Diss. ETH Nr. 18561

Quartette aus Aminomethylen-verknüpften Guanosin- und Cytidin Dinukleosidanalogen

Abhandlung
Zur Erlangung des Titels
Doktor der Wissenschaften

der

Eidgenössischen Technischen Hochschule
Zürich

vorgelegt von

Martina Maria Adams

Diplom-Chemikerin
Johann-Wolfgang von Goethe Universität Frankfurt a. M.
geboren am 13. Oktober 1979
aus Trier-Ehrang, Deutschland

Angenommen auf Antrag von:
Prof. Dr. Andrea Vasella, Referent
Prof. Dr. Donald Hilvert, Koreferent

Zürich 2009

meiner Familie

„Der Glückliche bedarf des Glaubens, um nicht übermütig zu werden, der Nichtglückliche aber als Halt und der Unglückliche, um nicht zu erliegen.“

Wilhelm von Humboldt

Mein herzlicher Dank gilt…

Prof. Dr. Andrea Vasella für die lehrreichen Jahre, die Geduld bei der Korrektur dieser Arbeit und die Unterstützung eine geeignete Postdoktorandenstelle zu finden.
Prof. Dr. Donald Hilvert für die Übernahme des Koreferats und die konstruktive Kritik an meiner Arbeit.

Prof. Dr. Duilio Arigoni für die hilfreiche Diskussion über biosynthetische Arbeitsgruppen und seine Ratschläge für die Wahl einer geeigneten Gruppe für den Postdoktorandenaufenthalt.
Prof. Dr. Ryan Gilmour für die Korrektur der englischen Zusammenfassung.
Dr. Bruno Bernet für die vielen Diskussionen über NMR-Spektren, das Modellieren von Strukturen oder den Zustand der Strassen meiner Heimatstadt.
Nina-May Haydon für ihr stets offenes Ohr, ihren unerschütterlichen Humor, ihre Offenheit und ihre unendliche Güte und Geduld.
Mirella Rutz für die vielfältige Unterstützung gegen Ende meiner Zeit in Zürich.
Thomas Mäder für die Unterstützung bei instrumentellen und technischen Problemen jedweder Art und die Schnäppschen in Zeiten wenn kein Licht am Ende des Tunnels zu sehen war.
den Damen vom Schalter für ihre netten, manchmal kratzbürstigen Worte und die Unterstützung insbesondere während der Praktika.
Regula Merz für ihr offenes Ohr.
Rolf Häfliger und Louis Bertschi für das Messen der Massenspektren.
Prof. Dr. Jaun, Dr. Marc-Oliver Ebert, Rainer Frankenstein und Philipp Zumbrunnen für das Messen von NMR Spektren und die vielen Diskussionen.
Dr. David Touboul und Dr. Matthias Jecklin für das Messen von ESI-Spektren.
Prof. Dr. Mike Blackburn und Prof. Dr. Joachim Engels für ihre Unterstützung während des Studiums, beim Auffinden dieser Doktorandenstelle und bei der Wahl

einer Gruppe für den Postdoktorandenaufenthalt.

meinem Heimatlabor H322 und allen mit denen ich dort in den vergangenen vier Jahren arbeiten durfte: Roshini Rajan, Shashi Maddi, Célia Billaud, Sandrina Silva und Maria del Carmen Ruiz Ruiz. Mein besonderer Dank gilt Thresen Mathew und Lorenz Herdeis, mit welchen ich drei bzw. vier Jahre im H322 gelitten, geschuftet und gefeiert habe.
Katja Chiesa für die Zusammenarbeit auf diesem Projekt, ihre Abgeklärtheit, Stärke, das Erlernen einiger italienischer Schimpfwörter, die vielen Kaffeepausen und feucht fröhlichen Abende. Grazie mille!
Thomas Steinlin für die Unterstützung bei Computerproblemen, die netten Mittagspausen und die Diskussionen über gutes Essen.
Manuel Peifer, Marie-Pierre Collin und Martin Zimmermann für viele nette Gespräche und ehrliche Diskussionen
Jan Duchek für die gemeinsamen, friedlichen und schönen Wochen im Computerraum.
Daniel Egli und Fabio de Giacomo für ihr offenes Ohr, die vielen Ratschläge, die lustigen Mittagspausen und die Einführung in die schweizer Kultur und das Schweizerdeutsch (Ich sagte Kälin). Merci!
Tiziana Sonati für ihr Durchhaltevermögen als Praktikantin im Herbst 2007.
allen weiteren Mitgliedern der Vasella-Gruppe zwischen Juni 2005 und Oktober 2009

Laura Salonen, Ryan Gilmour, Tiziana Sonati, Rossana Ferrara, Laila Hossain und Gisela Fontaine für die Kaffepausen, gemeinsame Spinning-Stunden und die vielen Feierabendbiere.
Claudia Bich für die tolle Unterstützung in den letzten Monaten, die vielen Orangensäfte, das Messen und Layouten von Massenspektren und die selbstlose Beherbung im ‹Chez Bich›. Merci beaucoup pour tout.

Tatjana Hofmann für ihre Freundschaft seit Frankfurter Tagen und ihre Unterstützung ab der ersten Minute in Zürich, sowie die vielen Mittagessen und ihr offenes Ohr, vor allem wenn nichts mehr ging.
Thomas Westfeld für seine bedingungslose Freundschaft, die vielen Computerhilfen und -Tipps, das Messen von Tieftemperatur-NOE-Spektren und die vielen Käffschen, Mittagessen und die lustigen VAC-Treffen.
Bettine Boltres, Eva Bürckstümmer, Tatjana Hofmann und Nicole Jung für die vielen Treffen im Laufe der Jahre und die lustige Diplomandenzeit im AK Engels, sowie für die Freundschaft.
Kathrin Hermes, Grit Lehmann und Amelie Stritzke für ihre Freundschaft und Unterstützung all die Jahre.

Eric für seine Geduld, insbesondere während der Endphase, seine Unterstützung den Sprung über den grossen Teich zu wagen und es mit einer Transatlantikbeziehung zu versuchen.
meinen Eltern und Geschwistern für die moralische Unterstützung, die Hilfe bei der Beseitigung omnipräsenter Selbstzweifel und für ihre bedingungslose Liebe.
meinen beiden Großmüttern für die guten Worte und Oma Gerta für die endlose Versorgung mit hausgemachter Marmelade und Plätzchen.

Zusammenfassung

Seit Beginn der Forschung auf dem Gebiet der Nukleosidanalogen wurde die Struktur der Oligonukleotide auf mannigfaltige Weise abgewandelt, wobei sich die Veränderungen lediglich auf die strukturelle Abwandlung der Nukleobasen, der Glykosideinheit und/oder des Phosphodiester-Rückgrates bezogen. Bei all diesen Veränderungen blieb die Differenzierung zwischen einem zusammenhängenden Rückgrat und den Nukleobasen erhalten. Somit drängte sich die Frage auf, ob diese fundamentale Architektur eine unabdingbare Voraussetzung für die Paarung und für die Fähigkeit zur Bildung sekundärer Strukturelemente ist. Um diese Frage zu beantworten, entwarfen wir Nukleosidanaloge, in denen die Differenzierung zwischen einem zusammenhängenden Rückgrat und den Nukleobasen aufgehoben ist, also Oligonukleotidanaloge mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs: Oligonucleotide Analogues Integrating Backbone and Bases).

Da die zu Beginn dieser Doktorarbeit bereits synthetisierten thiomethylen-verknüpften Dinukleoside nicht in Wasser löslich waren, ersetzten *Katja Chiesa* und ich das Schwefelatom im Thioribofuranosyl-Verknüpfungselement durch eine Aminogruppe. Die höhere Polarität des 5'-Methylenamino-5'-desoxy-furanosyl-Verknüpfungselements sollte die Löslichkeit der Oligonukleotidanalogen in Wasser erhöhen und die Substitution der Aminogruppe mit einer hydrophilen Seitenkette erlauben.

Für die Synthese von Dinukleosiden, die aus Cytidinen und Guanosinen aufgebaut sind, mussten das C(5')-Azidocytidin **34** und C(5')-Azidoguanosin **23** sowie die entsprechenden C(6) bzw. C(8) formylierten Derivate **32** und **26** hergestellt

werden. Der Schlüsselschritt in der Synthese der aminomethylen-verknüpften Dinukleoside ist die Verknüpfung zweier Mononukleoside durch die Aza-*Wittig*-Reaktion eines Aldehyds mit einem Iminophosphoran und die Reduktion des resultierenden Imins, wobei das Phosphoran durch Reaktion eines Azids mit Trimethylphosphin hergestellt wird.
Nachdem ich die Bausteine für die Synthese der Dinukleoside hergestellt hatte, synthetisierte ich die aminomethylen-verknüpften C^*[N]G, G^*[N]C und G^*[N]G Dinukleoside **15**, **16** und **17**.
Die Synthese längerer Oligonukleoside erforderte an C(5') und C(6) bzw. C(8) selektiv – idealerweise orthogonal – geschützte Mononukleoside. Es war also geboten, einen C_1-Substituenten an C(6) der Cytidin- und an C(8) der Guanosinmononukleoside einzuführen und seinen Einfluss auf die Umwandlung des C(5')-Substituenten und auf die Verknüpfung zu Di- und Oligonukleosiden zu untersuchen.
Da sämtliche Versuche zur Einführung einer Formylgruppe an C(6) eines 5'-Azido- oder 5'-*N*-Acyl-aminocytidinderivates scheiterten, versuchte ich ein an C(6)-substituiertes Cytidinanaloges an C(5') mit einer Azidogruppe zu funktionalisieren. Als Schutzgruppe für die C(6)-Carbonylgruppe eignete sich die Diphenylimidazolidingruppe am besten. Sie liess sich leicht einführen und abspalten und erwies sich stabil unter den Reaktionsbedingungen, die für eine Überführung des Silylethers an C(5') in eine Azidogruppe verwendet wurden.
Die Mono- und Dinukleoside wurden auf ihre Konformation untersucht. Die Bevorzugung einer *gg*-Orientierung eines C(5')-Substituenten geht mit einer *anti*-Orientierung der Nukleobase einher, es sei denn es liegt eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3) bzw. O=C(2) vor. Nimmt die Nukleobase eine *syn*-Orientierung mit Bildung einer persistenten intramolekularen Wasserstoffbrücke an, so ist die *gg*-Konformation bevorzugt. Die beiden Cykloguanosine, bei welchen die Nukleobase *syn* orientiert sein muss bevorzugen ebenfalls die *gg*-Konformation. Für die Verbindungen, die eine *syn*-Konformation

annehmen und keine intramolekulare Wasserstoffbrücke bilden wird im Falle eines 5'-Oxysubstituenten die *gt* und im Falle eines 5'-Azidosubstituenten die *tg*-Konformation bevorzugt, um einer sterischen Wechselwirkung des C(5')-Substituenten und O=C(2) bzw. N(3) auszuweichen. Ausnahmslos alle Mono- und Dinukleoside bevorzugen die *N*-Konformation des Ribosylringes.

Die Struktur der Dinukleoside wurde mit Hilfe der NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie und CD-Spektroskopie untersucht. Die Analysen ergaben, dass das aus Cytidin und Guanosin aufgebaute Dinukleosid C^*[N]G **15** in $CDCl_3$ und $CDCl_3$/(D6) DMSO 9:1 einen cyklischen Duplex bildet.

Das Dinukleosid G^*[N]C **16** bildet in $CHCl_3$ einen Triplex, während das G^*[N]G-Dinukleosid **17** als Quartett vorliegt, also als Assoziat von vier G^*[N]G-Dinukleosiden. Die beiden Nukleobasen einer Dinukleosideinheit des Quartetts sind gestapelt und gehen mit zwei weiteren Dinukleosiden des Quartetts eine *Hoogsteen*-Basenpaarung ein. Die vier Dinukleoside bilden also ein Quartett welches, aus zwei cyklischen Duplexen besteht.

Abstract

Since the advent of research into nucleic acid analogues, the structures of oligonucleotides have been modified by changing the nature of the nucleobases, the glycosyl-moiety and/or the phosphodiester linkage. However, all known oligonucleotides and oligonucleotide analogues differentiate between a contiguous backbone and nucleobases attached to it. Unsurprisingly, a pivotal issue has been raised by this research. Namely, what effect does the fundamental change in structure have on base pairing and the formation of secondary structural elements? In an attempt to address this question, we designed and synthesised oligonucleotides with integrated backbones and bases (ONIBs).

At the beginning of my PhD it had already been shown that thiomethylene-linked dinucleosides which had been previously synthesised and analysed were only poorly watersoluble. Therefore, *Katja Chiesa* and I replaced the sulfur atom in the thiomethylenribofuranosyl-linker by an amino group. It was envisaged that the higher polarity of the 5'-methylenamino-5'-deoxy-furanosyl-linker would improve the solubility of these oligonucleotide-analogues in water and allow the substitution of the amino group with a hydrophilic side chain.

The synthesis of cytidine and guanosine-containing dinucleosides required a C(5')-azidocytidine **34** and a C(5')-azidoguanosine **23**, as well as the corresponding C(6)- and C(8)-aldehydes **32**, and **26**, respectively. The key step in the synthesis of the aminomethylene-linked dinucleosides was the coupling of two mononucleosides by an aza-*Wittig*-reaction of an aldehyde with an iminophosphorane and reduction of the resulting imine; the phoshporane was synthesised by reaction of

an azide with trimethylphosphine.

Following the synthesis of the mononucleoside building blocks I synthesised aminomethylene-linked C*[N]G, G*[N]C and G*[N]G dinucleosides **15**, **16**, and **17**. The synthesis of longer oligonucleotides required C(5') and C(6) respectively C(8) substituted and selectively protected mononucleosides. This required the introduction of a C_1-substituent at C(6) of cytidine and C(8) of guanosine, respectively, and its influence on the substitution at C(5') was studied.

All attempts to introduce a formyl group at C(6) of an 5'-azido- or 5'-*N*-acylaminocytidineanalogue were unsuccessful. Therefore attempts to functionalise a C(6)-substituted cytidine at C(5') with an azido group were initiated. The diphenylimidazolidine group proved best for the protection of the aldehyde. It was easily introduced and cleaved and stable under all reaction conditions needed to transform the silyl ether at C(5') into an azido group.

The conformation of the mono- and dinucleosides was analysed. Preference of a *gg* conformation of a C(5') substituent correlates with an *anti* orientation of the nucleobase, unless an intramolecular hydrogen bond between HO–C(5') and N(3) or O=C(2) is formed. If the nucleobase adapts a *syn*-conformation and forms an intramolecular hydrogen bond, then *gg* is prefered. The two cycloguanosines that are fixed in a *syn*-conformation exclusively show *gg*-orientation. A *syn*-orientation without a persistent hydrogen bond correlates, in the case of C(5')-oxy substituted nucleosides, with a prefered *gt*-conformation and in the case of C(5')-azido substituted nucleosides with the *tg*-conformation; the *gg*-conformation is disfavoured due to steric repulsion between the C(5')-substituent and O=C(2) or N(3). All mono- and dinucleosides prefer the *N*-conformation of the ribofuranosyl ring.

The structures of the dinucleosides were studied by NMR-spectroscopy, mass-spectrometry and CD-spectroscopy. The analysis showed that the cytidine and guanosine containing self-complementary dinucleoside C*[N]G **15** forms a cyclic duplex in $CDCl_3$ and $CDCl_3$/(D6)DMSO 9:1.

The dinucleoside G*[N]C **16** forms a triplex, a structure in which three dinucleo-

sides pair in a *Watson-Crick* manner. The G*[N]G-dinucleoside **17** forms a quartet, which is an associate of four G*[N]G-dinucleosides. The nucleobases of each dinucleoside-unit are stacked and give rise to *Hoogsteen* base pairing with two other dinucleoside units. Therefore the quartet consists of two cyclic duplexes.

Inhaltsverzeichnis

1 Problemstellung **3**

1.1 Allgemeine Bemerkungen 3

1.2 Dinukleotidanaloge mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen . . 5

1.3 Ziel dieser Arbeit 10

2 Einleitung **13**

2.1 G-Quartette 13

2.1.1 Allgemeine und historische Betrachtungen 13

2.1.2 Struktur lipophiler G-Quartette 16

2.1.3 Struktur der Quadruplex-DNA-Sequenzen 20

2.1.4 Biologische Bedeutung der G-Quartette 25

2.2 Analytische Methoden 30

2.2.1 NMR-Spektroskopie 30

2.2.2 Elektrospray-Massenspektrometrie 38

2.2.3 UV-Spektroskopie 40

2.2.4 CD-Spektroskopie 42

2.2.5 Dampfdruckosmometrie 45

2.2.6 Röntgenstrukturanalyse 47

2.2.7 Infrarot-Spektroskopie 48

3 Ergebnisse **49**

3.1 Synthese der an C(6)/I bzw. C(8)/I unsubstituierten Dinukleoside . 50

3.1.1 Synthese der Mononukleoside 50
3.1.2 Konformation der Mononukleoside 53
3.1.3 Synthese der Dinukleoside 64
3.1.4 Konformation und Assoziationsverhalten der selbstkomplementären aminomethylen-verknüpften Guanosin- und Cytidin-Dinukleoside 70
3.1.5 Assoziation eines aminomethylen-verknüpften Guanosin-Dinukleosids zu G-Quartetten 83
3.2 Bausteine für die Synthese von an C(6)/I bzw. C(8)/I substituierten Dinukleosiden 97
3.2.1 Synthese der Mononukleoside 97
3.2.2 Konformationsanalyse der Mononukleoside 113

4 Ausblick 127

5 Experimentalteil 129
5.1 Synthese der an C(6)/I bzw. C(8)/I unsubstituierten Dinukleoside . 131
5.1.1 Synthese der Guanosin-Mononukleoside 131
5.1.2 Synthese der Cytidin-Mononukleoside 139
5.1.3 Synthese der Dinukleoside 145
5.2 Bausteine für die Synthese von an C(6)/I bzw. C(8)/I substituierte Dinukleoside 158
5.2.1 Synthese der Uridin-Mononukleoside 158
5.2.2 Synthese der Cytidin-Mononukleoside 164
5.2.3 Synthese der Guanosin-Mononukleoside 170

A Anhang 187
A.1 Kristallographische Daten 187
A.2 Abkürzungen 189

1 Problemstellung

1.1 Allgemeine Bemerkungen

Die Struktur der Oligonukleotide wurde auf mannigfaltige Weise abgewandelt, wobei sich die Veränderungen auf die Nukleobasen, die Glykosideinheit und/oder das Phosphodiester-Rückgrat bezogen [1]. All diese Veränderungen unterscheiden zwischen einem zusammenhängenden Rückgrat und den damit verknüpften Nukleobasen. Somit drängt sich die Frage auf, ob diese fundamentale Architektur eine unabdingbare Voraussetzung für die Basenpaarung und die Fähigkeit zur Bildung sekundärer Strukturelemente ist. Um diese Frage zu beantworten entwarfen wir Nukleosidanaloge, in denen die Unterscheidung zwischen einem zusammenhängenden Rückgrat und den Nukleobasen aufgehoben ist (Abb. 1.1), also Oligonukleotidanaloge mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs: Oligonucleotide Analogues Integrating Backbone and Bases) [2]. ONIBs verknüpfen C(5') einer Nukleosideinheit mit C(8) eines benachbarten Purins bzw. C(6) eines benachbarten Pyrimidins[1]. Teilweise geschützte, in Chloroform lösliche Dinukleoside mit unterschiedlichen Verknüpfungselementen paaren tatsächlich in diesem Lösungsmittel [5–7], allerdings nur dann, wenn eine *gg/syn* Konformation energetisch zugänglich ist, wobei sich *gg* auf die C(4'), C(5') Bindung be-

[1] Eine ausführliche Beschreibung dieses Nukleosidprojektes ist in den Dissertationen von *Fabio de Giacomo* und *Katja Chiesa* zu finden [3, 4].

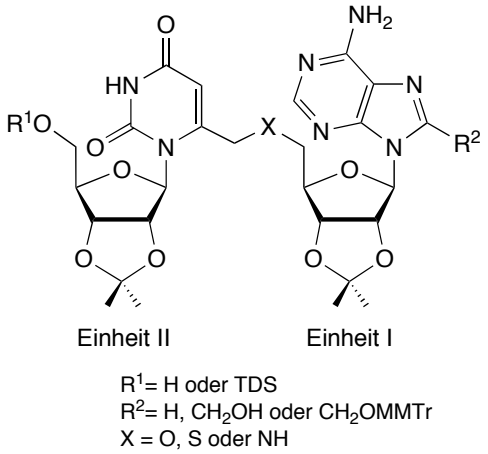


Abbildung 1.1: Dinukleotidanaloge mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs)

zieht und *syn* in der gängigen Bedeutung die Orientierung der Base zum Ribofuranosylrest spezifiziert. Selbstkomplementäre, paarende Dinukleoside mit Oxy-, Thio- und Aminomethylengruppen als Verknüpfungselement sind in der Abb. 1.1 gezeigt. Wurden die genannten Bedingungen nicht erfüllt, so bilden die entspre-

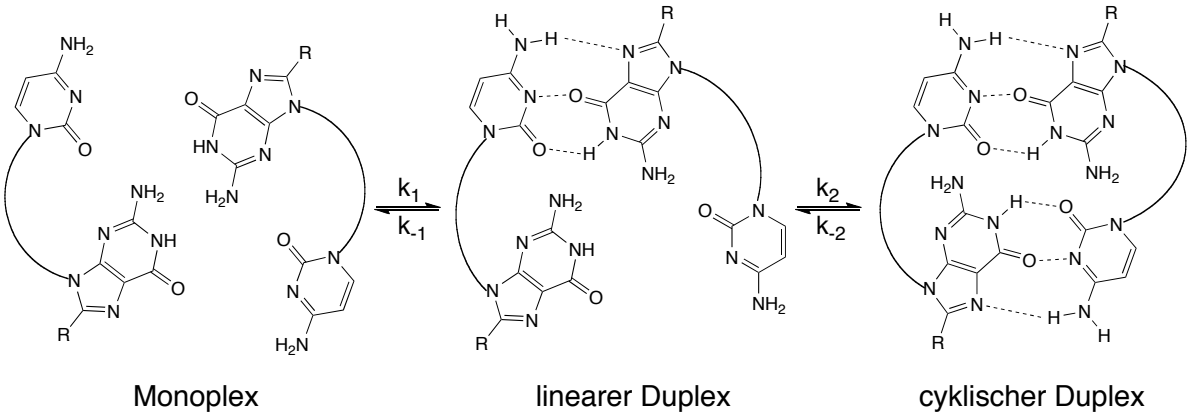


Abbildung 1.2: Gleichgewichte zwischen Monoplex, linearem Duplex und cyklischem Duplex

chenden Dinukleoside lineare Duplexe, assoziieren also unter Bildung nur eines

Basenpaares (was die Bildung höherer Assoziate grundsätzlich ermöglicht), während eine Paarung – also die Bildung cyklischer Duplexe – solcher Dinukleoside mit der Bildung zweier Basenpaare einhergeht (Abb. 1.2). Chloroform wurde als Lösungsmittel gewählt, weil es die Bildung von Wasserstoffbrücken begünstigt und die Paarung schon von Dinukleosiden grundsätzlich ermöglicht, während die „natürliche“ Paarung in wässrigen Lösungen längere Oligomere – also einen weit grösseren synthetischen Aufwand – erfordert, da Wasser als Konkurrent zu den Basenpaarungen über Waserstoffbrücken wirkt und die hydrophoben Wechselwirkungen schwächer sind. Das Gleichgewicht zwischen linearen und cyklischen Duplexen wird somit von der Konstitution, der Konfiguration und der Konformation des Verknüpfungselements und entscheidend von der Orientierung der Nukleobase zum Ribofuranosylrest (*syn/anti*), der erwähnten *gg*-Konformation und auch von der Konformation des Ribofuranosylrests (*S/N* Faltung des Ribosylringes) bestimmt [8].
Diese Ausführungen lassen erahnen, dass bisher viele Fragen unbeantwortet geblieben sind, zumal die meisten Erkenntnisse sich auf die Untersuchung von Di- und Tetranukleosiden stützen, die sich nur von Adenosin (A) und Uridin (U) ableiten.

1.2 Dinukleotidanaloge mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen

Im Folgenden gehe ich kurz auf die bislang synthetisierten oxy-, thio- und aminomethylenverknüpften Dinukleotidanalogen ein, welche überwiegend cyklische Duplexe bilden. In einem weiteren Kapitel der Einleitung werde ich die analytischen Methoden behandeln, die zur Unterscheidung von cyklischen und linearen Duplexen eingesetzt wurden.

Oxymethylenverknüpfte Dinukleoside *Andrew Matthews* und *Punit Bhardwaj* synthetisierten $U^*[O]A^{(*)}$ Dinukleoside[2], wobei nur das $U^*[O]A^*$ Dinukleosid (**1**) in $CHCl_3$ eindeutig einen cyklischen Duplex bildet (Tab. 1.3). Alle anderen, zusätzlich geschützten, oxymethylenverknüpften Dinukleoside assoziierten unter der Bildung von linearen Duplexen oder einer Mischung aus linearen und cyklischen Duplexen [5, 6].

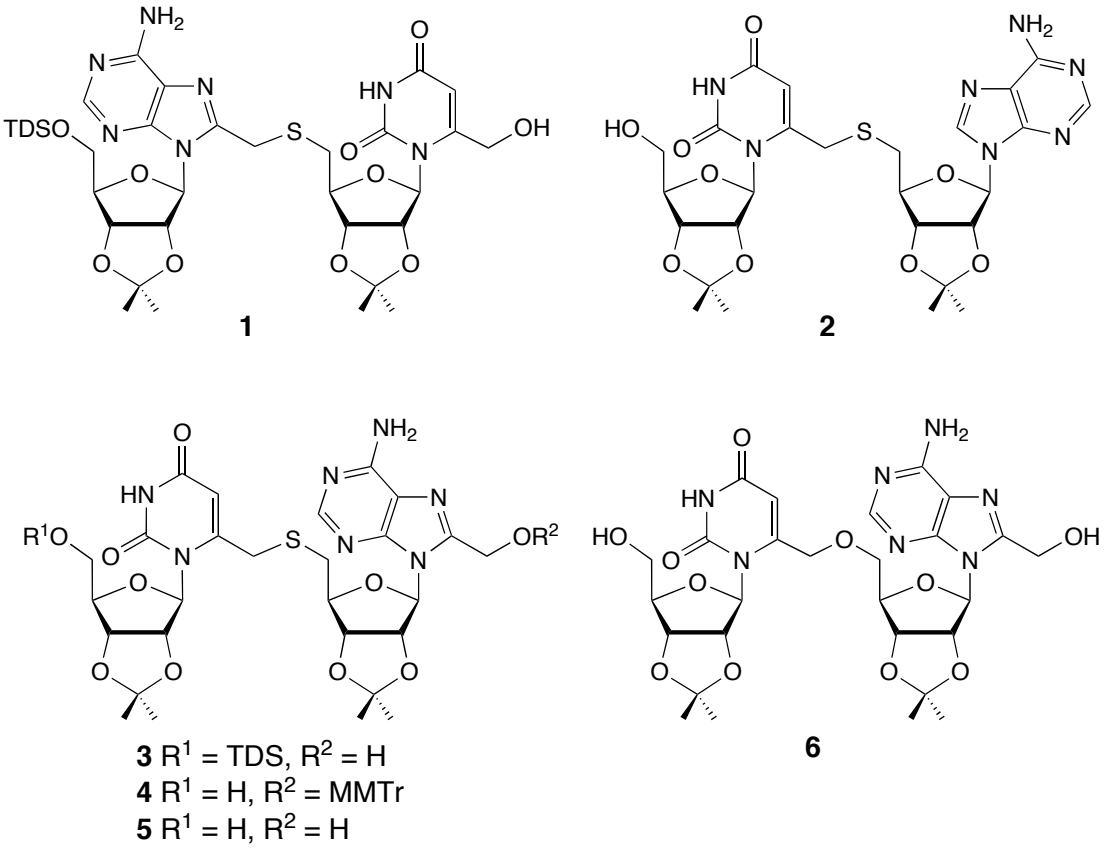


Abbildung 1.3: Oxy- und thiomethylenverknüpfte Dinukleoside, die cyklische Duplexe bilden

[2] *Konvention der Abkürzungen:* Die Substitution an C(6) der Pyrimidine und an C(8) der Purine ist durch einen Stern * gekennzeichnet; z. B. C^* und G^* für die alkylierten Cytidin- bzw. Guanosinanalogen. Die Verknüpfung von C(6)–CH_2 oder C(8)–CH_2 mit C(5') der vorangegangenen Einheit ist durch eckige Klammern, z. B. [N] für eine Aminogruppe, angegeben.

Thiomethylenverknüpfte Dinukleoside Da die $A^*[O]U^{(*)}$ Dinukleoside nicht synthetisiert werden konnten, wurde der Sauerstoff des Verknüpfungselements durch Schwefel ersetzt. Die höhere Nukleophilie der für die Synthese benötigten Thiolate sollte die Kupplung mit einem an C(6)–CH_2 bzw. C(8)–CH_2 mit einer Abgangsgruppe substituierten Elektrophilen vereinfachen oder erst ermöglichen. *Anne Ritter* begann mit der Synthese der thiomethylenverknüpften Di- und Tetranukleoside, wobei die Dinukleoside **1**–**5** (Abb. 1.3) cyklische Duplexe – mit $-\Delta G$-Werten zwischen 4.2 für **3** und 6.0 kcal/mol für **5** für die Assoziation in $CDCl_3$ (Tab. 1.1) – bildeten [7]. *Daniel Egli* [9] wies nach, dass ein $G^*[S]G$ Dinukleosid G-Quartette bildet. Eine dampfdruckosmometrische Bestimmung einer 5 mM Lösung des Dinukleosids in $CHCl_3$ ergab ein mittleres Molekulargewicht von 3341 g/mol, welches annähernd $4M+NH_4^+$ (3286 g/mol) entspricht. ESI-MS-Untersuchungen im Konzentrationsbereich von 0.25 – 5 mM des selben Dinukleosid bestätigten einen Assoziationsgrad von vier.

Tabelle 1.1: Thermodynamische Daten der oxy- und thiomethylenverknüpften Dinukleoside [6, 7]

	K_{ass} $[M^{-1}]$	$-\Delta G_{295}$ [kcal/mol]	$-\Delta H$ [kcal/mol]	$-\Delta S$ [kcal/mol·K]	Anzahl H-Brücken
1	3373	4.8	13.8	30.2	4
2	1529	4.3	12.5	27.4	4
3	1259	4.2	14.8	34.3	4
4	4294	4.9	13.9	31.1	4
5	28100	6.0	[a])	[a])	[a])
6	40286	6.0	22.2	54.8	4

[a]) nicht bestimmt

Aminomethylenverknüpfte Dinukleoside *Alyena Shvoryna*[3] berechnete die energieärmsten Konformationen der A* und U* aminomethylenverknüpften Dodekameren. *Katja Chiesa* [4] synthetisierte und analysierte eine Reihe aminome-

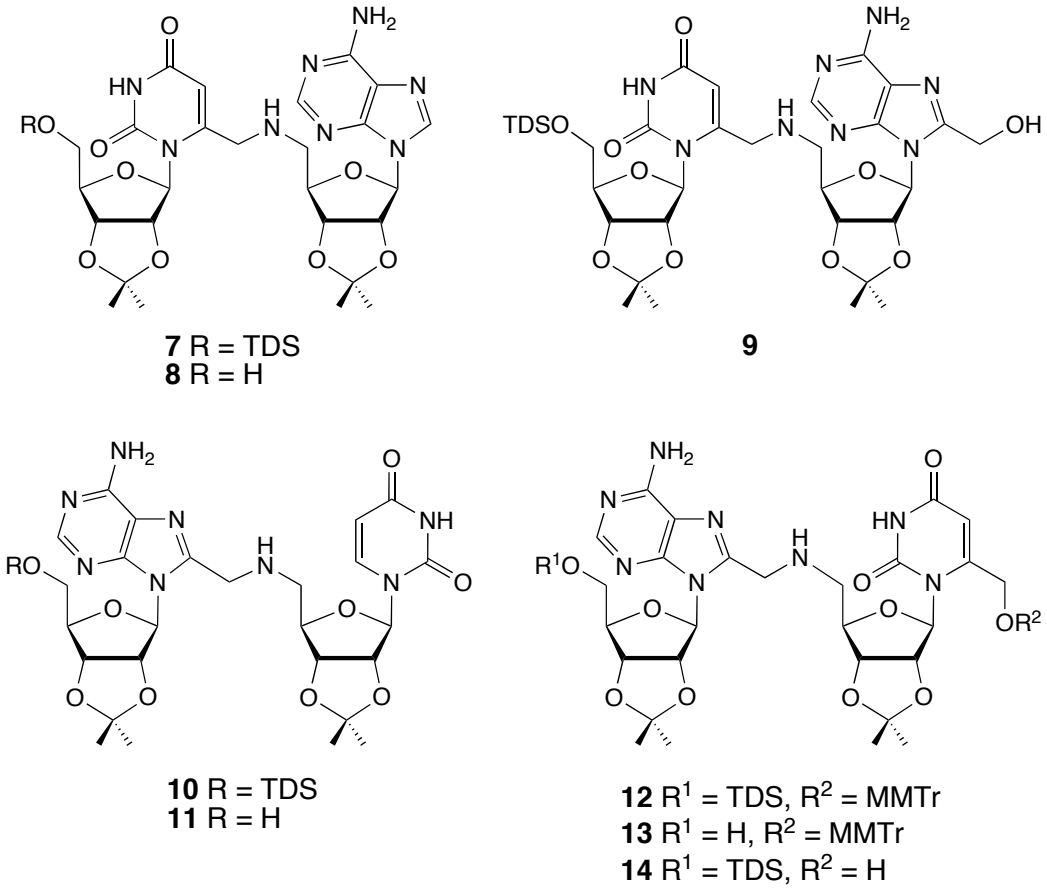


Abbildung 1.4: Aminomethylenverknüpfte Dinukleoside, die cyklische Duplexe bilden

thylenverknüpfter Uridin- und Adenosin-Dinukleoside.

Im Gegensatz zu den A*[S]U Dinukleosiden bilden die A*[N]U Dinukleoside (**10** und **11**) cyklische Duplexe. Die A*[N]U* Dinukleoside **12–14** bilden ebenfalls

[3]Mitglied der Gruppe von 2004–2005 im Rahmen eines Forschungsaufenthaltes am Laboratorium für Organische Chemie der ETH Zürich.

cyklische Duplexe, wobei **14** etwa 27-mal stärker assoziiert als das entsprechende $A^*[S]U^*$ Dinukleosid **6**. Die $U^*[N]A^{(*)}$ Dinukleoside assozieren dagegen weniger stark als die sequenzisomeren $A^*[N]U^{(*)}$ Dinukleoside, was durch eine mässig persistente intramolekulare N–H· · ·N(3) Wasserstoffbrücke verursacht wird. Obschon die $U^*[N]A^{(*)}$ Dinukleoside einen cyklischen Duplex bilden, sind die ΔH-Werte deutlich grösser als jene der $A^*[N]U^{(*)}$ Sequenzisomeren (Tab. 1.2). Aus den ΔH Werten der Assoziation berechnet sich ein durchschnittlicher ΔH Wert für eine Wasserstoffbrücke von −2.5–3 kcal/mol, während sich für die Sequenzisomeren ein durchschnittlicher ΔH-Wert von −3.5–4 kcal/mol berechnet. Das Assoziationsverhalten wurde in der Dissertation von *Katja Chiesa* [4] einge-

Tabelle 1.2: Thermodynamische Daten der Assoziation der aminomethylenverknüpften Dinukleoside [4]

	K_{ass} $[M^{-1}]$	$-\Delta G_{295}$ [kcal/mol]	$-\Delta H$ [kcal/mol]	$-\Delta S$ [kcal/mol·K]	Anzahl H-Brücken
7	872	3.9	10.8	23.4	4
8	1291	4.2	9.5	20.3	4
9	4779	5.0	12.1	26.2	4
10	3454	4.8	16.6	38.7	4
11	2429	4.6	16.8	41.3	4
12	5663	5.0	15.3	34.8	4
13	20331	5.4	17.4	40.8	4
14	90990	6.7	15.3	30.0	4

hend diskutiert und rationalisiert; die Analyse bestätigt die zur Paarung erforderte *syn*-Konformation und den störenden Einfluss einer intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen dem Verknüpfungselement und der Nukleobase; zudem legt es den

Schluss nahe, dass eine bevorzugte *ap/ap* Konformation des Verknüpfungselements besonders günstig ist [7].

1.3 Ziel dieser Arbeit

Da das U*[S]A* Dinukleosid **5** [7,10] nur schlecht wasserlöslich ist, ersetzte *Katja Chiesa* das Schwefelatom im Thioribofuranosyl-Verknüpfungselement durch eine Aminogruppe. Die höhere Polarität des 5'-Methylenamino-5'-desoxy-furanosyl-

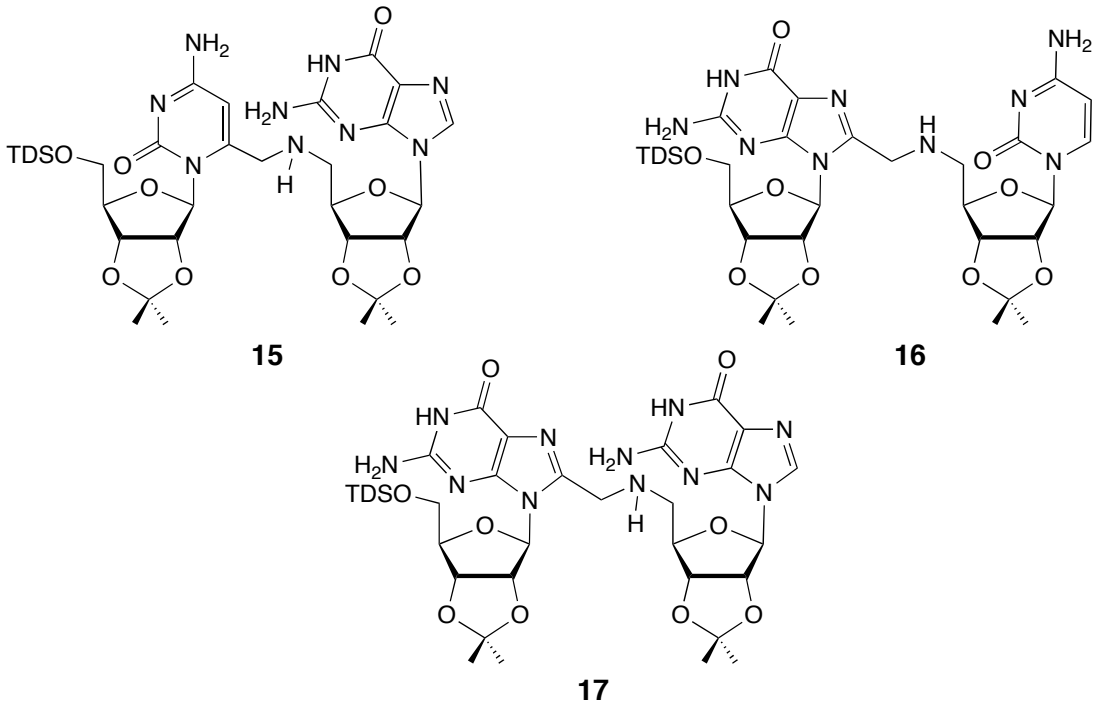


Abbildung 1.5: Aminomethylenverknüpfte Guanosin- und Cytidin-Dinukleoside

Verknüpfungselements sollte die Löslichkeit der Oligonukleotidanalogen in Wasser erhöhen und wenn nötig, die Substitution der Aminogruppe mit einer hydro-

philen Seitenkette erlauben[4]. Die aminomethylenverknüpften ONIBs unterscheiden sich von den bislang untersuchten ausserdem dadurch, dass die Aminogruppe des Verknüpfungselements eines Oligonukleotidanalogen über ein weiteres Verknüpfungselement mit der Aminogruppe eines zweiten Oligonukleotidanalogen verbunden werden könnte, z.B. durch Acylierung der Aminogruppen mit einer aktivierten Dicarbonsäure, unter Bildung zweier Amidbindungen.

Ziel dieser Arbeit war es, von Guanosin und Cytidin abgeleitete aminomethylenverknüpfte Dinukleoside herzustellen und ihre Assoziation unter besonderer Berücksichtigung der Frage nach der Bildung von Quartetten und allenfalls Quadruplexen zu untersuchen (Abb. 1.3).

[4]In der Zwischenzeit belegte *Lorenz Herdeis* [11] allerdings, dass sowohl die C^{*}[S]$C^{(*)}$ Dinukleoside als auch das C^{*}[S]C^{*}[S]C^{*}[S]C Tetranukleosid im Gegensatz zu den thiomethylenverknüpften Adenosin und Uridin Dinukleosiden wasserlöslich sind.

2 Einleitung

Nachdem *Daniel Egli* [9] beobachtet hatte, dass ein G*[S]G Dinukleosid ein Quartett bildet, erschien es naheliegend und vielversprechend (mit Rücksicht auf die noch vorzustellende Bedeutung von Quartetten und Quadruplexen), aminomethylenverknüpfte guanosinhaltige Dinukleoside herzustellen und zu untersuchen. Da sich die Methoden zum Nachweis der Bildung cyklischer Duplexe und der Bildung von Quadruplexen etwas voneinander unterscheiden, erscheint es zudem sinnvoll, auf einige dieser Methoden einzugehen.

2.1 G-Quartette

2.1.1 Allgemeine und historische Betrachtungen

Bereits 1910 teilte *Bang* [12] mit, die isolierte Guanylsäure sei eine Verbindung, die in Lösung dem vierfachen Molekulargewicht entspräche. Somit gilt diese Publikation als erster Hinweis auf ein G-Quartett, wenn auch die Struktur erst 50 Jahre später von *Gellert et al.* 1962 [13] als tetramere Anordnung des selbstassoziierenden 5'-Guanosinmonophosphates und des 3'-Guanosinmonophosphates durch Röntgenbeugungsexperimente aufgeklärt wurde:
"In such an arrangement, there are now two hydrogen bonds per base compared with one for each of the dimers, and one would expect this to be a particularly

stable structure. The existence in solution of planar tetramers of this kind could then result in the formation of linear aggregates formed by stacking the tetramers on top of each other, since the large planar surfaces would result in strong van der Waals attractions.”

Als G-Quartett wird die quadratische Anordnung von vier Guaninbasen bezeichnet. In Anwesenheit von Kationen können G-Quartette stapeln. Stapeln mindestens 2 Quartette, so bezeichnet man diese Strukutur als G-Quadruplex.

Das bis heute gültige und durch Kristallstrukturbestimmung nachgewiesene Modell eines Quartetts weist Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Donoren H–N(1) und H–N(2) (*Watson-Crick* Seite) eines Guanosins mit den beiden Akzeptoren N(7) und O(6) (*Hoogsteen* Seite) eines benachbarten Guanosins auf (Abb. 2.1.1), wobei eine Guaninbase sowohl als Donor als auch als Akzeptor fungiert. Das daraus resultierende G-Quartett ist ein planarer Makrocyklus der durch acht Wasserstoffbrücken zusammengehalten wird. Ist die Orientierung der Guaninbase zum Ribofuranosylring für alle vier Guanosine gleich, so ist das G-Quartett C_4 symmetrisch.

Kein Nukleosid neigt stärker zur Selbstassoziation als Guanosin. Zum einen ha-

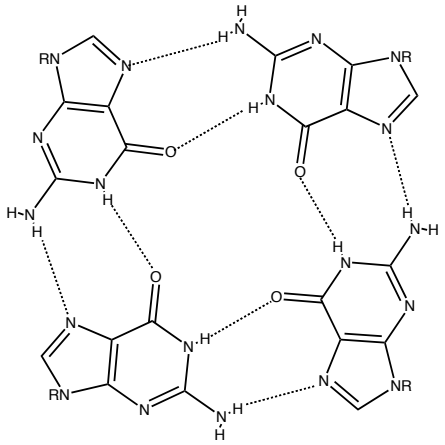


Abbildung 2.1: Struktur eines G-Quartetts (die Ribofuranosylreste wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen)

Tabelle 2.1: Länge der Wasserstoffbrücken in den Kristallstrukturen einiger G-Quartette

	D–H···A	d(D···A)	Datenbankeintrag
16 **G4**· 3 K^+·Cs^+	N(1)–H···O(6)	2.868	CSD QIPDOI [17]
	N(2)–H···N(7)	2.897	
d[AGGG(TTAGGG)$_3$]· 3 K^+	N(1)–H···O(6)	2.838	PDB 1KF1 [18]
	N(2)–H···N(7)	2.867	
2 d[5BrU-AG$_3$-5BrU-TAG$_2$T]· 2 K^+	N(1)–H···O(6)	2.743	PDB 1K8P [18]
	N(2)–H···N(7)	2.840	
2 d[GGGG-5BrU-TTTGGGG]· 5 K^+	N(1)–H···O(6)	2.888	PDB 1JPQ [19]
	N(2)–H···N(7)	2.888	
4 d[TGGGGT]· 4 K^+	N(1)–H···O(6)	2.838	PDB 244D [20]
	N(2)–H···N(7)	2.867	

ben die Seiten des Guanosins selbst-komplementäre Wasserstoffbrücken-Donoren und -Akzeptoren, zum anderen ist die polarisierbare, aromatische Oberfläche ideal für eine Basenstapelung [14]. In Anwesenheit von Kationen (z.B. K^+), bindet eine Guaninbase an das Kation, wodurch die Base polarisiert und die Fähigkeit der Donoren und Akzeptoren zur Bildung von Wasserstoffbrücken erhöht wird. So assozieren vier Guanosinderivate zu einem G-Quartett im *Hoogsteen* Modus [15]. Dann stapeln mehrere beispielsweise mit K^+ assoziierte G-Quartette mit einem Verdrillungswinkel von 30° und einem Abstand von 3.3 Å [16], wodurch ein K^+-Ion von acht O(6)-Carbonylsauerstoffen komplexiert wird, was zu einer Stabilisierung des Quadruplexes führt. Im lipophilen Guanosinderivat **G4** (Abb. 2.4) sind die Bindungslängen ähnlich wie in monomolekularen (PDB 1KF1, Abb. 2.7), bimolekular-antiparallelen (PDB 1JPQ, Abb. 2.9), bimolekular-parallelen (PDB 1K8P, Abb. 2.8) und tetramolekular-parallelen (PDB 244D, Abb. 2.10) DNA-G-Quadruplexen (siehe Tab. 2.1).

In den späten 1970er Jahren wurde von *Pinnavaia et al.* [21] erstmals die Stabi-

lisierung der G-Quartette durch Metallkationen beschrieben. Demnach stabilisiert das Kaliumkation die G-Quartette besonders gut, wobei die stabilisierende Wirkung der Kationen im Salz des selbstassoziierenden 5'-Guanosinmonophosphates wie folgt abnimmt: $K^+ > Na^+$, $Rb^+ » Li^+$, Cs^+ und zu folgendem Fazit führte:
"We believe this to be the first demonstration of the ability of alkali metal ions to direct structure formation of a nucleotide through a size-selective coordination mechanism " [21].
K^+-Ionen sind zu gross, um quadratisch planar mit den vier Carbonylgruppen eines G-Quartetts wechselzuwirken. Stattdessen liegt ein K^+-Ion zwischen zwei G-Quartett-Ebenen und wechselwirkt somit bipyramidal mit acht Carbonylgruppen unter Bildung eines $G_8 \cdot K^+$-Oktameren. Sogenannte „leere" G-Quartette, die ohne Metallkationen auftreten, sind nur bei lipophilen G-Quartetten bekannt, also bei solchen, die sich in organischen Lösungsmitteln wie $CHCl_3$ oder MeCN untersuchen lassen [22]. Obwohl G-Quartette seit den 1960er Jahren bekannt sind, fanden sie erst in den späten 1980er Jahren Beachtung, als die biologische Bedeutung der *in vitro* vorliegenden G-Quartette an einzelsträngiger DNA einer telomeren Sequenz, entdeckt wurde [23, 24].

2.1.2 Struktur lipophiler G-Quartette

1990 schrieb *Guschlbauer* in einem Review: *"Water appears to be an indispensable solvent for the autoassociation of guanosine, at least in the temperature ranges studied. Organic solvents give rise to poorly organized aggregates"* [25].
Da Guanosinnukleoside und -nukleotide in den meisten organischen Lösungsmittleln nicht löslich sind, konnte ihre Selbstassoziation in Lösungsmitteln wie Chloroform und Acetonitril erst nach Substitution der Hydroxygruppen des Ribofuranosylrestes durch lipophile Schutzgrupen untersucht werden. Mitte der 1990er Jahre konnten *Gottarelli et al.* zeigen, dass **G1** Kaliumpikrat aus Wasser in Chloroform zu extrahieren vermag. Dadurch bildete sich ein Oktameres mit einem stabi-

lisierenden K^+-Ion im Zentrum (Abb. 2.2). Wie in Wasser, ist auch in Chloroform das K^+ unabdingbar für die Bildung und die Stabilität des G-Oktameren, da **G1** in Abwesenheit von K^+ zwei verschiedene Arten von Guanosinketten bildet (Abb. 2.3) [26].

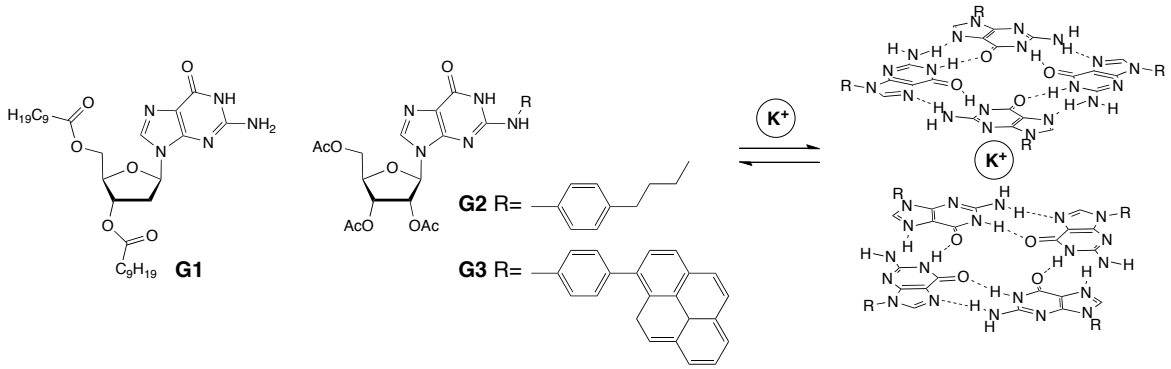


Abbildung 2.2: Lipophile Guanosinderivate, die ein Oktameres bilden [26]

Die lipophilen G-Quartette dienen als Modell für DNA G-Quadruplexe, um nichtkovalente Wechselwirkungen zu untersuchen. Da lipophile G-Quartette kein Phosphatrückgrat haben, an das Kationen binden können, können direkt die Wechselwirkungen der Kationen mit den Nukleobasen untersucht werden [27]. Eine Kristallstruktur von **G4** zeigt ein Hexadekameres mit drei K^+-Ionen zwischen den vier Quartettebenen, wobei der Quadruplex zusätzlich durch ein Cs^+-Ion stabilisiert ist, welches über dem oberen Quartett angeordnet ist (Abb. 2.4). Die Struktur des Hexadekameren mit vier K^+-Ionen wurde durch die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in einer Acetonitril-Lösung nachgewiesen. Da Guanosine zwei Wasserstoffbrückenakzeptoren an der *Hoogsteen*-Seite und zwei Wasserstoffbrückendonoren an der *Watson-Crick*-Seite aufweisen, können die Guanosinderivate je nach Bedingung zu Dimeren, Ketten oder Quartetten assoziieren. In Abwesenheit

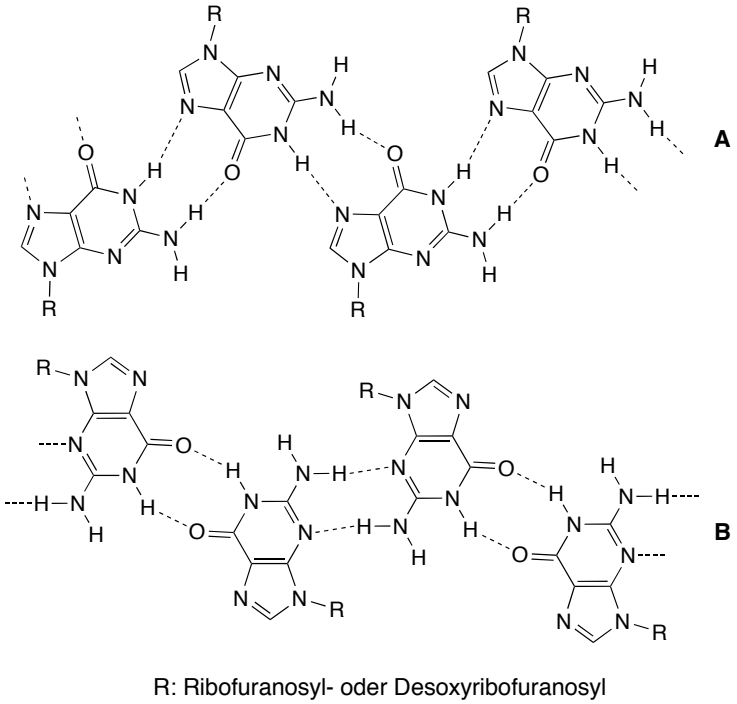


Abbildung 2.3: A: Guanosinkette, wie sie im Feststoff vorliegt; B: Guanosinkette, wie sie in $CHCl_3$ vorliegt

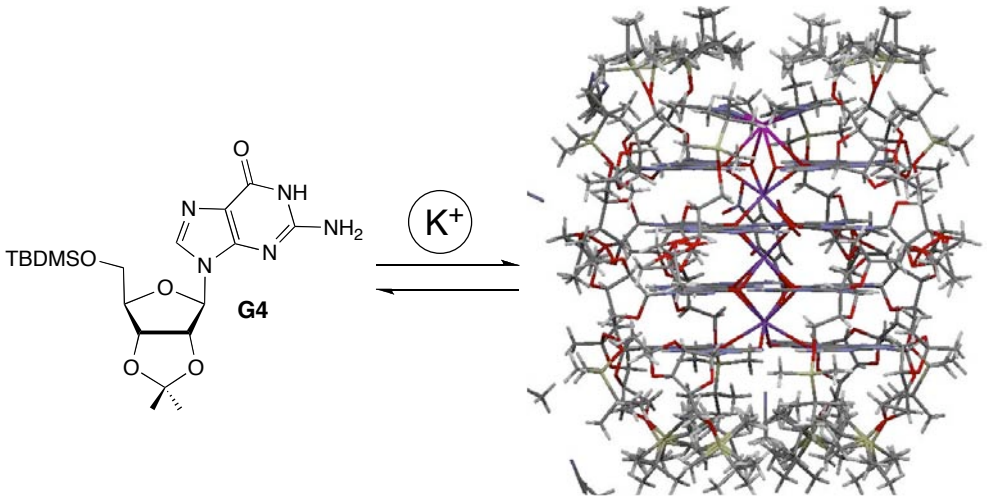


Abbildung 2.4: Lipophiles Guanosinderivat, das ein Hexadekameres bildet [27], K^+ ist violettfarben, Cs^+ rosafarben dargestellt

von mono- oder divalenten Kationen bilden die lipophilen Guanosinderivate meist Guanosinketten, während sich in Anwesenheit gewisser Kationen in der Regel G-Quartette bilden [28].

Mit Ausnahme des 8-Oxoguanosins, welches Guanosinketten bildet [29], bilden andere C(8) substituierte Monomere in Abwesenheit von Kationen sogenannte „leere“ G-Quartette. *Sessler et al.* zeigte, dass G-Quartette sich nur dann in Abwesenheit von Kationen bilden, wenn C(8) des Guanosins substituiert ist und damit die Nukleobase *syn* zum Ribofuranosylrest steht [22]. Durch die *syn*-Konformation ist N(3) des Guanosins sterisch gehindert, so dass keine Guanosinketten, sondern nur *Hoogsteen*-Basenpaare gebildet werden können, was zwangsläufig zu G-Quartetten führt (Abb. 2.5).

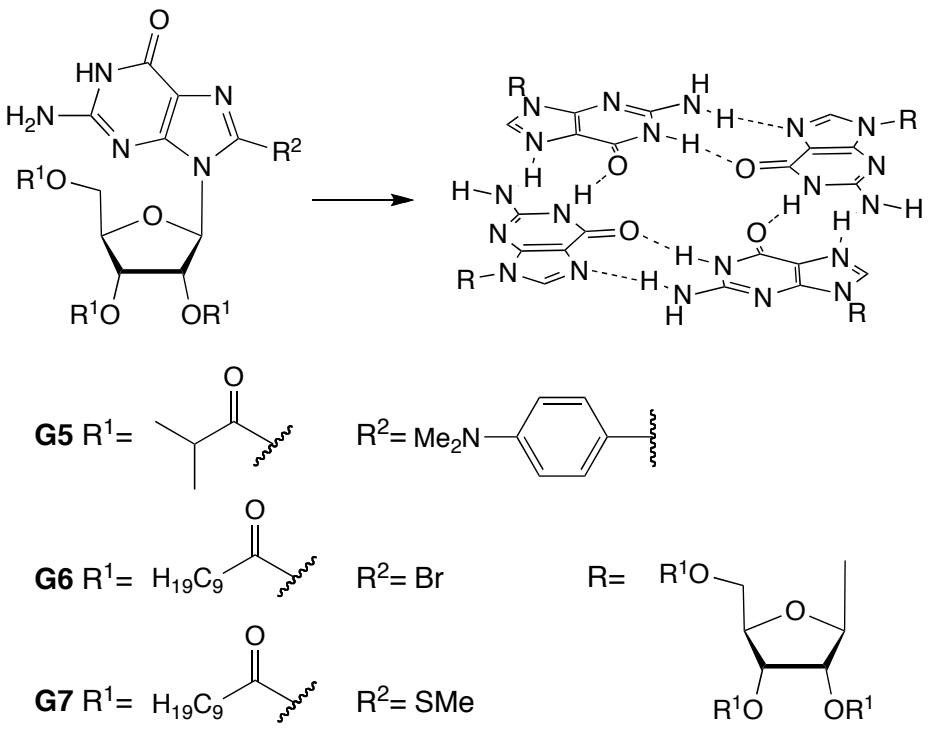


Abbildung 2.5: Lipophile Guanosinderivate, die leere Quartette bilden [22, 29]

2.1.3 Struktur der Quadruplex-DNA-Sequenzen

Guaninreiche DNA-Sequenzen, welche durch Quadruplex-bildende Abschnitte charakterisiert sind, kommen an den Enden der Chromosomen (Telomere), in Genpromotoren und an Rekombinationsstellen vor [30]. Die Torsionswinkel der Quadruplex-DNA-Sequenzen besitzen eine für doppelsträngige DNA typische Grösse. Die Basen stapeln mit einer helikalen Windung von 30° und einer Ganghöhe von 3.3 Å und die Ribofuranosyleinheit nimmt eine ähnlich energiearme Konformation an, wie sie auch in anderen DNA-Motiven vorkommt (Tab. 2.2).
Jene Faktoren, die für die Stabilisierung der doppelsträngigen DNA sorgen, nämlich Basenstapelung, Wasserstoffbrückenbindungen und elektrostatische Wechselwirkungen, sorgen auch für die Stabilität der Quadruplex-DNA-Sequenzen. Allerdings kommt in der Quadruplex-DNA ein wichtiger destabilisierender Faktor hinzu, nämlich die Anordnung der O(6)-Carbonylgruppen im Zentrum des Quadruplexes. Die O(6)-Atome im Quartett sind quadratisch-planar angeordnet, was bei der Stapelung zweier Quartette zu einer bipyramidalen, antiprismatischen Anordnung von acht O(6)-Atomen im Quadruplex führt. Die negative Partialladung dieser acht O(6)-Atome wird entweder durch zwei Na^+-Ionen stabilisiert, die in den G-Quartettebenen liegen oder durch ein K^+-Ion, welches zwischen den beiden G-Quartettebenen liegt. Die Grösse und Ladung des Kations hat dabei einen grossen Einfluss auf die Stabilität des Quadruplexes [16], wobei die Kationen den Quadruplex sowohl kinetisch als auch thermodynamisch stabilisieren [31]. Wie schon gesagt wurde, werden Quadruplexe besonders gut von K^+-Ionen stabilisiert und da K^+ bei weitem die höchste Konzentration innerhalb der Zelle aufweist (ca. 150 mM) dürfte dies auch *in vivo* der Fall sein.
Ein Quadruplex entsteht entweder durch Faltung eines DNA-Einzelstrangs (monomolekularer Quadruplex) oder durch Assoziation mehrerer DNA-Stränge (bi- oder tetramolekularer Quadruplex) [31].

Tabelle 2.2: Zusammenfassung der strukturellen Parameter der Duplex- und Quadruplex-DNA [16]

Struktureinheit	B-DNA	A-DNA	Z-DNA	Quad-p	Quad-anti-p
Ganghöhe pro Nukleotid (Å)	3.4	2.9	3.7	3.1	3.3
Helikale Windung (°)	36.7	32.7	-10/-50	30.0	30.0
Furchenbreite (Å)	11.7/5.7	2.7/11	8.5	10.2	12 8.9/12.2
Strangpolarität	+ −	+ −	+ −	+ + + +	+ − + − + − − − + + − −
Helikaler Drehsinn	RH	RH	LH	RH	RH
Basenpaar pro Helixwindung	10.5	11.0	12.0	12.0	12.0
Faltung des Ribosylrings	C2'-*endo*	C3'-*endo*	C2'-*endo* (C, T) C3'-*endo* (A, G)	C2'-*endo*	C2'-*endo*
Quad-p: paralleler Quadruplex; Quad-anti-p: antiparalleler Quadruplex RH: rechtshändig; LH: linkshändig					

Bildet sich ein Quadruplex aus weniger als vier Einzelsträngen, so müssen die vier Einheiten zwangsläufig durch Nukleotidschleifen miteinander verbunden sein. Sowohl die Basensequenz der Nukleotidschleifen, als auch die Konformation der Nukleobase (*syn* bzw. *anti*) sind strukturbestimmend. In parallelen G-Quadruplexen sind die glykosidischen Torsionswinkel entweder *anti* oder *syn*, meist jedoch *anti*, während sie in antiparallelen Quadruplexen alternierend *syn* und *anti* sind, denn nur so können die *Hoogsteen*-Basenpaare gebildet werden. Unabhängig davon, ob sich der Quadruplex aus einem oder mehreren Strängen zusammensetzt kann die

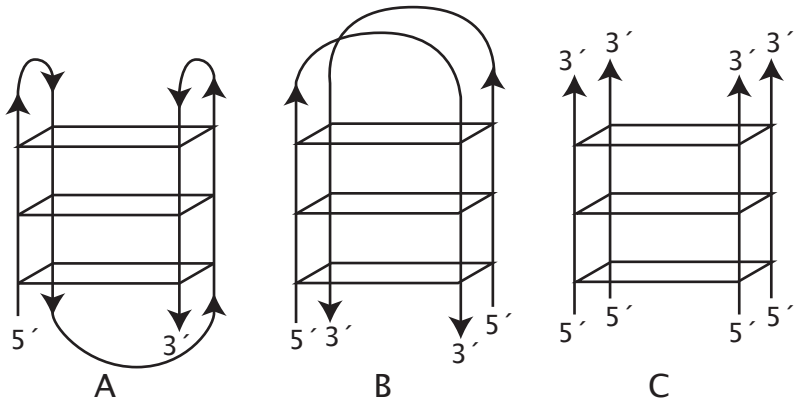


Abbildung 2.6: A: monomolekularer, antiparalleler Quadruplex, B: bimolekularer, antiparalleler Quadruplex, C: tetramolekularer, paralleler Quadruplex

Laufrichtung des Rückgrats variieren. Entweder haben alle vier Einheiten die gleiche Strangpolarität und bilden einen parallelen Quadruplex oder es verlaufen drei Stränge parallel und ein weiterer antiparallel, oder es verlaufen zwei gegenüberliegende Stränge antiparallel, oder alle vier Stränge sind alternierend antiparallel angeordnet. Vereinfachend kann man feststellen, dass eine einzelne guaninreiche Sequenz in der Regel einen parallelen, tetramolekularen Quadruplex bildet. Zwei guaninreiche Sequenzen, die durch zwei oder mehr Nukleotide (A, T, oder C) voneinander getrennt sind, bilden meist einen bimolekularen Quadruplex zweier Haarnadeln. Treten vier guaninreiche Sequenzen auf, die alle durch zwei oder mehr Nukleotide von einander getrennt sind, dann faltet sich die DNA meist zurück und bildet einen monomolekularen (intramolekularen) Quadruplex. Die intramolekularen Quadruplexe, die auch als gefaltete Quadruplexe bezeichnet werden, sind kinetisch bevorzugt, während die bi- und tetramolekularen Quadruplexe bei hoher DNA-Konzentration oder hoher Ionen-Konzentration bevorzugt sind [32].
Die grösste Strukturvielfalt ist bei den intramolekularen Quadruplexen zu finden, denn sowohl die Orientierung der vier guaninreichen Sequenzen, als auch die relative Orientierung der Guaninreste und die Konformation der Schleife werden

durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Zu diesen Faktoren gehören die Grösse des koordinierten Kations, die Länge und Anzahl der guaninreichen Sequenzen, die Länge und Sequenz der Schleifen zwischen zwei guaninreichen Sequenzen, und die Fähigkeit nicht aufeinanderfolgender Nukleobasen zur Bildung von *Watson-Crick*-Basenpaaren. G-Quadruplexe können durch kurze Oligonukleotide bestimmter Sequenzen des Typs $G_mX_nG_mX_oG_mX_pG_m$ gebildet werden, wobei G_m die Anzahl der G-Nukleotide in jedem kurzen G-Abschnitt ist. Diese sind in der Regel direkt an der G-Quartett Bildung beteiligt. X_n, X_o, X_p können sämtliche Kombinationen von Nukleotiden sein und bilden die Schlaufen zwischen den G-Quartetten (Abb. 2.6).

