



universität
wien

DISSERTATION

Titel der Dissertation

Synthese und Umwandlung von Hexosenukleinsäuren

angestrebter akademischer Grad

Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser:	Mag. pharm. Karmin Saadat
Matrikel-Nummer:	A9504741
Dissertationsgebiet Studienblatt):	(It. 449 Pharmazie
Betreuerin / Betreuer:	Univ. Prof. Mag. Dipl.-Ing. Dr. Christian Noe

Wien, im Dezember 2010

Vorwort

Diese Dissertation entstand am Department für Medizinisch / Pharmazeutische Chemie der Universität Wien zwischen November 2005 und Dezember 2010.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich besonders bei Univ.-Prof. Dr. Christian R. Noe für die Möglichkeit diese Arbeit an diesem Department durchzuführen, für die ständige Betreuung und für die Anleitung zur selbstständigen Arbeit bedanken. Weiters danke ich Prof. Noe für die spannende Aufgabenstellung und die vielen interessanten, fachlichen Gespräche während meiner Zeit als Dissertant. Für die Anstellung als Dissertant bei der Pharmacon GmbH und auf der Universität Wien und damit der finanziellen Basis für diese Arbeit danke ich DDr. Marion Noe und Prof. Noe.

Prof. Dr. Ernst Urban möchte ich für die Unterstützung insbesondere beim Messen und der Interpretation von NMR-Spektren sowie der Hilfestellung zur Strukturaufklärung bedanken.

Priv. Doz. Dr. Irene Lagoja möchte ich für die Unterstützung insbesondere bei der Korrektur und für die vielen Ratschläge für das Verfassen der Arbeit danken.

Bei Dr. Bodo Lachmann möchte ich mich für die Messung der Massenspektren bedanken.

Dr. Winfried Neuhaus bin ich für die gute Zusammenarbeit und die Durchführung von Zellkulturtests dankbar.

Meinen Kollegen am Department für Medizinische / Pharmazeutische Chemie bin ich für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und den fachlichen Austausch dankbar. Im Speziellen waren dies Dr. Johannes Winkler, DI Gerhard Stoiber, DI Michael Sonntagbauer, Dr. Christian Stanetty, DI Michael Zwickovits, Mag. Mehrdad Dirin, Dr. Ursula Berndt, Dr. Simon Eppacher und DI Wilhelm Herok.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für die ständige uneingeschränkte Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	5
1.1	CHEMOTHERAPIE.....	5
1.1.1	Antagonisten von Purin- und Pyrimidinbasen	10
1.2	ZUCKERCHEMIE.....	16
1.2.1	Struktur der Monosacharide	18
1.2.2	Theorien zur prebiotischen Synthese von Zuckern.....	23
1.3	SYNTHESE VON NUKLEOSIDEN	26
1.3.1	Methoden der Nukleosidsynthese	28
2	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	35
2.1	ZIELSETZUNG	35
2.2	RESULTATE UND DISKUSSION.....	36
2.3	HERSTELLUNG VON DERIVATEN DES HOMOGEM-CITABIN	39
2.3.1	Synthese des Epoxids	39
2.3.2	Synthese des 6'-Deoxyhomogemcitabin.....	42
2.4	PROZESSENTWICKLUNG 6-DEOXY-D-GLUCOSE	47
2.5	AUFBAU EINER SYNTHESSEQUENZ ZUR HERSTELLUNG VON HOMONUKLEOSIDEN	54
2.6	DIE SYNTHESE VON HOMOGEMCITABIN	72
2.7	TESTUNGEN DES HOMOGEMCITABIN AN ZELLKULTUREN.....	97
3	EXPERIMENTELLER TEIL	100
	VERWENDETE ABKÜRZUNGEN:	104
	6-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 35	107
	6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 36	108
	6-Deoxy-D-glucopyranose 37	109
	3-Benzoyl-6-deoxy-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 43	110
	6-Deoxy-5-oxo-1,2-isopropyliden-D-xylo-hexofuranose 42.....	112
	6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-3-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 45.....	114
	6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 46.....	116
	6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-3-oxo-1,2-isopropyliden-D-glucufuranose 47	118
	6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose 48.....	120
	6-Deoxy-3-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose 53.....	122
	6-Deoxy-3,5-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose 50	124
	6-Deoxy-1,2,3,5-O-tetrabenzoyl-D-allofuranose 52	126
	1,2,5,6-Diisopropyliden-3-oxo- α -D-ribo-hexofuranose 2	128
	1,2,5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose 3	129
	1,2-Isopropyliden-D-allofuranose 17	130
	1,2,5,6-O-Diisopropyliden-3-benzoyl-D-allofuranose 4	131
	3-Benzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose 5	132
	3,5,6-O-Tribenzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose 6	134
	3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose 7 / 2,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose 8	136
	1,2,3,5,6-O-Pentabenzoyl-D-allofuranose 14.....	138
	1-[2,3,5,6-O-Tetrabenzoyl-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 15	140
	1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 12	142
	1-[2-Oxo-3,5,6-O-Tribenzoyl- β -D-ribohexofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 13.....	144
	1-[5,6-O-Dibenzoyl- β -D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 54	146
	3,5,6-Tribenzoyl-1,2-diphenoxyacetyl-D-allofuranose 10.....	148
	1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-2-phenoxyacetyl- β -D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 11.....	150
	3,5,6-O-Tribenzyl-D-allofuranose 18	154
	1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl- α -D-allofuranose 24.....	156
	1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-ribohexofuranose 25.....	157
	1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranose 20	159
	1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl- β -D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 21	161
	1-[3,5,6-O-Tribenzyl- β -D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 22	163
	1-[3,5,6-O-Tribenzyl-2-oxo- β -D-ribo-hexo-furanosyl]-N-acetyl-cytosin 23	165
	1-[3,5,6-O-Tribenzyl- β -D-allofuranosyl]-cytosin 55.....	167
	3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-glucufuranose 28	169

3,5,6-O-Tribenzyl-D-glucofuranose 29	171
1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-glucofuranose 34 / 35	172
1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-arabino-hexofuranose 36 / 37	174
1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-gluco-furanose 30	176
1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 63	178
1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 64	180
1-[6-Deoxy-2,3,5-O-tribenzoyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin 65	181
3,5,6-Tribenzoyl-1-trichloracetimin-2-dideoxy-2-difluor-L-lyxo-hexo-furanose 56	183
N-Phthaloyl-2'-oxo-3',5',6'-O-tribenzyl-β-D-ribo-hexo-furanosyl-cytosin 57	185
Verbindung KS-GC-58	187
N-Dimethoxytriphenylmethyl-2',2'-deoxy-difluor-α-L-lyxo-hexofuranosyl-cytosin 38	188
6-O-Tosyl-N-dimethoxytriphenylmethyl-2'-deoxy-difluor-α-L-lyxo-hexofuranosyl-cytosin 39	190
5,6-Oxiranyl-2'-deoxy-2'-difluor- α-L-lyxo-hexofuranosyl-N-(dimethoxytriphenyl-methyl)- cytosin 40	192
6'-O-Methyl-2'-deoxy-2'-difluor- α-L-lyxo-hexo-furanosyl-N-(dimethoxy-triphenyl-methyl)- cytosin 66	193
6'-O-Deoxy-β-D-allofuranosyl-cytosin 59	194
6-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose 60	195
6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-allofuranose 61	196
5',6'-Oxiranyl-homogemcitabin 62	197
4 ZUSAMMENFASSUNG.....	198
5 LEBENSLAUF	200

1 Einleitung

1.1 Chemotherapie

Voraussetzung für das Überleben vielzelliger Organismen ist die Aufrechterhaltung der Gewebshomöostase (Selbstregulation), d.h. der Organismus muss in der Lage sein Zellen eines best. Organs oder Gewebes neu zu bilden oder bei Zellschädigung zu entfernen. Die maligne Transformation von Zellen ist auf Veränderungen von Genen zurückzuführen, deren Produkte (Proteine) an der Regulation des Zellwachstums und der Apoptose beteiligt sind.

Tumoren konnten lange Zeit nur lokal durch chirurgischen Eingriff oder durch Bestrahlung behandelt werden. Nichtlokalisierte Tumoren, wie Leukämien oder viele durch Absiedelung von Zellen aus dem Primärtumor entstehende Metastasen waren auf diesem Wege überhaupt nicht erreichbar. Die Entwicklung systemisch wirksamer Arzneimittel stellt deshalb eine wesentliche Erweiterung der Möglichkeiten in der Tumorthherapie dar.¹

Bei Cytostatika, (*Cyto* = Zelle und *statik* = anhalten) handelt es sich um natürliche oder synthetische Substanzen, die das Zellwachstum bzw. Zellteilung hemmen.

Dadurch können sie zur Behandlung von Krebs (Chemotherapie), teilweise auch bei der Behandlung von Autoimmunerkrankungen eingesetzt werden.

Wie bei der Operation und Bestrahlung muss auch bei der Chemotherapie zwischen einer kurativen Therapie, bei der die Heilung Behandlungsziel ist, und einer palliativen Therapie, die die Linderung der Beschwerden und/oder eine geringfügige Lebensverlängerung zum Ziel hat, unterschieden werden.

¹ Aus „Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie“ W. Fort, D. Henschler, W. Rummel, K. Starke, Spektrum Akademischer Verlag, 7. Auflage, 1996

Tumorzellen besitzen eine erhöhte Zellteilungsrate und eingeschränkte Reparaturkapazität aus diesem Grund sind sie etwas empfindlicher gegenüber Cytostatika als gesunde Zellen. Cytostatika schädigen vor allem schnell wachsende Zellen wie Epithelzellen (u.a. Haarwurzelzellen, Schleimhautepithel von Mund und Magen-Darm-Trakt).

Eine Heilung mit Cytostatika, d.h. Abtötung aller entarteter Zellen, ist nur bei wenigen bösartigen Geschwülsten möglich, z.B. bei kindlichen embryonalen Tumoren, Lymphomen, akuten lymphatischen Leukämien, Morbus Hodgkin, Hodentumoren sowie seit einiger Zeit auch Osteosarkomen. Die Mehrzahl der soliden Tumoren, z.B. Bronchial-, Pankreas-, Mamma- oder Ovarialkarzinomen, ist dagegen nur einer palliativen Behandlung zugänglich.

Vielfach steht der Heilung eine Resistenzentwicklung der Tumorzellen unter der Therapie oder das Auftreten schwerwiegender, d.h. dosisbegrenzender Nebenwirkungen entgegen.

Weiters kann nur ein Teil der Krebszellen irreversibel geschädigt bzw. klinisch lediglich eine längerfristige Remission erzielt werden, da sich die anderen Zellen anschließend wieder vermehren und so zum Rezidiv führen. Durch eine vorübergehende Tumorremission werden jedoch die Beschwerden geringer, Lebensqualität und Lebensdauer können zunehmen.

Eine Möglichkeit der Wirkungssteigerung ohne einen parallelen Anstieg schwerer Toxizität besteht in der intermittierenden Verabreichung von Cytostatika. Die Erholungszeit der durch die Cytostatika geschädigten normalen Gewebe (z.B. Knochenmark und Darmepithel) ist kürzer als die der Tumorzellen, so dass nach einem entsprechenden Therapieintervall die normalen Gewebe sich im Gegensatz zu dem Tumor bereits wieder erholt haben.

Einer modernen Chemotherapie steht heute eine breite Palette verschiedener Wirkstoffe mit unterschiedlichen Wirkmechanismen zur Verfügung (Abbildung 1.1).

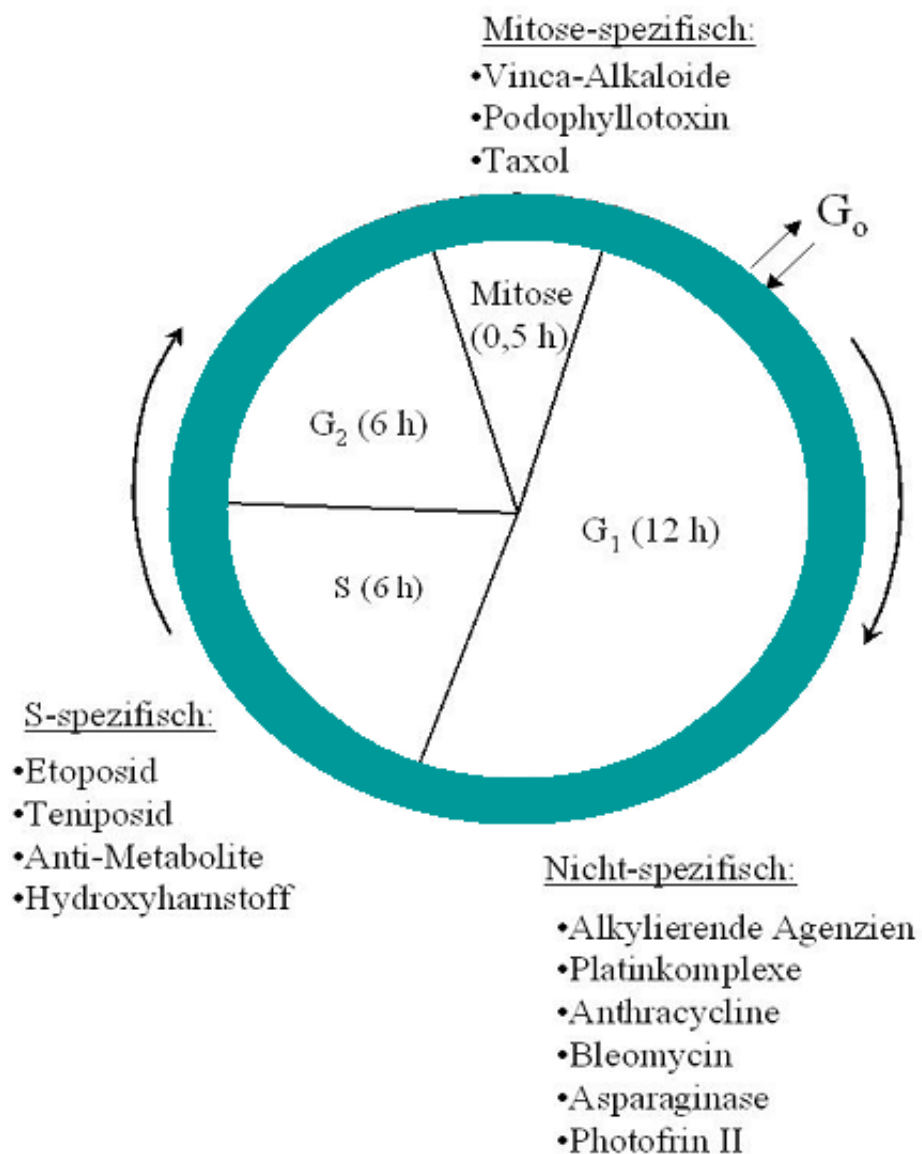


Abbildung 1.1 Die Zell-Zykluspezifität der Zytostatika

• Hormone und Hormonrezeptorantagonisten

Bestimmte Krebsarten, an deren Zellen Hormonrezeptoren nachgewiesen wurden, können oft über viele Jahre mit antihormonellen Maßnahmen erfolgreich behandelt werden. Eine solche Therapie kommt bisher bei Brust-, Gebärmutter- und Prostatakrebs in Betracht. Dabei werden Medikamente verabreicht, die die Produktion oder Wirkung von Östrogen bzw. Testosteron im Körper verringern.

- **DNA modifizierende Wirkstoffe**

- **Alkylantien**

Da Alkylantien, die ältesten Cytostatika, mit zwei oder mehr *funktionellen Gruppen* versehen sind, können sie zwei DNA-Stränge vernetzen und dadurch verhindern, dass diese während der Zellteilung korrekt verdoppelt werden. Die Wirkung beruht also auf einer Hemmung der DNA-Replikation. Alkylantien sind mutagen und karzinogen.

Sie werden bei Lymphomen, Leukämie, Brust- und Lungenkrebs sowie bei Sarkomen noch oft eingesetzt. Besondere Bedeutung haben sie gegen bösartige Hirntumore. Ihre Hauptnebenwirkungen sind Übelkeit, Anämie und Immunschwächung. Die Wirkung von Alkylantien wurde während der Giftgaseinsätze im ersten Weltkrieg beobachtet (LOST).

- **Platin Verbindungen**

Platin Verbindungen gehören zu den wirksamsten Chemotherapeutika überhaupt. Sie verursachen ebenfalls Quervernetzungen der DNA durch kovalente Bindung des Platinatoms an zwei Nukleinbasen. Ihr Haupteinsatzgebiet sind Hoden- Gebärmutter- und Eierstockkrebs sowie Tumoren der Halsregion. Ein neueres Platin-Analogon, Oxaliplatin, wird zurzeit bei Darmkrebs eingesetzt. Auch diese Substanzklasse ist mit schweren Nebenwirkungen behaftet (Übelkeit, Anämie, Nerven- und Nierenschäden).

- **DNA interkalierende Wirkstoffe**

Interkalantien binden nichtkovalent an die DNA und verhindern die Anbindung der Polymerasen, welche zur Replikation und Transkription der Erbsubstanz dienen. Dadurch werden Zellteilung und Zellfunktion gestört. Die Substanzen werden wegen der geringen Rate an resistenten Tumoren sehr oft und bei fast allen soliden Tumoren eingesetzt und eignen sich auch als Mono-Therapie bei Patienten, die andere stark wirksame Kombinationen nicht vertragen. Übelkeit und Anämie, sowie verschiedene Organschäden sind ihre häufigsten Nebenwirkungen.

- **Topoisomerase Hemmstoffe**

Topoisomerase I und II sind Enzyme, welche gezielte, reversible Unterbrechungen im DNA-Strang herstellen. Die Hemmung bewirkt irreguläre, nicht behebbare DNA-Brüche und spontane Vernetzungen. Diese neue Substanzklasse ist viel

versprechend bei soliden Tumoren, Lymphomen, Hirntumoren und kindlichen Tumoren. Ihre Neigung zur Knochenmarksdepression (Anämie) ist allerdings gefürchtet.

- **Mitosehemmstoffe**

Diese Stoffe binden an das Tubulin, ein Eiweißmakromolekül, welches zur Zellteilung (Mitose) notwendig ist. Tubuline werden als intrazellulär benötigte Proteine an Freien Ribosomen gebildet (IMPP). Der Einsatz ist bei Lymphomen und Leukämien, seltener bei soliden Tumoren üblich. Ihre unangenehmste Nebenwirkung ist eine Schädigung des Nervensystems.

- **Enzyme**

Gesunde Zellen können eigenes Asparagin herstellen. Bestimmte Leukämie- und Tumorzellen sind nicht in der Lage, das für sie essentielle Asparagin zu synthetisieren. Sie sind daher abhängig von zirkulierendem Asparagin. Ihr Wachstum kann durch Asparagin-spaltende Enzyme wie L-Asparaginase und Pegaspargase gehemmt werden. Asparaginase katalysiert die Spaltung von Asparagin in Asparaginsäure und Ammonium und sorgt so für eine niedrige Asparaginkonzentration im Blut.

- **Radioisotope**

Ziel der Therapie ist es entartete Zellen an der weiteren Teilung zu hindern und infolge deren Absterben zu erreichen. Allerdings werden auch gesunde Zellen durch die Bestrahlung beschädigt; Die gesunden Zellen können sich eher reparieren als die Krebszellen. Letztere fallen dem "Beschuss" also eher zum Opfer als gesunde Zellen. Hauptsächlich zum Einsatz kommen energiereiche elektromagnetische Strahlen (Röntgenstrahlen, Ultraröntgenstrahlen, Gammastrahlen, Telegammastrahlen) und Teilchenstrahlen (beschleunigte Elektronen, Ionen, Schwerionen, Protonen, Neutronen).

- **Photodynamische Tumorthherapie**

Unter der Photodynamischen Therapie (PDT) versteht man ein Verfahren zur Behandlung von Tumoren mit Licht in Kombination mit einem so genannten Photosensibilisator. Dazu wird dem Patienten ein solcher Photosensibilisator verabreicht, der sich selektiv im Tumor anreichert. Anschließend wird der Tumor und das ihn umgebende Gewebe mit Licht geeigneter Wellenlänge bestrahlt.

Dabei werden durch photochemische Prozesse im Tumor toxische Substanzen erzeugt, die ihn selektiv zerstören.

- **Antimetabolite**

Antimetabolite werden als falsche Bausteine in die DNA oder RNA eingebaut oder verhindern den Einbau der korrekten Bausteine, und stören so die Zellteilung und den Stoffwechsel. Ihre Nebenwirkungen sind Übelkeit und Anämie, sowie Nierenschäden. Darm- und Brustkrebs und viele andere solide Tumoren, sowie Leukämie sind die Einsatzgebiete für Antimetaboliten. Man vermutet, dass die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Strahlung gesteigert wird. 5-Fluorouracil ist aus diesem Grund die wichtigste Substanz in der Radiochemotherapie.

Das Thema Nukleosidtherapeutika, Modifikationen der Zuckerbausteine ist Gegenstand der vorliegenden Dissertation. Aus diesem Grunde wird auf das Thema „Antimetabolite“ ausführlicher eingegangen.

1.1.1 Antagonisten von Purin- und Pyrimidinbasen

Tumorantimetabolite sind Stoffe, die Stoffwechselprodukte verdrängen und dadurch Stoffwechsel und Zellteilung stören. Neben Methotrexat kommen aus dieser Gruppe Antagonisten von Purin- und Pyrimidinbasen zum Einsatz. Zu den Purin-Analoga gehören Cladribin, Fludarabin, Mercaptopurin, Thioguanin sowie Pentostatin. Zu den Pyrimidin-Analogen werden Fluorouracil, Cytarabin und Gemcitabin gerechnet. Abhängig von der zugrunde liegenden natürlichen Base (Uracil / Cytosin) kann eine weitere Feineinteilung der Pyrimidin Antimetabolite vorgenommen werden. Die hier vorgestellten Antimetabolite werden zunächst zu den entsprechenden Triphosphaten metabolisiert. Nukleosidtriphosphate werden von der DNA-Polymerase als Substrate für die DNA-Synthese benötigt, der Einbau falscher Substrate führt zur Hemmung der Replikation.² In Abbildung 2 werden die Strukturen der wichtigsten Tumorantimetabolite wiedergegeben.

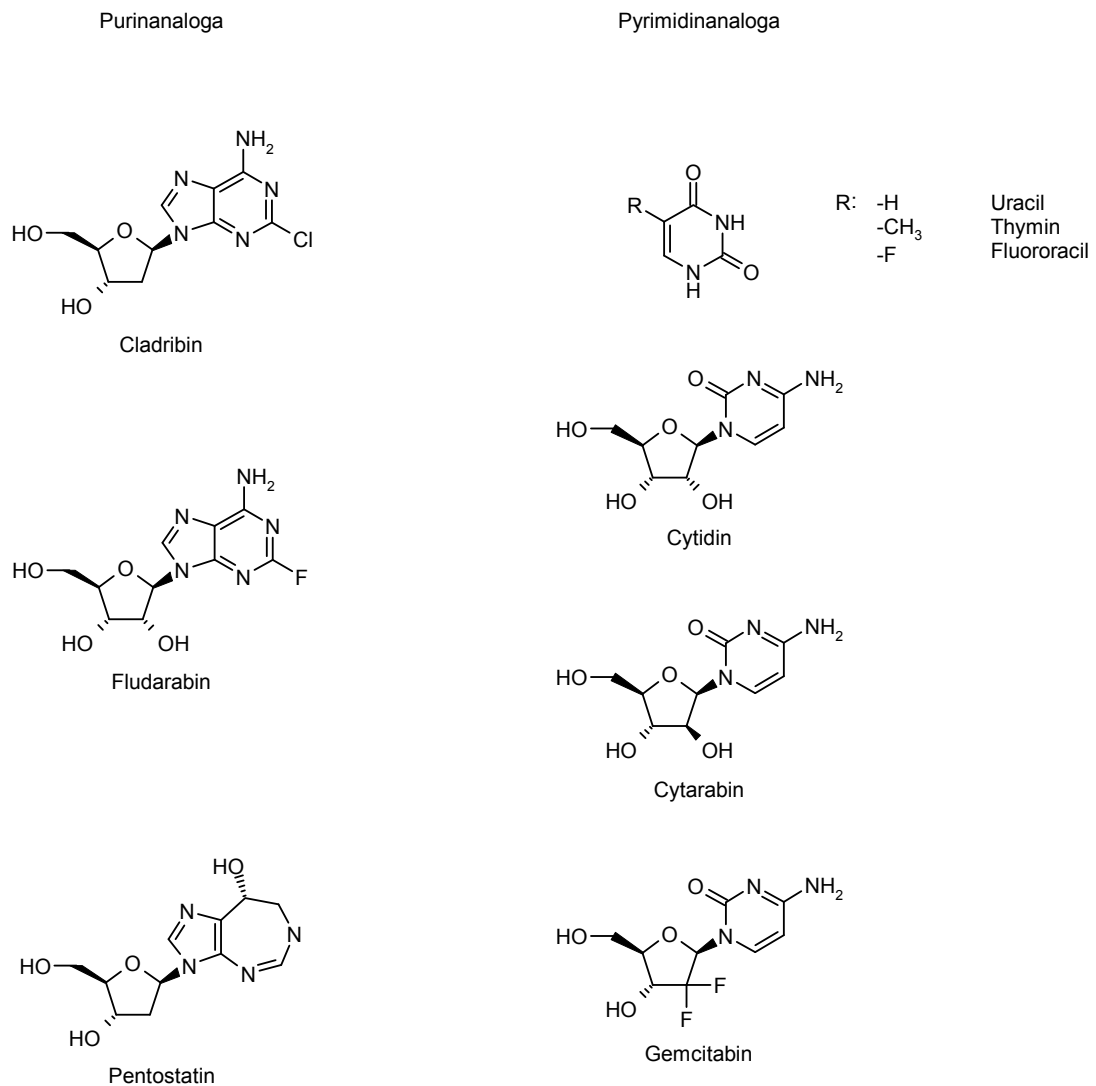


Abbildung 1.2 Tumorantimetabolite aus der Purin (links)- und Pyrimidin-(rechts) Reihe

Die allgemeine Wirkweise von Tumorantimetaboliten soll im Folgenden mit dem Beispiel des Wirkstoffes Gemcitabin (Gemzar ®) verdeutlicht werden.

Gemcitabin (2',2'-Difluordesoxycytidin) ist ein Nukleosid aus Cytosin und einer difluorierten Desoxyribose.

Da Gemcitabin erst in der Zelle durch ein Enzym in die Wirkform umgewandelt wird, fällt diesem Enzym eine besondere Bedeutung zu. Die Wirksamkeit von Gemcitabin, einem Pyrimidinanalogon, ist von der Dosis, aber auch von der Infusionsdauer abhängig.. Es handelt sich um ein Prodrug, das erst in der

² Aus "Arzneimittelwirkungen" E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K: Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 9. Auflage, 2008.

menschlichen Zelle zu seiner eigentlichen Wirkform umgewandelt wird. Die zytostatische Wirkung von Gemcitabin beruht darauf, dass statt des menschlichen Nukleosids Cytidin die Wirkform des Gemcitabin, das Gemcitabintriphosphat, in die DNA eingebaut wird. Dadurch wird die DNA-Synthese unterbrochen und es kommt zum Zelltod.

Gemcitabin wird durch vereinfachte Diffusion durch hENT (**h**umane **E**quibrative **N**ukleosid **T**ransporter) oder hCNT (**h**umane **C**oncentrative **N**ukleosid **T**ransporter) durch die Zellmembran transportiert^{3,4}. Die Aufnahme von Gemcitabin in die Zelle wird wahrscheinlich durch hENT1, hENT2 und hCNT1, aber nicht durch hCNT2 vermittelt. Außerdem geht man davon aus, dass Gemcitabin ein Substrat für hENT3 ist⁵.

Intrazellulär wird Gemcitabin durch das Enzym Deoxycytidinkinase, das eine Phosphatgruppe an die Hydroxygruppe in Position 5' der Ribose einführt, aktiviert. Zunächst entsteht das Monophosphat (2',2'-Difluordeoxycytidinmonophosphat dFdCMP). Weitere Phosphorylierung führt zu den aktiven Metaboliten Gemcitabindiphosphat (dFdCDP) und dem Triphosphat (dFdCTP), die an der DNA und RNA angreifen und für den cytotoxischen Effekt verantwortlich gemacht werden (Abbildung 1.3).

³ Heinemann, V.; Hertel LW; Grindey G, B; *Cancer Res.* **1988**, 48, 4024 – 4031.

⁴ Mackey J, R; Mani R. S.; Selner M.; *Cancer Res.* **1998**, 58, 4349 – 4357.

⁵ Ritzel M.; Ng A., M.; Yao S. Y.; *Mol. Membr. Biol.*, **2001**, 18, 65 – 72.

Außerdem wurden mehrere selbst potenzierende Effekte, die zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration des aktiven Metaboliten führen, beschrieben. Dazu gehören die Inhibierung der dCMP-Deaminase und die Hemmung der CTP-Synthetase. In Abbildung 1.4 wird die Bindung von Gemcitabin an das Enzym dargestellt.⁶

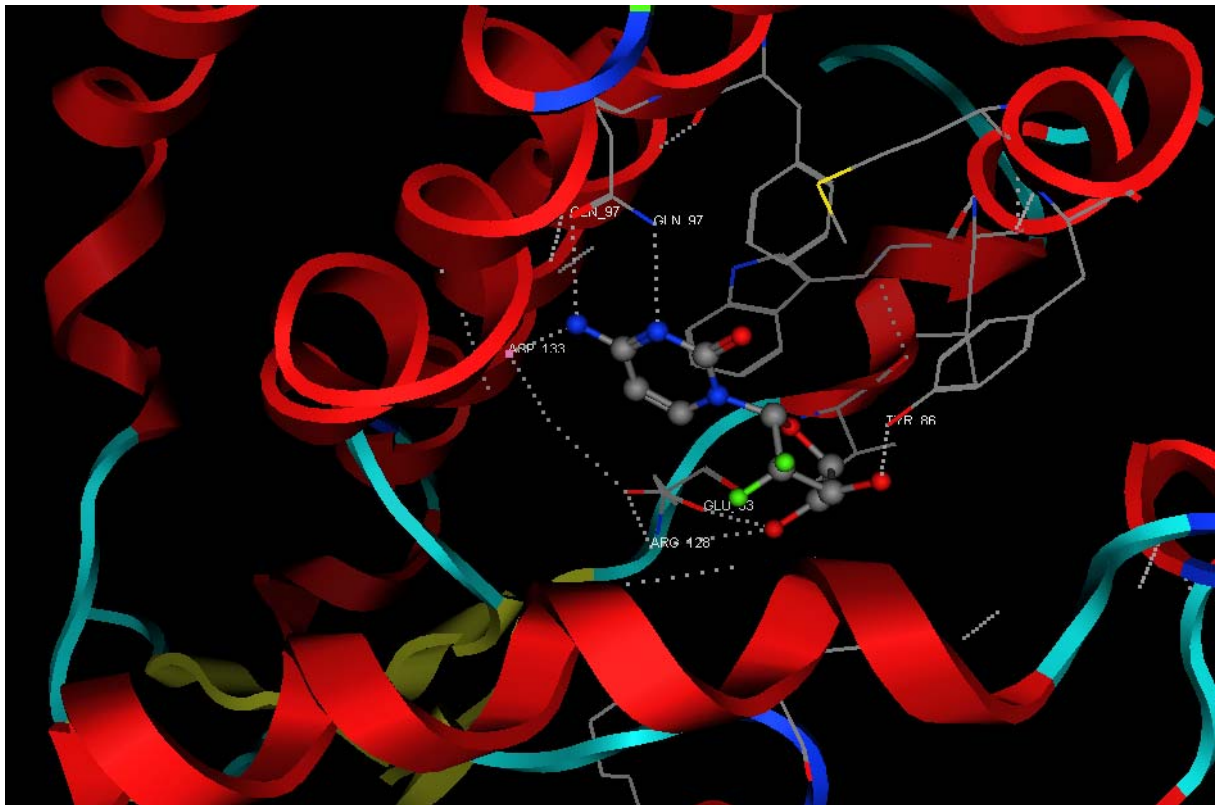


Abbildung 1.4 Gemcitabin in der Bindungstasche am Enzym (Abbildung aus Proteindatenbank, Wasserstoffbrückenbindungen mit MOE berechnet)

Die Inaktivierung von Gemcitabin läuft über Deaminierung von Gemcitabin beziehungsweise dFdCMP zu den Abbauprodukten 2',2'-Difluor-2'-Deoxyuridin (dFdU) respektive 2',2'-Difluor-2'-Deoxyuridinmonophosphat (dFdUMP). Die Deaminierung wird durch die Enzyme Deoxycytidineaminase und Deoxycytidylatdeaminase verursacht. dFdU ist circa 1000 Mal weniger aktiv als Gemcitabin.

⁶ Pauwels, B.; Korst, A. E. C.; Lardon F.; Vermorken J. B.; *Oncologist*, **2005**, *10*, 34 – 51.

Kombination von Gemcitabin mit Strahlentherapie

Zusätzlich zum cytotoxischen Effekt ist Gemcitabin ein potenter Radiosensitizer. Nukleosidanaloga sind aus verschiedenen Gründen attraktive Wirkstoffe für die Kombination mit Strahlentherapie. Erstens verhindern Nukleoside, die die DNA-Synthese hemmen, potentiell die Reparatur des durch Strahlentherapie verursachten Schadens am Genom. Zweitens können sie dadurch, dass sie vorzugsweise auf schnell proliferierende Zellen cytotoxisch wirken, die Anzahl der neu gebildeten Tumorzellen während fraktionierter Strahlentherapie senken. Durch das Schrumpfen des Tumorgewebes durch Antimetaboliten wird die Tumorumgebung besser durchblutet, besser mit Sauerstoff versorgt und in weiterer Folge der Strahlentherapie leichter zugänglich gemacht.

Drittens, induzieren Nukleosidanaloga DNA-Kettenabbruch. Sie beeinflussen damit auch den DNA Reparaturmechanismus und lösen eine Apoptoseantwort aus, ähnlich wie sie auch während der Replikationsphase beobachtet wird (Abbildung 1.5).

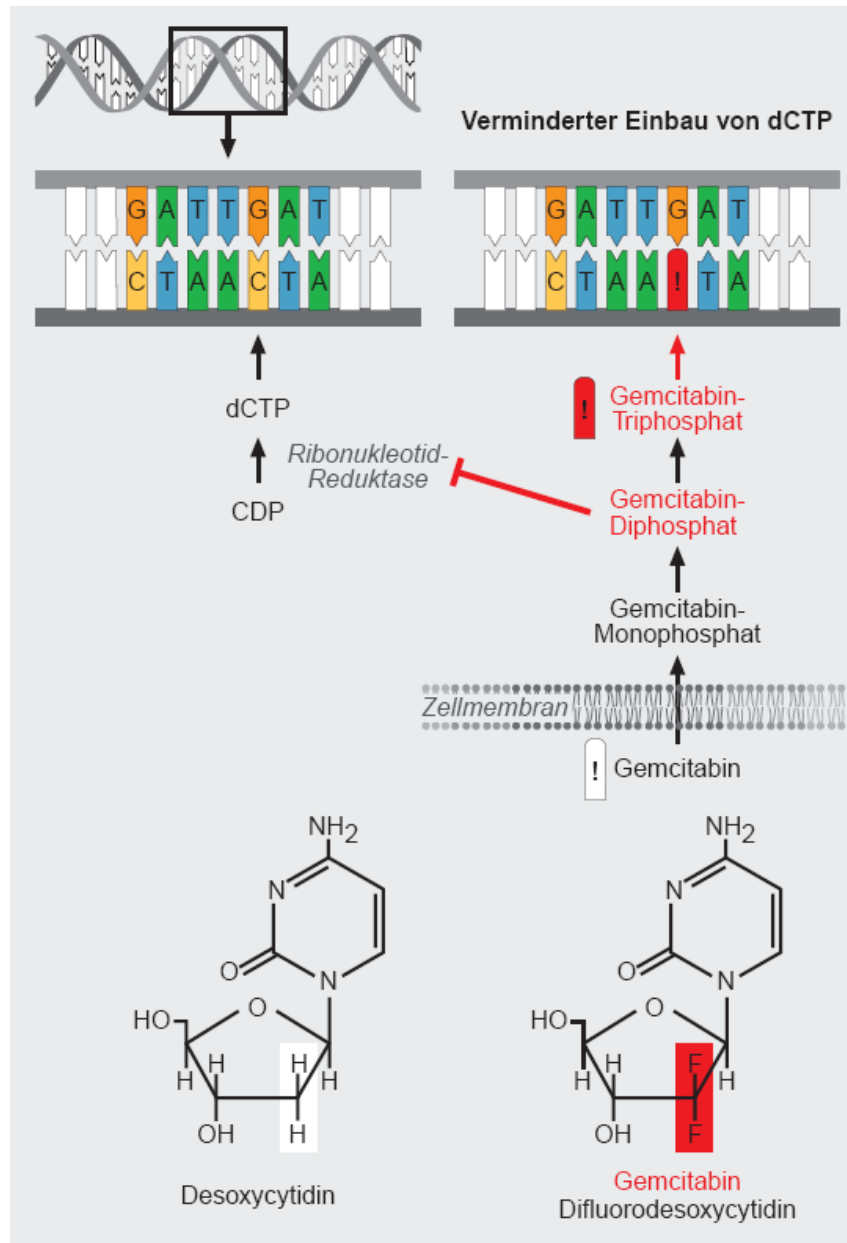


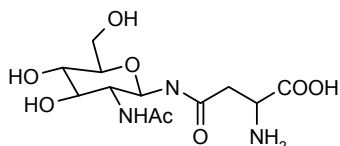
Abbildung 1.5 Einbau von dCTP in die DNA

1.2 Zuckerchemie

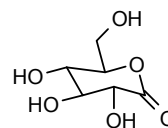
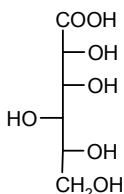
Kohlenhydrate gehören zu den am weitesten verbreiteten Gruppen der natürlichen Produkte. Sie sind primäre biologische Substanzen, die als Monosaccharide, Oligo- und Polysaccharide metabolisiert werden. Kohlenhydrate sind wichtige Nährstoffe, die den Körper mit Energie versorgen. Sie werden zu mehreren Milliarden Tonnen täglich von Pflanzen und Cyanobakterien durch Photosynthese produziert.

Die üblichen Monosaccharide bilden 5- oder 6-gliedrige heterocyclische Ringe, die Hemiacetale bzw. Acetale bilden. Im weiteren Sinne ist der Begriff Kohlenhydrate nicht nur auf Mono-, Oligo- und Polysaccharide, sondern auch auf Substanzen, die aus Monosacchariden entstehen, z.B. Alditole, durch Reduktion der Carbonylgruppe, Deoxyderivate, durch Austausch einer oder mehrerer Hydroxygruppen mit Wasserstoff, oder Derivate mit Amino-, Thiol- oder einer ähnlicher Gruppe, anwendbar.¹⁹

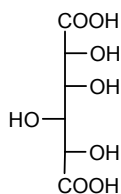
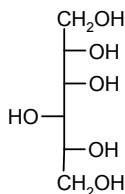
N-, C-Glykoside



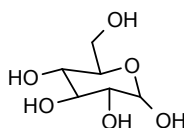
Aldonsäuren / Aldonolaktone



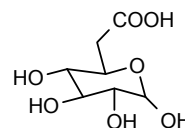
Alditole / Arsäuren



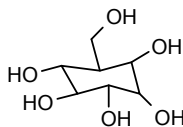
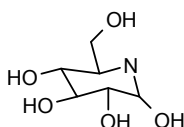
Monosaccharide



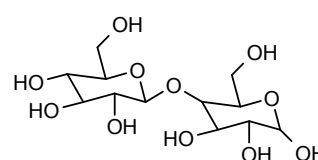
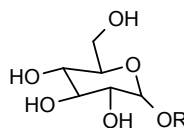
Uronsäuren



Aza-Zucker / Inositate



Glykoside



Schema 1.1 Gruppen der Kohlenhydrate

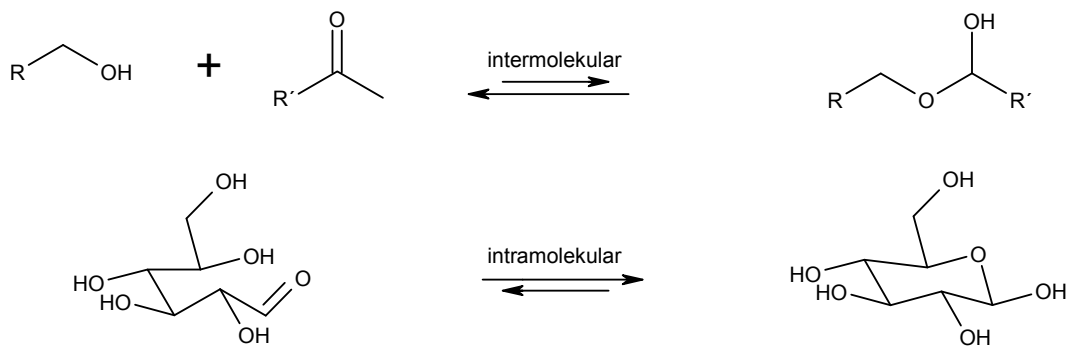
Die strukturelle und stereochemische Vielfalt der Kohlenhydrate macht die Zuckerchemie zu einem anspruchsvollen Gebiet der organischen Chemie. Die ursprünglichen Arbeiten auf diesem Feld beschäftigten sich hauptsächlich mit der Aufklärung der Struktur der einfachen Monosaccharide. Emil Fischer hat zu Ende

des 19. Jahrhunderts viele dieser Fragen beantwortet. In den 1960er Jahren wurden viele Fragen zur Speicherung und Bereitstellung von Energie im menschlichen Körper und der Mechanismus der Biosynthese und des Metabolismus der Kohlenhydrate geklärt. Nach Isolierung von biologisch aktiven Substanzen aus Mikroorganismen, wie z.B: Antibiotika, die aus unüblichen Kohlenhydraten aufgebaut sind, wurde vermehrt auf diesem Gebiet geforscht. Die Aufklärung der Struktur einiger wichtiger biologisch aktiver Sacharide wie z.B. der Schleimhülle der eukaryotischen Zellen, die aus Polysachariden, die kovalent an Membranproteine und Membranlipide gebunden sind besteht, hat ein Wiederaufleben der Zuckerchemie ausgelöst. Neben diesen Entdeckungen haben die technischen Fortschritte in den chromatographischen und analytischen Methoden, wie der NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie, zu einer Vereinfachung der Aufreinigung der meistens nicht-kristallinen Substanzen bzw. zu einer Verbesserung der Strukturaufklärung geführt.

Der größte Teil der Zuckerchemie besteht aus der Synthese von Glykosiden. Die beiden Probleme die es dabei hauptsächlich zu lösen gilt sind zum Einen die regio- und stereoselektive Bildung von Glykosidbindungen und zum Anderen die selektive Schützung und Entschützung der einzelnen Bausteine vor der Kopplung zum Glykosid.

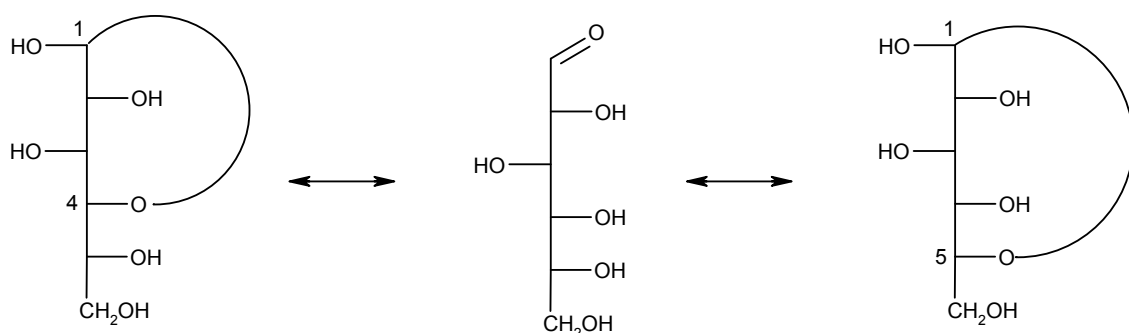
1.2.1 Struktur der Monosacharide

Monosacharide sind die chemische Einheit aus der alle Arten von Kohlenhydraten aufgebaut sind. Der Begriff Zucker wird oft als Synonym für Kohlenhydrate im Allgemeinen verwendet, wobei im alltäglichen Gebrauch darunter der Zucker Saccharose gemeint ist. Die einfachsten Zucker sind Polyhydroxycarbonylverbindungen mit der allgemeinen Summenformel $C_n(H_2O)_n$, wobei das auf die meisten Monosacharide nicht zutrifft. Abgeleitet von dieser allgemeinen Formel wurde die Substanzklasse Kohlenhydrate genannt. Monosacharide bilden cyclische Halbacetale bzw. Halbketale, durch intramolekulare nukleophile Addition einer Hydroxygruppe an die Carbonylfunktion des Zuckers.



Schema 1.2 intermolekulare *versus* intramolekulare Halbacetalbildung

Im Gegensatz zu offenkettigen Halbacetalen, die durch intermolekulare Reaktion eines Aldehyds mit einem Alkohol entstehen, werden cyclische Halbacetale durch intramolekulare Reaktion einer Hydroxygruppe mit einer Carbonylgruppe desselben Moleküls gebildet. Verglichen mit dem acyclischen Halbacetal ist die Bildung der intramolekularen Reaktion aus entropischen Gründen bevorzugt. Das Gleichgewicht der unteren Reaktion in Schema 1.3 liegt üblicherweise auf der Seite des Halbacetals. Monosacharide liegen vorzugsweise als Halbacetale bzw. Halbketale vor. Abhängig von der Position der am Carbonyl-Kohlenstoff angreifenden OH-Gruppe entstehen in den meisten Fällen 5- oder 6-gliedrige Heterocyclen. Diese werden, analog zu den heterocyclischen Analoga Tetrahydrofuran und Tetrahydropyran, Furanosen bzw. Pyranosen genannt.



Schema 1.3 Gleichgewichtsreaktion der Acetalbildung von Glucose

Durch die Ringbildung entsteht in Position 1 ein neues chirales Zentrum. Diese Position nennt man das anomere Zentrum. Die beiden möglichen Stereoisomere werden als Anomere bezeichnet. Liegt die OH-Gruppe an Position 1 in die gleiche Richtung wie das höchst nummerierte chirale Zentrum (im Fall der Glucose Position 5) spricht man vom α -Anomer. Im anderen Fall liegt das β -Anomer vor.

Bei α -Anomeren der Zucker der D-Reihe zeigt die OH-Gruppe in Position 1 in der Haworthdarstellung nach unten. Die β -Anomere haben eine OH-Gruppe am anomeren Zentrum die nach oben zeigt.¹⁹

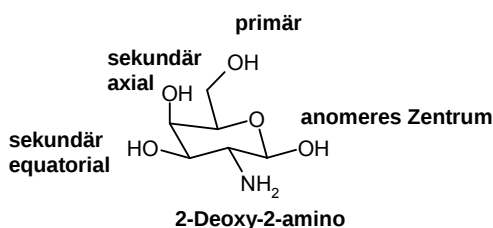
Mutarotation

In kristalliner Form liegt ein freies Monosacharid als ein bestimmtes Stereoisomer vor. Löst man diese Kristalle in Wasser öffnet sich das Halbacetal und bildet neue Halbacetale mit unterschiedlicher Ringgröße und Konfiguration am anomeren Zentrum. Diese Gleichgewichtsreaktion läuft bei allen reduzierenden Zuckern ab und kann durch eine Veränderung der optischen Drehung der Lösung beobachtet werden. Dieses Phänomen nennt man Mutarotation. Die Mutarotation kann durch Zugabe von Säure katalysiert werden. Die optische Drehung einer frisch zubereiteten Glukoselösung verändert sich also mit der Zeit, bis die Mutarotation abgeschlossen ist und das Gleichgewicht erreicht ist. ob reine α -D-Glucopyranose, mit einer spezifischen Drehung von $+112^\circ$ oder reine β -D-Glucopyranose, mit einer spezifischen Drehung von $+19^\circ$ in Wasser gelöst werden erreicht man einen Drehwert von $+52.7$ nach 3 Stunden. Nach Einstellung des Gleichgewichts in Lösung liegen 38% als α - und 62% als β -Pyranose vor. Der Gehalt an offenkettiger und Furanose-Formen ist vernachlässigbar.²

Schutzgruppenstrategien in der Zuckerchemie

Regioselektivität ist ein wichtiger Punkt in der Zuckerchemie, da Zucker mehrere Hydroxygruppen mit unterschiedlicher Reaktivität neben anderen funktionellen Gruppen, wie z.B. Carbonyl- und Aminogruppen enthalten. Schutzgruppen und die entsprechende Schutzgruppenstrategie sind also von enormer Wichtigkeit in der Synthese von Kohlenhydraten um selektiv eine bestimmte Gruppe zu manipulieren. Für die Synthese bestimmter Derivate von Mono- oder Oligosachariden sowie selektiv geschützter Glycosylacceptoren zur Glykosidsynthese muss eine Auswahl an Schutzgruppen gewählt werden, die möglichst flexibel ist. Schutzgruppen müssen abspaltbar sein ohne den Rest des Moleküls zu beeinflussen. In der modernen organischen Synthese bietet eine

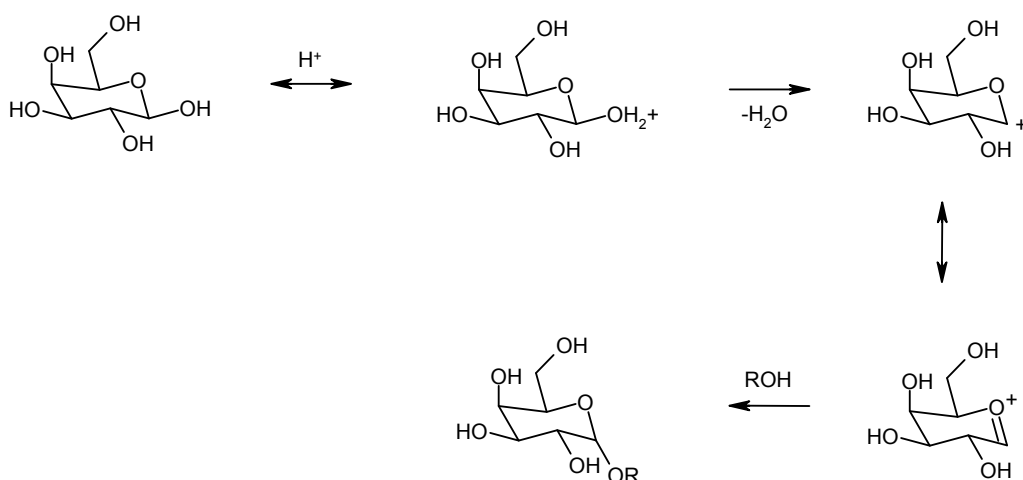
In der Zuckerchemie werden in den meisten Fällen Hydroxygruppen geschützt. Abhängig von ihrer Position und Konfiguration unterscheiden sich die einzelnen alkoholischen Funktionen in ihrer Reaktivität. Je nachdem ob sie am anomeren Zentrum, als sekundärer oder als primärer Alkohol vorliegen können sie unterschiedlich zugänglich sein. Außerdem ist die Reaktivität der axialen Hydroxy-Gruppen üblicherweise höher als die der equatorialen.



Diese Unterschiede kann man sich bei der Auswahl der Schutzgruppen oft zu Nutze machen, wobei man eine Gruppe neben einer oder mehrerer anderen selektiv schützt. Die am öftesten verwendeten Schutzgruppen für alkoholische Funktionen sind Ester, Ether und Acetale.

Aufgrund der besonderen Reaktivität des als Halbacetal vorliegenden anomeren Zentrums wird diese Funktion üblicherweise vor allen anderen geschützt. Üblicherweise verwendet man einfache Glykoside, die so wie andere Acetale einfach in sauer katalysierten Reaktionen entstehen. Diese Methode wird nach Emil Fischer auch Fischer Glykosylierung genannt²². In der ersten Stufe dieser Reaktion wird das Halbacetal protoniert, danach wird H₂O abgespalten. Es

entsteht ein resonanzstabilisiertes Oxoniumion, das durch Addition eines Alkohols zum entsprechenden Acetal reagiert.



Schema 1.4 Fischer Glykosylierung

Da es sich bei dieser Reaktion um eine Gleichgewichtsreaktion handelt und äquimolare Mengen Wasser entstehen, verwendet man einen Überschuss am jeweiligen Alkohol, bzw. verwendet man den Alkohol als Lösungsmittel. Wasserentziehende Mittel können außerdem das Gleichgewicht zur gewünschten Produktseite verschieben. Da der Überschuss an Alkohol nach Ende der Reaktion in den meisten Fällen abdestilliert werden muss, sind diese Reagenzien auf niedrig siedende Alkohole beschränkt.

Acylschutzgruppen

Acyl-Schutzgruppen werden in der Zuckerchemie oft verwendet und sind leicht einzuführen. In vielen Fällen wird Essigsäureanhydrid oder Benzoylchlorid als Reagenz zur kompletten Acylierung verwendet. Die entstehenden Ester werden üblicherweise im basischen Medium saponifiziert.

Etherschutzgruppen

Alkylether sind besonders stabile Verbindungen, die auch im stark basischen oder sauren Medium bestehen. Methylether werden deswegen vor allem in der Polysaccharidanalytik und nicht als Schutzgruppen verwendet. Für die

vorübergehende Schützung von Zuckern verwendet man Ether, die unter speziellen Bedingungen abgespalten werden können. Deswegen sind Benzylether, die unter katalytischer Hydrierung abgespalten werden können, und Allylether, die nach Isomerisierung zum entsprechenden Vinylether labil sind, die am häufigsten verwendeten Etherschutzgruppen.

Acetalschutzgruppen

Cyclische Acetale werden verwendet um vicinale Hydroxygruppen zu schützen. Diese werden normalerweise im sauren Milieu mit Ketonen oder Aldehyden gebildet. Sehr häufig benutzte Reagenzien sind Isopropylidenderivate, die aus dem Diol in Reaktion mit Aceton entstehen.

1.2.2 Theorien zur prebiotischen Synthese von Zuckern

Zur prebiotischen Synthese von Zuckern gibt es zwei gängige Theorien, die erklären, wie es zur Entstehung von unterschiedlichen Monosachariden gekommen sein kann.

