>Bz</sup>	< 59*	n. d.
3		TAS-F, DMF, 1 h		Zersetzung	n. d.
4		3HF-NEt <sub>3</sub> , THF, 26 h		0	n. d.
5		NH <sub>4</sub> F, MeOH, 60 °C, 6 h		46	n. d.
6	<b>94</b> B = A <sup>Bz</sup>	AcCl, MeOH, 24 h	<b>148</b> B = A <sup>Bz</sup>	0	n. d.
7		TAS-F, DMF, 1 h		Zersetzung	n. d.
8		3HF-NEt <sub>3</sub> , THF, 26 h		0	n. d.
9		NH <sub>4</sub> F, MeOH, 60 °C, 4.5 h		66	66
10	<b>95</b> B = G <sup>Bu</sup>	AcCl, MeOH, 29 h	<b>149</b> B = G <sup>Bu</sup>	0	n. d.
11		TAS-F, DMF, 1 h		Zersetzung	n. d.
12		3HF-NEt <sub>3</sub> , THF, 26 h		0	n. d.
13		NH <sub>4</sub> F, MeOH, 60 °C, 4.5 h		41	38

\*verunreinigt, n. d. = nicht durchgeführt

**Abb. 4.18:** Synthese der entschützten Dinucleoside **146-149**.

Dazu wurden die jeweiligen Dimere **93-95** in Methanol mit Ammoniumfluorid bei 60 °C gerührt. Um akzeptable Ausbeuten zu erhalten, wurde die Reaktion nach maximal 6 h beendet und das nicht umgesetzte Startmaterial nach dessen Isolierung

nochmals einer Entschützung unterzogen. Als Nebenreaktion trat auch hier die Spaltung der Fmoc-Gruppe auf. Wegen der hohen Polarität der resultierenden Dirole wurde stets auf die wässrige Aufarbeitung verzichtet. Die Ausbeuten der Reaktionen sind in Abb. 4.18 angegeben. Sämtliche Optimierungsversuche wurden mit den (6'S)-Diastereomeren durchgeführt, da deren Synthese zuverlässiger und mit weniger Zeitaufwand verbunden war (s. Kap. 4.2.3). Die Synthese von (6'R)-**147** wurde aus Zeitgründen nicht mehr fortgesetzt. Die regioselektive Einführung der DMTr-Schutzgruppe an der 5''-Position der erhaltenen Dirole **146-149** erfolgte gemäß dem allgemein bekannten Verfahren. Demnach wurden die Dinucleoside **146**, **148** und **149** mit einem geringen Überschuss an DMTrCl (1.1 Äq) in Pyridin zur Reaktion gebracht. Eine andere Lösungsmittelzusammensetzung war im Fall der Tritylschützung von Verbindung (6'S)-**147** erforderlich.



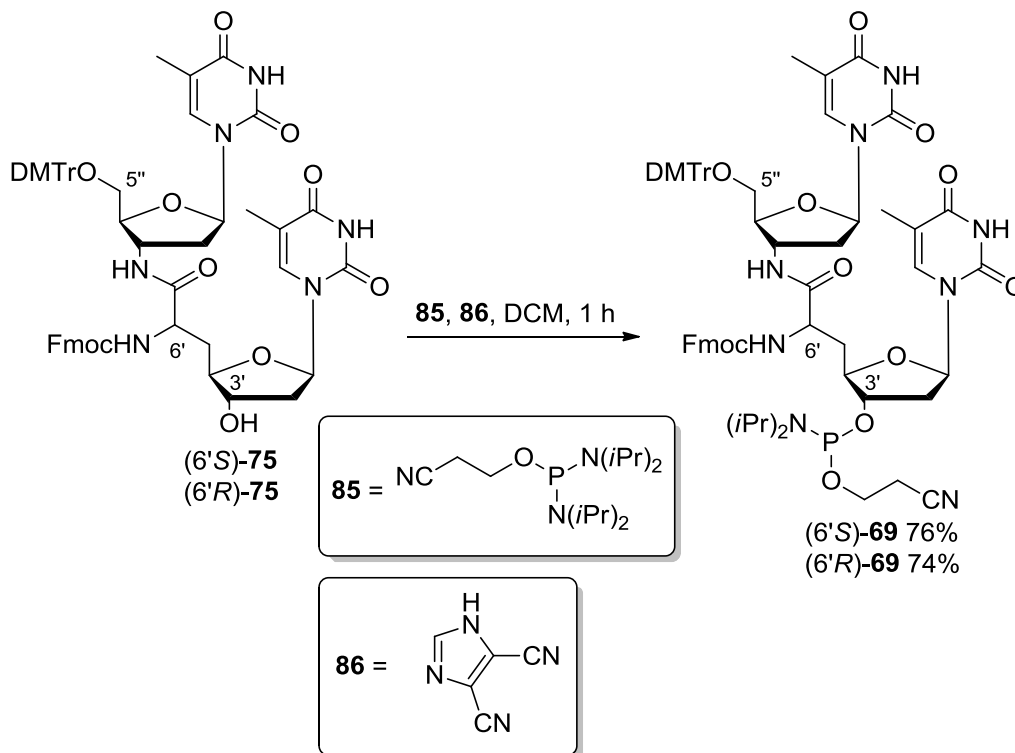
Nr.	Edukt	Lösungsmittel	Produkt	Ausbeute in %	
				(6'S)	(6'R)
1	<b>146</b> B = T	Pyridin	<b>75</b> B = T	75	75
2	<b>147</b> B = C <sup>Bz</sup>	Pyridin/DMF 1:1	<b>150</b> B = C <sup>Bz</sup>	73	nicht durchgeführt
3	<b>148</b> B = A <sup>Bz</sup>	Pyridin	<b>151</b> B = A <sup>Bz</sup>	72	81
4	<b>149</b> B = G <sup>Bu</sup>	Pyridin	<b>152</b> B = G <sup>Bu</sup>	76	84

**Abb. 4.19:** Synthese der 5''-O-DMTr-geschützten Dinucleoside **75**, **150-152**.

Aufgrund der geringfügigen Löslichkeit dieser Verbindung in reinem Pyridin wurde ein 1:1-Gemisch aus Pyridin/DMF als Lösungsmittel verwendet. Der Reaktion wurde stets DMAP in katalytischer Menge zugesetzt. DMAP bildet durch Nucleophile Reaktion mit DMTrCl ein reaktives Intermediat und beschleunigt auf diese Weise die Gesamtreaktion zum 5''-O-DMTr-geschützten Produkt. Zur Reinigung der Produkte



**75, 150-152** wurde ausschließlich Chromatographie verwendet, wobei in allen Fällen Eluenten mit einem Anteil von ca 0.5% Pyridin verwendet wurden, um die Spaltung der DMTr-Schutzgruppe durch das leicht saure Kieselgel auszuschließen. Es wurden in allen Reaktionen gute Ausbeuten erhalten (72-84%, Abb. 4.19). Um zu Bausteinen für die automatisierte DNA-Festphasensynthese zu gelangen, wurden die 3'-Hydroxygruppen der Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**75** phosphityliert. Die Verbindungen **150-152** wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht in die Phosphoramidite überführt, da deren direkte Verwendung für die ON-Synthese aus zeitlichen Gründen nicht mehr möglich war. Es wäre nämlich eine längerfristige Lagerung dieser Verbindungen nötig gewesen, die jedoch aufgrund ihrer bekannten Labilität riskant ist. Für die Phosphitylierung der Dinucleoside **75** wurde in der Vorarbeit eine prinzipiell andere Methode als in der Vorarbeit verwendet.



**Abb. 4.20:** Synthese der Bausteine (6'S)- und (6'R)-**69** für die automatisierte ON-Synthese.

Während früher als Phosphitylierungsreagenz ein Monochlorphosphit in alkalischem Medium eingesetzt wurde (28% Ausbeute), konnten unter Verwendung des Phosphordiamidit-Reagenzes **85** in schwach saurem Milieu signifikant bessere Ergebnisse (76% bzw. 74%) erzielt werden (Abb. 4.20). Dabei enthielt auch der zur Chromatographie verwendete Eluent anstelle von Triethylamin Pyridin, sodass bei der Konzentration der gesammelten Fraktionen keine Abspaltung der Fmoc-

Schutzgruppe resultierte. Die auf diese Weise erhaltenen Bausteine (6'S)- und (6'R)-**69** wurden für die automatisierte Festphasen-Synthese NAA-modifizierter zwitterionischer ON verwendet (Kap. 4.4).

### 4.3 Synthese der NAA-Bausteine für den Aufbau oligokationischer ON

Gemäß Kap 3.2.2 sollten für die Synthese der NAA-Bausteine zum Aufbau uniform kationischer Nucleinsäure-Analoga zwei unterschiedliche Herangehensweisen möglich sein. Der wesentliche Unterschied der Strategien liegt in der Wahl der funktionellen Gruppe in 3'-Position des jeweiligen Ausgangsmaterials. Die Gemeinsamkeit beider Synthesewege ist die zugrunde gelegte Vorgehensweise, die bereits für die Herstellung der NAA **73** Anwendung fand (s. Kap. 4.2.1-4.2.4).

#### 4.3.1 Synthese der 3'-N<sub>3</sub>-Thymidinylaldehyde

Ausgehend vom 5'-silylierten 3'-Azidothymidin **118** (s. Kap. 4.2.5.1) wurde zunächst die Basen-geschützte Verbindung **119** durch Einführung der BOM-Schutzgruppe erhalten. Dazu wurde das Ausgangsmaterial **118** in Analogie zur bereits angeführten Synthese BOM-geschützter Thymidin-Derivate (s. Kap. 4.2.1) in Gegenwart der starken Base Natriumhydrid mit BOM-Chlorid in DMF als Lösungsmittel zur Reaktion gebracht (Abb. 4.21). Das Produkt wurde, ähnlich zum bereits vorher beschriebenen Thymidin-Derivat **131** (s. Kap. 4.2.1, Abb. 4.4), in quantitativer Ausbeute erhalten. Es folgte die sauer katalysierte Spaltung (AcCl in MeOH) des Silyl-Ethers unter Bildung von Alkohol **153** in einer ebenfalls sehr hohen Ausbeute von 90%. Für die Überführung des Alkohols **153** in den entsprechenden Aldehyd **106** wurde wiederum die bewährte IBX-Oxidation in siedendem Acetonitril verwendet. Diese Synthese wurde zudem ohne BOM-Schutzgruppe durchgeführt, indem das 5'-O-TBDMS-3'-Azidothymidin **118** direkt mit Acetylchlorid in Methanol desilyliert (Ausbeute 63%) und anschließend in gleicher Weise mit IBX oxidiert wurde (91%). Überraschender Weise ergab die direkte Desilylierung von **118** zur Bildung von **154** selbst nach 20 h keinen vollständigen Umsatz.

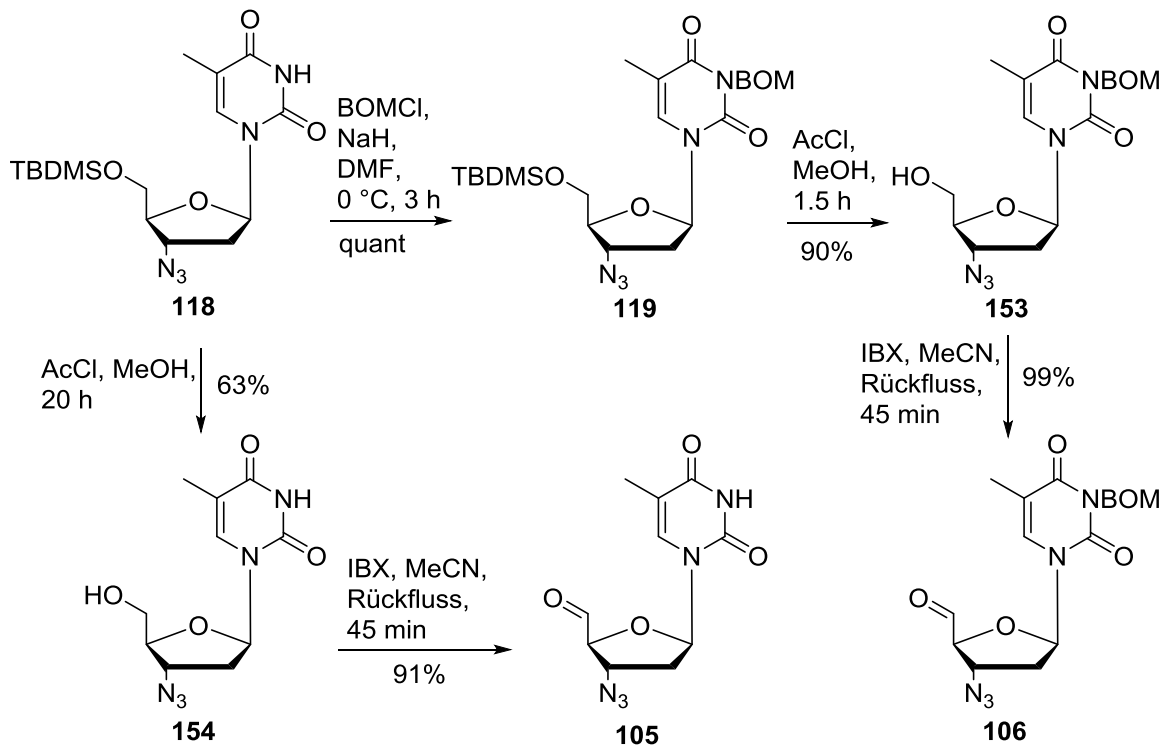
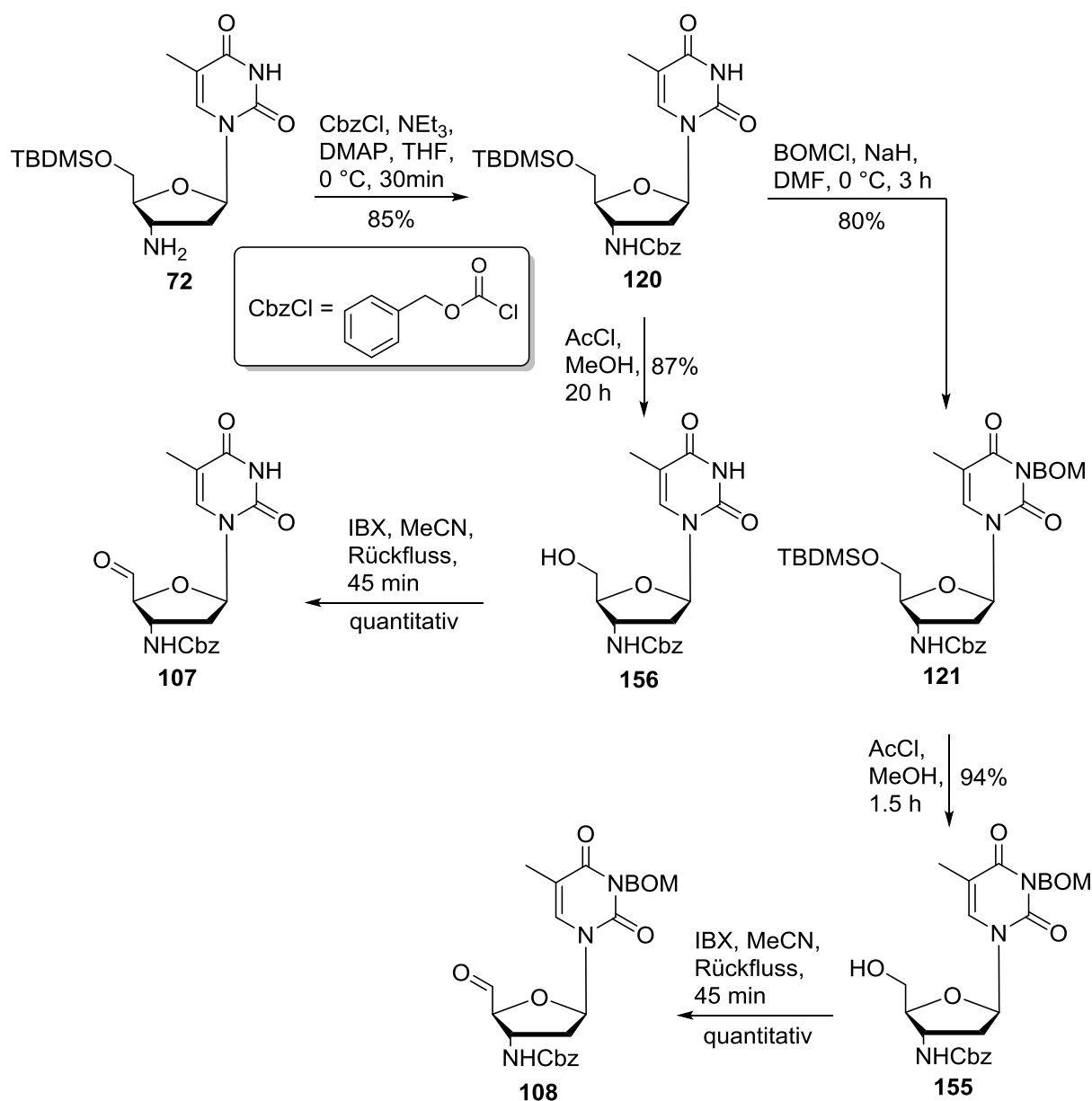


Abb. 4.21: Synthese der 3'-N<sub>3</sub>-Thymidinaldehyde **105** und **106**.

#### 4.3.2 Synthese der geschützten 3'-NHCbz-Thymidinaldehyde

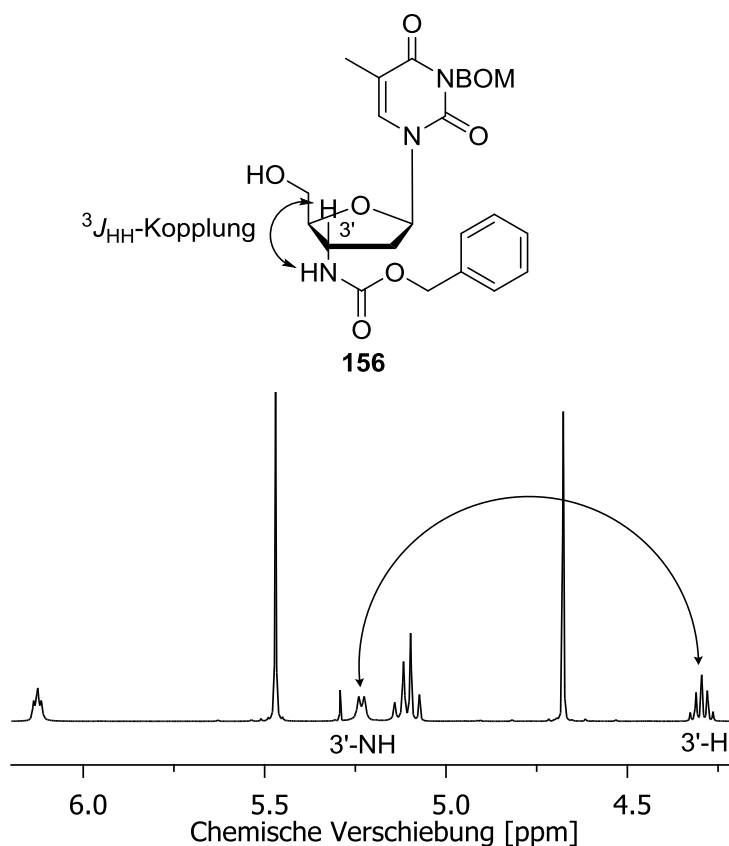
Für die alternative Syntheseroute wurde zuerst an der 3'-Aminogruppe von 5'-O-TBDMS-3'-Aminothymidin **72** eine Carbamat-Schutzgruppe (Cbz) eingeführt (Abb. 4.22). Dazu wurden das Amin **72**, das als Base fungierende Triethylamin und eine katalytische Menge an DMAP in einem 1:1-Lösungsmittelgemisch aus Dioxan/Wasser aufgenommen und mit Chlorameisensäurebenzylester (CbzCl) versetzt.<sup>[178]</sup> Die Synthese des Carbamats **120** nach dieser Methode führte jedoch nur in kleinen Ansätzen zu guten Ausbeuten (75-93%), während Synthesen eines Maßstabs von über 200 mg mit geringeren Ausbeuten einhergingen (60%). Alternativ wurde die Reaktion in THF als Lösungsmittel geführt. Diese Veränderung ermöglichte konstant sehr gute Resultate (85%) bis hin zu Synthesen in einem Maßstab von über 5 g. Ein möglicher Grund dafür ist die bessere Löslichkeit des 3'-Aminonucleosids **72** in THF als in dem relativ polaren Lösungsmittelgemisch Dioxan/Wasser. Es folgte die Einführung der BOM-Schutzgruppe am 3-N der Nucleobase von **120** (Abb. 4.22). Diese Reaktion war im Unterschied zu den bisher diskutierten BOM-Schützungen durch den Umstand erschwert, dass in dem Eduktmolekül zwei NH-Gruppen von ähnlicher Reaktivität vorliegen (3-NH und 3'-NH).



**Abb. 4.22:** Synthese der geschützten 3'-NHCbz-Thymidinaldehyde **107** und **108**.

Zunächst wurde davon ausgegangen, dass die Acidität der Imid-Funktionalität der Nucleobase wegen des  $-\text{M}$ -Effekts zweier benachbarter Carbonylgruppen und des aromatischen Charakters der Nucleobase höher ist als diejenige der 3'-NH-Gruppe. Daher wurden bei dieser Reaktion äquimolare Mengen an Edukt, Base und BOM-Chlorid eingesetzt. In den zuvor diskutierten Einführungen der BOM-Schutzgruppe waren dagegen 1.2 Äq BOM-Chlorid und 1.8 Äq Natriumhydrid üblich. Auf diese Weise konnte das Basen-geschützte Nucleosid **121** in einer Ausbeute von 80% erhalten werden (Abb. 4.22). Der Versuch, die Äquivalente an Base und Alkylierungsreagenz zu erhöhen führte zur Bildung eines schwer trennbaren Zwei-Komponenten-Gemischs. Die angenommene Selektivität der Reaktion wurde anhand NMR-spektroskopischer Befunde aus der Analyse des nachfolgend durch Abspaltung

der Silyl-Schutzgruppe gebildeten Alkohols **156** bestätigt (Abb. 4.23). Es konnte durch die beobachtete Kopplung des 3'-NH-Signals mit dem 3'-H (COSY) eindeutig nachgewiesen werden, dass die 3'-NH-Gruppe in diesem Molekül noch vorliegt. Die Spaltung des Silylethers von **121** gelang wiederum in sehr hoher Ausbeute (94%) durch die sauer katalysierte (AcCl) Solvolyse in Methanol. Ebenso wurde auch der Alkohol **156** ohne BOM-Schutzgruppe in sehr guter Ausbeute (87%) direkt aus dem Carbamat **120** durch die sauer katalysierte Silylspaltung synthetisiert. Für die Überführung dieser Alkohole in die entsprechenden Aldehyde in quantitativer Ausbeute wurde die übliche IBX-Oxidation verwendet.

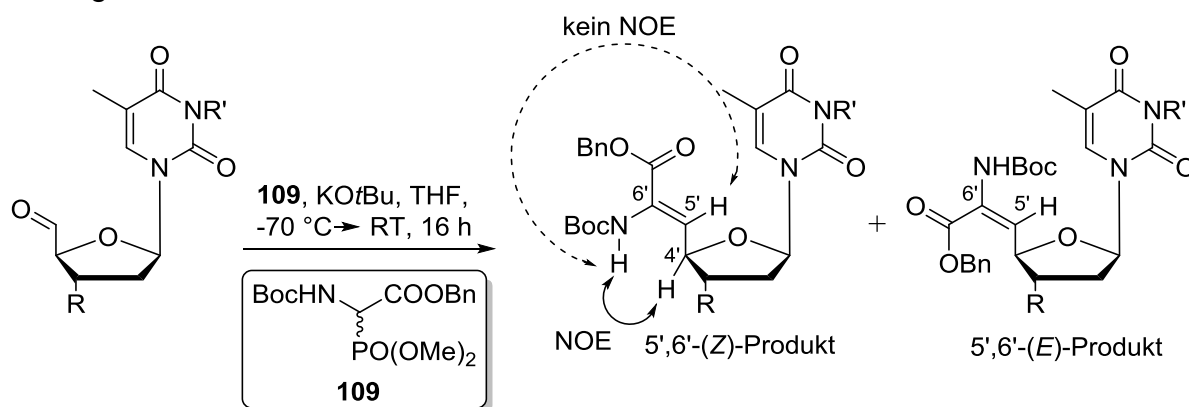


**Abb. 4.23:** Beweis der Regioselektivität der BOM-Schätzung von **120**.

### 4.3.3 Synthese der 3'-N<sub>3</sub>- und 3'-NHCbz-5',6'-Didehydro-TAA

Die Thymidinaldehyde **105-108** (Abb. 4.21 und 4.22) wurden gemäß der bereits in Kap. 4.2.2 diskutierten Vorgehensweise jeweils mit dem Phosphonat **109** (Abb. 4.2) in *Wittig-Horner*-Reaktionen umgesetzt (Abb. 4.24). Bei diesen Reaktionen wurden die beteiligten Komponenten (Phosphonat, Base, Nucleosylaldehyd) daher ebenfalls

in äquimolaren Mengen bei  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  in THF als Lösungsmittel eingesetzt. Als Base wurde wiederum das sterisch anspruchsvolle Kalium-*tert*-butanolat verwendet. Unter diesen Bedingungen ergab die Reaktion des BOM-geschützten 3'-Azidothymidinaldehyds **106** mit dem Phosphonat **109** ein Diastereomergemisch von (*Z/E*)-5',6'-Didehydro-TAA **111** in einem Verhältnis von *Z/E* = 93:7 und einer Ausbeute von 73% dieses Gemischs. Das Verhältnis der Diastereomere wurde anhand der Integration der  $^1\text{H-NMR}$ -Signale bestimmt. Versuche, die Komponenten chromatographisch zu trennen, waren nicht erfolgreich. Die auf Basis voriger Resultate der *Wittig-Horner*-Reaktion angenommene (*Z*)-Konfiguration der 5',6'-Doppelbindung des Hauptprodukts konnte jedoch durch  $^1\text{H-NOE}$ -Experimente bestätigt werden.



Nr.	Edukt	R	R'	Produkt	Ausbeute in %	5',6'- <i>Z/E</i>
1	<b>105</b>	N <sub>3</sub>	H	<b>110</b>	0	-
2	<b>106</b>	N <sub>3</sub>	BOM	<b>111</b>	73	93:7
3	<b>107</b>	NHCbz	H	<b>112</b>	68	50:50
4	<b>108</b>	NHCbz	BOM	<b>113</b>	68	91:9

**Abb. 4.24:** Syntheseversuche der 5',6'-Didehydro-TAA **110-113**.

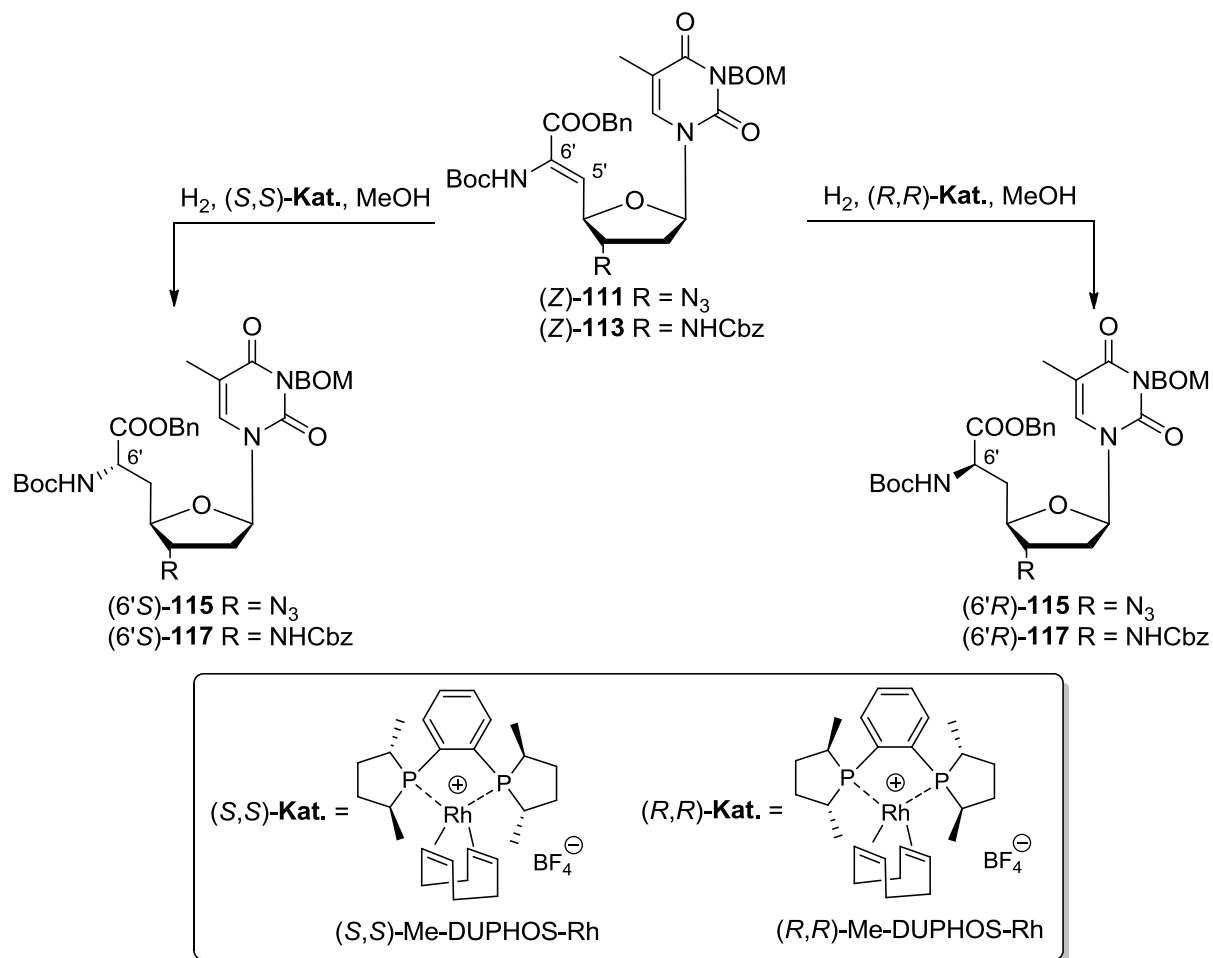
Während zwischen dem 6'-NH und 4'-H eindeutig eine Übertragung von Spinpolarisation nachgewiesen werden konnte, war dies zwischen dem 5'-H und 6'-NH nicht gegeben. Im Unterschied zu allen bisher diskutierten *Wittig-Horner*-Reaktionen reagierte der ungeschützte 3'-N<sub>3</sub>-Thymidinaldehyd **105** nicht mit dem Phosphonat **109**. Das eingesetzte Startmaterial konnte nach der Reaktion in unveränderter Form nachgewiesen werden. Die *Wittig-Horner*-Reaktion des 3-*N*-BOM-geschützten 3'-NHCbz-Thymidinaldehyds **108** mit dem Phosphonat **109** ergab ebenfalls ein Gemisch der zwei diastereomeren 5',6'-Didehydro-TAA (*Z*)-**113** und (*E*)-**113** in einer Ausbeute von 68%. Das Mengenverhältnis der Diastereomere wurde

durch Vergleich der Integrale der beobachteten Signalsätze sowohl im  $^1\text{H-NMR}$ - als auch im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum zu 91:9 bestimmt. Auch in diesem Fall erwies sich die Isolierung des in geringerer Menge vorhandenen Isomers als nicht praktikabel. Daher wurde zur Bestimmung der Konfiguration der 5',6'-Doppelbindung der Hauptkomponente auf  $^1\text{H-NOE}$ -Experimente zurückgegriffen. Es konnte wiederum nachgewiesen werden, dass eine Übertragung von Spinpolarisation zwischen 4'-H und 6'-NH vorliegt, während dieses Phänomen zwischen dem 5'-H und dem 6'-NH nicht beobachtet wurde. Auf diese Weise konnte bestätigt werden, dass das in großem Überschuss vorliegende Isomer eine Z-konfigurierte Doppelbindung aufweist. Versuche zur Synthese der 3'-NHCbz-TAA ohne BOM-Schutzgruppe resultierten stets in ungefähr äquimolaren Gemischen an (Z)- und (E)-Didehydro-TAA **112**. Auch der Einsatz von KHMDS als Base anstelle von Kalium-*tert*-Butanolat bewirkte keine Veränderung des Resultats. Diese Resultate sind – ähnlich wie diejenigen der 3'-N<sub>3</sub>-Didehydro-TAA – vor dem Hintergrund der *Wittig-Horner*-Reaktionen mit BOM-geschützten und -ungeschützten 3'-O-TBDMS-TAA wie auch der Befunde im Fall von entsprechenden Uridin-Derivaten überraschend. Für eine schlüssige Erklärung dieses Sachverhalts genügen die vorliegenden Befunde nicht. Denkbar ist auch der Einfluss konformativer Effekte. Es bleibt aber festzuhalten, dass die BOM-Schutzgruppe für die *Wittig-Horner*-Reaktion mit den Aldehyden **105-108** im Gegensatz zu den bisher diskutierten Reaktionen dieses Typs notwendig ist.

#### 4.3.4 Asymmetrische Hydrierung der 5',6'-Didehydro-TAA

Die BOM-geschützten 3'-N<sub>3</sub>- und 3'-NHCbz-5',6'-Didehydro-TAA **111** und **113** wurden in ähnlicher Weise wie die 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA **80** und **82** (s. Kap. 4.2.3, Abb. 4.7) asymmetrischen Hydrierungen unter Katalyse durch (S,S)- oder (R,R)-Me-DuPHOS-Rh unterzogen (Abb. 4.25). Da die Entfernung der (E)-Isomere nicht gelang, wurden die Reduktionen im Rahmen dieser Arbeit mit den (Z/E)-Diastereomergemischen der 5',6'-Didehydro-TAA **111** und **113** durchgeführt. Dies war aufgrund der bedeutend schnelleren Reduktion der 5',6'-Doppelbindung der (Z)-Isomere und der geringen Mengen an (E)-Isomer in Eduktgemisch möglich. Die Hydrierung der Doppelbindung von (Z)-**111** unter katalytischer Wirkung von (S,S)-Me-DuPHOS wurde wie die anderen Reaktionen diesen Typs in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre (1 bar) und unter striktem Sauerstoff-Ausschluss geführt. Die

Reaktionsdauer bis zum vollständigen Reaktionsumsatz (NMR-kontrolliert) betrug 7 Tage, wobei im Vergleich zur Hydrierung der analogen (*Z*)-3'-*O*-TBDMS-Didehydro-TAA **80** (Abb. 4.7) etwa die doppelte Katalysatormenge benötigt wurde.



Nr.	Edukt	Kat.	Reaktionszeit [d]	Produkt	Ausbeute in %	(6'S/6'R)
1	( <i>Z</i> )- <b>111</b>	( <i>S,S</i> )-Kat.	7	(6' <i>S</i> /6' <i>R</i> )- <b>115</b>	84	85:15
2	( <i>Z</i> )- <b>111</b>	( <i>R,R</i> )-Kat.	14	(6' <i>S</i> /6' <i>R</i> )- <b>115</b>	54	5:95
3	( <i>Z</i> )- <b>113</b>	( <i>S,S</i> )-Kat.	4	(6' <i>S</i> /6' <i>R</i> )- <b>117</b>	92	91:9
4	( <i>Z</i> )- <b>113</b>	( <i>R,R</i> )-Kat.	14	(6' <i>S</i> /6' <i>R</i> )- <b>117</b>	73	12:88

**Abb. 4.25:** Synthese der TAA (6'*S*)- und (6'*R*)-**115** und **117**.

Als Produkt wurde ein 85:15-Gemisch der Diastereomere (6'*S*)- und (6'*R*)-**115** in einer Ausbeute von 84% erhalten. Das Verhältnis der Diastereomere wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$ - und  $^{13}\text{C-NMR}$ -spektroskopischer Untersuchungen bestimmt. Die Hydrierung des gleichen Substrats in Gegenwart des (*R,R*)-Me-DuPHOS-Katalysators war bei ungefähr gleicher Katalysatormenge selbst nach 14 Tagen nicht vollständig abgelaufen, sodass Reste des unumgesetzten Edukts chromatographisch abgetrennt wurden. Daher lag die Ausbeute an (6'*R*)-**115** mit 54% deutlich niedriger

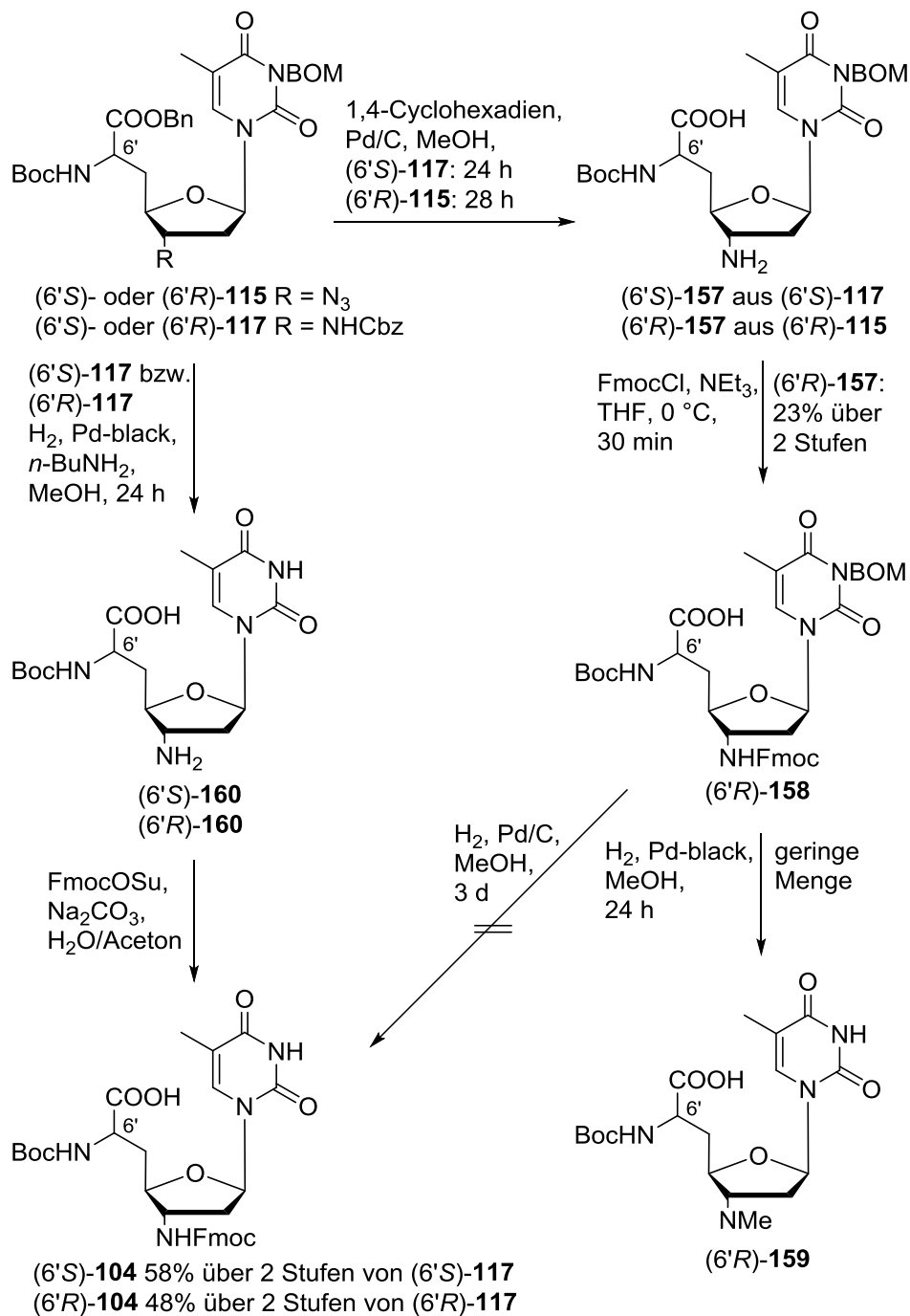


als im Fall von (6'S)-**115**. Wie bei der Reduktion der 3'-O-TBDMS-5',6'-Didehydro-TAA **80** (Abb. 4.7) ist also auch diese Reaktion im Wesentlichen Katalysator-kontrolliert. Auch bilden hier die Kombinationen des Edukts (Z)-**111** mit dem (S,S)-Katalysator das *matched pair* und (Z)-**111** mit dem (R,R)-Katalysator das *mismatched pair*. Interessanterweise war jedoch die Diastereoselektivität der Reduktion zum (6'R)-Diastereomer **115** mit einem Verhältnis von 5:95 (6'S/6'R) bedeutend höher als diejenige zum (6'S)-Diastereomer **115** (85:15, s. o.). Eine mögliche Erklärung ist eine schwache intrinsische Präferenz für die Bildung von (6'R)-**115**. Diese Vermutung wurde jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht durch Kontrollexperimente mit achiralen Katalysatoren verifiziert. Die asymmetrische Hydrierung der (Z)-3'-NHCbz-Didehydro-TAA **113** lieferte etwas bessere Ergebnisse als diejenige der (Z)-3'-N<sub>3</sub>-Didehydro-TAA **111**. Die Reduktion von (Z)-**113** zu (6'S)-**117** durch die Wirkung des (S,S)-DuPHOS-Rh-Katalysators in Methanol unter einer sauerstofffreien H<sub>2</sub>-Atmosphäre war nach vier Tagen vollständig. Als Produkt wurde ein Gemisch der Diastereomere (6'S/6'R)-**117** in einer sehr guten Ausbeute von 92% erhalten. Das Diastereomerenverhältnis betrug einer Untersuchung mittels analytischer HPLC an einer chiralen stationären Phase zufolge (6'S)/(6'R) = 91:9. Dies stimmte gut mit NMR-spektroskopischen Befunden überein. Passend zu den bisher diskutierten Resultaten benötigte die vollständige Reduktion von (Z)-**113** zu dem Diastereomer (6'R)-**117** einen Zeitraum von 14 Tagen – bei doppelter Menge an Katalysator im Vergleich zur Reduktion von (Z)-**80** (Abb. 4.7). Im Unterschied zu allen bisher untersuchten asymmetrischen Hydrierungen wurde dabei ein Nebenprodukt gebildet, sodass nach der chromatographischen Reinigung das Diastereomergemisch (6'R/6'S)-**117** in einer Ausbeute von 73% erhalten wurde. Das Verhältnis der Diastereomere war mit (6'S)/(6'R) = 12:88 etwas schlechter als im Fall des (6'S)-Diastereomers. Beide Diastereomere von **117** wurden durch semipräparative HPLC an einer chiralen stationären Phase vollständig von Verunreinigungen befreit und getrennt. Die Chromatogramme der reinen Verbindungen und der Koinjektion beider Diastereomere sind im Anhang Kap. 9.1 angefügt. Insgesamt bestätigen die Hydrierungen der Substrate **111** und **113** die im Zusammenhang mit der Reduktion der Didehydro-TAA **80** (Abb. 4.7) beobachteten Tendenzen. Hydrierungen in Gegenwart des (R,R)-Katalysators verlaufen wesentlich langsamer als in Gegenwart des (S,S)-Katalysators. Auffällige Unterschiede zu der Hydrierung von (Z)-**80** sind die allgemein längeren Reaktionszeiten und die schlechteren Diastereoselektivitäten der Hydrierungen der 3'-N<sub>3</sub>- und 3'-NHCbz-5',6'-

Didehydro-TAA. Eine mögliche Begründung für die längeren Reaktionszeiten kann die Gegenwart einer größeren Menge an (*E*)-Isomer im Edukt sein. Dieses könnte im Sinne einer kompetitiven Inhibierung der Hydrierung des (*Z*)-Isomers wirken. Eine schlüssige Erklärung für die geringere Selektivität der Hydrierungen von Didehydro-TAA mit N<sub>3</sub>- und NHCbz-Substituenten in 3'-Position ist auf Basis der bisherigen Befunde nicht möglich. Die Beobachtungen sprechen jedoch gegen eine Abhängigkeit des Reaktionsverlaufs vom sterischen Anspruch der Funktionalität in 3'-Position. Der Trend scheint hier eher in die entgegengesetzte Richtung zu weisen: die sterisch sehr anspruchsvolle 3'-O-TBDMS-Gruppe fördert eher kurze Reaktionszeiten und hohe Diastereoselektivitäten, während die Substrate mit der weniger sperrigen 3'-NHCbz-Funktionalität zu längeren Reaktionszeiten und geringeren Selektivitäten neigen. Die schlechtesten Resultate wurden im Fall der mit Abstand kleinsten funktionellen Gruppe (N<sub>3</sub>) in der 3'-Position erhalten. Ein weiterer möglicher Grund für die beobachteten unterschiedlichen Reaktivitäten der Didehydro-TAA könnten konformative Aspekte sein.

#### 4.3.5 Umschätzung der TAA

Um von den Verbindungen **115** oder **117** zu Bausteinen zu gelangen, die sich zum Aufbau von Oligomeren mittels Oligopeptid-Synthese eignen, ist eine globale reduktive Entschätzung nebst Einführung einer Fmoc-Schutzgruppe an der resultierenden 3'-Amino-Gruppe notwendig (Abb. 4.26). Zunächst wurde als mildeste Variante die heterogen katalysierte (Pd/C) simultane Hydrogenolyse durch 1,4-Cyclohexadien in Methanol verwendet. Bei drei Äquivalenten 1,4-Cyclohexadien im Reaktionsgemisch wurde nach mehreren Stunden kein Umsatz beobachtet. Durch eine Erhöhung der Menge an 1,4-Cyclohexadien auf zehn Äquivalente konnte zwar die Spaltung der NHCbz-Schutzgruppe von (6'*S*)-**117** bzw. die Reduktion der Azid-Gruppe von (6'*R*)-**115** beobachtet werden. Die BOM-Schutzgruppe blieb jedoch stets intakt. Daher wurde der Versuch unternommen, direkt nach der Spaltung der Cbz-Gruppe bzw. Reduktion der Azid-Einheit unter Bildung von **157** die Fmoc-Schutzgruppe durch Reaktion mit FmocCl einzuführen, um danach unter schärferen Hydrierungsbedingungen die BOM-Schutzgruppe zu entfernen (Abb. 4.26).



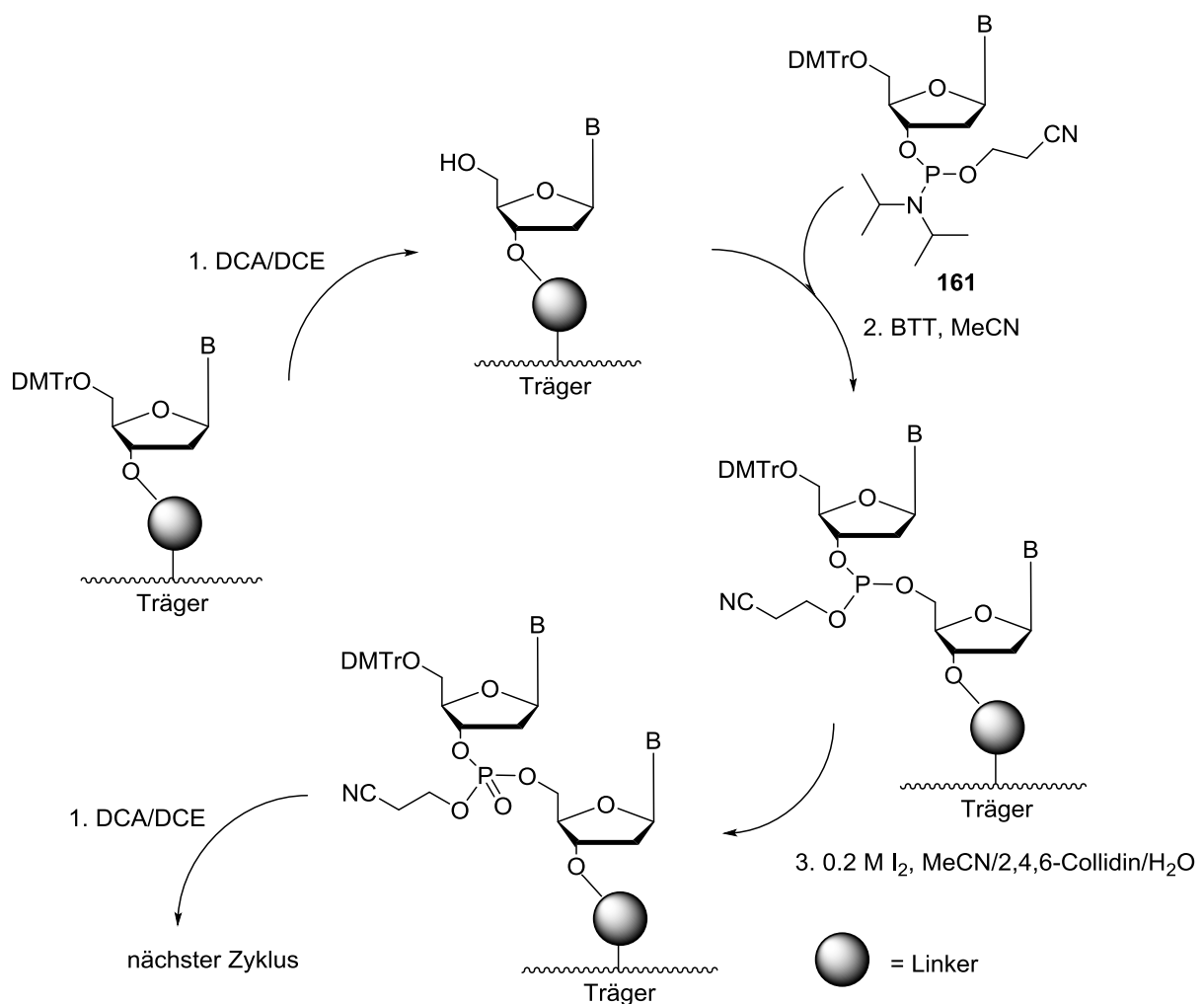
**Abb.4.26:** Synthese der Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**104**.

Der Austausch einer Cbz-Schutzgruppe durch eine Fmoc-Schutzgruppe in einem Eintopfverfahren wurde erfolgreich an einigen Aminosäurederivaten durchgeführt.<sup>[179]</sup> Für die Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**157** wurde aufgrund starker Verunreinigung keine Ausbeute angegeben. Im Unterschied zu dem publizierten Verfahren wurde als Base bei der Einführung der Fmoc-Gruppe Triethylamin verwendet. Auf diese Weise konnte die Carbonsäure (6'R)-**158** isoliert werden. Allerdings konnte nachfolgend die BOM-Schutzgruppe unter hierfür gewöhnlich eingesetzten Bedingungen (H<sub>2</sub>, 10%

Pd/C, MeOH) nicht abgespalten werden. Daher wurde anstelle von 10% Pd/C das wesentlich reaktivere Palladium black als heterogener Katalysator zur Reaktion gegeben. Anhand von massenspektrometrischen Untersuchungen konnte jedoch nur das Produkt **159** nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass die Fmoc-Schutzgruppe in Gegenwart von Palladium black instabil ist. Zudem resultierte in Analogie zu früheren Beobachtungen auch hier eine reduktive Methylierung der entschützten 3'-Aminogruppe durch Formaldehyd, das durch die Spaltung der BOM-Schutzgruppe gebildet worden war. In einem weiteren Versuch wurden die Verbindungen (6'S)-**117** und (6'R)-**115** einer heterogen katalysierten Hydrierung mit Wasserstoffgas in Methanol unterzogen. Als katalytische Spezies wurde dabei Palladium black eingesetzt und *n*-Butylamin in großem Überschuss zum Abfangen des gebildeten Formaldehyds. Diese Reaktion resultierte nur bei den Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**117** als Edukt in der vollständigen Hydrierung zu den Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**160**. Die andere Reaktion war selbst nach einem Tag Reaktionszeit unvollständig. Folglich wurde die globale Entschützung in größerem Maßstab durchgeführt. Die auf diese Weise entschützten Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**160** wurden wegen ihrer hohen Polarität nicht chromatographisch gereinigt, sondern als Rohprodukte in den folgenden Versuchen zur Fmoc-Schützung verwendet. Zunächst wurde die bewährte Methode zur Einführung der Fmoc-Gruppe durch FmocCl und Triethylamin als Base angewendet. Als Lösungsmittel wurde aufgrund der hohen Polarität des Eduktes anstelle von reinem THF ein 2:1-Gemisch aus THF und DMF genutzt. Es konnte dabei jedoch kein Produkt **104** erhalten werden. Möglicherweise war die Löslichkeit des Edukts **160** in dem THF/DMF-Gemisch zu gering. Als Alternative wurde die Kombination aus FmocCl, einer wässrigen Natriumcarbonat-Lösung als Base und Dioxan als Lösungsmittel verwendet. In diesem Fall wurde das Produkt (6'S)-**104** in einer äußerst geringen Ausbeute von 10% isoliert. Schließlich wurde in einem weiteren Versuch mit 1:1 Wasser/Aceton ein Lösungsmittelgemisch von noch höherer Polarität eingesetzt. Als Reagenz diente dabei das im Vergleich zu FmocCl etwas weniger reaktive FmocOSu und als Base Natriumcarbonat. Diese Methode ermöglichte die Isolierung der Zielverbindungen (6'S)- und (6'R)-**104** in Ausbeuten von 58% bzw. 48% über zwei Stufen. Diese Verbindungen werden zurzeit auf ihre Eignung für die Peptidsynthese untersucht.

## 4.4 Synthese der NAA-modifizierten ON

Die Synthese und Untersuchung der modifizierten ON erfolgte in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Dr. C. Höbartner (MPI für Biophysikalische Chemie, Göttingen). Dabei wurde auf die bereits in der Vorarbeit erfolgreich angewendete Phosphoramidit-Methode nach *Beaucage* und *Caruthers* zurückgegriffen.<sup>[9]</sup> Das Grundprinzip dieses Verfahrens besteht in der Kupplung von aktivierten Nucleosid-Derivaten an Träger-gebundene Mono- oder Polynucleotide durch periodische Reaktionszyklen, die jeweils vier Schritte beinhalten (Abb. 4.27). Das Kettenwachstum erfolgt in diesem Prozess in 3'→5'-Richtung.



**Abb. 4.27:** Der Reaktionszyklus der ON-Synthese (das Capping in Schritt 4. ist im Sinne der Übersichtlichkeit nicht dargestellt).

1. Ein Reaktionszyklus beginnt mit der Entfernung der in der 5'-Position befindlichen DMTr-Schutzgruppe durch Spülen des Trägers mit der Lösung einer mittelstarken Säure. Hierfür wurde in dieser Arbeit 3% Dichloressigsäure (DCA) in Dichlorethanol

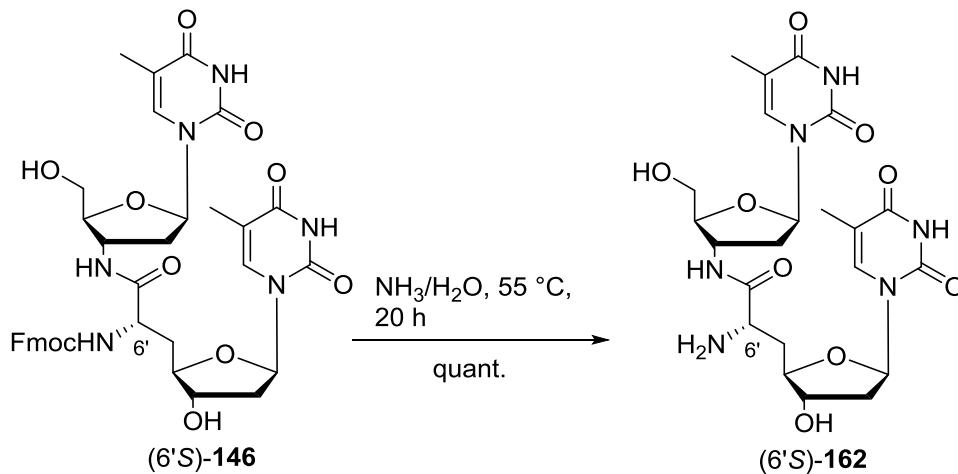
(DCE) oder 3% Trichloressigsäure (TCA) in Dichlormethan verwendet. Durch die niedrige Konzentration der Säure sollten Nebenreaktionen wie etwa die Spaltung der *N*-glykosidischen Bindung vermieden werden.

2. Es folgt die Bildung eines Phosphit-Triesters durch Reaktion der entschützten 5'-Hydroxygruppe und einem aktivierten Phosphoramidit-Reagenz **161** (Abb. 4.27), das in gelöster Form zur Matrix gegeben wird. Wie in den gängigen Verfahren üblich, waren alle Phosphoramidit-Reagenzien in Acetonitril gelöst. Die Aktivierung des Reagenzes **161** erfolgt durch schwache Säuren. Hierfür wurde das im Gegensatz zum Tetrazol weniger explosionsgefährliche Benzylthiotetrazol (BTT) eingesetzt. Als Schutzgruppe der Phosphitriester wurde die von Köster eingeführte, mild-alkalisch abspaltbare ( $\beta$ -Eliminierung)  $\beta$ -Cyanoethylgruppe verwendet.<sup>[124]</sup>

3. Die gebildete Phosphit-Triestereinheit wird durch Oxidation in eine Phosphat-Triestereinheit überführt. Zu diesem Zweck wurde eine wässrige, leicht alkalische Iod-Lösung verwendet (Iod in Pyridin/H<sub>2</sub>O oder Iod in abs. MeCN/2,4,6-Collidin/H<sub>2</sub>O).

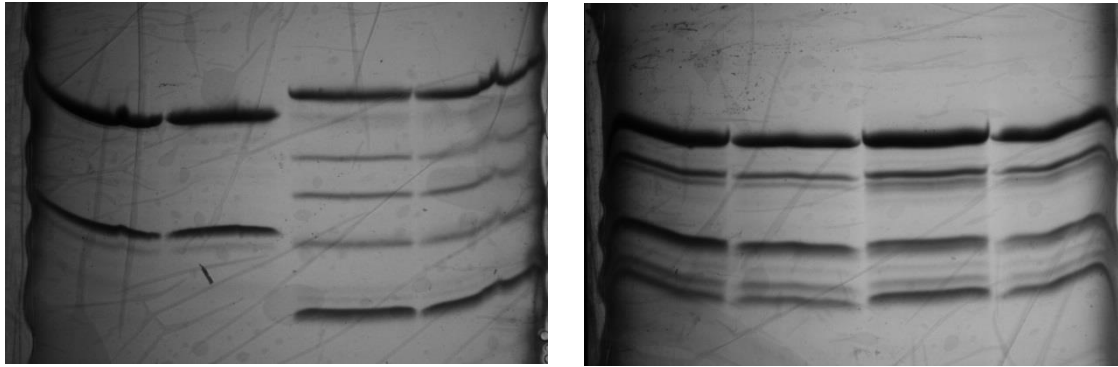
4. Abschließend werden restliche nicht umgesetzte Monomere oder Stränge an der festen Phase an der reaktiven 5'-Hydroxygruppe acetyliert (Capping). Auf diese Weise soll die Bildung von Nebenprodukten unterdrückt werden. Hierzu wurde von mild alkalischen Acetylierungsmethoden (Ac<sub>2</sub>O, 1-Methylimidazol, Pyridin in THF oder Ac<sub>2</sub>O, DMAP, 2,4,6-Collidin in MeCN) Gebrauch gemacht.

Unter Verwendung dieser Methode sind die in Kap. 3.2.1.1 angeführten 24 NAA-modifizierten ON synthetisiert worden. Die NAA-Modifikationen wurden an den vorgesehenen Positionen innerhalb der jeweiligen Sequenz durch Einsetzen der Reagenzien (6'S)- oder (6'R)-**69** (Abb. 4.20) anstelle von **161**. Kupplungen der Reagenzien **69** verliefen laut Trityl-Monitoring stets schlechter als diejenigen von Phosphoramiditen gewöhnlicher Nucleoside. Daher resultierten bei der Synthese der NAA-modifizierten ON oft kürzere Stränge als Nebenprodukte. Dies wurde durch die Beobachtungen bei der Reinigung der ON bestätigt (s.u.). Nach abgeschlossener Synthese wurden die ON durch alkalische Hydrolyse des Linkers von dem Träger abgespalten. Hierzu wurde der noch beladene Träger in einer 3:1-Mischung aus wässriger Ammoniaklösung (25%) und Ethanol für 20 h bei 55 °C inkubiert. Bei diesem Vorgang ist eine Epimerisierung der chiralen NAA-Gruppen aufgrund der Acidität des  $\alpha$ -Protons denkbar. Um zu überprüfen, ob tatsächlich eine Epimerisierung stattgefunden hat, wurde die Verbindung (6'S)-**146** den Bedingungen der Abspaltung vom Träger ausgesetzt (Abb. 4.28).



**Abb. 4.28:** Kontrollversuch zur möglichen Epimerisierung von NAA-Einheiten.

Das auf diese Weise erhaltene Produkt konnte auf Basis von NMR-spektroskopischen und massenspektrometrischen Untersuchungen zweifelsfrei als (6'S)-**162** identifiziert werden (Abb. 4.28). Damit wurde der Beweis erbracht, dass unter den Bedingungen der Abspaltung vom Träger keine Epimerisierung der NAA-Einheiten stattfindet. Durch Messung der UV-Absorption der erhaltenen wässrigen Lösungen der Rohprodukte wurden die Ausbeuten der ungereinigten ON bestimmt (s. Kap. 7.2.6.1, Tab. 1). Die Ausbeuten liegen in den meisten Fällen im Bereich zwischen 20% und 40%, wobei einige der höchsten Ausbeuten bei ca. 70% liegen. Insgesamt wurden unter Verwendung von CPG (controlled pore glass) als Trägermaterial etwas höhere Werte erhalten als im Fall der alternativ verwendeten Polystyrolmatrix. Es folgte die Reinigung der ON per Gelelektrophorese. Das hierzu verwendete Gel wurde durch Polymerisation von Acrylamid (Initiator: Ammoniumperoxodisulfat (APS)) in gepufferter wässriger Lösung (Tris-Borsäure-Puffer, pH = 8) hergestellt. Für jede Trennung wurden 40 nmol des ungereinigten ON sowie ein Indikatorgemisch, das der Visualisierung des Verlaufs der Elektrophorese diente, auf das Elektrophoresegel aufgetragen. Nach Ablauf der Elektrophorese wurden die ON-haltigen Segmente anhand ihrer UV-Aktivität sichtbar gemacht. Hierbei wurden insbesondere bei mehrfach NAA-modifizierten ON Banden von Nebenprodukten, die als Folge der geringeren Reaktivität der Phosphoramidit-Reagenzien **69** (Abb. 4.20) entstanden waren, beobachtet (Abb. 4.29).



ON 7

ON 9

ON 19

ON 20

ON 7 5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3',  $\sigma(x)$ : SON 9 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3',  $\sigma(x)$ : SON 19 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3',  $\sigma(x)$ : SON 20 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3',  $\sigma(x)$ : R $x$  = NAA-Modifikation,  $\sigma(x)$ : NAA-Konfiguration**Abb.4.29:** Bilder der Banden in den Gelen der ON 7, 9, 19 und 20.

Da das Trennprinzip der Elektrophorese auf Größenausschluss durch die Poren des Polyacrylamid-Netzwerks beruht, konnte davon ausgegangen werden, dass die Bande mit dem kürzesten zurückgelegten Weg das Hauptprodukt darstellt. Diese Bande wurde ausgeschnitten und mit einer wässrigen gepufferten Salzlösung (TEN-Puffer, pH = 8) extrahiert. Die ON wurden schließlich durch eine Ethanol-fällung in reiner Form erhalten. Die Korrektheit der ON-Synthese wurde durch massenspektrometrische Untersuchungen bei allen 24 synthetisierten ON bestätigt (s. Tab. 2, Kap. 7.2.6). Alle ON wurden durch HPLC-Untersuchungen auf ihre Reinheit geprüft (Chromatogramme, s. Kap. 9.1.2.1). Die Ausbeuten der ON nach der Reinigung (s. Kap. 7.2.6. Tab. 1) lagen in den meisten Fällen im Bereich zwischen 20% und 50%. Es ist auffällig, dass ON mit vier NAA-Modifikationen die niedrigsten Ausbeuten aufweisen. Die Erklärung hierfür sind die bereits erwähnten Verluste durch bei der ON-Synthese gebildete Abbruchfragmente. Aus sämtlichen experimentellen Befunden wurden keine Hinweise auf Nebenreaktionen der entschützten 6'-Aminogruppen mit Acrylnitril erhalten.



## 4.5 Untersuchung der NAA-modifizierten ON

### 4.5.1 Schmelzkurvenanalyse

Wie bereits in Kap. 2 ausgeführt können chemische Modifikationen der Nucleinsäuren einen mehr oder weniger signifikanten Effekt auf die Eigenschaften der Duplices bewirken. Von grundlegender Bedeutung ist hierbei das Hybridisierungsverhalten modifizierter Nucleinsäuren mit unmodifizierten Gegensträngen. Der Denaturierungsvorgang eines Nucleinsäure-Doppelstrangs ist generell reversibel und verläuft kooperativ, d. h. dass die Dissoziation eines Basenpaars diejenige der benachbarten Basenpaare fördert.<sup>[180]</sup> Die Denaturierung von DNA- oder RNA-Doppelsträngen kann durch Messung der UV-Absorption verfolgt werden, die von einer  $\pi$ - $\pi^*$ -Elektronenanregung herrührt.<sup>[181]</sup> Andere Möglichkeiten bestehen in der Messung der Intensität der Fluoreszenz oder eines NMR-Peaks.<sup>[182-183]</sup> Bei einer vollständigen Dissoziation von in einer Probe vorliegenden Doppelsträngen steigt die UV-Absorbanz um ca. 40%. Die Ursache für den Anstieg der Absorption ist eine Änderung der Konfiguration der aromatischen  $\pi$ -Elektronensysteme der Nucleobasen infolge abnehmender Überlappung der  $\pi$ -Orbitale.<sup>[181]</sup> Wird die UV-Absorption gegen die Temperatur aufgetragen, ergibt sich ein sigmoidaler Kurvenverlauf, aus dessen steil ansteigendem Bereich der  $T_m$ -Wert bestimmt werden kann. Um Aufschluss über die Auswirkung der NAA-Modifikation auf die Stabilität der mit unmodifizierten Sequenzen gebildeten Duplices zu erhalten, wurden Schmelzkurven verschiedener Duplices aller NAA-modifizierten ON (Abb. 3.1) über einen Temperaturbereich von 0 bis 95 °C aufgenommen. Es wurden Duplices mit komplementären DNA- und RNA-Sequenzen und mit nicht komplementären untersucht. Zum Vergleich wurden Referenzkurven von Duplices ohne NAA-Modifikation bzw. ohne Mismatch aufgenommen. Sämtliche ON lagen in gereinigter Form (HPLC) vor, wobei auch die von *Sigma-Aldrich* bezogenen unmodifizierten Sequenzen (Referenzen, komplementäre und nicht-komplementäre Gegenstränge, Tab. 1) mittels HPLC gereinigt wurden. Die Reinheit aller verwendeten ON ist anhand von analytischer HPLC überprüft worden (Diagramme s. Kap. 9.1.2). Die  $T_m$ -Wert-Messungen wurden stets in wässrigen, gepufferten Lösungen ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , pH = 7) durchgeführt. Zur Vermeidung von Konzentrationsänderungen durch Verdunstung waren die Lösungen mit Paraffinöl überschichtet.

Tab. 1: In Denaturierungsexperimenten eingesetzte ON\*

Nr.	Sequenz	ON-Typ
NAA-modifizierte ON (TT = mögliche Position für NAA-Modifikation, s. Abb. 3.1)		
<b>1-10</b>	5'-GGCACGGTTTTTTTTGGCACGG-3'	<b>ON a</b>
<b>11-20</b>	5'-GTTGACGTTGACGTTGACGTTG-3'	<b>ON b</b>
<b>21-24</b>	5'-GCGCTTGCTTAAGCAAGCGC-3'	<b>ON c</b>
Unmodifizierte ON (für Referenzmessungen)		
<b>1u</b>	5'-GGCACGGTTTTTTTTGGCACGG-3'	<b>ON a</b>
<b>2u</b>	5'-GTTGACGTTGACGTTGACGTTG-3'	<b>ON b</b>
<b>3u</b>	5'-GCGCTTGCTTAAGCAAGCGC-3'	<b>ON c</b>
Komplementäre Gegenstränge		
<b>1a</b>	5'-CCGTGCCAAAAAACCCTCCC-3'	<b>ON a</b>
<b>2a</b>	5'-CAACTGCAACTGCAACTGCAAC-3'	<b>ON b</b>
<b>1ra</b>	5'-CCGUGCCAAAAAACCCTCCC-3' (RNA)	<b>ON a</b>
<b>2ra</b>	5'-CAACUGCAACUGCAACUGCAAC-3' (RNA)	<b>ON b</b>
Nicht-komplementäre Gegenstränge (für Mismatch-Messungen, <b>I</b> , <b>C</b> , <b>G</b> = Mismatch)		
<b>1mt</b>	5'-CCGTGCCAAA <b>I</b> AAAACCCTCCC-3'	<b>ON a</b>
<b>2mt</b>	5'-CAACTGCA <b>I</b> CTGCAACTGCAAC-3'	<b>ON b</b>
<b>1mc</b>	5'-CCGTGCCAAA <b>C</b> AAAACCCTCCC-3'	<b>ON a</b>
<b>2mc</b>	5'-CAACTGCA <b>C</b> CTGCAACTGCAAC-3'	<b>ON b</b>
<b>1mg</b>	5'-CCGTGCCAAA <b>G</b> AAAACCCTCCC-3'	<b>ON a</b>
<b>2mg</b>	5'-CAACTGCA <b>G</b> CTGCAACTGCAAC-3'	<b>ON b</b>

\*DNA-ON außer wenn anderweitig angegeben

Die Gesamtkonzentration an ON in den Proben betrug 2.0 µM. In allen Experimenten wurden drei Aufwärm- und zwei Abkühlkurven bei vier verschiedenen Wellenlängen aufgenommen (250, 260, 270, 280 nm). Zur Bestimmung der Schmelzpunkte wurden stets die Abkühlkurven herangezogen. Bei keiner der untersuchten Duplices wurde eine signifikante Hysterese beobachtet. Dies deutet auf eine annähernde Äquivalenz der Aktivierungsenergie von Assoziation und Dissoziation der Doppelstränge hin. Exakte Aussagen über thermodynamische und kinetische Parameter der Denaturierung sind jedoch erst nach Durchführung mehrerer Messreihen mit

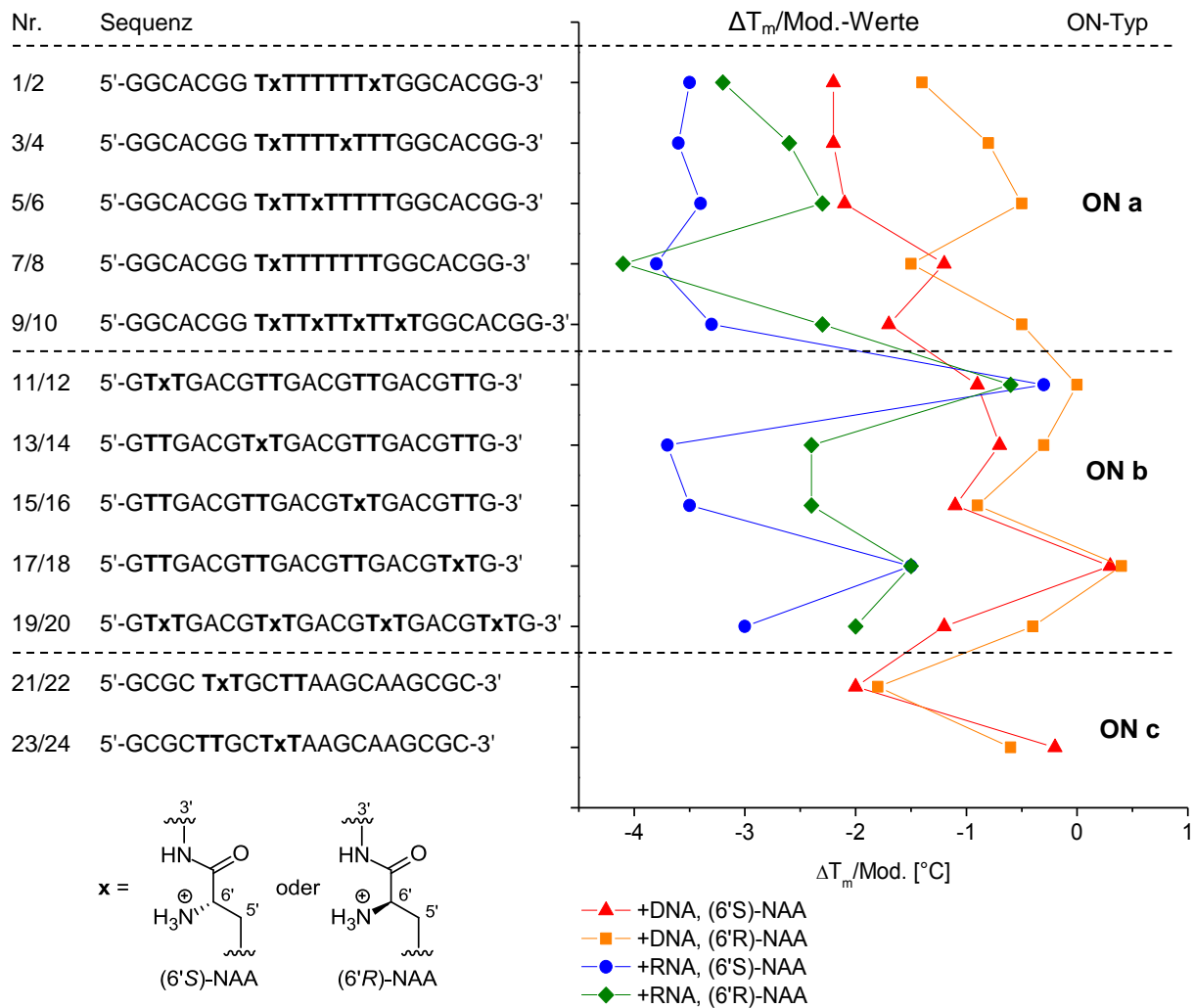
unterschiedlichen ON-Konzentrationen und Temperaturgradienten (Geschwindigkeit der Temperaturänderung) möglich. Im Rahmen dieser Arbeit waren solche Messreihen nicht vorgesehen. Für die Bestimmung der  $T_m$ -Werte aus den aufgenommenen Kurven sind zwei Methoden bekannt. Als sehr präzise gilt die „Basislinien-Methode“. Diese Vorgehensweise setzt die willkürliche Wahl zweier Tangenten durch je eine Reihe von Datenpunkten am Anfang und am Ende der Schmelzkurve voraus. Der Schnittpunkt der Mittelwertgeraden und der Schmelzkurve ist als  $T_m$ -Wert definiert. Aufgrund der sehr hohen Anzahl an auszuwertenden Kurven konnte nicht von dieser aufwändigen Methode Gebrauch gemacht werden. Daher wurde als Alternative der Schmelzpunkt als das Maximum der ersten Ableitung der Schmelzkurven entnommen. Um die Vergleichbarkeit der Kurven zu ermöglichen, wurde auf der Ordinate der Schmelzkurviendiagramme stets die relative Änderung (Hyperchromizität) der Absorption angeführt.

$$\% \text{ Hyperchromizität} = 100 \times \frac{A(T) - A(\text{min})}{A(\text{min})}$$

A: Absorbanz

$A(T)$  ist die bei einer bestimmten Temperatur gemessene Absorption, während  $A(\text{min})$  den niedrigsten Absorptionswert einer Schmelzkurve darstellt. Die geschätzte Standardabweichung bei dieser Methode beträgt ca. 1-1.5 °C.<sup>[19]</sup> Die für eine genauere Aussage bezüglich der Standardabweichung erforderlichen wiederholten Messungen konnten im vorgegebenen zeitlichen Rahmen nicht durchgeführt werden. Für die Diskussion sind hauptsächlich die  $\Delta T_m$ -Werte von Interesse. Diese wurden als Differenz zwischen dem  $T_m$ -Wert einer NAA-modifizierten Duplex und dem  $T_m$ -Wert der entsprechenden unmodifizierten Duplex berechnet. Auf die Darstellung von Schmelzkurviendiagrammen und Tabellen wurde hier im Sinne der Übersichtlichkeit verzichtet. Sämtliche Diagramme und Tabellen sind im Anhang Kap. 9.2 angeführt.

Aus den berechneten  $\Delta T_m$ -Werten (s. auch 9.2.1.1, Tab. 1-3) konnten eindeutige Tendenzen erkannt werden (Abb. 4.30). Insgesamt bewirken NAA-Modifikationen trotz ihrer positiven Ladung eine geringfügige bis mäßige Destabilisierung sowohl der DNA/DNA- als auch der DNA/RNA-Duplices. Dabei ist allerdings die Destabilisierung von DNA/RNA-Duplices (grüne und blaue Kurve in Abb. 4.30) bedeutend größer als diejenige von DNA/DNA-Duplices (rote und orange Kurve in Abb. 4.30). Die Schmelzkurven zur folgenden Abb. 4.30 sind im Anhang Kap. 9.2.2.1 angeführt.



**Abb. 4.30:**  $\Delta T_m$ -Werte der Duplices aller NAA-modifizierter ON mit komplementären DNA- und RNA Gegensträngen.

Deutliche Unterschiede der Auswirkung von NAA-Modifikationen auf Duplices verschiedener Basensequenz gehen dabei aus den  $\Delta T_m$ -Werten nicht hervor. Ein auffälliger Aspekt ist die Abhängigkeit der Duplex-Destabilisierung von der Konfiguration der NAA-Modifikation. Mit Ausnahme weniger  $\Delta T_m$ -Werte (7/8, 17/18 und 23/24) treten im Fall der (6'R)-NAA-Modifikation regelhaft um ca. 0.5-2.0 °C höhere Werte auf als im Fall von (6'S)-NAA-Modifikationen. Dies gilt sowohl für DNA/RNA- als auch für DNA/DNA-Doppelstränge nahezu unabhängig von der Anzahl der NAA-Modifikationen. Die Signifikanz dieses Unterschieds wird besonders deutlich, wenn die absoluten Werte der Destabilisierung der vierfach NAA-modifizierten Duplices betrachtet werden (Sequenzen 9/10 und 19/20). Für RNA/DNA-Duplices liegt dieser Unterschied bei ca. 6 °C und für DNA/DNA-Duplices bei 4 °C. Des Weiteren konnte keinerlei kooperatives Wirken der NAA-Modifikation auf die Duplexstabilität nachgewiesen werden. Die Destabilisierung der Duplices

verhält sich annähernd linear zur Anzahl der NAA-Modifikationen. Eine nähere Betrachtung der **ON a** lässt nicht auf eine signifikante Abstands-Abhängigkeit des Effekts der NAA-Modifikation schließen, da der Wert der Destabilisierung für jede Sorte von Duplex (RNA/DNA oder DNA/DNA) und Modifikation ((6'S)-NAA oder (6'R)-NAA) annähernd konstant ist. Bezüglich der Positionsabhängigkeit der NAA-Modifikation (**ON b**) gibt es einen auffälligen Unterschied zwischen den untersuchten Duplexsorten. NAA-Modifikationen im Stranginneren (13/14 und 15/16) gehen bei RNA/DNA-Hybriden mit einer ausgeprägten Stabilitätsminderung einher (-3.5 °C bei (6'S)-NAA und -2.0 °C bei (6'R)-NAA), während endständige NAA-Modifikationen (11/12 und 17/18) die Duplex-Stabilität nicht beeinflussen. Im Gegensatz dazu erweisen sich die  $\Delta T_m$ -Werte von DNA/DNA-Duplices als nahezu unabhängig von der Position der NAA-Modifikation. DNA-Hybride der palindromen **ON c** wiesen aufgrund ihres höheren GC-Gehalts deutlich höhere  $T_m$ -Werte (> 80 °C) auf als alle anderen untersuchten Duplices. Diese Duplices wurden ebenfalls durch NAA-Modifikationen generell leicht destabilisiert. Bei Duplices mit zwei NAA-Modifikationen in gegenüber liegenden Strängen wurden etwas höhere Destabilisierungen beobachtet als im Fall von nur einer Modifikation. Eine Abhängigkeit der  $\Delta T_m$ -Werte von der relativen Positionierung der NAA-Modifikationen in gegenüber liegenden Strängen wurde nicht beobachtet. Dies harmoniert wiederum gut mit den Befunden der Untersuchungen an den DNA-Hybriden der **ON a**, da auch hier der Abstand der NAA-Modifikationen keine Auswirkung auf die Duplex-Stabilität hat.

Als weiteres wichtiges Charakteristikum von Nucleinsäuren wurde im Zusammenhang mit der NAA-Modifikation die Mismatch-Erkennung untersucht (Abb. 4.31). Hierzu wurden exemplarisch Schmelzpunkte einiger NAA-modifizierter DNA/DNA-Duplices, in denen der unmodifizierte DNA-Strang in der Nähe einer NAA-Modifikation eine Fehlpaarung gegenüber der T-Base aufweist, bestimmt. Für Fehlpaarungen wurde jeweils eine der drei anderen kanonischen Basen an Position 12 (**ON a**) oder Position 14 (**ON b**) des Gegenstrangs gesetzt (C, G, T). Als Referenzen wurden Duplices mit entsprechenden Fehlpaarungen jedoch ohne NAA-Modifikation Denaturierungsexperimenten unterzogen. Die tabellierten  $\Delta T_m$ -Werte wurden durch Differenzbildung der  $T_m$ -Werte der Duplices mit Mismatch mit denjenigen ohne Mismatch berechnet (9.2.1.1, Tab. 4). Die Schmelzkurven sind im Anhang Kap. 9.2.2.2 angeführt.

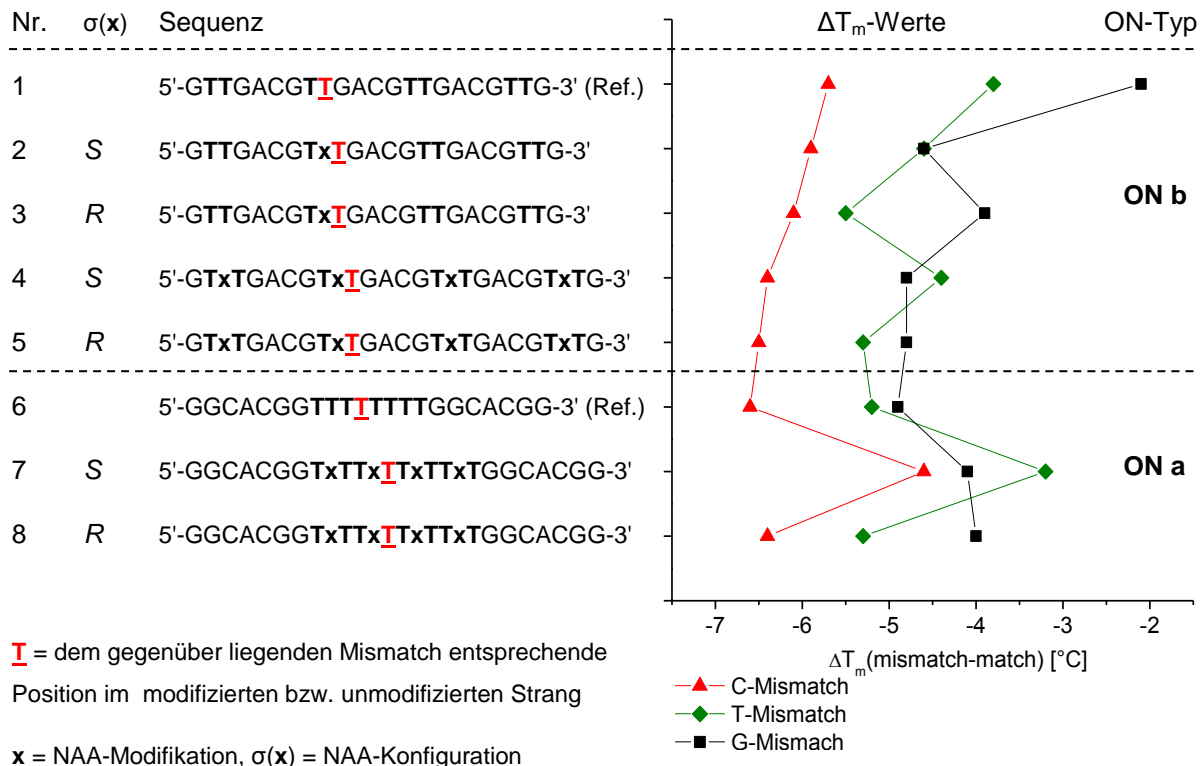
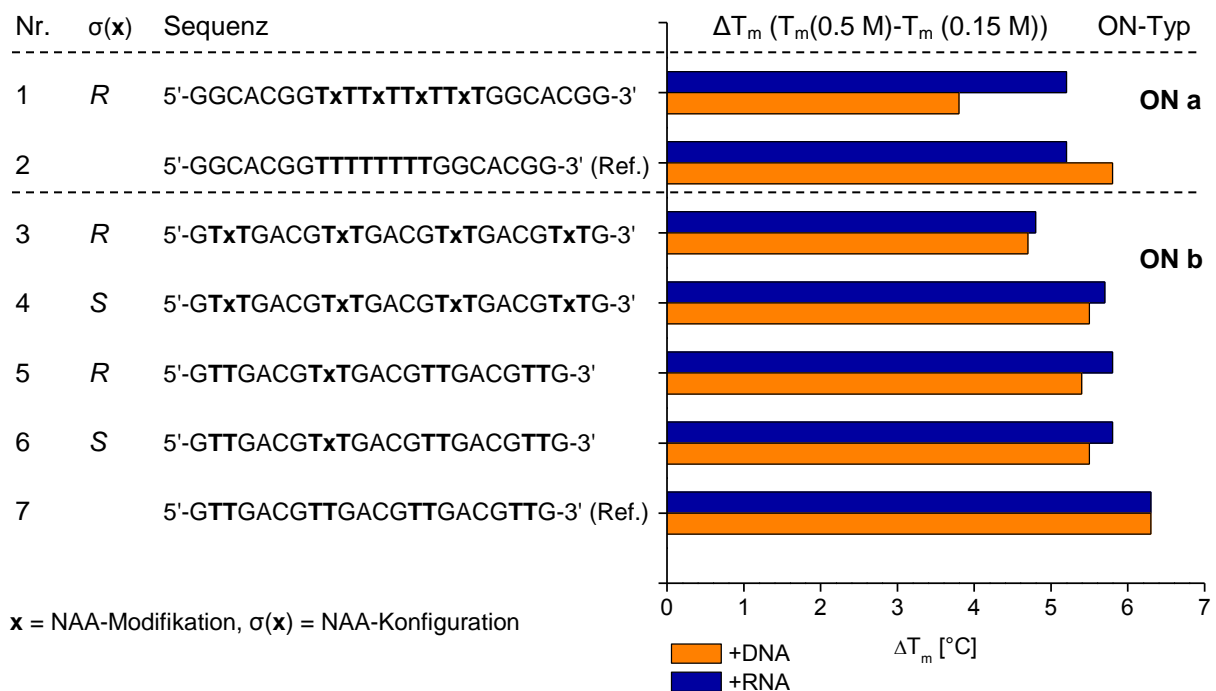


Abb. 4.31:  $\Delta T_m$ -Werte der Duplices mit Fehlpaarungen.

Insgesamt geht aus den Kurven in Abb. 4.31 hervor, dass die Empfindlichkeit NAA-modifizierter Duplices vom Typ **ON b** gegenüber Fehlpaarungen im Vergleich zu unmodifizierten Duplices nur geringfügig zunimmt. Besonders ausgeprägt ist diese Neigung im Fall der G-T-Fehlpaarung und am schwächsten im Fall der C-T-Fehlpaarung. Die Ergebnisse entsprechender Untersuchungen an den **ON a** vermitteln den Eindruck, dass die Mismatch-Erkennung unverändert bleibt, wobei die Messung Nr. 7 (Abb. 4.31) möglicherweise einen Ausreißer darstellt. Eine Abhängigkeit der Mismatch-Erkennung von der Anzahl der NAA-Modifikationen ist anhand dieser Befunde für beide ON-Typen nicht nachweisbar. Wie bereits in Kap. 2 erwähnt, nimmt die Mismatchempfindlichkeit mit der Rigidität der hybridisierenden Stränge zu, da flexible Stränge gegenüber strukturellen Verzerrungen besser anpassungsfähig sind. Daher kann aus diesen Befunden gefolgert werden, dass die für Nucleinsäuren typische Flexibilität durch die NAA-Modifikation nur geringfügig beeinflusst wird.

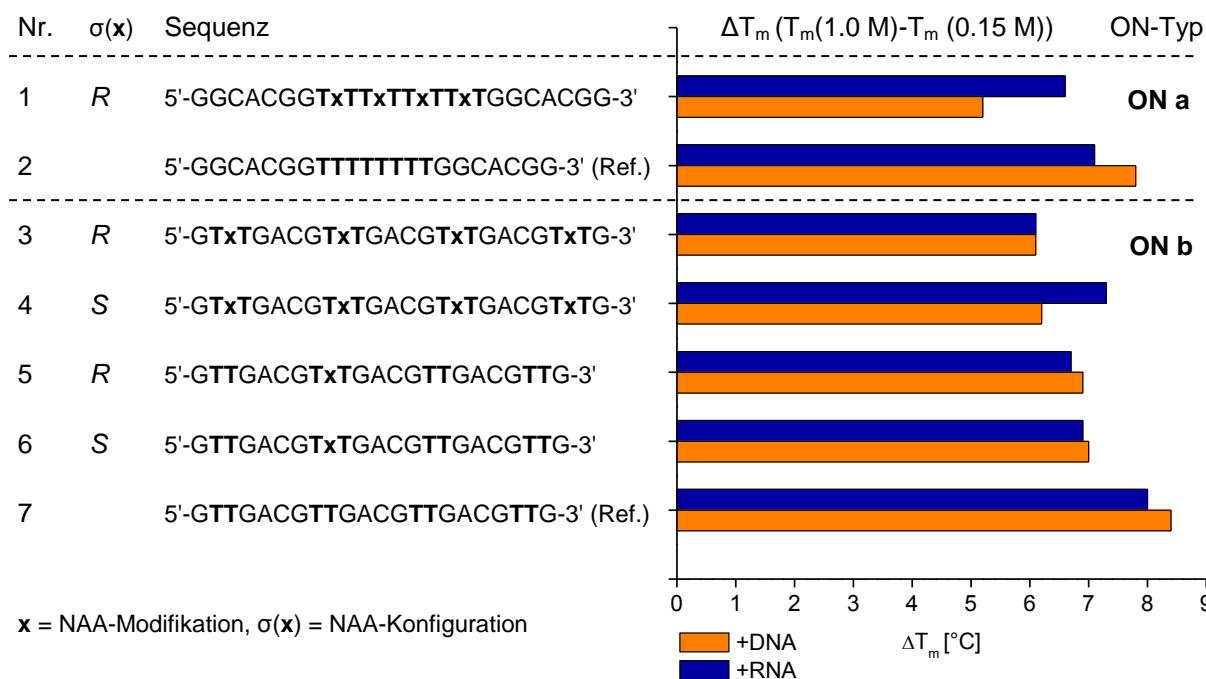
Von Interesse war ferner das Verhalten der RNA- und DNA-Hybride NAA-modifizierter ON bei variierender Ionenstärke (s. auch Kap. 9.2.1.2, Tab. 1-4). Dazu wurden Denaturierungsexperimente an einigen NAA-modifizierten Duplices bei

erhöhten NaCl-Konzentrationen durchgeführt (0.5 M, 1.0 M). Die in den Abb. 4.32 und 4.33 dargestellten absoluten Veränderungen ( $\Delta T_m$ -Werte) wurden durch Differenzbildung zwischen den Schmelzpunkten der Duplices bei erhöhter NaCl-Konzentration und den Schmelzpunkten der gleichen Duplices unter Standardbedingungen (150 mM NaCl) berechnet. Entsprechende Referenzmessungen wurden an unmodifizierten Duplices durchgeführt. Erwartungsgemäß stiegen in allen Fällen die  $T_m$ -Werte deutlich an (Abb. 4.32 und 4.33). Die Schmelzkurven zu den Abb 4.32 und 4.33 sind in Kap. 9.2.2.3 angeführt.



**Abb. 4.32:**  $\Delta T_m$ -Werte der Denaturierungsexperimente bei 0.5 M NaCl.

Bei einer NaCl-Konzentration von 0.5 M wies der Unterschied des  $\Delta T_m$ -Anstiegs zwischen NAA-modifizierten und unmodifizierten ON (Ref.) in Abhängigkeit der Duplexart unterschiedliche Werte auf (Abb. 4.32). Während die Unterschiede bei DNA/RNA-Duplices (blaue Balken, Abb 4.32) kaum signifikant sind, kann im Fall der DNA/DNA-Duplices (orange Balken, Abb. 4.32) ein geringfügiger, regelhaft auftretender Unterschied beobachtet werden. Demnach ist die Stabilitätszunahme mit steigender Ionenstärke bei NAA-modifizierten Duplices geringer als bei unmodifizierten. Dieser Trend gilt sowohl für **ON a** als auch für **ON b**.



**Abb. 4.33:**  $\Delta T_m$ -Werte der Denaturierungsexperimente bei 1.0 M NaCl.

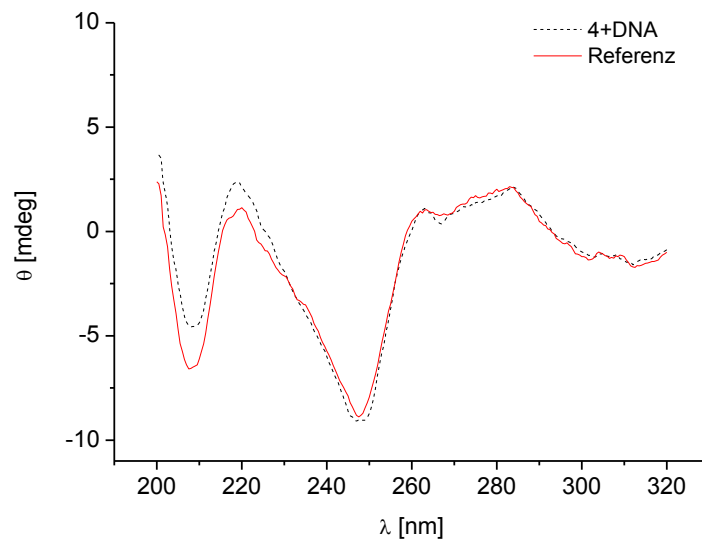
Weitere Denaturierungsexperimente bei einer NaCl-Konzentration von 1.0 M bestätigten den oben beschriebenen Trend, wobei die Unterschiede hier noch deutlicher sind (Abb. 4.33). Die Stabilisierung unmodifizierter ON ist hier ebenfalls größer als diejenige NAA-modifizierter ON. Etwas stärker ausgeprägt ist dieser Effekt wiederum bei DNA/DNA-Duplices und etwas geringer bei DNA/RNA-Duplices. Überraschend ist allerdings, dass die  $\Delta T_m$ -Werte einfach und vierfach modifizierter ON sich kaum unterscheiden. Wie bereits in Kap. 2.4.3 ausgeführt, weist die Duplex-Stabilität von Nucleinsäure-Duplices, die aus einem elektroneutralen oder zwitterionischen Strang und einem negativ geladenen gebildet werden, eine geringere Empfindlichkeit gegenüber der Variation der Ionenstärke auf. Dieser Effekt wurde hier tendenziell ebenfalls – wenn auch in nur geringem Ausmaß – beobachtet.

## 4.5.2 Circular dichroismus-(CD)-Spektroskopie

Circular polarisiertes Licht ist ein chirales Phänomen und dessen Wechselwirkung mit chiralen Molekülen von diastereotoper Natur. Daher kann die Absorbanz ( $A$ ) eines chiralen Moleküls hinsichtlich rechts und links circular polarisierten Lichts unterschiedlich groß sein und ist eine Funktion der Wellenlänge  $\lambda$  des Lichts. Auf dieser physikalischen Grundlage beruht die Strukturanalyse chiraler Moleküle mittels CD-



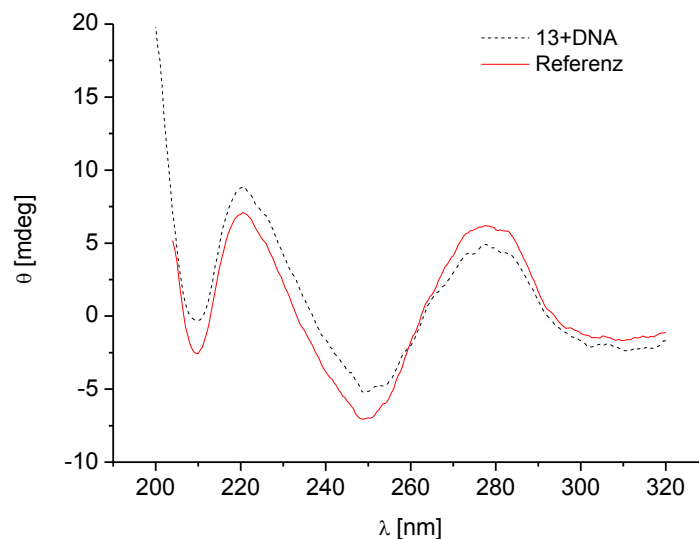
Spektroskopie. Die Messung der Absorbanz erfolgt im UV/VIS-Bereich. Da die quantenchemische Interpretation von CD-Spektren sehr komplex ist, kann auf Atom-Ebene keine Information über große Moleküle wie Nucleinsäuren gewonnen werden. Daher wird die CD-Spektroskopie in diesem Fall vorwiegend empirisch verwendet. Für DNA- und RNA-Moleküle, die eine Sekundärstruktur aufweisen, sind zahlreiche CD-Spektren im Wellenlängenbereich von 180-300 nm aufgenommen worden. Durch den Vergleich der CD-Spektren von nativen DNA- bzw. RNA-Molekülen mit denjenigen von modifizierten Analoga können qualitative Rückschlüsse auf Veränderungen der Geometrie und Konformation gezogen werden. CD-Spektren von B-Helices weisen ein typisches Muster auf, das durch die breite positive Absorptionsbande im Wellenlängenbereich von 260-280 nm und eine tiefe negative Absorptionsbande um 245 nm charakterisiert werden kann.<sup>[184]</sup> Geringfügige lokale Variationen dieses Musters kommen durch unterschiedliche Basensequenzen zustande. Alle Duplices der NAA-modifizierten ON (Abb. 3.2 Nr. 1-24) mitsamt der unmodifizierten Referenz-Duplices sind anhand dieser Methode untersucht worden (CD-Spektren s. 9.3). Die erhaltenen Kurven der NAA-modifizierten Duplices wurden durch Superposition in einem Diagramm mit den jeweiligen Kurven unmodifizierter Referenz-Duplices verglichen. Dabei ergaben sich in vielen Fällen nahezu identische Spektren modifizierter und unmodifizierter Duplices. Daraus wurde darauf geschlossen, dass die NAA-Modifikationen höchstens geringfügige lokale Störungen der Duplex-Geometrie hervorrufen. Dieses Resultat harmoniert gut mit den Befunden der thermischen Denaturierungsexperimente, in denen ebenfalls nur geringe bis mäßige Stabilitätsverluste durch die Einführung der NAA-Modifikation aufgetreten waren. Die Gestalt der CD-Spektren von DNA/DNA-Hybriden (s. Kap. 9.3.1.1) stimmt im Wesentlichen gut mit den typischen Merkmalen des B-Helix-Musters überein, wobei die Spektren je nach Sequenz durchaus charakteristische Ausprägungen aufweisen. DNA/DNA-Duplices vom Typ **ON a** weisen bei ca. 265 nm ein für oligo-AT-Sequenzen typisches lokales Minimum<sup>[185]</sup> und eine tiefe enge Absorptionsbande bei ca. 250 nm auf. Ersteres rührt daher, dass bei den **ON a** in der Mitte der Sequenz eine Folge von acht Thymin-Bausteinen vorliegt (Abb. 4.34).



Oligonucleotid **4 (R)**: 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'

**Abb. 4.34:** Exemplarisches CD-Spektrum einer DNA/DNA-Duplex vom Typ **ON a**.

Im Gegensatz dazu liegt in den CD-Spektren der DNA/DNA-Duplices von Typ **ON b** im Bereich von 275 nm ein lokales Maximum vor, während das Minimum bei 265 nm fehlt. Darüber hinaus ist die negative Absorptionsbande bei 250 nm wesentlich breiter und weniger intensiv (Abb. 4.35).