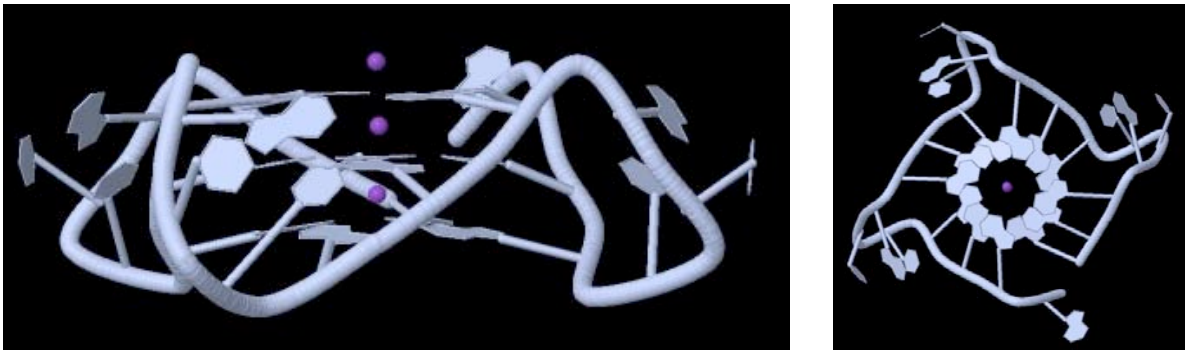


Abbildung 2.7: Kristallstruktur eines parallelen, monomolekularen Quadruplexes mit der Sequenz d[AGGG(TTAGGG)$_3$] (PDB 1KF1) [18]

Abb. 2.7 zeigt einen parallelen, monomolekularen Quadruplex, der aus dem Sequenzabschnitt d[AGGG(TTAGGG)$_3$] am 3'-Ende der menschlichen Telomere gebildet wurde, während Abb. 2.8 einen bimolekularen Quadruplex eines Dodekameren der Sequenz d[5BrU-AGGG-5BrU-TAGGGT] zeigt. Die Kristalle beider Quadruplexe wurden unter hoher K^+-Ionen-Konzentration gezüchtet, um die intrazelluläre Umgebung nachzuahmen. Die glykosidischen Winkel der Guaninreste sind alle *anti* und die Faltung des Ribofuranosylrests ist C(2')-*endo* [18].

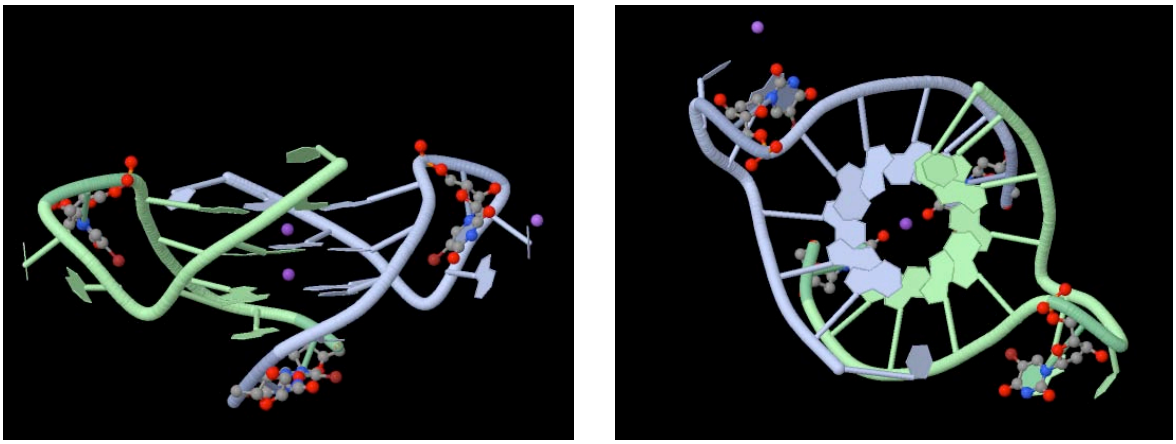


Abbildung 2.8: Kristallstruktur eines parallelen, bimolekularen Quadruplexes mit der Sequenz d[5BrU-AGGG-5BrU-TAGGGT] (PDB 1K8P) mit 5BrU: 5-Bromuridin [18]

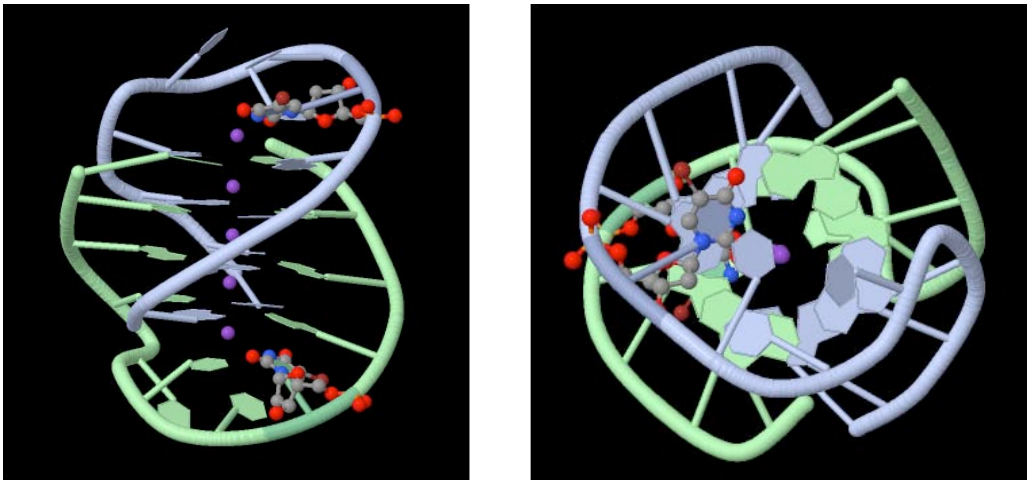


Abbildung 2.9: Kristallstruktur eines antiparallelen, bimolekularen Quadruplexes mit der Sequenz d[GGGG-5BrU-TTTGGGG] (PDB 1JPQ) mit 5BrU: 5-Bromuridin [19]

Die Kristalle eines antiparallelen, bimolekularen Quadruplexes mit der Sequenz d[GGGG-5BrU-TTTGGGG] weisen alternierende *syn-anti* glykosidische Torsionswinkel entlang eines Strangs auf, während die glykosidischen Torsionswinkel in einer Quartettebene *syn-syn-anti-anti* sind (Abb. 2.9). Zwischen den Quartettebenen sind K^+-Ionen angeordnet, die den Quadruplex stabilisieren [19].
Ein Hexanukleotid mit der Sequenz d[TGGGGT] wurde in Gegenwart von Na^+-Ionen kristallisiert und bildet einen parallelen, tetramoleklaren Quadruplex. Die Na^+-Ionen sind bipyramidal von acht O(6)-Carbonylgruppen chelatisiert und liegen zwischen zwei Quartettebenen (Abb. 2.10).

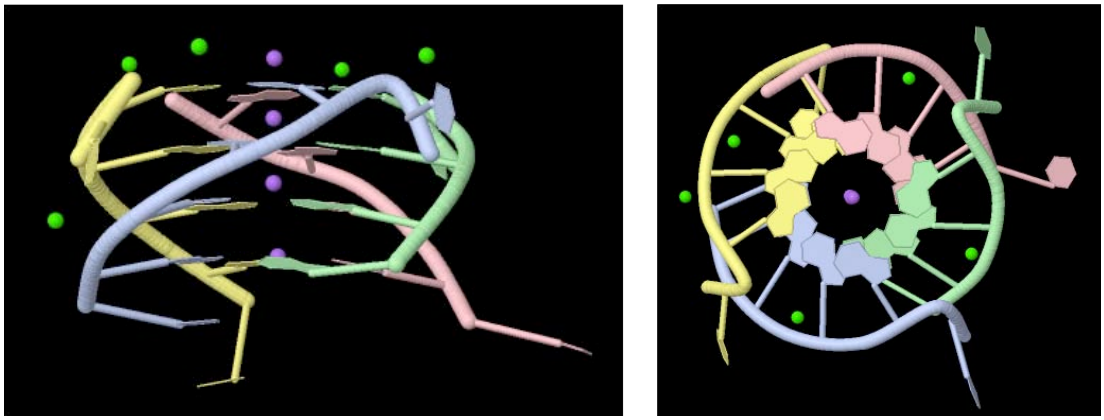


Abbildung 2.10: Kristallstruktur eines parallelen, tetramolekularen Quadruplexes mit der Sequenz d[TGGGGT] (PDB 244D) [20]

2.1.4 Biologische Bedeutung der G-Quartette

Das Interesse an guaninreichen Nukleinsäuresequenzen ist in den letzten Jahren stetig gestiegen. Zurückzuführen ist dies auf das Vorkommen guaninreicher Sequenzen sowohl in sämtlichen Genomen, als auch in Promoter- und Immunoglobulinschaltregionen (*switch regions*) und in Regionen mit erhöhter Rekombinationsrate (*recombination hot spots*) [31]. Besonders intensiv wurden die G-

Quartette an den Enden der eukaryotischen Chromosomen, den Telomeren, untersucht. Die telomere DNA weist sich wiederholende Einheiten kurzer Guanin-Sequenzen wie G_nT_n, $G_nT_nG_n$, G_nA_n, oder $(TTAGGG)_n$ auf. Die Art der Wiederholung ist abhängig von der Spezies und ist in Wirbeltieren durch die Sequenz $(TTAGGG)_n$ charakterisiert [33]. Die Telomere sind essentiell, um die chromosomalen Enden von jenen Enden zu unterscheiden, die durch Brüche der DNA verursacht wurden. Somit schützen die Telomere die Enden der Chromosomen vor ungewollter Rekombination und Beschädigung durch Nukleasen [34, 35]. Bei jeder Zellteilung werden die Telomere durch die DNA Polymerase verkürzt, welche die Enden nicht vollständig replizieren kann. Nach 20–40 Zellteilungen, sind die Telomere für eine erneute Zellteilung zu kurz, was zur Apoptose führt [36]. In Stammzellen hingegen ist die Telomerase, eine RNA-abhängige DNA-Polymerase (Revertase) aktiv. Sie besteht aus einer katalytischen Domäne, dem *Revertase Protein* (TERT) und der Telomerasen-RNA (TER). Die Telomerase kann die Telomere wieder verlängern und so zu „unsterblichen“ Zellen führen [37, 38] . Neben Stammzellen ist die Telomerase auch in 85-90 % aller Tumorzellen aktiv [39] und hat somit grosses Interesse als mögliches Ziel neuer Chemotherapeutika geweckt. Die humane Telomerase verfügt über eine 445 Basen lange RNA-Sequenz, mit einer 11 Basen umfassenden Matrize. Die Verlängerung der Telomere scheint auf folgendem Wege zu verlaufen:

1. Hybridisierung des 3’ Endes des telomeren Primers an das 5’ Ende der RNA-Matrize

2. Auffüllen der Lücke, komplementär zur Matrize, durch Synthese der darauffolgenden sechs Desoxynukleotide am Ende des Primers, um so eine neue telomere Einheit zu bilden

3. Verschiebung des Telomerenstranges um eine halbe Helixwindung entlang der Matrize, um Platz für die Synthese der nächsten Einheit zu machen.

In humanen Körperzellen ist die telomere DNA typischerweise 8–10 kb lang und liegt als doppelsträngige DNA vor, wobei die endständigen 100–200 Nukleotide am 3'-Ende als Einzelstrang vorliegen [40]. Dieser einzelsträngige DNA-Abschnitt ist in Zellen mit dem Einzelstrang-Bindungsprotein POT1 assoziiert [41]. In Abwesenheit dieses Proteins kann sich der einzelsträngige telomere DNA-Abschnitt zurückfalten und dimerisieren, um viersträngige Haarnadelschlaufen zu bilden, die durch das G-Quartett-Motiv stabilisiert werden [42, 43].
G-reiche Promotorsequenzen wurden in einer Vielzahl von onkogenen und krebsrelevanten Genen wie *K-ras* [44], *c-kit* [45], *bcl2* [46] und in der NHE III Region der *c-myc* Onkogene [47, 48] entdeckt. NHE III ist für etwa 85–90 % der *c-myc* Transkription verantwortlich. Die Sequenz dieser Region bildet zwei verschiedene intramolekulare G-Quadruplex-Strukturen, wodurch die Transkription reduziert wird.
Die bei physiologischen Salzkonzentrationen vorliegenden G-Quadruplexe können durch planare aromatische Verbindungen stabilisiert werden und somit die Telomerase inhibieren. Wegen der grossen Oberfläche des G-Quartetts muss ein gut bindender Ligand über eine grosse aromatische Oberfläche verfügen um mit dem G-Quartett zu überlappen und so für die Selektivität der Wechselwirkung mit der Quadruplex-DNA gegenüber jener mit einer Duplex-DNA zu sorgen [49]. Vor allem Porphyrine [48, 50], Amidoanthrachinone und pentacyklische Acridine [51] wurden zu diesen Zwecken *in vitro* untersucht (Abb. 2.11).
Ein viersträngiger Quadruplex der Sequenz d(TGGGGT) wurde mit Daunomycin (Abb. 2.11), einem Chemotherapeutikum cokristallisert (Abb. 2.12). Die Kristallstruktur zeigt, dass Daunomycin nicht zwischen zwei Quartett-Ebenen eines Quadruplexes interkaliert, sondern an der Grenzfläche zweier Quadruplexe, die mit ihren 5'-Enden aufeinander liegen [52].

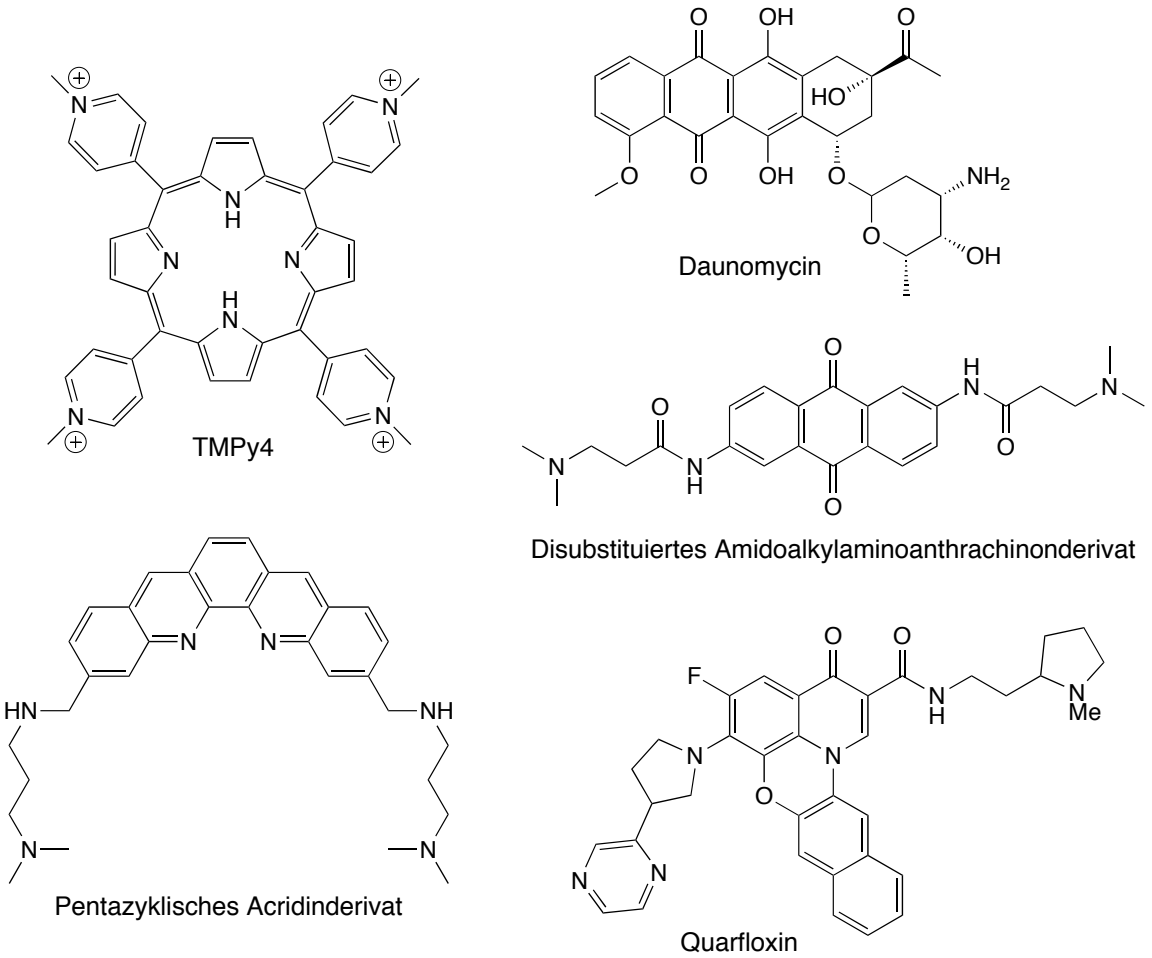


Abbildung 2.11: Quadruplex-Inhibitoren

Es wurde nachgewiesen, dass das Porphyrin TMPyP4 (Abb. 2.11), welches als tetra-Kation vorliegt, das Tumorwachstum bei Mäusen verlangsamen und die Lebensdauer erhöhen kann [50]. TMPyP4 kann sowohl die c-MYC als auch die Telomerase-Expression herabsetzen und eine Aktivität gegen Tumorzellen *in vivo* bewirken. Damit ist die Existenz stabiler Quadruplexe *in vivo* indirekt nachgewiesen. Zudem wurden einige Quadruplex-bindende-Proteine identifiziert und ihre Affinität durch spezifische Anfärbung der Telomere nachgewiesen [53, 54]. Das Fluorchinolonderivat Quarfloxin (Abb. 2.11) befindet sich in der Phase II klini-

scher Studien als Telomerase-Hemmer, was das Vorkommen der G-Quadruplexe *in vivo* plausibel erscheinen lässt.

Quadruplexe treten in Ribonukleinsäuren seltener auf als in DNA und wurden

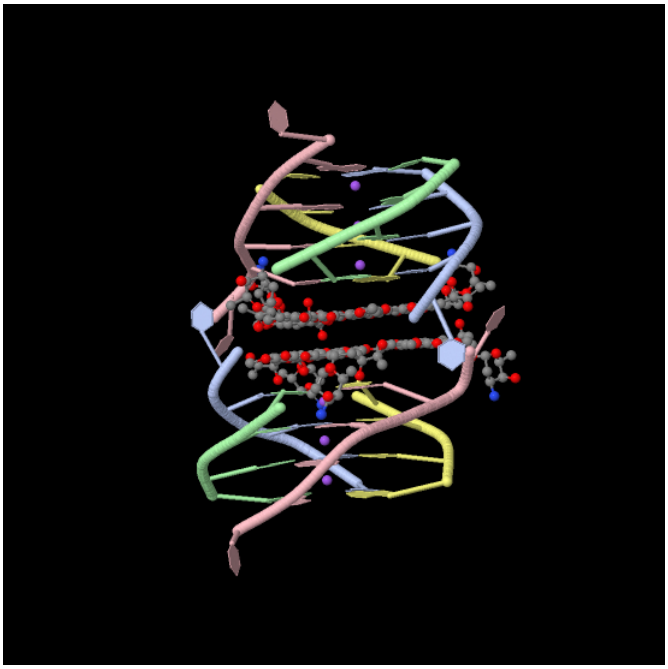


Abbildung 2.12: Kristallstruktur eines Daunomycin-d(TGGGGT) Komplexes (PDB 1O0K) [52]

bislang an nicht translatierten 5'-Enden der mRNA des NRAS-Onkogens beobachtet. Die Regulierung der Expression des NRAS-Proteins scheint mit der Quadruplexbildung zusammenzuhängen, da die Entfernung oder Mutation des Quadruplexes in dieser mRNA zu einer Steigerung der Expression um einen Faktor von 3.5 führt [55].

2.2 Analytische Methoden

In diesem Kapitel möchte ich auf die analytischen Methoden eingehen, die massgeblich zur Strukturaufklärung der Mononukleoside, die zur Synthese der ONIBs dienten, sowie der entsprechenden Dinukleoside und auch zur Bestimmung der Assoziation der Dinukleoside eingesetzt wurden.

2.2.1 NMR-Spektroskopie

Die Röntgenstrukturanalyse eignet sich hervorragend zur Bestimmung der exakten Struktur, insbesondere der Bindungswinkel und -längen, während die NMR-Spektroskopie die Untersuchung des Gleichgewichts zwischen verschiedenen Konformeren und Assoziaten in Lösung (Charakterisierung der Assoziation, Bestimmung der Assoziationskonstanten und der thermodynamischen Parameter) erlaubt.

Konformationsanalyse Die Konformation der Nukleoside wird durch die Faltung des Ribofuranosylrests (C(2')-*endo*/C(3')-*endo*), die Orientierung des C(5')-Substituenten (*gg/gt/tg*), der Rotation um die glykosidische Bindung (*syn/anti*) und die verschiedenartigen Wasserstoffbrücken bestimmt.
Die Rotation um die glykosidische Bindung (C(1')–N) gibt die Orientierung des Basenrestes zum Furanosylrest an (Abb. 2.13). Der glykosidische Winkel ist für Purinnukleoside als χ = O(4')–C(1')–N(9)–C(4) definiert und für Pyrimidinnukleoside als χ = O(4')–C(1')–N(1)–C(2) [56]. In den meisten Nukleinsäurestrukturen ist die Konformation um die glykosidische Bindung *anti* ($+90° < \chi < +270°$). *Watson-Crick* Wasserstoffbrücken werden in der Regel von Nukleosiden in der *anti*-Konformation gebildet, während die *syn*-Konformeren ($-90° < \chi < +90°$) zu anderen Wasserstoffbrückenmustern, z.B. einer *Hoogsteen*-Paarung führen[1].

[1] Eine detaillierte Beschreibung der chemischen Verschiebung in Abhängigkeit von χ ist in der Dissertation von *Katja Chiesa* [4] zu finden.

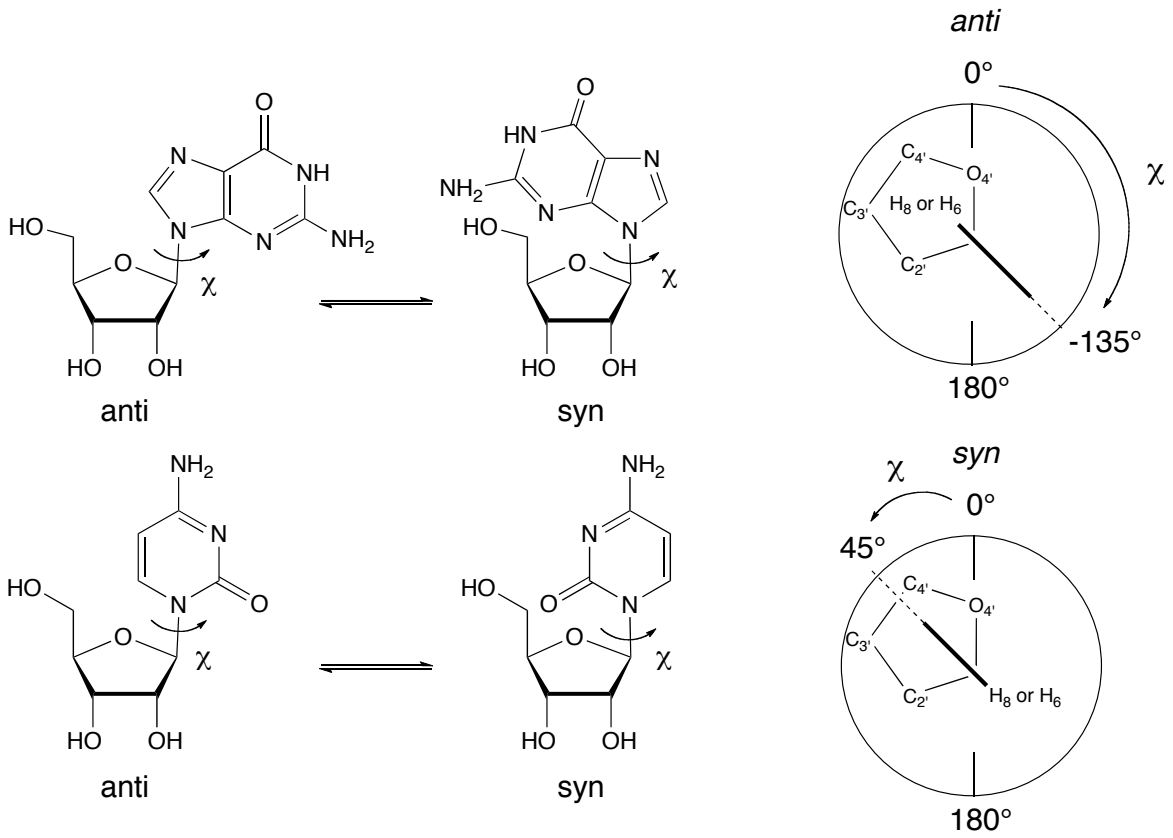


Abbildung 2.13: Definition der Konformation um die glykosidische Bindung

Der Furanosylring spielt eine entscheidende Rolle bei der Festlegung der bevorzugten Konformation der Nukleoside. Die Ringkonformation wird durch die fünf Torsionswinkel ν_0, ν_1, ν_2, ν_3 und ν_4 definiert. Die Konformation cyklischer Systeme ist durch die geometrischen Einschränkungen des Ringes bestimmt. In einem fünfgliedrigen Ring, wie der Furanose, benötigt man lediglich zwei Torsionswinkel, um die Geometrie zu bestimmen. Wenn $\nu_0 = 0°$ ist, C(2') also in der gleichen Ebene liegt wie C(4'), O(4') und C(1'), dann kann C(3') entweder um etwa 0.6 Å über oder unter dieser Ebene liegen. Liegt C(3') oberhalb der Ebene, also auf der gleichen Seite wie C(5') und der Basenrest, so wird diese Konforma-

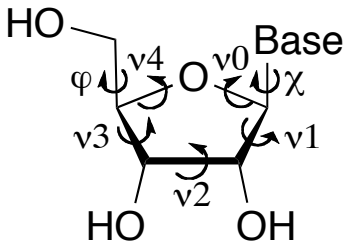


Abbildung 2.14: Definition der Torsionswinkel der Furanose [56]

tion als C(3')-*endo* bezeichnet. Liegt C(3') unterhalb dieser Ebene, so wird die Konformation als C(3')-*exo* definiert. Die C(3')-*endo* Konformation wird auch als Nord-Konformation, die C(2')-*endo* Konformation als Süd-Konformation bezeichnet (Abb. 2.15). In der A-DNA liegt der Furanosylring in der C(3')-*endo*

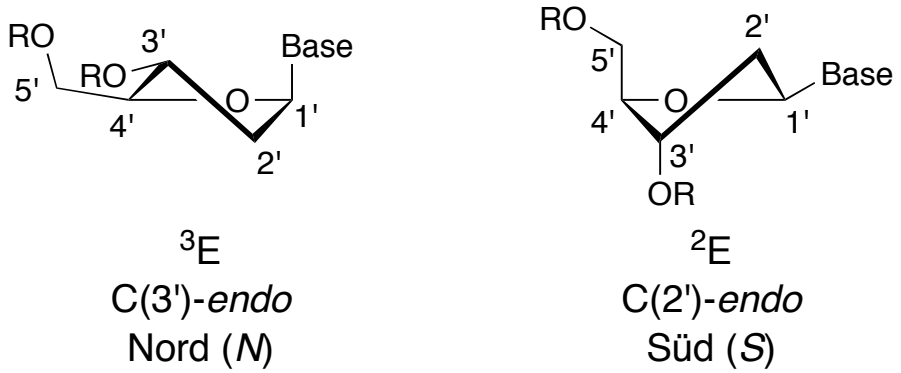


Abbildung 2.15: Die beiden bevorzugten Faltungen des Ribosylrings

Konformation, in der B-DNA in der C(2')-*endo* Konformation vor. In der Z-DNA kann der Desoxyribofuranosylrest entweder in der C(3')-*endo* (Pyrimidine) oder C(2')-*endo* (Purine) Konformation vorliegen.

Im Gegensatz zur doppelsträngigen DNA liegen die doppelsträngigen RNA-Abschnitte ausschliesslich in der A- oder A'-Form vor, d.h. die Faltung des Ribosylrings ist C(3')-*endo*. Aufgrund des anomeren Effektes und des *gauche* Effektes

ist die pseudoaxiale Orientierung des HO–C(2') begünstigt, so dass der Ribofuranosylrest nur die C(3')-*endo* Konformation annehmen kann [57]. Drei Kopplungskonstanten der Ribose, ^3J(1',2'), ^3J(2',3') und ^3J(3',4') charakterisieren die Faltung des Ribosylrings[2].

Die Orientierung des C(5')-Substituenten kann zu drei gestaffelten Konforma-

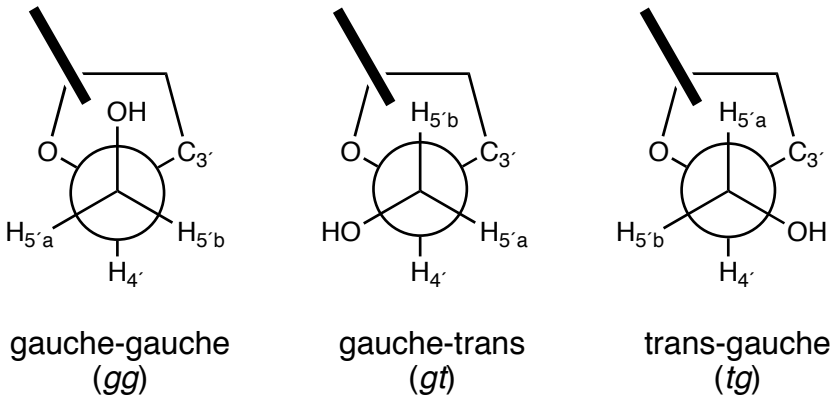


Abbildung 2.16: Orientierung des C(5')-Substituenten; der Balken entspricht der N9-C4- bzw. N1-C2-Kante der Nukleobase in einer *anti*-Konformation

tionen führen: *gauche-gauche (gg)*, *gauche-trans (gt)* oder *trans-gauche (tg)*[3]. In Analogie zu den Purin- und Pyrimidinnukleosiden liegt eine *gg*-Konformation vor, wenn die Summe aus $J(4',5'_{pro-S})$ und $J(4',5'_{pro-R})$ kleiner 3 Hz ist. Ist die Summe dieser beiden Kopplungskonstanten grösser 12 Hz so liegt eine Mischung aus *gt*- und *tg*-Konformeren vor, wobei ähnliche Werte für $J(4',5'_{pro-S})$ und $J(4',5'_{pro-R})$ eine gleichmässige Verteilung der *gt*- und *tg*-Konformeren anzeigt. Ist $J(4',5'_{pro-R})$ grösser als $J(4',5'_{pro-S})$ so liegt hauptsächlich die *gt*-Kon-

[2]Eine ausführliche Diskussion der Konformation der Nukleoside ist in der Dissertation von *Katja Chiesa* [4] zu finden.

[3]Im Deutschen ist die Bezeichnung +*sc* (*synclinal*) für *gg*, –*sc* (*synclinal*) für *tg* und *ap* (*antiperiplanar*) für *gt* korrekt. Da wir uns um eine Vereinheitlichung der Nomenklatur in den Publikationen und den Dissertationen bemühen, wird im Folgenden die englische Bezeichnung verwendet.

formation vor, falls $J(4',5'_{pro-S})$ grösser $J(4',5'_{pro-R})$ so wird die *tg*-Konformation bevorzugt [102].
Die Rotameren-Verteilung wurde für die C(5')-Oxy- und C(5')-Aminodesoxynukleoside nach folgender Gleichung berechnet, wobei P_{gg}, P_{gt}, P_{tg} für die Molenbrüche der *gg*, *gt*, und *tg* Rotameren stehen.

$$\begin{aligned} &\text{C(5')-}O\text{-Derivate} \\ &2.2P_{gg} + 2.0P_{gt} + 10.6P_{tg} = J(4',5'_{pro\text{-}S}) \\ &1.8P_{gg} + 9.6P_{gt} + 4.4P_{tg} = J(4',5'_{pro\text{-}R}) \\ &P_{gg} + P_{gt} + P_{tg} = 1 \end{aligned} \tag{2.1}$$

$$\begin{aligned} &\text{C(5')-}N\text{-Derivate} \\ &3.6P_{gg} + 1.7P_{gt} + 10.9P_{tg} = J(4',5'_{pro\text{-}S}) \\ &1.9P_{gg} + 10.4P_{gt} + 4.2P_{tg} = J(4',5'_{pro\text{-}R}) \\ &P_{gg} + P_{gt} + P_{tg} = 1 \end{aligned} \tag{2.2}$$

Die Koeffizienten der beiden oberen Gleichungen der zwei Gleichungssysteme [58] entsprechen den Kopplungskonstanten $J(4',5'_{pro\text{-}S})$ und $J(4',5'_{pro\text{-}R})$ der jeweiligen gestaffelten Konformeren. Diese Kopplungskonstanten wurden durch MM3* Minimierung der Konformationsenergie der gestaffelten Konformeren des Methyl-2,3-*O*-isopropyliden-5-*O*-methyl-β-ribofuranosids und des Methyl-2,3-*O*-isopropyliden-5-*NH*-methyl-β-ribofuranosids und Berechnung nach der *Haasnoot-Altona* Gleichung [59] gemäss dem Macromodel 6.0 Programm [60] vorhergesagt. Da H–C($5'_{pro\text{-}S}$) und H–C($5'_{pro\text{-}R}$) durch NOESY-Spektren nicht eindeutig zugeordnet werden konnten, habe ich angenommen, dass H–C($5'_{pro\text{-}S}$) bei tieferem Feld erscheint als H–C($5'_{pro\text{-}R}$) [102].

Bestimmung der Assoziation Die Assoziation, wie sie durch ^{1}H-Kernresonanzspektroskopie untersucht wird, basiert auf der Analyse der Konzentrations-

abhängigkeit der chemischen Verschiebung des H–N(1)-Signals des Guanosinrests bzw. des H–N(3)-Signals des Uridinrests. Diese Signale können aufgrund ihrer Tieffeldverschiebung einfach und eindeutig zugeordnet werden und überlappen nicht mit anderen Signalen. Die Verschiebungs-Konzentrationskurven (VKK) werden numerisch, nach der Methode von *Gutowksy* und *Saika* analysiert [61]. Um den Fehler bei der Berechnung der Assoziationskonstanten zu verringern, wurde ein Wert für eine Konzentration von 0.0001 mM eingesetzt. Dieser Wert gibt die chemische Verschiebung eines Monoplexes wieder und wurde aus einer VKK eines Mononukleosids abgeleitet. Für Uridinanaloge ist dieser Wert 7.70 ppm für Guanosinderivate 10.33 ppm.

Anhand des Verlaufs der VKK kann zwischen der Assoziation eines Dinukleosids

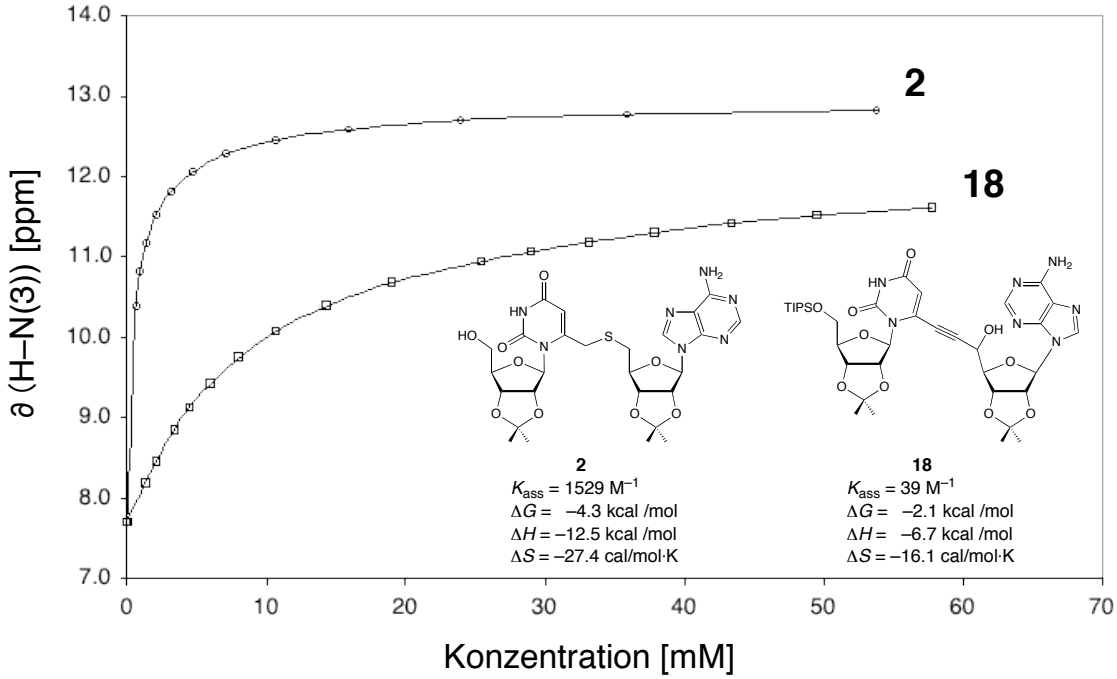


Abbildung 2.17: VKK eines cyklischen und eines linearen Duplexes

zu einem cyklischen Duplex oder einem linearen Duplex unterschieden werden. Die VKK cyklischer Duplexe sind durch eine starke Krümmung bei niedrigen

Konzentrationen und die Bildung eines Plateaus bei hohen Konzentrationen charakterisiert, wie es anhand des thiomethylen-verknüpften Dinukleosids **2** zu sehen ist (Abb. 2.17). Die VKK von linearen Duplexen und höheren Assoziaten sind durch eine schwache Krümmung bei niedrigen Konzentrationen und einen kontinuierlichen, sich abflachenden Anstieg bei hohen Konzentrationen charakterisiert, wie es in Abbildung 2.17 exemplarisch für das ethinylen-verknüpfte Dinukleosid **18** zu sehen ist.
Die thermodynamischen Parameter ΔH und ΔS werden durch eine *van't Hoff*-Analyse der ^{1}H-NMR Daten in 2–5 mM Lösungen in einem Temperaturbereich zwischen 7° und 50° in $CHCl_3$ bestimmt. Die ΔH-Werte korrelieren mit der Anzahl und der Stärke der Wasserstoffbrücken und weisen somit auf die Art der Assoziation und der Basenpaarung hin.
Die ΔS-Werte geben Aufschluss über die Einschränkungen der konformationellen Freiheitsgrade aufgrund der Duplexbildung[4].

2D-NMR-Spektroskopie Wie für die Strukturaufklärung vieler organischer Verbindungen ist auch bei Guanosinderivaten und G-Quartetten eine präzise Analyse der zweidimensionalen Spektren erfordert. In der Regel werden zur Aufklärung der Konstitution ^{1}H,^{1}H-COSY, ^{1}H,^{13}C-HSQC und ^{1}H,^{13}C-HMBC-Spektren herangezogen. Eine detaillierte Beschreibung dieser 2D-NMR-Methoden zur Strukturaufklärung ist in der Dissertation von *Lorenz Herdeis* [11] zu finden.
Um die Konfiguration und Konformation der Nukleoside und deren Assoziationsmodus zu bestimmen benötigt man zusätzlich Distanzmessungen mittels NOESY- oder ROESY-Spektren. Die Messung der räumlichen Distanz zwischen NMR-aktiven Kernen beruht auf der quantitativen Bestimmung des *Kern-Overhauser-Effekts* (NOE). Die NOEs zeigen sich als Korrelationssignale, die durch dipolare Kreuzrelaxation zwischen Kernen in räumlicher Nähe hervorgerufen werden. Die Intensität der Kreuzsignale ist invers proportional zu ihrem Abstand (r^{-6}).

[4]Eine ausführliche Diskussion der VKK ist in der Dissertation von *Katja Chiesa* [4] zu finden.

NOEs sind aufgrund des raschen Abfalls ihrer Signalintensität mit zunehmendem Abstand nur bis zu einem Kernabstand von etwa 3.5 Å beobachtbar [62]. In G-Quartetten ist die Beobachtung der Amino- und Iminoprotonensignale zur Strukturaufklärung unabdingbar. Jedes G-Quartett besitzt vier wasserstoffbrückengebundene H–N(1), mit einer chemischen Verschiebung zwischen 10 und 13.5 ppm, die nur langsam austauschen. Jedes dieser Iminoprotonen führt zu einem intermolekularen NOE mit H–C(8) des benachbarten Guanosinrests [63].
In den letzen Jahren hat die NMR-spektroskopische Bestimmung des Diffusionskoeffizienten zur Bestimmung des Assoziationsgrades an Bedeutung gewonnen. Der Diffusionskoeffizient kann entweder durch das Messen eines 1D-Experiments (PGSE: Pulsgradient-Spinecho) oder eines 2D-Experiments (DOSY: *Diffusionsgeordnete Spektroskopie*) bestimmt werden. Das DOSY-Experiment erlaubt es, die Signale der verschiedenen in Lösung vorliegenden Spezies zu beobachten, welche zeilenartig im 2D-Spektrum angezeigt werden. Aus diesem Grund wird das DOSY-Experiment auch als NMR-Chromatographie bezeichnet [64]. Mit einem DOSY-Experiment wird der translatorische Diffusionskoeffizient eines Moleküls oder eines Molekülaggregats bestimmt. Die Diffusionsrate eines Moleküls hängt von seiner Grösse und Form, der Konzentration, der Temperatur, sowie der Lösungsmittelviskosität ab. Die Stokes-Einstein Gleichung

$$D = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \eta \cdot r} \tag{2.3}$$

zeigt, dass der Diffusionskoeffizient einer Kugel (D) invers proportional zum hydrodynamischen Radius (r) und der Lösungmittelviskosität (η) ist (k= Boltzmann-Konstante, T= Temperatur). Das Verhältnis der Diffusionsraten zweier verschiedener kugelförmiger Moleküle in der gleichen Umgebung ist invers proportional zum Verhältnis ihrer Radien

$$\frac{D_a}{D_b} = \frac{\frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_a}}{\frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r_b}} = \frac{r_b}{r_a}. \tag{2.4}$$

Vergleichende Messungen von Diffusionsraten sind hilfreich, um die relative Grösse von Molekülen in Lösung zu bestimmen [65]. Die Basis eines Diffusionsexperimentes ist die Dephasierung des NMR-Signals. Diese wird durch die Gradientenstärke (g), die Gradientenpulsdauer (δ) und die Gradiententrennungszeit (Δ) zwischen zwei entgegengesetzten Gradientenpulsen beeinflusst. Für einen rechtwinkligen Pulsgradienten ist die NMR Signalintensität eine Funktion des Diffusionskoeffizienten:

$$I = I_0 \cdot e^{-D\cdot(2\pi\cdot\gamma\cdot g\cdot\delta)^2\cdot(\Delta-(\delta\backslash 3))} \tag{2.5}$$

mit γ= gyromagnetisches Verhältnis des beobachteten Kerns. Die Diffusionskoeffizienten werden aus der Steigung der normalisierten Signalintensität (lnI/I_0), aufgetragen gegen den Gradiententerm ($(2\pi\gamma\delta)^2 \cdot (\Delta - \delta/3)$) bestimmt. In den üblichen Pulssequenzen werden optimierte Werte für die Gradientenpulsdauer und die Gradiententrennungszeit verwendet, während die Gradientenstärke variiert wird [65].

2.2.2 Elektrospray-Massenspektrometrie

Die Elektrospray-Ionisation erzeugt geladene Ionen in der Gasphase und ist sehr schonend, da grosse, Wasserstoffbrücken-gebundene Komplexe intakt aus der Lösung in den Massenanalysator gebracht werden können [66]. Die Ionisation läuft in den folgenden Teilschritten ab:

1. Die Probenlösung wird in eine Mikrokapillare eingezogen, an deren Metallspitze eine Spannung angelegt ist.
2. Ein elektrisches Feld zwischen der Kapillarenspitze und einer zylindrischen Eintrittsblende des Massenspektrometers erzeugt einen Sprühnebel kleiner, hochgeladener Aerosoltröpfchen in der Ionisierungskammer.

3. Die geladenen Tröpfchen werden pneumatisch, durch ein Gegenstrom-Inertgas (meist N_2) und/oder thermisch, durch leicht erhöhte Temperatur (40–45°C), desolvatisiert. Die Moleküle werden durch Protonierung oder Deprotonierung ionisiert.

Durch diesen Vorgang entstehen, je nach eingestelltem Spannungsmodus, ein- und mehrfach geladene Kationen $[M+zH]^{z+}$ oder Anionen $[M-zH]^{z-}$. Für die Berechnung des Molekülions der mehrfach geladenen Ionen werden benachbarte, sich um eine oder den Bruchteil einer Ladungseinheit unterscheidende Ionen-Signale herangezogen [67]. Die Ladungszahl z kann daraus abgeleitet werden: sind die beiden Signale um die Masse eins voneinander getrennt, so gilt: $z = 1$, sind sie um die Masse 0.5 von einander getrennt, so gilt: $z = 2$, usw. Die Masse eines mehrfach positiv geladenen Ions lässt sich folgendermassen berechnen:

$$M = z_1(m_1 - m_p) \tag{2.6}$$

und die eines mehrfach negativ geladenen Ions berechnet sich nach:

$$M = z_1(m_1 + m_p) \tag{2.7}$$

mit M: Molekulargewicht, z_1: Ladungszahl, m_1: Massen-Ladungsverhältnis, m_p: Masse eines Protons. Durch das Bestimmen der Ladungszahl kann der Assoziationsgrad einer Verbindung bestimmt werden [68].
Das grösste Unterscheidungsmerkmal zwischen ESI-MS und anderen massenspektrometrischen Ionisationstechniken beruht auf der Möglichkeit, bei einem ESI-MS mehrfach geladene Ionen zu generieren und somit einen Einblick in die Sekundär- und Tertiärstrukturen von Proteinen und Nukleinsäuren zu erhalten. Die Methode kann verwendet werden, um metallgebundene G-Quartette sowie generell nichtkovalent gebundene intermolekulare Cluster von Biomolekülen zu untersuchen. Zudem können spezifische, nichtkovalente Wechselwirkungen untersucht und mit den Daten weiterer Messmethoden in Lösung (CD- und NMR-Studien)

korreliert werden [69]. Dies rührt unter anderem daher, dass ESI-MS Messungen in der gleichen Lösung, die auch für CD-Experimente verwendet wird, durchgeführt werden können, also auch in Gegenwart von Puffern unter annähernd physiologischen Bedingungen [70]. Guaninreiche Hexa- und Dodekamere wurden mit ESI-MS untersucht, um die Strangstöchiometrie der Quadruplexe und die Anzahl der im Quadruplex gebundenen Kationen zu bestimmen [71].

2.2.3 UV-Spektroskopie

Die UV-Spektroskopie eignet sich, um die elektronischen Eigenschaften von Molekülen zu untersuchen. Trifft Licht mit geeigneter Frequenz ν auf ein Molekül im Grundzustand ψ_0, dann kann es absorbiert werden und das Molekül in einen elektronisch angeregten Zustand ψ_1 anheben. Durch Emission kann das System in den Grundzustand zurückkehren [67]. Das Messen eines UV-Spektrums erlaubt es, die Energieunterschiede zwischen dem Grundzustand und angeregten Zuständen zu messen.
Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz berechnet sich der molare Absorptionskoeffizient ε aus

$$\varepsilon = \frac{A}{cl} \tag{2.8}$$

mit A: Absorption, c: Konzentration der Lösung, l: Schichtlänge der Küvette. Die Lage der Absorptionsbanden hängt von der Natur des Elektronenübergangs ab. Durch sterische, induktive und mesomere Effekte wird die Absorptionslage stark beeinflusst. Führt die Substitution mit einer funktionellen Gruppe mit Mehr-

Tabelle 2.3: UV-Absorption der Nukleosid-5'-monophosphate bei pH 7.0 [72]

	pA	pdA	pG	pdG	pC	pdC	pU	pT
ε_{max} $[(mmol \cdot cm)^{-1}]$	15040	15080	14090	14230	8740	8860	9780	9490
λ_{max} [nm]	259	259	252	252	271	271	262	267

fachbindungen im Molekül zu konjugierten Doppelbindungen (z.B. Ethen → 1,3-Butadien) so wird eine bathochrome Verschiebung in den langwelligen Bereich (Rotverschiebung) beobachtet, da die Energie des Elektronenübergangs verringert wird. Das Gegenteil ist die hypsochrome Verschiebung zu kurzen Wellenlängen (Blauverschiebung). Der hyperchrome Effekt beschreibt eine Intensitätserhöhung; der hypochrome Effekt eine Intensitätserniedrigung [73].
Wie aus der Tabelle 2.3 zu entnehmen ist, absorbieren die Purine stärker als die Pyrimidine. Während sich die Absorptionsmaxima und die Extinktionskoeffizienten von Uridin zwischen pH 1.0 und pH 7.2 [74], von Adenosin zwischen pH 1.5 und pH 7.9 und von Guanosin zwischen pH 1.6 und 6.2 kaum verändern, zeigt das UV-Spektrum des Cytidins beim Ansäuern auf pH 2.2 eine batochrome Verschiebung und einen hyperchromen Effekt (λ_{max}= 280 nm, ε_{max}=13.4) [75]. Zwischen pH 7.0 und pH 12 verändern sich die Absorptionsmaxima und Extinktionskoeffizienten des Cytidins nicht, während bei Uridin bei pH 12 ein hypochromer Effekt (λ_{max}= 262 nm, ε_{max}=7.45) beobachtbar ist [74].
Nukleinsäuren weisen, aufgrund der Basenstapelung, eine niedrigere Absorption auf (hypochromer Effekt) als die Summe der Absorption der einzelnen Nukleotide erwarten lässt. Hypo- und Hyperchromizität können zur Strukturbestimmung der Nukleinsäuren verwendet werden, denn native DNA (Doppelhelix) zeigt einen starken hypochromen Effekt, während denaturierte DNA einen hyperchromen Effekt aufweist. G-Quadruplexe haben ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei 295 nm [16] und die Spektren sind häufig durch eine batochrome Verschiebung und einen hypochromen Effekt der Absorptionsbande gekennzeichnet [76]. Die UV-Spektren von Quadruplex-Nukleinsäuren und Duplex-Nukleinsäuren un-

terscheiden sich bei ähnlicher Sequenz jedoch kaum, so dass sie nicht zur Aufklärung der Stöchiometrie herangezogen werden können [77]. Über den Einfluss verschiedener Kationen wie Na^+, K^+, oder NH_4^+ auf den Extinktionskoeffizienten konnte ich in der Literatur keine Angaben finden[5].

2.2.4 CD-Spektroskopie

Der Zirkulardichroismus (CD) spiegelt das unterschiedliche Absorptionsverhalten eines Moleküls zwischen links- und rechtsdrehendem polarisierten Licht wider. Ist das Molekül chiral, so hängt die Absorption des polarisierten Lichtes von seiner Drehrichtung ab [78].

$$\Delta A = A_L - A_R \tag{2.9}$$

Der *Cotton*-Effekt beschreibt die Änderung der Elliptizität in Abhängigkeit der Wellenlänge. Der Nulldurchgang des *Cotton*-Effekts liegt im Bereich des UV-Absorptionsmaximums. Steigt die Absorption bei höherer Wellenlänge erst an, um zu niedrigeren Wellenlängen abzufallen, so wird dies als positiver *Cotton*-Effekt bezeichnet. Fällt die Absorption bei höherer Wellenlänge ab und steigt bei niedrigerer Wellenlänge wieder an, so handelt es sich um einen negativen *Cotton*-Effekt. Durchläuft linear polarisiertes Licht ein chirales Medium, in welchem ε_L und ε_R nicht gleich groß sind, dann wird das Licht elliptisch polarisiert [79]. Die Elliptizität Θ ist direkt proportional zu ΔA und damit auch zu $\Delta\varepsilon$. Der Zirkulardichroismus wird entweder als die Differenz der Extinktionskoeffizienten ε für eine bestimmte Wellenlänge beschrieben

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R = \frac{\Delta A}{l \cdot c} \tag{2.10}$$

[5] Es wurde im *SciFinder*-Programm nach „G-Quadruplex + UV“, nach „G-Quadruplex + Absorption“ und nach „Guanosin + UV“ gesucht.

mit ΔA: Absorption, l: Schichtdicke, c: Konzentration oder als Elliptizität Θ

$$\Theta = 2.303\Delta A \cdot \frac{180}{4\pi}. \tag{2.11}$$

Die Elliptizität ist das Verhältnis der kurzen zu der langen Achse der Ellipse. In der Regel wird die molare Elliptizität $[\Theta]$ angegeben:

$$[\Theta] = \frac{100\Theta}{l \cdot c}. \tag{2.12}$$

Der differentielle Extinktionskoeffizient und die molare Elliptizität sind proportional zueinander:

$$[\Theta] = 3300\Delta\varepsilon. \tag{2.13}$$

Durch die CD-Spektroskopie werden Einblicke in die Konformation der Nukleinsäuren und deren Komplexbildung mit Liganden gewonnen. Die Nukleobasenreste sind die Chromophoren und im Gegensatz zu den Ribofuranosylsubstituenten optisch inaktiv. Die Chiralität des Ribofuranosylrests induziert die optische Aktivität des Nukleosids.

Ein CD-Spektrum enthält Informationen über die Orientierung der Nukleobase bezüglich des Ribosylrings. Liegt ein Guanosinderivat hauptsächlich in der *syn*-Konformation vor, so wird ein positiver *Cotton*-Effekt mit einem Nulldurchgang zwischen 260-290 nm beobachtet, während beim Vorliegen der *anti*-Konformation das CD-Spektrum einen negativen *Cotton*-Effekt mit ähnlichem Nulldurchgang zeigt [80]. Im Falle der Cytidinderivate lässt sich die *syn*-Konformation durch einen negativen *Cotton*-Effekt mit einem Nulldurchgang bei etwa 260 nm nachweisen, während Cytidinderivate in einer *anti*-Konformation einen positiven *Cotton*-Effekt mit einem Nulldurchgang bei etwa 260 nm zeigen [81, 82].

Ein temperaturabhängiges CD-Spektrum kann Aufschluss darüber geben, ob die Nukleobasen stapeln oder nicht. Im Falle einer Stapelung zeigt das CD-Spektrum eine grosse Temperaturabhängigkeit, liegt keine Temperaturabhängigkeit vor, so

stapeln die Nukleobasen nicht. Die CD-Spektroskopie ist somit die Methode der Wahl, um Änderungen der Sekundärstruktur der Proteine und Nukleinsäuren zu verfolgen. CD-Messungen können verwendet werden, um die asymmetrische Umgebung der Chromophoren zu beobachten und den Einfluss von Änderungen der Umgebung, wie pH, Temperatur und Salzkonzentration dieser Chromophoren zu verfolgen [56].

Im Falle der G-Quadruplexe kann aus dem CD-Spektrum geschlossen werden, ob es sich um einen parallel oder antiparallel gefalteten Quadruplex handelt. Parallele Quadruplexe zeichnen sich durch eine stark positive Elliptizität bei 264 nm und eine negative Elliptizität bei 240 nm aus, während antiparallele Quadruplexe eine positive Elliptizität bei 295 nm und eine negative Elliptizität bei 260 nm aufzeigen (Abb. 2.18) [71].

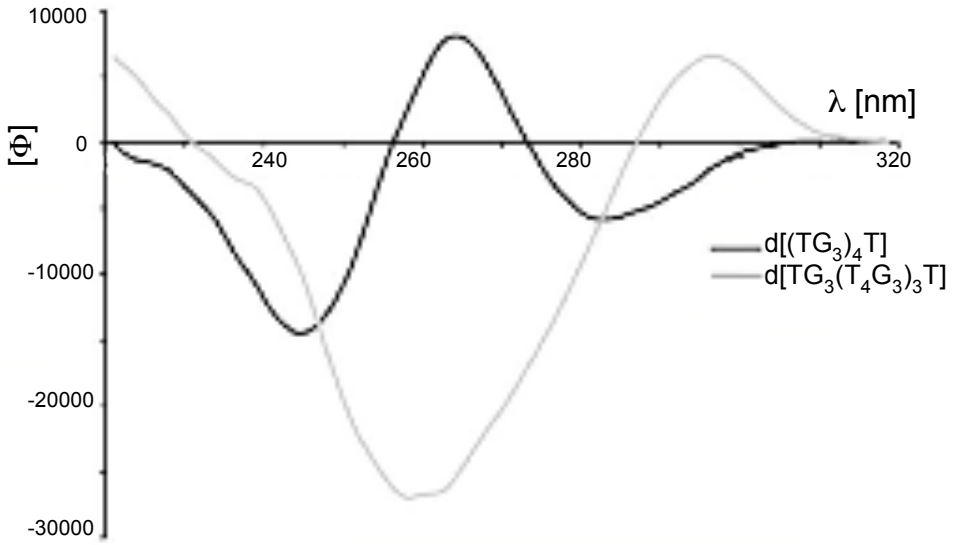


Abbildung 2.18: CD-Spektren eines parallelen G-Quadruplexes (schwarze Linie) und eines antiparallelen G-Quadruplexes (hellgraue Linie) [abgebildet mit Erlaubnis der *Royal Society of Chemistry* aus [83]]

CD-Spektren können auch Aufschluss darüber geben, ob ein G-Quartett oder eine Guanosinkette vorliegt. Im Falle einer Guanosinkette ist sowohl die positive Ellip-

tizität bei 240 nm, als auch die negative Elliptizität bei 260 nm deutlich schwächer als dies bei G-Quartetten der Fall ist [84].

2.2.5 Dampfdruckosmometrie

Die Dampfdruckosmometrie ist eine geeignete Methode, um das mittlere Molekulargewicht einer Verbindung mit einer Masse von 0.2–100 kDa zu bestimmen [85]. Die Dampfdruckerniedrigung ist lediglich vom Molenbruch des gelösten Stoffes abhängig und nicht von dessen chemischer Natur und damit eine kolligative Eigenschaft. Bei der Berechnung des Molenbruchs muss sowohl die Dissoziation als auch die Assoziation berücksichtigt werden. Wie alle kolligativen Methoden ergibt die dampfdruckosmometrische Bestimmung ein scheinbares mittleres Molekulargewicht als Funktion der Konzentration. Zeigt das System ideales Verhalten, wovon bei hoher Verdünnung ausgegangen werden kann, so entspricht das scheinbare mittlere Molekulargewicht dem realen mittleren Molekulargewicht [86].
Aus dem Raoultschen Gesetz, welches die relative Erniedrigung des Dampfdrucks des Lösungsmittel dem Molenbruch des gelösten Stoffes gleichsetzt, ergibt sich für die Siedepunktserhöhung folgende Gleichung:

$$\Delta T = \frac{RT_s^2 \cdot M_1}{\Delta_v H} \cdot m_2 \tag{2.14}$$

mit ΔT: Siedepunktserhöhung, R: Gaskonstante, T_s^2: Siedepunkt des reinen Lösungsmittels, M_1: Molmasse des Lösungsmittels, $\Delta_v H$: Verdampfungsenthalpie, m_2: Molalität des Gelösten.
Der Faktor

$$K_{eb} = \frac{RT_s^2 \cdot M_1}{\Delta_v H} \tag{2.15}$$

Tabelle 2.4: Ebullioskopische Konstanten [87]

Lösungsmittel	H_2O	$CHCl_3$	CCl_4	Benzol	1,4-Dioxan	*n*-Hexan
K_{eb} (kg/mol)	0.52	3.80	5.07	2.54	3.27	2.78

wird als ebullioskopische Konstante bezeichnet. In der Tabelle 2.4 sind die ebullioskopischen Konstanten einiger Lösungsmittel aufgeführt. Ist K_{eb} für ein bestimmtes Lösungsmittel bekannt, so wird aus der gemessenen Temperaturdifferenz ΔT die Molalität m_2 eines gelösten Stoffes bestimmt und daraus, wenn die Einwaage m und die Masse des Lösungsmittels m_1 bekannt sind, das Molekulargewicht M_2.

$$m_2 = \frac{n_2}{m_1} \tag{2.16}$$

$$M_2 = \frac{m}{n_2} \tag{2.17}$$

Durch Umstellen der Gleichungen errechnet sich das mittlere Molekulargewicht M_2 folgendermassen:

$$M_2 = \frac{m}{m_2 \cdot m_1}. \tag{2.18}$$

Unter der Annahme einer idealen Lösung und der Temperaturunabhängigkeit von ΔH im Intervall ΔT kann so das mittlere Molekulargewicht berechnet werden. Da die Dampfdruckosmometrie keine Methode ist, die über einen Gleichgewichtszustand verläuft, muss das Instrument mit einer Verbindung von bekanntem Molgewicht kalibriert werden. Hierzu wird häufig Saccharoseoktaacetat verwendet. Auf folgenden Gebieten wurde die Dampfdruckosmometrie erfolgreich eingesetzt:

- Bestimmung des mittleren Molekulargewichtes von Makromolekülen kleinen bis mittleren Polymerisationsgrades
- Bestimmung von Assoziationskonstanten
- Untersuchung der Ionenpaarbildung

Durch die dampfdruckosmometrische Bestimmung kann der Assoziationsgrad von G-Quartetten bestimmt werden. *Sessler et al.* bestimmten so bei dem „leeren“ G-Quartett den Assoziationsgrad vier und bei einem C-G-Dimeren den Assoziationsgrad drei [22, 88].

2.2.6 Röntgenstrukturanalyse

Durch Einkristallröntgenstrukturanalyse lassen sich die Struktur einer Verbindung im festen Zustand und insbesondere Molekülkonformationen und Wasserstoffbrückenbindungen sehr genau bestimmen [89]. Im festen Zustand liegt meist ein einziges Konformeres vor, so dass die Röntgenstrukturanalyse keine Aussage über das Gleichgewicht der in Lösung vorliegenden Konformeren erlaubt. Die Kristallisationsbedingungen können die Kristallform und damit die Röntgenstruktur beeinflussen. Die Röntgenstrukturanalyse wurde entwickelt, um die exakte Lage der Ionen in einem Kristallgitter und die der Atome innerhalb eines Moleküls zu bestimmen. Dadurch können sowohl akkurate Werte für Bindungswinkel und Bindungslängen gemessen, als auch die Stapelung, die Lokalisation von Wasserstoffbrücken und die Art der Assoziation von Molekülen bestimmt werden.
Allein durch die eindeutige Bestimmung der Anordnung der Guanosine in der Struktur des 5’-GMP konnte *Gellert* 1962 erstmalig das G-Quartett Motiv nachweisen [13]. Gemeinsam mit der NMR-Strukturaufklärung hat die Röntgenstrukturanalyse dazu beigetragen detaillierte Informationen über die Konformation, die Basenstapelung und die Lokalisation der Kationen in G-Quartetten und G-Quadruplexen zu liefern [90]. Durch Röntgenstrukturanalyse wiesen *Sessler et al.* nach, dass es sich bei ihrer Struktur wirklich um ein „leeres“ Quartett handelt [22]. Die NMR- und die kristallographischen Daten bieten Strukturinformationen über mögliche Bindungsstellen, an denen selektive Liganden binden und damit den G-Quadruplex stabilisieren. Aus diesem Grund sind die Kristallstrukturen für die Suche nach besseren Liganden von grosser Bedeutung.

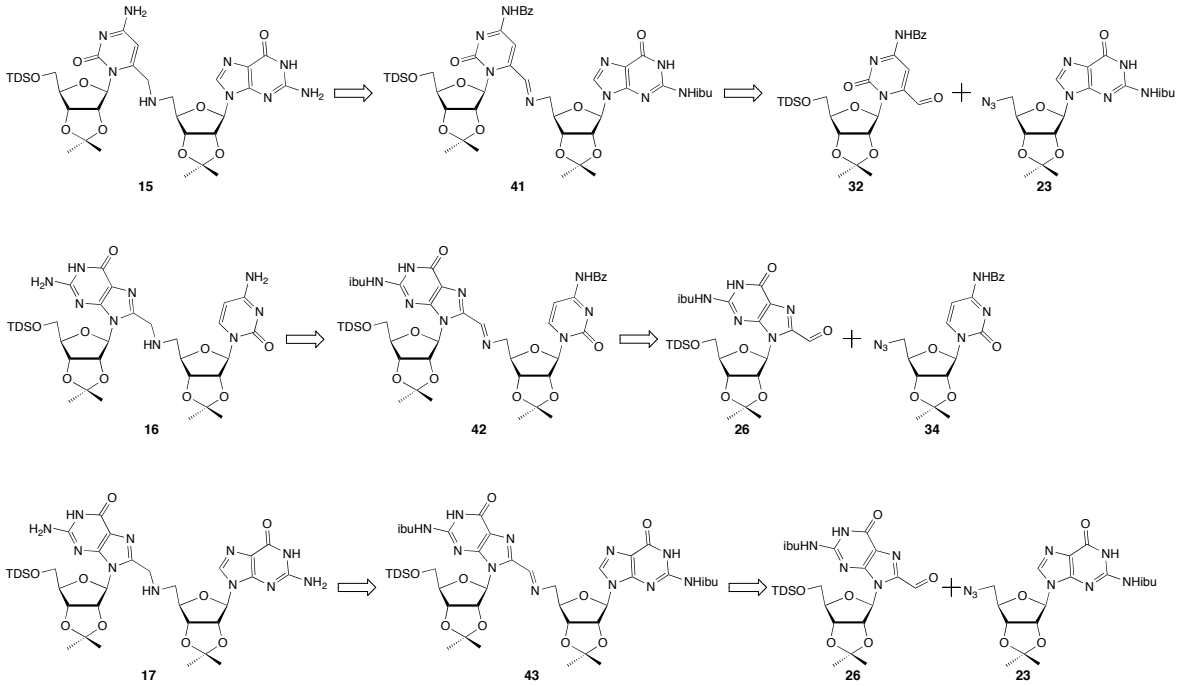
2.2.7 Infrarot-Spektroskopie

Die Infrarotspektroskopie ist eine unabdingbare Methode zum Nachweis spezifischer funktioneller Gruppen, die bei einer charakteristischen Frequenz schwingen [91]. Die Methode wurde während der Monomerensynthese hauptsächlich zur Charakterisierung der Azidverbindungen eingesetzt. Die Azidgruppe zeigt eine starke Valenzschwingung bei 2100 cm^{-1} und kann damit leicht nachgewiesen werden.