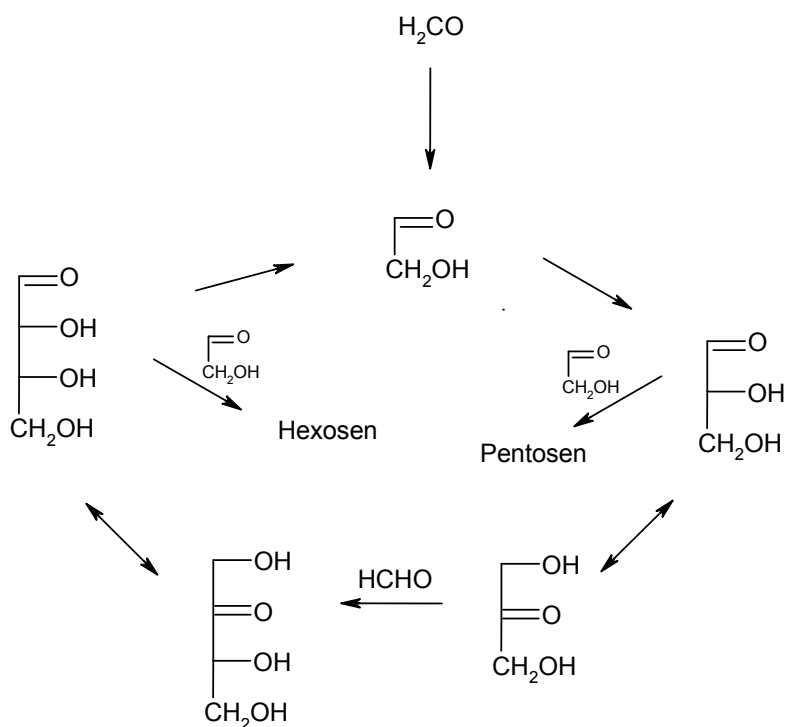
Formose Reaktion

Durch Selbstkondensation von Formaldehyd an basischen Kondensatoren (Oxide und Hydroxide von Ca, Ba, Pb) in Anwesenheit von CH-aktiven Verbindungen entsteht ein komplexes Gemisch von Zuckern, das Formose genannt wird.^{7,8} Aus dem einfachen C-1-Baustein Formaldehyd entstehen zentrale Biomoleküle des Stoffwechsels, wie Glyceraldehyd, Pentosen und Hexosen. Die Formosereaktion wurde von Butlerow 1861 entdeckt. Der Mechanismus wurde über mehrere Jahrzehnte untersucht. Als erster Schritt der C-C-Verknüpfung wird der Kohlenstoff des Formaldehyd unter Einwirkung von Hydroxiden oder Cyanid umpolung. Danach kommt es zu einer Selbstkondensation zu Glykolaldehyd. Der entstandene Glykolaldehyd kann mit einem weiteren Molekül Formaldehyd zu Glyceraldehyd reagieren. Dieser kann über eine Keto-Enol-Tautomerie zu

⁷ Breslow, R.; *Tetrahedron Letters*, **1959**, (21) 22-26.

⁸ Eschenmoser, A.; *Tetrahedron*, **2007**, (63), 12821 – 12844.

Dihydroxyaceton umgesetzt werden. Dihydroxyaceton kann nach Umpolung des C-1 mit einem Molekül Formaldehyd zur entsprechenden Tetrose weiter reagieren. Diese kann durch Keto-Enol-Tautomerie in die Tetroaldose umgewandelt werden und in einer Retro-Aldolreaktion zu zwei Molekülen Glykolaldehyd gespalten werden, wobei sich der Kreis wieder schließt.



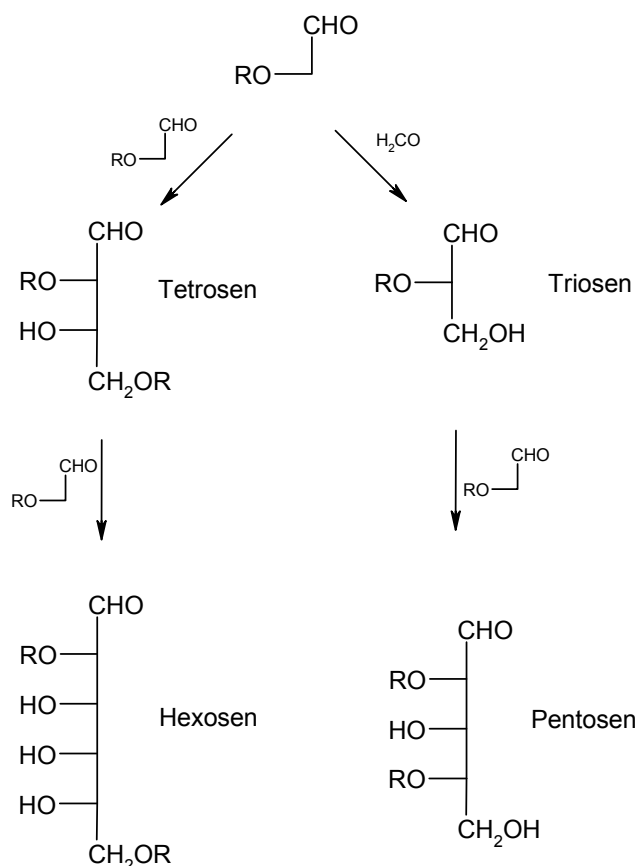
Schema 1.5 Ausschnitt aus dem Schema der Formosereaktion.

Bei der Formosereaktion von Glyceraldehyd kommt es zu einer Mischung aus Ketosen und Aldosen, wobei die Bildung von unverzweigten Zuckern bevorzugt ist. Außerdem werden Hexosen im Gegensatz zu Pentosen bevorzugt gebildet.⁹

Reaktion über Glykolaldehyd

Die Formosereaktion führt zu einer Vielzahl von unterschiedlichen Verbindungen. Wird hingegen die C-2-OH-Gruppe substituiert, kann es zu keiner Tautomerisierung kommen und es entstehen einheitlichere Produkte. (Publikation Ettmayer Arbeitsgruppe) In unserer (Dissertationen Jerome Freissmuth und Peter Richter) wurde die Reaktion über Glykolaldehyd beschrieben. Dabei wurde die

Hydroxygruppe an C-2 mit einem „terpenoiden Lactol“ über Acetalbildung derivatisiert. Es kommt unter alkalischen Bedingungen ohne Formaldehydzusatz zu einer Trimerisierung, die unter kinetischer Kontrolle in der Bildung von hauptsächlich allo-konfigurierten Hexosen, die unter thermodynamischer Kontrolle zu Glukose umgewandelt wird.



Schema 1.6 Derivatisierungsmuster der Pentosen und Hexosen

Albert Eschenmoser untersuchte eingehend die Trimerisierung von Glykolaldehydphosphat und beobachtete eine bevorzugte Bildung von Allosetriphosphat, welches sich auch nach langer Zeit nicht umbildete. Die Arbeiten unter Verwendung einer acetalischen Schutzgruppe zeigten, dass es bei längeren Reaktionszeiten zu einer Änderung im Verteilungsmuster von Pentosen und Hexosen kommt. Es konnte anhand enantiomerenreiner Verbindungen gezeigt werden, dass in der Hexosereihe Glucose statt Allose zum Hauptprodukt wird,

⁹ Aus "Diastereoselektivität und asymmetrische Induktion der Monosacharidbildung aus 2-Hydroxyethanalderivaten" von Peter Richter **1997**.

während in der Pentosereihe Xylose gegenüber Ribose das dominante Produkt im Reaktionsgemisch wird. (Diss Freissmuth, Diss Richter).

1.3 Synthese von Nukleosiden

Entstehung der Nukleoside

1936 argumentierte Oparin in seinem Werk "The Origin of Life on Earth",¹⁰ dass eine "Ursuppe" (primeval soup) von organischen Molekülen in einer sauerstoffarmen Atmosphäre durch die Wirkung von Sonnenlicht hergestellt werden könne. Diese Moleküle können zu komplizierteren Formen kombinieren (Theorie der "coacervate droplets"). Der Frage nach der Entstehung der Nukleobasen sind vor allem die Gruppen um Oro¹¹, Ferris und Orgel¹² (Purine) und Miller¹³ (Pyrimidine) nachgegangen. Heute wird allgemein angenommen, dass Nukleoside unter den ersten organischen Substanzen am Beginn der Evolution in der frühen Geschichte dieses Planeten entstanden sind. Um diese Theorie zu unterstützen, wurden die Nukleinbasen Guanin und Adenin zusammen mit der Zuckerkomponente D-Ribose in Meereswasser, die die Lewisäure Magnesiumchlorid als Katalysator enthält, erhitzt.¹⁴ Man erhielt dabei die Nukleoside Guanosin (ca. 3%) und Adenosin (ca. 2%) zusammen mit ähnlichen Ausbeuten an den sogenannten unnatürlichen α -Nukleosiden. Die letzteren wurden durch Einwirkung von Licht in die thermodynamisch stabileren β -Nukleoside anomerisiert. Die Furanoseform der Ribose reagiert schneller als die Pyranoseform (Schema 1.7).

Die analogen Synthesen der Pyrimidin-Nukleoside Uridin und Cytidin aus Uracil und Cytosin und Ribose sind problematischer und bleiben ungeklärt. Die Umwandlung von Glycolaldehyd-O-Phosphat und Formaldehyd in Ribose-2,4-di-O-Phosphat kann die prä-biotische Synthese von Uridin und Cytidin erklären. Diese RNA-Nukleoside werden *in vivo* als 5'-O-Diphosphate von Ribonukleotid

¹⁰ Oparin, A. I. "The Origin of Life". New York: Dover (1952) (first published in **1936**).

¹¹ Oro J., *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, **1960**, 2, 407-412.

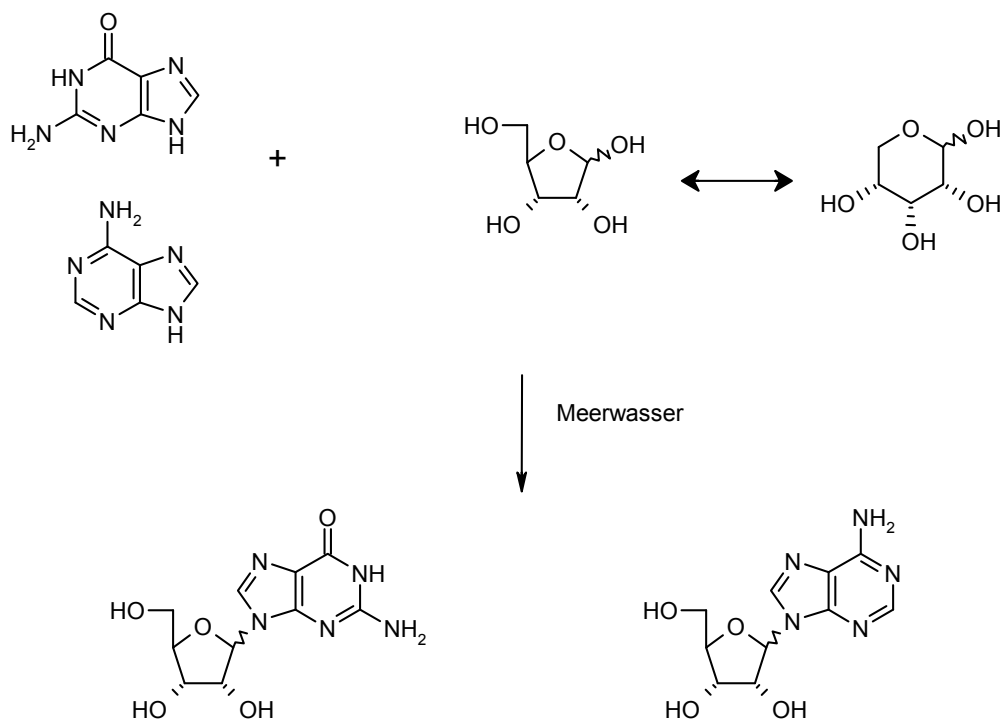
¹² Ferris J.P., Orgel L.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 1074-1074.

¹³ Robertson M.P., Miller S.L., *Nature*, **1995**, 375 (29), 772- 774.

¹⁴ a) Fuller W.D., Sanchez, R.A., Orgel L.E. *J. Mol. Evol.* **1972**, 1, 249; b) Fuller W.D., Sanchez, R.A., Orgel L.E. *J. Mol. Biol.* **1972**, 67, 25.

Reduktasen zu den entsprechenden 2'-Deoxynukleoside, den Bausteinen der DNA, reduziert.

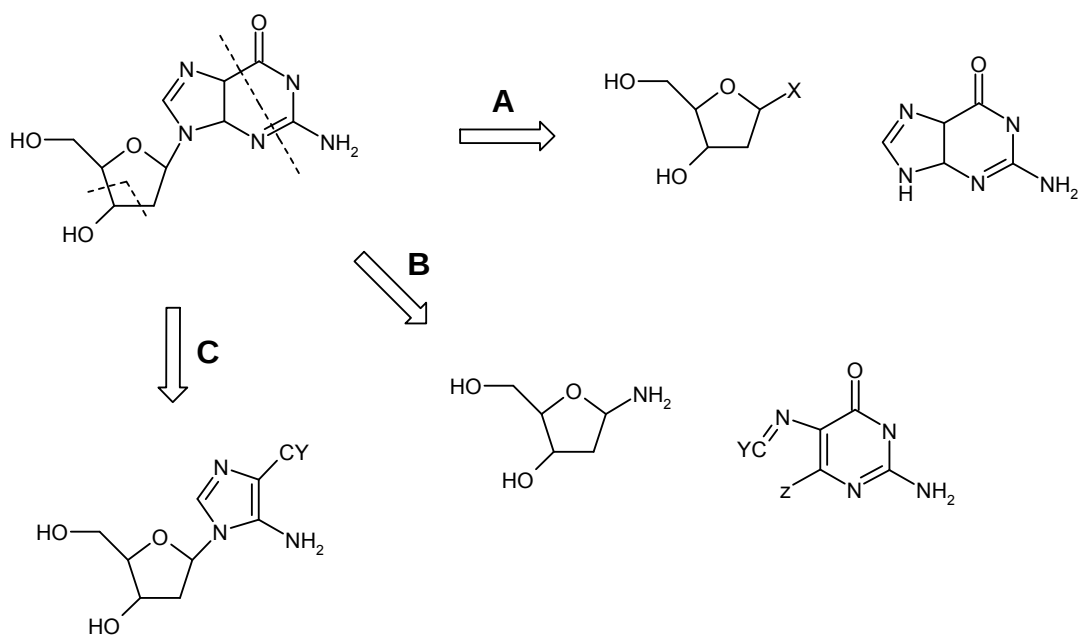
Die thermodynamisch kontrollierte Synthese der vier Bausteine der RNA (Guanosin, Adenosin, Uridin und Cytidin) hat Auswirkungen auf die Entwicklung von effizienten neuen Methoden der Synthese der natürlich vorkommenden Nukleoside, Nukleosidantibiotika, und modifizierter Nukleoside, die als Antimetabolite gegen virale und parasitäre Erkrankungen sowie gegen Krebs wirken.



Schema 1.7 „Prebiotische“ Synthese von Nukleosiden

1.3.1 Methoden der Nukleosidsynthese

In Schema 1.8 ist eine retrosynthetische Analyse zum Aufbau von Nukleosiden wiedergegeben.



Schema 1.8 Retrosynthetische Analyse zum Aufbau von (Purin) Nukleosiden

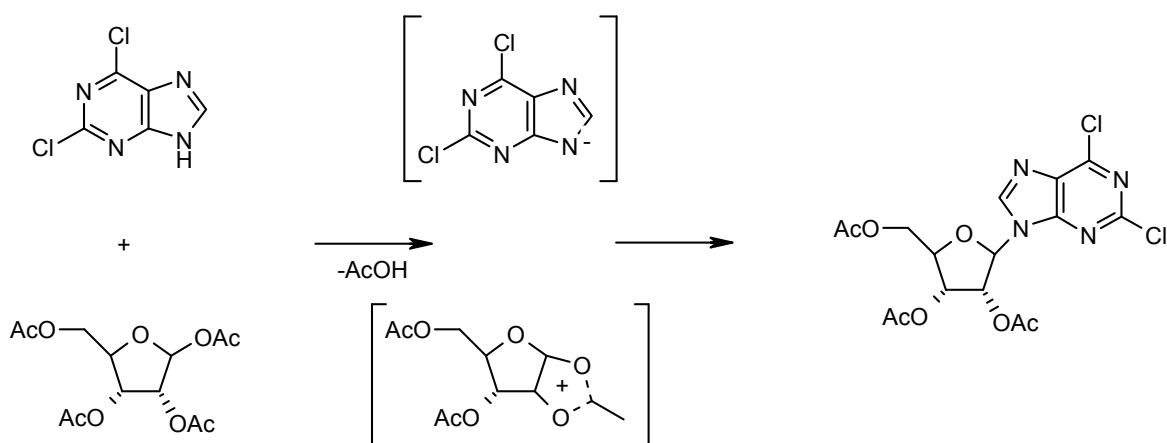
In Möglichkeit c) wird der Biosyntheseweg, die „de novo“ Synthese dargestellt. Schlüsselbaustein ist ein sogenanntes AICA-Imidazol Intermediat, es folgt der Ringschluss zum 6-Ring des Puringerüsts. Der Reaktionsweg b) geht von einem α -Aminozucker Baustein aus. Die Kombination aus einem Zuckerderivat einem fertigen Basenbaustein (Pfad a) ist die präparativ wichtigste Syntheseroute zum Aufbau von sowohl Pyrimidin- als auch Purin Nukleosiden.

Es gibt prinzipiell 3 Methoden der Nukleosidsynthese aus einem Zuckerbaustein und einer Base:

- (a) Fusions Reaktion,
- (b) Metallsalz Reaktion und
- (c) die Vorbrücken Kondensation oder Silyl-Hilbert-Johnson Reaktion.

a) Fusions Reaktion

In dieser Methode werden azide heterocyclische Systeme, wie z.B. 2,6-Dichlorpurine, mit peracylierten Zuckern, wie z.B. Peracetyl-D-Ribose zur Reaktion gebracht (Schema 1.9). Bei 150 – 155 °C entsteht das peracylierten Nukleosid und (die leicht flüchtige) Essigsäure. Diese Reaktion wird üblicherweise in Anwesenheit von Lewissäuren durchgeführt, um die Bildung des elektrophilen Zuckerintermediates zu beschleunigen. Die Kondensation kann mit aziden Systemen wie substituierten Imidazolen, Purinen, Triazolen oder Pyrazolen durchgeführt werden.¹⁵



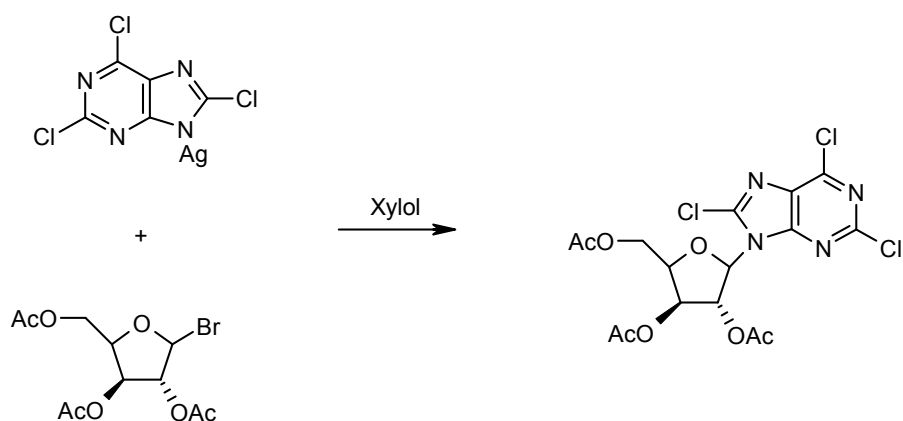
Schema 1.9 Fusionsmethode zum Aufbau von Nukleosiden

b) Metall Salz Methode

In dieser Methode reagieren Metallsalze von Heterocyclen mit geschützten Zuckerhalogeniden (Schema 1.10). Ursprünglich wurde das Silbersalz von 2,6,8-Trichlorpurinen zusammen mit Acetobromoglucose in Xylol erhitzt, wobei Glucopyranoside erhalten werden.¹⁶

¹⁵ Sato T in „*Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*“; Zorbach W.W., Tipson R.S., Eds., Wiley-Interscience: New York, **1968**, p. 64. b) Dieckmann, E., Friedrich K., Fritz, H.-G. *J. Prakt. Chem.* **1993**, 335, 415.

¹⁶ Fischer E., Helferich B., *Chem. Ber.* **1914**, 47, 210.



Schema 1.10 Synthese von Nukleosiden nach der Silbersalzmethode

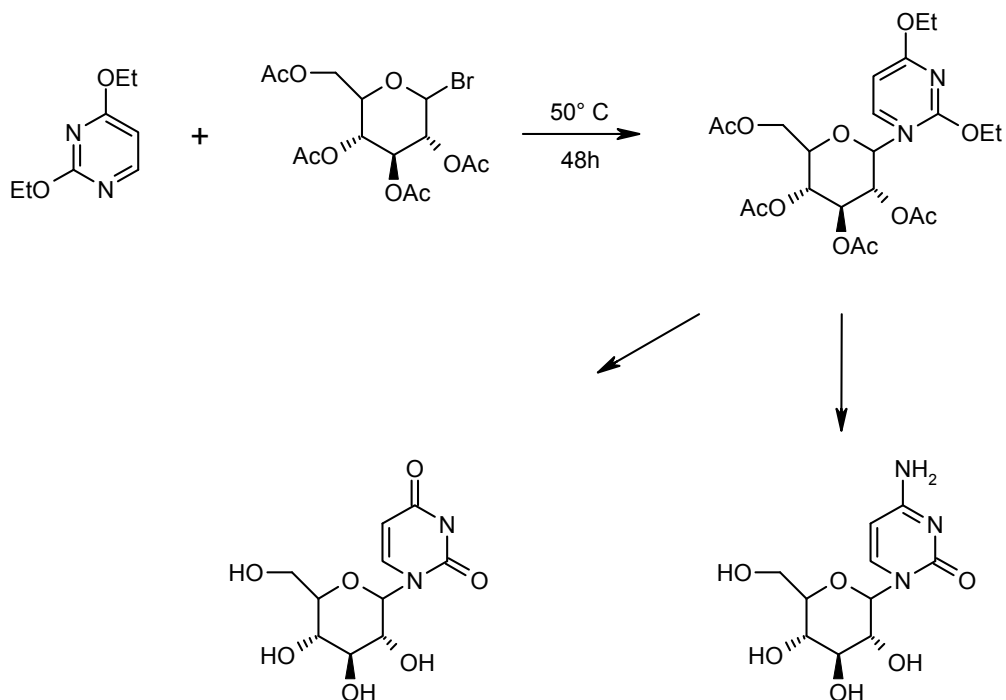
Heute wird die Methode der Kopplung eines Basenanions mit einem α -Halogenozucker vor allem zur Herstellung von 2'-Deoxynukleosiden verwendet.¹⁷

c) Die klassische Hilbert-Johnson Methode

Im Jahr 1930 haben Hilbert und Johnson 2,4-Diethoxypyrimidin mit einem bromierten Zuckerbaustein in das entsprechende Nukleosid umgesetzt. Diese Zwischenstufe kann zum Uracil-Glucopyranosid verseift oder mit Ammoniak zum entsprechenden Cytosin-Derivat umgesetzt werden (Schema 1.11).¹⁸

¹⁷ a) Kazimierczuk Z., Dudycz L., Stolarski R., Shugar D. *J. Biosciences* **1980**, 35C(1-2), 30-5. b) Kazimierczuk Z., Cottam H.B., Revankar, G.R., Robins, R.K. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106(21), 6379-82.

¹⁸ Hilbert G.E. Johnson T.B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, 42, 2001.



Schema 1.11 Umsetzung von 2,4-Diethoxypyrimidin mit einem α -Halogenozucker nach Hilbert und Johnson

Die Umsetzung von 2,4-Diethoxypyrimidin mit dem α -Halogenozuckerbaustein führt zu einer Mischung aus α und β -Anomeren des entsprechenden Nukleosides, wobei das α -Anomer bevorzugt entsteht.

Die Nachteile dieser klassischen Hilbert-Johnson-Methode lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

- (1) Aufwendige Herstellung der Basenbausteine (2,4-Dialkoxypyrimidine müssen z.B. aus Uracil über die Zwischenstufe von 2,4-Dichlorpyrimidinen hergestellt werden)
- (2) generell geringe Ausbeuten durch die Bildung von Nebenprodukten wie O-Glycosiden und N-alkylierten Produkten
- (3) Keine stereoselektive Kopplungsreaktion (Mischung von α - und β -Anomeren)
- (4) Die Dealkylierung der resultierenden 4-Alkoxy Derivate mit Säure ist problematisch.

Die Silyl-Hilbert-Johnson-Reaktion

Die Einführung der Silyl-Hilbert-Johnson-Modifikation durch Birkofer¹⁹, Nishimura²⁰ und Wittenburg²¹ stellt einen großen Meilenstein in der Entwicklung einer effizienten Nukleosidsynthese dar. Durch Silylierung mit z.B. Hexamethyldisilazan (HMDS) kann die polare, oft sehr unlösliche Nukleinsäurebase in ein lipophiles Silylderivat umgewandelt werden, das in organischen Lösungsmitteln gut löslich ist. Dadurch sind homogene Reaktionsführungen möglich.

Durch die elektronenschiebenden Eigenschaften des Siliziums sind die silylierten Heterocyclen stärkere Nukleophile als die entsprechenden analogen Alkoxyverbindungen. Die im Vergleich zur O-C-Bindung (1,53 Å) längere O-Si Bindung (1,89 Å) macht eine Trimethylsilylgruppe sterisch weniger gehindert als eine t-Butoxy-Gruppe und erlaubt somit eine schnellere Solvatisierung. Aufgrund der schnellen Migration der Trimethylsilylgruppe wird immer das thermodynamisch stabilste silylierte Produkt erhalten.

Die Silyl-Hilbert-Reaktion in Anwesenheit eines Friedel-Crafts Katalysators (Vorbrüggen-Kondensation)

Die Lewissäure vermittelte Glycosylierung von silylierten Pyrimidinen und Purinen ist eine der effizientesten Reaktionen der Nukleosidchemie.²²

Die Einführung eines Friedel-Crafts Katalysators, wie Zinn(IV)chlorid (SnCl_4) für die Zucker-Basen Kopplung, als effizientere Alternative zur klassischen Hilbert-Johnson Reaktion, wurde durch die Verwendung von Trimethylsilyltriflat (TMSOTf) als Lewissäure weiter verbessert.²³

¹⁹ Birkofer, L., Ritter, A., Köhltau, H.P., *Angew. Chem.* **1963**, 4, 209.

²⁰ Nishimura, T., Shimizu, B., Iwai I., *Chem. Pharm. Bull.* **1964**, 12, 357

²¹ Wittenburg, E.Z., *Chem.* **1964**, 4, 303.

²² Vorbrüggen H., Lagoja I.M., Herdewijn P. „Synthesis of Ribonucleosides by Condensation using Trimethylsilyl Triflate”, in “*Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*”, unit CPNC 1.13 (Jan. **2007**).

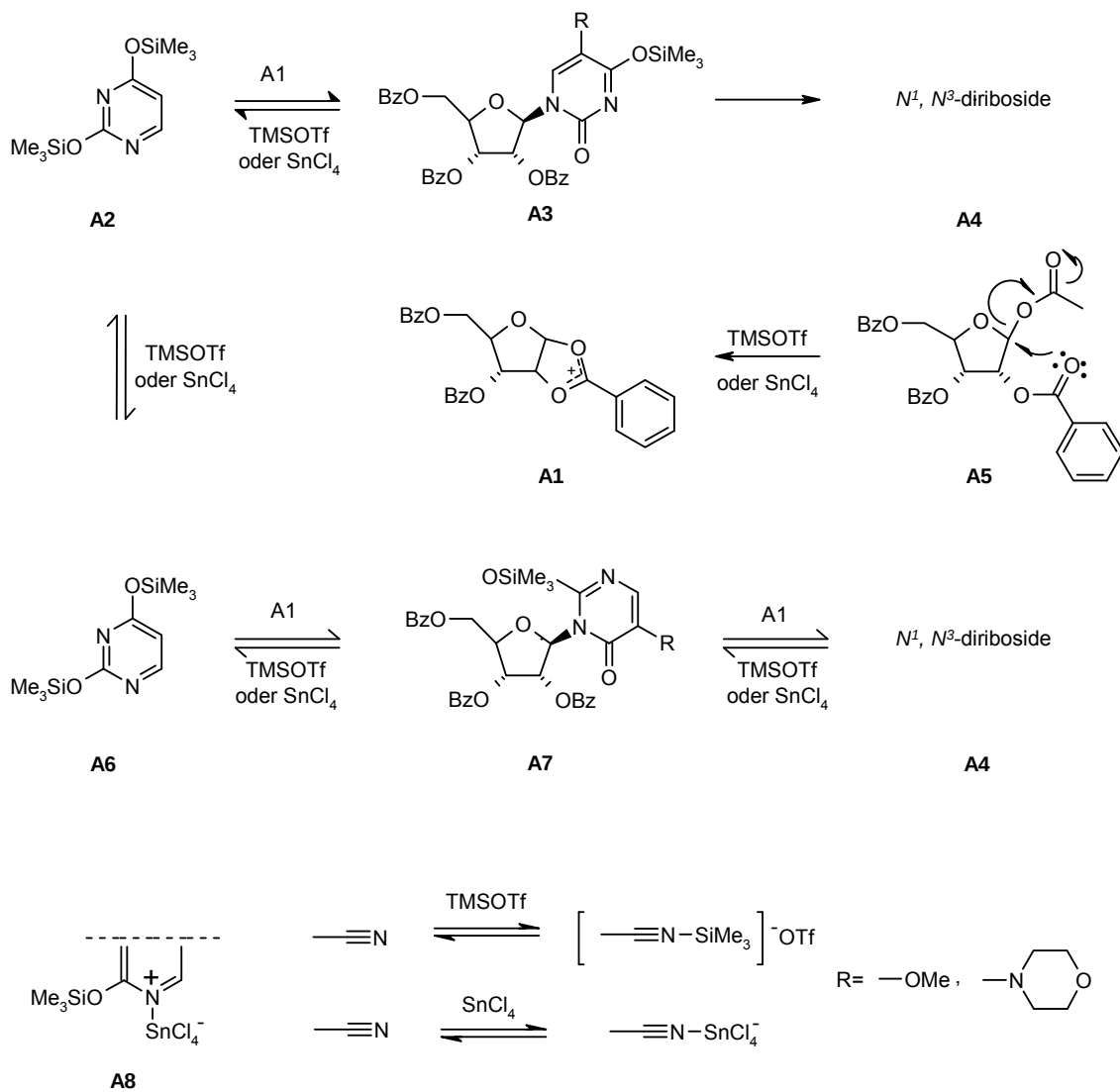
²³ Niedballa, U. Vorbrüggen, H.. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1970**, 9, 461-2. b) Niedballa, U., Vorbrüggen, H. *J. Org. Chem.* **1974**, 39: 3654-9.

Synthese der Pyrimidinribonukleoside

Aufgrund des basischen Charakters bilden silylierte Nukleobasen σ -Komplexe mit Lewissäuren. Im Fall der stärker basischen Heterocyclen wird ein Äquivalent der Lewissäure, als σ -Komplex mit der silylierten Base, neutralisiert, bzw. deaktiviert. Deswegen sind alle weiteren Reaktionen dieser σ -Komplexe viel langsamer. NMR-Experimente haben gezeigt, dass SnCl_4 am stärksten an das N^1 , das Zentrum der höchsten Elektronendichte, bindet. Folglich ist TMSOTf, als schwächere Lewissäure als SnCl_4 , ein besserer Katalysator für die Nukleosidsynthese.

TMSOTf wandelt stabile O-acylierte Zucker über O-Silylierung der 1- β -O-Acetyl-Gruppe in Trimethylacetat und das reaktive cyclische Zuckersalz (**A1**) um. Im Vergleich zu SnCl_4 führt allerdings die geringere Azidität von TMSOTf zu geringeren Mengen des σ -Komplexes. Während nur die freie persilylierte Base (**A2**) mit dem Zuckersalz (**A1**) zum erwünschten silylierten N^1 -Nukleosid (**A3**) reagiert, kann der σ -Komplex (**A6**) (N^1 ist geschützt) nur in einer langsameren Reaktion mit **A1** zum unerwünschten N^3 -Nukleosid (**A7**) reagieren. In dem eher apolaren Lösungsmittel 1,2-Dichlorethan entsteht weniger vom N^1 -Nukleosid (**A3**) als vom N^3 -Nukleosid (**A7**), da bei der Reaktion mit SnCl_4 mehr σ -Komplex (**A8**) gebildet wird. Es kann in Folge sowohl das silylierte N^1 -Nukleosid (**A3**) wie auch das silylierte N^3 -Nukleosid (**A7**) mit **A1** zum N^1, N^3 -Bisribosid (**A4**) reagieren.

Im Vergleich dazu bilden sich σ -Komplexe mit TMSOTf, oder mit SnCl_4 in dem verhältnismäßig polaren Lösungsmittel Acetonitril. Deswegen konkurriert das polare Acetonitril als Lösungsmittel mit der silylierten Base (**A2**) um die Lewissäure TMSOTf bzw. SnCl_4 . Daraus resultiert eine geringeren Bildung von σ -Komplexen **A6** und **A8**, und folglich wird im Verhältnis zum N^1 -Nukleosid weniger des (unerwünschten) N^3 -Nukleosids gebildet. Im Fall der silylierten Pyrimidine wie 5-Methoxyuracil (**A2** / R = OMe) oder silyliertem 5-Morpholinouracil (**A2** / R = $\text{C}_4\text{H}_8\text{NO}$), erreicht man mit TMSOTf im Vergleich zu SnCl_4 höhere Ausbeuten an dem erwünschten geschützten N^1 -Nukleosid (**A2**) und viel weniger des unerwünschten geschützten N^3 -Nukleosid und N^1, N^3 -Bisribosid (**A4**). In Schema 1.12. sind der Reaktionsmechanismus und die entsprechenden Nebenprodukte der Vorbrückenkondensation mit Pyrimidin-Basen wiedergegeben.²¹



Schema 1.12 Reaktionsmechanismus und Nebenprodukte der Vorbrückencondensation mit Pyrimidin-Basen

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1 Zielsetzung

Ziel der Arbeit war es Nukleoside mit Hexosen als Zuckerbausteine zu synthetisieren. Ausgehend von diesen Nukleosiden sollten Derivate von bekannten Nukleosiden hergestellt werden. Außerdem sollten die Hexosen durch Abspaltung der terminalen Alkoholgruppe in die entsprechenden Pentosenukleoside umwandelbar sein.

Die Nukleoside mit Hexosen als Zuckerteil werden im Folgenden als Homonukleoside bezeichnet. Im Gegensatz zu den Homoderivaten der Steroide, die eine zusätzliche Methylgruppe oder Methylengruppe besitzen, enthalten die Homonukleoside eine zusätzliche –CHOH Funktion. Da die charakteristische funktionelle Gruppe der Zucker die Hydroxygruppe ist, lag diese Nomenklierung nahe.

Neben der Synthese von Homonukleosiden, wie Glucosecytosin und Allosecytosin sollten potentiell cytotoxische Derivate des Chemotherapeutikums Gemcitabin über die Zwischenstufe des Homogemcitabin durch Kettenverkürzung durch Malapradespaltung der endständigen vicinalen Alkohole an 5' und 6' hergestellt werden. Durch die Kettenverkürzung und dadurch Verlust des chiralen Zentrums an C-5' bei der Synthese von Gemcitabin ist die Stereochemie an 5' zu vernachlässigen. Beide möglichen Diastereomere sollen durch Malapradespaltung und anschließender Reduktion zum Alkohol zum gleichen Produkt (Gemcitabin) führen. Beide möglichen Diastereomere werden in Folge, nicht ganz korrekt, für die einfache Lesbarkeit als Homogemcitabin bezeichnet. Aus einer Synthesesequenz, startend mit D-Glucose, soll das an 5' D-konfigurierte Homogemcitabin hergestellt werden. Die genaue Stereochemie der einzelnen besprochenen Homogemcitabine und Derivaten ist dem Text und den Formeln zu entnehmen.

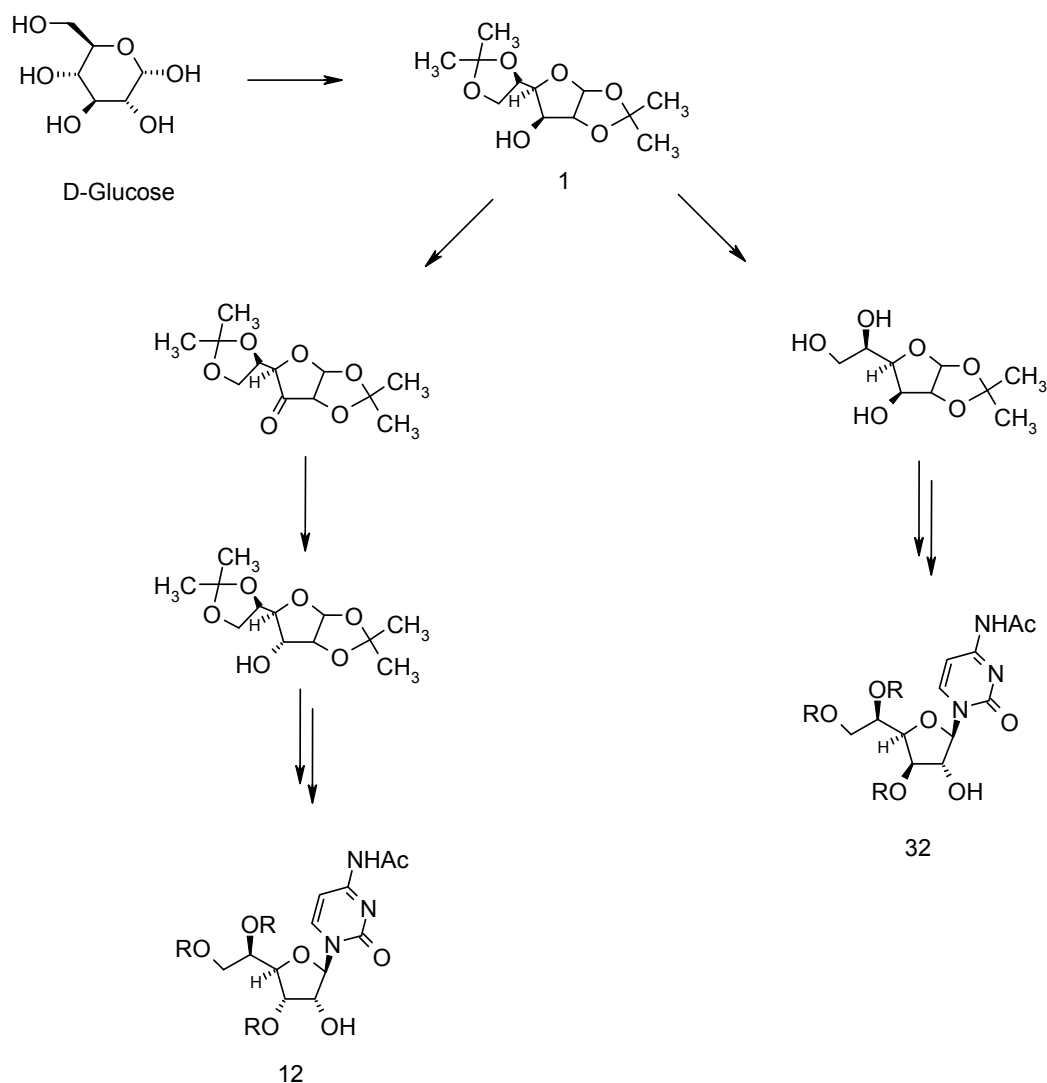
Zu den herzustellenden Derivaten zählen ein 5'-Methylgemcitabin und ein Epoxid an 5' und 6' des Homogemcitabin.

Gemcitabin sollte aus Homogemcitabin (an 5' D oder L konfiguriert) durch oxidative Spaltung der C-C-Bindung zwischen den Positionen 5' und 6', und anschließender Reduktion synthetisiert werden. Homogemcitabin sollte außerdem aus Allosecytosin durch Difluorierung an Position 2' hergestellt werden.

Die Synthesesequenzen waren von Anfang an als Synthese im Hinblick auf einen industriellen Maßstab geplant. Die erhaltenen Produkte sollten durch möglichst einfaches scale-up im kg-Maßstab herstellbar sein.

2.2 Resultate und Diskussion

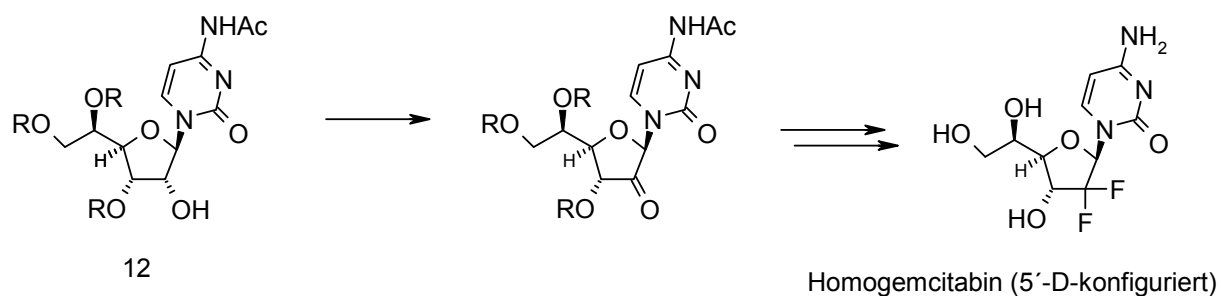
Die oben genannten Homonukleoside sollten ausgehenden von 1,2;5,6-O-Diisopropyliden- α -D-glucofuranose, das aus D-Glukose hergestellt wird, über mehrere Stufen synthetisiert werden. D-Glucose ist in großen Mengen preislich günstig kommerziell erwerbbar. So wurde die Synthese in großem Maßstab ermöglicht. Ausgehend vom Diacetonid **1** kann die Hydroxygruppe in Position 3 invertiert werden, wodurch man Allosederivate erhält. In einer anderen Sequenz gelangt man nach selektiver Entschützung der Alkoholfunktionen in 5 und 6 zu Glucosederivaten (Schema 2.1). Durch Inversion der OH-Gruppe in Position 2' der erhaltenen Homonukleoside sind weitere Stereoisomere zugänglich.



Schema 2.1 Konzept zur Herstellung von Homonukleosiden

Durch diese Synthesewege sind stereochemisch verschiedene Homonukleoside, und durch weitere Reaktionsschritte unterschiedliche Derivate zugänglich.

Ausgehend vom oben angeführten Homonukleosid **12** sollten durch Oxidation in Position 2' weitere Derivate zugänglich gemacht werden, zB Homogemcitabin durch Difluorierung oder Derivate des Cytarabin durch Inversion der Position 2'.



Schema 2.2 Konzept zur Herstellung von Homogemcitabin

Weiters sollten die beiden potentiell cytotoxisch wirksamen Derivate des Homogemcitabin **67** und **62** synthetisiert werden.



Abbildung 2.1 Derivate des Homogemcitabin (an 5' L-konfiguriert) 6'-Deoxy-Homogemcitabin (67), 5',6'-Oxiranyl-Homogemcitabin (62)

Außerdem sollte, von Homogemcitabin ausgehend, Gemcitabin hergestellt werden. Da durch Kopplung eines Zuckers mit einer Nukleobase unter den Reaktionsbedingungen einer Vorbrückenkondensation stereoselektiv ausschließlich das β -Anomer entsteht, kann durch diesen Syntheseweg eine aufwendige Diastereomerentrennung, im Gegensatz zu anderen bekannten Synthesewegen des Gemcitabin vermieden werden. Die Kopplung von Pentosen mit einer Nukleobasen ist bekannt und wurde mehrfach in der Literatur beschrieben²⁴ (siehe Kapitel 1.2: Einleitung). Die Kopplung von Hexosen mit Nukleobasen ist weniger oft beschrieben. Es wurden in diesem Zusammenhang z.B. Hexosenukleoside zum Einbau in Oligonukleotide synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität untersucht.²⁵

Das erhaltene reine β -Nukleosid **12** sollte durch Oxidation der 2'-Hydroxylgruppe zur Carbonylgruppe und anschließender Difluorierung in den gewünschten Wirkstoff umgesetzt werden. Der Syntheseweg sollte mit bekannten Synthesewegen im Hinblick auf seine Wirtschaftlichkeit verglichen werden.

²⁴ Niedballa, U.; Vorbrüggen, H.; *J. Org. Chem.*; **1976**, *41*, 2084 – 2086.

²⁵ Augustyns, K. et al. *Nucleic Acids Research.*; **1992**, *20* (18), 4711 – 4716.

2.3 Herstellung von Derivaten des Homogemcitabin

Gemcitabin ist ein Prodrug, das erst im menschlichen Körper zum aktiven Derivat, dem 2'-2'-Desoxydifluor-Cytidin-6-triphosphat (dFdCTP) umgewandelt wird. dFdCTP wird dann als falscher Baustein in die DNA eingebaut und führt in weiterer Folge zum DNA-Kettenabbruch. Die Phosphorylierung der Hydroxygruppe in Position 5' ist also für die Wirkung essentiell. Homogemcitabin fällt als Zwischenprodukt bei der oben vorgestellten Synthese des Gemcitabin an. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit konnte eine ähnliche physiologische Wirkung erwartet werden. Andererseits liegt der chemische Unterschied der beiden Verbindungen in der, für die Wirkung, sehr wichtigen Position 5'. Die funktionelle Gruppe an der 5'-Position des Gemcitabin ist ein primärer, die des Homogemcitabin ein sekundärer Alkohol. Der Alkohol, der durch das Enzym Deoxycytidinkinase in das Triphosphat umgewandelt wird, ist also bei Gemcitabin freier zugänglich. Ob Homogemcitabin im menschlichen Körper in ein aktives Derivat umgewandelt werden kann und somit cytostatische Wirkung zeigt ist also fraglich.

Derivate wurden aus dem an 5' L-konfigurierten Homogemcitabin, das aus der Standardsynthese (siehe Kapitel 2.6) hergestellt wurde, synthetisiert.

2.3.1 Synthese des Epoxids

Epoxide in der Tumorthherapie

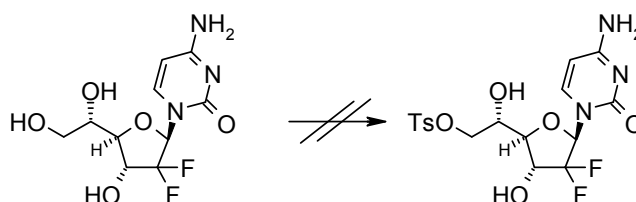
In der Literatur sind Substanzen, die eine Epoxidteilstruktur enthalten als Antitumor-wirkstoffe beschrieben. So sind zum Beispiel Stoffe beschrieben, die die Angiogenese hemmen²⁶, wobei der Wirkungsmechanismus noch nicht geklärt ist. Derivate von Steroiden mit Epoxidfunktion wurden als antiproliferative Substanzen entwickelt.²⁷ Außerdem werden Epoxide in der Tumorthherapie aufgrund ihrer alkylierenden Eigenschaften eingesetzt.

²⁶ Sun H.L., et al., *Clin Cancer Res.*; **2009**, 15 (15), 4904 – 4914.

²⁷ Milic D., Kop T., Csanadi J., Juranic Z., Zizak Z., Gasic M., Solaja B. ; *Steroids*, 74 (12) 890 - 895

Synthese des Epoxids

Die Synthese von Epoxiden aus Diolen ist in der Literatur beschrieben.²⁸ Üblicherweise führt man eine Abgangsgruppe, wie z.B. Tosyl, ein um anschließend im basischen Milieu die vicinale Hydroxygruppe zu deprotonieren um eine intramolekulare S_N2-Reaktion herbeizuführen. Aus dieser Reaktion entsteht das Oxiranyl-Derivat des Diols. Primäre Alkohole sind prinzipiell sterisch weniger gehindert als sekundäre. Eine selektive Tosylierung des Homogemcitabin an C-6' in Anwesenheit freier Hydroxygruppen, analog zur oben besprochenen Synthese des Zuckertosylats **35**, an 3' und 5' sollte also möglich sein. Aufgrund der schlechten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln wie Dichlormethan und Ethylacetat konnte die Reaktion nur in trockenem Pyridin versucht werden. Bei einer Verdünnung von 1 : 20 (m/v) löst sich Homogemcitabin vollständig in Pyridin. Allerdings konnte nach Zugabe von Tosylchlorid keine Umsetzung des Edukts beobachtet werden.

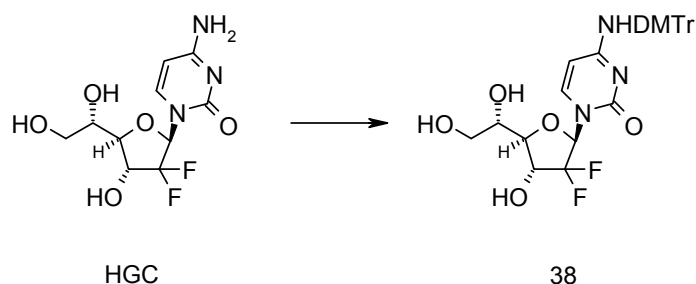


Schema 2.3 Versuch zur Tosylierung von Homogemcitabin.

Die Gründe für das Ausbleiben einer Reaktion sind noch zu untersuchen. Die Derivatisierung von Cytidinanaloga zu apolareren Verbindungen ist in der Literatur beschrieben²⁹. Dadurch kann das Nukleosid durch Extraktion oder chromatographische Methoden weiter gereinigt bzw. von anorganischen Salzen, die eine Folgereaktion stören können, abgetrennt werden. Außerdem kann damit eine bessere Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln erzielt werden. Die Derivatisierung an der Aminogruppe der Nukleobase erfolgt durch intermediäre Schützung der Hydroxygruppen an 3',5' und 6' mit Trimethylsilylchlorid und anschließender Dimethoxytritylierung des Amins. Die Reaktion läuft glatt und man erhält das Dimethoxytritylderivat des Homogemcitabin.

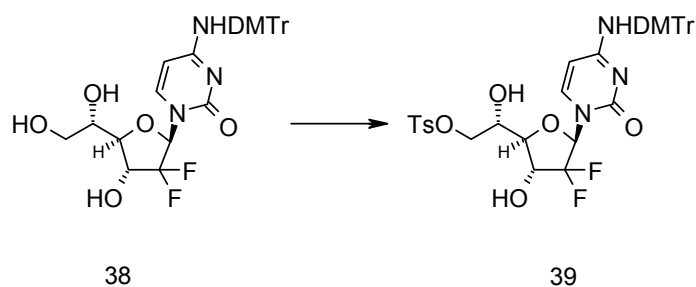
²⁸ Aus „Hexofuranosylnucleoside zum Aufbau von Nucleotidanaloga“, **1999**, Kaufhold L.

²⁹ Seio, K.; Miyashita, T.; Sato K.; Sekine M.; *Eur.J. Org. Chem.*; **2005**, 24, 5163 – 5170.



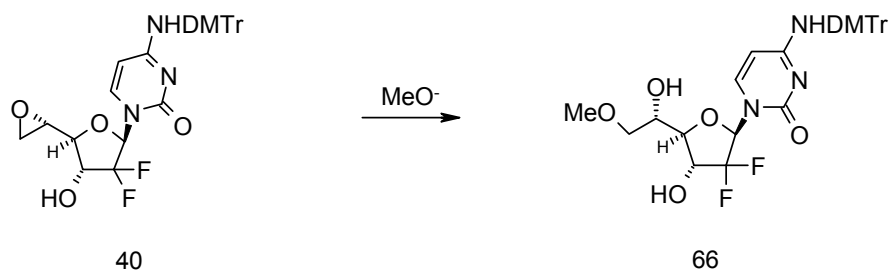
Schema 2.4 Synthese des Dimethoxytritylderivats **38**.

Das Produkt dieser Reaktion wurde durch Säulenchromatographie gereinigt. In der nächsten Stufe konnte die Reaktion in Dichlormethan mit 4 Äquivalenten Pyridin geführt werden. Es entsteht das Tosylat **39**.



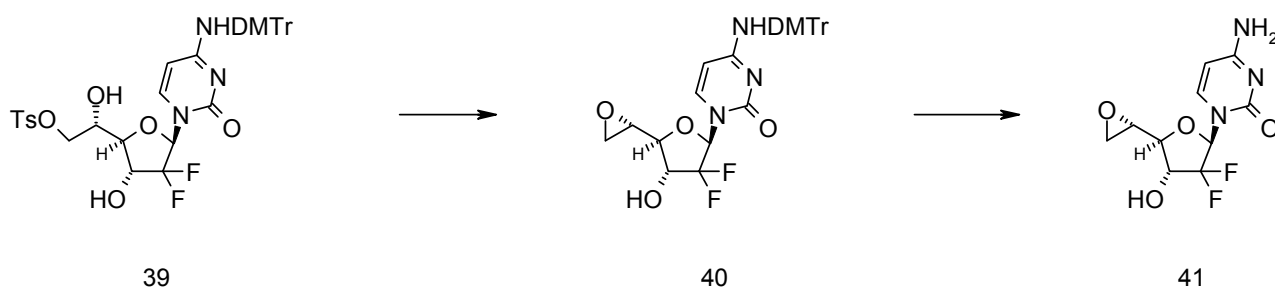
Schema 2.5 Synthese des Tosylats **39**.

Die Bildung des Epoxids läuft in Methanol mit basischem Ionentauscher. Bei längerer Reaktionsdauer entsteht wahrscheinlich aus dem Epoxid in einer Folgereaktion durch Öffnung des dreigliedrigen Ringes durch das, aus dem Lösungsmittel im basischen Milieu entstehende, Methanolat das 6'-Methoxyderivat **66** des Homogemcitabin.



Schema 2.6 Bildung des 6'-O-Methyl-N-DMTr-Homogemcitabin **66**.

Deswegen muss die Reaktion ständig beobachtet und die Reaktionszeit kurz gewählt werden um eine Anreicherung dieses unerwünschten Produkts zu verhindern. Möglicherweise kann durch die Verwendung eines sterisch anspruchsvolleren Lösungsmittels wie z.B. Isopropanol oder t-Butanol die Bildung eines Folgeprodukts verhindert werden. Das Produkt **41** konnte nach chromatographischer Trennung mit 5% Trichloressigsäure in Dichlormethan am Amin des Cytosin entschützt werden. Nach Neutralisieren konnte das Produkt chromatographisch gereinigt werden. Es entsteht das 5',6'-Oxiranylhomogemcitabin.



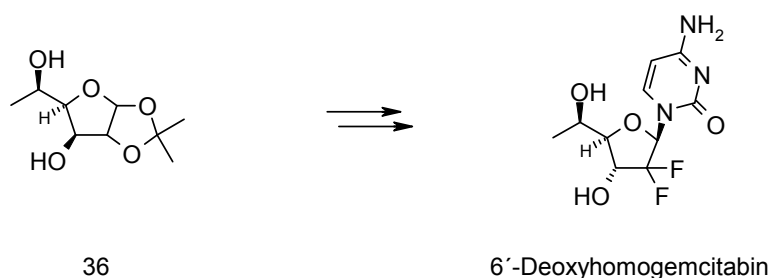
Schema 2.7 Bildung des Epoxids **41**.

2.3.2 Synthese des 6'-Deoxyhomogemcitabin

Ausschlaggebend für die Wirkung von Gemcitabin ist die Umwandlung innerhalb der Zelle in das entsprechende Triphosphat. Die Position 5' des Nukleosids wird dabei zum Phosphat verestert. Die Synthese von 6'-Deoxyhomogemcitabin führt zu einer Substanz, die an der entsprechenden Position eine zusätzliche Methylgruppe trägt. Allgemein sollten Änderungen an dieser Position auch die Wirksamkeit der Substanz wesentlich verändern. Da im Zuge dieser Arbeit 6-Deoxy-D-Glucose in großen Mengen hergestellt wurde und in Folge ein 6'-Deoxy-Homonukleosid synthetisiert wurde lag es nahe das 6'-Deoxyhomogemcitabin durch Fluorierung über diesen Weg herzustellen. Es wurde in Folge auch versucht das an 5' L-konfigurierte Derivat ausgehend vom an 5' L-konfigurierten Homogemcitabin herzustellen.