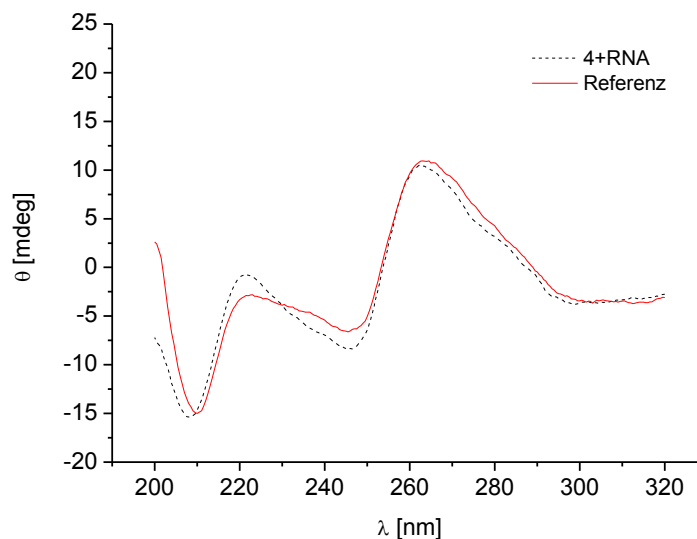


Oligonucleotid **13 (S)**: 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'

**Abb. 4.35:** Exemplarisches CD-Spektrum einer DNA/DNA-Duplex vom Typ **ON b**.

CD-Spektren der DNA/DNA-Duplices vom Typ **ON c** sind denjenigen von **ON b** recht ähnlich, daher wurde auf eine Darstellung an dieser Stelle verzichtet. Diese Spektren sind im Anhang Kap. 9.3.1.2 angeführt.

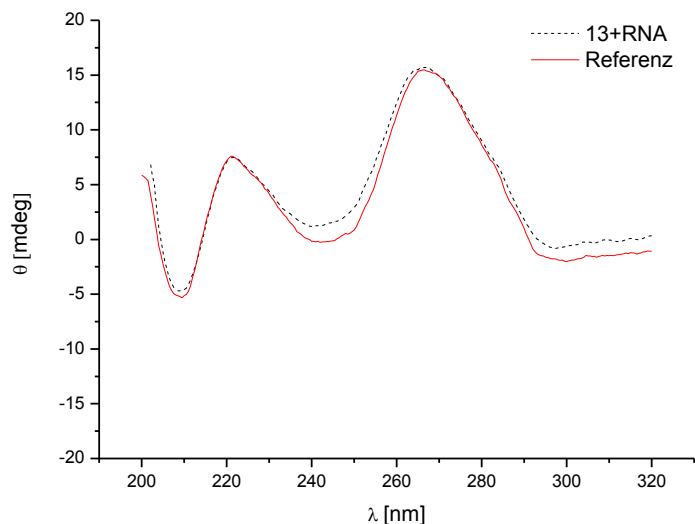
Die CD-Spektren von DNA/RNA-Duplices (Kap. 9.3.2) können von ihrer Gestalt her als Mischform zwischen A-Helix und B-Helix aufgefasst werden. Für die CD-Spektren von A-Helices ist eine sehr intensive und breite Absorptionsbande zwischen 250 und 290 nm sowie eine schmale und intensive negative Bande bei 210 nm charakteristisch.<sup>[184]</sup> Interessanterweise sind die CD-Spektren von DNA/RNA-Duplices der **ON a** (Abb. 4.36) denen der DNA/RNA-Duplices von **ON b** (Abb. 4.37) recht ähnlich.



Oligonucleotid **4 (R)**: 5'-GGCACGG **TxT TT TxT TT** GGCACGG-3'

**Abb. 4.36:** Exemplarisches CD-Spektrum einer DNA/RNA-Duplex vom Typ **ON a**.

Die Spektren der DNA/RNA-Duplices der **ON b** unterscheiden sich durch etwas weniger intensive negative Banden bei 210 nm und die etwas intensiveren positiven Banden bei 220 nm. Somit weisen die DNA/RNA-Duplices der **ON b** ein wenig mehr B-Helix-Charakter auf als diejenigen der **ON a**. Dabei fällt zudem auf, dass die Übereinstimmung der CD-Spektren der DNA/RNA-Duplices der **ON a** mit den entsprechenden Referenz-Spektren etwas geringer ist als im Fall der **ON b**. Dies kann im Sinne einer geringeren Kompatibilität der NAA-Modifikation mit der A-Helix-Geometrie erklärt werden und stimmt wiederum gut mit den Befunden der thermischen Denaturierungsexperimente überein.



Oligonucleotid **13 (S)**: 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'

**Abb. 4.37:** Exemplarisches CD-Spektrum einer DNA/RNA-Duplex vom Typ **ON b**.

Tatsächlich sind die Werte der Duplex-Destabilisierung im Fall der DNA/RNA-Duplices der **ON a** ein wenig höher als diejenigen der **ON b**. Ein weiterer Aspekt, der diese Annahme stützt, ist die geringere Destabilisierung der NAA-modifizierten DNA/DNA-Duplices im Vergleich mit den NAA-modifizierten DNA/RNA-Duplices. Insgesamt kann folglich festgehalten werden, dass die strukturelle Kompatibilität der NAA-Modifikation insbesondere bei ausgeprägtem B-Helix-Charakter der Duplex gegeben ist, während im Gegensatz dazu Duplices mit ausgeprägtem A-Helix-Charakter die NAA-Modifikation etwas weniger tolerieren.

### 4.5.3 Abschließende Beurteilung der NAA-Modifikation

Bei der Beurteilung der Ergebnisse sind im Wesentlichen zwei Effekte von Bedeutung. Zum einen sollte die Amino-Gruppe der NAA-Einheit unter den eingestellten Bedingungen (pH = 7, 150 mM NaCl) protoniert, d. h. positiv geladen sein, weshalb eine Erhöhung der thermischen Stabilität auf Grund der Minimierung der Coulomb-Repulsion zu erwarten wäre. Zum anderen aber bewirkte die eingeschränkte konformationelle Beweglichkeit um die Amidbindung der von *de Mesmaeker* etablierten elektroneutralen Amid-Verbrückungen bis auf einige Ausnahmen eine Destabilisierung der mit komplementären DNA- und RNA-Strängen gebildeten Duplices.<sup>[76]</sup> Da die beobachteten thermischen Stabilitäten NAA-

modifizierter Duplices generell niedriger sind als diejenigen unmodifizierter Duplices, überwiegt offenbar die Störung der Duplex-Geometrie durch den restriktiven Charakter der Amid-Bindungen die Ladungskompensation. Dass geometrische Aspekte die Stabilität NAA-modifizierter Duplices dominieren, geht auch aus den unterschiedlichen Effekten der (6'S)-NAA und (6'R)-NAA auf die Duplex-Stabilität hervor. Die diskutierten Daten belegen eindeutig, dass die (6'R)-NAA-Modifikation in höherem Maße mit der Helix-Geometrie harmonisiert als die (6'S)-NAA-Modifikation. Die verschiedenen Stabilitätsminderungen NAA-modifizierter RNA/DNA- und DNA/DNA-Duplices verdeutlichen ebenfalls die geringfügige Bedeutung des elektrostatischen Effekts im Vergleich zu geometrischen Faktoren auf die Duplex-Stabilität. Vielmehr zeigt sich dadurch, dass die NAA-Modifikation eher zur B-Helix passt als zur A-Helix. Allerdings können die von der NAA-Modifikation induzierten „Störungen“ nicht von erheblichem Ausmaß sein, da die Destabilisierung der Duplices mit  $\Delta T_m$ -Werten von 0 bis  $-4$  °C/Mod. stets gering bis moderat ausfiel. Zudem wurde die Mismatch-Erkennung durch die NAA-Modifikation kaum beeinträchtigt. Daraus kann gefolgert werden, dass die NAA-Modifikation trotz der konformationell eingeschränkten Amid-Bindungen die Flexibilität der Nucleinsäuren höchstens geringfügig beeinflusst. Ein weiterer Hinweis auf die geringe Wirkung der positiven Ladung der NAA-Modifikation ist durch die gemessenen Duplex-Stabilitäten bei erhöhter Ionenstärke gegeben. Hinsichtlich der Zunahme der Duplex-Stabilität mit der Ionenstärke wiesen die NAA-modifizierten Duplices nur geringfügige Unterschiede zu unmodifizierten Duplices auf. Die Ergebnisse der thermischen Denaturierungsexperimente werden durch die Befunde der CD-Spektroskopie bestätigt. Die Übereinstimmung der CD-Spektren NAA-modifizierter Duplices mit denjenigen unmodifizierter Referenz-Duplices ist in den meisten Fällen sehr hoch. Die aufgenommenen Spektren sind bekannten Mustern der A- bzw. B-Helix sehr ähnlich. Die auffällig geringe Abweichung der Eigenschaften NAA-modifizierter ON von denjenigen unmodifizierter ON ist im Hinblick auf die strukturellen Unterschiede zwischen der NAA-Verbrückung und Phosphatdiestereinheiten überraschend. Selbst bei vierfach NAA-modifizierten ON sind nur mäßige Abweichungen hinsichtlich molekularer Erkennung, thermischer Stabilität und Topologie festgestellt worden. Diese Befunde bestätigen nicht die Hypothese von *Benner*, derzufolge die polyanionische Beschaffenheit für deren physikochemische Eigenschaften (Watson-Crick-Hybridisierung, Sequenz-Unabhängigkeit der physikalischen Eigenschaften, Eignung zur Funktion als Templat) notwendig ist.<sup>[23]</sup>

## 5 Zusammenfassung

Der zentrale Aspekt dieser Arbeit war die Konzeption und Synthese von NAA-Bausteinen für den Aufbau zwitterionischer (NAA-mod. DNA) oder oligokationischer (oligoNAA) Nucleinsäure-Analoga (Abb. 5.1). Experimentelle Befunde über die Eigenschaften solcher Analoga könnten für das grundlegende Verständnis der Relevanz des Ladungsmusters genetischer Moleküle nützlich sein.

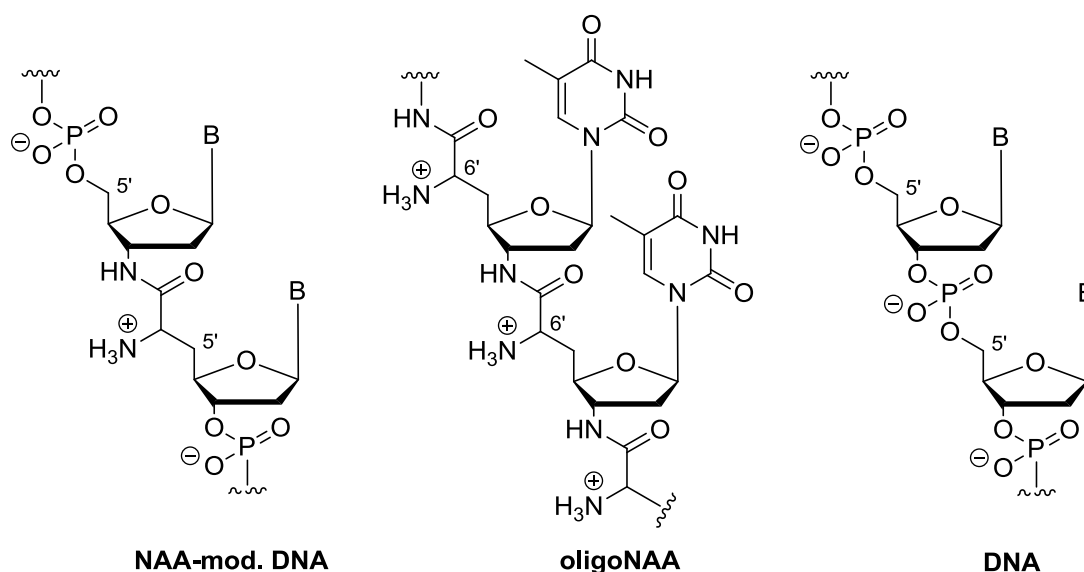
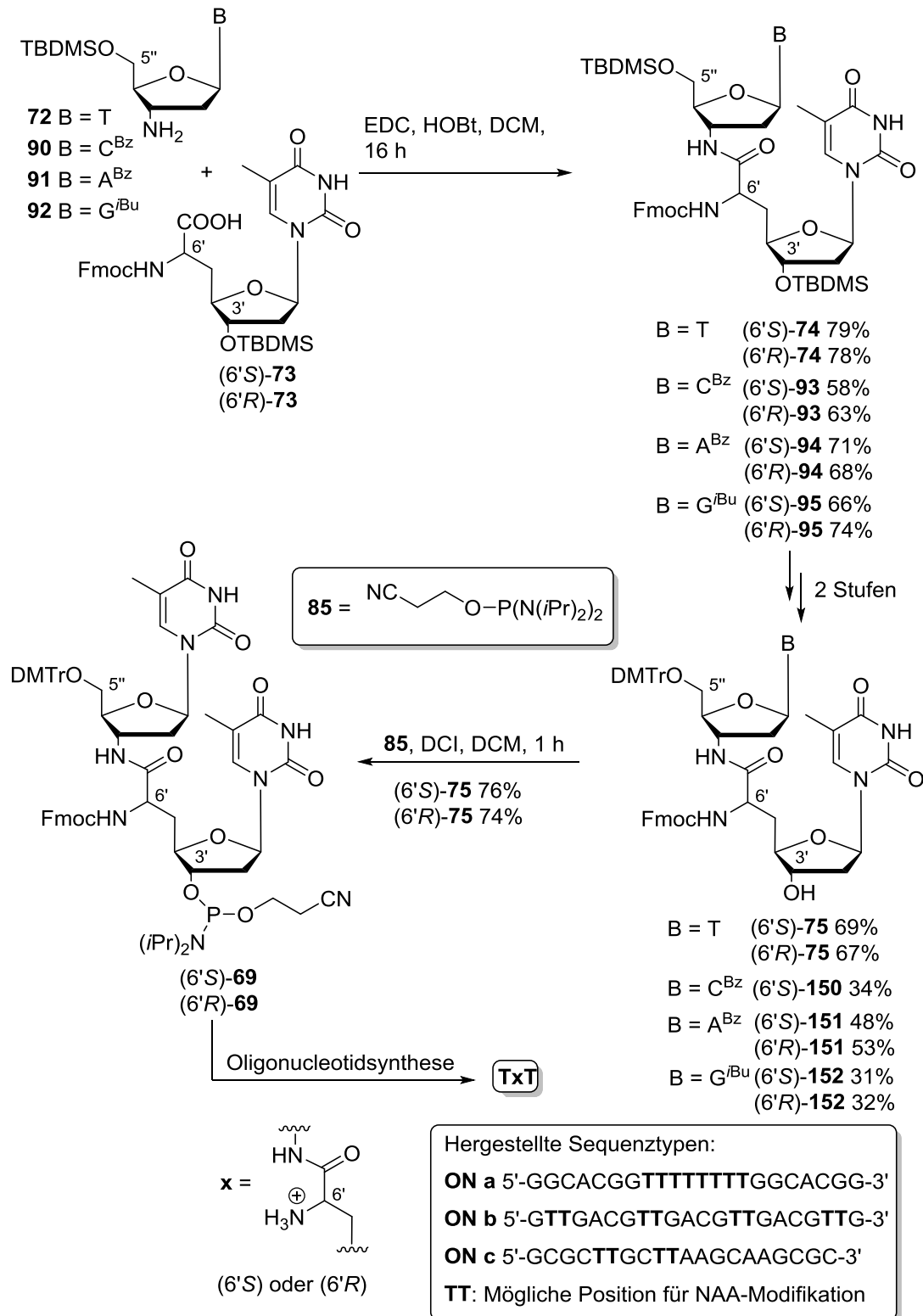


Abb. 5.1: Konzipierte Nucleinsäureanaloga im Vergleich mit der DNA.

Unter Verwendung der Phosphoramidit-Bausteine (6'S)- und (6'R)-**69** wurden 24 verschiedene zwitterionische ON der drei Typen **ON a**, **ON b** und **ON c** synthetisiert, die an bestimmten Positionen die neuartige NAA-Modifikation enthalten (Abb. 5.2). Mit dem Ziel der Synthese weiterer ON mit NAA-Modifikationen an anderen Positionen als zwischen zwei Thymidin-Einheiten wurde zudem der synthetische Zugang zu den Dinucleosiden (6'S)-**150**, **151** und **152** erschlossen. Diese Verbindungen stellen die Vorstufen der für die Festphasensynthese verwendbaren Phosphoramidite **87-89** (Abb. 3.5) dar. Die Synthese der Dinucleoside **75** und **150-152** erfolgte durch Peptid-Kupplung der (6'S)- und (6'R)-NAA **73** mit verschiedenen 3'-Aminonucleosiden **72** und **90-92**, anschließende simultane Desilylierung in 3'- und 5''-Position, regioselektive Einführung der Trityl-Schutzgruppe in 5''-Position und Phosphitylierung im Fall der T-T-Dinucleoside **75**. Während die T-T-Dinucleoside **75** mit insgesamt guten Ausbeuten erhalten wurden (59% von **73** aus), erwies sich die Anwendung dieses Verfahrens auf die Synthese der Dinucleoside **150-152** als nicht

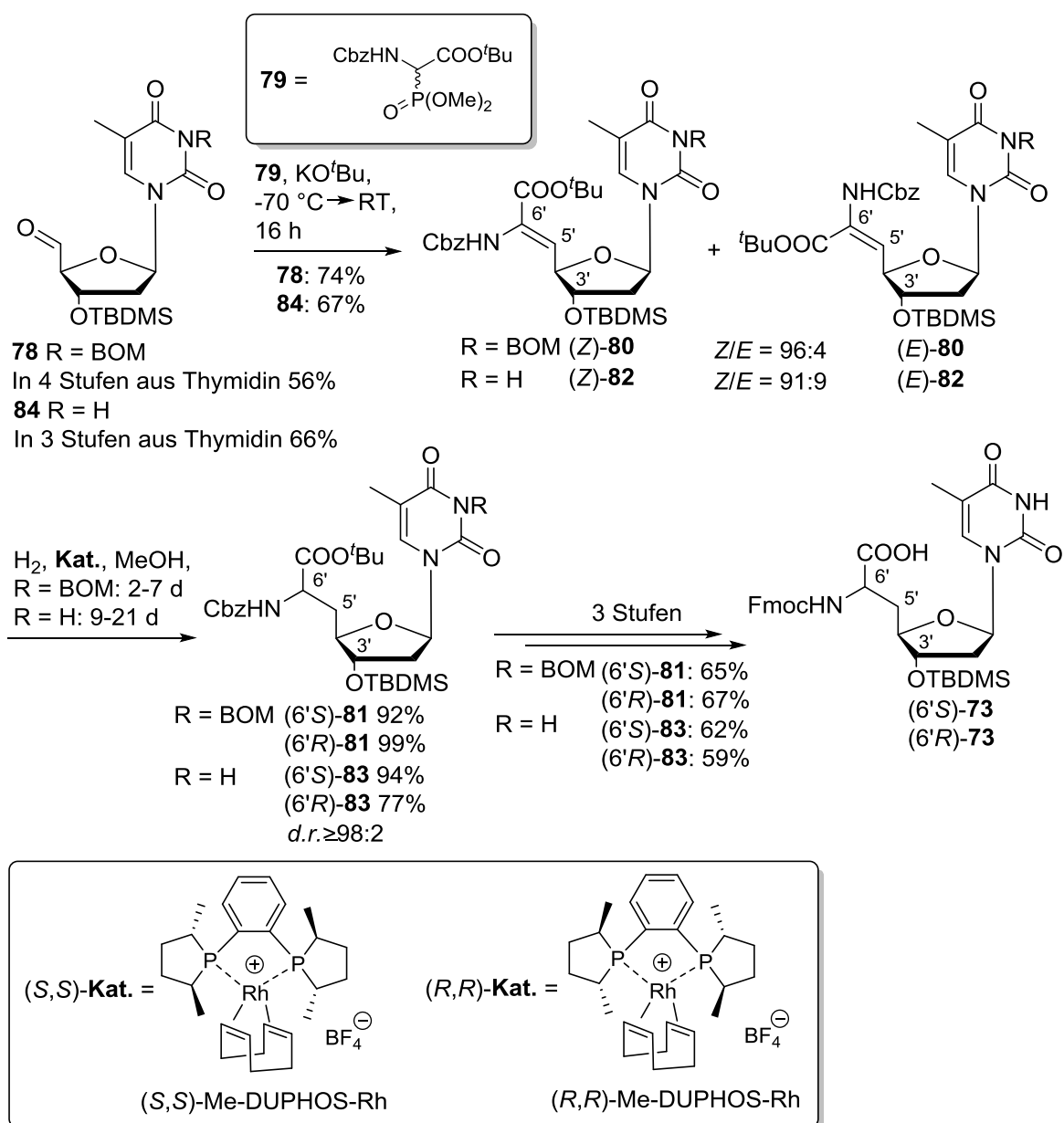
unproblematisch. Insbesondere für die zweifache Desilylierung der Verbindungen **93-95** konnte keine gut geeignete Methode gefunden werden. Verfahren, die auf der Verwendung saurer Reagenzien zur Spaltung der Silylether beruhen, führten entweder zu keiner Silylether-Spaltung oder verursachten Nebenreaktionen wie z. B. die Spaltung der *N*-glykosidischen Bindung.



**Abb. 5.2:** Synthese der Dinucleoside **75**, **150-152** und der Phosphoramidite **69**.

Vorgehensweisen, in denen basische Reagenzien verwendet wurden, führten häufig zu einer Spaltung der Fmoc-Schutzgruppe. Als einzige brauchbare Methode wurde daher Ammoniumfluorid in Methanol eingesetzt. Auf diese Weise konnten die Dinucleoside **150-152** in Ausbeuten von 31-53% (von **73** aus) erhalten werden. Für die Synthese der NAA **73** wurde die bereits zuvor etablierte Synthesemethode verwendet.<sup>[114]</sup> In dieser Arbeit wurde geprüft, ob eine analoge Vorgehensweise auch ohne die BOM-Schutzgruppe anwendbar ist (Abb. 5.3). Ausgehend von den synthetisch leicht zugänglichen Thymidinylaldehyden **78** und **84** wurden durch *Wittig-Horner*-Reaktionen mit dem Phosphonat **79** die 5',6'-Didehydro-Thymidiylaminosäuren (*Z*)-**80** bzw. (*Z*)-**82** in Ausbeuten von 74% bzw. 67% erhalten. Die Diastereoselektivität der Reaktion war im Fall des BOM-geschützten Aldehyds als Ausgangsverbindung deutlich höher (*Z/E* = 96:4) als bei der entsprechenden Reaktion der ungeschützten Verbindung **82** (*Z/E* = 91:9). Die Zuordnung der Konfiguration der Doppelbindung wurde auf der Grundlage der empirischen Kriterien von *Mazurkiewicz* für die <sup>1</sup>H-NMR-Signale der Verbindungen vorgenommen.<sup>[151]</sup> Die Ergebnisse der nachfolgend durchgeführten asymmetrischen Hydrierungen der Verbindungen (*Z*)-**80** und (*Z*)-**82** bestätigten diese Zuordnung, da asymmetrische Hydrierungen von (*E*)-5',6'-Didehydroaminosäuren bekanntermaßen wesentlich langsamer und mit geringerer Selektivität verlaufen.<sup>[119,153]</sup> Die Produkte der asymmetrischen Hydrierungen von (*Z*)-**80** und (*Z*)-**82** unter Katalyse durch (*S,S*)- oder (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh wurden stets in sehr hoher Diastereomerenreinheit erhalten (*d.r.* ≥ 98:2). Allerdings bedurften die Reaktionen der Verbindung ohne BOM-Schutzgruppe (*Z*)-**82** wesentlich längerer Zeiträume (9-21 d) als die Reaktionen des Nucleobasen-geschützten Analogons (*Z*)-**80** (2-7 d). Die Ausbeuten dieser Hydrierungen lagen mit Ausnahme der Synthese von (6'*R*)-**83** (77%) bei sehr guten Werten (92-99%). Der stereochemische Verlauf dieser asymmetrischen Hydrierungen gilt als hinlänglich bekannt.<sup>[119,153]</sup> Zudem konnte für Uridin-Analoga der Verbindungen **81** und **83** die Zuordnung der Konfiguration an der 6'-Position durch Röntgenstrukturuntersuchungen eindeutig belegt werden.<sup>[118]</sup> Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit auf den exakten Nachweis der Konfiguration der NAA **81** bzw. **83** verzichtet. Beide Diastereomere der Verbindungen **81** und **83** wurden nachfolgend durch reduktive Spaltung der BOM- und Cbz-Schutzgruppen, Einführung einer Fmoc-Schutzgruppe an der 6'-NH<sub>2</sub>-Funktionalität und mild-saure Spaltung der *tert*-Butylester durch Kieselgel in siedendem Toluol in die NAA (6'*S*)- bzw. (6'*R*)-**73** überführt.



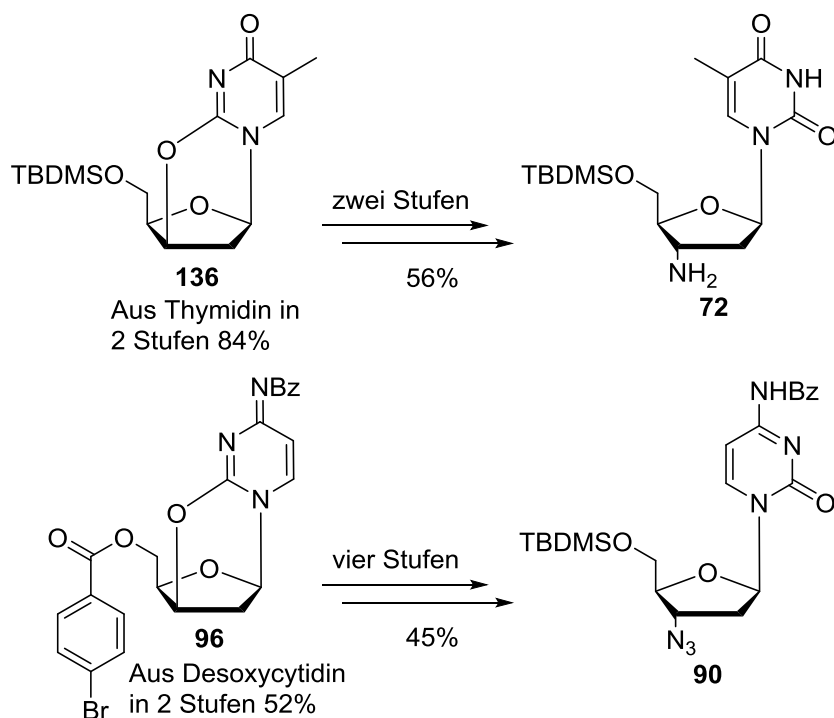


**Abb. 5.3:** Synthese der NAA **73** ausgehend von den Aldehyden **78** und **84**.

Durch Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren konnte nachgewiesen werden, dass über beide Reaktionswege identische Verbindungen gebildet wurden. Insgesamt wurde die Route über die BOM-geschützten Verbindungen als etwas vorteilhafter bewertet, da insbesondere im Fall des (6'S)-Diastereomers Ausbeuteverluste bei der deutlich längeren asymmetrischen Hydrierung von (Z)-**82** auftraten. Zudem war der Verbrauch des teuren Katalysators bei Reaktionen der ungeschützten Substrate wesentlich höher.

Die zur Peptidkupplung benötigten 2',3'-Dideoxy-3'-aminonucleoside **72**, **90-92** wurden gemäß zweier prinzipiell unterschiedlicher Strategien synthetisiert. Für die Herstellung der Pyrimidin-2',3'-dideoxy-3'-aminonucleoside **72** und **90** wurde eine

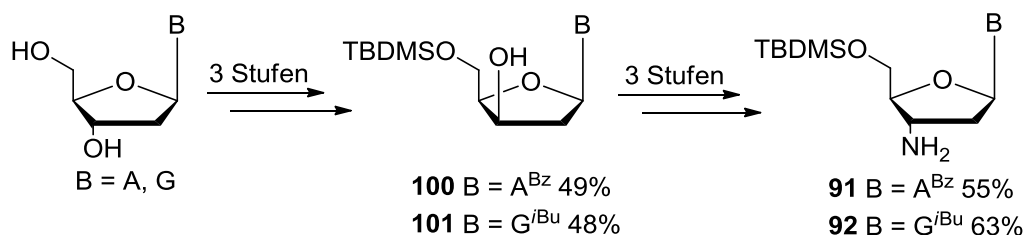
bekannte Vorgehensweise angewendet. Die Substitution der Hydroxygruppe in 3'-Position durch eine Aminogruppe unter Retention der Konfiguration wurde durch Synthese tricyclischer Nucleosid-Derivate **136** und **96**, deren Ringöffnung durch  $S_N2$ -Reaktion mit Natriumazid und Reduktion der Azidfunktionalität zum entsprechenden Amin erreicht.<sup>[137]</sup>



**Abb. 5.4:** Synthese der Pyrimidin-2',3'-dideoxy-3'-aminonucleoside **72** und **90**.

Für die Herstellung der Purin-2',3'-dideoxy-3'-aminonucleoside **91** und **92** wurde zunächst der Versuch unternommen, die von *Richert* publizierte Methode anzuwenden.<sup>[137]</sup> Der Schlüsselschritt dieser Reaktionssequenz ist die Aktivierung der 3'-Hydroxygruppe von 2'-Desoxy-3'-*xylo*-nucleosiden durch DIAD und Triphenylphosphin sowie die nachfolgende Substitution durch ein Azidnucleophil im Sinne einer *Mitsunobu*-Reaktion. Die in der Publikation von *Richert* angegebenen Ergebnisse konnten jedoch nicht reproduziert werden. Daher wurden zahlreiche alternative Methoden für die Aktivierung und Substitution der 3'-Hydroxygruppe untersucht, darunter weitere *Mitsunobu*-Reaktionen, eine *Mukaiyama*-Kondensation und verschiedene zweistufige Aktivierungs- und Substitutionsmethoden über Triflat- und Methansulfonsäureester. Die besten Resultate wurden bei der Überführung der 2'-Desoxy-3'-*xylo*-nucleoside **100** und **101** in die entsprechenden 3'-Methansulfonsäureester und deren Reaktion mit Natriumazid in Pyridin bei erhöhter Temperatur erzielt. Die auf diese Weise erhaltenen 3'-Azidonucleoside

wurden durch heterogen katalysierte Hydrierung ( $H_2$ , Pd/C, MeOH) in die Zielverbindungen **91** und **92** überführt.



**Abb. 5.5:** Synthese der 2',3'-Dideoxy-3'-aminonucleoside **91** und **92**.

Für die Synthese der polykationischen oligoNAA (Abb. 5.1) wurden die NAA-Derivate **104** konzipiert (Abb. 5.6), deren Verknüpfung zum Oligomer mittels Festphasengestützter Peptid-Synthese möglich sein sollte. Um die chemische Synthese dieser Bausteine zu verwirklichen, wurde die für NAA-Derivate etablierte Synthesemethode angewendet.<sup>[114,118]</sup> Hierbei wurden unterschiedliche Syntheserouten untersucht, um auf möglichst effizientem Weg zu den Zielmolekülen (6'*S*)- und (6'*R*)-**104** zu gelangen. Es wurden die vier Thymidinaldehyde **105-108** synthetisiert und mit dem Phosphonat **109** in *Wittig-Horner*-Reaktionen umgesetzt. Unter den oft verwendeten Bedingungen der *Wittig-Horner*-Reaktion ( $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , KO $t$ Bu, THF) konnte keine Reaktion zwischen dem einfachsten Aldehyd **105** und dem Phosphonat **109** nachgewiesen werden. Hingegen konnte im Fall des Derivats **106**, dessen Nucleobase mit einer BOM-Schutzgruppe versehen war, die 5',6'-Didehydro-TAA (*Z*)-**111** in einer guten Ausbeute (73%) und hoher Diastereoselektivität (*Z/E* = 93:7) erhalten werden. Die Reaktion der Basen-ungeschützten Verbindung **107** ergab ein ungefähr äquimolares Diastereomergemisch von (*Z*)-**112** und (*E*)-**112** in einer Ausbeute von 68%. Ein besseres Ergebnis wurde wiederum mit dem Basengeschützten Aldehyd **108** als Edukt erzielt. Die 5',6'-Didehydro-TAA (*Z*)-**113** wurde mit mäßig hoher Diastereoselektivität (*Z/E* = 91:9) und in einer Ausbeute von 68% erhalten. Insgesamt erwies sich hier die Schützung der Nucleobase im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen Synthesen der TAA **73** (Abb. 5.3) als unverzichtbar für ein brauchbares Reaktionsprodukt. Die zunächst nach empirischen Kriterien vorgenommene Zuordnung der Konfiguration der Doppelbindung der Verbindungen (*Z*)-**111** und (*Z*)-**113** konnte durch Befunde von  $^1\text{H}$ -NOE-Experimenten bestätigt werden. Die 5',6'-Doppelbindungen der 5',6'-Didehydro-TAA (*Z*)-**111** und (*Z*)-**113** wurden nachfolgend in Gegenwart der asymmetrischen Katalysatoren (*S,S*)- oder (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh hydriert.

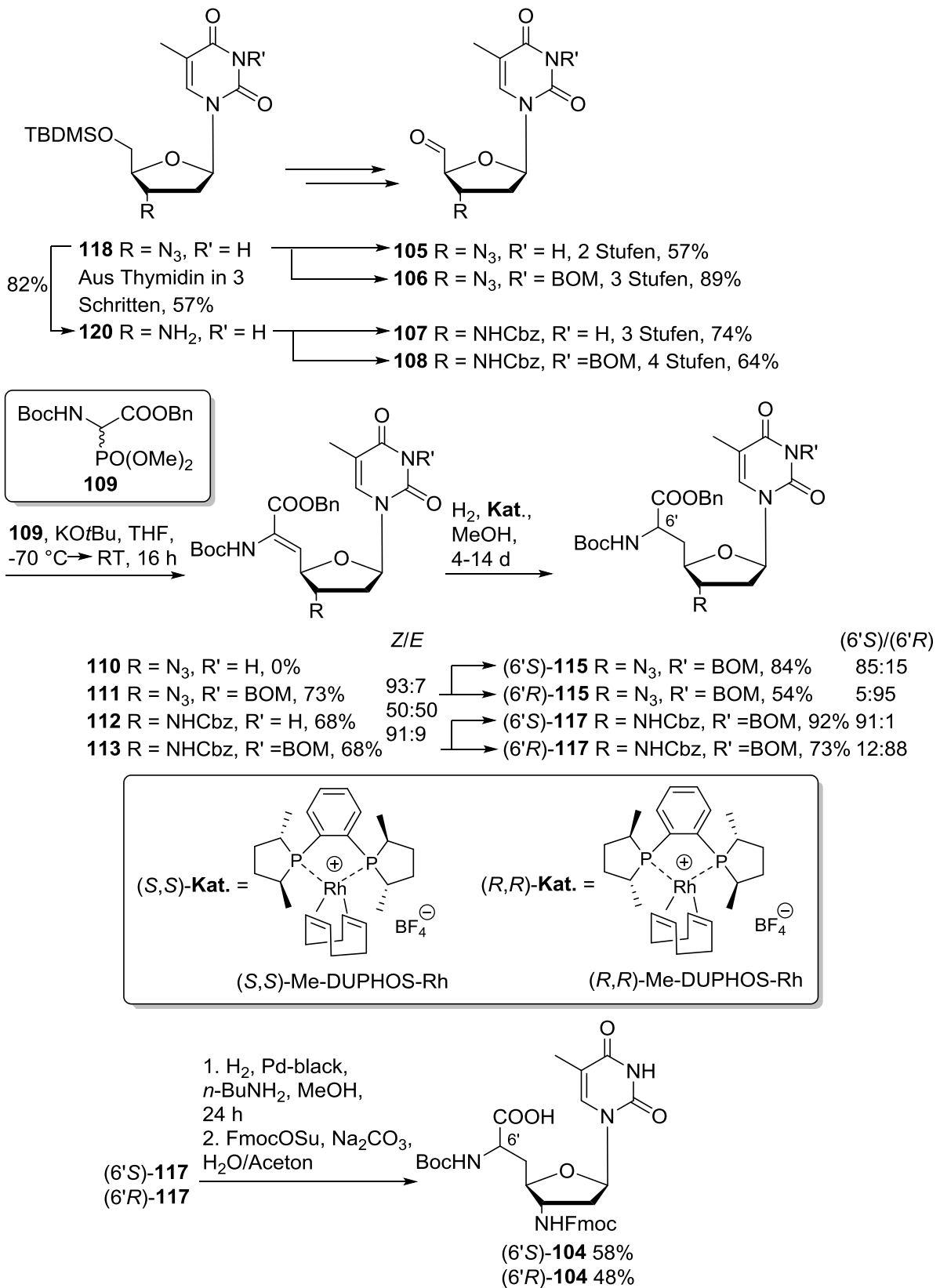


Abb. 5.6: Synthese der NAA (6'S)- und (6'R)-104.

Hinsichtlich der Reaktionsdauer wurden ähnliche Tendenzen beobachtet wie bei den Hydrierungen der Olefine (*Z*)-80 und (*Z*)-82. Unter Katalyse durch (*S,S*)-Me-DuPHOS-Rh wurden die Produkte (6'S)-115 (*d.r.* = 85:15) und (6'S)-117 (*d.r.* = 91:9)

in 4-7 Tagen erhalten. Deutlich längere Reaktionszeiten (14 Tage) wurden für die entsprechenden Reaktionen unter Katalyse durch (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh benötigt. Interessanterweise verlief die asymmetrische Hydrierung von (*Z*)-**111** in Gegenwart des (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh-Katalysators mit deutlich höherer Diastereoselektivität (*6'S/6'R* = 5:95) als diejenige, die in Gegenwart des entgegengesetzt konfigurierten Katalysators (s. o.) geführt wurde. Insgesamt waren die Ergebnisse der asymmetrischen Hydrierungen von (*Z*)-**111** und (*Z*)-**113** sowohl hinsichtlich der Ausbeuten als auch der Diastereoselektivitäten ungünstiger als diejenigen der Olefine (*Z*)-**80** und (*Z*)-**82** (Abb. 5.3). Eine genaue Begründung für diese Beobachtungen konnte auf Basis der bisherigen Befunde nicht angegeben werden. Bemerkenswert ist jedoch, dass der am wenigsten sterisch anspruchsvolle Rest (*N*<sub>3</sub>) in 3'-Position der 5',6'-Didehydro-TAA mit den kleinsten Ausbeuten und den geringsten Diastereoselektivitäten einherging. Die Verbindungen (*6'S*)-**117** und (*6'R*)-**117** konnten durch HPLC an einer chiralen stationären Phase in sehr hoher Diastereomerenreinheit (*d.r.* > 99:1) erhalten werden und wurden in zwei weiteren Reaktionsschritten in die Zielverbindungen (*6'S*)- und (*6'R*)-**104** überführt. Zunächst wurden die Schutzgruppen Cbz, Bn und BOM reduktiv gespalten, wobei der Reaktion wiederum *n*-Butylamin zugesetzt wurde, um eine Methylierung der entschützten 3'-Aminogruppe zu verhindern. Anschließend erfolgte die Einführung der Fmoc-Schutzgruppe an der 3'-Aminofunktionalität. Die Verwendung der Bausteine (*6'S*)- und (*6'R*)-**104** in einer Oligopeptid-Synthese wird gegenwärtig in Kooperation mit Dr. T. Grossmann (CGC Dortmund) erprobt.

NAA-modifizierte Nucleinsäureanaloge wurden durch Festphasen-gestützte ON-Synthese nach der Methode von *Caruthers* und *Beaucage* unter Verwendung der Phosphoramidit-Reagenzien (*6'S*)- und (*6'R*)-**69** (Abb. 5.2) synthetisiert.<sup>[9]</sup> Die Reaktivität der NAA-modifizierten Phosphoramidit-Reagenzien **69** erwies sich als geringer im Vergleich zu derjenigen von Phosphoramidit-Reagenzien kanonischer Nucleoside. Dies ging eindeutig aus den Daten des Trityl-Monitorings bei der ON-Synthese und aus der Beobachtung von Abbruchfragmenten bei der Reinigung der ON mittels Gelelektrophorese hervor. Daher lagen die Ausbeuten an gereinigten ON im Bereich von 20-50%, wobei die größeren Ausbeuteverluste bei Synthesen mehrfach NAA-modifizierter ON auftraten. Es wurden insgesamt 24 verschiedene NAA-modifizierte ON hergestellt (Tab. 1). Sämtliche NAA-modifizierte ON bildeten nachweislich Duplices mit komplementären DNA- und RNA-Sequenzen. In

thermischen Denaturierungsexperimenten wiesen NAA-modifizierte Duplices je nach Position und Anzahl der Modifikationen Abweichungen im  $T_m$ -Wert von 0 bis  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  pro Modifikation gegenüber unmodifizierten Referenz-Duplices auf.

Tab. 1: Synthetisierte NAA-modifizierte ON

Nr.	Sequenz	Konfiguration von x	ON-Typ
1	5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'	S	<b>ON a</b>
2		R	
3	5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'	S	
4		R	
5	5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'	S	
6		R	
7	5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'	S	
8		R	
9	5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'	S	
10		R	
11	5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'	S	<b>ON b</b>
12		R	
13	5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'	S	
14		R	
15	5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'	S	
16		R	
17	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'	S	
18		R	
19	5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'	S	
20		R	
21	5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'	S	<b>ON c</b>
22		R	
23	5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'	S	
24		R	

Die Destabilisierung der Nucleinsäure-Doppelstränge durch die NAA-Modifikation war im Fall von DNA/RNA-Duplices ( $\Delta T_m = -0.3$  bis  $-4.1$ ) $^\circ\text{C}/\text{Mod.}$ ) deutlich größer als bei DNA/DNA-Duplices ( $\Delta T_m = +0.4$  bis  $-2.2$ ) $^\circ\text{C}/\text{Mod.}$ ). Zudem wurden bei (6'S)-NAA-modifizierten Duplices häufig geringfügig höhere  $\Delta T_m/\text{Mod.}$ -Werte als bei (6'R)-NAA-modifizierten Duplices erhalten. Zwischen der Anzahl der NAA-Modifikationen und dem Ausmaß der Duplex-Destabilisierung wurde eine annähernd lineare Beziehung nachgewiesen. Der destabilisierende Effekt ist folglich nicht kooperativ. Der Abstand zweier NAA-Modifikationen innerhalb eines Stranges (**ON a**) oder auf gegenüber liegenden Strängen (**ON c**) wirkt sich gemäß der Resultate auf die Duplex-Destabilisierung durch NAA-Modifikationen nicht signifikant aus. Ferner wurde bei

DNA/RNA-Doppelsträngen vom Typ **ON b** eine Abhängigkeit der  $\Delta T_m$ -Werte von der Positionierung der Modifikation beobachtet. NAA-Modifikationen im Stranginneren bewirkten deutlich größere Duplex-Destabilisierungen ( $\Delta T_m = -2.4$  bis  $-3.7$ ) $^{\circ}\text{C}/\text{Mod.}$ ) als Modifikationen an den Strangenden ( $\Delta T_m = -0.3$  bis  $-1.5$ ) $^{\circ}\text{C}/\text{Mod.}$ ). Thermische Denaturierungsexperimente an NAA-modifizierten Duplices, die Fehlpaarungen enthielten, ergaben, dass NAA-modifizierte ON nur im Fall von T-G-Fehlpaarungen eine geringfügig höhere Mismatcherkennung aufweisen als unmodifizierte ON. Folglich werden die Geometrie und die inhärente Flexibilität von Nucleinsäuren nicht wesentlich gestört. Die Bestimmung von  $\Delta T_m$ -Werten bei erhöhten Ionenstärken ergab nur geringfügige Unterschiede zwischen NAA-modifizierten und unmodifizierten Duplices bei einer NaCl-Konzentration von 0.5 M. Etwas größere Unterschiede wurden bei einer NaCl-Konzentration von 1.0 M beobachtet. Demnach nahm die Stabilität unmodifizierter Duplices zu höheren NaCl-Konzentrationen hin um ca. 1.5 bis 3.0  $^{\circ}\text{C}$  stärker zu als bei NAA-modifizierten Duplices. Dieser geringfügige Effekt kann auf den Einfluss der positiven Ladung der NAA-Modifikationen zurückgeführt werden. Der Vergleich von CD-Spektren NAA-modifizierter Duplices mit denjenigen unmodifizierter Duplices deutete ebenfalls auf keine signifikanten Veränderungen der typischen Geometrie von Nucleinsäure-Duplices hin. NAA-modifizierte DNA/DNA-Duplices und die entsprechenden unmodifizierten Duplices ergaben stets Spektren, die im Wesentlichen das typische B-Helix-Muster wiedergaben. Dagegen kann die Gestalt der CD-Spektren von NAA-modifizierten DNA/RNA-Duplices als Hinweis auf eine Zwischenform der A- und B-Helix aufgefasst werden. Insgesamt deuten die beschriebenen Befunde der Analyse der NAA-Modifikation darauf hin, dass die Auswirkungen dieser Derivatisierung der Nucleinsäurestruktur auf deren chemische Eigenschaften als eher geringfügig einzustufen sind. Die beobachteten Effekte sind vornehmlich auf schwache geometrische Verzerrungen der Duplexstruktur durch die NAA-Modifikation zurückzuführen. Dabei sind NAA-Modifikationen in höherem Maße mit DNA/DNA-Duplices kompatibel als mit DNA/RNA-Duplices. Die Ladungskompensation durch die kationischen NAA-Einheiten hat offenbar keinen dominanten Einfluss auf die Eigenschaften der Nucleinsäure-Duplices. Diese Befunde bestätigen nicht die Hypothese von *Benner*, derzufolge die polyanionische Beschaffenheit für deren physikochemische Eigenschaften (Watson-Crick-Hybridisierung, Sequenz-Unabhängigkeit der physikalischen Eigenschaften, Eignung zur Funktion als Templat) notwendig ist.<sup>[23]</sup>

## 6 Ausblick

Die nächste unmittelbar bevorstehende Aufgabe ist die Synthese der Phosphoramidit-Bausteine **87-89** aus den bereits in der Arbeit beschriebenen Vorstufen **150-152**. Diese Phosphoramidit-Reagenzien sollen die Synthese weiterer NAA-modifizierter ON mit NAA-Modifikationen an anderen Positionen als zwischen zwei Thymidin-Einheiten ermöglichen. Die Untersuchung solcher ON kann zu einem umfassenden Verständnis der Auswirkung von NAA-Modifikationen auf Nucleinsäure-Eigenschaften führen. Um eine Vergleichbarkeit mit bisher untersuchten Duplices zu gewährleisten, können NAA-modifizierte ON von ähnlichem Muster hergestellt werden. Eine Möglichkeit besteht in der Herstellung von Sequenzen des Typs **ON 25**, die anstelle der acht Thymidin-Einheiten vier aufeinander folgende AT-Dimere aufweisen (Abb. 6.1). Als ein weiterer Typ von ON wäre die biologisch relevante gemischte Sequenz **ON 26** von Interesse, die zur micro-RNA 106b komplementär ist. MiR 106b wird in vielen Typen von Tumorzellen überexprimiert und mit der Proliferation maligner Zellen in Verbindung gebracht.<sup>[186]</sup>

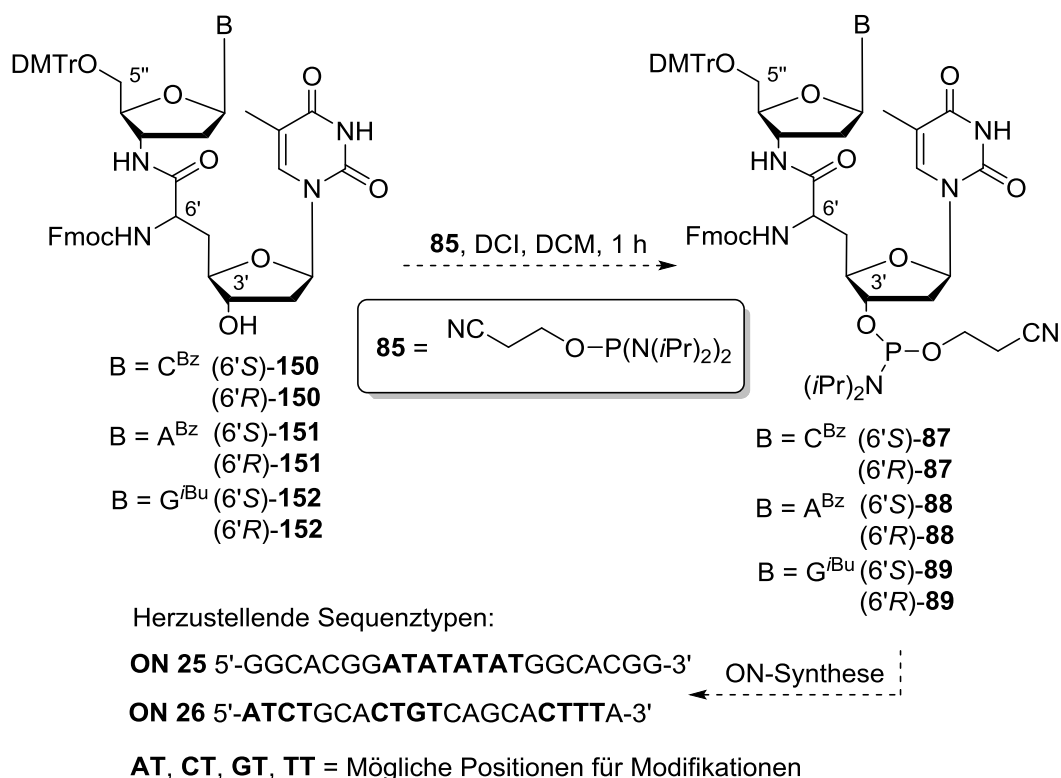
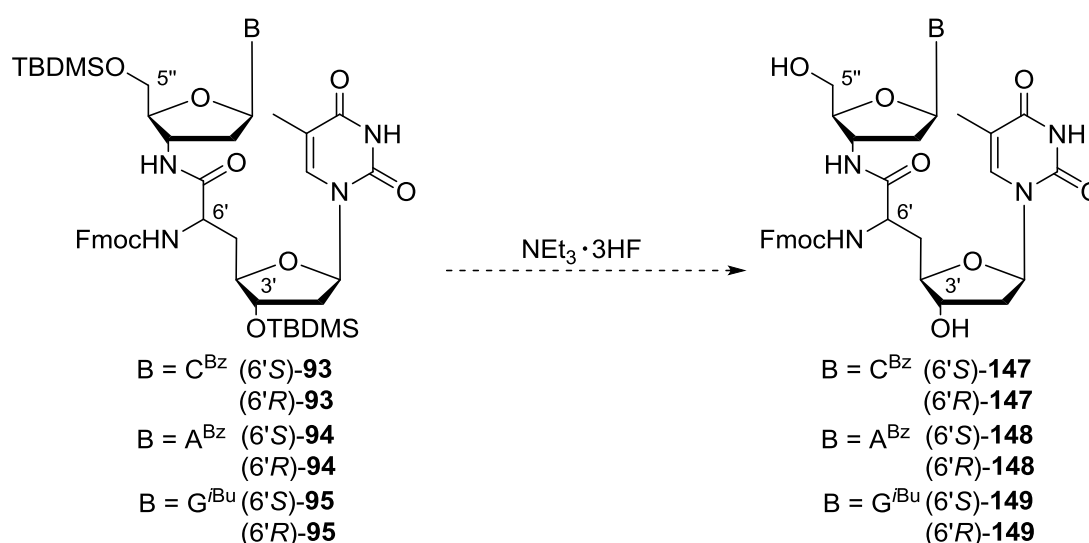


Abb. 6.1: Geplante Synthese weiterer Phosphoramidit-Reagenzien **87-89** und **ON 25** und **26**.



Daher könnten NAA-modifizierte **ON 26** auch über die biophysikalischen Untersuchungen hinaus auf ihre biologische Wirksamkeit hin getestet werden. Mit den Bausteinen **87-89** wären zahlreiche Substitutionsmuster innerhalb der **ON 26** möglich. Auf diese Weise könnten bei nachgewiesener biologischer Wirksamkeit NAA-modifizierter ON Optimierungstudien durchgeführt werden. Weitere biophysikalische Untersuchungen, die an NAA-modifizierten ON durchgeführt werden könnten, wären Denaturierungsexperimente bei niedrigeren NaCl-Konzentrationen als der Standard-Konzentration von 0.15 M. Dies wäre von Interesse, da bei einigen DNA- oder RNA-Duplices zwitterionischer oder polykationischer ON bei geringerer Ionenstärke höhere Stabilitäten beobachtet wurden als bei unmodifizierten Nucleinsäure-Doppelsträngen.<sup>[112]</sup> Die Synthese der Vorstufen **150-152** der Bausteine **87-89** ist hinsichtlich eines Reaktionsschritts verbesserungswürdig. Die Ausbeuten der zweifachen Silylspaltung von **93-95** waren in den meisten Fällen nicht zufriedenstellend. Möglicherweise lohnt es sich, die Spaltung unter den Bedingungen der RNA-Entschützung (reines  $\text{NEt}_3 \cdot 3\text{HF}$ ) auszuprobieren (Abb. 6.2).<sup>[175]</sup> Die Schwierigkeit für ausgedehnte Optimierungstudien dieser Reaktion stellt das nur unter hohem Aufwand verfügbare Ausgangsmaterial **93-95** dar.



**Abb. 6.2:** Alternative Methode zur Herstellung der Verbindungen **147-149**.

Über die in dieser Arbeit untersuchte Fragestellung (Auswirkung des gemischten Ladungsmusters auf die Eigenschaften von Nucleinsäuren) hinaus können NAA-Modifikationen auch in einem eher anwendungsorientierten Kontext Verwendung finden. Nach der Synthese von NAA-modifizierten ON besteht die Möglichkeit, die primäre Aminogruppe noch vor der Abspaltung der ON vom Träger selektiv zu entschützen (z. B. mit DBU in DMF) und nachfolgend zu derivatisieren. Diese

Methode kann für die postsynthetische Einführung von Fluorophoren am Rückgrat von ON eingesetzt werden (Abb. 6.3). Eine Möglichkeit besteht darin, über eine reduktive Aminierung mit 4-Pentinal eine Alkynyl-Funktionalität einzuführen, die in einem weiteren Reaktionsschritt durch eine Kupfer(I)-katalysierte Huisgen-Cycloaddition<sup>[187]</sup> (CuAAC, Click-Reaktion) mit einem fluoreszierenden Azid derivatisiert werden kann.

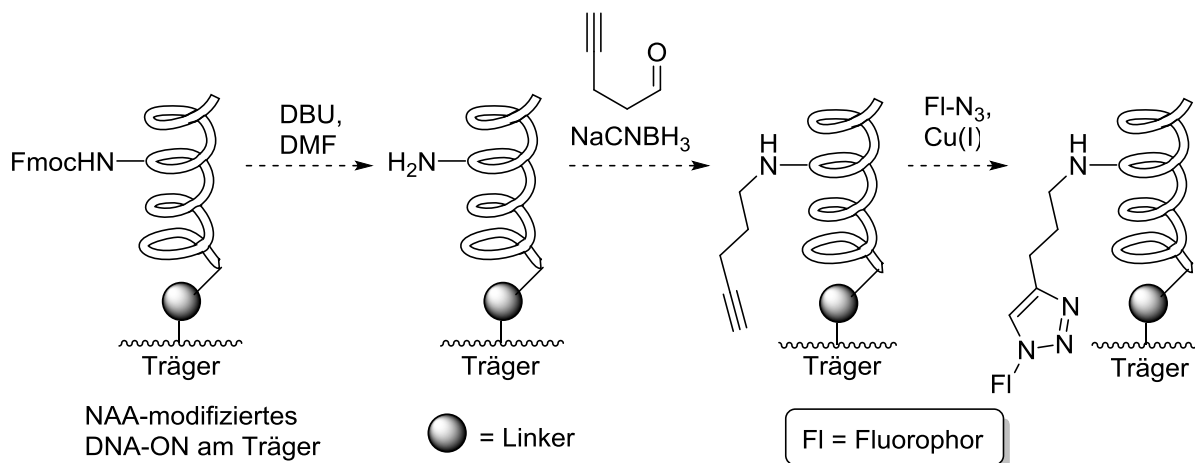


Abb. 6.3: Geplante dreistufige postsynthetische Fluoreszenzmarkierung von DNA.

Für die im Rahmen des thematisch verwandten Projekts hergestellten NAA-Bausteine **104** ist die Verwendung zur Synthese oligokationischer Nucleinsäure-Analoga (oligoNAA) durch Festphasen-gestützte Oligopeptidsynthese vorgesehen (Abb. 6.4).

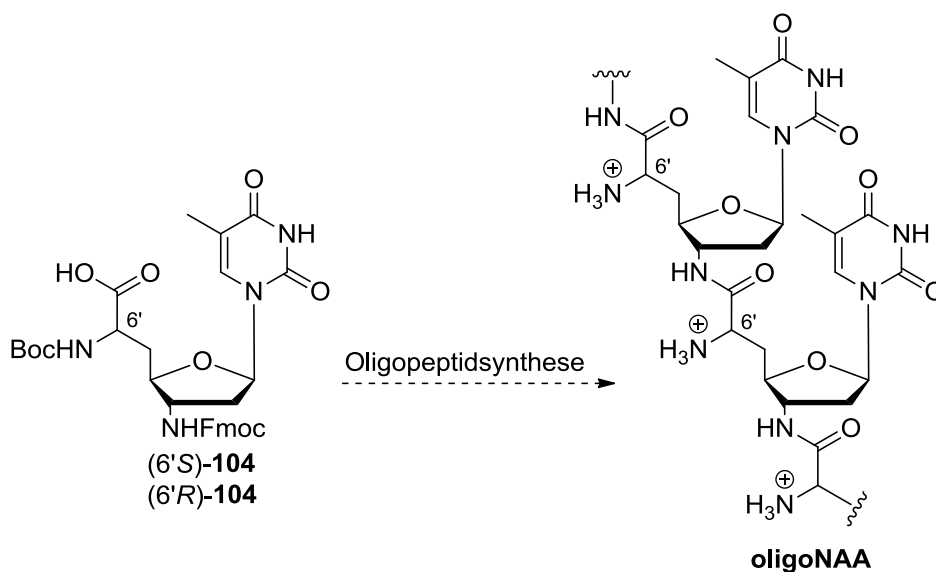
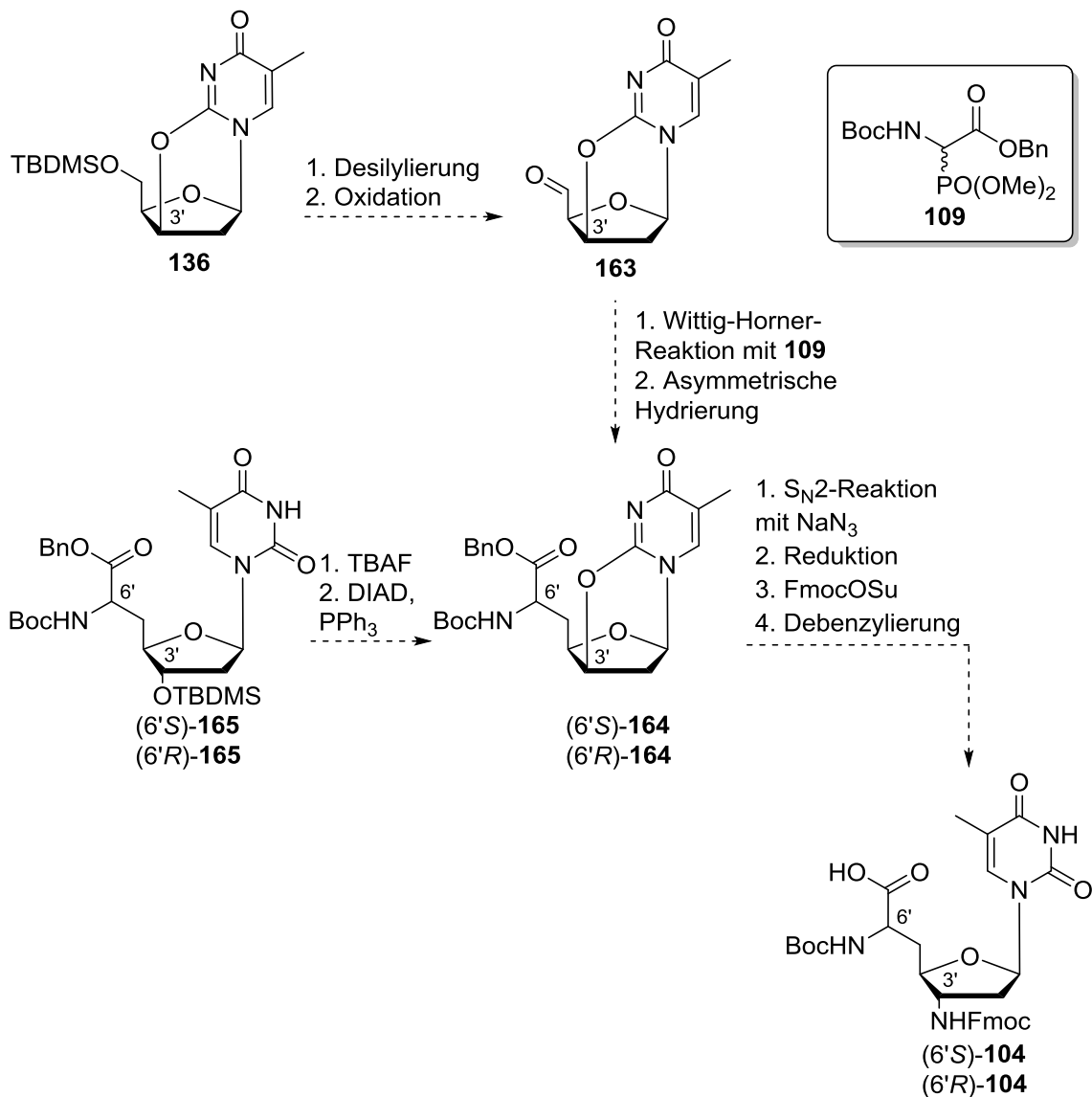


Abb. 6.4: Geplante Synthese der polykationischen oligoNAA.

Dabei sollen zunächst nur 14mere oder 16mere oligo-T-Sequenzen synthetisiert werden, da bisher nur Bausteine mit Thymin als Nucleobase synthetisch zugänglich sind. Die Oligomere sollen anhand der üblichen Methoden ( $T_m$ -Experimente, CD-Spektroskopie) auf ihre biophysikalischen Eigenschaften hin untersucht werden. Im Gegensatz zur Synthese der NAA-Bausteine **75**, **150-152** für den Aufbau zwitterionischer ON, die bis auf eine problematische Reaktion (Abb. 5.2) zuverlässig und in guten Ausbeuten verläuft, bedarf die Synthese der NAA-Bausteine **104** für den Aufbau oligokationischer Nucleinsäure-Analoga einer umfangreicheren Optimierung. Sowohl die *Wittig-Horner*-Reaktion zu den 5',6'-Didehydro-TAA **111** und **113** als auch die nachfolgenden asymmetrischen Hydrierungen gingen mit nur mäßig hoher Diastereoselektivität und verbesserungswürdigen Ausbeuten einher (Abb. 5.6). Die mäßig hohe Diastereoselektivität der asymmetrischen Hydrierungen von (*Z*)-**113** hatte zur Folge, dass die NAA (6'*S*)- und (6'*R*)-**117** nur durch sehr aufwendige chromatographische Reinigung (chirale HPLC) diastereomerenrein erhalten werden konnten. Bei der *Wittig-Horner*-Reaktion zu (*Z*)-**111** oder (*Z*)-**113** könnten verschiedene Basen anstelle von KO $t$ Bu oder alternative Lösungsmittel anstelle von THF eingesetzt werden. Eine Verbesserung der Ergebnisse der asymmetrischen Hydrierung könnte durch den Einsatz anderer Katalysatoren als (*S,S*)- oder (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh resultieren. Weitere Möglichkeiten zur Realisierung einer diastereoselektiven Synthese der Verbindungen (6'*S*)- und (6'*R*)-**104** bieten alternative Synthesestrategien (Abb. 6.5). So kann der Versuch unternommen werden, die *Wittig-Horner*-Reaktion und die asymmetrische Hydrierung ausgehend von dem tricyclischen Aldehyd **163** durchzuführen, welcher aus der bekannten Verbindung **136** leicht hergestellt werden kann. Danach wäre die Einführung der Azidfunktionalität in 3'-Position von (6'*S*)- bzw. (6'*R*)-**164** und deren Reduktion zu einer Aminogruppe möglich. Auch eine Transformation der NAA **165** in die Verbindungen (6'*S*)- und (6'*R*)-**104** über die cyclisierten NAA-Derivate **164** ist denkbar. Die NAA **83** (Abb. 5.3), an deren 3'-Position sich ebenfalls eine OTBDMS-Gruppe befindet, gingen ja stets in hoher Diastereoselektivität aus der Synthese hervor. Daher wäre die Erwartung, dass die auf ähnlichem Wege erhältlichen NAA **165** in vergleichbar hoher Diastereoselektivität dargestellt werden können, durchaus naheliegend.

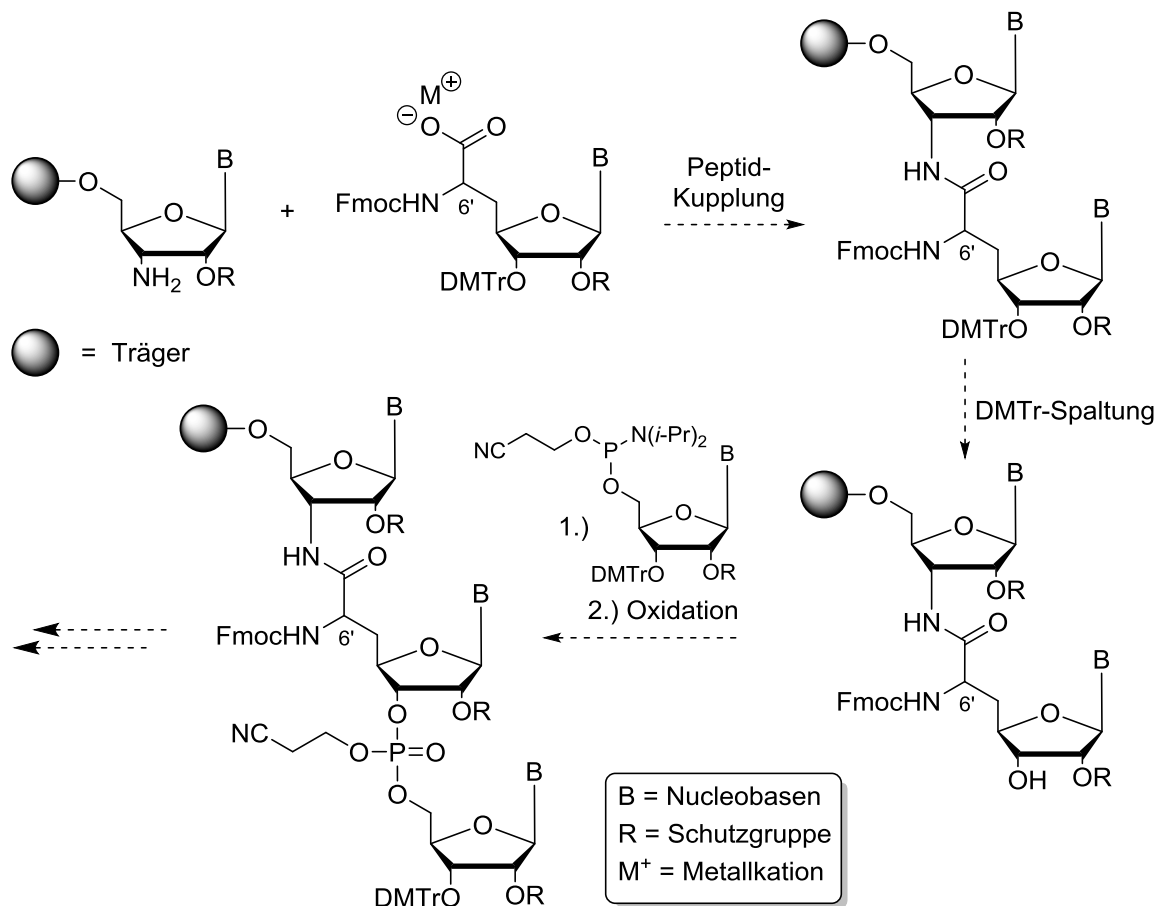


**Abb. 6.5:** Alternative Syntheserouten zu den Verbindungen (6'S)- und (6'R)-**104**.

Unter Verwendung der Bausteine **104** ist nur die Synthese von oligo-T-Sequenzen möglich. Ein prinzipielles Fernziel ist aber auch die Synthese von oligokationischen gemischten Sequenzen. Dazu wäre der synthetische Zugang zu analogen Bausteinen zu den Verbindungen **104** mit anderen Nucleobasen anstelle von Thymin notwendig. Auch zu diesem Zweck könnten die in Abb. 6.5 angeführten Syntheserouten nützlich sein, da bisherige Versuche zur Synthese von NAA mit anderen Nucleobasen als Thymin oder Uracil erfolglos verlaufen sind.<sup>[126-127]</sup>

Die bisherigen Ausführungen beschränken sich auf die Einführung von NAA-Modifikationen in DNA-Sequenzen. Es ist jedoch naheliegend, dieses Konzept auch zur Modifikation von RNA zu verwenden. Dies könnte insbesondere für die Synthese modifizierter doppelsträngiger (small interfering)siRNA von Interesse sein, da auf

diese Weise Wirkstoffe entwickelt werden könnten, die für eine effektive Inhibierung der Translation pathogener Proteine durch RISC-vermittelte Spaltung entsprechender mRNA-Moleküle verwendbar wären (sog. RNA-Interferenz). Für die Synthese von NAA-modifizierten RNA-Sequenzen könnte eine Monomer-basierte Strategie eingesetzt werden. Für diese Vorgehensweise ist die inverse Synthese der RNA-Stränge (5'-3' anstelle von 3'-5') vorgesehen, da die Einführung der NAA-Modifikation an verschiedenen Positionen der jeweiligen Sequenzen am Synthesizer erfolgen soll. Die Einführung der NAA-Modifikation könnte durch Reaktion eines Überschusses einer aktivierten NAA mit einem 3'-terminalen 3'-Aminonucleotid erfolgen. Die beschriebene Strategie ist exemplarisch in Abb. 6.6 veranschulicht.



**Abb. 6.6:** Monomer-basierte Strategie zur Synthese NAA-modifizierter RNA.

Sollten die erhaltenen partiell zwitterionischen RNAs in der Lage sein, RNA-Interferenz zu bewirken, so könnte die reduzierte negative Gesamtladung der modifizierten siRNAs zu einer verbesserten Zellaufnahme und erhöhten Stabilität dieser Agentien beitragen.

## 7 Experimentalteil

### 7.1 Allgemeines

#### 7.1.1 Präparative Methoden

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders vermerkt, in mehrfach ausgeheizten Glasapparaturen unter Verwendung der Schlenktechnik durchgeführt. Als Inertgas diente über Phosphorpentoxid getrocknetes Argon. Zur Reaktionsführung bei tiefen Temperaturen wurden geeignete Kältemischungen (NaCl in Eis/Wasser, Trockeneis/Aceton, Trockeneis/Isopropanol, Aceton/flüssiger Stickstoff) oder ein Kryostat verwendet.

Die Oligonucleotidsynthesen wurden im Arbeitskreis Höbartner am Max-Planck-Institut (MPI) für Biophysikalische Chemie Göttingen und im Arbeitskreis Diederichsen am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen durchgeführt. Es wurde der Synthesizer Gene Assembler Plus von der Firma *Pharmacia LKB* bzw. der Synthesizer H-8 von der Firma *K & A* verwendet.

#### 7.1.2 Edukte und Reagenzien

Die verwendeten Reagenzien und Edukte wurden, sofern nicht anders angegeben, von den Firmen *ABCR*, *Acros Organics*, *Alfa Aesar*, *Fluka*, *Bachem AG*, *GL Biochem*, *Merck*, *Roth*, *Sigma Aldrich*, *Sigma Proligo* und *VWR* in Synthesequalität bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Nucleoside wurden von der Firma *ChemGenes* bezogen. Die zur Oligonucleotidsynthese verwendete Polystyrolmatrix wurde von der Firma *GE Healthcare* bezogen. Das alternativ verwendete CPG wurde von der Firma *Biosearch Technologies* bezogen. Rhodium-haltige Katalysatoren mit chiralen Liganden wurden von der Firma *Strem* bezogen.

*Triethylamin (NEt<sub>3</sub>):* NE<sub>3</sub> (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) wurde entgast und über Molekularsieb (4 Å) aufbewahrt.

*Unmodifizierte Oligonucleotide:* wurden von der Firma *Sigma-Aldrich* bezogen.

### 7.1.3 Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung für Reaktionen ohne Inertgasbedingungen und Chromatographie wie folgt gereinigt:

<i>Dichlormethan:</i>	destilliert.
<i>Diethylether:</i>	über Kaliumhydroxid getrocknet und destilliert.
<i>Ethylacetat:</i>	destilliert.
<i>Petrolether 35/70 (PE):</i>	destilliert.

Andere Lösungsmittel wurden mit dem Reinheitsgrad „zur Analyse“ bezogen und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Für sämtliche Analysen (HPLC, UV-Messung) der Oligonucleotide wurde Wasser von sehr hoher Reinheit verwendet (18 M $\Omega$ /cm).

### 7.1.4 Absolute Lösungsmittel

Für Reaktionen unter Inertatmosphäre wurden absolute Lösungsmittel verwendet. Hierfür wurden die bezogenen Lösungsmittel durch die folgenden Verfahren (Reinheitsgrad: „zur Analyse“ oder „technische Qualität“) gereinigt:

<i>Acetonitril:</i>	mehrere Tage in einer Argonatmosphäre über Phosphorpentoxid unter Rückfluss getrocknet, destilliert und über Molsieb (3 Å) aufbewahrt.
<i>Chloroform:</i>	über Molsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.
<i>Dichlormethan:</i>	in einer Argonatmosphäre unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und über Molsieb (4 Å) aufbewahrt.
<i>N,N-Dimethylformamid:</i>	über Molsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.
<i>Methanol:</i>	entgast, über Molsieb (4 Å) getrocknet und aufbewahrt.
<i>Pyridin:</i>	in einer Argonatmosphäre unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, destilliert und über Molsieb (4 Å) aufbewahrt.

- Tetrahydrofuran:* in einer Argonatmosphäre unter Rückfluss über Natrium mit Benzophenon als Indikator getrocknet, destilliert und über Molsieb (4 Å) aufbewahrt.
- Toluol:* in einer Argonatmosphäre unter Rückfluss über Natrium mit Benzophenon als Indikator getrocknet, destilliert und über Molsieb (4 Å) aufbewahrt.

### 7.1.5 Chromatographie

#### *Dünnschichtchromatographie*

Zur Detektion und Reaktionskontrolle wurden Kieselgel-beschichtete Aluminiumplatten 60 F<sub>254</sub> mit Fluoreszenzindikator der Firma VWR verwendet. Die Laufstrecke betrug ungefähr 3 cm. UV-aktive Substanzen wurden unter Verwendung einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm detektiert. Des Weiteren wurden eine Vanillin-Schwefelsäure-Lösung (4 g Vanillin, 25 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 80 mL AcOH, 680 mL MeOH) und eine Ninhydrin-Lösung (100 mL Butanol, 3 mL AcOH, 0.3 g Ninhydrin) und Kaliumpermanganat-Lösung (2 g Kaliumpermanganat, 3 mL 5 %ige Natriumhydroxidlösung, 12 g Natriumcarbonat, 200 mL Wasser) als Anfärbereagenzien zur Detektion verwendet. Die *R<sub>f</sub>*-Werte wurden bei Kammersättigung bestimmt.

#### *Säulenchromatographie*

Für chromatographische Trennungen wurde von der Firma VWR bezogenes Kieselgel (Korngröße 40-63 µm) verwendet.

#### *Reverse Phase (RP)-Säulenchromatographie*

Für Trennungen von Substanzgemischen durch RP-Säulenchromatographie wurde RP-Kieselgel 90 C<sub>18</sub> (0.040-0.063 nm, Fluka) verwendet.



## 7.1.6 Instrumentelle Analytik

### 7.1.6.1 Polarimetrie

Drehwertmessungen wurden an einem Polarimeter (Modell 241) der Firma *Perkin-Elmer* durchgeführt. Als Lösungsmittel wurden Chloroform (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) oder Pyridin (Reinheitsgrad: „zur Analyse“) verwendet, wobei jeweils ungefähr 10 mg der zu analysierenden Substanz in genau 1 mL Lösungsmittel gelöst wurden. Die Konzentration ist in g/100 mL angegeben. Alle Drehwerte wurden bei 20 °C mit einer Natriumdampflampe (D-Linie  $\lambda \approx 589$  nm) gemessen.

### 7.1.6.2 IR-Spektroskopie

IR-Spektren wurden an einem IR-Spektrometer Modell Vector 22 der Firma *Bruker*, einem FT-IR-Spektrometer 4100 der Firma *Jasco* mit einer integrierten GladiATR<sup>®</sup> ATR (Attenuated Transmission Reflection)-Einheit der Firma *PIKE Technologies* oder einem IR-Spektrometer Vertex 70 der Firma *Bruker* mit einer Platinum ATR-Einheit aufgenommen. Je nach verwendetem Spektrometer wurden flüssige Substanzen als Film zwischen zwei NaCl-Platten und Feststoffe als KBr-Presslinge oder direkt an der ATR-Einheit gemessen. Angegeben sind jeweils die zugehörigen Wellenzahlen  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] zu den neun Banden mit den stärksten Absorptionsintensitäten. Die Kalibrierung der FTIR-Spektren erfolgte über die Polystyrolbande bei 1601 cm<sup>-1</sup>.

### 7.1.6.3 UV-Spektroskopie

UV-Spektren von Oligonucleotidlösungen wurden an dem Gerät Cary 100 Bio der Firma *Varian* aufgenommen. Für die Aufnahme von UV-Spektren von ON wurde ein Wellenlängenbereich  $\Delta\lambda$  von 320 bis 190 nm gewählt. Die ON-Konzentration lag bei ca. 2.0  $\mu$ M. Für andere Substanzen wurden UV-Spektren mit einem UV-Spektrometer (Modell: Lambda 2) der Firma *Perkin-Elmer* aufgenommen. Bei den Messungen wurden ungefähr 0.1 mg der zu analysierenden Substanz in 10 mL Acetonitril (Reinheitsgrad: „für UV-Spektroskopie“) gelöst. Alle UV-Messungen erfolgten in einem Wellenlängenbereich  $\Delta\lambda$  von 500 bis 190 nm. Angegeben sind die

Wellenlängen der Absorptionsmaxima  $\lambda_{\max}$  in nm mit den dazugehörigen molaren Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  [L/(mol·cm)]. Für eine bessere Übersichtlichkeit sind die Werte von  $\epsilon$  als dekadische Logarithmen  $\lg \epsilon$  angegeben.

#### 7.1.6.4 Aufnahme der Duplex-Schmelzkurven

Schmelzkurven wurden am MPI für Biophysikalische Chemie an dem Gerät Cary 100 Bio von der Firma *Varian* aufgenommen. Die Aufheizgeschwindigkeit der Proben betrug 0.7 °C/min. Es wurden für jede Probe jeweils fünf Schmelzkurven (3 Aufwärm- und 2 Abkühlkurven) bei den Wellenlängen  $\lambda = 250, 260, 270, 280$  nm aufgezeichnet. Die Werte der zwei Abkühlkurven wurden zur Schmelzpunktbestimmung herangezogen. Die Messungen erfolgten in einer auf pH = 7 gepufferten, wässrigen, mit Paraffinöl überschichteten (ca. 3-5 mm) Lösung (10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1:1, 150 mM NaCl). Die Oligonucleotid-Konzentration der Proben betrug 2.0  $\mu$ M. Das Probenvolumen betrug 450  $\mu$ L.

#### 7.1.6.5 Circular dichroismus-(CD)-Messung

Die Aufnahme der CD-Spektren erfolgte an dem Gerät Chirascan von der Firma *Applied Photophysics* am MPI für Biophysikalische Chemie Göttingen. Für die Aufnahme der Spektren wurde der Wellenlängenbereich von 200 bis 320 nm gewählt. Die Zusammensetzung der Proben entsprach derjenigen, die für die Bestimmung der Schmelzpunkte beschrieben ist. Die Messungen erfolgten bei einer Temperatur von 25 °C. Die Datenpunkte wurden in einem Abstand von 0.5 nm aufgenommen. Der Zeitliche Abstand zwischen zwei Messungen betrug 2 s. Für jede Probe wurden drei CD-Spektren aufgenommen und die Ordinatenwerte gemittelt. Bei allen Spektren wurde eine Hintergrundkorrektur durchgeführt.

#### 7.1.6.6 Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen an den Geräten Mercury-300 (<sup>1</sup>H-NMR: 300 MHz, <sup>13</sup>C-NMR: 75 MHz, <sup>31</sup>P-NMR: 121 MHz), Unity-300

( $^1\text{H}$ -NMR: 300 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR: 76 MHz), Inova-500 ( $^1\text{H}$ -NMR: 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR: 126 MHz) und Inova-600 ( $^1\text{H}$ -NMR: 600 MHz) der Firma *Varian* aufgenommen. Weitere NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Departments Chemie der Universität Paderborn an den Geräten Avance-500 ( $^1\text{H}$ -NMR: 500 MHz,  $^{13}\text{C}$ -NMR: 126 MHz) und Avance-300 ( $^{13}\text{C}$ -NMR: 76 MHz,  $^{31}\text{P}$ -NMR: 121 MHz) der Firma *Bruker* aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in Einheiten der  $\delta$ -Skala in ppm angegeben. Als interner Standard diente das jeweilige Lösungsmittel. Die Signale der  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren wurden gegen einen externen Standard von 85%iger Phosphorsäure kalibriert. Zusätzlich zu den eindimensionalen Spektren wurden stets Korrelationsspektren aufgenommen (HSQC;  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY). In vielen Fällen war zusätzlich die Aufnahme von TOCSY-Spektren erforderlich, um eine möglichst sichere Zuordnung von Signalen unterschiedlicher Spinsysteme angeben zu können. Die Multiplizitäten der Signale wurden wie folgt gekennzeichnet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet). Mehrfach aufgespaltene Signale wurden durch Kombinationen der Bezeichnungen gekennzeichnet (z. B. dd = Dublett vom Dublett, dt = Dublett vom Triplet). Die skalaren Kopplungskonstanten  $J$  sind in Hz angegeben. Die genaue Bezeichnung der koppelnden Kerne erfolgte nur, wenn es sich nicht um eine  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Kopplung handelte. Diastereotope Protonen wurden mit den tiefgestellten Indices „a“ (hochfeldverschobenes Proton) und „b“ (tieffeldverschobenes Proton) gekennzeichnet, sofern die Signale anhand der chemischen Verschiebung unterscheidbar waren. Gleiches gilt für diastereotope Kohlenstoffatome.

#### 7.1.6.7 Massenspektrometrie

##### *Oligonucleotide*

Die Massenspektren der Oligonucleotide wurden in der Abteilung für Massenspektrometrie am MPI Göttingen an dem Gerät LTQ XL (linear ion trap) von *Thermo Fisher* im negativen Modus aufgenommen. Als Ionisierungstechnik wurde die Electrospray-Ionisation verwendet. Für die Messungen wurden wässrige 25  $\mu\text{M}$  Oligonucleotid-Lösungen mit 30% MeCN und 5% Triethylamin hergestellt.

##### *Kleine Moleküle*

Die Massenspektren wurden in der Abteilung für Zentrale Analytik und Massenspektrometrie des Instituts für Organische und Biomolekulare Chemie der

Georg-August-Universität Göttingen und der Abteilung für Massenspektrometrie des Departments Chemie der Universität Paderborn aufgenommen. Als Ionisierungstechnik wurde nur die Electrospray-Ionisation (ESI) verwendet. Zur Aufnahme der Spektren wurden ein Ion-Trap-Massenspektrometer (Modell: LCQ) der Firma *Finnigan*, ein time of flight (TOF)-Massenspektrometer (Modell: microTOF) der Firma *Bruker* oder ein Quadrupol-Flugzeit-Massenspektrometer „*synapt 2G*“ der Firma *Waters* verwendet. Für ESI<sup>-</sup>-Messungen wurden die Substanzen in MeOH gelöst, während ESI<sup>+</sup>-Messungen in MeOH mit 0.1% Ameisensäure durchgeführt wurden. Hochauflösende Spektren wurden an einem 7 Tesla Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance (FTICR)-Massenspektrometer APEX IV der Firma *Bruker* aufgenommen. Das Verhältnis von Masse *m* durch Ladung *z* (*m/z*) ist jeweils in der Einheit Th [Th = *u/e*] angegeben, wobei gilt  $z = z' e$  mit der Elementarladung *e* und deren Anzahl *z'*.

#### **7.1.6.8 Analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (analytische HPLC)**

##### *HPLC an chiralen stationären Phasen*

Die Trennung der Epimere (6'*S*)-**117** und (6'*R*)-**117** im analytischen Maßstab wurde am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen in der Abteilung Tietze durchgeführt. Es wurde eine HPLC-Anlage der Firma *JASCO* bestehend aus einer Pumpe (pu 2080 Plus), einem Autosampler mit Injektionsnadel (AS 2055 Plus) und einem Multiwavelength-Detektor (MD 2010 Plus) verwendet. Als stationäre Phase diente eine IB Chiralpak-Säule (27.5 x 0.8 cm) der Firma *Diacel Chemical Industries, LTD*. Die Durchflussrate betrug 0.8 mL/min. Als flüssige Phase wurde ein 7:3-Gemisch aus *n*-Hexan und Ethylacetat (HPLC-Qualität) verwendet. Für einen Trenngang wurden 10 µL einer 5.4 mM (4 mg/mL)-Lösung des jeweiligen Diastereomerenmischs injiziert.

##### *Nicht-palindrome Oligonucleotid (ON)-Sequenzen*

Die Reinheitsanalyse der nicht-palindromen Oligonucleotide durch HPLC erfolgte an der Anlage Äktapurifier der Firma *GE*, bestehend aus einer HPLC-Pumpe (Modell: P580, Firma: *Dionex*), einem Fraktionssammler (Modell: ASI-100, Firma: *Dionex*), einer Heizvorrichtung für die Säule und einem UV-Detektor (Modell: UV170U, Firma:

*Dionex*) mit vier Wellenlängenkanälen. Als stationäre Phase diente eine Anionen-Austauscher-Säule (Modell: DNAPac PA100, 4 x 250 mm, Firma: *Dionex*). Die Durchflussrate betrug 1 mL/min und die eingestellte Temperatur 80 °C. Als mobile Phase diente ein Gradient (0-60% im Verlauf von 45 min.) von Eluent B (25 mM TRIS-HCl, 0,5 M NaClO<sub>4</sub>, 6 M Harnstoff, pH = 8) in Eluent A (25 mM TRIS-HCl, 6 M Harnstoff, pH = 8). Die Detektion erfolgte bei einer Wellenlänge von 260 nm. Die Retentionszeiten  $t_R$  [min] sind ohne eine Bereinigung der Totzeit angegeben.

#### *Palindrome ON-Sequenzen*

Die Reinheitsanalyse von palindromen Oligonucleotiden erfolgte an dem Gerät Hitachi LaChrom Elite von *VWR*, bestehend aus einem Organizer, einer Pumpe (Modell L-2130), einer Heizvorrichtung für die Chromatographiesäule (Modell L-2300), einem Autosampler (Modell: L-2200) und einem Diode Array Detector (Modell: L-2455) oder einem Fluorescence Detector (Modell: L-2485). Als stationäre Phase diente eine RP-Chromatographiesäule des Typs LiChroCART<sup>®</sup> Purospher<sup>®</sup> RP18e (5 µm, 125 x 4 mm von *Merck*) mit der entsprechenden Vorsäule (5 µm, 4 x 4 mm), die ebenfalls von *VWR* bezogen wurde. Die Durchflussrate betrug 1 mL/min. Als flüssige Phase wurde der folgend angeführte Gradient von Eluent A (Acetonitril) in Eluent B (10 mM NEt<sub>3</sub>/AcOH in bidestilliertem Wasser) eingesetzt:

t [min]	0	30	30.1
A [%]	3.5	20	100

Die Chromatogramme wurden durch Messung der UV-Absorption bei  $\lambda = 260$  nm aufgenommen. Die Retentionszeiten  $t_R$  [min] sind ohne eine Bereinigung der Totzeit angegeben.

#### **7.1.6.9 Semipräparative chirale Hochleistungsflüssigkeitschromatographie**

Die Trennung der Epimere (6'S)-**117** und (6'R)-**117** im semipräparativen Maßstab wurde am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen in der Abteilung Tietze durchgeführt. Es wurde eine HPLC-Anlage der Firma *JASCO* bestehend aus einer Pumpe (pu-2087 Plus), einem Injektionsventil und einem Multiwavelength-Detektor (MD 2010 Plus) verwendet. Als

stationäre Phase diente eine IB Chiralpak-Säule (28 x 1.5 cm) der Firma *Diacel Chemical Industries, LTD*. Die Durchflussrate betrug 5 mL/min. Als flüssige Phase wurde ein 73:27-Gemisch aus *n*-Hexan und Ethylacetat (HPLC-Qualität) verwendet. Für eine Trennung wurden 0.10 mL einer 1.35 M (100 mg/mL)-Lösung des jeweiligen Diastereomeregemischs injiziert.

#### **7.1.6.10 Schmelzpunktbestimmung**

Schmelzpunkte organischer Verbindungen wurden unter Verwendung der Schmelzpunktbestimmungsapparatur Melting Point B-545 der Firma *Büchi* gemessen.

### **7.1.7 Allgemeine Arbeitsvorschriften**

#### **7.1.7.1 Peptidkupplungen (AAV 1)**

Eine Lösung der jeweiligen TAA in Dichlormethan ( $c = 0.01$  mmol/mL) wurde mit 1-Hydroxybenzotriazol (1.1 Äq.) und *N*-(Dimethylaminopropyl)-*N*-ethyl-carbodiimid Hydrochlorid (1.1 Äq.) versetzt und 15 min. bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die jeweilige Kupplungskomponente (3'-Aminonucleosid, 1.1 Äq.) dazugegeben und die Lösung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde in Ethylacetat (ca. 160 mL/mmol TAA) aufgenommen, mit ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (ca. 100 mL/mmol TAA), Wasser (ca. 70 mL/mmol TAA) und ges. wässriger  $\text{NaCl}$ -Lösung (ca. 70 mL/mmol TAA) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt, wobei je nach Produkt unterschiedliche Eluenten verwendet wurden.

#### **7.1.7.2 Einführung der 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl-Schutzgruppe (AAV 2)**

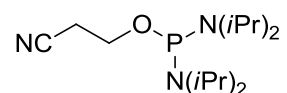
Das jeweilige Edukt wurde mit abs. Pyridin coevaporiert (3 x ca. 5 mL/mmol Edukt), in abs. Pyridin gelöst ( $c = 0.43$  mmol/mL) und mit *N,N*-Dimethylaminopyridin (10 mol%) und 4,4'-Dimethoxytriphenylmethylchlorid (1.2-1.5 Äq) versetzt. Die resultierende Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel

wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen (ca. 90 mL/mmol Edukt) und mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (ca. 50 mL/mmol Edukt), Wasser (ca. 50 mL/mmol Edukt) und ges. wässriger NaCl-Lösung (ca. 50 mL/mmol Edukt) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt, wobei je nach Produkt unterschiedliche Eluenten verwendet wurden, die ca. 1% Pyridin enthielten.

## 7.2 Synthesen

### 7.2.1 Synthese der Reagenzien

#### 7.2.1.1 Bis-(*N,N*-Diisopropylamino)-(2-cyanoethyl)-phosphit **85**<sup>[139]</sup>



#### **85**

Phosphortrichlorid (13.4 g, 8.55 mL, 0.10 mol) und Pyridin (7.85 mL) wurden bei -78 °C in abs. Diethylether (20 mL) gelöst. Die Lösung wurde über einen Zeitraum von 30 min. mit 3-Hydroxypropionitril (7.21 g, 6.80 mL, 0.10 mol) versetzt und für eine Stunde bei -78 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und weitere 16 h gerührt. Die resultierende Lösung wurde unter Argon durch eine Glasfritte filtriert. Der Filterkuchen wurde mit abs. Diethylether gewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und der ölige Rückstand in abs. Diethylether (100 mL) gelöst. Die Lösung wurde auf -40 °C gekühlt und über einen Zeitraum von 45 min mit Diisopropylamin (50 g, 70 mL, 0.50 mol) versetzt. Die Lösung wurde auf -10 °C gebracht und 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf Raumtemperatur gebracht und 16 h gerührt. Die resultierende Lösung wurde unter Argon über eine Glasfritte filtriert und im Vakuum eingeeengt. Das verbliebene Öl wurde über Calciumhydrid im Vakuum (0.3-0.7 mbar) destilliert (Übergangstemperatur 120-135 °C).

**Ausbeute:** 19.9 g (21.2 mL, 66 mmol, 66% bezogen auf PCl<sub>3</sub>) eines farblosen, hochviskosen Öls, das durch Aufbewahren bei -18 °C für mindestens 3 h zu einem weißen Feststoff kristallisierte.

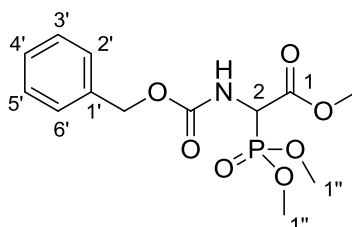
**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.13 (d, *J* = 6.8 Hz, 12 H, *i*PrCH<sub>3</sub>), 1.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 12 H, 4'-H), 2.58 (dt, *J* = 6.4 Hz, *J* = 0.9 Hz, 2 H, 1-H), 3.51 (dsept, *J* = 11.0 Hz, *J* = 6.8 Hz, 4 H, *i*PrCH), 3.73 (dt, *J* = 7.4 Hz, *J* = 6.4 Hz, 2 H, 2-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 20.50 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.9 Hz, CH<sub>2</sub>CN), 23.80 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 5.8 Hz, *i*PrCH<sub>3a</sub>), 24.50 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>CP</sub> = 8.1 Hz, *i*PrCH<sub>3b</sub>), 44.48 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 12.4 Hz, *i*PrCH), 59.20 (d, <sup>2</sup>*J*<sub>CP</sub> = 25.0 Hz, CH<sub>2</sub>O), 118.00 (CN).

**<sup>31</sup>P-NMR** (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 123.4.

### 7.2.1.2 *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethoxyphosphoryl)-glycinmethylester

**124**<sup>[140]</sup>



**124**

Zu einer auf 80 °C erwärmten Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-methoxyglycin **123** (12.5 g, 49.4 mmol) in abs. Toluol (50 mL) wurde Phosphor(III)-chlorid (4.84 mL, 7.55 g, 55 mmol) getropft und 4 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Trimethylphosphit (6.64 mL, 6.93 g, 56 mmol) versetzt, 2 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der flüssige orange Rückstand wurde in Ethylacetat (300 mL) aufgenommen und mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (3 x 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der resultierende viskose Rückstand wurde in *n*-Hexan (50 mL) aufgenommen und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde filtriert und der farblose Rückstand mit auf 0 °C gekühltem Hexan (3 x 10 mL) gewaschen. Der erhaltene weiße Feststoff wurde im Vakuum von Lösungsmittelresten befreit.

**Ausbeute:** 12.5 g (38.8 mmol, 76%) eines weißen Feststoffs.

**DC:** *R*<sub>f</sub> (DCM/MeOH 20:1) = 0.29.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 3.73 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 10.9 Hz, 3 H, 1''-H<sub>a</sub>) 3.77 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.78 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>HP</sub> = 10.3 Hz, 3 H, 1''-H<sub>b</sub>), 4.90 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>HP</sub> = 22.4 Hz, *J* = 8.8 Hz,



1 H, 2-H), 5.06 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.11 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 5.80 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1 H, NH), 7.23-7.34 (m, 5 H, ArH).

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 51.95$  (d,  $^1J_{CP} = 148.7$  Hz, C-2), 53.54 (d,  $^2J_{CP} = 6.8$  Hz, C<sub>a</sub>-1''), 53.98 (d,  $^2J_{CP} = 6.5$  Hz, C<sub>b</sub>-1''), 67.46 (BnCH<sub>2</sub>), 127.99 (C-4'), 128.17 (C-2', C-6'), 128.37 (C-3', C-5'), 135.75 (C-1'), 155.4 (d,  $^3J_{CP} = 7.8$  Hz, C(O)ONH), 167.6 (d,  $^2J_{CP} = 3.0$  Hz, C-1).

<sup>31</sup>P-NMR (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 18.38$ .

**Schmelzpunkt:** 66 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 1742, 1713, 1523, 1270, 1232, 1212, 1027, 784, 755$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 204 (2.88)$ .

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 354.1 [M+Na]^+$ .

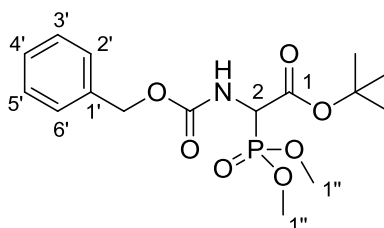
**C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub>P** (331.26)

ber.: 354.0719 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 354.0716 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.1.3 *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycin-tert-butylester

**79**<sup>[142-143]</sup>



### 79

Die erste Reaktion der zwei nachfolgend angeführten wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethoxyphosphoryl)-glycinmethylester **124** (8.59 g, 27.1 mmol) in Dioxan (6 mL) wurde auf 15 °C gebracht und allmählich mit wässriger NaOH-Lösung (14.1 mL, 2 M, 28.3 mmol) versetzt. Die erhaltene Reaktionslösung wurde 30 min. bei 15 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und bis zur Einstellung von pH = 2 mit auf 0 °C gekühlter 5 M Salzsäure versetzt. Die resultierende Lösung wurde mit 40 mL Wasser und 80 mL Essigester versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 x 40 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Eine Lösung des viskosen Rückstands in abs. DCM (80 mL) und abs. *tert*-Butanol (310 mL) wurde mit frisch aktiviertem Molekularsieb (3 Å) versetzt und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Reaktionslösung wurde *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin (8.00 g, 32.2 mmol) gegeben und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde anschließend durch Celite filtriert, die Celite mit Ethylacetat (4 x 150 mL) nachgereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat (400 mL) aufgenommen, auf 0 °C gekühlt und mit auf 0 °C gekühlter Salzsäure (3 x 80 mL, 0.5 M) und ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Titelverbindung wurde nach chromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EtOAc 1:1) erhalten.

**Ausbeute:** 6.58 g (17.6 mmol, 65%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 50:1) = 0.23.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.46 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.74 (d,  $J$  = 10.8 Hz, 3 H, 1''-H<sub>a</sub>), 3.77 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 3 H, 1''-H<sub>b</sub>), 4.78 (dd,  $J$  = 21.8 Hz, 1 H, 2-H), 5.07 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.12 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 5.65 (d,  $J$  = 8.5 Hz, 1 H, NH), 7.23-7.36 (m, 5 H, ArH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 27.73 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 52.68 (d,  $^1J_{CP}$  = 148.1 Hz, C-2), 53.75 (d,  $^2J_{CP}$  = 6.5 Hz, C<sub>a</sub>-1''), 53.80 (d,  $^2J_{CP}$  = 6.3 Hz, C<sub>b</sub>-1''), 67.63 (BnCH<sub>2</sub>), 83.71 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 128.02 (C-2', C-6'), 128.15 (C-4'), 128.41 (C-3', C-5'), 135.88 (C-1'), 155.51 (d,  $^3J_{CP}$  = 7.2 Hz, C(O)ONH), 165.38 (d,  $^2J_{CP}$  = 2.5 Hz, C-1).

**<sup>31</sup>P-NMR** (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 19.16.

**Schmelzpunkt:** 86 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1742, 1724, 1708, 1270, 1227, 1151, 1045, 1017, 755.

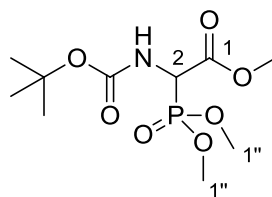
**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 206 (2.96).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 396.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>7</sub>P** (373.33)

ber.: 396.1183 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 396.1181 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

7.2.1.4 *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinmethylester125<sup>[140]</sup>

125

Eine Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-2-(dimethoxyphosphoryl)-glycinmethylester **124** (1.00 g, 3.19 mmol) in abs. MeOH (30 mL) wurde mit Palladium (200 mg, 189  $\mu$ mol, 10% auf Aktivkohle) versetzt und 3 h unter einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Die Lösung wurde über Celite filtriert, die Celite mit MeOH (3 x 10 mL) nachgereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde in 10 mL DCM aufgenommen und mit Di-*tert*-butyl-dicarbonat versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in Ethylacetat (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub> (2 x 10 mL) und ges. wässriger NaCl-Lösung (10 mL) gereinigt, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedunstet. Der viskose Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 50:1).

**Ausbeute:** 546 mg (1.84 mmol, 60%) eines farblosen, feinkristallinen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 20:1) = 0.34.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.42 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.78 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 3 H, 1''-H<sub>a</sub>), 3.80 (s, 3 H, COOCH<sub>3</sub>), 3.81 (d,  $J$  = 3.1 Hz, 3 H, 1''-H<sub>b</sub>), 4.85 (dd,  $J_{HP}$  = 22.6 Hz,  $J$  = 9.3 Hz, 1 H, 2-H), 5.34 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 1 H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 28.17(C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 51.68 (d,  $^1J_{CP}$  = 147.7 Hz, C-2), 53.21 (C(O)OCH<sub>3</sub>), 53.94 (d,  $^2J_{CP}$  = 4.0 Hz, C<sub>a</sub>-1''), 54.03 (d,  $^2J_{CP}$  = 4.3 Hz, C<sub>b</sub>-1''), 80.93 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 146.73 (C(O)ONH), 167.47 (C-1).