3 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Doktorarbeit sollten die Dinukleoside **15**–**17** (Schema 3.1) synthetisiert und auf ihre Assoziation, insbesondere auf Quartettbildung untersucht werden. Des weiteren sollten die entsprechenden an C(6) bzw. C(8) substituierten Dinukleoside synthetisiert werden, die eine Synthese höherer Oligomere erlauben. Idealerweise sollten die vollständig entschützten Dinukleoside auf ihre Wasserlöslichkeit und ihre Assoziation in Wasser untersucht werden.

Schema 3.1



3.1 Synthese der an C(6)/I bzw. C(8)/I unsubstituierten Dinukleoside

3.1.1 Synthese der Mononukleoside

Der Schlüsselschritt der Synthese der aminomethylen-verknüpften Dinukleoside ist die Aza-*Wittig*-Reaktion eines Aldehyds mit einem Iminophosphoran, wobei das Phosphoran durch Reaktion eines Azids mit Trimethylphosphin hergestellt wird.
Die Arbeitsvorschriften zur Herstellung der zur Synthese der Dinukleoside erforderten, von Cytidin- und Guanosin abgeleiteten Aldehyde **26** (Schema 3.3) und **32** (Schema 3.4) übernahm ich von *Lorenz Herdeis* bzw. *Daniel Egli* [9, 11] und optimierte diese Vorschriften[1]. Diese Aldehyde und die Azide **23** (Schema 3.3) und **34** (Schema 3.4) wurden aus den bekannten Edukten 2, 3'-*O*-Isopropylidenguanosin (**20**, Schema 3.3) [92,93] und N^4-Benzoyl-2',3'-*O*-isopropylidencytidin (**30**, Schema 3.4) [94] synthetisiert.

Synthese des Guanosinazids 23 und des Aldehyds 26 Eine direkte Substitution der Hydroxygruppe von **20** durch eine *Mitsunobu*-Reaktion (Tab. 3.1) führte nicht zu der gewünschten Azidverbindung **27** (Schema 3.2, Tab. 3.1). Dies könnte zum einen von der schlechten Löslichkeit von **20** in den verwendeten Lösungsmitteln (Dioxan, THF[2], DMF) oder zum anderen auf die Bildung einer intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen N(3) des Guaninrests mit HO–C(5') des Ribofuranosylrests zurückgeführt werden. Unter diesen Bedingungen könnte sich auch ein Cykloguanosin gebildet haben. Da die Nebenprodukte nicht isoliert wurden, kann keine Aussage über die Ursache des negativen Ergebnisses gemacht

[1] Im Gegensatz zum von Guanosin abgeleiteten Aldeyd **26** wurde der von Cytidin abgeleitete Aldehyd **32** von *Lorenz Herdeis* nicht isoliert, sondern *in situ* zum Alkohol reduziert.
[2] Die verwendeten Abkürzungen sind im Abkürzungsverzeichnis aufgeführt (*S.* 189).

werden. Die Azidverbindung **27** (Schema 3.2) wurde bereits von *Liu et al.* (Bedingungen *a1*, 52% Ausbeute, Tab. 3.1) [95] und *Stout et al.* durch die Substitution des *p*-Toluolsulfonylesters durch NaN_3 in 42% Ausbeute [96] synthetisiert. Die niedrigen Ausbeuten sind hauptsächlich auf die Bildung des C(5')→N(3)-Cyklonukleosids zurückzuführen, welches von *Stout et al.* in 36% Ausbeute isoliert wurde und dessen Bildung auch von *Liu et al.* beobachtet wurde.

Schema 3.2

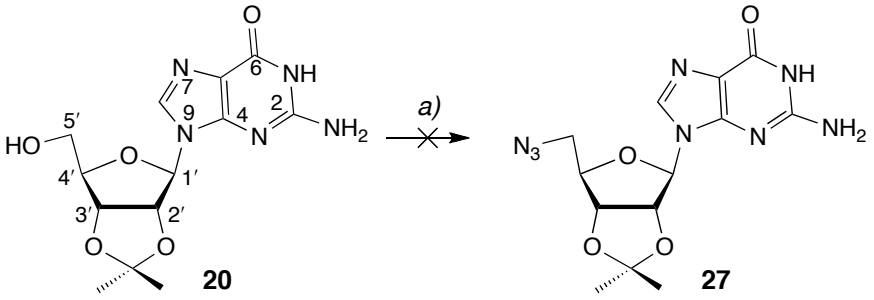


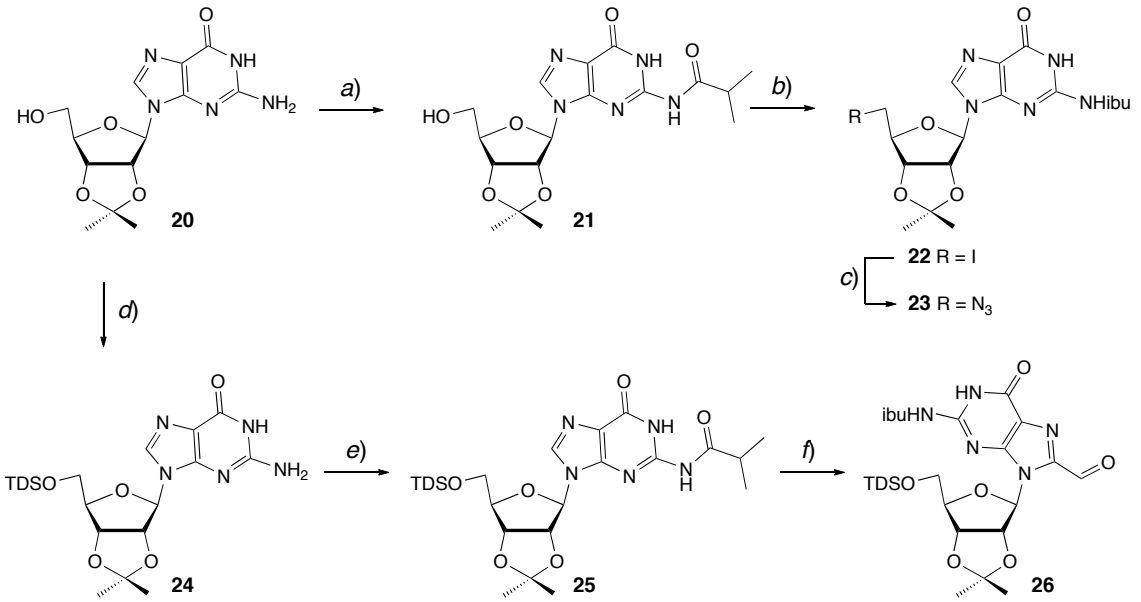
Tabelle 3.1: Reaktionsbedingungen für die Azidierung von **20**

a)	Reaktionsbedingungen	Referenz
1.	i) 1 Äq. DPPA, 1 Äq. DBU, 1,4-Dioxan, 14 h;	[95]
	ii) 0.1 Äq. 15-Krone-5, 10 Äq. NaN_3, 80°, 30 h.	
2.	1 Äq. PPh_3, 1 Äq. DIAD, THF, 0° → 25°, 1 Äq. DPPA, 96 h.	[97]
3.	1.2 Äq. PPh_3, 1.2 Äq. CBr_4, 3 Äq. NaN_3, DMF, 39 h.	[98]

Eine selektive Acylierung der C(2)-Aminogruppe des Alkohols **20** (Schema 3.3) mit Isobutyrylchlorid führte in 90% Ausbeute zum Amid **21** (Schema 3.3), das durch anschliessende Jodierung in CH_2Cl_2 bei −78° mit Methyltriphenylphosphonium-jodid (MTPI) in 83% Ausbeute in das Jodid **22** (Schema 3.3) übergeführt wurde [99]. Wie aus der Literatur bekannt ist [99], erhält man bei der Verwendung von DMF anstelle von CH_2Cl_2 als Lösungsmittel nicht das Jodid **22** sondern

das C(5')→N(3)-Cyklonukleosid. Die anschliessende Azidierung von **22** (Schema 3.3) mit LiN_3 in DMF führte in 94% Ausbeute zum Azid **23** (Schema 3.3), welches im IR-Spektrum eine Azidbande bei 2098 cm^{-1} zeigt.
Die Herstellung des Aldehyds **26** begann mit der Silylierung von **20** (Schema 3.3) mit Thexyldimethylsilylchlorid [100]. Sie führte in 97% Ausbeute zu **24** (Schema 3.3). Die anschliessende Acylierung der exocyklischen Aminogruppe des Silylethers **24** (Schema 3.3) mit Isobutyrylchlorid ergab 71% an **25** (Schema 3.3). Die Deprotonierung von **25** (Schema 3.3) mit LiHMDS, Formylierung mit DMF und Hydrolyse gab den Aldehyd **26** (Schema 3.3) in 96% Ausbeute. Das ^{1}H-NMR-Spektrum von **26** zeigt bei 9.83 ppm ein Singulett für die Formylgruppe; Signale für das Hydrat wurden nicht beobachtet.

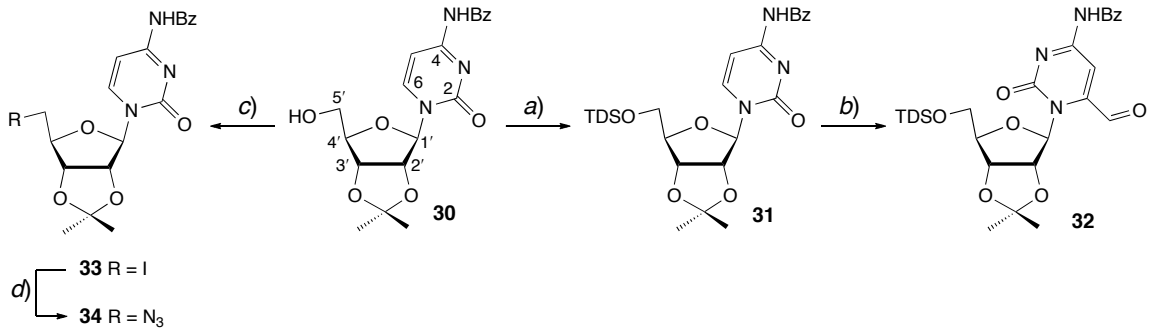
Schema 3.3



a) TMSOTf, Isobutyrylchlorid, Pyridin; 90%. *b)* MTPI, CH_2Cl_2; 83%. *c)* LiN_3, DMF; 94%. *d)* TDSCl, Imidazol, DMF; 97%. *e)* Isobutyrylchlorid, DMAP, Pyridin; 71%. *f)* LiHMDS, THF, DMF; 96%.

Synthese des Cytidinaldehyds 32 und des Azids 34 Die Silylierung des geschützten Cytidins **30** [94] mit Thexyldimethylsilylchlorid [100] in DMF führte in 94% zum Silylether **31** (Schema 3.4).

Schema 3.4



a) TDSCl, Imidazol, DMF; 94%. *b)* LDA, THF, DMF; 77%. *c)* MTPI, DMF; 96%. *d)* LiN_3, DMF; 90%.

Dieser wurde durch Deprotonierung mit LDA, Formylierung mit DMF und anschliessende Hydrolyse in 77% Ausbeute in den Aldehyd **32** umgewandelt (Schema 3.4). Das ^{1}H-NMR-Spektrum von **32** zeigt das Singulett der Formylgruppe bei 9.79 ppm. Auch hier wurde kein Signal für das Hydrat beobachtet.
Um das entsprechende Azid **34** zu gewinnen, wurde der Alkohol **30** durch Jodierung in DMF in 96% Ausbeute [101] in das Jodid **33** und durch anschliessende Azidierung mit LiN_3 in DMF in 90% in das Azid **34** (Schema 3.4) übergeführt. Das Azid **34** zeigt im IR-Spektrum eine typische Azidbande bei 2099 cm^{-1}.

3.1.2 Konformation der Mononukleoside

Die Konformationsanalyse der Mononukleoside umfasst die Bestimmung der Orientierung des Basenrests (*syn/anti*), der Konformation des Ribofuranosylringes (*S/N*), der Orientierung des C(5')-Substituenten (*gg/gt/tg*), die Untersuchung des

Einflusses der C(6)- bzw. C(8)-Substituenten und möglicher intramolekularer Wasserstoffbrücken.

Konformation der Guanosine Für Adenosinanaloge konnten die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals und die Konformation um die glykosidische Bindung korreliert werden mit einer chemischen Verschiebung des H–C(2') Signals von 5.70–5.80 ppm für die *syn*-Konformation und einer chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.20–5.30 ppm für die *anti*-Konformation [7]. Eine solche eindeutige Korrelation ist für die Guanosinanaloge nicht ohne weiteres möglich, da zum einen die chemischen Verschiebungen für Guanosine in der *syn*- und der *anti*-Konformation nicht sehr weit auseinander liegen ($\delta\Delta \approx 0.2$ ppm) und zum anderen die Verschiebung des H–C(2')-Signals nicht nur von der Orientierung der Nukleobase zum Ribofuranosylrest, sondern auch von anderen Faktoren, wie etwa vom Vorhandensein eines Substituenten an C(8) und seiner Natur oder der Schutzgruppen an der Nukleobase, abhängt. Die Bestimmung der Orientierung des Basenrests muss also durch die Auswertung von NOEs gesichert werden.

Die Nukleobasenreste der Alkohole **20** und **21** (Abb. 3.1) nehmen eine *syn* Orientierung an, was durch eine chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.18 bzw. 5.13 ppm und die bevorzugte *gg*-Orientierung des HO–C(5') angezeigt wird (Tab. 3.2) [102]. Verglichen mit der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals (5.19 ppm) des Aldehyds **26**, der aufgrund des C(8)-Substituenten in einer *syn*-Konformation vorliegt, korreliert die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals der Alkohole **20** und **21** mit der *syn*-Orientierung.

Die *gg*-Orientierung der HO–C(5')-Gruppe von **20** und **21** deutet auf eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3) hin. Diese Vermutung wird durch die chemische Verschiebung von *H*O–C(5') (5.04 ppm bzw. 5.06 ppm) gestützt. Das H–C(8) Signal des Alkohols **21** (Abb. 3.1) zeigt im NOESY-

Spektrum ein starkes Kreuzsignal mit H–C(1') und ein sehr viel schwächeres Kreuzsignal mit H–C(2'), was eine bevorzugte *syn*-Orientierung der Nukleobase bestätigt [102].

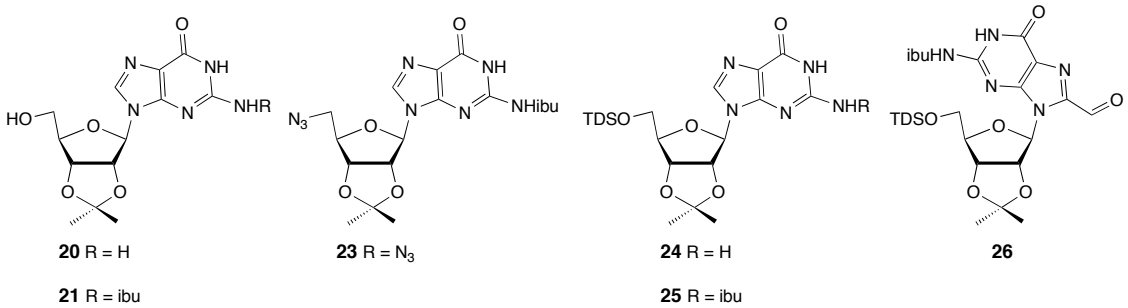


Abbildung 3.1: Guanosinderivate, deren Konformation bestimmt wurde

Tabelle 3.2: Daten zur Konformationsanalyse der Guanosin-Mononukleoside in $CDCl_3$

	20[1]	**21**	**23**	**24**	**25**	**26**
H–C(2') [ppm]	5.18	5.13	5.23	5.16	4.99	5.19
syn/anti	*syn*	*syn*	*syn/anti*	*syn/anti*	*anti*	*syn*
J(1',2')	2.5	3.9	2.3	2.5	2.5	3.2
J(3',4')	2.9	6.0	3.9	2.9	2.6	4.7
S/N	46:54	39:61	37:63	46:54	49:51	41:59
$J(4',5'_a)$	3.9	1.6	4.5	4.5	3.5	5.7
$J(4',5'_b)$	3.9	1.8	4.5	4.7	4.1	6.9
gg/gt/tg	59:20:21	*gg*	56:25:19	44:28:28	60:24:16	6:51:43

[1] in (D6)DMSO

Der Ribosylring von **20** faltet mit leichter Präferenz in der *N*-Konformation (*S/N* 46:54), der Ribosylring von **21** (*S/N* 39:61) ebenfalls (Tab. 3.2). Der Silylether **24**

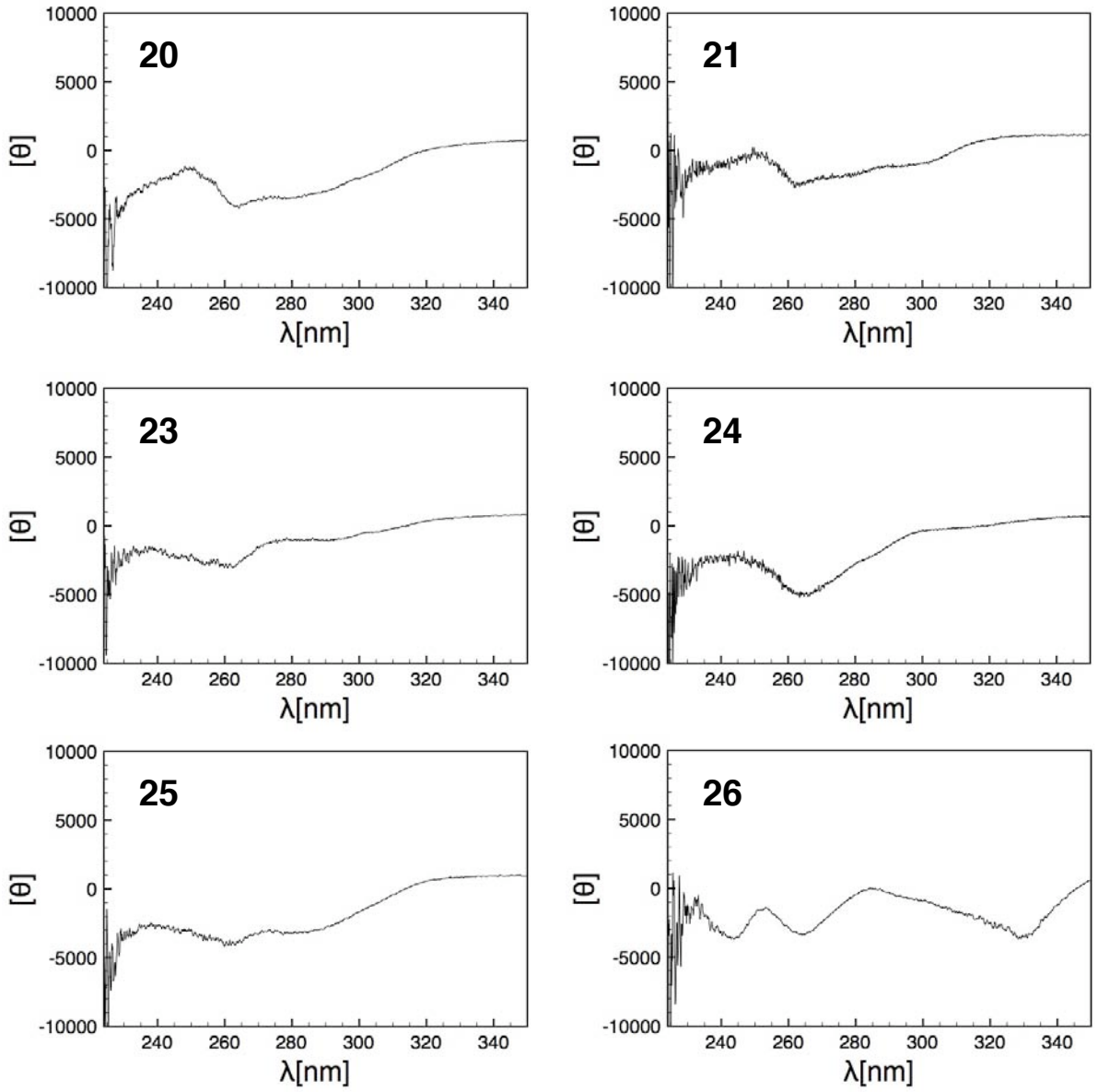


Abbildung 3.2: CD-Spektren von Guanosinmononukleosiden

(Abb. 3.1) scheint weder eine *syn*- noch eine *anti*-Konformation zu bevorzugen und dürfte als äquilibrierende Mischung dieser Konformere vorliegen. Dies spiegelt sich sowohl in der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.16 ppm wider [103], als auch im Verhältnis der *gg/gt/tg* Rotameren von ca. 44:28:28.

Läge eine *anti*-Orientierung der Nukleobase vor, so dürfte der Anteil des *gg*-Rotameren deutlich höher sein, im Falle einer *syn*-Orientierung dagegen der Anteil der *gt* bzw. *tg*-Rotameren (vgl. Rotamerenverhältnis von **25** und **26**). Es ist aus der Literatur bekannt, dass Nukleosidanaloge, die eine 2',3'-*O*-Isopropylidengruppe tragen, eher in der *syn*-Konformation vorliegen als solche ohne Isopropylidengruppe [8].

Der Silylether **25** zeigt eine Resonanz für H–C(2') bei 4.99 ppm, was auf eine *anti*-Konformation hinweist. Im NOESY-Spektrum weist H–C(8) ein starkes Kreuzsignal mit H–C(2') und H–C(5') auf und nur ein schwaches Kreuzsignal mit H–C(1'). Diese Beobachtung weist eindeutig auf eine *anti*-Konformation hin [102]. Der Ribofuranosylrest liegt im Gleichgewicht zwischen der Nord- und Südkonformation vor (*S/N*: 49:51) und das Verhältnis der *gg/gt/tg*-Rotameren ist 60:24:16 mit deutlicher Präferenz für *gg*, was in Abwesenheit einer intramolekularen Wasserstoffbrücke ebenfalls auf eine *anti*-Konformation hinweist.

Die CD-Spektren der Verbindungen **20–25** sind einander sehr ähnlich (Abb. 3.2) und können ohne Betrachtung der NMR-Daten schnell in die Irre führen. Das Maximum zwischen 240 nm und 250 nm scheint aus einer Überlappung zweier CD-Effekte zu resultieren, da dieses Maximum sowohl für Verbindungen mit einer *syn*-Orientierung der Nukleobase, als auch für solche mit einer *anti*-Konformation auftritt.

Die CD-Spektren der Verbindungen **20–25** zeigen ein Minimum bei 261 nm, was in der Regel Guanosinderivate in der *anti*-Konformation charakterisiert [104]. Der Aldehyd **26** liegt in der *syn*-Konformation vor, was sich in einer chemischen Verschiebung von 5.19 ppm des H–C(2')-Signals widerspiegelt. Der sterische Anspruch eines Substituenten an C(8) des Basenrests hat im Allgemeinen eine *syn*-Konformation zur Folge, in der sterische Wechselwirkungen zwischen dem C(5')-Substituenten und dem Substituenten an C(8) vermieden werden [80]. Das CD-Spektrum des Aldehyds **26** zeigt die typischen Maxima bei 285 nm und 233 nm für Guanosinderivate, deren Nukleobasen eine *syn*-Orientierung annehmen [104].

Das Azid **23** liegt in Lösung als Gleichgewichtsgemisch der *syn/anti*-Konformeren vor. Dies zeigt sich im NOESY-Spektrum am starken Kreuzsignal von H–C(8) mit H–C(1') und dem etwas schwächeren Kreuzsignal von H–C(8) mit H–C(2') [8]. Die chemische Verschiebung für H–C(2') ist 5.23 ppm und der Ribofuranosylrest nimmt bevorzugt die *N*-Konformation an (*S/N*: 37:63). Das Verhältnis der *gg/gt/tg*-Rotameren ist 56:25:19 (Tab. 3.2). In der Regel wird die chemische Verschiebung des H–C(1')-Signals auch durch die Orientierung der Nukleobase beeinflusst [103]. Bei den hier untersuchten Mononukleosiden wurde dies jedoch nicht beobachtet, da die Verschiebung für H–C(1'), unabhängig vom glykosidischen Winkel, zwischen 5.83 und 5.99 ppm liegt. Einzig der Aldehyd **26** weist eine Tieffeldverschiebung des H–C(1')-Signals nach 6.50 ppm auf, was vermutlich an der Entschirmung von H–C(1') durch die Anisotropie der Carbonylgruppe liegt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Bevorzugung einer *gg*-Orientierung eines C(5')-Substituenten für eine *anti*-Orientierung der Nukleobase spricht, wie es der Fall für den Silylether **25** ist, es sei denn, es liegt eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3) vor. Nimmt die Nukleobase eine *syn*-Orientierung mit Bildung einer persistenten intramolekularen Wasserstoffbrücke an, so ist die *gg*-Konformation bevorzugt, wie es für die Alkohole **20** und **21** der Fall ist. Für den Aldehyd **26**, der eine *syn*-Konformation annimmt und keine intramolekulare Wasserstoffbrücke bildet, ist die *gt*-Konformation bevorzugt, um einer sterischen Wechselwirkung des C(5')-Substituenten und N(3) entgegenzuwirken. Im Falle des Azids **23** und des Silylethers **24**, die als Gleichgewichtsgemisch der *syn/anti*-Konformeren vorliegen wird die *gg*-Konformation bevorzugt. Mit Ausnahme des Silylethers **25**, der als Gleichgewichtsgemisch von *S*- und *N*-Konformeren vorliegt, bevorzugen alle Guanosine die *N*-Konformation des Ribosylringes, die vermutlich durch die Isopropylidenschutzgruppe begünstigt ist. Die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals ist für den Silylether **25** 4.99 ppm, während diese Verschiebung für die restlichen Guanosine, die eine *syn*-

oder zumindest teilweise eine *syn*-Konformation annehmen zwischen 5.13 und 5.23 ppm liegt [103]. Die Drehwerte, die bei der Na-D-Linie gemessen wurden, sind für alle Guanosine positiv, die zumindest teilweise ein *syn*-Konformation aufweisen, während der Drehwert des Silylethers **25** negativ ist. Der Drehwert stimmt hier also gut mit der aus den NMR-Daten bestimmten Orientierung der Nukleobase überein.

Kristallstruktur des Azidoguanosins Das Azid **23** wurde aus Toluol/Aceton kristallisiert und bei 223 K vermessen. Die Raumgruppe ist $P2_12_12_1$ und der R-

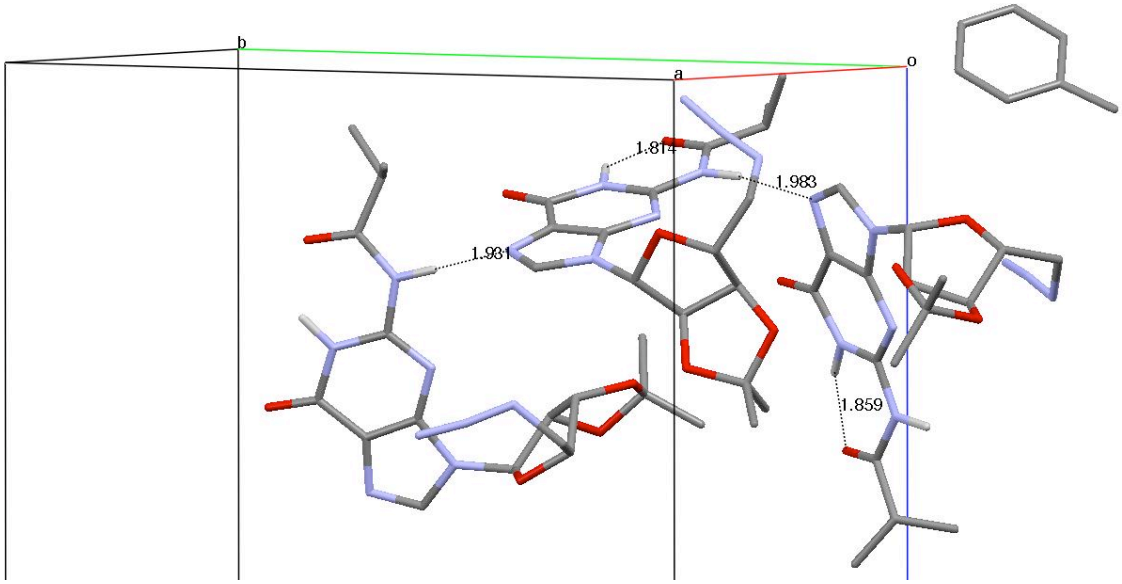


Abbildung 3.3: “Capped Sticks” Darstellung der Kristallstruktur eines Solvates aus dem Azid **23** und 0.5 Äquivalenten Toluol.

Faktor ist 0.1085. Die Einheitszelle setzt sich aus zwei Azidmolekülen und einem Toluolmolekül zusammen.
Der glykosidische Winkel χ beträgt 75.4°; damit weist die Nukleobase eine *syn*-Orientierung auf und dieser Winkel könnte auch in Lösung die Verschiebung des

H–C(2')-Signals von 5.23 ppm hervorrufen. Die Orientierung der Azidogruppe an C(5') ist *gg* und die Azidogruppe ist linear. Der Ribofuranosylrest weist eine $_{4'}$E-Konformation auf, in der O(4')-C(1')-C(2')-C(3') in einer Ebene liegen und C(4') unterhalb dieser Ebene angeordnet ist.
Im Kristall sind eine intermolekulare Wasserstoffbrücke zwischen H–N–C(2) und N(7) mit einer Länge von 1.93–1.98 Å, sowie eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen der Carbonylgruppe der Isobutyrylschutzgruppe und H–N(1) des Guanosins mit einem H···O Abstand von 1.81–1.86 Å zu finden (Abb. 3.3).
Im Kristallverbund sind jeweils vier Nukleobasen rechtwinklig zueinander ange-

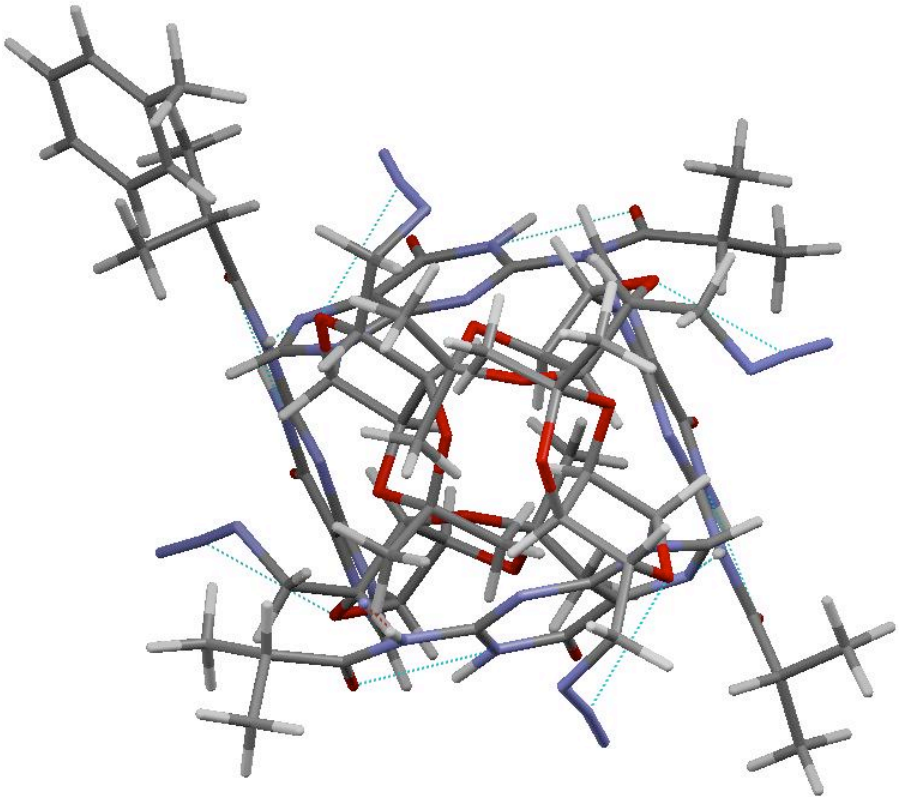


Abbildung 3.4: Ansicht der Kristallstruktur des Azids **23** entlang der B-Achse

ordnet und bilden ein Quadrat. Im Inneren dieses Quadrats sind die Ribofuranosylringe angeordnet, während die Isobutyrylreste und die Azidsubstituenten nach

aussen zeigen. Die Azidsubstituenten sind parallel zu den Nukleobasenresten angeordnet und stapeln mit diesen, befinden sich also in einem Abstand von 3.3 Å (Abstand zwischen dem entständigen Stickstoff des Azidsubstituenten und N(3) der Nukleobase) (Abb. 3.4).

Konformation der Cytidin-Mononukleoside Die Orientierung der Nukleobase zum Ribofuranosylrest kann bei den Cytidin-Mononukleosiden anhand der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals und anhand von NOE-Kreuzsignalen bestimmt werden. Liegt eine *syn*-Konformation vor, so erscheint das H–C(2')-Signal zwischen 5.10 und 5.40 ppm; beim Vorliegen einer *anti*-Konformation wird das Signal bei 4.70–4.80 ppm beobachtet. Dies entspricht den Beobachtungen bei den Uridinderivaten, welche in der *anti*-Konformation eine chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 4.70–4.80 ppm aufweisen und in der *syn*-Konformation eine von 5.10–5.20 ppm [7].
Der Aldehyd **32** (Abb. 3.5) nimmt aufgrund des Substituenten an C(6) eine *syn*-Konformation an, was sich in der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.19 ppm äussert. Die Ribofuranosylring bevorzugt die *N*-Konformation (*S/N*: 34:66) und weist ein *gg/gt/tg*-Rotamerenverhältnis von 22:45:33 auf. Aufgrund der sterischen Wechselwirkung der Nukleobase mit dem Thexyldimethylsilyloxysubstituenten ist die *gg*-Konformation ungünstig und die *gt*- bzw. die *tg*-Konformation wird bevorzugt. Im ^{1}H-NMR-Spektrum des Alkohols **30** beobachtet man das H–C(2')-Signal bei 5.22 ppm. Das NOESY-Spektrum zeigt ein starkes Kreuzsignal von H–C(6) mit H–C(1'), was für eine *syn*-Konformation der Nukleobase spricht. Der Ribosylring des Alkohols **30** faltet im *S/N*-Verhältnis von 45:55 und das Verhältnis der *gg/gt/tg*-Rotameren ist 82:10:8. Die starke Präferenz für die *gg*-Konformation ist typisch für Verbindungen mit einer intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen *H*O–C(5') und dem Nukleobasenrest [4]. Die Verschiebung des *H*O–C(5') Signals von 3.72 ppm spricht jedoch nicht für eine persistente Wasserstoffbrücke zwischen *H*O–C(5') und O=C(2). Die CD-Spektren von **30** und **32**

sind einander sehr ähnlich. Sie weisen ein Minimum bei 252 nm und ein lokales Maximum bei 235-239 nm auf (Abb. 3.6).

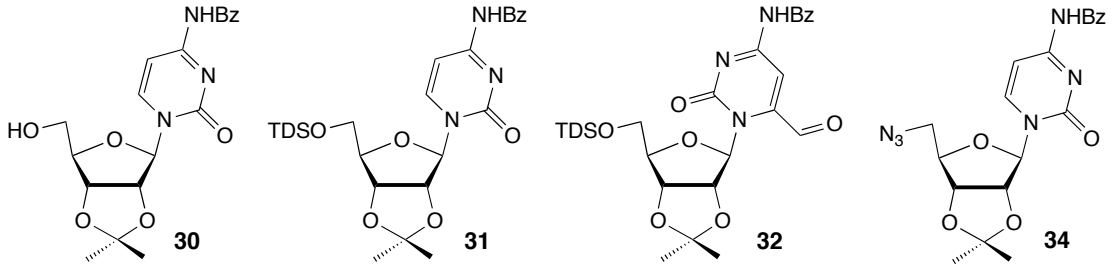


Abbildung 3.5: Cytidinderivate, deren Konformation bestimmt wurde

Tabelle 3.3: Konformationsanalyse der Cytidin-Mononukleoside

	30	**31**	**32**	**34**
H–C(2') [ppm]	5.22	4.79	5.19	5.11
syn/anti	*syn*	*syn/anti*	*syn*	*syn*
J(1',2')	2.6	2.4	2.1	1.5
J(3',4')	3.2	3.0	4.1	4.1
S/N	45:55	45:55	34:66	27:73
$J(4',5'_a)$	$\approx$ 2.8	2.3	4.9	6.7
$J(4',5'_b)$	$\approx$ 2.8	3.4	6.2	4.5
gg/gt/tg	82:10:8	78:20:2	22:45:33	35:18:47

Der Silylether **31** besitzt eine *anti*-Konformation, wie die Resonanz des H–C(2') bei 4.79 ppm zeigt. Ein starkes Kreuzsignal im NOESY-Spektrum zwischen H–C(6) und H–C(2') sowie zwischen H–C(6) und H–C(3') und ein schwächeres Kreuzsignal zwischen H–C(6) und H–C(1') weisen ebenfalls auf eine *anti*-Konformation hin. Der Ribofuranosylrest zeigt eine leichte Präferenz für die *N*-Kon-

formation (*S/N* 45:55) und die Orientierung der Silyloxygruppe an C(5') ist hauptsächlich *gg* (*gg/gt/tg* 78:20:2), was auch für eine *anti*-Orientierung der Nukleobase spricht. Das CD-Spektrum von **31** (Abb. 3.6) zeigt einen für Cytidin und seine Analogen typischen positiven Cotton-Effekt mit einem Maximum bei 307 nm, einem Minimum bei 232 nm und einen Nulldurchgang bei 277 nm [81].

Die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals des Azids **34** (Abb. 3.6) von

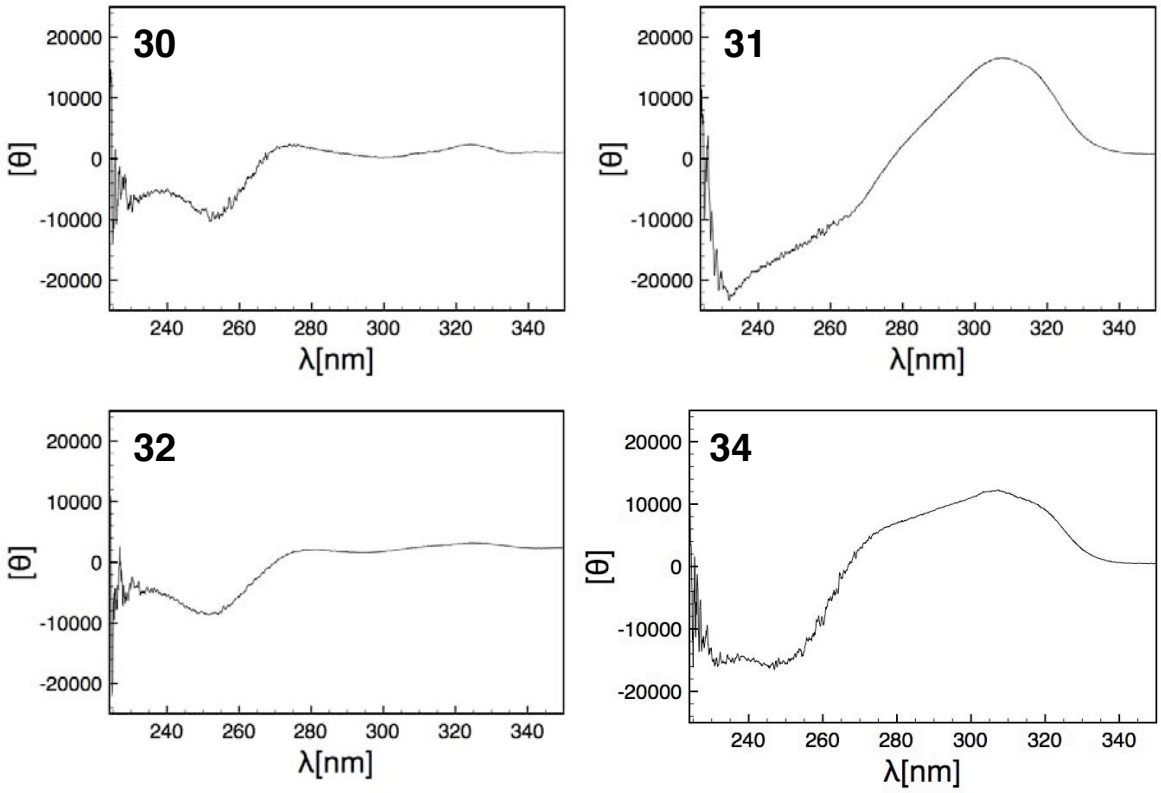


Abbildung 3.6: CD-Spektren der untersuchten Cytidin-Mononukleoside

5.15 ppm spricht für eine *syn*-Orientierung der Nukleobase. Diese geht auch aus dem NOESY-Spektrum hervor, welches ein starkes Kreuzsignal zwischen H–C(6) und H–C(1') aufweist, jedoch keines zwischen H–C(6) und H–C(2'). Der Ribosylring faltet bevorzugt in der *N*-Konformation (*S/N* 27:73) und das *gg/gt/tg* Verhältnis ist 35:18:47, die *tg* Konformation wird also bevorzugt. Dies geht auch aus

dem CD-Spektrum hervor, welches die typischen Extrema für Cytidinanaloge in der *syn*-Konformation (Maximum bei 273 nm, Minimum bei 247 nm) aufweist (Abb. 3.6) [81].

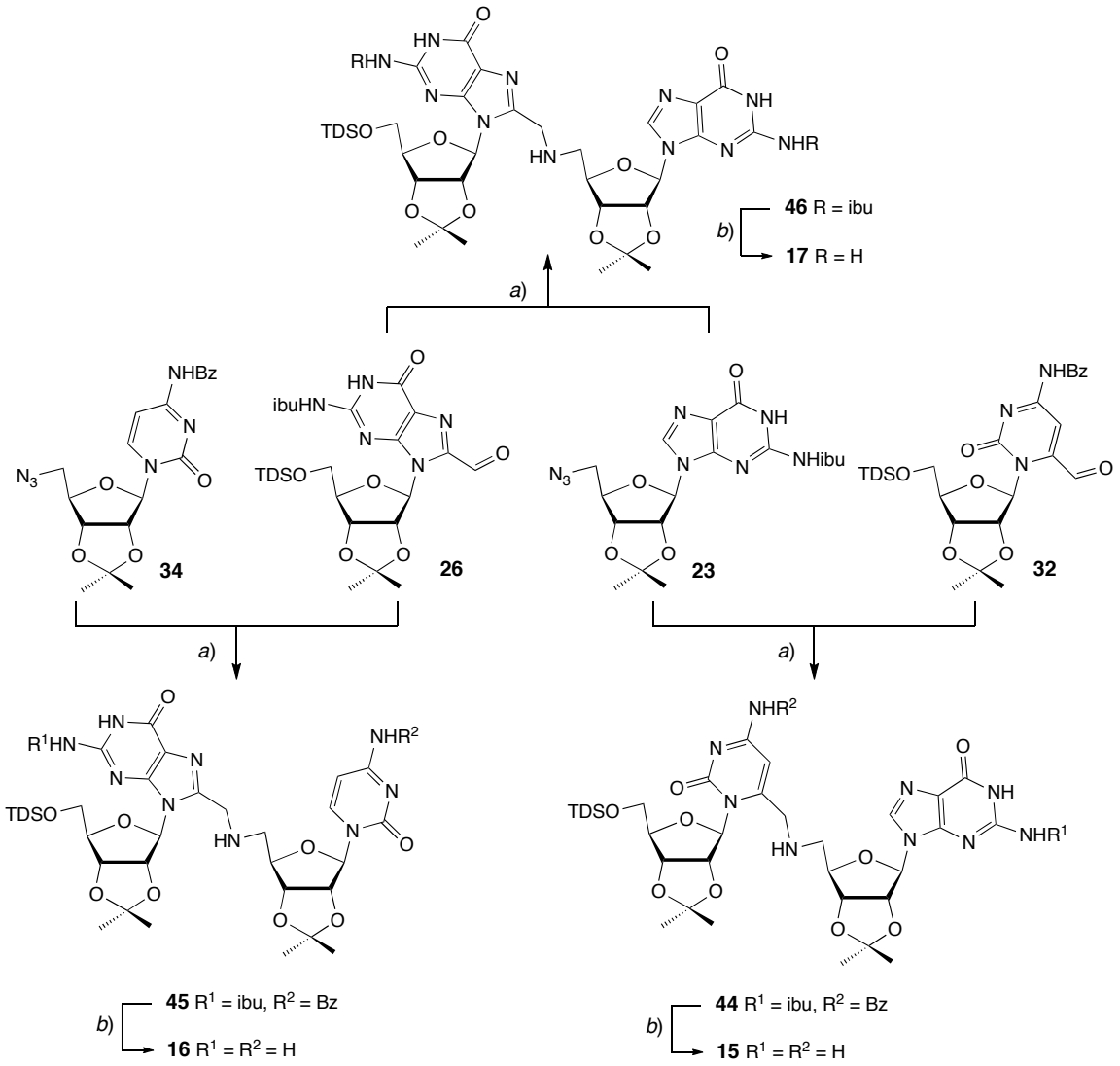
Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Bevorzugung einer *gg*-Orientierung eines C(5')-Substituenten für eine *anti*-Orientierung der Nukleobase oder eine persistente intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und O=C(2) spricht wie es der Fall für den Alkohol **30** oder den Silylether **31** ist. Wird die *gg*-Konformation bevorzugt, so geht dies mit einer leichten Bevorzugung der *N*-Konformation einher (*S/N* = 45:55 in beiden Verbindungen). Liegt eine *syn*-Konformation ohne intramolekulare Wasserstoffbrücke vor, so ist die *N*-Konformation stärker bevorzugt (> 65%) und im Falle eines Silyloxysubstituenten an C(5') wird die *gt*-Konformation bevorzugt, während im Falle eines Azidosubstituenten die *tg*-Konformation bevorzugt wird. Die Verschiebung des H–C(2')-Signals ist für den Silylether **31**, der als *syn/anti*-Konformerengemisch vorliegt, 4.79 ppm und für die Cytidine, die eine *syn*-Konformation annehmen 5.11–5.22 ppm. Die Drehwerte sind für die Cytidine **30–34** positiv.

3.1.3 Synthese der Dinukleoside

Nachdem die Bausteine für die Synthese der Dinukleoside hergestellt wurden, synthetisierte ich die aminomethylen-verknüpften C*[N]G, G*[N]C und G*[N]G Dinukleoside.

Das Azid **23** wurde in einer *Staudinger*-Reaktion mit Me_3P in THF umgesetzt und *in situ* mit dem Aldehyd **32** gekuppelt. Durch die Reduktion des Produkts mit $NaCNBH_3$ [105] wurde in 70% Ausbeute das geschützte C*[N]G Dinukleosid **44** erhalten (Schema 3.5). Die *N*-Benzoyl- und *N*-Isobutyrylschutzgruppen wurden mit NH_3/MeOH abgespalten und das teilweise geschützte C*[N]G Dinukleosid **15** in 78% Ausbeute erhalten.

Schema 3.5



a) 1. Me_3P, THF. *2.* $NaCNBH_3$, AcOH, *i*PrOH; 70% **44**; 73% **45**; 70% **46**. *b)* NH_3/MeOH; 78% **15**; 75% **16**; 83% **17**.

Die C(6/II)–CH_2 Gruppe erscheint als AB-System in Form von zwei breiten *Dupletten* bei 3.15 und 2.94 ppm, die jeweils eine Kopplungskonstante von J = 12.0 Hz aufweisen. Das H–N(C5'/I) zeigt eine Resonanz bei 1.99 ppm als breites Singulett.

Das G*[N]C Dinukleosid **16** wurde auf ähnliche Weise synthetisiert wie **15**. Das

Azid **34** wurde zunächst mit Me_3P in THF und sodann *in situ* mit dem Aldehyd **26** (Schema 3.5) umgesetzt. Reduktion mit $NaCNBH_3$ führte in 70% Ausbeute zum vollständig geschützten Dinukleosid **45**, welches durch Abspalten der *N*-Benzoyl- und *N*-Isobutyrylschutzgruppen mit NH_3/MeOH in 75% Ausbeute das teilweise geschützte G*[N]C-Dinukleosid **16** ergab.
Die C(8/II)–CH_2 Gruppe erscheint als AB-System in Form von zwei breiten *Dupletten* bei 3.94 und 3.74 ppm, die jeweils eine Kopplungskonstante von J = 12.3 Hz aufweisen. Das H–N(C5'/I) kann aufgrund von Austausch nicht beobachtet werden.
Das G*[N]G Dinukleosid **17** wurde auf ähnliche Weise wie die Dinukleoside **15** und **16** synthetisiert. Das Azid **23** wurde durch Reaktion mit Me_3P in THF, Aza-*Wittig*-Reaktion mit dem Aldehyd **26** und Reduktion mit $NaCNBH_3$ in 70% Ausbeute in das Dinukleosid **46** (Schema 3.5) übergeführt. Entschützen mit NH_3/MeOH oder mit NaOMe/MeOH führte in 83% Ausbeute zum Dinukleosid G*[N]G **17**.
Die C(8/II)–CH_2 Gruppe erscheint als AB-System in Form von zwei breiten *Dupletten* bei 3.90 und 3.79 ppm, die jeweils eine Kopplungskonstante von J = 14.2 Hz aufweisen. Das H–N(C5'/I) Signal kann aufgrund von Austausch nicht beobachtet werden.
Um die Aza-*Wittig*-Reaktion zu optimieren, wurden verschiedene Phosphine und Phosphite in unterschiedlichen Lösungsmitteln zur Synthese der Iminophosphorane aus **34** eingesetzt (Schema 3.6). Nach 24 Stunden wurde von den Reaktionsgemischen *a1)– a4)* ein IR-Spektrum aufgenommen und überprüft, ob die Azidbande bei 2100 cm^{-1} noch vorhanden war (Abb. 3.7). Die Bildung von **35** ist nach 24 Stunden vollständig abgelaufen, jene von **36** nahezu vollständig (Abb. 3.7). Die entsprechenden Reaktionsgemische wurden *in situ* mit dem Aldehyd **26** umgesetzt. Die Reaktion des Aldehyds verlief sowohl mit dem Triphenylimi-

Schema 3.6

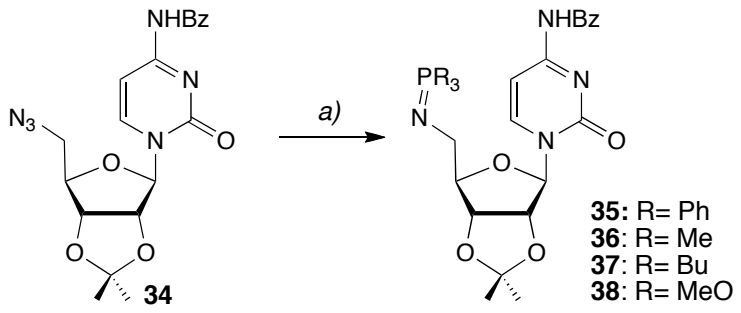


Tabelle 3.4: Reaktionsbedingungen für die Synthese der Iminophosphorane aus **34**

a)	Bedingungen	Beobachtungen
1)	Ph_3P, THF, 25°	nach 24 h vollständig reagiert
2)	Me_3P, THF, 25°	nach 24 h kleine Azidbande < 2% im IR
3)	Bu_3P, THF, 25°	nach 24 h Azidbande ≈ 7%
4)	$(MeO)_3P$, THF, 25°	nach 24 h Azidbande ≈ 25%
5)	Ph_3P, Toluol, 25°	schlechtere Löslichkeit und langsamere Reaktion als in THF
6)	Me_3P, Toluol, 25°	schlechtere Löslichkeit und langsamere Reaktion als in THF

nophosphoran **35** als auch mit dem Trimethyliminophosphoran **36** gleichermassen schnell und sauber und ergab beide Male das Imin **42** (Schema 3.7). Da die Abtrennung des Triphenylphosphinoxids vom Produkt sehr mühsam ist, während Trimethylphosphinoxid mit Wasser ausgewaschen werden kann, wurde die Aza-*Wittig*-Reaktion mit Me_3P durchgeführt.

Um die Synthese des Dinukleosids **42** zu optimieren wurden mehrere Bedingungen für die Reduktion (Schema 3.7) des Imins zum Amin getestet (Tab. 3.5).

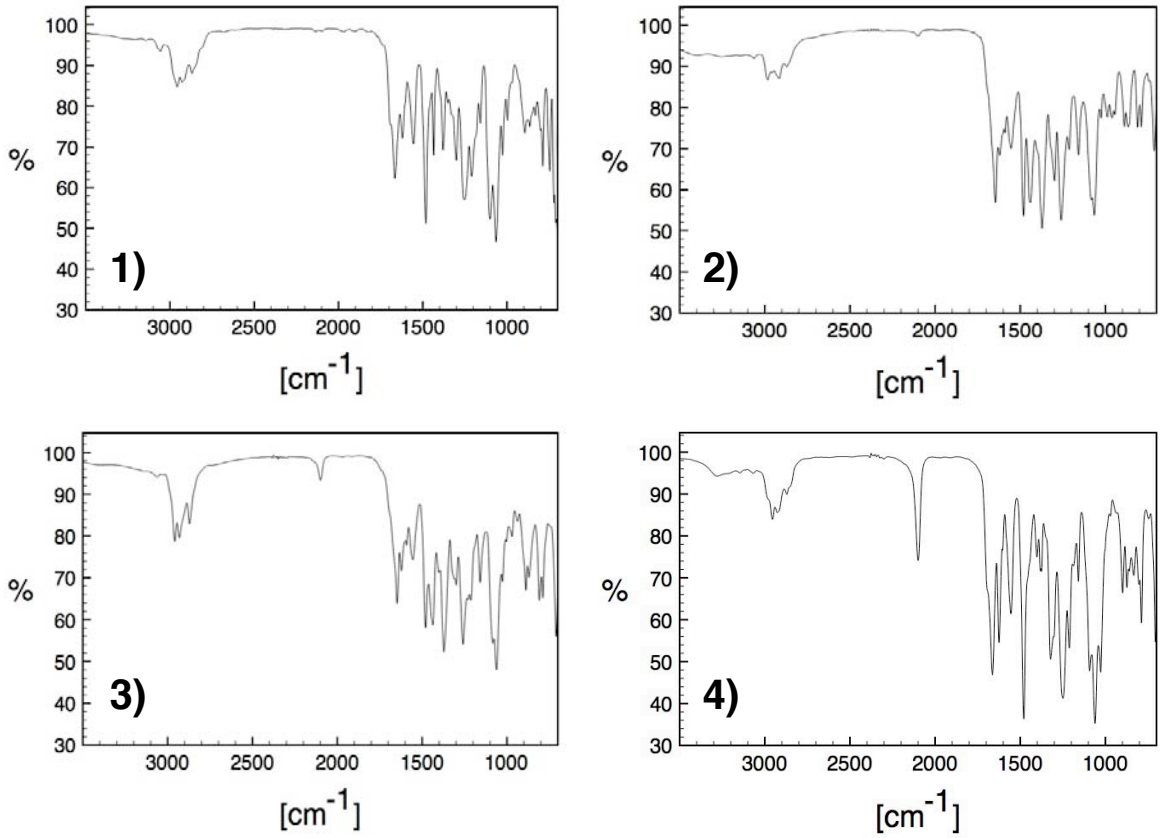


Abbildung 3.7: ATR-IR-Spektren, der unter Bedingungen *a1)– a4)* gebildeten Iminophosphorane

Schema 3.7

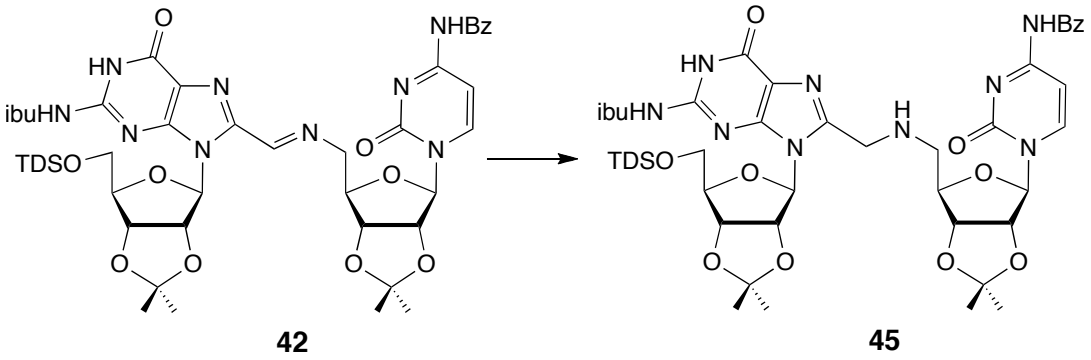


Tabelle 3.5: Reaktionsbedingungen für die Reduktion des Imins **42**

a)	Bedingungen	Beobachtungen	Ref.
1)	4 Äq. $NaCNBH_3$, 4 Äq. AcOH, MeOH	unvollständig nach 24 h	[106]
	Zugabe von $NaBH_4$, wässrige Aufarbeitung	53%	
2)	1.5 Äq. $NaBH_4$, 1.5 Äq. AcOH, EtOH	unvollständig nach 3 h	[107]
	Zugabe weiterer 1.5 Äq. $NaBH_4$	unvollständig nach 13 h	
	Zugabe von 10% MeOH	unvollständig nach 22 h	
		Bildung mehrerer NP	
3)	0.14 Äq. $InCl_3$, 1.5 Äq. $NaBH_4$, MeCN	unvollständig nach 13 h	[108]
4)	1.5 Äq. $NaBH_4$, MeOH/AcOH 5:1		
5)	1.5 Äq. $NaBH_4$, MeOH/HCOOH 5:1		
6)	1.5 Äq. $NaBH_4$, EtOH/AcOH 5:1		
7)	1.5 Äq. $NaBH_4$, EtOH/HCOOH 5:1		
8)	1.5 Äq. $NaBH_4$, *i*-PrOH/AcOH 5:1		
9)	1.5 Äq. $NaBH_4$, *i*-PrOH/HCOOH 5:1		
10)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, MeOH/AcOH 5:1		
11)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, MeOH/HCOOH 5:1		
12)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, EtOH/AcOH 5:1		
13)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, EtOH/HCOOH 5:1		
14)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, *i*-PrOH/AcOH 5:1	15 min, 95%	
15)	1.5 Äq. $NaCNBH_3$, *i*-PrOH/HCOOH 5:1		

NP: Nebenprodukte

Die Reaktionen *a4– a15)* wurden nur in einem sehr kleinen Massstab (10–50 μM) durchgeführt und die beste Bedingung *a14)* bei einer Umsetzung in grösserem Massstab getestet (Tab. 3.5). Weitere Optimierungen führten zu denjenigen Bedingungen, die zur Reduktion in grossem Massstab verwendet wurden, nämlich die Zugabe einer Lösung des Dinukleosids **42** in MeOH zu einer Suspension von 4 Äq. $NaCNBH_3$ in *i*PrOH/MeOH/AcOH 40:60:1. Unter dieser Bedingung wurden alle Imine schnell (15–30 min.) und sauber reduziert und die Dinukleoside **44–46** in Ausbeuten von 87–90% isoliert.

3.1.4 Konformation und Assoziationsverhalten der selbstkomplementären aminomethylen-verknüpften Guanosin- und Cytidin-Dinukleoside

Die Abbildung 3.8 zeigt die Dinukleoside deren Struktur und Assoziation Gegenstand dieses Kapitels bilden.

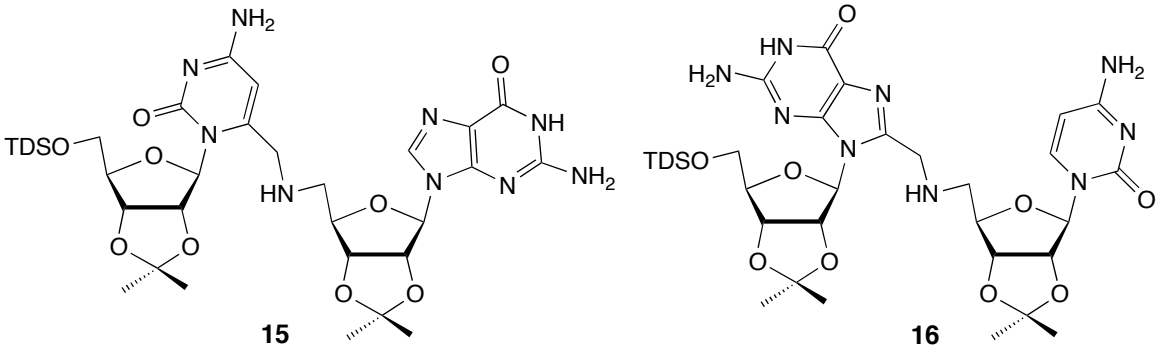


Abbildung 3.8: Selbstkomplementäre Dinukleoside deren Konformation und Assoziationsgrad untersucht wurde

Struktur des C*[N]G-Dinukleosids Das ^{1}H-NMR-Spektrum des Dinukleosids **15** in $CDCl_3$ zeigt chemische Verschiebungen für eine *Watson-Crick*-Basenpaarung von 13.91 ppm für H–N(1)/I, von 7.87 ppm für H_a–N(2)/I und von 5.38 ppm für H_b–N(2)/I des Guanosinrests sowie von 8.98 ppm für H_a–N(4)/II und 7.59 ppm für H_b–N(4)/II des Cytidinrests. Das NOESY-Spektrum zeigt ebenfalls ein Kreuzsignal zwischen H–N(1)/I und H–N(4)/II, welches nur bei einer *Watson-Crick* Basenpaarung zu beobachten ist [109].

Das C*[N]G-Dinukleosid **15** bildet einen cyklischen Duplex, wie aus der starken Krümmung der Verschiebungs-Konzentrationskurve (VKK) bei niedrigen Konzentrationen und dem Erreichen eines Plateaus bei ca. 20 mM (Abb. 3.9) her-

vorgeht [4]. Die chemische Verschiebung wurde bei Konzentrationen zwischen 27.8 und 0.9 mM gemessen. Aufgrund eines H/D-Austausches war es nicht möglich, chemische Verschiebungen bei höherer Verdünnung zu messen. Die Messungen wurden in $CDCl_3$/(D6)DMSO 9:1 durchgeführt, da in reinem $CDCl_3$ keine Konzentrationsabhängigkeit der chemischen Verschiebung beobachtet wurde. Dies spricht dafür, dass das C*[N]G-Dinukleosid stark paart, jedenfalls deutlich stärker als die aus Adenosin und Uridin aufgebauten Dinukleoside, deren Lösung in $CDCl_3$ bereits eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit aufweist (δ = 13–10.5 ppm bei Konzentrationen von 60–1 mM [4]). Die Assoziationskonstante von 37500 mol^{-1} in $CDCl_3$/(D6)DMSO spricht ebenfalls für einen äusserst stabilen Duplex, ist sie doch trotz dem Zusatz an DMSO, welches als Wasserstoffbrückenakzeptor die Basenpaarung schwächt, deutlich höher ist als für die aus Uridin und Adenosin aufgebauten Dinukleoside (z.B. K_{ass}= 872 mol^{-1} für das U*[N]A-Dinukleosid [4]).

Die thermodynamischen Parameter ΔG, ΔH und ΔS werden durch die *van't Hoff*-Auswertung der ^{1}H-NMR-Spektren, die zwischen 7° und 50° gemessen wurden, bestimmt. Dabei geht ΔH direkt aus der Steigung hervor und ΔS aus dem y-Achsenabschnitt. ΔG wird dann aus den bestimmten ΔH- und ΔS-Werten berechnet.