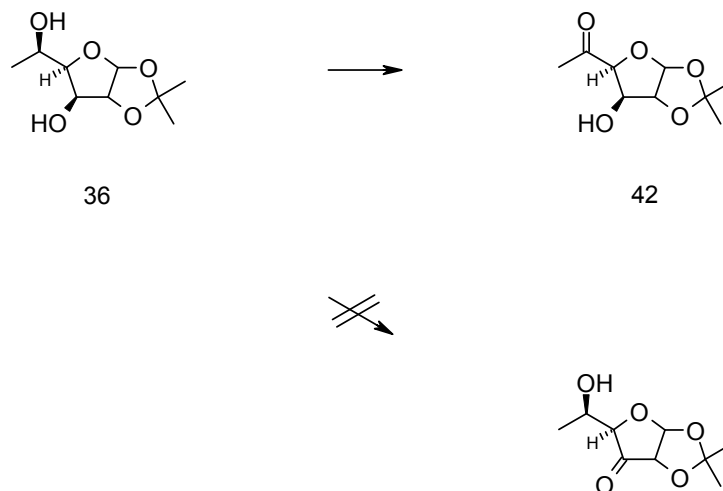
Synthese

Ausgehend von 6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36**, das bei der unten beschriebenen Prozessentwicklung von 6-Deoxy-D-Glucose als Zwischenprodukt hergestellt wurde (siehe Kapitel 2.4 Prozessentwicklung 6-Deoxy-D-Glucose), wurde versucht 6'-Deoxyhomogemcitabin (5' D-konfiguriert) herzustellen. Dazu sollte im ersten Schritt die Stereokonfiguration der Allose durch selektive Oxidation an Position 3 des Zuckers **36** und anschließende stereoselektive Reduktion zur 6'-Deoxy-1,2-isopropylidenallo-furanose hergestellt werden.



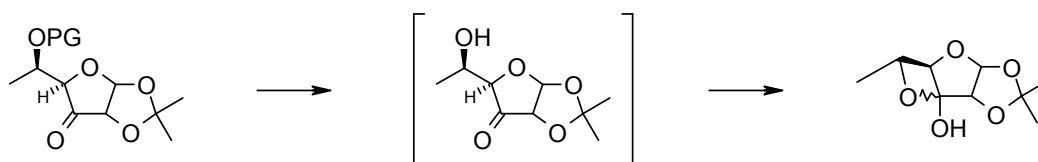
Schema 2.8 6'-Deoxyhomogemcitabin aus **36**.

Die Oxidation wurde mit den gängigen Reagenzien PDC, PCC, Dess-Martin-Periodinan und TEMPO/Natriumhypochlorit durchgeführt. Tatsächlich entsteht in allen Fällen sowohl mit Unterschuss als auch mit mehr als 2 Äquivalenten an Oxidationsmitteln nur ein Produkt. Die Hydroxygruppe in Position 3 konnte nicht oxidiert werden. Es entstand in allen Fällen das in Position 5 zum Keton oxidierte Produkt.



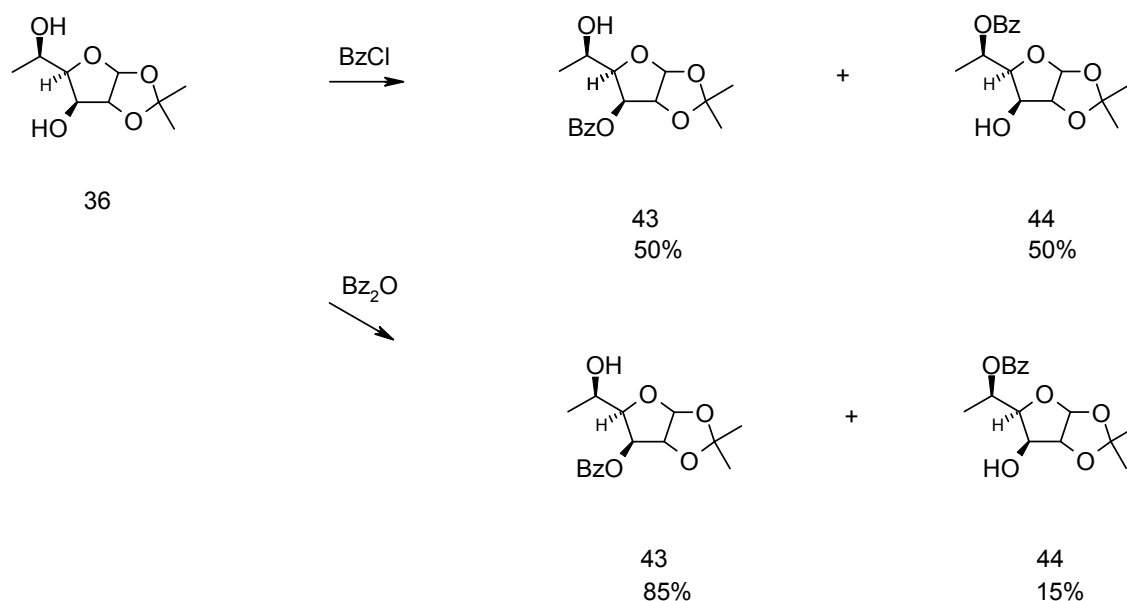
Schema 2.9 selektive Oxidation in Position 5 des Zuckers **36**.

Da mit verschiedenen Reagenzien und unterschiedlichen Äquivalenten an Oxidationsmittel regioselektiv nur das Produkt **42** entstand musste man von einer kinetischen Kontrolle ausgehen, die die Oxidation an Position 3 unmöglich macht. Tatsächlich wurde in einem späteren Versuch durch Schützung an Position 5, Oxidation an Position 3 und Entschützung der Hydroxygruppe an 5, gezeigt, dass das Keton an Position 3 instabil ist und in Folge zu intramolekularen Acetalen zwischen 5 und 3 reagiert. Dieses Experiment hat gezeigt, dass das Keton in Position 3 bei Anwesenheit einer alkoholischen Funktion in Position 5 nicht stabil ist.



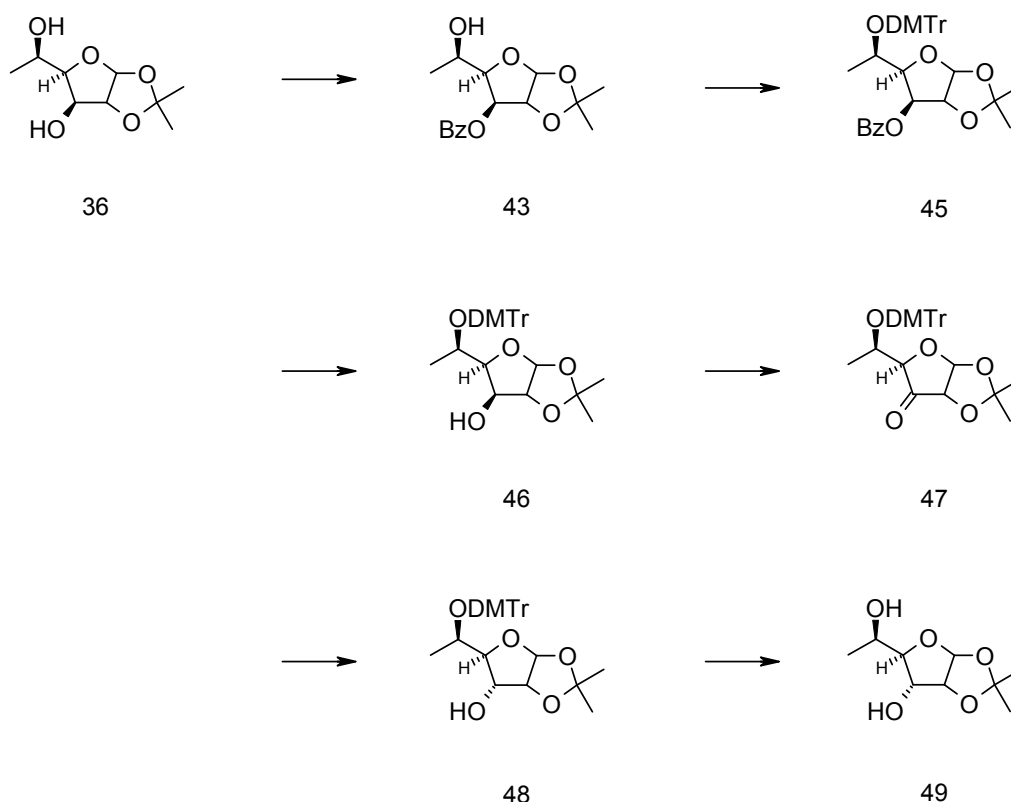
Schema 2.10 in situ-Bildung der Halbacetale nach Entschützung in Position 5.

Es wurde versucht die Hydroxygruppe in Position 5 regioselektiv zu schützen um die alkoholische Funktion in Position 3 zu invertieren. Die Versuche mit Unterschuss an Benzoylchlorid waren nicht erfolgreich. Es entstand eine Mischung von beiden Regioisomeren **43** und **44** im Verhältnis 1:1. Durch Verwendung von dem sterisch anspruchsvolleren Benzoessäureanhydrid anstelle von Benzoylchlorid konnte gute Regioselektivität erzielt werden. Es entstand 3-Benzoyl-6-Deoxy-1,2-isopropyliden-glucofuranose **43** mit einem Überschuss von 85 : 15 im Vergleich zur 5-Benzoyl-6-Deoxy-1,2-isopropyliden-glucofuranose **44**.



Schema 2.11 Regioselektive Benzoylierung an **36**.

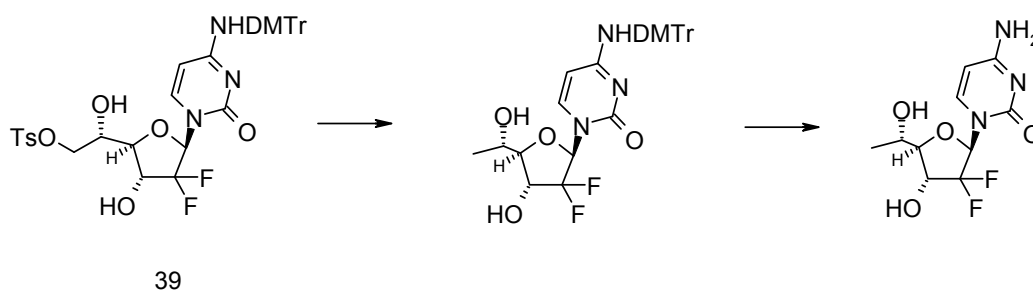
Man erhielt zwar das unerwünschte Produkt im Überschuss, allerdings konnte durch geeignete Schutzgruppenstrategie die Position 3 frei zugänglich und die Position 5 geschützt werden. Die Hydroxygruppe an 5 wurde mit Dimethoxytrityl geschützt. So wurde eine basenstabile Gruppe eingeführt, die nach Verseifung des Esters in Position 3 bestehen bleibt. Durch chromatographische Reinigung konnte das reine Regioisomer **45** erhalten werden. Die Hydroxygruppe in Position 3 konnte durch TEMPO/Natriumhypochlorit und Natriumborhydrid in zwei Stufen zu **48** invertiert werden. Nach Entschützung der Ethergruppe in 5 entstand die 6-Deoxy-1,2-isopropylidenallofuranose **49**.



Schema 2.12 Inversion der 6-Deoxyglucose **36** zur 6-Deoxyallose **49**.

Dieser Syntheseweg ist im Hinblick auf eine spätere Fluorierung die nicht zum gewünschten Produkt führt nicht gangbar.

Das an 5' L-konfigurierte Derivat wurde aus dem Tosylat des Homogemcitabin durch Reduktion synthetisiert. Homogemcitabin wurde dafür nach der in Kapitel 2.6 Abbildung 2.6 vorgestellten Methode hergestellt.



Schema 2.13 Konzept zur Herstellung des 6'-Deoxy-homogemcitabin.

Die Reaktion läuft mit NaBH_4 in Acetonitril unter Reflux ab. Es entstehen mehrere Produkte, die chromatographisch trennbar sind.

2.4 Prozessentwicklung 6-Deoxy-D-glucose

Prozessentwicklung für 6-Deoxyglucose

Ein weiterer Teil dieser Arbeit war es einen Prozess für die Herstellung von 6-Deoxy-D-Glucose zu entwickeln. Außerdem sollte die folgende Synthesesequenz zu dem Zwischenprodukt 6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36** führen, das Ausgangsmaterial für die Synthese des 6'-Deoxyhomogemcitabin sein sollte. (siehe oben)

6-Deoxy-D-glucose (6-DOG), auch als D-Quinovose, Epifucose oder D-Isorhamnose bekannt, ist vor allem für den pflanzlichen Stoffwechsel von großer Bedeutung. Einige Wirkstoffe, die aus Pflanzen isoliert wurden tragen 6-DOG als Teilstruktur. Zu diesen Wirkstoffen gehören vor allem Triterpenglykoside, deren Zuckerteil unter anderem einen oder mehrere 6-DOG Bausteine trägt³⁰. 6-DOG ist also ein wichtiger Precursor für die Totalsynthese solcher Substanzen.

Literaturbekannte Methoden zur Herstellung von 6-DOG

Es wurden mehrere Wege für die Synthese der 6-DOG beschrieben. Viele dieser Synthesewege sind vielstufig, benötigen komplizierte Schutzgruppenstrategien oder die Bildung von terminalen Iodverbindungen mit anschließender katalytischer Hydrierung³¹. Eine andere Möglichkeit zur Synthese ist die Bildung des Methyl-6-Chlor-6-Deoxy- α -D-glucopyranosid in einer Stufe aus Methyl- α -D-glucopyranosid durch Reaktion mit Methansulfonylchlorid in *N,N*-Dimethylformamid und die Reduktion dieser Verbindung mit Lithiumaluminiumhydrid (LAH).³² Nachteile dieser Synthese sind die langsame Umsetzung der Reduktion, und die nötige chromatographische Aufreinigung der Produkte nach jeder Stufe. Auch aus D-Mannose konnte 6-DOG hergestellt werden. Dies geschieht über die Bildung von 1-Methyl-5-O-Benzoyl-6-Deoxy-2,3-O-Isopropyliden- α -D-Mannofuranose³³, darauf folgender Inversion der Hydroxygruppe in Position 2 durch Acetolyse und anschließender Verseifung der 1,2,3-Tri-O-acetyl-5-O-benzoyl-6-deoxy-D-glucose.

³⁰ Liu H.; Zhang X; Gao H.; Wang N.; Jin S.; Cai B.; Yao X.; Cai G.; *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, 53 (10), 1310 – 1313.

³¹ Hanessian S.; *Adv. Carbohydr. Chem.* **1966**, 21, 143 – 207. Schmidt O. T.; *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 198 – 201.

³² Evans M. E.; Parrish F. W.; *Methods Carbohydr. Chem.* **1972**, 6, 177 – 179.

³³ Lerner L. M.; *Carbohydr. Res.*, **1974**, 367, 392 – 397.

Eine weiterer Syntheseweg geht über die Furanoseform der D-Glucose³⁴. Über mehrere Stufen wird das 3,5-O-Benzyliden-6-deoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glucose hergestellt. Nachteilig dabei ist die große Anzahl an Synthesestufen und die nötige Entschützung der Benzylidengruppe. Srivastava et al. beschrieben die Synthese von 6-DOG in 6 Stufen aus D-Glucose über das 1,2;3,5-Di-O-methyliden-6-tosyl- α -D-glucose und dessen Reduktion mit Lithiumtriethylborhydrid. Nach Entschützung im sauren Medium entsteht 6-DOG.³⁵

Die Verfahren zur Herstellung von 6-DOG über Synthese und Reduktion der Methyl-6-Chlor-6-deoxy-D-Glucopyranose bzw. die Umwandlung des 6-Chlor- in das entsprechende 6-Brom- oder 6-Iod-Derivat und die Reduktion derer zu 6-DOG wurde von Delay, F. et al. anderen Methoden als überlegen beschrieben.³⁶

Vorteile dieser Methode ist die direkte Umsetzung der Pyranoseform der Glucose ohne vorherige Schützung der vicinalen Diolen in Position 1,2 und 5,6, wobei man den Syntheseweg um eine Stufe verkürzt. Außerdem wurde die Möglichkeit zur Eintopfreaktion der Halogenierung/Reduktion beschrieben. Dadurch entfällt die Aufarbeitung einer Zwischenstufe. Die sehr hohe Gesamtausbeute ist ein weiterer Vorteil dieser Methode.

Nachteilig ist aber die Verwendung von Phosgen zur Chlorierung der Methyl-D-glucopyranose. Phosgen ist hochgradig toxisch und aufgrund des niedrigen Siedepunkts und der starken Hydrolysetendenz schwer zu lagern und handzuhaben. Außerdem wird zur Reduktion Raney-Nickel verwendet, das leicht brennbar und dadurch für eine großtechnische Synthese problematisch ist.

Als verhältnismässig unaufwendige Synthese wurde die Herstellung der 6-DOG über 1,2-O-Isopropyliden-6-O-tosyl- α -D-glucofuranose, die mit LAH zum 1,2-O-Isopropyliden-6-deoxy- α -D-glucofuranose reduziert und mit stark saurem Ionentauscher entschützt wird, von Valverde publiziert³⁷.

Die verwendeten Reagenzien dieser Methode sind durchwegs einfach handzuhaben, kommerziell erhältlich, preisgünstig und größtenteils ungiftig. Die

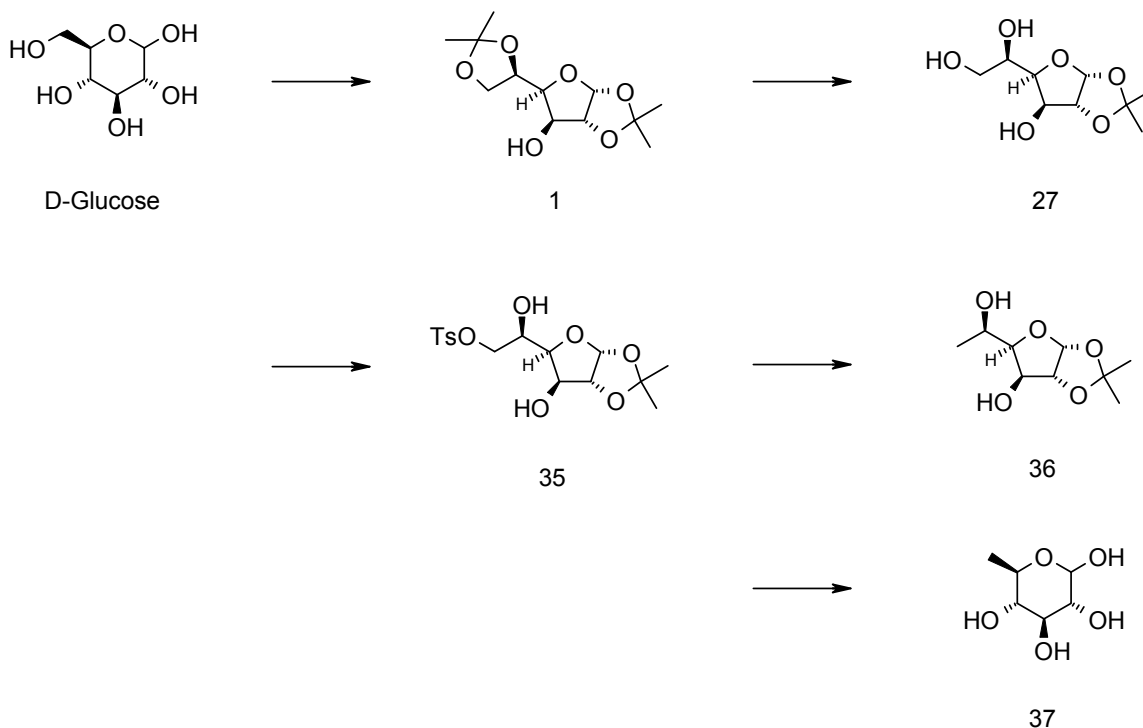
³⁴ Karrer, P.; Boettchen, A.; *Helv. Chim. Act.*; **1953**, 36, 570 – 572.

³⁵ Srivastava K.; Lerner L. M.; *Carbohydrate Research*, **1978**, 64, 263 – 265.

³⁶ Delay F.; Mazenod F.; Naef F.; *Eur. Pat. Appl.* 1987, EP212309.

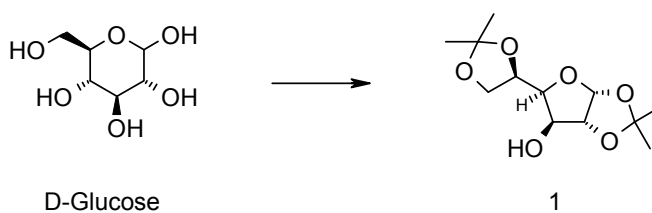
³⁷ Valverde S.; Hernandez A.; Herradon B.; Rabanal R.M.; Martin-Lomas M.; *Tetrahedron*, **1987**, 43 (15); 3499 – 3504.

Reaktionen laufen glatt und es entstehen kaum Nebenprodukte. Aus diesen Gründen fiel die Entscheidung des Synthesewegs auf diese Methode.



Schema 2.14 Synthese der 6-DOG

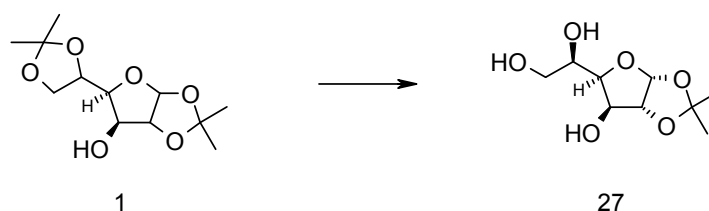
Diacetononierung



Schema 2.15 Diacetononierung der D-Glucose.

Die erste Stufe, die Diacetononierung, wurde schon in Kapitel 2.2, bei der Bildung der ersten Zwischenstufe der Homogemcitabinsynthese, besprochen und für eine großtechnische Synthese optimiert.

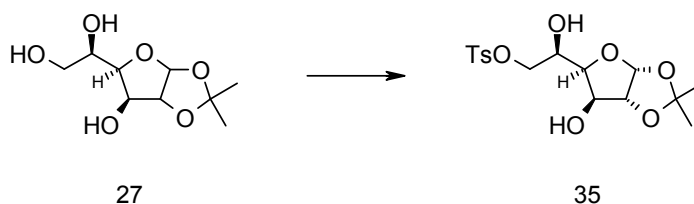
Acetalspaltung



Schema 2.16 Acetalspaltung des Diacetonids **1**.

Die selektive Entschützung funktioniert analog zur Acetalspaltung zur 1,2-O-Isopropyliden- α -D-allofuranose **17**. Es wurde in der höchstmöglichen Konzentration, nahe der Löslichkeitsgrenze des Edukts **1** gearbeitet, um im Anschluss eine möglichst quantitative Fällung des Produkts **27** zu ermöglichen. So wird das Diacetonid **1** in einer Mischung aus Essigsäure, Ameisensäure und Wasser in 45%iger Lösung entschützt. Die Kristallisation der 1,2-O-Isopropyliden- α -D-glucofuranose **27** mit MTBE gelingt, direkt aus der Reaktionsmischung, mit ähnlich guten Ausbeuten von über 70%. Eine weitere Aufarbeitung ist dadurch nicht nötig. Durch Einengen der Mutterlauge und nochmaligem Fällern mit MTBE kann die Ausbeute auf bis zu 85% gesteigert werden.

Tosylierung

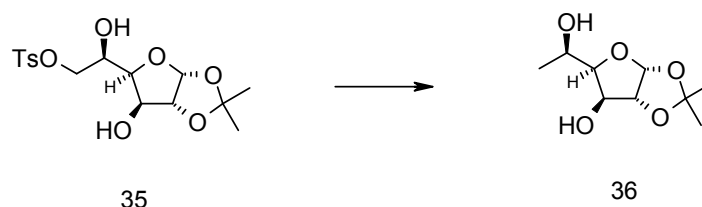


Schema 2.17 Tosylierung des Monoacetonids **27**.

Die nächste Stufe war durch den Einsatz von Pyridin als Lösungsmittel problematisch. In der Literatur wurde eine Verdünnung von 1 : 10 (m / v) **27** / Pyridin gewählt. Pyridin ist giftig, haut- und schleimhautreizend, die Dämpfe sind entflammbar und können mit Luft explosive Gemische bilden. Für die Selektivität der Monotosylierung ist die vollständige Lösung des Edukts essentiell, da bei

einem Überschuss an Reagens in Lösung eine weitere Tosylierung an einem der beiden freien Hydroxygruppen an 3 und 5 stattfindet. Durch die hohe Polarität des Zuckers **27** ist die Wahl der Lösungsmittel limitiert. Es wurde versucht die Löslichkeit des Edukts in Pyridin durch Verdünnung mit Dichlormethan zu verbessern und so die Menge an eingesetztem Pyridin zu verringern. Die Verbindung **27** wurde dazu in Pyridin gelöst, auf 35° C erwärmt und mit Dichlormethan versetzt. Dichlormethan vermindert die Polarität des Lösungsmittels aber so stark, dass durch die Zugabe eine größere Menge Pyridin für die vollständige Lösung von **27** nötig wird. Triethylamin und Ethylacetat sind als Lösungsmittel aufgrund der schlechten Löslichkeit des Edukts ungeeignet. Als Optimierung konnte nur die verwendete Pyridinmenge auf ein Minimum reduziert werden. So konnte bei Raumtemperatur in einer 17%igen (m / v) Lösung gearbeitet, und die Menge an Pyridin auf 6 ml / g Edukt verringert werden. Eine Erwärmung der Reaktionsmischung, um die Löslichkeit zu verbessern, führte zu einer gesteigerten Bildung vom Nebenprodukt, dem in Position 3 tosyliertem Derivat.

Reduktion

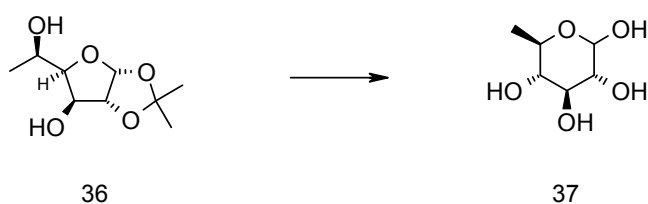


Schema 2.18 Reduktion des Tosylats **35**.

Die Reduktion des Tosylats **35** zur 6-Deoxy-1,2-isopropyliden- α -D-glucofuranose **37** wurde in der Literatur mit LAH in Tetrahydrofuran (THF) oder Diethylether⁷⁶ (Et₂O) beschrieben. In THF entsteht bei Aufarbeitung ein voluminöser Niederschlag, der schwer abfiltrierbar ist. Beide Lösungsmittel sind aufgrund der möglichen Bildung von Peroxiden, die zur Explosion neigen, nicht für eine Synthese im größeren Maßstab geeignet. Anstelle von THF oder Et₂O wurde auf Methyl-tert-butylether (MTBE) zurückgegriffen, welcher nicht zur Bildung von Peroxiden neigt. Die Aufarbeitung ist im Vergleich mit THF als Lösungsmittel einfacher, da sich ein feinerer Niederschlag bildet, der leichter filtrierbar ist.

Außerdem hat MTBE im Vergleich mit Et₂O einen um 20° C höheren Siedepunkt. So erlaubt MTBE eine höhere Reaktionstemperatur und ermöglicht dadurch eine schnellere Umsetzung und eine kürzere Reaktionsdauer. Da die Aufarbeitung mit Wasser und Natronlauge stark exotherm ist, ist die Verwendung von MTBE auch hier von Vorteil. Die Reaktion läuft quantitativ und eine weitere Aufreinigung ist nach Aufarbeitung nicht nötig.

Acetalspaltung und Aufreinigung



Schema 2.19 Acetalspaltung des Monoacetonids **36**.

Die saure Hydrolyse des Acetals an Position 1,2 läuft üblicherweise in Wasser mit verdünnter Salzsäure⁷⁴ oder stark saurem Ionentauscherharz³⁸. Da das Produkt dieser Reaktion, die Mischung aus α - und β -Anomer der 6-DOG **37** sehr gut wasserlöslich muss zur Kristallisation möglichst viel Wasser entfernt werden. Die Verwendung von Ionentauscherharz, entweder bei der Aufarbeitung (basisch OH⁻-Form) oder bei der Reaktion (sauer H⁺-Form) vereinfacht die Aufarbeitung. Das Harz muss nur abfiltriert werden, es kommt zu keiner weiteren Verdünnung durch den Einsatz von wässriger Lauge bei der Neutralisation. Die notwendige Menge Wasser um das Edukt **36** noch ausreichend zu lösen um die Mischung noch gut rühren zu können wurde mit 3000 ml / kg **36** bestimmt. Nach Ende der Reaktion wird das Ionentauscherharz abfiltriert, und das Lösungsmittel bei 50° C unter Vakuum eingedampft, wobei ein schwarzes Öl entsteht.

Die Kristallisationsversuche mit Ethylacetat (EtOAc) und Aceton (Me₂CO) waren nach Startfleckfiltration bzw. vorheriger chromatographischer Reinigung des in die Reaktion eingesetzten Edukts **36** erfolgreich. Allerdings konnte mit verunreinigtem Rohmaterial keine Kristallisation erreicht werden.

³⁸ Zsoldos-Mády V.; Monatshefte für Chemie; 1986; 117; 1325 - 38

Beim Versuch das Rohprodukt in Isopropanol zu lösen kristallisierte das Produkt spontan aus. Die Kristallisation gelang bei Raumtemperatur in einer Verdünnung von 1 / 3 (m/v). Die NMR-Analytik zeigte, dass das Produkt als reines α -Anomer ausfällt, das in Wasser mutarotiert, bis sich ein Gleichgewicht bei $\alpha : \beta = 52 : 48$ einstellt. Die Mutterlauge wird nach Eindampfen nochmals mit der gleichen Menge Isopropanol versetzt. Diese Prozedur wird solange wiederholt, bis keine Kristalle mehr ausfallen. Zur weiteren Aufreinigung kann die Mutterlauge auch mit Isopropanol über Kieselgel filtriert werden.

Versuch	Konzentration (37/LM)	Lösungsmittel	T (°C)	Ergebnis
1	1 g / ml	Ethanol	60 – (-25)	Lösung
2	1 g / ml	Aceton	30 - 4	30% Kristalle
3	1 g / 3 ml	Isopropanol	20	70% Kristalle
4	1 g / 5ml	Diethylether	30 – (-25)	Suspension
5	1 g / 5ml	MTBE	40 – (-25)	Suspension
6	2 g / 14 ml	EtOAc	20	80% Kristalle
7	1 g / 10 ml	EtOAc / Et ₂ O / PE (1 : 1 : 0,1)	20	Suspension

Abbildung 2.2 Kristallisationsversuche 6-DOG (Versuche 2 und 6 nach Säulenchromatographie, Versuch 3 direkt aus dem Rohgemisch)

Mit Isopropanol als Lösungsmittel zur Kristallisation der 6-DOG konnte die gesamte Synthese ohne chromatographische Reinigungsmethoden durchgeführt werden, um am Ende ein analytisch reines kristallines Produkt zu erhalten. Der Prozess wurde für die Herstellung von 1 kg 6-DOG entwickelt. Ein up-scale auf 10 kg ist vorstellbar. Der limitierende Faktor ist die Wassermenge in der letzten Stufe.

2.5 Aufbau einer Synthesesequenz zur Herstellung von Homonukleosiden

Ausgehend von D-Glucose wurde eine Synthesesequenz geplant um Homonukleoside herzustellen. Im ersten Schritt wurde das oben genannte Diacetonid **1** hergestellt und in Folge D-Allose- und D-Glucosederivate gebildet.

Synthese von 1,2;5,6-O-Diisopropyliden- α -D-glucofuranose

Um die Hydroxygruppe in Position 3 des Zuckers zu invertieren, mussten zuerst die übrigen Hydroxygruppen geeignet geschützt werden. Durch kinetische Kontrolle wird die Furanoseform im Gegensatz zur Pyranoseform schneller gebildet. Bei den alkoholischen Funktionen in den Positionen 1 und 2 sowie in 5 und 6 handelt es sich um vicinale Dirole. Durch geeignete Schützungen der Hydroxygruppen können also Veränderungen in Position 3 durchgeführt werden ohne die restlichen Funktionen des Moleküls zu beeinflussen, außerdem kann der Zucker in den gewünschten fünfgliedrigen Zustand gezwungen werden. Acetonide bieten sich als ideale Schutzgruppen an, weil sie sowohl in neutralem und basischem Medium, als auch thermisch sehr stabil sind.

Die Kondensation von Aceton mit Aldosen und Ketosen, die zur Bildung der entsprechenden Isopropylidenderivate führt, wird oft angewandt um Hydroxygruppen zu schützen. Viele O-Isopropylidenderivate, wie in diesem Fall 1,2;5,6-O-Diisopropyliden- α -D-glucofuranose, zeigen entzündungshemmende und fiebersenkende Wirkung, bei sehr geringer Toxizität und sind selbst Wirkstoffe.³⁹ Die gängigen Methoden zur Herstellung dieser Derivate sind die Kondensation zweier vicinaler Hydroxygruppen mit Aceton in Anwesenheit von Säure unter wasserfreien Bedingungen. Für diese Reaktion sind in der Literatur mehrere Katalysatoren bekannt. Dazu zählen Mineralsäuren⁴⁰, trockenes Zinkchlorid zusammen mit Phosphorsäure⁴¹, saures Ionentauscherharz⁴², trockenes

³⁹ Goi, A.; Bruzzese, T.; Notarianni, A. F.; Riva, M.; Ronchini, A. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* **1979**, *7*, 986.

⁴⁰ Stevens, J.D. *Chem. Commun.* **1969**, 1140. (b) Hughes, N.A.; Speakman, P.R. H. *Carbohydrate Research.* **1965**, *1*, 171.

⁴¹ Schmidt, O.T. *Meth. Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 318.

Kupfer(II)sulfat⁴³, Iod⁴⁴, trockenes Eisen(III)chlorid⁴⁵, BF₃·OEt₂⁴⁶, trockenes AlCl₃⁴⁷, und Zeolite⁴⁸.

Das entstehende Wasser kann durch physikalische oder chemische Methoden gebunden, oder aus der Reaktionsmischung entfernt werden⁴⁹. Dadurch ist es möglich das Gleichgewicht auf die Seite des erwünschten Produkts zu verschieben. Im Allgemeinen entstehen die thermodynamisch bevorzugten Produkte. Durch Entziehen von Wasser kann die Rückreaktion nicht mehr stattfinden und es entsteht quantitativ das gewünschte Produkt.

In dieser Arbeit wurde trockenes Eisen(III)chlorid als Katalysator und Aceton als Lösungsmittel verwendet. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von Glucose in Aceton wurde eine 5%ige Lösung hergestellt. Da sowohl Aceton als auch Glucose in großen Mengen kommerziell erwerblich und sehr günstig sind konnte auf eine Optimierung der Synthese verzichtet werden. Außerdem konnte sowohl Aceton, durch Destillation, wie auch Glucose, durch Trocknung recycelt werden. Da bei dieser Reaktion keine detektierbaren Mengen an Nebenprodukten entstanden, konnte das Edukt nach Wiedergewinnung ohne weitere Aufreinigung nochmals zur erneuten Synthese verwendet werden. Die Aufarbeitung des Produkts gelingt durch Abfiltrieren des nicht gelösten Edukts und Fällens und Abfiltrieren des Katalysators und kann in großem Maßstab durchgeführt werden. Das Lösungsmittel wird aufgrund des niedrigen Siedepunkts schnell abrotiert und kann nach Trocknung über Molsieb wieder verwendet werden. Im Aceton liegt kaum gelöstes Edukt vor. Nach Eindampfen erhält man ohne weitere Aufreinigung das gewünschte Produkt in sehr guter Qualität als Feststoff.

⁴² (a) Nair, P.R.M.; Shah, P.M.; Sreenivasan, B. *Starch* **1981**, 33, 384. (b) Nikiforov, V.A.; Zarutski, V. V.; Chapanov, I. D.; Vasil'eva, I.B.; Dolgushina, N. N. *Khim.-Farm. Zh.* **1982**, 16, 1102; *Chem. Abstr.* **1982**, 97, 215482x.

⁴³ (a) Mongenlie, S. *Acta chem.. Scand.* **1973**, 27, 3609. (b) Mongenlie, S. *Acta chem.. Scand., Ser. B* **1975**, 297, 367.

⁴⁴ Kartha, K. P. R. *Tetrahedron Letters*, **1986**, 27, 3415.

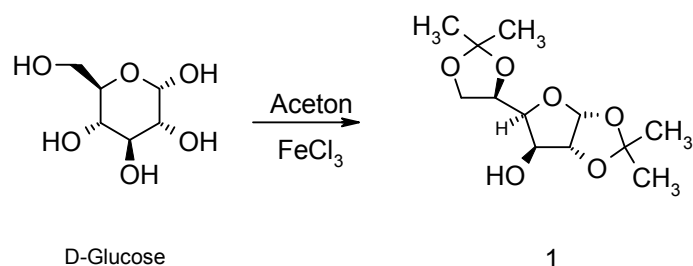
⁴⁵ Singh, P. P.; Gharia, M. M.; Dasgupta, F.; Srivastava, H. C. *Tetrahedron Letters*, **1977**, 439

⁴⁶ Pfaff, P. K. , Paust, J.; Hartmann, H. Ger. Offen, DE 3505150, **1986**; *Chem. Abstr.* **1985**, 106, 18984r.

⁴⁷ Lal, B.; Gidwani, R.M.; Rupp, R.H. *Synthesis* **1989**, 711.

⁴⁸ Rauter, A.P.; Ramoa-Ribeiro, F.; Fernandes, A. C.; Figueiredo, J. A. *Tetrahedron* **1995**, 51, 6529.

⁴⁹ Meskens, F. A. J. *Synthesis* **1981**, 501.



Schema 2.20 Acetonidbildung mit FeCl_3 als Lewisäure.

Oxidation des sekundären Alkohols in Position 3

Zur Konfigurationsumkehr eines sekundären Alkohols sind prinzipiell mehrere Methoden bekannt. Dazu zählen z.B. die Mitsunobu-Reaktion⁵⁰, die Walden-Umkehr⁵¹, oder die Oxidation zum Keton und anschließend die stereoselektive Reduktion durch ein Metallhydrid.

Die Oxidation des 1,2;5,6-D-Glucufuranosediaceonid zum 3-Oxo-1,2;5,6-D-Glucufuranosediaceonid ist in der Literatur beschrieben. Zu den gängigen Methoden zählen die Verwendung von Chromsalzen wie Pyridiniumdichromat^{52,53}, Pyridiniumchlorochromat und CrO_3 ⁵⁴, weiters die Oxidation mit Dess-Martin-Periodinan und verschiedene Varianten der Swern-Oxidation⁵⁵.

In dieser Arbeit wurde ein literaturbekanntes One-Pot-Verfahren zur zweistufigen Inversion des Alkohols (Swern Bedingungen) mit einer neuen Methode mit katalytischen Mengen Tetramethylpiperidinyloxyradikal (TEMPO) und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid verglichen.⁵⁶

Im ersteren Fall wurde der sekundäre Alkohol in Position 3 durch eine Mischung aus Essigsäureanhydrid und Dimethylsulfoxid oxidiert und durch Zugabe von Natriumborhydrid zur 1,2;5,6-D-Allofuranosediaceonid reduziert.

⁵⁰ Mitsunobu O.; Sano, T.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1972**, 94 (2), 679-80

⁵¹ Aus „Optische Umkehrerscheinungen (Walden'sche Umkehrung)“, **1919**, Verlag Braunschweig.

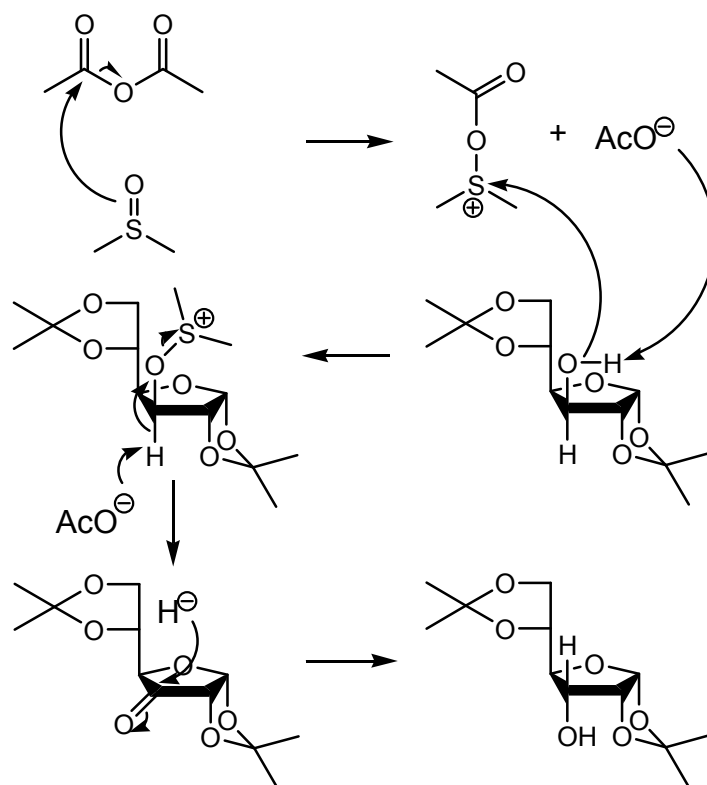
⁵² Soler T.; Bachki A.; Falvello, L. R.; Foubelo, F.; Yus, M.; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, 11, 493-517.

⁵³ Hart, D. J.; Patterson, S.; Unch, J.P., *Synlett* **2003**, 1334.

⁵⁴ Doboszewski, B; Herdewijn, P.; *Tetrahedron*, **1996**, 52, 1651.

⁵⁵ Onodera K.; Hirano S.; Kashimura N.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87 (20), 4651 - 4652

⁵⁶ Christensen, S.M.; Hansen H.F.; Koch T.; *Organic Process Research & Development* **2004**, 8, (5), 777-780.

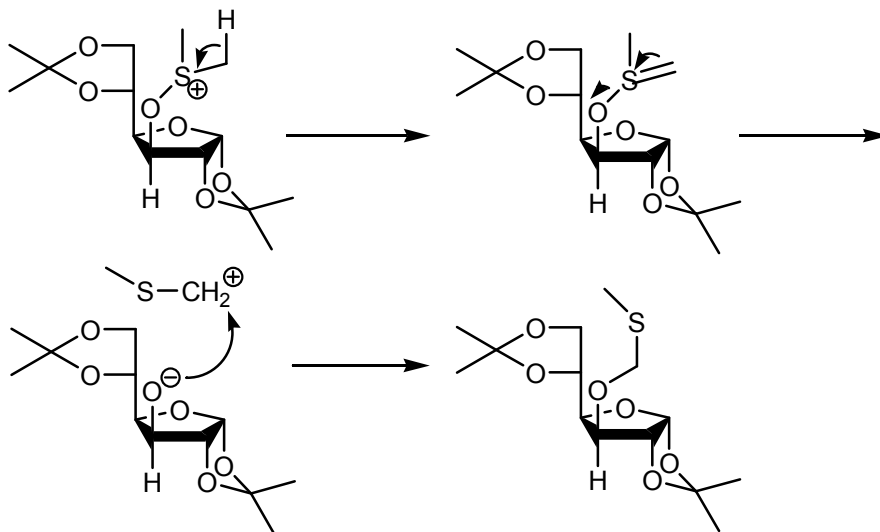


Schema 2.21 Reaktionsmechanismus der Oxidation mit Ac₂O und DMSO und Reduktion mit BH₄⁻

Vorteile dieser Methode sind die einfache Reaktionsführung, da beide Stufen ohne Aufarbeitung und Isolierung der Zwischenstufe, des Ketons, in einem Topf abläuft. Die Aufarbeitung und Reinigung des Produkts ist einfach und kann im großen Maßstab leicht durchgeführt werden, da man die Allofuranose nach mehrfacher Extraktion als analytisch reinen Feststoff erhält. Die verwendeten Reagenzien sind im Gegensatz zu Chromsalzen ökologisch unbedenklich und ungiftig, und anders als Dess-Martin-Periodinan kostengünstig zu erwerben und nicht explosiv. Aus diesen Gründen ist diese Variante der Swern-Oxidation, anders als die oben genannten, zur industriellen Synthese geeignet.

Während der Reaktion entstehen außer dem gewünschten Produkt auch mehrere Nebenprodukte, die zwar leicht abgetrennt werden können, aber die Gesamtausbeute stark mindern. Im Vergleich mit anderen bekannten Methoden zur Herstellung der Allofuranose liegt die Ausbeute mit ca. 55% weit unter den Erwartungen. Nach DC-Kontrolle bilden sich neben dem Hauptprodukt noch drei weitere Substanzen. Das, mit 20%, mengenmäßig hauptsächlich entstehende Nebenprodukt ist 1,2;5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-(methylthio)-methyl- α -D-

glucofuranose. Die Bildung dieses Nebenprodukts kann mit einer Pummerer Umlagerung erklärt werden⁵⁷.



Schema 2.22 Mechanismus der Pummerer-Umlagerung.

Man nimmt an, dass die übrigen Nebenprodukte durch Essigsäureanhydrid acylierte Zucker sind.

Als Alternative zu dieser, mit mittelmäßigen Ausbeuten verlaufenden Oxidation mit Dimethylsulfoxid und Essigsäureanhydrid wurde die Oxidation mit Tetramethylpiperidinyloxyradikal (TEMPO) versucht.

TEMPO wird in allen gängigen Varianten der Oxidation primärer und sekundärer Alkohole zu Ketonen mit 1 – 5 mol% katalytisch eingesetzt. Zur Regeneration des verbrauchten Reagens werden günstige, leicht zugängliche Oxidationsmittel verwendet. Da TEMPO schnell wieder regeneriert wird, können viele verschiedene Oxidationsmittel, üblicherweise äquimolar verwendet werden.

Dazu zählen vor allem m-CPBA^{58,59}, Natriumhypochlorit (NaOCl)^{60,61}, N-Chlorsuccinimid⁶², Natriumbromit⁶³, [Bis(acetoxy)iodo]-benzol⁶⁴, sowie

⁵⁷ Pojer, P.M.; Anqyal, S.J.; *Aust. J. Chem.* **1978**, *31*, 1031-1040.

⁵⁸ Cella, J.A.; Kelley, J.a.; Kenenhan, E.F.; *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 1860 – 1862.

⁵⁹ Ganem, B.; *J. Organic Chemistry*, **1975**, *40*, 1998 – 2000.

⁶⁰ Anelli, P.L.; Biffi, C.; Montanari, F.; Quici, S., *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 2559-2562.

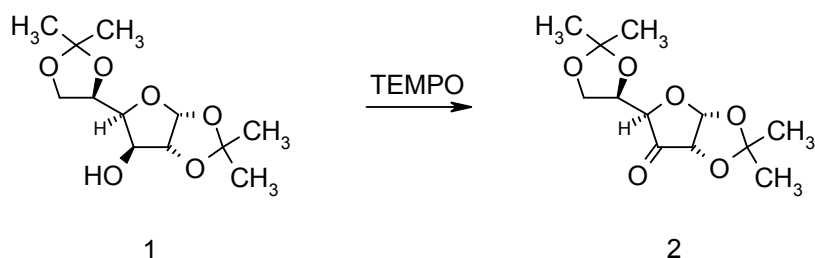
⁶¹ Hampton P.D.; Whealon, M.D.; Roberts L.M.; Yaeger A.A.; Boydson R.; *Organic Process Research & Development*, **2008**, 12, (5), 946 – 949.

⁶²Einhorn, J.; Einhorn, C.; Ratajczak, F.; Pierre, J.L. *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 7452 – 7454.

⁶³ Inokuchi, T.; Matsumoto, S.; Nishiyama, T.; Torii, S. *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 462 – 466.

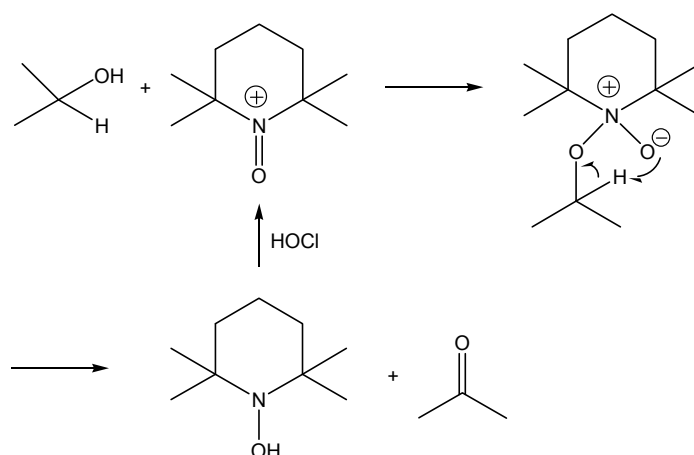
⁶⁴ Mico, A.D.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G.; *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 6974-6977.

hochvalente Metallsalze. Außerdem kann verbrauchtes TEMPO auch durch Elektrooxidation wieder aktiviert werden.



Schema 2.23 Oxidation zum Keton mit TEMPO

Die hier beschriebene Variante (Schema 2.23) wurde in einem Zweiphasensystem mit katalytischen Mengen TEMPO und äquimolaren Menge NaOCl in wässriger Lösung durchgeführt. Natriumhypochlorit ist eine sehr kostengünstige, vergleichsweise ungiftige und, weil wasserlöslich, leicht zu entsorgende Substanz. Da der eingesetzte Alkohol, 1,2:5,6-Diisopropyliden-glucofuranose, nur sehr schlecht wasserlöslich ist und sich gut in Dichlormethan löst, kann die Reaktion zweiphasig durchgeführt werden und die Reaktionsmischung nach vollständiger Umsetzung des Alkohols durch Abtrennung der wässrigen Phase ohne Verlust an Produkt leicht aufgearbeitet werden. Die Reaktion läuft, verglichen mit dem oben genannten Eintopfverfahren, sehr viel schneller ab und ist trotz Isolierung des entstehenden Ketons einfacher aufzuarbeiten. Da sehr viel weniger Lösungsmittel anfällt und das verwendete Lösungsmittel, anders als Dimethylsulfoxid, aufgrund des niedrigen Siedepunkts leicht recycelt werden kann, auch ökologisch unbedenklicher. Der entscheidende Vorteil ist aber die mit 75% sehr gute Ausbeute der TEMPO-Oxidation.

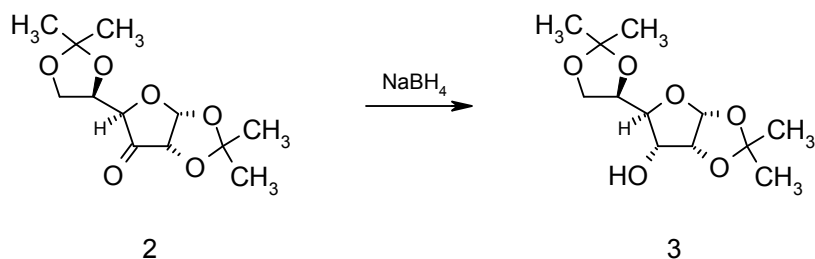


Schema 2.24 Mechanismus der TEMPO-Oxidation.⁶⁵

Das eingesetzte Radikal bildet während der Reaktion reversibel den eigentlichen Katalysator, das 2,2,6,6-Tetra-methyl-1-oxo-piperidiniumion, das den Alkohol dehydriert. Das entstehende Piperidinol wird durch HOCl, in Gegenwart von KBr offenbar HOBr, wieder zum Oxopiperidiniumion oxidiert.

Stereoselektive Reduktion des Ketons

Die stereoselektive Reduktion von 1,2;5,6-Diisopropyliden-3-oxo-D-glucofuranose zu 1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose ist beschrieben⁶⁶. Die Reaktion läuft quantitativ und unter vollständiger Stereokontrolle ab.



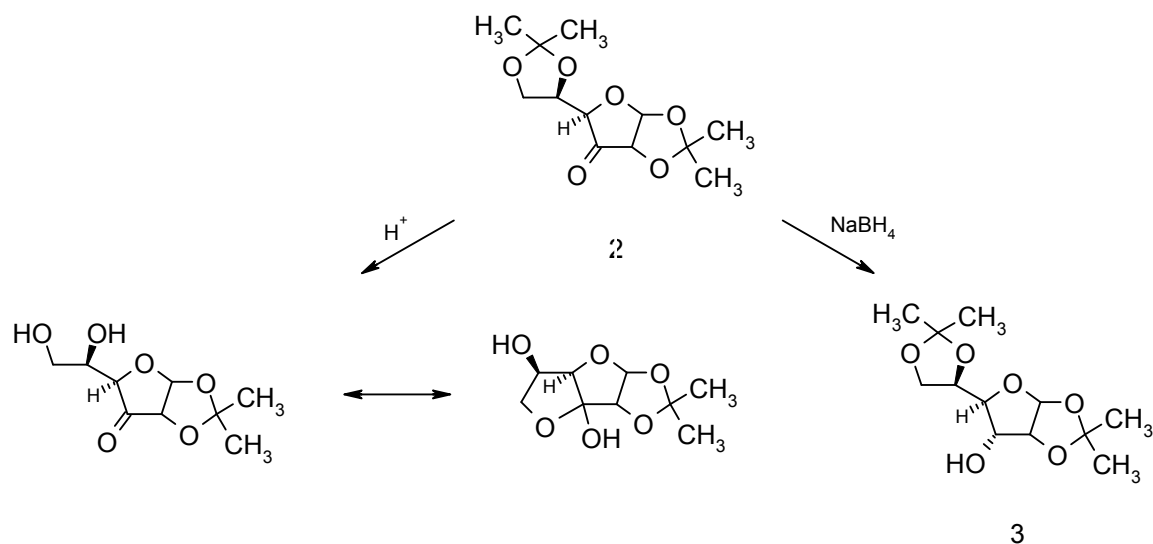
Schema 2.25 Reduktion zur Allofuranose

Die Reduktion zur Allofuranose musste vor der Entschützung an Position 5,6, durchgeführt werden, da es bei Bildung des freien Diols zu einer Halbacetalbildung zwischen der Alkoholfunktion in Position 6 und dem Keton in

⁶⁵ Aus „Organikum“ K. Schwetlick, Wiley-VCH, 22. Auflage, 2004.

⁶⁶ Slessor, K. N.; Tracey, A. S.; *Canadian Journal of Chemistry*, **1969**, 47, 3989.

Position 3 kommt. Durch diese Ringbildung kann in Folge die Carbonylgruppe nicht mehr reduziert werden.