**<sup>31</sup>P-NMR** (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 18.85.

**Schmelzpunkt:** 69 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1752, 1709, 1533, 1299, 1242, 1204, 1161, 1032, 789.

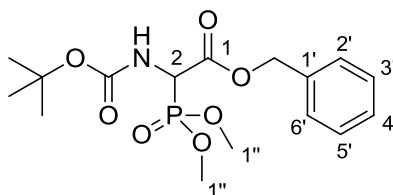
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 320.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub>P** (297.24)

ber.: 320.0870 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 320.0872 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.1.5 *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinbenzylester 109



#### 109

Die erste Reaktion der zwei nachfolgend angeführten wurde nicht unter Inertgasbedingungen durchgeführt. Eine Lösung von *N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-2-(dimethoxyphosphinyl)-glycinmethylester **125** (1.77 g, 5.96 mmol) in Dioxan (1.35 mL) wurde auf 15 °C gebracht und allmählich mit wässriger NaOH-Lösung (2.98 mL, 2 M, 5.96 mmol) versetzt. Die erhaltene Reaktionslösung wurde 30 min. bei 15 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und bis zur Einstellung von pH = 2 mit auf 0 °C gekühlter, 5 M Salzsäure versetzt. Die resultierende Lösung wurde mit 11 mL Wasser und 20 mL Ethylacetat versetzt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (5 x 10 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Der verbliebene weiße Feststoff (1.53 mg, 5.41 mmol) wurde mit abs. Acetonitril coevaporiert (3 x 3 mL) und in 3 mL Acetonitril gelöst. Die Lösung wurde mit DBU (807 µL, 823 mg, 5.41 mmol) versetzt und 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Benzylbromid (671 µL, 971 mg, 5.68 mmol) dazugegeben und die erhaltene Lösung 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit ges. wässriger NaCl-Lösung (20 mL) versetzt. Das erhaltene Gemisch wurde mit Ethylacetat (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1 M HCl gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 1:1).

**Ausbeute:** 1.51 g (4.05 mmol, 75%) eines farblosen Öls.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 30:1) = 0.33.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.40 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.68 (d, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 9.5 Hz, 3 H, 1''-H<sub>a</sub>), 3.71 (d, J<sub>HP</sub> = 10.9 Hz, 3 H, 1''-H<sub>b</sub>), 4.87 (dd, J<sub>HP</sub> = 22.6 Hz, J = 9.0 Hz, 1 H, 2-H), 5.21 (d, J = 12.2 Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.27 (d, J = 12.2 Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 5.43 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, NH), 7.26-7.40 (m, 5 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 28.11$  ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 51.85 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 148.5$  Hz, C-2), 53.90 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.6$  Hz,  $\text{C}_a\text{-1''}$ ), 53.5 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.2$  Hz,  $\text{C}_b\text{-1''}$ ), 68.00 ( $\text{BnCH}_2$ ), 80.88 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 128.38 (C-2', C-6'), 128.47 (C-4'), 128.50 (C-3', C-5'), 134.77 (C-1'), 154.85 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 8.2$  Hz,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{ONH}$ ), 166.81 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 2.9$  Hz, C-1).

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 18.84$ .

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 1747, 1709, 1494, 1303, 1250, 1156, 1022, 741, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 205 (3.14)$ .

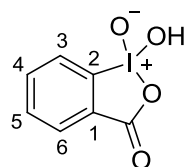
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 396.1$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_7\text{P}$**  (373.33)

ber.: 396.1183  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 396.1183 ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).

### 7.2.1.6 2-Iodoxybenzoesäure (IBX) **126**<sup>[147]</sup>



#### **126**

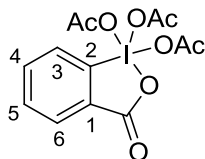
In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurde Kaliumbromat (17.6 g, 0.107 mol) in 2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (165 mL) gelöst und allmählich auf 60 °C erwärmt. Es wurde fein gepulverte 2-Iodbenzoesäure **127** (18.0 g, 72.0 mmol) über einen Zeitraum von 40 min in Portionen zu je 3 bis 4 g dazugegeben, die Lösung auf 65 °C erwärmt und weitere 3 h bei 65 °C gerührt. Nach Abkühlen der Lösung auf Raumtemperatur wurde die Suspension auf 0 °C gekühlt und filtriert. Der Filterkuchen wurde mit Ethanol und Wasser gewaschen und das Filtrat verworfen. Der erhaltene Feststoff wurde einige Stunden im Vakuum aufbewahrt und ohne weitere Reinigung verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 20.0 g (71.0 mmol, 98%) eines leicht gelblichen Feststoffs erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 7.84$  (dd,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 7.6$  Hz, 1 H, 5-H), 7.94-8.08 (m, 2 H, 3-H, 4-H), 8.15 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1 H, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta = 129.90$  (C-5), 129.97 (C-3), 131.35 (C-2), 132.87 (C-6), 133.25 (C-4), 146.48 (C-2), 167.32 (C=O).

### 7.2.1.7 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on (DMP) 128<sup>[147]</sup>



#### 128

In einer Mischung aus Essigsäure (76 mL) und Acetanhydrid (152 mL) wurde IBX (39.0 g, 139 mmol) suspendiert. Die Suspension wurde unter Rühren allmählich auf 85 °C erwärmt, bis eine klare Lösung entstand. Die Reaktionslösung wurde im noch heißen Ölbad belassen und langsam über Nacht abgekühlt. Der gebildete Niederschlag wurde durch Filtration unter Argon vom Lösungsmittel getrennt und mit abs. Diethylether (3 x 100 mL) gewaschen. Der erhaltene, weiße Feststoff wurde mehrere Stunden unter vermindertem Druck von Lösungsmittelresten befreit.

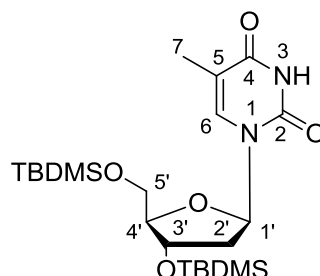
**Ausbeute:** Es wurden 47.8 g (112 mmol, 81%) eines weißen, kristallinen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.99 (s, 6 H, OAc), 2.32 (s, 3 H, OAc), 7.89 (td, *J* = 7.5 Hz, *J* = 0.7 Hz, 1 H, 5-H), 8.07 (td, *J* = 7.5 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1 H, 4-H), 8.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 1 H, 3-H), 8.30 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.24 (COCH<sub>3</sub>), 20.39 (COCH<sub>3</sub>), 126.03 (C-2), 126.49, 131.80, 133.80, 135.72 (C-3, C-4, C-5, C-6), 142.33 (C-1), 174.00 (COCH<sub>3</sub>), 175.74 (ArCOO).

## 7.2.2 Synthese der 3'-O-TBDMS-Thymidinylaminosäuren (TAA)

### 7.2.2.1 3',5'-O-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-thymidin 129



#### 129

Thymidin **77** (10.0 g, 41.0 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 40 mL) coevaporiert und in 100 mL Pyridin gelöst. Es wurden Imidazol (7.03 g, 103 mmol) und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (15.5 g, 103 mmol) zugegeben und die Lösung 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde auf 0 °C gekühlt und die Lösung langsam mit 50 mL Wasser versetzt. Das Lösungsmittelgemisch wurde im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat (500 mL) gelöst und mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (3 x 250 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE:EtOAc 4:1).

**Ausbeute:** 19.3 g (41.0 mmol, quantitativ) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.56.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.06 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.89 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 1.97 (ddd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.22 (ddd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 5.8 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.74 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.85 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.91 (dd,  $J$  = 5.0 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 4'-H), 4.35-4.39 (m, 1 H, 3'-H), 6.32 (dd,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 1'-H), 7.46 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6-H), 8.62 (s, 1 H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -5.50 (SiCH<sub>3</sub>), -5.41 (SiCH<sub>3</sub>), -4.88 (SiCH<sub>3</sub>), -4.68 (SiCH<sub>3</sub>), 12.49 (C-7), 17.96 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.35 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.71 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.89 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 41.34 (C-2'), 62.92 (C-5'), 72.18 (C-3'), 84.77 (C-1'), 87.76 (C-4'), 110.80 (C-5), 135.41 (C-6), 150.36 (C-2), 163.92 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17.0$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 135 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2954, 2858, 1706, 1473, 1256, 1197, 1093, 967, 776$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 264.5 (4.00)$ .

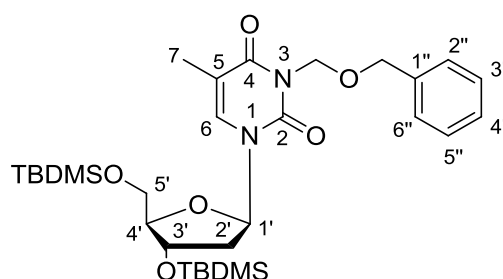
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 493.3$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>** (470.75)

ber.: 493.2530  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 493.2530 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.2.2 3',5'-O-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-3-*N*-(benzyloxymethyl)-thymidin 130



#### 130

Zu einer auf -10 °C gekühlten Suspension von Natriumhydrid (461 mg, 19.2 mmol, 60% Suspension in Mineralöl) in DMF (30 mL) wurde eine Lösung von 3',5'-O-Bis-(*tert*-butyldimethylsilyl)-thymidin **129** (5.00 g, 10.6 mmol) in DMF (17 mL) langsam getropft. Die erhaltene Lösung wurde 20 min. bei -5 °C gerührt und anschließend Benzylchlormethylether (1.53 mL, 1.99 g, 12.8 mmol) allmählich dazugegeben. Die erhaltene Lösung wurde 3 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Ethylacetat (200 mL) verdünnt und langsam mit H<sub>2</sub>O (60 mL) versetzt. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 150 mL) und mit ges. NaCl-Lösung (80 mL) gewaschen, über NaSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 4:1).

**Ausbeute:** 6.00 g (10.2 mmol, 96%) eines farblosen, hochviskosen Öls.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 4:1) = 0.48.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.05$  (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.89 (d,  $J = 0.9$  Hz, 3 H, 7-H), 1.96 (ddd,  $J = 13.1$  Hz,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 6.0$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.24 (ddd,



$J = 13.1$  Hz,  $J = 5.8$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.74 (dd,  $J = 11.4$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.85 (dd,  $J = 11.4$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 5-H<sub>b</sub>), 3.91 (dd,  $J = 4.5$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 4'-H) 4.35-4.39 (m, 1 H, 3'-H), 4.68 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.47 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.33 (dd,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 5.8$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.23-7.43 (m, 5 H, ArH), 7.28 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1 H, 6-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = -5.47$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-5.39$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.86$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.65$  (SiCH<sub>3</sub>), 13.23 (C-7), 17.98 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.38 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.72 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.91 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 41.41 (C-2'), 62.95 (C-5'), 70.49 (NCH<sub>2</sub>O), 72.15 (C-3'), 72.23 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 85.49 (C-1'), 87.80 (C-4'), 110.07 (C-5), 127.57 (C-4''), 127.65 (C-3''), C-5''), 128.24 (C-2'', C-6''), 134.18 (C-6), 138.01 (C-1''), 150.95 (C-2), 163.52 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +17.7$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2929, 1712, 1670, 1464, 1361, 1255, 1106, 836, 775$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 205 (4.30), 268 (3.94).

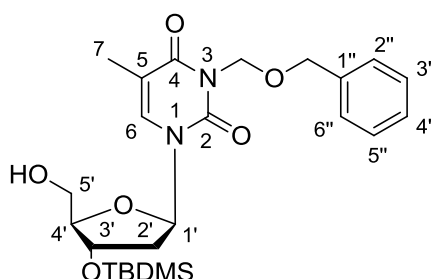
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 613.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si<sub>2</sub>** (590.90)

ber.: 613.3105 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 613.3109 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.2.3 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3-N-(benzyloxymethyl)-thymidin 131



#### 131

Zu einer auf  $-10$  °C gekühlten Lösung von **130** (6.00 g, 10.2 mmol) in Methanol (300 mL) wurde allmählich Acetylchlorid (160 mg, 145  $\mu$ L, 2.03 mmol) gegeben und die Lösung auf  $0$  °C gebracht. Die resultierende Reaktionslösung wurde ca. 3 h bei  $0$  °C gerührt und dünnschichtchromatographisch verfolgt (SiO<sub>2</sub>, PE/EtOAc 1:1). Es wurde ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) dazugegeben und die Lösung weitere 15 min gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Ethylacetat (300 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub> (2 x 100 mL) und Wasser (100 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und bei vermindertem Druck eingengt. Das

verbliebene farblose Öl wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 1:1).

**Ausbeute:** 2.82 g (5.92 mmol, 59%) eines farblosen, hochviskosen Öls.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.38.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.06 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.88 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.88 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3 H, 7-H), 2.15-2.31 (m, 2 H, 2'- $\text{H}_a$ , 2'- $\text{H}_b$ ), 2.62 (brs, 1 H, OH), 3.68-3.76 (m, 1 H, 5'- $\text{H}_a$ ), 3.84-3.93 (m, 2 H, 4'-H, 5'- $\text{H}_b$ ), 4.43-4.42 (m, 1 H, 3'-H), 4.67 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.46 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 6.14 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 7.21-7.35 (m, 5 H, ArH), 7.37 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1 H, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -4.80 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.63 ( $\text{SiCH}_3$ ), 13.26 (C-7), 17.97 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.72 ( $\text{Si}(\text{C}(\text{CH}_3)_3)$ ), 40.66 (C-2'), 61.99 (C-5'), 70.49 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 71.56 (C-3'), 72.17 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 87.24 (C-1'), 87.45 (C-4'), 110.12 (C-5), 127.48 (C-4''), 127.51 (C-3''), C-5''), 128.13 (C-2'', C-6''), 135.41 (C-6), 137.81 (C-1''), 150.83 (C-2), 163.27 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +21.0$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2930, 1667, 1468, 1362, 1253, 1101, 835, 776, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 205 (4.28), 268 (3.96).

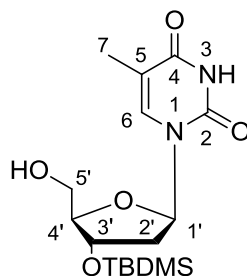
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 499.2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$**  (476.64)

ber.: 499.2240  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 499.2234 ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).

#### 7.2.2.4 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-thymidin 132



#### 132

Zu einer auf  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  gekühlten Lösung von **129** (7.00 g, 14.9 mmol) in Methanol (340 mL) wurde allmählich Acetylchlorid (291 mg, 265  $\mu\text{L}$ , 3.73 mmol) gegeben und die Lösung auf  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gebracht. Die resultierende Reaktionslösung wurde ca. 3 h bei

0 °C gerührt und die Reaktion dünnenschichtchromatographisch verfolgt (SiO<sub>2</sub>, PE/EtOAc 1:1). Es wurde ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) dazugegeben und die Lösung weitere 15 min gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Ethylacetat (300 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 100 mL), Wasser (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und bei vermindertem Druck eingeeengt. Das verbliebene farblose Öl wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 1:1).

**Ausbeute:** 3.50 g (9.83 mmol, 66%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.15.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.05 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.86 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 3 H, 7-H), 2.16 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.31 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.96 (brs, 1 H, OH), 3.72 (dd,  $J$  = 12.2 Hz,  $J$  = 3.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.84-3.91 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.46 (ddd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 3.6 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 3'-H), 6.12 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 7.37 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.90 (SiCH<sub>3</sub>), -4.74 (SiCH<sub>3</sub>), 12.44 (C-7), 17.91 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.67 (Si(C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)), 40.45 (C-2'), 61.89 (C-5'), 71.53 (C-3'), 86.74 (C-1'), 87.56 (C-4'), 110.93 (C-5), 137.03 (C-6), 150.40 (C-2), 163.96 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +27.0$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 109 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1690, 1666, 1108, 1088, 1056, 1032, 1017, 831, 774.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 207 (3.99), 265 (4.02).

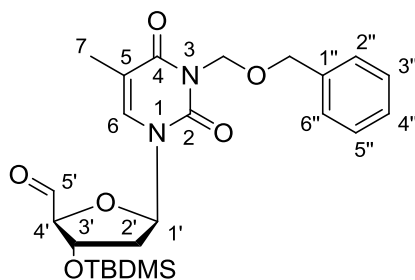
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 379.2 [M+Na]<sup>+</sup>

**C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si** (356.45)

ber.: 379.1660 [M+H]<sup>+</sup>,

gef.: 379.1659 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.2.5 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3-*N*-(benzyloxymethyl)-thymidin-5'-aldehyd **78**



#### **78**

Eine Lösung von 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3-*N*-(benzyloxymethyl)-thymidin **131** (1.00 g, 2.10 mmol) in Acetonitril (20 mL) wurde mit 1.47 g (5.25 mmol) 2-Iodoxybenzoesäure versetzt und 30 min am Rückfluss erhitzt. Nachdem die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde sie über eine Glasfritte filtriert und der Filterkuchen mit Ethylacetat (3 x 10 mL) nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne eingengt und der so erhaltene Rückstand direkt weiterverwendet. Aufgrund der Empfindlichkeit der Substanz wurde auf eine chromatographische Reinigung verzichtet.

**Ausbeute:** 990 mg (2.08 mmol, 99%) eines farblosen Schaums.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.30.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  = -0.04 (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ), -0.03 (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.85 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.67 (ddd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 5.8$  Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_b$ ), 1.73 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, 7-H), 1.84 (ddd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_a$ ), 4.04 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, 4'-H), 4.40 (ddd,  $J = 5.8$  Hz,  $J = 2.1$  Hz,  $J = 2.1$  Hz, 1 H, 3'-H), 4.63 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.39 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.83 (dd,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 6.5$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.68 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1 H, 6-H), 6.99 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 4''-H), 7.07 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.29 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 9.27 (s, 1 H, 5'-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  = -4.76 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.67 ( $\text{SiCH}_3$ ), 13.40 (C-7), 18.22 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.95 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 39.79 (C-2'), 70.83 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 72.43 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 73.57 (C-3'), 90.47 (C-1'), 92.27 (C-4'), 110.13 (C-5), 127.59 (C-4''), 127.71 (C-3''), C-5''), 128.11 (C-2'', C-6''), 135.64 (C-6), 138.91 (C-1''), 150.83 (C-2), 163.27 (C-4), 198.73 (C-5').

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +20.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2955, 1669, 1467, 1362, 1253, 1074, 834, 775, 697.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 267 (4.94).

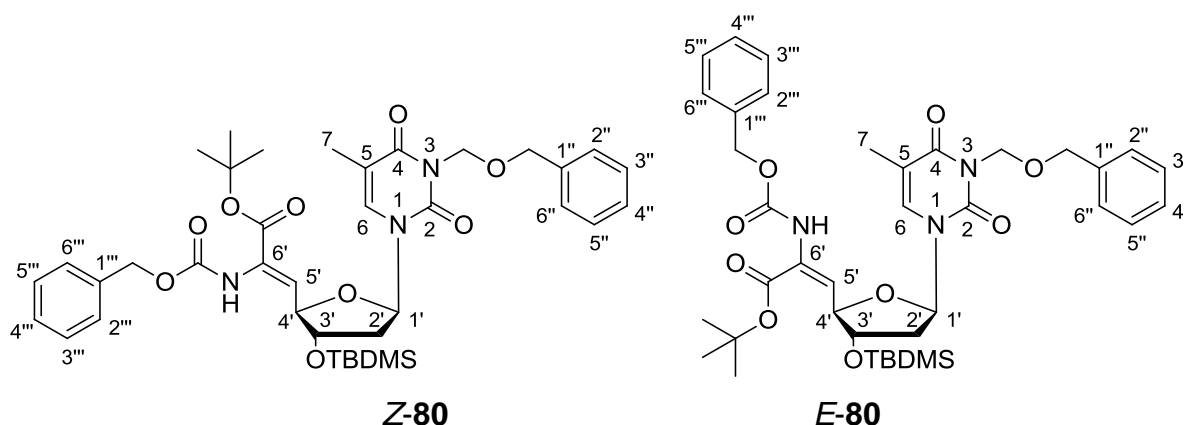
**MS** (ESI<sup>-</sup>):  $m/z$  = 473.2 [M-H]<sup>-</sup>.

**C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Si** (474.62)

ber.: 473.2113 [M-H]<sup>-</sup>,

gef.: 473.2108 (ESI<sup>-</sup>-HRMS).

### 7.2.2.6 (Z)-3-N-BOM-6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-5',6'-didehydro-3'-O-TBDMS-TAA **80** und (E)-3-N-BOM-6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-5',6'-didehydro-3'-O-TBDMS-TAA **80**



Zu einer auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung von  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (828 mg, 7.39 mmol) in abs. THF (70 mL) wurde eine Lösung des Phosphonats **79** (2.97 g, 7.96 mmol) in abs. THF (60 mL) getropft und 5 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Es wurde eine Lösung von 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3-N-(benzyloxymethyl)-thymidin-5'-aldehyd **78** (3.50 g, 7.39 mmol) in abs. THF (30 mL) bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  zugegeben, die resultierende Lösung 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionslösung wurde auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt, mit Methanol (5 mL) versetzt und mit Ethylacetat (300 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (3 x 100 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Beide Titelverbindungen wurden nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EtOAc 4:1) erhalten.

**Ausbeute (Z)-80:** 3.81 g (5.28 mmol, 71%) eines farblosen Schaums.

**Ausbeute (E)-80:** 138 mg (0.191 mmol, 3%) eines farblosen Schaums.

Analytische Daten von (Z)-**80**:

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.51.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.08 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.46 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.91 (d, *J* = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.10 (dd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 6.7 Hz, 2'-H<sub>a</sub>), 2.36 (ddd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 6.3 Hz, *J* = 4.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.32 (ddd, *J* = 6.3 Hz, *J* = 4.3 Hz, *J* = 4.3 Hz, 1 H, 3'-H), 4.68 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.69 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 4.3 Hz, 1 H, 4'-H), 5.08-5.15 (m, 2 H, CbzCH<sub>2</sub>), 5.46 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.12 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H, 5'-H), 6.18 (dd, *J* = 6.7 Hz, *J* = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 6.77 (brs, 1 H, NH), 7.08 (d, *J* = 1.2 Hz, 1 H, 6-H), 7.22-7.36 (m, 10 H, ArH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -4.93 (SiCH<sub>3</sub>), -4.79 (SiCH<sub>3</sub>), 13.35 (C-7), 17.87 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.31 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.64 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.53 (C-2'), 67.57 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.49 (NCH<sub>2</sub>O), 72.21 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 75.95 (C-3'), 77.20 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 82.68 (C-4'), 86.83 (C-1'), 110.07 (C-5), 124.72 (C-5'), 127.60 (C-4''), 127.64 (C-3'', C-5''), 128.23 (C-2'', C-6''), 128.24 (C-4'''), 128.34 (C-3''', C-5'''), 128.52 (C-2''', C-6'''), 130.39 (C-6'), 134.03 (C-6), 135.65 (C-1''), 137.94 (C-1'''), 150.71 (C-2), 153.52 (Cbz-C=O), 162.73 (C-4), 163.30 (Ester-C=O).

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +51.1 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2930, 1667, 1466, 1367, 1257, 1071, 837, 775, 698.

**UV** (MeCN): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 191 (5.03), 205 (4.52), 263 (4.11).

**MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* = 744.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>38</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Si** (721.91)

ber.: 744.3292 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 744.3296 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

Analytische Daten von (*E*)-**80**:

**DC:** *R<sub>f</sub>* (PE/EtOAc 4:1) = 0.16.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.04 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.52 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.91 (d, *J* = 0.9 Hz, 3 H, 7-H), 2.02 (ddd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 7.7 Hz, *J* = 5.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.36 (ddd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 5.9 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.19 (ddd, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.5 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1 H, 3'-H), 4.67 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.09 (d, *J* = 12.6 Hz, 1 H, CbzCHH<sub>a</sub>), 5.14 (d, *J* = 12.6 Hz, 1 H, CbzCHH<sub>b</sub>), 5.38 (dd, *J* = 9.8 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1 H, 4'-H), 5.47 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.34 (dd, *J* = 7.7 Hz, *J* = 5.9 Hz, 1 H, 1'-H), 6.76 (d, *J* = 9.8 Hz, 1 H, 5'-H), 7.11 (s, 1 H, Cbz-NH), 7.18-7.39 (m, 10 H, ArH), 7.28 (s, 1 H, 7-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -4.74 (SiCH<sub>3</sub>), -4.68 (SiCH<sub>3</sub>), 13.24 (C-7), 18.02 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.73 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.02 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.79 (C-2'), 67.06 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.47 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 72.12 (NCH<sub>2</sub>O), 76.99 (C-3'), 83.17 (C-4'), 84.4 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 86.17 (C-1'), 110.37 (C-5), 120.17 (C-5'), 127.44 (C-4''), 127.55 (C-3'', C-5''), 128.11

(C-2'',C-6''), 128.33 (C-4'''), 128.49 (C-3''',C-5'''), 128.67 (C-2''', C-6'''), 130.39 (C-6'), 133.97 (C-6), 135.62 (C-1''), 137.89 (C-1'''), 150.88 (C-2), 153.04 (Cbz-C=O), 161.54 (C-4), 163.34 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +18.4$  (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2930, 1666, 1513, 1456, 1252, 1047, 836, 736, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}(\lg \epsilon) = 191 (4.96), 263 (4.12)$ .

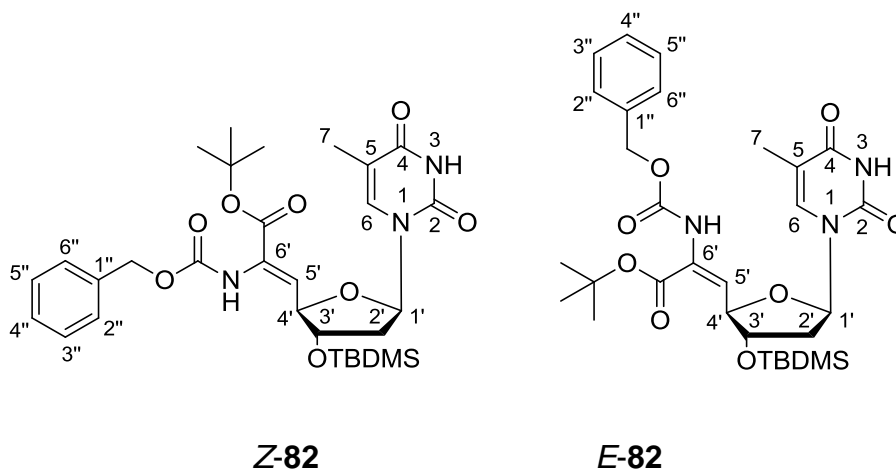
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 744.3 [M + Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>38</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Si** (721.91)

ber.: 744.3292 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 744.3296 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.2.7 (Z)-6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-5',6'-didehydro-3'-O-TBDMS-TAA 82 und (E)-6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-5',6'-didehydro-3'-O-TBDMS-TAA 82



#### Synthese des Thymidinaldehyds 84:

Eine Lösung von 3'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-thymidin **132** (3.46 g, 9.72 mmol) in Acetonitril (90 mL) wurde mit 6.80 g (24.3 mmol) 2-Iodoxybenzoesäure versetzt und 30 min. am Rückfluss erhitzt. Nachdem die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde sie über eine Glasfritte filtriert und der Filterkuchen mit Ethylacetat (3 x 30 mL) nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne eingengt und der so erhaltene farblose Schaum (3.44 g, 9.72 mmol) direkt weiterverwendet.

#### Synthese der Didehydroaminosäuren (Z)-82 und (E)-82:

Zu einer auf -78 °C gekühlten Lösung von KO<sup>t</sup>Bu (1.12 g, 9.96 mmol) in abs. THF (95 mL) wurde eine Lösung des Phosphonats **79** (3.95 g, 10.6 mmol) in abs. THF (75 mL) getropft und 5 min. bei -78 °C gerührt. Es wurde eine Lösung von 3'-O-(*tert*-

Butyldimethylsilyl)-thymidin-5'-aldehyd **84** (3.44 g, 9.72 mmol) in abs. THF (40 mL) bei -78 °C zugegeben, die resultierende Lösung 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt, mit Methanol (5 mL) versetzt und mit Ethylacetat (300 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (3 x 100 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Beide Titelverbindungen wurden nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (PE/EtOAc 3:2) erhalten.

**Ausbeute:** Es wurden 3.83 g (6.37 mmol, 66% über zwei Stufen) eines farblosen Schaums erhalten. Das Produkt wurde zunächst als Gemisch der (*Z*)- und (*E*)-Isomere erhalten. Anhand von NMR-spektroskopischen Befunden wurde das Mengenverhältnis der zwei Diastereomere zu *Z/E* = 10:1 bestimmt. Nach wiederholter chromatographischer Trennung (PE/EtOAc 3:2) konnte das (*E*)-Isomer in ausreichender Menge für die NMR-spektroskopische Charakterisierung erhalten werden.

Analytische Daten von (*Z*)-**82**:

**DC:** *R*<sub>f</sub> (PE/EtOAc 3:2) = 0.33.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.06 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.45 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.89 (d, *J* = 1.1 Hz, 3 H, 7-H), 2.13 (ddd, *J* = 13.6 Hz, *J* = 6.5 Hz, *J* = 6.1 Hz, 2'-H<sub>a</sub>), 2.33 (ddd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 6.5 Hz, *J* = 4.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.33 (ddd, *J* = 6.1 Hz, *J* = 4.4 Hz, *J* = 4.4 Hz, 1 H, 3'-H), 4.67 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 4.4 Hz, 1 H, 4'-H), 5.09 (d, *J* = 12.1 Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.13 (d, *J* = 12.1 Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 6.13 (d, *J* = 7.8 Hz, 1 H, 5'-H), 6.15 (dd, *J* = 6.7 Hz, *J* = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 6.88 (brs, 1 H, NH), 7.08 (d, *J* = 1.1 Hz, 1 H, 6-H), 7.24-7.37 (m, 10 H, ArH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -4.98 (SiCH<sub>3</sub>), -4.86 (SiCH<sub>3</sub>), 12.57 (C-7), 17.83 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.61 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.80 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.37 (C-2'), 67.48 (BnCH<sub>2</sub>), 75.92 (C-3'), 82.48 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 82.59 (C-4'), 86.14 (C-1'), 110.99 (C-5), 124.94 (C-5'), 128.15 (C-4''), 128.25 (C-3'', C-5''), 128.52 (C-2'', C-6''), 130.51 (C-6'), 135.41 (C-6), 135.68 (C-1''), 150.13 (C-2), 153.56 (Cbz-C=O), 162.73 (C-4), 163.84 (Ester-C=O).

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +69.9 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>)

**Schmelzpunkt:** 79 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1686, 1465, 1256, 1223, 1151, 1046, 831, 774, 693.



**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 204 (4.40), 259 (4.15).

**MS** (ESI):  $m/z$  = 624.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>30</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si** (601.76)

ber.: 624.2717 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 624.2705 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

Analytische Daten von (*E*)-**82**:

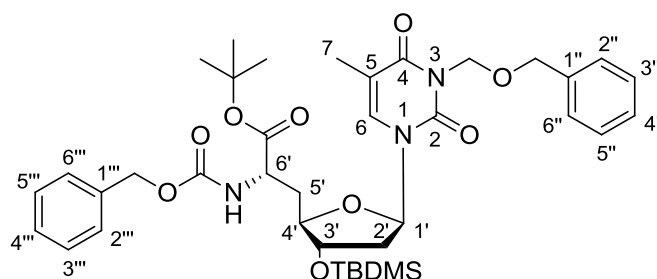
**DC**:  $R_f$  (PE/EtOAc 3:2) = 0.33.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.05 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.52 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.90 (s, 3 H, 7-H), 2.08 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.33 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.1 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.21 (ddd,  $J$  = 5.3 Hz,  $J$  = 2.6 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 3'-H), 5.10 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.15 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 5.36 (dd,  $J$  = 9.8 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 4'-H), 6.31 (dd,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 6.1 Hz, 1 H, 1'-H), 6.76 (d,  $J$  = 9.8 Hz, 1 H, 5'-H), 7.11 (s, 1 H, Cbz-NH), 7.18-7.39 (m, 10 H, ArH), 7.28 (s, 1 H, 7-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.76 (SiCH<sub>3</sub>), -4.68 (SiCH<sub>3</sub>), 12.52 (C-7), 18.03 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.74 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 28.02 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.64 (C-2'), 66.86 (BnCH<sub>2</sub>), 77.00 (C-3'), 83.11 (C-4'), 84.38 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 85.58 (C-1'), 111.12 (C-5), 120.16 (C-5'), 127.99 (C-4''), 128.04 (C-3'', C-5''), 128.38 (C-2'', C-6''), 128.80 (C-6'), 135.39 (C-6), 136.12 (C-1''), 150.31 (C-2), 153.08 (Cbz-C=O), 161.60 (C-4), 163.81 (Ester-C=O).

Diese Verbindung wurde nur in verunreinigter Form erhalten. Daher wurde auf eine Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

### 7.2.2.8 6'-*N*-Cbz-*O*-*t*-Bu-3-*N*-BOM-3'-*O*-TBDMS-(*S*)-TAA **81**



(6'*S*)-**81**

Es wurde unter striktem Sauerstoff-Ausschluss gearbeitet. Durch eine Lösung des (*Z*)-Olefins **80** (1.50 g, 2.07 mmol) in abs. Methanol (72 mL) wurde 15 min. ein

Argonstrom durchgeleitet. Anschließend wurde die Lösung mit (S,S)-Me-DuPHOS-Rh (25 mg, 41  $\mu$ mol) versetzt und 2 d bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Die Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 4:1).

**Ausbeute:** 1.41 g (1.96 mmol, 94%) eines farblosen Öls.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 7:3) = 0.40.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.04 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.86 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.41 (s, 9 H, *t*-Bu- $\text{CH}_3$ ), 1.96 (s, 3 H, 7-H), 1.98-2.08 (m, 2 H, 5'-H), 2.12-2.29 (m, 2 H, 2'-H), 3.89-3.95 (m, 1 H, 4'-H), 4.00-4.07 (m, 1 H, 3'-H), 4.37-4.41 (m, 1 H, 6'-H), 4.68 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.08 (s, 2 H,  $\text{CbzCH}_2$ ), 5.47 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.52 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, NH), 6.20 (dd,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, H-1'), 7.23-7.37 (m, 10 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -4.78 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.51 ( $\text{SiCH}_3$ ), 13.09 (C-7), 17.94 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.69 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 27.95 ( $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.19 (C-5'), 40.33 (C-2'), 52.04 (C-6'), 66.89 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 70.48 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.15 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 74.92 (C-3'), 82.67 ( $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 83.08 (C-4'), 85.67 (C-1'), 110.38 (C-5), 127.49 (C-4''), 127.56 (C-3'', C-5''), 128.01 (C-2'', C-6''), 128.10 (C-4'''), 128.15 (C-3''', C-5'''), 128.41 (C-2''', C-6'''), 134.32 (C-6), 136.13 (C-1''), 137.88 (C-1'''), 150.70 (C-2), 155.33 ( $\text{Cbz-C=O}$ ), 163.32 (C-4), 170.32 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +50.6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu} = 2930, 1667, 1466, 1256, 1066, 837, 775, 736, 698$ .

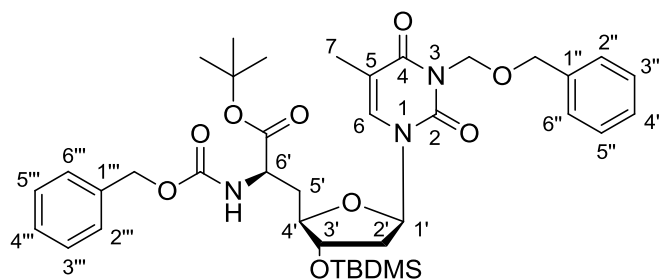
**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 206 (4.43), 267 (3.97)$ .

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 746.4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}$**  (723.93)

ber.: 746.3449  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 746.3453 (ESI<sup>+</sup>).

7.2.2.9 6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-3-N-BOM-3'-O-TBDMS-(*R*)-TAA 81(6'*R*)-81

Die Synthese von (6'*R*)-81 erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-81 mit einer Reaktionsdauer von 7 d. Es wurden 1.00 g (1.38 mmol) (*Z*)-80, 20 mg (33  $\mu$ mol) (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh und 48 mL abs. Methanol eingesetzt.

**Ausbeute:** 990 mg (1.36 mmol, 99%) eines farblosen Öls.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 7:3) = 0.40.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.07 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.88 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.46 (s, 9 H, *t*-Bu- $\text{CH}_3$ ), 1.89 (s, 3 H, 7-H), 1.96-2.11 (m, 2 H, 5'-H) 2.14-2.29 (m, 2 H, 2'-H), 3.74-3.87 (m, 1 H, 4'-H), 4.00-4.09 (m, 1 H, 3'-H), 4.42-4.50 (m, 1 H, 6'-H), 4.68 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.08 (s, 2 H, Cbz $\text{CH}_2$ ), 5.47 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.57 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, NH), 6.13 (dd,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, H-1'), 7.22-7.40 (m, 10 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -4.84 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.61 ( $\text{SiCH}_3$ ), 13.28 (C-7), 17.86 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.65 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 27.95 ( $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 35.12 (C-5'), 40.24 (C-2'), 52.67 (C-6'), 66.90 (Cbz $\text{CH}_2$ ), 70.49 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.20 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 74.84 (C-3'), 82.44 ( $\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ), 83.32 (C-4'), 86.00 (C-1'), 110.38 (C-5), 127.60 (C-4''), 127.65 (C-3''), C-5''), 128.05 (C-2'', C-6''), 128.17 (C-4'''), 128.24 (C-3''', C-5'''), 128.47 (C-2''', C-6'''), 133.91 (C-6), 136.18 (C-1''), 137.96 (C-1'''), 150.62 (C-2), 155.96 (Cbz-C=O), 163.29 (C-4), 170.54 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  = +40.0 ( $c$  = 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (Film):  $\tilde{\nu}$  = 2930, 1668, 1465, 1258, 1095, 837, 775, 736, 699.

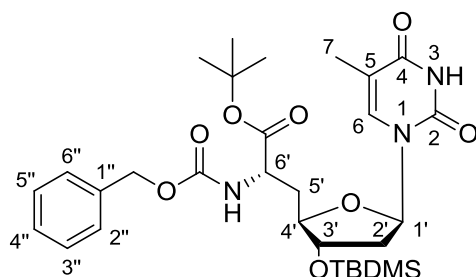
**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 206 (4.36), 267 (3.90).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 746.4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}$**  (723.93)

ber.: 746.3449  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 746.3452 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

7.2.2.10 6'-N-Cbz-O-*t*-Bu-3'-O-TBDMS-(*S*)-TAA 83(6'*S*)-83

Es wurde unter striktem Sauerstoff-Ausschluss gearbeitet. Durch eine Lösung des (*Z*)-Olefins **82** (1.80 g, 3.00 mmol) in abs. Methanol (100 mL) wurde 15 min. ein Argonstrom durchgeleitet. Anschließend wurde die Lösung mit (*S,S*)-Me-DuPHOS-Rh (100 mg, 165  $\mu$ mol, 4 mol%) versetzt und 9 d bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Die Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 3:2).

**Ausbeute:** Es wurden 1.67 g (2.77 mmol, 92%) eines farblosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 3:2) = 0.45.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.05 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9 H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3 H, 7-H), 2.00-2.10 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.13-2.27 (m, 2 H, 2'-H<sub>b</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 3.90-3.99 (m, 1 H, 3'-H), 4.06 (ddd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 4.4 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 4'-H), 4.42 (ddd,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 4.7 Hz,  $J$  = 4.7 Hz, 1 H, 6'-H), 5.10 (s, 2 H, BnCH<sub>2</sub>), 5.54 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.18 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.29-7.40 (m, 5 H, ArH), 7.37 (s, 1 H, 6-H), 8.34 (brs, 1 H, 3-NH).

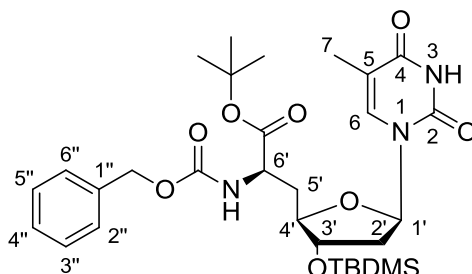
**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.92 (SiCH<sub>3a</sub>), -4.67 (SiCH<sub>3b</sub>), 12.27 (C-7), 17.85 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.61 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.85 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.00 (C-5'), 40.20 (C-2'), 51.98 (C-6'), 66.83 (BnCH<sub>2</sub>), 74.89 (C-4'), 82.64 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.03 (C-3'), 85.07 (C-1'), 111.13 (C-5), 128.04 (C-4''), 128.13 (C-3'', C-5''), 128.45 (C-2'', C-6''), 135.79 (C-6), 136.23 (C-1''), 150.18 (C-2), 155.46 (Cbz-C=O), 163.86 (C-4), 170.49 (COO).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +58.4 (c = 1.2, CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1686, 1466, 1366, 1251, 1151, 1093, 1045, 835, 774.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 205 (4.66), 264 (4.40).

**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 626.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

$C_{30}H_{45}N_3O_8Si$  (603.29)ber.: 626.2868  $[M+Na]^+$ gef.: 626.2865 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).**7.2.2.11 6'-N-Cbz-O-t-Bu-3'-O-TBDMS-(R)-TAA 83****(6'R)-83**

Die Synthese von (6'R)-**83** erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'S)-**83** mit einer Reaktionsdauer von 21 d. Es wurden 920 mg (1.53 mmol) (*Z*)-**82**, 60 mg (96  $\mu$ mol, 4 mol%) (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh und 40 mL abs. Methanol eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 3:2).

**Ausbeute:** Es wurden 710 mg (1.18 mmol, 77%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 3:2) = 0.42.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3a</sub>), 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3b</sub>), 0.85 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9 H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.85 (s, 3 H, 7-H), 2.01 (ddd,  $J$  = 14.3 Hz,  $J$  = 10.3 Hz,  $J$  = 4.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.09 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.14-2.23 (m, 2 H, 2'-H<sub>b</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 3.78 (ddd,  $J$  = 10.3 Hz,  $J$  = 4.9 Hz,  $J$  = 2.4 Hz, 1 H, 3'-H), 4.06 (ddd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 4.9 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 4'-H), 4.40-4.45 (m, 1 H, 6'-H), 5.10 (s, 2 H, BnCH<sub>2</sub>), 5.63 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.08 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 7.07 (s, 1 H, 6-H), 7.24-7.32 (m, 5 H, ArH), 9.34 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.88 (SiCH<sub>3a</sub>), -4.67 (SiCH<sub>3b</sub>), 12.49 (C-7), 17.82 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.62 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.90 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.04 (C-5'), 40.10 (C-2'), 52.64 (C-6'), 66.79 (BnCH<sub>2</sub>), 74.81 (C-4'), 82.36 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.31 (C-3'), 85.52 (C-1'), 111.01 (C-5), 127.93 (C-4''), 128.07 (C-3'', C-5''), 128.40 (C-2'', C-6''), 135.36 (C-6), 136.20 (C-1''), 150.04 (C-2), 155.91 (Cbz-C=O), 163.77 (C-4), 170.57 (COO).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +62.3 ( $c$  = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 76 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 1690, 1466, 1361, 1250, 1151, 1098, 1055, 831, 779.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 202 (4.31), 264 (4.01).

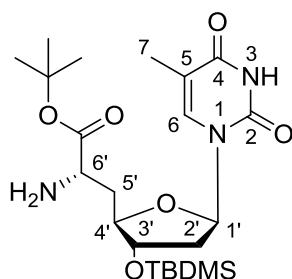
**MS** (ESI<sup>-</sup>):  $m/z$  = 602.3 [M-H]<sup>-</sup>.

**C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si** (603.29)

ber.: 602.2903 [M-H]<sup>-</sup>

gef.: 602.2903 (ESI<sup>-</sup>-HRMS).

### 7.2.2.12 O-*t*-Bu-3'-O-TBDMS-(S)-TAA 133



(6'*S*)-133

Eine Lösung der TAA (6'*S*)-**81** (1.20 g, 1.65 mmol) in abs. Methanol (50 mL) wurde mit Palladium (360 mg, 0.34  $\mu$ mol, 10% auf Aktivkohle) und mit *n*-Butylamin (3.5 mL, 2.6 g, 35 mmol) versetzt und 24 h bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) gerührt. Die Lösung wurde über Celite durch eine Glasfritte filtriert. Der Filterkuchen wurde mit Methanol (5 x 10 mL) gewaschen. Das Filtrat wurde bei vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 94:6).

**Ausbeute:** 719 mg (1.53 mmol, 93%) eines leicht gelben Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 15:1) = 0.36.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.05 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.75-1.85 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 1.92 (s, 3 H, 7-H), 2.03-2.14 (m, 2 H, 5'-H), 2.19-2.28 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.52 (dd,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 6'-H), 3.89 (ddd,  $J$  = 8.8 Hz,  $J$  = 4.4 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 4'-H), 4.06-4.12 (m, 1 H, 3'-H), 6.16 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.16 (s, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.87 (SiCH<sub>3</sub>), -4.59 (SiCH<sub>3</sub>), 12.60 (C-7), 17.87 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.64 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.96 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.06 (C-5'), 40.40 (C-2'), 53.11 (C-6'), 74.97 (C-3'), 81.36 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.92 (C-4'), 84.60 (C-1'), 111.06 (C-5), 135.64 (C-6), 150.17 (C-2), 163.72 (C-4), 174.19 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +59.2 ( $c$  = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 78 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2958, 1697, 1471, 1367, 1255, 1155, 1069, 835, 609.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 265 (3.92).

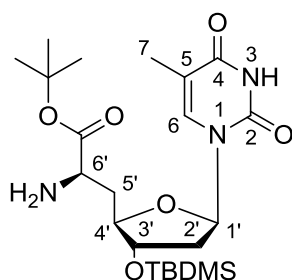
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 470.3 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Si** (469.65)

ber.: 470.2686 [M+H]<sup>+</sup>,

gef.: 470.2680 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.2.13 O-*t*-Bu-3'-O-TBDMS-(*R*)-TAA 133



(6'*R*)-133

Die Synthese von (6'*R*)-133 erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-133. Es wurden 1.26 g (1.74 mmol) (6'*R*)-81, 360 mg (0.340  $\mu$ mol) Palladium (10% auf Aktivkohle), 3.5 mL (2.6 g, 35 mmol) *n*-Butylamin und 50 mL abs. Methanol eingesetzt.

**Ausbeute:** 750 mg (1.60 mmol, 92%) eines leicht gelben Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 15:1) = 0.36.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.07 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.46 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.82-1.90 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 1.91 (s, 3 H, 7-H), 2.01-2.10 (m, 2 H, 5'-H), 2.25 (ddd,  $J$  = 10.8 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 4.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.51 (dd,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 4.1 Hz, 6'-H), 3.94-4.03 (m, 1 H, 4'-H), 4.10 (ddd,  $J$  = 6.1 Hz,  $J$  = 4.3 Hz,  $J$  = 4.3 Hz, 1 H, 3'-H), 6.19 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 7.20 (s, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -4.81 (SiCH<sub>3</sub>), -4.65 (SiCH<sub>3</sub>), 12.60 (C-7), 17.89 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.67 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.99 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 37.75 (C-5'), 40.34 (C-2'), 52.78 (C-6'), 75.11 (C-3'), 81.35 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.61 (C-4'), 84.91 (C-1'), 111.01 (C-5), 135.30 (C-6), 150.18 (C-2), 163.77 (C-4), 174.86 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +44.6 ( $c$  = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 114 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2930, 1695, 1471, 1368, 1159, 1033, 837, 778, 602.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 264.5 (3.90).

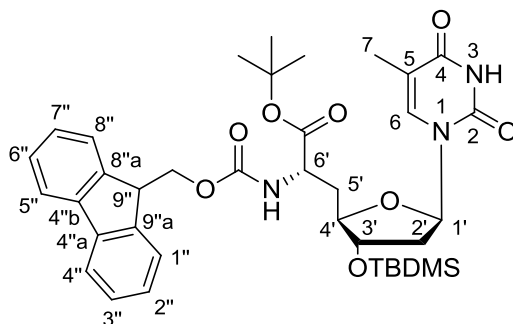
**MS** (ESI):  $m/z$  = 468.2 [M-H]<sup>-</sup>.

**C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>Si** (469.65)

ber.: 468.2535 [M-H]<sup>-</sup>,

gef.: 468.2534 (ESI-HRMS).

#### 7.2.2.14 6'-N-Fmoc-O-*t*-Bu-3'-O-TBDMS-(S)-TAA 134



(6'S)-134

*Ausgehend von (6'S)-133:*

Eine Lösung der TAA (6'S)-**133** (600 mg, 1.28 mmol) in 10 mL THF wurde auf 0 °C gekühlt, mit Triethylamin (0.44 mL, 0.32 g, 3.2 mmol) und Fmoc-Chlorid (413 mg, 1.60 mmol) versetzt und 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit 1 mL Wasser versetzt und in 20 mL Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 10 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 7:3).

**Ausbeute:** 855 mg (1.24 mmol, 97%) eines farblosen Schaums.

*Ausgehend von (6'S)-83:*

Eine Lösung der TAA (6'S)-**83** (1.51 g, 2.50 mmol) in Methanol (45 mL) wurde mit Palladium (80 mg, 75  $\mu$ mol, 10% auf Aktivkohle) versetzt und 1 h unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Die Suspension wurde anschließend über Celite® filtriert und das Filtrat bei vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand (1.16 g, 2.47 mmol, 98%) wurde in THF (19 mL) gelöst und die Lösung bei 0 °C mit NEt<sub>3</sub> (0.850 mL, 623 mg, 6.17 mmol) und FmocCl (798 mg, 3.09 mmol) versetzt. Nach 1 h Rühren bei 0 °C wurde die Suspension mit 1.5 mL dest. H<sub>2</sub>O versetzt und die



resultierende klare Lösung in 50 mL EtOAc aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 20 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 7:3).

**Ausbeute:** 1.45 g (2.10 mmol, 84% über zwei Stufen) eines farblosen Schaums.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 15:1) = 0.56.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 70 °C):  $\delta$  = 0.01 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.31 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.86 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 3 H, 7-H), 1.94-2.00 (m, 3 H, 2'-H<sub>a</sub>, 2'-H<sub>b</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.15 (ddd,  $J$  = 14.1 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 3.4 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.89-3.96 (m, 1 H, 4'-H), 4.00 (ddd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 4.5 Hz,  $J$  = 4.5 Hz, 1 H, 3'-H), 4.08 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 9''-H), 4.37 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.50-4.57 (m, 1 H, 6'-H), 5.48 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, Fmoc-NH), 6.00 (dd,  $J$  = 6.1 Hz,  $J$  = 6.1 Hz, 1 H, 1'-H), 6.92 (s, 1 H, 6-H), 7.10-7.24 (m, 4 H, 2''-H, 7''-H, 3''-H, 6''-H), 7.44-7.50 (m, 2 H, 4''-H, 5''-H), 7.55-7.60 (m, 2 H, 1''-H, 8''-H), 8.56 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 70 °C):  $\delta$  = -4.72 (SiCH<sub>3</sub>), -4.52 (SiCH<sub>3</sub>), 12.31 (C-7), 18.08 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.89 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 27.93 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.47 (C-5'), 40.11 (C-2'), 47.89 (C-9''), 52.78 (C-6'), 67.25 (FmocCH<sub>2</sub>), 75.70 (C-3'), 82.12 (OC(CH<sub>3</sub>)), 83.59 (C-4'), 86.32 (C-1'), 111.03 (C-5), 120.25 (C-4'', C-5''), 125.35 (C-1'', C-8''), 127.33 (C-3'', C-6''), 128.29 (C-2'', C-7''), 135.97 (C-6), 141.88 (C-4''b, C-4''a), 144.51 (C-8''a), 144.56 (C-9''a), 150.29 (C-2), 155.91 (Fmoc-C=O), 163.22 (C-4), 170.92 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +42.1 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 84 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2954, 1712, 1470, 1368, 1253, 1156, 837, 778, 740.

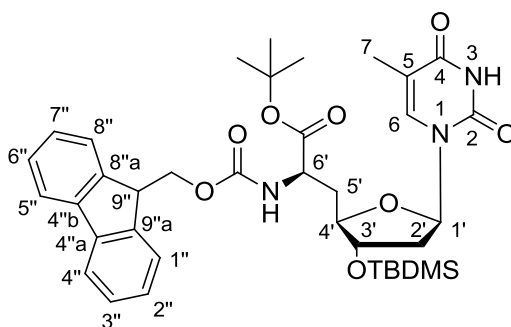
**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 206 (4.70), 265 (4.39), 287 (3.76), 299 (3.73)

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 714.32 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>37</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si** (691.89)

ber.: 714.3181 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 714.3170 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

7.2.2.15 6'-N-Fmoc-O-*t*-Bu-3'-O-TBDMS-(*R*)-TAA 134(6'*R*)-134

Ausgehend von (6'*R*)-133:

Die Synthese von (6'*R*)-134 erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-134. Es wurden 570 mg (1.22 mmol) (6'*R*)-TAA **133**, 393 mg (1.52 mmol) FmocCl, 0.42 mL (0.31 g, 3.0 mmol) NEt<sub>3</sub> und 10 mL THF eingesetzt.

**Ausbeute:** 800 mg (1.16 mmol, 95%) eines farblosen Schaums.

Ausgehend von (6'*R*)-83:

Die Synthese von (6'*R*)-134 erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-134 (ausgehend von **83**). Es wurden 1.50 g (2.49 mmol) (6'*R*)-TAA **83**, 80 mg Palladium auf Aktivkohle (75 μmol) und 45 ml abs. MeOH zur Abspaltung der Cbz-Schutzgruppe verwendet. Es wurden 1.06 g (2.17 mmol, 87%) an Zwischenprodukt **133** erhalten. Für die nachfolgende Einführung der Fmoc-Schutzgruppe wurden 798 mg (3.09 mmol) FmocCl, 0.85 mL (0.62 g, 6.17 mmol) NEt<sub>3</sub> und 19 mL THF eingesetzt.

**Ausbeute:** 1.34 g (1.95 mmol, 78% über zwei Stufen) eines farblosen Schaums.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 15:1) = 0.56.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 70 °C): δ = 0.01 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.03 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.35 (s, 9 H, *t*-Bu-CH<sub>3</sub>), 1.73 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, 7-H), 1.96 (dd,  $J = 12.6$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, 2 H, 2'-H), 2.10 (dd,  $J = 5.7$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 2 H, 5'-H), 3.87-3.95 (m, 1 H, 4'-H), 4.04-4.13 (m, 2 H, 9''-H, 3'-H), 4.31 (dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.40 (dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.56 (ddd,  $J = 8.5$  Hz,  $J = 5.7$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 1 H, 6'-H), 5.69 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1 H, Fmoc-NH), 5.76 (dd,  $J = 6.1$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.62 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1 H, 6-H), 7.12-7.25

(m, 4 H, 1''-H, 4''-H, 5''-H, 8''-H), 7.45 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1 H, 2''-H), 7.51 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1 H, 7''-H), 7.56 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, 3''-H, 6''-H), 9.20 (brs, 1 H, 3-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta = -4.72$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-4.56$  ( $\text{SiCH}_3$ ), 12.36 (C-7), 18.08 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 25.85 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 27.97 ( $\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 35.39 (C-5'), 40.02 (C-2'), 47.79 (C-9''), 53.46 (C-6'), 67.33 (Fmoc $\text{CH}_2$ ), 75.72 (C-3'), 81.86 ( $\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$ ), 83.59 (C-4'), 87.28 (C-1'), 110.89 (C-5), 120.13 (C-4''), 120.29 (C-5''), 125.40 (C-1''), 125.58 (C-8''), 127.41 (C-6''), 127.92 (C-3''), 128.08 (C-7''), 128.40 (C-2''), 136.06 (C-6), 141.82 (C-4''a, C-4''b), 144.52 (C-8''a), 144.61 (C-9''a), 150.36 (C-2), 156.20 (Fmoc-C=O), 163.48 (C-4), 171.13 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +47.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 84 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2954, 1714, 1471, 1368, 1155, 1051, 837, 778, 740$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 205.5 (4.73), 264.5 (4.43), 287.0 (3.81), 299.0 (3.78).

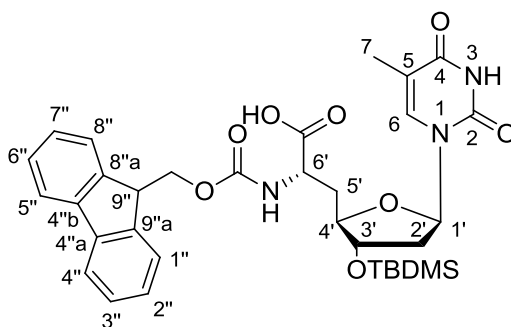
**MS** (ESI $^+$ ):  $m/z = 714.4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>37</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si** (691.89)

ber.: 714.3187  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 714.3180 (ESI $^+$ -HRMS).

### 7.2.2.16 6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS-(S)-TAA 73



(6'S)-73

Eine Lösung von (6'S)-134 (770 mg, 1.11 mmol) in Toluol (25 mL) wurde mit 1.77 g Kieselgel versetzt und 20 h am Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde nach Abkühlen über eine Glasfritte filtriert. Das zurückgebliebene Kieselgel wurde mit einem DCM/MeOH (1:1)-Gemisch (5 x 5 mL) gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck eingeeengt. Lösungsmittelreste wurden im Vakuum entfernt.

**Ausbeute:** 526 mg (0.828 mmol, 74%) eines farblosen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 12:1) = 0.19.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 50 °C):  $\delta$  = 0.08 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.88 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.84 (s, 3 H, 7-H), 1.97-2.11 (m, 1 H,  $5'\text{-H}_a$ ), 2.14 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 5.1 Hz, 2 H,  $2'\text{-H}$ ), 2.18-2.31 (m, 1 H,  $5'\text{-H}_b$ ), 3.93-4.04 (m, 1 H,  $4'\text{-H}$ ), 4.18 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H,  $9''\text{-H}$ ), 4.22-4.28 (m, 1 H,  $3'\text{-H}$ ), 4.23-4.28 (m, 3 H,  $6'\text{-H}$ ,  $\text{FmocCH}_2$ ), 6.13 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H,  $1'\text{-H}$ ), 7.26 (dd,  $J$  = 5.1 Hz,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H,  $3''\text{-H}$ ), 7.28 (dd,  $J$  = 5.1 Hz,  $J$  = 1.3 Hz, 1 H,  $6''\text{-H}$ ) 7.32-7.38 (m, 2 H,  $2''\text{-H}$ ,  $7''\text{-H}$ ), 7.42 (s, 1 H, 6-H), 7.61 (d,  $J$  = 6.8 Hz,  $5''\text{-H}$ ), 7.62 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H,  $4''\text{-H}$ ), 7.80 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2 H,  $1''\text{-H}$ ,  $8''\text{-H}$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 50 °C):  $\delta$  = -4.62 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.50 ( $\text{SiCH}_3$ ), 12.30 (C-7), 18.72 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 26.24 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.74 (C-5'), 40.71 (C-2'), 48.15 (C-9''), 53.25 (C-6'), 68.04 ( $\text{FmocCH}_2$ ), 76.59 (C-3'), 85.46 (C-4'), 86.61 (C-1'), 111.89 (C-5), 120.90 (C-1'', C-8''), 126.12 (C-5''), 126.15 (C-4''), 128.10 (C-3''), 128.12 (C-6''), 128.75 (C-2'', C-7''), 137.83 (C-6), 142.57 (C-4''a, C-4''b), 145.25 (C-8''a), 145.27 (C-9''a), 152.21 (C-2), 158.18 ( $\text{Fmoc-C=O}$ ), 166.23 (C-4), 175.36 ( $\text{COOH}$ ).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +47.0^\circ$  ( $c = 1.05$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 119 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2954, 1708, 1513, 1450, 1252, 1052, 836, 778, 739$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 205.5 (4.70), 264.5 (4.41), 287.0 (3.79), 299.0 (3.74).

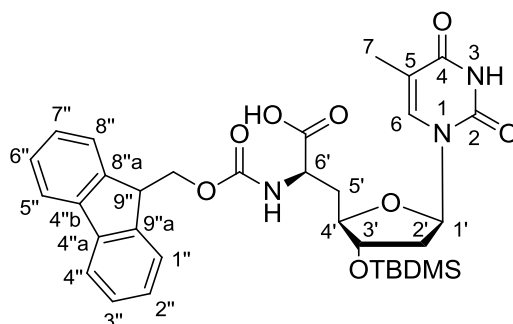
**MS** (ESI):  $m/z = 634.3$  [ $\text{M-H}$ ] $^-$ .

**$\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_8\text{Si}$**  (635.78)

ber.: 634.2590 [ $\text{M-H}$ ] $^-$

gef.: 634.2590 (ESI-HRMS).

### 7.2.2.17 6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS-(R)-TAA 73



(6'R)-73

Die Synthese von (6'*R*)-**73** erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-**73**. Es wurden 730 mg (1.06 mmol) (6'*R*)-**134**, 24 mL Toluol und 1.70 g Kieselgel eingesetzt.

**Ausbeute:** 500 mg (0.787 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 12:1) = 0.19.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 50 °C):  $\delta$  = 0.09 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.89 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.83 (s, 3 H, 7-H), 1.99-2.25 (m, 2 H, 5'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 2.18 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 4.7 Hz, 2 H, 2'-H), 3.92 (ddd,  $J$  = 9.7 Hz,  $J$  = 3.5 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 4'-H), 4.17 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 9''-H), 4.23-4.29 (m, 1 H, 3'-H), 4.23-4.28 (m, 3 H, 6'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 6.19 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 7.25 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 3''-H, 6''-H), 7.34 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 2''-H, 7''-H), 7.40 (s, 1 H, 6-H), 7.60 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 4''-H), 7.61 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 5''-H), 7.70 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 1''-H, 8''-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 50 °C):  $\delta$  = -4.60 (SiCH<sub>3</sub>), -4.54 (SiCH<sub>3</sub>), 12.33 (C-7), 18.75 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.26 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.51 (C-5'), 40.64 (C-2'), 48.15 (C-9''), 53.21 (C-6'), 68.10 (FmocCH<sub>2</sub>), 76.79 (C-3'), 85.09 (C-4'), 86.84 (C-1'), 112.00 (C-5), 120.87 (C-1'', C-8''), 126.17 (C-5''), 126.15 (C-4''), 128.09 (C-3''), 128.12 (C-6''), 128.74 (C-2'', C-7''), 137.68 (C-6), 142.55 (C-4''a, C-4''b), 145.20 (C-8''a), 145.29 (C-9''a), 152.23 (C-2), 158.44 (Fmoc-C=O), 166.18 (C-4), 176.04 (COOH).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +33.3$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 119 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2954, 1707, 1528, 1450, 1253, 1047, 835, 778, 739$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 206 (4.65), 265 (4.35), 287 (3.73), 299 (3.70)$ .

**MS** (ESI):  $m/z = 634.3$  [M-H]<sup>-</sup>.

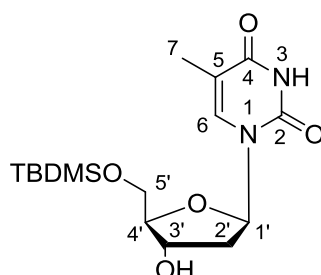
**C<sub>33</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>Si** (634.78)

ber.: 634.2590 [M-H]<sup>-</sup>

gef.: 634.2590 (ESI-HRMS).

## 7.2.3 Synthese der 3'-Aminonucleoside

### 7.2.3.1 5'-O-TBDMS-thymidin 135



**135**

Thymidin **77** (7.00 g, 28.9 mmol) wurde mit abs. Pyridin (2 x 30 mL) coevaporiert. Anschließend wurde das Thymidin in Pyridin (70 mL) gelöst und mit Imidazol (2.16 g, 31.8 mmol) und TBDMS-Chlorid (4.77 g, 31.8 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 2 d bei Raumtemperatur gerührt, mit Wasser (30 mL) versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat (200 mL) aufgenommen, mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (3 x 100 mL) und mit ges. NaCl (50 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol (2 x 30 mL) und DCM (2 x 30 mL) koevaporiert. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 95:5) gereinigt.

**Ausbeute:** 9.16 g (25.6 mmol, 89 %) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.28.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.08 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.89 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.88 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.06 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 5.7 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.37 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 5.6 Hz,  $J$  = 2.0 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.80 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.87 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.04 (dd,  $J$  = 4.5 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.42 (ddd,  $J$  = 5.7 Hz,  $J$  = 2.2 Hz,  $J$  = 2.1 Hz, 1 H, 3'-H), 6.37 (dd,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.51 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -5.50 (SiCH<sub>3</sub>), -5.41 (SiCH<sub>3</sub>), 12.51 (C-7), 18.32 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.89 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 41.10 (C-2'), 63.60 (C-5'), 72.57 (C-3'), 85.01 (C-1'), 87.31 (C-4'), 110.96 (C-5), 135.47 (C-6), 150.56 (C-2), 163.94 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +1.96 ( $c$  = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 189 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2929, 1699, 1472, 1258, 1122, 1060, 1003, 834, 779.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 205 (4.01), 265 (3.97).

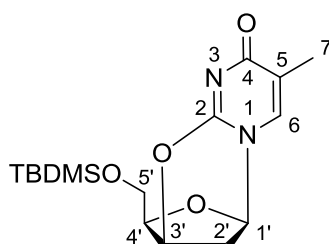
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 379.2 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si** (356.49)

ber.: 379.1665 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 379.1667 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.2 5'-O-TBDMS-2,3'-anhydrothymidin **136**



#### **136**

Eine Lösung von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-thymidin **135** (1.30 g, 3.65 mmol) in abs. DMF (9 mL) wurde mit einer Lösung von DIAD (1.11 g, 1.07 mL, 5.45 mmol) und Triphenylphosphin (1.40 g, 5.48 mmol) in abs. DMF (2 mL) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung in DCM (100 mL) aufgenommen, mit Wasser (3 x 80 mL) und ges. NaCl-Lösung (80 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie an Kieselgel (DCM/MeOH 100:3 → 94:6) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.17 g (3.46 mmol, 95%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH) = 0.20.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.03 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.91 (d,  $J$  = 0.7 Hz, 3 H, 7-H), 2.43 (ddd,  $J$  = 12.8 Hz,  $J$  = 3.8 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.70 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 3.69-3.81 (m, 2 H, 5'-H), 4.25 (ddd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 6.1 Hz,  $J$  = 2.4 Hz, 1 H, 4'-H), 5.17 (s, 1 H, 3'-H), 5.50 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 1'-H), 6.96 (d,  $J$  = 0.7 Hz, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -5.52 (SiCH<sub>3</sub>), -5.47 (SiCH<sub>3</sub>), 13.35 (C-7), 18.19 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.74 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 33.53 (C-2'), 61.23 (C-5'), 76.42 (C-3'), 85.83 (C-4'), 87.49 (C-1'), 118.26 (C-5), 135.22 (C-6), 153.50 (C-2), 171.86 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -45.9$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 174 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2953, 1660, 1615, 1529, 1471, 1257, 1139, 1076, 837$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 237$  (3.96).

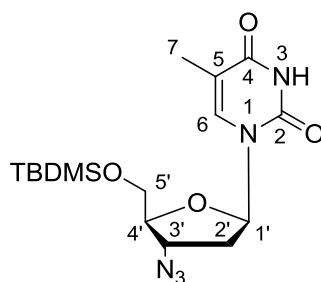
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 361.2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Si** (338.47)

ber.: 361.1560  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 361.1554 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.3 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-azidothymidin 118



**118**

Eine Lösung von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2,3'-anhydrothymidin **136** (8.00 g, 23.5 mmol) DMF (300 mL) wurde mit Natriumazid (7.64 g, 117 mmol) versetzt und 4 h bei 160 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit EtOAc (800 mL) verdünnt, mit Wasser (2 x 400 mL) und ges. NaCl-Lösung (400 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel (*i*Hex/EtOAc 3:2) gereinigt.

**Ausbeute:** 6.09 g (16.0 mmol, 68%) eines farblosen Schaums.

**DC:**  $R_f$  (DCM:MeOH 15:1) = 0.47.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.12$  (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)), 1.91 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, 7-H), 2.21 (ddd,  $J = 13.7$  Hz,  $J = 7.1$  Hz,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.43 (ddd,  $J = 13.7$  Hz,  $J = 6.3$  Hz,  $J = 4.1$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.79 (dd,  $J = 12.0$  Hz,  $J = 2.9$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.91-3.96 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.23 (ddd,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 4.1$  Hz,  $J = 4.1$  Hz, 1 H, 3'-H), 6.22 (dd,  $J = 6.3$  Hz,  $J = 6.3$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.43 (d,  $J = 1.2$  Hz, 1 H, 6-H), 8.65 (brs, 1 H, NH).



**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -5.47$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-5.36$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $12.55$  (C-7),  $18.35$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $25.90$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $37.97$  (C-2'),  $60.48$  (C-3'),  $62.88$  (C-5'),  $84.43$  (C-4'),  $84.51$  (C-1'),  $111.04$  (C-5),  $134.98$  (C-6),  $150.17$  (C-2),  $163.64$  (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +46.5$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2929, 2104, 1706, 1467, 1261, 1127, 834, 781, 420$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) =  $204$  (4.05),  $264$  (3.98).

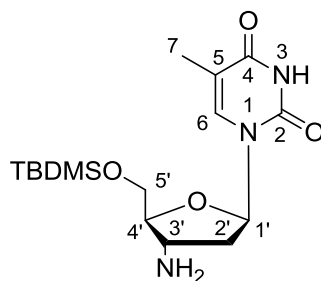
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 404.2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4\text{Si}$**  (381.50)

ber.:  $404.1730$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.:  $404.1728$  (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.3.4 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-aminothymidin 72



#### 72

Eine Lösung von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-desoxy-3'-azidothymidin **118** (2.01 g, 5.28 mmol) in Pyridin (40 mL) wurde auf 0 °C gebracht und mit Triphenylphosphin (2.77 g, 10.6 mmol) versetzt. Anschließend wurde eine 25%ige wässrige Ammoniak-Lösung (3.2 mL) in einem Zeitraum von 30 min zur Reaktionslösung gegeben und das resultierende Gemisch 16 h gerührt. In diesem Zeitraum wurde die Lösung allmählich auf Raumtemperatur erwärmt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol (2 x 50 mL) und Dichlormethan (2 x 50 mL) coevaporiert und dann in DCM (100 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser (2 x 80 mL) und ges. NaCl (80 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 9:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.53 g (4.31 mmol, 82%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.22.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.10$  (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ),  $0.92$  (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $1.91$  (s, 3 H, 7-H),  $2.20$  (dd,  $J = 6.3$  Hz,  $J = 6.3$  Hz, 2 H, 2'-H),  $3.59$ - $3.79$  (m, 1 H, 4'-H),  $3.69$ - $3.75$  (m, 1 H, 3'-H),  $3.83$  (dd,  $J = 11.3$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>),  $3.92$  (dd,

$J = 11.3$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 6.26 (dd,  $J = 6.2$  Hz,  $J = 6.2$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.49 (s, 1 H, 6-H).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = -5.41$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-5.36$  (SiCH<sub>3</sub>), 12.56 (C-7), 18.41 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.92 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 41.70 (C-2'), 51.52 (C-3'), 62.98 (C-5'), 84.46 (C-1'), 87.38 (C-4'), 110.61 (C-5), 135.49 (C-6), 150.37 (C-2), 163.87 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +13.1$  ( $c = 1.1$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 144 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2928, 1697, 1470, 1282, 1121, 1013, 835, 779, 426$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 200 (4.07), 266 (3.97).

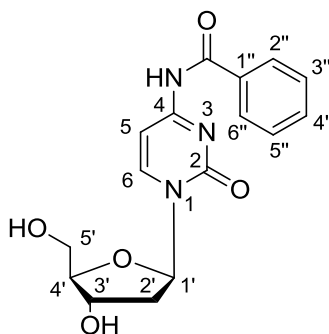
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 356.2$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Si** (355.50)

ber.: 356.2006 [M+H]<sup>+</sup>,

gef.: 356.2010 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.5 4-N-Benzoyl-2'-desoxycytidin **138**<sup>[163]</sup>



#### **138**

2'-Desoxycytidin **137** (5.00 g, 22.0 mmol) wurde mit Pyridin (3 x 60 mL) ko-evaporiert und in Pyridin (95 mL) gelöst. TMSCl (12.9 g, 119 mmol) wurde tropfenweise dazugegeben und die resultierende Lösung 30 min bei RT gerührt. Benzoylchlorid (16.7 g, 13.8 mL, 119 mmol) wurde allmählich dazugegeben und die Lösung weitere 2.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt, langsam mit dest. Wasser (25 mL) versetzt und 5 min. bei 0 °C gerührt. Nachfolgend wurde bei 0 °C wässrige Ammoniaklösung (25%, 60 mL) dazugegeben und das Gemisch 30 min gerührt, wobei die Erwärmung des Gemischs auf RT zugelassen wurde. Die resultierende Suspension wurde zur Trockne eingeeengt und der Rückstand an Kieselgel (DCM/MeOH 95:5→9:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 5.45 g eines weißen Feststoffs. Die erhaltene Verbindung enthielt laut NMR-spektroskopischer Untersuchungen 0.75 Äquivalente Benzoesäure. Daher wurde für die Ausbeute an **138** ein Wert von 56% (12.0 mmol) berechnet.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 8:2) = 0.58.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.07 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.33 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 4.1 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.60 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.66 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.89 (ddd,  $J$  = 3.9 Hz,  $J$  = 3.5 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 4'-H), 4.26 (ddd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 3.5 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 3'-H), 6.15 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 7.34 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.49 (dd,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.60 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 4''-H), 7.95 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.40 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1 H, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 40.91 (C-2'), 60.93 (C-5'), 69.88 (C-3'), 86.15 (C-1'), 87.87 (C-4'), 96.00 (C-5), 128.24, 129.06, 131.31, 132.33 (Ar-H), 144.66 (C-6), 154.10 (C-2), 162.66 (C-4), 167.33 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +84.6 ( $c$  = 1.2, Pyridin).

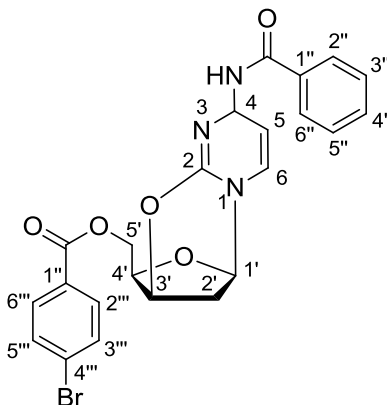
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 354.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Si** (331.32)

ber.: 354.1057 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 354.1060 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.6 O-2,3'-Anhydro-4-N-benzoyl-5'-O-(p-brombenzoyl)-2'-desoxycytidin **96**<sup>[137]</sup>



**96**

4-N-Benzoyl-2'-desoxycytidin **138** (600 mg, 1.81 mmol, verunreinigt mit 0.75 Äq Benzoessäure) wurde in DMF (6.0 mL) gelöst und mit Triphenylphosphin (713 mg, 2.72 mmol), *p*-Brombenzoessäure (547 mg, 2.72 mmol) und DIAD (549 mg, 530  $\mu\text{L}$ , 2.72 mmol) in der angegebenen Reihenfolge bei 0 °C versetzt. Die erhaltene Lösung wurde 1 h bei RT gerührt, auf 0 °C gekühlt und mit Triphenylphosphin (713 mg, 2.72 mmol) und DIAD (549 mg, 530  $\mu\text{L}$ , 2.72 mmol) versetzt. Nach weiterem Rühren für 2.5 h bei RT wurde die Reaktionslösung in auf 0 °C gekühlten Diethylether (50 mL) gegeben. Die Suspension wurde 2 h bei 0 °C aufbewahrt und danach filtriert.

Der Niederschlag wurde mit auf 0 °C gekühltem Diethylether (3 x 10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 620 mg (1.25 mmol, 69%) eines weißen Feststoffes.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH, 8:2) = 0.33.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.58 (ddd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 3.9 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.69 (dd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 1.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.44 (dd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.57-4.63 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>b</sub>), 5.46-5.49 (m, 1 H, 3'-H), 6.00 (d,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H, 1'-H), 6.46 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.43 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.52 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 4''-H), 7.66 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, 6-H), 7.74 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2 H, 2'''-H, 6'''-H), 7.82 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2 H, 3'''-H, 5'''-H), 7.92-7.95 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 32.69 (C-2'), 62.12 (C-5'), 77.59 (C-3'), 81.75 (C-4'), 86.94 (C-1'), 105.57 (C-5), 127.32 (C-4''), 127.87 (C-2'', C-6''), 127.87 (C-4'''), 128.59 (C-3'', C-5''), 130.69 (C-3''', C-5'''), 131.00 (C-1''), 131.36 (C-2''', C-6'''), 136.28 (C-1'''), 139.17 (C-6), 152 (C-2), 161.54 (C-4), 164.23 (Bz-C=O), 177.05 (COO).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +179.6$  ( $c = 0.51$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 230 °C

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1713, 1648, 1480, 1456, 1442, 1280, 1123, 754, 698, 673$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 244 (4.38), 315 (4.01)$ .

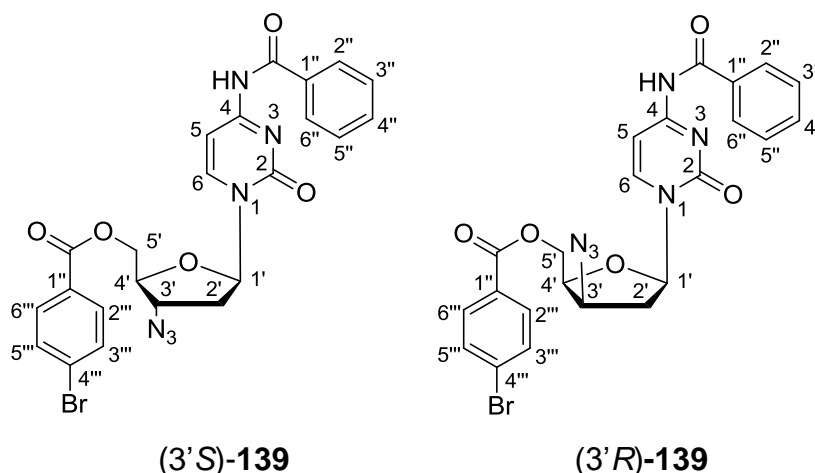
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 496.1$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>** (496.31)

ber.: 496.0500 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 496.0503 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

**7.2.3.7 3'-Azido-4-N-benzoyl-5'-O-(*p*-brombenzoyl)-2',3'-didesoxycytidin (3'S)-139 und 3'-Azido-4-N-benzoyl-5'-O-(*p*-brombenzoyl)-2',3'-dideoxy-3'-xylo-cytidin (3'R)-139**



O-2,3'-Anhydro-4-N-benzoyl-5'-O-(*p*-brombenzoyl)-2'-desoxycytidin **96** (1.27 g, 2.56 mmol) und NaN<sub>3</sub> (665 mg, 10.2 mmol) wurden in DMF (33 mL) gegeben und die Suspension 45 min bei 130 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde in ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (60 mL) gegeben und mit EtOAc (3 x 80 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und bei verringertem Druck zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (*i*Hex/EtOAc 1:6).

**Ausbeute:** Es wurden 1.05 g (1.94 mmol, 76%) eines gelben Schaums erhalten. Es wurden außerdem 33 mg (61 μmol, 2.4%) des 3'-Epimers erhalten.

Analytische Daten von (3'S)-**139**:

**DC:** *R*<sub>f</sub> (*i*Hex/EtOAc 1:6) = 0.40.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2.48 (ddd, *J* = 14.2 Hz, *J* = 7.2 Hz, *J* = 5.0 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.83 (ddd, *J* = 14.2 Hz, *J* = 6.5 Hz, *J* = 6.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.23 (ddd, *J* = 7.2 Hz, *J* = 6.3 Hz, *J* = 5.9 Hz, 1 H, 3'-H), 4.31 (ddd, *J* = 5.9 Hz, *J* = 3.9 Hz, *J* = 3.9 Hz, 1 H, 4'-H), 4.64 (dd, *J* = 11.5 Hz, *J* = 3.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.67 (dd, *J* = 11.5 Hz, *J* = 3.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 6.13 (dd, *J* = 6.5 Hz, *J* = 5.0 Hz, 1 H, 1'-H), 7.51-7.55 (m, 3 H, 3''-H, 5''-H, 5-H), 7.61-7.65 (m, 1 H, 4''-H), 7.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H, 2'''-H, 6'''-H), 7.86-7.91 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H), 7.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 2 H, 3'''-H, 5'''-H), 8.01-8.05 (m, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 38.80 (C-2'), 60.06 (C-3'), 63.70 (C-5'), 82.69 (C-4'), 87.62 (C-1'), 96.37 (C-5), 127.48 (C-4''), 128.90 (C-2'', C-6''), 128.94 (C-4'''), 130.96

(C-3'', C-5''), 131.35 (C-2''', C-6'''), 131.99 (C-1''), 132.78 (C-2''', C-6'''), 133.15 (C-1'''), 143.61 (C-6), 154.36 (C-2), 162.27 (C-4), 165.22 (Bz-C=O), 171.12 (COO).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +77.2$  ( $c = 0.99$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 147 °C.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2100, 1657, 1480, 1250, 1088, 1070, 784, 755, 702, 678$ .

**UV (MeCN):**  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 248 (4.46), 310 (3.92)$ .

**MS (ESI<sup>+</sup>):**  $m/z = 561.0$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>BrN<sub>6</sub>O<sub>5</sub>** (539.33)

ber.: 561.0493  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 561.0484 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

Analytische Daten von (3'*R*)-**139**:

**DC:**  $R_f$  (Hex/EtOAc 1:6) = 0.55

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.42$  (ddd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 9.2$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 3.01 (ddd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 9.0$  Hz,  $J = 4.0$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.14 (dd,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 6.2$  Hz, 1 H, 4'-H), 4.49-4.56 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.59 (dd,  $J = 11.6$  Hz,  $J = 4.7$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 6.16 (d,  $J = 7.8$  Hz, 5-H), 7.00-7.05 (m, 1 H, 6-H), 7.16 (dd,  $J = 9.2$  Hz,  $J = 4.0$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.42-7.46 (m, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.52-7.58 (m, 3 H, 4''-H, 2'''-H, 6'''-H), 7.91 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2 H, 3'''-H, 5'''-H), 8.04-8.08 (m, 2''-H, 6''-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 35.47$  (C-2'), 61.98 (C-3'), 64.91 (C-5''), 82.03 (C-4'), 82.60 (C-1'), 91.16 (C-5), 128.41 (C-3'', C-5''), 128.55 (C-4''), 129.72 (C-2'', C-6''), 129.81 (C-4'''), 131.34 (C-3''', C-5'''), 131.77 (C-2''', C-6'''), 132.96 (C-1'''), 134.93 (C-1'''), 136.97 (C-6), 150.22 (C-2), 154.74 (Bz-C=O), 165.80 (C-4), 177.35 (Ester-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -41.2$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 74 °C.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2098, 1714, 1586, 1570, 1269, 1225, 1108, 1069, 752, 712$ .

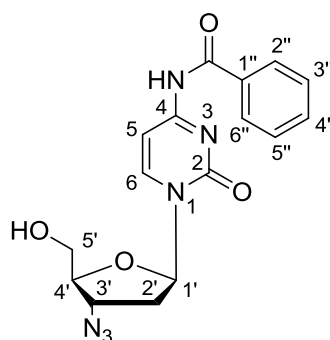
**UV (MeCN):**  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 242 (4.51)$ .

**MS (ESI<sup>+</sup>):**  $m/z = 561.0$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>BrN<sub>6</sub>O<sub>5</sub>** (539.33)

ber.: 561.0493  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 561.0490 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

7.2.3.8 3'-Azido-4-*N*-benzoyl-2',3'-dideoxycytidin 140

140

Eine Lösung von 3'-Azido-4-*N*-benzoyl-5'-*O*-(*p*-brombenzoyl)-2',3'-dideoxycytidin (3'*S*)-**139** (1.78 g, 3.31 mmol) in THF (20 mL) wurde bei 0 °C über einen Zeitraum von 2 h mit einer 1 M Lösung von LiOH·H<sub>2</sub>O (13.2 mL, 13.3 mmol) versetzt und bei 0-5 °C drei weitere Stunden gerührt, bis anhand von Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 15:1) vollständiger Umsatz des Edukts nachgewiesen werden konnte. Die Reaktionslösung wurde in DCM (100 mL) aufgenommen, mit ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (50 mL) und ges. NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen und unter vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt.

**Ausbeute:** Es wurden 1.17 g (3.28 mmol, 99%) eines gelben Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 50:3) = 0.41.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 2.41 (ddd,  $J$  = 13.7 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 5.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.49 (ddd,  $J$  = 13.7 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.65 (ddd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 5.2 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.73 (ddd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 5.2 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.97 (ddd,  $J$  = 5.1 Hz,  $J$  = 3.8 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 4'-H), 4.39 (ddd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 5.1 Hz,  $J$  = 5.0 Hz, 1 H, 3'-H), 5.27 (dd,  $J$  = 5.2 Hz, 1 H, OH), 6.09 (dd,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 5.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.37 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.52 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.63 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 4''-H), 8.03 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.40 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 6-H), 11.23 (brs, 1 H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  = 38.14 (C-2'), 59.97 (C-3'), 60.88 (C-5'), 85.43 (C-4'), 86.43 (C-1'), 96.52 (C-5), 128.89 (C-3'', C-5''), 128.92 (C-2'', C-6''), 133.17 (C-4''), 133.64 (C-1''), 145.37 (C-6), 154.76 (C-2), 163.52 (C-4), 167.80 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +97.3^\circ$  ( $c = 1.00$ , MeOH).

**Schmelzpunkt:** 170 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 2100, 1638, 1480, 1384, 1298, 1242, 1232, 1050, 788, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 255 (3.97), 310 (3.67).

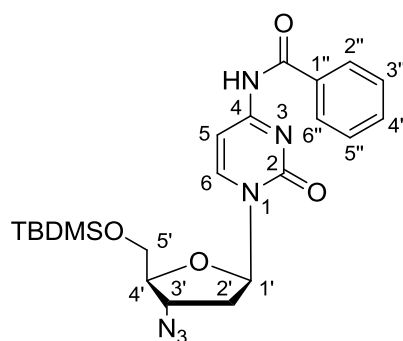
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 379.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>** (356.12)

ber.: 379.1125 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 379.1127 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.9 3'-Azido-4-N-benzoyl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxycytidin **97**



**97**

3'-Azido-4-N-benzoyl-2',3'-dideoxycytidin (1.07 g, 3.00 mmol) **140** wurde mit abs. Toluol koevaporiert (3 x 7 mL) und anschließend in DMF (4 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wurden NEt<sub>3</sub> (1.28 mL, 936 mg, 9.27 mmol) und TBDMSCI (698 mg, 4.64 mmol) gegeben und die so erhaltene Lösung 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde in 50 mL EtOAc aufgenommen, mit dest. Wasser (3 x 30 mL) und ges. wässriger NaCl-Lösung (30 mL) gewaschen und unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt. Der erhaltene Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (*i*Hex/EtOAc 2:3).

**Ausbeute:** Es wurden 1.03 g (2.19 mmol, 73%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (*i*Hex/EtOAc 2:3) = 0.20.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.14 (s, 3 H, SiCH<sub>3a</sub>), 0.15 (s, 3 H, SiCH<sub>3b</sub>), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.40 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 4.1 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.66 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.84 (dd,  $J$  = 11.7 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.01 (ddd,  $J$  = 5.9 Hz,  $J$  = 2.2 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.06 (dd,  $J$  = 11.7 Hz,  $J$  = 2.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.19 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 3'-H), 6.19 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 4.1 Hz, 1 H, 1'-H), 7.48-7.53 (m, 3 H, 5-H, 3''-H, 5''-H), 7.58-7.63 (m, 1 H, 4''-H), 7.90 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.41 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, 6-H), 8.82 (brs, 1 H, NH).



**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -5.55$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-5.43$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $18.37$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $25.91$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $39.08$  (C-2'),  $58.46$  (C-3'),  $61.83$  (C-5'),  $85.29$  (C-4'),  $86.63$  (C-1'),  $96.20$  (C-5),  $127.56$  (C-4''),  $129.05$  (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''),  $133.19$  (C-1''),  $144.48$  (C-6),  $154.69$  (C-2),  $162.28$  (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +86.4$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:**  $68\text{ }^\circ\text{C}$ .

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 2100, 1661, 1481, 1313, 1247, 1113, 1070, 831, 779, 703$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) =  $257$  (4.27),  $310$  (3.92).

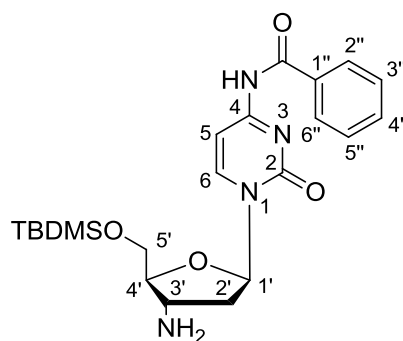
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 471.2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_4\text{Si}$**  (470.21)

ber.:  $471.2171$   $[\text{M}+\text{H}]^+$

gef.:  $471.2172$  ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).

### 7.2.3.10 3'-Amino-4-N-benzoyl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxycytidin **90**



**90**

Eine Lösung von 3'-Azido-4-N-benzoyl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxycytidin **97** (1.10 g, 2.33 mmol) in Methanol (6 mL) wurde mit Palladium (44 mg, 0.42 mmol, 10% auf Aktivkohle) und 1,4-Cyclohexadien (933 mg, 1.09 mL, 11.7 mmol) versetzt. Die Lösung wurde 4 h gerührt. Anschließend wurde die Lösung filtriert und das Filtrat zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 9:1) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 855 mg (1.92 mmol, 82%) eines gelben Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.28.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.13$  (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ),  $0.15$  (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ),  $0.95$  (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $2.34$ - $2.39$  (m, 2 H, 2'-H),  $3.57$  (ddd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 1 H, 3'-H),  $3.76$  (ddd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 2.6$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 4'-H),  $3.87$  (dd,  $J = 11.6$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 5-H<sub>a</sub>),  $4.05$  (dd,  $J = 11.6$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>),  $6.18$  (dd,  $J = 5.4$  Hz,  $J = 4.3$  Hz, 1 H, 1'-H),  $7.40$ - $7.53$  (m, 1 H, 5-H),  $7.48$ - $7.52$  (m,

2 H, 3''-H, 5''-H), 7.57-7.61 (m, 1 H, 4''-H), 7.90 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.53 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1 H, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -5.33$  ( $\text{SiCH}_3$ ), 18.45 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.98 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 43.21 (C-2'), 49.25 (C-3'), 61.52 (C-5'), 86.52 (C-4'), 88.21 (C-1'), 95.97 (C-5), 127.54 (C-4''), 129.00 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 133.08 (C-1''), 145.05 (C-6), 154.87 (C-2), 162.07 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +65.3$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**Schmelzpunkt:** 70 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1647, 1480, 1390, 1303, 1250, 1123, 831, 779, 707, 673$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 256 (4.34), 310 (3.98).

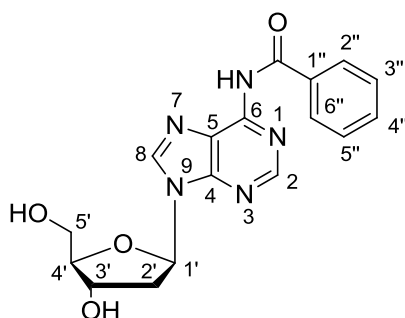
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 445.2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$**  (444.22)

ber.: 445.2266  $[\text{M}+\text{H}]^+$

gef.: 445.2265 ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).

### 7.2.3.11 6-*N*-Benzoyl-2'-desoxyadenosin 141<sup>[163]</sup>



**141**

2'-Desoxyadenosin-Monohydrat (10.0 g, 37.2 mmol) wurde mit abs. Pyridin (3 x 100 mL) coevaporiert und in abs. Pyridin (170 mL) suspendiert. Die Suspension wurde über einen Zeitraum von 10 min mit TMSCI (21.8 g, 200 mmol, 25.6 mL) versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Zur resultierten Lösung wurde allmählich Benzoylchlorid (28.1 g, 200 mmol, 23.0 mL) gegeben. Nach 2 h Rühren bei RT wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit dest. Wasser (50 mL) versetzt. Nach weiteren 5 min. wurde wässrige Ammoniak-Lösung (113 mL, 25%) dazugegeben und das Gemisch 30 min. gerührt, wobei eine Erwärmung der Lösung auf RT zugelassen wurde. Anschließend wurde die Lösung unter verringertem Druck zur Trockne eingeeengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 95:5→9:1) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 13.5 g eines weißen Feststoffs erhalten. Laut NMR-spektroskopischen Befunden war das Produkt durch Benzoesäure (0.6 Äq.) verunreinigt. Daher ergab sich eine berechnete Ausbeute von 11.2 g (31.4 mmol, 85%).

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.22.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.39 (ddd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.81 (ddd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.57 (dd,  $J$  = 11.7 Hz,  $J$  = 4.6 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.66 (dd,  $J$  = 11.7 Hz,  $J$  = 4.6 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.93 (ddd,  $J$  = 4.6 Hz,  $J$  = 4.6 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.48 (ddd,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 3.2 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 3'-H), 6.50 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.46-7.50 (m, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.63-7.67 (m, 1 H, 4''-H), 8.05-8.08 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.69 (s, 1 H, 2-H), 8.76 (s, 1 H, 8-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 40.00 (C-2'), 62.10 (C-5'), 71.16 (C-3'), 84.23 (C-1'), 88.50 (C-4'), 126.38 (C-5), 128.83 (C-3'', C-5''), 128.95 (C-2'', C-6''), 132.76 (C-4''), 133.92 (C-1''), 143.50 (C-8), 150.07 (C-4), 150.82 (C-6), 151.95 (C-2), 166.19 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -8.7$  ( $c = 0.52$ , H<sub>2</sub>O/Pyridin 1:1)

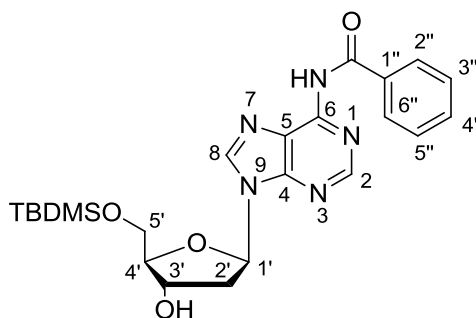
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 356.1$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>** (355.35)

ber.: 356.1353 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 356.1349 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.12 6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxyadenosin **98**



### **98**

6-*N*-Benzoyl-2'-desoxyadenosin **141** (14.0 g, 39.4 mmol) wurde mit Pyridin (2 x 80 mL) coevaporiert und in Pyridin (80 mL) gelöst. TBDMSCl (8.31 g, 55.16 mmol) wurde dazugegeben und die Reaktionslösung 1.5 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von Methanol (7 mL) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem

Druck entfernt und der Rückstand in DCM (400 mL) aufgenommen, mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (200 mL) und ges. NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Die organische Phase wurde zur Trockne eingeeignet und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 95:5) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 14.7 g (31.2 mmol, 80%) eines weißen Schaums erhalten.

**DC:** R<sub>f</sub> (DCM/MeOH 95:5) = 0.20.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)), 2.60 (ddd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 6.6 Hz, *J* = 4.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.78 (ddd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 6.5 Hz, *J* = 6.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.89 (d, *J* = 4.1 Hz, 2 H, 5'-H), 4.11 (ddd, *J* = 4.0 Hz, *J* = 4.0 Hz, *J* = 4.0 Hz, 1 H, 4'-H), 4.72 (ddd, *J* = 6.0 Hz, *J* = 3.8 Hz, *J* = 3.8 Hz, 1 H, 3'-H), 6.55 (dd, *J* = 6.5 Hz, *J* = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.53 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 7.5 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 1 H, 4''-H), 8.03 (d, *J* = 7.5 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.32 (s, 1 H, 2-H), 8.81 (s, 1 H, 8-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -5.45 (SiCH<sub>3</sub>), -5.37 (SiCH<sub>3</sub>), 18.39 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 25.95 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 41.06 (C-2'), 63.48 (C-5'), 72.51 (C-3'), 84.58 (C-1'), 87.15 (C-4'), 123.26 (C-5), 127.91 (C-3'', C-5''), 128.80 (C-2'', C-6''), 132.73 (C-4''), 133.80 (C-1''), 141.37 (C-8), 149.44 (C-4), 151.32 (C-6), 152.66 (C-2), 164.72 (Bz-C=O).

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -18.3 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 59 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2926, 1695, 1609, 1580, 1452, 1247, 1070, 831, 779, 702.

**UV** (MeCN): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 228 (4.00), 281 (3.96).

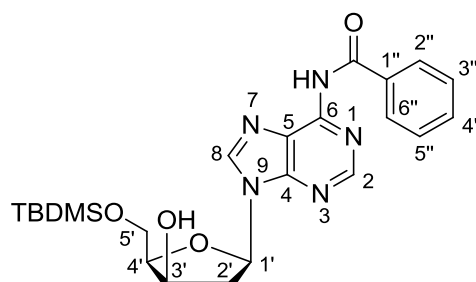
**MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* = 470.2 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si** (469.21)

ber.: 470.2218 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 470.2217 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.13 6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxy-3'-*xylo*-adenosin 100



100

Eine Lösung von DMP (2.70 g, 6.36 mmol) in DCM (40 mL) wurde bei 0 °C mit 6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxyadenosin **98** (2.00 g, 4.25 mmol) versetzt und 30 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und weitere 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Isopropanol (40 mL) versetzt und auf -60 °C gekühlt. Frisch gemörseretes NaBH<sub>4</sub> (320 mg, 8.46 mmol) wurde dazugegeben und die Reaktion 16 h bei -60 °C gerührt. Die erhaltene Lösung wurde mit Aceton (40 mL) versetzt und in EtOAc (300 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden vereint und mit EtOAc (100 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden bei vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 1.43 g (3.04 mmol, 72%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.30.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.87 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.56 (dd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.86 (ddd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 9.1 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.97-4.03 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.05-4.12 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.51-4.57 (m, 1 H, 3'-H), 5.72-5.80 (m, 1 H, 3'-OH), 6.30 (dd,  $J$  = 9.1 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.51 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.59 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 4''-H), 8.00 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.33 (s, 1 H, 2-H), 8.77 (s, 1 H, 8-H), 9.09 (s, 1 H, 6-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -5.40 (SiCH<sub>3</sub>), 18.30 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.86 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 40.96 (C-2'), 62.13 (C-5'), 71.14 (C-3'), 84.19 (C-1'), 84.75 (C-4'), 123.83 (C-5), 127.87 (C-2'', C-6''), 128.86 (C-3'', C-5''), 132.85 (C-4''), 133.59 (C-1''), 133.61 (C-8), 143.09 (C-4), 149.86 (C-6), 152.08 (C-2), 164.52 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = -28.0 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 80 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2926, 1695, 1609, 1580, 1452, 1250, 1065, 832, 779, 702.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 228 (4.11), 281 (4.16).

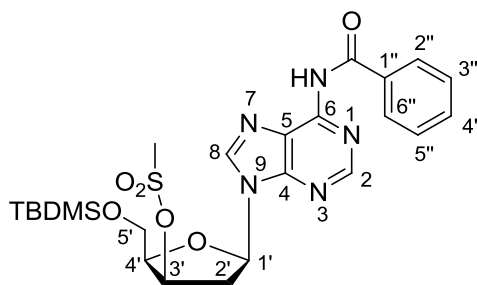
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 470.2 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si** (469.21)

ber.: 470.2218 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 470.2217 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.14 3'-O-Mesyl-6-N-Benzoyl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxy-3'-xylo-adenosin Ms-100<sup>[135]</sup>



**Ms-100**

Eine Lösung von 6-*N*-Benzoyl-5'-O-TBDMS-2'-desoxy-3'-xyloadenosin **100** (500 mg, 1.06 mmol) in Pyridin (8 mL) wurde bei 0 °C langsam mit Methansulfonsäurechlorid (410 µL, 610 mg, 5.30 mmol) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur gebracht und 4 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde in Dichlormethan (100 mL) aufgenommen und mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (1 x 50 mL) Wasser (1 x 50 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zur Trockne eingengt. Der ölige Rückstand wurde mit Toluol (2 x 4 mL) und Dichlormethan (1 x 10 mL) koevaporiert und die Lösungsmittelreste mittels Hochvakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

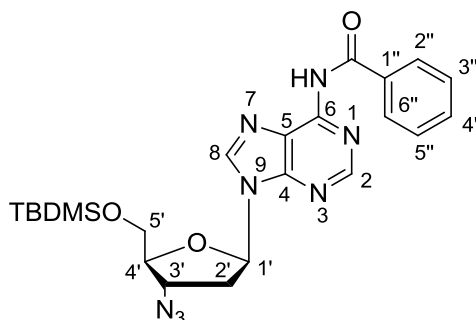
**Ausbeute:** Es wurden 580 mg eines rotbraunen, verunreinigten Öls erhalten (100% Ausbeute: 580 mg, 1.06 mmol).