Der ΔG Wert von $-6.27\ kcal/mol$ ist ähnlich gross wie jene der vergleichbaren C*[S]G-Dinukleoside **50** und **51** ($\Delta G = -6.77$ bzw. $\Delta G = -7.09$) (Abb. 3.10), die ebenfalls in $CDCl_3$/(D6)DMSO 9:1 in einem Konzentrationsbereich von 72–0.5 mM untersucht wurden und für welche eine VKK erhalten wurde [11]. ΔS ist mit $-17.4\ cal/mol \cdot K$ deutlich kleiner als ΔS für die Assoziation der C*[S]G-Dinukleoside **50** und **51** ($\Delta S = -28.88$ bzw. $\Delta S = -31.30$). Der ΔH Wert beträgt $-11.4\ kcal/mol$ und unterscheidet sich damit deutlich von den ΔH-Werten der beiden C*[S]G-Dinukleoside **50** und **51** ($\Delta H = -15.29$ bzw. $\Delta H = -16.32$). Dies zeigt, dass die Wasserstoffbrücken im cyklischen Duplex weniger stark sind als

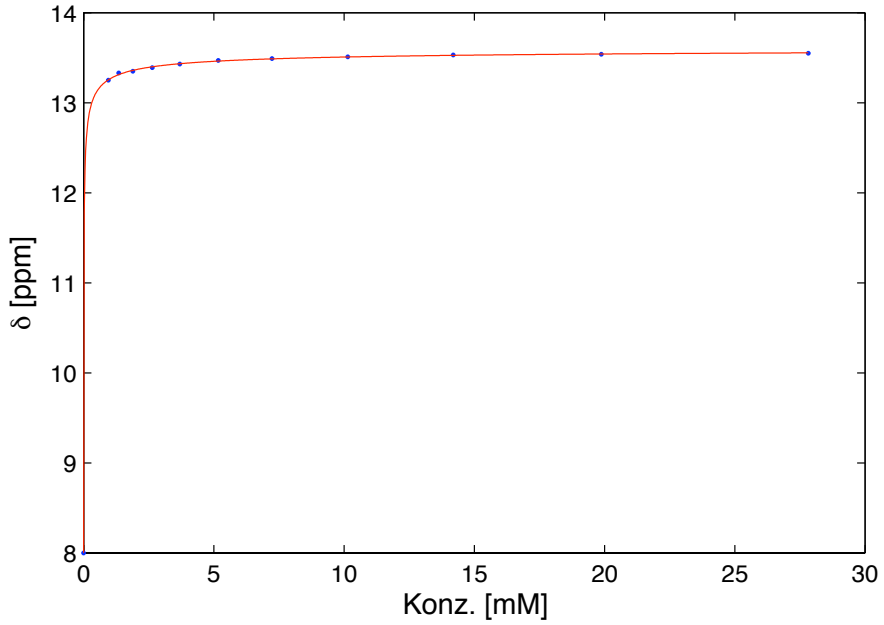


Abbildung 3.9: Konzentrationsabhängigkeit der chemischen Verschiebung des H–N(1)/I-Signals des C*[N]G-Dinukleosids **15** in $CDCl_3$/(D6)DMSO 9:1

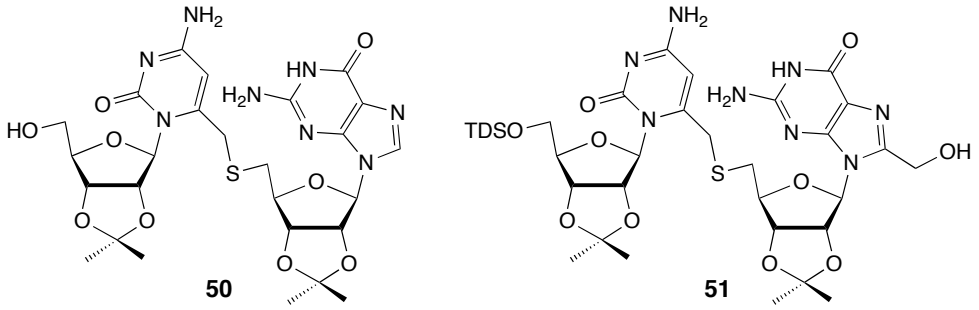


Abbildung 3.10: Struktur der thiomethylen-verknüpften Dinukleoside **50** und **51** [11]

bei den thiomethylenverknüpften Analogen.
Die kleineren Entropie- und Enthalpiewerte illustrieren eine Entropie/Enthalpie Kompensation [110–112] und könnten zur Annahme führen, dass eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen H–N des Verknüpfungselements und N(3) des Guanosinrests im Monoplex im cyklischen Duplex weitgehend erhalten bleibt, aber keine optimale Paarung erlaubt. Allerdings ist eine Verschiebung des H–N-Signals des Verknüpfungselements bei 1.99 ppm zu beobachten; im Falle einer Wasserstoffbrücke zu N(3)/I wäre ein Tieffeld-Verschiebung dieses Signals zu erwarten.

Tabelle 3.6: Relevante Daten für die Bestimmung der Konformation von **15**

	H–C(2')	*syn/anti*	$J(4',5'_a)$	$J(4',5'_b)$	*gg/gt/tg*
Einheit I	5.54	*syn*	< 1	<1	> 90% *gg*
Einheit II	5.66	*syn*	6.4	7.2	0:50:50

S/N konnte aufgrund breiter Signale nicht bestimmt werden

Das Dinukleosid **15** zeigt NOE-Kreuzsignale zwischen H–C(8)/I und H–C(1')/I und zwischen H_a–C(7)/II und H–C(1')/II was ebenso eine *syn*-Orientierung beider Nukleobasen widerspiegelt wie die Verschiebung der H–C(2')-Signale von 5.54 ppm für Einheit I (verglichen mit 5.19 ppm für den Aldehyd **26**) und 5.56 ppm für Einheit II (verglichen mit 5.11–5.39 ppm für die Cytidinmononukleoside in der *syn*-Konformation und 5.28 ppm für das Dinukleosid **16**). Die Hochfeldverschiebung von 5.56 ppm für Einheit II ist ein Indiz für eine hoch-*syn*-Konformation, bei der die Nukleobase über H–C(2') steht, die Anisotropie also am höchsten ist und der Winkel χ annähernd 90° beträgt. Die Orientierung an C(5') der Einheit I ist *gg*. Wie aus dem Modell (Abb. 3.11) hervorgeht muss diese Konformation nicht zwangsläufig mit einer Wasserstoffbrücke zwischen H–N des Verknüpfungselements und N(3)/I einhergehen, sondern kann im cyklischen Duplex – im

Gegensatz zu den Mononukleosiden – aufgrund von Basenpaarung und Basenstapelung bevorzugt sein. Die deutliche Präferenz für die *tg*- und die *gt*-Konformation der Einheit II beruht höchstwahrscheinlich auf den sterischen Wechselwirkungen zwischen dem Thexyldimethylsilyloxyrest und der Nukleobase, welche die *gg*-Konformation destabilisieren. Allerdings bevorzugen sterisch anspruchsvolle Silyloxysubstituenten von Pyranosiden eine *axiale* Orientierung, so dass sich die Destabilisierung der *gg*-Orientierung des Thexyldimethylsilyloxyrest an C(5')/II nicht allein durch sterische Wechselwirkungen erklären lässt [113–116].
Aufgrund der Auswertung der NMR-Daten schlage ich die in der Abbildung 3.11 angegebene Struktur vor.

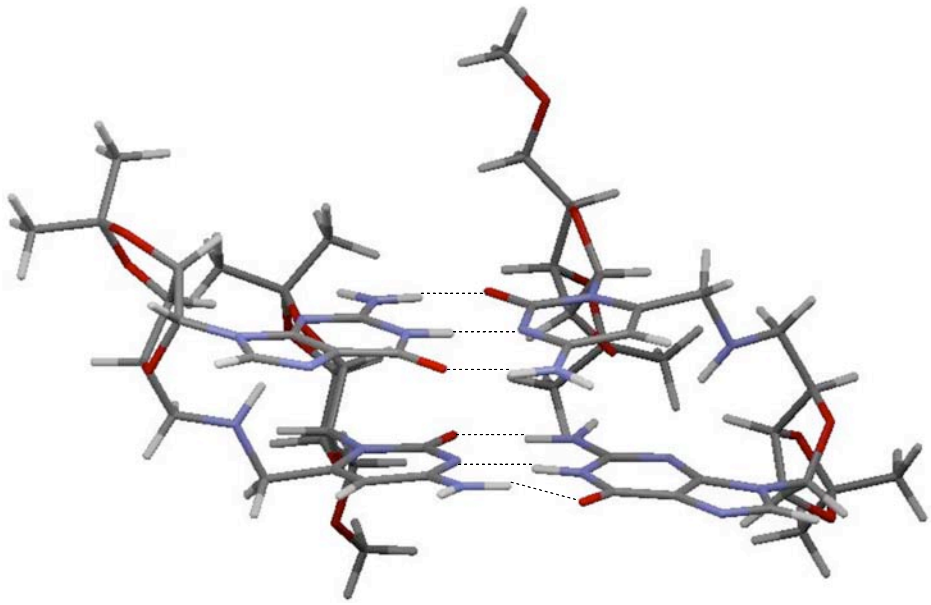


Abbildung 3.11: Modellierte Struktur des cyklischen Duplexes zweier C*[N]G-Dinukleoside **15**

Das ESI-Massenspektrum zeigt bei einer Konzentration von 1 mM ein Signal für den Monoplex bei 760.38 und 782.36 m/z und ein Signal für den Duplex bei 1519.75 und 1541.73 m/z (Tab. 3.7, Abb. 3.13). Signale höherer Assoziate wurden

nicht beobachtet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass dieses Dinukleosid bei einer Konzentration von 1 mM ausschliesslich einen cyklischen Duplex bildet und keine höheren Assoziate.

Tabelle 3.7: Auswertung des ESI-MS-Spektrums von **15**

Spezies	*m/z* gemessen	*m/z* berechnet
$(\mathbf{15}) + H^+$	760.38	760.38
$(\mathbf{15}) + Na^+$	782.36	782.36
$(\mathbf{15})_2 + H^+$	1519.75	1519.75
$(\mathbf{15})_2 + Na^+$	1541.73	1541.74

Die dampfdruckosmometrische Bestimmung einer 10 mM-Lösung des Dinukleosids in CH_2Cl_2 ergab eine relative Molmasse von 1631.06 g/mol was der 2.15-fachen Molmasse entspricht und die Bildung eines Duplexes bestätigt.

Das CD-Spektrum einer 1 mM-Lösung von **15** (Abb. 3.13), in welcher **15** gemäss der chemischen Verschiebung des H–N(1)/I-Signals als Duplex vorliegt, zeigt eine hohe Elliptizität mit geringer Temperaturabhängigkeit. Da das Spektrum eine Elliptizität von 40000 aufweist, muss die geringe Temperaturabhängigkeit nicht unbedingt ein Hinweis auf die Abwesenheit von Basenstapelung sein, sondern könnte von einem starken Duplex zeugen. Das Maximum bei 271 nm bestätigt die *syn*-Orientierung des Guanosinrests [80]. *Uesugi et al.* [117] zeigten, dass ein Cp-8BrG Dinukleosid (8BrG: 8-Bromguanosin, Abb. 3.14), wo der Guanosinrest aufgrund des grossen Bromsubstituenten eine *syn*-Orientierung annimmt, ebenfalls ein Maximum bei $\approx$ 270 nm im CD-Spektrum aufweist.

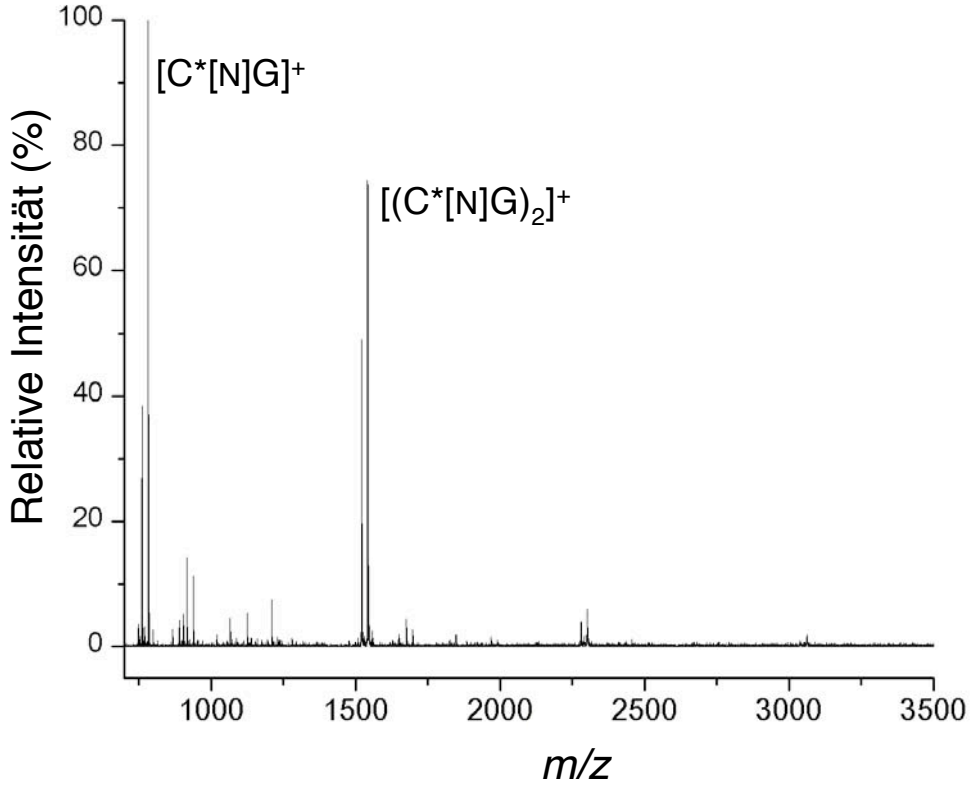


Abbildung 3.12: ESI-MS Spektrum des C*[N]G-Dinukleosids **15**

Struktur des G*[N]C-Dinukleosids Das ^{1}H-NMR-Spektrum des Dinukleosids **16** zeigt chemische Verschiebungen für eine *Watson-Crick*-Basenpaarung von 13.22 ppm für H–N(1), von 8.30 ppm für H_a–N(2) und von 5.10 ppm für H_b–N(2) des Guanosinrests sowie von 9.44 ppm für H_a–N(4) und 9.24 ppm für H_b–N(4) des Cytidinrests. Das NOESY-Spektrum zeigt ein Kreuzsignal zwischen H–N(1)/II und H–N(4)/I, welches nur bei einer *Watson-Crick* Basenpaarung zu beobachten ist.

Es konnte keine Verschiebungs-Konzentrationskurve aufgenommen werden, da das Assoziat in $CDCl_3$ im Konzentrationsbereich von 72 mM bis 0.55 mM nicht dissoziiert, also keine Konzentrationsabhängigkeit der H–N-Signale zu beobachten war. Die in anderen Fälle günstigen Zusätze von DMSO, DMF oder MeCN führten zur Bildung von Gelen, wie bei den folgenden Lösungsmittelgemischen

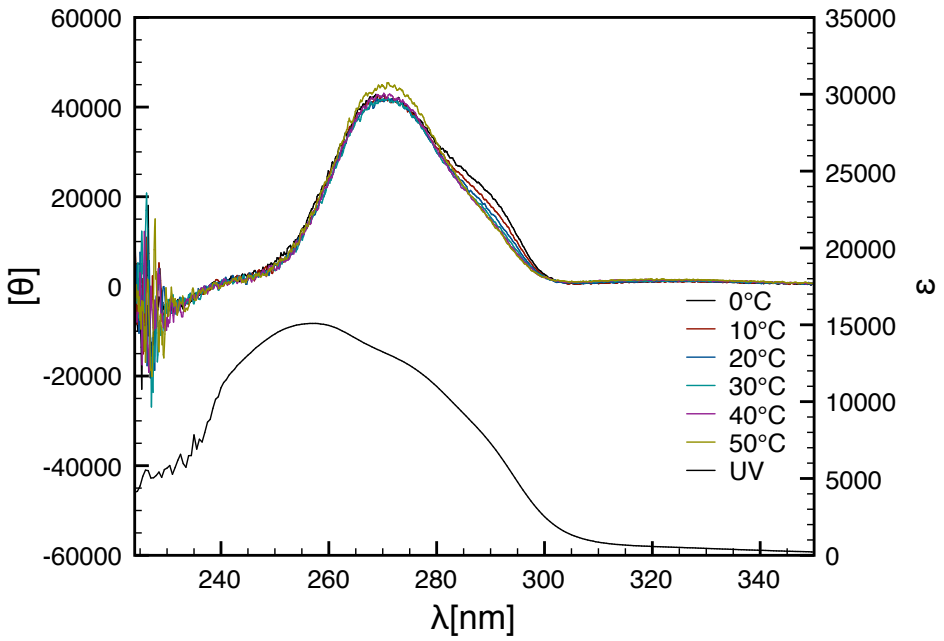


Abbildung 3.13: Temperaturabhängiges CD-Spektrum des C*[N]G-Dinukleosids **15**

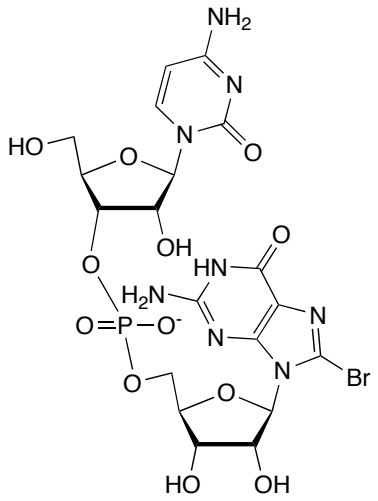


Abbildung 3.14: Struktur von Cp-8BrG

festgestellt wurde: $CDCl_3$/(D6)DMSO 95:5, $CDCl_3$/(D6)DMSO 90:10, $CDCl_3$/(D6)DMSO 80:20, $CDCl_3$/(D7)DMF 90:10, $CDCl_3/CD_3CN$ 90:10. In $CDCl_3/CD_3OD$ 98:2 löste sich das Dinukleosid, allerdings dissozierte es im Konzentrationsbereich zwischen 40 mM und 4 mM nicht und eine weitere Verdünnung wurde durch den H/D-Austauschs von H–N(1) verunmöglicht. Der Versuch, eine VKK für das Dinukleosid **16** in $CDCl_3$/(D5)Pyridin/CD_3OD 93:5:2 zu bestimmen, führte ebenfalls nicht zum gewünschten Ergebnis, da zwischen 17 und 1.5 mM keine Konzentrationsabhängigkeit der chemische Verschiebung von H–N(1)/II beobachtet wurde.
Die Orientierung des C(5')-Substituenten der Einheit I ist *gg*, während das *gg/gt/tg*-Rotamerenverhältnis der Einheit II 5:43:52 ist (Tab. 3.12). Die Orientierung des Guaninbase ist aufgrund des grossen Substituenten an C(8) *syn*, wie es durch die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 6.47 ppm bestätigt wird. Diese Tieffeld-Verschiebung ist nur durch eine hoch-*syn*-Konformation zu erklären, bei welcher N(3) der Guaninbase genau über H–C(2') steht, der Winkel χ also annähernd 90° beträgt und H–C(2') dadurch besonders stark entschirmt ist.

Tabelle 3.8: Relevante Daten ür die Bestimmung der Konformation von **16**

	H–C(2')	*syn/anti*	$J(4',5'_a)$	$J(4',5'_b)$	*gg/gt/tg*
Einheit I	5.28	*syn*	< 1	<1	> 90% *gg*
Einheit II	6.47	*syn*	6.5	6.5	5:43:52

S/N konnte aufgrund breiter Signale nicht bestimmt werden

Die Orientierung der Cytosinbase kann NMR-spektroskopisch nicht eindeutig bestimmt werden, da das NOE-Kreuzsignal zwischen H–C(6) und H–C(1') bzw. H–C(2'), welches eine Bestimmung der Orientierung erlaubt, aufgrund der Überlappung der H–C(2') und H–C(1')-Signale nicht eindeutig zugeordnet werden kann. Die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.28 ppm spricht jedoch,

verglichen mit der der Mononukleoside **30**, **32** und **34** von 5.11–5.22 ppm, eher für eine *syn*- als für eine *anti*-Orientierung.
Wird das Dinukleosid **16** säulenchromatographisch aufgereinigt (Probe A), so zeigt das ESI-MS einer 1 mM-Lösung des Dinukleosids in $CHCl_3$ ein Signal für den Monoplex bei 760.33 *m/z*, ein Signal für den doppelt geladenen Duplex bei 771.36 *m/z* und ein Signal für den einfach geladenen Duplex bei 1519.75 *m/z* (Abb. 3.15, Tab. 3.9). Wird das Dinukleosid durch Ausfällen mit Pentan aus ei-

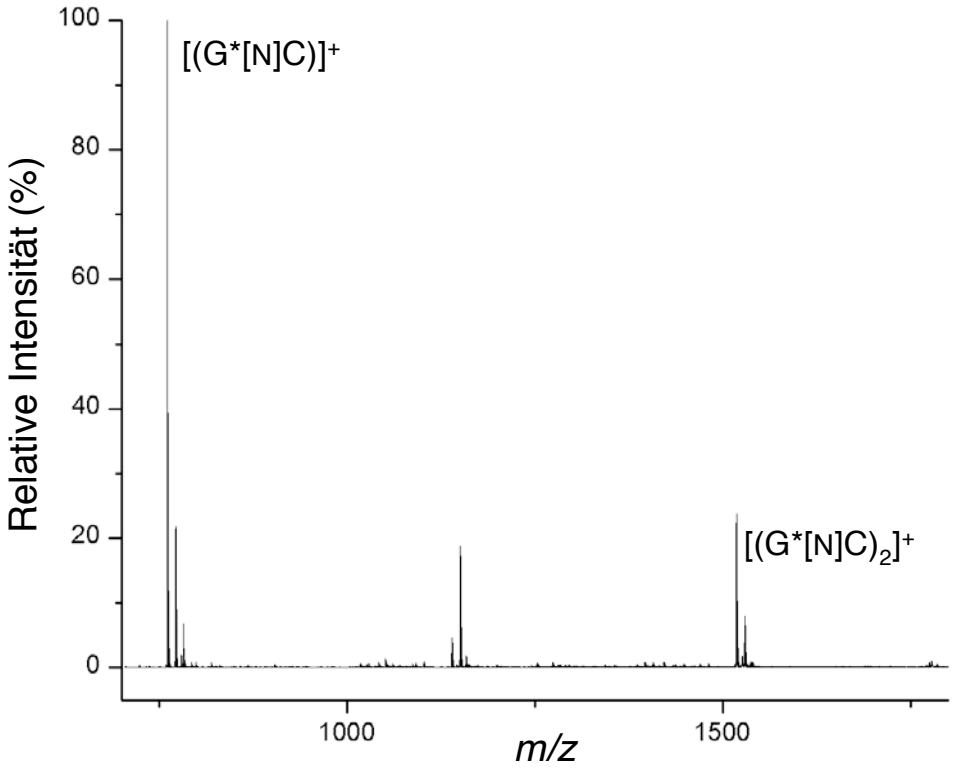


Abbildung 3.15: ESI-MS Spektrum der Probe A des G*[N]C-Dinukleosids **16**

ner CH_2Cl_2-Lösung aufgereinigt (Probe B), so zeigt das ESI-MS-Spektrum einer 0.5 mM-Lösung in $CHCl_3$ (Abb. 3.16, Tab. 3.10) ein Signal für den Monoplex bei 760.33 *m/z*, ein Signal für den doppelt geladenen Triplex bei 1140.02 *m/z*, ein Signal für den Duplex bei 1519.62 *m/z* und ein Signal für das doppelt geladene

Tabelle 3.9: Auswertung des ESI-MS-Spektrums der Probe A

Spezies	*m/z* gemessen	*m/z* berechnet
$(\mathbf{16}) + H^+$	760.33	760.38
$\frac{(\mathbf{16})_2 + H^+ + Na^+}{2}$	771.36	771.37
$(\mathbf{16})_2 + H^+$	1519.75	1519.75

Quartett bei 1530.62 *m/z* (Tab. 3.10).

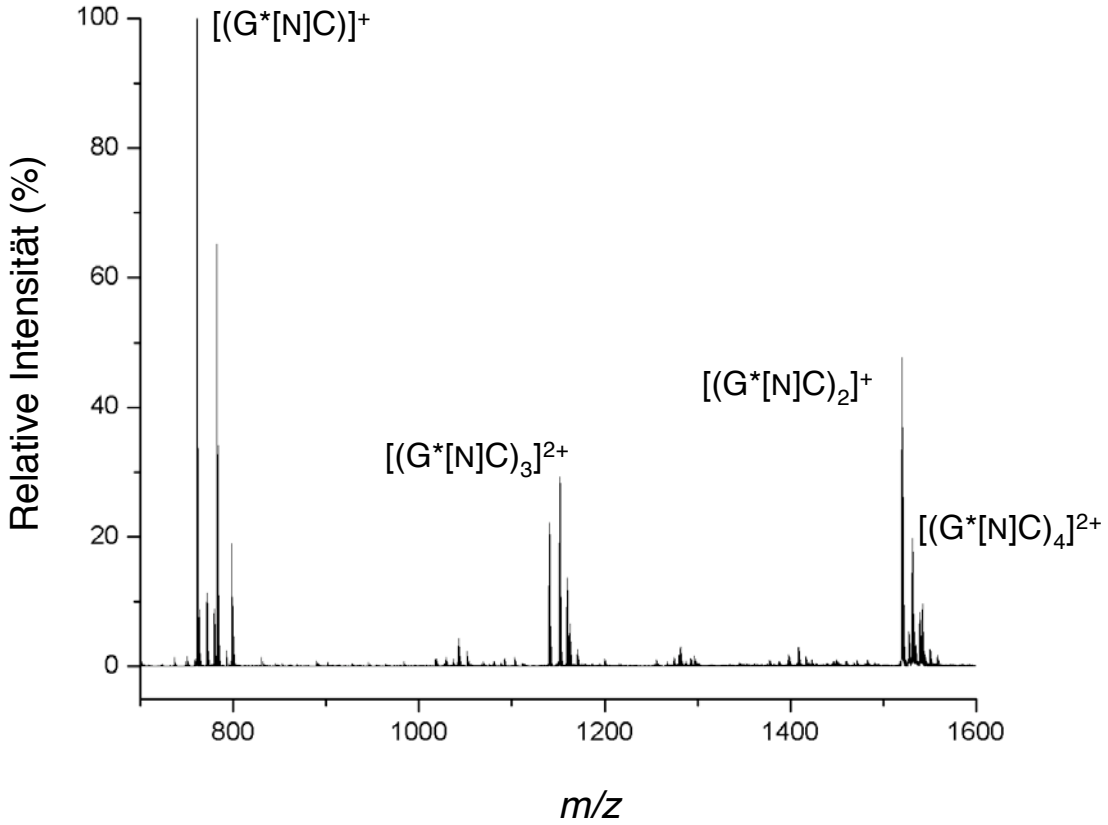


Abbildung 3.16: ESI-MS Spektrum der Probe B des G*[N]C-Dinukleosids **16**

Tabelle 3.10: Auswertung des ESI-MS-Spektrums der Probe B

Spezies	*m/z* gemessen	*m/z* berechnet
$(\mathbf{16}) + H^+$	760.33	760.38
$\frac{(\mathbf{16})_3 + H^+ + H^+}{2}$	1140.02	1140.07
$(\mathbf{16})_2 + H^+$	1519.62	1519.75
$\frac{(\mathbf{16})_4 + H^+ + Na^+}{2}$	1530.62	1530.75

Eine 1 mM-Lösung in $CHCl_3$ einer weiteren Probe (Probe C) des Dinukleosids **16**, die ebenfalls durch Ausfällen mit Pentan aus einer CH_2Cl_2-Lösung aufgereinigt wurde, zeigt im ESI-MS lediglich ein Signal für das einfach geladene Quartett bei 3076.46 *m/z* (Abb. 3.17, Tab. 3.11).

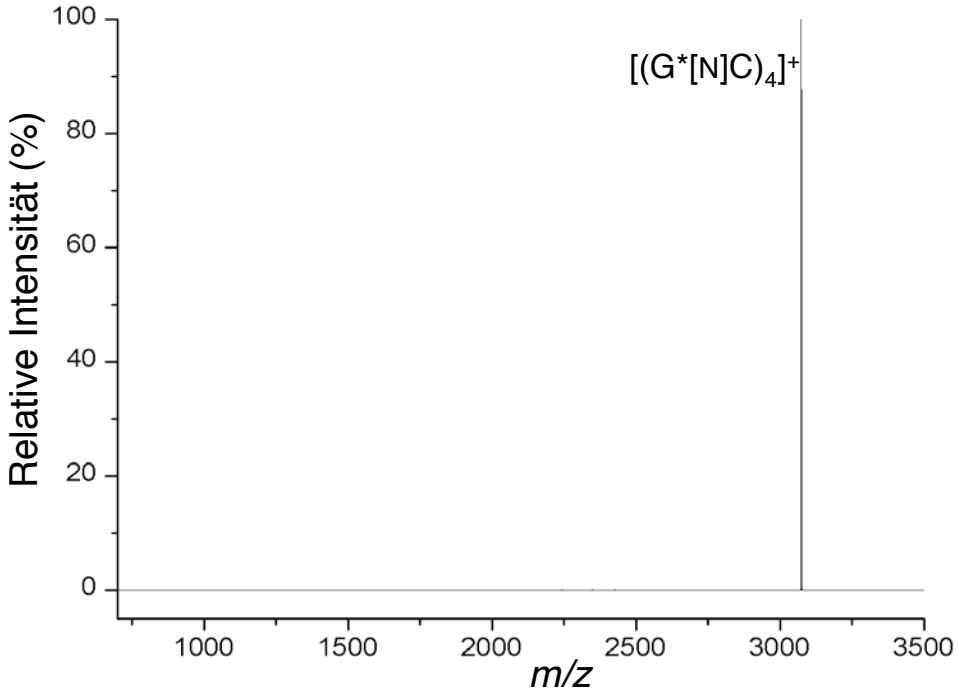


Abbildung 3.17: ESI-MS Spektrum der Probe C des G*[N]C-Dinukleosids **16**

Tabelle 3.11: Auswertung des ESI-MS-Spektrums der Probe C

Spezies	*m/z* gemessen	*m/z* berechnet
$(\mathbf{16})_4 + K^+$	3076.46	3076.46

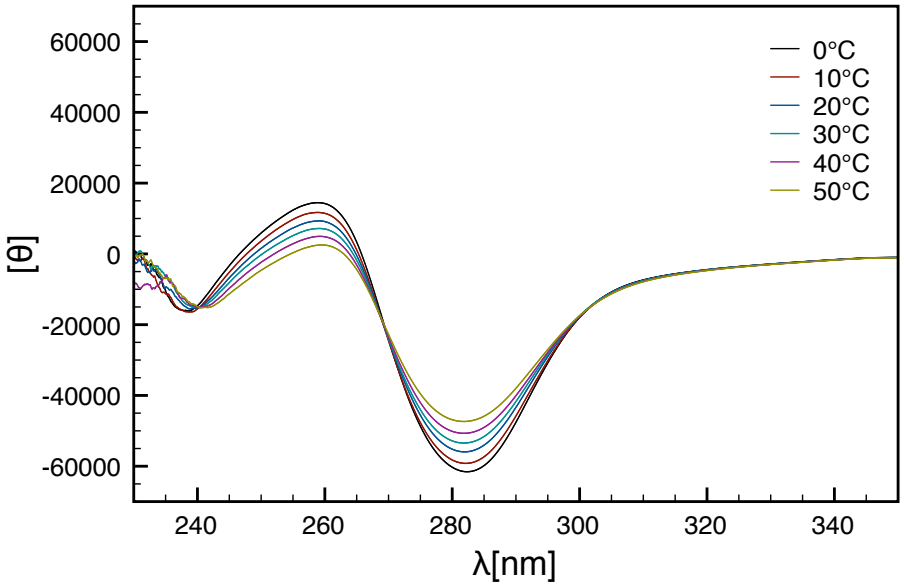


Abbildung 3.18: CD Spektrum des G*[N]C-Dinukleosids **16**

Die dampfdruckosmometrische Bestimmung einer 4 mM-Lösung des Dinukleosids **16** in $CHCl_3$ (Probe B) ergab eine relative Molmasse von 2296.84 g/mol was der 3.02-fachen Molmasse entspricht. Die dreifache Molmasse bestätigt die Ergebnisse der ESI-MS-Messungen, dass sowohl ein Duplex, als auch ein Triplex, als auch ein Quartett vorliegt. Duplex und Quartett müssen somit im Verhältnis 1:1 vorliegen. Da die NMR-Spektren aller drei Proben aufgrund der chemischen Verschiebung der NH-Protonen eine *Watson-Crick*-Basenpaarung zeigen, entsteht das Quartett wahrscheinlich durch das Brechen dreier Wasserstoffbrücken des cyklischen Duplexes, Bildung einer Kette von vier Dinukleosiden und anschliessender

Ringbildung durch die Bildung weiterer drei Wasserstoffbrücken. Die Duplexbildung ist vermutlich schneller und damit kinetisch kontrolliert während die Quartettbildung thermodynamisch kontrolliert ist.
Das CD-Spektrum der Probe C von **16** (1 mM-Lösung in $CHCl_3$) zeigt eine Temperaturabhängigkeit der Elliptizität und einen negativen *Cotton*-Effekt mit einem Nulldurchgang bei 269 nm (Abb. 3.18). Die Temperaturabhängigkeit ist ein Indiz für eine Basenstapelung. Das CD-Spektrum weist ein Minimum bei 282 nm und ein Maximum bei 258 nm auf. Diese beiden Extrema lassen eine *syn*-Orientierung des Cytidinrests vermuten, da sie mit den Extrema des 6-Methylcytidins, welches eine *syn*-Orientierung aufweist, übereinstimmen [81].

3.1.5 Assoziation eines aminomethylen-verknüpften Guanosin-Dinukleosids zu G-Quartetten

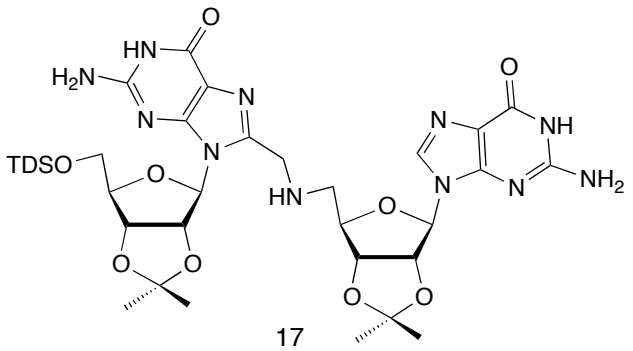


Abbildung 3.19: G*[N]G-Dinukleosid **17**

Das ^{1}H-NMR-Spektrum des Dinukleosids **17** zeigt bei einer Konzentration von 15 mM die chemischen Verschiebungen für eine *Hoogsteen*-Basenpaarung [118] von 11.72 ppm für H–N(1)/II, von 11.02 ppm für H–N(1)/I, von 9.29 ppm für H_a–N(2)/II, von 7.94 ppm für H_a–N(2)/I, von 5.78 ppm für H_b–N(2)/II und von

5.34 ppm für H_b–N(2)/I . Das ROESY-Spektrum bestätigt die *Hoogsteen*-Paarung durch ein Kreuzsignal zwischen H–C(8)/I und H_a–N–C(2)/II. Ein solches Kreuzsignal ist nur bei dem Vorliegen einer *Hoogsteen*-Paarung zu erwarten.
Die Konzentrationsabhängigkeit des H–N(1)/II des Dinukleosids **17** wurde in $CDCl_3$/(D6) DMSO 9:1 untersucht. In einem Konzentrationsbereich von 25–0.9 mM wurde keine Konzentrationsabhängigkeit der chemischen Verschiebung von H–N(1) beobachtet. Wird der Wert für die Verschiebung des Monoplexes eingesetzt erhält man zwar eine Kurve, jedoch ist der Fehler für die Assoziationskonstante zu gross, als dass diese zur Quantifizierung der thermodynamischen Daten herangezogen werden kann. Da sich die chemische Verschiebung der H–N(1)-Signale in diesem Konzentrationsbereich nicht ändert, gehe ich davon aus, dass die Assoziationskonstante K_{ass} grösser 200000 mol^{-1} ist. *Lorenz Herdeis* [11] bestimmte eine Assoziationskonstante von 187000 für das C^*[N]G^*-Dinukleosid **51** in $CDCl_3$/(D6) DMSO 9:1 im Konzentrationsbereich von 72–0.5 mM und beobachtete ein $\Delta\delta$ von etwa 0.2 ppm für die Verschiebung des H–N(1)/I-Signals. Aufgrund dessen muss $K_{ass} > 200000$ für das Dinukleosid **17** sein.
Aufgrund des grossen C(8)-Substituenten der Einheit II von **17** ist die Nukleobase

Tabelle 3.12: Relevante Daten ür die Bestimmung der Konformation von **17**

	H–C(2')	*syn/anti*	$J(4',5'_a)$	$J(4',5'_b)$	*gg/gt/tg*
Einheit I	5.96	*syn*	< 1	<1	> 90% *gg*
Einheit II	6.00	*syn*	2.3	2.3	93:6:1

S/N konnte aufgrund breiter Signale nicht bestimmt werden

syn orientiert, wie es durch eine Verschiebung des H–C(2')-Signals von 6.00 ppm belegt wird. Die Orientierung der Einheit I im Quartett kann *anti* oder *syn* sein, wie es aus dem doppelten Signalsatz der H–N-Signale und den NOE-Kreuzsignalen zwischen H–C(8) und H–C(2') sowie zwischen H–C(8) und H–C(1') hervorgeht. Für das *anti*-Konformere spricht eine chemische Verschiebung von 6.07 ppm für

H–C(1') und von 5.03 ppm für H–C(2'). Das H–C(1')-Signal des *syn*-Konformeren zeigt eine chemische Verschiebung von 5.71 ppm und das H–C(2')-Signal eine solche von 5.96 ppm. Aus dem Verhältnis der Integrale der H–C(1') und der H–C(2')-Signale wurde ein *syn/anti*-Verhältnis von 5:2 berechnet. Die Orientierung des C(5') Substituenten der Einheit I wie auch der Einheit II ist *gg*.

Tabelle 3.13: Auswertung der ESI-Spektren von **17**

Konzentration in $CHCl_3$	1 mM	0.1 mM	0.05 mM	
Spezies	*m/z* gem.	*m/z* gem.	*m/z* gem.	*m/z* ber.
17+H^+	n. beob.	800.39	800.39	800.39
$(\mathbf{17})_2$+Na^+	n. beob.	1621.76	1621.76	1621.75
$(\mathbf{17})_4 + Na^+$	3220.51	3220.51	n. beob.	3220.51
$(\mathbf{17})_4 + K^+$	3236.48	3236.48	n. beob.	3236.48
$\frac{(\mathbf{17})_4 + Na^+ + H^+}{2}$	1610.76	1610.76	1610.76	1610.76
$\frac{(\mathbf{17})_8 + 3\,Na^+}{3}$	2154.67	2154.67	n. beob.	2154.67
$\frac{(\mathbf{17})_8 + 2\,Na^+ + K^+}{3}$	2159.99	2159.99	n. beob.	2159.99
$\frac{(\mathbf{17})_8 + 2\,Na^+}{2}$	3220.51	3220.51	n. beob.	3220.51
$\frac{(\mathbf{17})_8 + Na^+ + K^+}{2}$	3228.51	3228.51	n. beob.	3228.50

n. beob.: nicht beobachtet

Die grosse Tieffeld-Verschiebung von H–C(2')/I und H–C(2')/II, verglichen mit Werten von 5.13–5.23 ppm für die *syn*-Konformeren der Guanosinmononukleoside, deutet darauf hin, dass die Nukleobase in Einheit II und im *syn*-Konformeren der Einheit I über H–C(2') steht, so dass der Anisotropieeffekt und die Nähe des N(3) des Guanosinrestess besonders gross ist. Allerdings muss der Winkel χ dieser beiden Einheiten kleiner sein als jener der Einheit II des Dinukleosids **16**, da dort eine chemische Verschiebung von 6.47 ppm für das H–C(2')-Signal beobachtet wurde. Der Unterschied in der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals

wäre auch mit einer unterschiedlichen Faltung des Ribofuranosylrings zu erklären, die allerdings aufgrund von breiten Signalen im ^{1}H-NMR-Spektrum nicht bestimmt wurde.

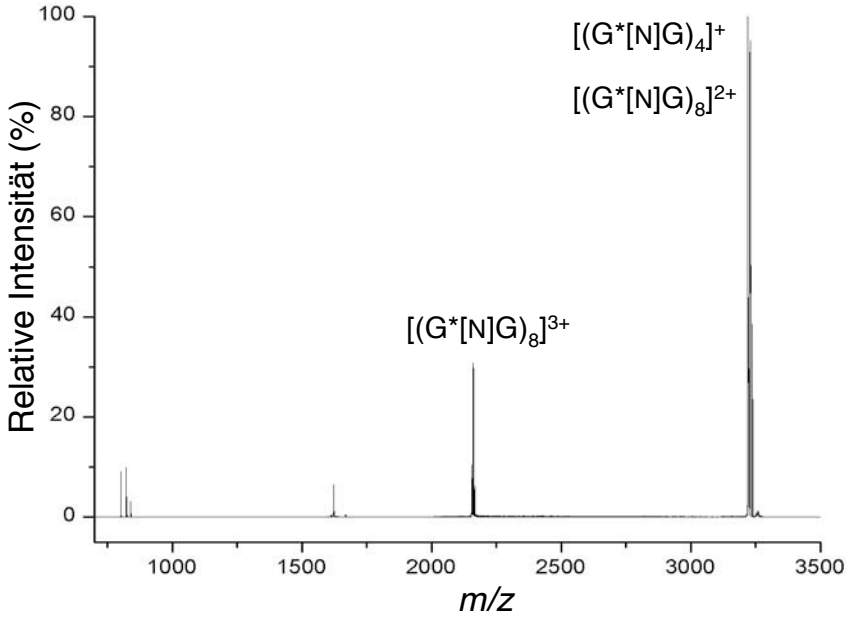


Abbildung 3.20: ESI-MS einer 1 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

Wie aus den ESI-Spektren hervorgeht bildet das G*[N]G-Dinukleosid **17** bei einer 1 mM-Konzentration (Tab. 3.13) ausschliesslich Quartette, also ein Assoziat von vier G*[N]G-Dinukleosiden. Des weiteren wurden die Signale eines entsprechenden Dimeren, also einem Assoziat von acht G*[N]G-Dinukleosiden beobachtet. Vermutlich entsteht dieses Dimere durch Stapelung von zwei Quartetten und ist somit ein Quadruplex. Da in den ESI-MS-Spektren kein Signal für das protonierte Quartett $(\mathbf{17})_4 + H^+$ bzw. den zweifach protonierten Quadruplex $(\mathbf{17})_8 + 2H^+$ zu beobachten sind, könnte dies ein Hinweis darauf sein, dass Na^+- bzw. K^+-Ionen bereits in Lösung anwesend waren.

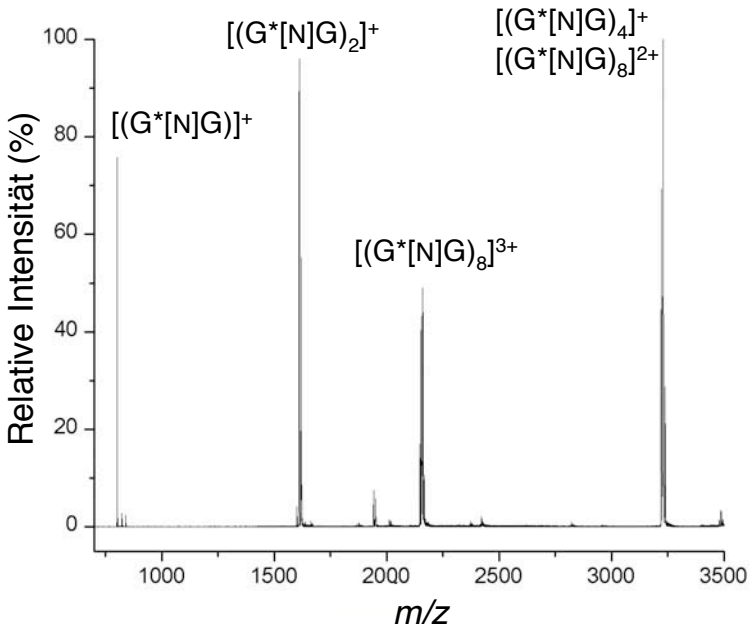


Abbildung 3.21: ESI-MS einer 0.1 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

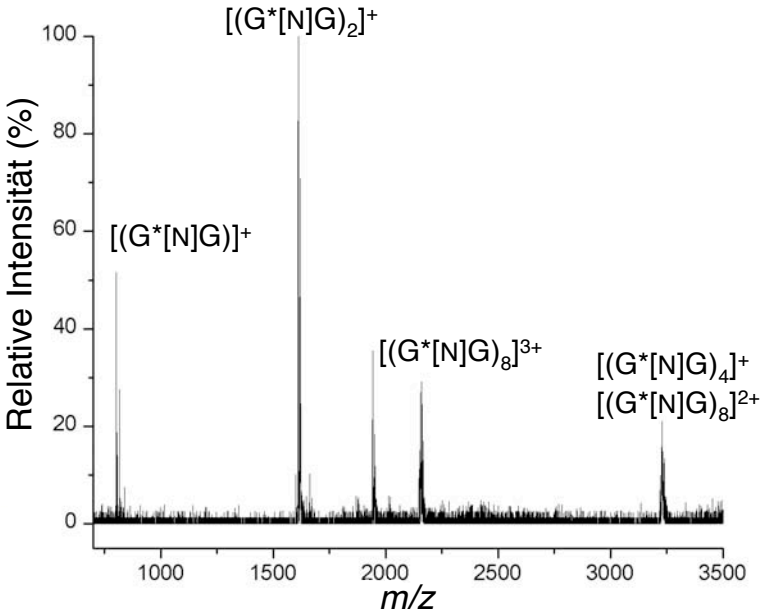


Abbildung 3.22: ESI-MS einer 0.05 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

Das ESI-Spektrum einer 0.1 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17** (Abb. 3.21, Tab. 3.13) bestätigt die Vermutung, dass das Quartett aus zwei cyklischen Duplexen aufgebaut ist, da bei diese Konzentration die Signalintensität für den Duplex und das Quartett etwa gleich ist. Wird die Lösung auf eine Konzentration von 0.05 mM verdünnt, so dominieren die Signale des Duplexes und des Monoplexes (Abb. 3.22, Tab. 3.13).
Die dampfdruckosmometrische Bestimmung einer 10 mM-Lösung des Dinukleosids in CH_2Cl_2 ergab eine relative Molmasse von 3154.94 g/mol was der 3.94-fachen Molmasse entspricht und die Bildung eines Quartetts bestätigt.
Die beiden Nukleobasen einer Dinukleosid-Einheit des Quartetts sind gestapelt und gehen mit zwei weiteren Dinukleosid-Einheiten des Quartetts *Hoogsteen*-Paarung ein (Abb. 3.23, 3.24). Die vier Dinukleosid-Einheiten bilden also ein Quartett, welches aus zwei cyklischen Duplexen besteht (Abb. 3.25).
Die vier Dinukleosid-Einheiten bilden vermutlich eine Struktur mit C_4-Symmetrie. Allerdings müssen dann zwei verschiedene Strukturen vorliegen, da statt der sechs zu erwartenden Signale für die H–N Protonen im ^{1}H-NMR 12 Signale zu beobachten sind. Aufgrund der MS- und der NMR-Daten schlage ich die folgende, in Abbildung 3.25 wiedergegebene, Struktur für das hauptsächliche Quartett vor, welches sich durch eine *syn*-Konformation beider Nukleobasen auszeichnet.

Das CD-Spektrum der Quartette von **17** (in einer 1 mM Lösung, in der gemäss dem ESI-MS Quartette vorliegen) (Abb. 3.26) weist ein Minimum bei 305 nm, ein Maximum bei 283 nm, ein Minimum bei 268 nm und ein Maximum bei 250 nm auf. Das Maximum bei 283 nm deutet auf die *syn*-Orientierung der Guaninbase hin, während das Minimum bei 268 nm und das Maximum bei 250 nm auf eine *anti*-Orientierung hinweisen [80]. Dies bestätigt die Vermutung, die aus den NOEs hervorgeht, dass Einheit I sowohl die *syn*- als auch die *anti*-Orientierung annehmen kann, also zwei verschiedene Quartettstrukturen vorliegen, ein Quartett

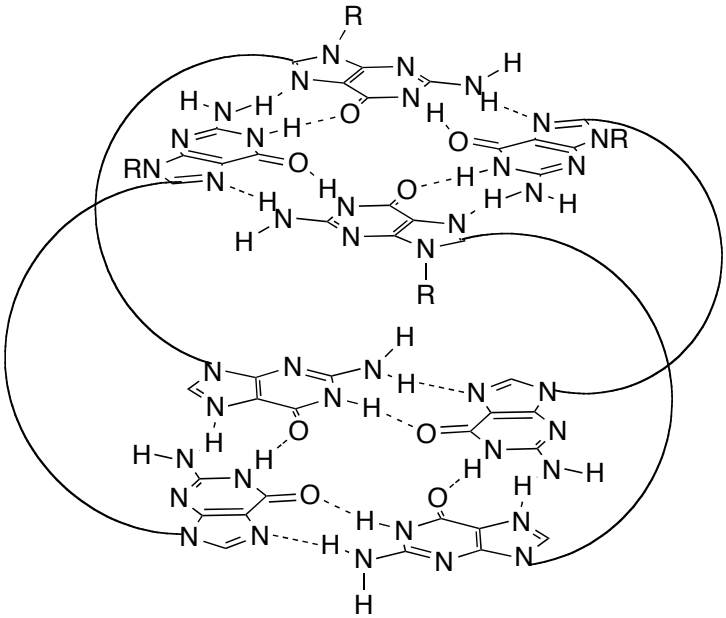


Abbildung 3.23: Schematische Darstellung des Quartetts aus vier G*[N]G-Dinukleosiden **17**; R: Ribofuranosylrest; das Aminofuranosylverknüpfungselement ist als Schlaufe dargestellt

in der alle Nukleobasen der Einheit I *syn* orientiert sind und ein Quartett in der alle Nukleobasen der Einheit I *anti* orientiert sind. Wie bereits oben erwähnt wurde geht aus den Integralen der H–C(1')- und H–C(2')-Signale ein *syn/anti*-Verhältnis von 5:2 hervor. Der Zirkulardichroismus zeigt eine leichte Temperaturabhängigkeit zwischen 280–240 nm, was auf Basenstapelung hindeutet.

Das CD-Spektrum einer 0.1 mM Lösung von **17** weist die charakteristischen Extrema der höher konzentrierten Probe nicht mehr auf (Abb. 3.27). Stattdessen ist ein Minimum bei 294 nm zu beobachten und ein breites Maximum zwischen 250 und 280 nm. Die Änderung der Extrema und der Elliptizität zeugt von einem veränderten Assoziat, wie sie auch im Massenspektrum bei der Verdünnung zu beobachten war (Tab. 3.13).

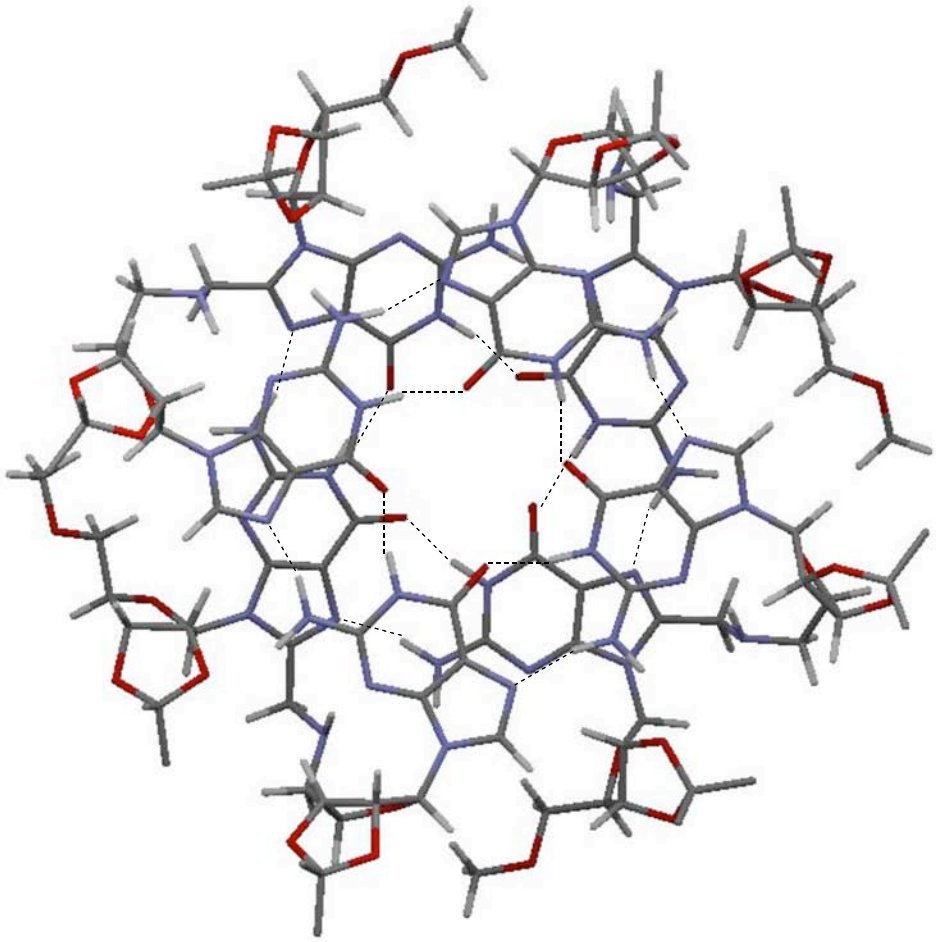


Abbildung 3.24: Ansicht des hauptsächlich gebildeten Quartetts der G*[N]G-Dinukleoside **17** von oben

Das CD-Spektrum einer 0.05 mM Lösung von **17** zeigt schärfere Extrema, als jenes der 0.1 mM Lösung. Es wurden Maxima bei 255 und 281 nm beobachtet sowie Minima bei 267 und 296 nm. Die Elliptizität ist stark temperaturabhängig und bei 281 nm sehr gross (57500) (Abb. 3.28). Diese hohe Elliptizität muss mit Basenstapelung einhergehen und ist ein Indiz für einen cyklischen Duplex. Diese Annahme wird von einem ESI-Spektrum gestützt (Abb. 3.22), das einen Duplex bei dieser Konzentration zeigt (Tab. 3.13).

Es wurden CD-Spektren einer 1 mM-Lösung des Dinukleosids **17** in Gegenwart von 1/8 Äquivalenten Kaliumpikrat aufgenommen (Abb. 3.29) [84]. Da sich die

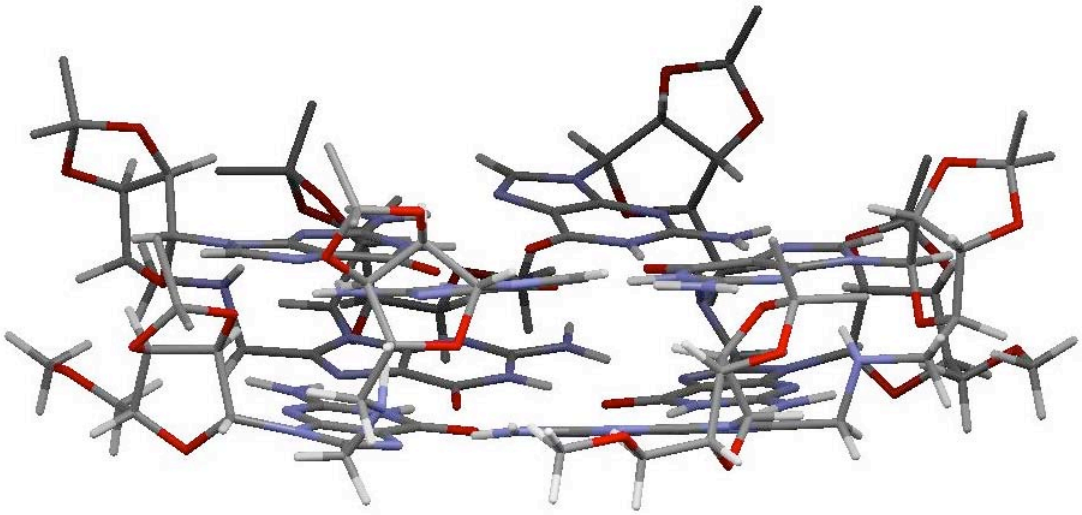


Abbildung 3.25: Seitenansicht des hauptsächlich gebildeten Quartetts der G*[N]G-Dinukleoside **17**

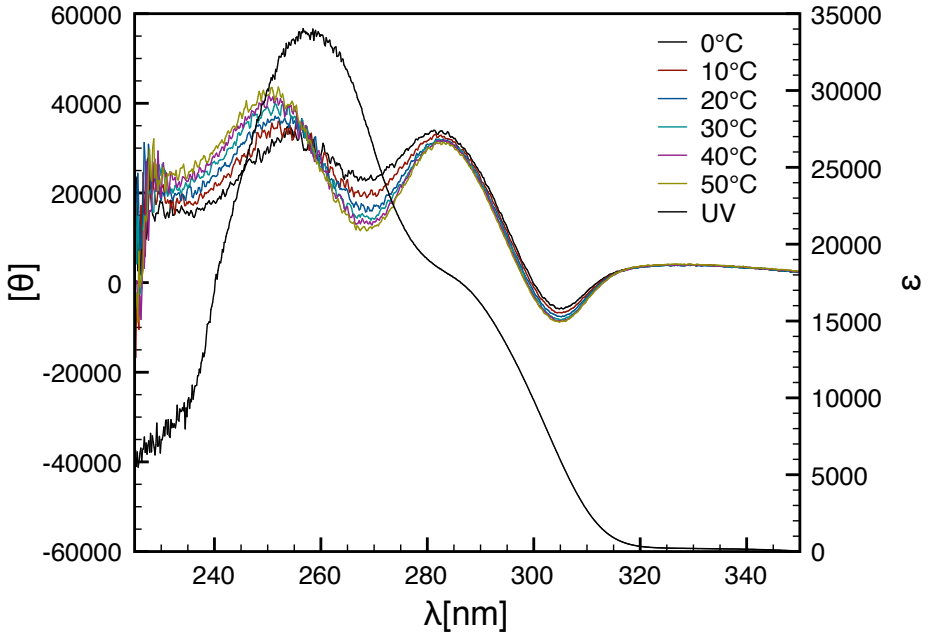


Abbildung 3.26: CD-Spektrum einer 1 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

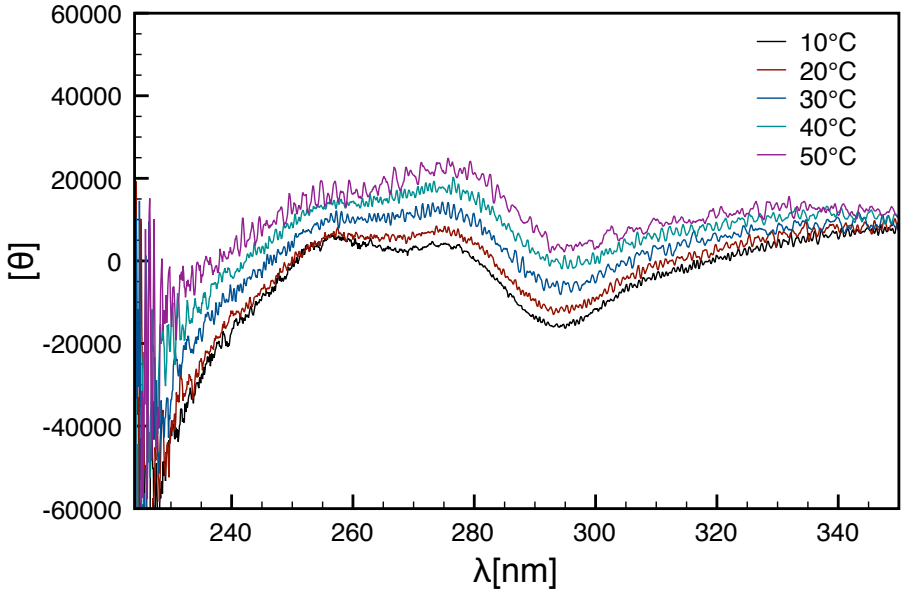


Abbildung 3.27: CD Spektrum einer 0.1 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

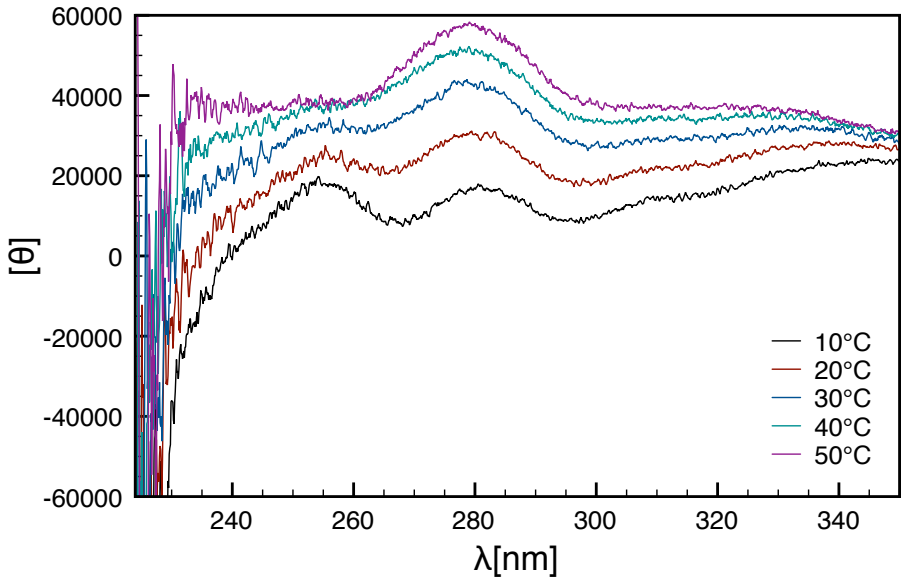


Abbildung 3.28: CD Spektrum einer 0.05 mM Lösung des G*[N]G-Dinukleosids **17**

Elliptizität nur zwischen 0–20° geringfügig von der Elliptizität unterscheidet, die im Spektrum von **17** ohne Zugabe von Kaliumpikrat beobachtet wurde, schliesse ich daraus, dass bei der Zugabe von Kaliumpikrat keine Strukturänderung auftritt, also K^+ nicht komplexiert oder schon vorhanden war. Die Elliptizität zeigt eine deutliche Temperaturabhängigkeit und bei 0–20° eine Verschiebung des Maximums zu 256 nm. Die Kurven, die zwischen 0–20° aufgenommen wurden zeigen keine Extrema zwischen 280–250 nm. Zur Unterscheidung der oben angespro-

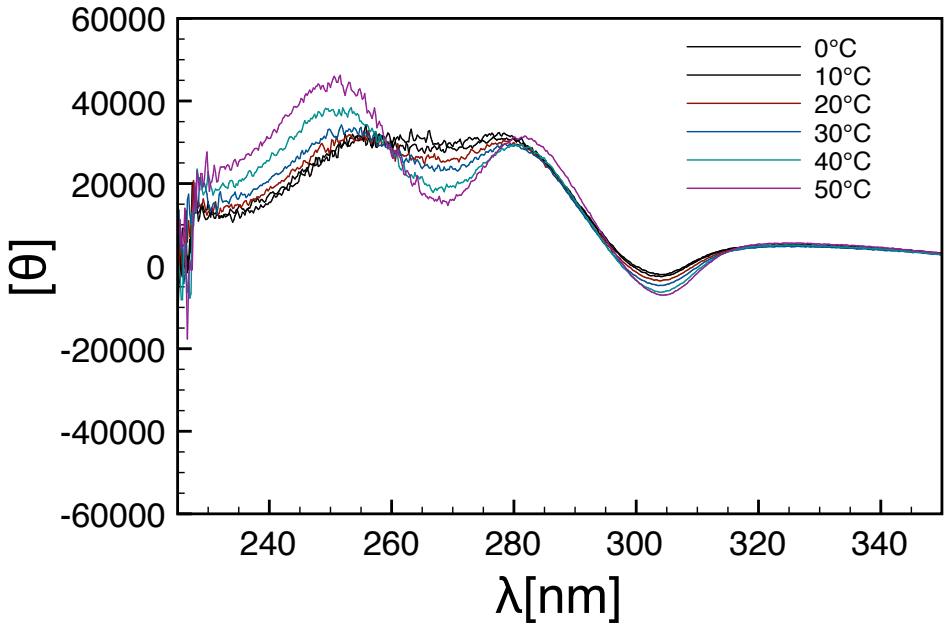


Abbildung 3.29: CD Spektrum des G*[N]G-Dinukleosids **17** und 1/8 Äq. Kaliumpikrat

chenen Möglichkeiten wurde ein weiteres CD-Experiment durchgeführt. Eine 1 mM-Lösung des Dinukleosids wurde mit einem Äquivalent Kryptofix [2.2.2] versetzt [84]. Kryptofix [2.2.2] gilt als besonder guter Komplexbildner für Kaliumkationen. Die CD-Spektren weisen ähnliche Extrema wie in Abbildung 3.26 auf und die Elliptizität ist kaum temperaturabhängig (Abb. 3.30). Die Amplituden der Extrema sind deutlich geringer als die des CD-Spektrums welches ohne Zusatz von

Kryptofix aufgenommen wurde. Dies könnte als ein Hinweis auf die Anwesenheit von Kationen in der zuerst vermessenen Lösung von **17** sein, da eine Wechselwirkung zwischen dem Kryptand und dem Dinukleosid ausgeschlossen wird.

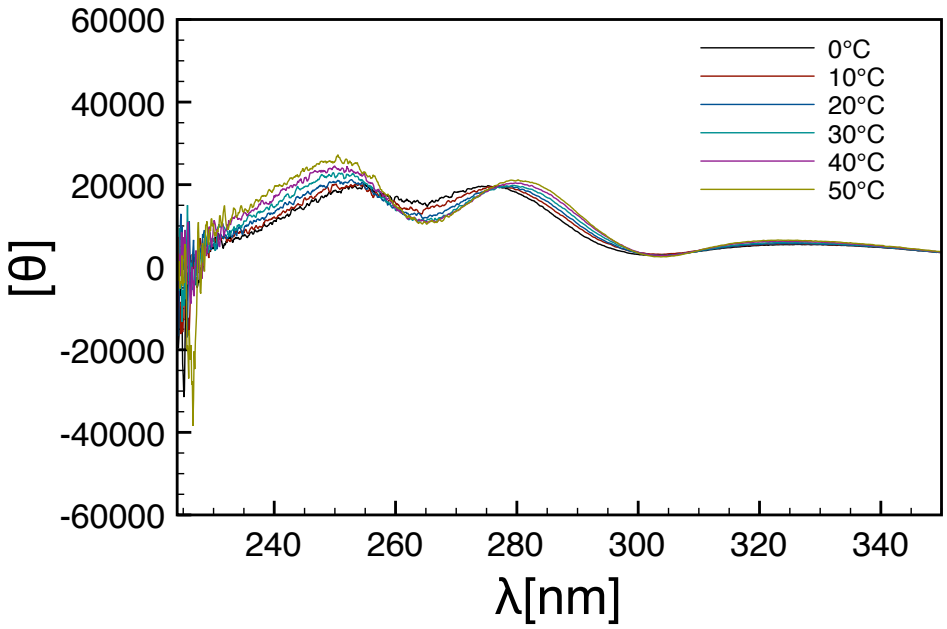


Abbildung 3.30: CD Spektrum des G*[N]G-Dinukleosids **17** und 1 Äq. Kryptofix [2.2.2]

Bestimmung des Assoziationsgrades aus den Diffusionskoeffizienten Die Diffusionskoeffizienten der zwei Guanosinmononukleoside **23** und **25**, der zwei Cytidinmononukleoside **31** und **34** sowie der Dinukleoside **16** und **17** wurden durch Pulsgradient-Spinecho-NMR-Experimente von 7–10 mM Lösungen bestimmt (Abb. 3.31).