Schema 2.26 intramolekulare Halbacetalbildung

Nach vollständiger Reduktion zur 1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose sind keine Spuren von dem ursprünglichen Edukt der 1,2;5,6-Diisopropyliden-D-glucufuranose detektierbar. Die Stereoselektivität dieser Reaktion wird durch die benachbarte Diisopropylidengruppe verursacht, die einen Angriff des Hydridions von hinten aus sterischen Gründen praktisch unmöglich macht.⁶⁷

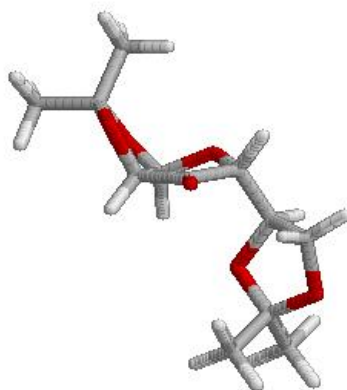
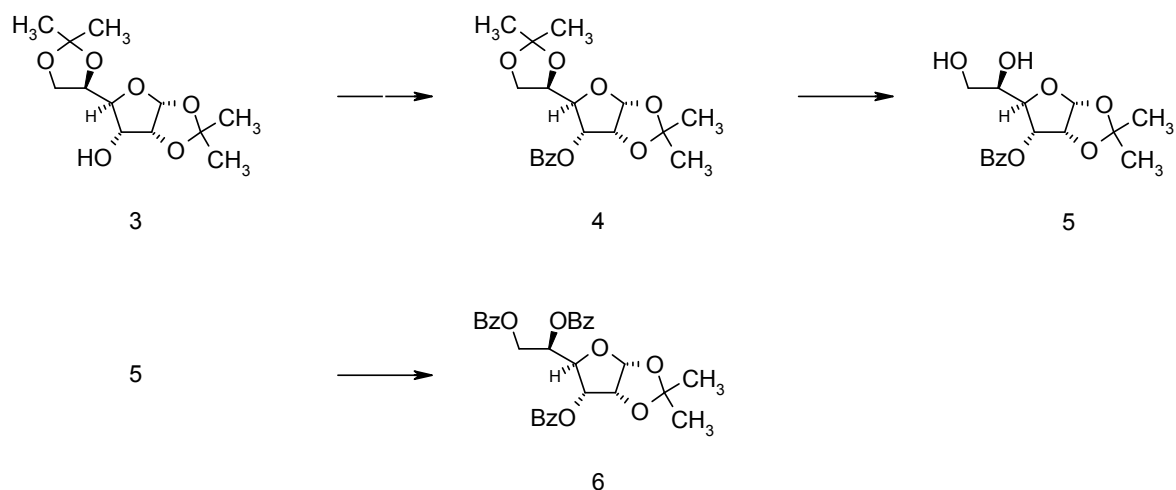


Abbildung 2.3 Modell der 1,2;5,6-O-Diisopropyliden-3-oxo-glucufuranose (Modell mit MOE berechnet)

⁶⁷ Theander, O.; *Acta Chemica Scandinavica*, **1964**, 18, 2209-2216.

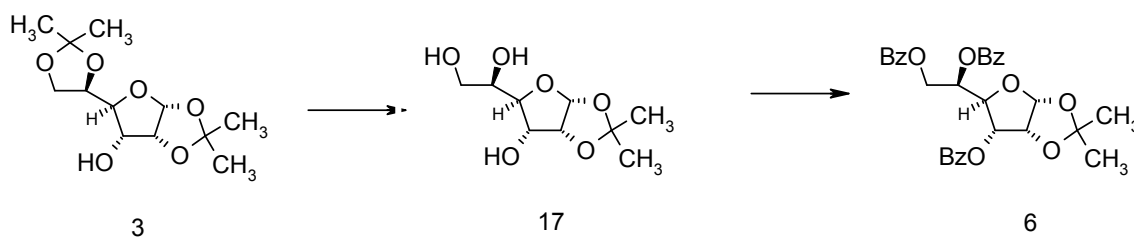
Synthese der 3,5,6-O-Tribenzoyl-1,2-O-isopropylidenallofuranose

In den nächsten Stufen sollten die alkoholischen Funktionen an den Positionen 3,5 und 6 geschützt werden. Um die Furanoseform beizubehalten, musste die exocyclische Acetalgruppe zuerst gespalten werden, um in Folge die Positionen 3,6 und im speziellen 5 zu schützen, um Mutarotation und somit die Bildung der Pyranoseform zu verhindern. Im ursprünglichen Synthesekonzept mussten sich die Schutzgruppen an diesen Positionen von der, in weiterer Folge eingeführten, Gruppe in Position 2 in ihrer Stabilität unterscheiden um diese abspalten zu können und in Folge die Position 2 oxidieren und fluorieren zu können, ohne die übrigen Schutzgruppen zu beeinflussen. Ester sind im Allgemeinen sehr beliebte Schutzgruppen für Alkohole, da sie über das Säurechlorid oder das Säureanhydrid leicht anzubringen sind, im leicht sauren und neutralen Medium stabil aber leicht mit Basen abspaltbar sind. So können unter diesen Bedingungen weitere Reaktionen durchgeführt werden und am Ende der Synthese wieder verseift werden. Eine der gängigsten Schutzgruppen sind Essigsäureester bzw. Benzoessäureester. Ausgehend von der 1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose wurde zuerst die Hydroxygruppe in Position 3 verestert. Dadurch entsteht eine in organischem Lösungsmittel wie z.B. Ethylacetat lösliche Substanz, die durch Extraktion aufgearbeitet werden kann. Ester der Benzoessäure sind für diesen Fall aus mehreren Gründen geeignet. Zum einen ist der Reaktionsverlauf durch Einfuhr einer UV-aktiven Gruppe leicht mit Dünnschichtchromatographie zu beobachten. Außerdem ist das entstehende Produkt aufgrund des apolaren Charakters der Benzoylgruppe gut in der organischen Phase löslich und daher leicht extrahierbar. Im nächsten Schritt wurde die Acetalschutzgruppe in Position 5,6 selektiv abgespalten. Die exocyclische Acetalgruppe ist im Vergleich zum Acetal an 1,2 leichter zugänglich und labil. Die Abspaltung gelingt am besten in einer Mischung aus Essigsäure, Ameisensäure und Wasser. In weiterer Folge gelingt die Schützung der beiden Hydroxygruppen in 5 und 6 Position.



Schema 2.27 Synthese des Tribenzoats.

Dieser im Vergleich mit einer direkten Entschützung und anschließend Perbenzoylierung um eine Stufe längerer Syntheseweg wurde gewählt, da bei der direkten Entschützung von **3** die 1,2-Diisopropyliden-D-allofuranose entsteht, die gut wasserlöslich und relativ polar ist, und also nicht extrahierbar bzw. chromatographisch zu reinigen ist. Eine weitere Möglichkeit der Gewinnung des Produkts ist die Fällung aus der Lösung. Das Produkt ist in der eingesetzten Mischung aus Ameisensäure, Essigsäure und Wasser sehr gut löslich. Daher muss für eine quantitative Fällung aus der Reaktionsmischung in stark konzentrierter Lösung gearbeitet werden. Durch Zugabe eines apolaren Lösungsmittels kann die Polarität herabgesetzt werden, bis das Produkt aus der Lösung als Feststoff ausfällt. Die Reaktion gelingt in nahezu quantitativer Ausbeute in 45%iger Lösung. Durch Zugabe von Methyl-tert-butylether (MTBE) kann das Produkt größtenteils gefällt werden. Das, in sehr geringen Mengen entstehende acylierte Nebenprodukt bleibt in Lösung und kann so durch Filtration abgetrennt werden. Durch mehrfache Nachfällung bei tieferen Temperaturen kann die Ausbeute noch verbessert werden.

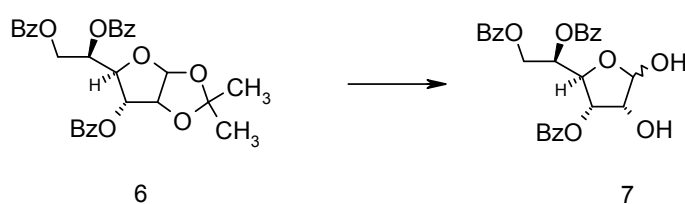


Schema 2.28 verbesserte Synthese des Tribenzoats **6**

Die anschließende Perbenzoylierung gelingt mit sehr guter Ausbeute. Das Edukt **5** ist in Pyridin, nicht aber in Triethylamin gut löslich. Jede Zugabe von apolareren Lösungsmittel senkt die Löslichkeit. Da Pyridin, in großen Mengen, eine gesundheitlich bedenkliche Substanz ist wurde versucht in möglichst konzentrierten Lösungen zu arbeiten. Die Löslichkeitsgrenze liegt bei 1 g in 4 ml. Die verwendete Menge an Pyridin konnte so auf ein Minimum verringert werden.

Durch die Fällung der 1,2-O-Diisopropyliden-D-allofuranose konnte so eine Stufe in der Gesamtsynthese gespart werden und die Gesamtausbeute gesteigert werden. Da die Zwischenstufe **5** kristallin ausfällt, konnte die Benzoylierung ohne weitere Aufreinigung durchgeführt werden.

Abspaltung der Acetalschutzgruppe

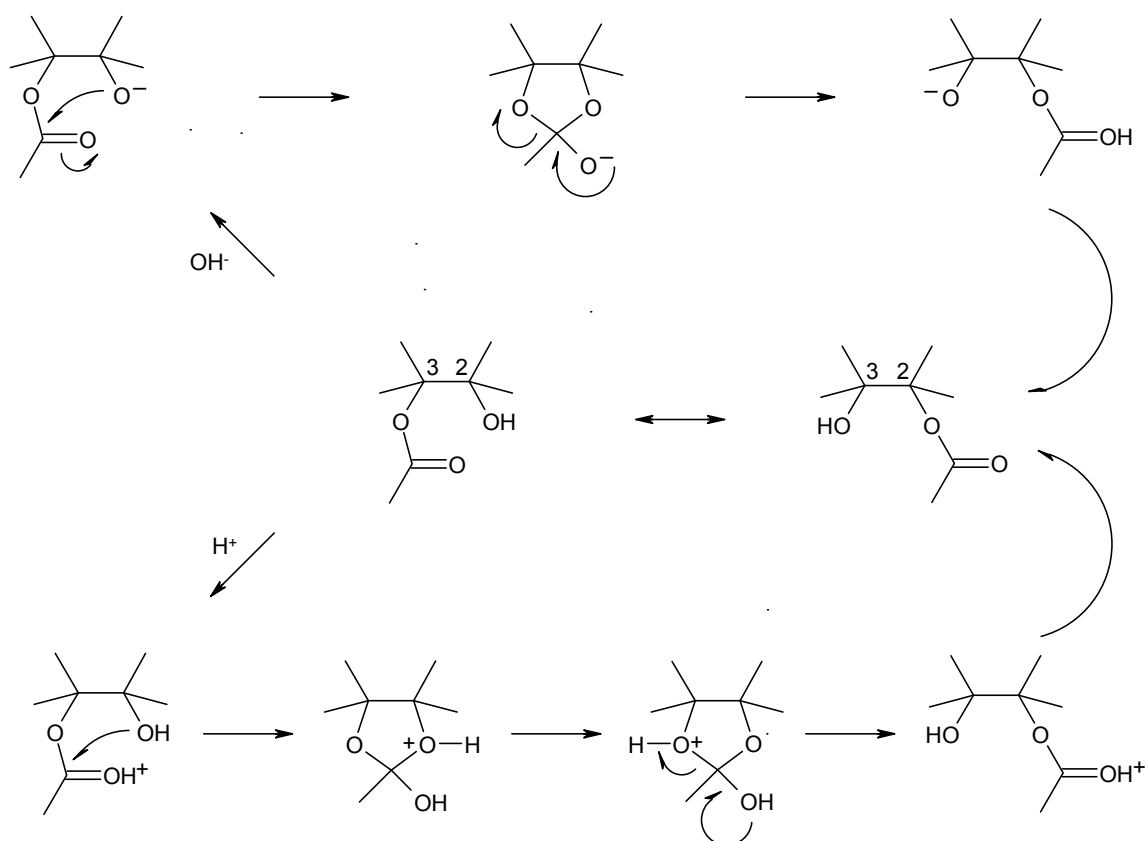


Schema 2.29 Synthese der 3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose

Die Hydrolyse der Acetalschutzgruppe in Position 1,2 läuft im sauren Medium in Anwesenheit von Wasser ab. Acetonitril hat sich als geeignetes Lösungsmittel erwiesen, das es sowohl das Edukt **6** löst, als auch mit Wasser, welches zur Hydrolyse nötig ist, mischbar ist. Die Reaktion läuft unter Rückflußbedingungen schnell ab, wobei bei Inprozess Kontrolle mittels DC die Entstehung zweier neuer Spots beobachtet wird. Nach vollständiger Umsetzung und Aufarbeitung der

Reaktionsmischung werden mittels NMR-Analytik vier neue Produkte detektiert. Nach Aufreinigung und Trennung der beiden Spots und NMR-Analytik stellte sich heraus, dass es sich dabei um je zwei Anomere (α und β) der beiden Regioisomere 3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose und 2,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose handelt. Die beiden anomeren Formen der erhaltenen Substanzen konnten chromatographisch oder durch Kristallisationsversuche nicht getrennt werden. Die beiden Regioisomere wurden durch Säulenchromatographie getrennt. Die relative Ausbeute von ca. 30% der beiden gewünschten diastereomeren Substanzen (3,5,6-O-Tribenzoyl- α -D-allofuranose und 3,5,6-O-Tribenzoyl- β -D-allofuranose) konnte auch durch verschiedene Varianten in der Reaktionsführung nicht verbessert werden. Die beiden Anomeren mit der Benzoylschutzgruppe an Position 2 entstanden als bevorzugtes Produkt und mussten für diese Syntheseplanung als Verlust betrachtet werden. Zusätzlich kommt durch die säulenchromatographische Aufreinigung ein zusätzlicher Arbeitsschritt dazu, der vor allem im großen Maßstab problematisch ist. Die unerwünschte Reaktion entsteht durch einen Acylshift der Benzoylgruppe von Position 3 nach 2 während der Hydrolyse der Acetalgruppe (Schema 2.30)

Innerhalb eines Zuckerrings zeigen Acylgruppen eine hohe Tendenz ihre Position zu wechseln. Diese Migration kann sowohl basisch als auch sauer katalysiert stattfinden.



Schema 2.30 Mechanismen der basisch und sauer katalysierten intramolekularen Migration einer Acylgruppe.

Durch Basenkatalyse wird die, der Acylgruppe benachbarte, Hydroxygruppe deprotoniert. Das Anion greift nukleophil an der benachbarten Carboxylgruppe an. Es kommt zu einer Umlagerung, wobei das Regioisomer der ursprünglichen Substanz entsteht.

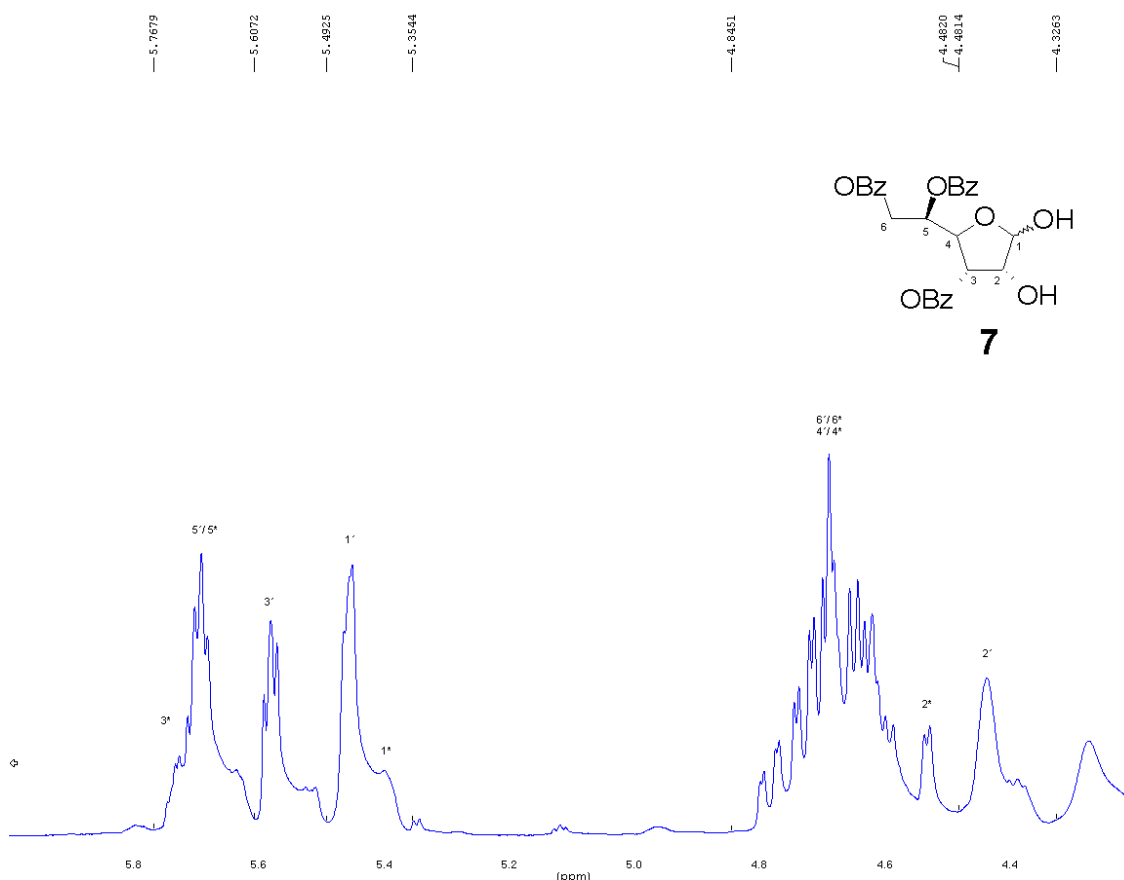
Sauer katalysiert entsteht ein O-Acylcarboxylkation, wodurch die Partialladung am Carboxyl-Kohlenstoff erhöht wird. Ein Angriff eines geeignet positionierten Nukleophils, wie in dem Fall eine Hydroxygruppe, wird dadurch beschleunigt.

Acetylgruppen wandern leichter als Benzoylgruppen, während Pivaloate nur in sehr seltenen Fällen migrieren. Der Acylshift wird durch einige Eigenschaften des Zuckers bevorzugt. Während nicht reduzierende Zucker üblicherweise eine Migration in Richtung höher nummerierte Position im Molekül zeigen, wandern Acylgruppen in reduzierenden Zuckern, wie in diesem Fall, eher in Richtung des

anomeren Zentrums⁶⁸. Dadurch liegt in dieser Reaktion das Gleichgewicht auf Seite des an Position 2 geschützten Zuckers, das mit einem mindestens doppelten Überschuss als Hauptprodukt entsteht.

Da die Hydrolyse des Acetonids die Anwesenheit einer Säure erfordert, die gleichzeitig die Umlagerungsreaktion katalysiert, wobei die Umlagerungsreaktion offensichtlich schneller abläuft als die Schutzgruppenspaltung, konnten in mehreren Versuchen die Bedingungen nicht zu Gunsten der erwünschten 3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose verändert werden. Das Hauptprodukt, das mit durchschnittlich 70% Ausbeute entsteht musste für diesen Syntheseweg als Verlust gerechnet werden.

Die Regioisomere konnten allerdings, aufgrund ihrer stark unterschiedlichen R_f -Werte säulenchromatographisch leicht getrennt werden. Mit den beiden Anomeren der, nach Aufreinigung erhaltenen, 3,5,6-O-Tribenzoylallofuranose konnte weiter gearbeitet werden.



⁶⁸ Aus „Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry“ Thisbe Lindhorst

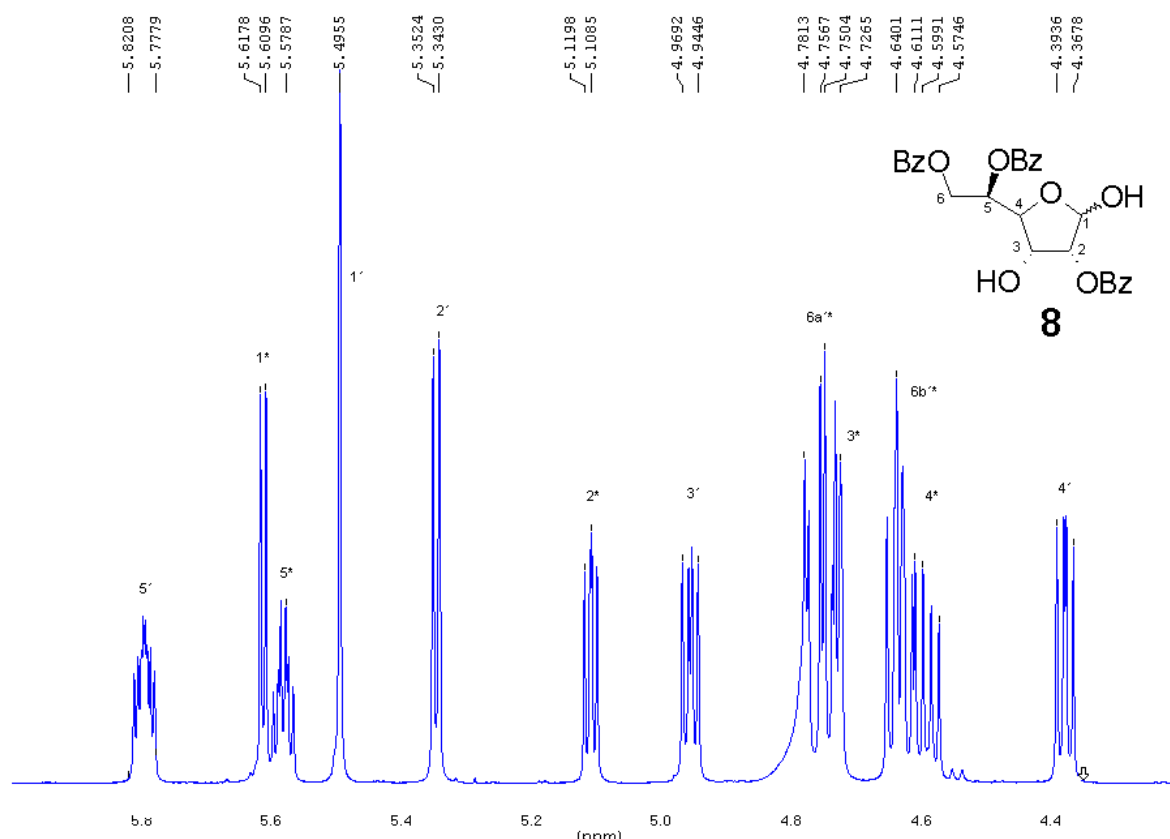
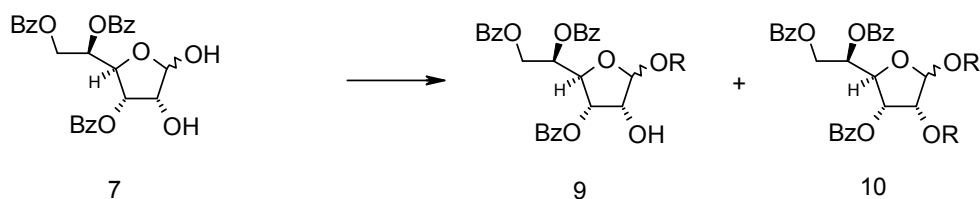


Abbildung 2.4 Vergleich der NMR-Spektren der Regioisomere **7** und **8**, jeweils α - und β -Anomere (durch ' und * gekennzeichnet).

Die chemischen Verschiebungen der Protonen in Position 2 der beiden Anomere des 2,5,6-Tribenzoats **8** zeigen einen deutlichen downfieldshift im Vergleich zu den beiden an 2 unsubstituierten Anomeren **7**. (**8**: δ = 5,35 / 5,12 ppm; **7**: δ = 4,48 / 4,44 ppm). Die Signale der Protonen an den, mit Acylresten substituierten Kohlenstoffen, sind deutlich in Richtung Tieffeld verschoben.

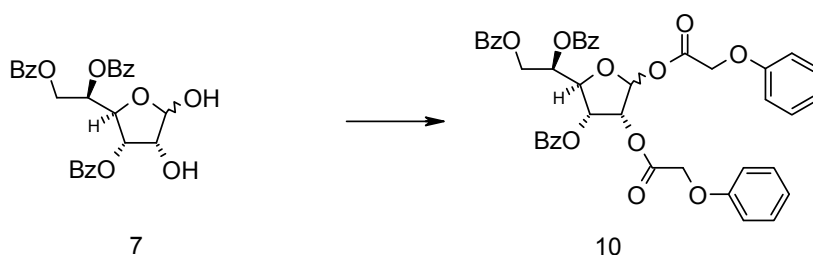
Schützung der Hydroxygruppen in **1** und **2**

Um das anomere Zentrum für die Nukleosidsynthese zu aktivieren wurde eine Acylgruppe eingeführt. Die Hoffnung eine regioselektive Synthese durchführen zu können erfüllte sich nicht. Bei mehreren Versuchen sowohl bei Raumtemperatur als auch bei Kühlung auf -10°C und Verwendung von weniger als 1,0 Äquivalenten Säurechlorid wurden neben dem erwünschten monoacylierten Produkt auch immer beträchtliche Mengen an diacyliertem Produkt gefunden.



Schema 2.31 Aktivierung des anomeren Zentrums mit 0,9 EQ Reagens.

Aufgrund der schlechten Regioselektivität wurde von diesem Konzept abgegangen und stattdessen mit 2 Äquivalenten Säurechlorid gezielt das diacylierte Produkt hergestellt. Um im Anschluss an die Basenkopplung eine selektive Abspaltung an Position 2 zu erreichen wurde als Schutzgruppe Phenoxyacetyl gewählt.



Schema 2.32 Diacylierung zum Produkt 10.

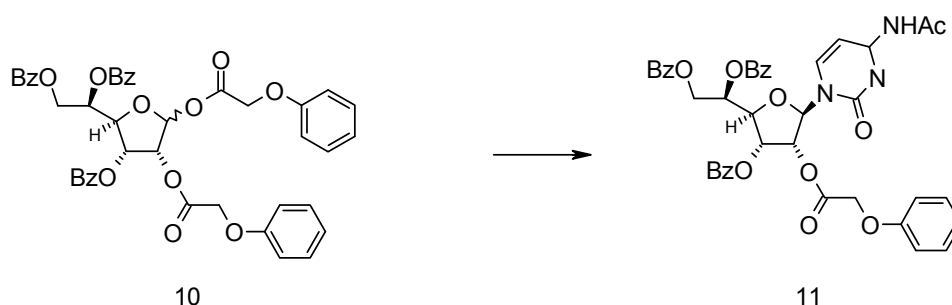
Die Phenoxyacetylgruppe ist im Vergleich zur Benzoylgruppe im basischen Medium bei pH 8.5 – 10 labiler und sollte so in Anwesenheit von Benzoaten verseifbar sein. Außerdem kann Phenoxyacetyl durch Natriumhydrid, Triphenylmethyl-Natriumkation im Gegensatz zur Benzoylgruppe abgespalten werden. In Natrium- bzw. Kaliummethanolat ist der Benzoessäureester üblicherweise stabiler als das Phenoxyacetylderivat.⁶⁹

Man erhält eine Mischung aus den beiden möglichen Anomeren in unterschiedlichen Verhältnissen. Da für die nächste Reaktion (Basenkopplung) beide entstehende Diastereomere eingesetzt werden können um das gewünschte β -Nukleosid zu bilden, können die beiden Produkte ohne weitere Aufreinigung nach Aufarbeitung eingesetzt werden.

⁶⁹ Aus „Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis“ Wuts P., Greene T.W., Verlag Wiley; 4. Auflage, 2007.

Basenkopplung

Die Nukleosidierung nach Vorbrüggen, wobei ein Zuckerbaustein mit einer Nukleobase, mit katalytischen Mengen einer Lewissäure, gekoppelt wird, ist für viele verschiedene Zuckerbausteine bekannt und ist die Methode der Wahl für die Synthese verschiedener β -Nukleoside.

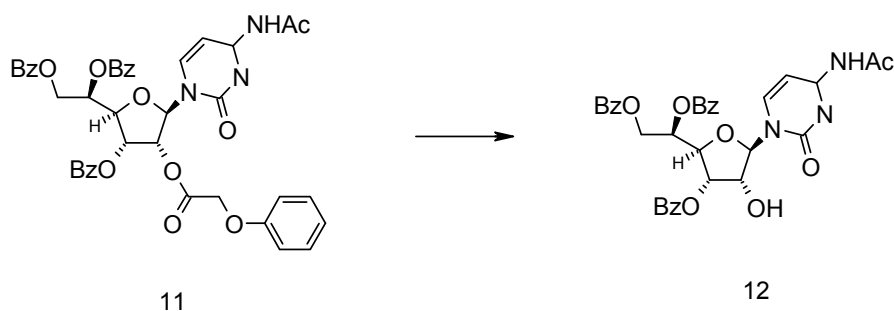


Schema 2.33 Nukleosidierung des Phenoxyacetalderivats.

Die Reaktion läuft in trockenem 1,2-Dichlorethan unter Rückfluß und mit katalytischen Mengen Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester ab. Nach 16 Stunden ist das Edukt vollständig umgesetzt und man erhält das Nukleosid nach Aufarbeitung in guter Ausbeute (75 %). Es entsteht aufgrund der Estergruppe in Position 2 ausschließlich das gewünschte β -Anomer und keine detektierbaren Mengen an α -Nukleosid. Die gewünschte Stereokonfiguration der Zielverbindung wird auf diese Art festgelegt und sollte aufgrund der weiteren Syntheseplanung bis zum Ende der Synthese beibehalten werden.

Selektive Entschützung der Phenoxyacetalschutzgruppe an Position 2'

Aufgrund der stärkeren Tendenz zur Verseifung und niedrigeren Stabilität der Schutzgruppe an Position 2' gegenüber Basen und anderen Reagenzien (s.o.) im Vergleich zu den Benzoylgruppen gelingt die selektive Entschützung wobei die Esterfunktionen an den Positionen 3,5 und 6 erhalten bleiben.



Schema 2.34 Selektive Entschützung der Position 2'.

Da die Benzoylgruppen ebenfalls basenlabil sind, ist die Reaktionsführung schwierig und resultiert immer in mehreren Produkten wobei die Positionen 3, 5 oder 6 entschützt werden.

Die speziellen Eigenschaften der Hydroxygruppe in Position 2 an Nukleosiden wurde im Zusammenhang mit den Studien an 2'-Deoxyribonukleotid-Oligo- bzw. Polymeren untersucht.⁷⁰ Es sind viele Versuche unternommen worden die Position 3' durch Acetylierung⁷¹, Tosylierung⁷², Benzylierung⁷³, Silylierung⁷⁴, Tritylierung⁷⁵, 3'-Benzoylpropionylierung⁷⁶ oder teilweiser Hydrolysisierung der 2'-3'-Orthoacetate⁷⁷, von Nukleosiden selektiv zu schützen. In den meisten Fällen wurden Mischungen von unterschiedlich geschützten Nukleosiden erhalten, die chromatographisch getrennt werden mussten. Die selektive 2'-O-Deacylierung komplett acylierter Purin- und Pyrimidinribonukleoside mit Hydrazinmonohydrat wurde von Ishido et al. beschrieben.⁷⁸ Die unüblich hohe Acidität der 2'-Hydroxygruppe der 2'-O-Ribonukleoside wurde aufgrund der beobachteten teilweisen 2'-O-Benzylierung von Uridin und Cytidin⁵³, der teilweisen Methylierung von Adenosin mit Diazomethan⁷⁹ und der chromatographischen Trennung der erhaltenen Mischung mit stark basischem Ionentauscherharz⁸⁰, bei der man als erste Fraktion die 2'-O-Methylderivate und in späterer Fraktion die 3'-O-Methylderivate erhielt, beobachtet. Außerdem hat die

⁷⁰ Ramamoothy B., Lees, R.G.; Kleid D.G.; Khorana H.G.; *J. Biol. Chem.*, **1976**, 215, 676.

⁷¹ Brown, D.M.; Fasman, G.D.; Magrath, D.I.; Todd, A.R.; *J. Chem. Soc.*, **1954**, 1448.

⁷² Ikehara, M.; Uesugi, S.; *Tetrahedron*, **1972**, 28, 3687.

⁷³ Imura, N.; Tsuruo, T.; Ukita T.; *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **1968**, 16, 1105.

⁷⁴ Ogilvie, K. K.; *Canad. J. Chem.*, **1973**, 51, 3799.

⁷⁵ Cook, A. F.; Moffatt, J. G.; *J. Amer. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 2697.

⁷⁶ Letsinger, R. L.; Miller, P. S.; *J. Amer. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 3356.

⁷⁷ Fromageot, H. P. M.; Griffin, B. E.; Reese, C. B.; Sulston, J. E.; *Tetrahedron*, **1967**, 23, 2315.

⁷⁸ Ishido, Y.; Nakazaki, N.; Skairi N.; *J.C.S.; Perkin Transactions I*; **1979**, 2088 - 2098.

⁷⁹ Brown A. D.; Robins R. K.; *J. Amer. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 1145.

Röntgenkristallstrukturanalyse einer Serie von Ribonukleosiden deutlich gezeigt, dass die C(2′)-O(2′)-Bindung im Vergleich mit den übrigen alkoholischen Funktionen an 3′ und 5′ die deutlich kürzeste ist.⁸¹ Diese Tatsachen führten zur Annahme, dass die 2′-O-Acylgruppe von komplett geschützten Ribonukleosiden die reaktivsten der drei Ester Funktionen darstellt.

Wenn man davon ausgeht, dass sich die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Hydroxygruppe in Position 2′ der Nukleoside mit D-Allofuranose als Zuckerbaustein ähnlich verhalten wie die der Ribonukleoside, sollte auch hier diese Position einem basischen Angriff zugänglicher sein, als die der übrigen Estergruppen. Zusätzlich zu der prominenten Position an 2′ sollte die weniger stabile Gruppe an 2′ selektivitätsfördernd wirken.

Tatsächlich konnte die Phenoxyacetylgruppe mit relativ guter Selektivität durch Hydrazinolyse abgespalten werden. Als mengenmäßig größtes Nebenprodukt entstand das an 2′ und 3′ zweifach deacylierte Derivat, das durch Säulenchromatographie abgetrennt werden konnte. Problematisch an diesem Schritt war neben der chromatographischen Trennung, der Einsatz von mindestens fünffachem Überschuss an giftigem Hydrazinmonohydrat, was besonders in Hinblick auf ein up-scale dieser Reaktion schwierig ist.

Das Nukleosid **12** ist Ausgangsmaterial für die Herstellung verschiedener Homonukleoside. Die Synthesesequenz wurde mit Glucose als Zuckerbaustein analog durchgeführt (siehe unten).

Mit der Synthese von Homocytidin wurde somit ein Weg zur Herstellung einer Vielzahl von Homonukleosiden erarbeitet.

2.6 Die Synthese von Homogemicitabin

Standardverfahren

In unserer Arbeitsgruppe wurde, ausgehend von L-Weinsäure, ein Verfahren zur Herstellung von Homogemicitabin (5′ L-konfiguriert) und in Folge Gemcitabin entwickelt. In diesem Verfahren wird L-Weinsäure zu Isopropylidenthreitol umgewandelt. Im nächsten Schritt wird die Substanz monobenzoyliert. Die freie

⁸⁰ Gin J. B.; Dekker C. A.; *Biochem.*, **1968**, 7, 1413.

⁸¹ Takeda, T.; Ohashi, Y.; Sasada, Y.; *Acta Cryst.*; **1974**, 30, 825.

Hydroxygruppe wird zum Aldehyd oxidiert. Der Einbau des Fluorbausteins erfolgt durch Reformatzky Reaktion. Danach wird sauer katalysiert der Ring geschlossen und man erhält als Zwischenprodukt das entsprechende Lakton. Das Lakton wird in Position 3 und 5 acyliert. Es folgt die Reduktion zum Laktol. Nach Aktivierung des Zuckerbausteins durch Mesylierung erfolgt die Nukleosidierung nach dem Vorbrüggen Protokoll mit N-Acetyl-Cytosin. Man erhält das an Position 3',5' und 6' geschützte Homogemcitabin, das durch Verseifung freigesetzt wird. (Abbildung 2.5)⁸²

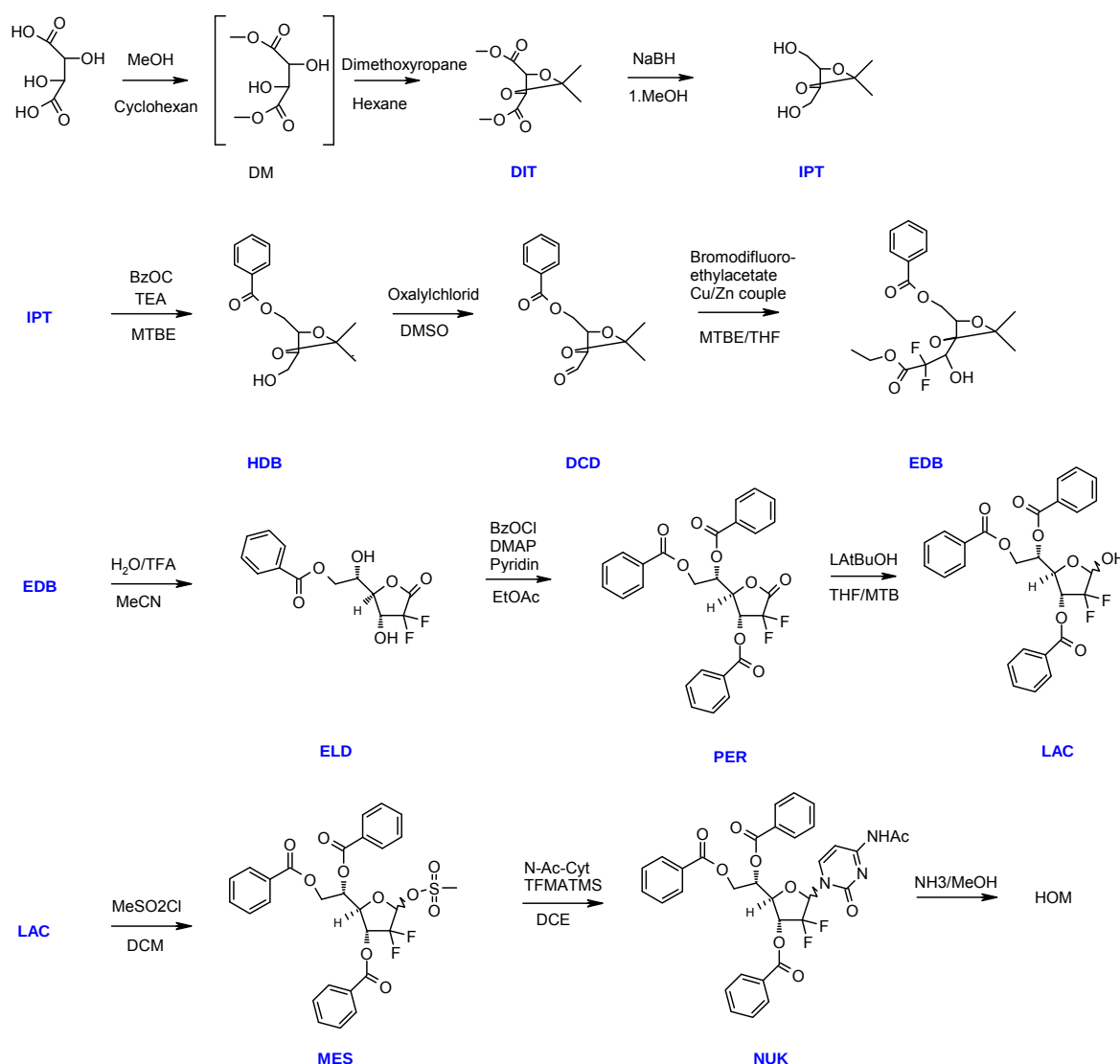


Abbildung 2.5 Standardsynthese von Homogemcitabin

Im Gegensatz zum Standardverfahren zur Herstellung von Homogemcitabin sollte die Fluorierung des in Position 2' zum Keton oxidierten Homocytidin eine

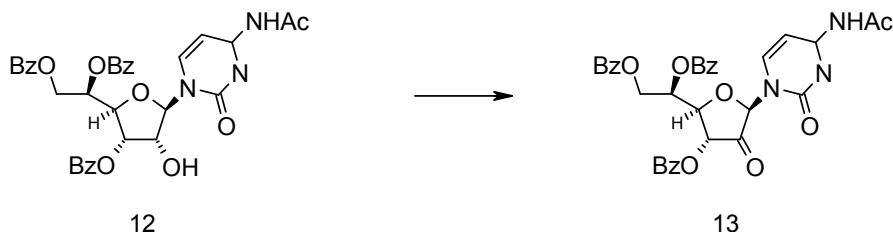
⁸² Noe CR, Jasic M, Kollmann H, Saadat K; EP 1904511A2; 2008.

Verbesserung der Synthese bewirken. Da auf dem, in den vorigen Kapiteln beschriebenen Syntheseweg zur Herstellung von Homocytidin praktisch ausschließlich das gewünschte β -Anomer entsteht, fällt die aufwendige Abtrennung vom ungewünschten Anomer (an Position 1' D-konfiguriert), wie sie im oben beschriebenen Standardverfahren notwendig ist und zu Einbußen der Gesamtausbeute und weiteren Reinigungsschritten führt, weg.

Die alkoholische Funktion in Position 2' des Nukleosids **12** sollte durch Oxidation zum Keton das Nukleosid in die, für eine Difluorierung gewünschte Oxidationsstufe gebracht und anschließend mit geeigneten Fluorierungsreagenzien in das 2'-Difluorderivat umgewandelt werden. Eine analoge Synthesesequenz zur Fluorierung eines Nukleosids in Position 2' ist von Jing Xi anhand des Cytidin beschrieben.⁸³

Oxidation zum Keton

Es sind mehrere Möglichkeiten zur Oxidation sekundärer Alkohole zum Keton bekannt (s.o.). Aus ökologischen und ökonomischen Gründen wurde die zweiphasige Variante mit TEMPO und Natriumhypochlorit gewählt.



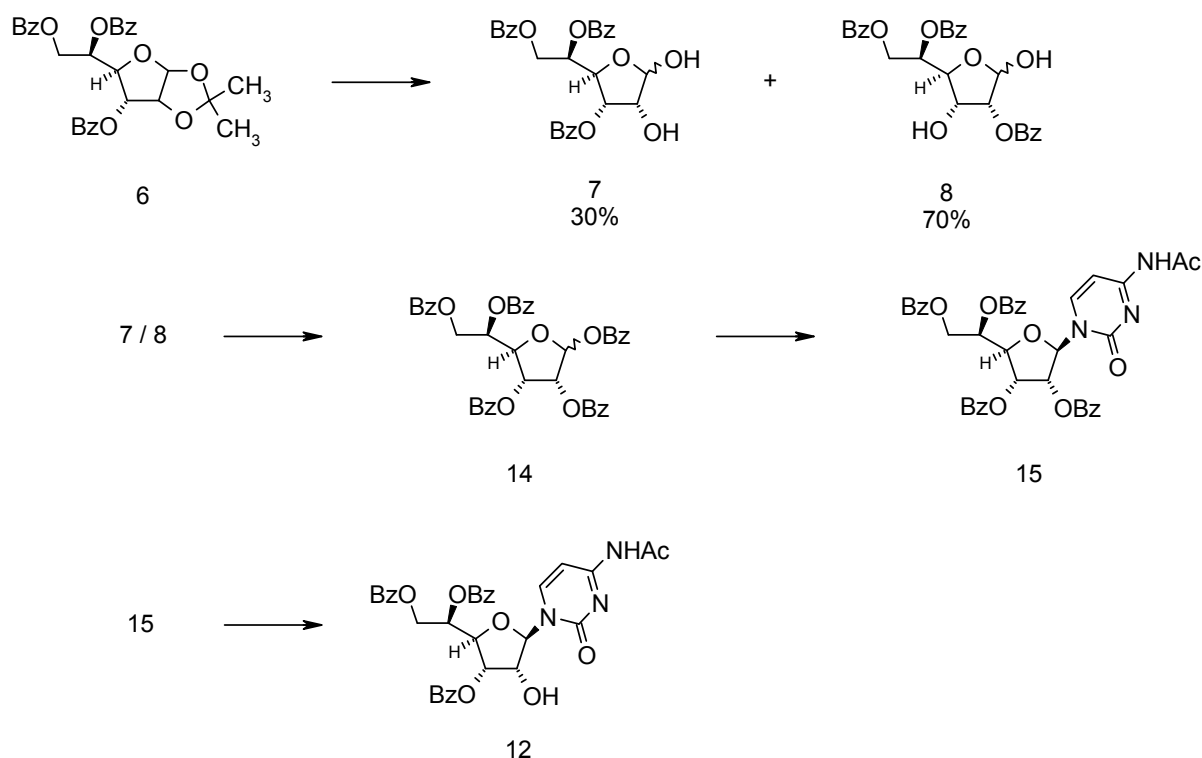
Schema 2.35 Oxidation an 2'.

Die Reaktion geht glatt mit guten Ausbeuten um die 70%. Es entsteht bei zu langer Reaktionsdauer und zu großem Überschuss an Natriumhypochlorit, ein Nebenprodukt, das chromatographisch abtrennbar ist. Das erhaltene Keton **13** dient außerdem zur Herstellung weiterer Derivate. Zum Beispiel kann durch Inversion des Stereozentrums an C-2' ein Analogon des Wirkstoffes Cytarabin gewonnen werden. Eine gute Ausbeute der Synthese des Alkohols **12** und in Folge des Ketons **13** ist daher von Interesse. Zur Optimierung der Ausbeute wurden mehrere unterschiedliche Schutzgruppenstrategien angewendet.

⁸³ Jing X. Y., et al. ; CN1724553A.

Änderung der Schutzgruppenstrategie

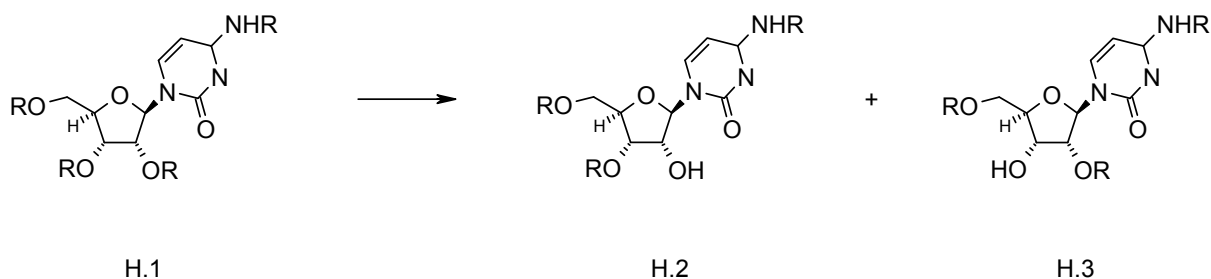
Aufgrund der großen Verluste bei der Hydrolyse der Acetalschutzgruppe in Position 1,2 durch den Acylshift der Benzoylgruppe von Position 3 nach 2, wurde eine Perbenzoylierung in Erwägung gezogen. Nach der Basenkopplung sollte dann eine selektive Entschützung der 2' Position versucht werden.



Schema 2.36 Syntheschema der Perbenzoatserie.

Die oben genannten speziellen chemischen Eigenschaften der Hydroxygruppe in Position 2' sollen genutzt werden um eine selektive Entschützung zu erreichen. Die selektive Deacylierung von vollständig geschützten Ribonukleosiden wurde von Nishino et al. beschrieben⁸⁴. Die regioselektive O-Deacylierung mit Kalium-tert-butylat an 2' von N⁴,2',3',5'-Tetraaroylcytidinen wurde mit verschiedenen Schutzgruppen bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen untersucht.

⁸⁴ Nishino, S.; Takamura H.; Ishido Y.; *Tetrahedron*, **1986**, 42, 7, 1995 – 2004.



Schema 2.37 Regioselektive Entschützung an 2' nach Nishino et al.

Rest R	CH ₂ Cl ₂ ml / g	Innentemperatur (°C)	Reaktionsdauer (min)	Gesamtausbeute H.2. und H.3	Regioselektivität H.2 : H.3
Bz	8	r.t.	25	65	-
Bz	5	- 20	60	89	5 : 1
Bz	2.5	- 20	25	91	5 : 1
Tol	7	- 20	60	83	>12 : 1

Abbildung 2.6 Regioselektivität der Versuche zur Abspaltung an 2' mit 5.0 MolEQ K-OtBu.

Die beste, von Ishido et al. beschriebene Regioselektivität wurde am Cytidin mit 5 Äquivalenten Kaliumtertbutylat in Dichlormethan mit Toluoylschutzgruppen erzielt. Bei -20° C konnte ein Verhältnis von mehr als 12 : 1 erreicht werden. Mit gutem Gesamtumsatz wurde in dieser Reaktion das gewünschte, an 2' entschützte, Produkt mit über 75% erhalten. Die Selektivität war bei Benzoylgruppen weniger ausgeprägt, allerdings gelang, durch hohen Gesamtumsatz, die Ausbeute am gewünschten Produkt in ähnlichem Ausmaß.

In der Erwartung, dass sich die Position 2 der D-Allose, die eine alkoholische Funktion mehr trägt, als die D-Ribose, als Zuckerbaustein des Nukleosids **15** analog verhält wie das oben genannte Beispiel, wurde die Reaktion mit Kaliumtertbutylat versucht.

Tatsächlich konnte eine ähnlich gute Regioselektivität beobachtet werden. Die Reaktion läuft in 4%iger Lösung bei -20° C ab. Es entsteht hauptsächlich Nukleosid **12**. Die Aufreinigung ist einfach, da man stark saures Ionentauscherharz zur Neutralisation der Base verwenden und, nach Quenchen der Reaktion, leicht abfiltrieren kann. Die beiden, an 2' bzw. 3' einfach

entschützten Regioisomere können sowohl durch chromatographische Methoden, als auch durch Kristallisation abgetrennt werden.

Essentiell für diesen Schritt ist die starke Verdünnung. In konzentrierten Lösungen vermindert sich, wie erwartet, die Regioselektivität. Bei höheren Innentemperaturen entsteht vermehrt zweifach entschütztes Nukleosid.

Die Gesamtausbeute des Produkts **12** liegt nach Kristallisation aus Chloroform bei über 60%.

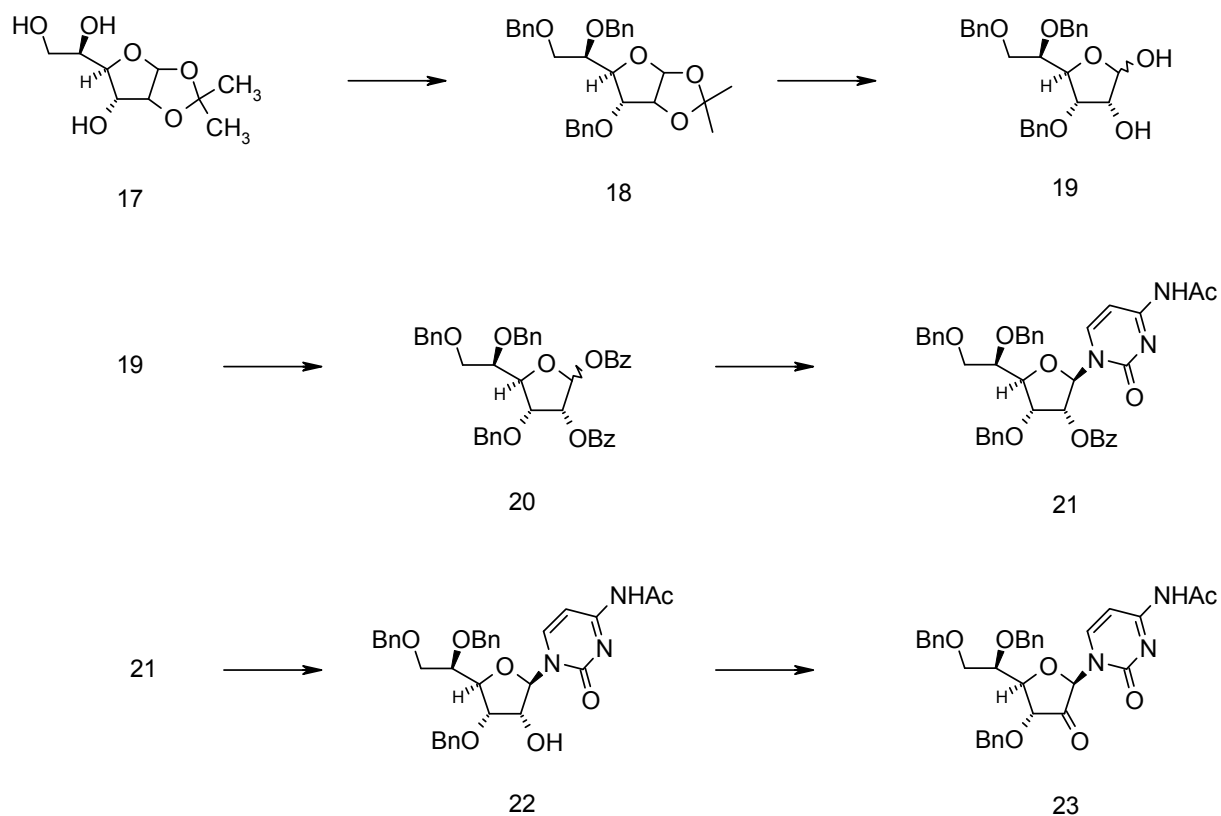
Änderung der Schutzgruppenstrategie Teil II

Da die Gesamtausbeute der bisherigen Synthesekonzepte einerseits durch den Acylshift von Position 3 nach 2 des Zuckerbausteins **7** und andererseits durch die selektive Entschützung am Nukleosid **15** stark gemindert wurde, wurde ein Wechsel der Schutzgruppenstrategie überlegt.

Neben Estern sind Ether beliebte Schutzgruppen in der Zuckerchemie. Im Gegensatz zu Estern sind die meisten Ether gegen Säure und Base stabil, und lassen sich durch katalytische Hydrierung üblicherweise leicht abspalten.

Da in Anwesenheit von Etherschutzgruppen, Ester selektiv abspaltbar sind und keine dem Acylshift analoge Migration von Ethern bekannt ist wurde das Synthesekonzept insofern geändert, als dass die Positionen 3, 5, und 6 mit Benzylethergruppen und in Folge die Positionen 1 und 2 verestert wurden (Schema 2.38).

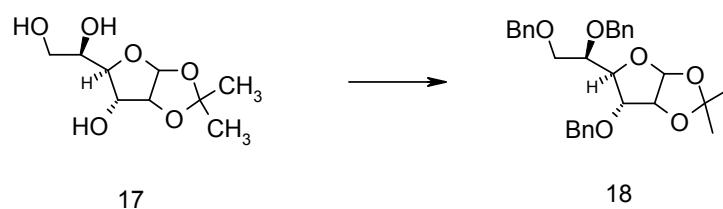
Durch die Änderung der Schutzgruppenstrategie sollte es möglich sein größere Mengen der Verbindung **22** zu erhalten. Dieses Nukleosid sollte Ausgangssubstanz für weitere Syntheseschritte und Modifikationen wie z.B. Oxidation zum Keton oder Fluorierungen an Position 2' sein.



Schema 2.38 Syntheseplanung mit Benzylschutzgruppen.

Synthese von 3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-Isopropyliden-D-allofuranose **18**

Die Benzylierung der freien Hydroxygruppen des Zuckers **17** läuft über intermediäre Deprotonierung mit Natriumhydrid zu Alkoholaten und anschließendem nukleophilen Angriff an Benzylbromid. Die Verwendung von Natriumhydrid macht einen völligen Ausschluss von Wasser nötig. Die Umsetzung erfolgte in trockenem Dimethylformamid.