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.94-2.97 (m, 2 H, 2'-H), 3.00 (s, 3 H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.95 (dd, *J* = 10.5 Hz, *J* = 7.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.98 (dd, *J* = 10.5 Hz, *J* = 5.6 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.24 (ddd, *J* = 7.3 Hz, *J* = 5.6 Hz, *J* = 3.5 Hz, 1 H, 4'-H), 5.37-5.40 (m, 1 H, 3'-H), 6.57 (dd, *J* = 6.8 Hz, *J* = 3.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.49 (dd, *J* = 7.4 Hz, *J* = 7.4 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.58 (t, *J* = 7.4 Hz, 1 H, 4''-H), 8.01 (d, *J* = 7.4 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.37 (s, 1 H, 2-H), 8.75 (s, 1 H, 8-H), 9.17 (brs, 1 H, 6-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -5.38 (SiCH<sub>3</sub>), 18.25 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.83 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.54 (C-2'), 39.89 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 60.25 (C-5'), 78.24 (C-3'), 83.08 (C-1'), 83.25 (C-4'), 123.16 (C-5), 127.91 (C-2'', C-6''), 128.84 (C-3'', C-5''), 132.75 (C-4'', C-1''), 133.69 (C-8), 141.07 (C-4), 149.56 (C-6), 151.61 (C-2), 164.78 (Bz-C=O).

Diese Substanz wurde nicht chromatographisch gereinigt und enthielt daher Verunreinigungen. Aus diesem Grund wurde auf eine Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

### 7.2.3.15 3'-Azido-6-N-Benzoyl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxyadenosin **102**



**102**

#### Variante 1:<sup>[137]</sup>

Eine Suspension von **100** (30 mg, 64  $\mu$ mol) und  $\text{NaN}_3$  (13 mg, 0.20 mmol) in abs. DMF (0.2 mL) wurde mit einer Lösung von DIAD (19 mg, 96  $\mu$ mol) und Dipenyl-2-Pyridylphosphin (25 mg, 96  $\mu$ mol) in DMF (0.1 mL) versetzt und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (0.1 mL) versetzt und in Ethylacetat (5 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (5 mL) und ges. NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/EtOAc 3:2). Es konnte kein Produkt isoliert werden.

#### Variante 2:<sup>[134]</sup>

Eine Lösung von **100** (30 mg, 64  $\mu$ mol) in abs. DMF (0.34 mL) wurde mit  $\text{LiN}_3$  (9.4 mg, 0.19 mmol),  $\text{PPh}_3$  (25 mg, 96  $\mu$ mol) und DIAD (19 mg, 96  $\mu$ mol) versetzt und 6 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (0.1 mL) versetzt und in Ethylacetat (5 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (5 mL) und ges. NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3). Es konnte kein Produkt isoliert werden.

*Variante 3.*<sup>[168]</sup>

Eine Lösung von **100** (340 mg, 0.723 mmol) und PPh<sub>3</sub> (285 mg, 1.09 mmol) in abs. THF (3 mL) wurde bei 0 °C mit einer Lösung von DPPA (243 µL, 298 mg, 1.09 mmol) und DIAD (213 µL, 219 mg, 1.09 mmol) in abs THF (2 mL) versetzt. Anschließend wurde ein Erwärmen der Reaktionslösung auf RT zugelassen und für weitere 3 h gerührt. Es wurde Ethanol (2 mL) dazugegeben und die Lösung weitere 30 min gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in Ethylacetat (50 mL) aufgenommen, mit Wasser (50 mL) und ges. NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 40 mg eines gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 357 mg, 0.723 mmol). Anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass die erhaltene Verbindung verunreinigt war (vermutlich aus dem DIAD gebildete Hydrazinderivate).

*Variante 4.*<sup>[131-132]</sup>

Eine Lösung von **100** (50 mg, 0.11 mmol) in einem 10:1-Gemisch aus abs. DCM und abs. Pyridin (1.1 mL) wurde auf -30 °C heruntergekühlt und mit einer Lösung von Tf<sub>2</sub>O (26 µL, 45 mg, 0.16 mmol) in abs. DCM (0.23 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf RT erwärmt und weitere 15 min gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von LiN<sub>3</sub> (52 mg, 1.1 mmol) in abs. DMF (1 mL) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in ein Gemisch aus DCM (30 mL) und Wasser (10 mL) überführt. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (2 x 10 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3). Es konnte kein Produkt isoliert werden.

*Variante 5.*<sup>[133]</sup>

**100** (30 mg, 64 µmol) und LiN<sub>3</sub> (31 mg, 0.64 mmol) wurden mit abs. Toluol coevaporiert (3 x 1 mL) und in abs. DMF (0.2 mL) gelöst. Es wurden Tetrabrommethan (42 mg, 0.13 mmol) und PPh<sub>3</sub> (34 mg, 0.13 mmol) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 24 h bei RT gerührt. Es konnte per Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 95:5) nur Zersetzung des Edukts nachgewiesen werden.



**Variante 6.**<sup>[135]</sup>

Eine Suspension von 3'-O-Mesyl-6-*N*-Benzoyl-5'-O-TBDMS-2'-desoxy-3'-xylo-adenosin Ms-**100** (580 mg, 1.06 mmol) und NaN<sub>3</sub> (640 mg, 9.8 mmol) in abs. DMF (16 mL) wurde bei 110 °C 1.5 h gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung in Ethylacetat (100 mL) aufgenommen und mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub> (2 x 50 mL), Wasser (2 x 50 mL) und ges. wässriger NaCl (1 x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und bei vermindertem Druck zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 313 mg (633 µmol, 60%) eines gelben hochviskosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (iHex/EtOAc 3:2) = 0.29.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.61 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.91 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.84 (dd,  $J$  = 11.3 Hz,  $J$  = 3.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.95 (dd,  $J$  = 11.3 Hz,  $J$  = 4.1 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.07-4.11 (m, 1 H, 4'-H), 4.49 (ddd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1 H, 3'-H), 6.43 (dd,  $J$  = 5.8 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 1'-H), 7.52 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.60 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 4''-H), 8.02 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.30 (s, 1 H, 2-H), 8.79 (s, 1 H, 8-H), 9.05 (brs, 1 H, 6-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = -5.47 (SiCH<sub>3</sub>), -5.36 (SiCH<sub>3</sub>), 18.40 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.93 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.10 (C-2'), 60.49 (C-3'), 62.75 (C-5'), 84.49 (C-4'), 85.13 (C-1'), 123.44 (C-5), 127.87 (C-2'', C-6''), 128.87 (C-3'', C-5''), 132.76 (C-4''), 133.76 (C-6, C-1''), 141.36 (C-8), 149.58 (C-4), 151.20 (C-6), 152.67 (C-2), 164.57 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = -9.0 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2926, 2100, 1695, 1609, 1452, 1247, 1070, 835, 774, 702.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 279 (4.43).

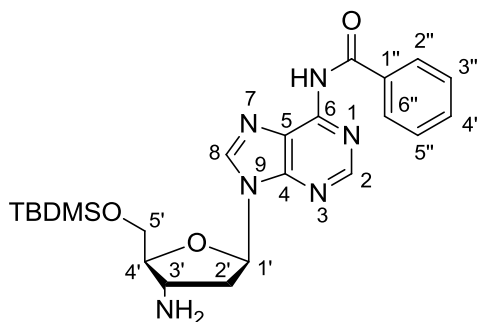
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 495.2 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>Si** (494.62)

ber.: 495.2283 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 495.2284 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.16 3'-Amino-6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2',3'-dideoxyadenosin 91



#### 91

Eine Lösung von 3'-Azido-6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2',3'-dideoxyadenosin **102** (2.34 g, 4.91 mmol) in Methanol (150 mL) wurde mit Palladium (52 mg, 0.49 mmol, auf Aktivkohle, 10%) versetzt und 20 h unter einer Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Die Suspension wurde durch Filtration über Celite® vom Palladium-Katalysator befreit und das Filtrat bei vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt.

**Ausbeute:** Es wurden 1.45 g (3.10 mmol, 92%) eines bräunlich-gelben Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.41.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, MeOD):  $\delta$  = 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.92 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.50 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.83 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.84-3.91 (m, 2 H, 3'-H, 4'-H), 3.93 (dd,  $J$  = 11.3 Hz,  $J$  = 3.4 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 4.01 (dd,  $J$  = 11.3 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 6.54 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.58 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.67 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 4''-H), 8.02 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2 H, 2''-H, 6''-H), 8.68 (s, 1 H, 2-H), 8.72 (s, 1 H, 8-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, MeOD):  $\delta$  = -6.71 (SiCH<sub>3</sub>), 17.90 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.05 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.10 (C-2'), 60.49 (C-3'), 62.75 (C-5'), 84.49 (C-4'), 85.13 (C-1'), 123.44 (C-5), 127.87 (C-2'', C-6''), 128.87 (C-3'', C-5''), 132.76 (C-4''), 133.76 (C-6, C-1''), 141.36 (C-2), 149.58 (C-4), 151.20 (C-2), 152.67 (C-8), 164.57 (Bz-C=O).

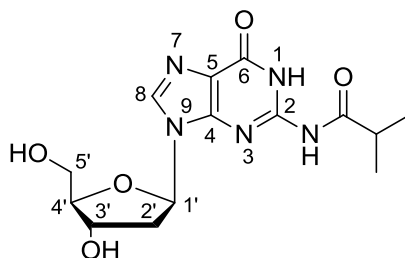
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = -15.0 ( $c$  = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 70 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2926, 1685, 1609, 1580, 1447, 1250, 1070, 835, 779, 707.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 223 (3.86), 259 (3.48).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 469.2 [M+H]<sup>+</sup>.

$C_{23}H_{32}N_6O_3Si$  (468.23)ber.: 469.2378  $[M+H]^+$ gef.: 469.2374 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).**7.2.3.17 2-*N*-Isobutyryl-2'-desoxyguanosin 142**<sup>[163]</sup>**142**

2'-Desoxyguanosin-monohydrat (10.0 g, 35 mmol) wurde mit Pyridin coevaporiert (3 x 100 mL) und anschließend in Pyridin (170 mL) suspendiert. Die Suspension wurde über einen Zeitraum von 10 min mit TMSCl (19.1 g, 175 mmol, 22.4 mL) versetzt und 15 min bei RT gerührt. Zur resultierenden Lösung wurde Isobuttersäureanhydrid (27.7 g, 175 mmol, 29.0 mL) gegeben und die Lösung 3 h bei RT gerührt. Die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt und dann mit Wasser (35 mL) versetzt und weitere 5 min gerührt. Es folgte die Zugabe einer 25% wässrigen Ammoniak-Lösung (60 mL). Die Lösung wurde weitere 30 min gerührt, wobei eine Erwärmung auf RT zugelassen wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 9:1→8:2) gereinigt. Die gesammelten Fraktionen, die das Produkt enthielten, wurden zur Trockne eingengt und der Rückstand in Wasser (540 mL) suspendiert. Die Suspension wurde unter Rühren auf ca 80 °C erwärmt, sodass eine klare Lösung entstand. Nach Abkühlen der Lösung auf RT wurde der Niederschlag durch Filtration abgetrennt. Das Filtrat wurde mit 200 mL Et<sub>2</sub>O überschichtet und über Nacht bei 5 °C aufbewahrt. Der resultierende Niederschlag wurde wiederum abgetrennt und zum bereits bei der ersten Fällung erhaltenen Feststoff dazugegeben. Der erhaltene Feststoff wurde 12 h im Vakuum getrocknet.

**Ausbeute:** Es wurden 7.87 g (23.3 mmol, 67%) eines weißen, feinpulvrigen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 8:2) = 0.43.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.13 (dd, *J* = 6.8 Hz, *J* = 1.0 Hz, 6 H, CH<sub>3</sub>), 2.28 (ddd, *J* = 13.2 Hz, *J* = 6.1 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.57 (ddd, *J* = 13.2 Hz, *J* = 7.5 Hz, *J* = 5.7 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.78 (qq, *J* = 6.8 Hz, *J* = 6.8 Hz, 1 H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.52 (dt, *J* = 11.7 Hz, *J* = 4.8 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.58 (ddd, *J* = 11.7 Hz, *J* = 4.8 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.85 (ddd, *J* = 4.8 Hz, *J* = 4.8 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1 H, 4'-H), 4.38 (ddd, *J* = 3.7 Hz, *J* = 3.3 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1 H, 3'-H), 4.92 (dd, *J* = 5.4 Hz, *J* = 5.4 Hz, 1 H, 5'-OH), 5.28 (d, *J* = 3.7 Hz, 1 H, 3'-OH), 6.22 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 6.1 Hz, 1 H, 1'-H), 8.23 (s, 1 H, 8-H), 11.64 (brs, *i*Bu-NH), 12.07 (brs, 1-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 19.32 (CH<sub>3</sub>), 35.22 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 39.93 (C-2'), 61.96 (C-5'), 70.95 (C-3'), 83.41 (C-1'), 88.21 (C-4'), 120.66 (C-5), 137.84 (C-8), 148.54 (C-4), 148.84 (C-2), 155.30 (C-6), 180.57 (*i*Pr-C=O).

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -19.3 (c = 1.0, Pyridin)

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 270 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1704, 1675, 1600, 1551, 1212, 1184, 1156, 1088, 1055, 1040.

**UV** (MeCN): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 200 (4.51), 257 (4.20), 283 (4.11).

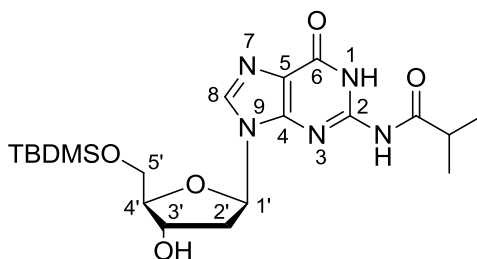
**MS** (ESI<sup>+</sup>): *m/z* = 360.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Si** (337.14)

ber.: 360.1282 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 360.1278 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.18 2-*N*-Isobutyryl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxyguanosin 99



**99**

2-*N*-Isobutyryl-2'-desoxyguanosin **142** (7.87 g, 23.4 mmol) wurde mit abs. Pyridin koevaporiert (3 x 40 mL) und anschließend in abs. Pyridin (50 mL) suspendiert. Die Suspension wurde mit TBDMSCl (3.88 g, 25.7 mmol) versetzt und 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Dichlormethan (300 mL) aufgenommen und mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (1 x 150 mL), Wasser (1 x 150 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 150 mL) gewaschen. Die gesammelten wässrigen Phasen wurden mit 100 mL Dichlormethan reextrahiert. Die gereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und zur

Trockne eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 9:1) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 9.39 g (20.8 mmol, 89%) eines weißen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 97:3) = 0.27.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.02 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.83 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.25 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H,  $\text{CH}_{3a}$ ), 1.27 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H,  $\text{CH}_{3b}$ ), 2.27-2.35 (m, 2 H, 2'-H), 3.00 (qq,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 3.74-3.83 (m, 2 H, 5'-H), 4.05-4.09 (m, 1 H, 4'-H), 4.51-4.56 (m, 1 H, 3'-H), 4.75-4.81 (m, 1 H, 3'-OH), 5.98 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 8.03 (s, 1 H, 8-H), 11.24 (brs,  $i\text{Pr-NH}$ ), 12.47 (brs, 1-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -5.52 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5.44 ( $\text{SiCH}_3$ ), 18.35 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 19.03 ( $\text{CH}_{3a}$ ), 19.10 ( $\text{CH}_{3b}$ ), 25.92 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.05 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 41.68 (C-2'), 63.76 (C-5'), 71.63 (C-3'), 84.37 (C-1'), 87.89 (C-4'), 120.45 (C-5), 137.43 (C-8), 148.33 (C-4), 148.72 (C-2), 156.35 (C-6), 180.69 ( $i\text{Pr-C=O}$ ).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +7.4$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 138 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1671, 1605, 1557, 1470, 1399, 1250, 1098, 1070, 831, 779$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 200 (4.48), 257 (4.18), 283 (4.10).

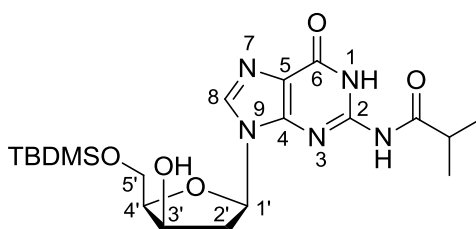
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 452.2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**$\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si}$**  (451.23)

ber.: 452.2323  $[\text{M}+\text{H}]^+$

gef.: 452.2324 ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).

### 7.2.3.19 2-*N*-Isobutyryl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxy-3'-xylo-guanosin 101



**101**

Eine Lösung von DMP (2.82 g, 6.65 mmol) in DCM (40 mL) wurde bei 0 °C mit *N*-2-Isobutyryl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxyguanosin **99** (2.00 g, 4.43 mmol) versetzt und 20 min bei 0 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und 7 h gerührt. Es wurden *i*PrOH (40 mL) dazugegeben und die Lösung auf -60 °C gekühlt. Anschließend wurde fein gemörseretes  $\text{NaBH}_4$  (340 mg, 8.99 mmol)

dazugegeben und die Reaktionslösung 16 h bei -60 °C gerührt. Die erhaltene Suspension wurde mit Aceton (40 mL) versetzt und in EtOAc (300 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit ges. NaHCO<sub>3</sub> (2 x 100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden vereint und mit EtOAc (100 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden bei vermindertem Druck zur Trockne eingengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 95:5).

**Ausbeute:** Es wurden 1.60 g (3.55 mmol, 80%) eines weißen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 93:7) = 0.36.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 0.03 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.12 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H, CHCH<sub>3a</sub>), 1.13 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H, CHCH<sub>3b</sub>), 2.23-2.28 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.71 (ddd,  $J$  = 14.4 Hz,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 5.2 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.78 (qq,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, CHCH<sub>3</sub>), 3.78 (dd,  $J$  = 10.6 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.94-4.01 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.36-4.40 (m, 1 H, 3'-H), 5.36 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 3'-OH), 6.15 (dd,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 1.9 Hz, 1 H, 1'-H), 8.17 (s, 1 H, 8-H), 11.69 (brs, *t*Bu-NH), 12.07 (brs, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = -4.82 (SiCH<sub>3</sub>), -4.90 (SiCH<sub>3</sub>), 18.48 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 19.31 (CH<sub>3a</sub>), 19.32 (CH<sub>3b</sub>), 26.27 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.20 (CHCH<sub>3</sub>), 41.51 (C-2'), 62.56 (C-5'), 69.31 (C-3'), 83.00 (C-1'), 85.84 (C-4'), 120.35 (C-5), 137.49 (C-8), 148.50 (C-4), 148.67 (C-2), 155.32 (C-6), 180.58 (*t*Pr-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = -10.8 (c = 0.99, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 67 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1670, 1604, 1556, 1399, 1247, 1093, 1065, 831, 779.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 200 (4.47), 253 (4.10), 283 (3.98).

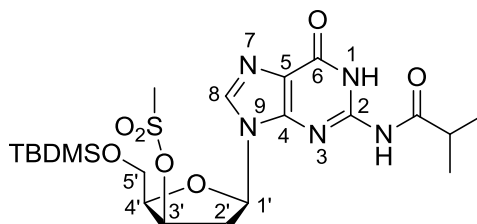
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 474.2 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>20</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Si** (451.23)

ber.: 474.2143 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 474.2146 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.3.20 3'-O-Mesyl-2-N-Isobutyryl-5'-O-TBDMS-2'-desoxy-3'-xylo-guanosin Ms-101<sup>[135]</sup>



Ms-101

Eine Lösung von 6-*N*-Benzoyl-5'-*O*-TBDMS-2'-desoxy-3'-xylo-guanosin **101** (500 mg, 1.11 mmol) in Pyridin (16 mL) wurde bei 0 °C langsam mit Methansulfon-säurechlorid (430 µL, 630 mg, 5.55 mmol) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf Raumtemperatur gebracht und 4 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde in Dichlormethan (100 mL) aufgenommen und mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) Wasser (50 mL) und ges. NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zur Trockne eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde mit Toluol (2 x 4 mL) und Dichlormethan (10 mL) koevaporiert und die Lösungsmittelreste mittels Hochvakuum entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

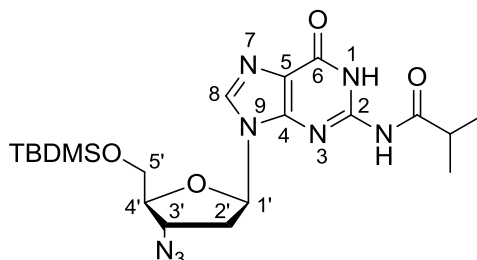
**Ausbeute:** 594 mg eines verunreinigten, rotbraunen, zähflüssigen Öls (100% Ausbeute: 527 mg, 1.11 mmol).

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.06 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.23 (d, *J* = 6.9 Hz, 6 H, CHCH<sub>3</sub>), 2.75 (qq, *J* = 6.8 Hz, *J* = 6.8 Hz, 1 H, CHCH<sub>3</sub>), 2.84 (ddd, *J* = 15.7 Hz, *J* = 8.4 Hz, *J* = 5.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 3.04 (s, 3 H, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.09 (dd, *J* = 15.7 Hz, *J* = 3.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.90-3.94 (m, 2 H, 5'-H), 4.12 (ddd, *J* = 6.5 Hz, *J* = 6.5 Hz, *J* = 3.4 Hz, 1 H, 4'-H), 5.27-5.30 (m, 1 H, 3'-H), 6.10 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 3.4 Hz, 1 H, 1'-H), 7.86 (s, 1 H, 8-H), 9.86 (brs, *i*Bu-NH), 12.12 (brs, 1-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = -5.40 (SiCH<sub>3</sub>), -5.36 (SiCH<sub>3</sub>), 18.25 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.99 (CHCH<sub>3a</sub>), 19.32 (CHCH<sub>3b</sub>), 25.83 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.22 (CHCH<sub>3</sub>), 38.32 (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 38.59 (C-2'), 60.03 (C-5'), 79.36 (C-3'), 82.30 (C-4'), 83.61 (C-1'), 121.54 (C-5), 138.00 (C-8), 147.87 (C-4), 148.22 (C-2), 155.79 (C-6), 179.46 (*i*Pr-C=O).

Diese Verbindung wurde nicht chromatographisch gereinigt und enthielt daher Verunreinigungen. Aus diesem Grund wurde auf die Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

### 7.2.3.21 3'-Azido-2-N-Isobutyryl-5'-O-TBDMS-2',3'-dideoxyguanosin **103**



**103**

#### Variante 1:<sup>[137]</sup>

Eine Suspension von **101** (30 mg, 67  $\mu$ mol) und  $\text{NaN}_3$  (13 mg, 0.20 mmol) in abs. DMF (0.2 mL) wurde mit einer Lösung von DIAD (20 mg, 0.10 mmol) und Dipenyl-2-pyridylphosphin (26 mg, 0.10 mmol) in DMF (0.1 mL) versetzt und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (0.1 mL) versetzt und in Ethylacetat (5 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (5 mL) und ges. wässriger NaCl (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/EtOAc 2:3). Es konnte kein Produkt isoliert werden.

#### Variante 2:<sup>[134]</sup>

Eine Lösung von **101** (30 mg, 67  $\mu$ mol) in 0.34 mL abs. DMF wurde mit  $\text{LiN}_3$  (10 mg, 0.20 mmol),  $\text{PPh}_3$  (26 mg, 0.10 mmol) und DIAD (20 mg, 0.10 mmol) versetzt und 5 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 0.1 mL dest. Wasser versetzt und in 5 mL Ethylacetat aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (5 mL) und ges. wässriger NaCl (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3). Es konnte kein Produkt isoliert werden.



**Ausbeute:** Es wurden 15 mg eines gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 32 mg, 67  $\mu\text{mol}$ ). Anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass die erhaltene Verbindung stark durch  $\text{PPh}_3$  verunreinigt war.

*Variante 3.*<sup>[168]</sup>

Eine Lösung von **101** (360 mg, 0.798 mmol) und  $\text{PPh}_3$  (314 mg, 1.20 mmol) in abs. THF (3 mL) wurde bei 0 °C mit einer Lösung von DPPA (269  $\mu\text{L}$ , 330 mg, 1.20 mmol) und DIAD (235  $\mu\text{L}$ , 242 mg, 1.20 mmol) in abs THF (2 mL) versetzt. Anschließend wurde ein Erwärmen der Reaktionslösung auf RT zugelassen und für weitere 5 h gerührt. Es wurden Ethanol (1.5 mL) dazugegeben und die Lösung weitere 30 min gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in Ethylacetat (50 mL) aufgenommen, mit dest Wasser (50 mL) und ges. wässriger NaCl (50 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 150 mg eines gelben Öls erhalten (100% Ausbeute: 379 mg, 0.798 mmol). Anhand von NMR-spektroskopischen Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass die erhaltene Verbindung verunreinigt war (enthielt ca 30% Edukt und vermutlich aus dem DIAD gebildete Hydrazinderivate).

*Variante 4.*<sup>[131-132]</sup>

Eine Lösung von **101** (50 mg, 0.11 mmol) in einem 10:1-Gemischs aus abs. DCM und abs. Pyridin (1.1 mL) wurde auf -30 °C heruntergekühlt und mit einer Lösung von  $\text{Tf}_2\text{O}$  (22  $\mu\text{L}$ , 34 mg, 0.12 mmol) in abs. DCM (0.22 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf RT erwärmt und weitere 15 min gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von  $\text{LiN}_3$  (54 mg, 1.11 mmol) in abs. DMF (1 mL) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in ein Gemisch aus DCM (30 mL) und Wasser (10 mL) überführt. Die Phasen wurden getrennt und die organische Phase mit Wasser (2 x 10 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3). Es konnte kein Produkt isoliert werden.

*Variante 5.*<sup>[133]</sup>

**101** (30 mg, 67  $\mu\text{mol}$ ) und  $\text{LiN}_3$  (33 mg, 0.67 mmol) wurden mit abs. Toluol coevaporiert (3 x 1 mL) und in abs. DMF (0.2 mL) gelöst. Es wurden

Tetrabrommethan (44 mg, 0.13 mmol) und  $\text{PPh}_3$  (35 mg, 0.13 mmol) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 24 h bei RT gerührt. Es konnte per Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 93:7) nur Zersetzung des Edukts nachgewiesen werden.

*Variante 6:*<sup>[135]</sup>

Eine Suspension von 3'-O-Mesyl-6-N-Benzoyl-5'-O-TBDMS-2'-desoxy-3'-xylo-guanosin Ms-**101** (587 mg, 1.11 mmol) und  $\text{NaN}_3$  (650 mg, 10.0 mmol) in DMF (16 mL) wurde 1.5 h bei 110 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung in Ethylacetat (100 mL) aufgenommen und mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (2 x 50 mL), Wasser (2 x 50 mL) und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung (1 x 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und bei vermindertem Druck zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 97:3) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 363 mg (0.686 mmol, 69%) eines farblosen, hochviskosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 97:3) = 0.29.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.07 (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.08 (s, 3 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.89 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.25 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3a}$ ), 1.27 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3b}$ ), 2.46 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_a$ ), 2.63 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_b$ ), 2.75 (qq,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 3.81 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 5'- $\text{H}_a$ ), 3.85 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 5'- $\text{H}_b$ ), 4.00-4.03 (m, 1 H, 4'-H), 4.38 (ddd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 4.9 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 3'-H), 6.12 (dd,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 1'-H), 7.96 (s, 1 H, 8-H), 9.18 (brs,  $i\text{Bu-NH}$ ), 12.11 (brs, 1-NH).

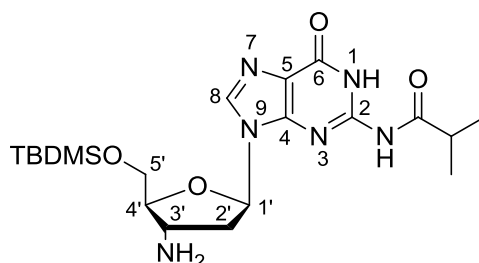
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -5.54 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5.40 ( $\text{SiCH}_3$ ), 18.37 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.95 ( $\text{CH}_{3a}$ ), 19.01 ( $\text{CH}_{3b}$ ), 25.90 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.41 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 38.33 (C-2'), 60.53 (C-3'), 62.89 (C-5'), 83.70 (C-1'), 84.98 (C-4'), 121.40 (C-5), 136.66 (C-8), 147.73 (C-4), 147.79 (C-2), 155.61 (C-6), 178.81 ( $i\text{Pr-C=O}$ ).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +5.4$  (c = 1.0,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2100, 1671, 1605, 1557, 1251, 1093, 1070, 836, 779.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 200 (4.83), 254 (4.51), 283 (4.40).

**MS** ( $\text{ESI}^+$ ): m/z = 499.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

$C_{20}H_{32}N_8O_4Si$  (476.60)ber.: 499.2208  $[M+Na]^+$ gef.: 499.2202 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).**7.2.3.22 3'-Amino-2-*N*-Isobutyryl-5'-*O*-TBDMS-2',3'-dideoxyguanosin 92****92**

Eine Lösung von 3'-Azido-2-*N*-Isobutyryl-5'-*O*-TBDMS-2',3'-dideoxyguanosin **103** (2.34 g, 4.91 mmol) in Methanol (150 mL) wurde mit Palladium (520 mg, 0.49 mmol, 10% auf Aktivkohle) versetzt und 20 h unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Die Suspension wurde durch Filtration über Celite® vom Palladium-Katalysator befreit und das Filtrat bei vermindertem Druck zur Trockne eingengt.

**Ausbeute:** Es wurden 2.03 g (4.51 mmol, 92%) eines weißen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.27.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, MeOD):  $\delta$  = 0.08 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.24 (s, 3 H, CHCH<sub>3a</sub>), 1.25 (s, 3 H, CHCH<sub>3b</sub>), 2.40 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 7.2 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.69 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.74 (qq,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, CHCH<sub>3</sub>), 3.79 (ddd,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 3'-H), 3.84 (ddd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 3.4 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 4'-H), 3.89 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 3.4 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.95 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 6.29 (dd,  $J$  = 7.2 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 1'-H), 8.19 (s, 1 H, 8-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, MeOD):  $\delta$  = -6.67 (SiCH<sub>3</sub>), 17.90 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 17.93 (CH<sub>3a</sub>), 17.99 (CH<sub>3b</sub>), 25.07 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.56 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 40.77 (C-2'), 50.50 (C-3'), 62.57 (C-5'), 83.98 (C-1'), 87.54 (C-4'), 120.05 (C-5), 137.91 (C-8), 148.23 (C-4), 148.50 (C-2), 156.15 (C-6), 180.31 (*i*Pr-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +4.3 (c = 1.0, MeOH).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 170 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1676, 1614, 1566, 1470, 1399, 1251, 1070, 836, 779.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 200 (4.53), 255 (4.24), 282 (4.09).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 451.2 [M+H]<sup>+</sup>.

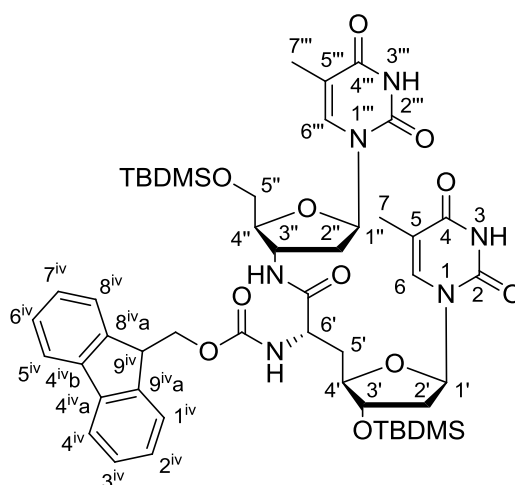
**C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>Si** (450.61)

ber.: 451.2484 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 451.2478 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4 Dimere

### 7.2.4.1 (5''-O-TBDMS-3''-aminothymidinyI)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(S)-TAA-amid 74



(6'*S*)-74

Die Synthese der Verbindung (6'*S*)-74 erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 190 mg (0.299 mmol) TAA (6'*S*)-73, 3 mL DCM, 46.8 g (346  $\mu$ mol) HOBt, 68.3 g (346  $\mu$ mol) EDC und 117 mg (329  $\mu$ mol) 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-aminothymidin 72 (117 mg, 0.329 mmol) eingesetzt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 1:2).

**Ausbeute:** 230 mg (0.236 mmol, 79%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 12:1) = 0.40.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 70 °C):  $\delta$  = 0.01-0.12 (m, 10 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.92 (s, 18 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.96 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 3 H, 7''''-H), 1.98 (s, 3 H, 7-H), 2.03-2.24 (m, 4 H, 2'' H<sub>a</sub>, 2'-H<sub>2</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.29-2.39 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.43-2.55 (m, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.92 (s, 2 H, 5''-H), 3.97-4.04 (m, 1 H, 4'-H), 4.10-4.19 (m, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>, 3'-H), 4.20-4.26 (m, 1 H, 4''-H), 4.12 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 2 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.56-4.65 (m, 1 H, 3''-H), 4.81 (dd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 6'-H), 6.06 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 6.33

(d,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, 6'-NH), 6.45 (dd,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.97 (s, 1 H, 6-H), 7.16-7.23 (m, 4 H, ArH), 7.54 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1 H, 6'''-H), 7.49-7.62 (m, 4 H, ArH), 8.10 (d,  $J = 5.8$  Hz, 1 H, 3''-NH), 10.42 (brs, 2 H, 3-NH, 3'''-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta = -5.29$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-5.26$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-4.58$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-4.49$  ( $\text{SiCH}_3$ ), 12.53 (C-7), 12.70 (C-7'''), 18.15 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.56 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 26.00 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 26.19 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 36.96 (C-5'), 37.91 (C-2'), 39.74 (C-2''), 47.93 ( $9^{\text{iv}}\text{-C}$ ), 51.75 (C-3'''), 64.55 (C-5''), 67.51 (FmocCH<sub>2</sub>), 76.05 (C-3'), 83.68 (C-4'), 85.67 (C-4''), 86.58 (C-1''), 87.22 (C-1'), 111.28 (C-5), 111.46 (C-5'''), 120.21 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.52, 125.55 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.39 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 127.90 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 135.26 (C-6), 136.96 (C-6'''), 141.84, 141.86 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 144.59 (C-8<sup>iv</sup>a), 144.63 (C-9<sup>iv</sup>a), 151.05 (C-2), 151.47 (C-2'''), 156.42 (Fmoc-C=O), 164.25 (C-4), 164.37 (C-4'''), 171.66 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +9.5$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 140 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 2954, 1692, 1470, 1362, 1126, 835, 779, 740, 557$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 205 (4.79), 264 (4.54), 299 (3.75).

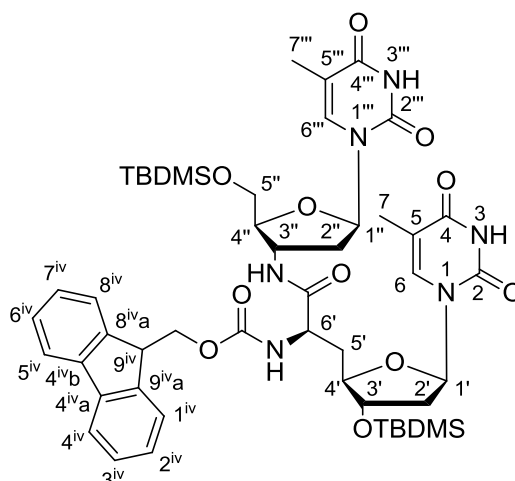
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 995.4$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**C<sub>49</sub>H<sub>68</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>Si<sub>2</sub>** (973.26)

ber.: 995.4382  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

gef.: 995.4372 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.2 (5''-O-TBDMS-3''-aminothymidinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(R)-TAA-amid 74



(6'*R*)-74

Die Synthese von (6'*R*)-74 erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 150 mg (0.236 mmol) TAA (6'*R*)-73, 35 mg (260  $\mu\text{mol}$ ) HOBt, 51 mg (258  $\mu\text{mol}$ ) EDC, 92 mg

(0.26 mmol) 5'-O-(TBDMS)-3'-desoxy-3'-aminothymidin **72** und 3 mL DCM eingesetzt. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde ein Gemisch aus PE/EtOAc (1:2) verwendet.

**Ausbeute:** 180 mg (0.185 mmol, 78%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 12:1) = 0.40.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 0.02 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.79 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3 H, 7'''-H), 1.84-1.97 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 1.87 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.03-2.18 (m, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.32 (ddd,  $J$  = 14.2 Hz,  $J$  = 11.2 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.48 (ddd,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 5.3 Hz,  $J$  = 1.4 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 2.66 (ddd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 6.1 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.72 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.0 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.81 (dd,  $J$  = 11.4 Hz,  $J$  = 2.0 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.06 (dd,  $J$  = 4.2 Hz,  $J$  = 2.0 Hz, 1 H, 4''-H), 4.13-4.21 (m, 2 H, 3'-H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.25 (ddd,  $J$  = 5.7 Hz,  $J$  = 2.4 Hz,  $J$  = 2.4 Hz, 1 H, 4'-H), 4.45 (dd,  $J$  = 10.9 Hz,  $J$  = 7.2 Hz, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.52 (dd,  $J$  = 10.9 Hz,  $J$  = 7.2 Hz, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.63-4.74 (m, 1 H, 3''-H), 4.90 (dd,  $J$  = 8.8 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 6'-H), 5.54 (dd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 7.3 Hz, 1'-H), 5.91 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.44 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1 H, 6'''-H), 6.61 (dd,  $J$  = 8.9 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1''-H), 7.16-7.25 (m, 4 H, ArH), 7.48 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6-H), 7.52-7.65 (m, 4 H, ArH), 7.98 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 3''-NH), 10.09 (brs, 1 H, 3-NH), 10.35 (brs, 1 H, 3'''-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = -5.33 (SiCH<sub>3</sub>), -4.56 (SiCH<sub>3</sub>), 12.32 (C-7), 12.53 (C-7'''), 18.21 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.50 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.03 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.14 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 36.96 (C-5'), 37.99 (C-2'), 38.06 (C-2''), 47.88 (9<sup>iv</sup>-C), 51.56 (C-3'''), 64.72 (C-5''), 67.73 (FmocCH<sub>2</sub>), 76.64 (C-3'), 84.52 (C-4'), 85.22 (C-4''), 87.51 (C-1'''), 87.51 (C-1'), 110.53 (C-5), 111.74 (C-5'''), 120.10 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.64, 125.74 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.32, 127.85 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 128.17 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 134.79 (C-6), 139.72 (C-6'''), 141.83, 141.87 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 144.64, 144.79 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 150.87 (C-2), 151.71 (C-2), 157.26 (Fmoc-C=O), 163.48 (C-4), 164.47 (C-4'''), 172.42 (3''-Amid-C=O).

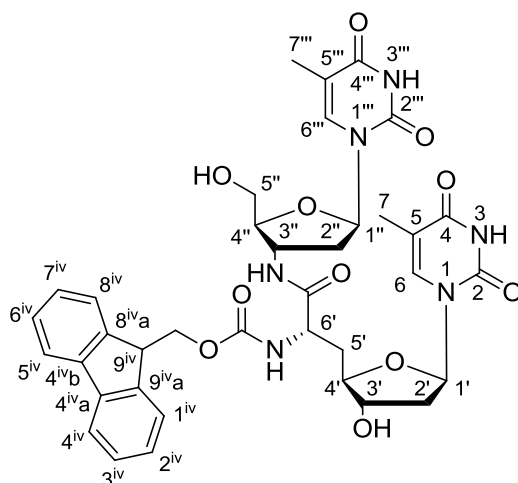
**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  = -45.1 ( $c$  = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 127 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  = 2929, 1692, 1470, 1259, 1125, 1074, 835, 778, 739.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 204 (4.80), 264 (4.54), 299 (3.74).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 995.4 [M+Na]<sup>+</sup>.

$C_{49}H_{68}N_6O_{11}Si_2$  (973.26)ber.: 995.4382 [M+Na]<sup>+</sup>,gef.: 995.4378 (ESI<sup>+</sup>HRMS).**7.2.4.3 (3''-Aminothymidinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 146****(6'S)-146**

Zu einer Lösung von (6'S)-**74** (240 mg, 0.247 mmol) in abs. Methanol (5 mL) wurde bei 0 °C Acetylchlorid (3.9 mg, 50  $\mu$ mol, 3.5  $\mu$ L, gelöst in 52  $\mu$ L abs. Methanol) gegeben und die Lösung ca. 30 min bei 0 °C gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei bildete sich ein gallertartiger Niederschlag. Die gebildete Suspension wurde mit einem Tropfen ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und Pyridin (3 mL) dazugegeben, sodass eine klare Lösung entstand, die mit Kieselgel versetzt wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und die auf das Kieselgel aufgetragene Substanz chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1).

**Ausbeute:** 167 mg (0.224 mmol, 92%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.21.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 1.87 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 3 H, 7'''-H), 2.01 (s, 3 H, 7-H), 2.29-2.46 (m, 2 H, 5'-H), 2.56 (ddd,  $J$  = 9.8 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.62-2.70 (m, 2 H, 2''-H), 2.69-2.79 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.17 (dd,  $J$  = 12.0 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.24 (dd,  $J$  = 12.0 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.31 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.39 (ddd,  $J$  = 5.9 Hz,  $J$  = 2.8 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H,

4''-H), 4.47-4.61 (m, 3 H, 3'-H, 4'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.06 (ddd,  $J = 8.3$  Hz,  $J = 6.4$  Hz,  $J = 6.4$  Hz, 1 H, 6'-H), 5.17 (ddd,  $J = 13.8$  Hz,  $J = 6.9$  Hz,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, 3''-H), 6.70 (dd,  $J = 6.1$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.86 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.28 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.40 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.56 (d,  $J = 0.9$  Hz, 1 H, 6-H), 7.69 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.83 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.07 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1 H, 6'''-H), 8.89 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1 H, 6'-NH), 9.73 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, 3''-NH), 12.87 (brs, 1 H, 3'''-NH), 12.95 (brs, 1 H, 3-NH).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.51$  (C-7'''), 12.62 (C-7), 37.67 (C-5'), 38.44 (C-2''), 39.89 (C-2'), 47.92 (C-9<sup>iv</sup>), 50.26 (C-3''), 53.56 (C-6'), 62.14 (C-5''), 66.82 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.84 (C-3'), 84.58 (C-4'), 85.10 (C-1''), 85.47 (C-1'), 86.26 (C-4''), 110.43 (C-5'''), 111.24 (C-5), 120.44 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.59 (C-8<sup>iv</sup>), 125.63 (C-1<sup>iv</sup>), 127.51 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 128.09 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 135.96 (C-6'''), 136.42 (C-6), 141.76 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 144.61, 144.70 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 150.07 (Fmoc-C=O), 151.71 (C-2'''), 151.77 (C-2), 164.86 (C-4'''), 164.88 (C-4), 172.62 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +18.4$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>)

**Schmelzpunkt:** 168 °C

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 3493, 1693, 1530, 1472, 1274, 1057, 891, 738, 565$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 205 (4.74), 264 (4.48), 299 (3.76)$ .

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 767.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

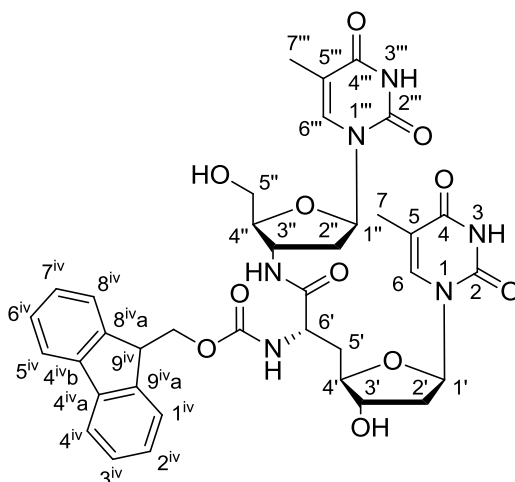
**C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>5</sub>** (744.75)

ber.: 767.2653 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 767.2640 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).



## 7.2.4.4 (3''-Aminothymidinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 146



## (6'R)-146

Die Synthese von (6'S)-**146** erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'S)-**146**. Es wurden 153 mg (0.157 mmol) (6'R)-**74**, 2.8  $\mu$ L (3.1 mg, 39  $\mu$ mol) Acetylchlorid und 3 mL Methanol eingesetzt. Im Unterschied zur Synthese von (6'S)-**146** bildete sich während der Reaktion kein Niederschlag. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1).

**Ausbeute:** 104 mg (0.139 mmol, 89%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.21.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 1.87 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3 H, 7'''-H), 2.01 (s, 3 H, 7-H), 2.51-2.77 (m, 6 H, 5'-H, 2'-H, 2''-H), 4.13 (dd,  $J$  = 12.2 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.20 (dd,  $J$  = 12.2 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.29 (dd,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.36 (ddd,  $J$  = 5.8 Hz,  $J$  = 2.8 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 4''-H), 4.48-4.66 (m, 4 H, 3'-H, 4'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.09 (ddd,  $J$  = 8.1 Hz,  $J$  = 5.9 Hz,  $J$  = 5.9 Hz, 1 H, 6'-H), 5.13-5.21 (m, 1 H, 3''-H), 6.66-6.78 (m, 2 H, 1''-H, 1'-H), 7.29 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.40 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.56 (s, 1 H, 6-H), 7.62-7.74 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.83 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.08 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6'''-H), 8.73-8.82 (m, 1 H, 6'-NH), 9.33 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 3''-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 12.61 (C-7'''), 37.36 (C-5'), 38.46 (C-2''), 40.07 (C-2'), 47.83 (C-9<sup>iv</sup>), 50.48 (C-3''), 53.89 (C-6'), 62.15 (C-5'''), 66.89 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.66 (C-3'), 83.89 (C-4'), 85.09 (C-1''), 86.05 (C-1'), 86.21 (C-4''), 110.55 (C-5'''), 110.98 (C-5), 120.40 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.64, 125.66 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>),

127.52 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 128.08 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 136.37 (C-6<sup>'''</sup>), 136.86 (C-6), 141.70 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 144.58, 144.66 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 150.07 (Fmoc-C=O), 151.71 (C-2<sup>'''</sup>), 151.77 (C-2), 164.86 (C-4<sup>'''</sup>), 164.88 (C-4), 172.62 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +38.5$  (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 163 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 3419, 3064, 1689, 1532, 1472, 1271, 1089, 741, 557$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 205 (4.60), 264 (4.35), 299 (3.56)$ .

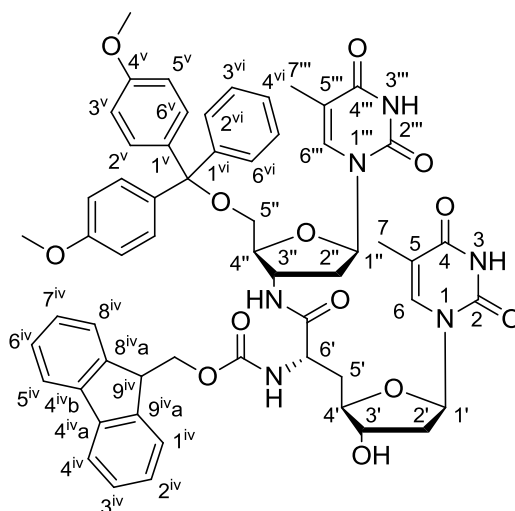
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 767.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>37</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>** (744.75)

ber.: 767.2653 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 767.2642 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.5 (5'-O-DMTr-thymidinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 75



(6'S)-75

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 160 mg (0.215 mmol) (6'S)-146, DMTr-Chlorid (87 mg, 0.29 mmol) und 2 mL abs. Pyridin eingesetzt. Als Eluent für die säulenchromatographische Reinigung wurde ein Gemisch aus DCM/MeOH (17:1 mit 0.5% Pyridin) verwendet.

**Ausbeute:** 169 mg (0.161 mmol, 75%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 17:1) = 0.18.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 1.73$  (s, 3 H, 7-H), 2.02 (s, 3 H, 7<sup>'''</sup>-H), 2.31-2.43 (m, 2 H, 2<sup>''</sup>-H, 2'-H), 2.51-2.58 (m, 1 H, 2'-H), 2.62-2.74 (m, 3 H, 2<sup>''</sup>-H, 5'-H), 3.64-3.79 (m, 2 H, 5<sup>''</sup>-H), 3.72 (s, 6 H, OCH<sub>3</sub>), 4.28-4.33 (m, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.43-

4.51 (m, 1 H, 4''-H), 4.51-4.59 (m, 2 H, 3'-H, 4'-H), 4.61-4.68 (m, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.00-5.05 (m, 1 H, 6'-H), 5.16-5.24 (m, 1 H, 3''-H), 6.73-6.79 (m, 1 H, 1''-H), 6.79-6.84 (m, 1 H, 1'-H), 7.02 (d,  $J = 8.0$  Hz, 4 H, 6<sup>v</sup>-H, 2<sup>v</sup>-H), 7.24-7.34 (m, 3 H, 2<sup>vi</sup>-H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.35-7.47 (m, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.56 (s, 1 H, 6'''-H), 7.63 (d,  $J = 8.0$  Hz, 4 H, 5<sup>v</sup>-H, 3<sup>v</sup>-H), 7.67-7.71 (m, 2 H, 2<sup>vi</sup>-H, 6<sup>vi</sup>-H), 7.79 (s, 1 H, 6-H), 7.78 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.83 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.89 (brs, 1 H, 6'-NH), 9.66 (brs, 1 H, 3''-NH), 12.93 (brs, 2 H, 3'''-NH, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.49$  (C-7), 12.70 (C-7'''), 37.71 (C-2'), 38.47 (C-5'), 40.11 (C-2''), 48.04 (C-9<sup>iv</sup>), 50.96 (C-3''), 53.56 (C-6'), 55.40 (OCH<sub>3</sub>), 64.36 (C-5''), 66.89 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.87 (C-3'), 84.63 (C-4''), 85.08 (Trityl-C<sub>quart</sub>), 85.53 (C-1''), 87.27 (C-1'), 110.91 (C-5), 111.20 (C-5'''), 113.92 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 120.44 (C-4<sup>iv</sup>), 120.45 (C-5<sup>iv</sup>), 125.61 (C-1<sup>iv</sup>), 125.65 (C-8<sup>iv</sup>), 127.36, 127.52, 128.09, 128.41, 128.90 (C-2<sup>iv</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>, C-2<sup>vi</sup>, C-3<sup>vi</sup>, C-4<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>, C-6<sup>vi</sup>), 130.72 (C<sub>a</sub>-5<sup>v</sup>, C<sub>a</sub>-3<sup>v</sup>), 130.75 (C<sub>b</sub>-5<sup>v</sup>, C<sub>b</sub>-3<sup>v</sup>), 135.74 (C-6), 135.78 (C-6'''), 136.47 (C<sub>a</sub>-1<sup>v</sup>), 136.54 (C<sub>b</sub>-1<sup>v</sup>), 141.74 (C-5<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 144.59 (C-8<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 144.68 (C-9<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 145.68 (C-1<sup>vi</sup>), 151.58 (C-2), 151.69 (C-2'''), 157.12 (Fmoc-C=O), 159.24 (C<sub>a</sub>-4<sup>v</sup>), 159.27 (C<sub>b</sub>-4<sup>v</sup>), 164.77 (C-4), 164.81 (C-4'''), 172.37 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24.6$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 135 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 1688, 1509, 1466, 1251, 1177, 1034, 829, 760, 585$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 199 (5.12), 238 (4.40), 265 (4.55), 299 (3.76)$ .

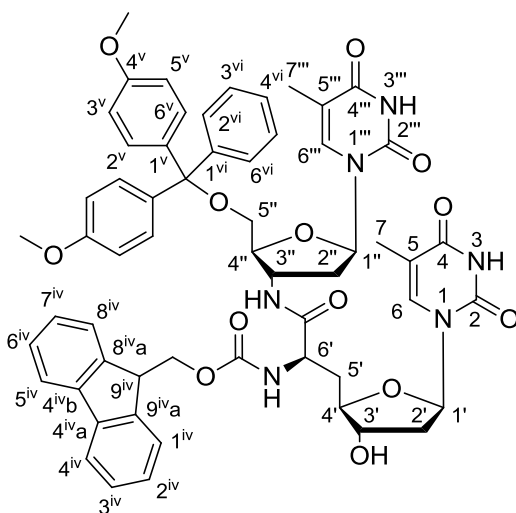
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1069.4$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>58</sub>H<sub>58</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub>** (1047.11)

ber.: 1069.3960 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 1069.3949 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4.6 (5'-O-DMTr-3''-Aminothymidinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 75

(6'*R*)-75

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 230 mg (0.11 mmol) (6'*R*)-146 und 120 mg (0.355 mmol) DMTrCl eingesetzt. Als Eluent für die säulenchromatographische Reinigung wurde ein Gemisch aus DCM/MeOH (17:1 mit 0.5% Pyridin) verwendet.

**Ausbeute:** 241 mg (230  $\mu$ mol, 75%) eines weißen Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 17:1) = 0.18.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 1.73 (s, 3 H, 7-H), 2.01 (s, 3 H, 7'''-H), 2.53-2.79 (m, 6 H, 2'-H, 2''-H, 5'-H), 3.64-3.75 (m, 2 H, 5''-H), 3.69 (s, 6 H, OCH<sub>3</sub>), 4.29 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.44-4.46 (m, 1 H, 4''-H), 4.48-4.56 (m, 2 H, 3'-H, 4'-H), 4.59-4.63 (m, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.04-5.10 (m, 1 H, 6'-H), 5.19-5.27 (m, 1 H, 3''-H), 6.71 (dd,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 1'-H), 6.78 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1''-H), 7.00 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 4 H, 6<sup>v</sup>-H, 2<sup>v</sup>-H), 7.23-7.32 (m, 3 H, 4<sup>vi</sup>-H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.36-7.43 (m, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.58 (s, 1 H, 6'''-H), 7.61 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 4 H, 5<sup>v</sup>-H, 3<sup>v</sup>-H), 7.64-7.71 (m, 2 H, 2<sup>vi</sup>-H, 6<sup>vi</sup>-H), 7.75 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 7.80 (s, 1 H, 6-H), 7.83 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 8.72 (brs, 1 H, 6'-NH), 9.32 (brs, 1 H, 3''-NH), 12.89 (brs, 2 H, 3-NH, 3'''-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 12.51 (C-7), 12.83 (C-7'''), 37.72 (C-2'), 38.61 (C-5'), 40.23 (C-2''), 47.97 (C-9<sup>iv</sup>), 51.00 (C-3'''), 54.03 (C-6'), 55.37 (OCH<sub>3</sub>), 64.33 (C-5''), 66.99 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.77 (C-3'), 84.05 (C-4''), 85.06 (Trityl-C<sub>quart</sub>), 86.18 (C-1''), 87.25 (C-1'), 108.63 (C-5), 111.01 (C-5'''), 113.90 (C<sub>a</sub>-6<sup>v</sup>, C<sub>a</sub>-2<sup>v</sup>), 113.99 (C<sub>b</sub>-6<sup>v</sup>, C<sub>b</sub>-2<sup>v</sup>), 120.30, 120.42 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.68 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.32, 127.54,

128.08, 128.39, 128.87 (C-6<sup>iv</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-2<sup>vi</sup>, C-3<sup>vi</sup>, C-4<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>, C-6<sup>vi</sup>), 130.72 (C<sub>a</sub>-5<sup>v</sup>, C<sub>a</sub>-3<sup>v</sup>), 130.77 (C<sub>b</sub>-5<sup>v</sup>, C<sub>b</sub>-3<sup>v</sup>), 135.78 (C-6), 136.41 (C-6'''), 136.54 (C-4<sup>v</sup>), 141.70 (C-4<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-4<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 144.58 (C-8<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 144.70 (C-9<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 145.64 (C-1<sup>vi</sup>), 151.63 (C-2), 151.68 (C-2'''), 157.17 (Fmoc-C=O), 159.22 (C<sub>a</sub>-1<sup>v</sup>), 159.24 (C<sub>b</sub>-1<sup>v</sup>), 164.74 (C-4), 164.75 (C-4'''), 173.06 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +9.3$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 172°C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 1681, 1507, 1436, 1247, 1175, 1066, 1029, 741, 702$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 198 (4.81), 257 (4.26), 263 (4.26), 300 (3.35).

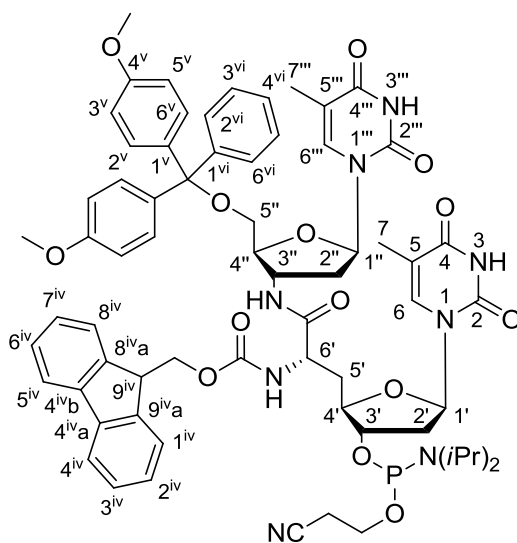
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 1069.4 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>5</sub>** (1047.11)

ber.: 1069.3954 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 1069.3931 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.7 (5'-O-DMTr-thymidinyI)-(6'-N-Fmoc-3'-O-( $\beta$ -cyanoethoxy-N,N-diisopropylphosphoramidit)-(S)-TAA-amid 69



(6'S)-69

308 mg (0.294 mmol) (6'S)-75 wurden mit Pyridin (3 mL), Toluol (3 mL) und MeCN (3 mL) coevaporiert und anschließend in DCM (3 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wurde mit DCI (35 mg, 0.294 mmol) und mit einer Lösung von Bis-N,N-Diisopropylamino-(2-cyanoethyl)-phosphit (106 mg, 0.353 mmol) in DCM (0.8 mL) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit DCM (60 mL) verdünnt und mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (30 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit DCM (15 mL) reextrahiert und die vereinigten organischen Phasen

unter vermindertem Druck eingengt. Der viskose Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Eluent: DCM/MeOH 15:1 mit 0.5% Pyridin). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen wurden unter vermindertem Druck eingengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde in DCM (6 mL) gelöst und durch allmähliches Geben in *n*-Hexan (60 mL) bei -20 °C umkristallisiert.

**Ausbeute:** 280 mg (224 μmol, 76%) eines weißen, feinpulvrigen Feststoffs.

**DC:**  $R_f = 0.45$  (EtOAc, 0.7% NEt<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR** (121 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>):  $\delta = 149.01, 149.45$ .

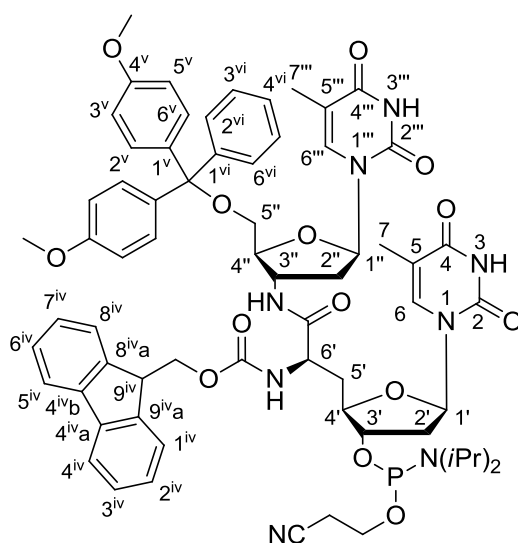
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1269.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>58</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>** (1247.33)

ber.: 1269.5038 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 1269.5033 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.8 (5'-O-DMTr-thymidinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-(β-cyanoethoxy-*N,N*-diisopropylphosphoramidit)-(R)-TAA-amid 69



(6'*R*)-**69**

Die Synthese von (6'*R*)-**69** erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'*S*)-**69**. Es wurden 230 mg (0.220 mmol) (6'*R*)-**75**, 79 mg (0.26 mmol) Bis-*N,N*-Diisopropylamino-(2-cyanoethyl)-phosphit, 26 mg (0.22 mmol) DCI und 2.2 mL DCM eingesetzt. Der viskose Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Eluent: DCM/MeOH 15:1 mit 0.5% Pyridin). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen wurden unter vermindertem Druck eingengt. Das so erhaltene

Rohprodukt wurde in DCM (4.5 mL) gelöst und durch allmähliches Geben in *n*-Hexan (45 mL) bei -20 °C umkristallisiert.

**Ausbeute:** 204 mg (163  $\mu$ mol, 74%) eines weißen, feinpulvrigen Feststoffs.

**DC:**  $R_f = 0.45$  (EtOAc, 0.7% NEt<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR** (121 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>):  $\delta = 147.34, 147.47$ .

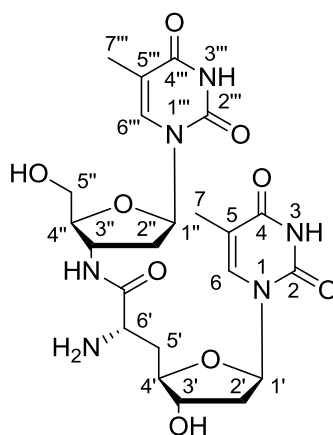
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1269.5$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>58</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>** (1247.33)

ber.: 1269.50 [M+Na]<sup>+</sup>,

gef.: 1269.50 (ESI<sup>+</sup>).

#### 7.2.4.9 (3''-Aminothimidinyl)-(S)-TAA-amid 162



(6'S)-162

Es wurden 30 mg (40  $\mu$ mol) (6'S)-**146** in 2 mL einer 3:1-Mischung aus 25% wässriger Ammoniaklösung und Ethanol aufgenommen. Die Suspension wurde 6 h bei 55 °C gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (Isopropanol/H<sub>2</sub>O/AcOH 5/2/1, gesättigt mit NaCl). Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt chromatographisch gereinigt (RP-SiO<sub>2</sub> s. 7.1.5, MeCN/H<sub>2</sub>O 1:1).

**Ausbeute:** Es wurden 21 mg (40  $\mu$ mol, quant.) eines weißen Pulvers erhalten.

**DC:**  $R_f$  (Isopropanol/H<sub>2</sub>O/AcOH 5:2:1) = 0.60.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 35 °C):  $\delta = 1.86$  (d,  $J = 1.0$  Hz, 3 H, 7-H), 2.00 (d,  $J = 1.0$  Hz, 3 H, 7'''-H), 2.42-2.50 (m, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.53 (dd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 6.8$  Hz,

2'-H<sub>a</sub>), 2.56 (ddd,  $J = 13.6$  Hz,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 4.8$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.68 (dd,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 6.5$  Hz, 2 H, 5'-H), 2.70-2.76 (m, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.14 (dd,  $J = 12.1$  Hz,  $J = 2.8$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.19-25 (m, 1 H, 3'-H), 4.22 (dd,  $J = 12.1$  Hz,  $J = 2.8$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.36 (dd,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 2.9$  Hz, 1 H, 4'-H), 4.50 (ddd,  $J = 8.9$  Hz,  $J = 4.6$  Hz, 1 H, 3''-H), 4.63 (ddd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 4.6$  Hz, 1 H, 4''-H), 5.11-17 (m, 1 H, 6'-H), 6.74 (dd,  $J = 6.2$  Hz,  $J = 6.2$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.80 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.62 (s, 1 H, 6-H), 8.09 (s, 1 H, 6'''-H), 9.32 (brs, 1 H, 3''-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 35 °C):  $\delta = 12.62$  (C-7), 12.65 (C-7'''), 39.01 (C-2''), 38.40 (C-5'), 39.75 (C-2'), 49.9 (C-6'), 54.02 (C-3''), 61.92 (C-5''), 74.57 (C-4''), 84.85 (C-3''), 84.99 (C-1''), 85.09 (C-1'), 86.10 (C-4'), 110.43 (C-5), 111.11 (C-5'''), 136.21 (C-6), 136.45 (C-6'''), 150.16 (C-2), 151.73 (C-2'''), 164.85 (C-4), 164.86 (C-4'''), 174.91 (Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +39.0$  ( $c = 1.0$ , Pyridin).

**Schmelzpunkt:** 118 °C.

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 1652, 1471, 1268, 1089, 1041, 966, 825, 764, 733$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 197 (3.39), 264 (3.04).

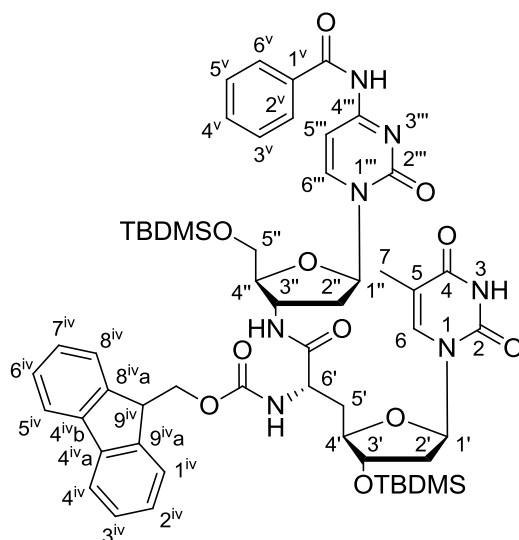
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 523.2$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>58</sub>H<sub>57</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>** (522.51)

ber.: 523.2147 [M+H]<sup>+</sup>,

gef.: 523.2138 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.10 (5''-O-TBDMS-3''-aminocytidinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(S)-TAA-amid 93



(6'S)-93



Die Synthese von (6'S)-**93** erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 477 mg (0.751 mmol) der TAA (6'S)-**73**, 367 mg (0.826 mmol) des 3'-Amino-2'-desoxycytidins **90**, 112 mg (0.826 mmol) HOBt, 163 mg (0.826 mmol) EDC und 9.0 mL DCM eingesetzt. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 460 mg (0.433 mmol, 58%) eines schwach gelben Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.34.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 0.00 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.01 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.82 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.86 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.82 (d,  $J$  = 0.7 Hz, 3 H, H-7), 2.04 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 8.0 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.12 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.21 (ddd,  $J$  = 14.2 Hz,  $J$  = 11.3 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.28-2.35 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.42-2.51 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.14 (dd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.74-3.83 (m, 2 H, 4'-H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.87-4.00 (m, 3 H, FmocCH<sub>2</sub>, 5''-H<sub>b</sub>), 4.05 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.21-4.28 (m, 2 H, 3'-H, 4''-H), 4.31-4.38 (m, 1 H, 3''-H), 5.71-5.80 (m, 2 H, 1'-H, 6'-H), 6.07 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.45 (dd,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 1''-H), 6.85-6.89 (m, 1 H, 6-H), 7.09-7.16 (m, 3 H, ArH), 7.26-7.32 (m, 2 H, ArH), 7.36-7.43 (m, 4 H, ArH), 7.56 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 5'''-H), 7.74-7.79 (m, 2 H, ArH), 7.87-7.91 (m, 2 H, ArH), 8.30 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 6'''-H), 10.02 (brs, 1 H, 3''-NH), 10.20 (brs, 1 H, 4'''-NH), 11.00 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 50 °C):  $\delta$  = -5.65 (SiCH<sub>3</sub>), -5.49 (SiCH<sub>3</sub>), -4.85 (SiCH<sub>3</sub>), -4.70 (SiCH<sub>3</sub>), 12.25 (C-7), 17.80 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.20 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.64 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.86 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 37.52 (C-5'), 38.05 (C-2''), 39.55 (C-2'), 46.94 (C-9<sup>iv</sup>), 51.27 (C-6'), 53.46 (C-3''), 64.97 (C-5''), 67.33 (FmocCH<sub>2</sub>), 75.56 (C-3'), 82.15 (C-4'), 88.54 (C-1', C-4''), 89.42 (C-1''), 96.80 (C-5'''), 111.18 (C-5), 119.87, 119.90 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 125.18 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 126.92, 127.01 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 127.67, 127.01 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 127.98 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 128.51 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 132.24 (C-4<sup>v</sup>), 133.89 (C-1<sup>v</sup>), 137.56 (C-6), 141.21, 141.30 (C-8<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-9<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 143.83 (C-4<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-4<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 144.16 (C-6'''), 150.69 (C-2), 155.68 (Fmoc-C=O), 156.18 (3''-Amid-C=O), 163.37 (C-4), 164.26 (C-2'''), 167.98 (C-4'''), 171.20 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +18.5 (c = 1.2, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 173 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1690, 1642, 1481, 1251, 1088, 1060, 835, 774, 736.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 204 (4.87), 261 (4.64).

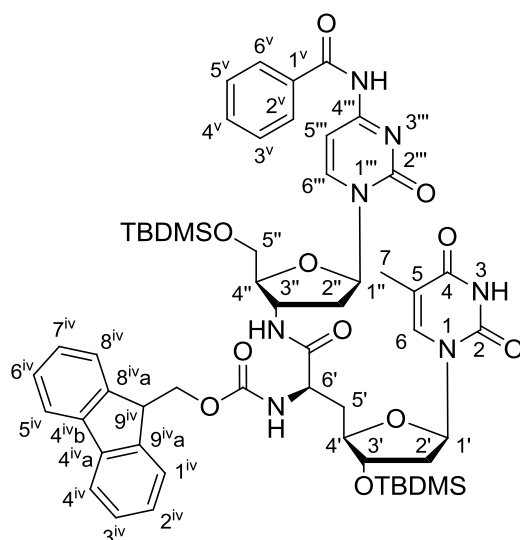
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 1084.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C**<sub>55</sub>**H**<sub>71</sub>**N**<sub>6</sub>**O**<sub>11</sub>**Si**<sub>2</sub> (1062.36)

ber.: 1084.4648 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 1084.4646 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.11 (5''-O-TBDMS-3''-aminocytidinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(R)-TAA-amid **93**



(6'*R*)-**93**

Die Synthese von (6'*R*)-**93** erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 477 mg (0.751 mmol) der TAA (6'*S*)-**73**, 367 mg (0.826 mmol) des 3'-Aminocytidins **90**, 112 mg (0.826 mmol) HOBt, 163 mg (0.826 mmol) EDC und 9.0 mL DCM eingesetzt. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 500 mg (0.471 mmol, 63%) eines schwach gelben Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.34.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 60 °C):  $\delta$  = 0.08 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.10 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.89 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.83 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 3 H, H-7), 1.95-2.01 (m, 2 H, 5'-H), 2.08 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.20 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 4.7 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.30 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.44 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.78 (dd,  $J$  = 11.6 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>),

3.80-3.86 (m, 1 H, 4'-H), 3.94 (dd, 1 H,  $J = 11.6$  Hz,  $J = 2.2$  Hz, 5''-H<sub>b</sub>), 3.98-4.02 (m, 1 H, 4''-H), 4.11-4.20 (m, 1 H, 6'-H), 4.23 (dd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.25-4.33 (m, 3 H, 3'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.34-4.41 (m, 1 H, 3''-H), 6.09 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.18 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 4.7$  Hz, 1 H, 1''-H), 7.29-7.36 (m, 3 H, 5'''-H, 3<sup>v</sup>-H, 5<sup>v</sup>-H), 7.34-7.44 (m, 3 H, 6-H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.52 (dd,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.63 (dd,  $J = 7.1$  Hz,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.69 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, 2<sup>v</sup>-H, 6<sup>v</sup>-H), 7.88 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.03 (d,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 8.18 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1 H, 3''-NH), 8.32-8.39 (m, 1 H, 6'''-H), 11.00 (brs, 1 H, 4'''-NH), 11.11 (s, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 60 °C):  $\delta = -5.16$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-5.11$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.32$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.29$  (SiCH<sub>3</sub>), 12.47 (C-7), 18.07 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.43 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.17 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 26.17 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.95 (C-5'), 38.73 (C-2''), 39.21 (C-2'), 47.29 (C-9<sup>iv</sup>), 48.56 (C-3''), 52.93 (C-6'), 62.94 (C-5''), 66.34 (FmocCH<sub>2</sub>), 75.60 (C-3'), 83.44 (C-4'), 84.98 (C-1'), 85.72 (C-4''), 86.53 (C-1''), 96.35 (C-5'''), 110.24 (C-5), 120.49 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 125.60, 125.61 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.45 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.05 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 128.84 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 133.04 (C-4<sup>v</sup>), 133.84 (C-1<sup>v</sup>), 136.75 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>, C-6), 141.23, (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.26, 144.34 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 144.80 (C-6'''), 150.85 (C-2), 155.32 (3''-Amid-C=O), 156.25 (Fmoc-C=O), 164.07 (C-4), 171.25 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -90.1$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 167 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1691, 1643, 1480, 1247, 1080, 836, 779, 736, 702, 688$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 204 (4.24), 261 (4.01)$ .

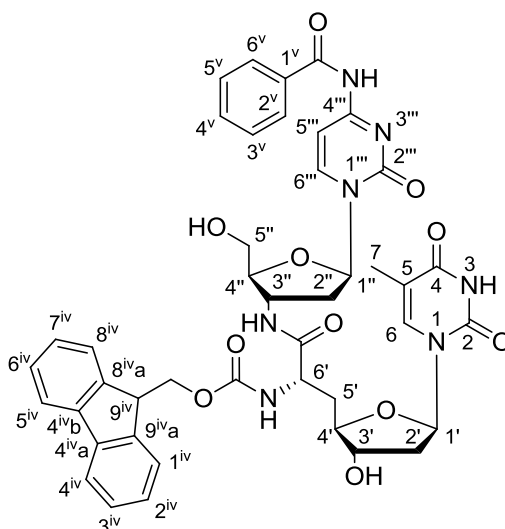
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1062.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>55</sub>H<sub>71</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>Si<sub>2</sub>** (1062.36)

ber.: 1062.4828 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1062.4825 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4.12 (3''-Aminocytidinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 147



(6'S)-147

*Variante 1:*

Eine Lösung von (6'S)-**93** (37 mg, 35  $\mu$ mol) in MeOH (0.7 mL) wurde bei 0 °C mit AcCl (1.3  $\mu$ L, 1.4 mg, 18  $\mu$ mol, in 0.1 mL abs. MeOH) versetzt und nach 30 min auf RT gebracht. Die Reaktionslösung wurde 16 h bei RT gerührt und mit einem Tropfen ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt. Die resultierende Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1).

**Ausbeute:** Es wurden 17 mg eines weißen, verunreinigten Feststoffs erhalten (100% Ausbeute: 29 mg (35  $\mu$ mol)).

*Variante 2:*

Zu einer Lösung von (6'S)-**93** (10 mg, 9.4  $\mu$ mol) in DMF (0.5 mL) wurde Tris(dimethylamino)sulfonium-difluorotrimethylsilicat (13 mg, 47  $\mu$ mol) gegeben und die resultierende Lösung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anhand von Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 9:1) wurde Zersetzung des Edukts beobachtet. Es konnte keine Bildung des Produkts (6'S)-**147** nachgewiesen werden.

*Variante 3:*

Eine Lösung von 500 mg (0.471 mmol) (6'S)-**93** in abs. MeOH (14 mL) wurde mit Ammoniumfluorid (244 mg, 6.6 mmol) versetzt und 6 h bei 60 °C gerührt. Die erhaltene Lösung wurde mit 1 g Kieselgel versetzt und bei vermindertem Druck zur

Trockne eingengt. Das an Kieselgel adsorbierte Produktgemisch wurde chromatographisch gereinigt (DCM/MeOH 9:1), wobei ein Großteil des Edukts (6'S)-**93** reisoliert und ein zweites Mal mit einer entsprechenden Menge an Ammoniumfluorid in abs. MeOH zur Reaktion gebracht wurde. Nach wiederholter chromatographischer Reinigung (DCM/MeOH 9:1) wurde das Produkt in reiner Form erhalten.

**Ausbeute:** 180 mg (0.216 mmol, 46%) eines schwach gelben Feststoffs.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.18.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 2.01 (s, 3 H, 7-H), 2.32-2.46 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.55 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 3.7 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.64-2.76 (m, 2 H, 2''-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 2.90 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.20 (dd,  $J$  = 12.2 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.25 (dd,  $J$  = 12.2 Hz,  $J$  = 2.3 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.28 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.45-4.53 (m, 3 H, 4'-H, 4''-H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.55-4.59 (m, 2 H, 3'-H, FmocCHH<sub>b</sub>), 5.10 (dddd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 3''-H), 5.15-5.22 (m, 1 H, 6'-H), 6.73 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 1''-H), 6.83 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.25-7.31 (m, 2 H, ArH), 7.36-7.41 (m, 4 H, ArH), 7.49 (dd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.56 (s, 1 H, 6-H), 7.62 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, H-5'''), 7.65-7.70 (m, 2 H, ArH), 7.82 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 0.7 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.17-8.21 (m, 2 H, ArH), 8.78 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1 H, 6'-NH), 8.83 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 6'''-H), 9.71-9.82 (m, 1 H, 3''-NH), 11.76 (brs, 1 H, 4'''-NH), 12.92 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 12.25 (C-7), 37.60 (C-5'), 38.96 (C-2''), 39.65 (C-2'), 47.61 (C-9<sup>iv</sup>), 49.66 (C-3''), 53.19 (C-6'), 61.66 (C-5'), 66.60 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.57 (C-3'), 84.23 (C-4''), 85.13 (C-4'), 86.99 (C-1'), 87.08 (C-1''), 96.74 (C-5'''), 110.98 (C-5), 120.15 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 123.50 (C-4<sup>v</sup>), 125.34, 125.37 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.24 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 127.82 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.56, 128.69 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 134.80 (C-1<sup>v</sup>), 135.69 (C-6), 141.48 (C-8<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-9<sup>iv</sup><sub>a</sub>), 144.32, 144.42 (C-4<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-4<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 144.61 (C-6'''), 149.97 (3''-Amid-C=O), 151.50 (C-2), 163.41 (C-2'''), 164.60 (C-4), 172.44 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +33.1$  (c = 1.0, Pyridin).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 160 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1681, 1642, 1552, 1480, 1247, 1083, 1050, 741, 698.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 198 (3.85), 256 (3.62).

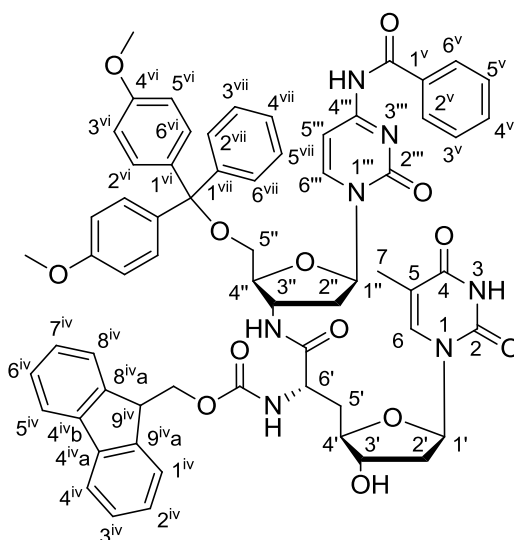
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 856.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>43</sub>H<sub>43</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>** (833.84)

ber.: 856.3093 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 856.3099 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.4.13 (5'-O-DMTr-3''-aminocytidinyI)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 150



(6'S)-150

Das Edukt (6'S)-147 (150 mg, 0.180 mmol) wurde mit Pyridin coevaporiert (3 x 0.5 mL) und in einem 1:1-Gemisch aus DMF und Pyridin (0.42 mL) gelöst. Die Lösung wurde mit DMAP (2.4 mg, 20  $\mu$ mol) und DMTrCl (67 mg, 0.198 mmol) versetzt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittelgemisch wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 95:5 mit 0.5% Pyridin).

**Ausbeute:** Es wurden 150 mg (0.132 mmol, 73%) eines gelblich-weißen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.54.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 2.00$  (s, 3 H, 7-H), 2.32-2.43 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.55 (ddd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 3.6$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.65-2.75 (m, 2 H, 2''-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 2.90 (ddd,  $J = 14.1$  Hz,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.75 (dd,  $J = 10.8$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.76 (s, 3 H, OCH<sub>3a</sub>), 3.77 (s, 3 H, OCH<sub>3b</sub>), 3.82 (dd,  $J = 10.8$  Hz,  $J = 3.8$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.28 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.45-4.53 (m, 3 H, 4'-H, 4''-H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.55-4.59 (m, 2 H, 3'-H,

FmocCHH<sub>b</sub>), 5.09 (dd,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 6'-H), 5.24 (dddd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 1 H, 3''-H), 6.59 (dd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 4.0$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.81 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 6.5$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.06 (d,  $J = 8.9$  Hz, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H), 7.17-7.70 (m, 16 H, ArH), 7.43-7.50 (m, 1 H, 5'''-H), 7.54 (s, 1 H, 6-H), 7.77-7.83 (m, 4 H, 1<sup>iv</sup>-H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 8.17-8.21 (m, 2 H, ArH), 8.61 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1 H, 6'''-H), 8.84 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1 H, 6'-NH), 9.51-9.60 (m, 1 H, 3''-NH), 11.87 (brs, 1 H, 4'''-NH), 12.92 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 13.36$  (C-7), 38.53 (C-5'), 40.30 (C-2''), 40.87 (C-2'), 48.76 (C-9<sup>iv</sup>), 50.34 (C-3''), 54.32 (C-6'), 56.18 (OCH<sub>3</sub>), 63.98 (C-5'), 67.70 (FmocCH<sub>2</sub>), 75.67 (C-3'), 85.39 (Trityl-C<sub>quart</sub>), 85.68 (C-4''), 86.30 (C-4'), 87.91 (C-1'), 88.31 (C-1''), 97.92 (C-5'''), 112.05 (C-5), 114.68 (C-3<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>), 121.28 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 124.64, 124.88 (C-4<sup>v</sup>, C-4<sup>vii</sup>), 126.28, 126.38 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 128.28 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 128.38 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.95, 129.34 (C-2<sup>iv</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 129.73, 129.80, 129.82 (C<sub>a</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>a</sub>-6<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-6<sup>vi</sup>, C-2<sup>vii</sup>, C-6<sup>vii</sup>), 133.54 (C-1<sup>v</sup>), 135.93 (C-6), 136.84, 137.23, 137.39 (C-3<sup>vii</sup>, C-5<sup>vii</sup>, C<sub>a</sub>-1<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-1<sup>vi</sup>), 142.62 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 145.32 (C-1<sup>vii</sup>), 145.47, 145.54 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 146.29 (C-6'''), 151.09 (C-2), 151.15 (C-2'''), 152.59 (3''-Amid-C=O), 160.20 (C-4<sup>vi</sup>), 164.55 (C-4), 165.72 (C-4'''), 173.38 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +56.7$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 154 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1691, 1661, 1642, 1503, 1480, 1247, 1083, 1032, 741, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 198 (4.68), 256 (4.15)$ .

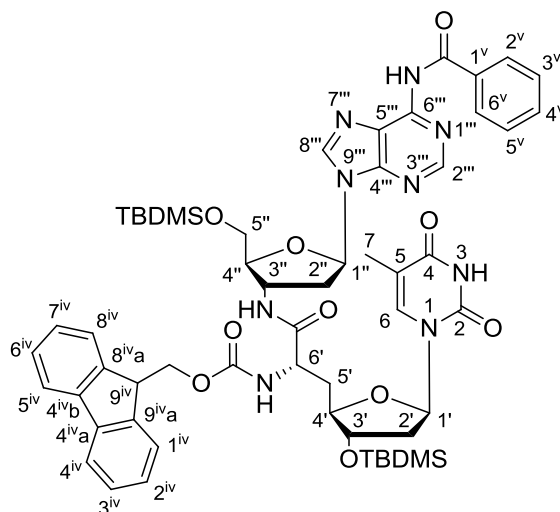
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1136.21$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>64</sub>H<sub>61</sub>N<sub>7</sub>O<sub>13</sub>** (1136.21)

ber.: 1136.4406 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1136.4427 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.4.14 (5''-O-TBDMS-3''-aminoadenosinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(S)-TAA-amid **94**



(6'S)-**94**

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 690 mg (1.09 mmol) der TAA (6'S)-**73**, 559 mg (1.20 mmol) des 3'-Aminoadenosins **91**, 224 mg (1.14 mmol) EDC, 154 mg (1.14 mmol) HOBt und 13 mL DCM verwendet. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 835 mg (0.770 mmol, 71%) eines bräunlichen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.24.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 70 °C):  $\delta$  = 0.03 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.94 (s, 3 H, H-7), 1.97-2.05 (m, 2 H, 2'-H), 2.11-2.20 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.31-2.40 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.71 (dd,  $J$  = 5.9 Hz, 2 H, 2''-H), 3.92 (dd,  $J$  = 11.2 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.97 (dd,  $J$  = 11.2 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.03 (ddd,  $J$  = 9.6 Hz,  $J$  = 3.4 Hz,  $J$  = 3.4 Hz, 1 H, 4'-H), 4.08 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.16 (ddd,  $J$  = 5.0 Hz,  $J$  = 4.4 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 3'-H), 4.33 (dd,  $J$  = 10.6 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.34-4.37 (m, 1 H, 4''-H), 4.39 (dd,  $J$  = 10.6 Hz,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.82 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 5.1 Hz,  $J$  = 5.1 Hz, 1 H, 6'-H), 4.86-4.92 (m, 1 H, 3''-H), 6.10 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 6.29-6.37 (m, 1 H, 6'-NH), 6.67 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1''-H), 7.03 (s, 1 H, 6-H), 7.06-7.16 (m, 5 H, C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>, C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>, C-4<sup>v</sup>), 7.20 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 7.50 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 2 H, C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 7.55 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 7.89-





(0.878 mmol) EDC, 118 mg (0.878 mmol) HOBt und 10 mL DCM verwendet. Das Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 97:3).

**Ausbeute:** Es wurden 620 mg (0.571 mmol, 68%) eines bräunlichen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.24.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 0.05 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 9 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.92 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.81 (s, 3 H, H-7), 1.88 (ddd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 2.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 1.97-2.04 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.32 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 11.2 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.57 (ddd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.72-2.79 (m, 2 H, 2''-H), 3.87 (d,  $J$  = 2.9 Hz, 2 H, 5''-H), 4.09-4.17 (m, 2 H, 3'-H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.19-4.26 (m, 2 H, 4'-H, 4''-H), 4.37 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.85-4.94 (m, 2 H, 3''-H, 6'-H), 5.67 (dd,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 1'-H), 6.19 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.56 (s, 1 H, 6-H), 6.74 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 1''-H), 7.08-7.24 (m, 7 H, C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>, C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>, C-4<sup>v</sup>, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 7.52 (dd,  $J$  = 9.7 Hz,  $J$  = 7.8 Hz, 2 H, C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 7.56 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H, C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 7.88 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, 3''-NH), 7.93-8.03 (m, 2 H, C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 8.51 (s, 1 H, 8'''-H), 9.12 (brs, 1 H, 2'''-H), 9.49 (brs, 1 H, BzNH), 10.95 (brs, 1 H, 3-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 50 °C):  $\delta$  = -5.67 (SiCH<sub>3</sub>), -4.96 (SiCH<sub>3</sub>), 11.94 (C-7), 17.77 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.18 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.61 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.80 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 37.75 (C-5'), 38.08 (C-2''), 38.59 (C-2'), 47.45 (C-9<sup>iv</sup>), 51.21 (C-3''), 52.37 (C-6'), 64.18 (C-5''), 67.11 (FmocCH<sub>2</sub>), 76.20 (C-3'), 84.22 (C-4'), 84.32 (C-1''), 86.79 (C-4''), 90.72 (C-1'), 110.59 (C-5), 119.76 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 123.79 (C-5'''), 125.06 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 126.92 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 127.68 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.86 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 128.26 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 131.74 (C-4<sup>v</sup>), 136.87 (C-1<sup>v</sup>), 138.71 (C-6), 141.00 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 141.40 (C-8'''), 144.17 (C-2'''), 144.25 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 150.23 (Fmoc-C=O), 150.60 (C-2), 151.45 (C-4'''), 152.78 (3''-Amid-C=O), 156.45 (C-6'''), 164.03 (C-4), 172.11 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  = -111.2 (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 157 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1680, 1609, 1447, 1250, 1223, 1070, 1045, 832, 774.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 203 (5.05), 266 (4.68).

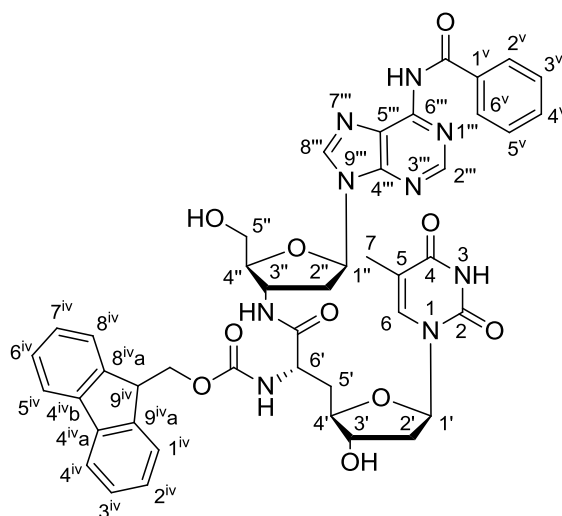
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 1086.5 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>56</sub>H<sub>71</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub>Si<sub>2</sub>** (1086.39)

ber.: 1086.4935 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1086.4935 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4.16 (3''-Aminoadenosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 148



(6'S)-148

*Variante 1:*

Eine Lösung von (6'S)-**94** (10 mg, 9.2  $\mu\text{mol}$ ) in 0.3 mL einer Lösung von 3 HF $\cdot$ NEt<sub>3</sub> in THF (5% v/v) wurde 26 h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte nur ein sehr geringer Umsatz beobachtet werden.

*Variante 2:*

Zu einer Lösung von (6'S)-**94** (10 mg, 9.2  $\mu\text{mol}$ ) in 0.2 mL abs. MeOH wurde AcCl (0.16  $\mu\text{L}$ , 0.18 mg, 2.3  $\mu\text{mol}$ , in 50  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) gegeben. Die Lösung wurde 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde weiteres AcCl (0.16  $\mu\text{L}$ , 0.18 mg, 2.3  $\mu\text{mol}$ , in 50  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) dazugegeben. Nach 29 h wurde kein Umsatz beobachtet. Die Zugabe von weiterem AcCl (0.32  $\mu\text{L}$ , 0.36 mg, 4.6  $\mu\text{mol}$ , in 100  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) führte zur Bildung von zahlreichen Nebenprodukten.

*Variante 3:*

Zu einer Lösung von (6'S)-**94** (10 mg, 9.2  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (0.5 mL) wurde Tris(dimethylamino)sulfonium-difluortrimethylsilicat (13 mg, 47  $\mu\text{mol}$ ) dazugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Zersetzung des Edukts aber keine Bildung des gewünschten Produkts beobachtet.

*Variante 4:*

Eine Lösung von (6'S)-**94** (650 mg, 0.599 mmol) in abs. MeOH (10 mL) wurde mit Ammoniumfluorid (249 mg, 6.73 mmol) versetzt und 4.5 h bei 60 °C gerührt. Die so erhaltene Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum

entfernt. Das an Kieselgel adsorbierte Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1).

**Ausbeute:** Es wurden 340 mg (0.396 mmol, 66%) eines gelblichen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.16.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 2.01 (s, 3 H, H-7), 2.32-2.46 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.56 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 3.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.73 (ddd,  $J$  = 13.0 Hz,  $J$  = 9.4 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.82 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 3.09 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 7.9 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.17 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.22 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.31 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.49-4.58 (m, 4 H, 3'-H, 4'-H, 4''-H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.07 (ddd,  $J$  = 8.5 Hz,  $J$  = 5.8 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 6'-H), 5.33 (dddd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 3''-H), 6.76 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 1''-H), 6.87 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.25-7.30 (m, 2 H, C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 7.38 (ddd, 2 H,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 2 H, C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 7.43 (dd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H, C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 7.49 (dd,  $J$  = 7.3 Hz,  $J$  = 7.3 Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.54 (s, 1 H, 6-H), 7.68 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.82 (dd,  $J$  = 7.6 Hz,  $J$  = 2.4 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.28 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2 H, 2<sup>v</sup>-H, 6<sup>v</sup>-H), 8.84-8.91 (m, 1 H, 6'-NH), 8.86 (s, 1 H, 8'''-H), 8.98 (s, 1 H, 2'''-H), 9.73 (d,  $J$  = 5.5 Hz, 1 H, 3''-NH), 11.86 (brs, 1 H, 3-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 12.13 (C-7), 37.38 (C-5'), 38.29 (C-2''), 39.62 (C-2'), 47.66 (C-9<sup>iv</sup>), 50.69 (C-3'''), 53.33 (C-6'), 62.41 (C-5''), 66.57 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.59 (C-3'), 84.28 (C-4'), 84.81 (C-4''), 85.15 (C-1''), 86.71 (C-1'), 111.01 (C-5), 120.16, 120.18 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.78 (C-5'''), 125.30 125.35 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.24 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 127.82 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 128.51 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.84 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 132.10 (C-4<sup>v</sup>), 135.53 (C-1<sup>v</sup>), 135.67 (C-6), 141.49 (C-8'''), 142.33 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.35 (C-2'''), 144.41 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 151.24 (Fmoc-C=O), 151.52 (C-2), 151.94 (3''-Amid-C=O), 152.18 (C-4'''), 156.89 (C-6'''), 164.59 (C-4), 172.38 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +6.7$  ( $c = 1.1$ , Pyridin).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 155 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1681, 1666, 1609, 1513, 1447, 1250, 1222, 1050, 703$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 199 (3.94), 256 (3.56)$ .

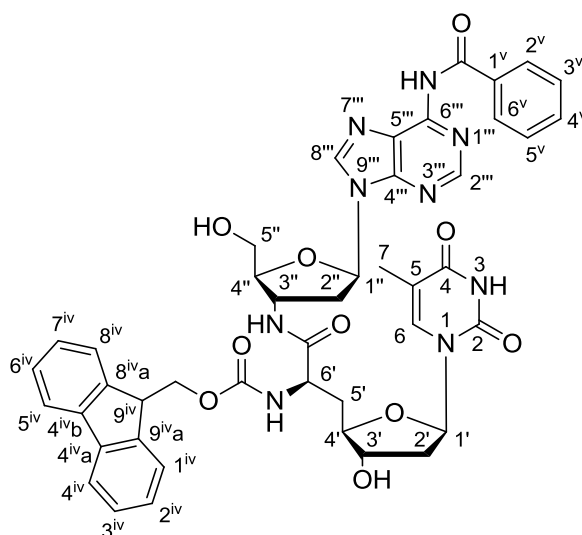
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 858.3$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>44</sub>H<sub>43</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub>** (857.87)

ber.: 858.3206 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 858.3207 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.4.17 (3''-Aminoadenosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 148



(6'*R*)-148

Die Synthese erfolgte gemäß der Synthese von (6'*S*)-148. Es wurden 550 mg (0.507 mmol) (6'*S*)-94, 198 mg (5.35 mmol) Ammoniumfluorid und 10 mL abs. MeOH verwendet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1).

**Ausbeute:** Es wurden 287 mg (0.335 mmol, 66%) eines gelblichen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.16.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 2.01$  (s, 3 H, H-7), 2.56-2.64 (m, 3 H, 2'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.69 (ddd,  $J = 14.6$  Hz,  $J = 9.3$  Hz,  $J = 5.4$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.89 (ddd,  $J = 13.2$  Hz,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.4$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.82 (ddd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.4$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 3.14 (ddd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 7.7$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.13 (dd,  $J = 12.1$  Hz,  $J = 3.5$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.19 (dd,  $J = 12.1$  Hz,  $J = 2.8$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.29 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.49-4.58 (m, 4 H, 3'-H, 4'-H, 4''-H, FmocCH<sub>2</sub>), 5.10 (ddd,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 5.4$  Hz,  $J = 5.4$  Hz, 1 H, 6'-H), 5.30 (dddd,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.6$  Hz, 1 H, 3''-H), 6.70 (dd,  $J = 6.6$  Hz,

$J = 6.6$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.81 (dd,  $J = 6.4$  Hz,  $J = 6.4$  Hz, 1 H, 1''-H), 7.29 (dd,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.39 (dd, 2 H,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.43 (dd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 3<sup>v</sup>-H, 5<sup>v</sup>-H), 7.49 (dd,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 7.4$  Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.55 (s, 1 H, 6-H), 7.67 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 1<sup>iv</sup>-H), 7.69 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.82 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.28 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 2<sup>v</sup>-H, 6<sup>v</sup>-H), 8.84-8.91 (m, 1 H, 6'-NH), 8.92 (s, 1 H, 8'''-H), 9.00 (s, 1 H, 2'''-H), 9.33 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1 H, 3''-NH), 11.85 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.33$  (C-7), 37.14 (C-5'), 38.43 (C-2''), 39.77 (C-2'), 47.60 (C-9<sup>iv</sup>), 50.86 (C-3'''), 53.72 (C-6'), 62.38 (C-5''), 66.65 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.46 (C-3'), 83.77 (C-4'), 84.76 (C-4''), 85.96 (C-1'''), 86.66 (C-1'), 110.76 (C-5), 120.14 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.78 (C-5'''), 125.38, 125.72 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.26 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 127.82 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 128.51 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.84 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 132.10 (C-4<sup>v</sup>), 135.52 (C-1<sup>v</sup>), 136.37 (C-6), 141.47 (C-8'''), 142.23 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.34 (C-2'''), 144.42 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 151.26 (Fmoc-C=O), 151.40 (C-2), 152.03 (C-6'''), 152.22 (3''-Amid-C=O), 157.01 (C-4'''), 164.52 (C-4), 173.15 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +27.6$  ( $c = 1.0$ , Pyridin).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 145 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1685, 1666, 1609, 1513, 1452, 1442, 1250, 1223, 1065, 703$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 198 (4.22), 256 (3.86)$ .

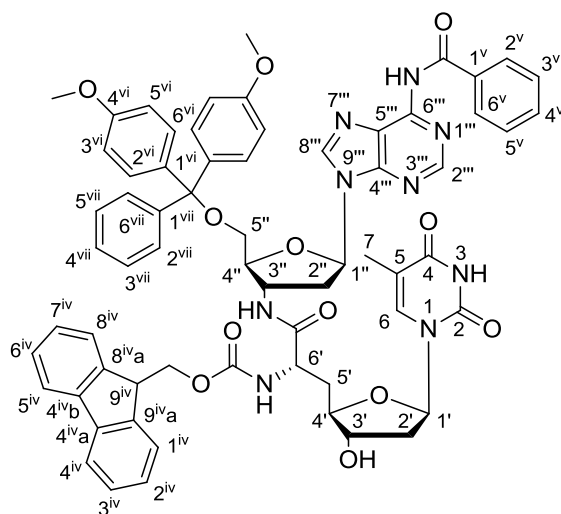
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 880.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>44</sub>H<sub>43</sub>N<sub>9</sub>O<sub>10</sub>** (857.87)

ber.: 880.3025 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 880.3022 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4.18 (5'-O-DMTr-3''-aminoadenosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 151



## (6'S)-151

Die Synthese von (6'S)-**151** erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 320 mg (0.373 mmol) (6'S)-**148**, 138 mg (0.410 mmol) DMTrCl und 0.87 mL Pyridin verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH/Pyridin 92:7:1 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 310 mg (0.267 mmol, 72%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 98:2) = 0.27.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-*d*<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 2.00 (s, 3 H, 7-H), 2.30-2.43 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.55 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.70 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 9.0 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.85 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 3.21 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.67 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.68 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.73-3.81 (m, 2 H, 5''-H), 4.30 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.47 (ddd,  $J$  = 9.5 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 4'-H), 4.53 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.55 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.67-4.72 (m, 1 H, 4''-H), 5.04 (ddd,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 8.3 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 6'-H), 5.31 (dddd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 3''-H), 6.75 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 1''-H), 6.82 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 1'-H), 6.93 (dd,  $J$  = 9.0 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H), 7.18-7.23 (m, 2 H, 2<sup>v</sup>-H, 6<sup>v</sup>-H), 7.26 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 0.8 Hz, 1 H, 2<sup>iv</sup>-H), 7.27 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 1.1 Hz, 1 H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.34 (dd,  $J$  = 7.8 Hz,  $J$  = 7.8 Hz, 2 H, 2<sup>vii</sup>-H, 6<sup>vii</sup>-H), 7.38 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.42 (dd,  $J$  = 7.2 Hz,  $J$  = 7.2 Hz,

2 H, 3<sup>v</sup>-H, 5<sup>v</sup>-H), 7.49 (dd,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 7.4$  Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.54-7.58 (m, 5 H, 2<sup>vi</sup>-H, 6<sup>vi</sup>-H, 6-H), 7.65-7.69 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.69-7.73 (m, 2 H, 3<sup>vii</sup>-H, 5<sup>vii</sup>-H), 7.82 (dd,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 2.9$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.71 (s, 1 H, 8<sup>'''</sup>-H), 8.84 (s, 1 H, 2<sup>'''</sup>-H), 8.85-8.92 (m, 1H, 6'-NH), 9.63 (brs, 1 H, 3''-NH), 12.94 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.24$  (C-7), 37.25 (C-5'), 37.58 (C-2''), 39.74 (C-2'), 47.66 (C-9<sup>iv</sup>), 51.31 (C-3'''), 53.29 (C-6'), 54.98 (OCH<sub>3</sub>), 64.54 (C-5''), 66.56 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.53 (C-3'), 84.42 (C-4'), 84.82 (C-4''), 85.11 (C-1'''), 86.69 (C-1'), 110.96 (C-5), 113.53 (C-3<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>), 120.16 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 123.75 (C-5'''), 125.35, 125.35 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 126.92 (C-3<sup>vii</sup>, C-5<sup>vii</sup>), 127.24 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 127.82 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 128.00 (ArC), 128.50 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.60, 128.83 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 130.37, 130.40 (C<sub>a</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>a</sub>-6<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-6<sup>vi</sup>), 132.08 (C-4<sup>v</sup>), 135.51 (C-1<sup>v</sup>), 135.70 (C-4<sup>vii</sup>), 136.36 (C-6), 141.49 (C-8'''), 142.21 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.35 (C-2'''), 144.42 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 145.45 (C-4<sup>vi</sup>), 150.03 (C-2), 151.30 (Fmoc-C=O), 151.48 (C-6'''), 152.20 (3''-Amid-C=O), 158.89 (C-4'''), 164.58 (C-4), 172.18 (Bz-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.9$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>)

**Schmelzpunkt:** 130 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1680, 1509, 1447, 1247, 1223, 1174, 1027, 822, 703$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 197 (4.76), 255 (4.23)$ .