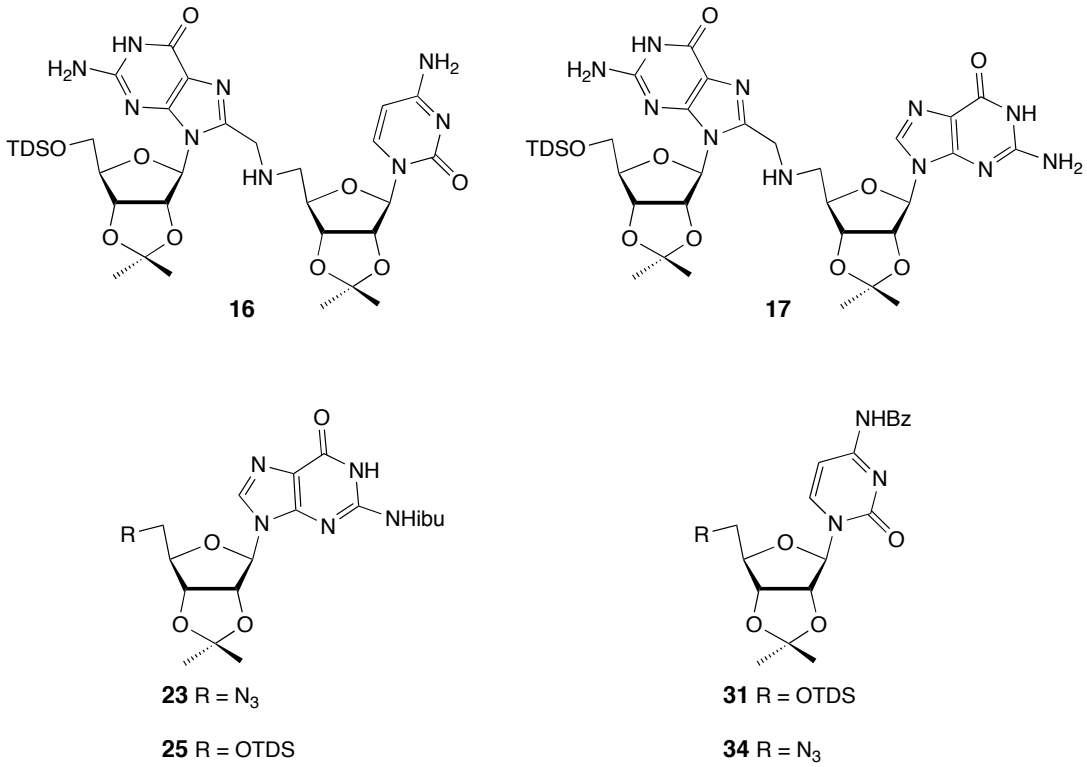


Abbildung 3.31: Struktur der Verbindungen deren Diffusionskoeffizient gemessen wurde

Aus der *Stokes-Einstein* Gleichung berechnet sich der Radius der Assoziate wie folgt:

$$r = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot D} \tag{3.1}$$

mit: k: Boltzmann Konstante, $T = 298K$, und $\eta = 5.37 \cdot 10^{-4}$ für $CHCl_3$ und daraus unter Annahme einer kugelförmigen Geometrie, das Volumen V:

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \tag{3.2}$$

Daraus ergeben sich aus den gemessenen Diffusionskoeffizienten folgende Werte:

Tabelle 3.14: Auswertung der Diffusionskoeffizienten

	16	**17**	**23**	**25**	**31**	**34**
D [m^2/s]	$3.5 \cdot 10^{-10}$	$3.1 \cdot 10^{-10}$	$5.0 \cdot 10^{-10}$	$5.6 \cdot 10^{-10}$	$7.4 \cdot 10^{-10}$	$6.7 \cdot 10^{-10}$
r [Å]	11.5	13.4	8.1	7.2	5.4	6.0
V [Å^3]	6370	10078	2226	1563	659	905

Die beiden Cytidinmononukleoside **31** und **34** liegen in Lösung (10 mM) als Monoplexe vor, wie aus dem Diffusionskoeffizienten und dem daraus berechneten hydrodynamischen Volumen hervorgeht. Der Silylether **25** scheint ebenfalls als Monoplex vorzuliegen, wie ein Vergleich mit dem Wert des Azids **23** zeigt. Das hydrodynamische Volumen, welches aus der Kristallstruktur von **23** berechnet wurde, beträgt für einen Monoplex 1340 Å^3. Da der Thexyldimethylsilylrest der Verbindung **25** mehr Raum einnimmt als die Azidogruppe der Verbindung **23** scheint ein Volumen von 1563 Å^3 für den Silylether **25** auf einen Monoplex hinzuweisen. Das Azid **23** liegt in $CDCl_3$ (10 mM) als Duplex vor, da das gemessene Volumen von 2226 Å^3 fast doppelt so gross ist wie das aus der Kristallstruktur berechnete Volumen von 1340 Å^3. Das Dinukleosid **16** (7 mM Lösung) weist ein Volumen von 6370 Å^3 auf und liegt damit als Triplex vor, wie bereits im ESI-MS und in der dampfdruckosmometrischen Bestimmung beobachtet.
Das Volumen des Dinukleosids **17** (7 mM Lösung) ist um etwa ein Drittel grösser als jenes von **16**. Diese Messung bestätigt die Bildung eines Quartetts für das G*[N]G-Dinukleosid **17**.

3.2 Bausteine für die Synthese von an C(6)/I bzw. C(8)/I substituierten Dinukleosiden

3.2.1 Synthese der Mononukleoside

Die Synthese längerer Oligonukleoside erfordert an C(5') und C(6) bzw. C(8) selektiv – idealerweise orthogonal – geschützte Mononukleoside. Es war also geboten, einen C_1-Substituenten an C(6) der Cytidin- und an C(8) der Guanosinmononukleoside einzuführen und seinen Einfluss auf die Umwandlung des C(5')-Substituenten und auf die Verknüpfung zu Di- und Oligonukleosiden zu untersuchen.

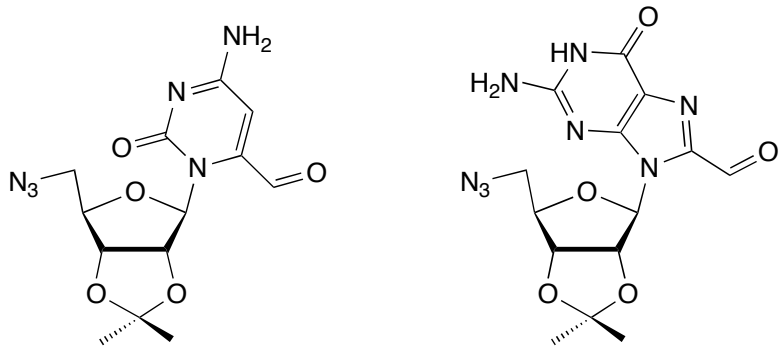


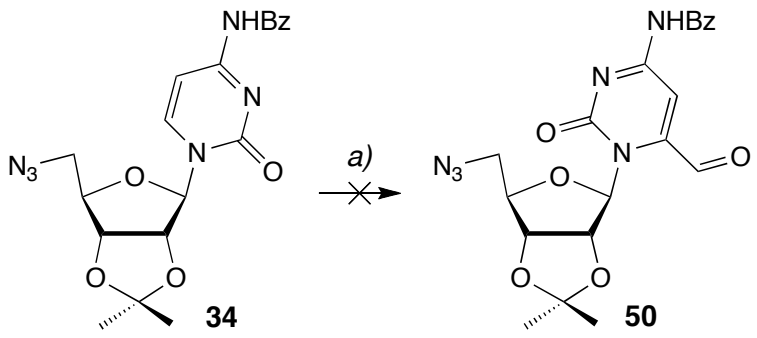
Abbildung 3.32: Erforderte Mononukleoside für die Synthese der an C(6)/I bzw. C(8)/I substituierten Dinukleoside

Synthese der Cytidinmononukleoside Als Erstes versuchte ich durch die Deprotonierung des Azids **34** eine Formylgruppe an C(6) einzuführen (Schema 3.8). Bei erfolgreicher Synthese von **50** sollte die Carbonylgruppe geschützt und für die Synthese von Di- und Tetranukleosiden verwendet werden (Schema 3.8).

Nachdem die Bedingungen (*a1– a4*), die bereits für die Formylierung des Silylethers **31** getestet wurden, nicht zum Produkt **50** führten, wurden verschiedene Lithium- und Magnesiummetallorganyle sowie eine Phosphazenbase, mit und ohne Zusatz von HMPA eingesetzt (Bed. *a5– a23*) (Tab. 3.15). HMPA gilt unter den Lösungsmitteln als stärkster Komplexbildner für Li^+ [119] und aktiviert Organolithium-Verbindungen. Während beispielsweise Phenyllithium in Et_2O als Dimeres und Tetrameres vorliegt, liegt in THF ein Gemisch von Monomeren und Dimeren vor. Durch Zugabe von HMPA, welches die PhLi-Aggregate völlig dissoziiert [119], wird die Reaktivität von PhLi und analog jene anderer Lithiumorganyle gesteigert.

Obwohl die Basen sich stark in ihren pKa-Werten unterscheiden (Tab. 3.16),

Schema 3.8



gelang es nicht, die Formylgruppe an C(6) einzuführen. Da unter fast allen Bedingungen (*a1–a5, a7–a14, a18–a23*) das Edukt **34** nicht umgesetzt wurde (Tab. 3.15), wurde entweder H–C(6) nicht deprotoniert, oder das Anion reagierte nicht mit DMF. Bei der Verwendung sehr starker Basen wie der *Caubère*-Base (*n*-BuLi, $LiOC_2H_4NMe_2$) oder PhLi (Bed. *a14–a16*) wurde die Zersetzung des Edukts beobachtet. Unter einer Reihe von Bedingungen (Tab. 3.15) bildeten sich Nebenprodukte, die dünnschichtchromatographisch zu erkennen waren und im NMR kein Aldehydsignal bei 9–10 ppm und kein Hydratsignal bei 6–7 ppm zeigten.

Tabelle 3.15: Reaktionsbedingungen für die Formylierung des Azids **34**

a)	
1) 6 Äq. LDA, THF, 1.75 h, DMF, 1.25 h, –75–26°	E, NP
2) 6 Äq. LHMDS, THF, 1.75 h, DMF, 1.25 h, –75–26°	E, NP
3) 6 Äq. LTMP, THF, 1.75 h, DMF, 1.25 h, –75–26°	E
4) 6 Äq. LTMP, THF, 1.5 h, Ethylformiat, 2 h, –75–26°	E
5) 6 Äq. LTMP, 1 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	E, NP
6) 6 Äq. LTMP, 6 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	NP
7) 6 Äq. LTMP, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	E, NP
8) 6 Äq. LTMP, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, –75– –20°, DMF, 2 h, –75–26°	E
9) 6 Äq. LTMP, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, –75–0°, DMF, 2 h, –75–26°	E
10) 6 Äq. LDA, 12 Äq. HMPA, THF, 2 h, DMF, 1.5 h, –75–26°	E, NP
11) 6 Äq. LHMDS, 12 Äq. HMPA, THF, 2 h, DMF, 1.5 h, –75–26°	E
12) 6 Äq. $LiNEt_2$, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	E
13) 6 Äq. $LiNCy_2$, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	E, NP
14) 4 Äq. PhLi, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	Z
15) 4 Äq. PhLi, 12 Äq. HMPA, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	Z
16) 4 Äq. *n*-BuLi, 4 Äq. $LiOC_2H_4NMe_2$, THF, 1.5 h, DMF, 2 h, –75–26°	Z
17) 3 Äq. P_4-*t*-Bu, THF, 2 h, DMF, 1.5 h, –75–26°	E
18) 4 Äq. $(tBu)_3PhLi$, THF, 2 h, DMF, 1.5 h, –75–26°	E, NP
19) 3 Äq. LTMP, 3 Äq. *t*BuOK, 12 Äq. HMPA, THF, 2 h, DMF, 1.5 h, –75–26°	E, NP
20) 4 Äq. TMPMgCl·LiCl, THF, 4 h, DMF, –70–25°, 2 h	E
21) 6 Äq. TMPMgCl·LiCl, THF, 4 h, DMF, –70–25°, 2 h	E
22) 4 Äq. TMPMgCl·LiCl, THF, 4 h, DMF, –55–25°, 2 h	E
23) 6 Äq. TMPMgCl·LiCl, THF, 4 h, DMF, –55–25°, 2 h	E

DMF: 30 Äq. E: Edukt; NP: Nebenprodukte; Z: Zersetzung

Als nächstes versuchte ich, die HO–C(5')-Gruppe von **30** durch Umsetzung mit einem *t*-Butylcarbamat oder einem Di-*t*-Butylcarbimid zu substituieren. Am nächstliegenden hierfür schien eine Substitution unter *Mitsunobu*-Bedingungen zu sein.

Tabelle 3.16: pKa-Werte der zur Deprotonierung von **34** eingesetzten Basen

Base	pKa-Wert	Lösungsmittel	Referenz
LDA	35.7	THF	[120]
LTMP	37.3	THF	[120]
LHMDS	29.5	THF	[120]
$LiNCy_2$	35.2	THF	[120]
n-BuLi	> 53.2	THF	[121]
PhLi	> 34.2	THF	[121]
$(t\text{Bu})_3$PhLi	>40	THF	[122]
LTMP·KO*t*Bu	≈37	THF-Et_2O	[123]
P_4-*t*Bu	28	THF	[124]

Schema 3.9

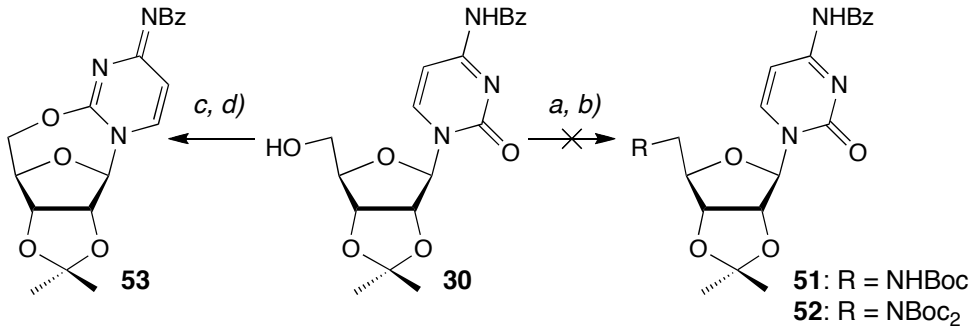


Tabelle 3.17: Reaktionsbedingungen für die Mitsunobu-Reaktion

	Bedingungen	Beobachtungen
a)	2 Äq. $BocNH_2$, 1.5 Äq. PPh_3, 1.5 Äq. DIAD, THF, 0–25°, 22 h	Edukt
b)	2 Äq. Boc_2N, 1.5 Äq. PPh_3, 1.5 Äq. DIAD, THF, 0–25°, 22 h	Edukt
c)	2 Äq. $BocNH_2$, 1.5 Äq. PPh_3, 1.5 Äq. DIAD, THF/DMF 10:1, 0–25°, 22 h	**53**
d)	2 Äq. Boc_2N, 1.5 Äq. PPh_3, 1.5 Äq. DIAD, THF/DMF 10:1, 0–25°, 22 h	**53**

Die gewünschten Produkte **51** und **52** konnten auf diesem Wege aber nicht synthetisiert werden, da in THF keine Reaktion stattfand. Wurde THF/DMF 10:1 als Lösungsmittel verwendet, so wurde nur das bekannte *N*-Benzoyl-cyklocytidin **53** isoliert (Schema 3.9) [125]. *Mitsunobu et al.* beobachteten die Bildung eines solchen Anhydronukleosids bereits 1980 bei einer Reaktion von **30** mit PPh_3 und DEAD; einziges Produkt war **53** [125].
Da die *Mitsunobu*-Reaktion nicht zum gewünschten Produkt **51** führte, wurde das Azid **34** reduziert und das Amin *in situ* als *t*-Butylcarbamt geschützt (Tab. 3.18). Unter Verwendung von Me_3P und BocON in THF liess sich das gewünschte Produkt **51** in 70% Ausbeute herstellen (Schema 3.10).
Um an C(6) des Carbamats **51** eine Formylgruppe einzuführen, wurden zuerst die

Schema 3.10

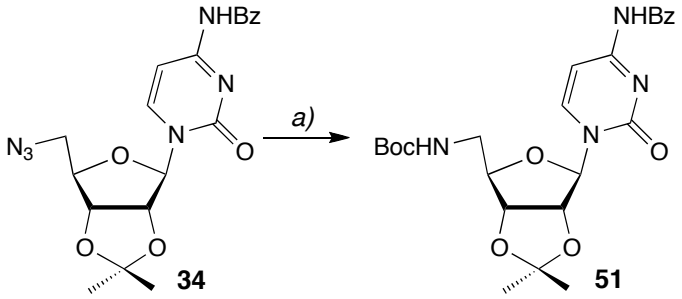


Tabelle 3.18: Reaktionsbedingungen für die Reduktion des Azids **34** und seine Umwandlung in das *t*-Butylcarbamat **51**

a)	Beobachtungen
1) 1.2 Äq. Boc_2O, 1.2 Äq. Me_3P, THF, 25°, 4 h, w. A.	unsaubere Rkt.
2) 1.2 Äq. BocON, 1.2 Äq. Me_3P, THF, 25°, 4 h, w. A.	**51** (70%)
3) 2 Äq. Boc_2NH, 1.5 Äq. PPh_3, 1.5 Äq. DIAD, THF, 0–25°, 22 h, w. A.	Edukt
4) 1.5 Äq. Boc_2O, $Pd(OH)_2/C$, Et_3SiH, EtOH, 37 h	Edukt

w. a.: wässrige Aufarbeitung; Rkt: Reaktion

Standardbedingungen (*a1*– *a5*) getestet (Tab. 3.19).

Schema 3.11

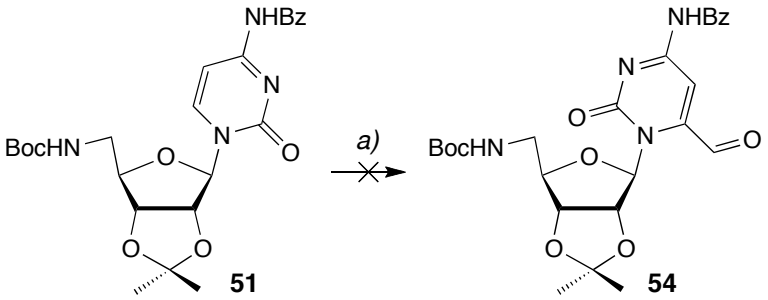


Tabelle 3.19: Reaktionsbedingungen für die Formylierung des Carbamats **55**

a)		
1)	8 Äq. LDA, THF, 3.5 h, 30 Äq. DMF, 4 h, –74–25°	E
2)	6 Äq. LHMDS, THF, 3 h, 30 Äq. DMF, 2.5 h, –73–26°	E
3)	8 Äq. LHMDS, THF, 3 h, 30 Äq. DMF, 2.5 h, –73–26°	E
4)	6 Äq. LTMP, THF, 3 h, 30 Äq. DMF, 2.5 h, –73–26°	E, > 10% P
5)	8 Äq. LTMP, THF, 3 h, 30 Äq. DMF, 2.5 h, –73–26°	E, > 10% P
6)	10 Äq. LTMP, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
7)	12 Äq. LTMP, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
8)	14 Äq. LTMP, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
9)	16 Äq. LTMP, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
10)	6 Äq. LTMP, 6 Äq. HMPA, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
11)	6 Äq. LTMP, 12 Äq. HMPA, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
12)	8 Äq. LTMP, 8 Äq. HMPA, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
13)	8 Äq. LTMP, 16 Äq. HMPA, THF, 2.5 h, 30 Äq. DMF, 4.5 h, –73–26°	E, > 10% P
14)	8 Äq. LTMP, THF, 3.5 h, –75– –50°, 30 Äq. DMF, 4 h, –75–25°	Z
15)	8 Äq. LTMP, THF, 3.5 h, –75– –15°, 30 Äq. DMF, 4 h, –75–25°	Z
16)	8 Äq. LTMP, THF, 3.5 h, –75–0°, 30 Äq. DMF, 4 h, –75–25°	Z

E: Edukt, P: Produkt; Z: Zersetzung

Bei der Verwendung von LDA und LHMDS wurde keine Reaktion beobachtet,

während bei der Verwendung von LTMP ein Aldehydsignal bei 9.17 ppm im ^{1}H-NMR-Spektrum beobachtet wurde. Gemessen am Integral dieses Signals überstieg die Rohausbeute 10% nicht. Sämtliche Versuche, die Reaktion zu optimieren, sei es durch die Zugabe von mehr LTMP oder durch die Zugabe von HMPA, führten zu keiner Verbesserung. Versuche die Reaktion durch eine Temperatursteigerung während der Deprotonierung auf –50°, –15° oder 0° zu optimieren, führten zur Zersetzung des Edukts (Tab. 3.19).

Synthese der Uridin-Mononukleoside Da sämtliche Versuche zur Einführung einer Formylgruppe an C(6) eines Azido- oder *N*-Acyl-aminocytidinderivates scheiterten, versuchte ich, ein an C(6)-substituiertes Cytidinanaloges an C(5') mit einer Azidogruppe zu funktionalisieren. Als Schutzgruppe für die C(6)-Carbonylgruppe eignete sich die Diphenylimidazolidingruppe am besten. Sie kann leicht eingeführt und abgespalten werden und ist stabil unter den Reaktionsbedingungen, die für eine Überführung des Silylethers an C(5') in eine Azidogruppe verwendet werden.
Da ein Diphenylimidazolidinderivat des Uridins bereits bekannt war [126] wurden die Reaktionen zuerst am Uridinaldehyd **100** als Modellverbindung getestet.

Schema 3.12

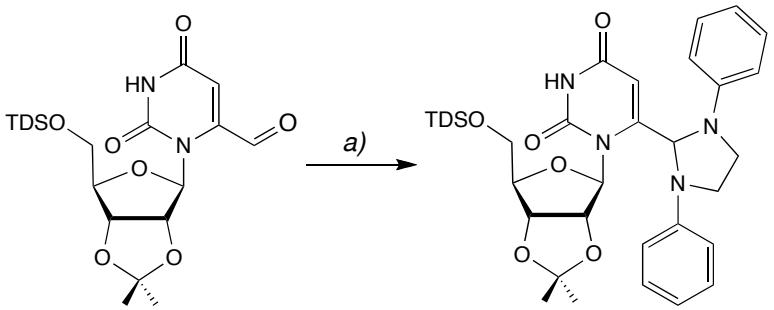


Tabelle 3.20: Reaktionsbedingungen für die Einführung des Imidazolidinrests an C(6) des Uridinanalogen **100**

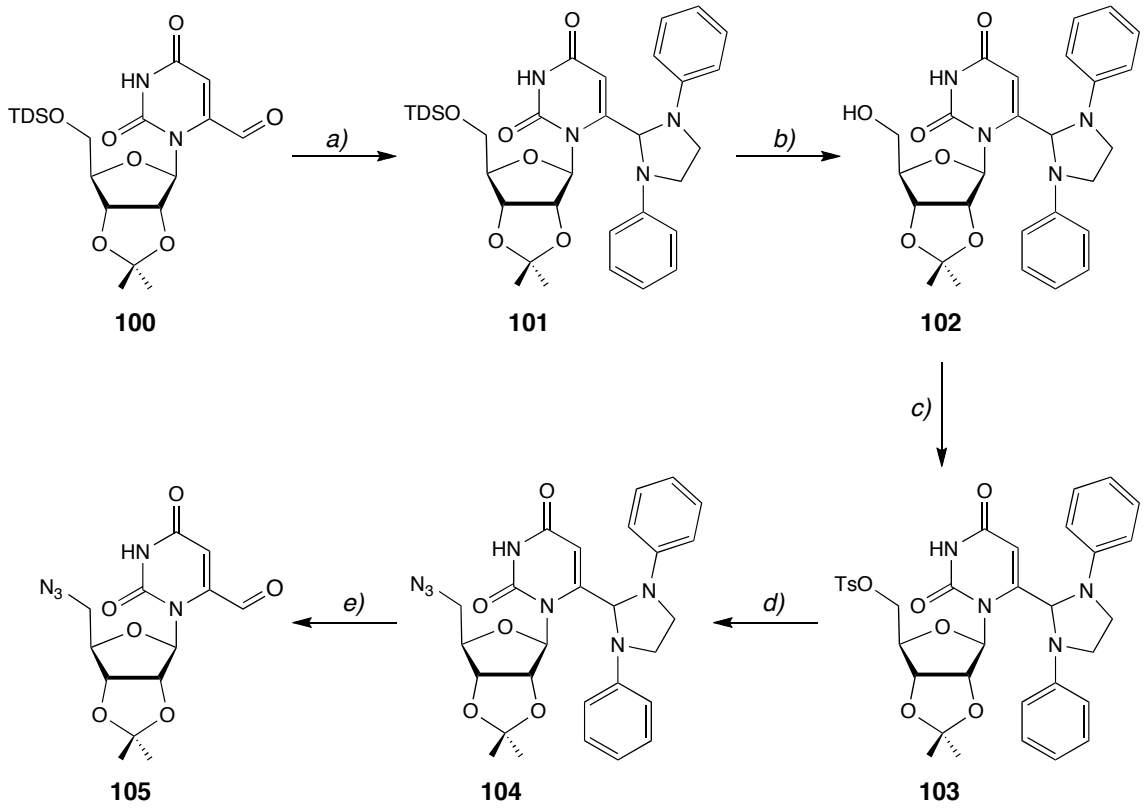
a)			Ref.
1)	4.3 Äq. DAE, 2 Äq. AcOH, CH_2Cl_2/Et_2O 2:1 25°, 7 d	88%	[126]
2)	4.3 Äq. DAE, 2 Äq. AcOH, $MeOH/Et_2O$ 2:1 25°, 14 d	n. v.	
3)	4.3 Äq. DAE, 2 Äq. AcOH, MeCN/THF 2:1, 80°, 68 h	62%	
4)	4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, Dioxan/Toluol 1:2, 115°	n. v.	
5)	4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, Dioxan/Toluol 1:2, 115°, Wasserabscheider, 60 h	76%	[127]
6)	4 Äq. DAE, 10% AcOH/EtOH, 26°, 24 h	n. v.	[128]
7)	2 Äq. DAE, 2.2 Äq. TMSOTf, 3.3 Äq. Lutidin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, **100**, 3 h	> 90%	
8)	2 Äq. $SOCl_2$, 2 Äq. Pyridin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, 2 Äq. DAE, 0°–25°, 2 h	> 90%	[129]
9)	0.2 Äq. CSA, 2 Äq. DAE, 26°, 24 h	> 90%	[130]
10)	0.1 Äq. DDQ, 2 Äq. DAE, MeCN, 26°, 22 h	n. v.	[131]

n.v.: die Reaktion lief nicht vollständig ab

In der Tabelle 3.20 sind die Bedingungen für die Überführung des Aldehyds **100** in das Imidazolidin **101** (Schema 3.12) aufgeführt. Die Bedingung *a3)* wurde durch Verwendung von THF/CH_2Cl_2 als Lösungsmittel abgewandelt, die Ausbeuten waren allerdings niedriger als in MeCN/THF. Um die Bedingung *a5)* zu optimieren wurde die Reaktion auch in Dioxan/DCE, Dioxan/MeCN und Dioxan/Valerionitril anstatt in Dioxan/Toluol durchgeführt, was allerdings nicht zu einer Steigerung der Ausbeute führte. Die Bedingungen *a1, a5, a7– a9)* führten, bei kleinen Ansätzen (30 – 100 mg) zu guten Ausbeuten (Tab. 3.20). Auf Ansätzen im Grammmassstab war die Bedingung *a5)* einfach anzuwenden, es wurden günstige Chemikalien verwendet und die Ausbeuten waren im Gegensatz zu den Bedingungen *a7– a9)* auch im grossen Massstab reproduzierbar (Tab. 3.20).

Der Aldehyd **100** wurde während 60 h mit Dianilinoethan und Essigsäure in Toluol/Dioxan unter Rückfluss am Wasserabscheider gekocht und das Imidazo-

Schema 3.13



a) 4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, Toluol/Dioxan 2:1, 115°, 60 h; 76%. *b)* 10 Äq. HF·Pyridin, THF, 26°, 5 h; 94%. *c)* 3 Äq. TsCl, Pyridin, 26°, 3 h; quant. *d)* 5 Äq. LiN_3, DMF, 80°, 4 h; 93%. *e)* 2 Äq. $TsOH{\cdot}H_2O$, Aceton/CH_2Cl_2 1:2, 0°, 2 h; 77%.

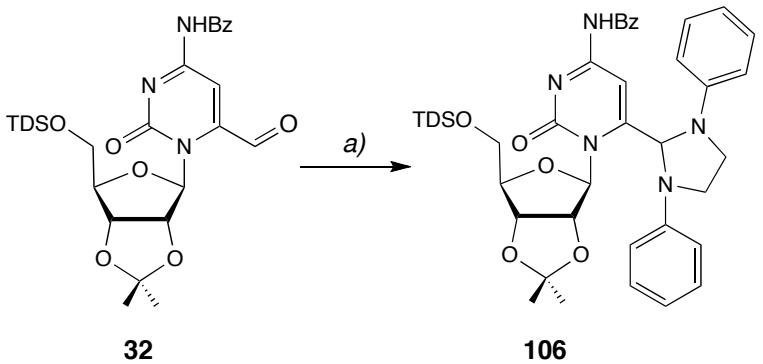
lidin **101** in 76% Ausbeute erhalten (Schema 3.13). Der Silylether **101** wurde mit HF·Pyridin in THF gespalten und der Alkohol **102** in 94% Ausbeute erhalten (Schema 3.13). $HF{\cdot}Et_3N$ und TBAF wurden auch zur Spaltung des Silylethers getestet; unter diesen Bedingungen verlief die Reaktion jedoch deutlich langsamer als mit HF·Pyridin. Der Alkohol **102** wurde mit TsCl in Pyridin in > 95% Ausbeute in den *p*-Toluolsulfonylester **103** übergeführt (Schema 3.13). Die anschliessende Substitution des Sulfonylesters mit LiN_3 in DMF führte in 93% Ausbeute zum Azid **104** (Schema 3.13). Die Imidazolidinschutzgruppe wurde mit $TsOH{\cdot}H_2O$ in

Aceton/CH_2Cl_2 gespalten [126] und der Aldehyd **105** in 77% Ausbeute erhalten (Schema 3.13).

Synthese der Cytidinmononukleoside Die besten Reaktionsbedingungen für die Umwandlung des Uridinaldehyds **100** in das Imidazolidin **101** (Schema 3.12) wurden auf das Cytidinanaloge **32** angewendet (Schema 3.14). Trotz einiger Optimierungsversuche konnte die Ausbeute nicht über 53% gesteigert werden (Tab. 3.21).

Da eine solche Ausbeute am Beginn einer längeren Synthesesequenz nicht genügt,

Schema 3.14



änderte ich die Strategie und versuchte, das Uridinanaloge **104** in das Cytindanaloge **108** umzuwandeln (*Schema.* 3.15).

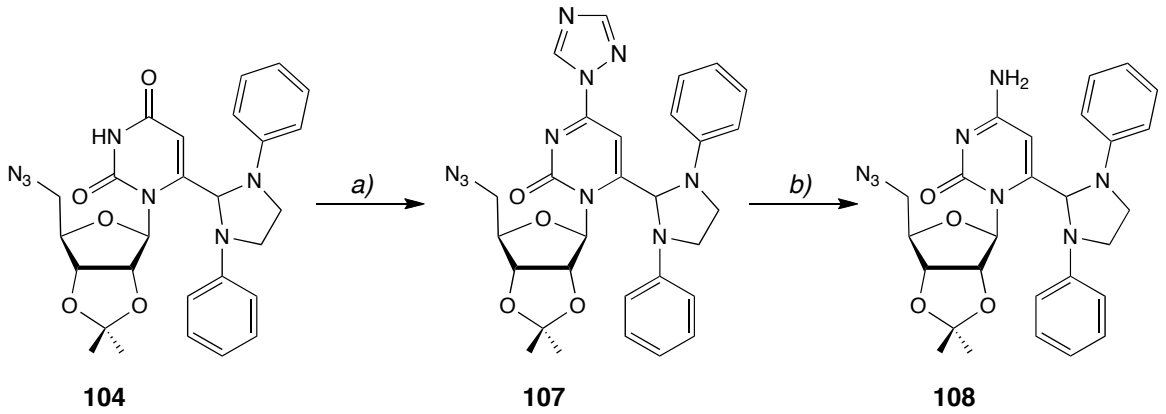
Das Uridinanaloge **104** wurde mit $POCl_3$, Hünigs-Base und 1,2,4-Triazol in MeCN in 85% Ausbeute in das Triazol **107** übergeführt (Schema 3.15) [132]. Die Substitution des Triazols **107** mit wässrigem Ammoniak in MeCN führte in 75% zum erforderten Cytidinanalogen **108** (Schema 3.15), welches in der Synthese der Dinukleoside eingesetzt werden kann.

Tabelle 3.21: Reaktionsbedingungen für die Einführung des Imidazolidinrests an C(6) des Cytidinanalogen

a)	
1) 4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, Dioxan/Toluol 1:2, 115°, 4 Å MS, 7 d	E
2) 4 Äq. DAE, 10% AcOH/EtOH, 26°, 24 h	n. v.
3) 2 Äq. DAE, 2.2 Äq. TMSOTf, 3.3 Äq. Lutidin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, **32**, 0–25°, 7 d	< 40%
4) 2 Äq. $SOCl_2$, 2 Äq. Pyridin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, 2 Äq. DAE, 0–25°, 2 h	53%
5) 0.2 Äq. CSA, 2 Äq. DAE, 26°, 24 h	n. v.
6) 0.1 Äq. DDQ, 2 Äq. DAE, MeCN, 26°, 22 h	50%

n.v.: die Reaktion lief nicht vollständig ab; E: Edukt

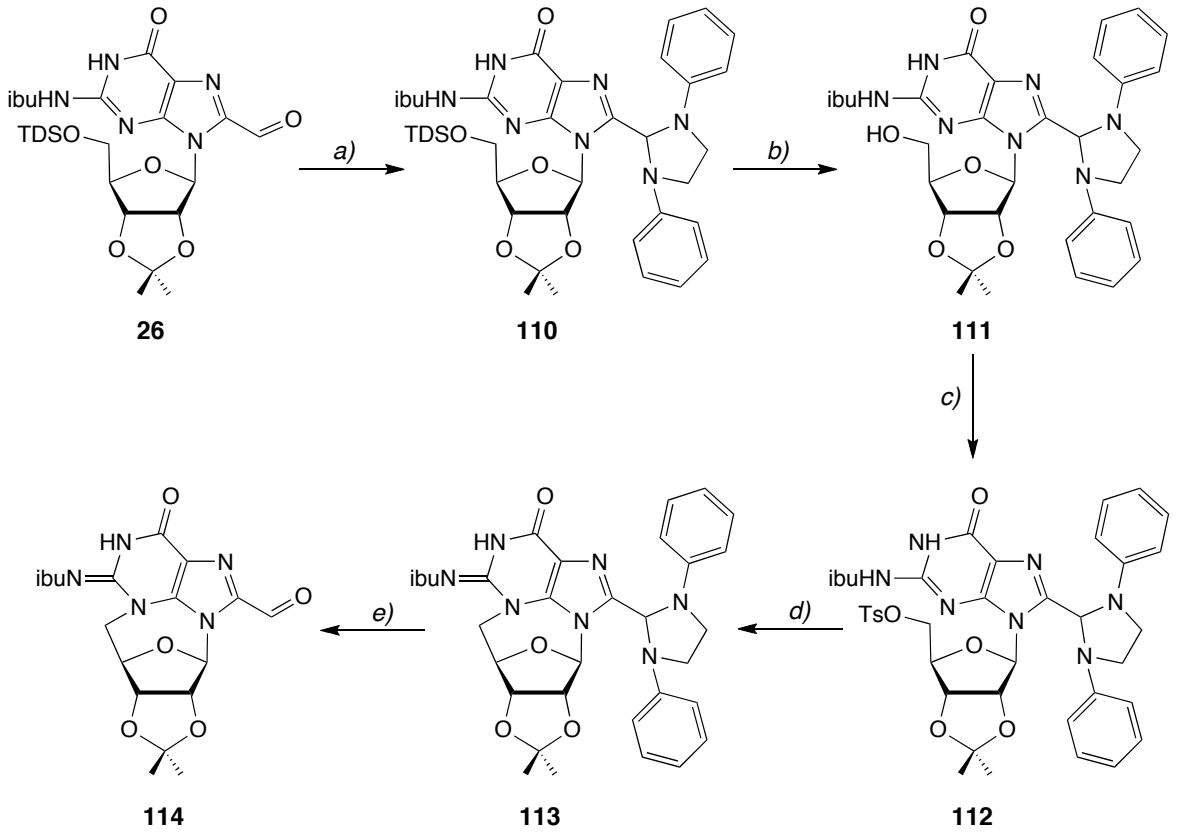
Schema 3.15



a) 9 Äq. 1,2,4-Triazol, 1.7 Äq. $POCl_3$, EtN*i*Pr_2, MeCN, 0–26°, 4 h; 85%. *b)* NH_4OH, MeCN, 26°, 30 min; 75%.

Synthese der Guanosin-Mononukleoside Die Substitution der Carbonylgruppe an C(8) des Guanosinanalogen **26** durch einen Imidazolidinrest wurde unter sechs verschiedenen Bedingungen getestet (Tab. 3.22). Die Reaktionsbedingung, die für das Uridinanaloge **100** (Schema 3.12) die beste Ausbeute ergab, führte in lediglich 36% zum Imidazolidin **110** (Tab. 3.22, *a1*). Die Bedingungen

Schema 3.16



a) 1.5 Äq. DAE, 0.1 Äq. DDQ, MeCN, 26°, 18 h; 93%. *b)* 5 Äq. HF·Pyridin, THF, 26°, 4 h; 84%. *c)* 3 Äq. TsCl, Pyridin, 26°, 3 h; 80%. *d)* 5 Äq. LiN_3, DMF, 80°, 4 h; 87%. *e)* 2 Äq. $TsOH{\cdot}H_2O$, Aceton/CH_2Cl_2 1:2, 0°, 20 min; 74%.

die für die Reaktion des Cytidinanalogen **32** am besten geeignet waren, führten in nur 40% Ausbeute zu **110** (Tab. 3.22, *a5*). Der Aldehyd **26** wurde schliesslich durch Reaktion mit 0.1 Äq. DDQ, 2 Äq. DAE in MeCN in 93% in das Imidazolidin **110** übergeführt (Schema 3.16) [131].

Der Silylether **110** wurde durch Reaktion mit HF·Pyridin in THF gespalten, was in 84% Ausbeute zum Alkohol **111** führte (Schema 3.16). Die Veresterung der Hydroxygruppe mit TsCl in Pyridin führte in 80% zum *p*-Toluolsulfonylester **112** (Schema 3.16), der sich aber durch Umsetzung mit LiN_3 in DMF nicht substitu-

Tabelle 3.22: Reaktionsbedingungen für die Überführung des Aldehyds **26** in das Imidazolidin **110**

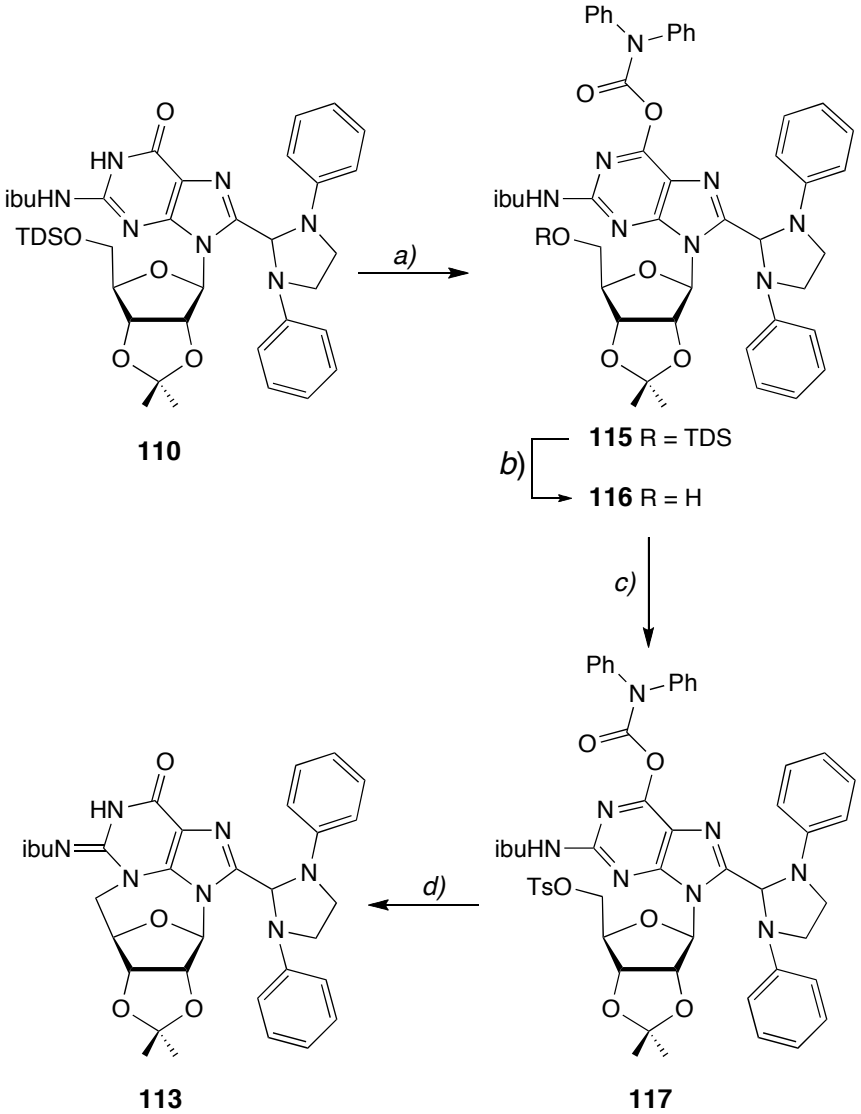
a)		
1)	4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, Dioxan/Toluol 1:2, 115°, 4 Å MS, 5 d	36%
2)	4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, THF/CH_2Cl_2 1:2, 40°, 5 d	n. v.
3)	4.3 Äq. DAE, 2.1 Äq. AcOH, THF/MeCN 1:2, 80°, 5 d	n. v.
4)	2 Äq. DAE, 2.2 Äq. TMSOTf, 3.3 Äq. Lutidin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, **26**, 7 d	n. v.
5)	2 Äq. $SOCl_2$, 2 Äq. Pyridin, CH_2Cl_2, 30 min, 0°, 2 Äq. DAE, 0–25°, 2 h	40%
6)	0.1 Äq. DDQ, 2 Äq. DAE, MeCN, 26°, 22 h	93%

ieren liess. Statt dessen beobachtete ich die Umsetzung von **112** in das nicht aus der Literatur bekannte C(5')→N(3)-Cykloguanosin **113** (87% Ausbeute) (Schema 3.16). Versuche die Azidierung bei niedrigeren Temperaturen oder in MeCN durchzuführen verliefen ergebnislos. Die Hydrolyse der Imidazolidinschutzgruppe mit TsOH·H_2O in Aceton/CH_2Cl_2 [126] ergab in 74% den aus der Literatur nicht bekannten Aldehyd **114** (Schema 3.16).

Um die Bildung eines Cykloguanosinanalogen zu vermeiden, führte ich als nächstes eine Schutzgruppe an HO–C(6) des Guaninrestes ein (Schema 3.17). Die Wahl fiel auf die Diphenylcarbamoylschutzgruppe, da sich diese am effizientesten einführen liess und unter allen darauffolgenden Reaktionsbedingungen stabil sein sollte [133].

Das geschützte Imidazolidin **110** wurde durch Reaktion mit Diphenylcarbamoylchlorid (DPC-Cl) und Et_3N in Pyridin in 77% Ausbeute in das Carbamat **115** übergeführt (Schema 3.17). Die Spaltung des Silylethers mit HF·Pyridin in THF/Pyridin [134] führte in 81% zum Alkohol **116** (Schema 3.17), der unter Standardbedingungen in 83% Ausbeute das Tosylat **117** ergab (Schema 3.17).

Schema 3.17



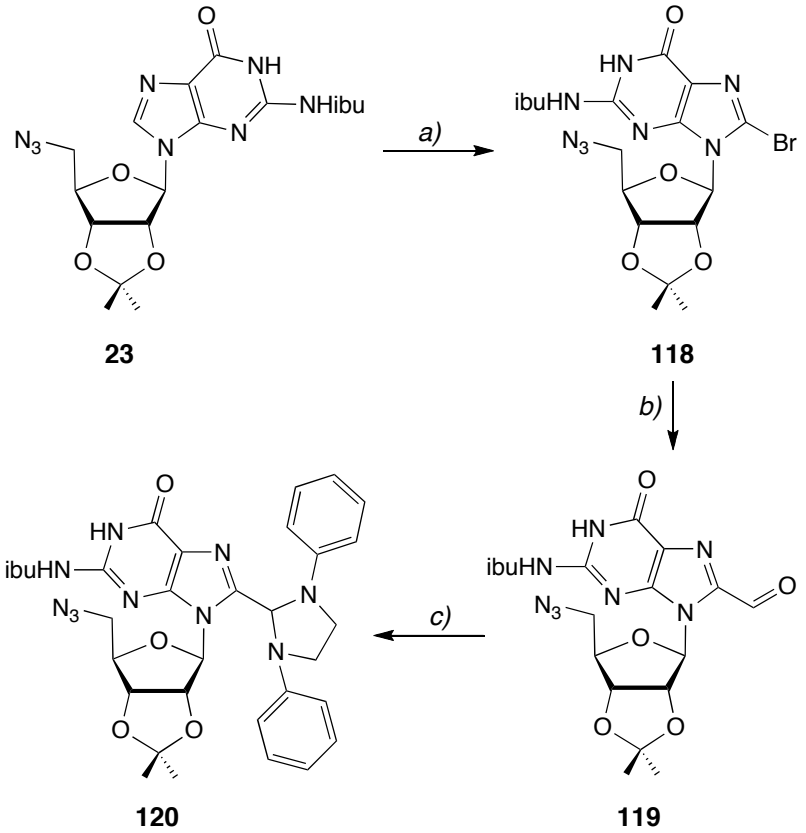
a) 3 Äq. DPCCl, 3 Äq. Et_3N, Pyridin, 26°, 2 h; 77%. *b)* 1.2 Äq. HF·Pyridin, THF/Pyridin 3:1, 26°, 4 h; 81%. *c)* 3 Äq. TsCl, Pyridin, 26°, 3 h; 83%. *d)* 10 Äq. LiN_3, DMF, 80°, 10 h; 81%.

Der Versuch zur Substitution dieses Tosylats mit LiN_3 in DMF führte nicht zum gewünschten Azid, sondern in 81% zum Cykloguanosin **113** (Schema 3.17). Interessanterweise scheint N_3^- nukleophil am Carbonyl-Kohlenstoff des Carbamoy-

lsubstituenten anzugreifen, so dass die Abspaltung der Schutzgruppe und die Bildung des Cykloguanosins konzertiert abzulaufen scheinen. Damit war die Wahl der Schutzgruppe wohl nicht ideal.

Nachdem diese beiden Synthesestrategien nicht zum gewünschten Azid **120** führ-

Schema 3.18



a) 1.5 Äq. NBS, **23**, MeCN/H_2O 8:2, 26°, 22 h; 85%. *b)* 4 Äq. LDA, THF, –75°, 1 h; 6 Äq. *i*PrMgCl, THF, –73– –50°, 1.5 h; 30 Äq. DMF, –50–26°, 2 h; 20%. *c)* 1.5 Äq. DAE, 0.1 Äq. DDQ, MeCN, 26°, 4 h; 85%.

ten (Schema 3.18), änderte ich die Strategie abermals.

Die Substitution von H–C(8) mit NBS in MeCN/H_2O führte in 85% zum Bromid **118** [135] (Schema 3.18). Der Halogen-Metallaustausch gemäss einem Verfahren von *Knochel* [136] und die nachfolgende Formylierung mit DMF (*a1– a4*)

führte nicht zum gewünschten Aldehyd **119** (Tab. 3.23). Die Versuche zuerst den Guanosinrest mit NaH, Hünigs Base, *n*BuLi oder LHMDS zu deprotonieren, anschliessend mit Isopropylmagnesiumchlorid zu metallieren und dann zu formylieren waren ebenfalls erfolglos. Die Silylierung von HO–C(6), Deprotonierung

Tabelle 3.23: Reaktionsbedingungen für die Umwandlung der Bromoverbindung **118** in den Aldehyd **119**

a)		
1)	*i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
2)	*i*PrMgCl·LiCl, THF, Ethylformiat	
3)	NaH, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
4)	$i\mathrm{Pr}_2\mathrm{NEt}$, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
5)	*n*BuLi, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
6)	LDA, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
7)	LHMDS, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	
8)	NaH, *i*PrMgCl, THF, DMF	
9)	LDA, *i*PrMgCl, THF, DMF	20%
10)	LHMDS, *i*PrMgCl, THF, DMF	
11)	LTMP, *i*PrMgCl, THF, DMF	18%
12)	TMSCl, LDA, *i*PrMgCl·LiCl, THF, DMF	21%

und *Grignard*-Reaktion führten dagegen in 21% zum Aldehyd **119** (*Bed. 12)*; die Deprotonierung mit LTMP bzw. LDA (*a9, a10)* und die anschliessende indirekte *Grignard*-Reaktion führten ebenfalls in 18 bzw. 20% zum gewünschten Produkt **119** (Tab. 3.23). Alle Versuche zur Steigerung der Ausbeute schlugen fehl. Die Umwandlung des Aldehyds **119** mit 1.5 Äq. DAE, 0.1 Äq. DDQ in MeCN führte in 85% zum Imidazolidin **120** (Schema 3.18).

3.2.2 Konformationsanalyse der Mononukleoside

Konformation der Uridine Wie aus Tabelle 3.24 hervorgeht, weisen die Uridine **101**–**105** allesamt eine *syn*-Konformation auf, wie es die chemischen Verschiebungen der H–C(2')-Signale von 5.19–5.29 ppm widerspiegeln. Der Ribosylrest bevorzugt in allen Fällen die *N*-Konformation. Liegt eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und O=C(2) vor, so ist die *gg*-Konformation bevorzugt, während für einen Silyloxy- oder Azidsubstituenten an C(5') die *tg*-Konformation bevorzugt wird. Das Tosylat **103** weist eine chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.20 ppm auf. Sowohl die Konformation des Ribosylringes, als auch das Verhältnis der *gg/gt/tg*-Rotameren konnten nicht bestimmt werden, da die Signale für H–C(3'), H–C(4') und H–C(5') zu breit sind, um die entsprechenden Kopplungskonstanten zu bestimmen. Die chemische Verschiebung des HO–C(5')-Signals von 3.08 ppm des Alkohols **102** weist ebenso wie das *gg/gt/tg*-Rotamerenverhältnis von 57:21:22 (Tab. 3.24) auf eine nicht persistente Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und O=C(2) hin, da bei vollständiger Bildung einer Wasserstoffbrücke eine chemische Verschiebung des HO–C(5')-Signals zwischen 4 und 5 ppm zu erwarten wäre, während das Signal eines freien HO–C(5') zwischen 2 und 3 ppm zu erwarten wäre. Die CD-Spektren der Uridine

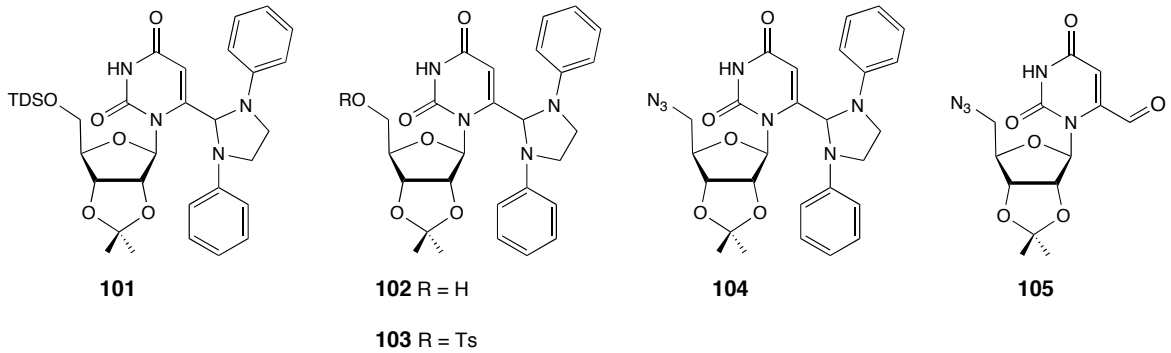


Abbildung 3.33: Uridinmononukleoside, deren Konformation diskutiert wird

Tabelle 3.24: Für die Bestimmung der Konformation relevante ^{1}H-NMR Daten und ihre Interpretation

	101	**102**	**103**	**104**	**105**
H–C(2') [ppm]	5.29	5.28	5.20	5.27	5.19
syn/anti	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*
J(1',2')	1.6	2.8	1.2	1.4	1.7
J(3',4')	3.9	3.9	–	3.9	4.7
S/N	29:71	42:58	–	26:74	26:74
J(4',5'$_a$)	6.4	4.0	–	8.2	7.2
J(4',5'$_b$)	6.4	4.0	–	5.1	6.7
gg/gt/tg	7:42:51	57:21:22	–	13:19:68	0:40:60

101–**104** sind nahezu identisch (Abb. 3.34) weisen alle ein Maximum bei 288 nm, ein Minimum bei 264 nm und ein weiteres Maximum bei 245 nm auf. Das Minimum bei 264 nm, sowie das Maximum bei 245 nm sind typisch für Uridinanaloge in der *syn*-Konformation [82]. Die Amplituden der Extrema unterscheiden sich jedoch deutlich voneinander. So weist der Alkohol **102** deutlich niedrigere Amplituden auf als die Verbindungen **101** und **103**–**104**, was mit der intramolekularen Wasserstoffbrücke zusammenhängen muss.

Die Uridine **101**–**105** nehmen allesamt eine *syn*-Konformation an, was sich in einer chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals zwischen 5.19 und 5.29 ppm und der Bevorzugung der *N*-Konformation äussert. Bildet HO–C(5') eine Wasserstoffbrücke zu O=C(2), so wird die *gg*-Konformation bevorzugt. Ist C(5') mit einer Azidgruppe substituiert, so ist die *tg*-Konformation bevorzugt. Ganz analoge Beobachtungen machte *Katja Chiesa* [4] für vergleichbare, an C(6) substituierte Uridine.

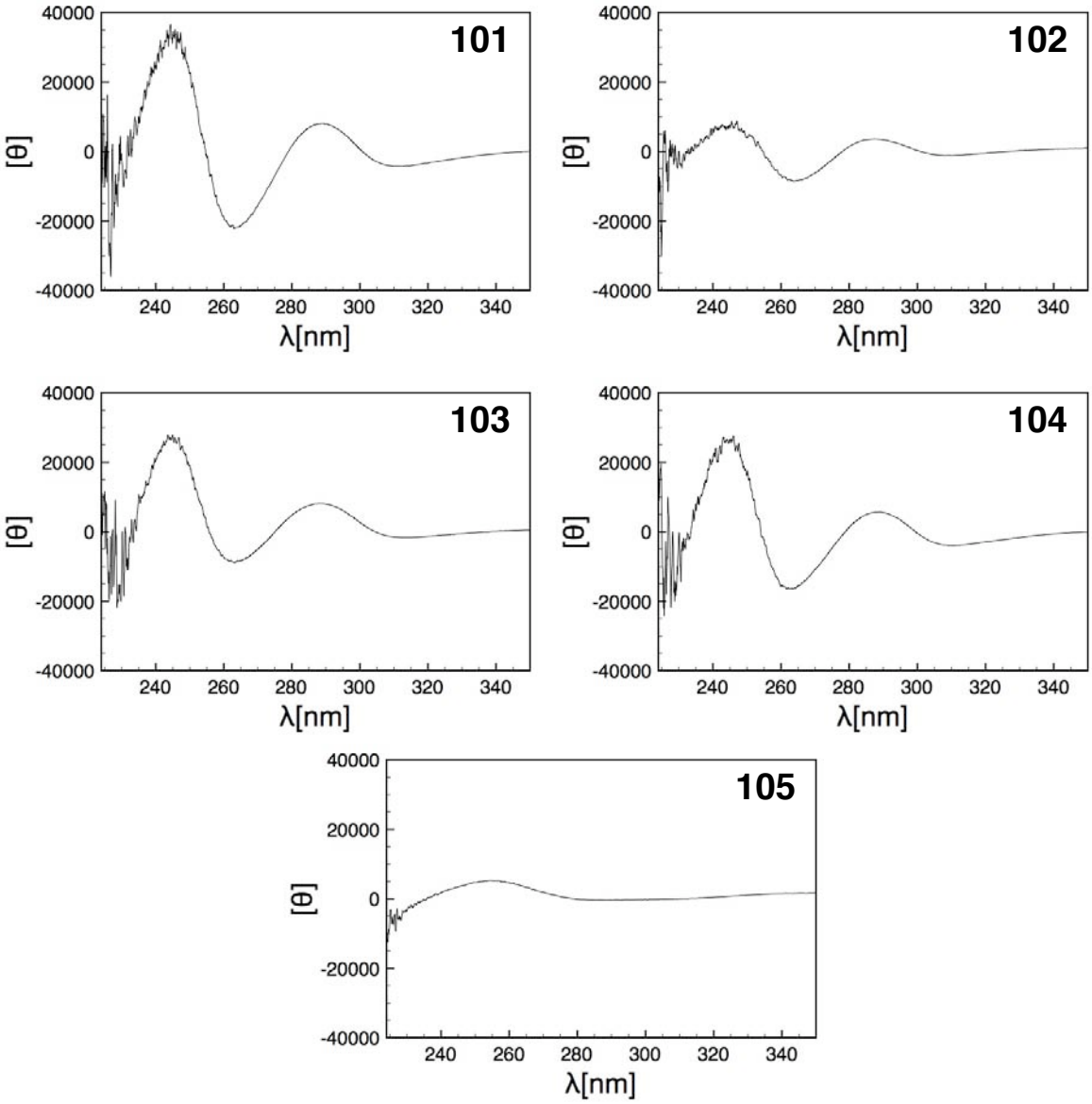
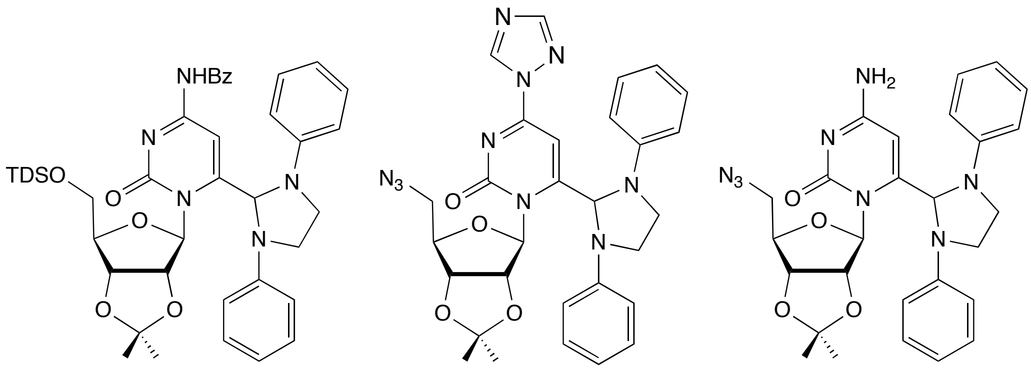


Abbildung 3.34: CD-Spektren der Uridin-Mononukleoside

Konformation der Cytidine Wie aus der Tabelle 3.25 hervorgeht liegen die Cytidine **106–108** aufgrund des Substituenten an C(6) alle in einer *syn*-Konformation vor, was sich in der chemischen Verschiebung der H–C(2')-Signale von 5.37 bis 5.39 ppm widerspiegelt. Die H–C(2')-Signale dieser Imidazolidine sind



106 **107** **108**

Abbildung 3.35: Cytidinmononukleoside deren Konformation diskutiert wird

gegenüber jenen des Aldehyds **32**, der ebenfalls eine *syn*-Konformation annimmt (H–C(2') 5.19 ppm) deutlich nach tieferem Feld verschoben, was mit einer Veränderung des Torsionswinkels χ um die glykosidische Bindung oder dem Anisotropieeffekt der Phenylsubstituenten des Imidazolidins einhergehen muss.

Die Bevorzugung der *syn*-Konformation geht mit einer deutlichen Präferenz der *N*-Konformation einher und im Falle eines Azidsubstituenten an C(5') mit einer Bevorzugung der *tg*-Konformation, wie dies auch bei dem analogen Uridin **104** der Fall ist, während im Falle eines Silyloxysubstituenten an C(5') das *gg/gt/tg*-Rotamerenverhältnis 34:31:35 ist. Im Falle des vergleichbaren Uridinsilylethers **101** ist die *gg*-Konformation jedoch destabilisiert, was mit einem kleineren Torsionswinkel χ um die glykosidische Bindung einhergehen muss. Dies wird durch die Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.29 ppm für **101** bestätigt, die sich

Tabelle 3.25: Für die Bestimmung der Konformation relevante ^{1}H-NMR Daten und ihre Interpretation

	106	**107**	**108**
H–C(2') [ppm]	5.39	5.37	5.39
syn/anti	*syn*	*syn*	*syn*
J(1',2')	1.1	1.2	1.1
J(3',4')	3.5	3.6	3.4
S/N	24:76	25:75	24:76
$J(4',5'_a)$	5.1	8.7	8.8
$J(4',5'_b)$	5.1	4.9	4.8
gg/gt/tg	34:31:35	11:15:74	11:14:75

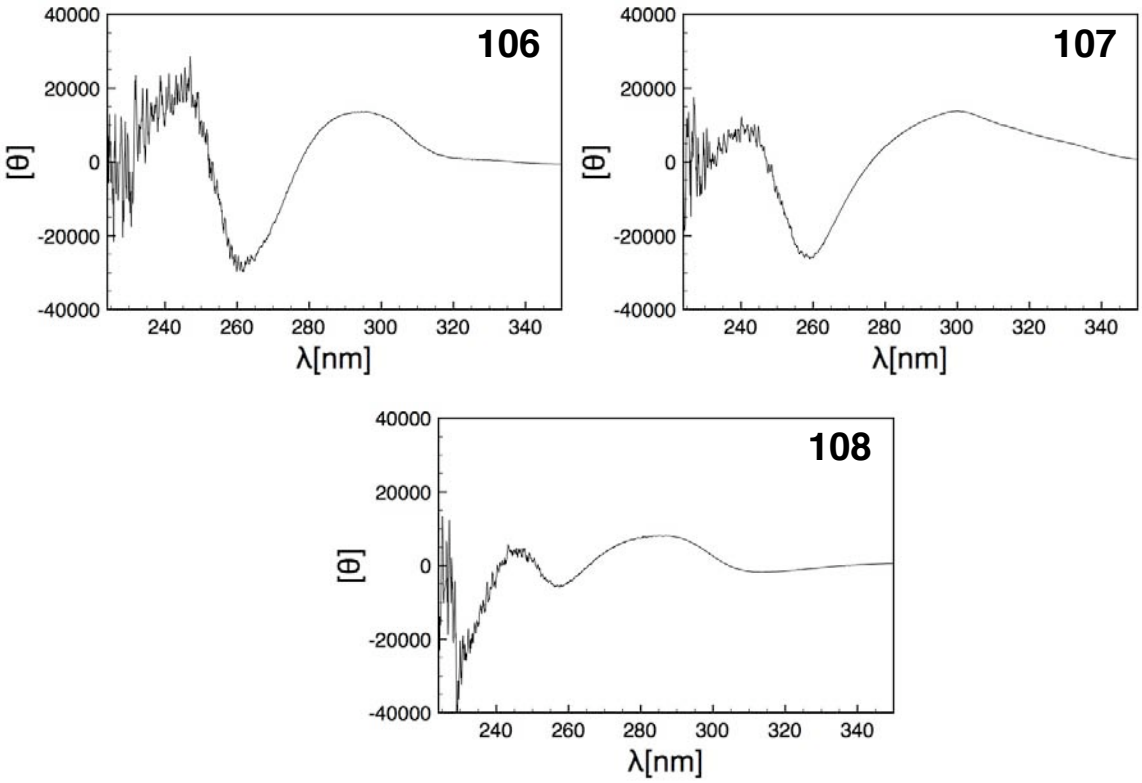


Abbildung 3.36: CD-Spektren der Cytidin-Mononukleoside

von der der Cytidine **106–107** unterscheidet (5.37–5.39 ppm). Da H–C(2') von **101** weniger stark entschirmt ist muss die Nukleobase einen grösseren Abstand zu H–C(2') einnehmen, als dies für die Cytidine **106–107** der Fall ist. Die CD-Spektren von **106** und **107** ähneln einander stark, mit einem Maximum bei 295 bzw. 300 nm, einem Minimum bei 261 bzw. 259 nm und einem Maximum bei 245 bzw. 241 nm. Das CD-Spektrum von **108** weist hingegen ein Maximum bei 285 nm, ein Minimum bei 257 nm und ein Maximum bei 246 nm auf. Damit zeigen alle drei CD-Spektren die typischen Extrema für Cytidine, die eine *syn*-Konformation aufweisen [81]. Die CD-Spektren der Cytidinmononukleoside **30** und **32**, die ebenfalls in der *syn*-Konformation vorliegen weisen ebenfalls Minima bei 252 nm und Maxima bei 235–239 nm auf. Die Lage der Extrema ist ähnlich, die Elliptizität der Mononukleoside **106** und **107** ist jedoch deutlich höher als jene der Cytidine **30**, **32** und **108**.