Schema 2.39 Benzylierung der freien Hydroxygruppen des Zuckers **17**.

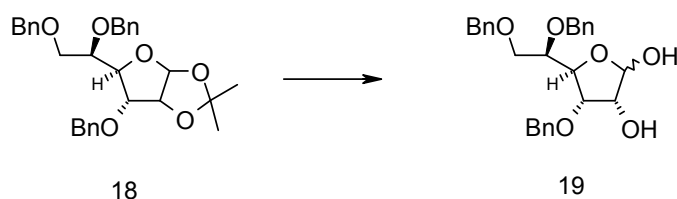
Als Alternative dazu wurde die Reaktion mit Kaliumtertbutylat als Reagens zur Deprotonierung in trockenem Tetrahydrofuran versucht. Die Reaktionsführung ist durch Ersatz des Natriumhydrids verhältnismäßig einfach und die Reaktion verläuft in sehr kurzer Reaktionszeit mit quantitativer Ausbeute. Durch die gute Löslichkeit des Produkts und die vollständige Umsetzung zu einem Produkt gelingt die Aufarbeitung leicht durch Ausschütteln und Eindampfen des Lösungsmittels.

Der Umstieg von Natriumhydrid auf Kaliumtertbutylat macht ein up-scale der Reaktion einfacher. Die Verwendung von Tetrahydrofuran anstelle von Dimethylformamid erleichtert, aufgrund des niedrigeren Siedepunkts des Lösungsmittels, wodurch ein Einrotieren von Resten möglich ist, die Aufarbeitung und Reinigung des Produkts.

In großem Maßstab ist die Verwendung von Tetrahydrofuran durch mögliche Entstehung von Peroxiden und Explosionsgefahr allerdings problematisch.

Entschützung der Acetalgruppe

Die Reaktion vom Zuckerbaustein **18** zum freien Diol **19** (Schema 2.40) läuft analog zur weiter oben beschriebenen Entschützung in einer Mischung aus Acetonitril und verdünnter Salzsäure. Die Reaktion läuft bei 60° C vollständig ab, wobei man bei Inprocesskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie die Entstehung eines homogenen Produkts beobachtet. Nach Neutralisation, Extraktion und Eindampfen des Lösungsmittels entsteht ein gelber Feststoff. Das Produkt **19** besteht tatsächlich aus den beiden möglichen Anomeren. Eine Mischung aus Regioisomeren wie bei vorher besprochener Verwendung von Esterschutzgruppen tritt, wie erwartet nicht ein. Der entstandene Feststoff **19** kann ohne weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt werden.

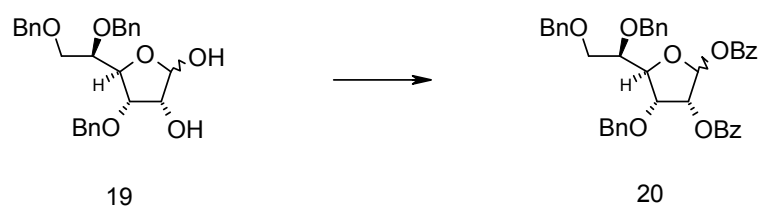


Schema 2.40 Entschützung der Acetalgruppe.

Die beiden Diastereomeren **19** entstehen in einem Verhältnis von 35 : 65. α : β . Beide Diastereomeren können in Mischung in der nächsten Stufe umgesetzt werden.

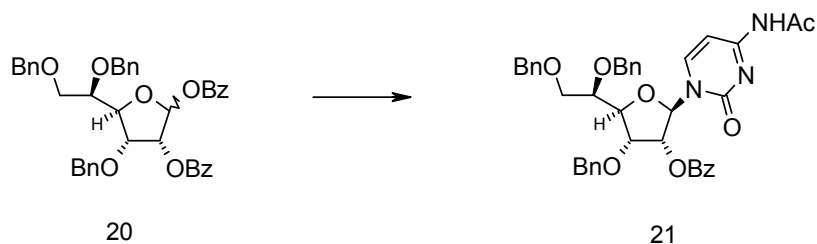
Benzoylierung der Positionen 1 und 2, und Nukleosidierung

Die Veresterung der Alkohole in Position 1 und 2 des Zuckers **19** läuft analog zur Benzoylierung der regioisomeren Tribenzoate **7** und **8**. Es werden zur Umsetzung 2,1 Äquivalente Benzoylchlorid verwendet. Das Produkt entsteht als Mischung aus beiden Anomeren als Öl.



Schema 2.41 Benzoylierung des Diols **19**.

Das Anomerengemisch reagiert durch Basenkopplung nach Vorbrüggen zum Nukleosid **21**. Die Reaktion läuft sowohl in trockenem 1,2-Dichlorethan (s.o.), als auch in trockenem Acetonitril. Die Base wird in beiden Fällen zuerst silyliert (s. Einleitung), wobei als Silylierungsreagenzien Bistrimethylsilylacetamid oder Hexamethyldisilazan (HMDS) verwendet werden können. Bei der Variante mit HMDS muss entstehender Ammoniak nach vollständiger Silylierung unter Vakuum entfernt werden, um bei der Kopplung an den Zuckerteil nicht zu einer Spaltung oder Anomerisierung zu führen. Die Base wird in Acetonitril suspendiert und mit HMDS versetzt. Die silylierte Base löst sich vollkommen in beiden oben genannten Lösungsmitteln. Dadurch kann die Reaktionsumsetzung leicht beobachtet werden. Bei vollständig erfolgter Silylierung liegt die Base sowohl in Acetonitril, als auch in Dichlorethan vollständig gelöst vor.



Schema 2.42 Basenkopplung des Zuckers 20.

Die Reaktion läuft in beiden oben genannten Lösungsmitteln und mit beiden Silylierungsmitteln gleich gut (75% des gewünschten β -Nukleosids).

Dichlorethan wirkt reizend auf die Schleimhäute des Gastrointestinaltrakts, ist nephro- und hepatotoxisch. Es kann bei Verwendung größerer Mengen zu Spätschäden des Zentralnervensystems kommen. Der MAK-Wert liegt mit 5 ppm sehr niedrig. Im Vergleich dazu liegen die MAK-Werte von Acetonitril mit, je nach Land, zwischen 20 und 60 ppm deutlich höher.⁸⁵

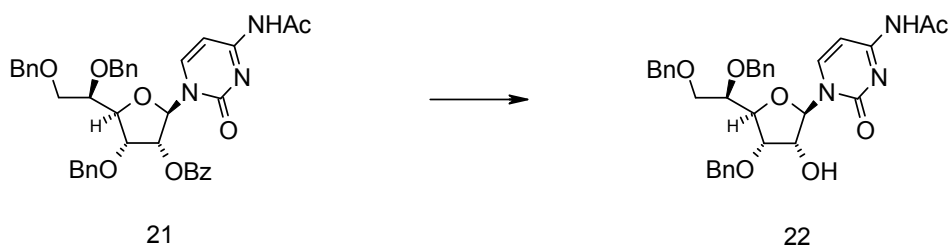
Aus diesen und aus ökologischen Gründen wurde die Verwendung von Acetonitril bevorzugt.

Die Reaktion läuft mit dem kostengünstigeren HMDS ähnlich gut wie mit dem verhältnismäßig teurem BSA ab. Da für die Silylierung der Base ein Überschuss von mindestens 2,5 Äquivalenten Reagens verwendet wurde, ist der Umstieg aus HMDS aus ökonomischen Gründen relevant.

Entschützung der Position 2' des Nukleosids 21

Die Verseifung der Benzoylgruppe in 2' läuft, weil keine anderen Estergruppen im Molekül vorhanden sind, leichter als die vorangegangenen Versuche. Als Reagens werden wie oben beschrieben 5,0 Äquivalente Kaliumtertbutylat verwendet. Die, im Vergleich zu der Estergruppe stabilere Amidfunktion am Stickstoff der Nucleobase bleibt bei Innentemperaturen um 0° C bestehen. Die Reaktion läuft glatt und mit über 90% in sehr guter Ausbeute.

⁸⁵ Sigma-Aldrich Safety-data-sheet Acetonitril

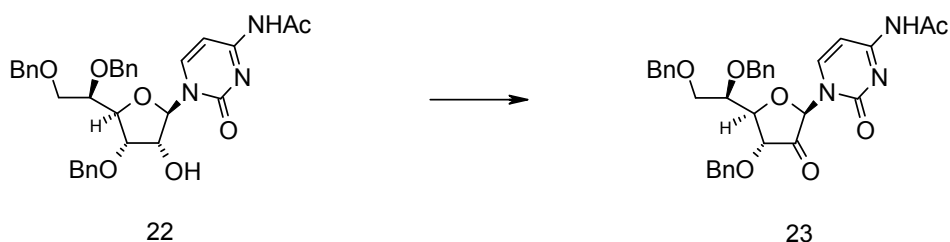


Schema 2.43 Verseifung des 2'-Benzoats.

Oxidation an 2'

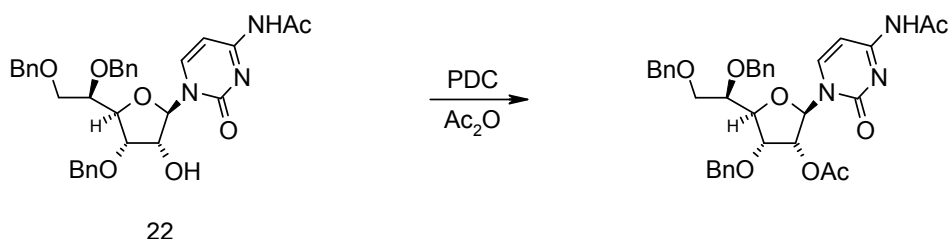
Es gibt mehrere Möglichkeiten einen sekundären Alkohol zum Keton zu oxidieren. Zu den gängigsten Methoden zählen die Oxidation mit Chromsalzen, Dess-Martin-Periodinan und TEMPO.

Die Versuche mit Dess-Martin-Periodinan führten zu einem homogenen Produkt, bei dem es sich um das Keton **23** handelt. Die Reaktion läuft quantitativ ab und die Aufarbeitung ist unkompliziert.



Schema 2.44 Oxidation an 2'.

Der Versuch mit Pyridiniumdichromat in Essigsäureanhydrid führt ebenfalls zu einem einheitlichen Produkt, bei dem es sich allerdings nicht um das gewünschte Keton **23** handelt, sondern um ein acyliertes Derivat von **22**.



Schema 2.45 Reaktion mit PDC in Ac₂O.

Die zweiphasige Reaktion mit TEMPO / Natriumhypochlorit in Dichlormethan läuft unter Bildung eines Hauptprodukts ab. Es entsteht ein Nebenprodukt, dessen R_f-Wert höher ist als das Keton **23**. Aufgrund der Massenspektrometrie, NMR- und CHN-Analyse Daten kann auf ein Lakton der Struktur **66** geschlossen werden. Die NMR-Daten (APT) zeigen, dass der Kohlenstoff in Position 2' quartär ist. Die chemischen Verschiebungen der Position 2' (163,9 ppm) für das Lakton-C und (99,5 ppm) für das Acetal-C in Position 3' lässt auf die unten angegebene Struktur **66** schließen. Die Entstehung des Laktons geht möglicherweise über ein intermediär gebildetes Peroxid und anschließender Bayer-Villiger-Oxidation.



Schema 2.46 Bildung des Nebenprodukts 66 der Oxidation mit TEMPO / NaOCl

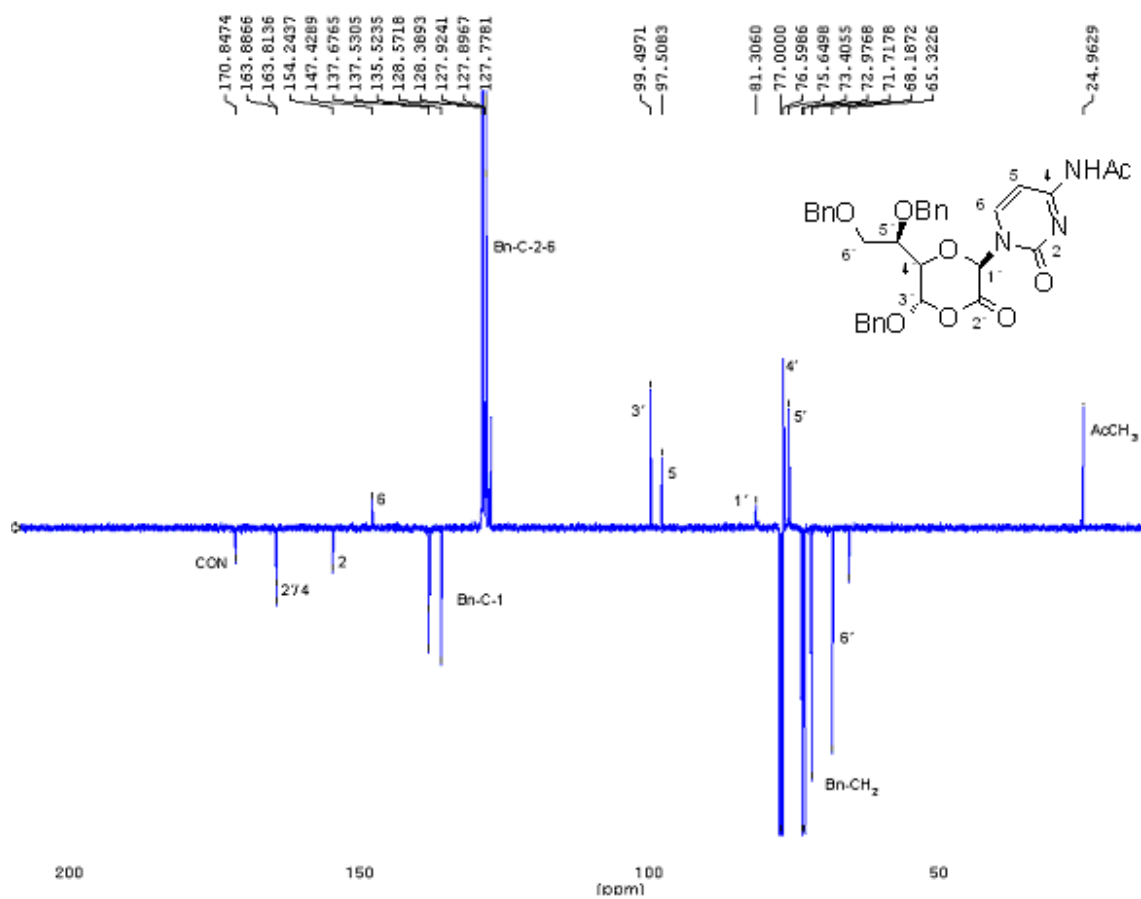
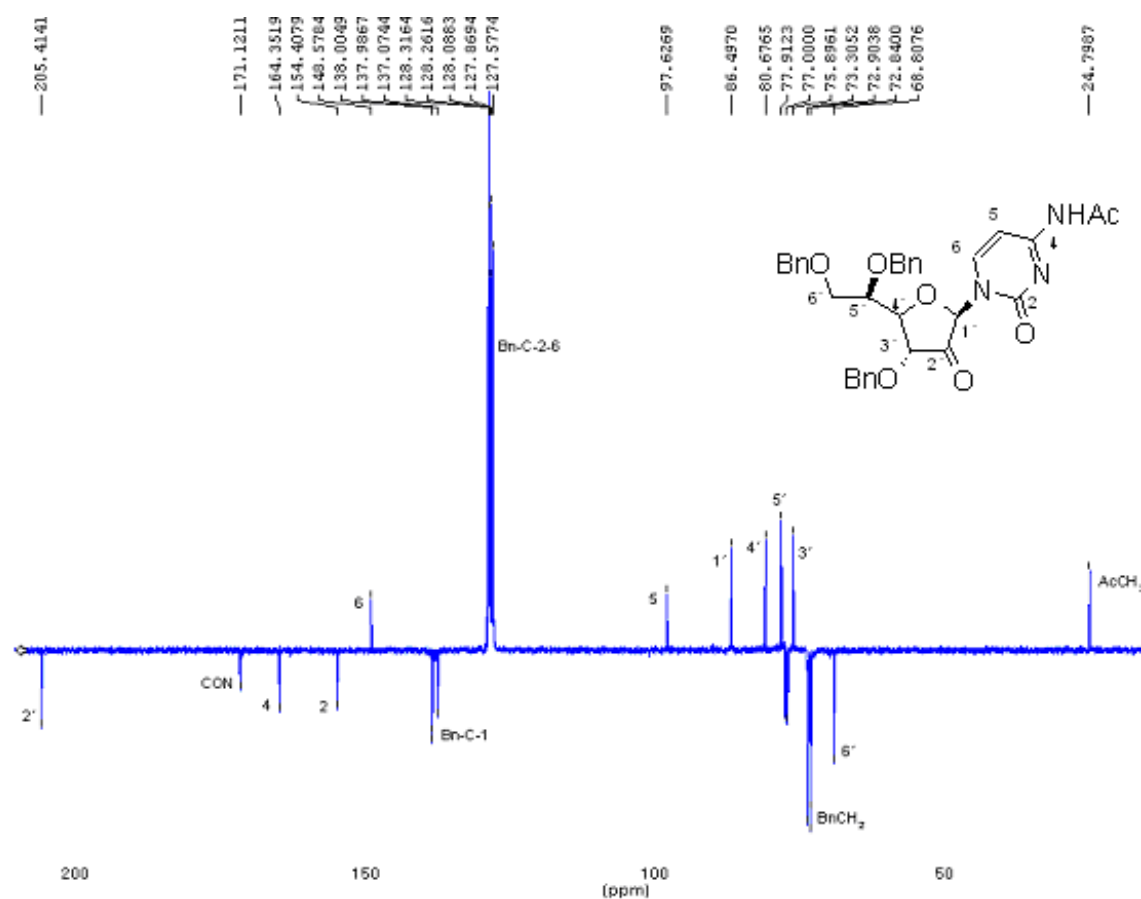


Abbildung 2.7 Vergleich der ¹³C-NMR Spektren **23** / Struktur **66**.

Die Masse ergab 622,9, was dem Molekulargewicht des Laktone **66** + Na⁺ entspricht. Die Elementaranalyse und das Ergebnis der hochauflösenden Masse des Nebenprodukts sprechen für eine atomare Zusammensetzung die mit der des Laktone mit der Struktur **66** übereinstimmt.

Das Nebenprodukt entsteht in geringen Mengen und kann chromatographisch abgetrennt werden. Das Hauptprodukt **23** wird in guter Ausbeute (80 %) gebildet. Da Dess-Martin-Periodinan aus Kostengründen für ein scale-up nicht geeignet ist, bleibt die TEMPO-Oxidation die Methode der Wahl.

Versuche zur Fluorierung des Zuckerbausteins

Alternativ zur Fluorierung des Nukleosids **23** wurde die Fluorierung des Zuckerbausteins versucht, um durch anschließende Basenkopplung das fluorierte Nukleosid zu bilden. Das meist benutzte Reagens um derartige Alkohole und Ketone zu fluorieren ist Diethylaminosulfurtrifluorid (DAST).

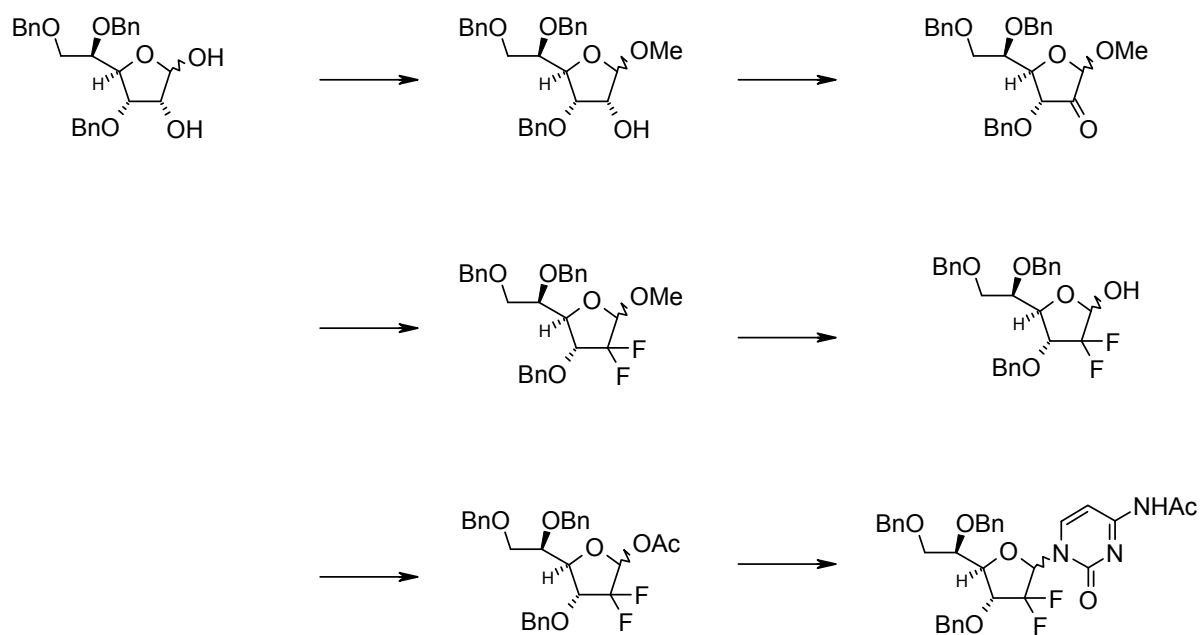
So ist zum Beispiel die Synthese von L-2',3'-Dideoxy-3'-difluorocytidin als Zwischenstufe für einen antiviralen Wirkstoff über geminale Difluorierung eines Zuckerbausteins und anschließender Vorbrücken Nukleosidierung, beschrieben⁸⁶.

Die Synthese von an Position 3' geminal difluorierter Pyrimidin- und Purinnukleoside wurde von Chong et al. berichtet. In diesem Fall wurde auch zuerst die zu fluorierende Position zum Carbonyl-Kohlenstoff oxidiert und zweifach fluoriert. Der fertige Zuckerbaustein wurde danach mit der jeweiligen Base gekoppelt⁸⁷.

Die Synthese von 2',2'-Difluordesoxycytidin über die Oxidation der Position 2 der D-Ribose, geminaler Difluorierung derselben Position und Kopplung mit Cytosin wurde von Xiao Yuan Jing et al beschrieben und patentiert.⁸⁸

Analog dazu sollte die Herstellung von Gemcitabin ausgehend von der oben beschriebenen 3,5,6-Tribenzyl-D-Allofuranose **19** versucht werden (Schema 2.47).

⁸⁶ Gumina G.; Schinazi, R.F.; Chu, C. K.; *Organic Letters*, **2001**, 3, 26, 4177 – 4180.



Schema 2.47 Konzept zur Fluorierung des Zuckerbausteins **19**.

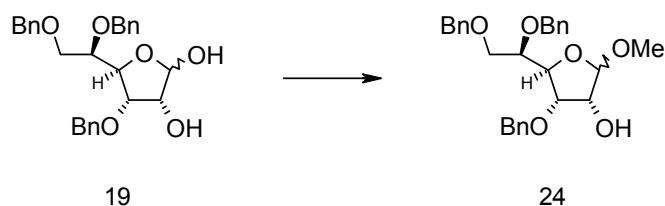
Nachteil dieses Synthesekonzepts ist die mangelnde Stereokontrolle der Basenkopplung. Man muss davon ausgehen, dass sich auch das ungewünschte α -Anomer bildet und dadurch die Ausbeute vermindert, bzw. ein weiterer Reaktionsschritt zur Anomerisierung notwendig wird. Die Synthese ähnlicher Zuckerbausteine ist aber literaturbekannt und die Fluorierung, die als schwierigster Schritt dieser Synthese gilt, wurde in den vorher genannten Beispielen mit guter Ausbeute beschrieben.

⁸⁷ Chong, Y.; Gumina, G.; Judy M.S.; Schinazi, R.F.; Chu C.K; *Journal of Medicinal Chemistry*, **2003**, 46, (15), 3245 – 3256.

⁸⁸ Jing X. Y., et al. ; CN1724553A.

Bildung des Methylacetals 24

Die Synthese des Methylacetals läuft in methanolischer Salzsäure, die durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in Methanol hergestellt wurde. Da bei der Reaktion Wasser frei wird und ein Gleichgewicht zwischen Acetal und Halbacetal besteht, sind die Verwendung von trockenem Lösungsmittel und der Ausschluss von Wasser für die vollständige Umsetzung notwendig.



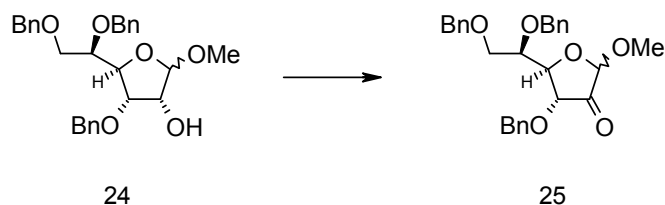
Schema 2.48 Bildung des Acetals 24.

Unter wasserfreien Bedingungen läuft die Reaktion in kurzer Zeit quantitativ ab. Es entstehen, wie erwartet, die beiden Anomere **24** in einem Verhältnis von $\alpha : \beta = 9 : 1$. Die beiden Diastereomere konnten chromatographisch nicht getrennt werden und wurden als Mischung in die nächste Stufe eingesetzt.

Oxidation des sekundären Alkohols an 2

Die Oxidation vom Alkohol **24** zum Keton **25** wurde zweiphasig mit TEMPO in Dichlormethan und Natriumhypochlorit durchgeführt. Die Reaktion geht glatt ohne nennenswerte Bildung von Nebenprodukten. Die Umsetzung ist schwierig mit Dünnschichtchromatographie zu beobachten, da das Produkt in Anwesenheit von wässriger NaOCl-Lösung, wahrscheinlich aufgrund von Bildung von Folgeprodukten, wie z.B. dem entsprechenden Hydrat, keinen einheitlichen Spot abgibt. Die vollständige Umsetzung des Edukts kann aber in einer Mischung aus Dichlormethan und Methanol 20 : 1 beobachtet, und damit das Reaktionsende bestimmt werden. Als Alternative dazu bietet sich die Inprocesskontrolle mittels

NMR-Spektroskopie an, da die Peaks der Kohlenstoffe an Position 1 der beiden Substanzen eine eindeutig unterschiedliche chemische Verschiebung zeigen.



Schema 2.49 Oxidation zum Keton.

(Verschiebung in CDCl_3 δ H_1 : **24**: 5,74 ppm; **25**: 6,14 ppm) Nach Aufarbeitung der Reaktionsmischung, wobei Reste des katalytisch eingesetzten TEMPO entfernt werden, und Trocknung und Eindampfens der organischen Phase erhält man ausschließlich das gewünschte Produkt **25**.

Fluorierungsversuche

Fluorid wird in protischen Lösungsmitteln stark solvatisiert, während es in den meisten aprotischen Lösungsmitteln enge Ionenpaare bildet. Daher ist Fluor ein schwaches Nukleophil in protischen Lösungsmitteln, während in aprotischen Lösungsmitteln die Ionenpaarung unterbunden werden muss, um einen nukleophilen Angriff des Fluor auf das Zielmolekül zu ermöglichen. Möglich ist dies durch Bindung an sterisch sehr anspruchsvolle Kationen, wie z.B. im Fall des Tetrabutylammonium Fluorids (TBAF). Als Alternative dazu, kann man Hydrogenfluorid (HF) verwenden. Um die starke Korrosivität und Reaktivität des HF zu mindern und so die Handhabbarkeit zu verbessern verwendet man oft an Amine gebundenes HF, wie Pyridiniumpoly(hydrogenfluorid), (PPHF). Die Anwesenheit von Aminen vermindert auch die Nukleophilie.

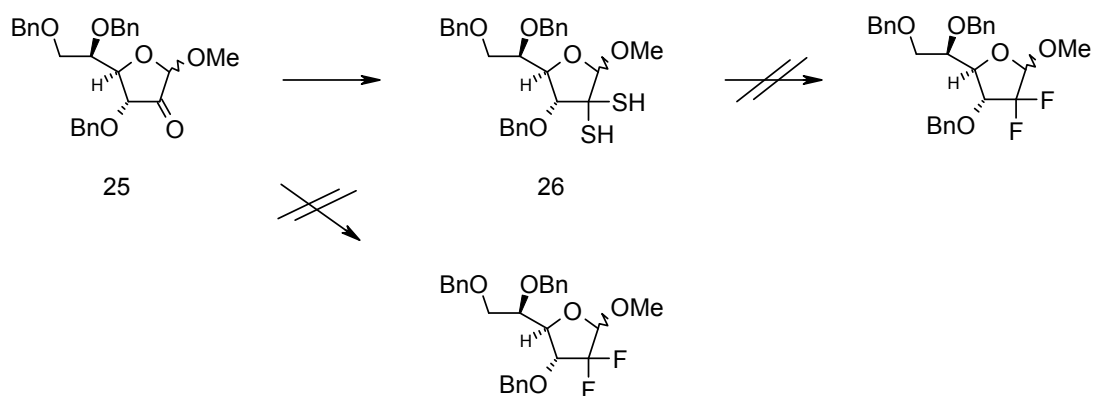
Um die Nukleophilie von F^- zu erhöhen wurden Reagenzien entwickelt, bei welchen F^- als harte Lewisbase mit weichen Lewissäuren gekoppelt wurde, wie zB. bei Diethylaminosulfurtrifluorid (DAST).⁸⁹

⁸⁹ Kirk, K. L.; *Org. Process Res. Dev.*, **2008**, 12 (2), 305–321

Ein weiteres Reagens zur geminalen Difluorierung von Carbonylverbindungen ist Bis(2-Methoxyethyl)-aminosulfurtrifluorid, das auf derselben Wirkungsweise wie DAST funktioniert, aber thermisch stabiler ist und keine Explosions- bzw. Detonationsgefahr zeigt. In manchen Fällen sind die Ausbeuten einer Fluorierung mit BAST im Vergleich zu DAST höher.⁹⁰

Eine Aktivierung einer Carbonylgruppe für einen nukleophilen Angriff kann über den Umweg der Bildung eines Thioketons bzw. der entsprechenden Hydratform erreicht werden. Die Fluorierung von vielen schwefelhaltigen Verbindungen ist literaturbekannt und gelingt oft leichter als die der entsprechenden Ketone.⁹¹

Es entsanden durchwegs Produktgemische in denen das gewünschte Produkt höchstens in geringen Mengen vorlag.



Schema 2.50 Fluorierungsversuche des Ketons **25** und Dithiol **26**

⁹⁰ Lal, G. S.; Pez G. P.; Pesaresi, R. J.; Prozonc, F. M.; *Chem. Comm.*, **1999**, 215 – 216.

⁹¹ Shimizu M.; Hiyama, T.; *Angewandte Chemie*, **2005**, 117, 218 – 234.

Edukt	Reaktionstemp.	Reagens / Reaktionsdauer	Produkt
25	r.t.	DAST / HF-Pyridin	Kein Umsatz
25	40° C	BAST / HF-Pyridin / 60 h	Produktgemisch
25	r.t.	BAST ; HF-Pyridin / 24 h	Kein Umsatz
25	r.t.	BAST / 60 h	Kein Umsatz
25	reflux	BAST / 48 h	Produktgemisch
25	r.t.	BAST / Ethanol _{abs.} / 16 h	Kein Umsatz

Abbildung 2.8 Versuche zur Fluorierung am Keton **25** in DCM. (Kein Umsatz bedeutet kaum Umsetzung außer teilweiser Benzylabspaltung)

Edukt	Reaktionstemp.	Reagens / Reaktionsdauer	Produkt
26	0° C - RT	DAST	Kein Umsatz
26	40° C	DAST	Produktgemisch
26	0° C – r.t.	BAST ; HF-Pyridin	Kein Umsatz
26	0° C – r.t.	BAST	Kein Umsatz
26	r.t.	BAST / 16 h	Kein Umsatz
26	r.t.	BAST / SbCl ₃	Kein Umsatz

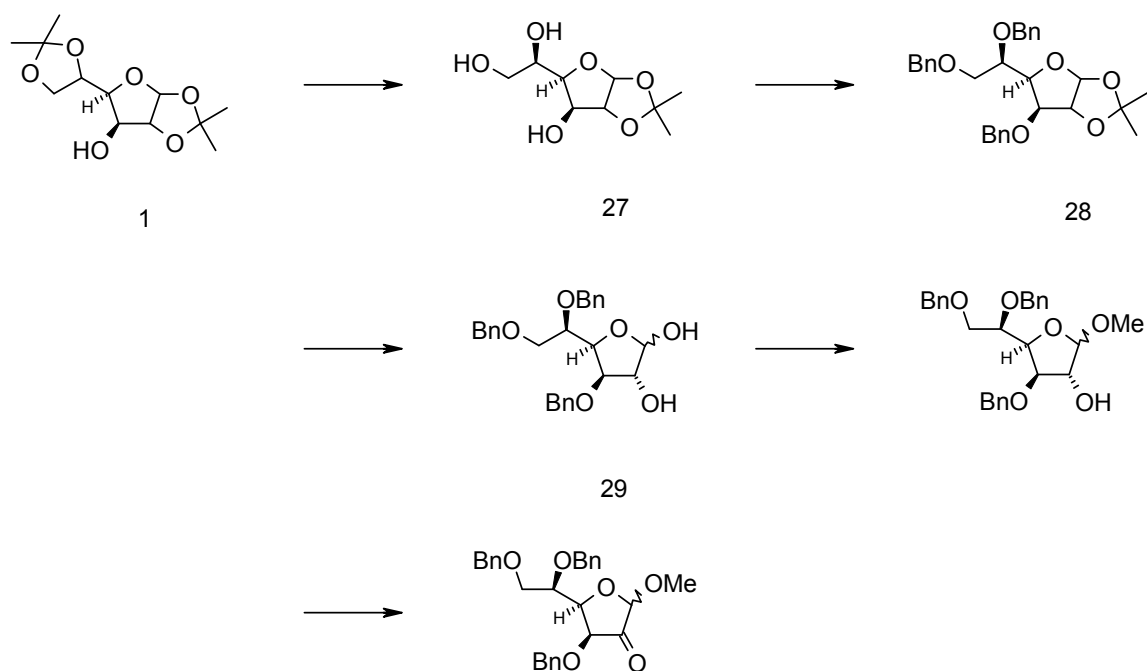
Abbildung 2.9 Versuche zur Fluorierung am Dithiol **26** in DCM. (Kein Umsatz bedeutet kaum Umsetzung außer teilweiser Benzylabspaltung)

Das Thiohydrat **26** wurde aus dem Keton **25** unter Verwendung von Lawessonreagens hergestellt.

Untersuchungen zum Einfluss auf die sterische Hinderung durch Benzylether an Position 3

In der Literatur wurde die Problematik der sterischen Hinderung und der nachteiligen elektronischen Effekte von cyclischen Ketonen mit α,α' -Substituenten

beschrieben⁹². Um den Einfluss der benachbarten Benzylethergruppe auf eine mögliche sterische Hinderung für Fluorierungen an Position 2 zu untersuchen, wurde die Synthesesequenz mit D-Glucose, anstelle von D-Allose durchgeführt. Glukose unterscheidet sich von Allose in der Stereokonfiguration der Hydroxygruppe in Position 3. Sollte die räumliche Anordnung des Benzylethers des Ketons **25** der Grund für die nicht erfolgte Fluorierung sein, sollte diese mit D-Glucose als Grundbaustein möglich sein.

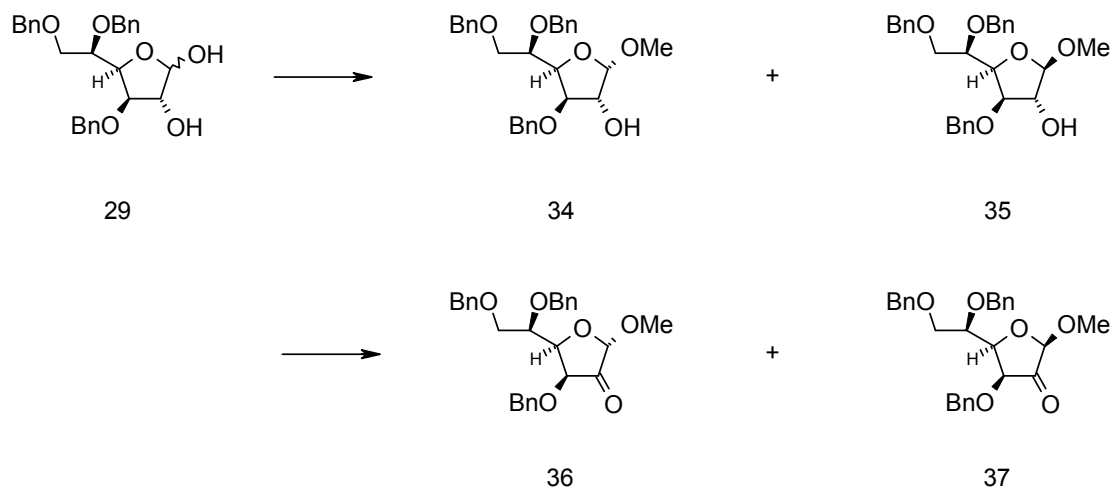


Schema 2.51 Herstellung des Ketons für anschließende Fluorierungsversuche

Die einzelnen Syntheseschritte wurden analog zur oben besprochenen Synthese des Ketons **25** durchgeführt. Ausgehend vom Diacetoneid **1** wurde die exocyclische Acetalgruppe entschützt um 1,2-Isopropyliden- α -D-Glucopyranose **27** zu erhalten. Die freien Hydroxygruppen wurden als Benzylether geschützt. Das Acetal an 1,2 der 3,5,6-Tribenzyl-1,2-isopropyliden- α -D-Glucopyranose **28** wurde abgespalten und die entsprechende Methylacetale synthetisiert. Im Unterschied zum D-Alloседerivat unterscheiden sich die beiden Anomere des Methylacetals der 3,5,6-Tribenzyl-D-Glucopyranose wesentlich in ihren R_f-Werten und konnten deshalb

⁹² Gumina, G.; Schinazi R. F.; Chu C. K.; *Org. Letters*, **2001**, 3, 26, 4177 – 4180.

chromatographisch getrennt werden. Man erhielt nach Trennung und Oxidation der beiden Diastereomere **34** und **35** die beiden Anomere des Ketons **36** und **37**.

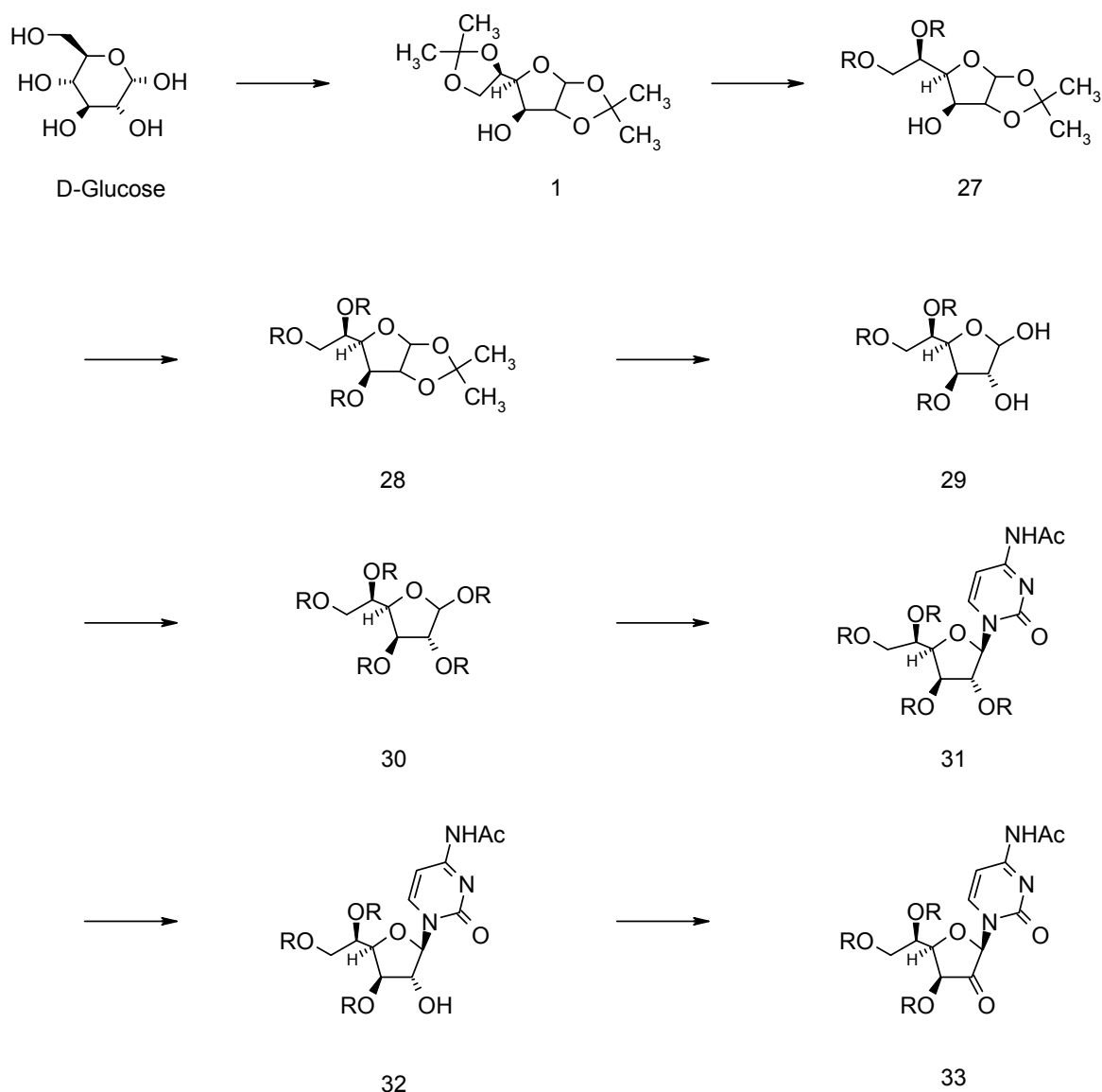


Schema 2.52 Bildung der beiden Anomere des 1-Methyl-3,5,6-Tribenzyl-D-Glucofuranose.

Die weiteren Experimente zur Fluorierung wurden nicht mit Mischungen der beiden Diastereomeren, sondern jeweils mit dem α -Anomer **36** und dem β -Anomer **37** durchgeführt. So konnten der sterische Einfluss beider benachbarter Gruppen untersucht werden.

Glucose als Zuckerbaustein des Nukleosids

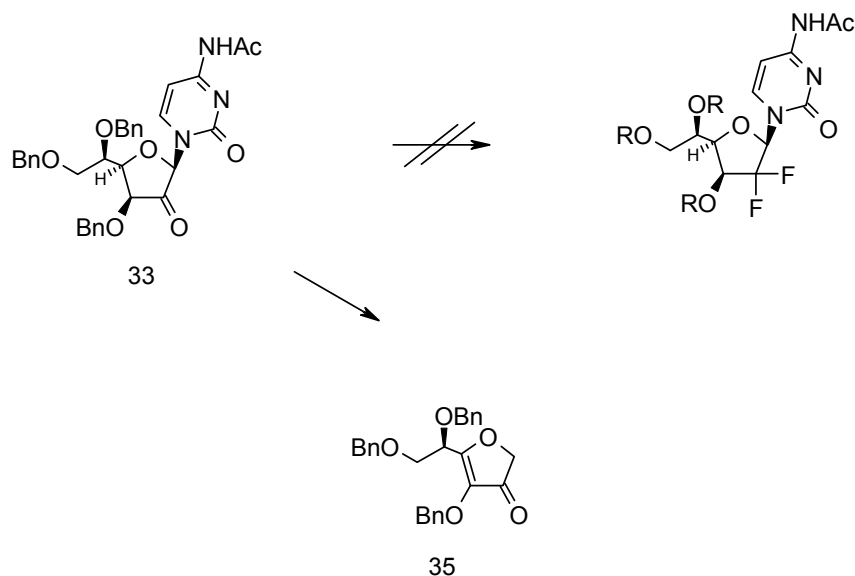
Im Zuge dieser Arbeit wurde, wie oben beschrieben, als Plattform für Homonukleoside, auch D-Glucose anstelle D-Allose als Zuckerbaustein verwendet. So wurde das Homonukleosid **32** hergestellt (siehe Formel; R=Bn). Ausgehend davon wurden auch Versuche zur Fluorierung nach Oxidation an 2' zum Keton **33** unternommen.



Schema 2.53 Synthese des Ketons mit Glucose als Zuckerbaustein

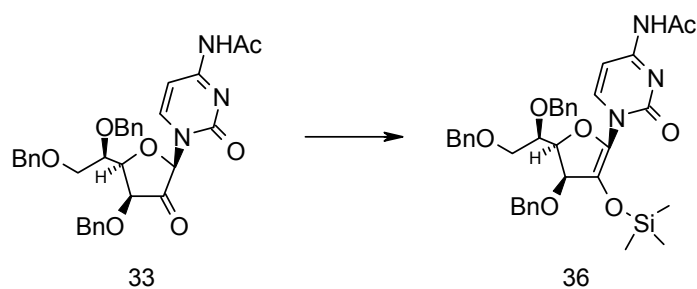
Die Synthesesequenz läuft analog zur oben besprochenen Nukleosidierung mit D-Allofuranose mit denselben Methoden und sehr ähnlichen Ausbeuten. Die Oxidation des Alkohols **32** zum Keton **33** geht sowohl mit TEMPO / Natriumhypochlorit als auch mit Dess-Martin-Periodinan gut.

Die Versuche zur Fluorierung des Ketons im basischen Milieu mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) resultierten in einem basengespaltenen Eliminierungsprodukt **35**. Es konnte so kein Fluor in die Verbindung eingebaut werden. Das Produkt dieser Reaktion **35** entstand auch in Abwesenheit von TBAF in Pyridin.



Schema 2.54 Eliminierung im basischen Milieu.

Der Mechanismus dieser Reaktion läuft über Keto-Enol-Tautomerie in Position 2'. Es wurde versucht das Enol als Trimethylsilylether abzufangen und in Folge die entstandene Doppelbindung zwischen 1' und 2' zu fluorieren. Die Bildung des Trimethylsilylethers gelang im basischen Milieu unter Zugabe von Trimethylsilylchlorid mit hoher Ausbeute. Die Versuche zur Fluorierung erfolgten mit DAST und Olah's Reagent.



Schema 2.55 Bildung des Enolethers 36.

Fluorierungsversuche mit Derivaten des Ketons 33

Da die Fluorierungsversuche des Ketons an 2' des Nukleosids sowohl mit D-Glukofuranose, als auch mit D-Allofuranose als Zuckerteil nicht erfolgreich waren, wurde versucht Derivate des Ketons herzustellen, die der Fluorierung leichter

zugänglich sein sollten, wie die in Abbildung 2.10 dargestellten Methyloxim- und Phenylhydrazinderivate des Ketons **33**.

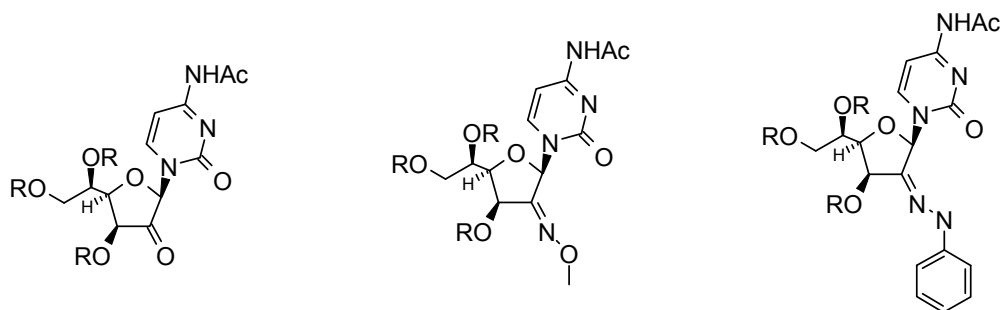
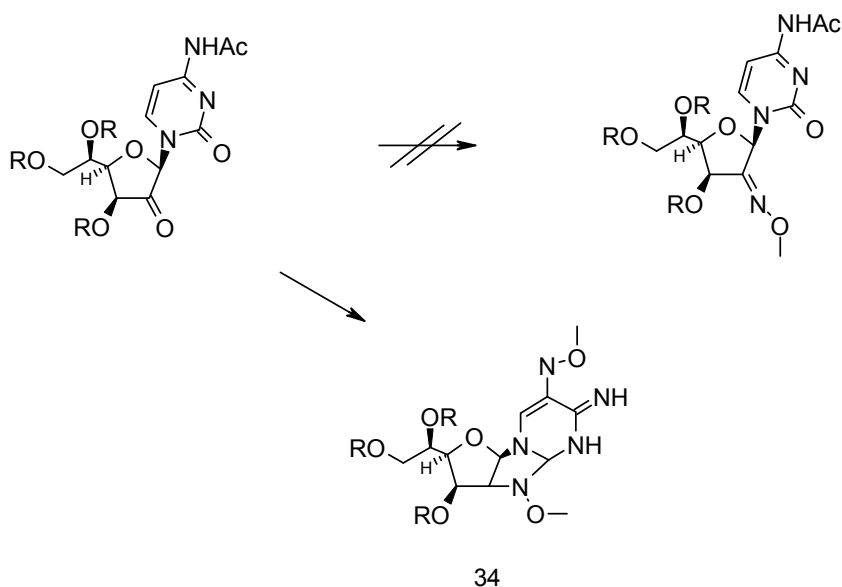


Abbildung 2.10 Keton **33** und Derivate.

Das Keton **33** wurde mit 2 Äquivalenten Methoxyamin.HCl vermengt und in Pyridin / Dichlorethan gelöst. Bei Raumtemperatur kann nach kurzer Zeit die Bildung eines neuen Produktes beobachtet werden. Die Strukturaufklärung zeigte jedoch, dass anstelle des gewünschten Oxims das cyclische Produkt **34** erhalten wurde.



Schema 2.56 Ringschluss nach Oximbildung.

Die Versuche mit einem Äquivalent Reagens resultierten wieder in Bildung eines zusätzlich ringgeschlossenen Produkts.

Die Experimente zur Herstellung vom Phenylhydrazinderivats waren nicht erfolgreich.

Zusammenfassung der Fluorierungsversuche

Die Ausbeuten der Fluorierungen waren durchwegs unzureichend bzw. war das gewünschte Produkt nicht isolierbar. Weder die Fluorierungen am Monosacharid noch die an den oben beschriebenen Nukleosiden führten zum erwünschten fluorierten Produkt. Auch der sterische Einfluss der Nachbargruppe in Position 3 bzw. 3' wurde untersucht und war nicht Grund für die mangelnde Reaktivität. Im Gegensatz zur bekannten Homogemcitabinsynthese wurde keine Verbesserung erzielt. Um diesen Syntheseweg gangbar zu machen, muss die Difluorierung in guten Ausbeuten gelingen.

2.7 Testungen des Homogemcitabin an Zellkulturen

Gemcitabin ist ein Prodrug, das erst im menschlichen Körper zum aktiven Derivat, dem 2'-2'-Desoxydifluor-Cytidin-6-triphosphat (dFdCTP) umgewandelt wird. dFdCTP wird dann als falscher Baustein in die DNA eingebaut und führt in weiterer Folge zum DNA-Kettenabbruch. Die Phosphorylierung der Hydroxygruppe in Position 5' ist also für die Wirkung essentiell. Homogemcitabin fällt als Zwischenprodukt bei der oben vorgestellten Synthese des Gemcitabin an. (In diesem Abschnitt ist ausschließlich von an 5' L-konfiguriertem Homogemcitabin die Rede.) Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit konnte eine ähnliche physiologische Wirkung erwartet werden. Andererseits liegt der chemische Unterschied der beiden Verbindungen in der, für die Wirkung, sehr wichtigen Position 5'. Die funktionelle Gruppe an der 5'-Position des Gemcitabin ist ein primärer, die des Homogemcitabin ein sekundärer Alkohol. Der Alkohol, der durch das Enzym Deoxycytidinkinase in das Triphosphat umgewandelt wird, ist also bei Gemcitabin freier zugänglich. Ob Homogemcitabin im menschlichen Körper in ein aktives Derivat umgewandelt werden kann und somit cytostatische Wirkung zeigt ist also fraglich.

Tatsächlich zeigte Homogemcitabin in Zellkulturtests zur Cytotoxizität im Vergleich mit Gemcitabin eine stark abgeschwächte Wirkung.

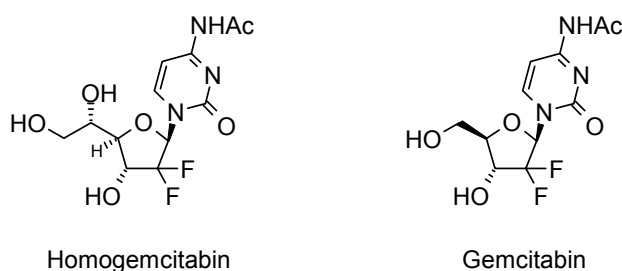


Abbildung 2.11 Vergleich Homogemcitabin und Gemcitabin.

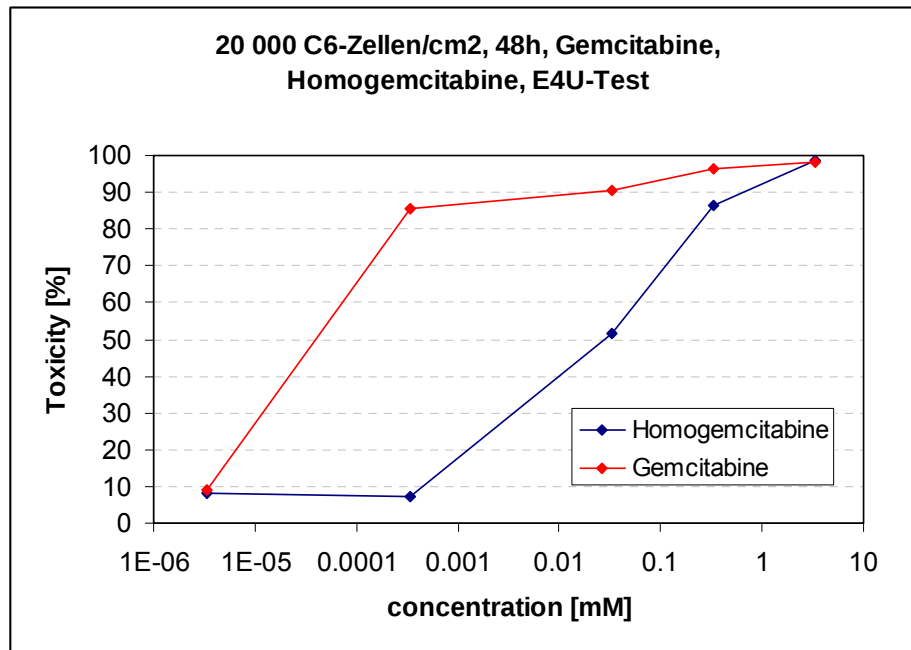


Abbildung 2.12 Zellkulturtest mit 20.000 Zellen / cm²

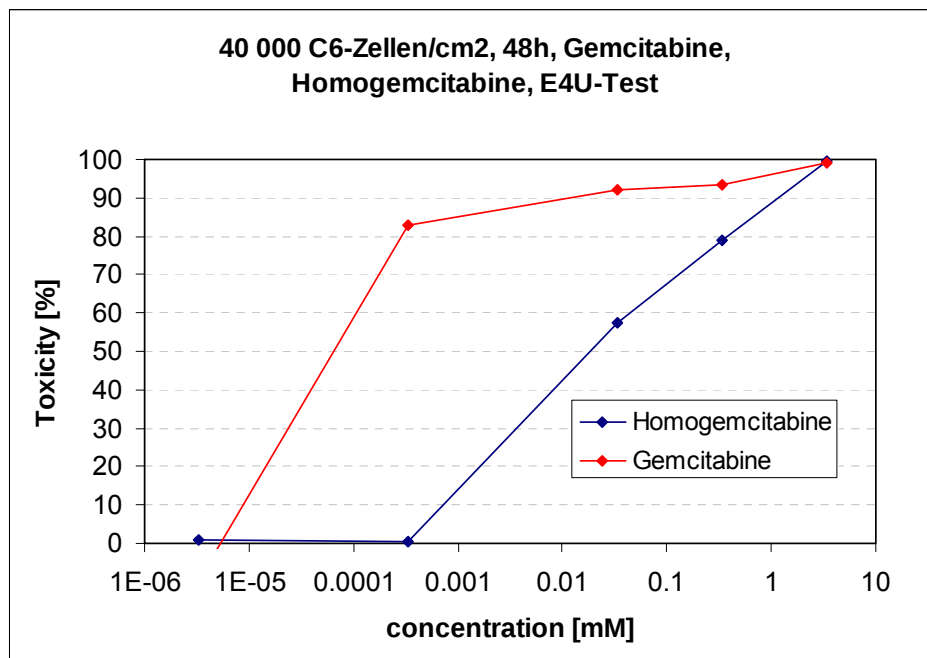


Abbildung 2.13 Zellkulturtests mit 40.000 C6-Zellen / cm².