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1160.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

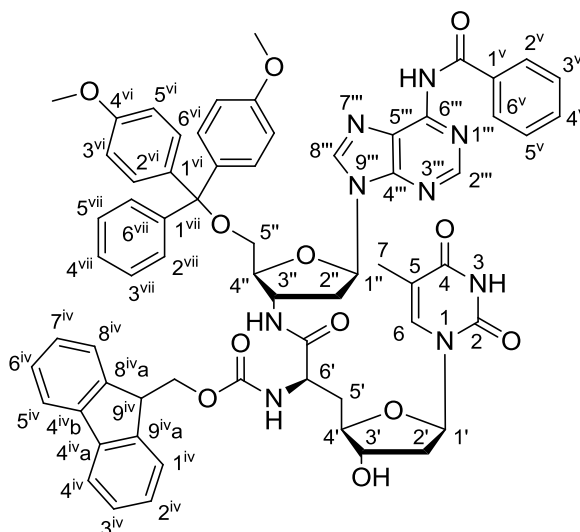
**C<sub>65</sub>H<sub>61</sub>N<sub>9</sub>O<sub>12</sub>** (1160.23)

ber.: 1160.4512 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1160.4509 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).



## 7.2.4.19 (5'-O-DMTr-3''-aminoadenosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 151

(6'*R*)-151

Die Synthese von (6'*R*)-151 erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 270 mg (0.315 mmol) (6'*R*)-148, 117 mg (0.347 mmol) DMTrCl und 0.73 mL abs. Pyridin verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH/Pyridin 92:7:1 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 295 mg (0.254 mmol, 81%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 98:2) = 0.27.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 1.98 (s, 3 H, 7-H), 2.53-2.61 (m, 3 H, 2'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.67 (ddd,  $J$  = 14.6 Hz,  $J$  = 9.5 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.91 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 3.25 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 7.8 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.64 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.66 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.71 (dd,  $J$  = 10.4 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.75 (dd,  $J$  = 10.4 Hz,  $J$  = 5.2 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.29 (dd,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 7.0 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.47-4.57 (m, 4 H, 3'-H, 4'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.67-4.72 (m, 1 H, 4''-H), 5.08 (ddd,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.9 Hz, 1 H, 6'-H), 5.32 (dddd,  $J$  = 5.4 Hz,  $J$  = 5.4 Hz,  $J$  = 5.4 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 3''-H), 6.69 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 6.78 (dd,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 1''-H), 6.90 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H), 7.17-7.21 (m, 2 H, 2<sup>v</sup>-H, 6<sup>v</sup>-H), 7.25-7.33 (m, 4 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H, 2<sup>vii</sup>-H, 6<sup>vii</sup>-H), 7.36-7.44 (m, 4 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H, 3<sup>v</sup>-H, 5<sup>v</sup>-H), 7.49 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 4<sup>v</sup>-H), 7.51-7.58 (m, 5 H, 2<sup>vi</sup>-H, 6<sup>vi</sup>-H, 6-H), 7.63-7.70 (m, 4 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H, 3<sup>vii</sup>-H, 5<sup>vii</sup>-H), 7.82 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.25-8.29 (m,

2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 8.67-72 (m, 2 H, 6'-NH, 8''-H), 8.90 (m, 1H, 2'''-H), 9.27-9.32 (m, 1 H, 3''-NH), 11.84 (brs, 1 H, BzNH), 12.86 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C): δ = 12.34 (C-7), 37.30 (C-5'), 37.85 (C-2''), 39.83 (C-2'), 47.61 (C-9<sup>iv</sup>), 51.30 (C-3'''), 53.74 (C-6'), 54.96 (OCH<sub>3</sub>), 64.48 (C-5'''), 66.66 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.46 (C-3'), 83.81 (Trityl-C<sub>quart</sub>), 84.37 (C-4'), 84.75 (C-4''), 85.97 (C-1''), 86.69 (C-1'), 110.72 (C-5), 113.51 (C-3<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>), 120.16 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 123.75 (C-5'''), 125.39, 125.76 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 126.89 (C-3<sup>vii</sup>, C-5<sup>vii</sup>), 127.26 (C-2<sup>v</sup>, C-6<sup>v</sup>), 127.82 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.98 (ArC), 128.50 (C-3<sup>v</sup>, C-5<sup>v</sup>), 128.56, 128.83 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 130.37 (C<sub>a</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>a</sub>-6<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-6<sup>vi</sup>), 132.08 (C-4<sup>v</sup>), 135.51 (C-1<sup>v</sup>), 135.70 (C-4<sup>vii</sup>), 136.34 (C-6), 141.47 (C-8'''), 142.05 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.33 (C-2'''), 144.46 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 145.41 (C-4<sup>vi</sup>), 150.03 (C-2), 151.33 (Fmoc-C=O), 151.39 (C-6'''), 152.21 (3''-Amid-C=O), 158.88 (C-4'''), 164.50 (C-4), 172.87 (Bz-C=O).

**Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -27.4 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 125 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1678, 1509, 1437, 1247, 1217, 1174, 1070, 1032, 703.

**UV** (MeCN): λ<sub>max</sub> (lg ε) = 199 (4.61), 264 (4.01).

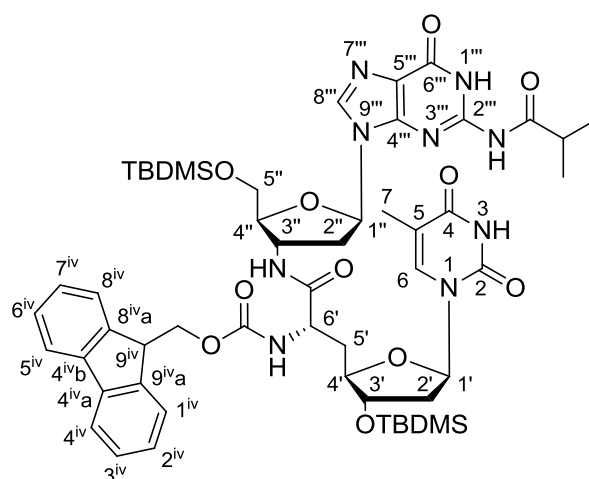
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 1160.5 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>65</sub>H<sub>61</sub>N<sub>9</sub>O<sub>12</sub>** (1160.23)

ber.: 1160.4512 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1160.4509 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.20 (5''-O-TBDMS-3''-aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(S)-TAA-amid **95**



(6'*S*)-**95**

Die Synthese von (6'*S*)-**95** erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 660 mg (1.04 mmol) der TAA (6'*S*)-**73**, 514 mg (1.14 mmol) des 3'-Aminoguanosins **92**,

214 mg (1.09 mmol) EDC, 147 mg (1.09 mmol) HOBt und 13 mL DCM verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH 97:3 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 730 mg (0.680 mmol, 66%) eines farblosen Schaums erhalten. Mittels Dünnschichtchromatographie konnte der Nachweis erbracht werden, dass die Verbindung sich während der Aufnahme von NMR-Spektren teilweise zersetzte. Dies wurde insbesondere bei der Auswertung von 2D-Spektren, deren Messzeit deutlich höher ist als diejenige von 1D-Spektren, sichtbar. Daher enthielten die NMR-Spektren Signale geringer Intensität, die sich nicht dem Produkt zuordnen lassen.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.31.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 1.24 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3a}$ ), 1.24 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3a}$ ), 1.95 (s, 3 H, 7-H), 2.09 (ddd,  $J$  = 14.4 Hz,  $J$  = 8.9 Hz,  $J$  = 4.2 Hz, 1 H, 5'- $\text{H}_a$ ), 2.15-2.28 (m, 3 H, 2'-H, 5'- $\text{H}_b$ ), 2.40 (ddd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 5.7 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 2''-H), 2.63 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 2''-H), 2.79 (qq,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 3.79-3.84 (m, 2 H, 5''-H), 3.95 (ddd,  $J$  = 8.8 Hz,  $J$  = 3.8 Hz,  $J$  = 3.8 Hz, 1 H, 4''-H), 4.06-4.10 (m, 1 H, 4'-H), 4.18 (dd,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 7.0 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.31-4.35 (m, 1 H, 3'-H), 4.36-4.41 (m, 3 H, 6'-H,  $\text{FmocCH}_2$ ), 4.63-4.69 (m, 1 H, 3''-H), 6.16 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1 H, 6'-NH), 6.16-6.21 (m, 2 H, 1'-H, 1''-H), 7.23-7.29 (m, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.33-7.39 (m, 3 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.53-7.56 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.61-7.60 (m, 1 H, 3''-NH), 7.70-7.74 (m, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 7.94 (s, 1 H, 8'''-H), 9.72 (s, 1 H, 2'''-NH), 10.07 (s, 1 H, 3'''-NH), 12.17 (s, 1 H, 3-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = -5.55 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5.45 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.84 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.79 ( $\text{SiCH}_3$ ), 11.99 (C-7), 17.80 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.32 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.81 ( $\text{CHCH}_{3a}$ ), 18.97 ( $\text{CHCH}_{3b}$ ), 25.60 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.90 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 35.96 ( $\text{CHCH}_3$ ), 36.50 (C-2''), 38.48 (C-2'), 39.36 (C-5'), 47.27 (C-9<sup>iv</sup>), 51.45 (C-6'), 51.78 (C-3''), 64.08 (C-5''), 67.24 ( $\text{FmocCH}_2$ ), 74.78 (C-3'), 83.85 (C-1'), 83.95 (C-4''), 85.78 (C-1''), 86.26 (C-4'), 112.04 (C-5), 119.96 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 121.38 (C-5'''), 124.89 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.00 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.00, 127.70 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 136.57 (C-6), 136.88 (C-8'''), 141.32 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 143.77, (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 148.07 (C-4'''), 148.33 (C-2'''), 150.86 (C-2), 155.51 ( $\text{Fmoc-C=O}$ ), 155.88 (C-6'''), 164.22 (C-4), 170.86 ( $\text{tBu-C=O}$ ), 179.46 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -9.7$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 175 °C.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 1676, 1605, 1250, 1098, 1065, 1037, 835, 779, 736.

**UV (MeCN):**  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 203 (4.85), 255 (4.72).

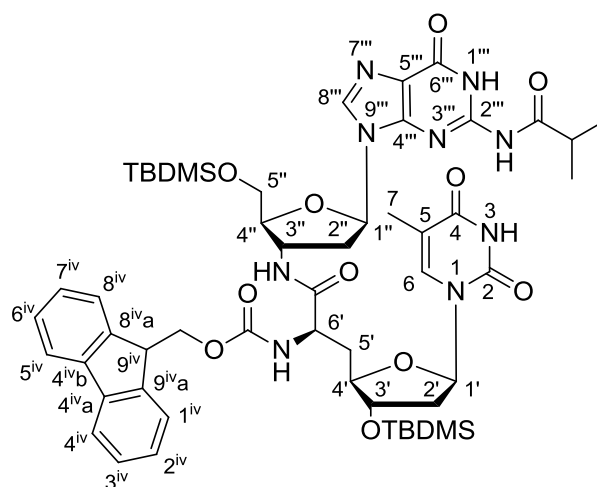
**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = 1090.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>53</sub>H<sub>73</sub>N<sub>9</sub>O<sub>11</sub>Si<sub>2</sub>** (1068.37)

ber.: 1090.4860 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 1090.4855 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.21 (5''-O-TBDMS-3''-aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc-3'-O-TBDMS)-(R)-TAA-amid **95**



#### (6'R)-**95**

Die Synthese von (6'S)-**95** erfolgte gemäß AAV 1 (7.1.7.1). Es wurden 525 mg (0.826 mmol) der TAA (6'S)-**73**, 409 mg (0.909 mmol) des 3'-Aminoguanosins **92**, 171 mg (0.867 mmol) EDC, 117 mg (0.867 mmol) HOBt und 13 mL DCM verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH 97:3 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 650 mg (0.609 mmol, 74%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.31.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 60 °C):  $\delta$  = 0.08 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.13 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.14 (s, 3 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.95 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.19 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3 H, CHCH<sub>3a</sub>), 1.26 (d,  $J$  = 6.8 Hz, CHCH<sub>3b</sub>), 1.80 (ddd,  $J$  = 14.0 Hz,  $J$  = 9.8 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 1.95 (s, 3 H, 7-H), 2.03 (dd,  $J$  = 12.8 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.23 (ddd,  $J$  = 13.6 Hz,  $J$  = 12.3 Hz,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.52 (dd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 5.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.72 (ddd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 9.2 Hz,

$J = 7.4$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.88 (qq,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, CHCH<sub>3</sub>), 3.10 (ddd,  $J = 12.9$  Hz,  $J = 9.4$  Hz,  $J = 4.8$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.82 (dd,  $J = 11.3$  Hz,  $J = 2.5$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.90 (dd,  $J = 11.3$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.04-4.07 (m, 1 H, 4'-H), 4.18-4.25 (m, 3 H, 3'-H, 4''-H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.38 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.55 (dd,  $J = 9.0$  Hz,  $J = 9.0$  Hz, 1 H, 6'-H), 4.66 (dd,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 3''-H), 5.69-5.75 (m, 1 H, 6'-NH), 5.71 (dd,  $J = 9.2$  Hz,  $J = 5.8$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.39 (dd,  $J = 9.3$  Hz,  $J = 5.5$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.18 (s, 1 H, 6-H), 7.28 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.35-7.39 (m, 1 H, 3''-NH), 7.38 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.56-7.61 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.74 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.08 (s, 1 H, 8'''-H), 9.51 (s, 1 H, 2'''-NH), 10.93 (s, 1 H, 3'''-NH), 12.37 (s, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 60 °C):  $\delta = -5.54$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-5.38$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.84$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-4.79$  (SiCH<sub>3</sub>), 11.67 (C-7), 17.94 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.41 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.86 (CHCH<sub>3a</sub>), 18.96 (CHCH<sub>3b</sub>), 25.71 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.97 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.70 (CHCH<sub>3</sub>), 36.18 (C-2''), 38.31 (C-2'), 39.98 (C-5'), 47.30 (C-9<sup>iv</sup>), 50.82 (C-6'), 51.79 (C-3''), 64.77 (C-5''), 67.32 (FmocCH<sub>2</sub>), 76.29 (C-3'), 83.36 (C-1'), 84.81 (C-4''), 87.83 (C-4'), 94.88 (C-1''), 110.75 (C-5), 119.90 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 121.46 (C-5'''), 125.01 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 126.99 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.63 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 136.55 (C-8'''), 141.33 (C-8<sup>iva</sup>, C-9<sup>iva</sup>), 142.36 (C-6), 143.89, 144.05 (C-4<sup>iva</sup>, C-4<sup>ivb</sup>), 148.26 (C-4'''), 149.34 (C-2'''), 150.38 (C-2), 155.26 (Fmoc-C=O), 156.51 (C-6'''), 165.19 (C-4), 171.68 (tBu-C=O), 180.04 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29.7$  (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>/Pyridin 10:2).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 240 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1676, 1605, 1247, 1103, 1075, 1045, 831, 774, 736$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 204 (4.84), 263 (4.56).

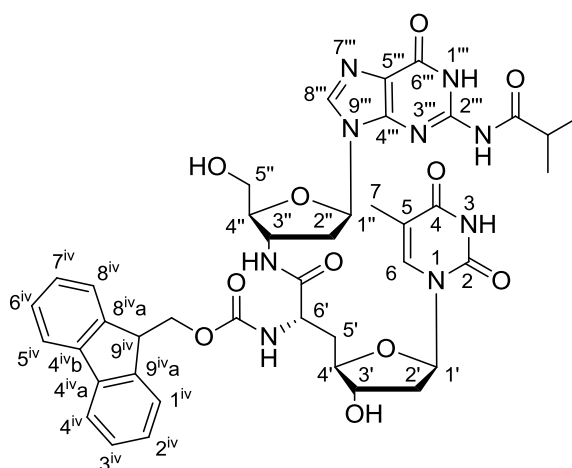
**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 1068.5 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>53</sub>H<sub>73</sub>N<sub>9</sub>O<sub>11</sub>Si<sub>2</sub>** (1068.37)

ber.: 1068.5041 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1068.5046 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.4.22 (3''-Aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 149



(6'S)-149

*Variante 1:*

Eine Lösung von (6'S)-**95** (10 mg, 9.4  $\mu\text{mol}$ ) in 0.3 mL einer Lösung von 3 HF·NEt<sub>3</sub> in THF (5% v/v) wurde 26 h bei Raumtemperatur gerührt. Es konnte ein nur geringer Umsatz beobachtet werden.

*Variante 2:*

Zu einer Lösung von (6'S)-**95** (10 mg, 9.4  $\mu\text{mol}$ ) in 0.2 mL abs. MeOH wurde AcCl (0.16  $\mu\text{L}$ , 0.18 mg, 2.3  $\mu\text{mol}$ , in 50  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) gegeben. Die Lösung wurde 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde weiteres AcCl (0.16  $\mu\text{L}$ , 0.18 mg, 2.3  $\mu\text{mol}$ , in 50  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) dazugegeben. Nach 29 h wurde kein Umsatz beobachtet. Die Zugabe von weiterem AcCl (0.32  $\mu\text{L}$ , 0.36 mg, 4.6  $\mu\text{mol}$ , in 100  $\mu\text{L}$  abs. MeOH) führte zur Bildung von zahlreichen Nebenprodukten.

*Variante 3:*

Zu einer Lösung von (6'S)-**95** (10 mg, 9.4  $\mu\text{mol}$ ) in 0.5 mL DMF wurde Tris(dimethylamino)sulfonium-difluortrimethylsilicat (13 mg, 47  $\mu\text{mol}$ ) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde Zersetzung des Edukts aber keine Bildung des gewünschten Produkts beobachtet.

*Variante 4:*

Eine Lösung von (6'S)-**95** (530 mg, 0.496 mmol) in abs MeOH (10 mL) wurde mit Ammoniumfluorid (183 mg, 4.96 mmol) versetzt und 4.5 h bei 60 °C gerührt. Die erhaltene Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum

entfernt. Das an Kieselgel adsorbierte Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 85:15).

**Ausbeute:** Es wurden 170 mg (0.203 mmol, 41%) eines gelblichen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.18.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 1.25 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 2.01 (s, 3 H, 7-H), 2.31-2.46 (m, 2 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.57 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 2.69-2.78 (m, 2 H, 2''-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>b</sub>), 2.91 (qq,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 3.00 (ddd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 8.2 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.12 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 4.0 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.18 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.1 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.30 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.50 (ddd,  $J$  = 9.6 Hz,  $J$  = 3.6 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 4''-H), 4.54 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.53-4.58 (m, 1 H, 3'-H), 4.56 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>b</sub>), 5.05 (ddd,  $J$  = 8.5 Hz,  $J$  = 8.5 Hz,  $J$  = 5.9 Hz, 1 H, 6'-H), 5.15 (dddd,  $J$  = 7.2 Hz,  $J$  = 7.2 Hz,  $J$  = 7.2 Hz,  $J$  = 7.2 Hz, 1 H, 3''-H), 6.44 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 1''-H), 6.87 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.26 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 2<sup>iv</sup>-H), 7.27 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 1.1 Hz, 1 H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.38 (dd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 3<sup>iv</sup>-H), 7.39 (dd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz, 1 H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.56 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 6-H), 7.64-7.70 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.82 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.06 (s, 1 H, 8'''-H), 8.89-8.94 (1 H, 6'-NH), 9.60-9.70 (m, 1 H, 3''-NH), 12.38 (brs, 1 H, 2'''-NH), 12.91 (brs, 1 H, 3-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 12.23 (C-7), 18.83 ( $\text{CHCH}_3$ ), 18.93 ( $\text{CHCH}_3$ ), 35.93 ( $\text{CHCH}_3$ ), 37.38 (C-5'), 38.21 (C-2''), 39.60 (C-2'), 47.63 (C-9<sup>iv</sup>), 50.33 (C-3''), 53.36 (C-6'), 62.17 (C-5''), 66.60 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.57 (C-3'), 84.22 (C-4'), 84.31 (C-1''), 85.10 (C-1'), 86.25 (C-4''), 111.07 (C-5), 120.17 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.00 (C-5'''), 125.27, 125.34 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.23 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.84 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 135.66 (C-6), 136.55 (C-8'''), 141.49 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.32, 144.37 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 148.65 (C-4'''), 150.13 (C-2'''), 151.54 (C-2), 156.91 (C-6'''), 164.59 (C-4), 172.46 (tBu-C=O), 179.93 (3''-Amid-C=O).

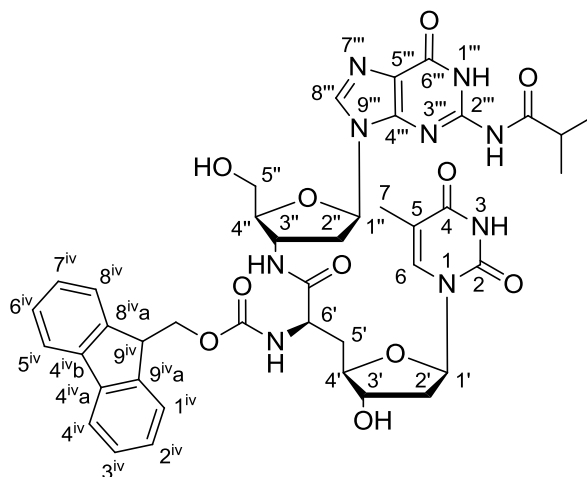
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +15.2$  (c = 1.1, Pyridin).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 140 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1666, 1604, 1557, 1438, 1247, 1055, 1032, 741, 703.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 198 (4.22), 255 (4.05).

**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 840.4 [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>41</sub>H<sub>45</sub>N<sub>9</sub>O<sub>11</sub>** (839.85)ber.: 840.3311 [M+H]<sup>+</sup>gef.: 840.3314 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).**7.2.4.23 (3''-Aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 149****(6'R)-149**

Eine Lösung von (6'R)-**95** (600 mg, 0.562 mmol) in abs. MeOH (10 mL) wurde mit Ammoniumfluorid (208 mg, 5.62 mmol) versetzt und 4.5 h bei 60 °C gerührt. Die so erhaltene Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel entfernt. Das an Kieselgel adsorbierte Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 85:15).

**Ausbeute:** Es wurden 180 mg (0.214 mmol, 38%) eines blassgelben Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.18.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 1.26 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6 H,  $i$ Pr(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.98 (s, 3 H, 7-H), 2.55-2.64 (m, 3 H, 2'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.68 (ddd,  $J$  = 14.2 Hz,  $J$  = 9.6 Hz,  $J$  = 5.9 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.82 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.94 (qq,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.8 Hz, 1 H,  $i$ PrCH), 3.06 (ddd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 4.09 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 4.14 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.1 Hz, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.29 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.49 (ddd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 3.1 Hz,  $J$  = 3.1 Hz, 1 H, 4''-H), 4.51-4.56 (m, 3 H, 4'-H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.57-4.62 (m, 1 H, 3'-H), 5.06 (ddd,  $J$  = 7.8 Hz,  $J$  = 7.8 Hz,  $J$  = 5.9 Hz, 1 H, 6'-H), 5.14 (dddd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 3''-H), 6.49



(dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 5.3$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.71 (dd,  $J = 6.5$  Hz,  $J = 6.5$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.25-7.31 (m, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.39 (dd,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>H), 7.57 (s, 1 H, 6-H), 7.64-7.70 (m, 2 H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.82 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.62 (s, 1 H, 8'''-H), 8.74-8.86 (m, 1 H, 6'-NH), 9.19-9.27 (m, 1 H, 3''-NH), 12.30 (brs, 1 H, 2'''-NH), 12.81 (brs, 1 H, 3-NH).

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.28$  (C-7), 18.86 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3a</sub>), 18.93 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3b</sub>), 35.93 (CHCH<sub>3</sub>), 37.12 (C-5'), 38.16 (C-2''), 39.64 (C-2'), 47.58 (C-9<sup>iv</sup>), 50.50 (C-3''), 53.85 (C-6'), 62.10 (C-5''), 66.69 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.49 (C-3'), 83.90 (C-4'), 84.36 (C-1''), 85.94 (C-1'), 86.19 (C-4''), 110.70 (C-5), 120.16 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.01 (C-5'''), 125.37 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.26 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.84 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 136.62 (C-6), 137.48 (C-8'''), 141.46 (C-8<sup>iv</sup>a, C-9<sup>iv</sup>a), 144.32, 144.39 (C-4<sup>iv</sup>a, C-4<sup>iv</sup>b), 148.68 (C-4'''), 149.95 (C-2'''), 151.38 (C-2), 155.87 (C-6'''), 164.73 (C-4), 173.21 (iBu-C=O), 179.97 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +22.8$  (c = 1.0, Pyridin).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 140 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1671, 1604, 1552, 1537, 1470, 1447, 1251, 1060, 736$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 199 (4.37), 248 (4.17), 255 (4.30).

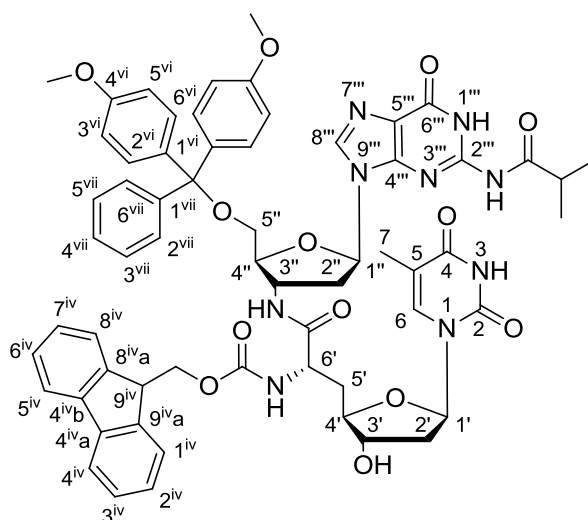
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 840.4$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>41</sub>H<sub>45</sub>N<sub>9</sub>O<sub>11</sub>** (839.85)

ber.: 840.3311 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 840.3315 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.24 (5'-O-DMTr-3''-aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(S)-TAA-amid 152



(6'S)-152

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 135 mg (0.161 mmol) (6'S)-**149**, 60 mg (0.18 mmol) DMTrCl verwendet und 0.39 mL abs. Pyridin verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH/Pyridin 90:9:1 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 140 mg (0.123 mmol, 76%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.43.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 1.26 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3 H, CHCH<sub>3a</sub>), 1.27 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3 H, CHCH<sub>3b</sub>), 2.00 (s, 3 H, 7-H), 2.27-2.44 (m, 3 H, 2'-H<sub>a</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 2.55 (ddd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 6.1 Hz,  $J$  = 3.7 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.65-2.70 (m, 2 H, 2''-H<sub>a</sub>, 5-H<sub>b</sub>), 2.93 (qq,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 7.0 Hz, 1 H, CHCH<sub>3</sub>), 3.12 (ddd,  $J$  = 13.5 Hz,  $J$  = 8.1 Hz,  $J$  = 5.1 Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.64-3.73 (m, 2 H, 5''-H), 3.68 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.69 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.29 (dd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.43 (ddd,  $J$  = 9.6 Hz,  $J$  = 3.7 Hz, 3 H, 4'-H), 4.52 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.54 (d,  $J$  = 6.9 Hz, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.53-4.58 (m, 1 H, 3'-H), 4.63-4.69 (m, 1 H, 4''-H), 5.00 (ddd,  $J$  = 8.4 Hz,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 6'-H), 5.07 (dddd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 6.9 Hz, 1 H, 3''-H), 6.45-6.50 (m, 1 H, 1''-H), 6.69 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 1'-H), 6.92-6.97 (m, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H), 7.18-7.21 (m, 1 H, 1<sup>vii</sup>-H), 7.23-7.29 (m, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.32 (ddd,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 7.5 Hz,  $J$  = 1.1 Hz, 2 H, 2<sup>vii</sup>-H, 6<sup>vii</sup>-H), 7.34-7.42 (m, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.52-7.57 (m, 5 H, 2<sup>vi</sup>-H, 6<sup>vi</sup>-H, H-6), 7.64-7.71 (m, 4 H, 3<sup>vii</sup>-H, 5<sup>vii</sup>-H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.80-7.84 (m, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.36 (s, 1 H, 8'''-H), 8.84-8.94 (m, 1 H, 6'-NH), 9.53 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 3''-NH), 12.35 (brs, 1 H, 2'''-NH), 12.96 (brs, 1 H, 3-NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta$  = 12.23 (C-7), 18.84 (CHCH<sub>3a</sub>), 18.90 (CHCH<sub>3b</sub>), 35.96 (CHCH<sub>3</sub>), 37.22 (C-5'), 37.74 (C-2''), 39.71 (C-2'), 47.64 (C-9<sup>iv</sup>), 51.04 (C-3''), 54.98 (C-6'), 64.47 (OCH<sub>3</sub>), 66.57 (FmocCH<sub>2</sub>) 74.51 (C-3'), 84.05 (C-4'), 84.12 (Trityl-C<sub>quart</sub>), 84.29 (C-1''), 85.07 (C-4''), 86.68 (C-1'), 111.02 (C-7), 113.52 (C-3<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>), 120.01, 120.20 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.16 (C-5'''), 123.75 (C-1<sup>vii</sup>), 125.24, 125.31 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.23, 127.36 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.84, 128.01 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 128.58 (C-2<sup>vii</sup>, C-6<sup>vii</sup>), 129.05 (C-3<sup>vii</sup>, C-5<sup>vii</sup>), 130.29 (C<sub>a</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>a</sub>-6<sup>vi</sup>), 130.35 (C<sub>b</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-6<sup>vi</sup>), 130.39 (C-1<sup>vii</sup>), 135.51 (C-4<sup>vii</sup>), 135.71 (C<sub>a</sub>-1<sup>vi</sup>), 136.27 (C<sub>b</sub>-1<sup>vi</sup>), 136.60 (C-6), 137.08 (C-8'''), 141.49 (C-1<sup>iv</sup>, C-12<sup>iv</sup>), 144.31, 144.36 (C-4<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-4<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 148.74 (C-4'''), 149.96 (C-2'''), 150.03 (C-2), 155.83 (C-6'''), 158.92 (C-4<sup>vi</sup>), 164.56 (C-4), 172.72 (*i*Bu-C=O), 179.90 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +149.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung  $> 160$  °C.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 1676, 1604, 1552, 1503, 1442, 1247, 1180, 1032, 741, 703$ .

**UV (MeCN):**  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 198 (4.89), 247 (4.35), 255 (4.43)$ .

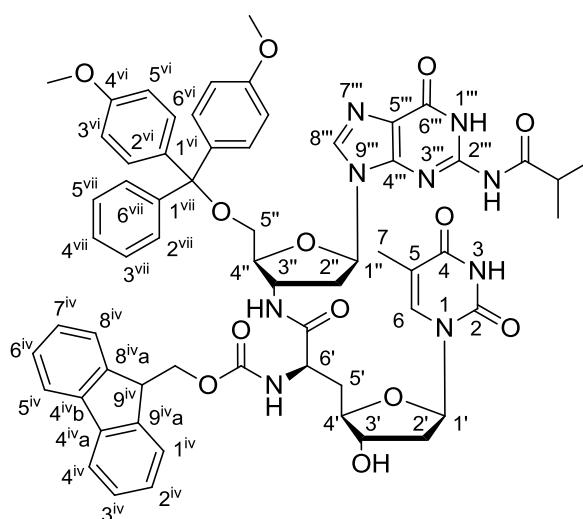
**MS (ESI<sup>+</sup>):**  $m/z = 1142.5$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**C<sub>62</sub>H<sub>63</sub>N<sub>9</sub>O<sub>13</sub>** (1142.22)

ber.: 1142.4618  $[\text{M}+\text{H}]^+$

gef.: 1142.4612 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.4.25 (5'-O-DMTr-3''-aminoguanosinyl)-(6'-N-Fmoc)-(R)-TAA-amid 152



(6'*R*)-152

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 2 (7.1.7.2). Es wurden 140 mg (0.166 mmol) (6'*R*)-149, 62 mg (0.18 mmol) DMTrCl und 0.39 mL abs Pyridin verwendet. Als Eluent für die chromatographische Reinigung wurde DCM/MeOH/Pyridin 90:9:1 verwendet.

**Ausbeute:** Es wurden 160 mg (0.140 mmol, 84%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.43.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, Pyridin- $d_5$ , 50 °C):  $\delta = 1.26$  (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3a}$ ), 1.27 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H,  $\text{CHCH}_{3b}$ ), 1.97 (s, 3 H, 7-H), 2.53-2.60 (m, 3 H, 2'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.66 (ddd,  $J = 14.1$  Hz,  $J = 9.7$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.80 (ddd,  $J = 13.5$  Hz,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>a</sub>), 2.93 (qq,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H,  $\text{CHCH}_3$ ), 3.12 (ddd,  $J = 13.2$  Hz,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 7.8$  Hz, 1 H, 2''-H<sub>b</sub>), 3.63 (dd,  $J = 10.4$  Hz,

$J = 3.3$  Hz, 1 H, 5''-H<sub>a</sub>), 3.66 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.66 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.66-3.71 (m, 1 H, 5''-H<sub>b</sub>), 4.28 (dd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, 9<sup>iv</sup>-H), 4.44-4.51 (m, 3 H, 4'-H, 4''-H, FmocCHH<sub>a</sub>), 4.53-4.63 (m, 2 H, 3'-H, FmocCHH<sub>b</sub>), 4.99-5.12 (m, 2 H, 3''-H, 6'-H), 6.50 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 5.2$  Hz, 1 H, 1''-H), 6.69 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.91 (dd,  $J = 8.9$  Hz,  $J = 1.5$  Hz, 4 H, 3<sup>vi</sup>-H, 5<sup>vi</sup>-H), 7.18-7.21 (m, 1 H, 1-H<sup>vii</sup>), 7.25-7.30 (m, 2 H, 2<sup>iv</sup>-H, 7<sup>iv</sup>-H), 7.33 (dd,  $J = 7.8$  Hz,  $J = 7.8$  Hz, 2 H, 2<sup>vii</sup>-H, 6<sup>vii</sup>-H), 7.37-7.42 (m, 2 H, 3<sup>iv</sup>-H, 6<sup>iv</sup>-H), 7.51 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2 H, 2<sup>vi</sup>-H<sub>a</sub>, 6<sup>vi</sup>-H<sub>a</sub>), 7.52 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2 H, 2<sup>vi</sup>-H<sub>b</sub>, 6<sup>vi</sup>-H<sub>b</sub>), 7.53-7.56 (m, 1 H, H-6), 7.64-7.69 (m, 4 H, 3<sup>vii</sup>-H, 5<sup>vii</sup>-H, 1<sup>iv</sup>-H, 8<sup>iv</sup>-H), 7.83 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, 4<sup>iv</sup>-H, 5<sup>iv</sup>-H), 8.36 (s, 1 H, 8'''-H), 8.70-8.77 (m, 1 H, 6'-NH), 9.19 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, 3''-NH), 12.26 (brs, 1 H, 2'''-NH), 12.89 (brs, 1 H, 3-NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, Pyridin-d<sub>5</sub>, 50 °C):  $\delta = 12.29$  (C-7), 18.87 (CHCH<sub>3a</sub>), 18.90 (CHCH<sub>3b</sub>), 35.96 (CHCH<sub>3</sub>), 37.28 (C-5'), 37.77 (C-2''), 39.68 (C-2'), 47.60 (C-9<sup>iv</sup>), 51.06 (C-3''), 54.96 (C-6'), 64.37 (OCH<sub>3</sub>), 66.82 (FmocCH<sub>2</sub>), 74.50 (C-3'), 83.99 (C-4'), 84.37 (C-1''), 85.97 (C-4''), 86.66 (C-1'), 110.68 (C-7), 113.50 (C-3<sup>vi</sup>, C-5<sup>vi</sup>), 120.01, 120.16 (C-4<sup>iv</sup>, C-5<sup>iv</sup>), 122.22 (C-5'''), 123.25 (C-1<sup>vii</sup>), 125.37 (C-1<sup>iv</sup>, C-8<sup>iv</sup>), 127.26, 127.36 (C-2<sup>iv</sup>, C-7<sup>iv</sup>), 127.85, 127.98 (C-3<sup>iv</sup>, C-6<sup>iv</sup>), 128.54 (C-2<sup>vii</sup>, C-6<sup>vii</sup>), 129.05 (C-3<sup>vii</sup>, C-5<sup>vii</sup>), 130.35 (C<sub>a</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>a</sub>-6<sup>vi</sup>), 130.37 (C<sub>b</sub>-2<sup>vi</sup>, C<sub>b</sub>-6<sup>vi</sup>), 130.42 (C-1<sup>vii</sup>), 135.51 (C-4<sup>vii</sup>), 135.70 (C<sub>a</sub>-1<sup>vi</sup>), 136.22 (C<sub>b</sub>-1<sup>vi</sup>), 136.60 (C-6), 137.11 (C-8'''), 141.47 (C-8<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-9<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 144.30, 144.43 (C-4<sup>iv</sup><sub>a</sub>, C-4<sup>iv</sup><sub>b</sub>), 148.72 (C-4'''), 149.96 (C-2'''), 151.36 (C-2), 155.81 (C-6'''), 158.89 (C-4<sup>vi</sup>), 164.73 (C-4), 172.92 (tBu-C=O), 179.93 (3''-Amid-C=O).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -56.7$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 160 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1676, 1605, 1552, 1503, 1442, 1247, 1070, 1027, 741, 703$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 198 (4.35), 247 (3.93), 255 (4.03)$ .

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 1142.5$  [M+H]<sup>+</sup>.

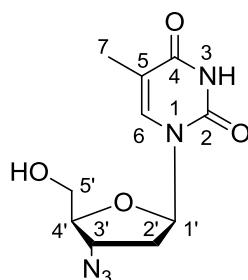
**C<sub>62</sub>H<sub>63</sub>N<sub>9</sub>O<sub>13</sub>** (1142.22)

ber.: 1142.4618 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 1142.4621 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.5 Synthese der NAA (6'S)-104 und (6'R)-104

### 7.2.5.1 3'-Desoxy-3'-azidothymidin 154



**154**

Eine Lösung von 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-azidothymidin **118** (300 mg, 0.787 mmol) in Methanol (16 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit einer Lösung von AcCl (14 µL, 15 mg, 0.20 mmol) in Methanol (0.14 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde nach 30 min auf Raumtemperatur gebracht und 20 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (1 mL) versetzt und weitere 15 min gerührt. Die Reaktionslösung wurde in DCM (50 mL) aufgenommen und mit Wasser (1 x 30 mL) und ges. wässriger NaCl (1 x 30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 19:1) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 132 mg (0.494 mmol, 63%) eines bräunlichen, zähen Harzes erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 95:5) = 0.25.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD):  $\delta$  = 1.90 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.35-2.45 (m, 2 H, 2'-H), 3.76 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.84 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.92 (ddd,  $J$  = 5.0 Hz,  $J$  = 3.5 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, 1 H, 4'-H), 4.36 (ddd,  $J$  = 6.9 Hz,  $J$  = 5.0 Hz, 1 H, 3'-H), 6.21 (dd,  $J$  = 6.5 Hz,  $J$  = 6.5 Hz, 1 H, 1'-H), 7.74 (q,  $J$  = 0.3 Hz, 1 H, 6-H).

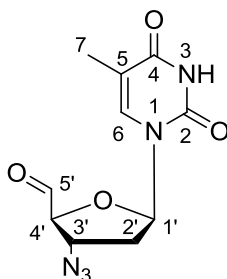
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, MeOD):  $\delta$  = 11.42 (C-7), 36.88 (C-2'), 60.41 (C-3'), 61.15 (C-5'), 84.56 (C-1'), 84.82 (C-4'), 110.40 (C-5), 136.28 (C-6), 153.24 (C-2), 168.07 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha] = +51.5$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 2101, 1661, 1466, 1366, 1265, 1199, 1098, 1050, 764$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 207 (4.15), 264 (4.18).

**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 290.1$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si** (267.24)ber.: 290.0865 [M+Na]<sup>+</sup>gef.: 290.0860 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).**7.2.5.2 3'-Desoxy-3'-azidothymidin-5'-aldehyd 105****105**

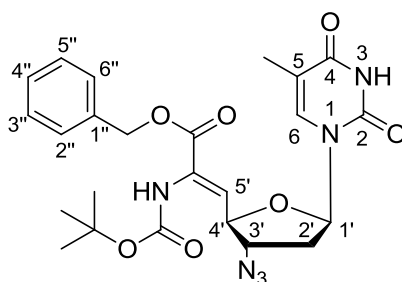
Eine Lösung von 3'-Desoxy-3'-azidothymidin **154** (55 mg, 0.21 mmol) in 2 mL MeCN (2 mL) wurde mit IBX (157 mg, 0.562 mmol) versetzt und 45 min unter Rückfluss gerührt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung wurde durch Filtration vom IBX getrennt und der Filterkuchen mit EtOAc nachgewaschen (3 x 2 mL). Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand mehrere Stunden unter Hochvakuum aufbewahrt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 50 mg (0.19 mmol, 91%) eines farblosen Feststoffs erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.90 (d, *J* = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.39 (ddd, *J* = 13.8 Hz, *J* = 6.6 Hz, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.52 (ddd, *J* = 13.8 Hz, *J* = 7.5 Hz, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.81 (dd, *J* = 11.8 Hz, *J* = 2.3 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.92-4.01 (m, 2 H, 5'-H<sub>b</sub>, 4'-H), 4.39 (ddd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 5.1 Hz, *J* = 5.1 Hz, 1 H, 3'-H), 6.07 (dd, *J* = 6.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.41 (q, *J* = 1.2 Hz, 1 H, 6-H), 9.26 (brs, 1 H, 5'-H).

Diese Verbindung wurde aufgrund ihrer Labilität nicht chromatographisch gereinigt und es wurde auf eine Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

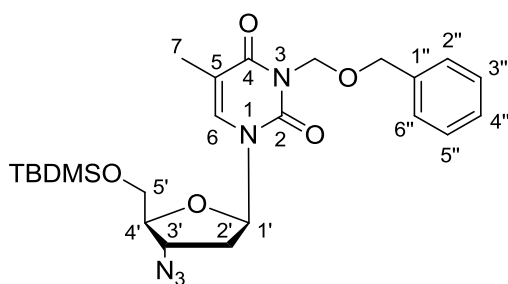
## 7.2.5.3 (Z)-6'-N-Boc-O-Bn-5',6'-didehydro-3'-desoxy-3'-azido-TAA 110



110

Zu einer auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Suspension von  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (37 mg, 0.33 mmol) in 2 mL THF wurde langsam eine Lösung von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinbenzylester **109** (77 mg, 0.21 mmol) in 1.7 mL THF gegeben. Die resultierte Lösung wurde 5 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und anschließend allmählich mit einer Lösung von 3'-Desoxy-3'-azidothymidin-5'-aldehyd **105** (50 mg, 0.19 mmol) in 12 mL THF versetzt. Die Reaktionslösung wurde 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur gebracht. Es wurde anhand von Dünnschichtchromatographie (DCM/MeOH 95:5) kein Umsatz der Edukte beobachtet.

## 7.2.5.4 5'-O-TBDMS-3'-N-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin 119



119

Eine Suspension von NaH (231 mg, 60% in Mineralöl, 9.63 mmol) in DMF (15 mL) wurde bei  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  langsam mit einer Lösung von 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-azidothymidin **118** (2.04 g, 5.35 mmol) in DMF (8 mL) versetzt und 30 min bei  $-3$  bis  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung tropfenweise mit Benzylloxymethylchlorid (1.00  $\mu\text{L}$ , 1.01 mg, 6.42 mmol) versetzt und 3 h bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt. Die resultierende Lösung wurde mit Ethylacetat (100 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (1 x 50 mL), ges. wässriger  $\text{NaHCO}_3$  (50 mL), Wasser (2 x 50 mL) und ges. wässriger NaCl (50 mL) gewaschen,

über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit Toluol koevaporiert (3 x 10 mL). Das so erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereingt (iHex/EtOAc 8:2).

**Ausbeute:** Es wurden 2.68 g (5.35 mmol, quantitativ) eines hochviskosen, farblosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (iHex/EtOAc 8:2) = 0.22.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.13 (s, 6 H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0.94 (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.92 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.19 (ddd,  $J$  = 13.7 Hz,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 6.7 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.44 (ddd,  $J$  = 13.7 Hz,  $J$  = 6.3 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.78-3.82 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.92-3.97 (m, 2 H, 5'-H<sub>b</sub>, 4'-H), 4.20 (ddd,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 4.4 Hz,  $J$  = 4.4 Hz, 1 H, 3'-H), 4.70 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.49 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 6.21 (dd,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 6.3 Hz, 1 H, 1'-H), 7.23-7.27 (m, 1 H, 4''-H), 7.29-7.33 (m, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.36-7.38 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H), 7.39 (q,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = -5.44 ( $\text{SiCH}_{3a}$ ), -5.34 ( $\text{SiCH}_{3b}$ ), 13.24 (C-7), 18.38 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.93 ( $\text{SiC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 38.06 (C-2'), 60.30 (C-3'), 62.80 (C-5'), 70.58 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.27 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 84.51 (C-4'), 85.23 (C-1'), 110.25 (C-5), 127.60 (C-4''), 127.62 (C-2'', C-6''), 128.27 (C-3'', C-5''), 133.72 (C-6), 138.08 (C-1''), 150.84 (C-2), 163.36 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha] = +44.4$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 2101, 1709, 1652, 1461, 1256, 1075, 832, 774, 731, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 208 (4.36), 267 (4.07)$ .

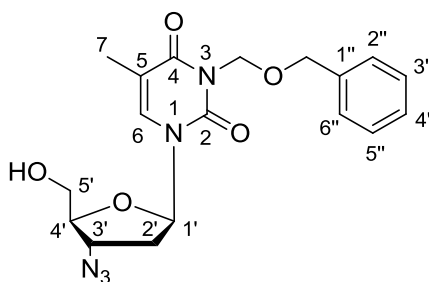
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 524.2$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si}$**  (501.65)

ber.: 524.2300  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 524.2296 ( $\text{ESI}^+$ -HRMS).



7.2.5.5 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin 153

153

Eine Lösung von 5'-*O*-TBDMS-3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin **119** (2.60 g, 5.19 mmol) in Methanol (100 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit AcCl (183  $\mu$ L, 202 mg, 2.59 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde nach 30 min auf Raumtemperatur gebracht und 1.5 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (5 mL) versetzt und weitere 15 min gerührt. Die Reaktionslösung wurde in EtOAc (150 mL) aufgenommen und mit Wasser (1 x 80 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 80 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel (Hex/EtOAc 3:2) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 1.81 g (4.67 mmol, 90%) eines hochviskosen, farblosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.43.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.90 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.36 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 6.7 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.42 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.75-3.81 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.91-3.97 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.33 (ddd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 5.3 Hz,  $J$  = 5.3 Hz, 1 H, 3'-H), 4.69 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.47 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.07 (dd,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 7.22-7.27 (m, 1 H, 4''-H), 7.28-7.32 (m, 2 H, 3''-H, 5''-H), 7.33-7.35 (m, 2 H, 2''-H, 6''-H), 7.43 (q,  $J$  = 1.2 Hz, 1 H, 6-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 13.18 (C-7), 37.50 (C-2'), 59.88 (C-3'), 61.86 (C-5'), 70.62 (NCH<sub>2</sub>O), 72.34 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 84.54 (C-4'), 86.84 (C-1'), 110.38 (C-5), 127.64 (C-4''), 127.70 (C-2'', C-6''), 128.31 (C-3'', C-5''), 135.32 (C-6), 137.91 (C-1''), 150.92 (C-2), 163.39 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20}$  = +49.1 ( $c$  = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2101, 1704, 1637, 1466, 1266, 1093, 1070, 774, 731, 698.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 208 (4.14), 267 (3.89).

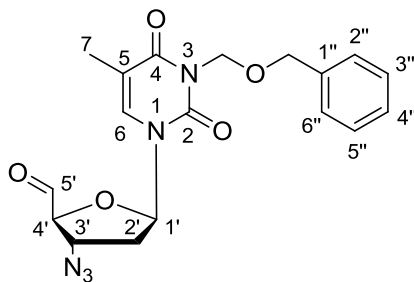
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 388.2$  [M+H]<sup>+</sup>.

**C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Si** (387.39)

ber.: 388.1615 [M+H]<sup>+</sup>

gef.: 388.1610 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.6 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin-5'-aldehyd **106**



#### **106**

Eine Lösung von 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin **153** (1.74 g, 4.49 mmol) in MeCN (43 mL) wurde mit IBX (3.15 g, 11.2 mmol) versetzt und 45 min unter Rückfluss gerührt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung wurde durch Filtration vom IBX getrennt und der Filterkuchen mit EtOAc nachgewaschen (3 x 20 mL). Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand mehrere Stunden unter Hochvakuum aufbewahrt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

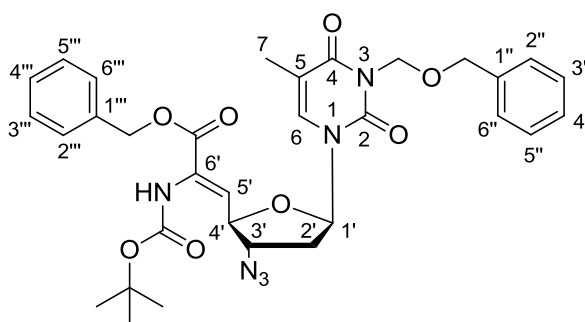
**Ausbeute:** Es wurden 1.72 g (4.46 mmol, 99%) eines farblosen Schaums erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.94$  (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, 7-H), 2.35-2.45 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.43 (ddd,  $J = 14.1$  Hz,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 4.0$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.42 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1 H, 4'-H), 4.60 (ddd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 3.5$  Hz,  $J = 3.4$  Hz, 1 H, 3'-H), 4.68 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.46 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.00 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 6.6$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.23-7.35 (m, 6 H, 6-H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 13.11$  (C-7), 36.60 (C-2'), 61.68 (C-3'), 70.57 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 72.35 (NCH<sub>2</sub>O), 88.59 (C-1'), 90.36 (C-4'), 110.70 (C-5), 127.63 (C-4''), 127.74 (C-2'', C-6''), 128.31 (C-3'', C-5''), 135.32 (C-6), 137.91 (C-1''), 150.69 (C-2), 163.23 (C-4), 198.34 (C-5').

Die erhaltene Verbindung wurde aufgrund ihrer geringen Stabilität nicht chromatographisch gereinigt und es wurde auf eine Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

### 7.2.5.7 (Z)-6'-N-Boc-O-Bn-5',6'-didehydro-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-azido-TAA 111



(Z)-111

Zu einer auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung von  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (504 mg, 4.49 mmol) in THF (43 mL) wurde langsam eine Lösung von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinbenzylester **109** (1.67 g, 4.49 mmol) in THF (34 mL) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 5 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und anschließend allmählich mit einer Lösung von 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-azidothymidin-5'-aldehyd **106** (1.45 g, 2.95 mmol) in THF (18 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur gebracht. Die Reaktionslösung wurde auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt, mit Methanol (5 mL) versetzt und mit Ethylacetat (200 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (1 x 100 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 100 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (*i*Hex/EtOAc 3:2).

**Ausbeute:** Es wurden 2.06 g (3.26 mmol, 73%, Diastereomergemisch *Z/E* 93:7) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (*i*Hex/EtOAc 4:6) = 0.62.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.48 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.83 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 3 H, 7-H), 2.24 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_a$ ), 2.49 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 5.9 Hz,  $J$  = 2.9 Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_b$ ), 4.35 (ddd,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 3.0 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, 1 H, 3'-H), 4.69 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.86 (dd,  $J$  = 8.4 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, 1 H, 6'-H), 5.22 (d,

$J = 12.2$  Hz, 2 H, CbzCHH<sub>a</sub>), 5.27 (d,  $J = 12.2$  Hz, 2 H, CbzCHH<sub>b</sub>), 5.46 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1 H, NCHH<sub>a</sub>O), 5.48 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1 H, NCHH<sub>b</sub>O), 6.07 (dd,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 6.0$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.31 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1 H, 5'-H), 6.60 (s, 1 H, 6'-NH), 7.09 (q,  $J = 1.2$  Hz, 1 H, 6-H), 7.22-7.26 (m, 1 H, ArH), 7.28-7.33 (m, 2 H, ArH), 7.34-7.39 (m, 7 H, ArH).

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 13.21$  (C-7), 28.13 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 37.36 (C-2'), 64.99 (C-3'), 68.05 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.59 (NCH<sub>2</sub>O), 72.30 (NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 81.87 (C-6'), 87.68 (C-1'), 110.43 (C-5), 125.29 (C-5'), 127.63, 128.27, 128.51, 128.73, 128.73, (ArC), 134.02 (ArC), 134.90 (C-6), 138.40 (ArC), 150.70 (C-2), 153.13 (Boc-C=O), 163.23 (C-4), 163.92 (COO).

IR (ATR):  $\tilde{\nu} = 2101, 1708, 1652, 1242, 1151, 1065, 1027, 769, 736, 693$ .

UV (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 206 (4.56), 261 (4.17).

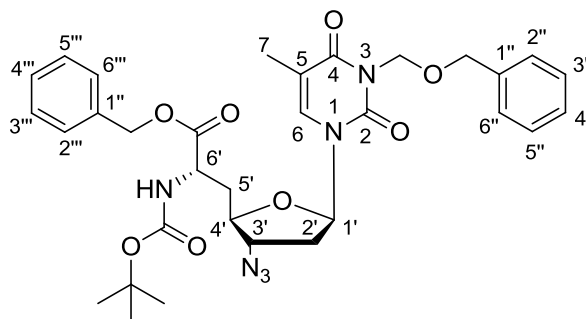
MS (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 655.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub> (623.67)

ber.: 655.2492 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 655.2487 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.8 6'-N-Boc-O-Bn-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-azido-(S)-TAA 115



(6'S)-115

Die Reaktion wurde unter striktem Sauerstoff-Ausschluss durchgeführt. Durch eine Lösung des (Z)-Olefins **111** (950 mg, 1.503 mmol) in abs. MeOH (50 mL) wurde 15 min ein Argonstrom geleitet. Anschließend wurde die Lösung mit (S,S)-Me-DuPHOS-Rh (19 mg, 32  $\mu$ mol) versetzt und 3 d bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Es wurde eine weitere Portion (S,S)-Me-DuPHOS-Rh (19 mg, 32  $\mu$ mol) dazugegeben und die Reaktion weitere 4 d gerührt. Die Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (iHex/EtOAc 3:2).

**Ausbeute:** Es wurden 800 mg (1.26 mmol, 84%, Diastereomerengemisch 6'S/6'R 85:15) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (*i*Hex/EtOAc 1:1) = 0.62.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 1.39 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.68 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, 2'- $\text{H}_a$ ), 1.76-1.84 (m, 2 H, 2'- $\text{H}_b$ , 5- $\text{H}_a$ ), 1.88 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 7-H), 2.01 (ddd,  $J$  = 14.4 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 4.0 Hz, 1 H, 5'- $\text{H}_b$ ), 3.28 (ddd,  $J$  = 7.4 Hz,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, 3'-H), 3.64 (ddd,  $J$  = 8.7 Hz,  $J$  = 6.2 Hz,  $J$  = 4.0 Hz, 1 H, 4'-H), 4.50-4.58 (m, 1 H, 6'-H), 4.70 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.90 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H,  $\text{CbzCH}_2$ ), 4.93 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H,  $\text{CbzCH}_2$ ), 5.11 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1 H, 6'-NH), 5.51 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.68 (dd,  $J$  = 6.0 Hz,  $J$  = 6.0 Hz, 1 H, 1'-H), 6.75 (brs, 1 H, 6-H), 7.00-7.13 (m, 8 H, ArH), 7.31-7.34 (m, 2 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 12.55 (C-7), 27.95 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 35.64 (C-5'), 36.42 (C-2'), 51.14 (C-6'), 62.76 (C-3'), 66.84 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 70.63 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.16 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 79.61 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 80.10 (C-4'), 85.86 (C-1'), 110.06 (C-5), 133.74 (C-6), 127.14, 127.86, 127.92, 127.99, 128.15, 128.31 (ArC), 135.44 (C-1''), 138.74 (C-1'''), 150.43 (Boc-C=O), 154.87 (C-2), 162.53 (C-4), 171.08 (COO).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2101, 1704, 1652, 1452, 1250, 1156, 1070, 774, 736, 698.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 206 (4.65), 266 (4.19).

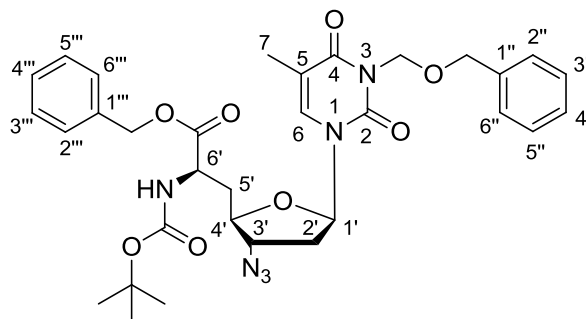
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 633.3 [M-H]<sup>-</sup>.

**$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_8$**  (634.68)

ber.: 633.2678 [M-H]<sup>-</sup>

gef.: 633.2675 (ESI-HRMS).

### 7.2.5.9 6'-N-Boc-O-Bn-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-azido-(R)-TAA 115



(6'R)-115

Die Synthese erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese der TAA (6'S)-**115**. Es wurden 950 mg des (*Z*)-Olefins **111**, 38 mg (64  $\mu$ mol) (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh und 50 mL Methanol eingesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 14 d.

**Ausbeute:** Es wurden 541 mg (0.853 mmol, 54%, Diastereomerengemisch 6'R/6'S 95:5) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (*i*Hex/EtOAc 1:1) = 0.62.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 1.39 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.72-1.85 (m, 3 H, 2'-H<sub>a</sub>, 2'-H<sub>b</sub>, 5'-H<sub>a</sub>), 1.78 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 7-H), 1.86-1.95 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.27-3.34 (m, 1 H, 3'-H), 3.61 (ddd,  $J$  = 9.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 3.2 Hz, 1 H, 4'-H), 4.50-4.58 (m, 1 H, 6'-H), 4.70 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.89 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H,  $\text{CbzCH}_2$ ), 5.00 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1 H,  $\text{CbzCH}_2$ ), 5.01-5.06 (m, 1 H, 6'-NH), 5.44 (dd,  $J$  = 6.8 Hz,  $J$  = 5.4 Hz, 1 H, 1'-H), 5.45 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.50 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 6.44-6.47 (m, 1 H, 6-H), 7.02-7.16 (m, 8 H, ArH), 7.31-7.34 (m, 2 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 70 °C):  $\delta$  = 12.65 (C-7), 27.96 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 35.53 (C-5'), 36.35 (C-2'), 51.79 (C-6'), 63.08 (C-3'), 66.82 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 70.62 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.18 ( $\text{NCH}_2\text{OCH}_2$ ), 79.53 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 80.49 (C-4'), 86.75 (C-1'), 109.83 (C-5), 127.15, 127.30, 127.67, 128.00, 128.09, 128.30 (ArC), 133.88 (C-6), 135.63 (C-1''), 138.74 (C-1'''), 150.25 (Amid-C=O), 155.08 (C-2), 162.44 (C-4), 171.33 (COO).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 2101, 1704, 1652, 1455, 1270, 1250, 1156, 1075, 736, 698.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 267 (3.99).

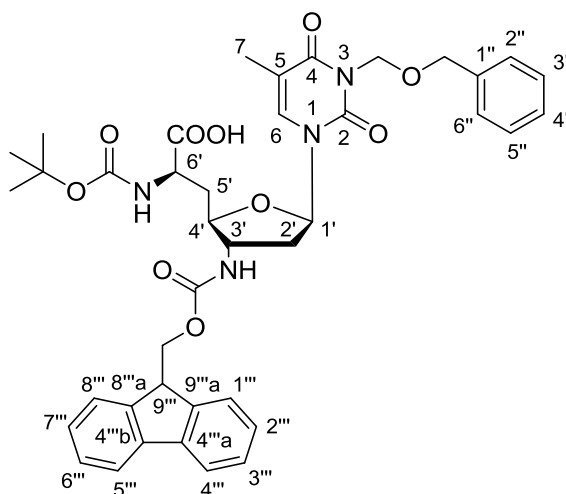
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 633.3 [M-H]<sup>+</sup>.

**C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>** (634.68)

ber.: 633.2678 [M-H]<sup>+</sup>

gef.: 633.2679 (ESI-HRMS).

## 7.2.5.10 6'-N-Boc-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Fmoc-(R)-TAA 158



(6'R)-158

*Hydrogenolytische Spaltung der Bn- und Cbz-Schutzgruppen:*

Eine Lösung der TAA (6'R)-115 (100 mg, 157  $\mu\text{mol}$ ) in abs. MeOH (4 mL) wurde mit 1,4-Cyclohexadien (146  $\mu\text{L}$ , 122 mg, 1.53 mmol) und Palladium (17 mg, 16  $\mu\text{mol}$ , 10% auf Aktivkohle) versetzt und 28 h bei RT gerührt. Die Suspension wurde über Celite filtriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Es wurden 80 mg eines weißen, verunreinigten Feststoffs erhalten, der direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt wurde.

*Einführung der Fmoc-Schutzgruppe:*

Das Reaktionsprodukt der Hydrogenolytischen Spaltung von (6'R)-115 (80 mg) wurde bei 0 °C in THF (1.2 mL) gelöst und mit  $\text{NEt}_3$  (53  $\mu\text{L}$ , 39 mg, 0.39 mmol) sowie FmocCl (48 mg, 0.19 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 30 min bei 0 °C gerührt, mit einem Tropfen Wasser versetzt und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1). Das so erhaltene Produkt wurde 16 h lyophilisiert.

**Ausbeute:** Es wurden 26 mg eines weißen, verunreinigten Feststoffs erhalten (100% Ausbeute über 2 Stufen: 116 mg).

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz, MeOD, 60 °C):  $\delta$  = 1.43 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)), 1.94 (s, 3 H, 7-H), 2.01-2.38 (m, 4 H, 2'-H, 5'-H), 3.82-4.05 (m, 2 H, 4'-H, 6'-H), 4.18-4.26 (m, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.40-4.45 (m, 1 H, 3'-H), 4.63-4.68 (m, 1 H, 9'''-H), 4.69 (s, 2 H,

NCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.51 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 6.00-6.18 (m, 1 H, 1'-H), 7.20-7.48 (m, 9 H, ArH), 7.65 (d, *J* = 7.4 Hz, 2 H, 1'''-H, 8'''-H), 7.79 (d, *J* = 7.4 Hz, 2 H, 4'''-H, 5'''-H).

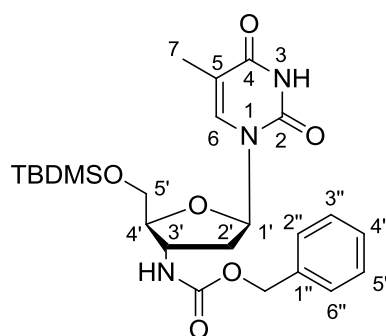
**C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>** (749.81)

ber.: 739.2985 [M-H]<sup>-</sup>

gef.: 739.2982 (ESI-HRMS).

Auf die Untersuchung des erhaltenen Produkts mittels weiterer analytischer Methoden wurde aufgrund der darin enthaltenen Verunreinigungen verzichtet.

### 7.2.5.11 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin 120



### 120

Eine Lösung von 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-aminothymidin **72** (6.00 g, 17.0 mmol) in THF (150 mL) wurde bei 0 °C mit DMAP (10 mg, 82 μmol), Triethylamin (5.89 mL, 4.30 g, 42.0 mmol) und Chlorameisensäurebenzylester (2.66 mL, 3.18 g, 18.7 mmol) versetzt und 30 min bei 0 °C gerührt. Die erhaltene Lösung wurde mit Ethylacetat (500 mL) verdünnt und mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (2 x 200 mL) sowie ges. NaCl-Lösung (200 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 40:1).

**Ausbeute:** 7.05 g (17.0 mmol, 85%) eines farblosen Schaums.

**DC:** *R<sub>f</sub>* (DCM/MeOH 20:1) = 0.36.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 0.09 (s, 6 H, SiCH<sub>3</sub>), 0.92 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.87 (d, *J* = 1.0 Hz, 3 H, 7-H), 2.29 (dd, *J* = 6.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, 2 H, 2'-H), 3.77-3.85 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.88-3.95 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 4.29 (ddd, *J* = 6.6 Hz, *J* = 6.6 Hz, *J* = 5.5 Hz, 1 H, 3'-H), 5.06 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, BnCH<sub>2a</sub>), 5.10 (d, *J* = 13.0 Hz, 1 H, BnCH<sub>2b</sub>), 6.17 (dd, *J* = 6.6 Hz, 1 H, 1'-H), 7.22-7.37 (m, 5 H, ArH), 7.57 (d, *J* = 1.0 Hz, 1 H, 7-H).



$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = -5.27$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $-5.21$  ( $\text{SiCH}_3$ ),  $12.58$  (C-7),  $19.28$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ),  $26.47$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $39.25$  (C-2'),  $52.22$  (C-3'),  $64.22$  (C-5'),  $67.65$  ( $\text{CbzCH}_2$ ),  $85.98$  (C-1'),  $86.48$  (C-4'),  $111.50$  (C-5),  $128.88$  (C-2'', C-6''),  $129.04$  (C-3'', C-4'', C-5''),  $129.47$  (C-1''),  $137.36$  (C-6),  $152.26$  (C-2),  $166.23$  (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:**  $79\text{ }^\circ\text{C}$ .

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1680, 1466, 1256, 1123, 1065, 1003, 831, 774, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) =  $207$  (4.19),  $265$  (3.91).

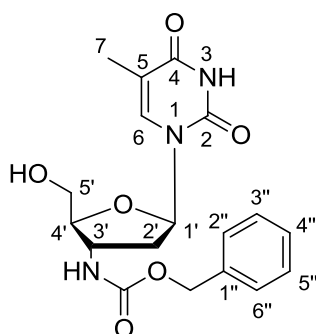
**MS** ( $\text{ESI}^+$ ):  $m/z = 488.2$   $[\text{M-H}]^-$ .

$\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6\text{Si}$  (489.64)

ber.: 488.2222  $[\text{M-H}]^-$

gef.: 488.2219 ( $\text{ESI-HRMS}$ ).

### 7.2.5.12 3'-Desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin 156



**156**

Eine Lösung von 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin **120** (150 mg, 0.307 mmol) in Methanol (6 mL) wurde bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  mit Acetylchlorid (12 mg, 11  $\mu\text{L}$ , 0.154 mmol) versetzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und bis zum vollständigen Umsatz des Ausgangsmaterials gerührt. Die resultierende Lösung wurde mit ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (1 mL) versetzt und anschließend in DCM (30 mL) aufgenommen, mit Wasser (10 mL) und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung (10 mL) gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Die organische Phase wurde bei vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 19:1).

**Ausbeute:** Es wurden 100 mg (0.266 mmol, 87%) eines weißen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.39.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD):  $\delta$  = 1.90 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 3 H, 7-H), 2.33 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.37 (ddd,  $J$  = 13.8 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.74 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 3.6 Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.86 (dd,  $J$  = 12.1 Hz,  $J$  = 2.7 Hz, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.89 (ddd,  $J$  = 3.6 Hz,  $J$  = 2.7 Hz,  $J$  = 2.7 Hz, 1 H, 4'-H), 4.33 (ddd,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 6.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 3'-H), 5.06 (s, 2 H, CbzCH<sub>2</sub>), 6.17 (dd,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 5.8 Hz, 1 H, 1'-H), 7.28-7.39 (m, 5 H, ArH), 7.83 (q,  $J$  = 1.1 Hz, 1 H, 7-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, MeOD):  $\delta$  = 10.90 (C-7), 37.62 (C-2'), 50.46 (C-3'), 61.06 (C-5'), 66.33 (CbzCH<sub>2</sub>), 84.59 (C-1'), 85.20 (C-4'), 110.15 (C-5), 127.44 (C-2'', C-6''), 127.63 (C-3'', C-4'', C-5''), 128.06 (C-1''), 136.68 (C-6), 150.94 (C-2), 164.92 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  = +25.0 ( $c$  = 1.1, MeOH).

**Schmelzpunkt:** 188 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1719, 1681, 1666, 1523, 1476, 1280, 1251, 1098, 1075.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 207 (4.33), 265 (4.10).

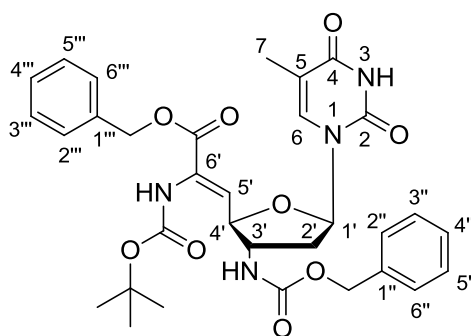
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 398.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>** (375.38)

ber.: 398.1328 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 398.1332 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.13 (Z)-6'-N-Boc-O-Bn-5',6'-didehydro-3'-desoxy-3'-N-Cbz-amino-TAA 112



(Z)-112

**Synthese des 3'-Desoxy-3'-N-(Cbz)-aminothymidin-5'-aldehyds 107:**

Eine Lösung von 3'-Desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin **156** (115 mg, 0.307 mmol) in MeCN (3 mL) wurde mit IBX (215 mg, 0.768 mmol) versetzt und die Suspension 45 min unter Rückfluss gerührt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung wurde über eine Glasfritte filtriert und der Filterkuchen mit EtOAc (3 x 3 mL) gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden bei vermindertem Druck eingedunstet und der erhaltene

Rückstand mehrere Stunden unter Hochvakuum aufbewahrt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

*Wittig-Horner-Reaktion:*

Zu einer auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung von  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (35 mg, 0.32 mmol) in THF (3 mL) wurde langsam eine Lösung von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinbenzylester **109** (125 mg, 0.338 mmol) in 2.6 mL THF (2.6 mL) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 5 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und anschließend allmählich mit einer Lösung von 3'-Desoxy-3'-*N*-(Cbz)-aminothymidin-5'-aldehyd **107** (114 mg, 0.307 mmol) in THF (1.3 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur gebracht. Die Reaktionslösung wurde auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt, mit Methanol (0.2 mL) versetzt und mit Ethylacetat (20 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit dest. Wasser (1 x 10 mL) und ges. wässriger NaCl (1 x 10 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 40:1).

**Ausbeute:** Es wurden 128 mg (0.206 mmol, 68%) eines blassgelben Feststoffs erhalten. Die Aufnahme von  $^1\text{H-NMR}$  und von  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren bei verschiedenen Temperaturen ergab einen doppelten Signalsatz (Verhältnis der Integrale 1:1). Dies deutete darauf hin, dass es sich bei dem Syntheseprodukt um ein Diastereomeregemisch der *E*- und *Z*-Form des Olefins handelte. Versuche das Gemisch durch Säulenchromatographie zu trennen, waren nicht erfolgreich. Eine eindeutige Zuordnung eines der Signalsätze zu einem der beiden Diastereomere war nicht möglich.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.45$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.47 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.88 (s, 3 H, 7-H), 1.95 (s, 3 H, 7-H), 2.25-2.35 (m, 2 H, 2'-H), 2.35-2.43 (m, 2 H, 2'-H), 4.03-4.09 (m, 1 H, 3'-H), 4.09-4.16 (m, 1 H, 3'-H), 4.78-4.84 (m, 1 H, 4'-H), 5.06-5.28 (m, 9 H,  $\text{CbzCH}_2$ ,  $\text{BnCH}_2$ , 4'-H), 6.20 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1 H, 5'-H), 6.30 (dd,  $J = 6.6$  Hz, 2 H, 1'-H), 6.77-6.83 (m, 2 H, 3'-NH, 6'-NH), 6.87 (d,  $J = 8.8$  Hz, 5'-H), 7.16 (s, 1 H, 6-H), 7.27-7.42 (m, 21 H, ArH, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 12.46$ , 12.59 (C-7), 28.12, 28.21 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H})_3$ ), 37.73, 38.30 (C-2'), 56.36, 56.73 (C-3'), 66.99, 67.14 ( $\text{CbzCH}_2$ ,  $\text{BnCH}_2$ ), 79.82, 80.49 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH})_3$ ), 81.30, 81.54 (C-4'), 84.55, 85.32 (C-1'), 111.81, 111.86 (C-5), 121.41,

125.03 (C-5'), 128.26, 128.30, 128.38, 128.56, 128.63, 128.72, 128.83, 128.94 (ArC), 134.44, 135.09 (C-1'', C-1'''), 136.14, 136.24 (C-6), 150.56 (Boc-C=O), 152.43, 153.36 (C-2), 155.80, 156.58 (Cbz-C=O), 162.93, 163.23 (C-4), 163.37, 164.17 (Ester-C=O).

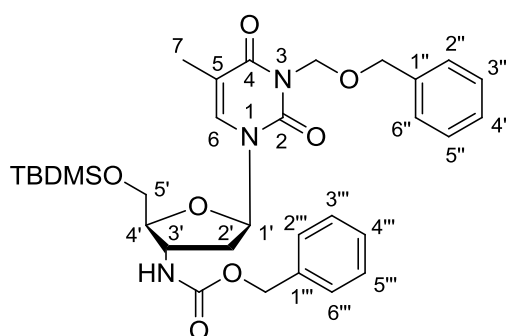
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 643.2$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>** (620.65)

ber.: 643.2375 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 643.2374 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

#### 7.2.5.14 5'-O-TBDMS-3'-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin **121**



**121**

Eine Suspension von NaH (572 mg, 60% in Mineralöl, 14.3 mmol) in DMF (22 mL) wurde bei -10 °C langsam mit einer Lösung von 5'-O-TBDMS-3'-desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin **120** (6.94 g, 14.2 mmol) in DMF (23 mL) versetzt und 30 min bei -3 bis -5 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung tropfenweise mit Benzyloxymethylchlorid (2.10 mL, 2.30 g, 14.3 mmol) versetzt und 3 h bei 0 °C gerührt. Die resultierende Lösung wurde mit 300 mL Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub> (150 mL), Wasser (2 x 150 mL) und ges. wässriger NaCl (150 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit Toluol koevaporiert (3 x 20 mL). Das erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE/EtOAc 7:3).

**Ausbeute:** Es wurden 6.94 g (11.4 mmol, 80%) eines farblosen Öls erhalten.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 7:3) = 0.27.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 0.12$  (s, 6 H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 0.94 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.89 (d,  $J = 0.8$  Hz, 3 H, 7-H), 2.26 (ddd,  $J = 13.8$  Hz,  $J = 7.4$  Hz,  $J = 6.3$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>),

2.33 (ddd,  $J = 13.8$  Hz,  $J = 6.4$  Hz,  $J = 5.8$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.80-3.87 (m, 1 H, 5'-H), 3.92-3.98 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H), 4.29 (ddd,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 5.8$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, 3'-H), 4.67 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 5.10 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1 H, CbzCHH<sub>a</sub>), 5.13 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1 H, CbzCHH<sub>b</sub>), 5.48 (d,  $J = 9.9$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>OCHH<sub>a</sub>), 5.51 (d,  $J = 9.9$  Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>OCHH<sub>b</sub>), 6.17 (dd,  $J = 6.4$  Hz,  $J = 6.3$  Hz, 1 H, 1'-H), 7.21-7.39 (m, 10 H, ArH), 7.56 (s, 1 H, 6-H).

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = -6.66$  (SiCH<sub>3</sub>),  $-6.57$  (SiCH<sub>3</sub>), 11.83 (C-7), 17.89 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.09 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38.05 (C-2'), 50.72 (C-3'), 62.77 (C-5'), 66.29 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.62 (NCH<sub>2</sub>O), 71.90 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 85.26 (C-1'), 85.49 (C-4'), 109.34 (C-5), 126.57, 126.81, 127.07, 127.25, 127.51, 127.66, 127.85, 128.09 (ArC), 134.91 (C-6), 138.26 (Cbz-C=O), 150.92 (C-2), 163.79 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.5$  ( $c = 1.2$ , CHCl<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1704, 1637, 1255, 1070, 1022, 827, 769, 731, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 207 (4.55), 268 (4.08).

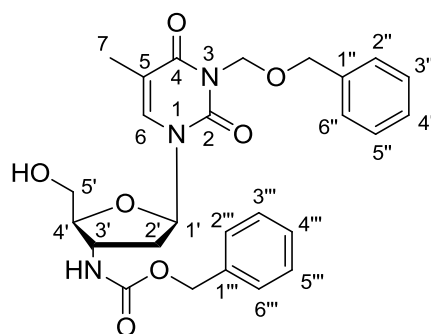
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 632.3$  [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>32</sub>H<sub>43</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>Si** (609.78)

ber.: 632.2768 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 632.2760 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.15 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-*N*-Cbz-aminothymidin 155



#### 155

Eine Lösung von 5'-O-TBDMS-3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-*N*-Cbz-aminothymidin **121** (6.94 mg, 11.5  $\mu\text{mol}$ ) in abs. Methanol (200 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit Acetylchlorid (180 mg, 164  $\mu\text{L}$ , 2.23 mmol) versetzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht und weitere 3 h gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit Ethylacetat (300 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (1 x 100 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 100 mL) gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde chromatographisch an Kieselgel (DCM/MeOH 98:2) gereinigt.

**Ausbeute:** Es wurden 5.31 g (10.7 mmol, 94%) eines farblosen Schaums erhalten.

**DC:**  $R_f$  (PE/EtOAc 1:1) = 0.28

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.92 (s, 3 H, 7-H), 2.28-2.38 (m, 2 H, 2'-H), 3.74-3.86 (m, 2 H, 4'-H, 5'-H<sub>a</sub>), 3.91-3.98 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 4.29 (ddd,  $J$  = 7.8 Hz,  $J$  = 7.8 Hz, 7.6 Hz, 1 H, 3'-H), 4.68 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 5.08 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_a$ ), 5.13 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_b$ ), 5.23 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1 H, 3'-NH), 5.47 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 6.13 (dd,  $J$  = 5.5 Hz,  $J$  = 4.9 Hz, 1 H, 1'-H), 7.21-7.38 (m, 10 H, ArH), 7.63 (s, 1 H, 6-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 13.26 (C-7), 38.10 (C-2'), 49.30 (C-3'), 61.30 (C-5'), 67.43 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 70.51 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.28 ( $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 84.95 (C-1'), 85.55 (C-4'), 110.13 (C-5), 127.65, 128.22, 128.27, 128.48, 128.66 (ArC), 134.52 (C-6), 135.84 (ArC), 138.01 ( $\text{Cbz-C=O}$ ), 150.94 (C-2), 163.43 (C-4).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +25.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 57 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1695, 1632, 1452, 1255, 1083, 1065, 1022, 774, 736, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 207 (4.43), 268 (4.00).

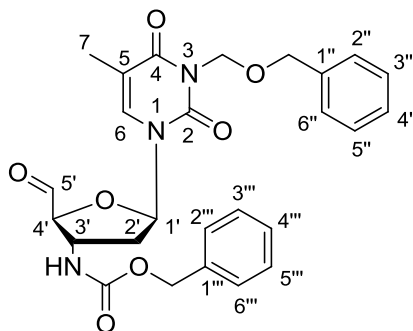
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 518.2$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

**C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>** (495.52)

ber.: 518.1902 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>

gef.: 518.1898 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.16 3-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-aminothymidin-5'-aldehyd 108



**108**

Eine Lösung von 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-*N*-Cbz-aminothymidin **155** (1.46 g, 2.95 mmol) in MeCN (28 mL) wurde mit IBX (2.07 g, 7.38 mmol) versetzt und 45 min unter Rückfluss erhitzt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Suspension wurde filtriert. Der Filterkuchen wurde mit EtOAc (3 x 15 mL) nachgewaschen. Das vereinte Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige, farblose Rückstand wurde einige Stunden unter Hochvakuum aufbewahrt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 1.45 g (2.95 mmol, quantitativ) eines farblosen Schaums erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.96 (s, 3 H, H-7), 2.06-2.16 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.38-2.47 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.40 (m, 1 H, 3'-H), 4.53-4.59 (m, 1 H, 4'-H), 4.65 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 5.04-5.14 (m, 2 H, CbzCH<sub>2</sub>), 5.45 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 5.81-5.89 (m, 1 H, 3'-NH), 6.25-6.35 (m, 1 H, 1'-H), 7.20-7.39 (m, 10 H, ArH), 7.64 (s, 1 H, 6-H), 9.71 (s, 1 H, 5'-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 13.27 (C-7), 36.50 (C-2'), 51.98 (C-3'), 67.33 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.59 (NCH<sub>2</sub>O), 72.32 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 87.70 (C-1'), 88.54 (C-4'), 110.85 (C-5), 127.69, 127.73, 128.24, 128.28, 128.31, 128.65 (ArC), 134.67 (C-6), 135.67, 135.84 (C-1'', C-1'''), 137.85 (Cbz-C=O), 151.02 (C-2), 163.30 (C-4), 197.97 (C-5').

**MS** (ESI<sup>+</sup>): m/z = 492.2 [M-H]<sup>+</sup>.

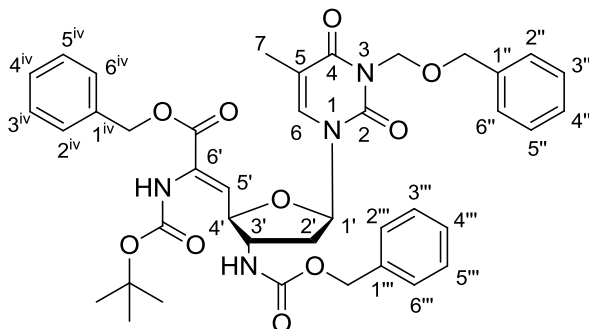
**C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>** (493.50)

ber.: 492.1776 [M-H]<sup>+</sup>

gef.: 492.1780 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

Die erhaltene Verbindung wurde aufgrund ihrer geringen Stabilität nicht chromatographisch gereinigt und es wurde auf eine Charakterisierung mittels weiterer analytischer Methoden verzichtet.

### 7.2.5.17 (Z)-6'-N-Boc-O-Bn-5',6'-didehydro-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-amino-TAA 113



(Z)-113

Zu einer auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung von  $\text{KO}^t\text{Bu}$  (330 mg, 2.95 mmol) in THF (28 mL) wurde langsam eine Lösung von *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-2-(dimethylphosphoryl)-glycinbenzylester **109** (1.21 g, 3.25 mmol) in THF (25 mL) dazugegeben. Die resultierende Lösung wurde 5 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt und anschließend allmählich mit einer Lösung von 3-*N*-BOM-3'-desoxy-3'-*N*-Cbz-aminothymidin-5'-aldehyd **108** (1.45 g, 2.95 mmol) in THF (12 mL) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 16 h gerührt und im Laufe dieses Zeitraums langsam auf Raumtemperatur gebracht. Die Reaktionslösung wurde auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt, mit Methanol (3 mL) versetzt und mit Ethylacetat (150 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (1 x 80 mL) und ges. NaCl-Lösung (1 x 80 mL) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (*n*Hex/EtOAc 3:2).

**Ausbeute:** Es wurden 1.48 g (2.01 mmol, 68%) eines farblosen Schaums erhalten (Diastereomerenmischung *Z/E* 10:1). Die Isolierung des *E*-Isomers durch chromatographische Trennung gelang nicht.

**DC:**  $R_f$  (*n*Hex/EtOAc 1:1) = 0.31.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ):  $\delta$  = 1.46 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.88 (d,  $J$  = 1.1 Hz, 3 H, 7-H), 2.40 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 7.0 Hz,  $J$  = 7.0 Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.44 (ddd,  $J$  = 13.9 Hz,  $J$  = 8.0 Hz,  $J$  = 6.2 Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 4.06-4.13 (m, 1 H, 3'-H), 4.69 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 4.79 (dd,  $J$  = 8.4 Hz,  $J$  = 6.4 Hz, 1 H, 4'-H), 5.11 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_a$ ), 5.13 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_b$ ), 5.23 (d,  $J$  = 12.6 Hz, 1 H,  $\text{BnCHH}_a$ ), 5.26 (d,  $J$  = 12.6 Hz, 1 H,  $\text{BnCHH}_b$ ), 5.47 (d,  $J$  = 9.7 Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{OCHH}_a$ ), 5.49 (d,



$J = 9.7$  Hz, 1 H,  $\text{CH}_2\text{OCHH}_b$ ), 5.95-6.01 (m, 1 H, 3'-NH), 6.20 (dd,  $J = 6.2$  Hz,  $J = 6.2$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.31 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1 H, 5'-H), 6.85 (s, 1 H, 6'-NH), 7.09 (s, 1H, 6-H), 7.21-7.40 (m, 15 H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 50 °C):  $\delta = 13.11$  (C-7), 20.88 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 28.10 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)$ ), 38.66 (C-2'), 55.93 (C-3'), 67.00 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 67.96 ( $\text{BnCH}_2$ ), 70.71 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.31 ( $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 79.36 (C-4'), 81.79 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 85.78 (C-1'), 125.48 (C-5'), 127.54, 127.57, 127.95, 128.12, 128.20, 128.45, 128.47, 128.60 (ArC), 128.63 (C-6') 133.50 (C-6), 135.05, 136.31, 138.13 (C-1'', C-1''', C-1<sup>iv</sup>), 150.90 (C-2), 153.39 ( $\text{Boc-C=O}$ ), 156.33 ( $\text{Cbz-C=O}$ ), 163.12 (C-4), 163.95 ( $\text{COOBn}$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1704, 1648, 1452, 1250, 1151, 1065, 1027, 774, 736, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\lg \epsilon$ ) = 206 (4.53), 260 (4.03).

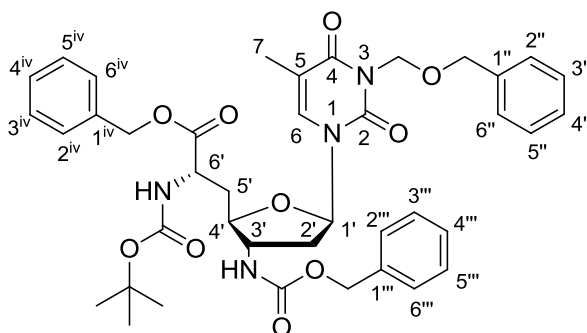
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 763.3$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

**C<sub>40</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>** (740.30)

ber.: 763.2955 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>

gef.: 763.2953 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

### 7.2.5.18 6'-N-Boc-O-Bn-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-amino-(S)-TAA 117



(6'S)-117

Die Reaktion wurde unter striktem Sauerstoff-Ausschluss durchgeführt. Durch eine Lösung des (*Z*)-Olefins **113** (1.00 g, 1.35 mmol) in abs. MeOH (49 mL) wurde 15 min ein Argonstrom geleitet. Anschließend wurde die Lösung mit (*S,S*)-Me-DuPHOS-Rh (16 mg, 27  $\mu\text{mol}$ ) versetzt und 4 d bei Raumtemperatur unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (1 bar) gerührt. Die Lösung wurde mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (*i*Hex/EtOAc 1:1).

**Ausbeute:** Es wurden 918 mg (1.24 mmol, 92%, Diastereomergemisch (6'S/6'R 91:9)) eines farblosen Schaums erhalten.

Die Hauptkomponente des Diastereomergemischs konnte durch chromatographische Trennung an einer chiralen stationären Phase (Eluent: *n*-Hexan/EtOAc 73:27) rein erhalten werden. Für die Trennung wurden 1.00 g (aus mehreren Reaktionen erhalten) des Diastereomergemischs aus (6'*S*)-**117** und (6'*R*)-**117** (91:9) verwendet.

**HPLC** (analytisch):  $t_R = 30.5$  min (Methode: s. Analytische chirale HPLC (7.1.6.8), Injektionsvolumen: 10  $\mu$ L,  $c \sim 4$  mg/mL in EtOAc).

**HPLC** (semipräparativ):  $t_R = 32.0$  min (Methode: s. Semipräparative chirale HPLC (7.1.6.9), Injektionsvolumen: 100  $\mu$ L,  $c \sim 100$  mg/mL in EtOAc).

**Ausbeute:** Es wurden 900 mg (1.21 mmol, 90% bezogen auf das getrennte Gemisch) des reinen (6'*S*)-Diastereomers (6'*S*)-**117** erhalten.

**DC:**  $R_f$  (*i*Hex/EtOAc 3:2) = 0.31.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 50 °C):  $\delta = 1.39$  (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.68 (ddd,  $J = 13.9$  Hz,  $J = 6.9$  Hz,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 1.74 (ddd,  $J = 13.9$  Hz,  $J = 8.4$  Hz,  $J = 5.9$  Hz, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 1.88 (s, 3 H, 7-H), 1.95 (ddd,  $J = 14.4$  Hz,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.2$  Hz, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.17-2.26 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.59 (ddd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 4.2$  Hz,  $J = 4.2$  Hz, 1 H, H-4'), 3.83-3.94 (m, 1 H, 3'-H), 4.63-4.75 (m, 1 H, 6'-H), 4.71 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 4.91 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_a$ ), 4.95 (d,  $J = 12.5$  Hz, 1 H,  $\text{CbzCHH}_b$ ), 5.01 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1 H,  $\text{BnCH}_2$ ), 5.06 (d,  $J = 12.3$  Hz, 1 H,  $\text{BnCH}_2$ ), 5.41-5.49 (m, 1 H, 6'-NH), 5.51 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 5.97 (dd,  $J = 5.9$  Hz,  $J = 5.9$  Hz, 1 H, 1'-H), 6.93 (brs, 1 H, 6-H), 6.99-7.19 (m, 11 H, ArH), 7.23-7.27 (m, 2 H, ArH), 7.33-7.37 (m, 2 H, ArH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ , 50 °C):  $\delta = 12.78$  (C-7), 28.01 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 35.58 (C-5'), 37.30 (C-2'), 51.21 (C-6'), 54.11 (C-3'), 66.75 ( $\text{CbzCH}_2$ ), 70.62 ( $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 72.08 ( $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ), 79.47 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 80.83 (C-4'), 84.71 (C-1'), 110.32 (C-5), 127.23, 127.53, 127.73, 127.92, 128.00, 128.06, 128.12, 128.32, 128.36 (ArC), 133.35 (C-6), 135.63, 136.68, 138.70 (C-1'', C-1''', C-1<sup>iv</sup>), 150.73 (C-2), 155.18 (Boc-C=O), 155.67 ( $\text{Cbz-C=O}$ ), 162.66 (C-4), 171.50 ( $\text{COOBn}$ ).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +34.4$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** 69 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  = 1709, 1647, 1528, 1270, 1237, 1212, 1161, 1022, 736, 693.

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 206 (4.66), 261 (4.27).

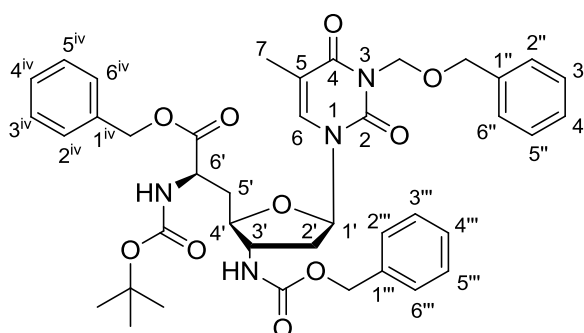
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z$  = 741.3 [M-H]<sup>+</sup>.

**C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>** (742.81)

ber.: 741.3141 [M-H]<sup>+</sup>

gef.: 741.3144 (ESI<sup>-</sup>-HRMS).

### 7.2.5.19 6'-N-Boc-O-Bn-3-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-amino-(R)-TAA 117



(6'*R*)-117

Die Synthese erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese der TAA (6'*S*)-117. Es wurden 300 mg (0.405 mmol) des (*Z*)-Olefins **113**, 10 mg (16  $\mu$ mol) (*R,R*)-Me-DuPHOS-Rh und 15 mL Methanol eingesetzt. Die Reaktionsdauer betrug 14 d.

**Ausbeute:** Es wurden 220 mg (296  $\mu$ mol, 73%, Diastereomerenmischung 6'*R*:6'*S* 88:12) eines farblosen Schaums erhalten.

Die Hauptkomponente des Diastereomerenmischs konnte durch chromatographische Trennung an einer chiralen stationären Phase (Eluent: *n*-Hexan/EtOAc 73:27) rein erhalten werden. Für die Trennung wurden 430 mg (aus mehreren Reaktionen erhalten) des Diastereomerenmischs aus (6'*R*)-117 und (6'*S*)-117 (88:12) verwendet.

**HPLC** (analytisch):  $t_R$  = 37.5 min (Methode: s. Analytische chirale HPLC (7.1.6.8), Injektionsvolumen: 10  $\mu$ L,  $c \sim 4$  mg/mL in EtOAc).

**HPLC** (semipräparativ):  $t_R$  = 39.0 min (Methode: s. Semipräparative chirale HPLC (7.1.6.9), Injektionsvolumen: 100  $\mu$ L,  $c \sim 100$  mg/mL in EtOAc).

**Ausbeute:** Es wurden 370 mg (0.499 mmol, 86% bezogen auf das getrennte Gemisch) des reinen (6'*R*)-Diastereomers (6'*R*)-**117** erhalten.

**DC:**  $R_f$  (iHex/EtOAc 3:2) = 0.31.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 1.38 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.60-1.69 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 1.70-1.80 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 1.76 (s, 3 H, 7-H), 1.88-2.00 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.00-2.09 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 3.52-3.59 (m, 1 H, H-4'), 3.77-3.87 (m, 1 H, 3'-H), 4.60-4.70 (m, 1 H, 6'-H), 4.71 (s, 2 H, NCH<sub>2</sub>O), 4.89 (d,  $J$  = 12.2 Hz, 1 H, CbzCHH<sub>a</sub>), 4.97-5.04 (m, 1 H, CbzCHH<sub>b</sub>), 5.01 (d,  $J$  = 12.5 Hz, 1 H, BnCHH<sub>a</sub>), 5.06 (d,  $J$  = 12.5 Hz, 1 H, BnCHH<sub>b</sub>), 5.19-5.29 (m, 1 H, 6'-NH), 5.48 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>OCHH<sub>a</sub>), 5.51 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>OCHH<sub>b</sub>), 5.75-5.85 (m, 1 H, 1'-H), 6.93 (brs, 1 H, 6-H), 7.00-7.19 (m, 11 H, ArH), 7.23-7.27 (m, 2 H, ArH), 7.33-7.37 (m, 2 H, ArH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 50 °C):  $\delta$  = 12.86 (C-7), 28.00 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.70 (C-5'), 37.28 (C-2'), 51.99 (C-6'), 54.46 (C-3'), 66.74 (CbzCH<sub>2</sub>), 70.63 (NCH<sub>2</sub>O), 72.12 (CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 79.48 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 80.88 (C-4'), 85.32 (C-1'), 110.13 (C-5), 127.26, 127.53, 127.73, 127.91, 128.07, 128.13, 128.17, 128.35, 128.39 (ArC), 133.15 (C-6), 135.77, 136.62, 138.69 (C-1'', C-1''', C-1<sup>iv</sup>), 150.57 (C-2), 155.35 (Boc-C=O), 155.60 (Cbz-C=O), 162.58 (C-4), 171.84 (COOBn).

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +39.1$  ( $c = 0.87$ , CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** 64 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1700, 1642, 1452, 1255, 1156, 1075, 1022, 736, 698$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\max} (\lg \epsilon) = 204 (4.60), 266 (3.94)$ .

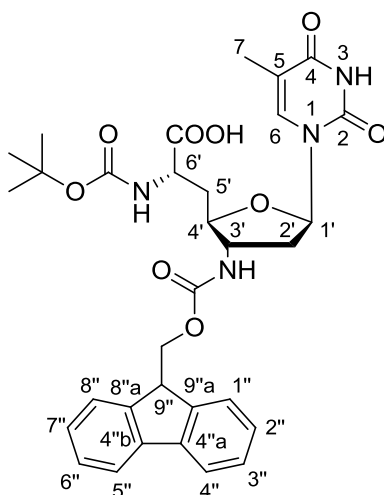
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 741.3$  [M-H]<sup>+</sup>.

**C<sub>40</sub>H<sub>46</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>** (742.81)

ber.: 741.3141 [M-H]<sup>+</sup>

gef.: 741.3139 (ESI<sup>-</sup>-HRMS).

### 7.2.5.20 6'-N-Boc-3'-desoxy-3'-N-Fmoc-(S)-TAA 104



(6'S)-104

#### Hydrogenolytische Spaltung der Bn-, BOM- und Cbz-Schutzgruppen:

Eine Lösung von 6'-N-Boc-O-Bn-3'-N-BOM-3'-desoxy-3'-N-Cbz-amino-(S)-TAA (6'S)-117 (900 mg, 1.21 mmol) in abs. Methanol (28 mL) wurde mit Palladium black (1.28 g, 12.0 mmol) und *n*-Butylamin (1.80 g, 2.43 mL, 24.2 mmol) versetzt. Die resultierende Suspension wurde 24 h unter einer Wasserstoffatmosphäre (1 bar) gerührt. Die Suspension wurde über eine Glasfritte filtriert und der Filterkuchen mit MeOH (3 x 10 mL) nachgewaschen. Das Filtrat wurde zur Trockne eingeeengt und der Rückstand mit Pyridin coevaporiert (3 x 4 mL). Der erhaltene weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigung für den nächsten Schritt verwendet.

#### Einführung der Fmoc-Schutzgruppe an 3'-NH<sub>2</sub>:

Eine Lösung von (6'S)-160 (435 mg, 1.09 mmol) in 3 mL eines 1:1-Gemischs aus Aceton und dest. Wasser wurde mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (115 mg, 1.09 mmol) und FmocOSu (368 mg, 1.09 mmol) versetzt und die resultierende Lösung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltene Suspension wurde mit 2 M HCl auf pH = 2 eingestellt und in einem Gemisch aus DCM (15 mL) und ges. NaCl-Lösung (15 mL) aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase auf pH 1-2 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde chromatographisch an Kieselgel gereinigt (DCM/MeOH 9:1 mit 0.5% AcOH). Das so erhaltene Produkt wurde mit Toluol coevaporiert (3 x 5 mL).

**Ausbeute:** Es wurden 393 mg (0.633 mmol, 58% über zwei Stufen) eines weißen, feinpulvrigen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.26.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 1.44 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.93 (s, 3 H, 7-H), 2.06-2.16 (m, 1 H, 5'- $\text{H}_a$ ), 2.21-2.39 (m, 3 H, 2'- $\text{H}_a$ , 2'- $\text{H}_b$ , 5'- $\text{H}_b$ ), 3.89-3.97 (m, 1 H, 4'-H), 4.05-4.14 (m, 1 H, 3'-H), 4.18-4.27 (m, 2 H, Fmoc $\text{CH}_2$ ), 4.32-4.48 (m, 3 H, 9''-H, 6'-H, 6'-NH), 6.08-6.15 (m, 1 H, 1'-H), 7.31 (dd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 2''-H, 7''-H), 7.34 (dd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 3''-H, 6''-H), 7.53 (brs, 1 H, 6-H), 7.65 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 4''-H, 5''-H), 7.79 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 1''-H, 8''-H).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 11.05 (C-7), 27.33 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 35.27 (C-5'), 36.76 (C-2'), 46.82 (Fmoc $\text{CH}_2$ ), 51.25 (C-6'), 54.22 (C-3'), 66.36 (C-9''), 79.21 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 81.02 (C-4'), 84.43 (C-1'), 110.49 (C-5), 119.54 (C-1'', C-8''), 124.72, 124.78 (C-4'', C-5''), 126.77, 127.39 (C-2'', C-7''), 127.82, 128.53 (C-3'', C-6''), 136.44 (C-6), 141.25 (C-8''a, C-9''a), 143.86 (C-4''a, C-4''b), 150.80 (C-2), 156.32 (Boc-C=O), 156.32 (Fmoc-C=O), 164.97 (C-4), 174.35 (COOH).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +39.7$  ( $c = 1.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 110 °C.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu} = 1680, 1519, 1447, 1250, 1161, 1050, 1022, 759, 736$ .

**UV** (MeCN):  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 206 (4.95), 264 (4.65)$ .

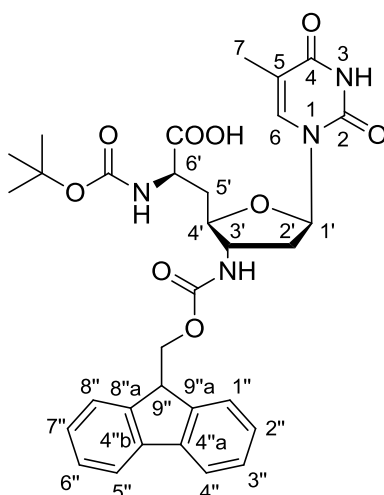
**MS** (ESI<sup>+</sup>):  $m/z = 643.5$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**$\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_9$**  (620.65)

ber.: 643.2368  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

gef.: 643.2374 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.5.21 6'-N-Boc-O-3'-desoxy-3'-N-Fmoc-(R)-TAA 104



(6'R)-104

Die Synthese von (6'R)-**104** erfolgte gemäß der Vorschrift zur Synthese von (6'S)-**104**. Für die hydrogenolytische Spaltung der Schutzgruppen wurden 370 mg (0.498 mmol) (6'R)-**117**, 528 mg (4.98 mmol) Palladium-black, 1.80 g (10.0 mmol, 1.00 mL) *n*-Butylamin und 12 mL abs. MeOH eingesetzt. Für die darauf folgende Einführung der Fmoc-Schutzgruppe wurden 200 mg (0.502 mmol) (6'R)-**160**, 53 mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.50 mmol), 169 mg (0.502 mmol) FmocOSu und 1.4 mL Aceton-Wasser-Gemisch (1:1) eingesetzt.