Konformation der Guanosine Die Nukleobasen der Verbindungen **110–112** sind *syn* orientiert und die Cykloguanosine **113** und **114** sind durch eine kovalente Bindung zwischen C(5') und N(3) in der *syn*-Konformation mit einem Torsionswinkel χ von 25° bis etwa 35° fixiert [137], wie es auch aus dem Modell (Abb. 3.37) hervorgeht. Das H–C(2')-Signal von **110** weist eine chemische Verschiebung von 5.22 ppm auf, ähnlich der des Aldehyds **26** (H–C(2') 5.19 ppm). Bei den Verbindungen **111–114** hingegen ist eine Hochfeldverschiebung des H–C(2')-Signals zu beobachten. So weist der Alkohol **111** eine chemische Verschiebung von 4.51 ppm auf, der Sulfonylester **112** eine von 4.78 ppm, das Cykloguanosinanaloge **113** eine von 3.80 ppm und der Aldehyd **114** eine von 4.50 ppm (Tab. 3.26). Die Hochfeldverschiebung des H–C(2')-Signals von **113** lässt sich durch einen Anisotropieeffekt des Phenylsubstituenten des Diphenylimidazolidins erklären, da H–C(2') in die π-Ebene des Phenylsubstituenten zeigt, wie in dem Modell in Abbildung 3.37

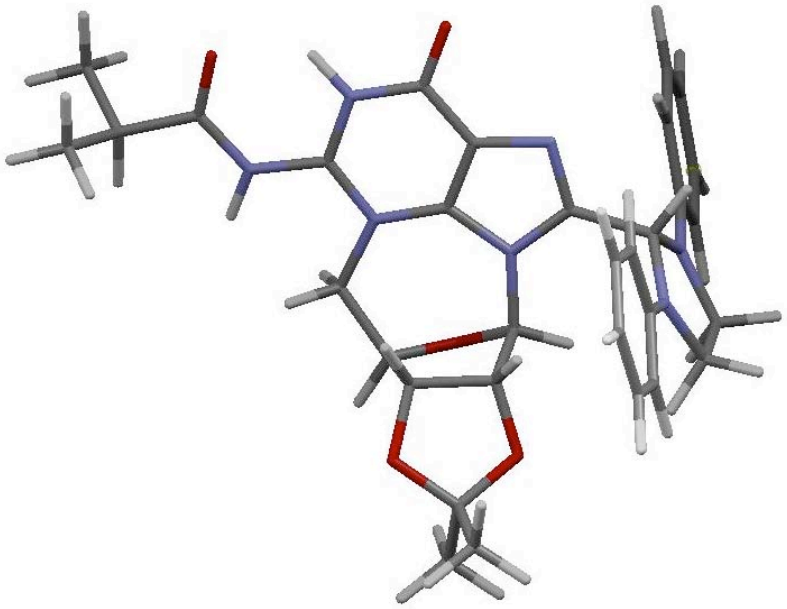


Abbildung 3.37: Modellierte Struktur des Cykloguanosins **113**

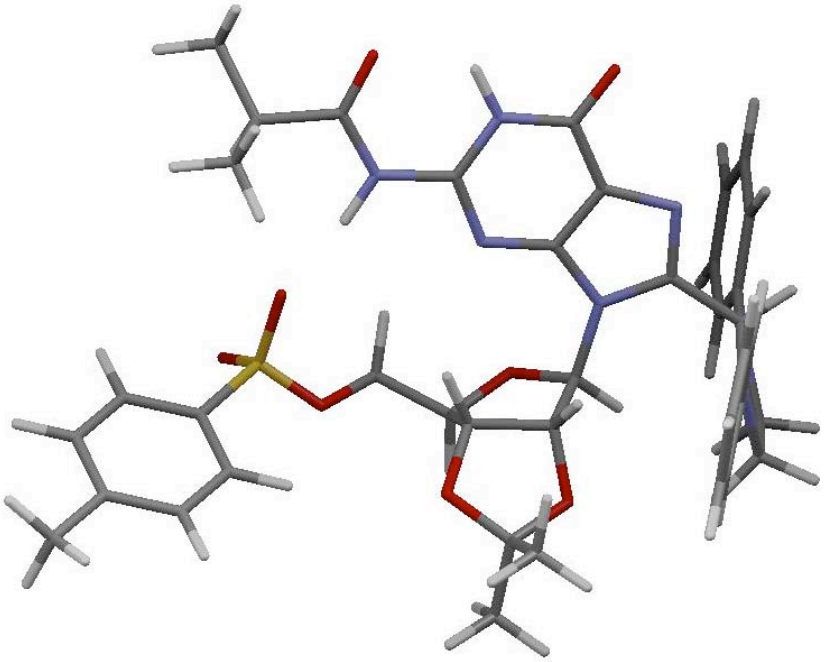


Abbildung 3.38: Modellierte Struktur des Tosylats **112**

zu sehen ist. Der Abstand zwischen H–C(2') und C(1) des Phenylsubstituenten beträgt etwa 2.663 Å.

Das Tosylat **112** nimmt, aufgrund einer intramolekularen Wasserstoffbrücke zwi-

Tabelle 3.26: Für die Bestimmung der Konformation relevante ^{1}H-NMR Daten und ihre Interpretation

	110	**111**	**112**	**113**	**114**
H–C(2') [ppm]	5.22	4.51	4.78	3.80	4.50
syn/anti	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*
J(1',2')	2.0	2.6	1.9	< 1	< 1
J(3',4')	4.1	4.9	4.3	2.4	2.7
S/N	33:67	35:65	31:69	*N*	*N*
$J(4',5'_a)$	6.0	2.0	4.1	2.8	2.6
$J(4',5'_b)$	7.0	2.0	7.2	2.4	2.6
gg/gt/tg	2:51:47	*gg*	15:61:24	*gg*	*gg*

schen S=O und H–N(2), die aufgrund einer chemischen Verschiebung des H–N(2)-Signals von 9.04 ppm angenommen wird, eine ähnliche Konformation an wie das Cykloguanosin **113**, was zu einer ähnlichen Verschiebung des H–C(2')-Signals von 4.78 ppm führt. Das Modell in Abbildung 3.38 gibt die Struktur wieder, die aufgrund von NOEs vorgeschlagen wird. Der Tosylrest muss sich aufgrund eines Kreuzsignals zwischen H–N(2) und H–C(Tosylat) in der Nähe der exocyklischen Aminogruppe befinden. Die Kreuzsignale von H–N(2) und H–C(3') sowie H–N(2) und H–C(2') zeigen, dass die Nukleosbase in *syn*-Konformation zwischen H–C(3') und H–C(5') mit einem Winkel χ von etwa 45° vorliegt. Ein weiteres Kreuzsignal zwischen H–C(1') und jeweils einem der beiden Protonen der Methylengruppen des Imidazolidinrests ist ein Indiz für die vorgeschlagene Struktur.

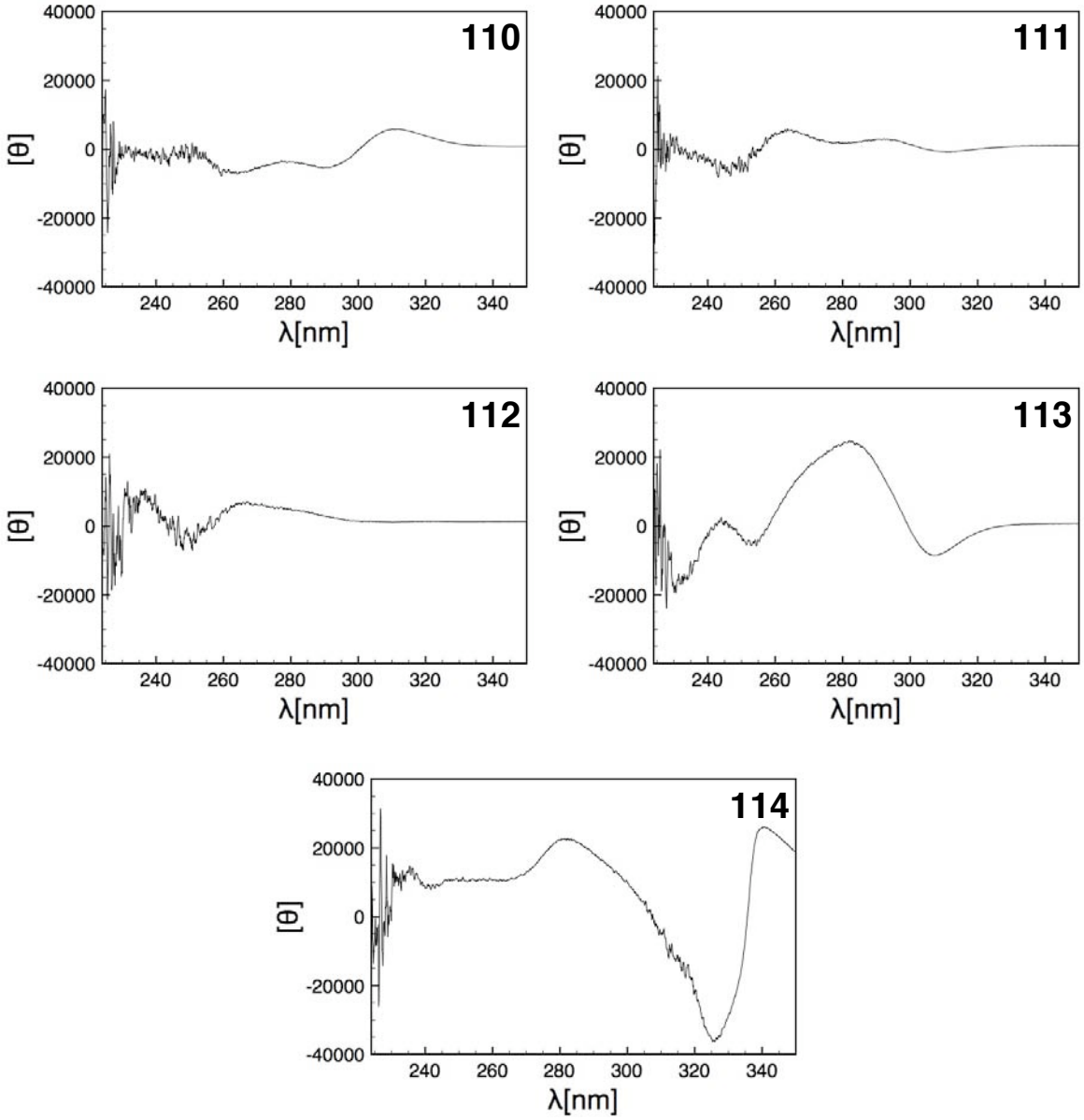


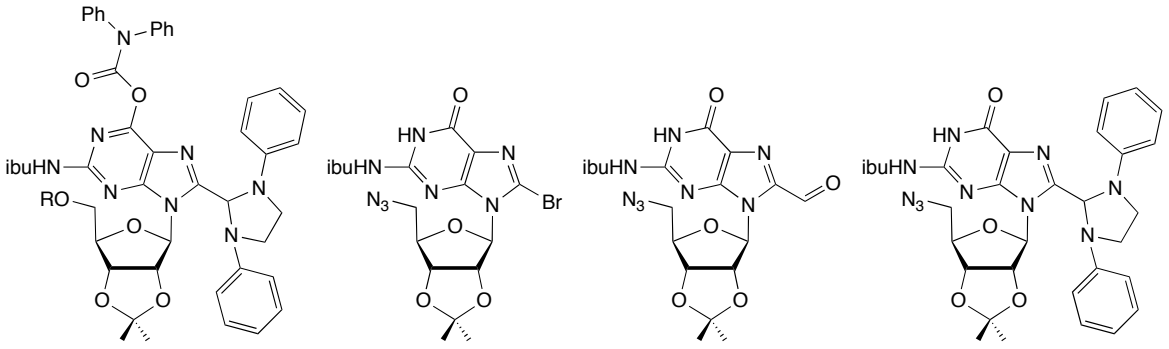
Abbildung 3.39: CD-Spektren der Guanosin-Mononukleoside **110–114**

Die Guanosine **110–114** bevorzugen die *N*-Konformation, wobei die beiden Cykloguanosine ausschliesslich eine *N*-Konformation annehmen. Die beiden Cykloguanosine müssen aufgrund der kovalenten Bindung zwischen C(5') und N(3) eine *gg*-Konformation einnehmen. Der Alkohol **111** bevorzugt aufgrund einer persistenten intramolekularen Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3)

ebenfalls die *gg*-Konformation. *H*O–C(5') weist, bedingt durch die Wasserstoffbrücke eine chemische Verschiebung von 5.19 ppm auf. Der Silylether **110** bevorzugt aufgrund des sterisch anspruchsvollen Silyloxysubstituenten an C(5') die *gt*-Konformation (Tab. 3.26).

Die CD-Spektren der Verbindungen **110–114** (Abb. 3.39) zeigen alle ein für die *syn*-Orientierung der Nukleobase typisches Maximum zwischen 260 und 300 nm [80]. Die CD-Spektren der beiden Cykloguanosine **113** und **114** zeigen eine deutlich höhere Elliptizität und ein Minimum zwischen 307–325 nm. Die Basenstapelung ist vermutlich durch die konformationelle Einschränkung durch die kovalente Bindung zwischen C(5') und N(3) begünstigt, was zu einer höheren Elliptizität führt.

Wie in der *Tabelle* 3.27 angegeben wird, nehmen die Guanosine **115–120** auf-



115 R = TDS

116 R = H

117 R = Ts

118 **119** **120**

Abbildung 3.40: Guanosinmononukleoside deren Konformation diskutiert wurde

grund des Substituenten an C(6) alle eine *syn*-Konformation an, was sich für die Guanosine **115** und **116** sowie **118** und **119** in der chemische Verschiebung der H–C(2')-Signale von 5.10–5.43 ppm widerspiegelt. Das Tosylat **117** und das Azid **120** weisen eine chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals von 4.63 ppm bzw. 4.96 ppm auf. Diese Hochfeld-Verschiebung der H–C(2')-Signale ist wahrschein-

lich durch die Lage des H–C(2') im Anisotropiekegel der Phenylgruppe des Diphenylimidazolidinsubstituenten zu erklären, wie es aus dem Modell des Tosylats **112** hervorgeht (Abb. 3.38). Das Tosylat *117* wird in einer ähnlichen Konformation vorliegen wie **112**, da die chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals ähnlich ist und in beiden Fällen die *gt*-Konformation bevorzugt wird (Tab. 3.26 und 3.27). Der Alkohol **116** bildet keine persistente intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3), wie aus dem *gg/gt/tg*-Rotamerenverhältnis von 31:46:23 und der chemischen Verschiebung des H–C(2')-Signals von 5.10 ppm hervorgeht. Für die Bildung einer persistenten intramolekularen Wasserstoffbrücke müsste die Orientierung des C(5')-Substituenten *gg* sein und *H*O–C(5') müsste stärker entschirmt sein, als es für **116** mit 3.14 ppm der Fall ist. Mit Ausnahme des Azids **119**, welches eine *gg*-Orientierung bevorzugt, bevorzugen die beiden anderen Azidonukleoside **119** und **120** die *tg*-Konformation, wie dies auch bei den Azidocytidinen und Azidouridinen der Fall ist.

Tabelle 3.27: Für die Bestimmung der Konformation relevante ^{1}H-NMR Daten und ihre Interpretation

	115	**116**	**117**	**118**	**119**	**120**
H–C(2') [ppm]	5.37	5.10	4.63	5.43	5.20	4.96
syn/anti	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*	*syn*
J(1',2')	1.6	2.0	0.9	2.1	2.8	1.6
J(3',4')	3.9	3.9	4.3	4.5	4.9	4.4
S/N	29:71	34:66	17:83	32:68	36:64	27:73
$J(4',5'_a)$	6.5	4.0	4.0	5.1	6.9	6.0
$J(4',5'_b)$	6.5	6.0	8.8	5.1	6.8	5.4
gg/gt/tg	5:43:52	31:46:23	0:82:18	42:30:28	0:44:56	29:30:41

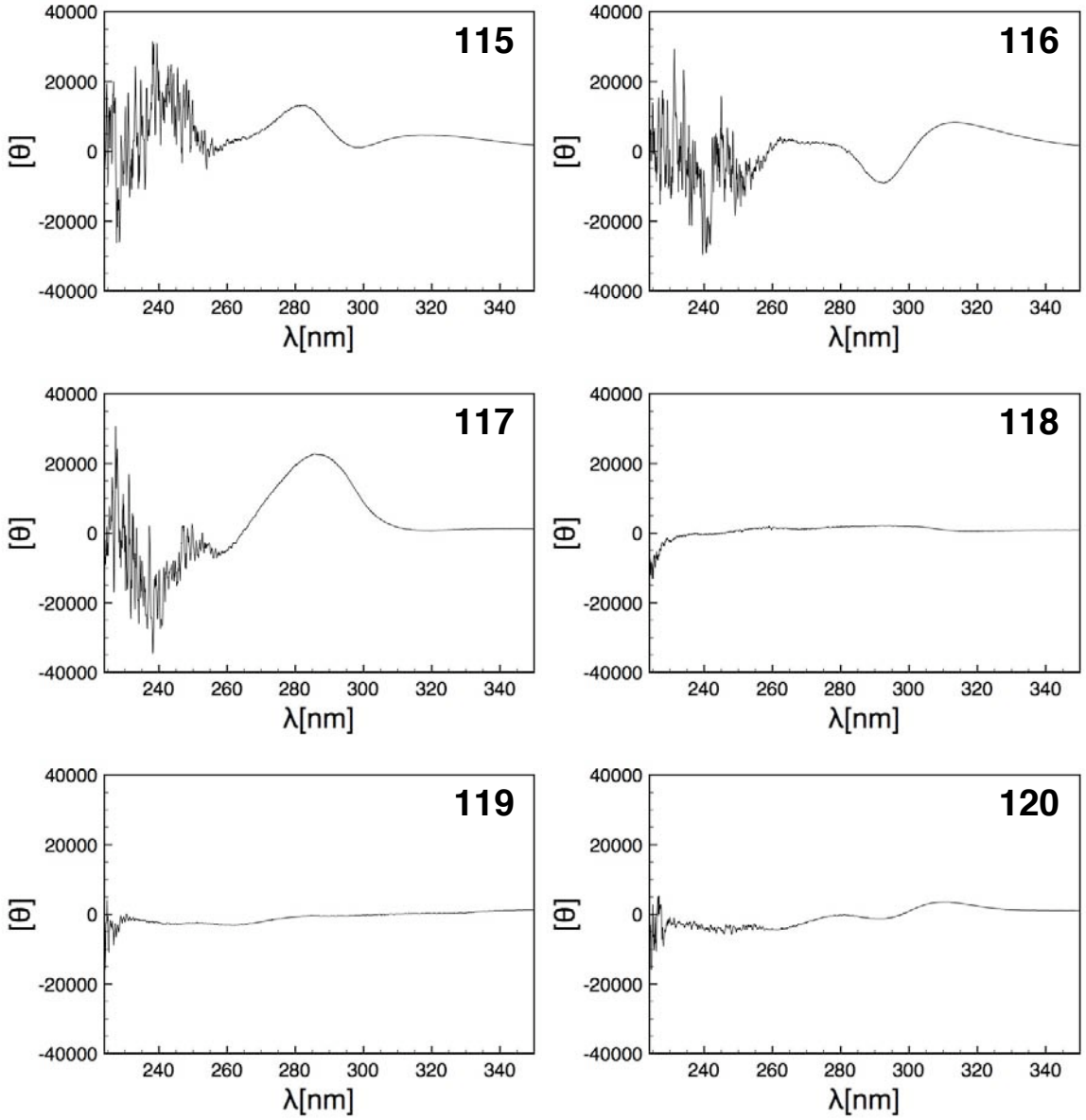


Abbildung 3.41: CD-Spektren der Guanosin-Mononukleoside **115–120**

Die CD-Spektren der Guanosine **115–120** (Abb. 3.41) weisen alle ein Maximum zwischen 260 und 300 nm auf, was die *syn*-Orientierung der Nukleobase bestätigt [80]. Die CD-Spektren der Guanosine **115–117** weisen eine deutlich höhere Elliptizität auf, was auf die zusätzlichen Phenylreste und deren Stapelung zurück-

zuführen sein muss.
Sämtliche Guanosinmononukleoside mit einer *syn*-Orientierung der Nukleobase bevorzugen die *N*-Konformation. Bildet HO–C(5') eine Wasserstoffbrücke mit N(3), so ist die bevorzugte Konformation *gg*. Verbindungen mit einem Thexyldimethylsilyloxysubstituenten oder einem Tosyloxysubstituenten an C(5') bevorzugen eine *gt*-Konformation. Die Azidonukleoside **23** und **118** bevorzugen die *gg*-Konformation; dies könnte auf eine Wechselwirkung des Azidsubstituenten mit der Nukleobase zurückzuführen sein, wie sie in der Kristallstruktur von **23** beobachtet wurde (Abb. 3.4). Die Azidonukleoside **119** und **120**, die an C(8) mit einer Formylgruppe bzw. einem Imidazolidinrest substituiert sind bevorzugen die *tg*-Konformation, ebenso wie die Azidocytidin und die Azidouridinanalogen.
Die beiden Guanosine, die in einer *anti*-Konformation vorliegen (**24**, **25**), bevorzugen leicht die *N*- und eine *gg*-Konformation. Im Fall der Guanosine kann keine Korrelation zwischen der chemische Verschiebung des H–C(2')-Signals und Torsionswinkel χ hergestellt werden. Für die beiden Nukleoside, die in der *anti*-Konformation vorliegen, beträgt die Verschiebung des H–C(2')-Signals 5.16 bzw. 4.99 ppm, während diese für die Nukleoside, die eine *syn*-Konformation annehmen zwischen 4.51 und 5.37 ppm liegt.

Allgemeine Beobachtungen Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Bevorzugung der *gg*-Orientierung eines C(5')-Substituenten mit einer *anti*-Orientierung der Nukleobase einhergeht, ausser wenn eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen HO–C(5') und N(3) bzw. O=C(2) vorliegt. Liegt die Nukleobase in einer *syn*-Orientierung vor und bildet sich eine persistente intramolekulare Wasserstoffbrücke, so wird die *gg*-Konformation bevorzugt. Für die Verbindungen, die eine *syn*-Konformation annehmen und keine intramolekulare Wasserstoffbrücke bilden, wird im Falle eines 5'-Oxysubstituenten die *gt* und im Falle eines 5'-Azidsubstituenten die *tg*-Konformation bevorzugt, um einer steri-

schen Wechselwirkung des C(5')-Substituenten mit O=C(2) bzw. N(3) auszuweichen. Ausnahmslos alle Mononukleoside bevorzugen die *N*-Konformation des Ribosylringes, die vermutlich durch die Isopropylidenschutzgruppe begünstigt ist.

4 Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde gezeigt, dass ein aminomethylen-verknüpftes selbstkomplementäres aus Guanosinen und Cytidinen aufgebautes Dinukleosid **15** in $CHCl_3$ cyklische Duplexe bildet, während das Dinukleosid **16** einen Triplex bildet. Ausserdem wurde beobachtet, dass ein aus Guanosinen aufgebautes Dinukleosid in $CHCl_3$ ein G-Quartett bildet.
Erstrebenswert wäre eine vollständige Entschützung der Dinukleoside **15–17** und deren Untersuchung auf Wasserlöslichkeit. Sollten diese Dinukleoside wasserlöslich sein, so könnte die Paarung und insbesondere die Quartettbildung in wässrigen Lösungen untersucht werden.
Neben der Untersuchung der Assoziation in Lösung sollte idealerweise die Struktur des Assoziats auch im Kristall untersucht werden. Leider blieben bislang alle Versuche, die teilweise geschützten Dinukleoside zu kristallisieren erfolglos.
Nachdem nun alle Mononukleoside vorliegen, die für eine Synthese der an C(6) bzw. an C(8) substituierten Dinukleoside, erfordert sind, steht die Synthese dieser Dinukleoside sowie ihre Untersuchung in Chloroform und Wasser an, um ihren Assoziationsmodus mit jenem der Dinukleoside **15–17** zu vergleichen.
Von besonderem Reiz ist die Synthese eines Hexanukleosids, etwa der Sequenz UGGGGU, um sowohl die Quartettbildung dieser Sequenz als auch die Heteropaarung mit einem RNA-Strang gleicher Sequenz zu untersuchen und auf die Bildung tetramolekularer Quadruplexe zu untersuchen.

5 Experimentalteil

Allgemeine Bemerkungen

Lösungsmittel wurden wie folgt destilliert: THF über Na/Benzophenon, CH_2Cl_2 über P_2O_5, MeOH, Pyridin, HMDS, TMP, $(i\text{Pr})_2\text{NH}$, $(i\text{Pr})_2\text{NEt}$ und Et_3N über CaH_2, DMF über BaO. TsCl wurde aus Toluol umkristallisiert, PPh_3 aus Hexan. LiN_3 wurde durch Reaktion von LiCl und NaN_3 in siedendem MeOH synthetisiert. Die Reaktionen wurden in der Regel unter N_2 durchgeführt. Qual. DC: beschichtete Kieselgelplatten (*Merck* Kieselgel *60 F_{254}*); Anfärbung durch Eintauchen in Anisaldehyd-Lösung (135 ml abs. Ethanol, 5 ml konz. H_2SO_4, 1.5 ml Eisessig und 3.7 ml *p*-Anisaldehyd) und Behandlung mit Heissluft (> 200°). Blitzsäulenchromatographie (FC): Kieselgel *Fluka 60* (0.04–0.063 mm). Die Schmelzpunkte (Smp.) sind unkorrigiert. Optische Drehung: 1-dm Zelle bei 25°, 589 nm. Temperatur-abhängige CD-Spektroskopie (10° Schritte zwischen 0° und 50°): 1-mM Lösungen in $CHCl_3$ in einer 1-mm *Suprasil* Küvette. UV Spektren: 10^{-5}M Lösungen in $CHCl_3$ bei 20° in einer 1-cm *Suprasil* Küvette. FT-IR Spektroskopie: fest (ATR), Absorption in cm^{-1}. ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektroskopie: 300, 400, 500 oder 600 MHz und 75, 100, 125, 150 MHz, respektive. Chemische Verschiebung δ in ppm rel. zu TMS als externem Standard, und Kopplungskonstanten J in Hz. MS: MALDI-TOF mit 0.05M Indol-3-acrylsäure (IAA) in THF oder mit 0.05M α–Cyano-4-hydroxyzimtsäure (CCA) in MeCN/EtOH/H_2O und hoch-auflösende

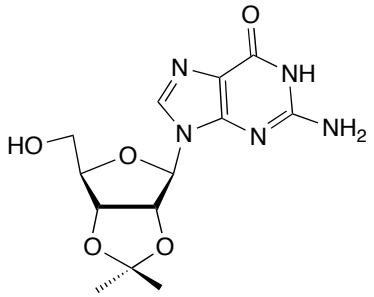
(HR) MALDI-TOF mit 0.05M 2,5-Dihydrobenzoesäure (DHB) in THF.

NMR Studien. NMR Experimente wurden bei 295 K und 300 MHz in einer Mischung von 90% $CDCl_3$ (über basischem Aluminiumoxid neutralisiert und über 4 Å-Molekularsieb getrocknet) und 10% (D6)DMSO (über 4 Å-Molekularsieb getrocknet) durchgeführt. Die Experimente wurden mit der höchsten Konzentration begonnen und durch schrittweises Ersetzen von 0.2 ml der 0.7 ml Lösung mit 0.2 ml des $CDCl_3$/(D6)DMSO Lösungsmittelgemischs verdünnt. Die Daten wurden durch non-linear least squares fitting mit MATLAB (trust-region algorithm) analysiert, woraus Werte für K_{ass}, δ(H–N(1), c= 0 mM), und δ(H–N(1), c= ∞) resultierten. Die thermodynamischen Parameter wurden durch *van't Hoff* Analyse bestimmt. Das Guanosin δ(H–N(1)) wurde bei einer bestimmten Konzentration (3–5 mM) bei 7, 14, 22, 30, 40 and 50° beobachtet.

5.1 Synthese der an C(6)/I bzw. C(8)/I unsubstituierten Dinukleoside

5.1.1 Synthese der Guanosin-Mononukleoside

2',3'-O-*Isopropylidenguanosin* (**20**) [92, 93].

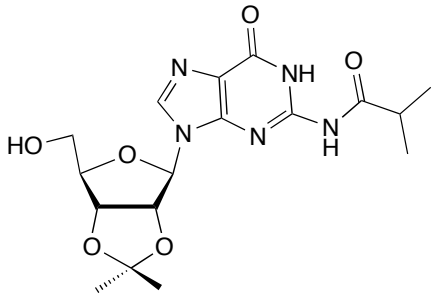


Eine Suspension aus Guanosin (38.05 g, 134 mmol) in Aceton (4.13 l) wurde auf 0° gekühlt und tropfenweise mit 70% aq. $HClO_4$ (18 ml, 209 mmol) innerhalb 10 min. versetzt, was zu vollständiger Lösung des Guanosins führte. Die Lösung wurde 25 min. bei 0° gerührt, auf 25° erwärmt, 30 min. gerührt und mit 25% aq. NH_3 (34 ml) neutralisiert. Nach Eindampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand 15 h in H_2O (200 ml) gerührt, mit H_2O (325 ml) verdünnt und 1 h gerührt. Der weisse Niederschlag wurde abfiltriert und 3× mit Toluol azeotrop getrocknet. Trocknen *i.v.* ergab **20** (40.70 g, 94%). Weisser Feststoff.

R_f(AcOEt/MeOH/H_2O 7:2:1) 0.65. Smp. 294° (dec; [92,93]: 290–300°). ^{1}H-NMR (300 MHz, (D6)DMSO): 10.67 (*s*, Austausch mit D_2O, NH); 7.91 (*s*, H–C(8)); 6.50 (br. *s*, Austausch mit D_2O, NH_2); 5.92 (*d*, J = 2.4, H–C(1')); 5.18 (*dd*, J = 6.3, 2.7, H–C(2')); 5.04 (*t*, J = 5.1, Austausch mit D_2O, HO–C(5')); 4.96 (*dd*, J = 6.3, 3.0, H–C(3')); 4.11 (*q*, $J \approx 3.7$, H–C(4')); 3.52 (*m*, H–C(5')); 1.51, 1.31 (2*s*,

Me_2C).

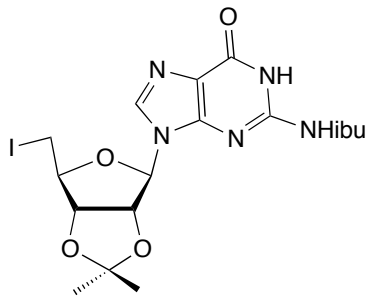
N^2-*Isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**21**) [138].



Eine Suspension aus **20** (4.53 g, 14 mmol) in Pyridin (56 ml) wurde tropfenweise mit TMSOTf (9.33 g, 42 mmol) innerhalb 20 min bei 26° versetzt. Die Lösung wurde 3 h gerührt, tropfenweise mit Isobutyrylchlorid (2.24 g, 21 mmol) versetzt, 5 h gerührt, mit 0.1 M HCl angesäuert und 3× mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über ($MgSO_4$) getrocknet und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) ergab **21** (4.96 g, 90%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 93:7) 0.29. Smp. 125–130° (Zers.). ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.16 (*s*, Austausch mit D_2O, NH); 9.26 (br. *s*, Austausch mit D_2O, NH); 7.83 (*s*, H–C(8)); 5.83 (*d*, *J* = 3.9, H–C(1')); 5.13 (*dd*, *J* = 6.0, 3.9, H–C(2')); 5.10–5.04 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HO–C(5')); 5.02 (*dd*, *J* = 6.3, 1.8, H–C(3')); 4.41 (br. *s*, H–C(4')); 3.94 (*dd*, *J* = 12.0, 1.6, H_a–C(5')); 3.78 (*dd*, *J* = 12.4, 1.8, H_b–C(5')); 2.71 (*sept.*, *J* = 6.8, Me_2C*H*); 1.59, 1.35 (2*s*, Me_2C); 1.25 (2*d*, *J* = 6.7, 2.9, *Me*$_2$CH).

5'-*Desoxy*-5'-*jodo*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**22**).

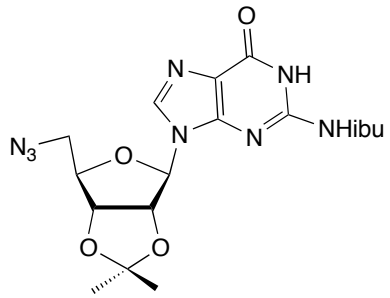


Nach einer Literaturvorschrift [99] wurde eine Lösung aus **21** (4.16 g, 10.6 mmol) in CH_2Cl_2 (97 ml) in einem *i*PrOH/CO_2-Bad auf –70° gekühlt und mit Methyltriphenoxyphosphonium-jodid (7.2 g, 15.9 mmol) innerhalb 3 min. versetzt. Die orangefarbene Lösung wurde 15 min. bei –70° und 3 h bei 26° gerührt, mit MeOH versetzt und 2× mit einer 10% wässrigen $Na_2S_2O_3$-Lsg., mit ges. $NaHCO_3$ Lsg., mit H_2O und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die org. Phase wurde über $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wurde mit Pentan und Et_2O versetzt, wobei sich ein weisser zäher Niederschlag bildete. Trocknen (*i.v.*) gab **22**. Eine analytische Probe wurde durch FC (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) erhalten. Ausbeute von **22**: 4.43 g, 83%. Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 93:7) 0.38. Smp. 137.2°. $[\alpha]_D^{25}$ = –24.2 (*c* = 1.0, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 284 (10524), 256 (13930). FT-IR ($CHCl_3$): 3143*w*, 2976*w*, 2874*w*, 1669*s*, 1603*s*, 1556*s*, 1477*m*, 1374*m*, 1252*m*, 1208*s*, 1154*s*, 1076*s*, 1019*m*, 969*w*, 947*w*, 872*m*, 856*m*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.19 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(1)); 9.20 (*s*, Austausch mit D_2O, HN–C(2)); 7.87 (*s*, H–C(8)); 5.99 (*d*, *J* = 2.4, H–C(1')); 5.24 (*dd*, *J* = 6.4, 2.5, H–C(2')); 4.93 (*dd*, *J* = 6.4, 3.3, H–C(3')); 4.29 (*ddd*, *J* = 7.0, 5.2, 3.4, H–C(4')); 3.37 (*dd*, *J* = 10.5, 7.2, H_a–C(5')); 3.31 (*dd*, *J* = 10.5, 5.4, H_b–C(5')); 2.72 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2C*H*); 1.58, 1.35 (2*s*, Me_2CO_2); 1.27, 1.25 (2*d*, *J* = 6.8, *Me*$_2$CH). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 179.60 (*s*, NC=O); 155.73 (*s*, C(6)); 148.14 (*s*, C(2)), 147.94 (*s*, C(4)); 138.22 (*d*,

C(8)); 121.55 (*s*, C(5)); 114.61 (*s*, Me_2CO_2); 90.25 (*d*, C(1')); 86.25 (*d*, C(4')); 84.10 (*d*, C(2'), C(3')); 36.18 (*d*, Me_2CH); 27.15, 25.34 (2*q*, Me_2CO_2); 19.14 (2*q*, Me_2CH); 5.76 (*t*, C(5')). HR-MALDI-MS (3-HPA): 526.0529 (12, $[M + Na]^+$, $C_{17}H_{22}IN_5NaO_5^+$; ber. 526.0558), 504.0729 (100, $[M + H]^+$, $C_{17}H_{23}IN_5O_5^+$; ber. 504.0738).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**23**).

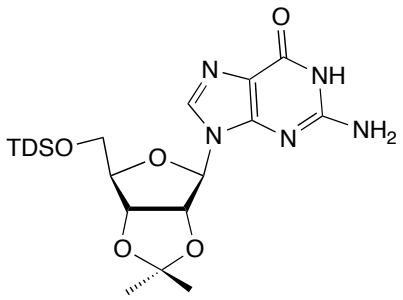


Eine Lösung aus **22** (2.36 g, 4.7 mmol) und LiN_3 (2.3 g, 47 mmol) in DMF (13 ml) wurde 16 h bei 26° gerührt. Die farblose Lösung wurde auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen und die org. Phase 5× mit H_2O und einmal mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Trocknen über $MgSO_4$ und Eindampfen ergab **23** (1.84 g, 94%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 93:7) 0.38. Smp. 185–190° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = +43.2 (*c* = 1.0, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 284 (10169), 261 (12823), 255 (12903). FT-IR (ATR): 2982*w*, 2935*w*, 2098*m*, 1677*s*, 1603*s*, 1557*s*, 1536*s*, 1482*m*, 1413*m*, 1383*m*, 1311*w*, 1288*w*, 1251*m*, 1213*s*, 1189*s*, 1150*s*, 1076*s*, 1022*m*, 992*m*, 967*w*, 946*m*, 903*m*, 874*m*, 812*m*, 782*s*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.44 (*s*, H–N(1)); 10.32 (*s*, HN–C(2)); 7.80 (*s*, H–C(8)); 5.94 (*d*, *J* = 2.2, H–C(1')); 5.23 (*dd*, *J* = 6.3, 2.3, H–C(2')); 4.93 (*dd*, *J*= 6.2, 3.9, H–C(3')); 4.26 (*q*, *J* ≈ 4.5, H–C(4')); 3.52 (*d*, *J*= 5.4, H–C(5')); 2.81 (*sept.*, *J*= 6.8, Me_2CH); 1.53, 1.27 (2*s*, Me_2C); 1.22 (*dd*, *J* = 6.8, 4.3, $CHMe_2$). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 179.68 (*s*, NC=O); 155.81 (*s*,

C(6)); 148.18, 148.08 (2*s*, C(2), C(4)); 138.07 (*d*, C(8)); 121.62 (*s*, C(5)); 114.67 (*s*, Me_2CO_2); 89.98 (*d*, C(1')); 85.18 (*d*, C(4')); 84.10 (*d*, C(2')); 81.44 (*d*, C(3')); 52.39 (*t*, C(5')); 36.23 (*d*, Me_2CH); 27.24, 25.29 (2*q*, Me_2CO_2); 19.19, 19.12 (2*q*, Me_2CH). HR-MALDI-MS (3-HPA): 419.1792 (100, [*M* +H] $^+$, $C_{17}H_{23}N_8O_5^+$; ber. 419.1786).

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**24**).

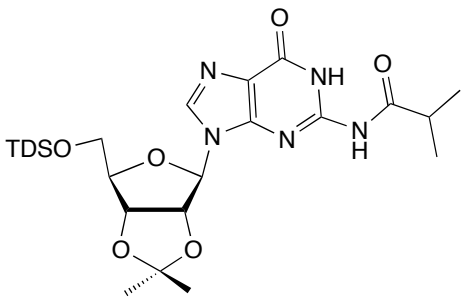


Nach einer Literaturvorschrift [139] wurde eine Suspension aus **20** (20.57 g, 63.6 mmol) in DMF (85 ml) mit Imidazol (12.99 g, 190.8 mmol) und tropfenweise mit Thexyldimethylsilylchlorid (14.67 g, 82.1 mmol) innerhalb 10 min. versetzt, währenddessen die Suspension zu einer Lösung aufklarte. Die Lösung wurde 24 h bei 26° gerührt, mit AcOEt und H_2O verdünnt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in H_2O suspendiert und 15 h gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zweimal mit Toluol azeotrop getrocknet und *i.v.* getrocknet, um **24** (28.72 g, 97%) zu ergeben. Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2 /MeOH 93:7) 0.33. Smp. 235.9° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = +0.59 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 258 (12688). FT-IR (ATR): 3318*w*, 3111*w*, 2956*m*, 2867*w*, 2349*w*, 1688*s*, 1601*m*, 1533*m*, 1488*w*, 1465*w*, 1375*m*, 1252*m*, 1212*m*, 1177*m*, 1158*m*, 1078*m*, 828*s*, 779*m*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 7.71 (*s*, H–C(8)); 6.31 (br. *s*, Austausch mit D_2O, H_2N–C(2)); 5.99 (*d*, *J* = 2.5, H–C(1')); 5.16 (*dd*, *J* = 6.2, 2.5, H–C(2')); 4.90 (*dd*, *J* = 6.2, 2.9, H–C(3')); 4.31 (*q*, *J* ≈ 3.6, H–C(4'));

3.80 (*dd*, J = 11.3, 4.5, H_a–C(5')); 3.74 (*dd*, J = 11.4, 4.7, H_b–C(5')); 1.61, 1.39 (2*s*, Me_2CO_2); 1.57 (*sept.*, $J \approx 6.9$, Me_2CH); 0.86 (*d*, J = 6.6, Me_2CHSi); 0.82 (2*s*, Me_2CSi); 0.08 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 158.73 (*s*, C(6)); 153.63 (*s*, C(2)); 150.85 (*s*, C(4)); 135.81 (*d*, C(8)); 117.12 (*s*, C(5)); 113.81 (*s*, Me_2CO_2); 90.20 (*d*, C(1')); 86.92 (*d*, C(4'); 84.36 (*d*, C(2')); 81.24 (*d*, C(3')); 63.13 (*t*, C(5')); 34.05 (*d*, Me_2CH); 27.22, 25.51 (2*q*, Me_2CO_2); 25.29 (*s*, Me_2CSi); 20.31 (2*q*, Me_2CSi); 18.51 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.30, –3.43 (2*q*, Me_2Si). HR-ESI-MS: 953.4014 (79, $[2M + Na]^+$, $C_{42}H_{70}N_{10}NaO_{10}Si^+$; ber. 953.4707), 488.2308 (100, $[M + Na]^+$, $C_{21}H_{35}N_5NaO_5Si^+$; ber. 488.2300).

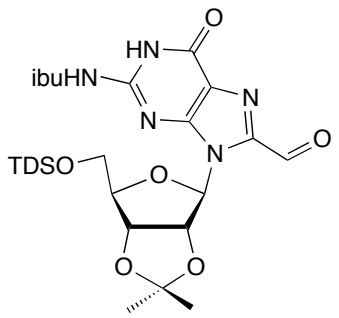
5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden-guanosin* (**25**).



Eine Suspension aus **24** (15.5 g, 31.8 mmol) und DMAP (aus Tol. umkristallisiert, 0.39 g, 3.2 mmol) in Pyridin (140 ml) wurde auf 0° gekühlt, tropfenweise mit Isobutyrylchlorid (dest.; 5.08 g, 47.7 mmol) versetzt, und auf RT erwärmt. Die trübe Mischung wurde 90 min bei 26° gerührt, und auf die Hälfte eingedampft. Der weisse Niederschlag von Pyridiniumchlorid wurde abfiltriert und mit AcOEt gewaschen. Die vereinigten Filtrate und Waschlösungen wurden mit AcOEt verdünnt, mit H_2O (3×), und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) ergab **25** (12.09 g, 71%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2 /MeOH 93:7) 0.51. Smp. 125–130° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = –100.3 (*c* = 1.0, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 286 (12630), 264 (14800). FT-IR (ATR): 3416*w*, 3221*w*, 3016*m*, 2963*m*, 2865*w*, 1697*s*, 1605*s*, 1559*m*, 1471*w*, 1403*w*, 1377*w*, 1313*w*, 1221*m*, 1135*m*, 1090*m*, 968*w*, 837*w*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.23 (br. *s*, Austausch mit D_2O, H–N(1)); 10.07 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HN–C(2)); 7.90 (*s*, H–C(8)); 5.92 (*d*, *J* = 2.8, H–C(1')); 4.99 (*dd*, *J* = 6.0, 2.5, H–C(2')); 4.85 (*dd*, *J* = 6.0, 2.6, H–C(3')); 4.32 (*q*, *J* ≈ 3.4, H–C(4')); 3.77 (*dd*, *J* = 11.5, 3.5, H_a–C(5')); 3.72 (*dd*, *J* = 11.5, 4.1, H_b–C(5')); 2.77 (*sept.*, *J* = 6.9, $Me_2CHC{=}O$); 1.53 (*sept.*, *J* ≈ 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 1.50, 1.28 (2*s*, Me_2CO_2); 1.21, 1.19 (2*d*, *J* = 6.6, $Me_2CHC{=}O$); 0.80 (*d*, *J* = 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 0.77, 0.76 (2*s*, Me_2CSi); 0.04, 0.02 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 179.63 (*s*, NC=O); 155.78 (*s*, C(6)); 148.11, 148.05 (2*s*, C(2), C(4)); 137.25 (*d*, C(8)); 121.16 (*s*, C(5)); 113.92 (*s*, Me_2CO_2); 90.18 (*d*, C(1')); 86.90 (*d*, C(4')); 84.85 (*d*, C(2')); 80.23 (*d*, C(3')); 63.24 (*t*, C(5')); 35.97 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 33.85 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 26.99, 25.15 (2*q*, Me_2CO_2); 25.15 (*s*, Me_2CSi); 20.17, 20.07 (2*q*, Me_2CSi); 18.95, 18.89 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$); 18.31, 18.27 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.57, –3.71 (2*q*, Me_2Si). HR-ESI-MS: 536.2893 (100, $[M + H]^+$, $C_{25}H_{42}N_5O_6Si^+$; ber. 536.2899).

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-8-*formyl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**26**).



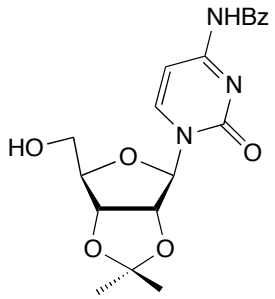
Eine Lösung aus Hexamethyldisilazan (19.4 g, 120 mmol) in THF (146 ml) wurde

auf 0° gekühlt und tropfenweise mit *n*-BuLi (1.4 molar, 120 mmol) versetzt. Die gelbliche Lsg. wurde 30 min bei 0° gerührt, auf –75° gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung aus **25** (10.7 g, 20 mmol) in THF (208 ml) versetzt, 110 min gerührt, tropfenweise mit DMF (43.8 g, 600 mmol) versetzt, 1 h bei –65° gerührt und auf RT erwärmt. Die Mischung wurde mit ges. NH_4Cl Lsg. (400 ml) und AcOH neutralisiert. Nach der Phasentrennung wurde die wässrige Phase mit AcOEt extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (5×) und ges. NaCl Lsg. gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft. FC (Toluol/Aceton 5:1) ergab **26** (10.8 g, 96%). Beigefarbener Schaum.

R_f (Toluol/Aceton 3:1) 0.57. Smp. 117.5°. $[\alpha]_D^{25}$ = +6.2 (*c* = 1.0, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 335 (18420), 322 (19300), 290 (sh, 6044), 277 (sh, 4040). FT-IR ($CHCl_3$): 3411*w*, 3194*w*, 2960*w*, 2868*w*, 1726*m*, 1693*s*, 1604*s*, 1555*s*, 1467*w*, 1429*m*, 1384*w*, 1312*w*, 1091*m*, 949*w*, 865*w*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.17 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(1)); 9.83 (*s*, CH=O); 8.24 (*s*, Austausch mit D_2O, HN–C(2)); 6.50 (*d*, *J* = 3.3, H–C(1')); 5.19 (*dd*, *J* = 7.0, 3.2, H–C(2')); 5.01 (*dd*, *J* = 7.0, 4.7, H–C(3')); 4.14 (*q*, *J* ≈ 5.5, H–C(4')); 3.82 (*dd*, *J* = 10.9, 5.7, H_a–C(5')); 3.77 (*dd*, *J* = 10.8, 6.9 H_b–C(5')); 2.64 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2C*H*C=O); 1.63 (*sept.*, *J* = 6.6, Me_2C*H*CMe_2Si); 1.58, 1.35 (2*s*, Me_2CO_2); 1.30, 1.27 (2*d*, *J* = 5.1, *Me*$_2$CHC=O); 0.85 (*d*, *J* = 6.9, Me_2CHC*Me*$_2$Si); 0.83 (2*s*, Me_2CSi); 0.08, 0.07 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 182.24 (*d*, CH=O); 178.87 (*s*, NC=O); 155.41 (*s*, C(6)); 150.20 (*s*, C(4)); 149.45 (*s*, C(2)); 143.33 (*s*, C(8)); 122.48 (*s*, C(5)); 114.91 (*s*, Me_2*C*O_2); 88.95 (*d*, C(1')); 86.59 (*d*, C(4')); 83.82 (*d*, C(2')); 81.48 (*d*, C(3')); 63.17 (*t*, C(5')); 36.48 (*d*, Me_2*C*HC=O); 33.93 (*d*, Me_2*C*HCMe_2Si); 27.11, 25.32 (2*q*, *Me*$_2$$CO_2$); 25.22 (*s*, Me_2*C*Si); 20.20 (2*q*, *Me*$_2$CSi); 18.91 (2*q*, *Me*$_2$CHC=O); 18.34, 18.47 (2*q*, *Me*$_2$CHCMe_2Si); –3.43 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 564.2850 (100, $[M+H]^+$, $C_{26}H_{42}N_5O_7Si^+$; ber. 564.2848). Anal. ber. für $C_{26}H_{41}N_5O_7Si$: C 55.40, H 7.33, N 12.42; gef.: C 54.31, H 7.19, N 12.68.

5.1.2 Synthese der Cytidin-Mononukleoside

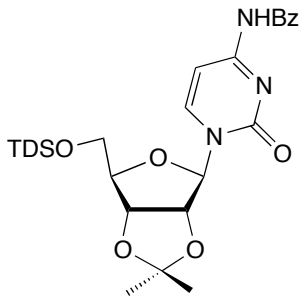
N^4-*Benzoyl*-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**30**) [94].



Eine Suspension aus N^4-Benzoylcytidin (40.9 g, 120 mmol) in Aceton (1.8 l) und Dimethoxypropan (1.46 mol, 180 ml) wurde mit 70% aq. $HClO_4$ (140 mmol, 12 ml) versetzt und 24 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde mit 25% aq. NH_3 neutralisiert und eingedampft. Ein Rückstand der Lösung wurde in 1 l Wasser aufgenommen und der flockige Niederschlag abgesaugt und aus EtOH umkristallisiert um **30** zu ergeben (37.3 g, 80%). Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 96:4) 0.16. Smp. 176° Lit.: 171–177° [94]. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.86 (br. *s*, H–N(4)); 7.89 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2 ar. H); 7.83 (*d*, *J* = 7.5 Hz, H–C(6)); 7.62 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 1 ar. H); 7.59–7.50 (*m*, 2 ar. H); 7.49 (*d*, *J* = 7.2 Hz, H–C(5)); 5.58 (*d*, *J* = 2.6 Hz, H–C(1')); 5.22 (*dd*, *J* = 6.4, 2.6 Hz, H–C(2')); 5.06 (*dd*, *J* = 6.4, 3.2 Hz, H–C(3')); 4.40 (*q*, *J* ≈ 2.8 Hz, H–C(4')); 3.98–3.70 (br. *m*, HO–C(5'), H_a–C(5'), H_b–C(5')); 1.58, 1.36 (2*s*, Me_2CO_2).

N^4-*Benzoyl*-5'-O-[*dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**31**).

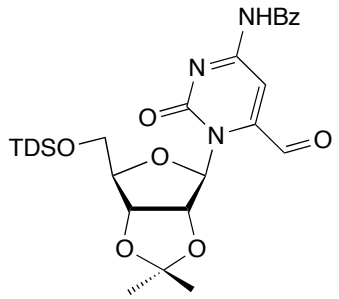


Eine Suspension aus **30** (10.45 g, 27 mmol) in DMF (36 ml) wurde mit Imidazol (5.51 g, 81 mmol) und tropfenweise mit Thexyldimethylsilylchlorid (8.9 ml, 45 mmol) innerhalb 10 min versetzt. Die Lösung wurde 19 h bei 26° gerührt und mit H_2O verdünnt. Der zähe weisse Niederschlag wurde abfiltriert und mit H_2O gewaschen. Azeotrope Trocknung mit Toluol ergab **31** (13.50 g, 94%). Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 96:4) 0.30. Smp. 138.8°. $[\alpha]_D^{25}$ = +11.7 (c = 0.3, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 309 (11555), 262 (20758). FT-IR (ATR): 2957*w*, 2867*w*, 1667*s*, 1624*m*, 1554*m*, 1481*s*, 1379*m*, 1303*m*, 1251*s*, 1213*m*, 1157*m*, 1079*s*, 968*w*, 829*s*, 780*s*, 704*s*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.78 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HN–C(4)); 8.17 (*d, J* = 7.4, H–C(6)); 7.90 (*d*, *J* = 7.5, 2 ar. H); 7.61 (*d, J* = 7.2, H–C(5)); 7.51 (*m, J* = 7.5, 3 ar. H); 5.99 (*s*, H–C(1')); 4.79 (*dd*, *J* = 6.5, 2.4, H–C(2')); 4.75 (*dd*, *J* = 6.0, 2.6, H–C(3')); 4.41 (*q*, *J* ≈ 3.0, H–C(4')); 3.95 (*dd*, *J* = 11.6, 2.3, H_a–C(5')); 3.79 (*dd*, *J* = 11.8, 3.4, H_b–C(5')); 1.62 (*sept.*, *J* ≈ 7.2, Me_2CH); 1.60, 1.36 (2*s*, Me_2CO_2); 0.87 (*d*, *J* = 6.9, Me_2CH); 0.84 (*s*, Me_2CSi); 0.13 (*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 162.39 (*s*, NC=O); 145.06 (*d*, C(6)); 133.55 (2 ar. C); 129.00 (*d*, 4 ar. C); 127.61 (*d*, C(5)); 113.87 (*s*, Me_2CO_2); 94.05 (*d*, C(1')); 87.93 (*d*, C(4')); 86.20 (*d*, C(2')); 80.23 (*d*, C(3')); 63.13 (*t*, C(5')); 33.96 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.20, 25.33 (2*q*, Me_2CO_2); 25.30 (*s*, Me_2CSi); 20.28, 20.16

(2*q*, *Me*$_2$CSi); 18.46, 18.42 (2*q*, *Me*$_2$CHCMe$_2$Si); –3.30, –3.51 (2*q*, *Me*$_2$Si); Signale von C(2) und C(4) im Untergrund. HR-MALDI-MS (3-HPA): 531.2694 (35, [*M* + D]$^+$, $C_{27}H_{39}DN_3O_6Si^+$; ber. 531.2708), 530.2669 (100 [*M* + H]$^+$, $C_{27}H_{40}N_3O_6Si^+$; ber. 530.2681).

N^4-*Benzoyl*-5'-O-[*dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-8-*formyl*-2',3'-O-*isopro pylidencytidin* (**32**).

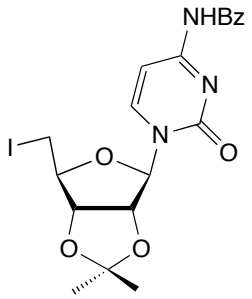


Eine Lösung aus *i*-Pr$_2$NH (6.07 g, 60 mmol) in THF (70 ml) wurde auf 0° gekühlt, tropfenweise mit *n*-BuLi (1.41 molar, 60 mmol) versetzt, 30 min gerührt, auf –78° gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung aus **31** (5.30 g, 10 mmol) in THF (100 ml) versetzt. Die orangefarbene Lösung wurde 2 h bei –78° gerührt, mit DMF (22 g, 300 mmol) versetzt, 30 min bei –78° gerührt, auf 25° erwärmt, mit aq. NH_4Cl Lsg. (200 ml) versetzt und mit AcOH neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit AcOEt extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit H_2O (5×) und ges. NaCl Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (Toluol/Aceton 9:1) ergab **32** (4.3 g, 77%). Braunfarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 96:4) 0.25. Smp. 86.1° (dec). $[\alpha]_D^{25}$ = +13.0 (*c* = 1.0, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 314 (6279), 263 (14942). FT-IR (ATR): 2957*w*, 2868*w*, 1681*m*, 1612*m*, 1571*m*, 1478*m*, 1417*w*, 1350*s*, 1251*s*, 1211*m*, 1158*w*, 1082*s*, 969*w*, 901*w*, 873*m*, 831*s*, 777*m*, 707*m*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 9.79 (*s*, CH=O); 8.80 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HN–C(4)); 7.92 (*d*, *J* = 7.1 H–C(5), 2 ar. H); 7.64 (*t*, *J* = 7.4,

1 ar. H); 7.53 (*t*, J = 7.5, 2 ar. H); 6.54 (*d*, J = 2.0, H–C(1')); 5.19 (*dd*, J = 6.6, 2.1, H–C(2')); 4.88 (*dd*, J = 6.6, 4.1, H–C(3')); 4.22 (*q*, $J \approx 4.2$, H–C(4')); 3.86 (*dd*, J = 10.9, 4.9, H_a–C(5')); 3.79 (*dd*, J = 10.9, 6.2, H_b–C(5')); 1.62 (*sept.*, $J \approx 6.9$, Me_2CH); 1.57, 1.35 (2*s*, Me_2CO_2); 0.86 (*d*, J = 6.9, Me_2CH); 0.83 (*s*, Me_2CSi); 0.09, 0.08 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 184.46 (*d*, CH=O); 162.42 (*s*, HNC=O); 150.46 (*s*, C(6)); 133.55 (*d*, 1 ar. C); 132.44 (*s*, 1 ar. C); 129.04 (*d*, 4 ar. C); 127.69 (*d*, C(5)); 113.99 (*s*, Me_2CO_2); 92.08 (*d*, C(1')); 89.03 (*d*, C(4')); 84.45 (*d*, C(2')); 81.78 (*d*, C(3')); 63.27 (*t*, C(5')); 33.94 (*d*, Me_2CH); 27.06, 25.23 (2*q*, Me_2CO_2); 25.20 (*s*, Me_2CSi); 20.23, 20.18 (2*q*, Me_2CSi); 18.37, 18.34 (2*q*, Me_2CH); –3.45, –3.48 (2*q*, Me_2Si); Signale von C(2) und C(4) im Untergrund. HR-MALDI-MS (3-HPA): 559.2649 (36); 558.2621 (100, $[M + H]^+$, $C_{28}H_{40}N_3O_7Si^+$; ber. 558.2630).

N^4-*Benzoyl*-5'-*desoxy*-5'-*jodo*-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**33**).

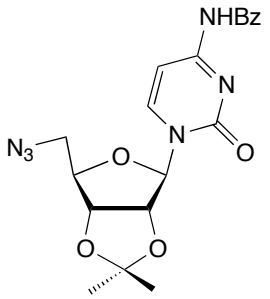


Eine Lösung aus **30** (7.75 g, 20.0 mmol) in DMF (170 ml) wurde mit Methyltriphenoxyphosphonium-jodid (18.09 g, 40.0 mmol) versetzt. Die dunkelrote Lsg. wurde 2 h bei 25° gerührt, mit MeOH (5 ml) versetzt und eingedampft. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 aufgenommen, mit 10% aq. $Na_2S_2O_3$-Lsg. (2×), H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. Eine Suspension des wachsartigen Rückstands in Et_2O wurde 2 h gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und getrocknet, um 6.7 g **33** zu geben. Eindampfen des Filtrats

und FC (CH_2Cl_2/MeOH 98:2), gaben weitere 2.8 g **33** (Gesamtausbeute: 96%). Gelbfarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 96:4) 0.45. Smp. 193.0° (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = +1.0$ ($c = 1.1$, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 308 (6098), 262 (19045). FT-IR (ATR): 2989*w*, 1666*s*, 1624*m*, 1554*m*, 1477*s*, 1399*w*, 1374*m*, 1322*s*, 1255*s*, 1210*s*, 1189*w*, 1157*m*, 1060*s*, 1026*m*, 970*w*, 934*m*, 898*m*, 872*m*, 787*m*, 750*s,* 704*s*, 688*s*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.84 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HN–C(4)); 7.87–7.90 (*d, J* = 7.5, H–C(6), darunter 1 ar. H); 7.81 (*d*, *J* = 7.5 H–C(5)); 7.62 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 1 ar. H); 7.52 (*d, J* = 7.5, 2 ar. H); 7.50 (*d, J* = 7.5, 1 ar. H); 5.69 (*d*, *J* = 1.4, H–C(1')); 5.15 (*dd*, *J* = 6.5, 1.5, H–C(2')); 4.91 (*dd*, *J* = 6.5, 3.7, H–C(3')); 4.36 (*ddd*, *J* = 7.2, 5.7, 3.7, H–C(4')); 3.57 (*dd*, *J* = 10.1, 7.3, H_a–C(5')); 3.38 (*dd*, *J* = 10.2, 5.7, H_b–C(5')); 1.57, 1.36 (2*s*, Me_2CO_2). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 166.56 (*s*, C(4)); 162.95 (*s*, NC=O); 154.31 (*s*, C(2)); 147.36 (*d*, C(6)); 133.24 (*s*, 1 ar. C); 132.75 (*d*, 1 ar. C); 128.97 (*d*, 4 ar. C); 127.49 (*d*, C(5)); 114.23 (*s*, Me_2CO_2); 97.05 (*d*, C(1')); 88.41 (*d*, C(4')); 84.95 (*d*, C(2')); 84.32 (*d*, C(3')); 26.90, 25.13 (2*q*, Me_2CO_2); 5.76 (*t*, C(5')). HR-MALDI-MS (3-HPA): 498.0530 (100, $[M + H]^+$, $C_{19}H_{21}IN_3O_5^+$; ber. 498.0520).

5'-*Azido*-N^4-*benzoyl*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**34**).



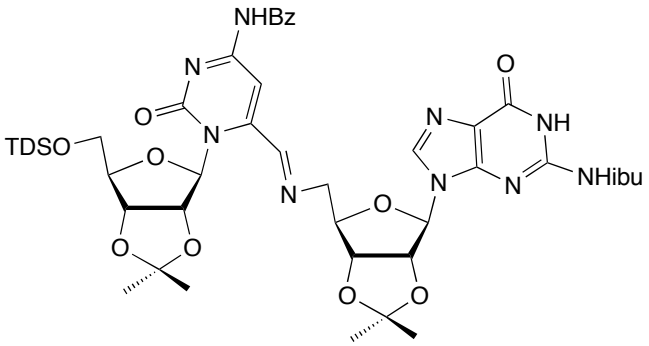
Eine Lsg. aus **33** (4.97 g, 10.0 mmol) und LiN_3 (4.89 g, 100 mmol) in DMF (40 ml) wurde 20 h bei 28° gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde in Et_2O

aufgenommen und auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen. Die wässrige Phase wurde mit Et_2O (4×) extrahiert und die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (5×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen und getrocknet ($MgSO_4$). Eindampfen ergab **34** (3.73 g, 90%). Weisse Nadeln.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 96:4) 0.28. Smp. 170.4°. $[\alpha]_D^{25}$ = +39.0 (c = 0.72, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 307 (7496), 262 (19287). FT-IR (ATR): 2989*w*, 2937*w*, 2099*m*, 1663*s*, 1624*s*, 1552*m*, 1477*s*, 1401*w*, 1383*m*, 1323*s*, 1251*s*, 1211*s*, 1157*m*, 1091*s*, 1063*s*, 1027*m*, 898*m*, 872*m*, 787*m*, 757*s*, 704*s*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.80 (br. *s*, Austausch mit D_2O, HN–C(4)); 7.87–7.90 (*d, J* = 7.2, H–C(6), darunter 1 ar. H); 7.77 (*d*, *J* = 7.5 H–C(5)); 7.48–7.61 (*m,* 4 ar. H); 5.69 (*d*, *J* = 1.5, H–C(1')); 5.11 (*dd*, *J* = 6.4, 1.5, H–C(2')); 4.88 (*dd*, *J* = 6.4, 4.0, H–C(3')); 4.32 (*td*, *J* = 6.7, 4.3, H–C(4')); 3.73 (*dd*, *J* = 12.8, 6.7, H_a–C(5')); 3.62 (*dd*, *J* = 12.8, 4.5, H_b–C(5')); 1.57, 1.35 (2*s*, Me_2CO_2). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 166.42 (*s*, C(4)); 162.89 (*s*, NC=O); 154.31 (*s*, C(2)); 147.02 (*d*, C(6)); 133.22 (*s*, 1 ar. C); 132.76 (*d*, 1 ar. C); 128.96 (*d*, 4 ar. C); 127.48 (*d*, C(5)); 114.27 (*s*, Me_2CO_2); 97.10 (*d*, C(1')); 87.12 (*d*, C(4')); 84.77 (*d*, C(2')); 81.93 (*d*, C(3')); 52.43 (*t*, C(5'); 26.97, 25.13 (2*q*, Me_2CO_2). HR-MALDI-MS (3-HPA): 413.1561 (100, $[M + H]^+$, $C_{19}H_{21}N_6O_5Si^+$; ber. 413.1568).

5.1.3 Synthese der Dinukleoside

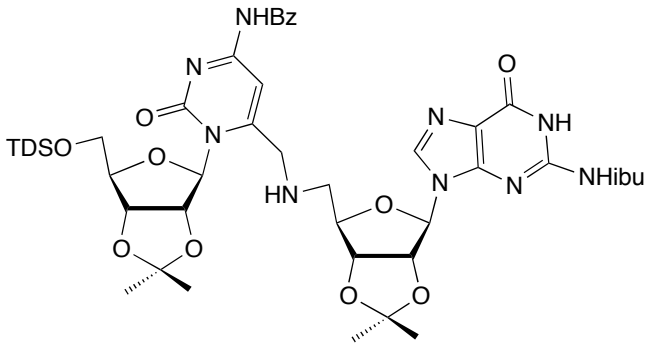
N^4-*Benzoyl*-5'-O-[*dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidencytidin*-6-*methylen*-(6^1→5'-N)-5'-*desoxy*-N^2-5'-*imino-isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**41**).



Eine Lsg. aus **23** (1.26 g, 3 mmol) in THF (10 ml) wurde mit einer 1 M Lsg. aus Me_3P in THF (3.3 ml) versetzt, 2 h bei 25° gerührt, mit einer Lsg. aus **32** (1.67 g, 3 mmol) in THF (6 ml) versetzt und 4 Tage gerührt. Die Lsg. wurde eingedampft. Eine Lsg. des Rückstandes in CH_2Cl_2 wurde mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft um **41** (2.18 g, 78%) als Rohprodukt zu ergeben.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.38. HR-MALDI-MS (3-HPA): 954.4100 (80, [M + Na]$^+$,$C_{45}H_{61}N_9NaO_{11}Si^+$; ber. 954.4158), 932.4315 (100, [M + H]$^+$, $C_{45}H_{62}N_9O_{11}Si^+$; ber. 932.4338).

N^4-*Benzoyl*-5'-O-[*dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidencytidin*-6-*methyl*-(6^1→5'-N)-5'-*amino*-5'-*desoxy*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**44**).

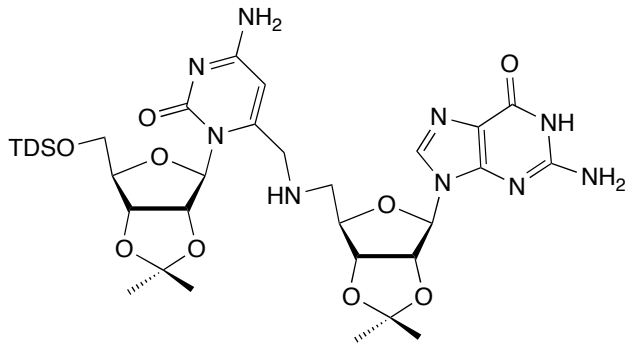


Eine Lsg. aus $NaCNBH_3$ (75 mg, 1.2 mmol) in *i*PrOH (2 ml) wurde mit AcOH (55 μl) und tropfenweise mit einer Lsg. aus **41** (230 mg, 0.24 mmol) in MeOH (3 ml) versetzt. Nach 30 min. wurde die Lsg. auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen, und mit AcOEt extrahiert. Die org. Phase wurde mit H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **44** (202 mg, 90%). Orangefarbenes Glas.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.41. Smp. 142° (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = -10.4$ ($c = 0.55$, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 261 (11744). IR (ATR): 3737*w*, 3628*w*, 2958w, 2870*w*, 1676*s*, 1606*m*, 1563*m*, 1473*m*, 1357*m*, 1251*m*, 1212*m*, 1156*m*, 1074*s*, 829*m*, 750*s*, 703*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.15 (*s*, H–N(1/I)); 9.10 (br. *s*, HN–C(2/I), HN–C(4/II)); 7.90 (*d*, *J* = 7.2, 2 ar. H); 7.81 (*s*, H–C(8/I)); 7.59 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 7.49 (*t*, *J* = 7.2, 2 ar. H, darunter H–C(5/II)); 6.15 (*s*, H–C(1'/II)); 5.94 (*d*, *J* = 2.9, H–C(1'/I)); 5.37 (*d*, *J* = 6.4, H–C(2'/II)); 5.26 (*dd*, *J* = 6.5, 2.9, H–C(2'/I)); 5.17 (*dd*, *J* = 6.5, 4.4, H–C(3'/I)); 4.95 (*dd*, *J* = 6.3, 4.0, H–C(3'/II)); 4.30 (*q*, $J \approx 4.3$, H–C(4'/I)); 4.21 (*ddd*, *J* = 7.2, 5.6, 4.0, H–C(4'/II)); 3.87 (*dd*, *J* = 10.4, 5.6, H_a–C(5'/II)); 3.82 (*d*, *J* = 12.8, CH_2–C(6/II)); 3.80 (*dd*, *J* = 10.4, 7.2, H_b–C(5'/II)); 3.11 (*dd*, *J* = 12.7, 4.2, H_a–C(5'/I)); 2.88 (*dd*, *J* = 12.7, 4.5, H_b–

C(5'/I)); 2.61 (*sept.*, J = 6.8, Me_2CHC=O); 1.96 (br. *s*, HN–C(5'/I)); 1.61 (*sept.*, J = 6.4, Me_2CHCMe_2Si); 1.59, 1.55, 1.37, 1.35 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 1.22, 1.20 (2*d*, J = 6.8, Me_2CHC=O); 0.84 (*d*, J = 6.8, Me_2CHCMe_2Si); 0.82, 0.81 (2*s*, Me_2CSi); 0.06, 0.04 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 178.22 (*s*, NC=O/I); 155.72 (*s*, C(6/I)); 155.70 (*s*, C(2/II)); 148.07 (*s*, C(2/I)); 147.66 (*s*, C(4/I)); 137.56 (*d*, C(8/I)); 133.34 (*d*, 1 ar. C/II); 129.02 (*d*, C(5/II), 2 ar. C/II); 127.77 (*d*, 2 ar. C/II); 121.86 (*s*, C(5/I)); 114.90, 113.39 (2*s*, 2 Me_2CO_2); 92.20 (*d*, C(1'/II)); 90.42 (*d*, C(4'/II)); 89.04 (*d*, C(1'/I)); 85.09 (*d*, C(4'/I)); 84.20 (*d*, C(2'/I)); 83.82 (*d*, C(2'/II)); 83.06 (*d*, C(3'/II)); 81.83 (*d*, C(3'/I)); 64.06 (*t*, C(5'/II)); 50.72 (*t*, CH_2–C(6/II)); 50.08 (*t*, C(5'/I)); 36.37 (*d*, Me_2CHC=O); 34.12 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.38, 27.22, 25.58, 25.42 (4*q*, 2 Me_2CO_2); 25.27 (*s*, Me_2CSi); 20.37, 20.33 (2*q*, Me_2CSi); 19.02, 19.00 (2*q*, Me_2CHC=O); 18.50, 18.47 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.25, –3.28 (2*q*, Me_2Si); Signale von C(4/II), C(6/II), NC=O/II und einem ar. C im Untergrund. HR-MALDI-MS (3-HPA): 956.4291 (100, $[M + Na]^+$, $C_{45}H_{63}N_9NaO_{11}Si^+$; ber. 956.4314), 934.4479 (40, $[M + H]^+$, $C_{45}H_{64}N_9O_{11}Si^+$; ber. 934.4495). Anal. ber. für $C_{26}H_{41}N_5O_7Si$: C 55.40, H 7.33, N 12.42; gef.: C 54.31, H 7.19, N 12.68.

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidencytidin*-6-*methyl*-(6^1→5'-N)-5'-*amino*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**15**).

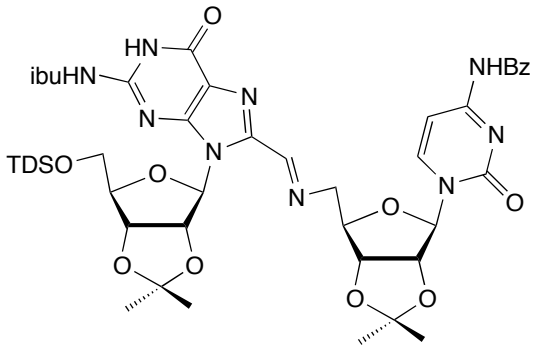


Eine Lsg. aus **44** (108 mg, 0.11 mmol) in NH_3/MeOH (1 ml, ges. bei 6°) wurde 20 h in einem Druckgefäss bei 25° gerührt. Eindampfen und FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 90:5:5) ergab **15** (65 mg, 78%). Orangefarbener Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 9:1) 0.39. Smp. 190° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = +76.1 (*c* = 0.15, $CHCl_3$/MeOH 4:1). UV ($CHCl_3$): 256 (14676). IR (ATR): 3325*w*, 3146*w*, 2957*w*, 2861*w*, 1686*m*, 1652*s*, 1526*m*, 1488*w*, 1381*m*, 1251*m*, 1212*m*, 1158*m*, 1075*s*, 830*m*, 779*m*. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): 13.91 (*s*, HN–(1/I)); 8.98 (*s*, HN–C(2/I)); 7.87 (*s*, H–N(4/II)); 7.40 (*s*, H–C(8/I)); 6.49 (br. *s*, H–C(1'/II)); 5.90 (br. *s*, H–C(1'/I)); 5.87 (*s*, H–C(5/II)); 5.66 (br. *d*, *J* = 4.9, H–C(2'/II)); 5.54 (br. *s*, H–C(2'/I)); 5.50 (br. *t*, *J* = 5.1, H–C(3'/I)); 4.79 (*dd*, *J* = 6.3, 2.4, H–C(3'/II)); 4.28–4.24 (br. *s*, H–C(4'/I)); 4.22 (*td*, *J* = 7.2, 2.7, H–C(4'/II)); 3.78 (*dd*, *J* = 10.4, 7.2, H_a–C(5'/II)); 3.73 (*dd*, *J* = 10.4, 6.4, H_b–C(5'/II)); 3.63 (*d*, *J* = 11.8, H_a–C(5'/I)); 3.37 (*d*, *J* = 12.0, H_b–C(5'/I)); 3.15 (*d*, *J* = 13.2, CH_a–C(6/II)); 2.94 (*d*, *J* = 13.6 CH_b–C(6/II)); 1.99 (*s*, HN–C(5'/I)); 1.60 (*sept.*, *J* = 7.2, Me_2CH); 1.65, 1.64, 1.48, 1.53 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 0.85 (*d*, *J* = 7.2, Me_2CH); 0.82 (2*s*, Me_2CSi); 0.04, 0.02 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$): 165.90 (*s*, C(4/II)); 159.73 (*s*, C(6/I)); 154.20 (*s*, C(2/I)); 153.62 (*s*, C(4/I)); 150.86 (*s*, C(6/II)); 136.50 (*d*, C(8/I)); 117.94 (*s*, C(5/I)); 114.10, 112.90 (2*s*, 2 Me_2CO_2); 98.30 (*d*, C(5/II)); 92.49 (*d*, C(1'/II));

89.02 (*d*, C(1'/I)); 88.80 (*d*, C(4'/II)); 86.34 (*d*, C(4'/I)); 84.32 (*d*, C(2'/I)); 83.34 (*d*, C(3'/II)); 82.91 (*d*, C(2'/II)); 80.01 (*d*, C(3'/I)); 64.07 (*t*, C(5'/II)); 52.89 (*t*, C(5'/I)); 49.99 (*t*, CH_2–C(6/II)); 34.09 (*d*, Me_2*C*H); 27.66, 27.16, 25.78, 25.21 (4*q*, 2 *Me*$_2$$CO_2$); 25.96 (*s*, Me_2*C*Si); 20.36, 20.23 (2*q*, *Me*$_2$CSi); 18.51, 18.45 (2*q*, *Me*$_2$CHC); –3.24, –3.29 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 782.3650 (60, [*M* + Na]$^+$, $C_{34}H_{53}N_9NaO_9Si^+$; ber. 782.3633), 760.3822 (100, [*M* + H]$^+$, $C_{34}H_{54}N_9O_9Si^+$; ber. 760.3814).

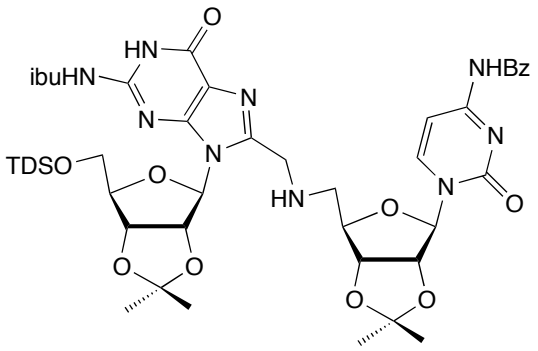
5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden-guanosin*-8-*methylen*-(8^1→5'-N)-N^4-*benzoyl*-5'-*desoxy*-5'-*imino*-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**42**).



Eine Lsg. aus **34** (1.24 g, 3 mmol) in THF (20 ml) wurde mit einer 1 M Lsg. aus Me_3P in THF (3.3 ml) versetzt, 2 h bei 25° gerührt, mit einer Lsg. aus **26** (1.69 g, 3 mmol) in THF (10 ml) versetzt und 4 Tage gerührt. Die Lsg. wurde eingedampft. Eine Lösung des Rückstands in CH_2Cl_2 wurde mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft, um **42** (2.35 g, 84%) als Rohprodukt zu ergeben.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.30. HR-MALDI-MS (3-HPA): 932.4318 (100, [*M* + H]$^+$, $C_{45}H_{62}N_9O_{11}Si^+$; ber. 932.4338).

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden-guanosin*-8-*methyl*-(8^1→5'-N)-5'-*amino*-N^4-*benzoyl*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropyl-idencytidin* (**45**).

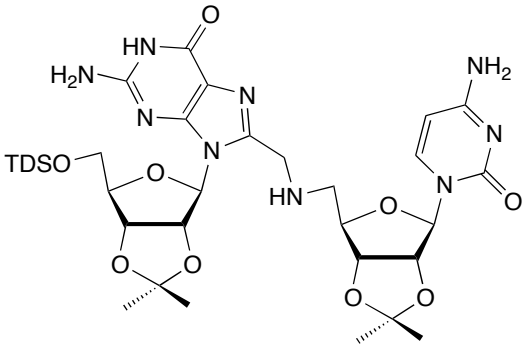


Eine Lsg. aus $NaCNBH_3$ (40 mg, 0.64 mmol) in *i*PrOH (2 ml) wurde mit AcOH (37 μl) und tropfenweise mit einer Lsg. aus **42** (150 mg, 0.16 mmol) in MeOH (3 ml) versetzt. Nach 30 min. wurde die Lsg. auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen und mit AcOEt extrahiert. Die org. Phase wurde mit H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **45** (130 mg, 87%). Gelbfarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.33. Smp. 175°. $[\alpha]_D^{25}$ = +9.2 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 297 (sh, 19519), 261 (39750). IR (ATR): 3170*w*, 2957*w*, 2870*w*, 1690*m*, 1605*w*, 1559*m*, 1482*m*, 1428*w*, 1375*w*, 1313*w*, 1253*m*, 1214*s*, 1156*m*, 1082*m*, 831*m*. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 12.38 (*s*, HN–C(4/I)); 9.60 (*s*, H–N(1/II)); 8.00 (*d*, *J* = 7.6, H–C(6/I)); 7.95 (*d*, *J* = 7.2, H–C(5/I), darunter 2 ar. H); 7.56–7.44 (*m*, 3 arom. H); 6.18 (*d*, *J* = 2.2, H–C(1'/II)); 5.85 (*d*, *J* = 2.1, H–C(1'/I)); 5.57 (*dd*, *J* = 6.4, 2.2, H–C(2'/II)); 5.15 (*dd*, *J* = 6.4, 3.8, H–C(3'/II)); 4.92 (*dd*, *J* = 6.4, 2.2, H–C(2'/I)); 4.73 (*dd*, *J* = 6.4, 3.9, H–C(3'/I)); 4.35 (*dt*, *J* = 6.8, 4.1, H–C(4'/I)); 4.17 (*td*, *J* = 6.0, 4.0, H–C(4'/II)); 4.10, 4.04 (2*d*, *J* = 14.8, CH_2–C(8/II)); 3.69 (*d*, *J* = 5.9, H–C(5'/II)); 3.01 (*dd*, *J* = 12.7, 4.4, H_a–C(5'/I)); 2.93 (*dd*, *J* = 12.8, 7.2, H_b–C(5'/I)); 2.71 (*sept.*, *J* = 6.8, Me_2C*H*C=O); 1.56 (*sept.*, *J* =

6.9, Me_2CHCMe_2Si); 1.58, 1.56, 1.36, 1.35 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 1.24, 1.22 (2*d*, $J \approx$ 6.4, $Me_2CHC{=}O$); 0.80 (*d*, J = 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 0.76 (*s*, Me_2CSi); –0.02 (*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$): 177.19 (*s*, NC=O/II); 167.17 (*s*, C(4/I)); 163.48 (*s*, NC=O/I); 156.58 (*s*, C(6/II)); 155.41 (*s*, C(2/I)); 149.30 (*s*, C(4/II)); 148.86 (*s*, C(2/II)); 146.72 (*s*, C(8/II)); 145.66 (*d*, C(6/I)); 133.11 (*d*, 1 ar. C/I); 132.91 (*s*, 1 ar. C/I); 128.79 (*d*, 4 ar. C/I); 128.20 (*d*, C(5/I)); 120.07 (*s*, C(5/II)); 114.29, 114.00 (2*s*, 2 Me_2CO_2); 94.59 (*d*, C(1'/I)); 89.44 (*d*, C(1'/II)); 87.56 (*d*, C(4'/I)); 86.57 (*d*, C(4'/II)); 85.22 (*d*, C(2'/I)); 83.35 (*d*, C(2'/II)); 81.82 (*d*, C(3'/I)); 81.54 (*d*, C(3'/II)); 63.24 (*t*, C(5'/II)); 50.82 (*t*, C(5'/I)); 46.51 (*t*, CH_2–C(8/II)); 36.27 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 34.07 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.24, 27.20, 25.48, 25.43 (4*q*, 2 Me_2CO_2); 25.27 (*s*, Me_2CSi); 20.33, 20.27 (2*q*, Me_2CSi); 19.23, 19.08 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$); 18.47, 18.43 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.40, –3.42 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 956.4286 (50, $[M + Na]^+$, $C_{45}H_{63}N_9NaO_{11}Si^+$; ber. 956.4314), 934.4491 (100, $[M + H]^+$, $C_{45}H_{64}N_9O_{11}Si^+$; ber. 934.4495). Anal. ber. für $C_{45}H_{63}N_9O_{11}Si$: C 57.86, H 6.80, N 13.49; gef.: C 57.65, H 6.80, N 13.08.

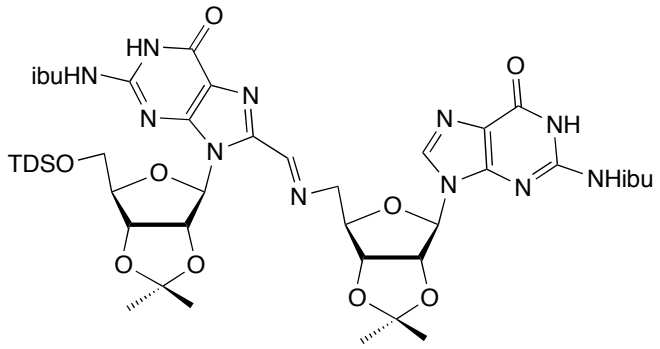
5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidenguanosin*-8-*methyl*-(8^1→5'-N)-5'-*amino*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**16**).



Eine Lsg. aus **45** (67 mg, 0.07 mmol) in NH_3/MeOH (1 ml, ges. bei 6°) wurde 20 h bei 25° in einem Druckgefäss gerührt. Die Lsg. wurde eingedampft und FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 90:5:5) ergab **16** (40 mg, 75%). Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 9:1) 0.39. Smp. 192° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = +5.9 (c = 0.25, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 258 (25866). IR (ATR): 3310*w*, 3151*w*, 2924*m*, 2854*m*, 1715*m*, 1654*s*, 1621*m*, 1510*m*, 1464*w*, 1380*m*, 1300*w*, 1252*m*, 1210*m*, 1158*m*, 1064*s*, 1082*m*, 830*m*, 779*m*. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$, die Zuordnung basiert auf DQFCOSY, HSQC, und HMBC Spektren): 13.18 (*s*, HN–C(1/II)); 13.06 (*s*, H–N(4/I)); 9.50 (*s*, HN–C(2/II)); 9.18 (*s*, HN–C(4/I)); 8.17 (*s*, HN–C(2/II)); 6.99 (*d*, J = 6.1, H–C(6/I)); 6.47 (br. *s*, H–C(2'/II)); 6.33 (br. *s*, H–C(1'/II)); 5.73 (*d*, J = 5.8, H–C(5/I)); 5.36 (br. *t*, $J \approx$ 5.1, H–C(3'/I)); 5.28 (*d*, J = 5.9, H–C(2'/I)); 5.26 (*br. s*, H–C(1'/I)); 5.00 (br. *d*, J = 4.7, H–C(3'/II)); 4.32 (br. *t*, J = 6.5, H–C(4'/II)); 4.24–4.22 (br. *s*, H–C(4'/I)); 3.94, 3.74 (2 br. *d*, J = 12.3, CH_2–C(8/II)); 3.63 (br. *d*, J = 5.1, H–C(5'/II)); 3.36 (*d*, J = 11.8, H_a–C(5'/I)); 2.93 (*d*, J = 11.9, H_b–C(5'/I)); 1.56 (*sept.*, J = 7.0, Me_2CHCMe_2Si); 1.72, 1.61, 1.60, 1.56 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 0.84 (*d*, J = 6.6, Me_2CH); 0.79 (*s*, Me_2CSi); –0.03, –0.05 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): 166.08 (*s*, C(4/I)); 156.85 (*s*, C(2/I)); 156.58 (*s*, C(6/II)); 153.26 (*s*, C(2/II)); 150.83 (*s*, C(4/II)); 146.26 (*s*, C(8/II)); 144.32 (*d*, C(6/I)); 116.35 (*s*, C(5/II)); 113.70, 113.58 (2*s*, 2 Me_2CO_2); 97.84 (*d*, C(1'/I)); 96.43 (*d*, C(5/I)); 90.13 (*d*, C(1'/II)); 87.65 (*d*, C(4'/I)); 86.82 (*d*, C(4'/II)); 85.66 (*d*, C(2'/I)); 82.89 (*d*, C(3'/II)); 80.85 (*d*, C(2'/II)); 79.84 (*d*, C(3'/I)); 63.31 (*t*, C(5'/II)); 51.69 (*t*, C(5'/I)); 49.31 (*t*, CH_2–C(8/II)); 34.06 (*d*, Me_2CH); 27.88, 27.55, 25.82, 25.14 (4*q*, 2 Me_2CO_2); 26.76 (*s*, Me_2CSi); 20.27, 20.22 (2*q*, Me_2CSi); 18.50, 18.46 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.41, –3.44 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 782.3623 (70, $[M + Na]^+$, $C_{34}H_{53}N_9NaO_9Si^+$; ber. 782.3633), 760.3801 (100, $[M + H]^+$, $C_{34}H_{54}N_9O_9Si^+$; ber. 760.3814).

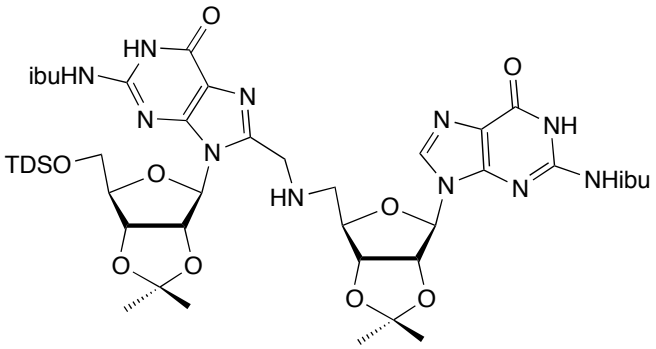
5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden-guanosin*-8-*methylen*-(8^1→5'-N)-5'-desoxy-5'-*imino*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*iso-propylidenguanosin* (**43**).



Eine Lsg. aus **23** (1.26 g, 3 mmol) in THF (10 ml) wurde mit einer 1 M Lsg. aus Me_3P in THF (3.3 ml) versetzt, 2 h bei 25° gerührt, mit einer Lsg. von **26** (1.69 g, 3 mmol) in THF (10 ml) versetzt, und 4 Tage gerührt. Die Lsg. wurde eingedampft. Eine Lösung des Rückstandes in CH_2Cl_2 wurde mit H_2O (3×) und ges. NaCl Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft um **43** (2.24 g, 80%) als Rohprodukt zu ergeben.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.38. HR-MALDI-MS (3-HPA): 938.4567 (100, [M + H]$^+$, $C_{43}H_{63}N_{11}O_{11}Si^+$; ber. 938.4556).

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden-guanosin*-8-*methyl*-(8^1→5'-N)-5'-*amino*-5'-*desoxy*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**46**).

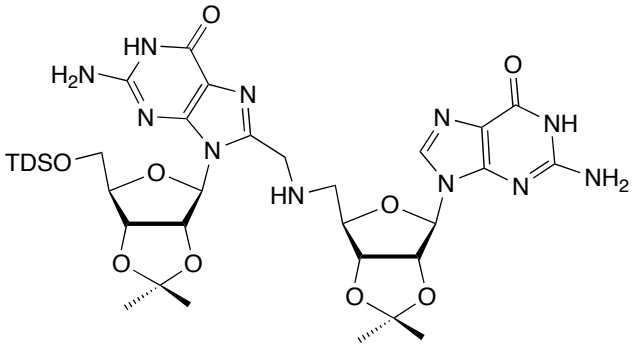


Eine Lsg. aus $NaCNBH_3$ (37.7 mg, 0.6 mmol) in *i*PrOH (2.5 ml) wurde mit AcOH (2.5 ml) und tropfenweise mit einer Suspension aus **43** (375.2 mg, 0.4 mmol) in *i*PrOH (13 ml) und MeOH (2 ml) versetzt. Nach 2 h wurde die Lsg. auf eine 1 M NaOH Lsg. gegossen und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die org. Phase wurde mit ges. $NaHCO_3$-Lsg. (2×), H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 94:2:4) ergab **46** (330 mg, 88%). Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.33. Smp. 263° (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = -102.7$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 286 (24885), 257 (31500). IR (ATR): 3190*w*, 3018*w*, 2973*w*, 1682*m*, 1606*m*, 1559*m*, 1466*w*, 1419*w*, 1375*w*, 1250*m*, 1214*s*, 1193*m*, 1157*m*, 1073*m*, 1033*w*, 948*w*, 874*w*, 830*m*. ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$/CD_3OD 99:1): 7.71 (*s,* H–C(8/I)); 6.17 (*d*, *J* = 2.0, H–C(1'/II)); 5.83 (*d*, *J* = 2.4, H–C(1'/I)); 5.50 (*dd*, *J* = 6.2, 1.9, H–C(2'/II)); 5.12 (*dd*, *J* = 6.4, 2.4, H–C(2'/I)); 5.09 (*dd*, *J* = 6.2, 3.6, H–C(3'/II)); 4.70 (*dd*, *J* = 6.4, 3.7, H–C(3'/I)); 4.22 (*q*, *J* ≈ 4.7, H–C(4'/II)); 4.17 (*td*, *J* = 5.9, 3.6, H–C(4'/I)); 4.11, 3.94 (2*d*, *J* =14.8, CH_2–C(8/II)); 3.68 (*dd*, *J* = 10.5, 5.7, H_a–C(5'/II)); 3.65 (*dd*, *J* = 10.5, 5.2, H_b–C(5'/II)); 3.01 (*dd*, *J* = 13.0, 6.0, H_a–C(5'/I)); 2.97 (*dd*, *J* = 13.0, 5.5, H_b–C(5'/I)); 2.87 (*sept.*, *J*

= 6.9, Me_2CHC=O/II); 2.69 (*sept.*, J = 6.9, Me_2CHC=O/I); 1.55 (*sept.*, J = 6.8, Me_2CHCMe_2Si); 1.57, 1.56, 1.39, 1.26 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 1.26 (*d*, $J \approx 6.6$, 9 H), 1.22 (*d*, J = 7.2, 3 H), (Me_2CHC=O/I, Me_2CHC=O/II); 0.81 (*d*, J = 6.6, Me_2CHCMe_2Si); 0.78 (*s*, Me_2CSi); 0.04, 0.01 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3/CD_3OD$ 99:1): 180.46 (*s*, NC=O/I); 179.82 (*s*, NC=O/II); 155.88 (*s*, C(6/II)); 155.42 (*s*, C(6/I)); 149.46 (*s*, C(4/II)); 149.03 (*s*, C(2/II)); 148.51 (*s*, C(2/I)); 147.91 (*s*, C(4/I), C(8/II)); 138.61 (*d*, C(8/I)); 121.85 (*d*, C(5/II)); 119.56 (*s*, C(5/I)); 114.44, 114.14 (2*s*, 2 Me_2CO_2); 90.72 (*d*, C(1'/II)); 89.95 (*d*, C(1'/I)); 87.43 (*d*, C(4'/I)); 86.59 (*d*, C(4'/II)); 84.32 (*d*, C(2'/II)); 83.76 (*d*, C(2'/I)); 82.04 (*d*, C(3'/I)); 81.71 (*d*, C(3'/II)); 63.14 (*t*, C(5'/II)); 50.23 (*t*, C(5'/I)); 46.73 (*t*, CH_2–C(8/II)); 36.12, 35.91 (2*d*, 2 Me_2CHC=O); 34.08 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.31, 27.18, 25.55, 25.12 (4*q*, 2 Me_2CO_2); 25.41 (*s*, Me_2CSi); 20.29, 20.23 (2*q*, Me_2CSi); 19.24, 19.07, 19.00, 18.91 (4*q*, 2 Me_2CHC=O); 18.47, 18.44 (2*q*, Me_2CHC=O/I, Me_2CHC=O/II); –3.27, –3.45 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 962.4508 (100, $[M + Na]^+$, $C_{43}H_{65}N_{11}NaO_{11}Si^+$; ber. 962.4532). Anal. ber. für $C_{43}H_{65}N_{11}O_{11}Si$: C 54.94, H 6.97, N 16.39; gef.: C 55.02, H 7.10, N 16.10.

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidenguanosin*-8-*methyl*-(8[1]→5'-N)-5'-*amino*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**17**).



Eine Lsg. aus **46** (112 mg, 0.12 mmol) in MeOH (2.5 ml) wurde mit NaOMe (67 mg, 1.2 mmol) versetzt und 14 h bei 25° gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 aufgenommen und mit Pentan versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Pentan gewaschen, um **17** (80 mg, 83%) zu ergeben. Eine analytische Probe wurde durch FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 90:3:7) erhalten. Weisser Feststoff.

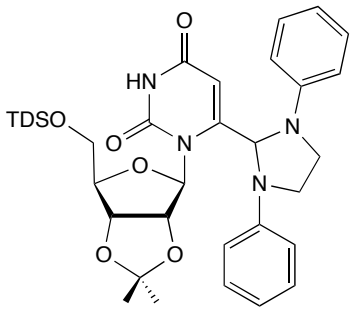
R_f (CH_2Cl_2/MeOH 9:1) 0.21. Smp. 209° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$ = +107.3 (*c* = 0.5, MeOH). UV ($CHCl_3$): 287 (sh, 10817), 257 (20871). IR (ATR): 3280*w*, 3140*w*, 2956*w*, 1677*s*, 1602*m*, 1532*w*, 1483*w*, 1372*m*, 1252*w*, 1212*m*, 1184*w*, 1156*w*, 1069*s*, 898*w*, 827*m*. ^{1}H-NMR (500 MHz, (D6)DMSO) 10.77 (*s*, H–N(1/II)); 10.71 (*s*, H–N(1/I)); 7.85 (*s*, H–C(8/I)); 6.64 (*s*, H_2N–C(2/II)); 6.60 (*s*, H_2N–C(2/I)); 6.31 (*d*, *J* = 0.9, H–C(1'/II)); 5.87 (*d*, *J* = 3.2, H–C(1'/I)); 5.52 (*dd*, *J* = 6.2, 1.3, H–C(2'/II)); 5.15 (*dd*, *J* = 6.3, 3.3, H–C(2'/I)); 5.11 (*dd*, *J* = 6.2, 3.7, H–C(3'/II)); 4.84 (*dd*, *J* = 6.2, 3.1, H–C(3'/I)); 4.13 (*q*, *J* ≈ 4.4, H–C(4'/I)); 4.03 (*ddd*, *J* = 6.8, 5.6, 3.6, H–C(4'/II)); 3.90, 3.79 (2*d*, *J* = 14.2, CH_2–C(8/II)); 3.64 (*dd*, *J* = 11.0, 7.0, H_a–C(5'/II)); 3.62 (*dd*, *J* = 11.0, 5.5, H_b–C(5'/II)); 2.85 (*dd*, *J* = 12.0 , 5.4, H_a–C(5'/I)); 2.77 (*dd*, *J* = 12.3, 5.1, H_b–C(5'/I)); 1.49 (*sept.*, *J* = 7.0, Me_2CH); 1.50, 1.49, 1.30, 1.27 (4*s*, 2 Me_2CO_2); 0.78 (*d*, *J* = 7.0), 0.77

(*d*, *J* = 6.5, *Me*$_2$CH); 0.72, 0.71 (2*s*, Me$_2$CSi); –0.09, –0.11 (2*s*, Me$_2$Si). ^{13}C-NMR (126 MHz, (D6)DMSO): 156.55 (*s*, C(6/II)); 156.30 (*s*, C(6/I)); 153.63 (*s*, C(2/II)); 153.27 (*s*, C(2/I)); 151.28 (*s*, C(4/II)); 150.54 (2*s*, C(4/I)); 146.00 (*s*, C(8/II)); 136.07 (*d*, C(8/I)); 116.95 (*s*, C(5/I)); 115.10 (*s*, C(5/II)); 113.16, 112.55 (2*s*, 2 Me$_2$*C*O$_2$); 88.20 (*d*, C(1'/I)); 88.10 (*d*, C(1'/II)); 87.98 (*d*, C(4'/I)); 84.49 (*d*, C(4'/II)); 83.15 (*d*, C(2'/II)); 82.81 (*d*, C(2'/I)); 81.77 (*d*, C(3'/I)); 81.37 (*d*, C(3'/II)); 63.45 (*t*, C(5'/II)); 50.07 (*t*, C(5'/I)); 45.85 (*t*, CH$_2$–C(8/II)); 33.54 (*d*, Me$_2$*C*H); 27.00, 26.88, 25.22, 25.09 (4*q*, 2 *Me*$_2$CO$_2$); 24.63 (*s*, Me$_2$*C*Si); 20.09, 20.01 (2*q*, *Me*$_2$CSi); 18.23, 18.15 (2*q*, *Me*$_2$CH); –3.69, –3.70 (2*q*, Me$_2$Si). ^{1}H-NMR (600 MHz, CDCl$_3$): 11.84, 11.69, 11.58, 11.01, 10.49, 9.96, 9.87, 9.39, 7.90, 7.68, 6.49 (11*s* von H–N, mind. zwei verschiedene Strukturen); 7.28 (*s,* H–C(8/I)); 6.22 (br. *s*, H–C(1'/II)); 6.00 (br. *s*, H–C(2'/II)); 5.96 (br. *s*, H–C(2'/I)); 5.71 (*s*, H–C(1'/I)); 5.50 (br. *s*, H–C(3'/I)); 4.89 (br. *d*, *J* = 4.7, H–C(3'/II)); 4.51 (br. *s*, H–C(4'/I)); 4.43 (br. *d*, *J* = 18.1, CH$_2$–C(8/II)); 4.18 (*td*, *J* = 6.4, 2.3, H–C(4'/II)); 3.63 (br. *d*, *J* = 14.9, CH$_2$–C(8/II)); 3.35 (br. *d*, *J* = 9.6, H$_a$–C(5'/I)); 3.23 (br. *d, J* ≈ 13.0, H–C(5'/II)); 3.14 (br. *d*, *J* = 8.3, H$_b$–C(5'/I)); 1.67, 1.60, 1.49, 1.42 (4*s*, 2 Me$_2$CO$_2$); 1.70–1.55 (verdeckt unter den Isopropyliden-Signalen, Me$_2$C*H*); 0.66 (*d*, *J* = 6.8, *Me*$_2$CH); 0.58 (*s*, Me$_2$CSi); –0.31 (*s*, Me$_2$Si). ^{13}C-NMR (150 MHz, CDCl$_3$): 160.75 (*s*, C(6/II)); 160.13 (*s*, C(6/I)); 153.69 (*s*, C(4/II)); 153.14 (*s*, C(2/II)); 152.45 (*s*, C(4/I)); 151.94 (*s*, C(2/I)); 150.38 (*s*, C(8/II)); 138.10 (*d*, C(8/I)); 114.95 (*d*, C(5/II)); 114.65 (*s*, C(5/I)); 113.43, 112.85 (2*s*, 2 Me$_2$*C*O$_2$); 93.22 (*d*, C(1'/I)); 89.67 (*d*, C(1'/II)); 88.70 (*d*, C(4'/II)); 86.59 (*d*, C(4'/I)); 83.71 (*d*, C(3'/I)); 82.27 (*d*, C(3'/II)); 82.18 (*d*, C(2'/II)); 81.92 (*d*, C(2'/I)); 62.81 (*t*, C(5'/II)); 51.24 (*t*, C(5'/I)); 46.39 (*t*, CH$_2$–C(8/II)); 34.07 (*d*, Me$_2$*C*H); 27.50, 26.82, 25.73, 24.79 (4*q*, 2 *Me*$_2$CO$_2$); 25.01 (*s*, Me$_2$*C*Si); 20.17, 20.11 (2*q*, *Me*$_2$CSi); 18.35, 18.30 (2*q*, *Me*$_2$CH); –3.81, –3.89 (2*q*, Me$_2$Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 800.3884 (100, $[M + H]^+$, $C_{35}H_{54}N_{11}O_9Si^+$; ber. 800.3875).

5.2 Bausteine für die Synthese von an C(6)/I bzw. C(8)/I substituierte Dinukleoside

5.2.1 Synthese der Uridin-Mononukleoside

5'-O-[*Dimethyl*-(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-6-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2', 3'-O-*isopropylidenuridin* (**101**).

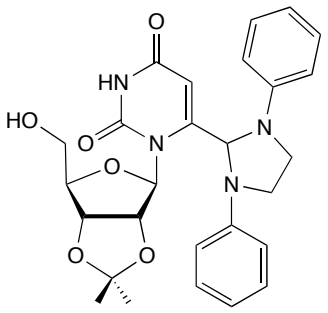


Eine Lsg. aus **100** [4] (2.42 g, 5.3 mmol) in Toluol (56 ml) wurde mit einer Lsg. aus 1,2-Dianilinoethan (4.84 g, 23 mmol) und AcOH (0.67 g, 11 mmol) in Dioxan (27 ml) versetzt. Die Lsg. wurde 60 h bei 130° am Wasserabscheider gekocht, auf 25° gekühlt, mit 0.1 M NaOH Lsg. neutralisiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die org. Phase wurde mit H_2O (2×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt 9:1) ergab **101** (2.60 g, 76%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/AcOEt 9:1) 0.17. $[\alpha]_D^{25}$ = +42.7 (c = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 300 (sh, 2738), 251 (29400). FT-IR (ATR): 3200*w*, 3066*w*, 2957*w*, 2866*w*, 1688*s*, 1598*m*, 1504*m*, 1456*w*, 1364*m*, 1251*m*, 1211*m*, 1158*m*, 1080*s*, 1064*m*, 996*w*, 910*w*, 876*m*, 831*s*, 777*m*, 747*m*, 732*m*, 692*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 8.73 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(3)); 7.28, 7.25 (2*dd*, *J* = 8.6, 7.4, 4 ar. H); 7.02 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.89 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.88 (2*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.66 (2*d*, *J* =

8.7, 2 ar. H); 5.86 (*d*, *J* = 1.6, H–C(1')); 5.85 (*s*, CHN_2); 5.82 (*s*, H–C(5)); 5.29 (*dd*, *J* = 6.7, 1.6, H–C(2')); 4.71 (*dd*, *J* = 6.7, 3.9, H–C(3')); 3.99 (*td*, *J* = 6.4, 4.0, H–C(4')); 3.78 (*d*, *J* = 6.8, H_a–C(5')); 3.77 (*d*, *J* = 6.0, H_b–C(5')); 3.74–3.47 (*m*, NCH_2CH_2N); 1.61 (*sept.*, *J* ≈ 6.8, Me_2CH); 1.25, 1.01 (2*s*, Me_2CO_2); 0.88 (*d*, *J* = 6.8, Me_2CH); 0.85 (2*s*, Me_2CSi); 0.10, 0.09 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 162.74 (*s*, C(4)); 153.32 (*s*, C(2)); 150.95 (*s*, C(6)); 148.35, 145.33 (2*s*, 2 ar. C); 129.80 (*d*, 2 ar. C); 129.62 (*d*, 2 ar. C); 123.31, 119.94 (2*d*, 2 ar. C); 119.88 (*d*, 2 ar. C); 114.53 (*d*, 2 ar. C); 113.52 (*s*, Me_2CO_2); 102.25 (*d*, C(5)); 92.41 (*d*, C(1')); 89.41 (*d*, C(4')); 83.87 (*d*, C(2')); 82.58 (*d*, C(3')); 76.40 (*d*, CHN_2); 64.10 (*t*, C(5')); 51.74, 47.06 (2*t*, NCH_2CH_2N); 34.35 (*d*, Me_2CH); 26.66, 25.97 (2*q*, Me_2CO_2); 25.46 (*s*, Me_2CSi); 20.58, 20.48 (2*q*, Me_2CSi); 18.70, 18.64 (2*q*, Me_2CH); –3.07, –3.15 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 647.3259 (100, [*M* – H^-]$^+$, $C_{35}H_{47}N_4O_6Si^+$; ber. 647.3270).

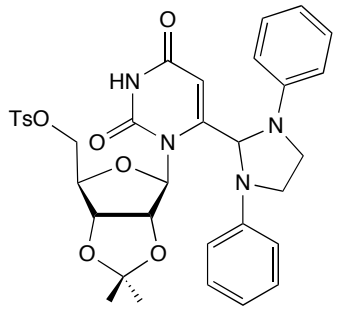
6-(1,3-*Diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2',3'-O-*isopropylidenuridin* (**102**).



Eine Lsg. aus **101** (6.49 g, 10 mmol) in THF (145 ml) wurde in einem PE-Gefäss mit HF·Pyridin (ca. 70% HF; 14.16 g, 100 mmol) versetzt, 5 h bei 26° gerührt, mit 1 M NaOH Lsg. neutralisiert und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (2×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) ergab **102** (4.74 g, 94%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.27. $[\alpha]_D^{25}$ = –3.2 (*c* = 0.8, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 299 (sh, 2615), 250 (25630). FT-IR (ATR): 3444*w*, 3196*w*, 3067*w*, 2990*w*, 2933*w*, 2866*w*, 1683*s*, 1597*m*, 1504*m*, 1455*w*, 1362*m*, 1262*w*, 1211*m*, 1157*m*, 1099*w*, 1067*m*, 992*w*, 906*m*, 878*w*, 841*w*, 725*s*, 691*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 9.08 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(3)); 7.29, 7.27 (2*dd*, *J* = 8.8, 7.2, 4 ar. H); 6.99, 6.97 (2*t*, *J* = 7.2, 2 ar. H); 6.79, 6.75 (2*d*, *J* = 8.0, 4 ar. H); 5.87 (*s*, H–C(5)); 5.78 (*s*, CHN_2); 5.76 (*d*, *J* = 2.8, H–C(1')); 5.28 (*dd*, *J* = 6.9, 2.8, H–C(2')); 4.99 (*dd*, *J* = 6.9, 3.9, H–C(3')); 4.00 (*q*, *J* ≈ 3.4, H–C(4')); 3.89 (br. *d*, *J* = 12.2, H_a–C(5')); 3.77 (*ddd*, *J* = 11.6, 8.0, 4.0, H_b–C(5')); 3.66–3.47 (*m*, NCH_2CH_2N); 3.08 (br. *d*, *J* = 6.1, Austausch mit D_2O, HO–C(5')); 1.26, 1.02 (2*s*, Me_2C). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 162.42 (*s*, C(4)); 152.92 (*s*, C(2)); 151.82 (*s*, C(6)); 147.08, 146.62 (2*s*, 2 ar. C); 129.87 (*d*, 2 ar. C); 129.70 (*d*, 2 ar. C); 122.05, 121.52 (2*d*, 2 ar. C); 117.84 (*d*, 2 ar. C); 116.81 (*d*, 2 ar. C); 114.32 (*s*, Me_2C); 102.84 (*d*, C(5)); 92.51 (*d*, C(1')); 87.51 (*d*, C(4')); 83.20 (*d*, C(2'), 80.50 (*d*, C(3')); 76.72 (*d*, CHN_2); 62.94 (*t*, C(5')); 50.17, 48.82 (2*t*, NCH_2CH_2N); 26.77, 25.64 (2*q*, Me_2C). HR-MALDI-MS (3-HPA): 505.2082 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{27}H_{29}N_4O_6^+$; ber. 505.2093).

6-(1,3-*Diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2',3'-O-*isopropyliden*-5'-O-(*tol*-4-*yl*-*sulfonyl*)-*uridin* (**103**).

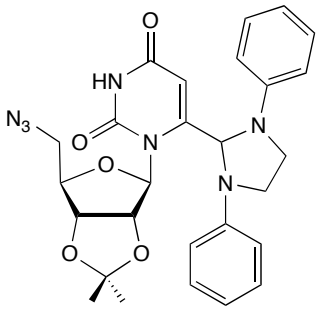


Eine Lsg. aus **102** (4.74 g, 9.35 mmol) in Pyridin (35 ml) wurde mit TsCl (5.35 g, 28 mmol) versetzt, 3 h bei 26° gerührt, mit ges. NH_4Cl-Lsg. neutralisiert und mit

AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 99:1) ergab **103** (6.11 g, quant.). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.36. $[\alpha]_D^{25}$ = +37.4 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 296 (sh, 3292), 250 (25230). FT-IR (ATR): 3200*w*, 3067*w*, 2991*w*, 2933*w*, 2844*w*, 1683*s*, 1597*m*, 1504*m*, 1454*w*, 1360*s*, 1264*w*, 1211*m*, 1189*m*, 1175*s*, 1158*m*, 1095*m*, 1064*m*, 977*m*, 908*m*, 877*m*, 813*w*, 779*w*, 727*s*, 693*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 9.19 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(3)); 7.75 (*d*, *J* = 8.3, 2 ar. H des OTs); 7.32 (*dd*, *J* = 8.6, 7.4, 4 ar. H); 7.25 (*d*, *J* = 8.4, 2 ar. H des OTs); 7.03 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.92 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.88, 6.87 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.67, 6.66 (2*d*, *J* = 7.7, 2 ar. H); 5.92 (*d*, *J* = 0.8, H–C(1')); 5.85 (*s*, H–C(5)); 5.82 (*s*, CHN_2); 5.20 (*dd*, *J* = 6.6, 1.2, H–C(2')); 4.71 (br. *d*, *J* = 6.6, H–C(3')); 4.28–4.25 (*m*, H–C(4'), $H_2C(5')$); 3.75–3.48 (*m*, NCH_2CH_2N); 2.37 (*s*, Me); 1.23, 1.05 (2*s*, Me_2C). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 162.87 (*s*, C(4)); 153.20 (*s*, C(2)); 151.21 (*s*, C(6)); 148.24, 145.12, 145.03, 133.08 (4*s*, 4 ar. C); 129.89 (*d*, 1 ar. C); 129.83 (*d*, 2 ar. C); 129.62 (*d*, 1 ar. C); 128.16 (*d*, 2 ar. C); 123.48 (*d*, 2 ar. C); 120.07 (*d*, 2 ar. C); 119.91 (*d*, 2 ar. C); 114.30 (*d*, 2 ar. C); 113.81 (*s*, Me_2C); 102.61 (*d*, C(5)); 92.66 (*d*, C(1')); 86.81 (*d*, C(4')); 84.48 (*d*, C(2'), 82.42 (*d*, C(3')); 76.37 (*d*, CHN_2); 70.19 (*t*, C(5')); 51.88, 46.92 (2*t*, NCH_2CH_2N); 26.40, 25.84 (2*q*, Me_2C); 21.74 (*q*, Me). HR-MALDI-MS (3-HPA): 661.2316 (100, $[M + H]^+$, $C_{34}H_{37}N_4O_8S^+$; ber. 661.2332).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-6-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2',3'-O-*isopropylidenuridin* (**104**).

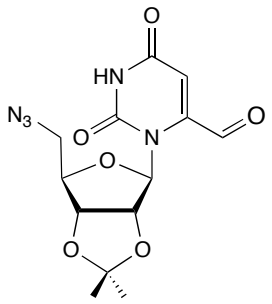


Eine Lsg. aus **103** (6.11 g, 9.3 mmol) in DMF (40 ml) wurde mit LiN_3 (2.26 g, 46 mmol) versetzt und 4 h bei 80° gerührt, auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen, und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (5×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 99:1) ergab **104** (4.56 g, 93%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.34. $[\alpha]_D^{25}$ = +22.3 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 292 (sh, 3108), 250 (28130). FT-IR (ATR): 3200*w*, 3067*w*, 2987*w*, 2933*w*, 2844*w*, 2094*m*, 1683*s*, 1597*m*, 1504*m*, 1453*w*, 1362*m*, 1264*w*, 1211*m*, 1157*m*, 1089*m*, 1064*m*, 989*w*, 875*m*, 841*m*, 746*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 9.49 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(3)); 7.31–7.24 (2*dd*, *J* = 8.4, 7.2, 4 ar. H); 7.03 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.90 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.89, 6.97 (2*d*, *J* = 8.4, 2 ar. H); 6.67, 6.66 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 5.92 (*d*, *J* = 1.3, H–C(1')); 5.86 (*s*, H–C(5)); 5.83 (*s*, CHN_2); 5.27 (*dd*, *J* = 6.6, 1.4, H–C(2')); 4.78 (*dd*, *J* = 6.6, 3.9, H–C(3')); 4.07 (*ddd*, *J* = 8.4, 4.8, 4.0, H–C(4')); 3.71 (*dd*, *J* = 8.3, 4.2, 1 H, NCH_2CH_2N); 3.65 (*dd*, *J* = 12.6, 8.2, H_a–C(5')); 3.60–3.52 (*m*, 3 H, NCH_2CH_2N); 3.41 (*dd*, *J* = 12.6, 5.1, H_b–C(5')); 1.26, 1.05 (2*s*, Me_2C). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 163.04 (*s*, C(4)); 153.08 (*s*, C(2)); 151.33 (*s*, C(6)); 148.20, 145.25 (2*s*, 2 ar. C); 129.83 (*d*, 2 ar. C); 129.62 (*d*, 2 ar. C); 122.35, 119.99 (2*d*, 2 ar. C); 119.91 (*d*, 2 ar. C); 114.59

(*d*, 2 ar. C); 113.98 (*s*, Me_2C); 102.68 (*d*, C(5)); 92.32 (*d*, C(1')); 87.86 (*d*, C(4')); 84.39 (*d*, C(2'), 83.01 (*d*, C(3')); 76.47 (*d*, CHN_2); 52.80 (*t*, C(5')); 51.72, 47.12 (2*t*, NCH_2CH_2N); 26.61, 25.83 (2*q*, Me_2C). HR-MALDI-MS (3-HPA): 530.2146 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{27}H_{28}N_7O_5^+$; ber. 530.2157).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-6-*formyl*-2',3'-O-*isopropylidenuridin* (**105**).



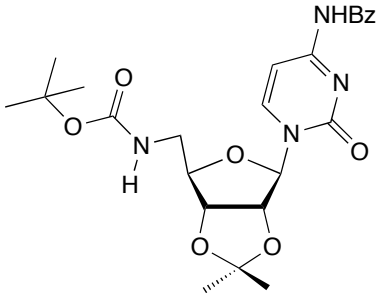
Eine Lsg. aus **104** (160 mg, 0.3 mmol) in Aceton/CH_2Cl_2 1:2 (3 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit TsOH·H_2O (114 mg, 0.6 mmol) versetzt, 2 h gerührt, auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) ergab **105** (78 mg, 77%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 95:5) 0.41. $[\alpha]_D^{25}$ = +20.2 (*c* = 0.7, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 310 (sh, 638), 260 (5910). FT-IR (ATR): 3199*w*, 3080*w*, 2990*w*, 2933*w*, 2100*s*, 1689*s*, 1463*m*, 1373*s*, 1269*w*, 1237*m*, 1212*m*, 1158*m*, 1092*s*, 1064*s*, 957*w*, 910*w*, 874*m*, 732*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 9.59 (*s*, CH=O); 9.00 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(3)); 6.56 (*d*, *J* = 2.0, H–C(1')); 6.28 (*s*, H–C(5)); 5.19 (*dd*, *J* = 6.6, 1.7, H–C(2')); 4.87 (*dd*, *J* = 6.5, 4.7, H–C(3')); 4.19 (*ddd*, *J* = 7.2, 6.8, 4.8, H–C(4')); 3.65 (*dd*, *J* = 12.8, 7.2, H_a–C(5')); 3.52 (*dd*, *J* = 12.8, 6.7, H_b–C(5')); 1.57, 1.36 (2*s*, Me_2C). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 185.00 (*d*, CH=O); 161.46 (*s*, C(4)); 150.03 (*s*, C(2)); 146.96 (*s*, C(6)); 114.84 (*s*, Me_2C); 114.67 (*d*, C(5)); 90.91 (*d*,

C(1')); 87.01 (*d*, C(4')); 84.84 (*d*, C(2'), 82.24 (*d*, C(3')); 52.47 (*t*, C(5')); 27.30, 25.44 (2*q*, Me_2C). Die Verbindung war sowohl unter den Bedingungen für ESI- als auch MALDI-MS instabil.

5.2.2 Synthese der Cytidin-Mononukleoside

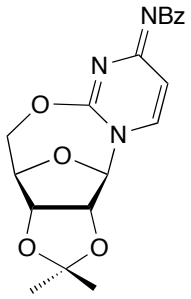
N^4-*Benzoyl*-5'-*desoxy*-2',3'-O-*isopropyliden*-5'-N-*tert.-butylcarbamoyl-cytidin* (**51**).



Eine Lösung aus **34** (1.24 g, 3 mmol) in THF (20 ml) wurde mit einer 1 M Lösung aus Me_3P in THF (3.6 ml) und BocON (0.89 g, 3.6 mmol) versetzt, 4 h gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde in AcOEt aufgenommen, 5× mit H_2O und mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingeengt. FC (CH_2Cl_2/MeOH 92:8) ergab **51** (1.02 g, 70%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 9:1) 0.62. ^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3CN): 9.38 (br. *s*, H–N(4)); 7.96 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2 ar. H); 7.93 (*d*, *J* = 7.5 Hz, H–C(6)); 7.64 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 7.54 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2 ar. H); 7.52 (*d*, *J* = 7.6 Hz, H–C(5)); 5.72 (*d*, *J*= 1.2 Hz, H–C(1')); 5.68 (br. *s*, H–N–C(5')); 5.02 (br. *d*, *J* = 6.0 Hz, H–C(2')); 4.73 (br. *s*, H–C(3')); 4.19 (*q*, *J* ≈ 5.1 Hz, H–C(4')); 3.36 (*t*, *J* = 5.8 Hz, H_2–C(5')); 1.53, 1.32 (2 *s*, Me_2CO_2); 1.42 (*s*, *t*Butyl).

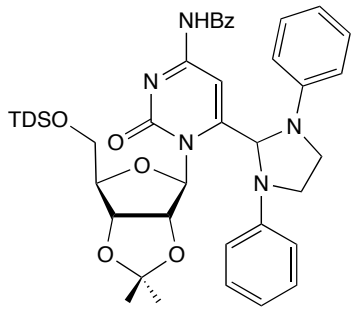
N^4-*Benzoyl*-2',3'-O-*isopropyliden*-O^2,5'-*cyklocytidin* (**53**) [125].



Eine Suspension aus **30** (116 mg, 0.3 mmol) in THF (2 ml) wurde mit PPh_3 und Phtalimid versetzt, 20 min. gerührt, auf 0° gekühlt und tropfenweise mit DIAD (61 mg, 0.3 mmol) versetzt. Nach 10 min. bildet sich ein Niederschlag, der abfiltriert und mit kaltem Ether gewaschen wird. Trocknen *i.v.* ergab **53** (60 mg, 53%). Weisser Feststoff.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.18. Smp. 288° Lit.: 290° [125]. ^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 8.15 (*d*, *J* = 7.8 Hz, 2 ar. H); 7.97–7.80 (*m*, 1 ar. H); 7.62–7.40 (*m*, 2 ar. H); 7.15 (*d*, *J* = 7.3 Hz, H–C(6)); 6.67 (*t*, *J* = 7.5 Hz, H–C(5)); 5.31 (*s*, H–C(1')); 4.97 (*d*, *J* = 5.5 Hz, H–C(2')); 4.87 (*d*, *J* = 5.3 Hz, H–C(3')); 4.66 (br. *s*, H–C(4')); 4.44 (*d*, *J* = 12.3 Hz, H_a–C(5')); 4.17 (*d*, *J* = 12.7 Hz, H_b–C(5')); 1.52, 1.35 (2 *s*, Me_2CO_2).

N^4-*Benzoyl*-6-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-5'-O-[*dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**106**).

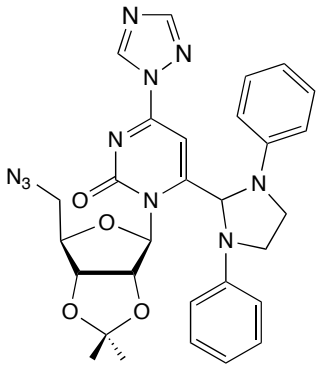


Eine 1 M Lsg. aus $SOCl_2$ in CH_2Cl_2 (0.4 ml, 0.4 mmol) wurde auf 0° gekühlt, mit einer 2 M Lsg. aus Pyridin in CH_2Cl_2 (0.3 ml, 0.3 mmol) versetzt, 10 min. gerührt, mit einer Lsg. aus **32** (111 mg, 0.2 mmol) in CH_2Cl_2 (2 ml) versetzt und 1 h bei 0° und 19 h bei 25° gerührt. Die Suspension wurde mit 0.1 M NaOH Lsg. neutralisiert und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (2×), ges. NH_4Cl-Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 99:1) ergab **35** (248 mg, 53%). Braunfarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.36. $[\alpha]_D^{25}$ = +31.3 (c = 0.2, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 323 (12821), 258 (35068). FT-IR (ATR): 2956*m*, 2867*w*, 1681*s*, 1627*s*, 1600*s*, 1566*s*, 1504*s*, 1478*s*, 1416*m*, 1348*s*, 1252*s*, 1211*m*, 1158*m*, 1083*s*, 875*w*, 831*m*, 777*m*, 747*m*, 693*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.84 (br. *s*, NH); 7.58 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 7.57 (*d*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 7.49, 7.48, 7.46 (3*d*, *J* = 7.6, 3 ar. H); 7.30–7.25 (2*dd*, *J* = 8.4, 7.6, 4 ar. H, darunter *s* von H–C(5)); 7.03 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.93 (*d*, *J* = 7.7, 2 ar. H); 6.88 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.69 (2*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.06 (br. *s*, H–C(1'), CHN_2); 5.39 (*dd*, *J* = 6.8, 1.1, H–C(2')); 4.85 (*dd*, *J* = 6.5, 3.5, H–C(3')); 4.12 (*q*, *J* ≈ 5.1, H–C(4')); 3.87 (*d*, *J* = 6.5, H_2–C(5')); 3.85–3.56 (*m*, NCH_2CH_2N); 1.62 (*sept.*, *J* ≈ 6.9, Me_2CH); 1.56, 1.27 (2*s*, Me_2CO_2); 0.87 (*d*, *J* = 6.9, Me_2CH); 0.85 (*s*, Me_2CSi); 0.09 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$):

148.48, 145.34 (2*s*, 2 ar. C); 133.27 (*d*, 5 ar. C); 129.80 (*d*, 2 ar. C); 129.64 (*d*, 2 ar. C); 129.12 (*d*, C(5)); 123.30 (*d*, 1 ar. C); 119.98 (*d*, 2 ar. C); 119.53 (*d*, 1 ar. C); 114.21 (*d*, 2 ar. C); 113.24 (*s*, Me_2CO_2); 93.22 (*d*, C(1')); 90.43 (*d*, C(4')); 83.80 (*d*; C(2')), 83.34 (*d*, C(3')); 76.56 (*d*, CHN_2); 64.30 (*t*, C(5')); 51.82, 46.99 (2*t*, NCH_2CH_2N); 34.38 (*d*, Me_2CH); 26.67, 26.00 (2*q*, Me_2CO_2); 25.46 (*s*, Me_2CSi); 20.63, 20.52 (2*q*, Me_2CSi); 18.71, 18.65 (2*q*, Me_2CH); –3.00, –3.13 (2*q*, Me_2Si); Signale von C(2), C(4), C(6), und (NC=O) im Untergrund. HR-MALDI-MS (3-HPA): 752.3837 (100, $[M + H]^+$, $C_{42}H_{53}N_5O_6^+$; ber. 752.3843).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-6-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2',3'-O-*isopropyliden*-N^4-(1,2,4-*triazol*-1-*yl*)-*cytidin* (**107**).

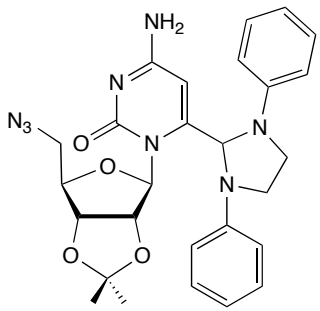


Eine Lsg. aus **107** (266 mg, 0.5 mmol) und 1,2,4-Triazol (311 mg, 4.5 mmol) in MeCN (6 ml) wurde mit $POCl_3$ (130 mg, 0.85 mmol) versetzt, 10 min. gerührt, auf 0° gekühlt, mit $EtNiPr_2$ (646 mg, 5 mmol) versetzt, auf 26° erwärmt und 4 h gerührt. Die Suspension wurde mit ges. NH_4Cl-Lsg. neutralisiert und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 99:1) ergab **36** (248 mg, 85%). Gelbfarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.32. $[\alpha]_D^{25}$ = +23.4 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 319 (sh, 8660), 249 (30734). FT-IR (ATR): 2989*w*, 2937*w*, 2095*m*, 1682*s*, 1619*m*,

1598*m*, 1558*m*, 1504*s*, 1447*s*, 1412*w*, 1380*m*, 1361*m*, 1289*m*, 1210*m*, 1188*m*, 1156*m*, 1094*m*, 1064*m*, 986*m*, 971*m*, 872*m*, 831*m*, 789*w*, 772*w*, 727*s*, 692*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem-HSQC Spektrum): 9.21 (*s*, H–C(5”)); 8.05 (*s*, H–C(3”)); 7.29 (2*dd*, *J* = 8.8, 7.2, 4 ar. H); 7.09 (*s*, H–C(5)); 7.07 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.93, 6.91 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.92 (*t*, *J* = 7.6, 1 ar. H); 6.70, 6.69 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.18 (*d*, *J* = 1.1, H–C(1’)); 6.04 (*s*, CHN_2); 5.37 (*dd*, *J* = 6.6, 1.2, H–C(2’)); 4.92 (*dd*, *J* = 6.6, 3.6, H–C(3’)); 4.23 (*ddd*, *J* = 8.6, 4.9, 3.7, H–C(4’)); 3.84 (*dd*, *J* = 12.6, 8.7, H_a–C(5’)); 3.79–3.56 (*m*, NCH_2CH_2N); 3.45 (*dd*, *J* = 12.6, 4.9, H_b–C(5’)); 1.28, 1.07 (2*s*, Me_2C). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem HSQC-Spektrum): 162.23 (*s*, C(4)); 159.84 (*s*, C(2)); 155.83 (*s*, C(6)); 154.20 (*d*, C(3”)); 148.22, 145.26 (2*s*, 2 ar. C); 143.53 (*d*, C(5”)); 129.94 (*d*, 2 ar. C); 129.74 (*d*, 2 ar. C); 123.80 (*d*, 1 ar. C); 120.23 (*d*, 2 ar. C); 120.20 (*d*, 1 ar. C); 114.40 (*d*, 2 ar. C); 113.88 (*s*, Me_2C); 94.72 (*d*, C(5)); 93.68 (*d*, C(1’)); 89.37 (*d*, C(4’)); 84.25 (*d*, C(2’), 83.81 (*d*, C(3’)); 76.73 (*d*, CHN_2); 52.92 (*t*, C(5’)); 52.24, 47.21 (2*t*, NCH_2CH_2N); 26.53, 25.86 (2*q*, Me_2C). HR-MALDI-MS (3-HPA): 581.2368 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{29}H_{29}N_{10}O_4{}^+$; ber. 581.2379).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-6-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-2',3'-O-*isopropylidencytidin* (**108**).



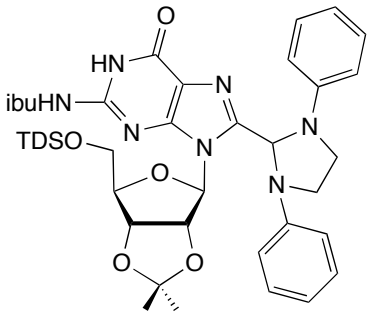
Eine Lsg. aus **107** (13 mg, 0.02 mmol) in MeCN (0.3 ml) wurde mit konz. aq. NH_3 (0.24 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit kaltem MeCN gewaschen, um **37** (8 mg, 75%) zu ergeben. Weisses Pulver.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.14. Smp. 86.1°. $[\alpha]_D^{25}$ = +20.6 (*c* = 0.2, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 290 (sh, 8546), 248 (26818). FT-IR (ATR): 3355*w*, 3178*w*, 2989*w*, 2933*w*, 2844*w*, 2095*s*, 1639*s*, 1597*s*, 1534*m*, 1504*s*, 1489*s*, 1369*s*, 1262*m*, 1210*m*, 1186*m*, 1158*m*, 1088*s*, 1063*s*, 996*w*, 969*w*, 908*m*, 876*m*, 839*w*, 790*w*, 730*s*, 692*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.28 (*dd*, *J* = 8.4, 7.2, 2 ar. H); 7.26 (*dd*, *J* = 8.4, 7.2, 2 ar. H); 7.04 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.91, 6.90 (2*d*, *J* = 8.6, 2 ar. H); 6.88 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.66 (2*d*, *J* = 8.6, 2 ar. H); 5.97 (*d*, *J* = 1.2, H–C(1')); 5.89 (*s*, CHN_2); 5.74 (*s*, H–C(5)); 5.39 (*dd*, *J* = 6.6, 1.1, H–C(2')); 4.88 (*dd*, *J* = 6.6, 3.4, H–C(3')); 4.14 (*ddd*, *J* = 8.6, 4.9, 3.5, H–C(4')); 3.86 (*dd*, *J* = 12.5, 8.8, H_a–C(5')); 3.72–3.49 (*m*, NCH_2CH_2N); 3.38 (*dd*, *J* = 12.5, 4.8, H_b–C(5')); 1.25, 1.02 (2*s*, Me_2CO_2). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 164.80 (*s*, C(4)); 156.53 (*s*, C(2)); 154.88 (*s*, C(6)); 148.18, 144.95 (2*s*, 2 ar. C); 129.47 (*d*, 2 ar. C); 129.21 (2*d*, 2 ar. C); 123.07 (*d*, 1 ar. C); 119.88 (*d*, 2 ar. C); 119.26 (*d*, 1 ar. C); 113.89 (*d*, 2 ar. C); 112.94 (*s*, Me_2C); 93.66 (*d*, C(5)); 92.74 (*d*, C(1')); 88.73 (*d*, C(4')); 84.53 (*d*, C(2')), 83.73 (*d*, C(3')); 76.31 (*d*, CHN_2); 53.12 (*t*, C(5')); 51.95, 46.80 (2*t*,

NCH_2CH_2N); 26.49, 25.99 (2*q*, Me_2CO_2). HR-MALDI-MS (3-HPA): 531.2463 (100, $[M + H]^+$, $C_{27}H_{31}N_8O_4^+$; ber. 531.2463).