Wie aus den Abbildungen 2.10. und 2.11. ersichtlich, zeigt Gemcitabin im E4U-Test an C6-Zellen schon in Konzentrationen von 10^{-4} mMol / l deutlich cytotoxische Aktivität. Mit Homogemcitabin wurde erst in einer Konzentration von 1 mMol / l eine ähnliche Wirksamkeit erzielt. Die Versuche wurden mit

unterschiedlichen Dichtigkeiten (20.000 C6-Zellen / cm² und 40.000 C6-Zellen / cm²) unternommen. Beide Versuchsreihen zeigten vergleichbare Ergebnisse.

Die zusätzliche alkoholische Funktion im Zuckerteil ist also verantwortlich für die enorm abgeschwächte Wirksamkeit. Grund dafür kann eine Änderung der Pharmakokinetik im Allgemeinen und einem geringeren zellulären uptake im Besonderen, oder eine verminderte Bindung an das aktivierende Enzym, Deoxycytidinkinase und dadurch eine geringere Phosphorylierung und in Folge mangelnder Einbau in die DNA sein. Veränderungen in dieser Position sollten also auch zu Verbesserungen in der Wirksamkeit führen. Die zusätzliche Hydroxygruppe im Zuckerteil erhöht die Polarität des Moleküls und ändert so die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Moleküls.

3 Experimenteller Teil

Material und Methoden

Kernresonanzspektroskopie (NMR):

Zur Messung NMR-Spektren wurden ein Bruker Avance 200 bzw. Ultrashield 500 verwendet. Die chemische Verschiebung (δ) ist in parts per million (ppm) angegeben und die Kopplungen in Herz (Hz). Zur Differenzierung der Protonensignale wurde „s“ für Singulett, „bs“ für breites Singulett „d“, für Dublett, „t“ für Triplett, q für Quatruplett und „m“ für Multiplett angegeben.

NMR-Lösungsmittel:

-Deuteriochloroform (CDCl_3 , kalibriert auf 7,26 ppm bei ^1H -Spektren und 77,00 ppm bei ^{13}C -Spektren).

-Dimethylsulfoxid- d_6 ($\text{C}_2\text{D}_6\text{OS}$, kalibriert auf 2,50 ppm bei ^1H Spektren und 39,5 ppm bei ^{13}C -Spektren).

-Deuteromethanol (CD_3OD , kalibriert auf 3,31 ppm bei ^1H Spektren und 49,00 bei ^{13}C -Spektren).

-Deuteriumoxid (D_2O , kalibriert auf 4,79 ppm bei ^1H Spektren, bei ^{13}C Spektren wurde Tetramethylsilan als interner Kalibrierungsstandard bei 0,00 ppm zugegeben).

Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur aufgenommen. Zur Auswertung der Daten wurde das Programm WinNMR verwendet.

Massenspektrometrie (MS):

Die Massenspektren wurden mit einem Thermo Finnigan LCQ DUO mit ESI-Quelle aufgenommen dem ein P/ACE MDQ Autosampler vorgeschaltet war. Vermessen wurden 0,1 %ige Lösungen in Methanol oder Acetonitril. Die Datenauswertung erfolgte mit Hilfe von Thermo Xcalibur.

Elementaranalysen:

CHN-Analysen wurden im mikroanalytischen Labor des Instituts für physikalische Chemie an der Universität Wien durchgeführt. Das verwendete Gerät war ein 2400 CHN-Elemental Analyzer- Perkin Elmer.

Chromatographie:

Für die analytische Dünnschichtchromatographie wurden DC-Alufolien der Firma Merck (Kieselgel 60 F254) verwendet. Die Laufstrecke variierte zwischen 5 und 10 cm. Die Visualisierung erfolgte durch UV - Fluoreszenzlöschung (UV 254 nm) oder durch Besprühen mit Seebach - Reagenz: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (12.5 g), $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (5 g) und konzentrierte Schwefelsäure (30 ml) wurden in H_2O (470 ml) gelöst. Die DC-Folien wurden mit dieser Lösung besprüht und anschließend mit dem Heißluftfön erhitzt.

Die präparative Säulen- bzw. Flashchromatographie wurde mit Kieselgel der Firma Merck (0.040-0.063 mm) durchgeführt. Üblicherweise wurde für Vakuumflashchromatographie pro g eingesetzter Substanzmischung 30g Kieselgel verwendet. Das Kieselgel wurde in dem jeweiligen Laufmittel bzw. bei Lösungsmittelmischung in der apolareren Komponente des Laufmittels eine halbe Stunde lang konditioniert und feucht in die Säule eingebracht. Das überschüssige Lösungsmittel wurde durch Vakuum durch die Säule gezogen. Anschließend wurde das Kieselgel mit einer 0,5 cm dicken Schicht an Seesand überschichtet und mit einem Filterpapier mit entsprechendem Durchmesser bedeckt. Die zu

trennende Mischung wurde in höchstmöglicher Konzentration auf die Säule aufgebracht. Die Fraktionen wurden üblicherweise in 30fachen Volumina (ml / g) zur eingesetzten Substanzmischung geschnitten. Üblicherweise wurde ein Laufmittel gewählt, das den höchstlaufenden Spot auf einen R_f -Wert von 0,30 brachte.

Chemikalien:

Alle verwendeten Chemikalien wurden bei den Firmen Sigma-Aldrich, Acros, Lancaster, VWR oder Fluka kommerziell erworben.

Reinigung/Trocknung der Lösungsmittel und Reagenzien:

Die Lösungsmittel, die als trocken angegeben sind wurden über eine Apparatur destilliert und danach über Molsieb bzw. unter Argon gelagert.

Acetonitril	Reflux über Kaliumcarbonat und destilliert.
Dichlormethan	Reflux über Phosphorpentoxid und destilliert.
Dimethylformamid	Trocknung über Molsieb 4A (über 24 h).
Dimethylsulfoxid	Trocknung über Molsieb 4A (über 24 h).
Methanol	Reflux über Magnesium und destilliert.
Pyridin	Reflux über Kaliumhydroxid und destilliert.
Tetrahydrofuran	Reflux über Natrium, Benzophenon als Indikator.
Toluol	Reflux über Natrium, Benzophenon als Indikator.
1,2-Dichlorethan	Reflux über Phosphorpentoxid und destilliert.

Alle, nicht als trocken deklarierten Lösungsmittel, wurden, falls nicht anders angegeben, in üblicher kommerziell erhältlicher Qualität verwendet. Alle Lösungsmittel wurden von Sigma Aldrich, Acros Organics, Lancaster oder Fluka erworben.

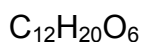
Alle angegebenen Reaktionszeiten verstehen sich als Zeitraum vom Ansatz der Reaktion bis zur letzten Inprozesskontrolle und wurden bei entsprechender Dauer (> 5h) auf volle Stunden gerundet.

Verwendete Abkürzungen:

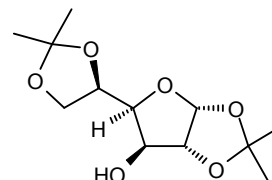
Ar:	Arylgruppe
Bz:	Benzoyl
DC:	Dünnschichtchromatographie
DCM:	Dichloromethan
DMF:	N,N-Dimethylformamide
DMSO:	Dimethylsulfoxide
EtOAc:	Ethylacetat
EtOH:	Ethanol
MeOD:	Deuteromethanol
MTBE:	Methyl-tert-butylether
NMR:	Magnetresonanz
PCC:	Pyridiniumchlorochromat
PE:	Petrolether
<i>p</i> -TOSCl:	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure-chlorid
LAH:	Lithiumaluminiumhydrid
RT:	Raumtemperatur
TEA:	Triethylamin
TFA:	Trifluoressigsäure
THF:	Tetrahydrofuran
Ts:	Tosyl

Synthese

1,2;5,6-D-Glucosediaceetonid **1**



$$M = 260,29$$



Wasserfreie Glucose (1000.0 g, 5,55 Mol) werden in 17,5 l Aceton digeriert. Unter ständigem Rühren wird portionsweise FeCl_3 zugefügt. Die Lösung färbt sich dunkelgelb. Das Reaktionsgemisch wird 48 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die nicht gelöste Glucose abfiltriert und mit 200ml Aceton bis zur Entfärbung gewaschen. Die Lösung wird mit 10% wässriger KOH-NH_3 -Lösung (2600 mL + 82 mL NH_3) versetzt, dabei sich ein brauner flockiger Niederschlag bildet, der über Celite abfiltriert wird. Das Aceton wird am Rotavapor abgedampft und die Lösung auf ca. 1/7 des Volumens eingeeengt. Die entstehende wässrige Lösung wird 2 x mit je 1,25 L Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden nochmals mit 500 mL Brine gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Trocknungsmittel wird abfiltriert und die Lösung wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 610 g gelbliches Rohprodukt. Nach Trocknen im Hochvakuum erhält man 520 g Diaceetonid (36 %).

DC: Dichlormethan / Methanol 19 : 1 . $R_f = 0,54$

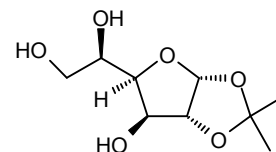
^1H NMR (200 MHz) : $\delta = 5,88$ (d, 1 H, $J = 3,6$; H-1); 4,47 (d, 1 H, $J = 3,6$; H-2); 4,25 (m, 2H, H-3,5); 4,02 – 3,95 (m, 3H, H-4,6); 1,43; 1,39; 1,30; 1,25 (s, 12H, CH_3).

^{13}C NMR (50 MHz) : $\delta = 111,7$ (C-Acetonid); 109,6 (qC-Acetonid); 105,2 (C-1); 85,0 (C-2); 81,1 (C-4); 75,0 (C-3); 73,3 (C-5); 67,5 (C-6); 26,8; 26,7; 26,1; 25,1 (4x CH_3).

1,2-Isopropyliden-D-glucofuranose **27**

C₉H₁₆O₆

M = 220,22



1,2;5,6-Diisopropylidenglucofuranose (50.0 g, 0.19 Mol) wird in 110 mL einer Mischung aus CH₃COOH / HCOOH / H₂O (10:4:3 / v/v/v) gelöst und bei Raumtemperatur 5 Stunden lang gerührt. Die Reaktion wird mittels DC und Färbereagens überwacht. LM: DCM / MeOH 20 :1; (Seebach's Sprühreagens : 0,25g Phosphormolybdänsäure; 0,1g Ce(SO₄)₂ · H₂O; 0,6 ml H₂SO₄ conc.; 9,4 mL H₂O). Die Lösung färbt sich dunkelbraun und wird zunehmend viskoser. Gegen Ende der Reaktion fällt das Rohprodukt als brauner Niederschlag aus. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts (DC-Kontrolle) wird das Reaktionsgemisch in 270 mL MTBE digeriert und 10 Stunden zum Auskristallisieren bei 0°C stehen gelassen. Der entstandene farblose Feststoff wird abfiltriert und am Vakuum getrocknet. Es werden 30 g 1,2-Glucofuranoseacetonid in Form von kleinn farblosen Kristallen (70 %) erhalten.

DC : Dichlormethan : Methanol : 20 : 1 R_f = 0,33

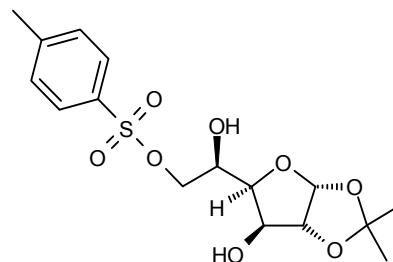
¹H NMR (200 MHz) δ = 6,01 (1H, d, J = 3,7 Hz, H-1); 4,79 (1H, d, J = 3,7 Hz, H-2); 4,32 (1H, d, J = 2,4 Hz, H-3); 4,18 (1H, dd, J = 12,1; 4,4 Hz, H-4); 4,00 - 3,53 (3H, m, H-5, 2x H-6).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 112,9 (qC-Acetonid); 105,0 (C-1); 84,7 (C-2); 80,0 (C-4); 73,8 (C-3); 68,6 (C-5); 63,7 (C-6); 25,8 und 25,4 (2 x CH₃).

6-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **35**

C₁₆H₂₂O₈S

M = 374,41



1,2-Isopropylidenglucofuranose **27** (100,0 g, 0,45 Mol) wird in 600 mL Pyridin bei 40° C gelöst und nach vollständiger Lösung auf 0° - 5° C am Eis-Wasserbad gekühlt. Unter ständigem Rühren, so dass die Lösung klar bleibt, wird Toluolsulfonsäurechlorid (110 g, 0,55 Mol ; 1,2 EQ) portionsweise zugegeben wobei die Temperatur 40° C nicht überschreitet. Nach vollständiger Zugabe wird 2 Stunden bei 0° - 5° C und weitere 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mittels DC überwacht. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Reaktionsmischung mit 1,5L MTBE verdünnt. Die Lösung wird sehr langsam, wenn möglich unter Kühlung auf 5° C, mit je 2 Mal 570 mL 6N HCl gewaschen, dabei soll die Temperatur 40° C nicht überschreiten (starke Wärmeentwicklung !!). Die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrigen Phasen werden nochmals mit 500 mL MTBE extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit 500 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung neutral gewaschen, abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, und abfiltriert. Lösungsmittel sowie Reste von Pyridin werden am Rotavapor bei 40° - 45°C eingedampft. Man erhält 120,6 g 6-Tosyl-1,2-Isopropylidengluco-furanose als rot-bräunlich Harz (71%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 9 : 1 ; R_f = 0,37

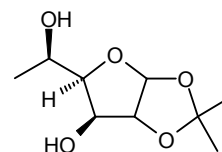
¹H NMR (200 MHz) δ = 7,82 (2H, d, J= Hz, 2x o-Ts-H); 7,35 (2H, d, J= Hz, 2x m-Ts-H); 5,89 (1H, d, J=3,7 Hz, H-1); 4,51 (1H, d, J=3,7 Hz, H-2); 4,27 - 4,00 (5H, m, H-3 -H-6); 1,46 (3H, s, CH₃); 1,30 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 145,3 (Ts-C-1); 130,0 (o-Ts-C); 128,0 (m,Ts-C); 111,9 (quart. C-Acetonid); 105,0 (C-1); 84,9 (C-2); 79,1 (C-4); 74,9 (C-3); 72,1 (C-6); 67,8 (C-5); 26,7 und 26,1 (2 x CH₃).

6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **36**

C₉H₁₆O₅

M = 204,22



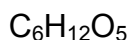
Eine Suspension von LiAlH₄ (2.2 g 58,1 mmol / 2.2 EQ) in 50 mL MTBE wird am Silikonölbad bei Raumtemperatur gerührt. In 50 ml MTBE gelöste 6-O-Tosyl-1,2-isopropylidenglucofuranose (10.0 g 26.7 mmol) wird langsam unter Temperaturkontrolle und ständigem Rühren zugetropft. Die Lösung schäumt leicht auf und erwärmt sich auf 50° C. Nach vollständiger Zugabe des Edukts wird die graue Lösung 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionskontrolle verläuft mit DC (LM : DCM / MeOH 20 : 1, R_f Edukt = R_f Produkt. Das Produkt löscht jedoch nicht im UV-Licht). Nach vollständiger Umsetzung wird mit 5 mL Wasser und 5 mL 2N NaOH gequenchet (unter ständigem Rühren sehr langsam zutropfen). Es fällt ein grau-weißer Niederschlag aus. Der Niederschlag wird über Celite abgenutscht und mehrmals in je 100 ml MTBE digeriert, 30 Minuten unter Reflux gerührt und wieder abgenutscht. Der Vorgang wird so lange wiederholt bis kein Produkt mehr extrahiert wird. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 3,5 g 6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36** als gelbes Öl. (64%).

DC : Dichlormethan : Methanol = 9 :1; R_f = 0,37

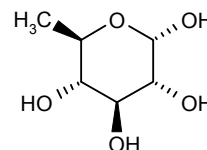
¹H NMR (200 MHz) δ = 5,98 (1H, d, J = 3,5 Hz, H-1); 4,52 (1H, d, J = 3,5 Hz, H-2); 4,33 (2H, m, H-3 ,H-5); 1,49 (3H, s, CH₃); 1,40 (3H,d, J = , 3x H-6); 1,30 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 111,7 (qC-Acetonid); 104,8 (C-1); 85,2 (C-2); 81,7 (C-4); 75,3 (C-3); 67,2 (C-5); 26,7 und 26,1 (2 x CH₃); 18,2 (3x H-6).

6-Deoxy-D-glucopyranose **37**



$$M = 164,14$$



1,2-Isopropyliden-6-deoxy-glucose (500.0 g 2.,45 Mol) . wird in 1500 mL Wasser aufgenommen. Unter ständigem Rühren wird die Lösung mit 50 g stark saurem Kationenaustauscherharz Amberlite IR-120 (H^+ -Form) versetzt. Nach vollständiger Lösung des Edukts wird auf 90°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden bei 90°C gerührt. Die Umsetzung wird mittels DC (LM DCM / MeOH 20% ; Ansprühen mit Seebach's Sprühreagens; R_f Produkt : 0.2) beobachtet. Nach Ende der Reaktion wird das Ionentauscherharz abfiltriert und die Lösung im Vakuum bei 40°C eingeeengt. Es entsteht ein gelbliches Harz. Das Harz wird, nach vollständigem Trocknen, in Isopropanol (im Verhältnis 1:3 aufgenommen 1g Harz / 3ml Isopropanol) aufgenommen und bei Raumtemperatur gerührt. Es entstehen gelbliche Kristalle. Die Mischung wird über Nacht gerührt. Das Harz löst sich vollständig und weiß bis gelbliche Kristalle fallen aus. Die Mutterlauge wird bei Raumtemperatur abgenutscht und der Kolben wird nochmal mit Mutterlauge ausgespült und über der Nutsche abfiltriert. Die Mutterlauge wird am Rotavapor eingeeengt und wieder mit Isopropanol 1:3 m/v versetzt. Der Vorgang wird solange wiederholt, bis aus der Mutterlauge keine Kristalle mehr ausfallen. Man erhält 261 g gelbliche Kristalle (65%).

DC : Dichlormethan : Methanol = 5 : 1; R_f = 0,35

^1H NMR (200 MHz / D_2O) δ = 5,15 (0,37H, d, J = 3,5 Hz, H-1*); 4,59 (0,63H, d, J = 7,8 Hz, H-1'); 3,80 – 3,03 (4H, m, H-2 – H5); 1,3 – 1,2 (3H, t, J = 5,9 Hz, H6).

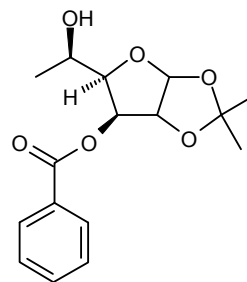
m.p.: $138^\circ - 140^\circ$ ($140^\circ - 141^\circ$ lit.)

$\alpha^{22}\text{D}$ (c = 0,2) = 31,7 (28 – 32 lit.) / nach 24 h in H_2O

3-Benzoyl-6-deoxy-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **43**

$C_{16}H_{20}O_6$

M = 308,33



6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **36** (4.2 g, 20,57 mMol) wird in 30 mL Dichlormethan gelöst und mit 2 mL Pyridin versetzt. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. 10 mg DMAP wird zugesetzt. Portionsweise wird über 5 Minuten Benzoessäureanhydrid zugetropft. Die Mischung wird 2 Stunden bei 5° C gerührt, langsam auf Raumtemperatur gebracht und weitere 10 Stunden gerührt. DC-Kontrolle zeigt die Umsetzung des Edukts. Nach vollständiger Umsetzung wird die Lösung mit 10 mL 2 N HCl gewaschen. Die organische Phase wird nochmals mit 10 mL H₂O und anschließend mit 10 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und das Lösungsmittel am Rotavapor entfernt. Man erhält 6.97 g einer 83 / 17 Mischung der beiden Regioisomere, als gelbes Öl.

DC: Dichlormethan / Methanol 5:1; R_f = 0,72

¹H NMR (200 MHz) δ = 8,07 (2H, m, Bz-2,4); 7,62 – 7,47 (3H, m, Bz-3,5,6); 6,00 (0,83 H, d, J = 3,8 , H-1'); 5,95 (0,17H, d, J = 3,7 , H-1*); 5,52 (0,83H, d, J=2,3 , H-3'); 5,51 (0,17H, s, q, J=xxxHz, H-5*); 4,74 (0,83H, d, J=3,7 , H-2'); 4,57 (0,17H, d, J = 3,5 , H-2*); 4,05 (2H, m, H-3*, H-5', H-4', H-4*); 1,57; 1,51 (3H, s, H-6', H-6*); 1,35 (6H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 166,7 (COOR); 133,9 (Bz); 130,0 (Bz); 128,6 (Bz); 112,3 (qC-Acetonid); 104,8 (C-1); 83,7 (C-2); 83,4 (C-4); 76,9 (C-3); 64,2 (C-5); 26,6; 26,2 (2x CH₃); 20,1 (C-6).

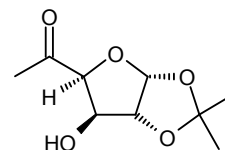
CHN Analyse:

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	62.33	62.49
H	6.54	6,76
O	31.13	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-5-oxo-1,2-isopropyliden-D-xylo-hexofuranose **42**

C₉H₁₄O₅

M = 202,22



Methode A:

Zur Herstellung des Reagenz wird PCC (2.1 g, 9,74 mMol) mit 10 g Alox vermengt und mit 10 mL Dichlormethan konditioniert. Die Mischung wird bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1 Stunde wird das Lösungsmittel am Rotavapor abrotiert. Das Reagens wird am Silikonölbäd auf 100° C erwärmt und über Nacht am Hochvakuum getrocknet.

6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36** (1.0 g, 4,90 mMol) wird in 10 mL Dichlormethan gelöst. Bei Raumtemperatur wird portionsweise PCC-Alox zugegeben. Die Lösung verfärbt sich innerhalb von 5 Minuten von gelb nach dunkelbraun. Nach Ende der Reaktion wird die Mischung über 40 mL Kieselgel filtriert. Das Filtrat wird am Rotavapor eingedampft und in 10 mL Diethylether aufgenommen und nochmals über 40 mL Kieselgel filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 0,9 g 6-Deoxy-5-oxo-1,2-isopropyliden-D-xylo-hexofuranose **42** in Form von weißen Kristallen (91%).

Methode B:

6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36** (1,5 g, 7,35 mMol) wird mit 15 mg TEMPO vermengt und in 10 mL DCM gelöst. Am Eis/Wasserbad wird die Lösung auf 3° C gekühlt. KBr (100 mg) in 0,5 mL H₂O wird zugegeben. 30 mL 10% NaOCl-Lösung wird mit NaHCO₃ auf pH 9,5 eingestellt und langsam zugetropft. Während der Zugabe steigt die Innentemperatur auf 7°C. Nach Ende der Zugabe wird eine weitere ½ Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt, nochmals mit H₂O und Brine gewaschen, abgetrennt und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 750 mg 6-Deoxy-5-oxo-1,2-isopropyliden-D-xylo-hexofuranose als gelbes Öl (50%).

Methode C:

6-Deoxy-1,2-isopropylidenglucofuranose **36** (260 mg / 1,27 mMol) wird in einer Mischung aus 2 ml Dimethylsulfoxid und 0,5 ml Essigsäureanhydrid gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stunden ist auf der DC kein Edukt mehr detektierbar. Es entstehen mindestens 4 neue Produkte. Die Mischung wird mit 3x 10 ml MTBE extrahiert und mit 3 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und abfiltriert. Nach Eindampfen unter Vakuum wird das entstehende Öl in Dichlormethan aufgenommen und durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. Es entsteht neben 100 mg **42** auch die beiden an 3 und 5 acylierten Monoacetylderivate.

DC: Dichlormethan / Methanol 9:1 R_f = 0,43

DC: Et₂O R_f = 0,6

¹H NMR (200 MHz) δ = 6,07 (1H, d, J = 3,5, H-1); 4,63 (1H, d, J = 3,2, H-3) 4,55 (1H, d, J = 3,5, H-2); 4,52 (1H, t, J = 3,8, H-4); 2,56 (1H, bs, OH); 2,29 (3H, s, H-6); 1,49; 1,33 (2 x 3H, s, 2 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 208,1 (C-5); 112,2 (qC-Acetonid); 105,4 (C-1); 86,1 (C-3); 84,5 (C-2); 76,2 (C-4); 28,4 (C-6); 26,9; 26,2 (2x CH₃).

m.p. 75 - 85°C

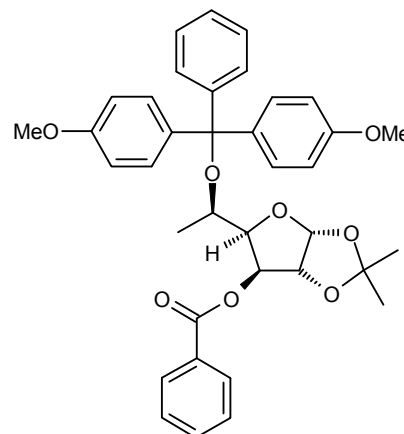
CHN-Analyse

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	53.46	53.44
H	6.98	6,86
O	39.56	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-3-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **45**

$C_{37}H_{38}O_6$

M = 610,71



3-Benzoyl-6-deoxy-1,2-glucofuranoseacetonid **43** (740 mg, 2,40 mMol) wird mit 5 mL Dichlormethan und 0,4 mL Pyridin gelöst. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad bei 0° C mit 1,4 g Dimethoxytriphenylmethylchlorid versetzt. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 4 Stunden ist die Reaktion nach DC-Kontrolle vollständig abgelaufen. Die Mischung wird mit H₂O gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotavapor eingeeengt. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 20 g Kieselgel mit einem Laufmittel von Petrolether / Dichlormethan 1:1 gereinigt. Man erhält 800 mg 6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-3-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose als gelbes Harz. (55%).

DC: Dichlormethan R_f = 0,90

¹H NMR (200 MHz) δ = 7,68 – 7,09 (14H, m, 9 x DMTr, 5x Bz); 6,59 (4H, m, DMTr) 5,77 (1H, d, J = 3,7 , H-1); 5,41 (1H, d, J = 2,5 , H-3); 4,41 (1H, d, J = 3,7 , H-2); 4,21 (1H, dd, J = 7,3; 2,5, H-4); 3,84 (1H, dt, J = 16,1; 9,8, H-5); 3,61 (6H, s, O-Me); 1,50; 1,22 (2 x 3H, s, 2 x CH₃); 1,04 (3H, d, J = 5,9, H-6).

¹³C NMR (50 MHz) δ = 165,0 (COOR); 158,3 (DMTr-O-Me); 146,2 (DMTr); 136,8; 136,5 (DMTr); 133,1 (2x p-Bz); 130,4 (DMTr); 129,7 (o,m-Bz); 127,4 (q-Bz); 126,6 (DMTr); 112,8 (DMTr); 112,0 (qC-Acetonid); 104,4 (C-1); 85,9 (DMTr-C-O); 83,2

(C-4); 82,6 (C-2); 76,3 (C-3); 67,4 (C-5); 55,0 (2x DMTr-O-Me); 26,7; 26,2 (2x CH₃-Acetonid); 19,7 (C-6).

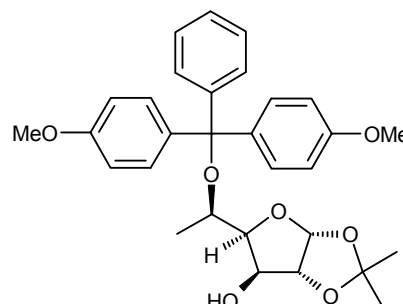
CHN: calc.: C 72.77% H 6.27% O 20.96%

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	72.77	72.41
H	6.27	6,56
O	20.96	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **46**

$C_{30}H_{34}O_7$

M = 506,60



6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-3-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **45** (9.2 g, 15,06 mMol) wird in 30 mL 6M NaOH / MeOH gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Es fällt ein weißer Niederschlag aus. Die Mischung wird mit 50 mL MeOH verdünnt. Die Reaktion ist nach DC-Kontrolle nach 3 Stunden beendet. Die Lösung wird abgenutscht und der Rückstand wird 2 Mal mit je 50 mL MeOH gewaschen. Die vereinten Lösungen werden eingedampft. Der Rückstand wird in 100 mL Dichlormethan aufgenommen und 2 Mal mit je 30 mL H_2O gewaschen. Das Reaktionsgemisch wird am Rotavapor eingeeengt. Das entstehende Öl wird in 5 mL Dichlormethan aufgenommen und mit 30 ml H_2O und 30 ml gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Die organische Phase wird eingedampft. Nach Aufreinigung durch Vakuumflashchromatographie an 250 g Kieselgel mit Petrolether/Dichlormethan 4:1 erhält man 5,9 g 6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose als gelbes Öl (78%).

DC: Petrolether / Dichlormethan 1:1; R_f = 0.51

1H NMR (200 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,30 (9H, m, DMTr); 6,78; 6,73 (4H, m, DMTr); 5,92 (1H, d, J = 3,7, H-1); 4,47 (1H, d, J = 3,7, H-2); 4,34 (1H, d, J = 4,2, H-3); 3,95 (2H, m, H-4, H-5); 3,72 (6H, s, 2 x O-Me); 3,58 (1H, bs, OH); 1,43; 1,26 (2x 3H, CH_3 -Acetonid); 0,80 (3H, d, J = 5,9, H-6).

^{13}C NMR (50 MHz / $CDCl_3$) δ = 158,7 (DMTrC-O-Me); 145,3 (DMTr); 136,0 (2x qMeO-DMTr); 130,6 (DMTr); 130,5; 128,4; 127,8 (3x o,m-DMTr); 113,1 (2x o,m-

MeO-DMTr; 111,4 (qC-Acetonid); 104,7 (C-1); 87,3 (qDMTr); 84,8 (C-2); 83,3 (C-4); 75,2 (C-3); 69,5 (C-5); 55,2 (2x O-Me); 26,8; 26,1 (2x CH₃-Acetonid).

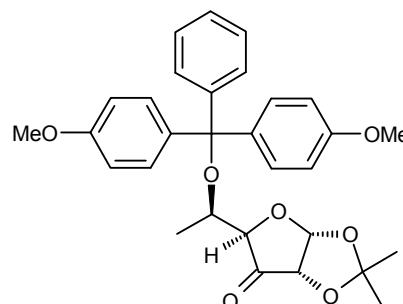
CHN-Analyse

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	71.13	71,38
H	6.76	6,60
O	22.11	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-3-oxo-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **47**

$C_{30}H_{32}O_7$

M = 504,59



6-Deoxy-5-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose **46** (200 mg, 0,39 mMol) werden mit 15 mg TEMPO vermengt und in 2 mL DCM gelöst. Die Mischung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gebracht. 5 mg KBr werden in 1 mL H₂O gelöst und zugegeben. 0,5 ml 0,7M NaOCl-Lösung (mit NaHCO₃ auf pH = 9 eingestellt) werden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wird bei 0 – 5° C gerührt. Nach 20 Minuten ist die Reaktion beendet. (DC-Kontrolle mit Petrolether / MTBE 1:1). Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 190 mg 6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-3-oxo-1,2-isopropyliden-D-glucofuranose als rotes Öl (95%).

DC: Petrolether / MTBE 1:1; R_f = 0,67

¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,40 – 7,21 (9H, m, DMTr); 6,87 (4H, m, DMTr); 6,03 (1H, d, J = 4,7 , H-1); 4,40 (1H, d, J = 4,0 , H-2); 3,92 (1H, q, J = 6,4 , H-5); 3,89 (6H, s, O-Me); 3,77 (1H, s, H-4); 1,43; 1,37 (2 x 3H, s, CH₃-Acetonid); 1,04 (3H, d, J = 6,3 , H-6).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 209,4 (C-3); 157,7 (DMTr); 144,7 (DMTr); 135,6 (DMTr); 129,6; 129,5 126,9 (DMTr); 113,0 (qC-Acetonid); 112,2 (DMTr); 102,1 (C-1); 86,3 (qDMTr); 81,6 (C-4); 76,0 (C-2); 70,4 (C-5); 54,4 (O-Me); 26,5 (2x CH₃-Acetonid); 16,0 (C-6).

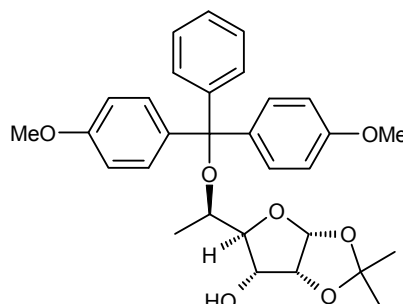
CHN-Analyse

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	71.41	71,38
H	6.39	6,60
O	22.20	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **48**

$C_{30}H_{34}O_7$

M = 506,60



Keton **47** (50 mg, 0,10 mmol) wird bei Raumtemperatur in 1 ml MeOH gelöst und am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. Die Lösung verfärbt sich gelblich. 1,5 mg $NaBH_4$ wird zugefügt und eine Stunde bei 5° C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Reaktion mit 0,5 ml H_2O gequenchet. Die Lösung wird milchig trüb. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor entfernt. Der Rückstand wird in 10 ml Dichlormethan aufgenommen und mit je 3 ml H_2O und gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden nochmals mit 10 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 40 mg 6-Deoxy-5-O-dimethoxytriphenylmethyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose als gelbes Öl (80%).

DC: Petrolether / MTBE 1:1; R_f = 0,53

1H NMR (200 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,53 – 7,18 (13H, m, DMTr); 5,73 (1H, d, J = 3,8, H-1); 4,50 (1H, dd, J = 4,7; 4,0, H-2); 3,81 (7H, s, H-3, 2x O-Me); 3,80 (1H, q, J = 3,6, H-5); 3,53 (1H, dd, J = 8,7; 3,3, H-4); 2,26 (OH); 1,49; 1,34 (2x 3H, s, 2x CH_3 -Acetonid); 1,00 (3H, d, J = 6,3; H-6).

^{13}C NMR (50 MHz / $CDCl_3$) δ = 158,2 (DMTr-Ar-4); 145,8 (DMTr-Ph-1); 136,7 (DMTr-Ar-1); 136,7 (DMTr-Ar-2,6); 130,3 (DMTr-Ph-2,6); 128,2 (DMTr-Ph-3,5); 126,5 (DMTr-Ph-4); 112,7 (DMTr-Ar-3,5); 112,2 (qC-Acetonid); 103,5 (C-1); 82,5 (C-4); 78,5 (C-2); 72,7 (C-3); 69,6 (C-5); 54,9 (2x O-Me); 26,3 (2x CH_3 -Acetonid); 16,8 (C-6).

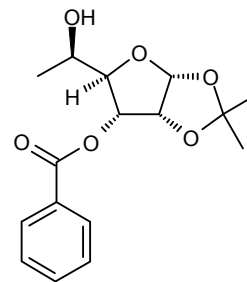
CHN-Analyse

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	71.41	71,38
H	6.39	6,60
O	22.20	-
N	0.00	< 0.05

6-Deoxy-3-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **53**

$C_{16}H_{20}O_6$

M = 308,33



48 (1,3 g, 2,57 mMol) wird in einer Mischung aus 8 mL Dichlormethan und 2 mL Pyridin gelöst. Die Lösung wird mit 10 mg DMAP versetzt und am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. Unter ständigem Rühren wird 0,3 mL (2,58 mMol) Benzoylchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wird langsam auf Raumtemperatur gebracht und 2 Stunden gerührt. Die Reaktion wird mit DC überwacht. (LM: Petrolether / MTBE = 1:1; R_f = 0,6). Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Lösung mit 0,2 mL Trifluoressigsäure versetzt und 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung färbt sich sofort rot. Nach Ende der Reaktion wird die Mischung mit 30 mL Dichlormethan verdünnt und mit 10 mL gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung versetzt. Die Mischung färbt sich wieder gelb. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase wird nochmals mit 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, abgenutscht, und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird über 30 g Kieselgel chromatographiert. (LM: Petrolether → Petrolether / MTBE 1:1). Man erhält 450 mg 6-Deoxy-3-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose als gelbes Öl. (57%).

DC: Petrolether / MTBE : 1:1; R_f = 0,44

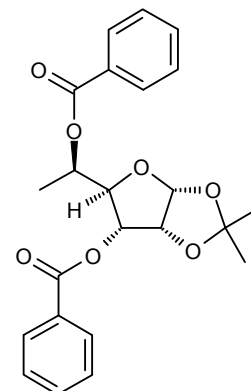
1H NMR (200 MHz / $CDCl_3$) δ = 8,07 (2H, m, Bz-3,5); 7,49 (3H, m, Bz-2,4,6); 5,89 (1H, d, J = 3,8; H-1); 5,07 (1H, dd, J = 8,5; 5,1, H-3); 4,99 (1H, dd, J = 4,6; 4,4; H-2); 4,29 (1H, dd, J = 4,6; 4,4; H-4); 4,17 (1H, dq, J = 6,6; 2,7; H-5); 2,24 (1H, bs, OH); 1,54; 1,32 (2 x 3H, s, 2 x CH_3 -Acetonid); 1,21 (3H, d, J = 6,6; H-6).

^{13}C NMR (50 MHz / CDCl_3) δ = 133,3 (Bz-4); 129,8; 128,4 (Bz-2,3,5,6) 129,3 (Bz-1); 113,0 (qC-Acetonid); 104,2 (C-1); 81,1 (C3); 78,0 (C2); 71,3 (C4); 65,9 (C-5); 26,7 (CH_3 -Acetonid); 17,3 (C-6).

6-Deoxy-3,5-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **50**

C₂₃H₂₄O₇

M = 412,44



Monobenzoat **43** (400 mg, 1,30 mMol) wird in einer Mischung aus 4 mL Dichlormethan und 1 mL Pyridin gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. 5 mg DMAP wird zugegeben. Die Mischung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt und tropfenweise mit 0,2 mL Benzoylchlorid (1,72 mMol) versetzt. Die Mischung wird 2 Stunden bei 5° C und 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ende der Reaktion wird die Mischung mit 20 mL Dichlormethan verdünnt und mit 10 mL 2N HCl gequenchet. Die organische Phase wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotovapor eingedampft. Der Rückstand wird über 15 g Kieselgel chromatographiert. (Petrolether → Petrolether / MTBE 1:1). Man erhält 510 mg 6-Deoxy-3,5-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose als gelbes Öl (95%).

DC: Petrolether / MTBE = 1:1; R_f = 0,80

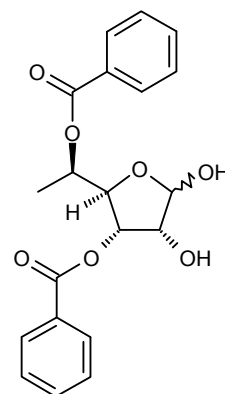
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,56 – 7,29 (10H, m, Bz); 5,88 (1H, d, J = 3,8; H-1); 5,47 (1H, dq, J = 6,4; 4,8; H-5); 5,15 (1H, dd, J = 8,7; 5,1; H-3); 5,00 (1H; dd, J = 4,7; 4,1; H-2); 4,43 (1H, dd, J = 8,7; 4,5; H-4); 1,57 (3H, s, CH₃-Acetonid); 1,47 (3H, d, J = 6,6; H-6); 1,33 (3H, s, CH₃-Acetonid).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 165,6 (COOR); 162,3 (COOR); 134,5; 133,3; 129,9; 129,1; 128,7; 128,3; 128,2 (2x Bz); 113,1 (qC-Acetonid); 104,3 (C-1); 79,4 (C-4); 77,7 (C-2); 73,7 (C-3); 70,0 (C-5); 26,7 (2x CH₃-Acetonid); 16,3 (C-6).

6-Deoxy-3,5-O-dibenzoyl-D-allofuranose **51**

$C_{20}H_{20}O_7$

M = 372,38



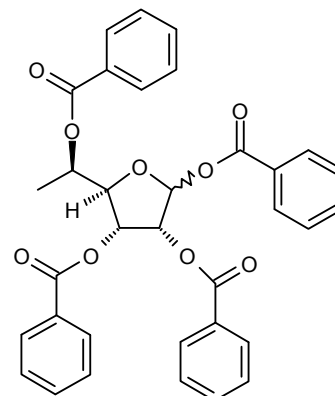
6-Deoxy-3,5-O-benzoyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **50** (650 mg, 1,58 mMol) wird in einer Mischung aus Acetonitril und 2N HCl gelöst und unter ständigem Rühren unter Rückfluss auf 55° C erwärmt. Nach 1 Stunde entsteht nach DC-Kontrolle ein neues Produkt. Die Mischung wird mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung neutralisiert. Acetonitril wird am Rotavapor, bei 40° C/100 mbar, abgedampft. Der Rückstand wird mit 30 mL Dichlormethan versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase nochmals mit 30 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 550 mg 6-Deoxy-3,5-O-D-dibenzoylallofuranose als gelbes Öl.

DC: Petrolether/MTBE 1:1 R_f = 0,36

6-Deoxy-1,2,3,5-O-tetrabenzoyl-D-allofuranose **52**

$C_{34}H_{28}O_9$

$M = 580,60$



6-Deoxy-3,5-O-dibenzoyl-D-allofuranose **51** (400 mg, 1,07 mMol) wird mit DMAP vermengt und in einer Mischung aus 1 mL Dichlormethan und 0,2 mL Pyridin gelöst. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. Unter ständigem Rühren wird 0,25 mL (2,14 mMol) Benzoylchlorid zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 2 Stunden bei 5° C gerührt. Nach Ende der Reaktion wird das Reaktionsgemisch mit 10 mL Dichlormethan verdünnt. Die Mischung wird mit je 2 mL H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden nochmals mit je 10 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 592 mg 6-Deoxy-1,2,3,5-O-tetrabenzoyl-D-allofuranose als gelbes Öl (95%). α zu β -Isomer 42 : 58 ratio.

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; $R_f = 0,75$

$\alpha = \prime$; $\beta = *$

¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 8,12 – 7,78 (8H, m, Bz-2,6); 7,66 – 7,20 (12H, m, Bz-3,4,5); 6,86 (0,42H, d, J = 4,4; H-1 $\prime$); 6,67 (0,58 H, s, H-1*); 6,15 (0,42 H, dd, J = 6,4; 2,0; H-3 $\prime$); 6,08 (0,58 H, dd, J = 6,7; 4,9; H-3*); 5,97 (0,58 H, dd, J = 4,9; 0,7; H-2*); 5,72 (0,42 H, dd, J = 6,4; 4,5; H-2 $\prime$); 5,55 – 5,50 (1H, m, H-5 $\prime$,5*); 4,74 (1H, m, H-4 $\prime$,4*); 1,58 (1,26 H, d, J = 6,6; H-6 $\prime$); 1,50 (1,74 H, d, J = 6,4; H-6*).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 165,5; 165,4; 165,4; 165,1; 165,0; 164,8; 164,7 (6x COOR); 134,5; 133,6; 133,5; 133,4; 133,2; 133,1 (6 x Bz-4); 129,8; 129,6; 129,5 (6 x Bz-2,6); 128,8 (6 x Bz-1); 128,9; 128,7; 128,6; 128,5; 128,4; 128,2 (6 x Bz-3,5); 98,9 (C-1*); 94,6 (C-1'); 86,7 (C-4'); 83,6 (C-4*); 75,2 (C-2*); 71,4 (C-3*); 71,2 (C-2'); 70,6 (C-5'); 70,4 (C-5*); 69,4 (C-3'); 16,4 (C-6'); 16,2 (C-6*).

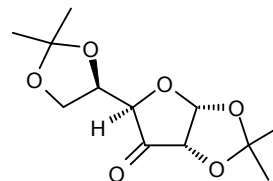
CHN:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	70,34	70,06
H	4,86	4,64
O	24,80	-
N	0.00	< 0.05

1,2;5,6-Diisopropyliden-3-oxo- α -D-ribo-hexofuranose 2

C₁₂H₁₈O₆

M = 258,27



1 (60,0 g, 0,23 Mol) wird mit 368 mg TEMPO (2,3 mMol / 0,01 EQ) vermengt und in 600 mL Dichlormethan gelöst. KBr (2,7 g, 0,023 Mol / 0,1 EQ) wird in 20 mL H₂O gelöst und zur Lösung zugegeben. 0,7 M NaOCl-Lösung wird mit NaHCO₃ auf pH = 9 eingestellt. Die Kontrolle des pH-Wertes erfolgt mit pH-Papier. Die Mischung wird am Eis/Wasserbad auf 0 – 5° C gekühlt. 430 mL NaOCl-Lösung (0,3 Mol / 1,3 EQ) wird langsam unter ständigem Rühren zugetropft, wobei die Innentemperatur auf bis zu 10° C ansteigt. Die organische Phase verfärbt sich bei Zugabe der NaOCl-Lösung dunkelorange und entfärbt sich nach 5 Minuten. Nach Ende der Zugabe zeigt die DC-Kontrolle vollständige Umsetzung des Edukts. Die Reaktionsmischung wird langsam auf Raumtemperatur gebracht und 15 Minuten gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase wird nochmals mit 300 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit je 100 mL H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 48,1 g 1,2;5,6-Diisopropyliden-3-oxo-D-ribohexofuranose als gelbes Öl (81 %).

DC: Dichlormethan / Ethylacetat 1:1; R_f = 0,53

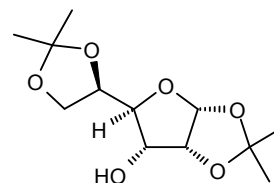
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 6,15 (1H, d, J = 4,6; H-1); 4,40 – 4,36 (3H, m, H-2,4,5); 4,05 (2H, d, J = 6,4, H-6) 1,46 (3H, s, CH₃-Acetonid); 1,44 (3H, s, CH₃-Acetonid); 1,32 (6H, s, 2 x CH₃-Acetonid).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 209,3 (C-3); 114,7; 110,8 (2 x qC-Acetonid); 103,5 (C1); 79,3 (C4); 77,7 (C2); 76,78 (C5); 65,7 (C6); 28,0; 27,6; 26,4; 25,7 (4 x CH₃-Acetonid).

1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose **3**

C₁₂H₂₀O₆

M = 260,29



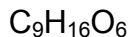
Das Keton **2** (10,4 g, 0,04 Mol) wird bei Raumtemperatur in 100 mL Isopropanol bei Raumtemperatur gelöst. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gebracht. NaBH₄ (605 mg, 16,2 mMol / 0,4 EQ) wird portionsweise zugegeben, wobei die Innentemperatur 10° C nicht überschreitet. Man beobachtet eine leichte Gasentwicklung. Nach vollständiger Zugabe des Reagens wird die Lösung noch 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Umsetzung des Edukts wird mit DC beobachtet. Nach Ende der Reaktion wird die Mischung auf 5° C am Eis/Wasserbad gekühlt. 50 ml H₂O werden langsam zugetropft. Die Innentemperatur steigt bis auf 10° C. Das Reaktionsgemisch wird mit 200 mL Dichlormethan verdünnt. Die wässrige Phase wird abgetrennt. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 9,5 g 1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose als gelblichen Feststoff (91%).

DC: Dichlormethan / Methanol = 20 : 1; R_f = 0,5

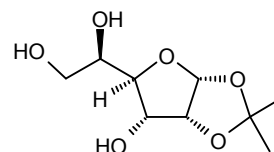
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 5,74 (1H, d, J = 3,8; H-1); 4,55 (1 H, t, J = 4,4; H-2); 4,25 (1H, m; H-5); 4,3 (3H, m, H-4,6); 3,79 (1H, dd, J = 8,4; 4,6; H-3); 2,58 (1H, s, OH); 1,51; 1,40; 1,32 (12H, s, 4 x CH₃).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 112,7; 109,7 (2 x qC-Acetonid); 103,8 (C1); 79,6 (C4); 78,9 (C2); 75,5 (C3); 72,4 (C5); 65,7 (C6); 26,5; 26,4; 26,2; 25,2 (4 x CH₃-Acetonid).

1,2-Isopropyliden-D-allofuranose **17**



$$M = 220,22$$



Diacetonid **3** (10,0 g, 0,038 Mol) wird in einer Mischung aus 12,8 mL Essigsäure, 5,4 mL Ameisensäure und 4 mL H₂O gelöst und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung verfärbt sich gelb und wird zunehmend viskoser. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird zur Lösung unter ständigem Rühren 270 mL MTBE zugegeben. Nach Zugabe des Lösungsmittels wird die Mischung auf – 20° C gebracht und 10 Stunden zum Auskristallisieren stehen gelassen. Es entsteht ein weißer Feststoff. Das Lösungsmittel wird abgenutscht, der Feststoff noch 2 Mal mit je 40 mL kaltem MTBE nachgewaschen. Der Rückstand wird am Rotavapor getrocknet. Man erhält 18,2 g 1,2-Isopropyliden-D-allofuranose als kleine weiße Kristalle (77%).

DC: Dichlormethan / Methanol = 9:1; R_f = 0,6

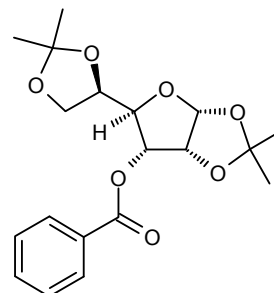
¹H NMR (200 MHz / D₂O) δ = 5,87 (1H, d, J = 3,7; H-1); 4,72 (1H, d, J = 4,1; H-2); 4,20 (1H, dd, J = 9,0; 4,5; H-3); 4,00 (2H, m, H-4, 5); 3,70 (2H, m, 2 x H-6); 1,56 und 1,38 (2 x CH₃ Acetonid).

¹³C NMR (50 MHz / D₂O) δ = 113,8 (qC-Acetonid); 104,0 (C-1); 79,9 (C-4); 79,8 (C-2); 71,1 (C-5); 70,2 (C-3); 62,4 (C-6); 25,9 und 25,7 (2 x CH₃ ;Acetonid).

1,2;5,6-O-Diisopropyliden-3-benzoyl-D-allofuranose **4**

C₁₉H₂₄O₇

M = 364,40



1,2;5,6-Diisopropyliden-D-allofuranose **3** (12,20 g, 46,9 mMol) wird mit DMAP (570 mg, 4,7 mMol / 0,1 EQ) in einer Mischung aus 70 mL Dichlormethan und 30 mL Pyridin bei Raumtemperatur gelöst. Benzoylchlorid (5,8 mL, 50,3 mMol / 1,07 EQ) wird bei Raumtemperatur langsam zugetropft. Nach vollständiger Zugabe des Reagenz wird eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. DC – Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Die Reaktion wird mit 20 mL MeOH gequenchet. Das Reaktionsgemisch wird mit 40 mL H₂O gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedunstet. Es entsteht 16,06 g 1,2;5,6-O-Diisopropyliden-3-benzoyl-D-allofuranose als gelbes Öl. (94%).

DC: Petrolether / MTBE 1:1; R_f = 0,33.

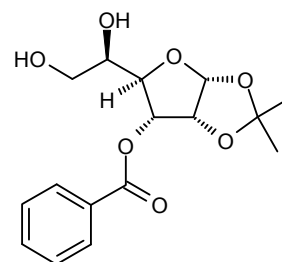
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 8,08 (2H, m, Bz-2,6); 7,63 – 7,46 (3H, m, Bz-3,4,5); 5,91 (1H, d, J = 3,8; H-1); 5,11 (1H, dd, J = 5,0; 2,8; H-3); 4,98 (1H, dd, J = 5,1; 3,9; H-2); 4,36 (2H, m, H-4,5); 3,97 (2H, m, H-6); 1,55; 1,41; 1,33 (12H, s, 4x CH₃-Acetonid).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 133,3 (Bz-4); 129,8 (Bz-3,5); 129,4 (Bz-1); 128,4 (Bz-2,6); 113,1; 110,0 (2x qC-Acetonid); 104,3 (C-1); 77,9 (C-2); 77,9 (C-3); 77,8 (C-4); 75,2 (C-2); 73,2 (C-5); 65,7 (C-6); 26,8; 26,7; 26,3; 25,0 (4x CH₃-Acetonid).

3-Benzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose **5**

$C_{16}H_{20}O_7$

M = 324,33



Monobenzoat **4** (16,06 g, 44,1 mMol) wird in einer Mischung aus 120 mL Eisessig, 50 mL Ameisensäure und 35 mL H₂O aufgenommen und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach einer Stunde kann nach DC-Kontrolle kein Edukt mehr detektiert werden. Die Säure wird am Rotavapor bei 50° C Wasserbadtemperatur abgedampft. Der Rückstand wird 3 Mal mit je 30 mL H₂O versetzt und wieder abrotiert. Der Rückstand wird in 30 mL Dichlormethan gelöst und 2 Mal mit je 10 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden nochmal mit je 10 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingeeengt. Der Rückstand wird in 20 mL 50°C warmem Ethylacetat gelöst und mit 20 mL n-Hexan bei 0°C über 12 Stunden gefällt. Die weißen Kristalle werden abgenutscht und am Rotavapor getrocknet. Das Filtrat wird nochmal mit 20 mL n-Hexan versetzt und 12 Stunden bei 0°C stehen gelassen. Es fällt eine weitere Fraktion von weißen Kristallen aus. Die Kristalle werden abgenutscht und am Rotavapor getrocknet. Man erhält 8,04 g 3-Benzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose in Form von weißen Kristallen (56%).

DC : Dichlormethan : Methanol = 9:1; R_f = 0,30

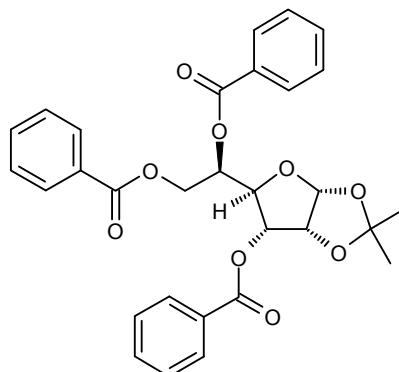
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,99 (2H, m, Bz-2,6); 7,51 – 7,20 (3H, m, Bz-3,4,5); 5,81 (1H, d, J = 3,6; H-1); 5,05 (1H, dd, J = 8,7; 5,1; H-3); 4,89 (1H, dd, J = 4,6; 4,1; H-2); 4,27 (1H; dd, J = 8,7; 3,5; H-4); 4,02 (1H, m, H-5); 3,65 (2H; m, H-6); 2,72 (2H, s, 2 x OH); 1,47; 1,24 (2 x 3H, s, 2 x CH₃-Acetonid).

^{13}C NMR (50 MHz / CDCl_3) δ = 165,8 (COOR); 133,4 (Bz-4); 129,8 (Bz-2,6); 129,2 (Bz-1); 128,5 (Bz-3,5); 113,2 (qC-Acetonid); 104,2 (C-1); 78,3 (C-2); 77,8 (C-4); 72,1 (C-5); 71,2 (C-3); 62,8 (C-6); 26,6 (2 x CH_3 -Acetonid).

3,5,6-O-Tribenzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose **6**

$C_{30}H_{28}O_9$

M = 532,55



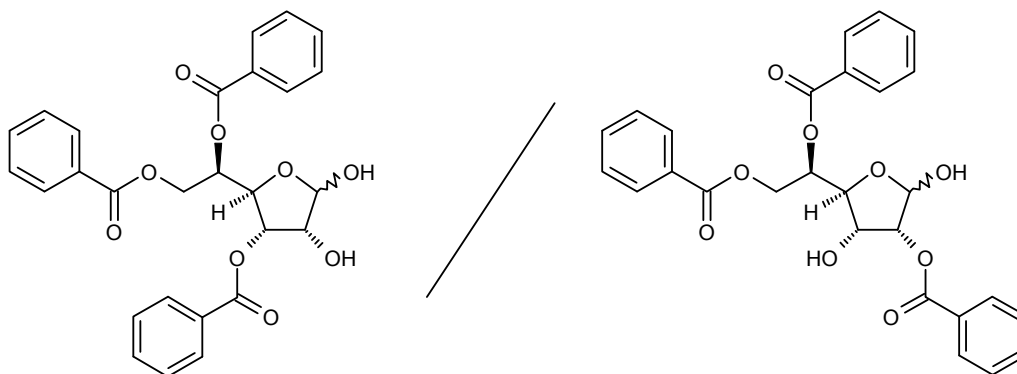
Monobenzoat **5** (8,04 g 24,8 mMol) wird mit DMAP (80 mg, 0,7 mMol / 0,03 EQ) vermengt und in einer Mischung aus 60 mL Dichlormethan und 30 mL Pyridin gelöst. Nach Zugabe von Benzoylchlorid (6,6 mL, 57,1 mMol / 2,3 EQ) wird das Reaktionsgemisch 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. DC-Kontrolle zeigt vollständige Umsetzung des Edukts. Nach Zugabe von 20 mL MeOH wird 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. 20 mL H₂O werden langsam zur Lösung zugetropft. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und eingedampft. Der Rückstand wird in 60 mL Dichlormethan aufgenommen und 2 Mal mit je 30 mL 2M H₂SO₄ gewaschen. Die organische Phase wird 2 Mal mit je 20 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 12,2 g 3,5,6-O-Tribenzoyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose als gelben Feststoff (92%).

DC: Dichlormethan; R_f = 0,5

¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,83 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,35 – 7,21 (9H, m, 3 x Bz-3,4,5) 5,84 (1H, d, J = 3,7; H-1); 5,72 (1H, dt, J = 4,4; 4,2; H-5); 5,09 (1H, dd, J = 8,9; 4,9; H-3); 4,95 (1H, dd, J = 4,4; 4,2; H-4); 4,60 – 4,56 (3H, m, H-3; H-6); 1,49; 1,25 (2x CH₃-Acetonid).

^{13}C NMR (50 MHz / CDCl_3) δ = 165,5 (COOR); 133,2 (Bz-4); 129,6 (Bz-2,6); 128,4 (Bz-1); 128,2 (Bz-3,5); 113,4 (qC-Acetonid); 104,3 (C-1); 76,0; 74,2; 71,1 (C-4; C-3; C-5); 63,2 (C-6); 26,7 (2x CH_3).

3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose **7** / 2,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose **8**



$C_{27}H_{24}O_9$

M= 492,49

Das Edukt **6** (5,88 g, 11,04 mMol) wird in einer Mischung aus 5 mL 2M HCl und 55 mL Acetonitril gelöst und 3 Stunden unter Rückfluss gerührt. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Das Reaktionsgemisch wird mit 10 mL gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gequenchet. Das organische Lösungsmittel wird am Rotavapor bei 50°C eingedampft. Der wässrige Rückstand wird in 100 mL Dichlormethan aufgenommen und extrahiert. Die organische Phase wird 2 Mal mit je 40 mL H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Man erhält einen rötlichen Feststoff. Durch Reinigung durch Vakuumflashchromatographie an 150 g Kieselgel mit Dichlormethan:Ethylacetat 7:1 $\rightarrow$ 1:1, trennt man die beiden Regioisomere **7** und **8**.

Man erhält 2,94 g der beiden Anomeren des in Position 2 substituierten Zuckers **8** im Verhältnis $\alpha : \beta = 55:45$ als weiße Kristalle.

Aus den letzten Fraktion erhält man 1,96 g der beiden Anomere des an 3 substituierten Derivats **7** im Verhältnis $\alpha : \beta = 33 : 67$.

DC: Dichlormethan : Ethylacetat = 3 : 1; R_{f8} = 0,49; R_{f7} = 0,18

2,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose (**8**):

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz / CDCl_3) δ = 8,12 – 7,93 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,57 – 7,33 (9H, m, Bz-3,4,5); 5,81 (0,55 H; qd, J = 5,8; 3,5; H-5*); 5,62 (0,43, d, J = 4,1; H-1'); 5,57 (0,43H; td, J = 3,9; 5,8; H-5'); 5,50 (0,55H; s, H-1*); 5,35 (0,55H, d, J = 4,8; H-2*); 5,12 (0,43H; dd, J = 5,5; 4,3; H-2'); 4,97 (0,55H; dd, J = 7,4; 4,9; H-3*); 4,78 – 4,63 (4,86H, m, H-3',4',6',6*); 4,37 (0,55H, dd, J = 7,4; 5,5; H-4*).

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz / CDCl_3) δ = 166,5; 166,3; 166,2 (3x COOR); 133,5 (3x Bz-4); 129,8 (3x Bz-2,6); 129,2 (3x Bz-1); 128,5 (3x Bz-3,5); 99,9 (C-1*); 95,7 (C-1'); 83,2 (C-4'); 81,1 (C-4*); 78,0 (C-2*); 73,1 (C-5'); 72,4 (C-5*); 71,5 (C-3*); 71,3 (C-2'); 70,1 (C-3'); 63,4 (C-6*); 63,1 (C-6').

3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranose (**7**):

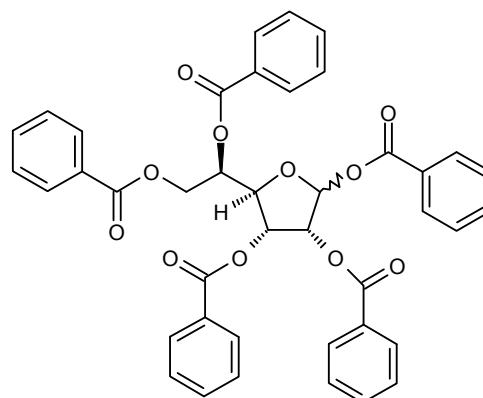
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz / CDCl_3) δ = 8,13 – 7,93 (6H, m, 3x Bz-2,6); 7,79 (3H, m, 3x Bz-4); 7,58 (6H, m, 3x Bz-3,5); 5,77 (1,2H; m, H-3*;5',5*); 5,61 (0,7H; m, H-3'); 5,49; 5,35 (1H; m, H-1';1*); 4,85 – 4,82 (3,3H; m, H-6'/*; H-4'/*; H-2*); 4,81 (0,7H; bs, H-2'); 4,14 (0,7H, bs, OH); 3,94 (0,3H; bs, OH).

$^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz / CDCl_3) δ = 166,3; 166,2; 165,8; 165,7; 165,6 (3x COOR); 133,4; 133,1 (Bz-4); 129,8; 129,7 (Bz-2,6); 129,4; 129,3; 129,2; 129,0 (Bz-1); 128,8; 128,5; 128,4; 128,3 (Bz-3,5); 102,4 (C-1*); 95,9 (C-1'); 79,8 (C-4'); 78,6 (C-4*); 75,1 (C-5*); 74,8 (C-2*); 72,5 (C-3*); 72,2 (C-3'); 71,4 (C-5'); 70,8 (C-2'); 63,3 (C-6*); 63,1 (C-6').

1,2,3,5,6-O-Pentabenzoyl-D-allofuranose **14**

$C_{41}H_{32}O_{11}$

$M = 700,71$



Die Mischung der beiden Regioisomere (50g, 0,1 Mol) **7** und **8** wird in einer Mischung aus 350 mL Dichlormethan und 20 mL Pyridin (0,24 Mol) gelöst und am Eis/Wasserbad auf 5°C gekühlt. Über eine Dauer von 10 Minuten wird tropfenweise Benzoylchlorid (23 mL, 0,2 Mol / 2 EQ) zugegeben. Die Lösung wird 2 Stunden lang gerührt und langsam auf Raumtemperatur gebracht. Nach 4 Stunden ist die Reaktion beendet. Die Lösung wird am Rotavapor eingeeengt und der Rückstand in 200 mL MTBE aufgenommen. Die Lösung wird nacheinander mit je 50 mL 2M HCl, H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 68,3g 1,2,3,5,6-O-Pentabenzoyl-D-allofuranose in einem Anomerenverhältnis $\alpha : \beta = 73:27$; als braunes Öl (96%)

DC: Dichlormethan : Methanol = 20 : 1; $R_f=0,65$

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 8,19 – 7,19 (25H, m, 5x Bz); 6,87 (0,27H, d, J = 4,4; H-1'); 6,69 (0,73H; s, H-1*); 6,20 (0,27H, dd, J = 6,3; 2,2; H-3'); 6,19 (0,73H, dd, J = 6,9; 5,0; H-3*); 5,97 (0,73H, d, J = 5,0; H-2*); 5,85 (1H, m, H-5',5*); 5,70 (0,27H, dd, J = 6,5; 4,6); 4,99 (0,27H, dd, J = 3,3; 2,4; H-4'); 4,93 (0,73H, t, J = 6,3; H-4*); 4,81 (1,27H, m, H-6'_{a/b},6*_a); 4,61 (0,73H, dd, J = 12,0; 6,0; H-6'_b).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 165,9; 165,3; 165,1; 165,0; 164,6 (5x COOR); 133,6; 133,5; 133,3; 133,2; 133,1 (5x Bz-4); 129,9; 129,7; (5x Bz-3,5); 129,1; 128,7 (5x Bz-1); 128,6; 128,5; 128,3 (5x Bz-2,6); 99,1 (C-1*); 94,3 (C-1'); 83,7 (C-4'); 80,5 (C-4*); 75,2 (C-2*); 71,9 (C-3*); 71,6 (C-5*); 71,3 (C-2';C-5'); 68,1 (C-3'); 62,9 (C-6'; C-6*).

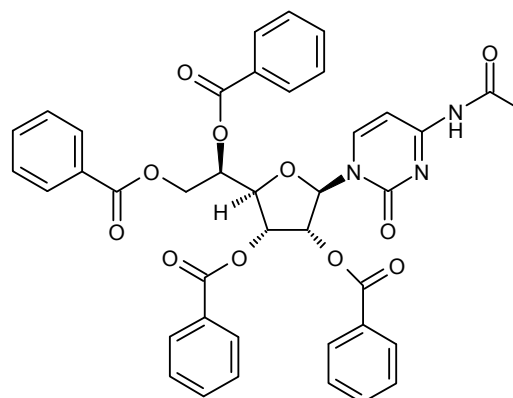
CHN:

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	70,28	70,06
H	4,60	4,64
O	25,12	25,3
N	0,00	< 0,05

1-[2,3,5,6-O-Tetrabenzoyl-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **15**

C₄₀H₃₃N₃O₁₁

M = 731,72



Acetylcytosin (5,65g, 36,90 mMol / 1,1 EQ) wird in 100 mL trockenem 1,2-Dichlorethan suspendiert. Unter Argonatmosphäre und ständigem Rühren wird Bistrimethylsilylacetamid (25,0 mL, 100,79 mMol / 3 EQ) tropfenweise zugegeben. Die Suspension wird bei 70°C gerührt. Nach 1 Stunde klärt sich die Suspension zu einer gelblichen Lösung. Die Mischung wird auf Raumtemperatur gekühlt. Perbenzoat **14** (23,6 g, 33,60 mMol), in 200 mL Dichlormethan gelöst, wird zugegeben. Die Mischung wird auf 80°C erwärmt. 8 mL Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilyl-ester wird unter Argonatmosphäre zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 16 Stunden lang unter Reflux bei 80°C gerührt. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Die Reaktionsmischung wird mit 100 mL Dichlormethan verdünnt. Die Lösung wird mit 100 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 23,90 g als braunes Öl. Der Rückstand wird an 200g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie aufgereinigt. (LM: Dichlormethan : Methanol = 9:1). Nach Reinigung erhält man 18,00 g 1-[2,3,5,6-O-Tetrabenzoyl-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin als gelbes Schaumharz.

DC: Dichlormethan : Methanol = 9 : 1; R_f = 0,40

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 9,79 (1H, bs, NH); 8,08 – 7,88 (8H, m, 4x Bz-2,6); 7,64 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,59 – 7,16 (13H, m, 4 x Bz-3,4,5,H-5); 6,30 (1H; d, J = 4,7; H-1'); 6,15 (1H, t, J = 5,7; H-3'); 5,98 (1H, q, J = 4,9; H-5'); 5,83 (1H, t, J = 5,4; H-2'); 4,87 (2H, m, H-6'a, H-4'); 4,69 (1H, dd, J = 12,3; 6,0; H-6'b); 2,19 (3H, s, CH₃).

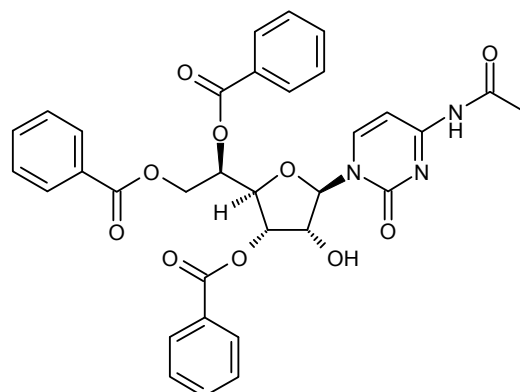
¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 170,8 (N-C=O); 166,0; 165,4; 165,2; 165,0; (4x COOR); 163,2 (C-4); 154,8 (C-2); 144,6 (C-6); 133,7; 133,6; 133,5; 133,2 (4x Bz-4); 129,8; 129,7; 129,3 (4x Bz-2,6); 128,9; 128,7; 128,5 (4x Bz-1); 128,4 (4x Bz-3,5); 97,5 (C-5); 90,2 (C-1'); 81,1 (C-4'); 74,3 (C-2'); 71,3 (C-5'); 71,2 (C-3'); 62,7 (C-6'); 24,9 (CH₃).

Element	Berechnet w-%	Gefunden w-%
C	65.66	65,81
H	4.55	4,64
O	24.05	-
N	5.74	5,54

1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **12**

C₃₃H₂₉N₃O₁₀

M = 627,61



1-[2,3,5,6-O-Tetrabenzoyl-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **15** (6,6 g, 9,0 mMol) wird in 120 mL Dichlormethan bei Raumtemperatur gelöst und am Aceton / Trockeneisbad auf -20° C gekühlt und gerührt. Portionsweise wird über einen Zeitraum von 5 Minuten Kalium-tert-butylat (5,0 g, 44,6 mMol / 5 EQ) zugegeben. Die Mischung wird bei -20° C 30 Minuten lang gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Reaktion mit 20 mL stark saurem Ionentauscher (H⁺-Form) gequencht. Die Mischung wird langsam auf Raumtemperatur gebracht. Das Ionentauscherharz wird abgenutscht und 2 Mal mit je 30 mL Aceton und 30 mL Methanol nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird in 200 mL Ethylacetat aufgenommen und mit 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 200 g Kieselgel gereinigt. Man erhält 4,2 g 1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als weiße Kristalle (75%). (LM Dichlormethan : Methanol = 97 : 3).

DC: Dichlormethan : Methanol 20 : 1; R_f = 0,36

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 9,79 (1H, bs, NH); 8,00 – 7,93 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,85 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,59 (3H, m, 3 x Bz-4); 7,33 (6H, m, 3 x Bz-3,5); 7,26 (1H, d, J = 7,9; H-5); 6,07 (1H, dd, J = 10,7; 4,4; H-5'); 5,91 (1H, d, J = 4,7; H-1'); 5,68 (1H, t, J = 5,2; H-3'); 4,85 – 4,81 (2H, m, H-4',6'a); 4,69 (2H, m, H-2',6'b); 2,22 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 170,6 (N-C=O); 166,0; 165,5; 165,4 (3x Bz-COOR); 162,7 (C-4); 156,0 (C-2); 143,9 (C-6); 133,8; 133,4; 133,3 (Bz-4); 129,8; 129,7 (3x Bz-2,6); 129,2; 128,9; 128,7 (3x Bz-1); 128,9; 128,6; 128,4 (3x Bz-3,5); 97,1 (C-5); 93,0 (C-1'); 81,7 (C-4'); 74,7 (C-2'); 72,7 (C-3'); 70,9 (C-5'); 62,8 (C-6'); 24,8 (CH₃).

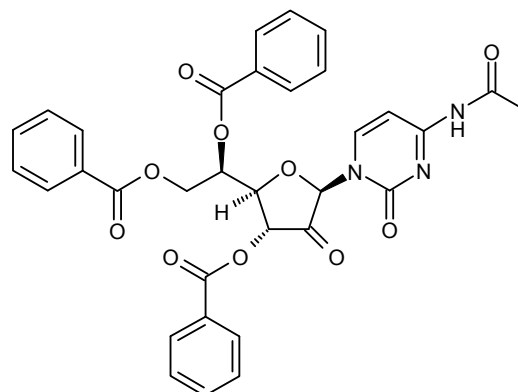
CHN:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	63,15	62,79
H	4,66	4,73
O	25,49	25,88
N	6,70	6,60

1-[2-Oxo-3,5,6-O-Tribenzoyl-β-D-ribohexofuranosyl]-*N*-acetylcytosin **13**

C₃₃H₂₇N₃O₁₀

M = 625,61



12 (500 mg, 0,79 mMol) wird in 5 mL Dichlormethan gelöst und 20 mg TEMPO wird zugefügt. 10 mg KBr wird in 1 mL H₂O gelöst und zugetropft. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. 5 mL 0,7M NaOCl-Lösung (3,5 mMol / 4,4 EQ) wird mit NaHCO₃ auf pH = 9 eingestellt und langsam zur Lösung zugetropft. Die Lösung verfärbt sich rotbraun und entfärbt sich innerhalb von 5 Minuten wieder. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Nach Ende der Reaktion wird noch 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wird abgetrennt. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird an 15 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM: Dichlormethan : Methanol 97 : 3). Man erhält 405 mg 1-[2-Oxo-3,5,6-O-Tribenzoyl-β-D-ribohexofuranosyl]-*N*-acetylcytosin als gelbes Schaumharz. (81%).

DC: Dichlormethan : Methanol= 20 : 1; R_f= 0,40

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 10,30 (1H, bs, NH); 8,04 – 7,91 (6H, m, 3x Bz-2,6); 7,72 (1H, d, J = 7,3; H-6); 7,61 – 7,16 (10H, m, 3 x Bz-4,3,5, H-5); 5,95 (1H, m, H-5'); 5,65 (1H, s, H-1'); 5,52 (1H, d, J = 6,0; H-3'); 4,86 (1H, dd, J = 9,8; 2,9; H-6'a); 4,79 (1H, t, J = 7,6; H-4'); 4,64 (1H, dd, J = 7,6; 5,1; H-6'b); 2,28 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 199,3 (C-2'); 171,3 (N-C=O); 166,0; 165,9; 165,3 (3 x Bz-COOR); 164,7 (C-4); 154,8 (C-2); 148,5 (C-6); 134,1; 133,3; 133,1 (3 x Bz-4); 130,1; 129,9; 129,6 (3x Bz-2,6); 129,5; 129,4; 128,6 (3 x Bz-1); 128,6; 128,4; 128,2 (3 x Bz-3,5); 98,0 (C-5); 87,5 (C-1'); 78,7 (C-4'); 73,7 (C-3'); 72,2 (C-5'); 62,6 (C-6'); 25,0 (CH_3).

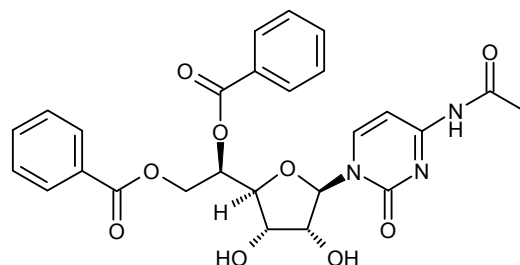
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	63.36	62,79
H	4.35	4,73
O	25.57	-
N	6.72	6,60

1-[5,6-O-Dibenzoyl-β-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **54**

$C_{26}H_{25}N_3O_9$

$M = 523,50$



1-[2,3,5,6-O-Tetrabenzoyl-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **15** (130 mg, 0,18 mMol) wird in 5 mL Dichlormethan gelöst und am Aceton / Trockeneisbad auf -20°C gekühlt. Unter ständigem Rühren wird Kalium-tert-butylat (150 mg 1,35 mMol / 7,5 EQ) zugegeben. Das Reagens löst sich nicht vollständig auf. Nach 1 Stunde bei -20°C ist nach DC das Edukt völlig umgesetzt. Die Reaktion wird mit 5 mL stark saurem Ionentauscherharz (H⁺-Form) gequencht. Die Mischung wird 30 Minuten gerührt und auf Raumtemperatur gebracht. Bei Raumtemperatur wird 30 weitere Minuten gerührt. Das Harz wird abgenutscht, die Lösung wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 3 g Kieselgel gereinigt. (LM: DCM : MeOH = 97 : 3). Man erhält 68 mg 1-[5,6-O-Dibenzoyl-β-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin als gelbes Schaumharz. (73%).

DC : DCM : MeOH = 9 : 1; R_f = 0,40

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 10,06 (1H, bs, NH); 7,98 (4H, m, 2 x Bz-2,6); 7,84 (1H, d, $J = 7,6$; H-6); 7,59 (2H, m, 2 x Bz-4); 7,46 (4H, m, 2 x Bz-3,5); 7,21 (1H, d, $J = 7,6$; H-5); 5,92 (1H, q, $J = 3,3$; H-5'); 5,81 (1H, d, $J = 4,1$; H-1'); 4,80 (1H, dd, $J = 12,1$; 3,6; H-6'a); 4,63 (1H, dd, $J = 12,0$; 6,9; H-6'b); 4,55 (2H, m, H-3',4'); 4,29 (1H, m, H-2'); 2,22 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 166,1; 165,6 (2x Bz-COOR); 162,7 (C-4); 156,1 (C-2); 144,1 (C-6); 133,8; 133,3 (2x Bz-4); 129,7 (2x Bz-2,6); 129,3; 128,9 (2x Bz-

1); 128,4; 128,3 (2x Bz-3,5); 97,1 (C-5); 92,7 (C-1'); 83,7 (C-4'); 75,9 (C-2'); 70,9 (C-5'); 70,5 (C-3'); 63,1 (C-6'); 24,8 (CH₃).

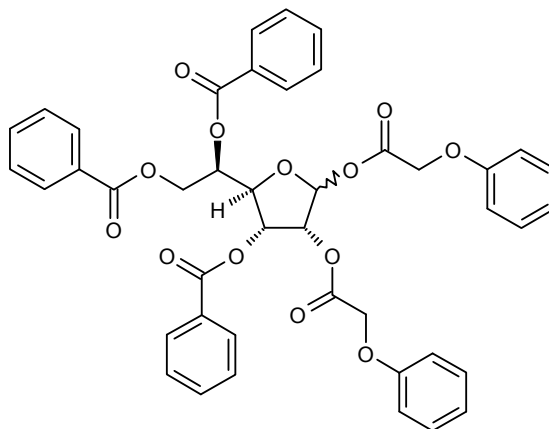
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	59.65	59,79
H	4.81	4,73
O	27.51	-
N	8.03	8,30

3,5,6-Tribenzoyl-1,2-diphenoxyacetyl-D-allofuranose **10**

$C_{43}H_{36}O_{13}$

$M = 760,76$



7 (170 mg, 0,35 mMol); wird in 2 mL Pyridin gelöst und am Eis/Wasserbad auf 0°C gekühlt. Unter ständigem Rühren wird Phenoxyacetylchlorid (117,7 mg, 0,69 mMol / 2 EQ) langsam zugetropft. Die Mischung wird 2 Stunden bei 0°C gerührt und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 1 Stunde ist die Reaktion nach DC beendet. Die Lösung wird mit 5 mL Dichlormethan verdünnt und mit je 1 mL H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird am Rotavapor eingeeengt und Pyridinreste werden 3 Mal mit je 2 mL Toluol abgeschleppt. Der Rückstand wird an 6 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt (LM: Petrolether:Ethylacetat = 3:1 → 1:1). Man erhält 234 mg 3,5,6-Tribenzoyl-1,2-diphenoxyacetyl-D-allofuranose als weißen Feststoff (89%). $\alpha : \beta = 1 : 1$.

DC: Petrolether : Ethylacetat = 3:1; $R_f = 0,37$

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 8,01 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,42 (13H, m, 3 x Bz-3,4,5; 2 x Ph-3,5); 6,60 (0,5H, d, $J = 4,4$; H-1'); 6,41 (0,5H, s, H-1*); 6,02 (0,5H; dd, $J = 6,3$; 2,2; H-3'); 5,92 (0,5H, dd, $J = 5,8$; H-3*); 5,76 (0,5H, m, H-2*); 5,57 (0,5H, dd, $J = 6,3$; 4,7; H-3'); 4,80 (0,5H, t, $J = 2,7$; H-4'); 4,71 – 4,34 (8,5H, m, H-6', 4*, 6b*, 2x CH₂).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 167,9; 167,5; 167,1; 165,3; 165,2; 165,0 (3x BzCOOR); 157,5; 157,4; 157,3 (4x Ph-COOR); 133,7; 133,5; 133,3 (Ph-2,6); 129,8; 129,7; 128,9 (3x Bz-2,6); 128,9; 128,7; 128,5 (3x Bz-1; Ph-1); 128,4; 128,3 (Bz-3,5); 121,9; 121,8; 121,7 (Ph-3,5); 98,5 (C-1*); 94,3 (C-1'); 83,8 (C-4'); 80,9 (C-4); 75,1 (C-2*); 71,3 (C-3*); 70,7 (C-2'); 69,1 (C-3'); 65,1; 64,9; 64,5; 64,4 (4x PhO-CH₂); 62,7; (C-6'); 62,6 (C-6*).

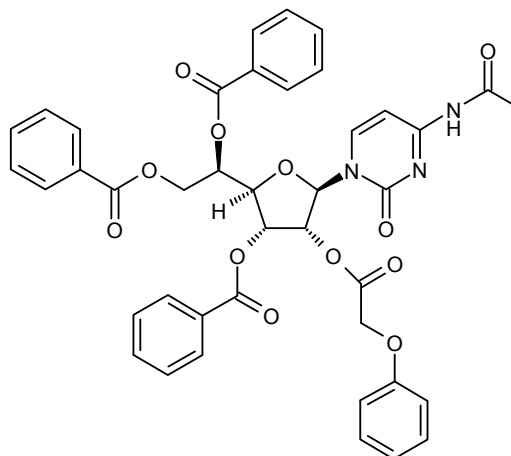
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	67,89	67,79
H	4,77	4,73
O	27,34	-
N	0,00	< 0,05

1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-2-phenoxyacetyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **11**

C₄₁H₃₅N₃O₁₂

M = 761,75



Acetylcytosin (1,07 g, 7,03 mMol / 1 EQ) wird in 80 mL Dichlorethan suspendiert. Die Suspension wird unter Reflux auf 80°C erwärmt. Bistrimethylsilylacetamid (4,40 g, 21,64 mMol / 3,1 EQ) wird tropfenweise unter ständigem Rühren zugegeben. Nach 1 Stunde klärt sich die Lösung und wird leicht gelb gefärbt. Die Lösung wird auf 50°C gebracht. 3,5,6-Tribenzoyl-1,2-diphenoxyacetyl-D-allofuranose **10** (5,35 g, 7,03 mMol) wird in 30 mL Dichlorethan gelöst und tropfenweise zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wird Trimethylsilyltrifluormethansulfonsäureester (1,86 g, 8,37 mMol) zugetropft. Die Mischung wird 16 Stunden bei 80°C gerührt. Die Lösung wird auf 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gegossen. Die wässrige Phase wird abgetrennt und mit 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden vereint, über Na₂SO₄ getrocknet abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM Dichlormethan : Methanol 20 : 1 → 9:1). Man erhält 776 mg 1-[3,5,6-O-Tribenzoyl-2-phenoxyacetyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als braunes Öl. (72%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 20:1; R_f = 0,20

¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 9,76 (1H, bs, NH); 8,13 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,58 – 6,93 (15H, m, 3 x Bz-3,4,5, Ph-2-6, H-6); 6,74 (1H, m, H-5); 6,15 (1H, d, J = 4,9; H-1'); 6,13 (1H, t, J = 5,5; H-3'); 6,02 (1H, q, J = 4,7; H-5'); 5,99 (1H, t, J = 5,4, H-2'); 4,91 – 4,43 (5H, m, Ph-CH₂, H-6', 4'); 2,21 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 170,7 (N-C=O); 167,9; 165,3; 165,2 (BzCOOR); 163,0 (C-4); 157,4 (C-2); 144,1 (C-6); 133,2 (Bz-4); 129,7 (Bz-3,5); 128,9 (Bz-1); 128,4 (Bz-2,6); 121,8 (Ph-4); 114,5 (Ph-2,6); 97,6 (C-5); 89,6 (C-1'); 81,0 (C-4'); 74,1 (C-5'); 71,1 (C-3'); 70,9 (C-2'); 64,8 (Ph-CH₂); 62,6 (C-6'); 24,8 (CH₃).

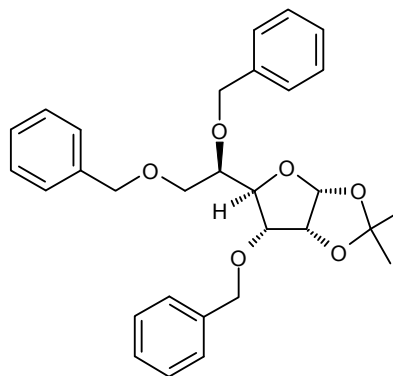
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	64.65	64,49
H	4.63	4,45
O	25.20	-
N	5.52	5,67

3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose **18**

C₃₀H₃₄O₆

M = 490,60



1,2-Isopropyliden-D-allofuranose **17** (13,0 g, 59,04 mMol) wird in einem ausgeglühten Kolben unter Argonatmosphäre in 230 mL Tetrahydrofuran suspendiert und mit 40 mL t-Butanol versetzt. Die Suspension wird am Silikonölbad auf 55°C erwärmt. Unter ständigem Rühren wird Benzylbromid (21,7 mL, 180,06 mMol / 3,05 EQ) zugetropft. Kalium-t-butylat (21,85 g, 194,72 mMol / 3,3 EQ) wird in 110 mL Tetrahydrofuran gelöst und der Mischung langsam zugetropft. Während der Zugabe kommt es zu einer Gelbfärbung und ein weißer Niederschlag fällt aus. Nach Ende der Reaktion wird 20 Minuten bei 55°C gerührt. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Die Mischung wird auf Raumtemperatur gebracht. Das Reaktionsgemisch wird mit 500 mL Petrolether verdünnt und 2 Mal mit je 200 mL H₂O gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 28,0 g 3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose als gelbes Öl (97%).

DC: Petrolether : MTBE 1:1; R_f = 0,76

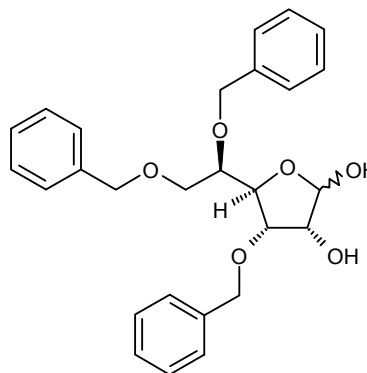
¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 7,38 (15H, m, 3 x Bn-2-6); 5,71 (1H, d, J = 3,8; H-1); 4,79 (3H, m, Bn-CH₂); 4,52 (4H, m, H-2, Bn-CH₂); 4,28 (1H, dd, J = 8,7; 2,0; H-4); 4,26 (2H, m, H-3,5); 3,65 (2H, m, H-6); 1,61; 1,37 (2 x 3H, s, 2x CH₃-Acetonid).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 138,9; 138,2; 137,6 (3x Bn-1); 128,0; 127,6; 127,3 (Bn-2-6); 112,9 (qC-Acetonid); 104,0 (C-1); 79,4 (C-4); 77,6 (C-2); 77,5 (C-5); 77,1 (C-3); 73,6; 73,2; 72,0 (Bn- CH_2); 70,3 (C-6); 26,9; 26,6 (2x CH_3 -Acetonid).

3,5,6-O-Tribenzyl-D-allofuranose **18**

$C_{27}H_{30}O_6$

M = 450,54



3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-allofuranose **18** (1,0 g, 2,04 mMol) wird in einer Mischung aus 10 mL Acetonitril und 1 mL 6M HCl gelöst. Die Lösung wird am Silikonölbad mit Rückflußkühlung auf 55°C erwärmt. Nach 3 Stunden ist das Edukt nach DC-Kontrolle umgesetzt. Die Lösung wird mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung neutralisiert. Acetonitril wird am Rotavapor abgedampft. Der wässrige Rückstand wird mit 50 mL MTBE extrahiert. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 30 g Kieselgel gereinigt. (LM: Petrolether → Petrolether / MTBE 1:1). Man erhält 700 mg 3,5,6-O-Tribenzyl-D-allofuranose (76%).

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_f = 0,08

1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,39 (15H, m, 3 x Bn-2-6); 5,21 (1H, m, H-1',1*); 4,83 – 4,47 (6H, m, 3 x Bn-CH₂); 4,36 (1H, m, H-3',3*); 4,22 (0,35H, dd, J = 5,6; 4,0; H-4*); 4,09 (1,4H, m, H-2',5'); 3,97 (0,35H, d, J = 5,3; H-2*); 3,88 (0,35H, q, J = 4,7; H-5*); 3,68 (1H, m, H-4',6*a); 3,65 (1,65H, m, H-6*b,H-6'); 3,35 (0,35H, bs, OH-1*); 2,87 (0,65, bs, OH-2'); 2,71 (0,35H, bs, OH-1').

^{13}C NMR (125 MHz / $CDCl_3$) δ = 138,1; 137,8; 137,5 (3x Bn-1); 127,9; 127,8; 127,7 (3x Bn-2-6); 102,5 (C-1*); 97,0 (C-1'); 82,1 (C-3'); 79,8 (C-4*); 78,2 (C-5*);

78,0 (C-4'); 77,9 (C-3*); 77,4 (C-5'); 74,3 (C-2*); 73,5 – 73,3 (3x Bn-CH₂); 71,3 (C-2'); 69,6 (C-6'); 69,6 (C-6*).

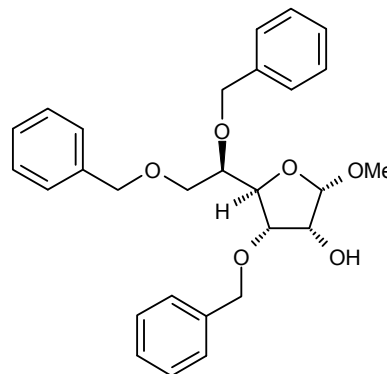
CHN-Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	71.98	72,25
H	6.71	6,48
O	21.31	-
N	0	< 0,05

1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl- α -D-allofuranose **24**

$C_{28}H_{23}O_6$

M = 464,56



3,5,6-O-Tribenzyl-D-allofuranose **18** (200 mg, 0,44 mMol) wird in 2M methanolischer HCl gelöst und 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Die Reaktion wird mit einer Spatelspitze $NaHCO_3$ gequenchet. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 180 mg 1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranose als farbloses Öl. (87%).

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_f = 0,53

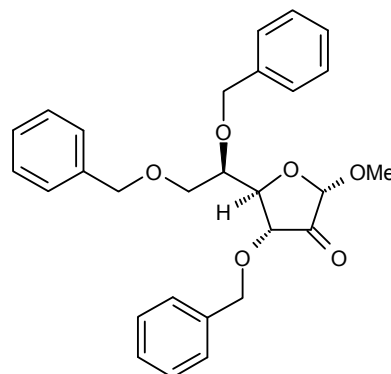
1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,43 – 7,22 (15H, m, 3x Bn-2-6); 4,87 (1H, s, H-1); 4,85 – 4,46 (6H, m, 3 x Bn- CH_2); 4,24 – 4,20 (2H, m, H-3,4); 4,02 (1H, bs, H-2); 3,81 (1H, dd, J = ; H-6a); 3,72 (2H, m, H-5,6b); 3,33 (3H, s, OMe), 2,87 (1H, bs, OH).

^{13}C NMR (125 MHz / $CDCl_3$) δ = 138,4; 138,2; 138,1 (3x Bn-1); 128,4; 128,2; 127,5 (3 x Bn-2-6); 108,9 (C-1); 81,1 (C-4); 79,5 (C-3); 79,2 (C-5); 73,8 (C-2); 72,8; 72,6; 72,4 (3 x Bn- CH_2); 70,3 (C-6); 55,4 (OMe).

1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-ribohexofuranose **25**

$C_{28}H_{30}O_6$

M = 462,55



1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranose **24** (4,0 g, 8,61 mMol) wird mit 10 mg TEMPO vermengt und in 40 mL Dichlormethan gelöst. Die Mischung wird auf 5°C am Eis/Wasserbad gekühlt und mit 20 mg KBr versetzt. 8 mL 0,7 M NaOCl-Lösung (mit $NaHCO_3$ auf pH= 9 gestellt) wird langsam zugetropft. Die Lösung färbt sich von leicht gelb auf tiefrot. Nach 1 Stunde zeigt die DC-Kontrolle kein Edukt mehr. Die Mischung wird auf Raumtemperatur erwärmt. Die organische Phase wird abgetrennt. Die wässrige Phase wird noch mal mit 40 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor abgedampft. Man erhält 3,3 g 1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-ribohexofuranose als gelbes Öl (83%),

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_f = 0,55

1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,34 (15H, m, Bn-2-6); 4,84 (1H, m, BnCH₂); 4,72 (1H, s, H-1); 4,70 – 4,48 (5H, m, Bn-CH₂); 4,33 (1H, m, H-4); 4,20 (H-3, d, J = 4,7; H-3); 3,81 (1H, q, J = 5,1; H-5); 3,68 (1H, dd, J = 6,0; 4,6; H-6a); 3,61 (1H, dd, J = 5,4; 5,0); 3,38 (3H, s, OMe).

^{13}C NMR (125 MHz / $CDCl_3$) δ = 206,8 (C-2); 137,9; 137,8; 136,8 (3x Bn-1); 127,8; 127,7; 127,5 (Bn-2-6); 98,5 (C-1); 79,5 (C-4); 78,1 (C-5); 75,2 (C-3); 73,2; 72,9; 72,1 (Bn-CH₂); 68,9 (C-6); 56,1 (OMe).

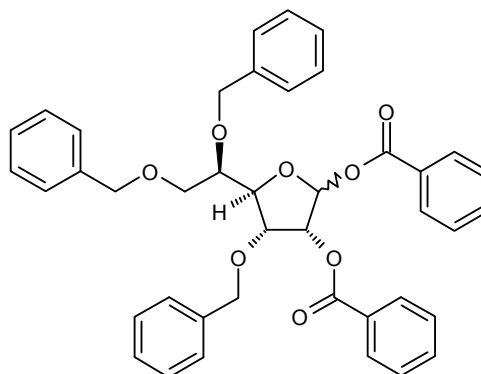
CHN-Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	72.71	72,55
H	6.54	6,48
O	20.75	-
N	0	< 0,05

1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranose **20**

$C_{41}H_{38}O_8$

$M = 658,76$



3,5,6-O-Tribenzyl-D-allofuranose **18** (22,35 g, 49,62 mMol) wird in einer Mischung aus 200 mL Dichlormethan und 16 mL Pyridin gelöst und am Eis/Wasserbad auf 0°C gekühlt. Unter ständigem Rühren wird tropfenweise Benzoylchlorid (12 ml, 0,10 Mol) zugesetzt. Die Reaktion wird mit DC-Kontrolle überwacht. Nach Ende der Reaktion wird die Lösung mit 40 mL 2M HCl gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt und mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung ausgeschüttelt. Nach Abtrennen der wässrigen Phase wird die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Man erhält 30,72 g 1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranose als gelbes Öl (94%). Das Anomerenverhältnis $\alpha : \beta = 20 : 80$.

DC: Petrolether : MTBE = 1 : 1; $R_f = 0,82$

$\alpha = *$; $\beta = '$

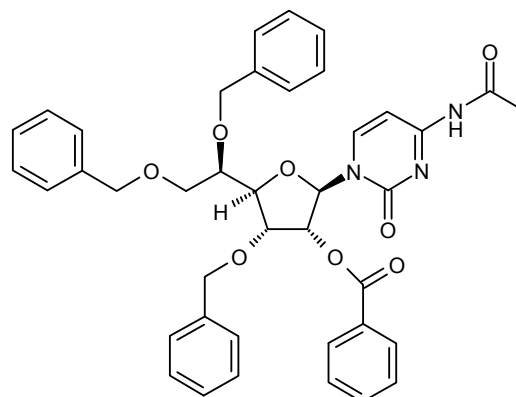
1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) $\delta = 8,20 - 7,97$ (4H, m, 2x Bz-2,6); 7,68 – 7,19 (21H, m, Bz-3,4,5; Bn-2-6); 6,85 (0,2H, d, $J = 4,4$; H-1*); 6,64 (0,8H, s, H-1'); 5,79 (0,8H, d, $J = 4,4$; H-2'); 5,56 (0,2H, dd, $J = 4,4$; 4,1; H-2*); 4,81 – 4,51 (8H, m, H-3',3*,4',4*, 3x BnCH₂); 4,07 (0,8H, q, $J = 4,4$; H-5'); 3,91 (0,2H, m, H-5*); 3,76 (2H, m, H-6',6*).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 166,6; 165,5; 165,4; 164,8 (BzCOOR); 138,4; 138,2; 138,1 (Bn-1); 133,4 (Bz-4); 130,0; 129,9; 129,8; 129,7 (Bz-2,6); 129,3 (Bz-1); 128,5 – 127,3 (Bn-2-6; Bz-3,5); 99,2 (C-1'); 94,8 (C-1*); 86,4 (C-4*); 82,6 (C-4'); 77,9 (C-5*); 77,6 (C-5'); 76,6 (C-3'); 75,0 (C-3*); 74,7 (C-2'); 73,5 – 73,1 (3 x Bn-CH₂); 73,2 (C-2*); 69,9 (C-6'); 69,6 (C-6*).

1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetylcytosin **21**

C₄₀H₃₉N₃O₈

M = 689,77



Acetylcytosin (1,95 g, 26,6 mMol / 2,5 EQ) wird in 50 ml Acetonitril suspendiert. Unter Argonatmosphäre und ständigem Rühren wird 6,6 mL Bistrimethylsilylacetamid (12,8 mMol / 1,2 EQ) tropfenweise zugegeben. Die Suspension wird bei 80°C refluxiert. Nach 1 Stunde klärt sich die Suspension zu einer gelblichen Lösung. Die Mischung wird auf Raumtemperatur gekühlt. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft, es entsteht ein weißer Feststoff. Nach Eindampfen wird der Kolben mit Argon belüftet. Perbenzoat **20** (7,0 g ; 10,6 mMol), gelöst in 200 mL Acetonitril, wird zugegeben. Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilyl-ester (30 mL, 0,17 Mol) wird unter Argonatmosphäre zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 16 Stunden lang unter Reflux bei 80°C gerührt. DC-Kontrolle zeigt die vollständige Umsetzung des Edukts. Die Reaktionsmischung wird mit 700 ml MTBE verdünnt. Die Lösung wird mit 700 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. 200 ml gesättigte NaCl-Lösung wird zur Verbesserung der Phasentrennung zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abgenutscht und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird an 200g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie aufgereinigt. (LM: Dichlormethan : Methanol = 9:1). Man erhält 5,5 g 1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetylcytosin als leicht gelbliches Schaumharz (75%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 9 : 1; R_f = 0,36

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 7,99 (3H, m, Bz-2.6, H-6); 7,39 (18H, m, Bz-3,4,5; 3x Bn-2-6); 6,86 (1H, d, J = 7,6; H-5); 6,23 (1H, d, J = 2,8; H-1'); 5,52 (1H, t, J = 3,3; H-2'); 4,89 (1H, m, Bn-CH₂); (7H, m, Bn-CH₂; H-3', H-4'); 4,13 (1H, t, J = 5,5; H-5'); 3,62 (2H, m, H-6'); 2,22 (3H, s, CH₃).

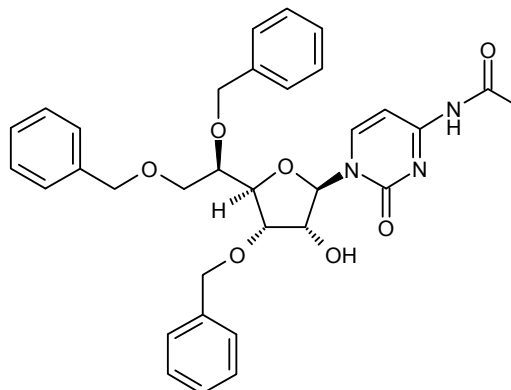
¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 170,8 (N-C=O); 165,2 (COOR); 162,8 (C-4); 154,2 (C-2); 145,5 (C-6); 137,7; 137,5; 136,9 (3x Bn-1); 133,4 (Bz-4); 130,0 (Bz-2,6); 128,8 (Bz-3,5); 128,5; 128,4; 128,3; 128,2; 127,7 (3x Bn-2-6; Bz-1,4); 96,3 (C-5); 88,8 (C-1'); 82,6 (C-4'); 77,7 (C-5'); 75,0 (C-2'); 74,7 (C-3'); 73,5; 73,4; 73,2 (3x Bn-CH₂); 69,6 (C-6'); 24,8 (CH₃).

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	69.65	69,44
H	5.70	5,46
O	18.56	-
N	6.09	6,32

1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **22**

C₃₃H₃₅N₃O₇

M = 585,66



1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **21** (3,20 g 4,64 mMol) wird bei Raumtemperatur in 50 mL Dichlormethan gelöst und am Aceton/Trockeneisbad auf -20°C gekühlt. Kaliumtertbutylat (2,7 g, 24,06 mMol / 5,2 EQ) wird portionsweise zugegeben. Die Reaktion wird 2 Stunden bei -20°C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Reaktion mit 5 mL stark saurem Ionenaustauscherharz (H⁺-Form) gequenchet. Die Mischung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 30 Minuten gerührt. Das Harz wird abfiltriert und 2 Mal mit je 40 mL Dichlormethan nachgewaschen. Die Lösung wird nacheinander mit je 30 mL H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedunstet. Man erhält 2,50 g 1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als gelbes Öl (92%).

DC Dichlormethan : Methanol 19 : 1; R_f = 0,20

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 9,84 (1H, bs, NH); 8,14 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,87 (15H, m, Bn-2-6); 6,99 (1H, d, J = 7,6; H-5); 5,97 (1H, d, J = 3,4; H-1'); 4,86 (1H, m, Bn-CH₂); 4,59 – 4,47 (5H, m, 3x Bn-CH₂); 4,40 (1H, t, J = 3,5; H-4'); 4,21 – 4,17 (2H, m, H-3',2'); 4,04 (1H, td, J = 5,1; 2,9; H-5'); 3,67 (2H, m, H-6'); 2,23 (CH₃).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 170,5 (N-C=O); 162,4 (C-4); 155,5 (C-2); 144,9 (C-6); 137,6; 137,5; 137,1 (3x Bn-1); 128,7; 128,3; 128,1 (3x Bn-2-6); 96,5 (C-5); 91,1 (C-1'); 83,3 (C-4'); 78,0 (C-5'); 76,2 (C-3'); 75,1 (C-2'); 73,6; 73,1; 72,4 (3x Bn-CH₂); 69,3 (C-6'); 24,9 (CH₃).

MS (ESI) M+H= 586,0 / M+Na= 608,0 / 2xM +H=1170,9 / 2xM + Na= 1192,9

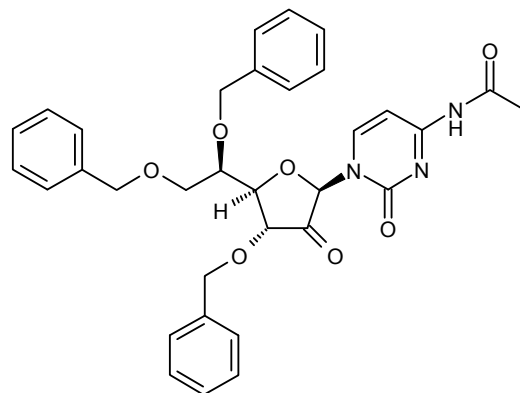
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	67.68	67,74
H	6.02	6,06
O	19.12	-
N	7.17	7,32

1-[3,5,6-O-Tribenzyl-2-oxo-β-D-ribo-hexo-furanosyl]-N-acetyl-cytosin **23**

C₃₃H₃₃N₃O₇

M = 583,65



1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **22** (300 mg, 0,51 mMol) wird mit TEMPO (10 mg, 0,06 mMol / 0,1 EQ) vermengt und in 3 mL Dichlormethan gelöst. 5 mg KBr werden zugegeben. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5°C gekühlt. 1 mL 0,7 M NaOCl (0,7 mMol / 1,4 EQ) wird mit NaHCO₃ auf pH= 9 eingestellt und der Mischung zugetropft. Die Lösung färbt sich orange-rot. Nach 30 Minuten ist die Reaktion nach DC-Kontrolle vollständig abgelaufen. Die organische Phase wird abgetrennt. Die wässrige Phase wird nochmals mit 3 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit je 2 mL KI / 2M HCl (10mg KI); H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM: MTBE → MTBE : Methanol 50 : 1). Man erhält 233 mg 1-[3,5,6-O-Tribenzyl-2-oxo-β-D-ribohexofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als gelbes Schaumharz (78%).

DC: MTBE : Methanol = 50 : 1; R_f = 0,73

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 10,36 (1H, bs, NH); 7,57 (1H, d, J = 7,5; H-6); 7,45 (1H, d, J = 7,5; H-5); 7,37 (15H, m, Bn-2-6); 5,21 (1H, s, H-1'); 5,01 (1H, m, Bn-CH₂); 4,74 – 4,48 (6H, m, H-3'; 3 x Bn-CH₂); 4,37 (1H, dd, J = 6,6; 5,5; H-4'); 4,03

(1H, q, $J = 4,6$; H-5'); 3,75 (1H, dd, $J = 10,5$; 4,0; H-6'a); 3,64 (1H, dd, $J = 10,5$; 5,2); 2,22 (1H, s, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 205,4 (C-2'); 171,1 (N-C=O); 164,4 (C-4); 154,4 (C-2); 148,6 (C-6); 138,0; 137,1 (3 x Bn-1); 128,1; 127,9; 127,6 (3 x Bn-2-6); 97,6 (C-5); 86,5 (C-1'); 80,7 (C-4'); 77,9 (C-5'); 75,9 (C-3'); 73,3; 72,9; 72,8 (3 x BnCH₂); 68,8 (C-6'); 24,8 (CH₃).

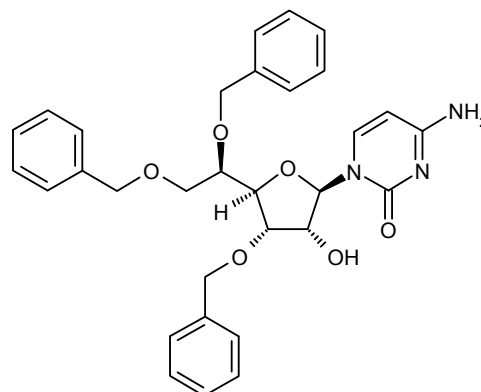
CHN Analyse:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	67,91	67,82
H	5,70	5,89
O	19.12	-
N	7.20	7,36

1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-cytosin **55**

$C_{31}H_{33}N_3O_6$

M = 543,63



1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **21** (10,00 g, 14,50 mMol) wird in 7M methanolischem NH_3 gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stunden ist die Reaktion nach DC beendet. Die Reaktionsmischung wird am Rotavapor bei 50°C Wassertemperatur eingeeengt. Der Rückstand wird in 100 mL trockenem Methanol digeriert. Es entsteht ein weißer Niederschlag. Der Niederschlag wird abfiltriert und am Hochvakuum getrocknet. Man erhält 3,30 g weiße Kristalle. Die Mutterlauge wird eingeeengt und ein weiteres mal mit 50 ml trockenem Methanol digeriert. Man erhält in Summe 3,55 g 1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-allofuranosyl]-cytosin in Form von farblosen Kristallen (86%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 24 : 1; R_f = 0,15

1H NMR (500 MHz / DMSO) δ = 7,45 (1H, d, J = 7,5; H-6); 7,25 (15H, m, Bn-2-6); 7,15 (2H, m, NH_2); 5,90 (1H, d, J = 6,3; H-1'); 5,49 (1H, d, J = 7,3; H-5); 5,42 (OH-2'); 4,77 – 4,47 (6H, m, Bn- CH_2); 4,14 (2H, m, H-2',4'); 4,02 (1H, dd, J = 4,7; 3,8; H-3'); 3,89 (1H, q, J = 4,6; H-5'); 3,64 (2H, m, H-6').

^{13}C NMR (125 MHz / DMSO) δ = 165,4 (C-4); 155,4 (C-2); 140,8 (C-6); 138,3 (Bn-1); 128,3; 128,1; 127,6; 127,5; 127,4 (3x Bn-2-6); 94,2 (C-5); 87,9 (C-1'); 81,5 (C-4'); 77,8 (C-5'); 76,7 (C-3'); 72,6 (C-2'); 72,4; 72,0; 71,0 (3x Bn- CH_2); 69,1 (C-6').