**Ausbeute:** Es wurden 150 mg (0.241 mmol, 48% über zwei Stufen) eines weißen, feinpulvrigen Feststoffs erhalten.

**DC:**  $R_f$  (DCM/MeOH 9:1) = 0.26.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  = 1.44 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.93 (s, 3 H, 7-H), 2.03-2.14 (m, 1 H, 5'-H<sub>a</sub>), 2.14-2.24 (m, 1 H, 5'-H<sub>b</sub>), 2.24-2.32 (m, 1 H, 2'-H<sub>a</sub>), 2.32-2.42 (m, 1 H, 2'-H<sub>b</sub>), 3.84-3.91 (m, 1 H, 4'-H), 4.03-4.11 (m, 1 H, 3'-H), 4.19-4.26 (m, 2 H, FmocCH<sub>2</sub>), 4.26-4.35 (m, 1 H, 6'-H), 4.38-4.48 (m, 2 H, 9''-H, 6'-NH), 6.14-6.21 (m, 1 H, 1'-H), 7.33 (dd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 2''-H, 7''-H), 7.40 (dd,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 3''-H, 6''-H), 7.50 (brs, 1 H, 6-H), 7.66 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 4''-H, 5''-H), 7.80 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, 1''-H, 8''-H).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  = 11.02 (C-7), 27.34 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 35.44 (C-5'), 36.47 (C-2'), 46.84 (FmocCH<sub>2</sub>), 51.30 (C-6'), 54.43 (C-3'), 66.32 (C-9''), 79.21 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 80.64 (C-4'), 84.74 (C-1'), 110.61 (C-5), 119.54 (C-1'', C-8''), 124.72, 124.90 (C-4'', C-5''), 126.77, 127.40 (C-2'', C-7''), 127.81, 128.53 (C-3'', C-6''), 136.36 (C-6),

141.26 (C-8''a, C-9''a), 143.85 (C-4''a, C-4''b), 150.82 (C-2), 156.65 (Boc-C=O), 156.99 (Fmoc-C=O), 164.94 (C-4), 174.81 (COOH).

**Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23.5$  (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>).

**Schmelzpunkt:** Zersetzung > 110 °C.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 1685, 1519, 1447, 1255, 1161, 1070, 1050, 1022, 759, 736$ .

**UV (MeCN):**  $\lambda_{\text{max}} (\lg \epsilon) = 206 (4.58), 264 (4.25)$ .

**MS (ESI<sup>+</sup>):** m/z = 643.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

**C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>** (620.65)

ber.: 643.2373 [M+Na]<sup>+</sup>

gef.: 643.2374 (ESI<sup>+</sup>-HRMS).

## 7.2.6 Oligonucleotide

### 7.2.6.1 Oligonucleotidsynthese

*Automatisierte DNA-Synthese (Synthesizer: Gene Assembler Plus, Pharmacia LKB)*

Für die Synthese eines jeden Oligonucleotids wurden ca. 18 mg der Polystyrolmatrix (40 µmol Nucleosid/g Matrix) eingewogen. Als Lösungsmittel für die Phosphoramidit-reagenzien diente abs. MeCN (H<sub>2</sub>O < 20 ppm). Die Entfernung der DMTr-Gruppen erfolgte durch 3% DCA in DCE. Die Entfernung der Säure erfolgte durch Spülen der Matrix mit abs. DCE. Zum Aktivieren der Phosphoramidit-Funktionalität für die Nucleotidkupplung wurde Benzylthiotetrazol (BTT, 0.25 M in abs. MeCN) eingesetzt. Für Phosphoramidite nicht-modifizierter Nucleoside wurde die Kupplungszeit auf 2 min und für Phosphoramidite NAA-modifizierter Nucleoside auf 4 min gesetzt. Für die Effizienz der Kupplung wurde der Schwellenwert auf 70% gesetzt. Die Oxidation der gebildeten Phosphit-Triester wurde durch alkalische Iodlösung (10 mM I<sub>2</sub> in abs. MeCN/2,4,6-Collidin/H<sub>2</sub>O im Verhältnis 10:1:5) bewirkt. Zum Schützen nicht gekuppelter 5'-OH-Gruppen („Capping“) wurden zwei Lösungen in Kombination eingesetzt (Lösung A: 0.5 M DMAP in MeCN, Lösung B: Ac<sub>2</sub>O/2,4,6-Collidin/MeCN 2:3:5).

*Automatisierte DNA-Synthese (Synthesizer: H-8, K & A)*

Für die Synthese eines jeden Oligonucleotids wurden mit CPG gefüllte Säulen verwendet (Beladung: 200 nmol Nucleosid/Säule). Als Lösungsmittel für die Phosphoramidit-reagenzien diente abs. MeCN (H<sub>2</sub>O < 20 ppm). Die Entfernung der DMTr-Gruppen erfolgte durch 3% TCA in DCM. Die Entfernung der Säure erfolgte



durch Spülen der Matrix mit abs. MeCN ( $H_2O < 20$  ppm). Zum Aktivieren der Phosphoramidit-Funktionalität für die Nucleotidkupplung wurde Benzylthiotetrazol (BTT, 0.25 M in abs. MeCN) eingesetzt. Für Phosphoramidite nicht-modifizierter Nucleoside wurde die Kupplungszeit auf 2 min und für Phosphoramidite NAA-modifizierter Nucleoside auf 4 min gesetzt. Für die Effizienz der Kupplung wurde der Schwellenwert auf 70% gesetzt. Die Oxidation der gebildeten Phosphit-Triester wurde durch alkalische Iodlösung (20 mM  $I_2$  in abs. Pyridin/ $H_2O$  im Verhältnis 9:1) bewirkt. Zum Schützen nicht gekuppelter 5'-OH-Gruppen („Capping“) wurden zwei Lösungen in Kombination eingesetzt (Lösung A: 10%  $Ac_2O$ , 10% Pyridin, 80% THF, Lösung B: 16% 1-Methylimidazol in THF).

#### *Abspaltung der Oligonucleotide vom Träger*

Nach abgeschlossener Synthese folgte die Abtrennung der Oligonucleotide von der Matrix nebst Abspaltung der Schutzgruppen (Fmoc- und  $\beta$ -Cyanoethylgruppen) durch Inkubieren in einer 3:1-Mischung aus wässriger Ammoniaklösung (25%) und Ethanol bei 55 °C für 20 h. Die erhaltenen Suspensionen wurden über eine Glasfritte filtriert, das Lösungsmittel mittels Unterdruck (Rotationsverdampfer) entfernt und der Rückstand in 750  $\mu$ L bidest Wasser aufgenommen. Die Zusammensetzung des jeweiligen Rohprodukts wurde anschließend mittels HPLC untersucht.

#### *Reinigung der Oligonucleotide*

Die Oligonucleotide wurden durch Gelelektrophorese an 20% Polyacrylamidgel (Schichtdicke 0.7 mm) gereinigt. Zur Herstellung eines Gels wurden 18.9 g Harnstoff, 22.5 mL Acrylamid und 4.5 mL 10 x TBE-Puffer (Zusammensetzung von 1 L: 108 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 55 g Borsäure, 40 mL 0.5 M EDTA, aufgefüllt auf 1 L mit bidest. Wasser) gerührt, bis eine klare Lösung entstand. Die erhaltene Lösung wurde auf 45 mL mit bidest. Wasser aufgefüllt und mit 35  $\mu$ L TMEDA und 250  $\mu$ L APS (10% in bidest Wasser) versetzt. Die so erhaltene Lösung wurde unmittelbar nach dem Vermischen allmählich zwischen die Glasplatten (32 x 20 cm) der Elektrophoresevorrichtung (Modell: LSG-400-20, C. B. S. Scientific Company) gegeben. Anschließend wurde das Gel für die Zeit der Polymerisationsreaktion ca. 1 h bei Raumtemperatur aufbewahrt. Für eine Trennung wurde der Lösung des jeweiligen Rohprodukts das entsprechende Volumen (enthält 40 nmol Rohprodukt) entnommen, mit dem halben Volumen an Loading Dye (Zusammensetzung von 100 mL: 80 mL Formamid, 10 mL 10 x TBE-Puffer, 10 mL 0.5 M wässrige EDTA

(pH = 8), 25 mg Bromphenolblau, 25 mg Xylencyanol) vermischt und für 2 min auf 95 °C erwärmt. Die erhaltene Mischung wurde auf das Gel aufgetragen (40 nmol Rohprodukt in jeweils 2 Kammern, d. h. pro Kammer 20 nmol). Die Farbstoffe Xylencyanol (obere Grenze) und Bromphenolblau (untere Grenze) dienen zur Markierung des Verlaufs der Elektrophorese. Die Laufzeit der Elektrophorese betrug 2.5 h bei 35 W. Die Banden der Oligonucleotide wurden anhand ihrer UV-Aktivität (260 nm) detektiert. Anschließend wurde das Gel von der Glasplatte abgenommen und in eine Plastikfolie gewickelt. Die Oligonucleotid-haltigen Segmente wurden aus dem Gel ausgeschnitten und durch Aufbewahren bei 0 °C für 16 h in jeweils 300 µL TEN-Puffer (1.0 M Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 0.5 M EDTA, 3.0 M NaCl) 2 Mal extrahiert. Die erhaltenen TEN-Lösungen wurden mit 900 µL abs. Ethanol versetzt und 20 min bei -80 °C gelagert. Durch anschließende Zentrifugation bei 4 °C und Entfernen (Dekantieren) des Überstands wurden die Oligonucleotide in kristalliner Form erhalten. Zum Entfernen der Ethanolreste wurden die Pellets in einer Vakuumzentrifuge getrocknet. Der Rückstand wurde in 50 µL bidest. Wasser gelöst. Die genaue Bestimmung der erhaltenen Menge an Oligonucleotid erfolgte UV-spektroskopisch (Lösungsmittel: Wasser). Aus den Messwerten der Absorbanz der jeweiligen Probe bei  $\lambda = 260$  nm konnte die Stoffmenge an Oligonucleotid anhand einer vom Lambert-Beerschen Gesetz abgeleiteten Formel berechnet werden:

$$\frac{A \cdot V}{\epsilon \cdot d} = n$$

A: Absorbanz bei 260 nm

V: Volumen der Probe in mL

$\epsilon$ : mol. Extinktionskoeffizient des Oligonucleotids in  $\text{mL} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  (aus der jeweiligen Sequenz berechnet)

d: Schichtdicke der Probe in cm

n: Stoffmenge des Oligonucleotids in mol

Die Einführung der modifizierten Dinucleoside wurde durch Massenspektrometrie untersucht. Zur Überprüfung der Reinheit der synthetisierten Oligonucleotide wurde den zur UV-Messung verwendeten Oligonucleotid-Lösungen je 1 µL (ca. 20-30 pmol Substanz) entnommen, auf 25 µL mit bidest. Wasser verdünnt ( $c = 8-10$  pmol/µL) und die resultierende Probe mittels analytischer HPLC untersucht (s. Kap. 7.1.6.7).

Tab. 1: Oligonucleotidsynthese: erhaltene Mengen in nmol (Ausbeuten in %)

Nr.	Sequenz	$\sigma$ (x)*	Rohprodukt	nach Reinigung
1	5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'	S	170 (24)	19.5 (49)
2		R	260 (36)	11.9 (30)
3	5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'	S	215 (30)	20.0 (50)
4		R	196 (27)	15.6 (39)
5	5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'	S	480 (66)	17.0 (43)
6		R	62 (57)**	11.4 (29)
7	5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'	S	145 (72)**	11.3 (28)
8		R	138 (69)**	13.0 (33)
9	5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'	S	95 (48)**	4.0 (10)
10		R	69 (35)**	7.3 (18)
11	5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'	S	245 (34)	22.3 (56)
12		R	83 (12)	10.6 (27)
13	5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'	S	215 (30)	16.6 (42)
14		R	137 (19)	17.4 (44)
15	5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'	S	200 (28)	12.9 (32)
16		R	188 (26)	18.3 (46)
17	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'	S	148 (21)	19.5 (49)
18		R	147 (20)	22.9 (57)
19	5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'	S	65 (30)**	9.2 (23)
20		R	52 (26)**	9.9 (25)
21	5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'	S	51 (26)**	11.3 (28)
22		R	77 (39)**	13.6 (34)
23	5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'	S	50 (25)**	12.3 (31)
24		R	78 (39)**	9.0 (23)

\* Stereodeskriptor der eingeführten NAA-Modifikation.

\*\* Die Synthese dieser Oligonucleotide erfolgte am Synthesizer H-8 von *K & A* (s. 7.2.6.1). Die anderen Oligonucleotide wurden am Synthesizer Gene Assembler Plus von *Pharmacia LKB* synthetisiert (s. 7.2.6.1).

Die Ausbeuten der Rohprodukte beziehen sich auf die theoretisch möglichen Mengen an Oligonucleotid, die aus der Beladungsdichte des jeweils verwendeten Trägers hervorgehen. Die Ausbeuten der gereinigten Oligonucleotide beziehen sich auf die zur Elektrophorese entnommene Menge an Rohprodukt (40 nmol).

Tab. 2: Analytische Daten der Oligonucleotide

Nr.	Sequenz	$\sigma$ (x)*	$t_R$ [min]	Massenspektrometrie	
				berechnet	gefunden <sup>+</sup>
1	5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'	S	29.5	6742.6	6741.6
2		R	28.5		6742.0
3	5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'	S	29.5		6741.8
4		R	29.2		6742.3
5	5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'	S	29.6		6741.5
6		R	27.0**		6741.1
7	5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'	S	28.3**	6765.6	6764.7
8		R	28.1**		6765.2
9	5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'	S	25.2**	6714.9	6715.1**
10		R	24.8**	6696.9	6692.7
11	5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'	S	30.6	6789.6	6789.6
12		R	29.9		6789.6
13	5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'	S	30.0		6789.4
14		R	29.9		6789.3
15	5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'	S	30.0		6789.6
16		R	29.8		6789.5
17	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'	S	29.8		6789.7
18		R	29.7		6789.8
19	5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'	S	24.7**	6720.9	6717.0
20		R	24.5**		6717.2
21	5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'	S	13.3***	6095.1	6094.3
22		R	14.6***		6094.3
23	5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'	S	14.0***	6095.1	6094.5
24		R	14.5***		6094.6

\* Stereodeskriptor der eingeführten NAA-Modifikation.

\*\* Die Abweichung kann dadurch zustande gekommen sein, dass der Lauf bei 60 °C und nicht wie bei den anderen Oligonucleotiden bei 80 °C durchgeführt wurde.

\*\*\* Die palindromen Sequenzen wurden an einer RP-Säule auf Sauberkeit geprüft (s. 7.1.6.8 Palindrome Nucleotidsequenzen).

<sup>+</sup> Abweichungen der Ergebnisse von massenspektrometrischen Untersuchungen von Oligonucleotiden liegen bei 0.005%-0.1%.<sup>[188]</sup>

\*\* Hier wurde nur der M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Peak beobachtet.

## 8 Literaturverzeichnis

- [1] F. Miescher; Ueber die Zusammensetzung von Eiterzellen; *Med.-Chem. Unters.* **1871**, 4, 441-460.
- [2] A. Kossel; Cytosine; *Zeitschr. f. Physiol. Chem.* **1903**, 38, 49-59.
- [3] A. Kossel; Thymine; *Zeitschr. f. Physiol. Chem.* **1900**, 37, 303-306.
- [4] P. A. Levene; The structure of yeast nucleic acid: IV. Ammonia hydrolysis; *J. Biol. Chem.* **1919**, 40, 415-424.
- [5] E. Chargaff; Chemical Specificity of Nucleic Acids and their Enzymatic Degradation; *Experientia* **1950**, 6, 201-209.
- [6] J. D. Watson, F. H. C. Crick; Molecular structure of nucleic acid. A structure of deoxyribose nucleic acid; *Nature* **1953**, 171, 737-738.
- [7] G. Felsenfeld, D. R. Davies, A. Rich; Formation of a Three-Stranded Polynucleotide Molecule; *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 2023-2024.
- [8] A. H. J. Wang, G. J. Quigley, F. J. Kolpak, J. L. Crawford, J. H. van Boom, G. van der Marel, A. Rich; Molecular structure of a left-handed double helical DNA fragment at atomic resolution; *Nature* **1979**, 282, 680-686.
- [9] M. H. Caruthers; Chemical Synthesis of DNA and DNA Analogues; *Acc. Chem. Res.* **1991**, 24, 278-284.
- [10] P. C. Zamecnik, M. L. Stephenson; Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1978**, 75, 280-284.
- [11] E. Uhlmann, A. Peyman; Antisense Oligonucleotides: A New Therapeutic Principle; *Chem. Rev.* **1990**, 90, 543-585.
- [12] A. Fire, S. Xu, M. K. Montgomery, S. A. Kostas, S. E. Driver, C. C. Mello; Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*; *Nature* **1998**, 391, 806-811.
- [13] J. Kurreck; RNA-Interferenz: von den Grundlagen zur therapeutischen Anwendung; *Angew. Chem.* **2009**, 121, 1404-1426. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1378-1398.
- [14] S. Akhtar, R. Kole, R. L. Juliano; Stability of Antisense DNA Oligodeoxynucleotide Analogs in Cellular Extracts and Sera; *Life Sci.* **1991**, 49, 1793-1801.

- [15] U. Feldkamp, C. M. Niemeyer; Rationaler Entwurf von DNA-Nanoarchitekturen; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1888-1910; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1856-1876.
- [16] N. C. Seeman; Nanomaterials Based on DNA; *Annu. Rev. Biochem.* **2010**, *79*, 65-87.
- [17] B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills, F. C. Simmel, J. L. Neumann; A DNA-fuelled molecular machine made of DNA; *Nature* **2000**, *406*, 605-608.
- [18] N. L. Rosi, C. A. Mirkin; Nanostructures in Biodiagnostics; *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1547-1562.
- [19] J.-L. Mergny, L. Lacroix; Analysis of Thermal Melting Curves; *Oligonucleotides* **2003**, *13*, 515-537.
- [20] T. Lindahl; Instability and decay of the primary structure of DNA; *Nature* **1993**, *362*, 709-715.
- [21] K. E. Nelson, M. Levy, S. L. Miller; Peptide nucleic acids rather than RNA may have been the first genetic molecule; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3868-3871.
- [22] F. Westheimer; Why nature chose phosphates; *Science* **1987**, *235*, 1173-1178.
- [23] S. A. Benner, D. Hutter; Phosphates, DNA, and the Search for Nonterrean Life: A Second Generation Model for Genetic Molecules; *Bioorg. Chem.* **2002**, *30*, 62-80.
- [24] A. Rich; DNA comes in many forms; *Gene* **1993**, *135*, 99-109.
- [25] L. H. Koole, J. Plavec, H. Liu, B. R. Vincent, M. R. Dyson, P. L. Coe, R. T. Walker, G. W. Hardy, S. G. Rahim, J. Chattopadhyaya; Conformation of Two 4'-Thio-2'-deoxynucleoside Analogs Studied by 500-MHz proton NMR Spectroscopy and X-ray Crystallography; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9936-9943.
- [26] J. K. Watts, B. D. Johnston, K. Jayakanthan, A. S. Wahba, B. M. Pinto, M. J. Damha; Synthesis and Biophysical Characterization of Oligonucleotides Containing a 4'-Selenonucleotide; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8578-8579.
- [27] N. Inoue, N. Minakawa, A. Matsuda; Synthesis and properties of 4'-ThioDNA: unexpected RNA-like behavior of 4'-O-ThioDNA; *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 3476-3483.

- [28] S. M. Freier, K.-H. Altmann; The ups and downs of nucleic acid duplex stability: structure-stability studies on chemically-modified DNA:RNA duplexes; *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 4429-4443.
- [29] A. M. Kawasaki, M. D. Casper, S. M. Freier, E. A. Lesnik, M. C. Zounes, L. L. Cummins, C. Gonzales, P. D. Cook; Uniformly Modified 2'-Deoxy-2'-fluoro Phosphorothioate Oligonucleotides as Nuclease-Resistant Antisense Compounds with High Affinity and Specificity for RNA Targets; *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 831–841.
- [30] B. Cuenoud, F. Casset, D. Hüsken, F. Natt, R. M. Wolf, K.-H. Altmann, P. Martin, H. E. Moser; Zweifache Erkennung von doppelsträngiger DNA durch 2'-Aminoethoxy-modifizierte Oligonucleotide; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1350-1353; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1288-1291.
- [31] M. Kanazaki, Y. Ueno, S. Shuto, A. Matsuda; Highly Nuclease-Resistant Phosphodiester-Type Oligodeoxynucleotides Containing 4' $\alpha$ -C-Aminoalkylthymidines Form Thermally Stable Duplexes with DNA and RNA. A Candidate for Potent Antisense Molecules; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2422-2432.
- [32] A. A. Koshkin, S. K. Singh, P. Nielsen, V. K. Rajwanshi, R. Kumar, M. Meldgaard, C. E. Olsen, J. Wengel; LNA (Locked Nucleic Acids): Synthesis of the Adenine, Cytosine, Guanine, 5-Methylcytosine, Thymine and Uracil Bicyclonucleoside Monomers, Oligomerisation, and Unprecedented Nucleic Acid Recognition; *Tetrahedron* **1998**, *54*, 3607-3630.
- [33] S. K. Singh, A. A. Koshkin, J. Wengel, P. Nielsen; LNA (locked nucleic acids): synthesis and high-affinity nucleic acid recognition; *Chem. Commun.* **1998**, 455-456.
- [34] S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari, K.-i. Morio, Y. In, T. Ishida, T. Imanishi; Synthesis of 2'-O,4'-C-Methyleneuridine and -cytidine. Novel Bicyclic Nucleosides Having a Fixed C<sub>3</sub>-endo Sugar Puckering; *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8735-8738.
- [35] N. M. Bell, J. Micklefield; Chemical Modification of Oligonucleotides for Therapeutic, Bioanalytical and other Applications; *ChemBioChem* **2009**, *10*, 2691-2703.
- [36] V. K. Rajwanshi, A. E. Hakansson, M. D. Soren, S. Pitsch, S. K. Singh, R. Kumar, P. Nielsen, J. Wengel; The Eight Stereoisomers of LNA (Locked Nucleic Acid): A Remarkable Family of Strong RNA Binding Molecules;

- Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1722-1725; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1656-1659.
- [37] E. T. Kool; Preorganization of DNA: Design Principles for Improving Nucleic Acid Recognition by Synthetic Oligonucleotides; *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1473-1488.
- [38] J. T. Nielsen, P. C. Stein, M. Petersen; NMR structure of an  $\alpha$ -L-LNA:RNA hybrid: structural implications for RNase H recognition; *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 5858-5867.
- [39] A. Ivanova, N. Rösch; The Structure of LNA:DNA Hybrids from Molecular Dynamics Simulations: The Effect of Locked Nucleotides; *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 9307-9319.
- [40] J. K. Watts; Locked nucleic acid: tighter is different; *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 5618-5620.
- [41] K. S. Schmidt, S. Borkowski, J. Kurreck, A. W. Stephens, R. Bald, M. Hecht, M. Friebe, L. Dinkelborg, V. A. Erdmann; Application of locked nucleic acids to improve aptamer in vivo stability and targeting function; *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 5757-5765.
- [42] E. E. Swayze, A. M. Siwkowski, E. V. Wancewicz, M. T. Migawa, T. K. Wyrzykiewicz, G. Hung, B. P. Monia, C. F. Bennett; Antisense oligonucleotides containing locked nucleic acid improve potency but cause significant hepatotoxicity in animals; *Nucleic Acids Res.* **2007**, *35*, 687-700.
- [43] M. Castoldi, S. Schmidt, V. Benes, M. Noerholm, A. E. Kulozik, M. W. Hentze, M. U. Muckenthaler; A sensitive array for microRNA expression profiling (miChip) based on locked nucleic acids (LNA); *RNA* **2006**, *12*, 913-920.
- [44] E. Reynisson, M. H. Josefsen, M. Krause, J. Hoorfar; Evaluation of probe chemistries and platforms to improve the detection limit of real-time PCR; *J. Microbiol. Meth.* **2006**, *66*, 206-216.
- [45] P. I. Pradeepkumar, P. Cheruku, O. Plashkevych, P. Acharya, S. Gohil, J. Chattopadhyaya; Synthesis, Physicochemical and Biochemical Studies of 1',2'-Oxetane Constrained Adenosine and Guanosine Modified Oligonucleotides, and Their Comparison with Those of the Corresponding Cytidine and Thymidine Analogues; *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11484-11499.
- [46] H. Kaur, B. R. Babu, S. Maiti; Perspectives on Chemistry and Therapeutic Applications of Locked Nucleic Acid (LNA); *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4672-4697.



- [47] K. Morita, C. Hasegawa, M. Kaneko, S. Tsutsumi, J. Sone, T. Ishikawa, T. Imanishic, M. Koizumi; 2'-O,4'-C-Ethylene-Bridged Nucleic Acids (ENA): Highly Nuclease-Resistant and Thermodynamically Stable Oligonucleotides for Antisense Drug; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 73-76.
- [48] T. S. Kumar, A. S. Madsen, M. E. Østergaard, S. P. Sau, J. Wengel, P. J. Hrdlicka; Functionalized 2'-Amino- $\alpha$ -L-LNA: Directed Positioning of Intercalators for DNA Targeting; *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1070-1081.
- [49] F. Nagatsugi, S. Sasaki, P. S. Miller, M. M. Seidman; Site-specific mutagenesis by triple helix-forming oligonucleotides containing a reactive nucleoside analog; *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, e31.
- [50] F.-X. Barre, S. Ait-Si-Ali, C. Giovannangeli, R. Luis, P. Robin, L. L. Pritchard, C. Hélène, A. Harel-Bellan; Unambiguous demonstration of triple-helix-directed gene modification; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 3084-3088.
- [51] A. J. Gutierrez, B. C. Froehler; RNA Duplex Formation by Oligonucleotides Containing C-5 Alkyne and C-5 Thiazole Substituted Deoxyuridine Analogs; *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3959-3962.
- [52] Y. S. Sanghvi, G. D. Hoke, S. M. Freier, M. C. Zounes, C. Gonzalez, L. Cummins, H. Sasmor, P. D. Cook; Antisense oligodeoxynucleotides: synthesis, biophysical and biological evaluation of oligodeoxynucleotides containing modified pyrimidines; *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 3197-3203.
- [53] H. Hashimoto, M. G. Nelson, C. Switzer; Zwitterionic DNA; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7128-7134.
- [54] D. A. Barawkar, K. G. Rajeev, V. A. Kumar, K. N. Ganesh; Triplex Formation at Physiological pH by 5-Me-dC-N4-(Spermine) [X] Oligodeoxynucleotides: Non Protonation of N3 in X of X\*G:C Triad and Effect of Base Mismatch/Ionic Strength on Triplex Stabilities; *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 1229-1237.
- [55] J. Bijapur, S. Bergqvist, T. Brown, M. D. Keppler, K. R. Fox; 5-(1-propargylamino)-2'-deoxyuridine (UP): A novel thymidine analogue for generating DNA triplexes with increased stability; *Nucleic Acids Research* **1999**, *27*, 1802-1809.
- [56] V. Roig, U. Asseline; Oligo-2'-deoxyribonucleotides Containing Uracil Modified at the 5-Position with Linkers Ending with Guanidinium Groups; *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4416-4417.
- [57] Y. Ueno, M. Mikawa, A. Matsuda; Nucleosides and Nucleotides. 170. Synthesis and Properties of Oligodeoxynucleotides Containing 5-[N-[2-[N,N-

- Bis(2-aminoethyl)-amino]ethyl]carbamoyl]-2'-deoxyuridine and 5-[N-[3-[N,N-Bis(3-aminopropyl)amino]propyl]carbamoyl]-2'-deoxyuridine; *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 33-39.
- [58] H. Liu, J. Gao, S. R. Lynch, Y. D. Saito, L. Maynard, E. T. Kool; A Four-Base Paired Genetic Helix with Expanded Size; *Science* **2003**, *302*, 868-871.
- [59] B. D. Heuberger, C. Switzer; An Alternative Nucleobase Code: Characterization of Purine–Purine DNA Double Helices Bearing Guanine–Isoguanine and Diaminopurine 7-Deaza-Xanthine Base Pairs; *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2779-2783.
- [60] Y. Doi, J. Chiba, T. Morikawa, M. Inouye; Artificial DNA Made Exclusively of Nonnatural C-Nucleosides with Four Types of Nonnatural Bases; *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8762-8768.
- [61] R. H. Griffey, H. Sasmor, M. J. Greig; Oligonucleotide charge states in negative ionisation electrospray-mass spectrometry are a function of ammonium ion concentration; *J. Am. Chem. Soc. Mass Spectrom.* **1997**, *8*, 155-160.
- [62] J. Kumamoto, F. H. Westheimer; The Hydrolysis of Mono- and Dibenzyl Phosphates; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 2515-2518.
- [63] K. Sato, R. Tawarada, K. Seio, M. Sekine; Synthesis and Structural Properties of New Oligodeoxynucleotide Analogues Containing a 2',5'-Internucleotidic Squaryldiamide Linkage Capable of Formation of a Watson-Crick Base Pair with Adenine and a Wobble Base Pair with Guanine at the 3'-Downstream Junction Site; *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 2142-2150.
- [64] S. Spitzer, F. Eckstein; Inhibition of deoxyribonucleases by phosphorothioate groups in oligodeoxyribonucleotides; *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 11691-11704.
- [65] M. Stessl, C. R. Noe, J. Winkler; Off-target effects and safety aspects of phosphorothioate oligonucleotides; *Nucleic Acids Sequences to Molecular Medicine* **2012**, 67-83.
- [66] C. A. Stein, C. Subasinghe, K. Shinozuka, J. S. Cohen; Physicochemical properties of phosphorothioate oligodeoxynucleotides; *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, 3209-3221.
- [67] C. M. Yamada, D. J. Dellinger, M. H. Caruthers; Synthesis and Biochemical Evaluation of Phosphonoformate Oligodeoxyribonucleotides; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5251-5261.

- [68] D. Sheehan, B. Lunstad, C. M. Yamada, B. G. Stell, M. H. Caruthers, D. J. Dellinger; Biochemical properties of phosphonoacetate and thiophosphonoacetate oligodeoxyribonucleotides; *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 4109-4118.
- [69] P. de Diesbach, F. N'Kuli, C. Berens, E. Sonveaux, M. Monsigny, A.-C. Roche, P. J. Courtoy; Receptor-mediated endocytosis of phosphodiester-Oligonucleotides in the HepG2 cell line: evidence for nonconventional intracellular trafficking; *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, 1512-1521.
- [70] A. De Mesmaeker, R. Häner, P. Martin, H. E. Moser; Antisense Oligonucleotides; *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 366-374.
- [71] P. S. Miller, J. Yano, E. Yano, C. Carroll, K. Jayaraman, P. O. P. Ts'o; Nonionic nucleic acid analogs. Synthesis and characterization of dideoxyribonucleoside methylphosphonates; *Biochemistry* **1979**, *18*, 5134-5143.
- [72] K. K. Chacko, K. Lindner, W. Saenger, P. S. Miller; Molecular structure of deoxyadenyl-3'-methylphosphonate-5'-thymidine dihydrate, (d-AdT-2H<sub>2</sub>O), a dinucleotide monophosphate with neutral phosphodiester backbone. An X-ray crystal study; *Nucleic Acids Res.* **1983**, *11*, 2801-2814.
- [73] F. Han, W. Watt, D. J. Duchamp, L. Callahan, F. J. Kézdy, K. Agarwal; Molecular structure of deoxycytidyl-3'-ethylphosphonate (RP) 5'-deoxyguanine, d[Cp(CH<sub>3</sub>)G]. A neutral dinucleotide with Watson-Crick base pairing and a right handed helical twist; *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 2759-2767.
- [74] C. Dupouy, N. Iché-Tarrat, M.-P. Durrieu, F. Rodriguez, J.-M. Escudier, A. Vigroux; Watson-Crick Base-Pairing Properties of Nucleic Acid Analogues with Stereocontrolled  $\alpha$  and  $\beta$  Torsion Angles ( $\alpha,\beta$ -D-CNAs); *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 3705-3709; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3623-3627.
- [75] A. Boissonnet, C. Dupouy, P. Millard, M.-P. Durrieu, N. Tarrat, J.-M. Escudier; [ $\alpha$ ],[ $\beta$ ]-D-CNA featuring canonical and noncanonical [ $\alpha$ ]/[ $\beta$ ] torsional angles behaviours within oligonucleotides; *New J. Chem.* **2011**, *35*, 1528-1533.
- [76] A. De Mesmaeker, A. Waldner, J. Lebreton, P. Hoffmann, V. Fritsch, R. M. Wolf, S. M. Freier; Amidverbrückung, eine neue Art der Modifizierung von Oligonucleotidrückgraten; *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 237-240; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 226-229.

- [77] J. Lebreton, J. A. Walder, V. Fritsch, R. M. Wolf, A. De Mesmaeker; Comparison of two Amides as Backbone Replacement of the Phosphodiester Linkage in Oligodeoxynucleotides; *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5225-5228.
- [78] A. De Mesmaeker, J. A. Walder, J. Lebreton, P. Hoffmann, V. Fritsch, R. M. Wolf, S. M. Freier; Amides as a Substitute for the Phosphodiester Linkage in Antisense Oligonucleotides; *Synlett* **1993**, *1993*, 733-736.
- [79] J. Lebreton, A. De Mesmaeker, A. Waldner, F. Fritsch, R. M. Wolf, S. M. Freier; Synthesis of Thymidine Dimer Derivatives Containing an Amide Linkage and their Incorporation into Oligonucleotides; *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6383-6386.
- [80] C. Selvam, S. Thomas, J. Abbott, S. D. Kennedy, E. Rozners; Amides as Excellent Mimics of Phosphate Linkages in RNA; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 2116-2118; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 2068-2070.
- [81] R. L. Letsinger, C. N. Singman, G. Histan, M. Salunkhe; Cationic oligonucleotides; *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4470-4471.
- [82] S. Chaturvedi, T. Horn, R. L. Letsinger; Stabilization of Triple-Stranded Oligonucleotide Complexes: Use of Probes Containing Alternating Phosphodiester and Stereo-Uniform Cationic Phosphoramidate Linkages; *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 2318-2323.
- [83] C. P. Bailey, D. L. Weeks, J. M. Dagle; Cationic oligonucleotides can mediate specific inhibition of gene expression in *Xenopus* oocytes; *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 4860-4867.
- [84] K. M. Vasquez, J. M. Dagle, D. L. Weeks, P. M. Glazer; Chromosome Targeting at Short Polypurine Sites by Cationic Triplex-forming Oligonucleotides; *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 38536-38541.
- [85] T. Michel, F. Debart, J.-J. Vasseur; Efficient guanidination of the phosphate linkage towards cationic phosphoramidate oligonucleotides; *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6579-6582.
- [86] M. L. Jain, P. Y. Bruice, I. E. Szabó, T. C. Bruice; Incorporation of Positively Charged Linkages into DNA and RNA Backbones: A Novel Strategy for Antigene and Antisense Agents; *Chem. Rev.* **2011**, *112*, 1284-1309.
- [87] B. A. Linkletter, I. E. Szabo, T. C. Bruice; Solid-Phase Synthesis of Deoxynucleic Guanidine (DNG) Oligomers and Melting Point and Circular Dichroism Analysis of Binding Fidelity of Octameric Thymidyl Oligomers with DNA Oligomers; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3888-3896.

- [88] D. A. Barawkar, T. C. Bruice; Synthesis, biophysical properties, and nuclease resistance properties of mixed backbone oligodeoxynucleotides containing cationic internucleoside guanidinium linkages: Deoxynucleic guanidine/DNA chimeras; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 11047-11052.
- [89] N. Kojima, I. E. Szabo, T. C. Bruice; Synthesis of ribonucleic guanidine: replacement of the negative phosphodiester linkages of RNA with positive guanidinium linkages; *Tetrahedron* **2002**, *58*, 867-879.
- [90] D. P. Arya, T. C. Bruice; Positively Charged Deoxynucleic Methylthiureas: Synthesis and Binding Properties of Pentameric Thymidyl Methylthiourea; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12419-12427.
- [91] D. P. Arya, T. C. Bruice; Fidelity of Deoxynucleic S-Methylthiourea (DNmt) Binding to DNA Oligomers: Influence of C Mismatches; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10680-10684.
- [92] H. Challa, T. C. Bruice; Incorporation of Positively Charged Deoxynucleic S-Methylthiourea Linkages into Oligodeoxyribonucleotides; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2423-2427.
- [93] N. Mignet, S. M. Gryaznov; Zwitterionic oligodeoxyribonucleotide N3'-P5'-phosphoramidates: synthesis and properties; *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 431-438.
- [94] D. Stein, E. Foster, S.-B. Huang, D. Weller, J. Summerton; A Specificity Comparison of Four Antisense Types: Morpholino, 2'-O-Methyl RNA, DNA, and Phosphorothioate DNA; *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **1997**, *7*, 151-157.
- [95] E. C. Madsen, P. A. Morcos, B. A. Mendelsohn, J. D. Gitlin; *In vivo* correction of a Menkes disease model using antisense oligonucleotides; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105*, 3909-3914.
- [96] C. Mitropant, P. Porensky, H. Zhou, L. Price, F. Muntoni, S. Fletcher, S. D. Wilton, A. H. M. Burghes; Improved Antisense Oligonucleotide Design to Suppress Aberrant *SMN2* Gene Transcript Processing: Towards a Treatment for Spinal Muscular Atrophy; *PLoS ONE* **2013**, *8*, e62114.
- [97] S. Perez-Rentero, J. Alguacil, J. Robles; Novel oligonucleotide analogues containing a morpholinoamidine unit; *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1171-1179.
- [98] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt; Sequence-Selective Recognition of DNA by Strand Displacement with a Thymine-Substituted Polyamide; *Science* **1991**, *254*, 1497-1500.

- [99] P. E. Nielsen; Peptide Nucleic Acids (PNA) in Chemical Biology and Drug Discovery; *Chem. Biodivers.* **2010**, 7, 786-804.
- [100] B. Hyrup, P. E. Nielsen; Peptide Nucleic Acids (PNA): Synthesis, Properties and Potential Applications; *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 5-23.
- [101] M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, P. E. Nielsen; PNA hybridizes to complementary oligonucleotides obeying the Watson-Crick hydrogen-bonding rules; *Science* **1993**, 365, 566-568.
- [102] P. Wittung, P. E. Nielsen, O. Buchardt, M. Egholm, B. Norden; DNA-like double helix formed by peptide nucleic acid; *Nature* **1994**, 368, 561-563.
- [103] Y.-J. Seo, J. Lim, E.-H. Lee, T. Ok, J. Yoon, J.-H. Lee, H.-S. Lee; Base pair opening kinetics study of the aegPNA:DNA hybrid duplex containing a site-specific GNA-like chiral PNA monomer; *Nucleic Acids Res.* **2011**, 39, 7329-7335.
- [104] S. Brown, S. Thomson, J. Veal, D. Davis; NMR solution structure of a peptide nucleic acid complexed with RNA; *Science* **1994**, 265, 777-780.
- [105] M. Eriksson, P. E. Nielsen; Solution structure of a peptide nucleic acid-DNA duplex; *Nat. Struct. Biol.* **1996**, 3, 410-413.
- [106] H. Rasmussen, J. S. Kastrop, J. N. Nielsen, J. M. Nielsen, P. E. Nielsen; Crystal structure of a peptide nucleic acid (PNA) duplex at 1.7 Å resolution; *Nat. Struct. Biol.* **1997**, 4, 98-101.
- [107] P. E. Nielsen, G. Haaima, A. Lohse, O. Buchardt; Peptide Nucleic Acids (PNAs) Containing Thymine Monomers Derived from Chiral Amino Acids: Hybridization and Solubility Properties of D-Lysine PNA; *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2068-2070; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1939-1942.
- [108] P. Zhou, A. Dragulescu-Andrasi, B. Bhattachayara, H. O'Keefe, P. Vatta, J. J. Hyldig-Nielsen, D. H. Ly; Synthesis of cell-permeable peptide nucleic acids and characterization of their hybridization and uptake properties; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4931-4935.
- [109] N. M. Howarth, L. P. G. Wakelin;  $\alpha$ -PNA: A Novel Peptide Nucleic Acid Analogue of DNA; *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 5441-5450.
- [110] A. Dragulescu-Andrasi, S. Rapireddy, B. M. Frezza, C. Gayathri, R. R. Gil, D. H. Ly; A Simple  $\gamma$ -Backbone Modification Preorganizes Peptide Nucleic Acid into a Helical Structure; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 10258-10267.

- [111] S. Rapireddy, G. He, S. Roy, B. A. Armitage, D. H. Ly; Strand Invasion of Mixed-Sequence B-DNA by Acridine-Linked,  $\gamma$ -Peptide Nucleic Acid ( $\gamma$ -PNA); *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15596-15600.
- [112] N. T. S. De Costa, J. M. Heemstra; Evaluating the Effect of Ionic Strength on Duplex Stability for PNA Having Negatively or Positively Charged Side Chains *PLoS ONE* **2013**, *8*, e58670.
- [113] B. Hyrup, M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen; A flexible and positively charged PNA analogue with an ethylene-linker to the nucleobase: synthesis and hybridization properties; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1083-1088.
- [114] B. Schmidtgal; Diplomarbeit, Georg-August-Universität Göttingen **2009**.
- [115] A. Spork, C. Ducho; Novel 5'-deoxy nucleosyl amino acid scaffolds for the synthesis of muraymycin analogues; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2323-2326.
- [116] M. Winn, R. J. M. Goss, K.-i. Kimura, T. D. H. Bugg; Antimicrobial nucleoside antibiotics targeting cell wall assembly: Recent advances in structure–function studies and nucleoside biosynthesis; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 279-304.
- [117] A. Spork, S. Koppermann, C. Ducho; Improved Convergent Synthesis of 5'-*epi*-Analogues of Muraymycin Nucleoside Antibiotics; *Synlett* **2009**, *15*, 2503-2507.
- [118] A. P. Spork, D. Wiegmann, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho; Stereoselective Synthesis of Uridine-Derived Nucleosyl Amino Acids; *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 10083-10098.
- [119] B. D. Vineyard, W. S. Knowles, M. J. Sabacky, G. L. Bachmann, D. J. Weinkauff; Asymmetric Hydrogenation. Rhodium Chiral Bisphosphine Catalyst; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5946-5952.
- [120] A. Matsuda, M. Satoh, T. Ueda, H. Machida, T. Sasaki; Synthesis and Biological Activities of 3'-Deoxy-3'-Isothiocyano and Isoselenocyanothymidines; *Nucleosides Nucleotides* **1990**, *9*, 587-597.
- [121] L. Horner, H. Hoffmann, H. G. Wippel; Phosphororganische Verbindungen, XII. Phosphinoxyde als Olefinierungsreagenzien; *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 61-63.
- [122] W. S. Wadsworth, W. D. Emmons; The Utility of Phosphonate Carbanions in Olefin Synthesis; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733-1738.
- [123] A. De Mesmaeker, J. Lebreton, C. Jouanno, V. Fritsch, R. M. Wolf, S. Wendeborn; Amide-Modified Oligonucleotides with Preorganized Backbone and Furanose Rings: Highly Increased Thermodynamic Stability of the

- Duplexes Formed with their RNA and DNA Complements; *Synlett* **1997**, 1997, 1287-1290.
- [124] N. D. Sinha, J. Biernat, H. Köster;  $\beta$ -Cyanoethyl N,N-Dialkylamino/N-Morpholinochloro phosphoamidites, new phosphitylating agents facilitating ease of deprotection and work-up of synthesized oligonucleotides; *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 5843-5846.
- [125] L. A. Carpinho, G. Y. Han; The 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl Amino-Protecting-Group; *J. Org. Chem.* **1972**, 37, 3404-3409.
- [126] M.-O. Schneemann; Nicht publizierte Ergebnisse, **2012**.
- [127] A. Ochmann; Masterarbeit, Georg-August-Universität Göttingen **2011**.
- [128] A. T. Khan, E. Mondal; A Highly Efficient and Useful Synthetic Protocol for the Cleavage of TBDMS-Ethers Using a Catalytic Amount of Acetylchloride in Dry Methanol; *Synlett* **2003**, 694-698.
- [129] C. B. Reese; Oligo- and poly-nucleotides: 50 years of chemical synthesis; *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 3851-3868.
- [130] K. L. Agarwal, A. Yamazaki, P. J. Cashion, H. G. Khorana; Chemische Synthese von Polynucleotiden; *Angew. Chem.* **1972**, 84, 489-498; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, 11, 451-459.
- [131] P. A. M. Herdewijn; Anchimeric assistance of a 5'-O-carbonyl function for inversion of configuration at the 3'-carbon atom of 2'-deoxyadenosine. Synthesis of 3'-azido-2',3'-dideoxyadenosine and 3'-azido-2',3'-dideoxyinosine; *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 5050-5053.
- [132] P. Herdewijn, J. Balzarini, M. Baba, R. Pauwels, A. Van Aerschot, G. Janssen, E. De Clercq; Synthesis and anti-HIV activity of different sugar-modified pyrimidine and purine nucleosides; *J. Med. Chem.* **1988**, 31, 2040-2048.
- [133] I. Yamamoto, M. Sekine, H. Tsujiaki; One-Step synthesis of 5'-azido-nucleosides; *J. Chem. Soc. Perkin Trans I* **1980**, 306-310.
- [134] J. S. Nelson, K. L. Fearon, M. Q. Nguyen, S. N. McCurdy, J. E. Frediani, M. F. Foy, B. L. Hirschbein; N3'→P5' Oligodeoxyribonucleotide Phosphoramidates: A New Method of Synthesis Based on a Phosphoramidite Amine-Exchange Reaction; *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7278-7287.
- [135] H. Kuzuhara, M. Kawana; Synthesis of 2'-and 3'-Azido-2',3'-dideoxyadenosines. Preparative applications of the deoxygenative [1,2]-hydride shift and  $\beta$ -elimination reactions of O-sulfonylated adenosines; *Carbohydr. Res.* **1989**, 189, 87-101.



- [136] S. Czernecki, J.-M. Valery; An Efficient Synthesis of 3'-Azido-3'-deoxythymidine; *Synthesis* **1991**, 239-240.
- [137] R. Eisenhuth, C. Richert; Convenient Syntheses of 3'-Amino-2',3'-dideoxynucleosides, Their 5'-Monophosphates, and 3'-Aminoterminal Oligodeoxynucleotide Primers; *J. Org. Chem.* **2008**, *74*, 26-37.
- [138] E. Atherton, H. Fox, D. Harkiss, C. Logan, R. Sheppard, B. Williams; A mild procedure for solid phase peptide synthesis: use of fluorenylmethoxycarbonylamino-acids; *Chem. Commun.* **1978**, 537-539.
- [139] Y.-h. Ji, W. Bannwarth, B. Luu; Application of the phosphoramidite-phosphite triester approach for the synthesis of combinations between oxygenated sterols and nucleoside analogues linked by phosphodiester bonds; *Tetrahedron* **1990**, *46*, 487-502.
- [140] U. Schmidt, A. Lieberknecht, J. Wild; Amino Acids and Peptides; XLIII. Dehydroamino Acids; XVIII. Synthesis of Dehydroamino Acids and Amino Acids from *N*-Acyl-2-(dialkyloxyphosphinyl)-glycine Esters; *Synthesis* **1984**, *1984*, 53-60.
- [141] A. Spork; Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [142] U. Schmidt, J. Wild; Totalsynthese von Hexaacetylcelenamid A; *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, *1985*, 1882-1894.
- [143] R. Hamzavi, F. Dolle, B. Tavitian, O. Dahl, P. E. Nielsen; Modulation of the Pharmacokinetic Properties of PNA: Preparation of Galactosyl, Mannosyl, Fucosyl, N-Acetylgalactosaminyl, and N-Acetylglucosaminyl Derivatives of Aminoethylglycine Peptide Nucleic Acid Monomers and Their Incorporation into PNA Oligomers; *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 941-954.
- [144] A. Michaelis, R. Kaehne; Über das Verhalten der Jodalkyle gegen die sogen. Phosphorigsäureester oder O-Phosphine; *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1898**, *31*, 1048-1055.
- [145] M. J. Smith, D. Kim, B. Horenstein, K. Nakanishi, K. Kustin; Unraveling the chemistry of tunichrome; *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 117-124.
- [146] A. Duschek, S. F. Kirsch; 2-Iodoxybenzoesäure – ein einfaches Oxidationsmittel mit einer Vielfalt an Anwendungsmöglichkeiten; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 1562-1590; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1524-1552.
- [147] J. Boeckman, Robert K., P. Shao, J. J. Mullins; The Dess-Martin Periodinane: 1,1,1-Triacetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-one; *Org. Synth.* **2000**, *77*, 141.

- [148] X.-F. Zhu, H. J. Williams, A. I. Scott; Facile and highly selective 5'-desilylation of multisilylated nucleosides; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **2000**, 2305-2306.
- [149] J. D. More, N. S. Finney; A Simple and Advantageous Protocol for the Oxidation of Alcohols with o-Iodoxybenzoic Acid (IBX); *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3001-3003.
- [150] U. Schmidt, H. Griesser, V. Leitenberger, A. Lieberknecht, R. Mangold, R. Meyer, B. Riedl; Diastereoselective Formation of (*Z*)-Didehydroamino acid esters; *Synthesis* **1992**, 487-490.
- [151] R. Mazurkiewicz, A. Kuznik, M. Grymel, N. Kuznik; <sup>1</sup>H-NMR spectroscopic criteria for the configuration of *N*-acyl- $\alpha,\beta$ -dehydro- $\alpha$ -amino acid esters; *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 36-40.
- [152] M. J. Burk; C<sub>2</sub>-symmetric bis(phospholanes) and their use in highly enantioselective hydrogenation reactions; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8518-8519.
- [153] T. Masquelin, E. Broger, K. Müller, R. Schmid, D. Obrecht; Synthesis of Enantiomerically Pure D- and L-(Heteroaryl)alanines by Asymmetric Hydrogenation of (*Z*)- $\alpha$ -Amino- $\alpha,\beta$ -didehydro Esters; *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1395-1411.
- [154] J. Halpern; Mechanism and Stereoselectivity of Asymmetric Hydrogenation; *Science* **1982**, *217*, 401-407.
- [155] H. Möhrle, H. Ehrhardt, R. Kilian, P. Spillmann; Rotamere Amide; *Arch. Pharm.* **1970**, *303*, 531-544.
- [156] A. G. Martinez, J. O. Barcina, H. G. del Veccio, M. Hanack, L. R. Subramanian; Non-Hydrolytic Cleavage of Esters with Manganese Iodide in Aprotic Non-Polar Solvents; *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5931-5934.
- [157] R. Kaul, Y. Brouillette, Z. Sajjadi, K. A. Hansford, W. D. Lubell; Selective *tert*-Butyl Ester Deprotection in the Presence of Acid Labile Protecting Groups with Use of ZnBr<sub>2</sub>; *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6131-6133.
- [158] S. Paul, R. R. Schmidt; A New Base Mediated Method for the Cleavage of *tert*-Butyl Esters; *Synlett* **2002**, *2002*, 1107-1108.
- [159] O. Mitsunobu; The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products; *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [160] D. L. Hughes; Progress in the Mitsunobu Reaction. A Review; *Org. Prep. Proced. Int.* **1996**, *28*, 127-164.

- [161] H. Staudinger, J. Meyer; Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylenderivate und Phosphinimine; *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.
- [162] W. Q. Tian, Y. A. Wang; Mechanisms of Staudinger Reactions within Density Functional Theory; *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 4299.
- [163] 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.
- [164] A. M. Felix, E. P. Heimer, T. J. Lambros, C. Tzougraki, J. Meienhofer; Rapid removal of protecting groups from peptides by catalytic transfer hydrogenation with 1,4-cyclohexadiene; *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4194-4196.
- [165] F. Hansske, M. J. Robins; Nucleic Acid Related Compounds. 43. A Convenient Procedure for the Synthesis of 2' and 3'-Ketonucleosides; *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 1589-1592.
- [166] V. Samano, M. J. Robins; Mild Periodinane Oxidation of Protected Nucleosides To Give 2'- and 3'-Ketonucleosides. The First Isolation of a Purine 2'-Deoxy-3'-ketonucleoside Derivative; *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5186-5188.
- [167] M. N. S. Rad, S. Behrouz, A. Khalafi-Nezhad; A simple one-pot procedure for the direct conversion of alcohols into azides using Tslm; *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 3445-3449.
- [168] K. S. Krishnakumar, P. Strazewski; Synthesis of a Deoxyxylopuromycine Analogue; *Synlett* **2010**, 7, 1055-1058.
- [169] N. Iranpoor, H. Firouzabadi, B. Akhlaghinia, N. Nowrouzi; A novel and highly selective conversion of alcohols, thiols, and silyl ethers to azides using the triphenylphosphine/2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone(DDQ)/*n*-Bu<sub>4</sub>NN<sub>3</sub>; system *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 3291-3294.
- [170] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, München **2004**, 97-99.
- [171] T. Mukaiyama; Die Oxidations-Reduktions-Kondensation; *Angew. Chem.* **1976**, 88, 111-120; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, 15, 94-103.
- [172] R. Appel; Tertiäres Phosphan/Tetrachlormethan, ein vielseitiges Reagens zur Chlorierung, Dehydratisierung und PN-Verknüpfung; *Angew. Chem.* **1975**, 87, 863-874; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, 14, 801-811.

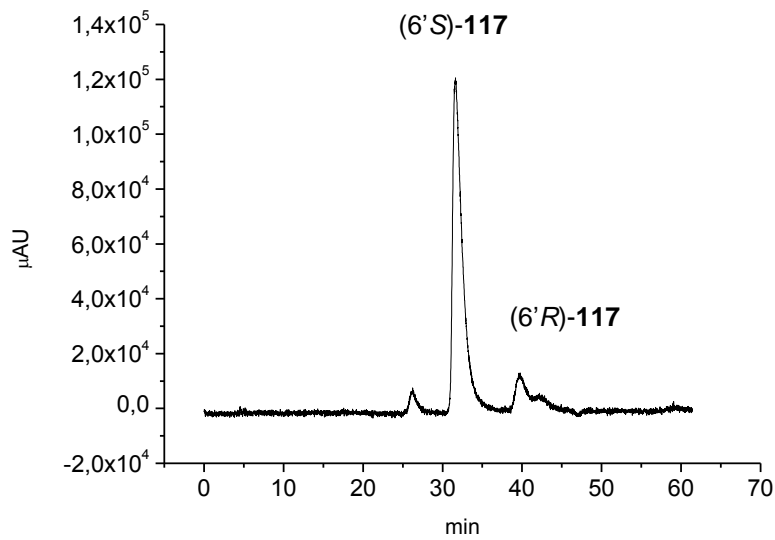
- [173] R. Ranganathan; Modification of the 2'-Position of Purine Nucleosides: Syntheses of 2'- $\alpha$ -Substituted-2'-deoxyadenosine Analogs; *Tetrahedron Lett.* **1977**, *15*, 1291-1294.
- [174] K. A. Scheidt, H. Chen, B. C. Follows, S. R. Chemler, D. S. Coffey, W. R. Roush; Tris(dimethylamino)sulfonium Difluorotrimethylsilicate, a Mild Reagent for the Removal of Silicon Protecting Groups; *Org. Chem.* **1998**, *63*, 6436-6437.
- [175] E. Westman, R. Strömberg; Removal of *t*-butyldimethylsilyl protection in RNA-synthesis. Triethylamine trihydrofluoride (TEA, 3HF) is a more reliable alternative to tetrabutylammonium fluoride (TBAF); *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 2430-2431.
- [176] D. Zewge, F. Gosselin, R. Sidler, L. DiMichele, R. J. Cvetovich; A Safe and Practical Procedure for Global Deprotection of Oligoribonucleotides; *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5305-5307.
- [177] M. C. Pirrung, S. W. Shuey, D. C. Lever, L. Fallon; Convenient Procedure for the Deprotection of Silylated Nucleosides and Nucleotides Using Triethylamine Trihydrofluoride; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1345-1346.
- [178] M. Büschleb; Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, **2012**.
- [179] V. Dzubeck, J. P. Schneider; One-pot conversion of benzyl carbamates into fluorenylmethyl carbamates; *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9953-9956.
- [180] S. A. Rice, P. Doty; The Thermal Denaturation of Desoxyribose Nucleic Acid; *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3937-3947.
- [181] V. A. Bloomfield, D. M. Crothers, I. Tinoco, *Physical Chemistry of Nucleic Acids*, Harper and Row, New York **1974**.
- [182] J.-L. Mergny, J.-C. Maurizot; Fluorescence Resonance Energy Transfer as a Probe for G-Quartet Formation by a Telomeric Repeat; *ChemBioChem* **2001**, *2*, 124-132.
- [183] P. Cahen, M. Luhmer, C. Fontaine, C. Morat, J. Reisse, K. Bartik; Study by  $^{23}\text{Na}$ -NMR,  $^1\text{H}$ -NMR, and Ultraviolet Spectroscopy of the Thermal Stability of an 11-Basepair Oligonucleotide; *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1059-1069.
- [184] J. Kypr, I. Kejnovská, D. Renčiuk, M. Vorlíčková; Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA; *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1713-1725.

- 
- [185] D. M. Gray, A. R. Morgan, R. L. Ratliff; A comparison of the circular dichroism spectra of synthetic DNA sequences of the homopurine homopyrimidine and mixed purine-pyrimidine types; *Nucleic Acids Res.* **1978**, *5*, 3679-3696.
- [186] I. Ivanovska, A. S. Ball, R. L. Diaz, J. F. Magnus, M. Kibukawa, J. M. Schelter, S. V. Kobayashi, L. Lim, J. Burchard, A. L. Jackson, P. S. Linsley, M. A. Cleary; MicroRNAs in the miR-106b Family Regulate p21/CDKN1A and Promote Cell Cycle Progression; *Mol. Cell. Biol.* **2008**, *28*, 2167-2174.
- [187] M. E. Gramlich, C. T. Wirges, A. Manetto, T. Carell; Postsynthetische DNA-Modifizierung mithilfe der kupferkatalysierten Azid-Alkin-Cycloaddition; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 8478-8487; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8350-8358.
- [188] C. M. Castleberry, L. P. Rodicio, P. A. Limbach; Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Oligonucleotides; *Curr. Protoc. Nucleic Acid Chem.* **2008**, *10*, 10.12.11-10.12.19.

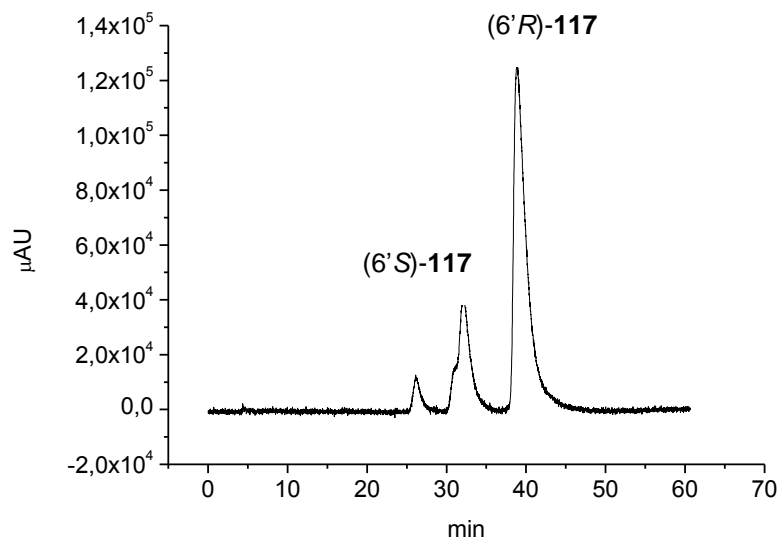
## 9 Anhang

### 9.1 HPLC-Chromatogramme

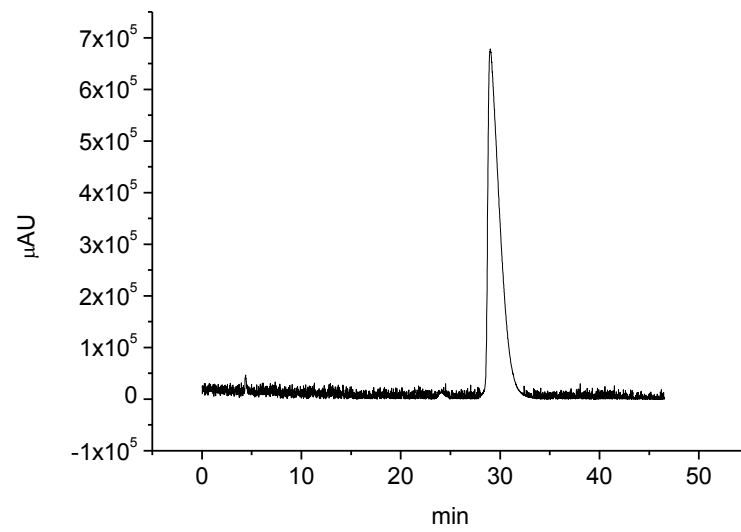
#### 9.1.1 Verbindungen (6'S)-117 und (6'R)-117



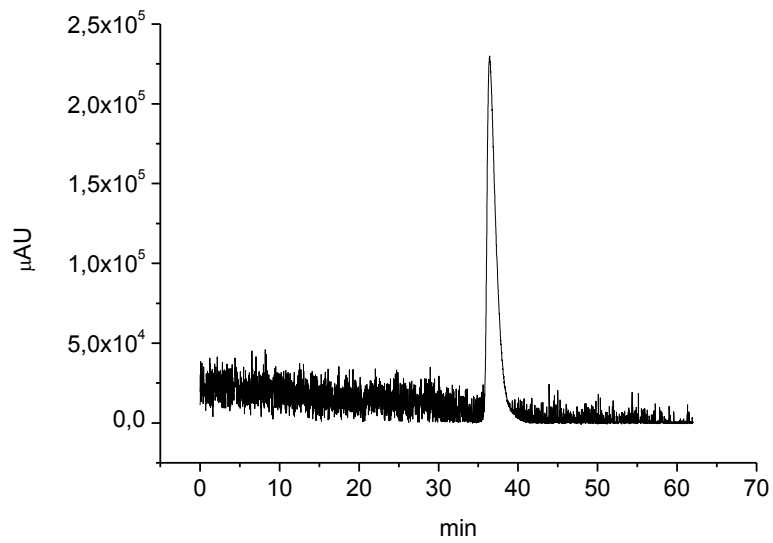
Nach der Synthese erhaltenenes (6'S)-117



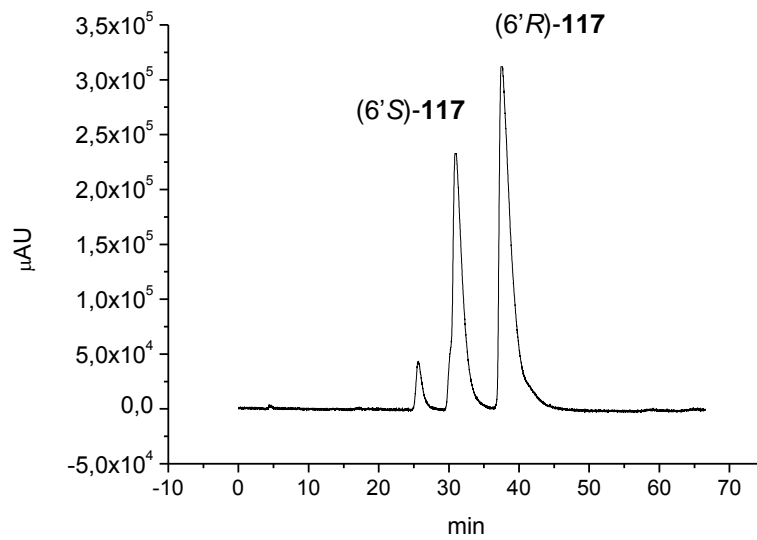
Nach der Synthese erhaltenenes (6'R)-117



Nach HPLC-Reinigung erhaltenes (6'S)-117



Nach HPLC-Reinigung erhaltenes (6'R)-117

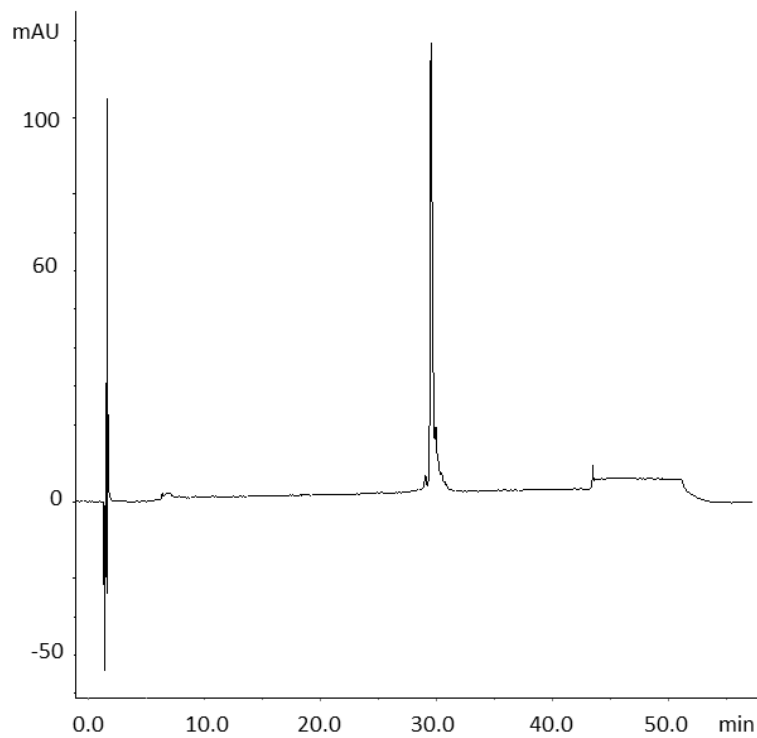


Koinjektion der Diastereomere (6'*R*)-117 und (6'*S*)-117

## 9.1.2 Oligonucleotide

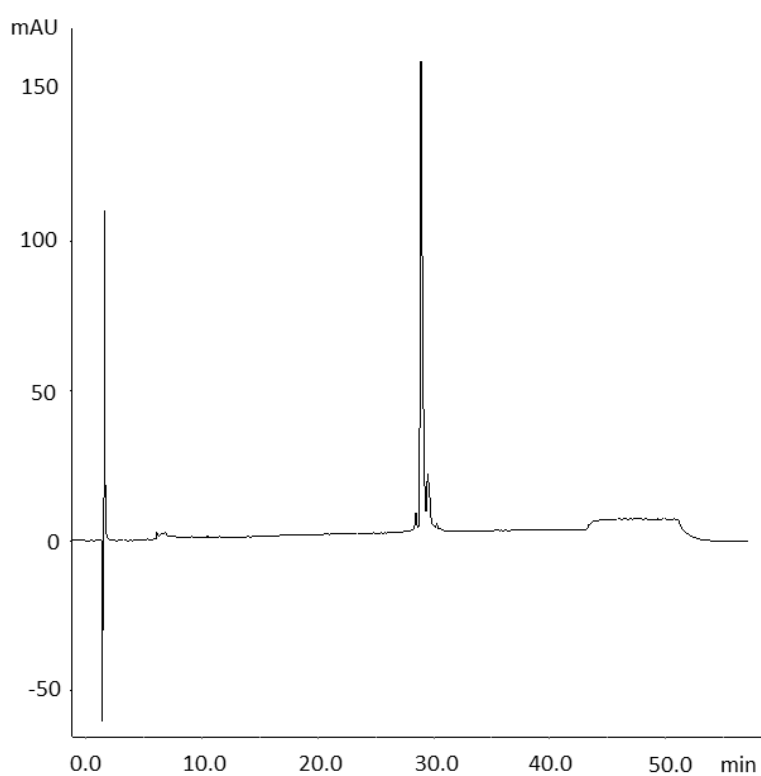
### 9.1.2.1 Chromatogramme der gereinigten NAA-modifizierten Oligonucleotide

Die jeweilige Konfiguration der NAA-Modifikation ist in Klammern angegeben.

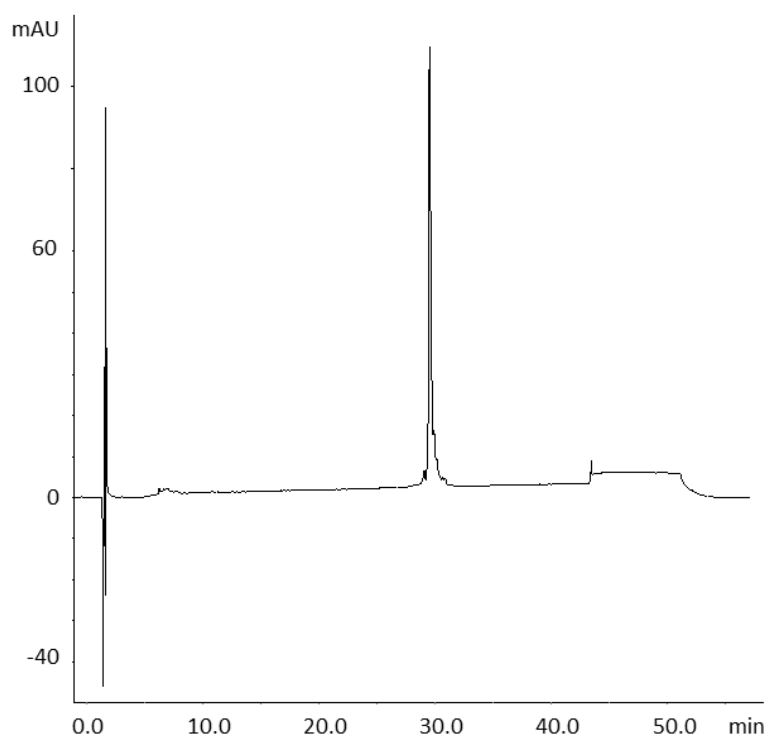


Oligonucleotid **1** (*S*): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'

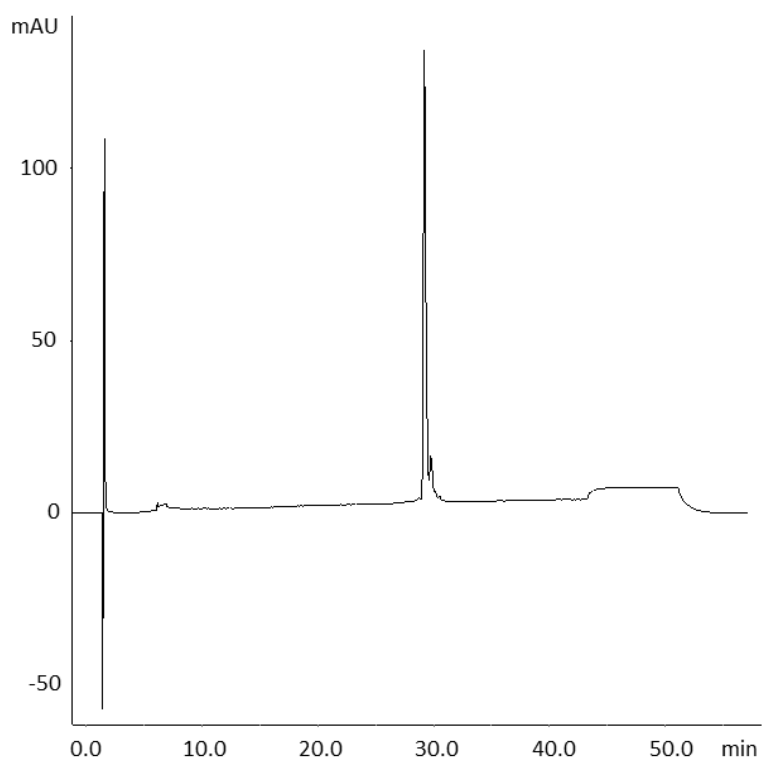




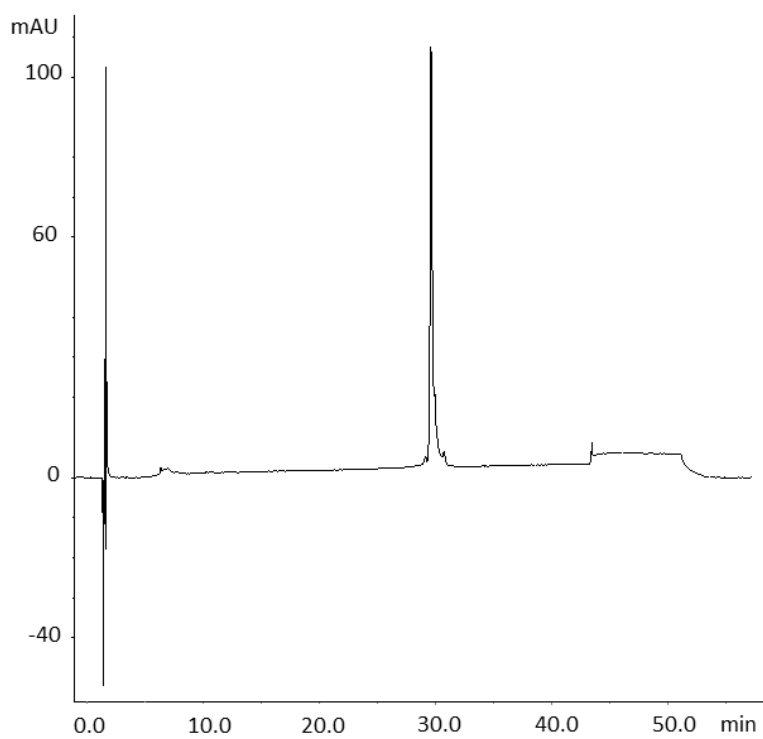
Oligonucleotid **2** (R): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



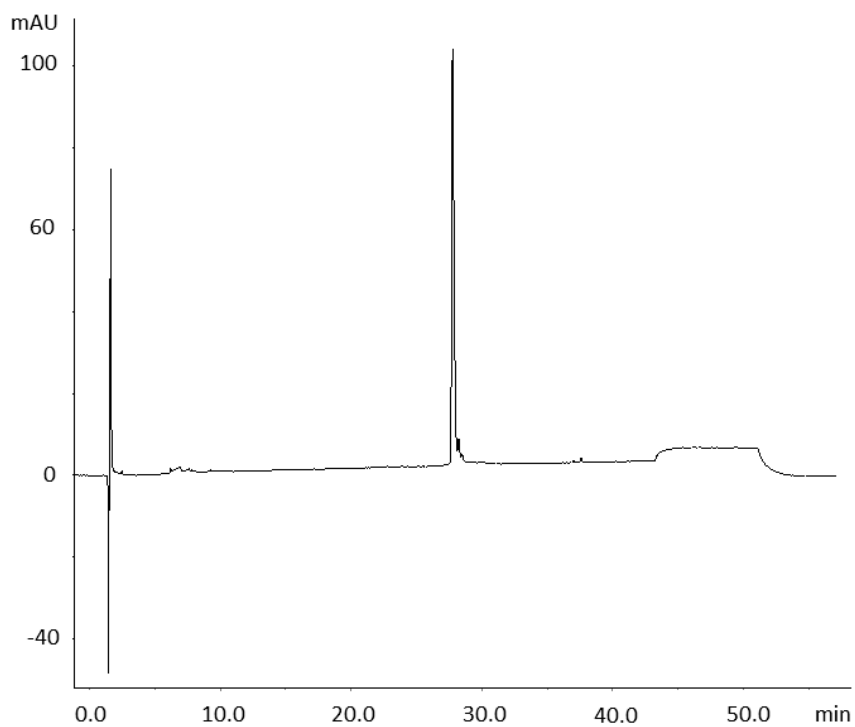
Oligonucleotid **3** (S): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



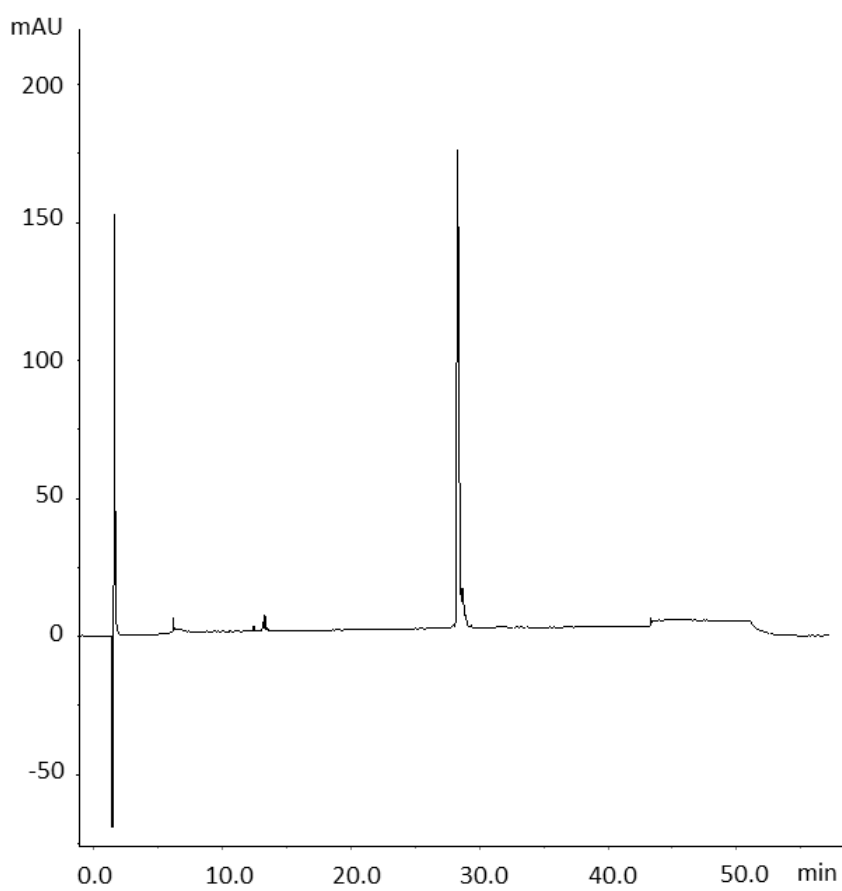
Oligonucleotid **4** (*R*): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



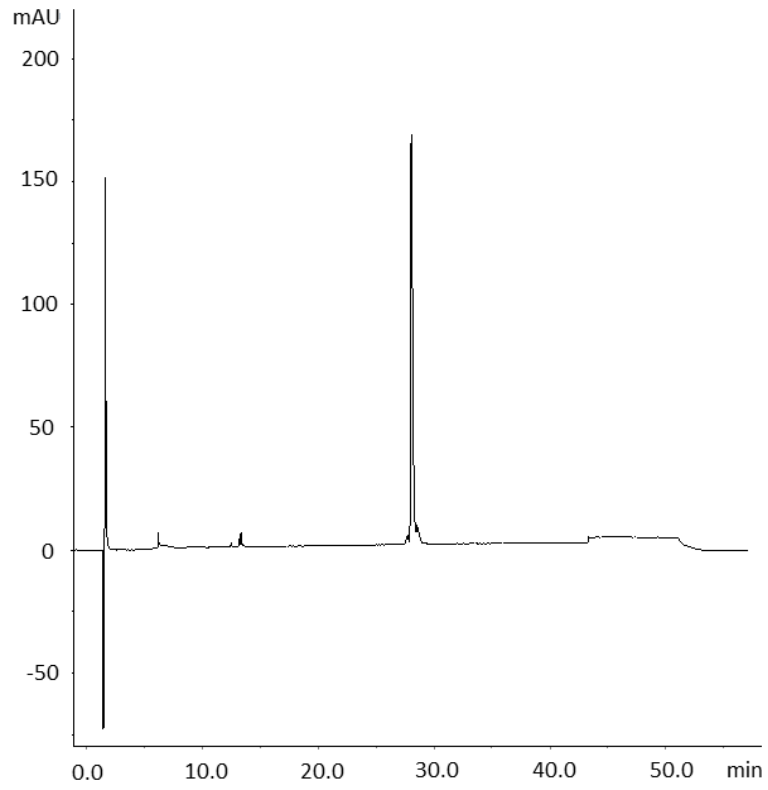
Oligonucleotid **5** (*S*): 5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'



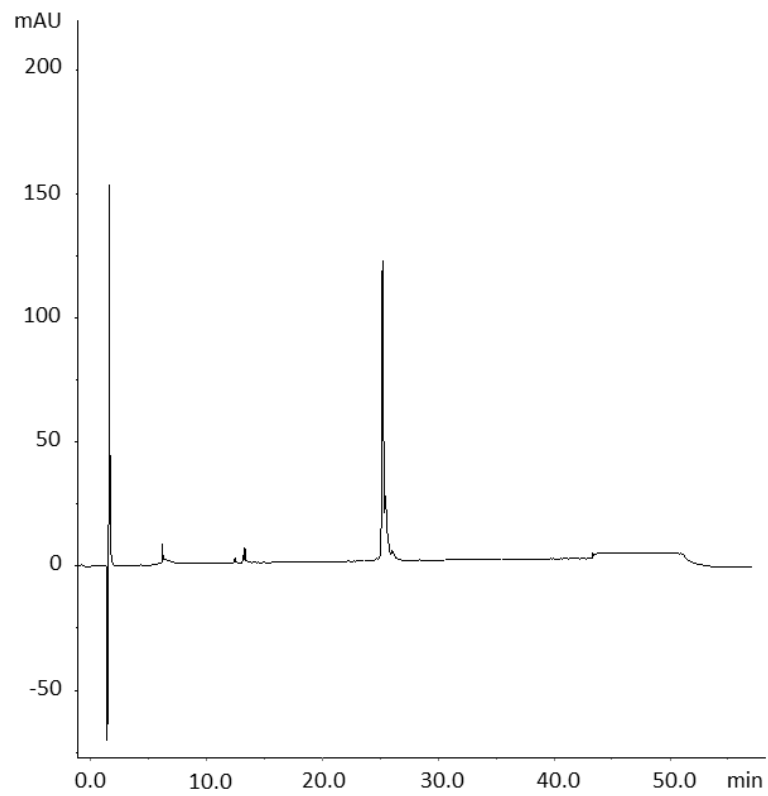
Oligonucleotid **6** (R): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T TT TT GGCACGG-3'



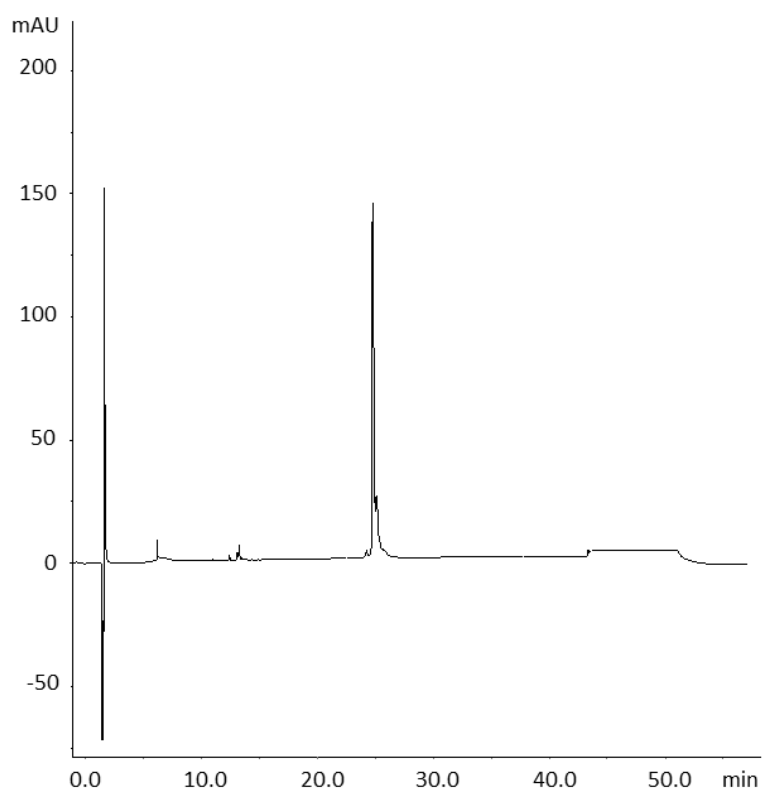
Oligonucleotid **7** (S): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT TT TT GGCACGG-3'



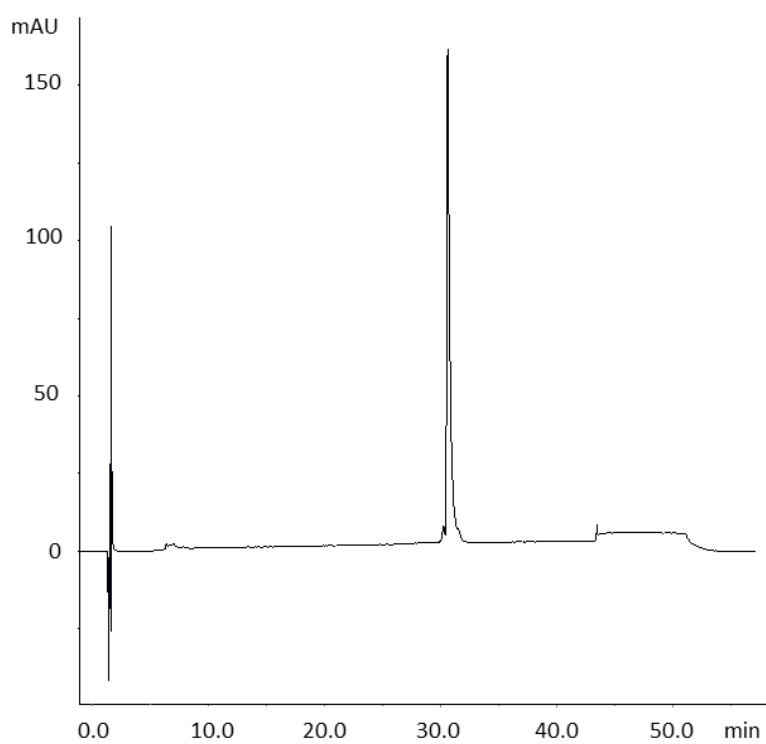
Oligonucleotid **8** (*R*): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT TT TT GGCACGG-3'



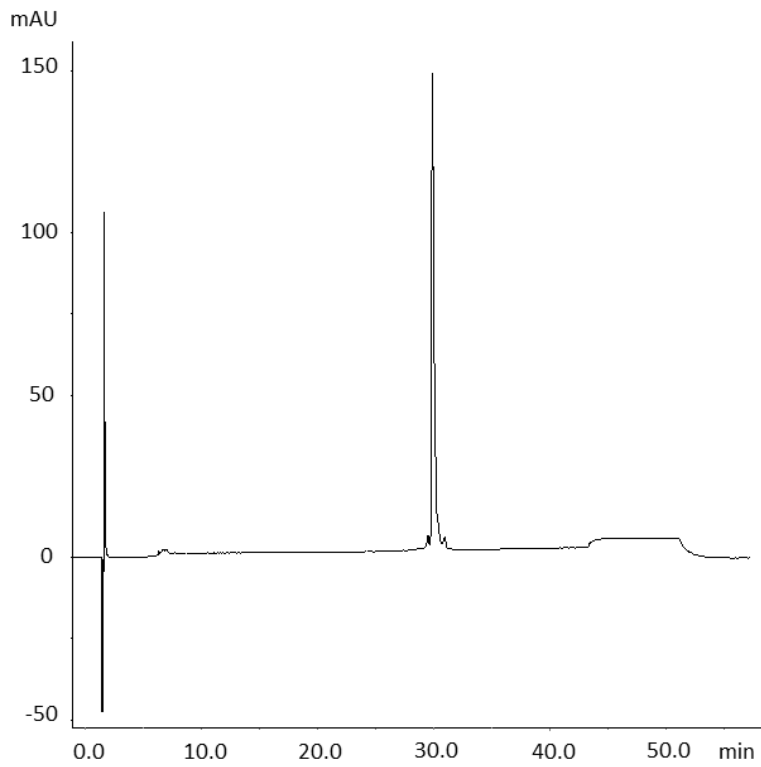
Oligonucleotid **9** (*S*): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T GGCACGG-3'



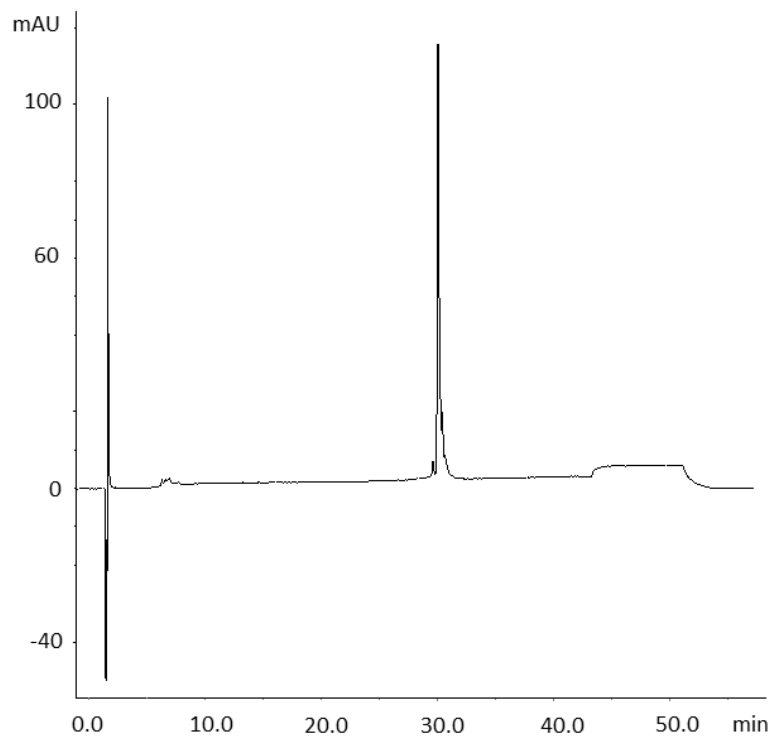
Oligonucleotid **10** (*R*): 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'



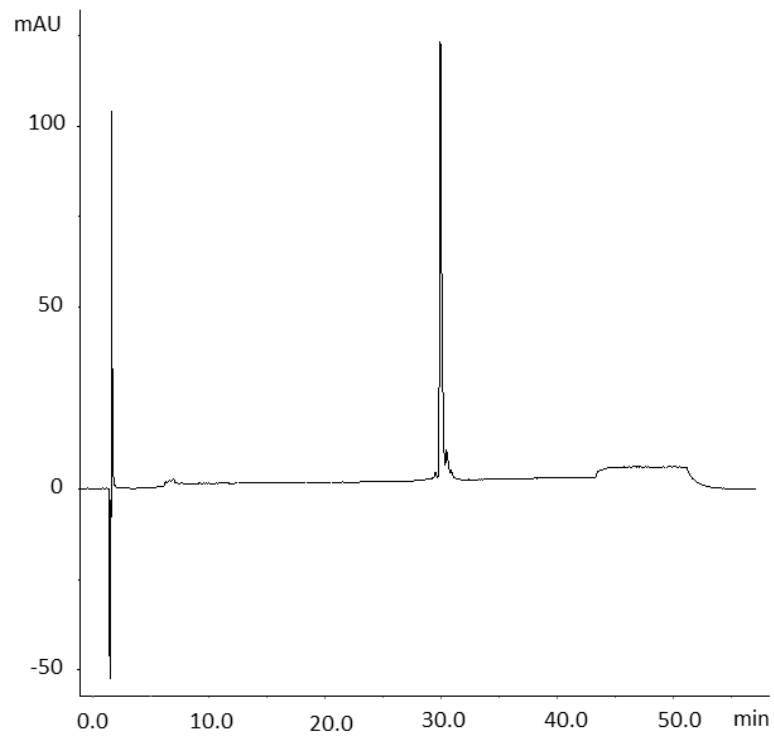
Oligonucleotid **11** (*S*): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



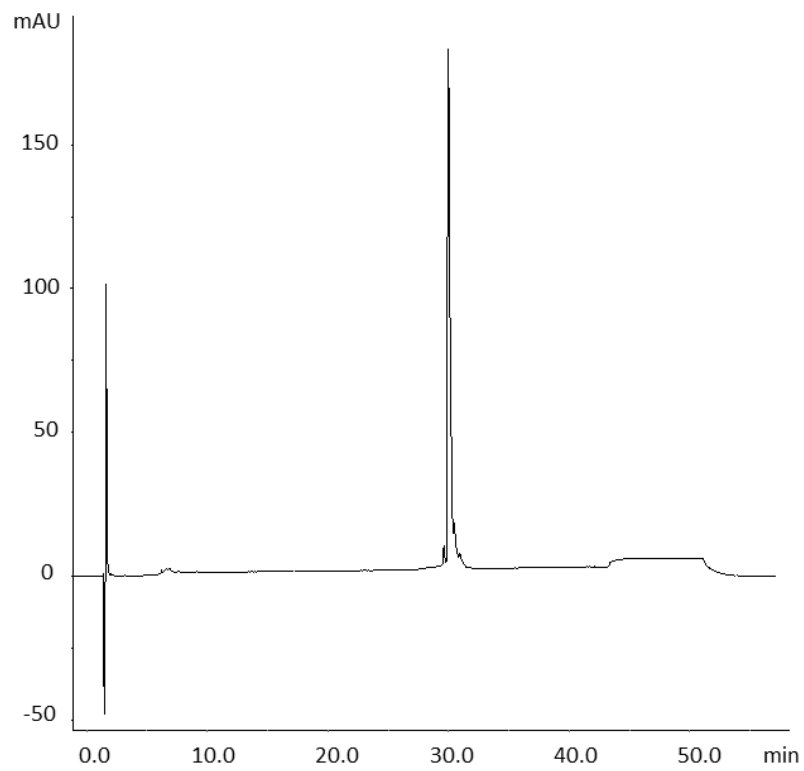
Oligonucleotid **12** (*R*): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



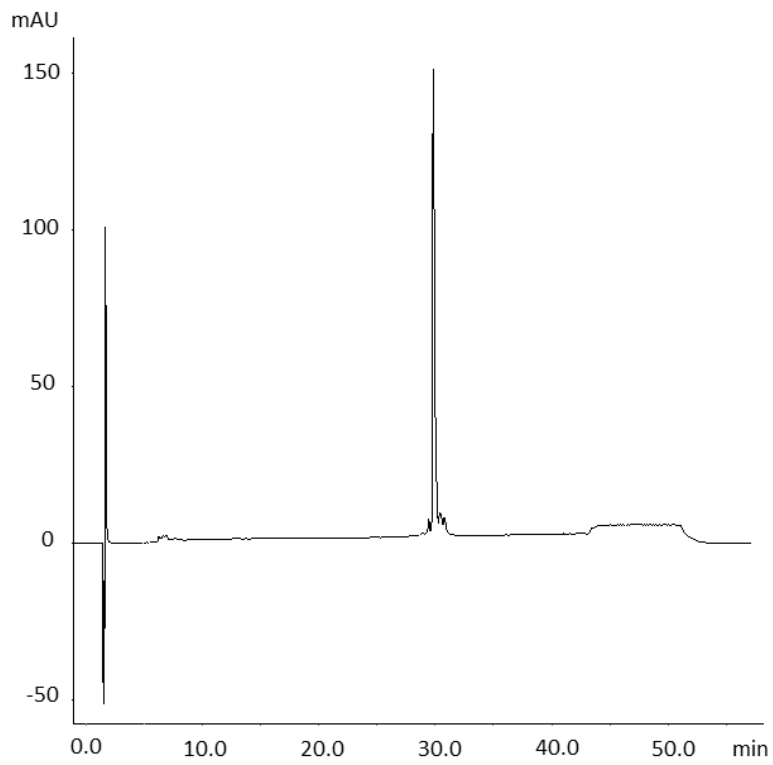
Oligonucleotid **13** (*S*): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



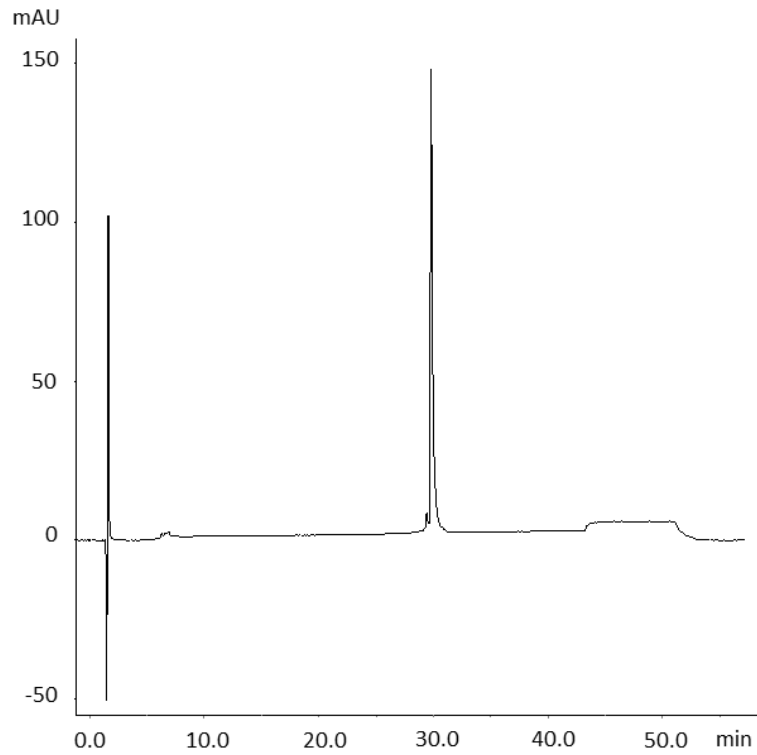
Oligonucleotid **14** (*R*): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



Oligonucleotid **15** (*S*): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'

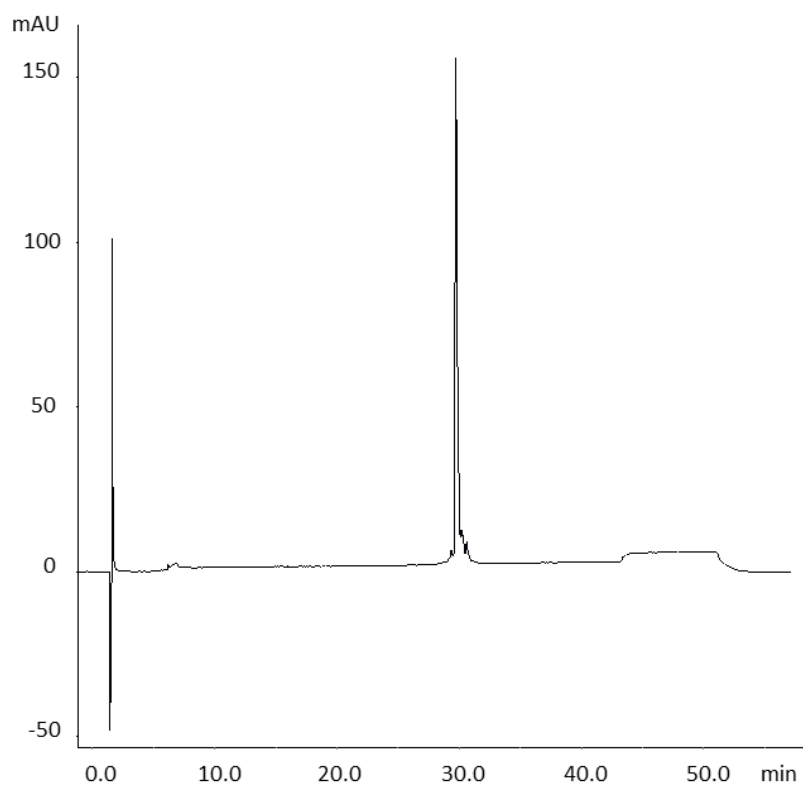


Oligonucleotid **16** (*R*): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'

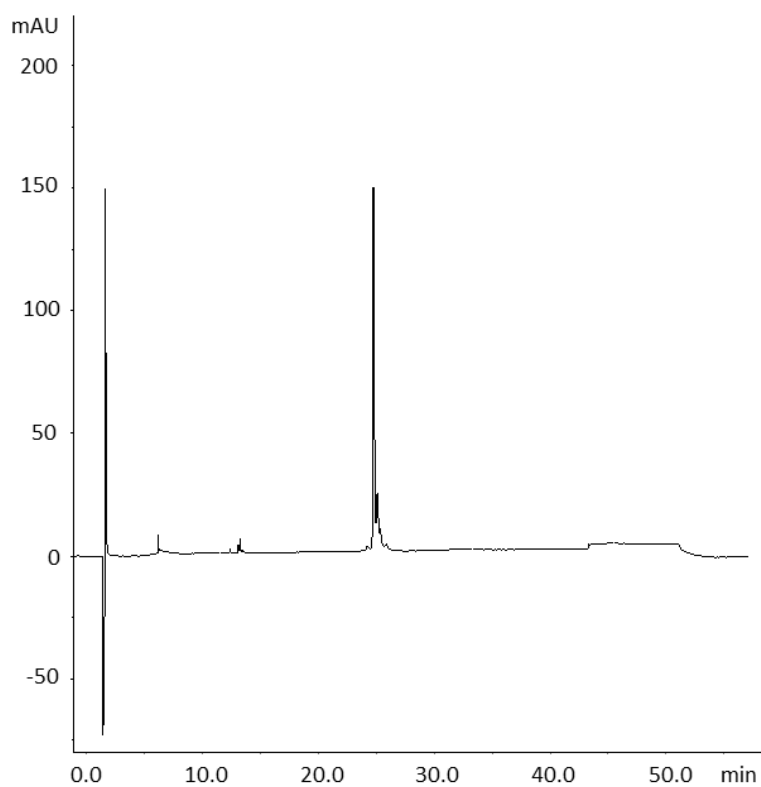


Oligonucleotid **17** (*S*): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'