5.2.3 Synthese der Guanosin-Mononukleoside

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]- 8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**110**).

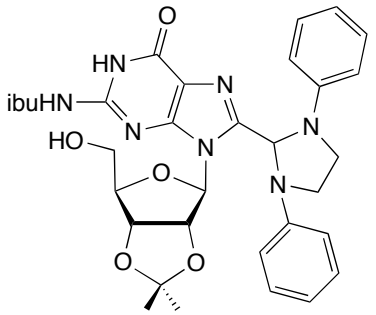


Eine Lsg. aus **26** (8.45 g, 15.0 mmol) in MeCN (60 ml) wurde mit DDQ (340 mg, 1.5 mmol) und 1,2-Dianilinoethan (4.78 g, 22.5 mmol) versetzt, 18 h bei 26° gerührt und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **110** (9.37 g, 93%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.61. $[\alpha]_D^{25}$ = + 0.7 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 288 (16880), 253 (33020). FT-IR (ATR): 2958*w*, 1670*s*, 1598*s*, 1554*m*, 1498*w*, 1467*w*, 1414*w*, 1373*w*, 1320*w*, 1297*w*, 1250*m*, 1193*m*, 1157*m*, 1076*s*, 997*w*, 967*w*, 948*w*, 919*w*, 874*w*, 828*s*, 747*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.06 (*s*, Austausch mit D_2O, H–N(1)); 8.02 (*s*, Austausch mit D_2O, HN–C(2)); 7.26 (*dd*, *J* = 8.8, 7.6, 2 ar. H); 7.23 (*dd*, *J* = 8.8, 7.6, 2 ar. H); 7.07, 7.06 (2*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 7.01, 7.00 (2*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.85 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.80 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.41 (*s*, CH–C(8)); 6.36 (*d*, *J* = 2.1, H–C(1')); 5.22 (*dd*, *J* = 6.3, 2.0, H–C(2')); 4.91 (*dd*, *J* = 6.3, 4.1, H–C(3')); 4.19 (*dt*, *J* = 7.6, 4.0, 1 H von NCH_2CH_2N);

4.14–4.08 (*m*, H–C(4'), 1 H von NCH_2CH_2N); 3.78 (*dt*, *J* = 8.3, 4.0, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.68 (*dt*, *J* = 8.1, 6.0, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.53 (*dd*, *J* = 10.7, 7.0, H_a–C(5')); 3.49 (*dd*, *J* = 10.7, 6.0, H_b–C(5')); 2.63 (*sept.*, *J* = 6.9, $Me_2CHC{=}O$); 1.59 (*sept.*, *J* = 6.8, Me_2CHCMe_2Si); 1.63, 1.31 (2*s*, Me_2CO_2); 1.32, 1.30 (2*d*, *J* = 6.9, $Me_2CHC{=}O$); 0.87 (*d*, *J* = 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 0.82 (2*s*, Me_2CSi); 0.00, –0.04 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 178.09 (*s*, NC=O); 155.52 (*s*, C(6)); 149.07 (*s*, C(4)); 148.67 (*s*, C(2)); 146.65 (*s*, C(8)); 146.10, 145.26 (2*s*, 2 ar. C); 129.29 (*d*, 2 ar. C); 129.13 (*d*, 2 ar. C); 120.85 (*s*, C(5)); 119.33, 118.72 (2*d*, 4 ar. C); 114.77 (*s*, Me_2CO_2); 114.32 (*d*, 2 ar. C); 113.99 (*d*, 2 ar. C); 89.13 (*d*, C(1')); 86.83 (*d*, C(4')); 83.36 (*d*, C(2')); 82.08 (*d*, C(3')); 73.92 (*d*, CH–C(8)); 62.93 (*t*, C(5')); 48.00, 46.85 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.78 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 34.22 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.59, 25.83 (2*q*, Me_2CO_2); 25.37 (*s*, Me_2CSi); 20.48, 20.36 (2*q*, Me_2CSi); 19.21, 19.04 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$); 18.61, 18.54 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.23, –3.43 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 756.3899 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{40}H_{54}N_7O_6Si^+$; ber. 756.3910).

8-(1,3-*Diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**111**).

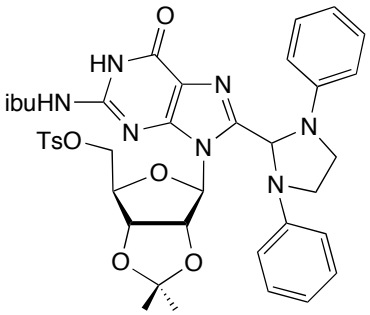


Eine Lsg. aus **110** (6.72 g, 10 mmol) in THF (500 ml) wurde in einem PE-Gefäss mit HF·Pyridin (70% HF; 7.08 g, 50 mmol) versetzt, 4 h bei 26° gerührt, mit 1 M NaOH Lsg. neutralisiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert (3×). Die vereinigten org. Pha-

sen wurden mit H_2O (2×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **111** (5.17 g, 84%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.39. $[\alpha]_D^{25}$ = +11.5 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 289 (16490), 251 (31830). FT-IR (ATR): 3055*w*, 2982*w*, 1679*w*, 1598*s*, 1559*m*, 1502*m*, 1423*w*, 1360*w*, 1317*w*, 1264*s*, 1191*m*, 1157*m*, 1099*w*, 1075*w*, 1035*w*, 1005*w*, 948*w*, 932*w*, 858*w*, 787*w*, 731*s*, 693*s*, 668*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 11.96 (*s*, H–N(1)); 8.04 (*s*, HN–C(2)); 7.23 (*dd*, *J* = 8.8, 7.3, 2 ar. H); 7.18 (*dd*, *J* = 8.8, 7.3, 2 ar. H); 7.10, 7.09 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.98, 6.97 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.83 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.78 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.46 (*d*, *J* = 2.7, H–C(1')); 6.25 (*s*, CH–C(8)); 5.19 (br. *d*, *J* = 9.9, HO–C(5')); 5.02 (*dd*, *J* = 6.5, 4.9, H–C(3')); 4.51 (*dd*, *J* = 6.5, 2.6, H–C(2')); 4.29 (*dt*, *J* = 7.8, 5.3, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.21–4.19 (*m*, H–C(4')); 4.15 (*dt*, *J* = 8.0, 4.6, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.91 (*dd*, *J* = 12.3, 2.0, H_a–C(5')); 3.73 (*ddd*, *J* = 12.4, 10.0, 2.0, H_b–C(5')); 3.69–3.64 (*m*, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.60 (*dt*, *J* = 8.3, 4.7, 1 H von NCH_2CH_2N); 2.59 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2CHC=O); 1.64, 1.23 (2*s*, Me_2CO_2); 1.26, 1.24 (2*d*, *J* = 7.2, Me_2CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 178.25 (*s*, NC=O); 155.14 (*s*, C(6)); 148.13 (*s*, C(4)); 147.98 (*s*, C(2)); 147.42 (*s*, C(8)); 146.00, 145.38 (2*s*, 2 ar. C); 129.36 (*d*, 2 ar. C); 129.16 (*d*, 2 ar. C); 120.98 (*s*, C(5)); 119.68, 119.21 (2*d*, 4 ar. C); 115.06 (*d*, 2 ar. C); 114.68 (*d*, 2 ar. C); 114.53 (*s*, Me_2CO_2); 90.54 (*d*, C(1')); 86.37 (*d*, C(4')); 85.16 (*d*, C(2')); 78.95 (*d*, C(3')); 74.06 (*d*, CH–C(8)); 62.11 (*t*, C(5')); 48.35, 47.70 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.78 (*d*, Me_2CHC=O); 27.66, 25.40 (2*q*, Me_2CO_2); 18.99, 18.89 (2*q*, Me_2CHC=O). HR-MALDI-MS (3-HPA): 614.2722 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{32}H_{36}N_7O_6{}^+$; ber. 614.2733).

8-(1,3-*Diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropyliden*-5'-O-(*tol*-4-*yl*-*sulfonyl*)-*guanosin* (**112**).

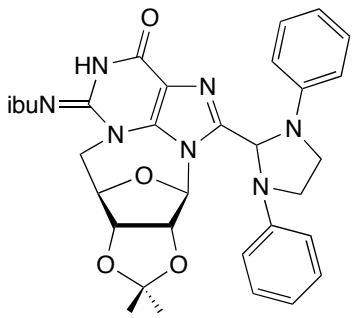


Eine Lsg. aus **111** (5.54 g, 9 mmol) in Pyridin (38 ml) wurde mit TsCl (5.15 g, 27 mmol) versetzt, 3 h bei 26° gerührt, mit ges. NH_4Cl-Lsg. neutralisiert und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 98:2) ergab **112** (5.54 g, 80%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.39. $[\alpha]_D^{25}$ = +4.0 (*c* = 0.3, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 289 (16780), 252 (31160). FT-IR (ATR): 2934*w*, 1676*s*, 1598*s*, 1559*m*, 1501*m*, 1423*w*, 1358*m*, 1318*w*, 1249*w*, 1189*m*, 1175*m*, 1157*w*, 1097*w*, 1076*w*, 1035*w*, 979*w*, 860*w*, 813*w*, 785*w*, 750*s*, 692*m*, 665*m*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 12.17 (*s*, H–N(1)); 9.00 (*s*, HN–C(2)); 7.67 (*d*, *J* = 8.3, 2 ar. H); 7.28 (*d*, *J* = 8.0, 2 ar. H); 7.21 (*dd*, *J* = 8.8, 7.2, 4 ar. H); 7.04 (*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.98 (*d*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.79, 6.78 (2*t*, *J* = 7.3, 2 ar. H); 6.45 (*d*, *J* = 1.8, H–C(1')); 6.28 (*s*, CH–C(8)); 5.14 (*dd*, *J* = 6.3, 4.3, H–C(3')); 4.78 (*dd*, *J* = 6.3, 1.9, H–C(2')); 4.60 (*dd*, *J* = 10.1, 7.2, H_a–C(5')); 4.24 (*ddd*, *J* = 7.2, 4.4, 4.0, H–C(4')); 4.16 (*dd*, *J* = 7.2, 4.0, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.12 (*dd*, *J* = 7.2, 3.6, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.00 (*dd*, *J* = 10.1, 4.1, H_b–C(5')); 3.67 (*dd*, *J* = 6.8, 4.0, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.64 (*dd*, *J* = 6.9, 3.5, 1 H von NCH_2CH_2N); 2.66 (*sept.*, *J* = 6.8, $Me_2CHC{=}O$); 2.42 (*s*,

Me); 1.59, 1.27 (2*s*, Me_2C); 1.22, 1.18 (2*d*, *J* = 6.8, $Me_2CHC{=}O$). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 179.49 (*s*, NC=O); 155.55 (*s*, C(6)); 148.82 (*s*, C(4)); 148.03 (*s*, C(2)); 147.61 (*s*, C(8)); 145.84, 145.81,145.39, 132.18 (4*s*, 4 ar. C); 129.24 (*d*, 2 ar. C); 129.22 (*d*, 4 ar. C); 128.37 (*d*, 2 ar. C); 120.93 (*s*, C(5)); 119.36, 119.18 (2*d*, 2 ar. C); 114.89 (*s*, Me_2CO_2); 114.55 (*d*, 2 ar. C); 114.45 (*d*, 2 ar. C); 89.56 (*d*, C(1')); 86.64 (*d*, C(4')); 83.75 (*d*, C(2')); 81.03 (*d*, C(3')); 74.06 (*d*, *C*H–C(8)); 62.86 (*t*, C(5')); 47.83, 47.66 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.28 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 27.55, 25.53 (2*q*, Me_2C); 21.78 (*q*, Me); 19.29, 18.96 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$). HR-MALDI-MS (3-HPA): 768.2810 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{39}H_{42}N_7O_8S^+$; ber. 768.2821).

N^3,5'-*Cyklo*-5'-*desoxy*-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**113**).

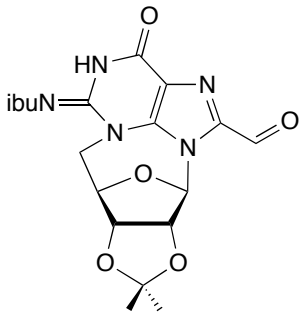


Eine Lsg. aus **112** (5.49 g, 7.1 mmol) in DMF (74 ml) wurde mit LiN_3 (1.75 g, 35.7 mmol) versetzt, 4 h bei 80° gerührt und auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen. Nach Extraktion mit AcOEt (3×) wurden die vereinigten org. Phasen mit H_2O (5×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft um **113** (3.70 g, 87%) zu ergeben. Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.48. $[\alpha]_D^{25}$ = +19.0 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 288 (27545), 252 (29475). FT-IR (ATR): 2973*w*, 1715*s*, 1596*s*, 1581*s*, 1543*s*, 1499*s*, 1383*w*, 1346*m*, 1300*m*, 1223*m*, 1160*w*, 1139*m*, 1090*m*, 1035*m*, 1005*w*,

969*w*, 930*m*, 893*w*, 856*s*, 749*s*, 692*s*, 663*w*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$, die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 13.42 (*s*, H–N(1)); 7.26 (*dd*, *J* = 8.7, 7.3, 2 ar. H); 7.20 (*dd*, *J* = 8.7, 7.3, 2 ar. H); 7.13, 7.12 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.99, 6.98 (2*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.89 (*t*, *J* = 7.2, 1 ar. H); 6.79 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.60 (*s*, H–C(1')); 6.22 (*s*, CH–C(8)); 5.35 (*dd*, *J* = 15.2, 2.4, H_a–C(5')); 4.74 (*t*, *J* = 2.4, H–C(4')); 4.54 (br. *d*, *J* = 5.8, H–C(3')); 4.28–4.23 (*m*, 2 H von NCH_2CH_2N); 3.80 (*d*, *J* = 5.8, H–C(2')); 3.70 (*dd*, *J* = 15.2, 2.8, H_b–C(5')); 3.72–3.56 (*m*, 2H von NCH_2CH_2N); 2.57 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2CHC=O); 1.56, 1.13 (2*s*, Me_2CO_2); 1.14, 1.12 (2*d*, *J* = 6.8, Me_2CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 191.14 (*s*, NC=O); 154.74 (*s*, C(6)); 152.79 (*s*, C(4)); 146.29 (*s*, C(2)); 144.71 (*s*, C(8)); 144.61, 140.92 (2*s*, 2 ar. C); 129.48 (*d*, 2 ar. C); 129.45 (*d*, 2 ar. C); 120.48, 119.52 (2*d*, 4 ar. C); 118.30 (*s*, C(5)); 115.68 (*d*, 2 ar. C); 114.44 (*d*, 2 ar. C); 113.89 (*s*, Me_2CO_2); 91.04 (*d*, C(1')); 85.38 (*d*, C(2')); 84.95 (*d*, C(4')); 80.44 (*d*, C(3')); 73.75 (*d*, *C*H–C(8)); 52.62 (*t*, C(5')); 49.01, 47.69 (2*t*, NCH_2CH_2N); 39.91 (*d*, Me_2CHC=O); 26.29, 24.50 (2*q*, Me_2CO_2); 19.66 (*q*, Me_2CHC=O). HR-MALDI-MS (3-HPA): 596.2616 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{32}H_{34}N_7O_5^+$; ber. 596.2627).

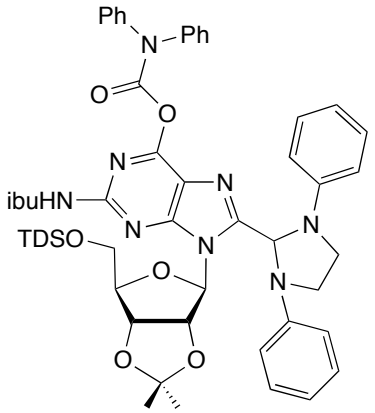
N^3,5'-*Cyklo*-5'-*desoxy*-8-*formyl*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**114**).



Eine Lsg. aus **113** (277 mg, 0.5 mmol) in Aceton/CH_2Cl_2 1:2 (7.5 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit TsOH·H_2O (190 mg, 1.0 mmol) versetzt, 20 min. gerührt und auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen. Nach Extraktion mit CH_2Cl_2 (3×) wurden die vereinigten org. Phasen mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 98:2) ergab **114** (150 mg, 74%). Orangefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.35. $[\alpha]_D^{25}$ = +73.4 (c = 0.6, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 330 (24280), 279 (sh, 8250). FT-IR (ATR): 2977*w*, 1722*m*, 1691*s*, 1578*s*, 1530*m*, 1478*m*, 1419*w*, 1383*w*, 1341*w*, 1305*m*, 1212*m*, 1161*w*, 1142*w*, 1089*w*, 1055*w*, 1036*m*, 970*w*, 927*m*, 889*m*, 864*s*, 753*s*, 698*w*, 665*w*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 13.36 (*s*, H–N(1)); 9.81 (*s*, CH=O); 7.42 (*s*, H–C(1')); 5.49 (*dd*, J = 15.1, 2.6, H_a–C(5')); 4.92 (*t*, J = 2.7, H–C(4')); 4.84 (*d*, J = 5.7, H–C(3')); 4.50 (*d*, J = 5.7, H–C(2')); 3.81 (*dd*, J = 15.1, 2.6, H_b–C(5')); 2.65 (*sept.*, J = 6.9, Me_2C*H*C=O); 1.58, 1.32 (2*s*, Me_2C); 1.19, 1.18 (2*d*, J = 7.0, *Me*$_2$CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 191.65 (*s*, NC=O); 182.34 (*s*, CHO); 154.24 (*s*, C(6)); 152.78 (*s*, C(4)); 143.00 (*s*, C(2)); 140.31 (*s*, C(8)); 121.06 (*s*, C(5)); 114.63 (*s*, Me_2*C*O_2); 91.60 (*d*, C(1')); 86.01 (*d*, C(2')); 84.97 (*d*, C(4')); 80.79 (*d*, C(3')); 52.90 (*t*, C(5')); 40.06 (*d*, Me_2*C*HC=O); 26.32, 25.00 (2*q*, *Me*$_2$$CO_2$); 19.57, 19.46 (2*q*, *Me*$_2$CHC=O). HR-MALDI-MS (3-HPA): 404.1557 (100, $[M+H]^+$, $C_{18}H_{22}N_5O_6^+$; ber. 404.1565).

5'-O-[*Dimethyl*(1,1,2-*trimethylpropyl*)*silyl*]-6-O-(N,N-*diphenylcarbamoyl*)-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**115**).

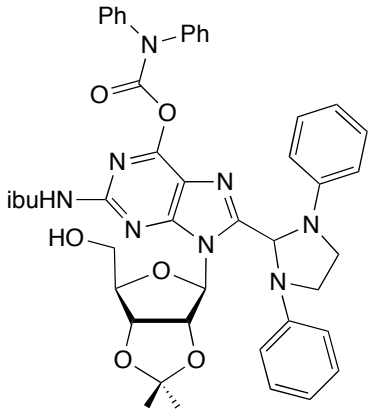


Eine Lsg. aus **110** (1.02 g, 1.5 mmol) in Pyridin (7.6 ml) wurde mit Et_3N (461 mg, 4.5 mmol) und *N,N*-Diphenylcarbamoylchlorid (1.06 g, 4.5 mmol) versetzt, 2 h gerührt, mit CH_2Cl_2 verdünnt, mit ges. $NaHCO_3$-Lsg., ges. NH_4Cl-Lsg., H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (Pentan/AcOEt 9:1→4:1) ergab **115** (1.1 g, 77%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 98:2) 0.61. $[\alpha]_D^{25}$ = + 61.6 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 286 (18733), 255 (34376). FT-IR (ATR): 2959*w*, 2869*w*, 1750*m*, 1621*w*, 1597*s*, 1501*s*, 1456*w*, 1414*w*, 1359*w*, 1303*w*, 1272*w*, 1251*w*, 1183*m*, 1154*m*, 1063*m*, 1033*w*, 1003*w*, 980*w*, 948*w*, 907*w*, 871*w*, 829*m*, 778*w*, 747*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 7.81 (*s*, HN–C(2)); 7.49, 7.48 (2*d*, *J* = 8.5, 4 ar. H); 7.40, 7.39 (2*d*, *J* = 7.8, 4 ar. H); 7.29 (*t*, *J* = 7.3, 2 ar. H); 7.20, 7.18 (2*dd*, *J* = 8.8., 7.6, 4 ar. H); 6.97, 6.93 (2*d*, *J* = 8.8, 4 ar. H); 6.80, 6.78 (2*t*, *J* = 8.7, 2 ar. H); 6.40 (*s*, CH–C(8)); 6.37 (*d*, *J* = 1.6, H–C(1')); 5.37 (*dd*, *J* = 6.3, 1.6, H–C(2')); 5.26 (*dd*, *J* = 6.2, 3.9, H–C(3')); 4.14–4.13 (*m*, 2 H von NCH_2CH_2N, H–C(4')); 3.78–3.75 (*m*, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.70-3.66 (*m*, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.50 (*d*, *J* = 6.5,

2 H–C(5')); 2.76 (*sept.*, J = 6.5, $Me_2CHC{=}O$); 1.57, 1.33 (2*s*, Me_2CO_2); 1.46 (*sept.*, J = 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 1.22 (*d*, J = 6.9, $Me_2CHC{=}O$); 0.75, 0.74 (2*d*, J = 6.9, Me_2CHCMe_2Si); 0.69, 0.68 (2*s*, Me_2CSi); –0.18, –0.22 (2*s*, Me_2Si). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 174.24 (*s*, NC=O); 156.31 (*s*, $Ph_2NC{=}O$); 155.63 (*s*, C(6)); 153.89 (*s*, C(4)); 151.49 (*s*, C(2)); 150.30 (*s*, C(8)); 145.69, 145.52 (2*s*, 2 ar. C); 142.08 (*s*, 2 ar. C); 129.35 (*d*, 6 ar. C); 129.33 (*d*, 4 ar. C); 129.20 (*d*, 4 ar. C); 127.13 (*s*, C(5)); 119.28, 119.24 (2*d*, 2 ar. C); 114.71 (*d*, 2 ar. C); 114.39 (*d*, 2 ar. C); 113.51 (*s*, Me_2CO_2); 89.63 (*d*, C(1')); 86.64 (*d*, C(4')); 83.74 (*d*, C(2')); 81.95 (*d*, C(3')); 74.18 (*d*, CH–C(8)); 63.54 (*t*, C(5')); 47.69, 47.26 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.40 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 34.18 (*d*, Me_2CHCMe_2Si); 27.45, 25.63 (2*q*, Me_2C); 25.30 (*s*, Me_2CSi); 20.46, 20.32 (2*q*, Me_2CSi); 19.53, 19.33 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$); 18.56, 18.47 (2*q*, Me_2CHCMe_2Si); –3.37, –3.55 (2*q*, Me_2Si). HR-MALDI-MS (3-HPA): 951.4603 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{53}H_{63}N_8O_7Si^+$; ber. 951.4583).

6-O-(N,N-*Diphenylcarbamoyl*-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2', 3'-O-*isopropylidenguanosin* (**116**).

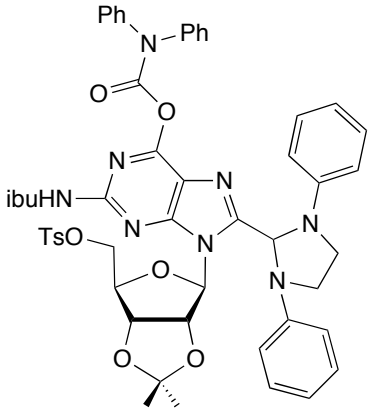


Eine Lsg. aus **115** (600 mg, 0.6 mmol) in THF (10 ml) und Pyridin (3.5 ml) wurde in einem PE-Gefäss mit HF·Pyridin (70% HF; 99 mg, 0.7 mmol) versetzt, 4 h bei

26° gerührt, mit 1 M NaOH Lsg. neutralisiert und mit CH_2Cl_2 (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (2×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **116** (414 mg, 81%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.35. $[\alpha]_D^{25}$ = +19.0 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 286 (23744), 253 (36876). FT-IR (ATR): 3280*w*, 3056*w*, 2979*w*, 1747*m*, 1621*w*, 1597*s*, 1501*s*, 1455*w*, 1415*w*, 1396*w*, 1382*w*, 1359*w*, 1265*m*, 1183*m*, 1158*m*, 1099*w*, 1066*m*, 1003*w*, 980*w*, 948*w*, 927*w*, 904*w*, 863*w*, 788*w*, 733*s*, 693*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 7.85 (*s*, HN–C(2)); 7.49, 7.48 (2*d*, *J* = 8.7, 4 ar. H); 7.40, 7.38 (2*d*, *J* = 7.7, 4 ar. H); 7.29 (*t*, *J* = 7.4, 2 ar. H); 7.20, 7.18 (2*dd*, *J* = 8.8., 7.2, 4 ar. H); 6.99, 6.95 (2*d*, *J* = 7.8, 4 ar. H); 6.82, 6.78 (2*t*, *J* = 7.2, 2 ar. H); 6.40 (*d*, *J* = 1.9, H–C(1')); 6.37 (*s*, CH–C(8)); 5.44 (*dd*, *J* = 6.3, 3.9, H–C(3')); 5.10 (*dd*, *J* = 6.4, 2.0, H–C(2')); 4.24 (*q*, *J* ≈ 4.4, H–C(4')); 4.20 (*dd*, *J* = 7.8, 3.8, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.16 (*dd*, *J* = 8.0, 5.6, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.77 (*td*, *J* = 8.1, 4.0, H_b–C(5')); 3.69 (*dd*, *J* = 8.2, 6.0, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.66 (*dd*, *J* = 8.5, 3.7, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.50 (br. *dt*, *J* ≈ 8.8, 6.0, H_b–C(5')); 3.14 (br. *t*, *J* ≈ 6.6, HO–C(5')); 2.67 (*sept.*, *J* = 6.5, Me_2CHC=O); 1.58, 1.30 (2*s*, Me_2CO_2); 1.22, 1.21 (2*d*, *J* = 6.9, Me_2CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 174.55 (*s*, NC=O); 156.43 (*s*, Ph_2NC=O); 155.19 (*s*, C(6)); 153.60 (*s*, C(4)); 151.32 (*s*, C(2)); 150.06 (*s*, C(8)); 145.59, 145.11 (2*s*, 2 ar. C); 141.89 (*s*, 2 ar. C); 134.70, 129.24, 129.18, 129.17 (4*d*, 8 ar. C); 119.62, 119.47, 119.17 (3*d*, 8 ar. C); 114.58, 114.30 (2*d*, 4 ar. C); 113.60 (*s*, Me_2CO_2); 89.71 (*d*, C(1')); 88.13 (*d*, C(4')); 84.26 (*d*, C(2')); 80.47 (*d*, C(3')); 74.20 (*d*, CH–C(8)); 62.21 (*t*, C(5')); 47.81, 47.20 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.58 (*d*, Me_2CHC=O); 27.31, 25.36 (2*q*, Me_2C); 19.25, 19.23 (2*q*, Me_2CHC=O). HR-MALDI-MS (3-HPA): 809.3404 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{45}H_{45}N_8O_7Si^+$; ber. 809.3406).

6-O-(N,N-*Diphenylcarbamoyl*-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2', 3'-O-*isopropyliden*-5'-O-(*tol*-4-*sulfonyl*)-*guanosin* (**117**).

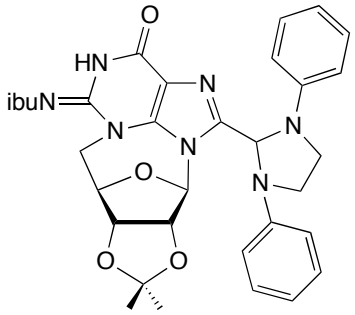


Eine Lsg. aus **116** (15 mg, 18 μmol) in Pyridin (0.4 ml) wurde mit TsCl (10 mg, 54 μmol) versetzt, 3 h bei 26° gerührt, mit ges. NH_4Cl-Lsg. neutralisiert und mit AcOEt (3×) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit H_2O (3×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/MeOH 98:2) ergab **117** (14.4 mg, 83%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 98:2) 0.45. $[\alpha]_D^{25}$ = +94.9 (c = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 286 (17220), 252 (34160). FT-IR (ATR): 3320*w*, 3062*w*, 2979*w*, 2934*w*, 1747*m*, 1718*m*, 1622*w*, 1597*s*, 1500*s*, 1457*w*, 1498*w*, 1416*m*, 1356*m*, 1321*w*, 1304*w*, 1266*m*, 1188*m*, 1175*s*, 1154*m*, 1096*w*, 1065*m*, 1003*w*, 975*s*, 929*w*, 905*w*, 857*w*, 830*w*, 812*w*, 788*w*, 751*m*, 733*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 7.86 (*s*, HN–C(2)); 7.52 (*d*, *J* = 7.5, 4 ar. H); 7.42 (*dd*, *J* = 8.5, 7.1, 4 ar. H); 7.30 (*dd*, *J* = 8.8, 7.2, 4 ar. H); 7.22 (*d*, *J* = 8.4, 2 ar. H); 7.15 (*t*, *J* = 7.6, 2 ar. H); 7.13 (*d*, *J* = 8.8., 2 ar. H); 6.86 (*t*, *J* = 7.4, 1 ar. H); 6.85 (*d*, *J* = 8.8, 2 ar. H); 6.77 (*t*, *J* = 7.3, 1 ar. H); 6.43 (*d*, *J* = 0.8, H–C(1')); 6.42 (*d*, *J* = 8.0, 2 ar. H); 6.35 (*s*, CH–C(8)); 5.46 (*dd*, *J* = 6.2, 4.3, H–C(3')); 4.63 (*dd*, *J* = 6.2, 0.9, H–C(2')); 4.37 (*ddd*, *J* = 8.8, 4.4, 4.0, H–C(4')); 4.34–4.25 (*m*, 2 H–C(5')); 4.22 (*td*, *J* = 8.0,

4.8, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.17 (*td*, *J* = 7.7, 4.2, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.75 (*td*, *J* = 8.0, 4.4, 1H von NCH_2CH_2N); 3.68 (*td*, *J* = 7.9, 4.5, 1H von NCH_2CH_2N); 2.53 (*sept.*, *J* = 6.9, $Me_2CHC{=}O$); 1.87 (*s*, Me); 1.57, 1.23 (2*s*, Me_2CO_2); 1.26, 1.20 (2*d*, *J* = 6.9, $Me_2CHC{=}O$). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 173.85 (*s*, NC=O); 156.01 (*s*, $Ph_2NC{=}O$); 154.91 (*s*, C(6)); 153.18 (*s*, C(4)); 151.25 (*s*, C(2)); 150.33 (*s*, C(8)); 145.62, 144.97, 144.37 (3*s*, 3 ar. C); 142.02 (*s*, 2 ar. C); 132.06 (*s*, ar. C); 129.42 (*d*, 6 ar. C); 129.32 (*d*, 3 ar. C); 128.63 (*d*, 4 ar. C); 127.85 (*d*, 4 ar. C); 127.24 (*s*, C(5)); 119.88, 119.57, 119.31 (3*d*, 3 ar. C); 115.21 (*d*, 2 ar. C); 114.06 (*d*, 2 ar. C); 113.93 (*s*, Me_2CO_2); 89.21 (*d*, C(1')); 87.00 (*d*, C(4')); 85.01 (*d*, C(2')); 80.63 (*d*, C(3')); 73.74 (*d*, CH–C(8)); 70.51 (*t*, C(5')); 48.04, 47.40 (2*t*, NCH_2CH_2N); 37.03 (*d*, $Me_2CHC{=}O$); 27.52, 25.67 (2*q*, Me_2C); 21.06 (*q*, Me); 19.64, 19.29 (2*q*, $Me_2CHC{=}O$). HR-MALDI-MS (3-HPA): 963.3486 (100, $[M - H^-]^+$, $C_{52}H_{51}N_8O_9Si^+$; ber. 963.3494).

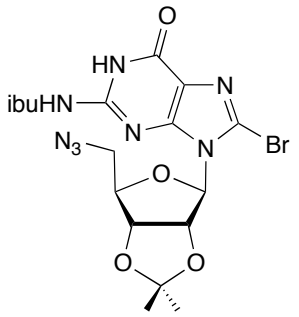
N^3,5'-*Cyklo*-5'-*desoxy*-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**113**).



Eine Lsg. aus **117** (26 mg, 27 μmol) in DMF (1 ml) wurde mit LiN_3 (13 mg, 170 mmol) versetzt, 10 h bei 80° gerührt und auf ges. $NaHCO_3$-Lsg. gegossen. Nach Extraktion mit AcOEt (3×), wurden die vereinigten org. Phasen mit H_2O (5×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft um

113 (13 mg, 81%) zu ergeben. Weisser Schaum.
Die analytischen Daten stimmen mit den oben angegebenen für **113** überein.

5'-*Azido*-8-*bromo*-5'-*desoxy*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**118**).

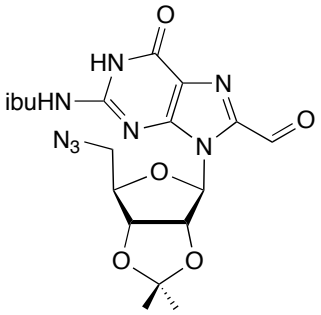


Eine Lsg. aus **23** (418 mg, 1 mmol) in MeCN/H_2O 8:2 (14 ml) wurde mit NBS (267 mg, 1.5 mmol) versetzt, 22 h bei 26° gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde mit CCl_4 versetzt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Eine Lsg. des Rückstands in AcOEt wurde mit 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lsg., H_2O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. FC (Pentan/AcOEt 1:2) ergab **118** (424 mg, 85%). Weisser Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.25. $[\alpha]_D^{25}$ = + 62.3 (c = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 288 (11875), 259 (14000), 255 (12903). FT-IR (ATR): 2972*w*, 2095*m*, 1722*w*, 1672*m*, 1598*s*, 1555*m*, 1501*m*, 1457*m*, 1416*w*, 1374*m*, 1275*w*, 1250*m*, 1186*m*, 1156*s*, 1069*s*, 1003*w*, 982*w*, 947*w*, 909*w*, 874*w*, 833*m*, 781*w*, 748*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.50 (*s*, H–N(1)); 10.08 (*s*, HN–C(2)); 6.08 (*d*, J = 2.1, H–C(1')); 5.43 (*dd*, J = 6.3, 2.1, H–C(2')); 5.06 (*dd*, J = 6.3, 4.5, H–C(3')); 4.20 (*q*, $J \approx$ 5.1, H–C(4')); 3.48 (*d*, J = 5.8, 2 H–C(5')); 2.80 (*sept.*, J = 6.8, Me_2CH); 1.56, 1.29 (2*s*, Me_2C); 1.25, 1.23 (2*d*, J = 6.8, Me_2CH). ^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 180.19 (*s*, NC=O); 154.89 (*s*, C(6)); 149.58 (*s*, C(2)); 148.47 (*s*, C(4)); 124.61 (*s*, C(8)); 122.01 (*s*, C(5)); 115.05 (*s*, Me_2CO_2); 90.65 (*d*, C(1')); 85.67 (*d*, C(4')); 83.46 (*d*, C(2')), 81.64 (*d*, C(3')); 52.24 (*t*, C(5')); 36.38 (*d*, Me_2CH); 27.44, 25.51

(2*q*, *Me*$_2$CO$_2$); 19.21, 19.15 (2*q*, *Me*$_2$CH). HR-MALDI-MS (3-HPA): 499.0869 (100, [*M* + H]$^+$, $C_{17}H_{21}{}^{81}BrN_8O_5{}^+$; ber. 499.0871), 497.0888 (100, [M + H]$^+$, $C_{17}H_{21}{}^{79}BrN_8O_5{}^+$; ber. 497.0891).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-8-*formyl*-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**119**).

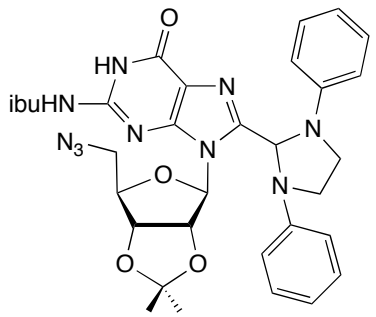


Eine Lsg. aus *i*Pr$_2$NH (571 mg, 5.6 mmol) in THF (6.5 ml) wurde auf 0° gekühlt und tropfenweise mit *n*-BuLi (1.5 M Lsg. in Hexan, 5.6 mmol) versetzt. Die gelbliche Lsg. wurde 1 h bei 0° gerührt, auf –75° gekühlt und tropfenweise mit einer Lsg. aus **118** (700 mg, 1.4 mmol) in THF (8 ml) versetzt. Die Lsg. wurde 50 min. gerührt, tropfenweise mit *i*PrMgCl (1.18 M Lsg. in THF, 8.5 mmol) versetzt, 1 h auf –73° gekühlt, auf –50° erwärmt, tropfenweise mit DMF (3.1 g, 42.3 mmol) versetzt und auf 26° erwärmt. Die Suspension wurde mit ges. NH$_4$Cl-Lsg. (400 ml) und AcOH neutralisiert. Die wässrige Phase wurde mit AcOEt extrahiert (3×). Die vereinigten org. Phasen wurden mit H$_2$O (5×) und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO$_4$) und eingedampft. FC (Toluol/Aceton 5:1) ergab **119** (125 mg, 20%). Beigefarbener Schaum.

R_f (Toluol/Aceton 4:1) 0.35. $[\alpha]_D^{25}$ = +28.5 (*c* = 0.4, CHCl$_3$). UV (CHCl$_3$): 332 (13350), 320 (14240), 289 (sh, 8988), 241 (sh, 6200). FT-IR (CHCl$_3$): 3157*w*, 2975*w*, 2936*w*, 2100*m*, 1680*s*, 1604*s*, 1555*s*, 1467*w*, 1430*w*, 1382*w*, 1250*w*, 1190*w*, 1158*m*, 1098*m*, 1075*m*, 949*w*, 864*w*, 789*w*, 755*w*, 699*w*. ^{1}H-NMR (400

MHz, $CDCl_3$; die Zuordnung basiert auf einem DQF-COSY- und einem HSQC-Spektrum): 12.30 (br. *s*, H–N(1)); 9.83 (*s*, CH=O); 9.39 (br. *s*, HN–C(2)); 6.67 (*d*, *J* = 2.8, H–C(1')); 5.20 (*dd*, *J* = 6.9, 2.8, H–C(2')); 5.10 (*dd*, *J* = 6.8, 4.9, H–C(3')); 4.14 (*q*, *J* ≈ 6.8, H–C(4')); 3.62 (*dd*, *J* = 13.7, 6.9, H_a–C(5')); 3.77 (*dd*, *J* = 13.2, 6.8 H_b–C(5')); 2.73 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2C*H*C=O); 1.56, 1.30 (2*s*, Me_2C); 1.26, 1.25 (2*d*, *J* = 6.8, *Me*$_2$CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 182.80 (*d*, CH=O); 179.35 (*s*, NC=O); 155.66 (*s*, C(6)); 150.58 (*s*, C(4)); 150.02 (*s*, C(2)); 143.26 (*s*, C(8)); 122.95 (*s*, C(5)); 115.62 (*s*, Me_2*C*O_2); 88.85 (*d*, C(1')); 85.00 (*d*, C(4')); 84.44 (*d*, C(2')); 81.72 (*d*, C(3')); 52.11 (*t*, C(5')); 36.63 (*d*, Me_2*C*HC=O); 27.35, 25.51 (2*q*, *Me*$_2$$CO_2$); 19.10, 19.05 (2*q*, *Me*$_2$CHC=O). HR-MALDI-MS (3-HPA): 447.1734 (100, $[M + H]^+$, $C_{18}H_{23}N_8O_6^+$; ber. 447.1735).

5'-*Azido*-5'-*desoxy*-8-(1,3-*diphenylimidazolidin*-2-*yl*)-N^2-*isobutyryl*-2',3'-O-*isopropylidenguanosin* (**120**).



Eine Lsg. aus **119** (20 mg, 45.0 μmol) in MeCN (0.2 ml), wurde mit DDQ (1 mg, 4.5 μmol) und 1,2-Dianilinoethan (14 mg, 67.5 μmol) versetzt, 4 h bei 26° gerührt und eingedampft. FC (CH_2Cl_2/AcOEt/MeOH 95:3:2) ergab **120** (17 mg, 85%). Beigefarbener Schaum.

R_f (CH_2Cl_2/MeOH 97:3) 0.61. $[\alpha]_D^{25}$ = +22.3 (*c* = 0.5, $CHCl_3$). UV ($CHCl_3$): 288 (13440), 251 (26770). FT-IR (ATR): 2933*w*, 2098*m*, 1671*s*, 1598*s*, 1558*m*, 1500*m*,

1422*w*, 1372*m*, 1317*w*, 1250*w*, 1192*m*, 1157*m*, 1074*m*, 998*w*, 948*w*, 909*w*, 864*w*, 786*w*, 748*s*, 731*s*, 691*s*. ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 12.05 (br. *s*, H–N(1)); 8.26 (br. *s*, HN–C(2)); 7.20, 7.18 (2*dd*, *J* = 8.7, 7.3, 4 ar. H); 6.98, 6.97 (2*d*, *J* = 8.8, 4 ar. H); 6.78, 6.76 (2*t*, *J* = 7.3, 2 ar. H); 6.36 (*d*, *J* = 1.4, H–C(1')); 6.30 (*s*, CH–C(8)); 4.96 (*dd*, *J* = 6.4, 1.6, H–C(2')); 4.94 (*dd*, *J* = 6.4, 4.4, H–C(3')); 4.20 (*dt*, *J* = 7.2, 6.8, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.12 (*dt*, *J* = 7.6, 4.4, 1 H von NCH_2CH_2N); 4.09 (*ddd*, *J* = 6.0, 5.6, 4.4, H–C(4')); 3.70 (*dt*, *J* = 7.6, 4.4, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.61 (*dt*, *J* = 7.2, 6.8, 1 H von NCH_2CH_2N); 3.35 (*dd*, *J* = 12.9, 6.0, H_a–C(5')); 3.25 (*dd*, *J* = 12.9, 5.4, H_b–C(5')); 2.61 (*sept.*, *J* = 6.9, Me_2C*H*C=O); 1.58, 1.25 (2*s*, Me_2C); 1.29, 1.26 (2*d*, *J* = 6.9, *Me*$_2$CHC=O). ^{13}C-NMR (101 MHz, $CDCl_3$): 178.30 (*s*, NC=O); 155.55 (*s*, C(6)); 148.80 (*s*, C(4)); 148.61 (*s*, C(2)); 147.06 (*s*, C(8)); 145.84, 145.52 (2*s*, 2 ar. C); 129.28 (*d*, 2 ar. C); 129.22 (*d*, 2 ar. C); 120.88 (*s*, C(5)); 119.39, 119.16 (2*d*, 2 ar. C); 114.79 (*d*, 2 ar. C); 114.72 (*s*, Me_2*C*); 114.67 (*d*, 2 ar. C); 88.68 (*d*, C(1')); 84.91 (*d*, C(4')); 84.14 (*d*, C(2')); 81.47 (*d*, C(3')); 73.98 (*d*, *C*H–C(8)); 51.78 (*t*, C(5')); 47.97, 47.35 (2*t*, NCH_2CH_2N); 36.70 (*d*, Me_2*C*HC=O); 27.58, 25.62 (2*q*, *Me*$_2CO_2$); 19.16, 19.05 (2*q*, *Me*$_2$CHC=O). Die Verbindung war sowohl unter den Bedingungen für ESI- als auch MALDI-MS instabil.

A Anhang

A.1 Kristallographische Daten

Röntgenstrukturanalyse von **23**, durchgeführt von Dr. Bernd Schweizer:
$2(C_{17}H_{22}N_8O_5)\cdot C_7H_8$. Orthorombisch; $P2_12_12_1$, $a = 9.6092$ Å, $b = 18.9891$ Å, $c = 25.9716$ Å, $\alpha = \beta = \gamma = 90°$. $V = 4739.0$ Å^3; $D_x = 1.302$ Mgm^{-3}; $Z = 4$. Die Kristalle wurden auf einem KappaCCD Diffraktometer bei 223 K vermessen. Von den 9966 gemessenen Reflexen waren 9940 unabhängig, $R_{all} = 0.1085$, $R_{gt} = 0.1783$.
Die Struktur wurde per direkter Methode (SIR 97, [140]) gelöst bzw. mit SHELXL-97 [141] verfeinert.

Tabelle A.1: Kristallographische Daten von **23**

	Abkürzung	ausgesuchte Torsionswinkel [°]
C(4)–N(9)–C(1')–O(4')	χ	75.4
O(4')–C(1')–C(2')–C(3')	ν_1	5.2
C(1')–C(2')–C(3')–C(4')	ν_2	17.7
C(2')–C(3')–C(4')–O(4')	ν_3	−35.0
C(3')–C(4')–O(4')–C(1')	ν_4	39.9
C(3')–C(4')–C(5')–N $_a$	η_1	54.8
O(4')–C(4')–C(5')–N $_a$	η_2	−63.5
N(1)–C(2)–N(2)–C(2_a)		−9.4
C(2)–N(2)–C(2_a)–O		12.5
	D$\cdots$A Abstand [Å]	Bindungswinkel [°]
C(2)–N–H $\cdots$ N(7)	1.983	165.82
N(1)–H $\cdots$ O=C	1.814	132.32

A.2 Abkürzungen

Å	Ångström (1 Å = 10^{-10}m)
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
Anal.	Analyse
Äq.	Äquivalente
aq.	wässrig
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	*t*-Butylcarbamoyl
BocON	2-(*tert*-Butoxycarbamoylimino)-2-phenylacetonitril
Bu	Butyl
t-Bu	*tert*-Butyl
Bz	Benzoyl
c	Konzentration
COSY	Korrelations-geordnete-Spektroskopie
CSA	Camphersulfonsäure
Cy	Cyklohexyl
d	dublett
d	Tag
DAE	Dianilinoethan
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	1,2-Dichlorethan

DDQ	Dichlordicyanochinon
DEAD	Diethylazodicarboxylat
dest.	destilliert
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIPA	*N,N*-Diisopropylamin
DIPEA	*N,N*-Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	*N,N*-Dimethylformamid
DOSY	Diffusions-geordnete-Spektroskopie
DPC	Diphenylcarbamoyl
DPPA	Diphenylphosphonylazid
ESI	Elektrospray Ionisierung
Et	Ethyl
FC	Blitzchromatography
gef.	gefunden
h	Stunde
HMDS	Hexamethyldisilazan
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HR	hochauflösend
HSQC	Heterokern-Einzelquantenkohärenz
ibu	Isobutyryl
IR	Infrarot
LDA	Lithiumdiisopropylamid
LTMP	Lithium-[2,2,6,6]-tetramethylpiperidid

m	multiplett
M	molar
MALDI	Matrix unterstützte Laser Desorption
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MS	Massenspektrometrie
(X Å) MS	Molekularsieb
MTPI	Methyltriphenylphosphonium-jodid
NBS	*N*-Bromsuccinimid
NMR	Kernresonanz
NOE	Kern-Overhauser-Effekt
NOESY	NOE-Differenz-Spektroskopie
org.	organisch
q	quadruplett
P_4-*t*-Bu	Phosphazene-Base-P4-*t*-Bu
Ph	Phenyl
ppm	Teile pro Million
Pr	Propyl
Rf	Retentionsfaktor
ROESY	Rotations-NOE-Differenz-Spektroskopie
RT	Raumtemperatur
s	singulett
S.	Seite
ges.	gesättigt

Lsg.	Lösung
textitt	triplett
Tab.	Tabelle
TDS	Thexyldimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
TMP	2,2,4,4-Tetramethylpiperidin
TMS	Trimethylsilyl
Ts	4-Toluolsulfonyl
VKK	Verschiebungs-Konzentrationskurve
Zers.	Zersetzung

Literaturverzeichnis

[1] E. Uhlmann, A. Peyman, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543–584.

[2] A. Vasella, *Chimia* **2005**, *59*, 785–793.

[3] F. De Giacomo, *Hydrazide-linked Oligonucleotide Analogues with Integrated Backbone and Bases*, Dissertation Nr. 18533, ETH Zürich, **2009**.

[4] K. Chiesa, *Oligonucleotide Analogues with Integrated Backbone and Bases - Amino-methylene linked Adenosine and Uridine Dinucleosides*, Dissertation Nr. 18482, ETH Zürich, **2009**.

[5] A. Matthews, P. Bhardwaj, A. Vasella, *Chem. Commun.* **2003**, 950–951.

[6] A. J. Matthews, P. K. Bhardwaj, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 2273–2295.

[7] A. Ritter, D. Egli, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 673–714.

[8] H. Rosemeyer, G. Toth, B. Golankiewicz, Z. Kazimierczuk, W. Bourgeois, U. Kretschmer, H. P. Muth, F. Seela, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5784–90.

[9] D. Egli, Dissertation in Vorbereitung, ETH Zürich, **2009**.

[10] A. Viger, *Nucleic Acid Foldamers: Thiomethylene-Bridged, Backbone-Base Dedifferentiated Di- and Tetranucleosides*, Dissertation Nr. 16060, ETH Zürich, **2005**.

[11] L. Herdeis, *Synthese eines Thiomethylenverknüpften Oktanukleosidanalogen mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen*, Dissertation Nr. 18551, ETH Zürich, **2009**.

[12] I. Bang, *Biochem Z.* **1910**, *26*, 293–311.

[13] M. Gellert, M. Lipsett, D. Davies, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1962**, *48*, 2013–2018.

[14] A. Calzolari, R. Di, Felice, E. Molinari, A. Garbesi, *Physica E* **2002**, *13*, 1236–1239.

[15] C. Detellier, P. Laszlo, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1135–41.

[16] S. Neidle, *Quadruplex Nucleic Acids*, Royal Society of Chemistry, **2006**.

[17] S. L. Forman, J. C. Fettinger, S. Pieraccini, G. Gottarelli, J. T. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4060–4067.

[18] G. N. Parkinson, M. P. H. Lee, S. Neidle, *Nature* **2002**, *417*, 876–880.

[19] S. Haider, G. N. Parkinson, S. Neidle, *J. Mol. Biol.* **2002**, *320*, 189–200.

[20] G. Laughlan, A. I. Murchie, D. G. Norman, M. H. Moore, P. C. Moody, D. M. Lilley, B. Luisi, *Science* **1994**, *265*, 520–524.

[21] T. Pinnavaia, C. Marshall, C. Mettler, C. Fisk, H. Miles, E. Becker, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3625–3627.

[22] J. Sessler, M. Sathiosatham, K. Doerr, V. Lynch, K. Abboud, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1300–1303.

[23] E. Henderson, C. Hardin, S. Walk, I. Tinoco, E. Blackburn, *Cell* **1987**, *51*, 899–908.

[24] J. Williamson, M. Raghuraman, T. Cech, *Cell* **1989**, *59*, 871–880.

[25] W. Guschlbauer, J. F. Chantot, D. Thiele, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1990**, *8*, 491–511.

[26] G. Gottarelli, S. Masiero, G. Spada, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1995**, 2555–2557.

[27] J. T. Davis, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 668–698.

[28] S. Lena, G. Brancolini, G. Gottarelli, P. Mariani, S. Masiero, A. Venturini, V. Palermo, O. Pandoli, S. Pieraccini, P. Samori, G. P. Spada, *Chemistry* **2007**, *13*, 3757–3764.

[29] T. Giorgi, S. Lena, P. Mariani, M. A. Cremonini, S. Masiero, S. Pieraccini, J. P. Rabe, P. Samori, G. P. Spada, G. Gottarelli, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14741–14749.

[30] Y. Qin, L. H. Hurley, *Biochimie* **2008**, *90*, 1149–1171.

[31] T. Simonsson, *Biol. Chem.* **2001**, *382*, 621–628.

[32] M. A. Keniry, *Biopolymers* **2000**, *56*, 123–146.

[33] S. Neidle, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Elsevier Academic Press, London, **2008**.

[34] E. Blackburn, *Nature* **1991**, *350*, 569–573.

[35] T. Cech, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 34–43.

[36] S. Neidle, M. Read, *Biopolymers* **2000**, *56*, 195–208.

[37] M. O'Reilly, S. Teichmann, D. Rhodes, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 56–65.

[38] C. Greider, E. Blackburn, *Nature* **1989**, *337*, 331–337.

[39] N. Kim, M. Piatyszek, K. Prowse, C. Harley, M. West, P. Ho, G. Coviello, W. Wright, S. Weinrich, J. Shay, *Science* **1994**, *266*, 2011–2015.

[40] W. Wright, V. Tesmer, K. Huffman, S. Levene, J. Shay, *Genes Dev.* **1997**, *11*, 2801–2809.

[41] M. Lei, E. Podell, T. Cech, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 1223–1229.

[42] D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1988**, *334*, 364–366.

[43] W. Sundquist, A. Klug, *Nature* **1989**, *342*, 825–829.

[44] S. Cogoi, L. Xodo, *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 2536–2549.

[45] S. Rankin, A. Reszka, J. Huppert, M. Zloh, G. Parkinson, A. Todd, S. Ladame, S. Balasubramanian, S. Neidle, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10584–10589.

[46] T. Dexheimer, D. Sun, L. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5404–5415.

[47] T. Simonsson, P. Pecinka, M. Kubista, *Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 1167–1172.

[48] A. Siddiqui-Jain, C. Grand, D. Bearss, L. Hurley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 11593–11598.

[49] D. Monchaud, M.-P. Teulade-Fichou, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 627–636.

[50] C. L. Grand, H. Han, R. M. Munoz, S. Weitman, D. D. V. Hoff, L. H. Hurley, D. J. Bearss, *Mol. Cancer Ther.* **2002**, *1*, 565–573.

[51] G. Saretzki, *Cancer Lett.* **2003**, *194*, 209–219.

[52] G. R. Clark, P. D. Pytel, C. J. Squire, S. Neidle, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4066–4067.

[53] C. Schaffitzel, I. Berger, J. Postberg, J. Hanes, H. J. Lipps, A. Plueckthun, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 8572–8577.

[54] N. Maizels, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2006**, *13*, 1055–1059.

[55] S. Kumari, A. Bugaut, J. Huppert, S. Balasubramanian, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 218–221.

[56] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer, **1984**.

[57] P. Herdewijn, *Liebigs Ann.* **1996**, 1337–1348.

[58] B. J. Blackburn, A. A. Grey, I. C. P. Smith, F. E. Hruska, *Can. J. Chem.* **1970**, *48*, 2866–70.

[59] C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783–92.

[60] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still, *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 440–67.

[61] H. S. Gutowsky, A. Saika, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 1688–94.

[62] G. Quinkert, E. Egert, C. Griesinger, *Aspekte der Organischen Chemie: Struktur*, Verlag Helvetica Chimica Acta, **1995**.

[63] K. Chary, G. Govil, *NMR in Biological Systems*, Springer, **2008**.

[64] S. Berger, S. Braun, *200 and more NMR Experiments*, Wiley-VCH, **2004**.

[65] M. Kaucher, Y. Lam, S. Pieraccini, G. Gottarelli, J. Davis, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 164–173.

[66] C. G. Huber, H. Oberacher, *Mass Spectrom. Rev.* **2001**, *20*, 310–343.

[67] B. Z. Manfred Hesse, Herbert Meier, *Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie*, Thieme, **2005**.

[68] N. Smargiasso, F. Rosu, W. Hsia, P. Colson, E. Baker, M. Bowers, E. De, Pauw, V. Gabelica, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10208–10216.

[69] A. D. Tullio, S. Reale, F. D. Angelis, *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 845–865.

[70] M. Przybylski, M. Glocker, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 807–826.

[71] X. Guo, S. Liu, Z. Yu, *J. Am. Soc. Mass Spectr.* **2007**, *18*, 1467–1476.

[72] M. J. Cavaluzzi, P. N. Borer, *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, e13.

[73] K. H. H. W. Gottwald, *UV/VIS-Spektroskopie für Anwender*, Wiley-VCH, **1998**.

[74] J. J. Fox, D. Shugar, *Biochim. Biophys. Acta* **1952**, *9*, 369–384.

[75] D. Voet, W. B. Gratzer, R. A. Cox, P. Doty, *Biopolymers* **1963**, *1*, 193–208.

[76] T. Ou, Y. Lu, J. Tan, Z. Huang, K. Wong, L. Gu, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 690–713.

[77] H. Ito, S. Tanaka, M. Miyasaka, *Biopolymers* **2002**, *65*, 61–80.

[78] G. G. Hammes, *Spectroscopy for the Biological Sciences*, Wiley, **2005**.

[79] P. O. P. Tso (Ed.), *Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry Vol. II*, Academic Press, **1974**, pp. 92–172.

[80] D. W. Miles, L. B. Townsend, M. J. Robins, R. K. Robins, W. H. Inskeep, H. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 1600–1608.

[81] D. W. Miles, M. J. Robins, R. K. Robins, M. W. Winkley, H. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 831–838.

[82] D. W. Miles, W. H. Inskeep, M. J. Robins, M. W. Winkley, R. K. Robins, H. Eyring, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 3872–3881.

[83] J. L. Huppert, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1375–1384.

[84] S. Pieraccini, S. Masiero, O. Pandoli, P. Samori, G. Spada, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3125–3128.

[85] D. Burge, *J. Appl. Polym. Sci.* **1979**, *24*, 293–299.

[86] M. Magar, R. Steiner, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, *224*, 80–87.

[87] G. Wedler, *Lehrbuch der Physikalischen Chemie 4. Auflage*, Wiley-VCH, **1997**.

[88] J. L. Sessler, J. Jayawickramarajah, M. Sathiosatham, C. L. Sherman, J. S. Brodbelt, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2627–2630.

[89] J. D. Dunitz, *X-Ray Analysis and the Structure of Organic Molecules*, Verlag HCA, **1995**.

[90] N. H. Campbell, G. N. Parkinson, *Methods* **2007**, *43*, 252–263.

[91] H. Günzler, H.-U. Gremlich, *IR Spectroscopy*, Wiley-VCH, **2002**.

[92] D. E. Gibbs, J. G. Verkade, *Synth. Commun.* **1976**, *6*, 563–73.

[93] B. Zhang, Z. Cui, L. Sun, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 275–8.

[94] G. H. Jones, M. Taniguchi, D. Tegg, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1309–17.

[95] F. Liu, D. J. Austin, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8643–8645.

[96] M. G. Stout, M. J. Robins, R. K. Olsen, R. K. Robins, *J. Med. Chem.* **1969**, *12*, 658–62.

[97] L. R. Comstock, S. R. Rajski, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6019–6026.

[98] I. Yamamoto, M. Sekine, T. Hata, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 306–10.

[99] S. D. Dimitrijevich, J. P. H. Verheyden, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 400–6.

[100] H. Wetter, K. Oertle, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5515–18.

[101] J. P. H. Verheyden, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3573–9.

[102] D. B. Davies, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1978**, *12*, 135–225.

[103] M. P. Schweizer, R. K. Robins, *Jerusalem Symp. Quantum Chem. Biochem.* **1973**, *5*, 329–43.

[104] H. Eyring, D. W. Miles, L. B. Townsend, M. J. Robins, R. K. Robins, W. H. Inskeep, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 1600–8.

[105] R. C. Reynolds, N. Bansal, J. Rose, J. Friedrich, W. J. Suling, J. A. Maddry, *Carbohydr. Res.* **1999**, *317*, 164–179.

[106] C. F. Lane, *Synthesis* **1975**, 135–46.

[107] G. W. Gribble, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 395–404.

[108] V. Ravi, E. Ramu, P. V. Kumar, A. S. Rao, *Chin. J. Chem.* **2006**, *24*, 807–810.

[109] N. R. Kallenbach, J. Daniel, W. E., M. A. Kaminker, *Biochemistry* **1976**, *15*, 1218–24.

[110] K. Sharp, *Protein Sci.* **2001**, *10*, 661–7.

[111] A. Cornish-Bowden, *J Biosci* **2002**, *27*, 121–6.

[112] W. R. Kirk, *J. Theor. Comput. Chem.* **2004**, *3*, 511–520.

[113] H. Yamada, K. Tanigakiuchi, K. Nagao, K. Okajima, T. Mukae, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9207–9209.

[114] Y. Okada, T. Mukae, K. Okajima, M. Taira, M. Fujita, H. Yamada, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1573–1576.

[115] H. H. Jensen, C. M. Pedersen, M. Bols, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 7576–7582.

[116] Y. Cao, Y. Kasai, M. Bando, M. Kawagoe, H. Yamada, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 2574–2578.

[117] S. Uesugi, T. Shida, M. Ikehara, *Biochemistry* **1982**, *21*, 3400–8.

[118] V. Gubala, J. E. Betancourt, J. M. Rivera, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4735–4738.

[119] H. J. Reich, D. P. Green, M. A. Medina, W. S. Goldenberg, B. O. Gudmundsson, R. R. Dykstra, N. H. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7201–7210.

[120] R. R. Fraser, T. S. Mansour, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3442–3.

[121] B. Jaun, J. Schwarz, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5741–8.

[122] H. L. van Maanen, H. Kleijn, J. T. Jastrzebski, G. van Koten, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1995**, *132*, 86–94.

[123] R. R. Fraser, T. S. Mansour, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 331–4.

[124] R. Schwesinger, H. Schlemper, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 1212–14.

[125] J. Kimura, K. Yagi, H. Suzuki, O. Mitsunobu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 3670–7.

[126] M. P. Groziak, R. Lin, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9885–9893.

[127] C. Chapuis, A. Gauvreau, A. Klaebe, A. Lattes, J. J. Perie, T. L. Tran, D. Ava., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 977–85.

[128] A. Mayence, J. J. Vanden Eynde, L. LeCour, L. A. Walker, B. L. Tekwani, T. L. Huang, *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 547–553.

[129] J. J. Vanden Eynde, A. Mayence, A. Maquestiau, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1992**, *101*, 233–6.

[130] A. Ono, T. Okamoto, M. Inada, H. Nara, A. Matsuda, *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 2231–7.

[131] J. J. Vanden Eynde, F. Delfosse, P. Lor, Y. Van Haverbeke, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 5813–18.

[132] D. G. Norman, C. B. Reese, H. T. Serafinowska, *Synthesis* **1985**, 751–4.

[133] H. C. P. F. Roelen, C. P. Saris, H. F. Brugghe, H. Van den Elst, J. G. Westra, G. A. Van der Marel, J. H. Van Boom, *Nucleic Acids Res.* **1991**, *19*, 4361–9.

[134] D. A. Evans, S. W. Kaldor, T. K. Jones, J. Clardy, T. J. Stout, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7001–31.

[135] L. C. J. Gillet, O. D. Schaerer, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4205–4208.

[136] K. P. Krasovskiy A., Krasovskaya V., *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 3024–3027.

[137] E. F. McCord, K. M. Morden, A. Pardi, J. Tinoco, Ignacio, S. G. Boxer, *Biochemistry* **1984**, *23*, 1926–34.

[138] A. Eisenfuhr, P. S. Arora, G. Sengle, L. R. Takaoka, J. S. Nowick, M. Famulok, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 235–249.

[139] K. K. Ogilvie, A. L. Schifman, C. L. Penney, *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 2230–8.

[140] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. L. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.* **1999**, *32*, 115–119.

[141] G. M. Sheldrick, T. R. Schneider, *Methods Enzymol.* **1997**, *277*, 319–343.

Lebenslauf

Martina Maria Adams

Geboren am 13. Oktober 1979 in Trier-Ehrang, Deutschland

Ausbildung

1996–1997	High-School Aufenthalt in Rio Vista, TX, USA
1999	Abitur am bischöflichen Angela-Merici-Gymnasium in Trier
1999–2004	Studium der Chemie an der Johann-Wolfgang von Goethe Universität, Frankfurt am Main
2002	Forschungspraktikum an der University of Sheffield, England, unter der Anleitung von Prof. Dr. G. Michael Blackburn
2004	Diplomarbeit: *Synthese von Fluorchinolonnukleosiden* an der Johann-Wolfgang von Goethe Universität, Frankfurt am Main, unter der Anleitung von Prof. Dr. Joachim W. Engels
2005–2009	Doktorat an der ETH Zürich unter der Anleitung von Prof. Dr. Andrea T. Vasella

Assistententätigkeit

2006–2009	Assistentin des organisch-chemischen Grundpraktikums für Chemiker, Biologen und Pharmazeuten (fünf Semester)
2007	Betreuung einer Forschungsarbeit (vier Monate)
2008	Assistentin des anorganisch-chemischen Grundpraktikums für Biologen und Pharmazeuten

Auszeichnungen

1996–1997	Stipendiatin des Parlamentarischen-Patenschafts-Programms
1999	Abiturpreis des rheinland-pfälzischen Kultusministers für besonderes Engagement während der Schulzeit
2001–2004	Stipendiatin der Begabtenförderung der Konrad-Adenauer-Stiftung
2005–2006	Stipendiatin der Novartis-Fellowship-Foundation

Zürich, im August 2009

Martina Adams