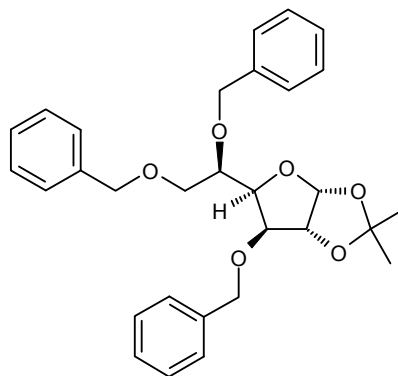
CHN:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	68,49	68,42
H	6,12	6,21
O	17,66	-
N	7,73	7,56

3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-glucofuranose **28**

$C_{30}H_{34}O_6$

M = 490,60



60% NaH (7,20 g, 181,65 mMol / 4 EQ) wird unter Argon in einem 3-Halskolben eingewogen und 2 Mal mit je 30 mL n-Hexan gewaschen. Die Lösung wird dekantiert, der Rückstand wird mit 20 mL trockenem Dimethylformamid überschichtet. 1,2-Isopropyliden-D-glucofuranose **27** (10,00 g, 45,41 mMol) wird in 150 mL trockenem Dimethylformamid gelöst und der Suspension von NaH am Eis/Wasserbad bei 5°C zugetropft. Die Mischung wird 1 Stunde bei 5°C gerührt. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und 1 Stunde gerührt. Die Lösung wird zähflüssig und stark gelb gefärbt. Unter ständigem Rühren wird Benzylbromid (21,7 mL 181,65 mMol / 4 EQ) zugetropft. Es fällt ein Niederschlag aus. Nach Zugabe von 50 mL trockenem Dimethylformamid klärt sich die Lösung. Nach 10 Stunden ist die Reaktion nach DC vollständig abgelaufen. Die Reaktionsmischung wird auf 30 mL Eis/Wasser geleert und 2 Mal mit je 350 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden mit 30 mL Brine gewaschen und am Rotavapor eingedampft. Dimethylformamid wird am Hochvakuum entfernt. Man erhält 20,50 g 3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-glucofuranose als gelbes Öl (92%).

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_f = 0,70

1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) δ = 7,32 (15H, m, 3 x Bn-2-6); 5,83 (1H, d, J = 3,8; H-1); 4,76 – 4,40 (7H, m, 3 x Bn-CH₂, H-2); 4,24 (1H, dd, J = 9,3; 3,0; H-4); 4,05 (1H,

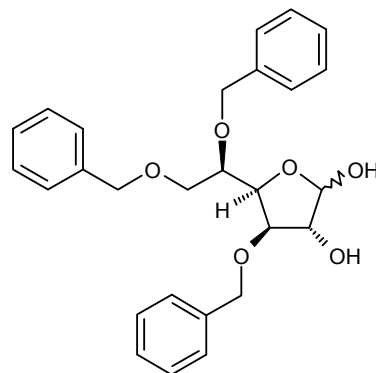
d, $J = 3,2$; H-3); 4,01 (1H, td, $J = 7,7$; 1,8; H-5); 3,85 (1H, dd, $J = 10,6$; 1,9; H-6a); 3,62 (1H, dd, $J = 10,6$; 5,8; H-6); 1,41 (3H, s, CH₃); 1,23 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 138,7; 138,5; 137,6 (Bn-1); 128,2; 127,8; 127,4 (Bn-2-6); 111,7 (qC-Acetonid); 105,1 (C-1); 81,8 (C-3); 81,7 (C-2); 79,0 (C-4); 75,5 (C-5); 73,4; 72,7; 72,0 (3x Bn-CH₂); 71,3 (C-6); 26,7; 26,3 (2x CH₃).

3,5,6-O-Tribenzyl-D-glucofuranose **29**

C₂₇H₃₀O₆

M = 450,54



3,5,6-O-Tribenzyl-1,2-O-isopropyliden-D-glucofuranose **28** (1,00 g, 2,04 mMol) wird in einer Mischung aus 10 ml Acetonitril und 1 mL 6M HCl bei Raumtemperatur gerührt und gelöst. Nach vollständiger Lösung wird die Mischung auf 60°C unter Rückfluss erwärmt. Nach 3 Stunden ist die Reaktion nach DC-Kontrolle abgeschlossen. Die Mischung wird mit NaHCO₃ neutralisiert. Die Lösung wird mit 30 mL Ethylacetat ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird 2 Mal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM: Petrolether → Petrolether : MTBE 1:1). Man erhält 753 mg 3,5,6-O-Tribenzyl-D-glucofuranose als gelbes Öl(82%). Das Anomerenverhältnis beträgt α : β = 40:60.

DC: Petrolether : MTBE 1:1; R_f = 0,08

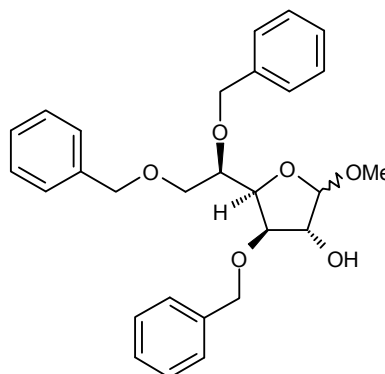
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,29 (15H, m, Bn-2-6); 5,46 (0,60H; bs, H-1'); 5,15 (0,40H; d, J = 3,6; H-1*); 4,77 – 4,37 (7H, m, Bn-CH₂; H-3',3*); 4,06 – 3,70 (6H, m, H-2',2*,4',4*,5',5*,6',6*,OH-1*); 2,98 (0,60H, bs, OH-1'); 2,24 (0,40H; bs, OH-2*).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 138,7; 138,6; 137,8 (3x Bn-1); 128,3; 127,5; (3x Bn-2-6); 103,5 (C-1*); 96,8 (C-1'); 83,6 (C-3*); 82,3 (C-4'); 80,1 (C-3'); 77,9 (C-4*); 76,8 (C-4*); 76,1 (C-5*); 74,2(C-5'); 73,5 (C-2'); 73,4 (C-2*); 72,8; 72,5; 72,3; 71,9 (3x Bn-CH₂); 70,9 (C-6'); 70,5 (C-6*).

1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-glucofuranose **34** / **35**

$C_{28}H_{32}O_6$

M = 464,56



3,5,6-O-Tribenzyl-D-glucofuranose **29** (200 mg, 0,44 mMol) wird in 2 ml 6M methanolischer HCl gelöst und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle entstehen 2 Produkte. Die Reaktion wird mit 5 mg K_2CO_3 gequencht. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 195 mg 1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-glucofuranose als farbloses Öl (95%). Die beiden Anomeren werden durch Vakuumflashchromatographie getrennt. (LM Petrolether : MTBE 1:1). Das Anomerenverhältnis $\alpha : \beta = 50 : 50$.

DC : Petrolether : MTBE = 1:1 $R_{f\alpha} = 0,42$; $R_{f\beta} = 0,54$.

β -Anomer:

1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) $\delta = 7,28$ (15H, Bn-2-6); 4,68 (1H, s, H-1); 4,66 (1H, m, Bn-CH₂); 4,48 (5H, m, 3x Bn-CH₂); 4,30 (1H, d, $J = 9,4; 4,4$; H-4); 4,05 (1H, s, H-2); 3,99 (1H, td, $J = 7,1; 1,8$; H-5); 3,84 (1H, d, $J = 4,7$; H-3); 3,79 (1H, dd, $J = 10,7; 1,9$; H-6a); 3,63 (1H, dd, $J = 10,7; 5,4$; H-6b); 3,26 (3H, s, OMe); 2,33 (1H, bs, OH):

^{13}C NMR (125 MHz / $CDCl_3$) $\delta = 138,7; 138,5; 137,9$ (Bn-1); 127,7; 127,6; 127,5; 127,3 (Bn-2-6); 109,9 (C-1); 82,8 (C-3); 79,9 (C-4); 78,2 (C-2); 76,6 (C-5); 73,3; 72,3; 72,0 (3x Bn-CH₂); 70,6 (C-6); 55,8 (OMe).

α -Anomer:

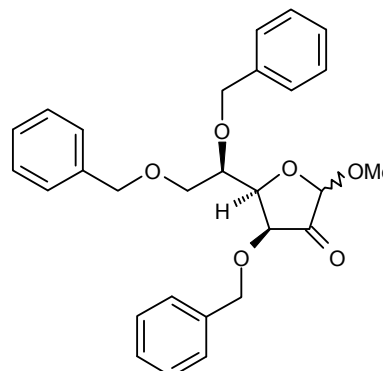
^1H NMR (500 MHz / CDCl_3) δ = 7,29 (15H, m, Bn-2-6); 4,93 (1H, d, J = 4,4; H-1); 4,71 – 4,41 (3 x Bn- CH_2); 4,23 (1H, dd, J = 8,0; 4,3; H-4); 4,15 (1H, bs, H-2); 3,97 (2H, m, H-3,5); 3,79 (1H, d, J = 10,7; H-6a); 3,59 (1H, dd, J = 10,4; 5,7; H-6b); 3,36 (3H, s, OMe); 2,82 (1H, d, J = 3,8; OH).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 138,8; 138,5; 137,8 (Bn-1); 128,2; 127,5; 127,3; 127,2 (Bn-2-6); 102,1 (C-1); 83,8 (C-3); 77,7 (C-4); 76,1 (C-5); 75,9 (C-2); 73,3; 72,5; 71,6 (Bn- CH_2); 71,2 (C-6); 55,7 (OMe).

1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-arabino-hexofuranose 36 / 37

$C_{28}H_{30}O_6$

M = 462,55



1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-D-glucofuranose **34** / **35** (300 mg, 0,65 mMol) wird mit 10 mg TEMPO vermengt und in 3 mL Dichlormethan gelöst. Die Mischung wird am Eis/Wasserbad auf 5°C gekühlt. 2 mg KBr wird in 0,1 mL H₂O gelöst und der Lösung zugetropft. 0,5 mL 7M NaOCl-Lösung wird mit NaHCO₃ auf pH = 8,5 gestellt und zugegeben. Nach Ende der Reaktion wird die Lösung mit 5 mL Dichlormethan verdünnt. Die wässrige Phase wird abgetrennt. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Man erhält 248 mg 1-O-Methoxy-3,5,6-O-tribenzyl-2-oxo-D-arabino-hexofuranose als farbloses Öl (83%).

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_{fa} = 0,47; R_{fb} = 0,56

β-Anomer:

¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 7,32 (15H, m, Bn-2-6); 4,75 – 4,20 (7H, m, Bn-CH₂; H-1,3); 4,05 – 3,69 (4H, m, H-5,4,6); 3,41 (3H, s, OMe).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 206,3 (C-2); 138,4; 136,7 (3x Bn-1); 128,4; 128,3; 127,7 (3x Bn-2-6); 98,3 (C-1); 77,3 (C-3); 75,9 (C-5); 75,7 (C-4); 73,4; 72,7; 72,2 (Bn-CH₂); 69,1 (C-6); 56,6 (OMe).

α -Anomer:

^1H NMR (200 MHz / CDCl_3) δ = 7,27 (15H, m, Bn-2-6); 4,91 – 4,80 (8H, m, 3x Bn- CH_2 , H-1,3); 4,13 (1H, td, J = 5,1; 2,6; H-5); 4,06 (1H; d, J = 5,1; H-4); 3,83 (1H, dd, J = 10,5; 2,8; H-6a); 3,75 (1H, dd, J = 10,5; 5,1; H-6b); 3,42 (3H, s, OMe).

^{13}C NMR (50 MHz / CDCl_3) δ = 205,7 (C-2); 138,3; 138,2; 136,7 (Bn-1); 128,2; 128,0; 127,5 (3x Bn-2-6); 97,9 (C-1); 76,2 (C-3); 74,1; 74,1 (C-4,5); 73,4; 72,7; 72,0 (Bn- CH_2); 69,5 (C-6).

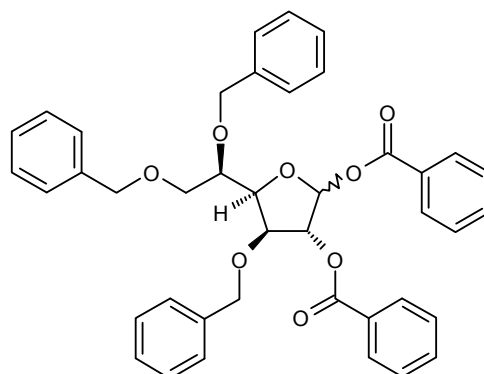
CHN:

Element	Calculiert w-%	Gefunden w-%
C	72.71	72,25
H	6.54	6,21
O	20.75	-
N	0	-

1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-gluco-furanose **30**

C₄₁H₃₈O₈

M = 658,76



3,5,6-O-Tribenzyl-D-glucopyranose **29** (3,00 g, 6,66 mMol) wird in 30 mL Dichlormethan gelöst und mit 2 mL Pyridin versetzt. Die Lösung wird am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt und tropfenweise mit Benzoylchlorid (1,54 mL, 13,26 mMol) versetzt. Nach 2 Stunden wird die Mischung auf Raumtemperatur erwärmt. Nach weiteren 2 Stunden ist das Edukt vollständig umgesetzt. Die Lösung wird mit 20 mL 2M HCl gewaschen. Die organische Phase wird mit je 20 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung und Brine gewaschen. Die wässrige Phase wird mit 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 100 g Kieselgel gereinigt. (LM Petrolether → Petrolether : MTBE = 1 : 1). Man erhält 4,04 g 1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-glucopyranose als gelbes Öl (92%). Das Anomerenverhältnis beträgt α : β = 90 : 10.

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; R_f = 0,84

α ='; β =*

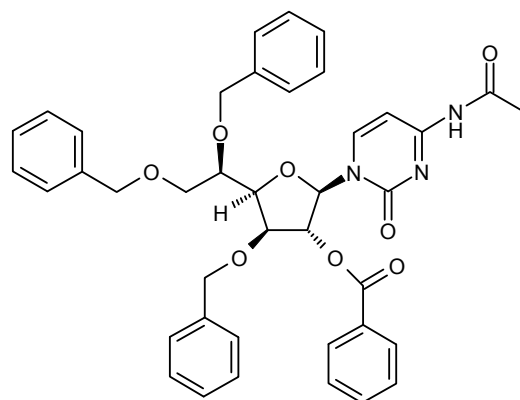
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 8,15 – 7,28 (25H, m, 2 x Bz-2-6; 3 x Bn-2-6); 6,81 (0,90H, d, J = 4,5; H-1'); 6,62 (0,10H, s, H-1*); 5,75 (0,90H, dd, J = 4,6; 1,7; H-2'); 5,38 (0,10H, s, H-2*); 4,84 – 4,58 (7H, m, 3 x Bn-CH₂; H-3';3*); 4,46 (0,90H, dd, J = 4,0; 1,6; H-4'); 4,39 (0,10H, d, J = 4,4; H-4*); 4,17 (1H, td, J = 6,8; 1,8; H-5',5*); 3,90 (1H, dd, J = 10,6; 1,9; H-6'a,6*a); 3,77 (1H, dd, J = 10,6; 5,9; H-6'b,6*b).

^{13}C NMR (50 MHz / CDCl_3) δ = 165,2; 164,8 (2 x COOR); 138,5; 138,4; 137,3 (3 x Bn-1); 134,5; 133,4; 133,2 (3 x Bn-3,5); 130,5; 129,7; 129,4; (2 x Bz-2,6); 128,8; 128,4 (2 x Bz-1); 128,2; 127,5 (3 x Bn-2-6); 95,7 (C-1); 81,3 (C-2); 79,4 (C-4); 76,3 (C-5); 75,5 (C-3); 73,4; 72,6; 72,1 (3 x Bn- CH_2); 70,1 (C-6).

1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **63**

C₄₀H₃₉N₃O₈

M = 689,77



Acetylcytosin (1,02 g, 6,68 mMol / 1,1 EQ) wird unter Argonatmosphäre in 10 mL trockenem 1,2-Dichlorethan suspendiert und unter ständigem Rühren mit Bis-trimethylsilylacetamid (3,4 ml, 13,70 mmol) versetzt. Die Suspension wird unter Reflux auf 80° C erwärmt. Nach 1 Stunde klärt sich die Suspension. 1,2-O-Dibenzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-gluco-furanose **30** (4,00 g, 6,07 mMol) wird in 10 mL 1,2-Dichlorethan gelöst und der Mischung zugetropft. Die Mischung wird 6 Stunden unter Reflux gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Edukts wird die Lösung mit 50 mL Dichlormethan verdünnt und mit 20 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gequenchet. Nach Trennung der Phasen wird die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Das erhaltene Öl wird durch Vakuumflashchromatographie an 100 g Kieselgel gereinigt (LM: DCM:Methanol = 30:1). Man erhält 3,83 g 1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin als gelbes Schaumharz. (90%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 20 : 1; R_f = 0,40

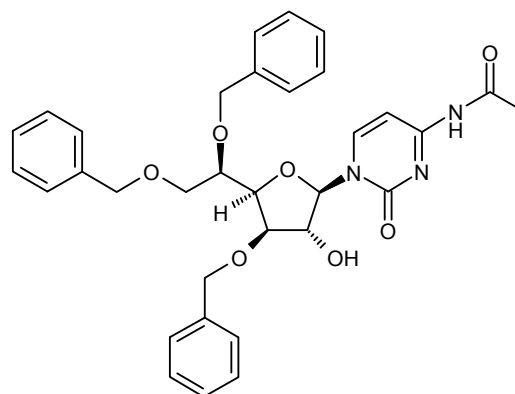
¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 10,04 (1H, bs, NH); 8,07 (2H, m, Bz-2,6); 7,95 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,63 (1H, t, J = 7,6; Bz-4); 7,49 (2H, m, Bz-3,5); 7,41 – 7,11 (16H, m, 3 x Bn-2-6; H-5); 6,29 (1H, s, H-1'); 5,57 (1H, s, H-2'); 4,76 – 4,47 (7H, m, 3 x Bn-CH₂; H-4'); 4,26 (1H, d, J = 2,8; H-3'); 4,21 (1H, m, H-5'); 3,95 (1H, dd, J = 10,6; 1,7; H-6'a); 3,75 (1H, dd, J = 10,6; 4,9; H-6'b); 2,29 (3H, s, CH₃).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 170,6 (N-C=O); 165,2 (Bz-COOR); 162,7 (C-4); 154,7 (C-2); 154,1 (C-6); 138,0 (2x Bn-1); 136,6 (Bn-1); 133,7 (Bz-4); 130,3; 130,1 (Bz-2,6); 129,9; 128,8; 128,4; 128,3; 127,8 (3x Bn-2-6); 96,0 (C-5); 90,4 (C-1'); 82,3 (C-4'); 79,8 (C-3'); 79,1 (C-2'); 74,9 (C-5'); 73,6; 72,8; 72,0 (Bn-CH₂); 70,0 (C-6'); 24,9 (CH₃).

1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **64**

C₃₃H₃₅N₃O₇

M = 585,66



1-[2-O-Benzoyl-3,5,6-O-tribenzyl-D-

glucofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **63** (2,00 g, 2,9 mMol) wird in 40 mL Dichlormethan bei Raumtemperatur gelöst und am Aceton-Eisbad auf -20° C gekühlt. Die Lösung wird mit Kalium-tert-butylat (1,63 g, 14,5 mMol / 5 EQ). Nach 2 Stunden ist das Edukt vollständig umgesetzt. Die Reaktion wird mit 2 mL stark saurem Ionentauscherharz (H⁺-Form) gequench und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Das Harz wird abfiltriert. Das Filtrat wird mit Brine gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM : DCM → DCM : Methanol 19 : 1). Man erhält 1,36 g 1-[3,5,6-O-Tribenzyl-β-D-glucofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als gelbes Schaumharz (80%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 20 : 1; R_f = 0,34

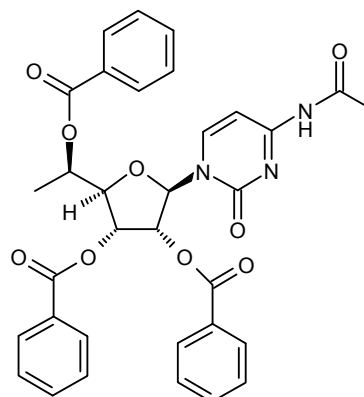
¹H NMR (200 MHz / CDCl₃) δ = 9,46 (1H, bs, NH); 8,00 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,34 (15H, m, 3 x Bn-2,6); 7,06 (1H, d, J = 7,6; H-5); 5,85 (1H, s, H-1'); 4,85 – 4,17 (11H, m, 3 x Bn-CH₂; H-4',2',3',5'); 3,97 (1H, dd, J = 10,6; 1,7; H-6'a); 3,84 (1H, dd, J = 10,6; 5,1; H-6'b); 2,31 (3H, s, CH₃).

¹³C NMR (50 MHz / CDCl₃) δ = 170,3 (C-N=O); 162,4 (C-4); 155,8 (C-2); 145,1 (C-6); 138,4; 138,3; 136,9; (3 x Bn-1); 128,4; 128,3; 127,8; 127,7 (3 x Bn-2-6); 95,9 (C-5); 94,3 (C-1'); 82,8 (C-4'); 81,8 (C-3'); 77,8 (C-5'); 75,4 (C-2'); 73,6; 72,8; 71,7 (3x Bn-CH₂); 71,0 (C-6'); 24,9 (CH₃).

1-[6-Deoxy-2,3,5-O-tribenzoyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin **65**

C₃₃H₂₉N₃O₉

M = 611,61



Acetylcytosin (95 mg, 0,62 mMol / 1,2 EQ) wird in einem ausgeglühten Kolben unter Argonatmosphäre in 1 mL Acetonitril suspendiert und mit 0,35 mL Hexamethyldisilazan (1,64 mMol / 3,2 EQ) versetzt. Die Suspension wird unter Rückfluß auf 80° C erwärmt. Nach einer Stunde klärt sich die Mischung. Das Lösungsmittel wird am Rotavapor eingedampft. Es entsteht ein weißer Feststoff. Der Kolben wird mit Argon belüftet. 6-Deoxy-1,2,3,5-O-tetrabenzoyl-D-allofuranose **52** (300 mg, 0,52 mMol) wird in 3 mL Acetonitril gelöst und dem weißen Feststoff zugegeben. Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester (0,15 mL, 0,8 mmol) wird zugetropft. Die Lösung wird auf 80°C unter Rückfluss erwärmt. Nach 12 Stunden ist die Reaktion beendet. Die Lösung wird auf Raumtemperatur gebracht und tropfenweise mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt. Ein brauner Niederschlag fällt aus. Die Mischung wird mit 10 mL Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingeeengt. Die Mischung wird durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM: MTBE). Man erhält 250 mg 1-[6-Deoxy-2,3,5-O-tribenzoyl-β-D-allofuranosyl]-N-acetyl-cytosin als gelblichen Feststoff (79%).

DC: MTBE; R_f= 0,27

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 9,41 (1H; bs, NH); 8,11; 7,98; 7,91 (3 x Bz-2,6); 7,62 (1H, d, J = 7,6; H-6); 7,61 – 7,30 (9H, m, Bz-4,3,5); 7,11 (1H, d, J = 7,6; H-5); 6,49 (1H, d, J = 5,7; H-1'); 6,07 (1H, dd, J = 5,5; 4,7; H-3'); 5,73 (1H, t, J = 5,7; H-

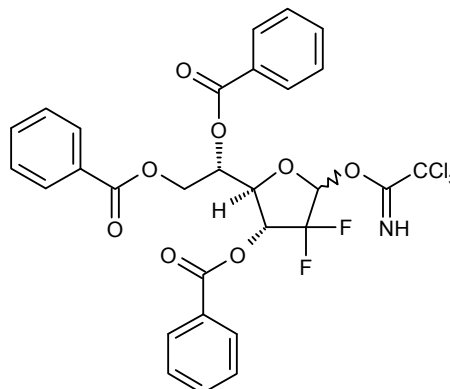
2'); 5,62 (1H, dt, $J = 6,6; 3,1$; H-5'); 4,56 (1H, dd, $J = 4,0; 3,5$; H-4'); 2,14 (3H, s, CH₃); 1,56 (3H, d, $J = 6,6$; H-6').

¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 170,5 (N-C=O); 165,5; 165,2; 165,1 (3x COOR); 162,9 (C-4); 154,8 (C-2); 143,7 (C-6); 133,7 (3x Bz-4); 129,9; 129,8; 129,4; (3x Bz-2,6); 128,8; 128,7; 128,4 (3x Bn-1,3,5); 97,3 (C-5); 88,0 (C-1'); 84,3 (C-4'); 74,5 (C-2'); 70,5 (C-5'); 70,3 (C-3'); 24,8 (CH₃); 16,3 (C-6').

3,5,6-Tribenzoyl-1-trichloracetimin-2-dideoxy-2-difluor-L-lyxo-hexo-furanose **56**

$C_{29}H_{22}F_2NO_8Cl_3$

M = 553,52



3,5,6-Tribenzoyl-2-dideoxy-2-difluor- α -L-lyxo-hexo-furanose (50 mg 0,1 mMol) wird in 1 mL trockenem Dichlorethan suspendiert und am NaCl/Eisbad auf $-5^{\circ}C$ gekühlt. Unter Argonatmosphäre wird 0,1 mL 2,2,2-Trichloracetonitril (1,0 mMol / 10 EQ) und 4 μ l DBU zugetropft. Nach 10 Minuten ist die Reaktion beendet. Die Lösung wird über 5 g Kieselgel filtriert (LM Petrolether $\rightarrow$ Petrolether : MTBE = 1:1). Man erhält 55 mg 3,5,6-Tribenzoyl-1-trichloracetimin-2-deoxy-2-difluor-D-allo-furanose **56** als farbloses Öl (86%). Das Anomerenverhältnis beträgt $\alpha:\beta = 85 : 15$.

DC: Petrolether : MTBE = 1:1; $R_f = 0,70$

$\alpha = \prime$; $\beta = *$

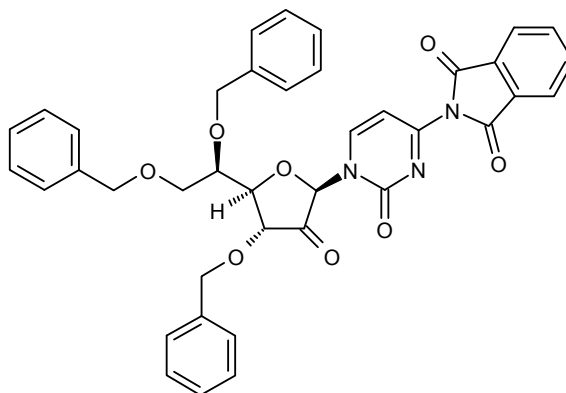
1H NMR (500 MHz / $CDCl_3$) $\delta = 8,83$ (1H, s, NH); 8,10 – 7,96 (6H, m, 3 x Bz-2,6); 7,62 – 7,57 (3H, m, Bz-4); 7,52 – 7,35 (6H, m, Bz-3,5); 6,66 (0,85H, d, $J = 5,7$; H-1 $\prime$); 6,58 (0,15H, d, $J = 6,3$; H-1 $*$); 6,10 (0,15H, dd, $J = 14,5$; 7,9; H-3 $*$); 6,02 (0,85H, td, $J = 5,8$; 3,2); 5,75 (0,15H, td, $J = 10,6$; 6,0; H-5 $*$); 5,64 (0,85H, dd, $J = 16,2$; 4,3; H-3 $\prime$); 4,94 (0,85H, t, $J = 3,6$; H-4 $\prime$); 4,80 – 4,72 (2,45H, m, H-4 $*$, 6 $\prime$, 6 $*$).

^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 165,9; 165,5; 164,9 (3x COOR); 160,0 (O-C=N); 133,9; 133,6; 133,2 (3x Bz-4); 130,1; 130,0; 129,7 (3x Bz-2,6); 129,3; 128,9; 128,2 (3x Bz-1); 128,5; 128,2 (3x Bz-3,5); 123,0; 121,1; 120,8; 118,9 (C-2); 97,3; 97,1; 97,0; 96,8 (C-1); 82,9 (C-4); 71,1; 70,9; 70,8; 70,7 (C-3); 69,4 (C-5); 62,5 (C-6).

N*-Phthaloyl-2'-oxo-3',5',6'-*O*-tribenzyl- β -D-ribo-hexofuranosyl-cytosin **57*

$C_{39}H_{33}N_3O_8$

$M = 671,71$



1-[3,5,6-*O*-Tribenzyl-D-allofuranosyl]-cytosin **55** (300 mg, 0,55 mMol) wird in 3 mL Dichlormethan gelöst und am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. 0,15 mL Pyridin wird zugetropft. ortho-Phthaloyldichlorid (0,16 mL, 0,56 mMol / 1 EQ) wird zugetropft. Die Lösung verfärbt sich hellgelb. Nach 16 Stunden ist die Reaktion beendet. Die Mischung wird mit 20 mL Ethylacetat verdünnt und nacheinander mit je 10 mL H₂O und gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit je 10 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor abgedampft. Der Rückstand wird an 10 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM DCM → DCM : EtOAc = 1:1). Man erhält 250 mg *N*-Phthaloyl-2'-oxo-3',5',6'-*O,O,O*- β -D-ribohexofuranosyl-cytosin (67%).

DC: DCM : EtOAc = 1:1; $R_f = 0,46$.

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 7,93 (2H, bs, Ph-4,7); 7,80 (2H, bs, Ph-5,6); 7,73 (1H, d, J = 7,2; H-6); 7,28 (15H, m, 3 x Bn-2-6); 6,76 (1H, d, J = 7,2; H-5); 5,28 (1H, d, J = 1,9; H-1'); 4,97 – 4,46 (7H, m, 3 x Bn-CH₂; H-3'); 4,39 (1H, t, J = 6,1; H-4'); 4,06 (1H, q, J = 4,3; H-5'); 3,75 (1H, dd, J = 10,6; 3,7; H-6'a); 3,64 (1H, dd, J = 10,5; 4,9; H-6'b).

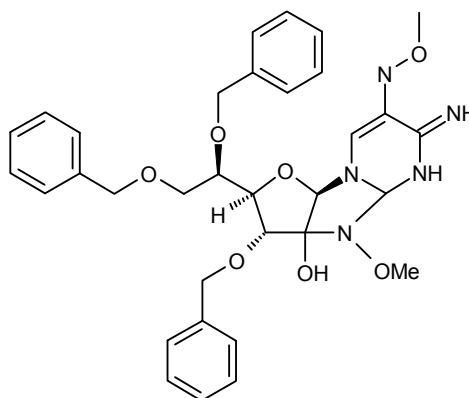
^{13}C NMR (125 MHz / CDCl_3) δ = 205,0 (C-2'); 164,6 (Ph-COOR); 161,0 (C-4); 154,1 (C-2); 148,9 (C-6); 138,1; 138,0; 137,1 (3x Bn-1); 135,3 (Ph-5,6); 131,1 (Ph-3a,7a); 128,3; 128,1; 128,0; 127,9; 127,5 (3x Bn-2-6); 124,5 (Ph-4,7); 101,1 (C-5); 87,0 (C-1'); 81,2 (C-4'); 78,1 (C-5'); 76,2 (C-3'); 73,3; 73,0; 72,9 (3x Bn-CH₂); 68,7 (C-6').

MS = 694,71 ($\text{M}+\text{Na}^+$)

Verbindung KS-GC-58

C₃₃H₃₉N₅O₇

M = 617,71



1-[3,5,6-O-Tribenzyl-2-oxo-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **23** (100 mg 0,17 mMol) wird unter Argonatmosphäre in 1 mL Pyridin gelöst. Methoxyamin.HCl (92,4 mg 1,1 mMol / 6,5 EQ) wird zugegeben. Die Lösung wird unter ständigem Rühren auf 55°C erwärmt. Nach 16 Stunden ist die Reaktion beendet. Die Lösung wird am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird an 5 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM: Dichlormethan : Methanol 99 : 1). Man erhält 80 mg KS-GC-58 als weißen Feststoff (78%)

DC: Dichlormethan : Methanol 19 : 1; R_f = 0,4.

¹H NMR (500 MHz / CDCl₃) δ = 7,22 (15H, m, Bn-2-6); 5,48 (1H, s, H-1'); 4,77 – 4,47 (6H, m, Bn-CH₂); 4,16 (1H, dd, J = 10,1; 2,4; H-4'); 3,93 (1H, m, H-5'); 3,87 (3H, s, OMe); 3,72 (3H, s, OMe); 3,58 (1H, dd, J = 10,2; 4,9; H-6'); 3,50 (1H, dd, J = 10,2; 6,5; H-6').

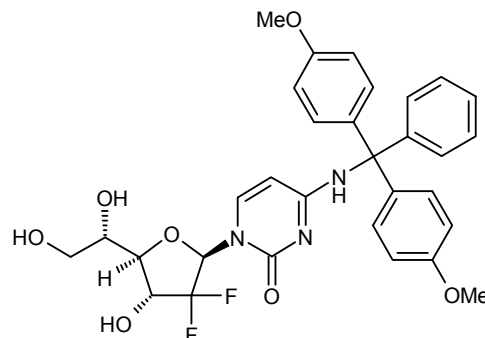
¹³C NMR (125 MHz / CDCl₃) δ = 138,3; 137,9; 136,7 (3 x Bn-1); 128,5 – 127,5 (3x Bn-2-6); 99,5 (C-2'); 90,3 (C-1'); 83,5 (C-4'); 77,5 (C-5'); 75,4 (C-3'); 73,8; 73,3; 73,0 (3x Bn-CH₂); 69,7 (C-6'); 64,2 (OMe); 61,7 (OMe).

MS (ESI) M+Na⁺ = 641,1

N-Dimethoxytriphenylmethyl-2',2'-deoxy-difluor- α -L-lyxo-hexofuranosyl-cytosin **38**

C₂₉H₂₇F₂N₃O₅

M = 535,55



Homogemcitabin (300 mg 1,0 mMol) werden in 6 mL trockenem Pyridin gelöst. Pyridin wurde davor über KOH und unter Argonatmosphäre destilliert. Unter Zufuhr von Inertgas wird (1 mL, 7,7 mMol / 7,7 EQ) Chlortrimethylsilan zugetropft. Die Reaktionsmischung wird nach Zugabe weiß getrübt. Es wird eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und die vollständige Umsetzung zum Trimethylsilyl-geschützten Homogemcitabin mit DC kontrolliert. Danach wird Dimethoxytritylchlorid (347 mg, 1,02 Mol) zugegeben. Die Lösung färbt sich schwach rot.

Nach 14 Stunden und vollständiger Umsetzung des Edukt (DC Laufmittel: 10 % MeOH in DCM, Färbemittel für DMT-Derivat: Seebach –färbt rot-orange) wird die Reaktion mit 5% NaHCO₃-Lösung gequencht. Die rote Lösung färbt sich hell gelb. Es wird eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit 18 mL EtOAc verdünnt. Am Scheidetrichter wird 3 x mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotavapor eingedampft. Das entstehende gelbe Öl wird über Kieselgel (digeriert in 5% Et₃N / DCM) chromatographiert (Laufmittel : MeOH in DCM 0 → 10 %). Man erhält das farblose kristalline Produkt 240 mg (45%).

DC : Dichlormethan : Methanol = 9:1; R_f = 0,25

¹H NMR (200 MHz ; CDCl₃): δ = 7,32 (1H, d, J=7,6 Hz, H = 7,32, H₆); 7,26 - 7,09 (10 H, m, DMT-H); 6,77 – 6,73 (4H, m, m-DMT-H); 6,0 (1H, t, H_{1'}); 5,3 (1H, d, J =

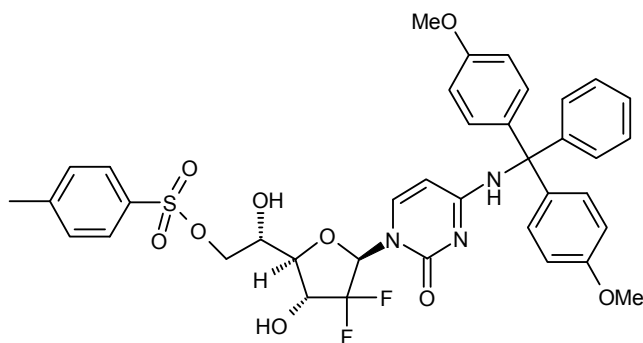
7,6; H₅); 4,30 (1H, m, H_{3'}); 3,86 (2H, m, H_{4'}, H_{6a'}); 3,69 (6H, s, O-Me); 3,60 (2H, m, H_{5'}, H_{6b'}).

¹³C NMR (50 MHz ; CDCl₃): δ = 165,6 (C₆); 158,4 (C₅); 155,4 (3x DMT- q.C); 144,0 (C₂); 135,78 (C₄); 129,8(9x o,p-DMT); 128,4 (6x m-DMT); 95,7 (C_{1'}); 79,9 (C_{3'}); 70,3 (q. DMT-C); 70,2; 70,1 (C_{4'/5'}); 62,8 (C_{6'}); 55,2 (O-Me).

6-O-Tosyl-N-dimethoxytriphenylmethyl-2',2'-deoxy-difluor- α -L-lyxo-hexo-furanosyl-cytosin **39**

$C_{36}H_{33}F_2N_3O_7S$

M = 749,79



N-DMT-Homogemcitabin **38** (500 mg, 0,84 mMol) wird in 5 mL trockenem Dichlormethan (über Mg destilliert) gelöst und bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Klärung der Lösung gerührt. Unter Argonatmosphäre und ständigem Rühren wird Pyridin (0,14 mL, 2EQ) zugetropft. Es kommt zu einer leichten Entfärbung der schwach roten Lösung. Bei 0 - 5° C wird Tosylchlorid langsam zugefügt. Die Lösung färbt sich wieder rot. Nach 12 Stunden bei Raumtemperatur wird nach DC-Kontrolle die vollständige Umsetzung beobachtet. Die Reaktion wird mit 0,5 mL MeOH gequencht und 2 Stunden lang weiter gerührt. Die Mischung wird bei Raumtemperatur am Rotavapor eingeeengt. Das entstehende gelbliche Öl wird in wenig Dichlormethan aufgenommen und chromatographiert (LM : MeOH / DCM 0 → 10 %). Man erhält das Produkt als farblosen Feststoff 460 mg (73%).

DC : Dichlormethan : Methanol = 9 : 1; R_f = 0,43.

1H NMR ($CDCl_3$ / 200 MHz) : δ = 7,70 (2H, d, J =8,0 Hz, Ts-H); 7,46 (1H, d, J = 7,6 Hz, H_6); 7,30 - 7,12 (10 H, m, DMT-H); 6,84 – 6,80 (2H, d, J = 8,0 Hz, Ts-H); 6,77 – 6,73 (4H, m, m-DMT-H); 6,0 (1H, t, $H_{1'}$); 5,3 – 5,2 (1H, d, J = 7,6 Hz, H_5); 4,40 (1H, m, $H_{3'}$); 4,2 (2H, m, $H_{4'}$, $H_{6a'}$); 4,05 (2H, m, $H_{5'}$, $H_{6b'}$); 3,69 (6H, s, O-Me).

^{13}C NMR ($CDCl_3$ / 50 MHz) : δ = 165,5 (C6); 158,5 (C5); 155,0 (3x DMT- q.C); 149,9 (Ts-C); 144,0 (C2); 135,78 (C4); 129,8 (9x o,p-DMT); 128,4 (6x m-DMT);

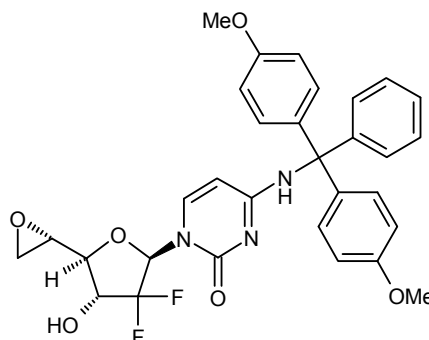
127,7 (2 x Ts-C); 95,2 (C1'); 79,1 (C3'); 70,1 (q. DMT-C); 70,2-70,1 (C4'/5'); 68,0 (C6'); 55,2 (O-Me); 21,5 (Ts-Me).

MS (ESI): 772,3 (M+Na⁺)

5,6-Oxiranyl-2'-deoxy-2'-difluor- α -L-lyxo-hexofuranosyl-N-(dimethoxytriphenyl-methyl)-cytosin **40**

$C_{29}H_{25}F_2N_3O_4$

M = 577,59



N-DMT-6-O-Tosyl-Homogemcitabin **39** (100 mg, 0,14 mMol) wird mit 300 mg stark basischem Anionenaustauscherharz in einem 50 mL 3-Hals-kolben eingewogen. Es werden 3 ml MeOH (frisch über Mg destilliert) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ende der Reaktion wird das Harz abfiltriert. Die Lösung wird am Rotavapor eingedampft. Man erhält 58 mg eines gelblich-weißen Pulvers (71%).

DC: Dichlormethan : Methanol = 9:1; R_f = 0,32

1H NMR ($CDCl_3$; 200 MHz): δ = 7,30 - 7,28 (4 H, m, Ph-C-3,5); 7,12 (3H, m, Ph-C-2,6; H-6); 7,05 (4H, m, Ar-2,6); 6,84 (4H, m, Ar-3,5); 6,32 (1H, bs, H1'); 5,13 (1H, d, J= 7,9; H-5); 4,27 (1H, bs, H3'); 3,99 (1H, m, H4'); 3,30 (1H, bs, H-5'); 2,84 (2H, m, H-6').

^{13}C NMR ($CDCl_3$ / 50 MHz) : δ = 165,6 (C-4); 158,7 (Ar-C-4); 155,0 (C-2); 144,2 (Ph-C-1); 142,0 (C-6); 135,9 (Ar-C-1); 129,8 (Ar-C-2,6); 128,4 (Ph-C-2,3,5,6); 127,6 (Ph-C-4); 113,7 (Ar-C-3,5); 96,3 (C-1'); 95,5 (C-5); 79,3 (C-4'); 72,4 (C-3'); 72,2 (DMT-C); 50,9 (OMe); 45,7 (C-5'); 44,0 (C-6').

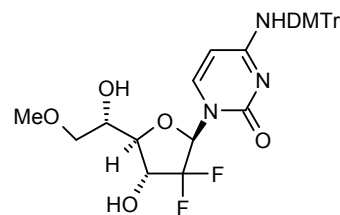
^{19}F NMR ($CDCl_3$ / 50 MHz) : δ = -117,5; -118,0 (C-2'-F₂).

MS (ESI) = 600,3 (M+Na)

6'-O-Methyl-2'-deoxy-2'-difluor- α -L-lyxo-hexo-furanosyl-N-(dimethoxy-triphenyl-methyl)-cytosin **66**

$C_{32}H_{33}F_2N_3O_7$

M = 609,63



Aus der oben beschriebenen Reaktion entsteht das Produkt **66**. (25 mg / 29%)

1H NMR ($CDCl_3$; 200 MHz): δ = 7,42 (1H; d, $J=7,6$; H-6); 7,31 (3H, m, Ph-C-3,4,5); 7,19 (Ph-C-2,6); 7,11 (Ar-C-2,6); 6,83 (Ar-C-3,5); 6,11 (1H, bs, H-1'); 5,14 (1H, d, $J=7,6$; H-5); 4,46 (1H; bs, H-3'); 4,08 (1H, t, $J=6,3$; H-5'); 3,89 (1H, dd, $J=8,2$; 4,6; H-4'); 3,79 (6H, s, OMe); 3,52 (2H, m, H-6'); 3,29 (3H, s, OMe-C-6').

^{13}C NMR ($CDCl_3$; 50 MHz): δ = 165,6 (C-4); 158,7 (Ar-C-4); 155,1 (C-2); 142,1 (C-6); 144,2 (Ph-C-1); 136,0 (Ar-C-1); 129,8 (Ar-C-2,6); 128,4 (Ph-C-2,3,5,6); 127,5 (Ph-C-4); 113,6 (Ar-C-3,5); 103,0 (C-1'); 95,5 (C-5); 80,3 (C-4'); 73,2 (C-6'); 70,3 (DMT-C); 69,7 (C-3'); 67,3 (C-5'); 60,0 (OMe-C-6'); 55,3 (OMe).

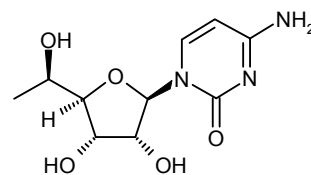
^{19}F NMR ($CDCl_3$; 50 MHz): δ = -117,6; -118,0 (C-2'-F₂).

M (ESI) = 632,3 (M+Na⁺)

6'-O-Deoxy-β-D-allofuranosyl-cytosin **59**

C₁₀H₁₅N₃O₅

M = 257.25



1-[6-Deoxy-2,3,5-*O*-tribenzoyl-β-D-allofuranosyl]-*N*-acetyl-cytosin **65** (100 mg, 0,16 mMol) wird in 1 mL 2 M methanolischem NH₃ gelöst. Die Lösung wird 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ende der Reaktion wird die Lösung am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird durch Vakuumflashchromatographie an 5g Kieselgel gereinigt. (LM DCM → DCM / MeOH 9:1). Man erhält 35 mg 6-*O*-Deoxy-β-D-allofuranosyl-cytosin als farblosen Feststoff (83%).

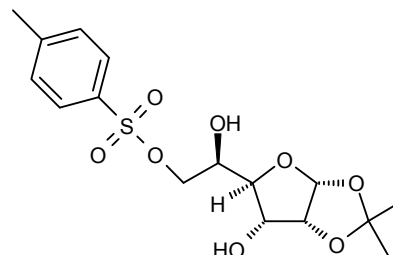
DC : DCM : MeOH 9:1; R_f = 0,30

Die Spektren entsprechen der Literatur.

6-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **60**

C₁₆H₂₂O₈S

M = 374.41



1,2-Isopropyliden-D-allofuranose **17** (5,0 g, 22,7 mMol) wird in 100 mL Pyridin gelöst und am Eis/Wasserbad auf 5° C gekühlt. Toluolsulfonsäurechlorid (4,75 g, 24,9 mMol / 1,1 EQ) wird portionsweise zugegeben. Die Mischung wird 2 Stunden bei 5° C gerührt, langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 30 Stunden gerührt. Nach Ende der Reaktion wird die Mischung mit 50 mL 2M HCl gequencht. Die Lösung wird mit 300 mL Ethylacetat verdünnt. Die wässrige Phase wird abgetrennt und noch einmal mit 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, abgetrennt über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird über 150 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. (LM DCM → DCM : MeOH 97 : 3) Man erhält 5,8 g 6-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose als weißen Feststoff (68%).

DC: DCM : MeOH 19:1; R_f = 0,40.

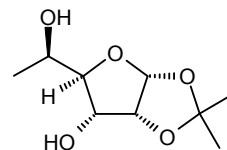
¹H NMR (CDCl₃ ; 200 MHz): δ = 7,51 (2H, d, J = 8,2; Ts-2,6); 7,06 (2H, d, J = 8,1; Ts-3,5); 5,48 (1H, d, J = 3,7; H-1'); 4,56 (1H, dd, J = 4,8; 3,9; H-2'); 4,28 – 4,00 (4H, m, H-3,4,6); 3,51 (1H, dt, J = 8,6; 2,3; H-5); 2,44 (3H, s, CH₃); 1,28; 1,09 (2x CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃ / 50 MHz) : δ = 129,9 (Ts-3,5); 128,0 (Ts-2,6); 113,0 (qC-Acetonid); 104,0 (C-1); 78,8 (C-2); 78,7 (C-3); 72,0 (C-4); 70,7 (C-6); 69,8 (C-5); 26,5; 26,4 (2x CH₃); 21,6 (Ts-CH₃).

6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-allofuranose **61**

C₉H₁₆O₅

M = 204.22



Lithiumaluminiumhydrid (770 mg, 20,28 mMol / 2,2 EQ); wird in 17 mL MTBE suspendiert und unter Argonatmosphäre am Silikonölbad bei Raumtemperatur gerührt. 6-O-Toluolsulfonyl-1,2-isopropyliden-D-allofuranose (3,5 g, 9,35 mMol) wird in einer Mischung aus 17 mL MTBE und 10 mL trockenem THF gelöst und der Suspension tropfenweise zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wird die Mischung auf 55° C erwärmt. Nach 2 Stunden ist die Reaktion nach DC-Kontrolle beendet. Das Reaktionsgemisch wird langsam auf Raumtemperatur gebracht und mit je 3 mL H₂O und 2M NaOH gequenchet. Es entsteht ein grauer Niederschlag. Der Niederschlag wird abgenutscht und 2 Mal mit je 30 mL Ethylacetat nachgewaschen. Der Rückstand wird in 40 mL Ethylacetat aufgenommen, bei 60°C gerührt und erneut filtriert. Die vereinigten Filtrate werden mit 2M HCl neutralisiert und am Rotavapor eingedampft. Der Rückstand wird an 100 g Kieselgel durch Vakuumflashchromatographie gereinigt. Man erhält 1,8 g 6-Deoxy-1,2-isopropyliden-D-allofuranose als gelben Feststoff (94%).

DC: DCM : MeOH = 19:1; R_f = 0,33.

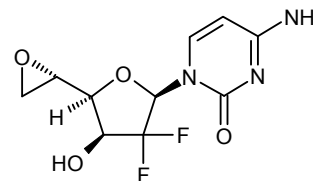
¹H NMR (DMSO ; 200 MHz): δ = 5,63 (1H, d, J = 3,5; H-1); 4,86 (1H, d, J = 7,3; OH-3); 4,56 (1H, d, J = 4,1; OH-5); 4,41 (1H, t, J = 4,3; H-2); 3,66 (2H, m, H-3,5); 3,64 (1H, dd, J = 8,8; 2,5; H-4); 1,43; 1,26 (2 x 3H; s, 2 x CH₃); 1,06 (3H, d, J = 6,6; H-6).

¹³C NMR (DMSO / 50 MHz) : δ = 111,2 (qC-Acetonid); 103,2 (C-1); 82,5 (C-4); 79,7 (C-2); 70,7 (C-3); 65,3 (C-5); 26,7; 26,5 (2x CH₃); 18,1 (C-6).

5',6'-Oxiranyl-homogemcitabin 62

C₁₀H₁₁F₂N₃O₄

M = 275.21



5',6'-Oxiranyl-2'-deoxy-2'-difluor- α -L-lyxo-hexofuranosyl-N-(dimethoxytriphenylmethyl)-cytosin 40 (25 mg, 0,04 mmol) wird in 1 mL Dichlormethan gelöst und unter ständigem Rühren mit Chloressigsäure (2 mg 0,02 mol) versetzt. Die Lösung verfärbt sich dunkelrot. Die Mischung wird über 1g Kieselgel filtriert. (LM: DCM $\rightarrow$ DCM : MeOH 3:1). Man erhält 10 mg Homogemcitabin-5,6-epoxid als weißen Feststoff. (90%).

DC: DCM : MeOH 3:1; R_f = 0,59.

¹H NMR (MeOD ; 200 MHz): δ = 6,17 (1H, bs, H-1'); 5,67 (1H, d, J = 7,8; H-5); 4,38 (1H, bs, H-3'); 3,84 (1H, m, H-4'); 3,55 (1H, m, H-5'); 3,44 – 3,10 (2H, m, H-6')

¹³C NMR (MeOD / 50 MHz) : δ = 161,8 (C-4); 142,9 (C-6); 118,7 (C-2'); 95,3 (C-5); 86,8 (C-1'); 79,3 (C-4'); 78,0 (C-3'); 47,8 (C-5'); 42,3 (C-6').

MS (ESI) = 298,3 (M+Na⁺)

4 Zusammenfassung

Im ersten Teil der Arbeit wurde die Synthese des Zuckerteils, der Grundlage für die Synthese von verschiedenen bekannten und nicht bekannten Nukleosiden ist, die z.B. als Arzneistoffe eingesetzt werden können, vorgestellt. Durch die einfachen Syntheseschritte und preislich günstigen Reagenzien gelangt man auf einfachem Weg zu großen Mengen an verschiedenen Nukleosiden. Die Synthesesequenz ist Plattform für die Synthese von unterschiedlichen Homonukleosiden, die durch oxidative Spaltung in bekannte Nukleoside umgewandelt werden können. So kann unter Anderem Cytarabin auf diesem Syntheseweg hergestellt werden. Die Durchführung dieser Synthese soll Bestandteil einer folgenden Arbeit sein.

Im zweiten Teil der Arbeit ist die Umsetzung von Homogemcitabin (5'-L-konfiguriert) in die Derivate 6'-Deoxyhomogemcitabin und 5',6'-Epoxyhomogemcitabin sowie die Versuche zur Herstellung von Homogemcitabin (5'-D-konfiguriert) ausgehend von Homocytidin beschrieben.



Abbildung 4.1 Derivate des Homogemcitabin

Die biologische Aktivität der hergestellten Homonukleoside hergestellt, soll noch getestet werden. In den ersten Zellkulturtests zeigte das 5',6'-Epoxidderivat des Homogemcitabin keine, im Vergleich zum Homogemcitabin, gesteigerte cytotoxische Wirkung. Aufgrund des gespannten Oxiranylringes sollte auch eine in vivo Aktivierung, wie zum Beispiel durch Bestrahlung, getestet werden.

Auf Basis der literaturbekannten Synthese der 6-Deoxyglucose konnte ein Prozess für die Herstellung von 1 kg Produkt entwickelt werden. Die letzte Stufe konnte im Labor hergestellt werden. Ein industrielles up-scale auf 10 kg ist aufgrund dieses Prozesses möglich.

Der, in dieser Arbeit versuchte, Weg zur Herstellung von Gemcitabin zeigte keine Vorteile zum herkömmlichen Weg. Um die industrielle Anwendbarkeit zu ermöglichen muss die Difluorierung in hohen Ausbeuten und mit guter Isolierbarkeit des Produkts gelingen.

5 Lebenslauf

Name	Karmin SAADAT
Titel	Mag. pharm.
Geburtsdatum	28.08.1977
Geburtsort	Innsbruck / AUT
Staatsbürgerschaft	österreichisch

Berufserfahrung:

01.2007 – 06.2009	Universität Wien Assistent in Ausbildung - Dissertation auf dem Gebiet der chemischen Synthese von Cytostatika / Betreuung von Studenten im Labor
11.2005 – 12.2006	Pharmacon F&B GesmbH Organische Synthese / Prozessentwicklung / Optimierung von Prozessen / Synthese neuer Substanzklassen / Entwicklung neuer Verfahren zur Herstellung bekannter Arzneistoffe
2005	Heeresapotheke / HSP Wien Absolvierung des Wehrdienstes / Apothekentätigkeit
2003, 2006 und 2008	Universität Wien - Institut für Pharmazeutische / Medizinische Chemie Tutorium - Quantitative Analytik / Arzneistoffsynthese und Wirkstoffentwicklung

Publikationen / wissenschaftliche Beiträge:

J.Winkler, Karmin Saadat, Mónica Diaz-Gavilán, Ernst Urban, Christina R. Noe;
„Oligonucleotide Polyamine Conjugates: Influence of Length and Position of 2'-Attached Polyamines on Duplex Stability and Antisense Effect“ European Journal of Medicinal Chemistry (2008)

Christian R. Noe, Muhamed Jasic, Hermann Kollmann, Karmin Saadat;
„Homogemcitabines“ WO2007/009147 A2

Johannes Winkler, Karmin Saadat, Monica Diaz, Ernst Urban, Christian R. Noe;
„Oligonucleotide-Polyamine-Conjugates: Synthesis, Characterization and Target Down Regulation“, Poster Präsentation EUFEPS, Brüssel