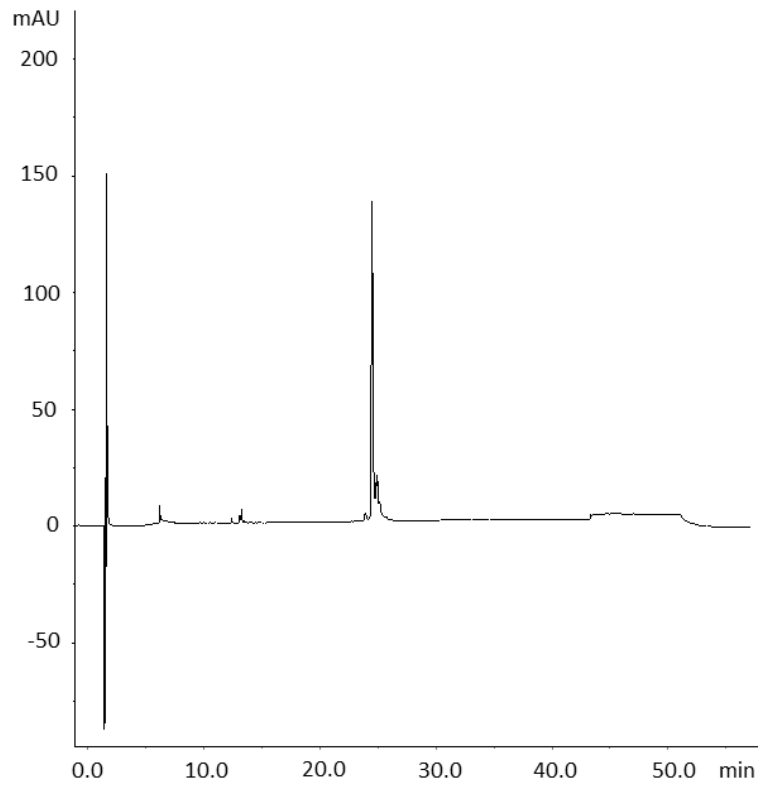




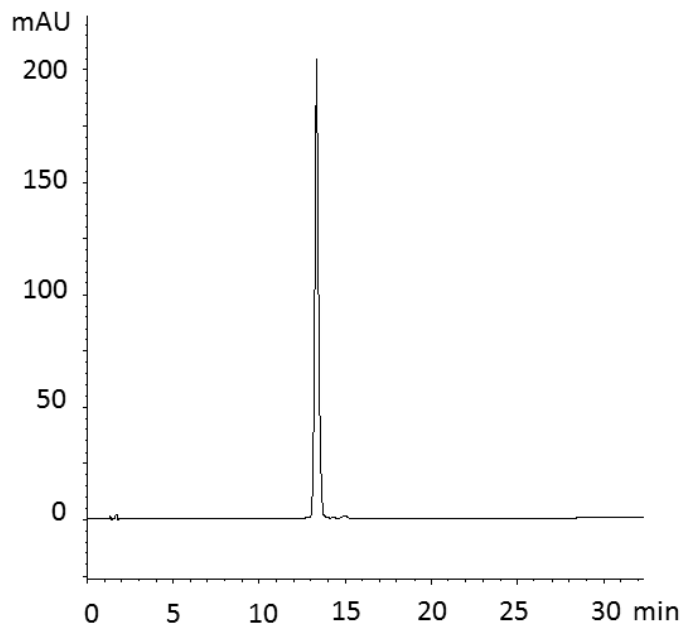
Oligonucleotid **18** (*R*): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'



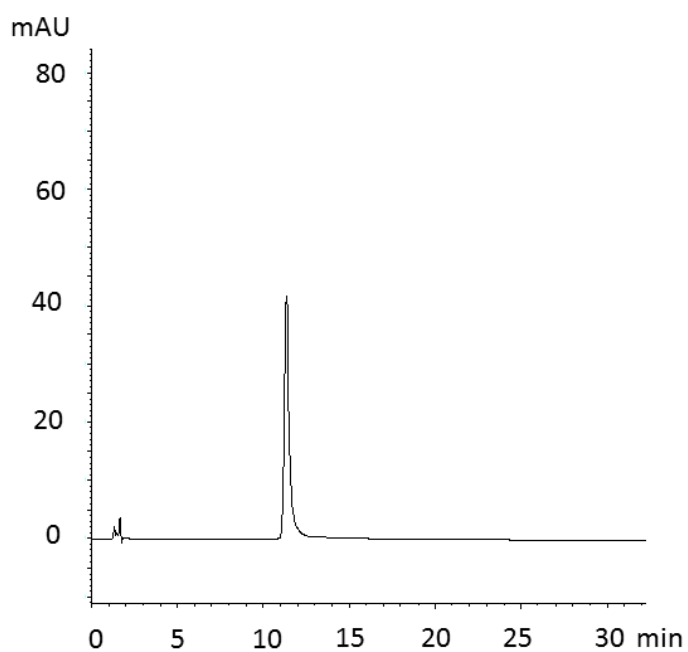
Oligonucleotid **19** (*S*): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



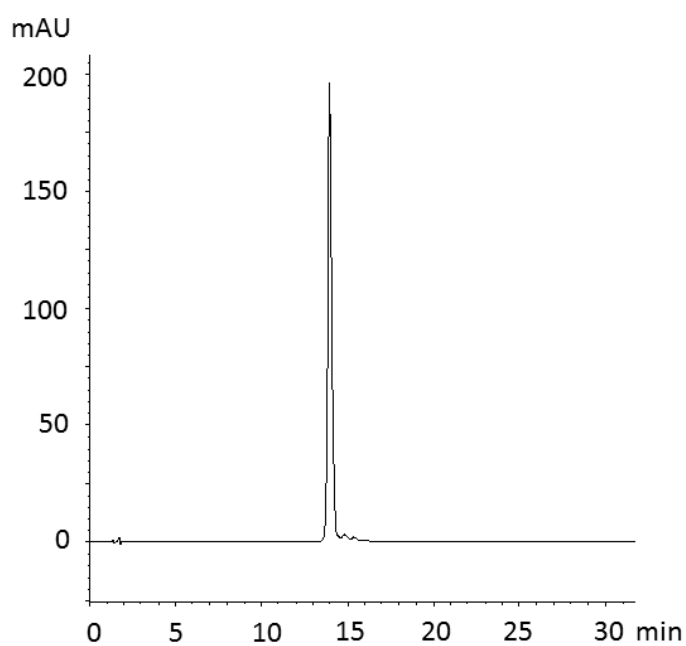
Oligonucleotid **20** (*R*): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



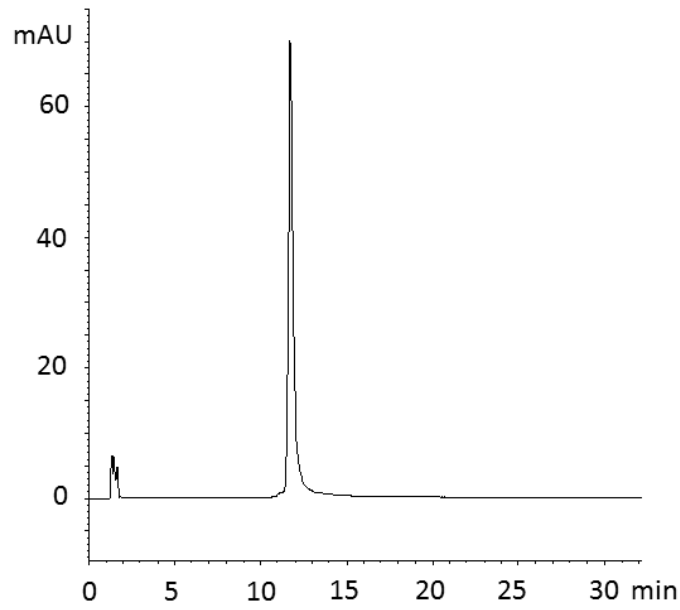
Oligonucleotid **21** (*S*): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



Oligonucleotid **22** (*R*): 5'-GCGC **TxT** GC **TT** AAGCAAGCGC-3'

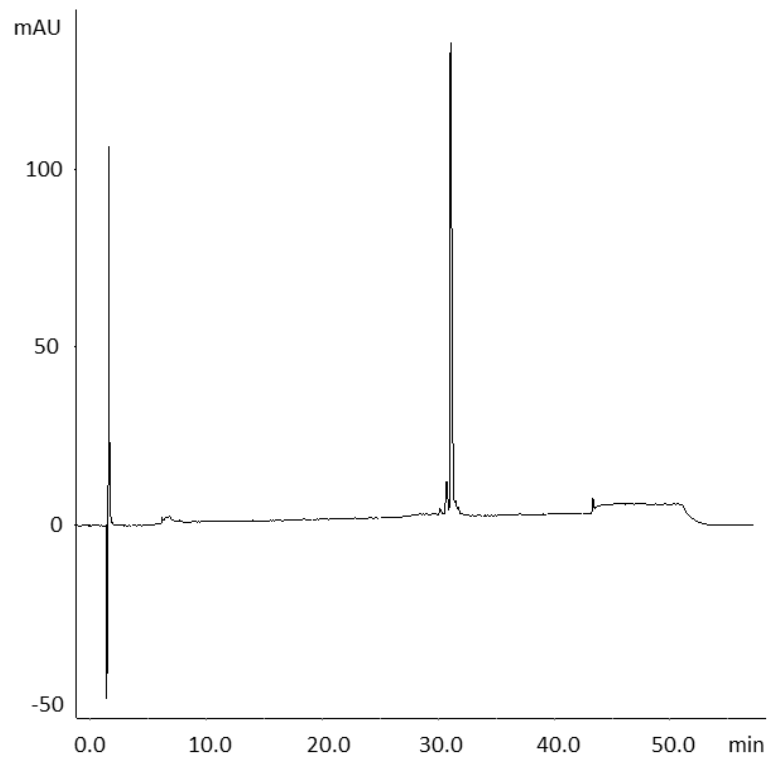


Oligonucleotid **23** (*S*): 5'-GCGC **TT** GC **TxT** AAGCAAGCGC-3'

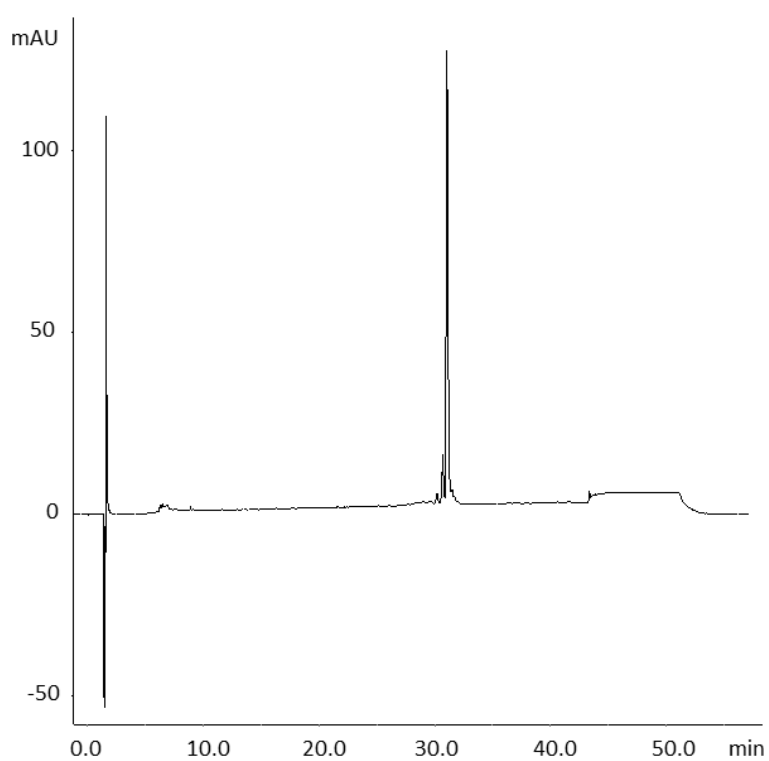


Oligonucleotid **24** (*R*): 5'-GCGC TT GC T<sub>x</sub>T AAGCAAGCGC-3'

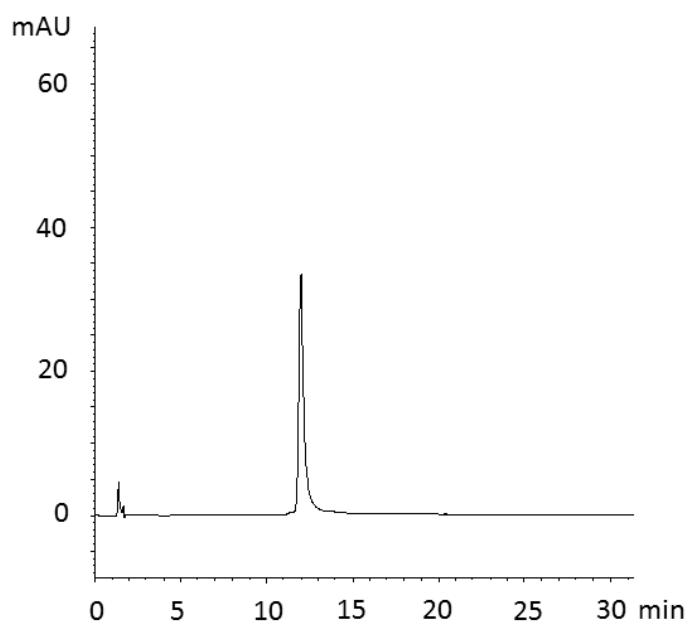
### 9.1.2.2 Chromatogramme der gereinigten unmodifizierten Oligonucleotide



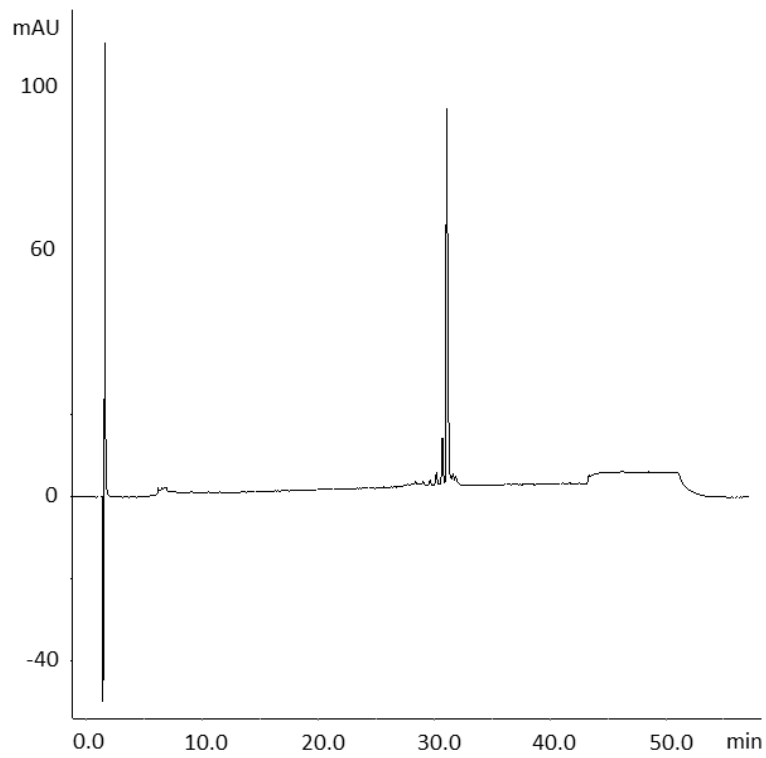
Oligonucleotid **1u**: 5'-GGCACGG TT TT TT TT GGCACGG-3'



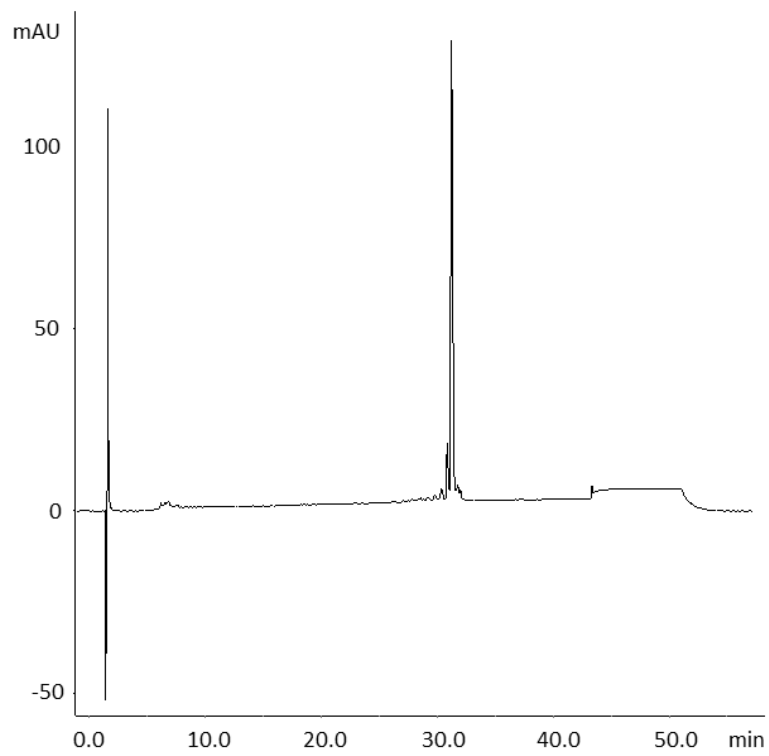
Oligonucleotid **2u**: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



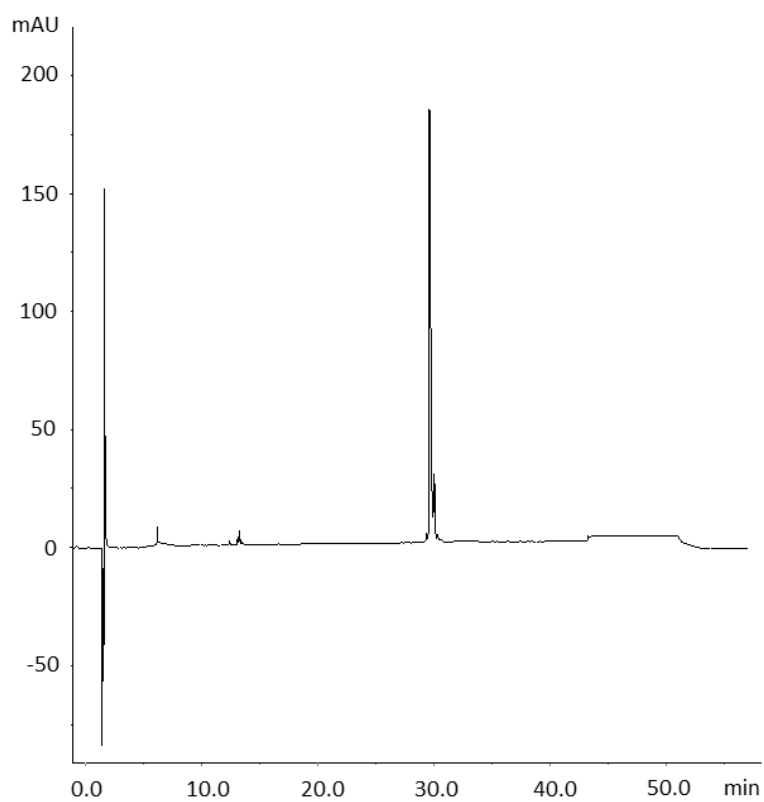
Oligonucleotid **3u**: 5'-GCGC TT GC TT AAGCAAGCGC-3'



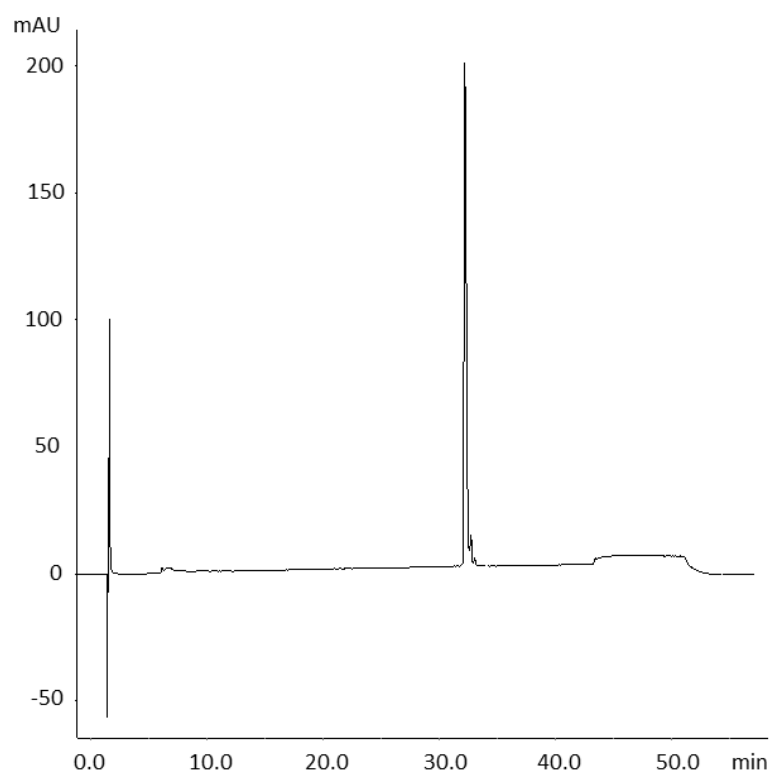
Oligonucleotid **1a**: 5'-CCGTGCCAAAAAAACCGTCCC-3'



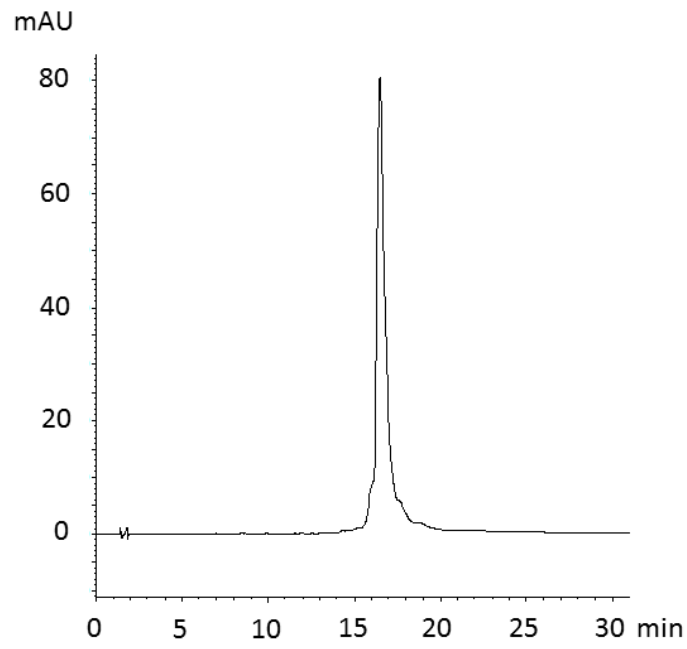
Oligonucleotid **2a**: 5'-CAACTGCAACTGCAACTGCAAC-3'



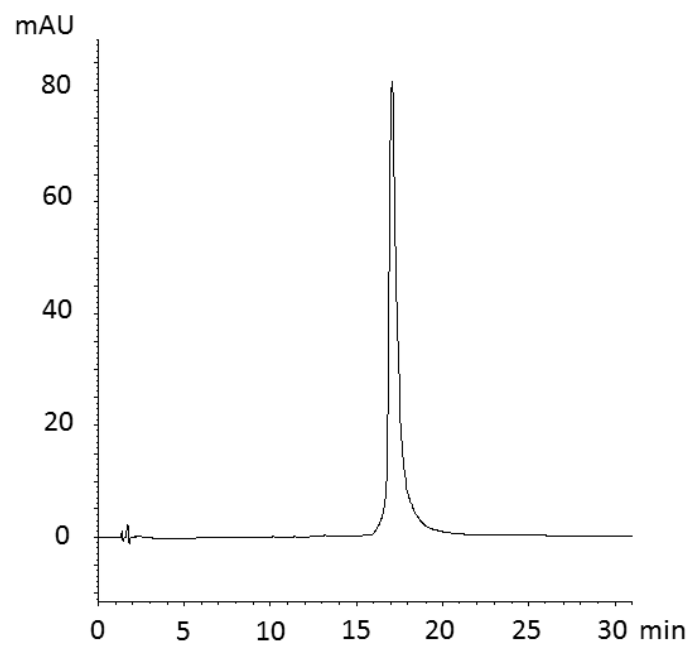
Oligonucleotid **1ra**: 5'-CCGUGCCAAAAAACCGUCCC-3'



Oligonucleotid **2ra**: 5'-CAACUGCAACUGCAACUGCAAC-3'

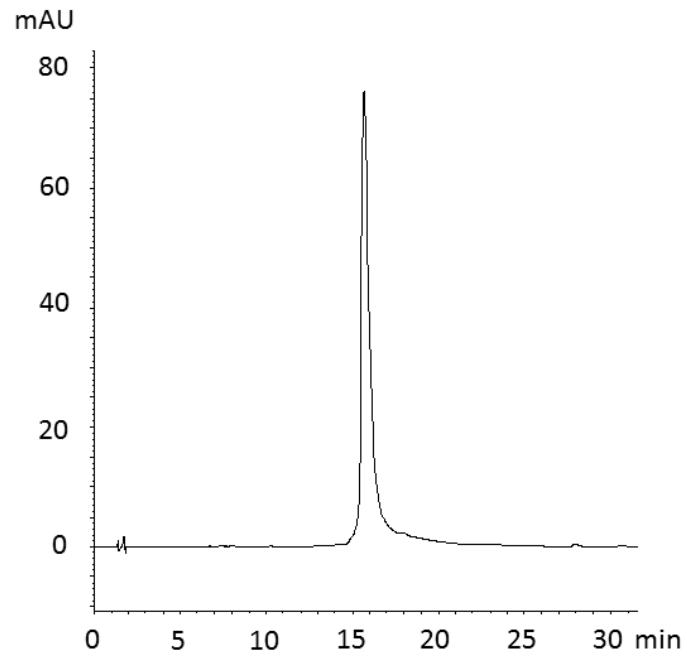


Oligonucleotid **1mt**: 5'-CCGTGCCAAATAAAACCGTCCC-3'

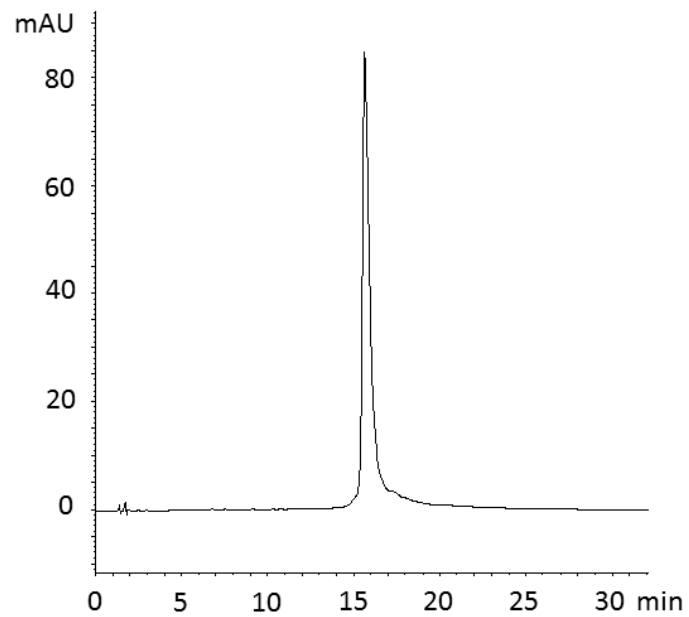


Oligonucleotid **2mt**: 5'-CAACTGCATCTGCAACTGCAAC-3'

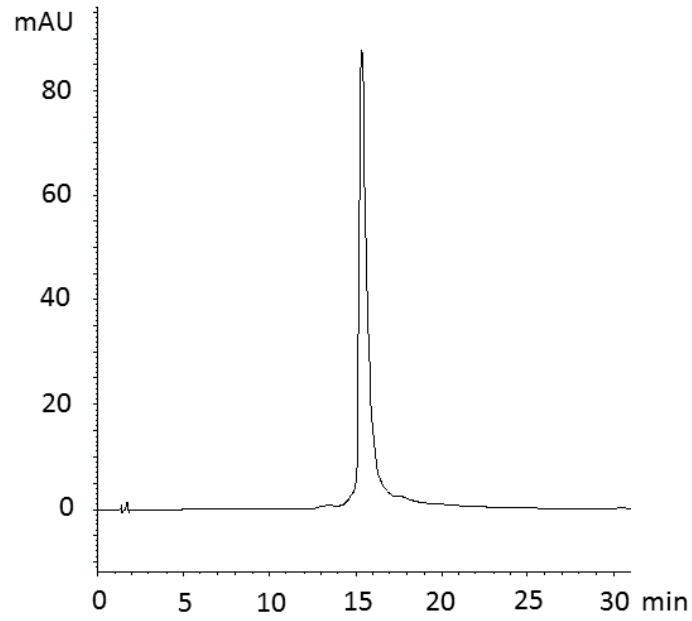




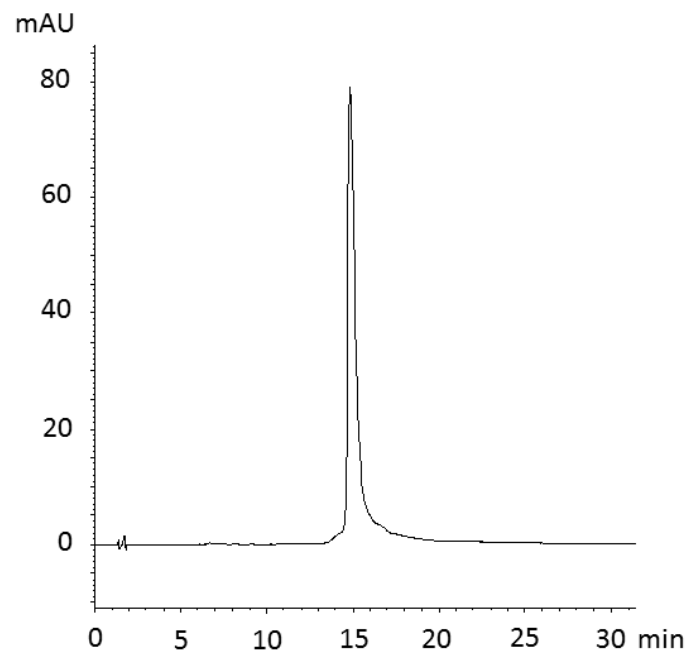
Oligonucleotid **1mc**: 5'-CCGTGCCAAACCAAAACCGTCCC-3'



Oligonucleotid **2mc**: 5'-CAACTGCACCTGCAACTGCAAC-3'



Oligonucleotid **1mg**: 5'-CCGTGCCAAAGAAAACCGTCCC-3'



Oligonucleotid **2mg**: 5'-CAACTGCA~~G~~CTGCAACTGCAAC-3'

## 9.2 Daten zur Schmelzkurvenanalyse

### 9.2.1 Schmelzpunkte der untersuchten Duplices

#### 9.2.1.1 Schmelzpunkte von Duplices unter Standardbedingungen (s. 7.1.6.4)

Tab. 1: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte von Duplices nicht-palindromer ON in [°C]

Nr.	Sequenz	$\sigma(x)^*$	$T_m$	$\Delta T_m$	$T_m$	$\Delta T_m$
			(+DNA)**	/mod.	(+RNA)	/mod.
1	5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'	S	66.4	-2.2	61.6	-3.5
2		R	68.0	-1.4	62.2	-3.2
3	5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'	S	66.3	-2.2	61.4	-3.6
4		R	69.1	-0.8	63.4	-2.6
5	5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'	S	66.6	-2.1	61.7	-3.4
6		R	69.8	-0.5	63.3	-2.3
7	5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'	S	69.5	-1.2	64.7	-3.8
8		R	69.2	-1.5	64.4	-4.1
9	5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'	S	63.9	-1.7	55.3	-3.3
10		R	68.8	-0.5	59.3	-2.3
11	5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'	S	67.1	-0.9	65.2	-0.3
12		R	68.0	$\pm 0.0$	64.9	-0.6
13	5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'	S	67.3	-0.7	61.8	-3.7
14		R	67.7	-0.3	62.9	-2.4
15	5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'	S	66.9	-1.1	62.0	-3.5
16		R	67.1	-0.9	63.1	-2.4
17	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'	S	68.3	+0.3	64.0	-1.5
18		R	68.4	+0.4	64.0	-1.5
19	5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'	S	63.2	-1.2	53.7	-3.0
20		R	66.3	-0.4	57.7	-2.0
1u	5'-GGCACGG TT TT TT TT GGCACGG-3' (Ref. 1)		70.7		68.5	
2u	5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TT G-3' (Ref. 2)		68.0		65.5	

\*Konfiguration der NAA-Modifikation

\*\*Das bedeutet, dass der komplementäre Strang eine unmodifizierte DNA- bzw. RNA-Sequenz ist.

Tab. 2: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte von Duplices palindromer ON in [°C]

Nr.	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$	$\Delta T_m$
			(+DNA)	
21	5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'	S	83.6	-2.0
22		R	83.8	-1.8
23	5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'	S	85.4	-0.2
24		R	85.0	-0.6
3u	5'-GCGC TT GC TT AAGCAAGCGC-3' (Ref. 3)		85.6	

Tab. 3: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte von Duplices palindromer ON in [°C]

Nr.	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$ (+21/22)*	$\Delta T_m$	$T_m$ (+23/24)*	$\Delta T_m$
21	5'-GCGC <b>TxT</b> GC <b>TT</b> AAGCAAGCGC-3'	S	81.2	-4.4	83.1	-2.5
22		R	83.0	-2.6	82.8	-2.8
23	5'-GCGC <b>TT</b> GC <b>TxT</b> AAGCAAGCGC-3'	S			83.3	-2.3
24		R			84.1	-1.5

\*Es wurden nur Duplices aus ON mit gleicher Konfiguration der NAA-Modifikation untersucht.

Tab. 4: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$  –Werte von Duplices mit Fehlpaarungen in [°C]

Nr.	Sequenz	$\sigma(x)$	Mismatch*	$T_m$	$\Delta T_m$
1	5'-G <b>TT</b> GACG <b>T</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3' (Referenz)		G14	65.9	-2.1
			C14	62.3	-5.7
			T14	64.2	-3.8
2	5'-G <b>TT</b> GACG <b>Tx</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	S	G14	62.7	-4.6
			C14	61.4	-5.9
			T14	62.7	-4.6
3	5'-G <b>TT</b> GACG <b>Tx</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	R	G14	63.8	-3.9
			C14	61.6	-6.1
			T14	62.6	-5.5
4	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>Tx</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	S	G14	58.4	-4.8
			C14	56.8	-6.4
			T14	58.8	-4.4
5	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>Tx</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	R	G14	61.5	-4.8
			C14	59.8	-6.5
			T14	61.0	-5.3
6	5'-GGCACGG <b>TTT</b> GGCACGG-3' (Referenz)		G12	65.8	-4.9
			C12	64.1	-6.6
			T12	65.5	-5.2
7	5'-GGCACGG <b>TxTTx</b> GGCACGG-3'	S	G12	59.8	-4.1
			C12	59.3	-4.6
			T12	60.7	-3.2
8	5'-GGCACGG <b>TxTTx</b> GGCACGG-3'	R	G12	64.8	-4.0
			C12	62.4	-6.4
			T12	63.5	-5.3

\*z. B. G14: Guanodin an Position 14 im Gegenstrang

**I** dem Mismatch entsprechende Position im modifizierten bzw. unmodifizierten Strang

## 9.2.1.2 Schmelzpunkte von Duplices bei erhöhter NaCl-Konzentration

### 9.2.1.2.1 Schmelzpunkte bei [NaCl] = 0.5 M

Tab. 1: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte verschiedener Duplices (DNA-DNA) in [°C]

Nr	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$	$\Delta T_m (1)^*$	$\Delta T_m / \text{mod}$	$\Delta T_m (2)^{**}$
1	5'-GGCACGG <b>TxT TxT TxT TxT</b> GGCACGG-3'	R	72.6	-3.9	-1.0	+3.8
2	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	R	71.0	-3.3	-0.8	+4.7
3		S	68.7	-5.6	-1.4	+5.5
4	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	R	73.1	-1.2	-1.2	+5.4
5		S	72.8	-1.5	-1.5	+5.5
6	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'		74.3			+6.3
	(Referenz)					
7	5'-GGCACGG <b>TT TT TT TT</b> GGCACGG-3'		76.5			+5.8
	(Referenz)					

Tab. 2: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte verschiedener Duplices (DNA-RNA) in [°C]

Nr	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$	$\Delta T_m (1)$	$\Delta T_m / \text{mod}$	$\Delta T_m (2)$
1	5'-GGCACGG <b>TxT TxT TxT TxT</b> GGCACGG-3'	R	64.5	-9.2	-2.3	+5.2
2	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	R	62.5	-9.3	-2.3	+4.8
3		S	59.4	-12.4	-3.1	+5.7
4	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	R	68.7	-3.1	-3.1	+5.8
5		S	66.9	-4.9	-4.9	+5.8
6	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'		71.8			+6.3
	(Referenz)					
7	5'-GGCACGG <b>TT TT TT TT</b> GGCACGG-3'		73.7			+5.2
	(Referenz)					

\* $\Delta T_m (1)$ : Differenz der  $T_m$ -Werte der modifizierten Duplex und der unmodifizierten Duplex bei der gleichen NaCl-Konzentration.

\*\* $\Delta T_m (2)$ : Differenz der  $T_m$ -Werte der jeweiligen Duplex bei erhöhter NaCl-Konzentration und derselben Duplex bei Standardbedingungen (150 mM NaCl).

## 9.2.1.2.2 Schmelzpunkte bei [NaCl] = 1.0 M

Tab. 3: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte verschiedener Duplices (DNA-DNA) in [°C]

Nr	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$	$\Delta T_m (1)^*$	$\Delta T_m / \text{mod}$	$\Delta T_m (2)^{**}$
1	5'-GGCACGG <b>TxT TxT TxT TxT</b> GGCACGG-3'	R	74.0	-4.5	-1.1	+5.2
2	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	R	72.4	-4.0	-1.0	+6.1
3		S	69.4	-7.0	-1.8	+6.2
4	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	R	74.6	-1.8	-1.8	+6.9
5		S	74.3	-2.1	-2.1	+7.0
6	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3' (Referenz)		76.4			+8.4
7	5'-GGCACGG <b>TT TT TT TT</b> GGCACGG-3' (Referenz)		78.5			+7.8

Tab. 4: Schmelzpunkte und  $\Delta T_m$ -Werte verschiedener Duplices (DNA-RNA) in [°C]

Nr	Sequenz	$\sigma(x)$	$T_m$	$\Delta T_m (1)^*$	$\Delta T_m / \text{mod}$	$\Delta T_m (2)^{**}$
1	5'-GGCACGG <b>TxT TxT TxT TxT</b> GGCACGG-3'	R	65.9	-9.7	-1.4	+6.6
2	5'-G <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TxT</b> G-3'	R	63.8	-9.7	-2.4	+6.1
3		S	61.0	-12.5	-3.1	+7.3
4	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TxT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3'	R	69.6	-3.9	-3.9	+6.7
5		S	68.7	-4.8	-4.8	+6.9
6	5'-G <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> GACG <b>TT</b> G-3' (Referenz)		73.5			+8.0
7	5'-GGCACGG <b>TT TT TT TT</b> GGCACGG-3' (Referenz)		75.6			+7.1

\* $\Delta T_m (1)$ : Differenz der  $T_m$ -Werte der modifizierten Duplex und der unmodifizierten Duplex bei der gleichen NaCl-Konzentration.

\*\* $\Delta T_m (2)$ : Differenz der  $T_m$ -Werte der jeweiligen Duplex bei erhöhter NaCl-Konzentration und derselben Duplex bei Standardbedingungen (150 mM NaCl).

## 9.2.2 Schmelzkurvendiagramme

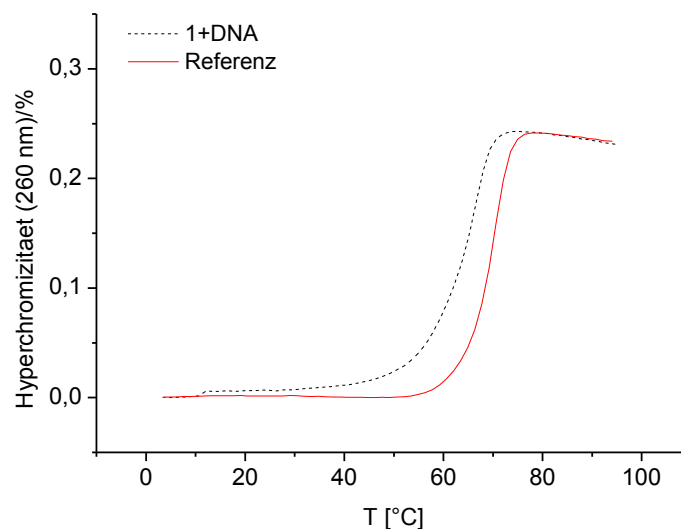
Im Folgenden sind die zu den unter 9.2.1 tabellierten  $T_m$ -Werten gehörigen Schmelzkurvendiagramme angeführt. Im Sinne der Übersichtlichkeit wurden nur die bei  $\lambda = 260$  nm aufgenommenen Kurven dargestellt. In jedem dieser Diagramme stellt die schwarze Kurve den Verlauf des Denaturierungs- bzw. Renaturierungsprozesses der NAA-modifizierten Duplices (DNA-DNA oder DNA-RNA) und die rote Kurve denjenigen der unmodifizierten Duplex (Referenz) dar. Das modifizierte Oligonucleotid ist jeweils unter dem Diagramm angeführt. Die Konfiguration der jeweiligen NAA-Modifikation ist in Klammern angegeben. Die Nummern der Oligonucleotide entsprechen denjenigen in den Tabellen in 9.2.1.

### 9.2.2.1 Schmelzkurven unter Standardbedingungen (s. 7.1.6.4)

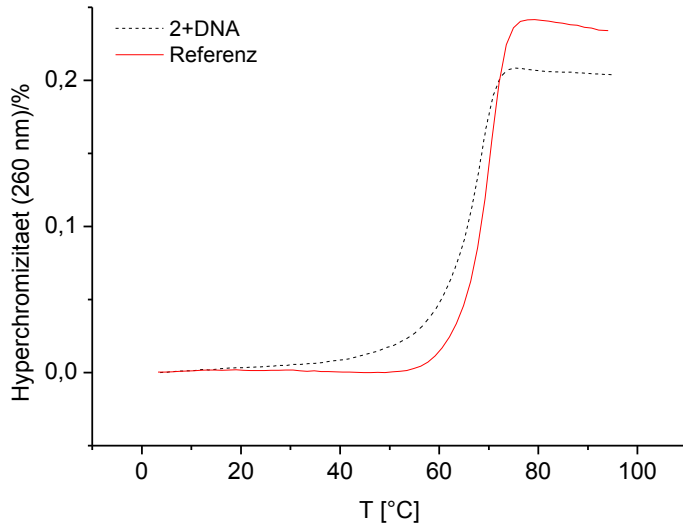
Die Nummern der Oligonucleotide entsprechen denjenigen von 9.2.1.1 (Tab. 1 und Tab. 2). Die Referenzkurven wurden mit den entsprechenden Duplices ohne NAA-modifikation aufgenommen.

#### 9.2.2.1.1 DNA-DNA-Duplices

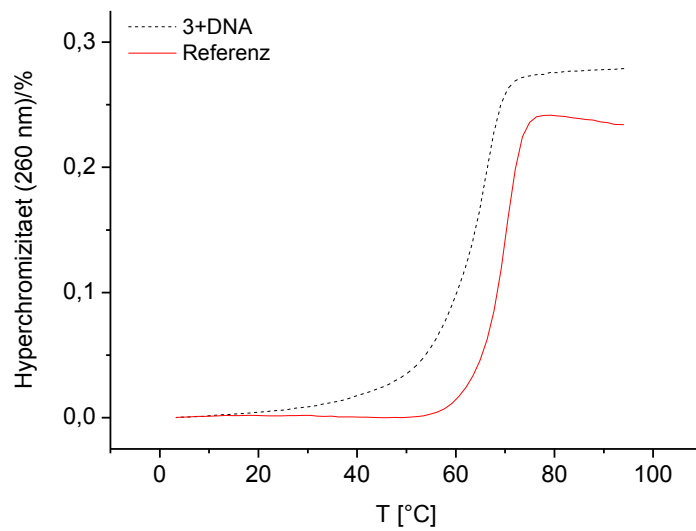
*Schmelzkurven von Duplices nicht-palindromer Oligonucleotide*



Oligonucleotid **1** (S): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'

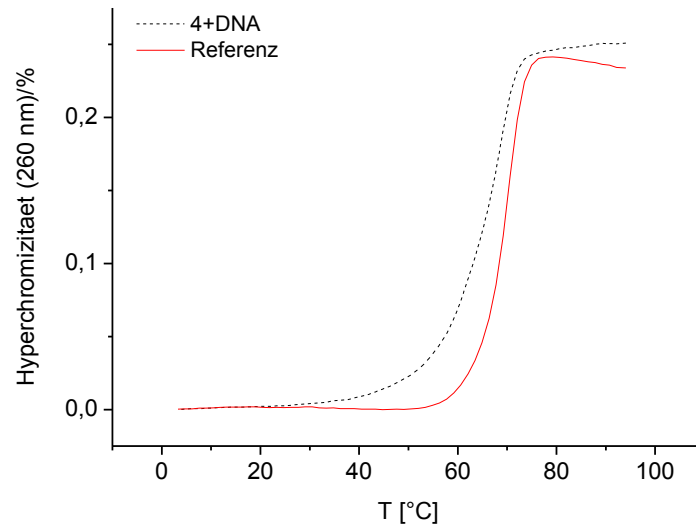


Oligonucleotid **2** (R): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'

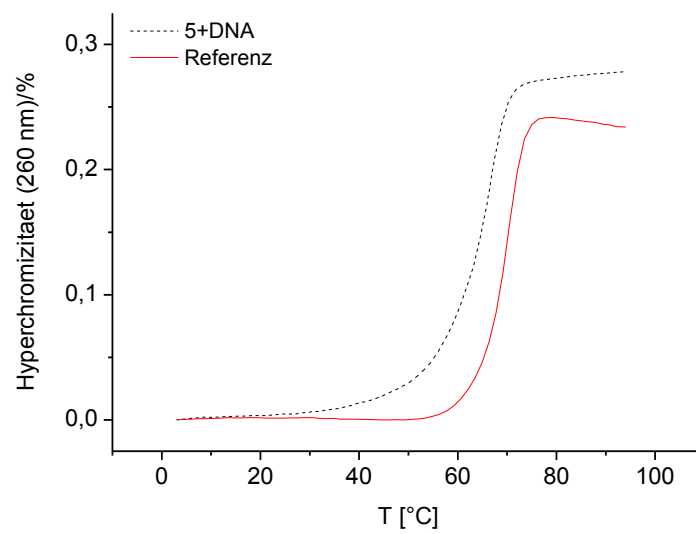


Oligonucleotid **3** (S): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'

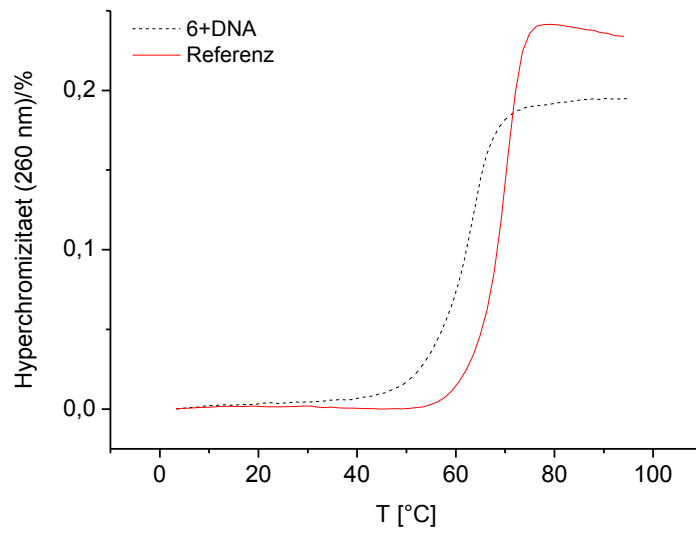




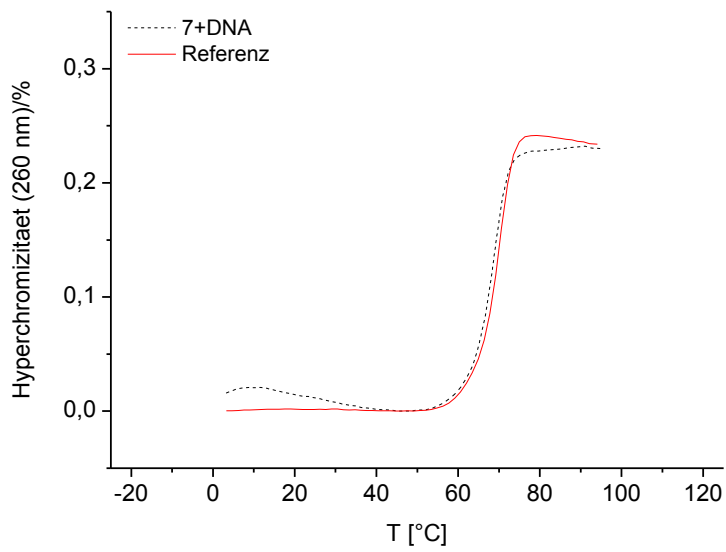
Oligonucleotid **4 (R)**: 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



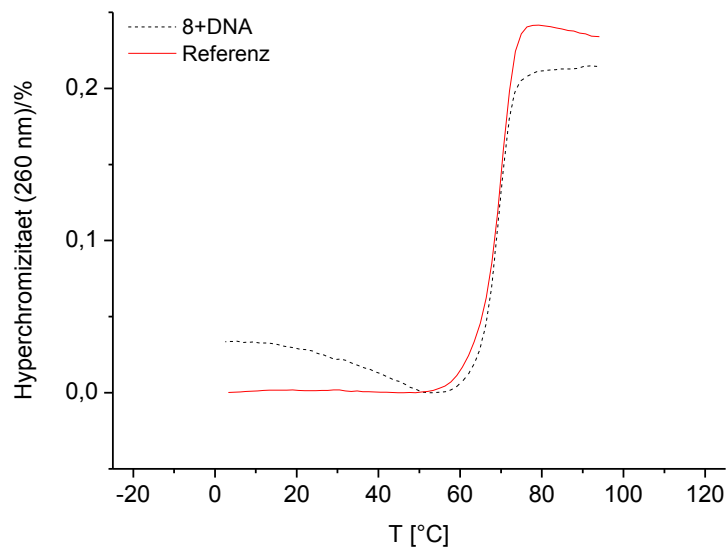
Oligonucleotid **5 (S)**: 5'-GGCACGG TxT TxT TT TT GGCACGG-3'



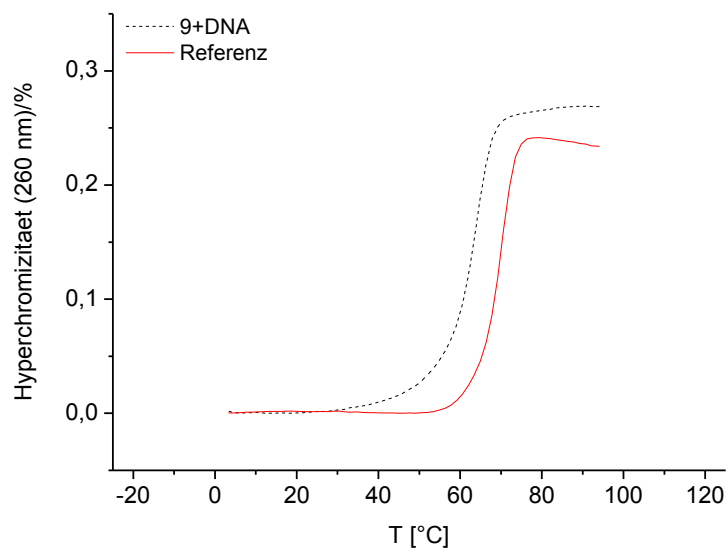
Oligonucleotid **6** (R): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T TT TT GGCACGG-3'



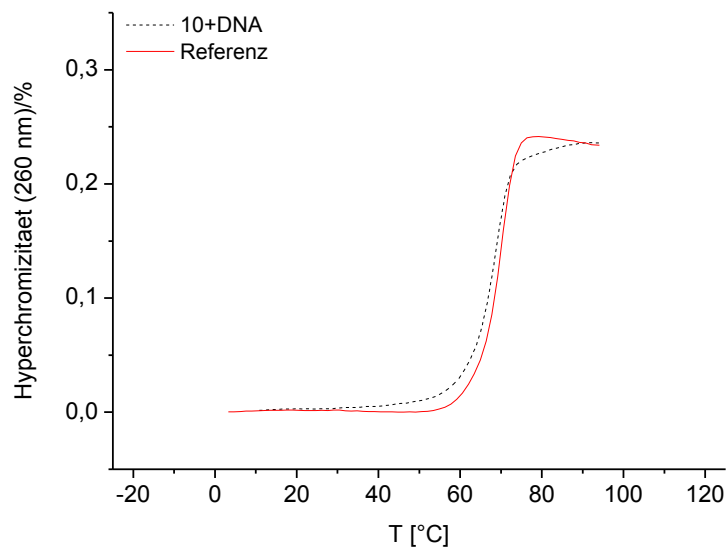
Oligonucleotid **7** (S): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT TT TT GGCACGG-3'



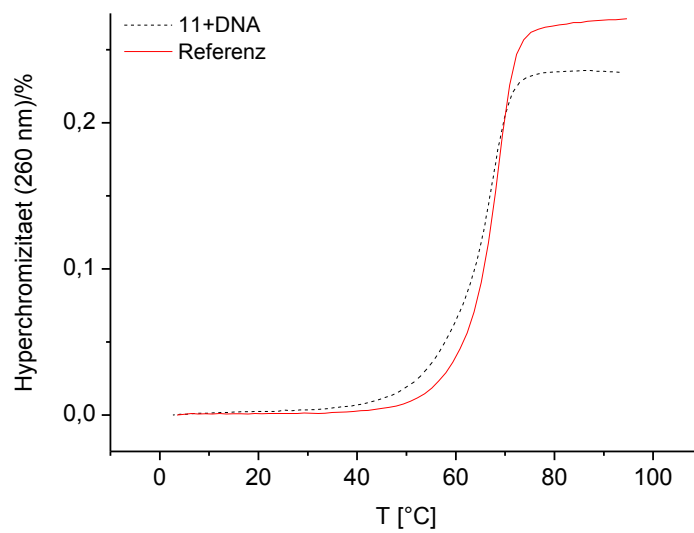
Oligonucleotid **8** (R): 5'-GGCACGG TxT TT TT TT GGCACGG-3'



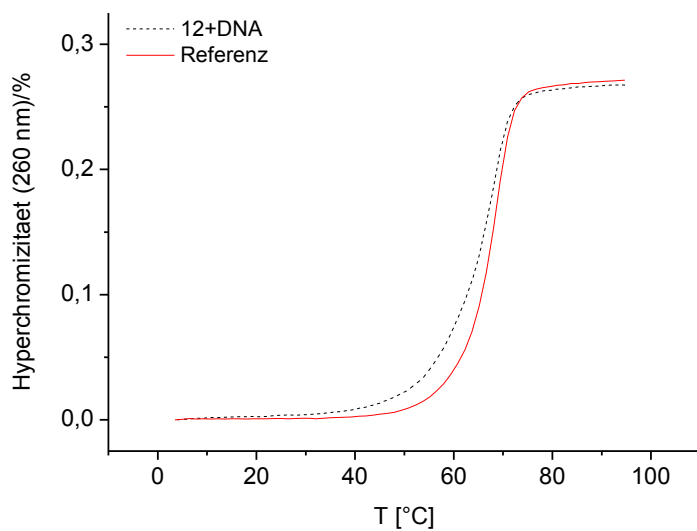
Oligonucleotid **9** (S): 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'



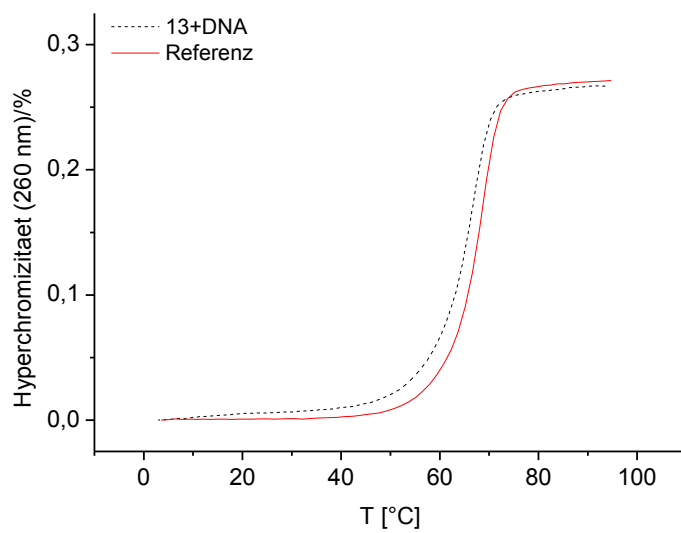
Oligonucleotid **10** (R): 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'



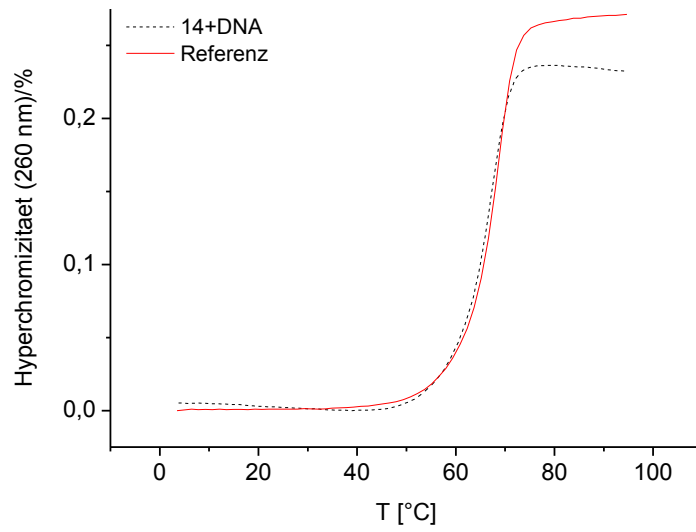
Oligonucleotid **11** (S): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



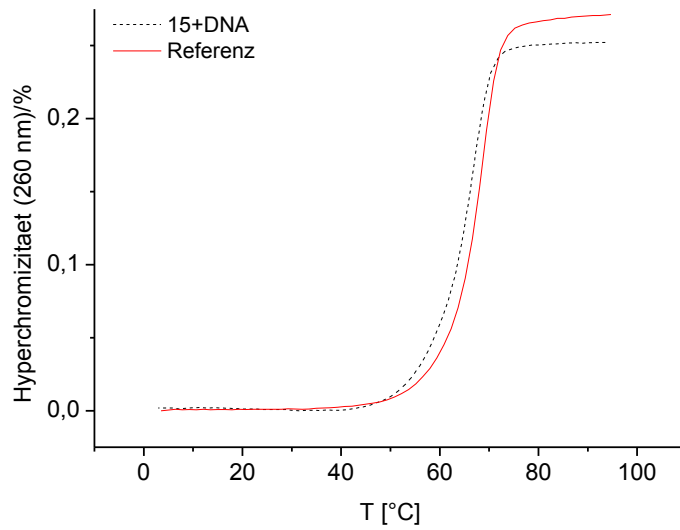
Oligonucleotid **12** (R): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



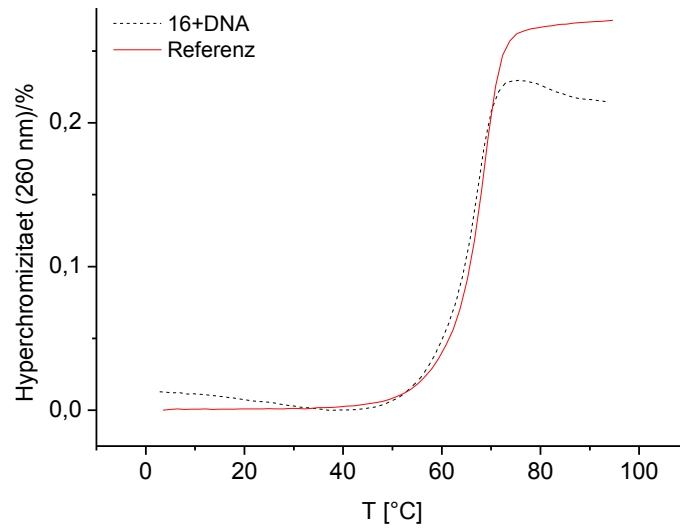
Oligonucleotid **13** (S): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



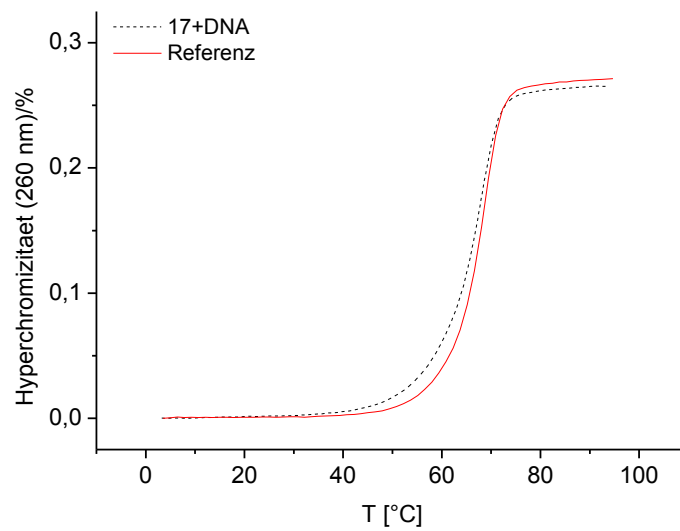
Oligonucleotid **14 (R)**: 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



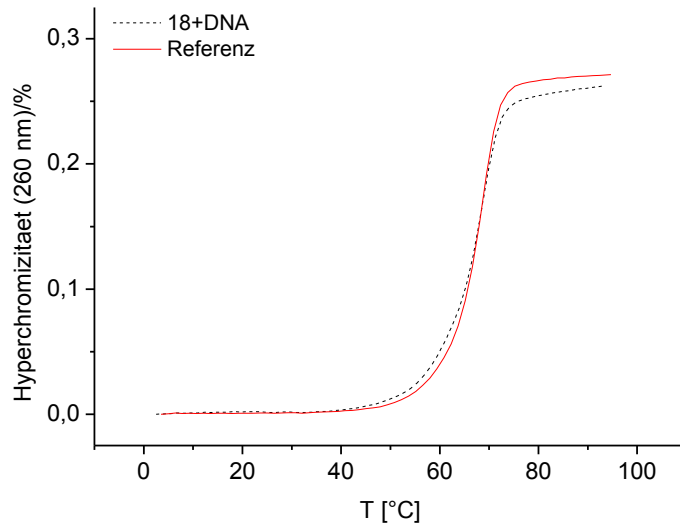
Oligonucleotid **15 (S)**: 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



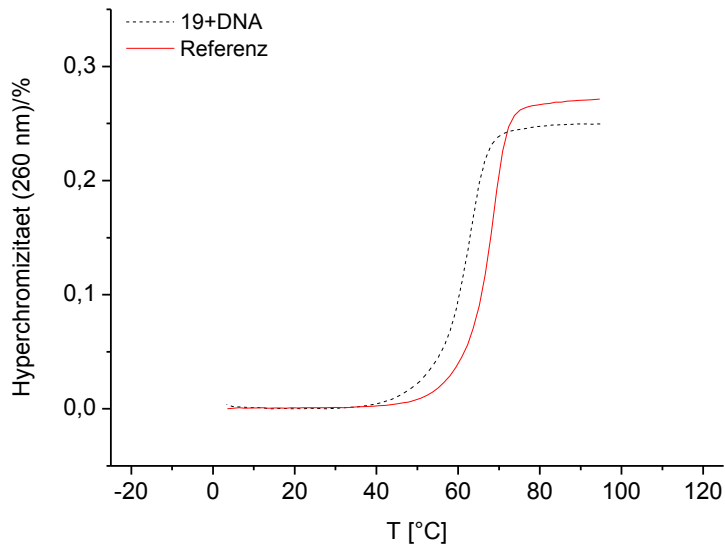
Oligonucleotid **16** (R): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



Oligonucleotid **17** (S): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'

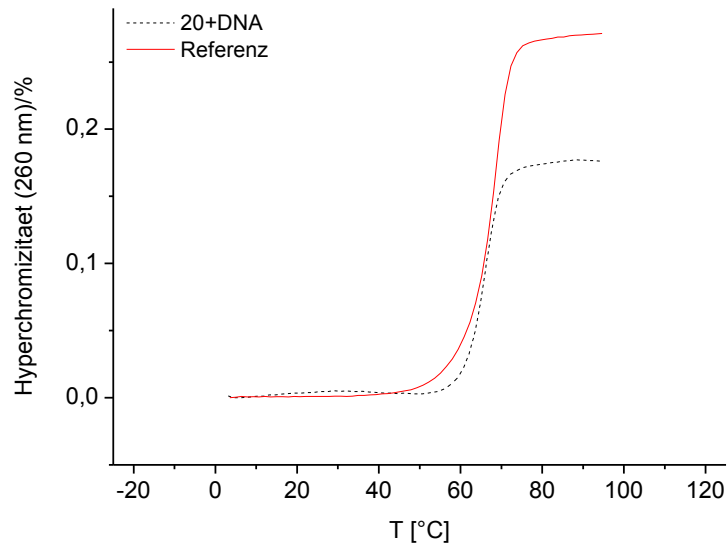


Oligonucleotid **18** (R): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'



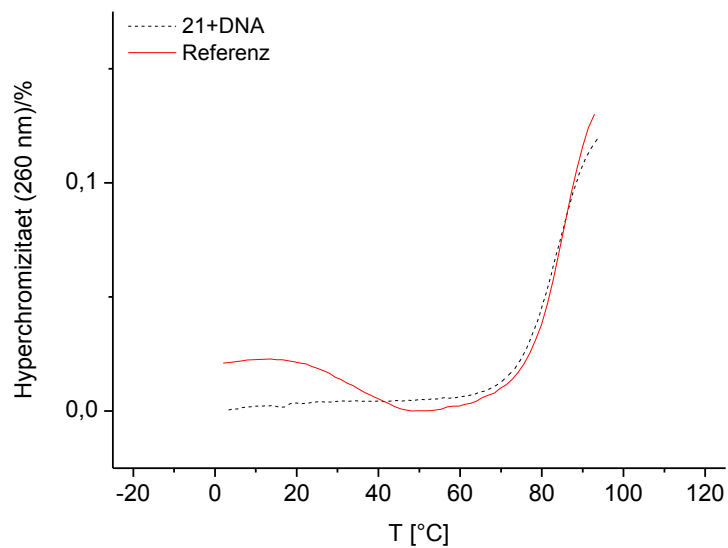
Oligonucleotid **19** (S): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



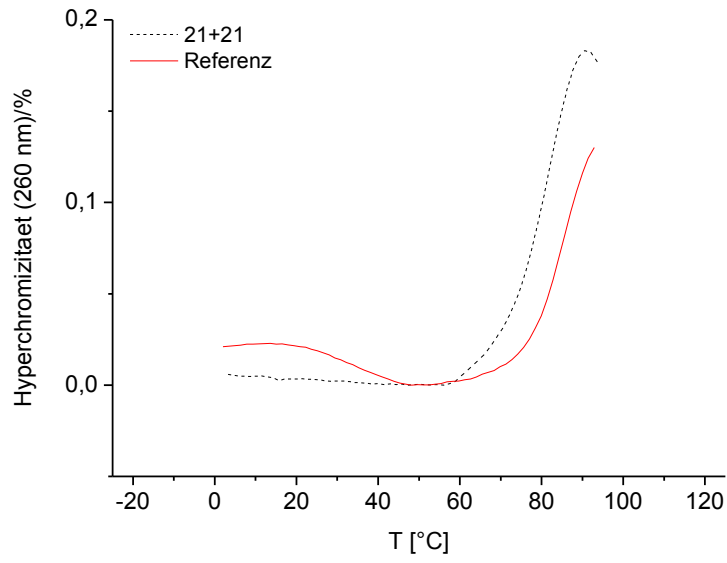


Oligonucleotid **20** (*R*): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'

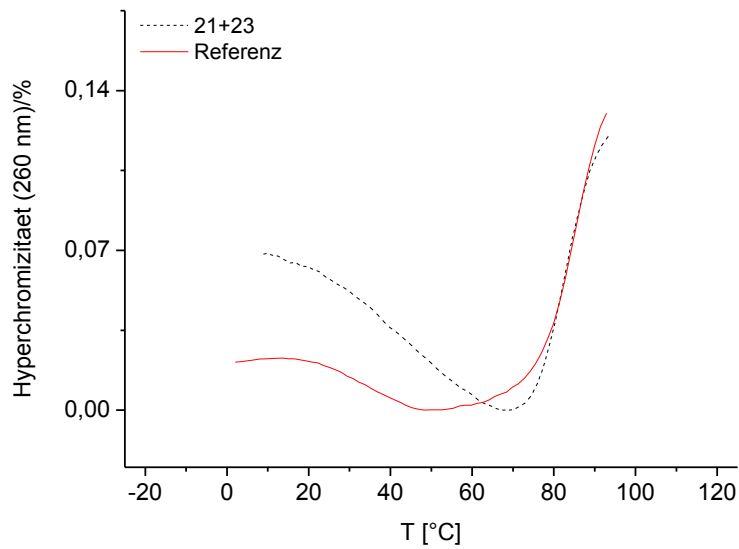
*Schmelzkurven von Duplices palindromer Oligonucleotide*



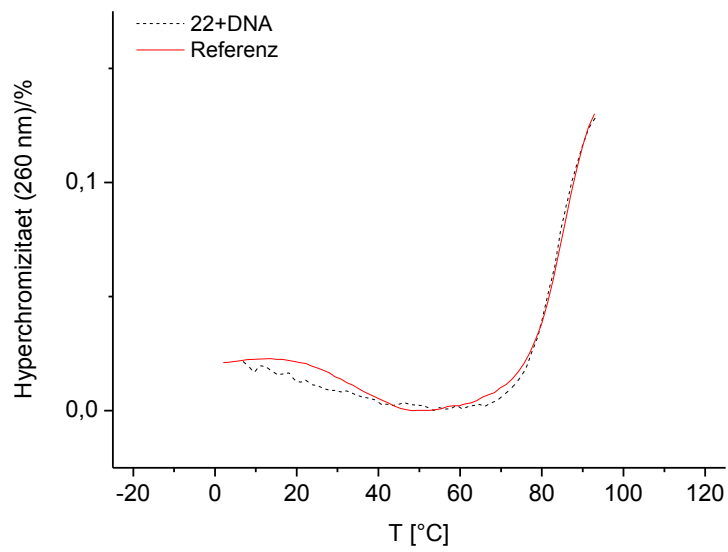
Oligonucleotid **21** (*S*): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



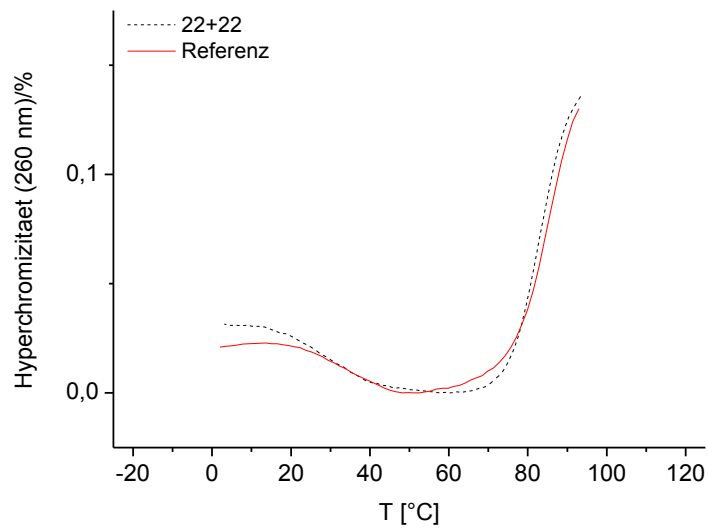
Oligonucleotid **21** (S): 5'-GCGC T<sub>x</sub>T GC TT AAGCAAGCGC-3'



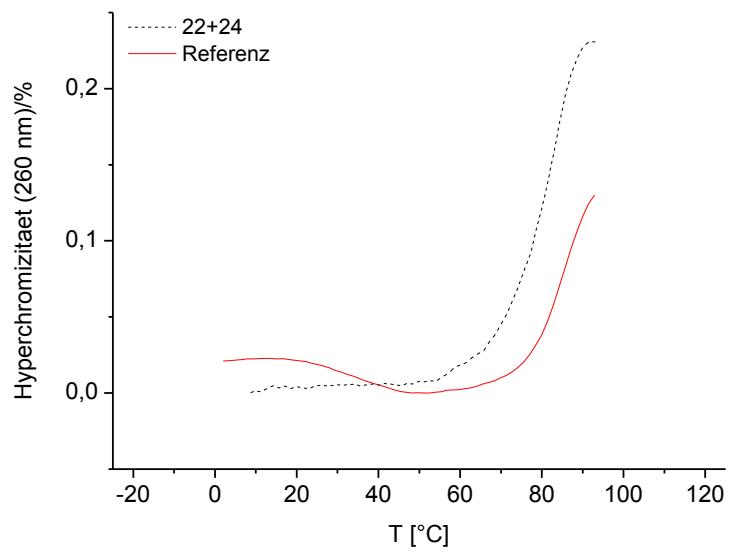
Oligonucleotid **21** (S): 5'-GCGC T<sub>x</sub>T GC TT AAGCAAGCGC-3'



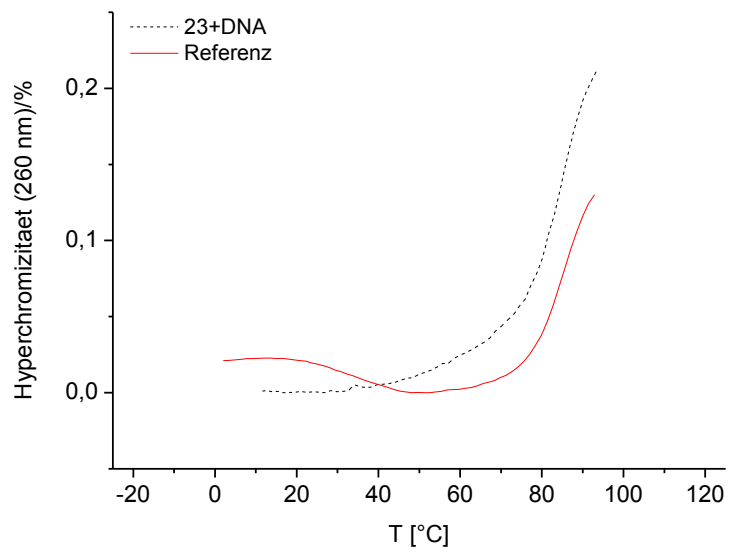
Oligonucleotid **22** (R): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



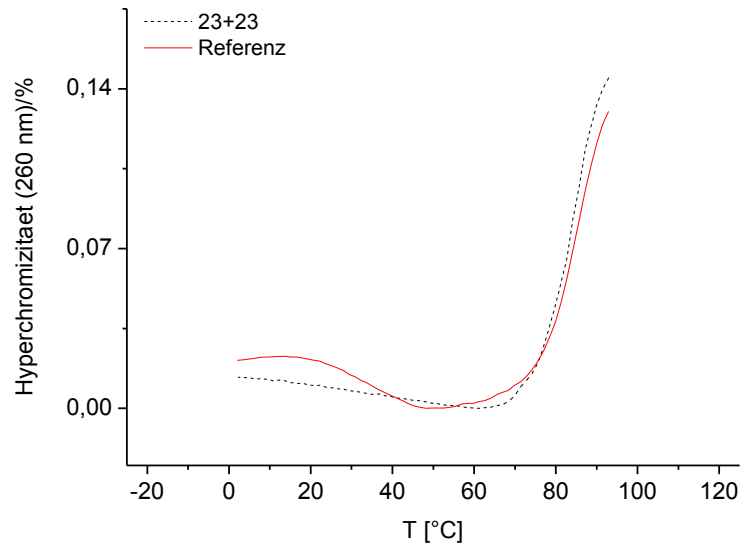
Oligonucleotid **22** (R): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



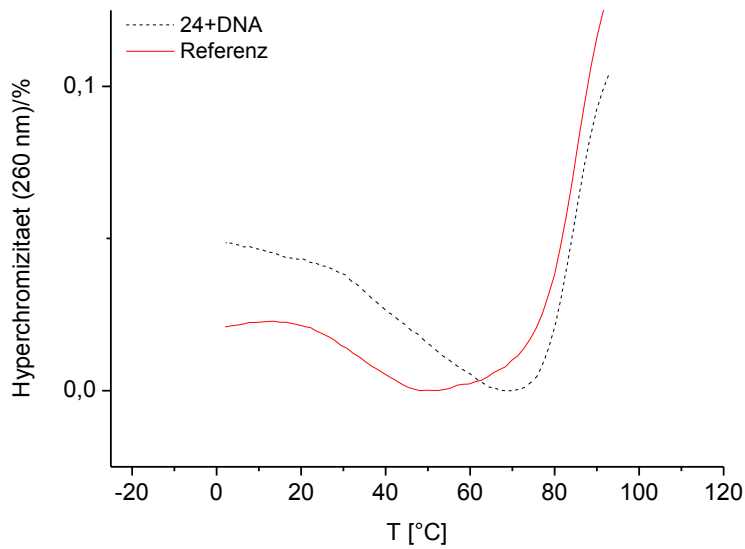
Oligonucleotid **22** (*R*): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



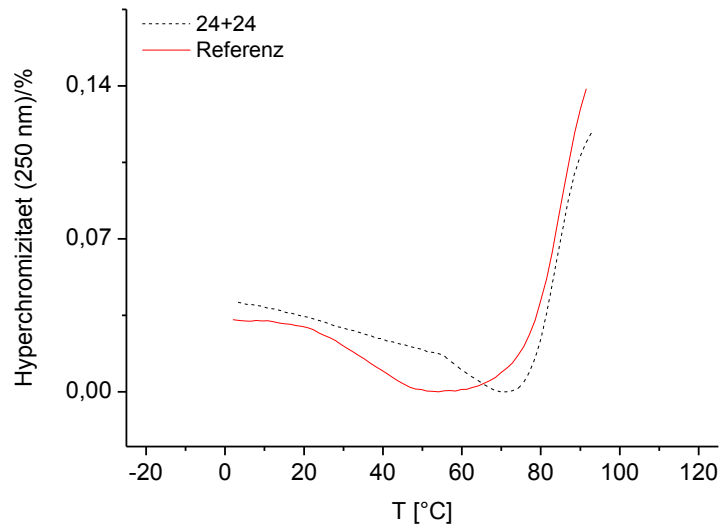
Oligonucleotid **23** (*R*): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'



Oligonucleotid **23** (S): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

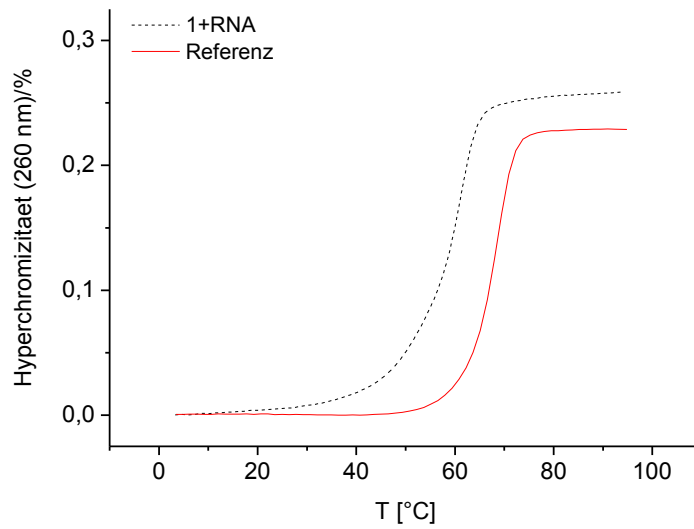


Oligonucleotid **24** (R): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

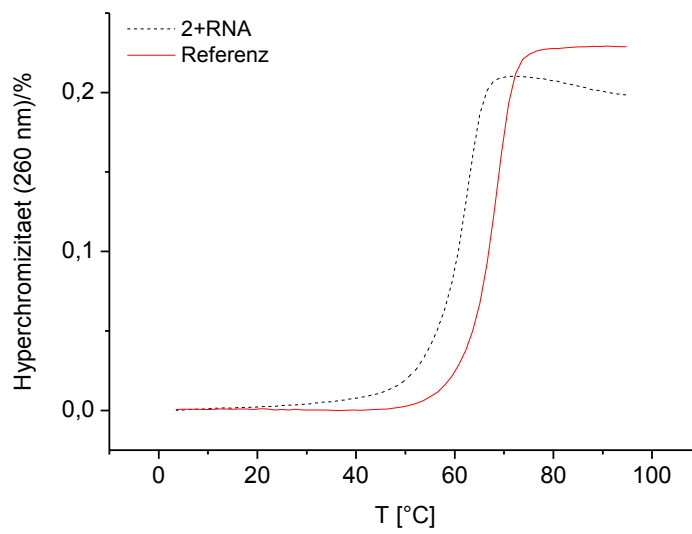


Oligonucleotid **24** (R): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

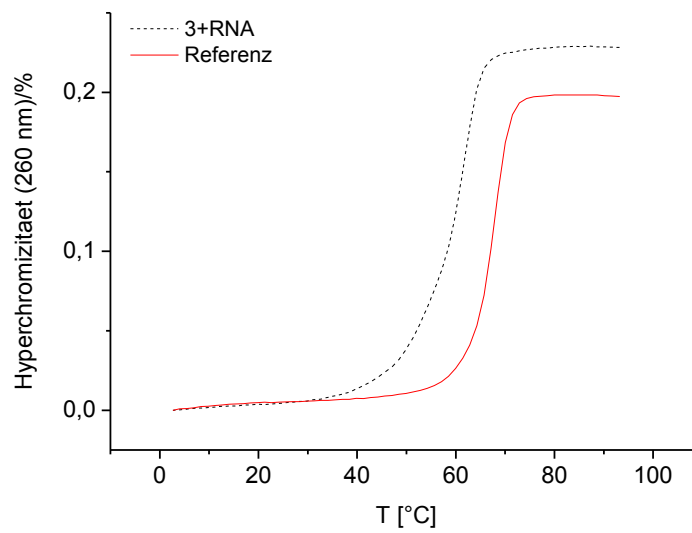
#### 9.2.2.1.2 DNA-RNA-Duplices



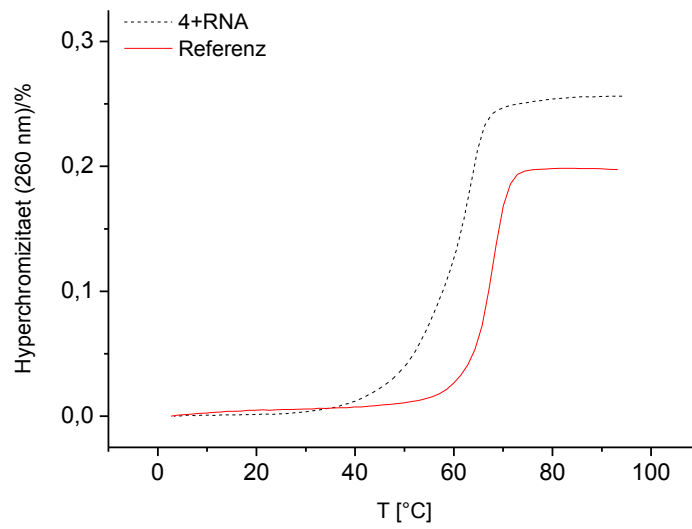
Oligonucleotid **1** (S): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



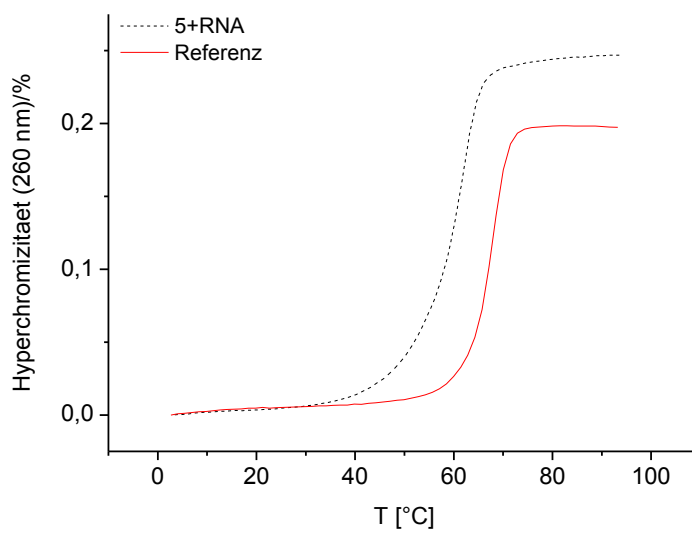
Oligonucleotid **2** (R): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



Oligonucleotid **3** (S): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'

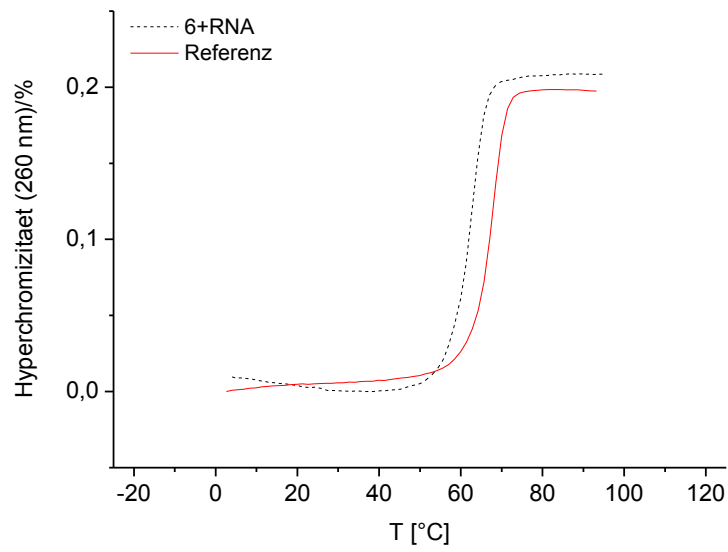


Oligonucleotid **4 (R)**: 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT T<sub>x</sub>T TT GGCACGG-3'

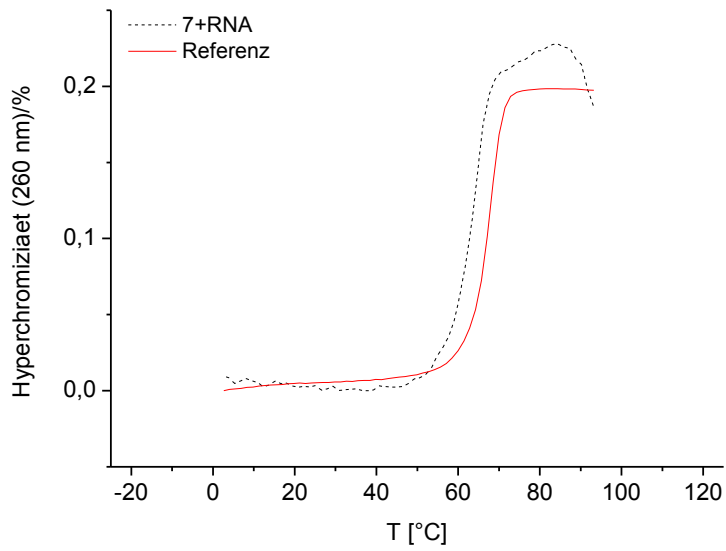


Oligonucleotid **5 (S)**: 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T TT TT GGCACGG-3'

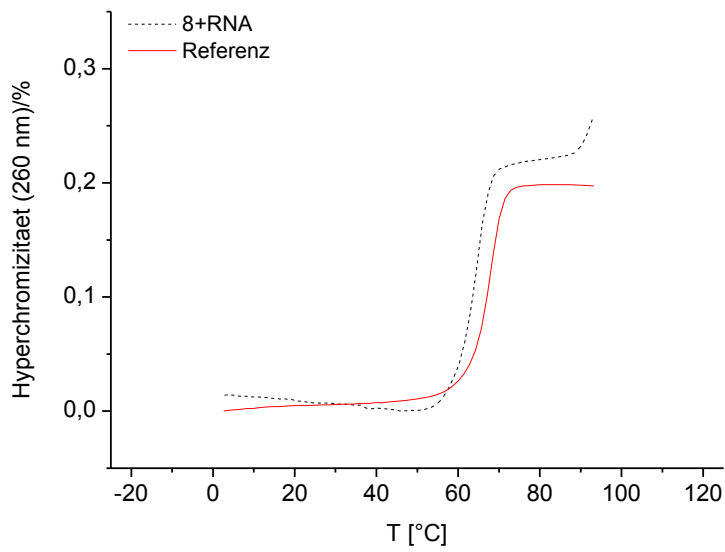




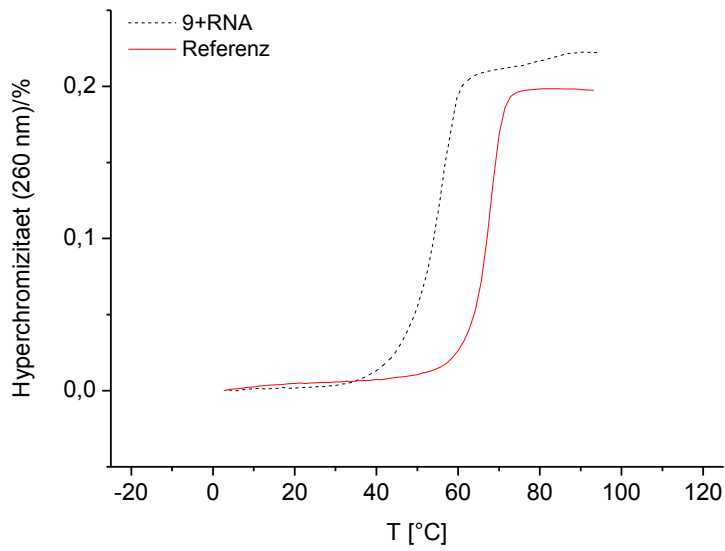
Oligonucleotid **6** (R): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T TT TT GGCACGG-3'



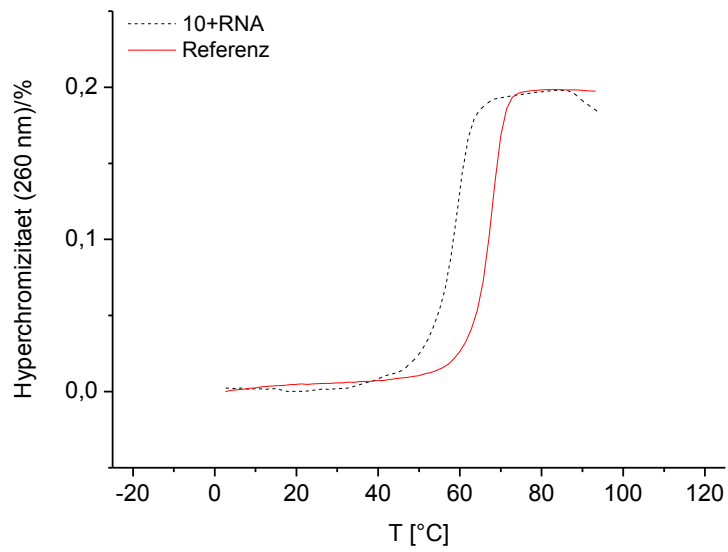
Oligonucleotid **7** (S): 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT TT TT GGCACGG-3'



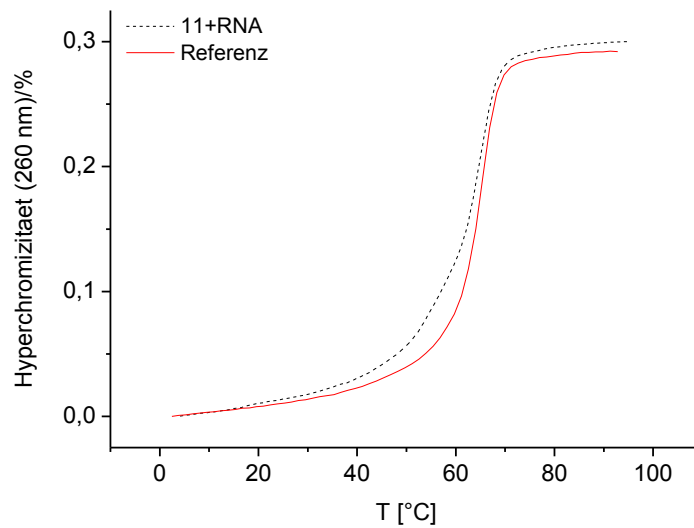
Oligonucleotid **8 (R)**: 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T TT TT TT GGCACGG-3'



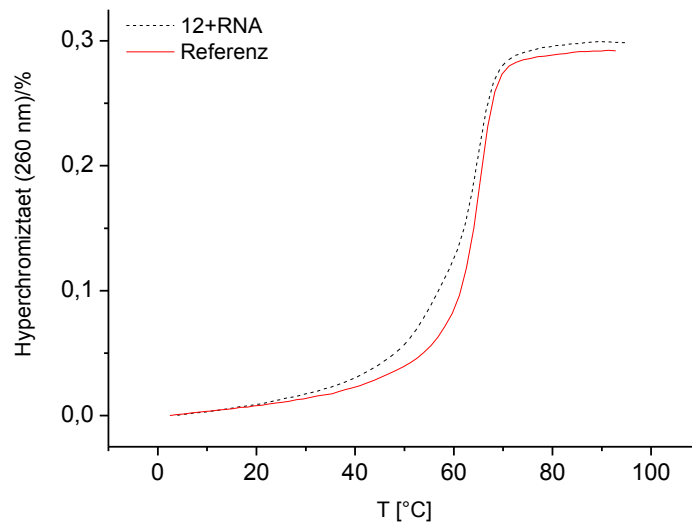
Oligonucleotid **9 (S)**: 5'-GGCACGG T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T T<sub>x</sub>T GGCACGG-3'



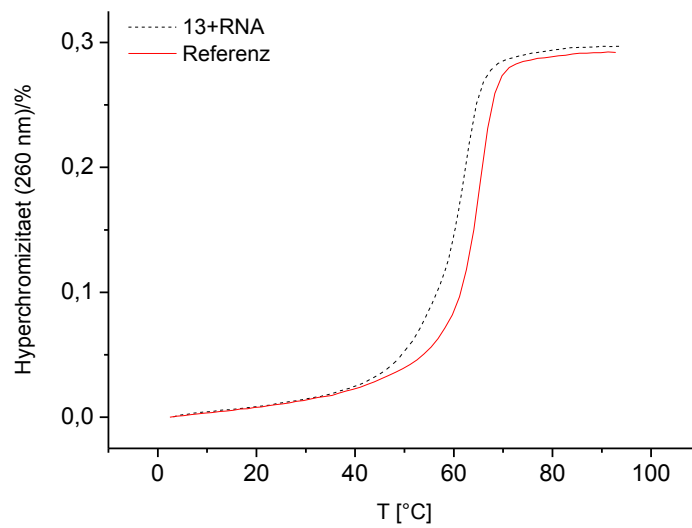
Oligonucleotid **10 (R)**: 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'



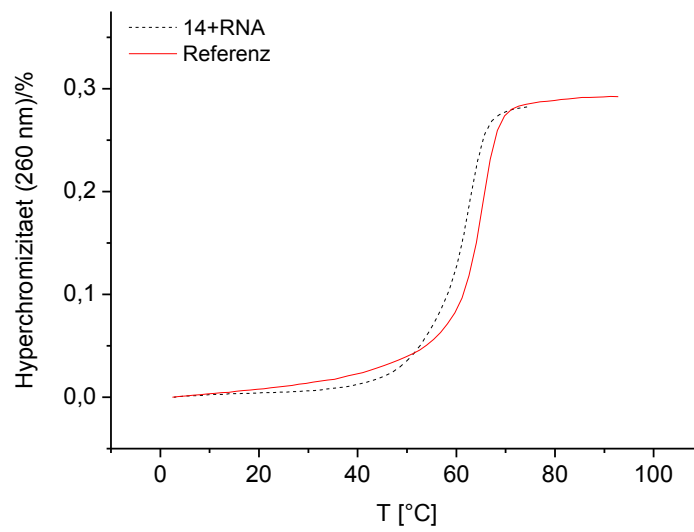
Oligonucleotid **11 (S)**: 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



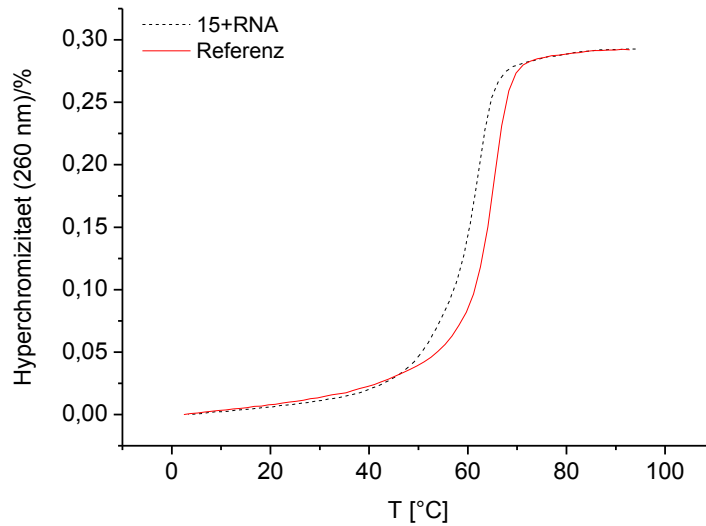
Oligonucleotid **12 (R)**: 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



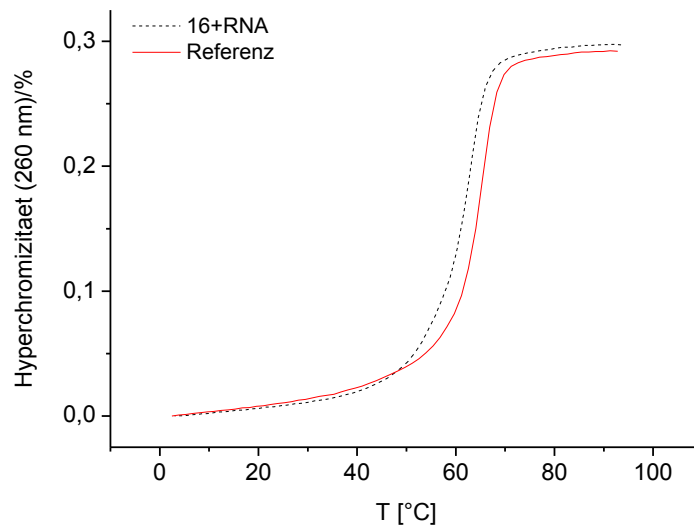
Oligonucleotid **13 (S)**: 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



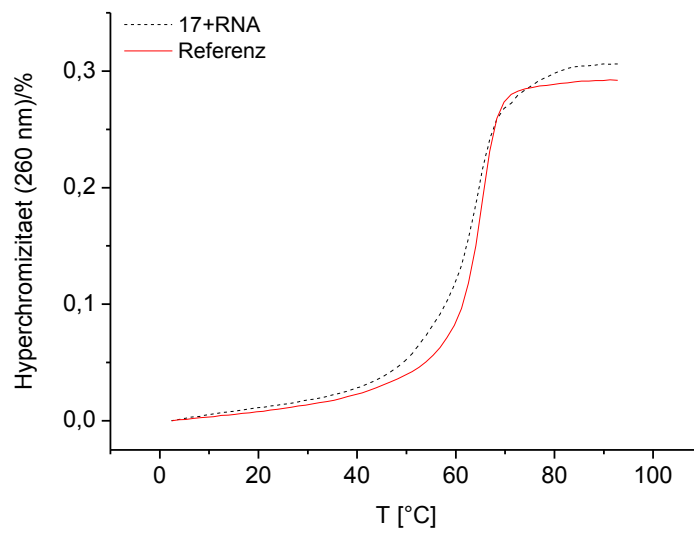
Oligonucleotid **14** (R): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



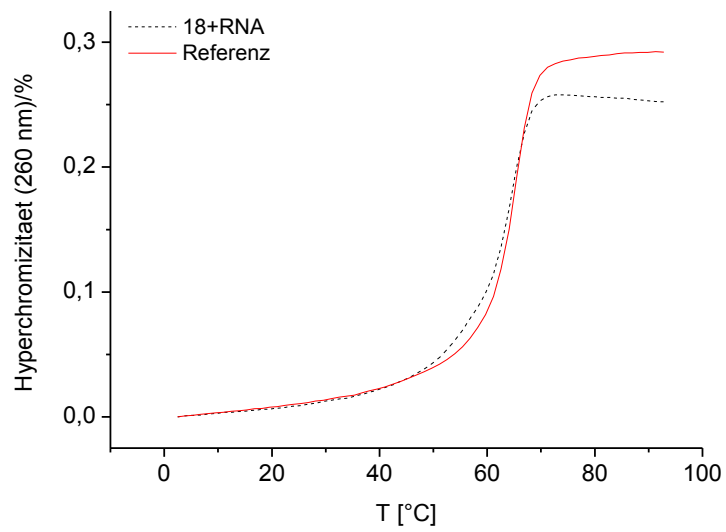
Oligonucleotid **15** (S): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



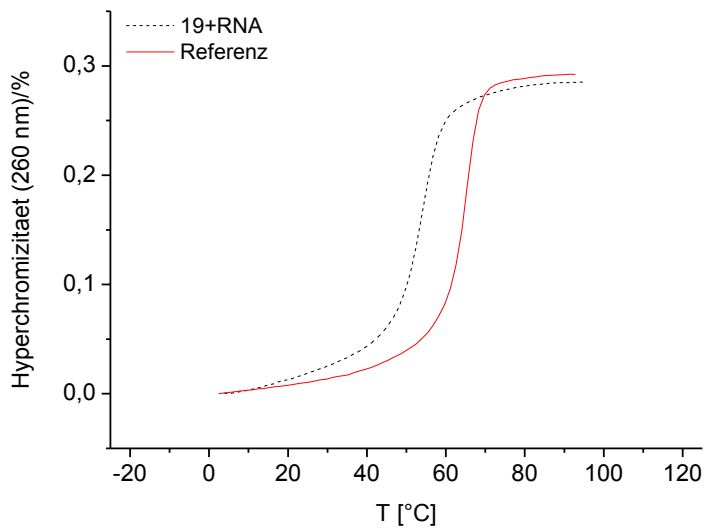
Oligonucleotid **16 (R)**: 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



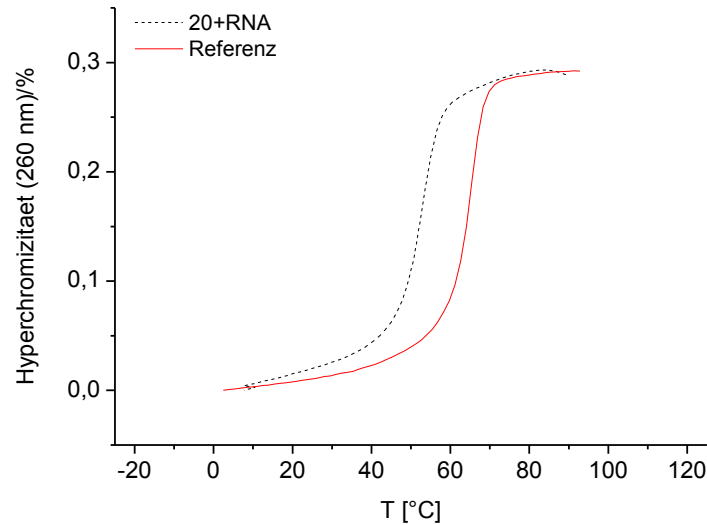
Oligonucleotid **17 (S)**: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'



Oligonucleotid **18** (R): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TxT G-3'



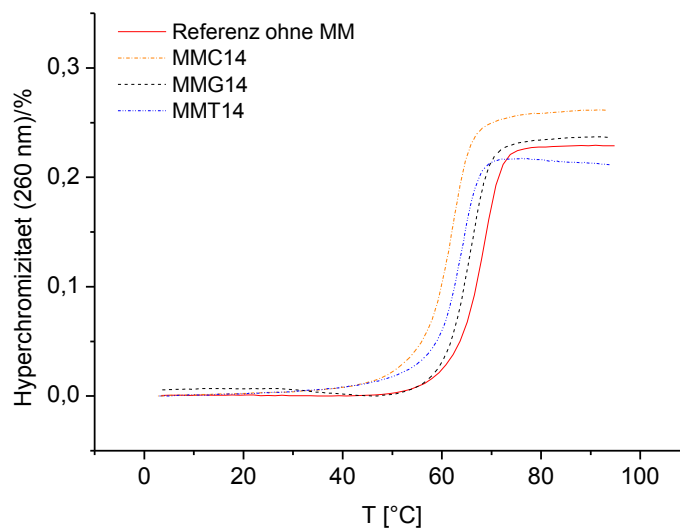
Oligonucleotid **19** (S): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



Oligonucleotid **20** (R): 5'-G T $\times$ T GACG T $\times$ T GACG T $\times$ T GACG T $\times$ T G-3'

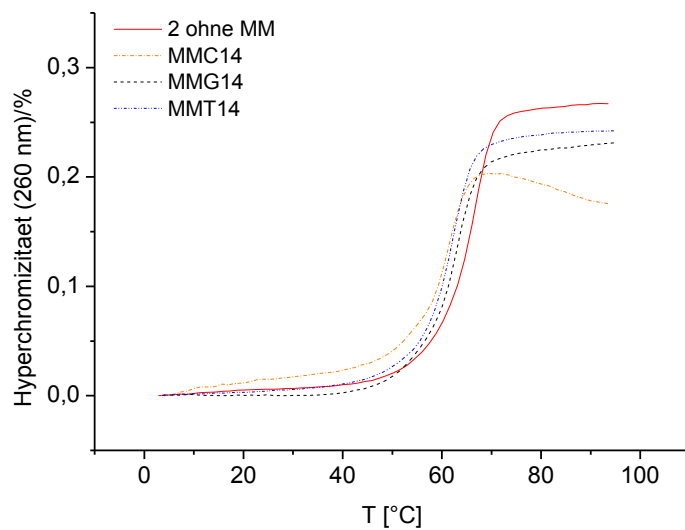
### 9.2.2.2 Schmelzkurven von Duplices mit Fehlpaarungen (Mismatch)

Die Nummern der Oligonucleotide entsprechen denjenigen in 9.2.1.1 (Tab. 4). Die rot gekennzeichneten Nucleotide stellen die Mismatch-Position dar. In jedem Diagramm bildet die rote Kurve den Denaturierungs- und Renaturierungsprozess der Duplex ohne Mismatch ab. Die anderen Kurven geben den entsprechenden Vorgang bei Vorhandensein einer Fehlpaarung wider (z.B. MMC14: Mismatch T-C an Position 14).

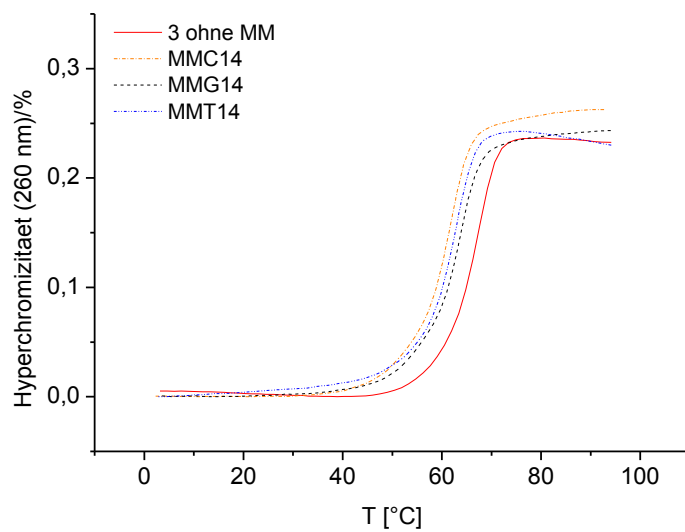


Oligonucleotid **1**: 5'-G TT GACG T $\underline{\text{I}}$  GACG TT GACG TT G-3' (Referenz)

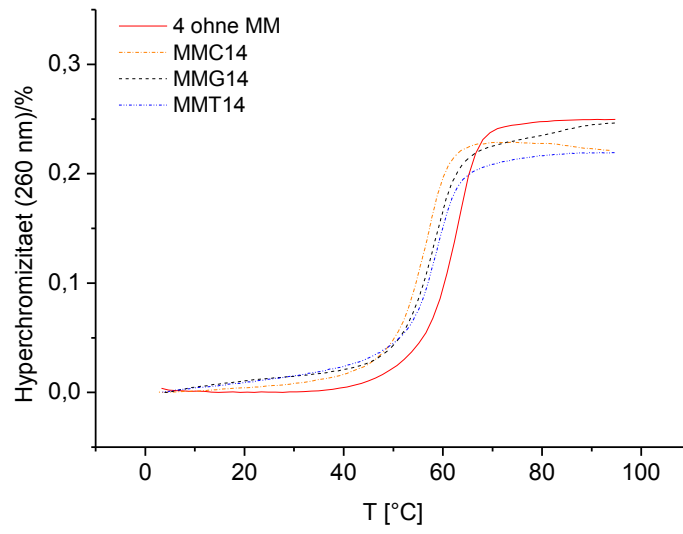




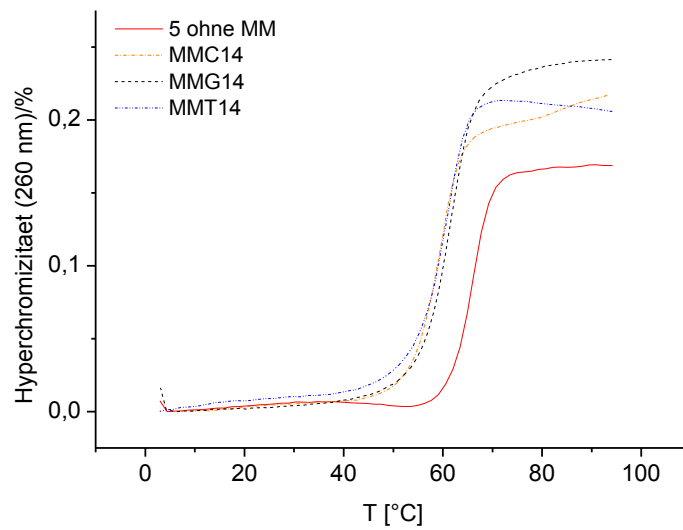
Oligonucleotid **2 (S)**: 5'-G TT GACG TxI GACG TT GACG TT G-3'



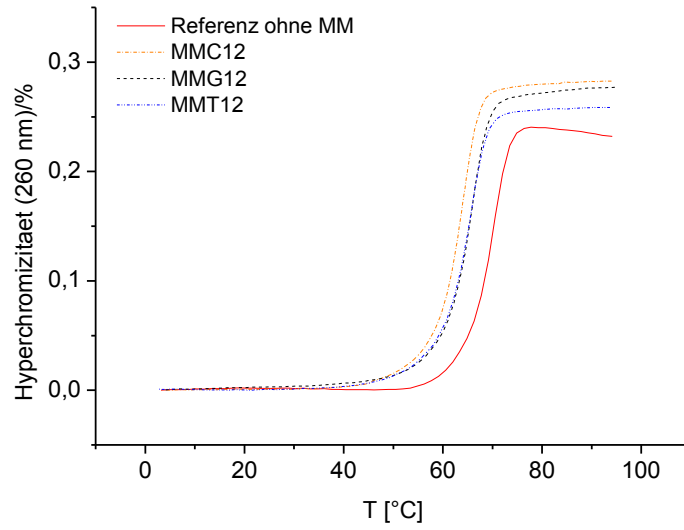
Oligonucleotid **3 (R)**: 5'-G TT GACG TxI GACG TT GACG TT G-3'



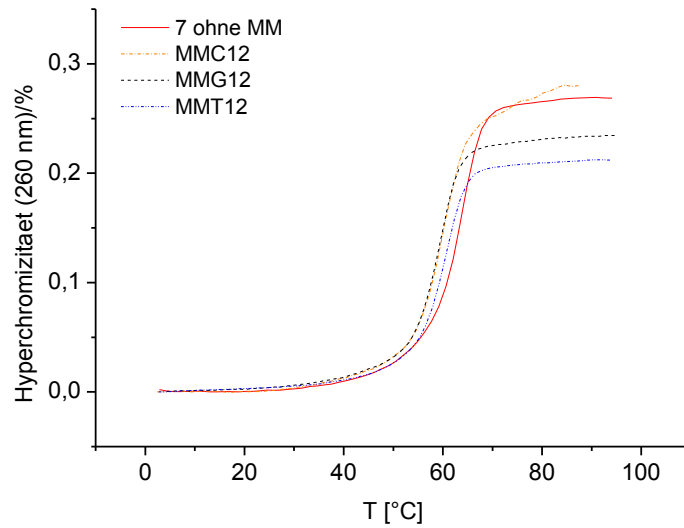
Oligonucleotid 4 (S): 5'-G TxT GACG TxI GACG TxT GACG TxT G-3'



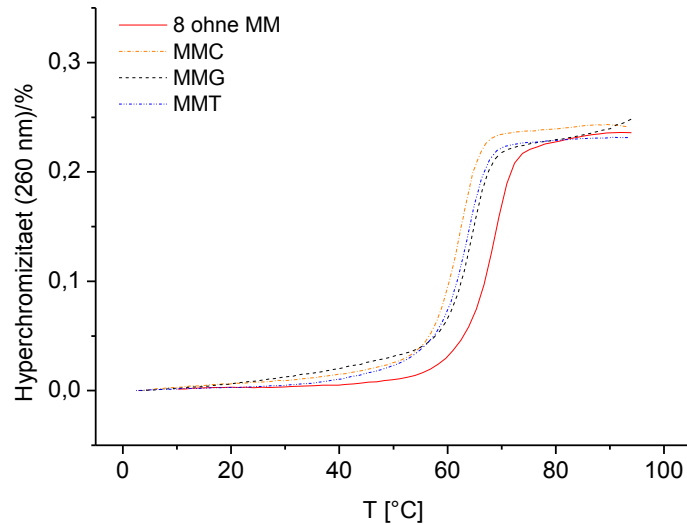
Oligonucleotid 5 (R): 5'-G TxT GACG TxI GACG TxT GACG TxT G-3'



Oligonucleotid **6**: 5'-GGCACGG **TTTTTTT** GGCACGG-3' (Referenz)



Oligonucleotid **7 (S)**: 5'-GGCACGG **TxTTxITxTTxT** GGCACGG-3'

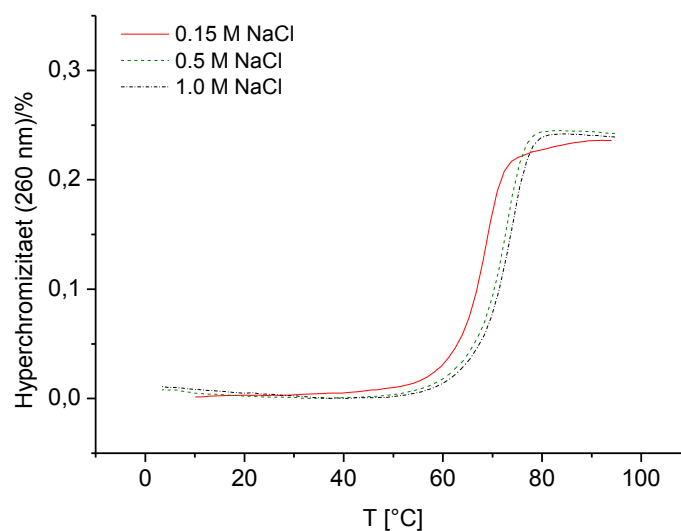


Oligonucleotid **8** (R): 5'-GGCACGG TxTTxTTxTTxT GGCACGG-3'

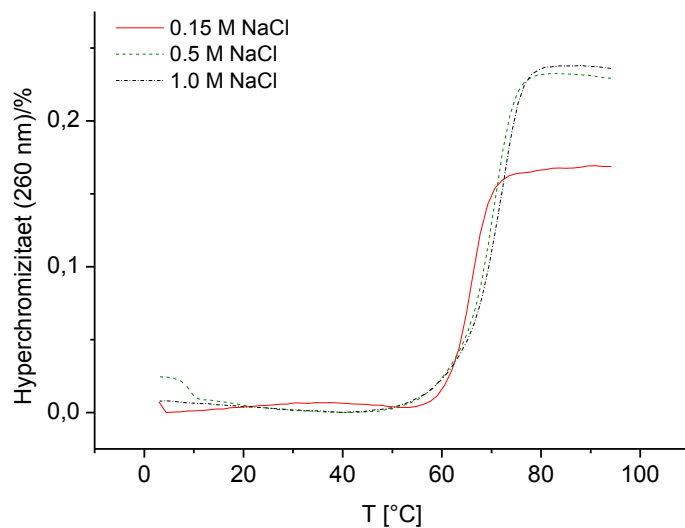
### 9.2.2.3 Schmelzkurven bei erhöhter NaCl-Konzentration

Die Nummern der Oligonucleotide entsprechen denjenigen in 9.2.1.2 (Tabellen 1-4). In jedem Diagramm bildet die rote, durchgängige Kurve den Denaturierungs- und Renaturierungsprozess der jeweiligen Duplex bei Standardbedingungen (s. 7.1.6.4) ab. Die gestrichelten Kurven geben den entsprechenden Vorgang bei erhöhten NaCl-Konzentrationen wieder.

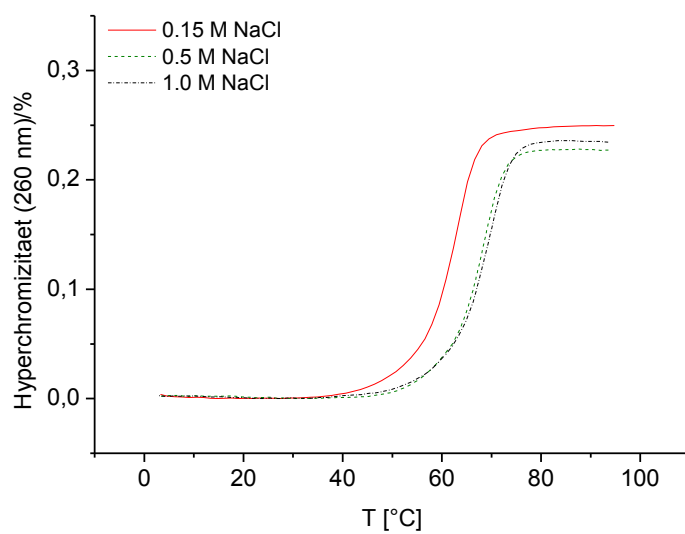
#### 9.2.2.3.1 DNA-DNA-Duplices



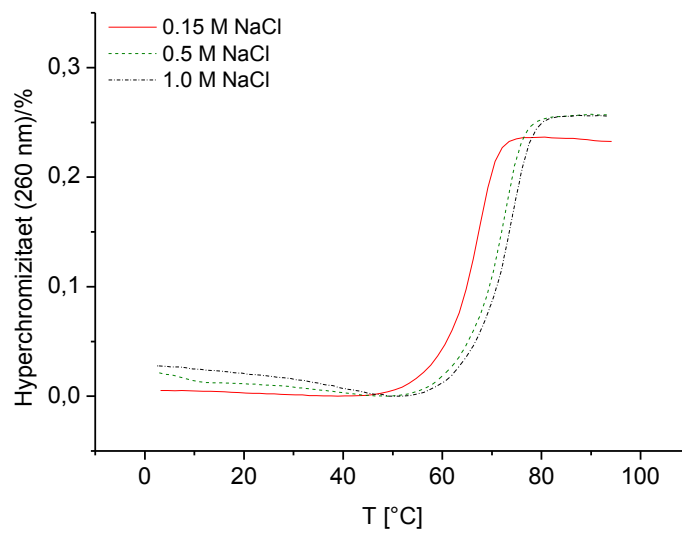
Oligonucleotid **1** (R): 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'



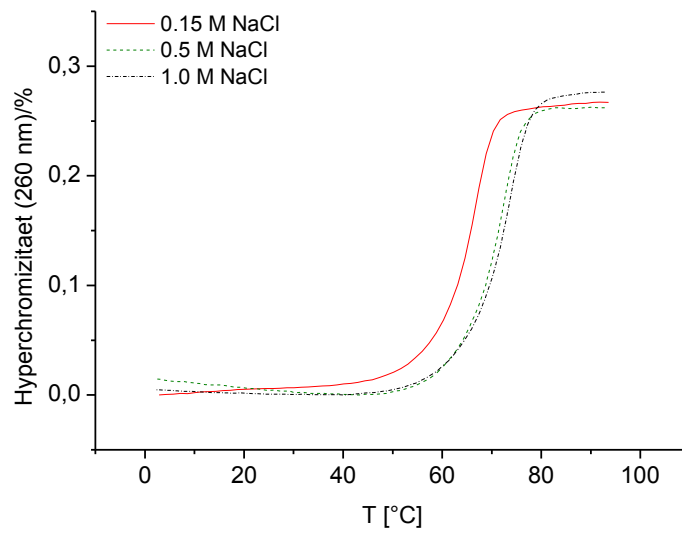
Oligonucleotid **2 (R)**: 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



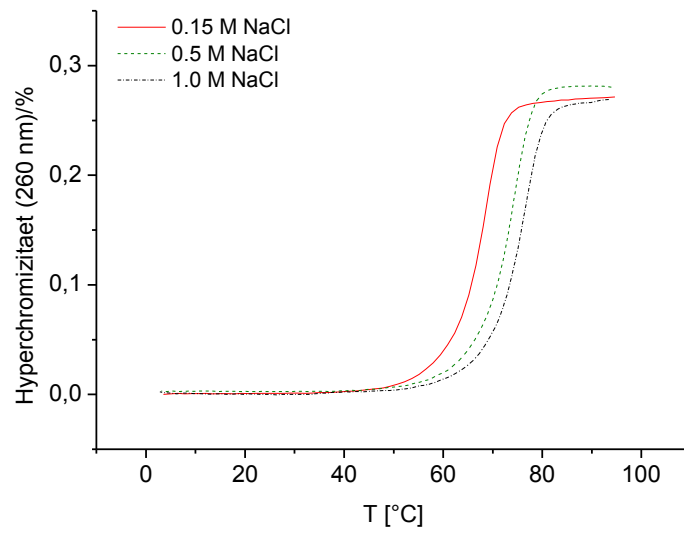
Oligonucleotid **3 (S)**: 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



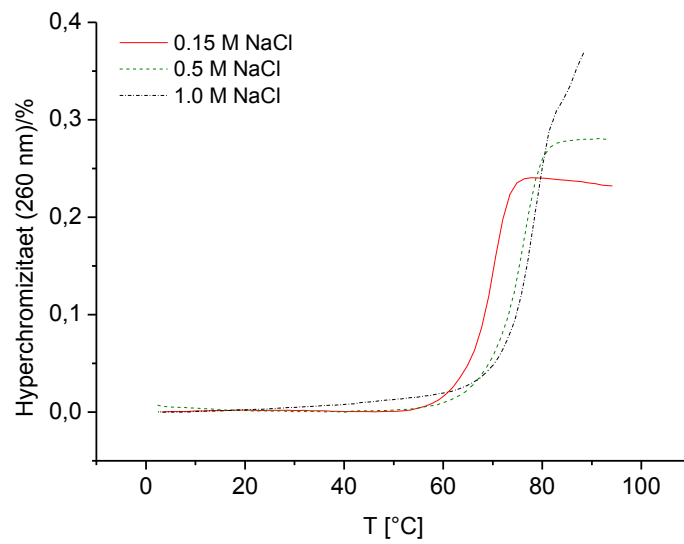
Oligonucleotid 4 (R): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



Oligonucleotid 5 (S): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'

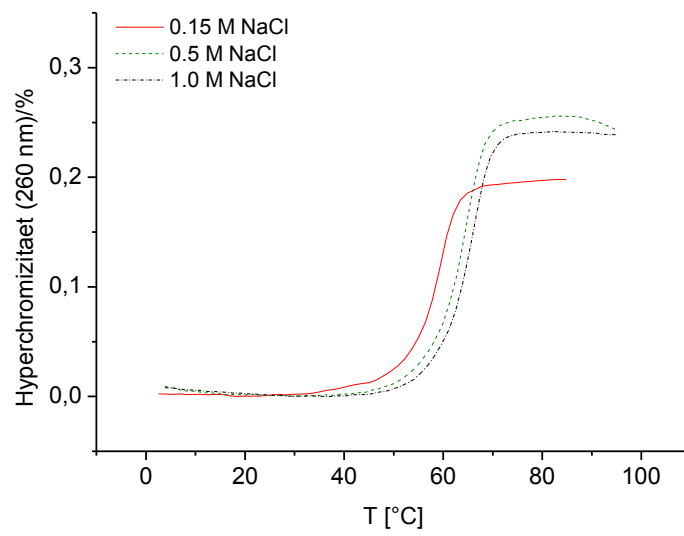


Oligonucleotid 6: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TT G-3' (Referenz)

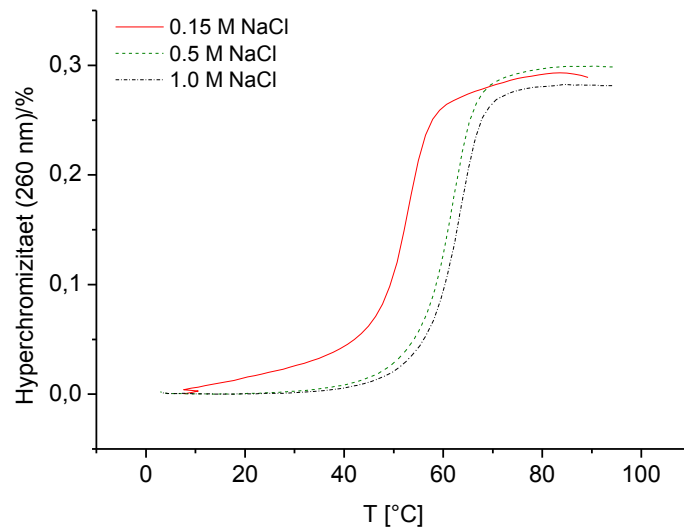


Oligonucleotid 7: 5'-GGCACGG TT TT TT TT GGCACGG-3' (Referenz)

## 9.2.2.3.2 DNA-RNA-Duplices

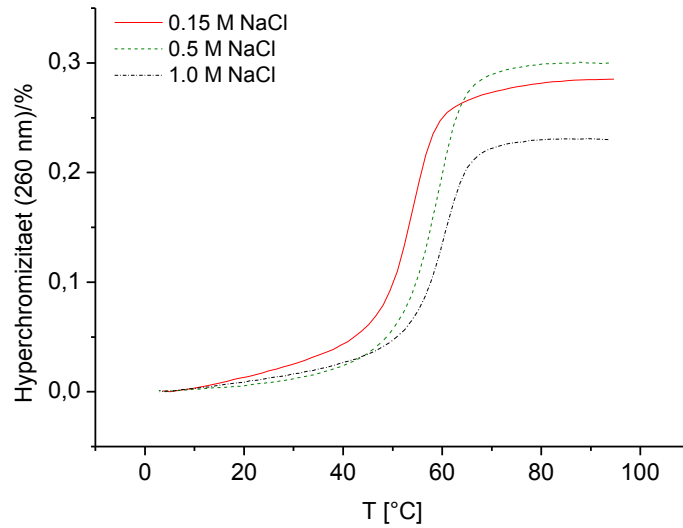


Oligonucleotid 1 (R): 5'-GGCACGG TxT TxT TxT TxT GGCACGG-3'

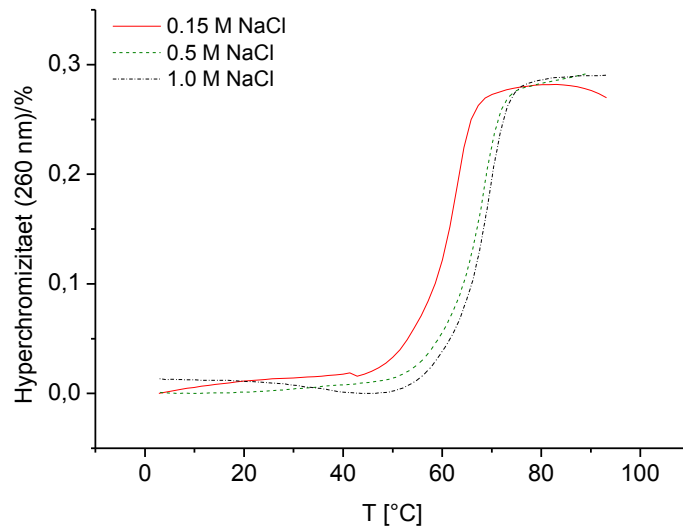


Oligonucleotid 2 (R): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'

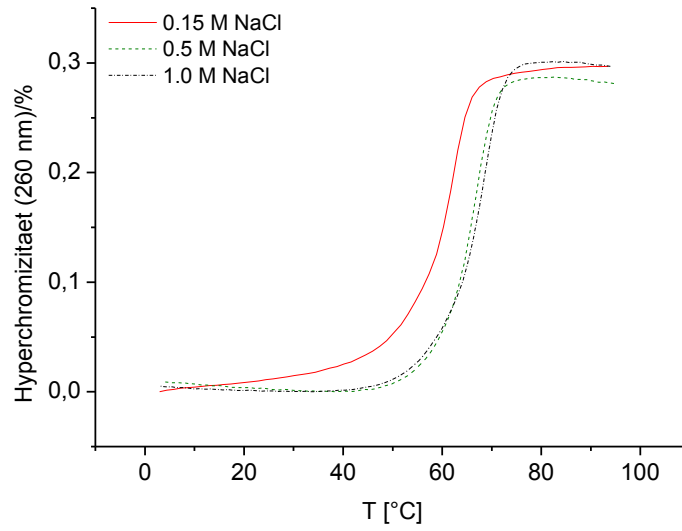




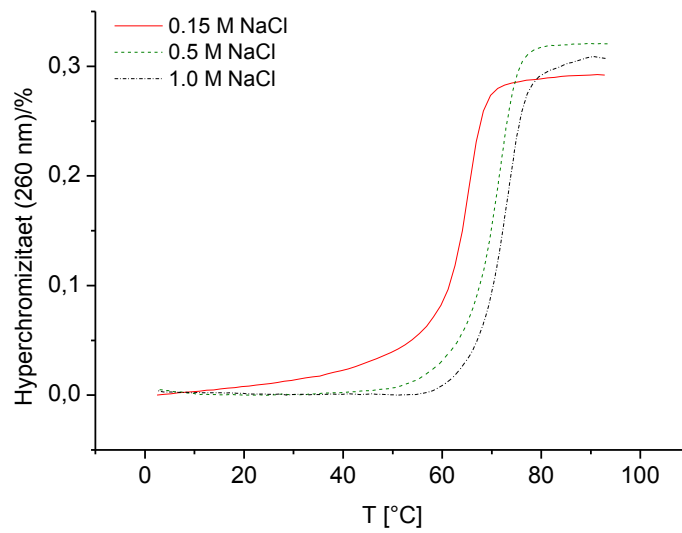
Oligonucleotid **3** (S): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



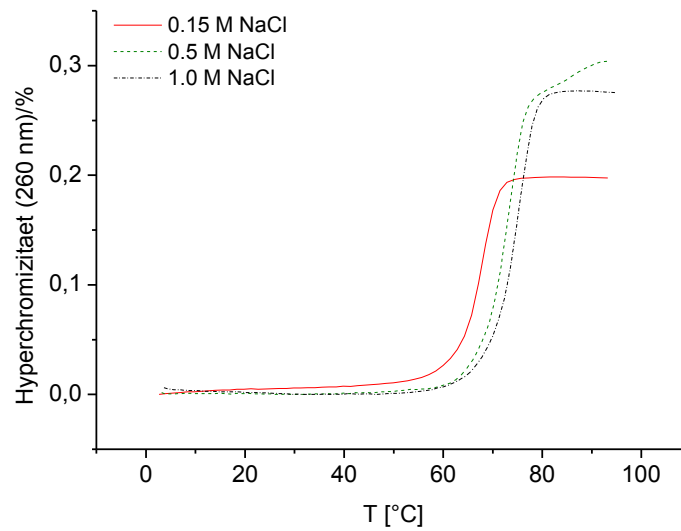
Oligonucleotid **4** (R): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



Oligonucleotid **5** (S): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



Oligonucleotid **6**: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG TT G-3' (Referenz)



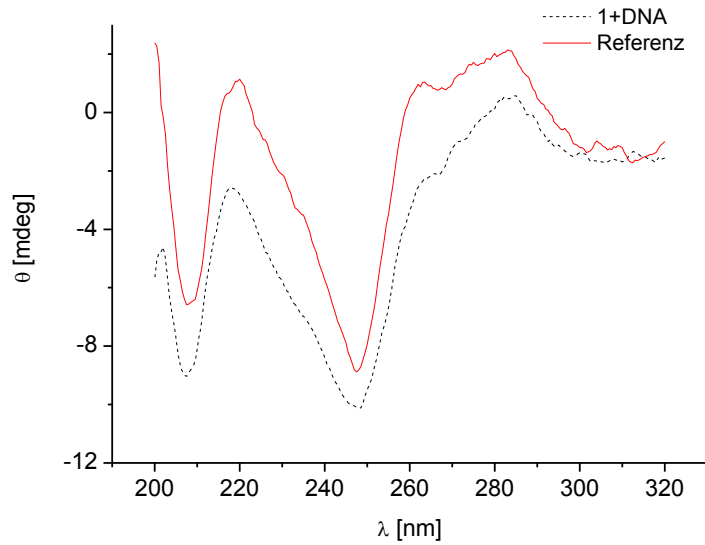
Oligonucleotid **7**: 5'-GGCACGG TT TT TT TT GGCACGG-3' (Referenz)

### 9.3 Circular dichroismus-Spektren

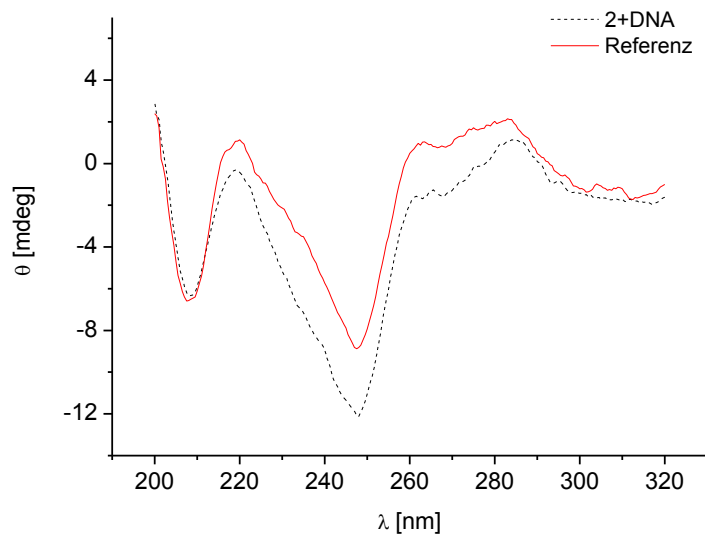
Im Folgenden sind die aufgenommenen Circular dichroismus-Spektren angeführt. Die rote, durchgängige Kurve stellt das CD-Spektrum der jeweiligen Referenzduplex dar (ohne NAA-Modifikation), während die schwarze, gestrichelte Kurve das Spektrum der modifizierten Duplex abbildet. Das modifizierte Oligonucleotid ist jeweils unterhalb der Diagramme angeführt. Die Nummerierung der Oligonucleotide entspricht derjenigen in 7.2.6 (Tab. 1 und Tab. 2).

## 9.3.1 DNA-DNA-Duplices

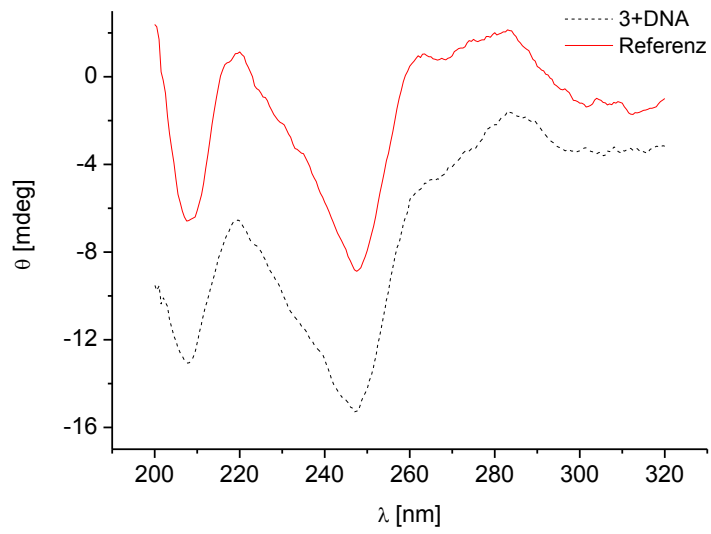
### 9.3.1.1 Duplices nicht-palindromer Oligonucleotide



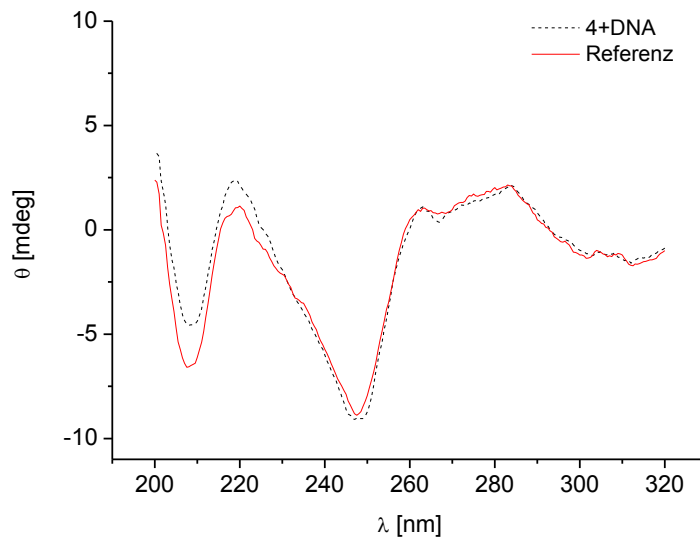
Oligonucleotid **1 (S)**: 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



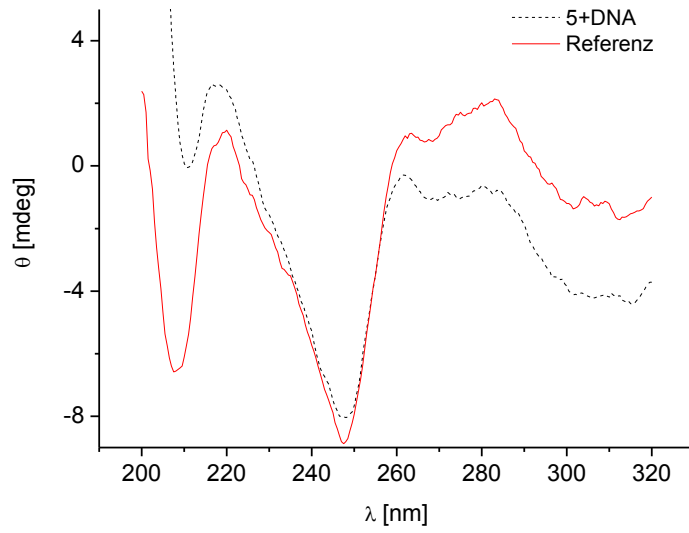
Oligonucleotid **2 (R)**: 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



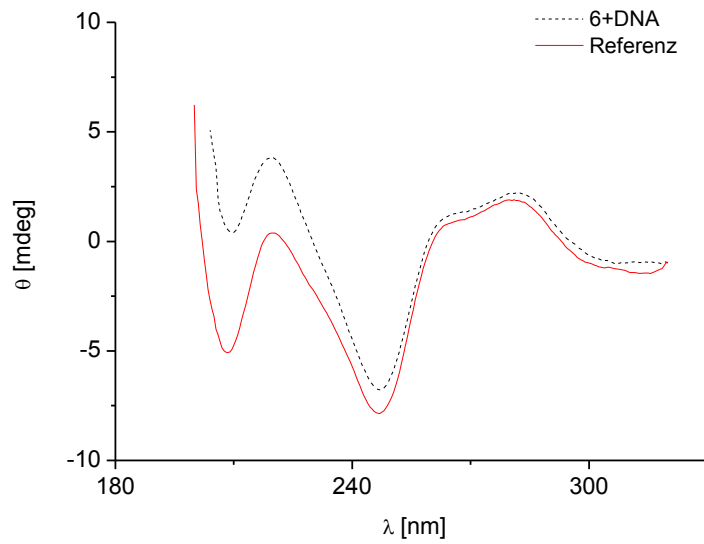
Oligonucleotid **3** (*S*): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



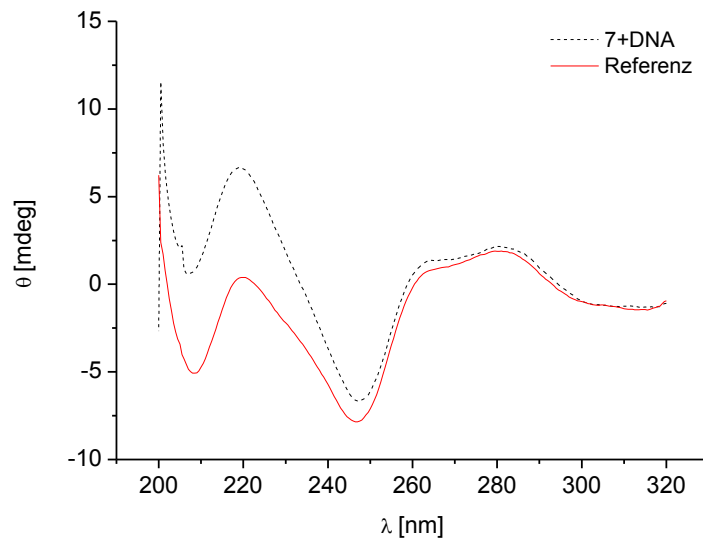
Oligonucleotid **4** (*R*): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



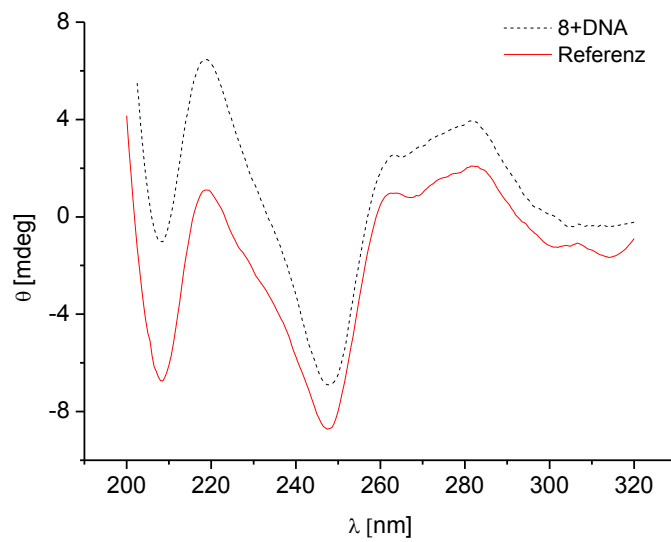
Oligonucleotid **5** (*S*): 5'-GGCACGG T $\times$ T T $\times$ T TT TT GGCACGG-3'



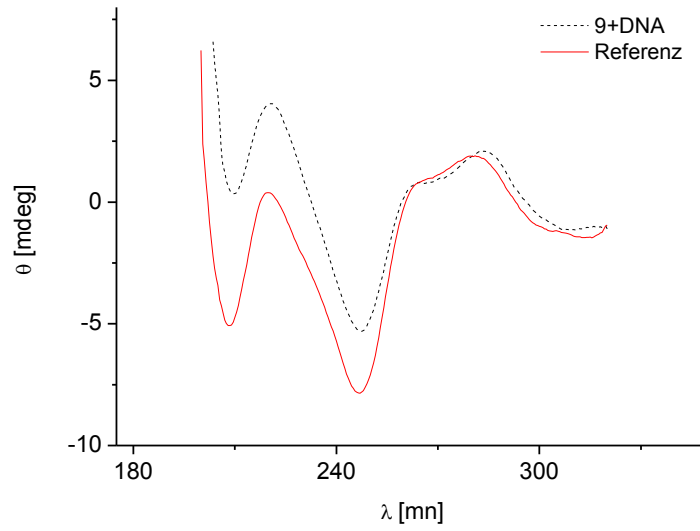
Oligonucleotid **6** (*R*): 5'-GGCACGG T $\times$ T T $\times$ T TT TT GGCACGG-3'



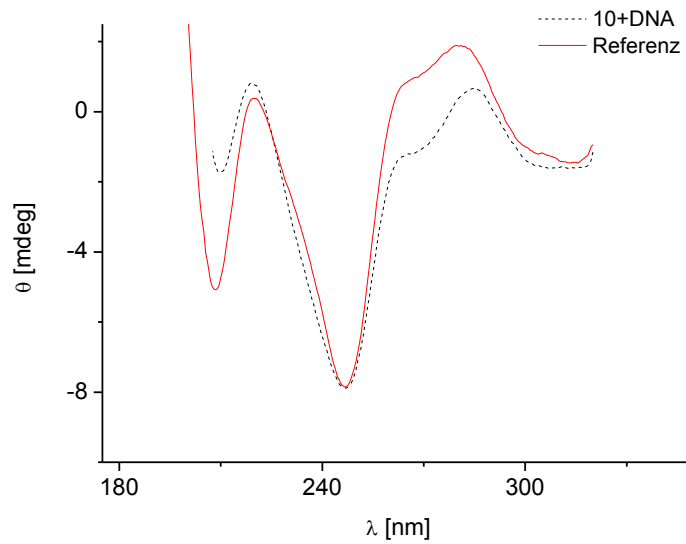
Oligonucleotid **7** (S): 5'-GGCACGG T~~x~~T TT TT TT GGCACGG-3'



Oligonucleotid **8** (R): 5'-GGCACGG T~~x~~T TT TT TT GGCACGG-3'

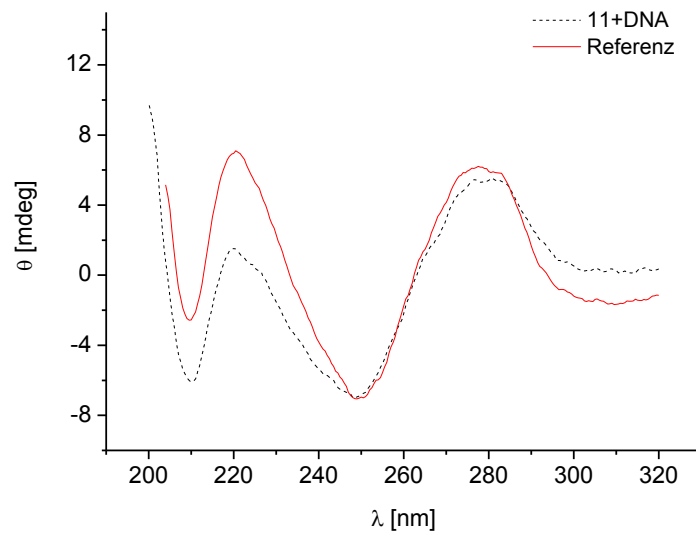


Oligonucleotid **9** (*S*): 5'-GGCACGG T $\alpha$ T T $\alpha$ T T $\alpha$ T T $\alpha$ T GGCACGG-3'

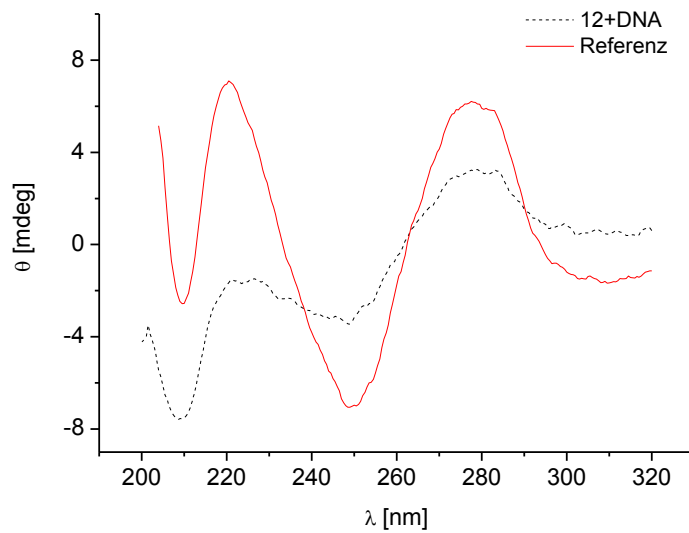


Oligonucleotid **10** (*R*): 5'-GGCACGG T $\alpha$ T T $\alpha$ T T $\alpha$ T T $\alpha$ T GGCACGG-3'

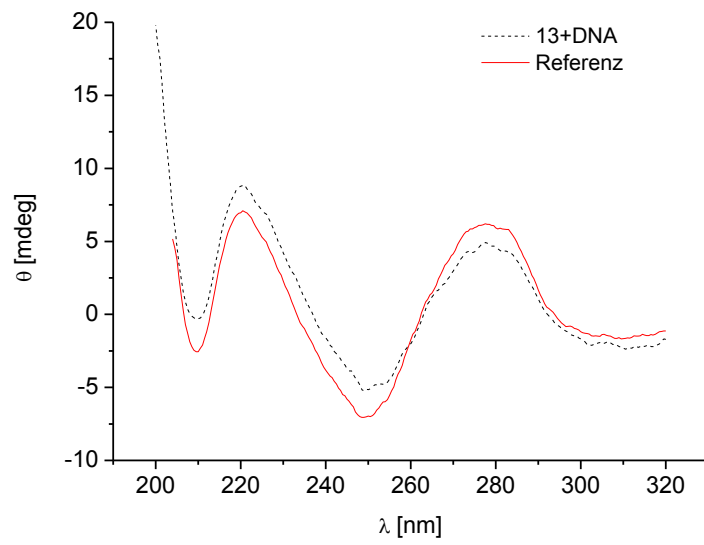




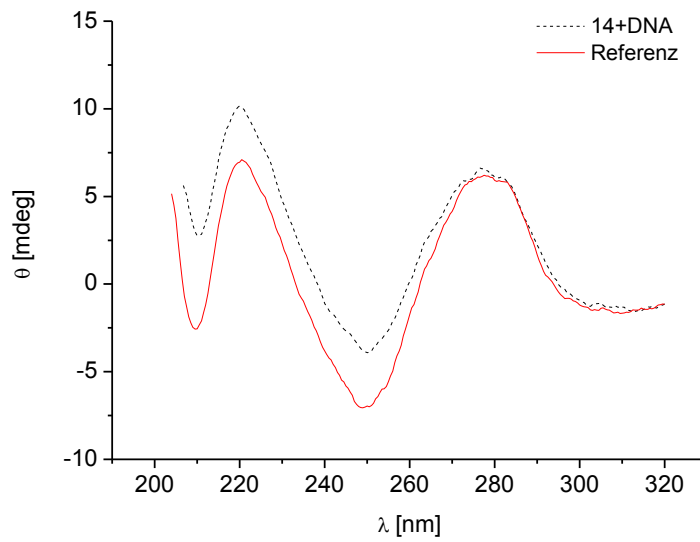
Oligonucleotid **11 (S)**: 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



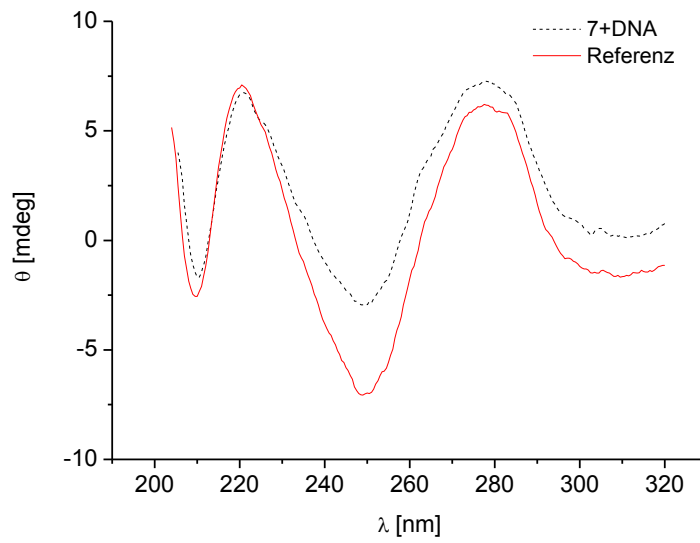
Oligonucleotid **12 (R)**: 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'



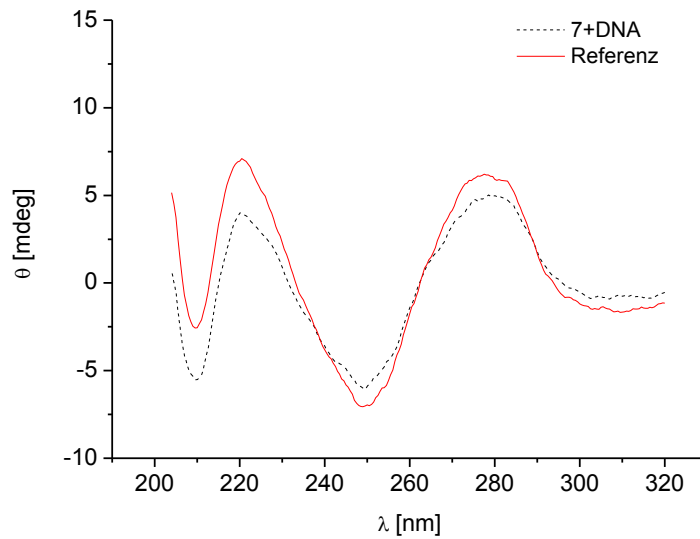
Oligonucleotid **13** (S): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



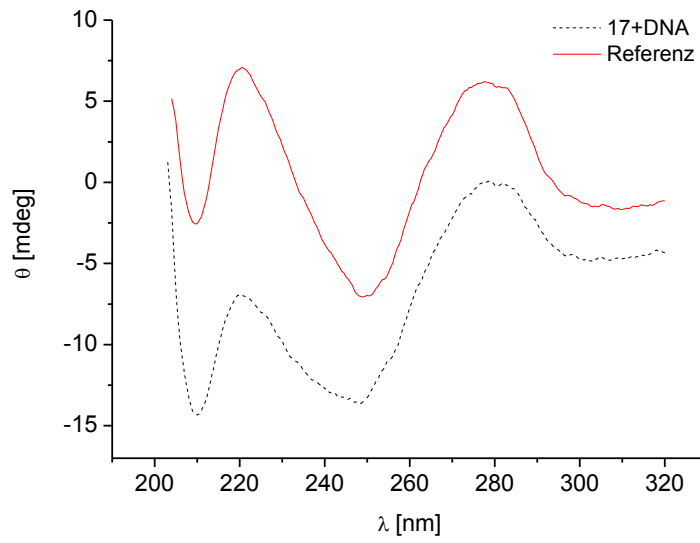
Oligonucleotid **14** (R): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



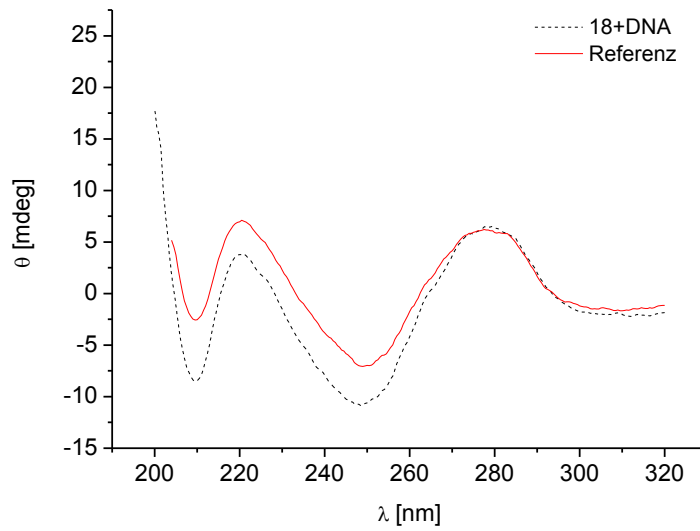
Oligonucleotid **15 (S)**: 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



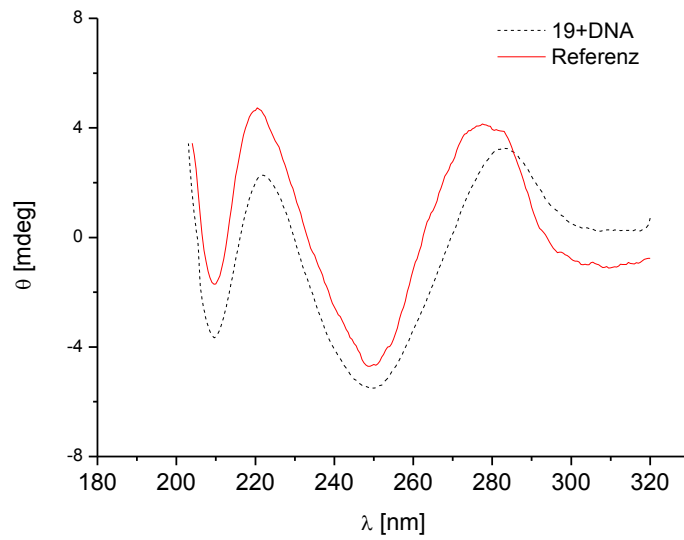
Oligonucleotid **16 (R)**: 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



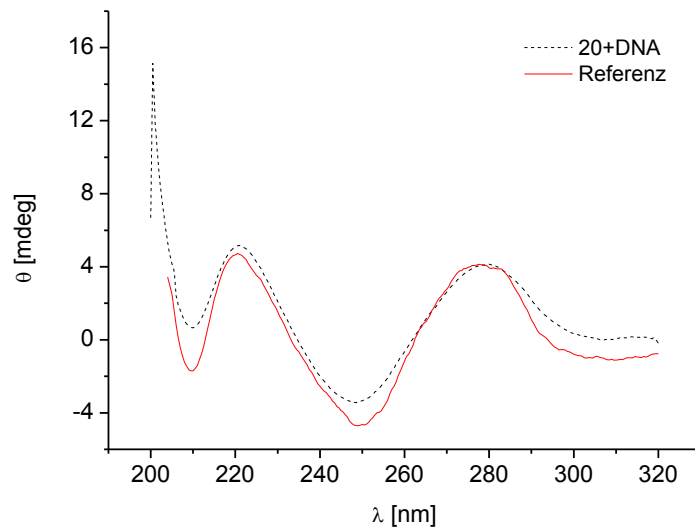
Oligonucleotid **17 (S)**: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG T $\alpha$ T G-3'



Oligonucleotid **18 (R)**: 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG T $\alpha$ T G-3'

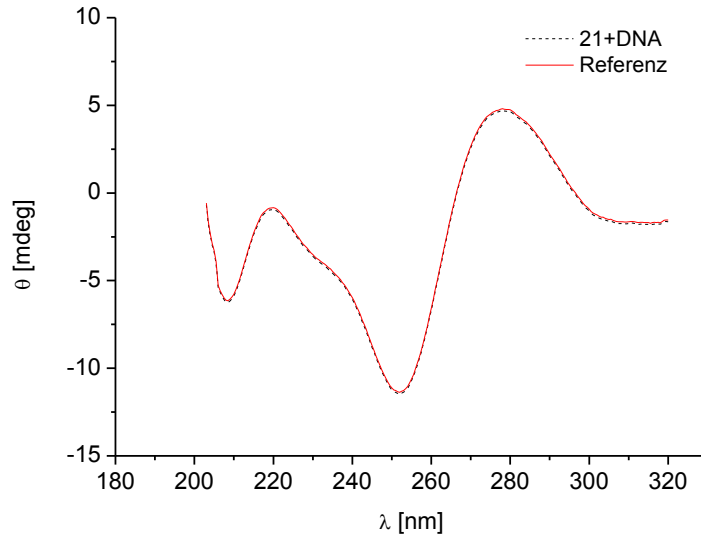


Oligonucleotid **19** (S): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'

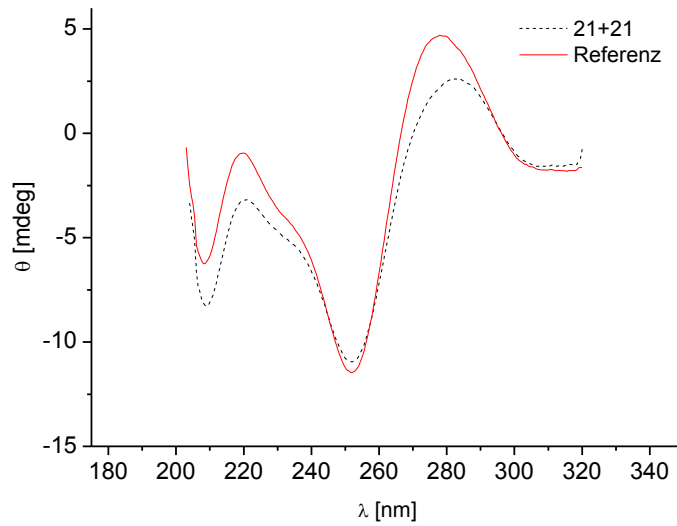


Oligonucleotid **20** (R): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'

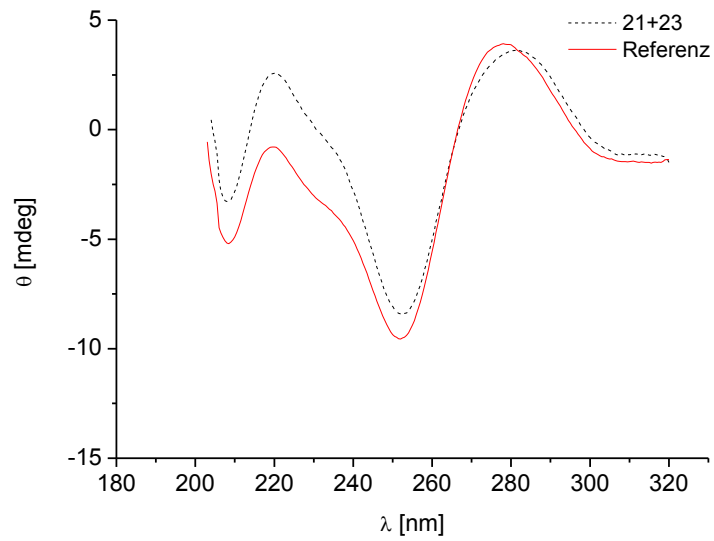
### 9.3.1.2 Duplices palindromer Oligonucleotide



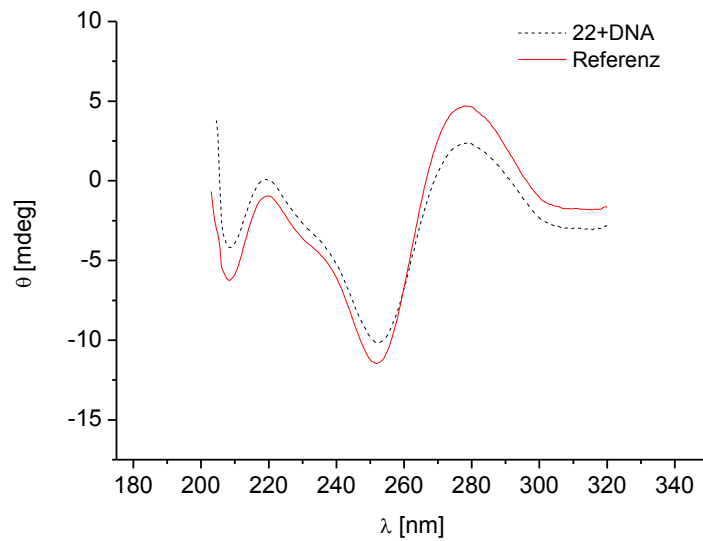
Oligonucleotid **21** (S): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



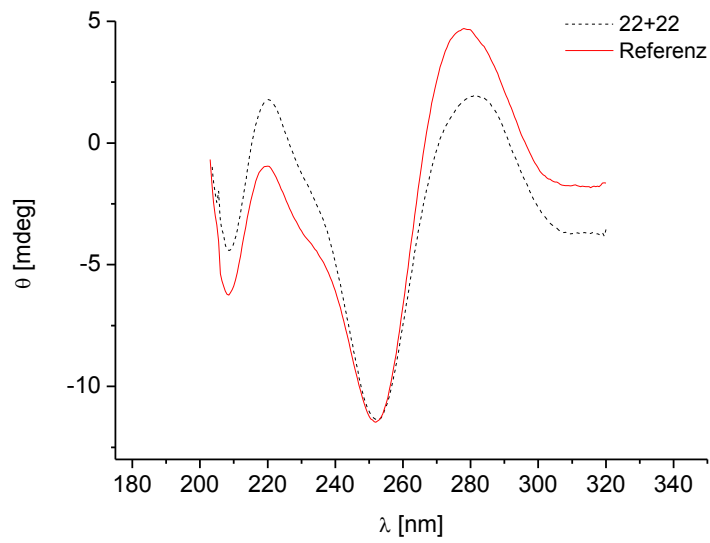
Oligonucleotid **21** (S): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



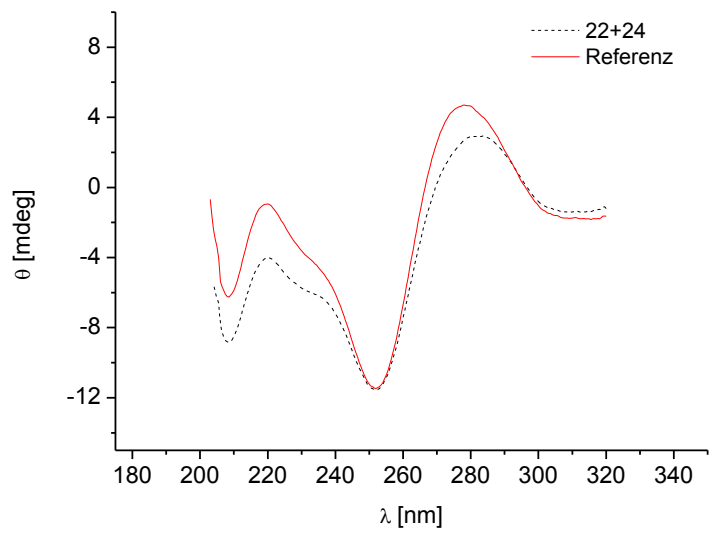
Oligonucleotid **21** (S): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'



Oligonucleotid **22** (R): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'

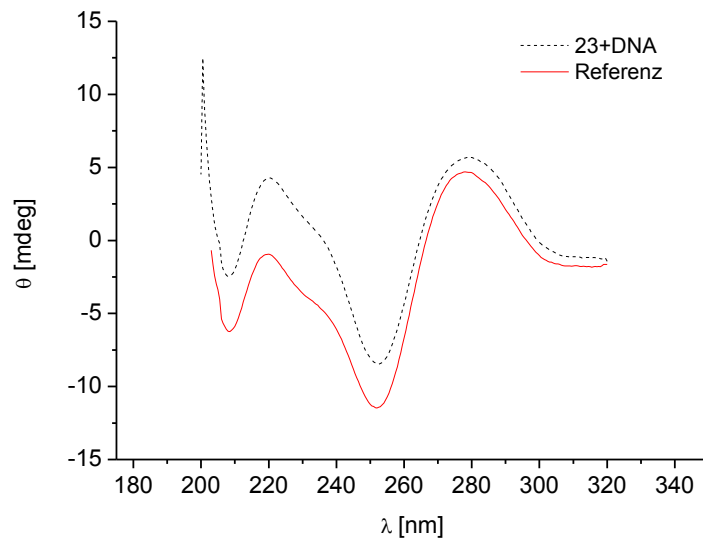


Oligonucleotid **22** (R): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'

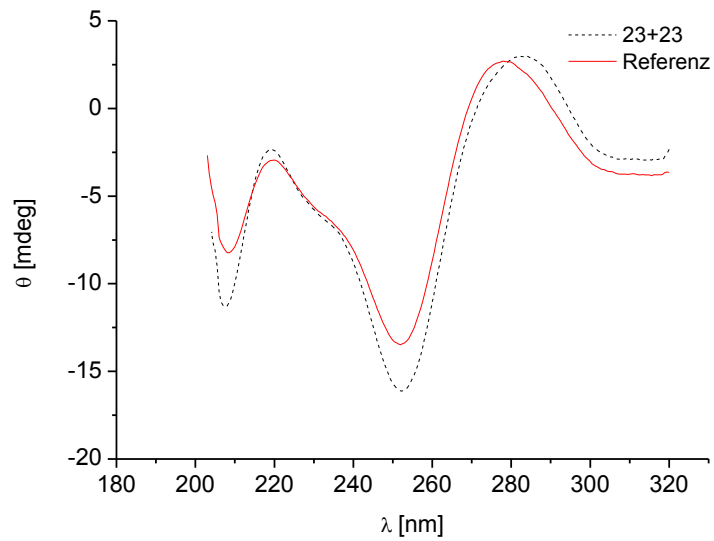


Oligonucleotid **22** (R): 5'-GCGC TxT GC TT AAGCAAGCGC-3'

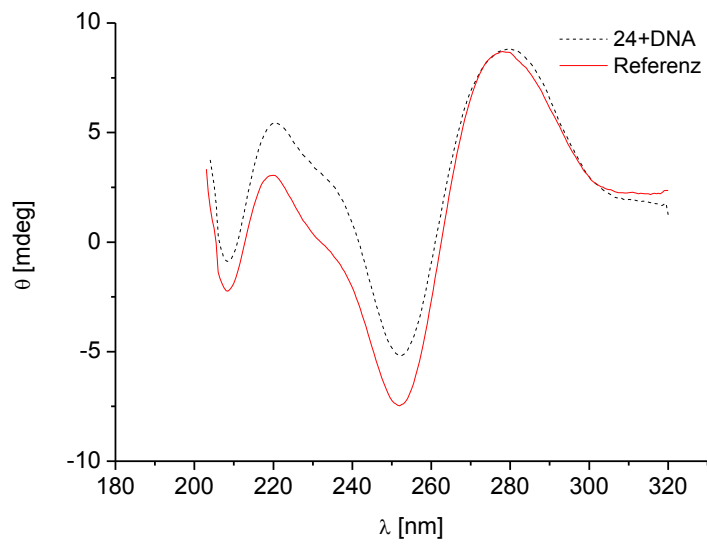




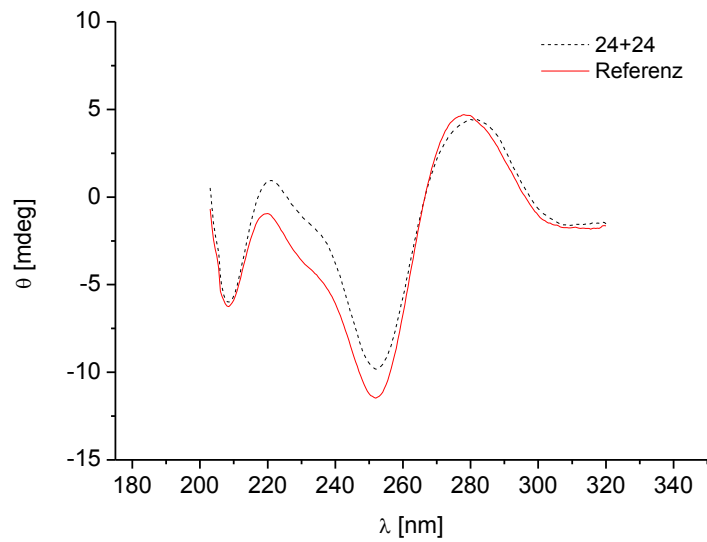
Oligonucleotid **23** (S): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'



Oligonucleotid **23** (S): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

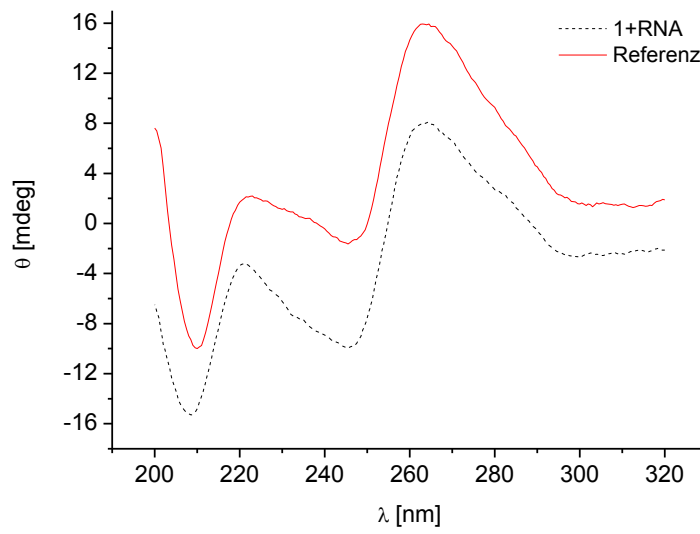


Oligonucleotid **24** (*R*): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

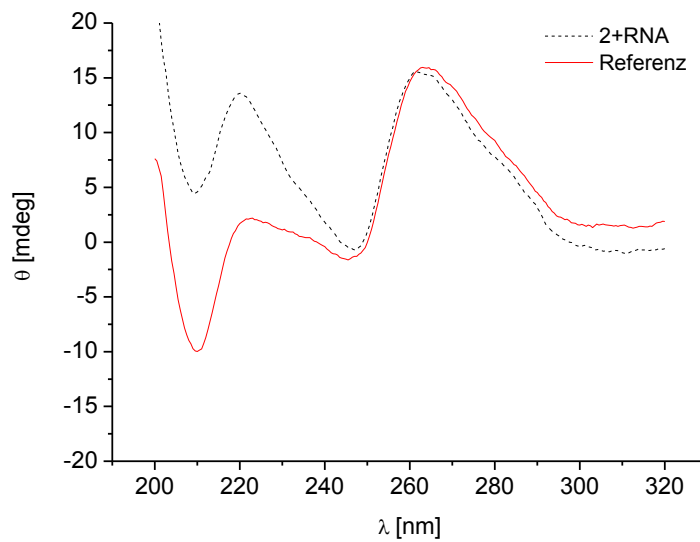


Oligonucleotid **24** (*R*): 5'-GCGC TT GC TxT AAGCAAGCGC-3'

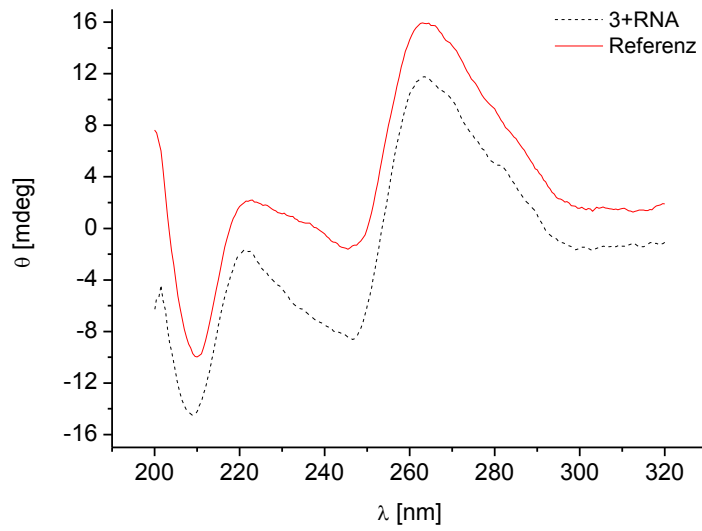
### 9.3.2 DNA-RNA-Duplices



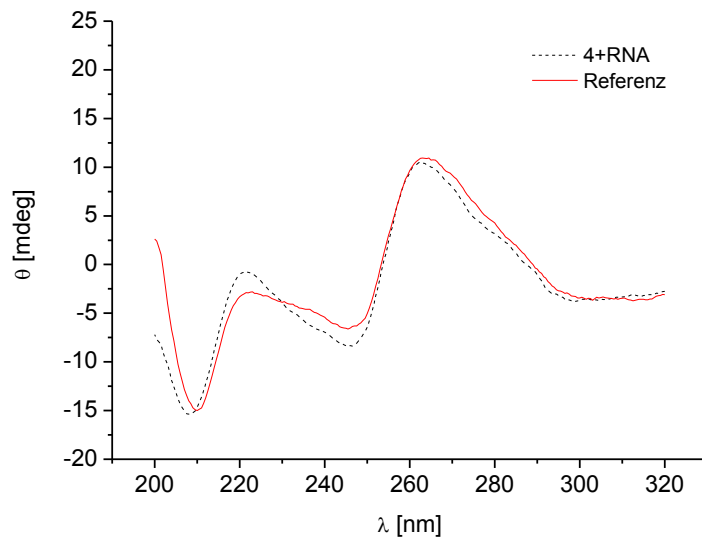
Oligonucleotid 1 (S): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



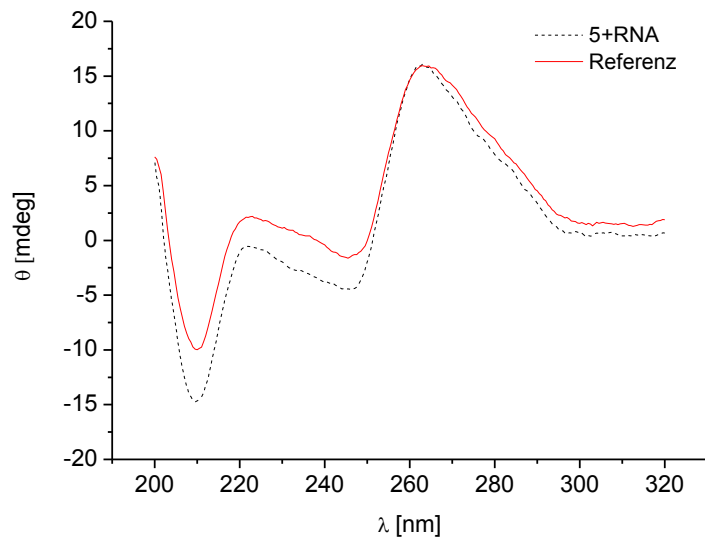
Oligonucleotid 2 (R): 5'-GGCACGG TxT TT TT TxT GGCACGG-3'



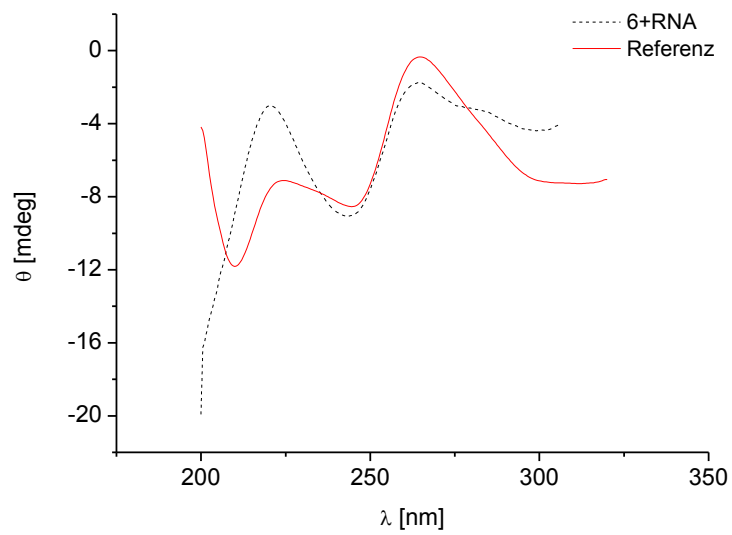
Oligonucleotid **3** (*S*): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



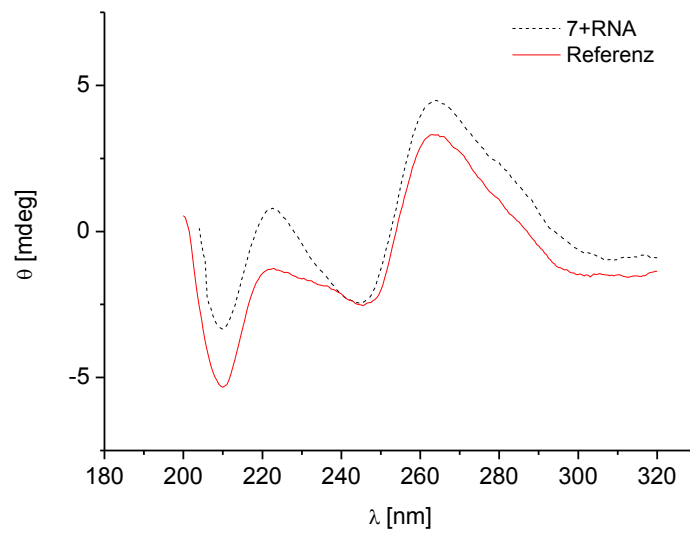
Oligonucleotid **4** (*R*): 5'-GGCACGG TxT TT TxT TT GGCACGG-3'



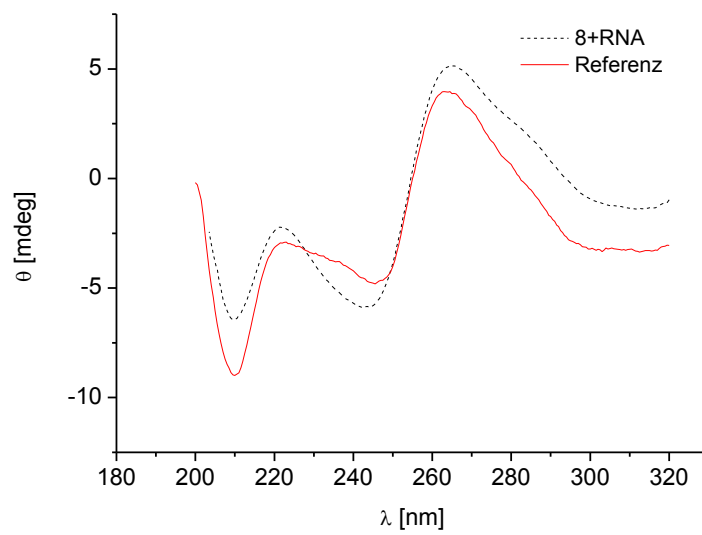
Oligonucleotid **5 (S)**: 5'-GGCACGG T~~x~~T T~~x~~T TT TT GGCACGG-3'



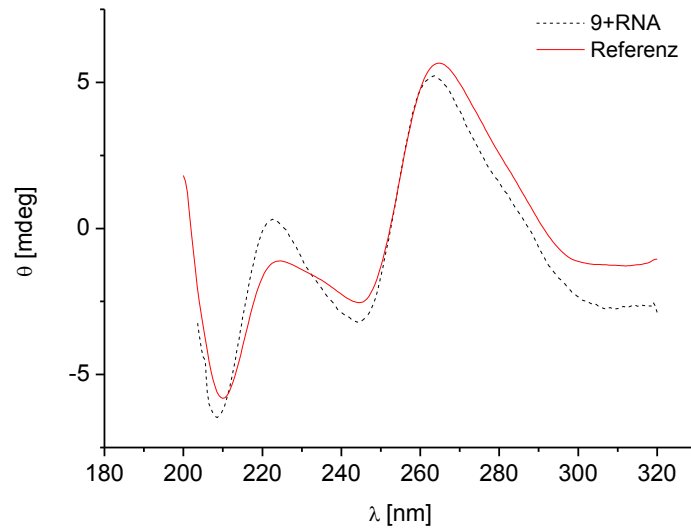
Oligonucleotid **6 (R)**: 5'-GGCACGG T~~x~~T T~~x~~T TT TT GGCACGG-3'



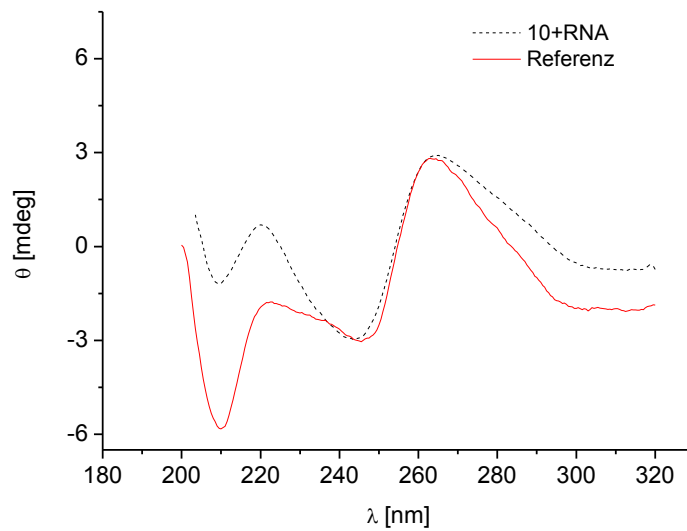
Oligonucleotid **7** (S): 5'-GGCACGG T~~x~~T TT TT TT GGCACGG-3'



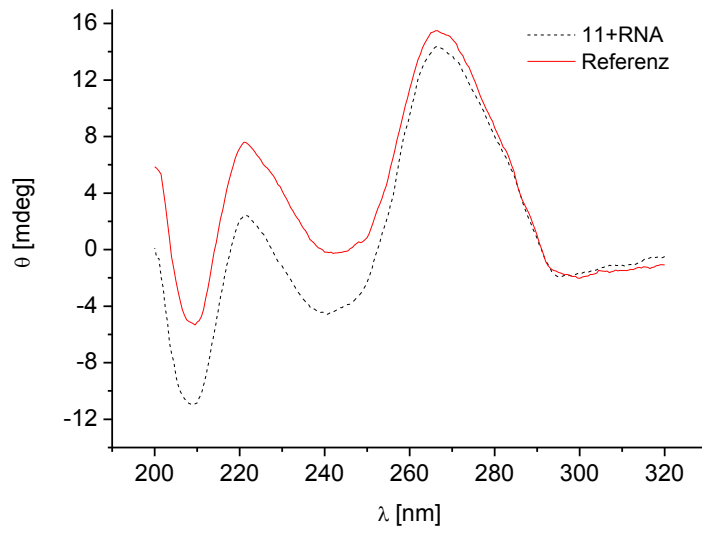
Oligonucleotid **8** (R): 5'-GGCACGG T~~x~~T TT TT TT GGCACGG-3'



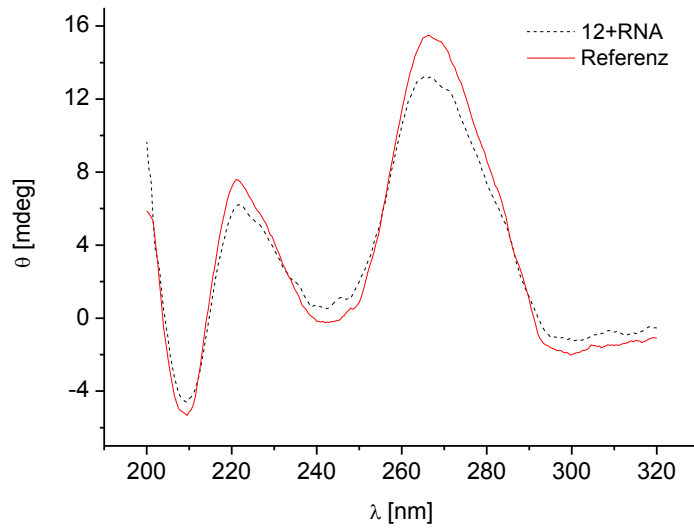
Oligonucleotid **9** (S): 5'-GGCACGG T $\times$ T T $\times$ T T $\times$ T T $\times$ T GGCACGG-3'



Oligonucleotid **10** (R): 5'-GGCACGG T $\times$ T T $\times$ T T $\times$ T T $\times$ T GGCACGG-3'

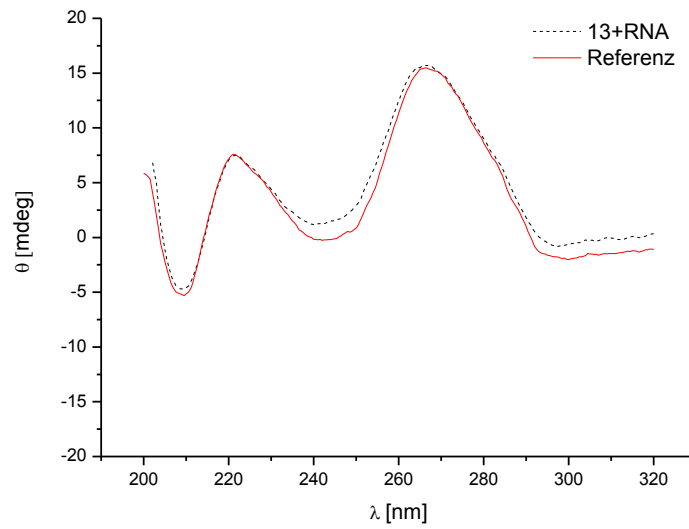


Oligonucleotid **11** (S): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'

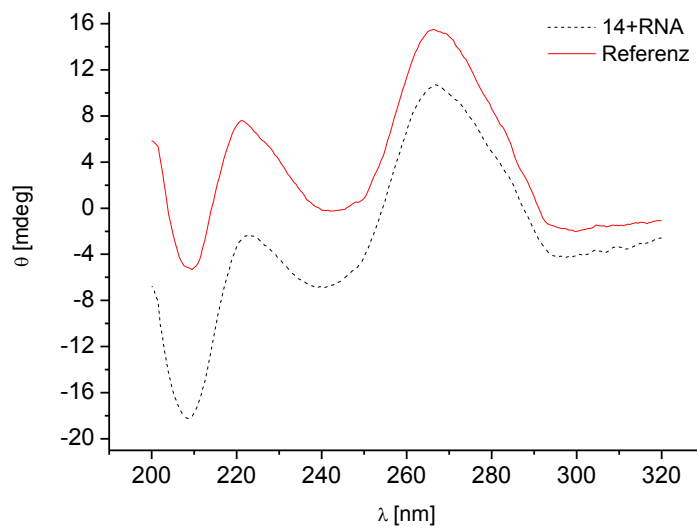


Oligonucleotid **12** (R): 5'-G TxT GACG TT GACG TT GACG TT G-3'

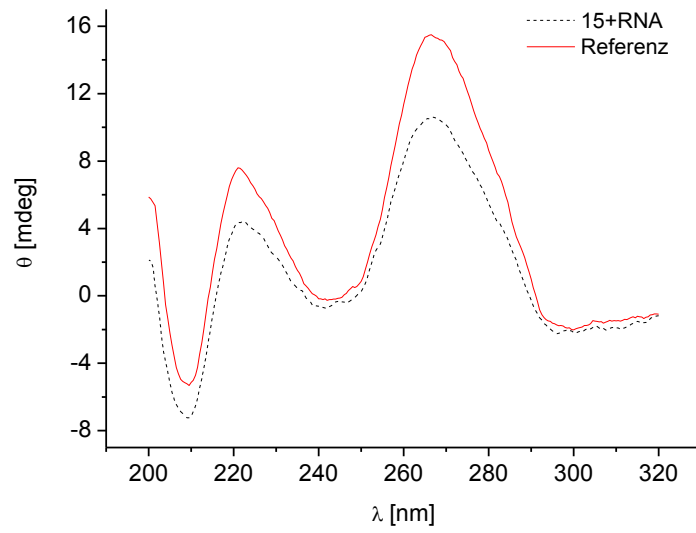




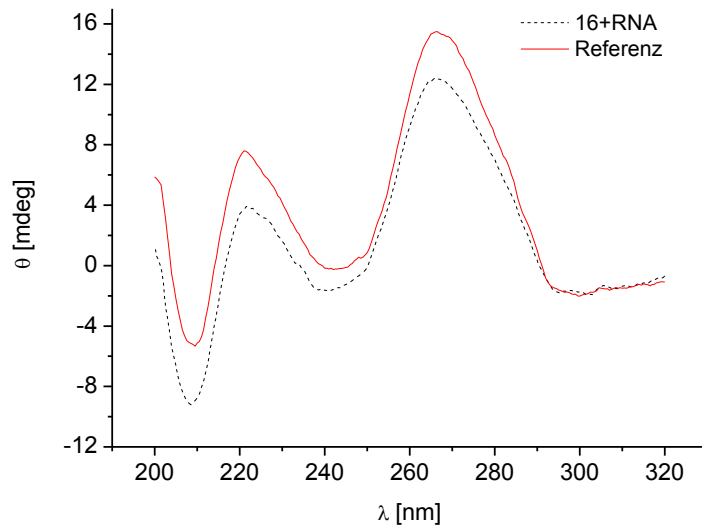
Oligonucleotid **13** (*S*): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



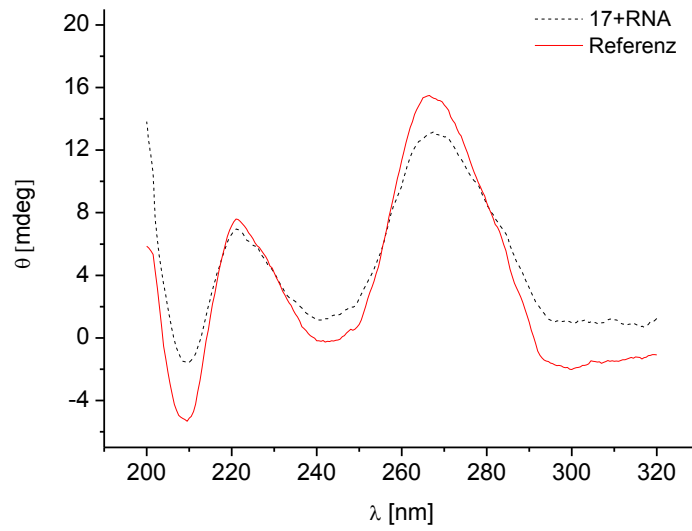
Oligonucleotid **14** (*R*): 5'-G TT GACG TxT GACG TT GACG TT G-3'



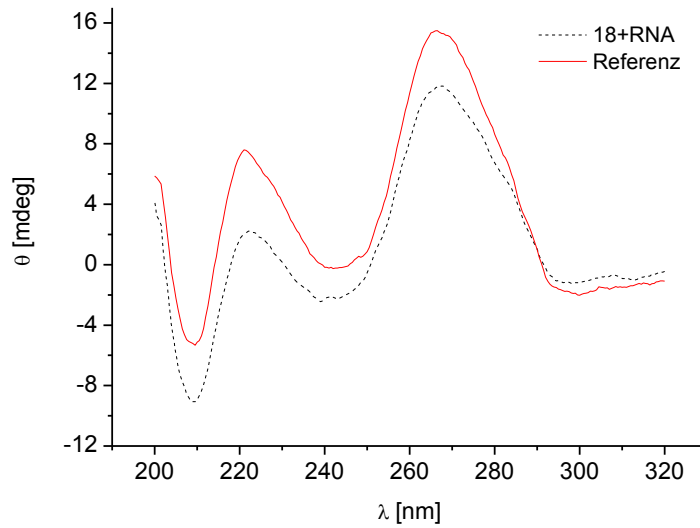
Oligonucleotid **15** (S): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



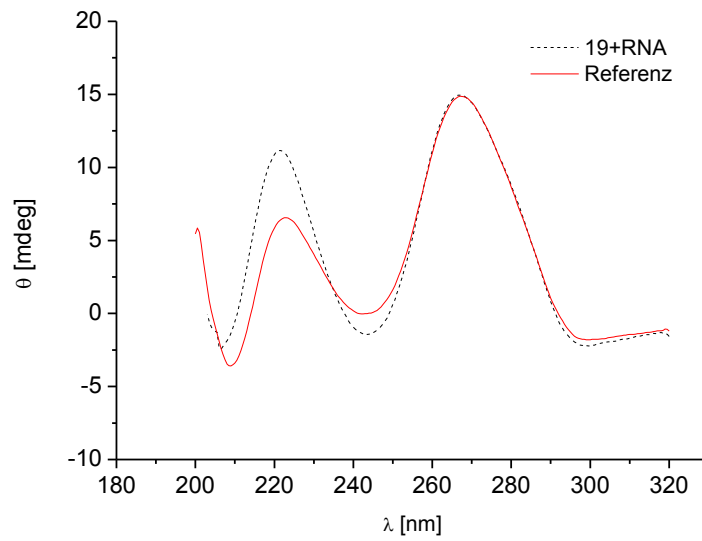
Oligonucleotid **16** (R): 5'-G TT GACG TT GACG TxT GACG TT G-3'



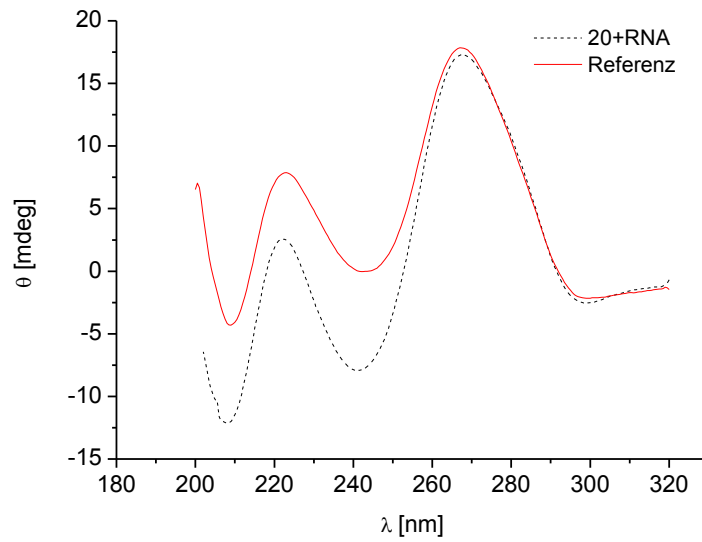
Oligonucleotid **17** (S): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG T $\mathbf{x}$ T G-3'



Oligonucleotid **18** (R): 5'-G TT GACG TT GACG TT GACG T $\mathbf{x}$ T G-3'



Oligonucleotid **19** (*S*): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'



Oligonucleotid **20** (*R*): 5'-G TxT GACG TxT GACG TxT GACG TxT G-3'

## 9.4 Lebenslauf

### Persönliche Angaben

Name	Boris Schmidtgall
Geburtsdatum	28.08.1983
Geburtsort	Nishnjaja Tura (Russland)
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet mit Julia Schmidtgall, geb. Kramer, ein Kind
Sprachenkenntnisse	Deutsch, Russisch (Muttersprache, fließend in Wort und Schrift), Englisch (fließend in Wort und Schrift), Französisch (gute Kenntnisse)

### Schulausbildung

1990-1992	Grundschule in Nishnjaja Tura (Russland)
1992-1995	Emil-Nolde-Grundschule in Bargteheide (Deutschland)
1995-2004	Kreisgymnasium Bargteheide
2004	Abitur

### Studium

2005-2007	Grundstudium der Chemie an der Universität Hamburg
2007	Vordiplom (Note: mit Auszeichnung)
2007-2009	Hauptstudium der Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen
Mai-Dezember 2009	Diplomarbeit „Nucleosylaminosäuren als Bausteine zur Synthese modifizierter Oligonucleotide“ in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christian Ducho am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen
März 2010	Diplom in Chemie (Note: sehr gut)
April 2010	Beginn der Promotion in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christian Ducho am Institut für Organische und Biomolekulare Chemie der Georg-August-Universität Göttingen. Thema: „Nucleosylaminosäuren als Bausteine zur Synthese modifizierter Oligonucleotide“

### **Auszeichnungen**

- März 2007 Auszeichnung des Vordiploms in Chemie an der Universität Hamburg
- Juni 2007-März 2010 Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes
- Seit November 2010 Doktorandenstipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes

### **Vorträge**

- 24.08.2011 „Präbiotische Entstehung Informationstragender Moleküle“ Sommerakademie der Studienstiftung des Deutschen Volkes, Rot an der Rot, Deutschland.
- 01.06.2012 „Zwitterionische DNA-Strukturen“, Doktorandenforum der Studienstiftung des deutschen Volkes, Bad Homburg, Deutschland.
- 02.10.2012 „Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone“ PhD-Seminar der DNG (Deutsche Nucleinsäurechemie-gemeinschaft), Bad Herrenalb, Deutschland.

### **Posterbeiträge**

- 08.03.2011 Boris Schmidt Gall, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Nucleosyl Amino Acids as Building Blocks for the Synthesis of Modified Oligonucleotides; 10<sup>th</sup> German Peptide Symposium Berlin, Deutschland.
- 15.09.2011 Boris Schmidt Gall, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone; Hochschule trifft Industrie-VII, Schlangenbad, Deutschland.
- 29.09.2011 Boris Schmidt Gall, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone; V. Nucleinsäurechemie-Treffen, Frankfurt am Main, Deutschland.

- 
- 07.08.2012 Boris Schmidtgal, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone; XX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, Montreal, Canada.
- 25.09.2012 Boris Schmidtgal, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone; Orchem, 18. Lecture Conference, Weimar, Deutschland.
- 19.09.2013 Boris Schmidtgal, Falk Wachowius, Claudia Höbartner, Christian Ducho; Synthesis and Properties of Modified DNA Oligonucleotides with a Zwitterionic Backbone; VI. Nucleinsäurechemie-Treffen, Greifswald, Deutschland.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift