

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Synthese der natürlichen tRNA-Modifikation
Galaktosylqueuosin und Untersuchungen zur Struktur der
natürlichen tRNA-Modifikation Mannosylqueuosin**

Peter Christian Thumbs

aus

Erding

2013

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Herrn Prof. Dr. Thomas Carell betreut.

Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 03.05.2013

| | |
|------------------------------|-------------------------|
| Dissertation eingereicht am: | 03.05.2013 |
| 1. Gutachter: | Prof. Dr. Thomas Carell |
| 2. Gutachter: | Prof. Dr. Franz Bracher |
| Mündliche Prüfung am: | 11.07.2013 |

*We keep moving forward, opening new doors, and doing new things,
because we're curious and curiosity keeps leading us down new paths.*

*Wir geben niemals auf, öffnen neue Türen und entwickeln neue Ideen,
weil wir neugierig sind und die Neugier ist es, die uns neue Wege beschreiten lässt.*

Walt Disney

Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater *Prof. Dr. Thomas Carell* für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Überlassung eines hochinteressanten Themas danken. Die hervorragenden Arbeitsbedingungen und die gewährte wissenschaftliche Freiheit haben wesentlich dazu beigetragen, die Herausforderungen dieses Themas zu bewältigen.

Herrn *Prof. Dr. Franz Bracher* danke ich für die Übernahme des Koreferats, sowie allen weiteren Kommissionsmitgliedern für ihre Teilnahme.

Frau *Slava Gärtner* möchte ich für ihre Hilfe bei allen organisatorischen und bürokratischen Angelegenheiten danken. Frau *Sabine Voß* danke ich für ihre Hilfe bei Fragenstellungen rund um die präparative Chemie. Herrn *Dr. David Stephenson* und Frau *Claudia Dubler* danke ich für die Aufnahme unzähliger NMR-Spektren. Bei Herrn *Dr. Werner Spahl* und Frau *Sonia Kosak* bedanke ich mich für das Messen der Massespektren.

Meiner langjährigen Bench-Nachbarin *Ines Thoma* danke ich für die unterhaltsamen Gespräche und anregenden Diskussionen. Weiterhin möchte ich ihr an dieser Stelle für ihren unermüdlichen Einsatz bei der Probenvorbereitung und der Aufnahme aller HPLC-MS-Spektren danken.

Mischa Ehrlich, Felix Gnerlich, Sascha Serdjukow, Ines Thoma und *Thomas Wildenhof* danke ich für ihr gewissenhaftes Korrekturlesen dieser Arbeit.

Meinen Laborkollegen danke ich für eine sehr gute Zusammenarbeit, für fruchtbare Diskussionen und eine angenehme und unterhaltsame Arbeitsatmosphäre im Labor. Unseren Labor-„DJs“ möchte ich für die ausgewogene Musikauswahl danken, auch wenn mein Musikgeschmack mal nicht getroffen wurde.

Der größte Dank geht an meine Eltern und meine Schwester. Ihr bedingungsloser Rückhalt über all die Jahre meines Studiums und der Doktorarbeit, sowie das Wissen, stets Unterstützung zu bekommen, sei es finanziell oder moralisch, haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Wissenschaftliche Publikationen

1. C. Brandmayr, M. Wagner, T. Brückl, D. Globisch, D. Pearson, A. C. Kneuttinger, V. Reiter, A. Hienzsch, S. Koch, I. Thoma, P. Thumbs, S. Michalakis, M. Müller, M. Biel, T. Carell, *Isotope-based analysis of modified tRNA nucleosides correlates modification density with translational efficiency. Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11162 – 11165.
2. T. Carell, C. Brandmayr, A. Hienzsch, M. Müller, D. Pearson, V. Reiter, I. Thoma, P. Thumbs, M. Wagner, *Structure and function of noncanonical nucleobases. Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 7110 – 7131.
3. D. Globisch, D. Pearson, A. Hienzsch, T. Brückl, M. Wagner, I. Thoma, P. Thumbs, V. Reiter, A. C. Kneuttinger, M. Müller, S. A. Sieber, T. Carell, *Systems-based analysis of modified tRNA bases. Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9739 – 9742.
4. E. Kaya, K. Gutschmiedl, M. Vrabel, M. Müller, P. Thumbs, T. Carell, *Synthesis of threefold glycosylated proteins using click chemistry and genetically encoded unnatural amino acids. ChemBioChem* **2009**, *10*, 2858 – 2861.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|------------|
| Zusammenfassung | VI |
| Summary | XIV |
| 1 Einleitung | 1 |
| 1.1 Die Wobble-Position | 1 |
| 1.1.1 Natürliche Modifikationen kanonischer Basen an der Wobble-Position..... | 1 |
| 1.1.2 Funktionen natürlicher Wobble-Modifikationen | 3 |
| 1.2 Queuosin | 7 |
| 1.2.1 Biosynthese von Queuosin und dessen glykosylierten Derivaten | 9 |
| 1.2.2 Physiologische Funktionen der Q-Familie..... | 12 |
| 1.3 Nichtkanonische Funktionen von Wobblemodifikationen und RNA-Editing..... | 20 |
| 2 Aufgabenstellung | 23 |
| 3 Ergebnisse und Diskussion | 25 |
| 3.1 Synthese von Galaktosylqueuosin | 25 |
| 3.1.1 Synthese des Galaktosyldonors 12 | 25 |
| 3.1.2 Untersuchungen zur Darstellung des Cyclopentenyamins 14 | 30 |
| 3.1.2.1 Synthese des Galaktosids 13 | 30 |
| 3.1.2.2 Untersuchungen zur Entschützung der Aminofunktion von 13 | 31 |
| 3.1.3 Synthese des Cyclopentenyamins 28 | 35 |
| 3.1.3.1 Synthese des Fmoc-geschützten Cyclopentens 24 | 35 |
| 3.1.3.2 Synthese des Galaktosids 27 | 40 |
| 3.1.3.3 Synthese des Cyclopentenyamins 28 | 41 |
| 3.1.4 Synthese von Galaktosylqueuosin (1)..... | 42 |
| 3.1.5 Identifizierung von Galaktosylqueuosin (1) | 45 |
| 3.2 Synthese von β -Mannosylqueuosin | 48 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2.1 | Voraussetzungen zur Synthese von β -Mannosylqueuosin auf Basis der Inversion von Glukose | 50 |
| 3.2.2 | Untersuchung der auf intermolekularer Inversion basierenden Syntheseroute .. | 52 |
| 3.2.2.1 | Synthese des Glukosyldonors 34 | 52 |
| 3.2.2.2 | Synthese des Glukosids 42 | 54 |
| 3.2.2.3 | Untersuchungen zur intermolekularen Inversion des Glukose-C2-Kohlenstoffzentrums | 55 |
| 3.2.3 | Synthese der β -mannosemodifizierten Cyclopentenseitenkette mittels intramolekularer Inversion | 57 |
| 3.2.3.1 | Synthese des Glukosyldonors 50 | 57 |
| 3.2.3.2 | Synthese des Glukosids 59 | 61 |
| 3.2.3.3 | Intramolekulare Inversion des Glukose-C2-Kohlenstoffzentrums von Glukosid 60 zur β -mannosylierten Queuosinseitenkette 67 | 62 |
| 3.2.4 | Synthese von β -Mannosylqueuosin (31)..... | 65 |
| 3.2.5 | Identifizierung von β -Mannosylqueuosin (31) | 67 |
| 3.3 | Synthese von α -Mannosylqueuosin | 70 |
| 3.3.1 | Ursprünglich geplante Syntheseroute zu α -Mannosylqueuosin (72)..... | 71 |
| 3.3.2 | Neue Syntheseroute zu α -Mannosylqueuosin (72) | 74 |
| 3.3.2.1 | Synthese des Mannosyldonors 92 | 75 |
| 3.3.2.2 | Synthese des α -konfigurierten Mannosids 80 | 77 |
| 3.3.2.3 | Synthese des mannosylierten Cyclopentenylamins 94 | 77 |
| 3.3.2.4 | Synthese von α -Mannosylqueuosin (72)..... | 79 |
| 3.3.2.5 | Identifizierung von α -Mannosylqueuosin (72)..... | 80 |
| 3.4 | Synthese von Glukosylqueuosin (98) | 85 |
| 3.5 | Synthese des Cyclopentenderivats 2 | 87 |
| 3.6 | Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin 29 | 89 |
| 3.7 | Synthese von α -Chlorisobuttersäure (10) | 91 |
| 3.8 | Methylierte Guanosinderivate | 93 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| 3.8.1 | Synthese von 1- <i>N</i> -Methylguanosen (m^1G) und d_3 -1- <i>N</i> -Methylguanosen (d_3-m^1G) | 94 |
| 3.8.1.1 | Synthese von 1- <i>N</i> -Methylguanosen (m^1G) (120) | 94 |
| 3.8.1.2 | Synthese von d_3 -1- <i>N</i> -Methylguanosen (d_3-m^1G) (125) | 95 |
| 3.8.2 | Synthese von 7- <i>N</i> -Methylguanosen (m^7G) und d_3 -7- <i>N</i> -Methylguanosen (d_3-m^7G) | 96 |
| 3.8.2.1 | Synthese von 7- <i>N</i> -Methylguanosen (m^7G) (126) | 96 |
| 3.8.2.2 | Synthese von d_3 -7- <i>N</i> -Methylguanosen (d_3-m^7G) (127) | 97 |
| 3.8.3 | Synthese der aminomethylierten Guanosinderivate 2- <i>N</i> -Methylguanosen (m^2G) und 2- <i>N,N</i> -Dimethylguanosen (m^2_2G) und deren schweratom-markierte Derivate d_3-m^2G und $d_3-m^2_2G$ | 97 |
| 3.8.3.1 | Synthese von 2- <i>N</i> -Methylguanosen (m^2G) (128) | 98 |
| 3.8.3.2 | Synthese von 2- <i>N,N</i> -Dimethylguanosen (m^2_2G) (129) | 99 |
| 3.8.3.3 | Synthese von d_3 -2- <i>N</i> -Methylguanosen (d_3-m^2G) (133) und d_3 -2- <i>N,N</i> - Dimethylguanosen ($d_3-m^2_2G$) (134) | 100 |
| 3.8.4 | Synthese von 2'- <i>O</i> -Methylguanosen (Gm) und d_3 -2'- <i>O</i> -Methylguanosen (d_3 -Gm) | 101 |
| 3.8.4.1 | Synthese von 2'- <i>O</i> -Methylguanosen (Gm) (137) | 101 |
| 3.8.4.2 | Synthese von d_3 -2'- <i>O</i> -Methylguanosen (d_3 -Gm) (144) | 103 |
| 3.8.5 | Synthese von 2'- <i>O</i> -2- <i>N</i> -Dimethylguanosen (m^2Gm) und 2'- <i>O</i> -2- <i>N,N</i> - Trimethylguanosen (m^2_2Gm) | 103 |
| 3.8.5.1 | Synthese von 2'- <i>O</i> -2- <i>N</i> -Dimethylguanosen (m^2Gm) (148) | 104 |
| 3.8.5.2 | Synthese vom 2'- <i>O</i> -2- <i>N,N</i> -Trimethylguanosen (m^2_2Gm) (147) | 105 |
| 3.8.5.3 | Synthese von d_3 -2'- <i>O</i> -Methyl-2- <i>N</i> -Dimethylguanosen (d_3-m^2Gm) (157) und d_3 -2'- <i>O</i> -2- <i>N,N</i> -Trimethylguanosen ($d_3-m^2_2Gm$) (158) | 107 |
| 3.8.5.4 | Oxidative Debenzylierung und alternative 6- <i>O</i> -Schutzgruppe | 108 |
| 3.8.5.4.1 | Oxidative Debenzylierung | 108 |
| 3.8.5.4.2 | 4-Nitrobenzylgruppe als alternative 6- <i>O</i> -Schutzgruppe | 109 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4 | Experimenteller Teil..... | 112 |
| 4.1 | Material und Methoden..... | 112 |
| 4.2 | Synthesevorschriften..... | 116 |
| 4.2.1 | Synthese von Galaktosylqueuosin (1)..... | 116 |
| 4.2.2 | Synthese von β -Mannosylqueuosin (31)..... | 135 |
| 4.2.3 | Synthese von α -Mannosylqueuosin (72)..... | 161 |
| 4.2.4 | Synthese von Glukosylqueuosin (98) | 181 |
| 4.2.5 | Synthese des Cyclopentens (2) | 185 |
| 4.2.6 | Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin 29 | 195 |
| 4.2.7 | Synthese von 2-Chlorisobuttersäure (10)..... | 201 |
| 4.2.8 | Synthese methylierter Guanosinderivate | 202 |
| 4.2.8.1 | Synthese von 1- <i>N</i> -Methylguanosin (120) | 202 |
| 4.2.8.2 | Synthese von d_3 -1- <i>N</i> -Methylguanosin (125)..... | 205 |
| 4.2.8.3 | Synthese von 7- <i>N</i> -Methylguanosin (126) | 207 |
| 4.2.8.4 | Synthese von d_3 -7- <i>N</i> -Methylguanosin (127)..... | 208 |
| 4.2.8.5 | Synthese von 2- <i>N</i> -Methylguanosin (128) | 209 |
| 4.2.8.6 | Synthese von 2- <i>N,N</i> -Dimethylguanosin (129) | 212 |
| 4.2.8.7 | Synthese von d_3 -2- <i>N</i> -Methylguanosin (133)..... | 215 |
| 4.2.8.8 | Synthese von (1,1,1)- d_3 -2- <i>N,N</i> -Dimethylguanosin (134) | 217 |
| 4.2.8.9 | Synthese von 2'- <i>O</i> -Methylguanosin (137) | 220 |
| 4.2.8.10 | Synthese von d_3 -2'- <i>O</i> -Methylguanosin (144)..... | 226 |
| 4.2.8.11 | Synthese von 2'- <i>O</i> -2- <i>N</i> -Dimethylguanosin (148) | 229 |
| 4.2.8.12 | Synthese von 2'- <i>O</i> -2- <i>N,N</i> -Trimethylguanosin (147)..... | 235 |
| 4.2.8.13 | Synthese von d_3 -2'- <i>O</i> -Methyl-2- <i>N</i> -methylguanosin (157)..... | 241 |
| 4.2.8.14 | Synthese von d_3 -2'- <i>O</i> -Methyl-2- <i>N,N</i> -dimethylguanosin (158)..... | 244 |
| 4.2.8.15 | Synthese von 2'- <i>O</i> -Methyl-2- <i>N</i> -methylguanosin (148) mittels 4-Nitro- benzylschützung | 247 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.2.8.16 | Synthese von 2'- <i>O</i> -Methyl-2- <i>N,N</i> -dimethylguanosin (147) mittels 4-Nitrobenzylschützung | 252 |
| 5 | Spektrenverzeichnis wichtiger Verbindungen..... | 257 |
| 6 | Abkürzungsverzeichnis..... | 278 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 282 |

Zusammenfassung

Die chemische Modifizierung der kanonischen RNA-Basen Guanosin, Adenosin, Cytosin und Uridin sowie Inosin ist ein in allen Domänen des Lebens weit verbreitetes Instrument zur Regulierung der Translation. Entsprechend den zellulären Anforderungen der jeweiligen Spezies wurde im Laufe der Evolution ein umfangreiches Repertoire chemisch unterschiedlicher Nukleoside geschaffen. Dieses umfasst bislang insgesamt 110 Modifikationen, wobei sich mehr als 90 ausschließlich auf die tRNA beschränken. Von besonderem Interesse sind hierbei sogenannte Hypermodifikationen, hochmodifizierte Nukleoside, deren kanonisches Grundgerüst durch komplexe Seitenketten erweitert wurde. Zahlreiche Studien zur Aufklärung ihrer Funktionen belegen, dass ihr Aufgabenbereich in der Feinjustierung der Kodonerkennung liegt. Weiterführende Untersuchungen zeigen, dass sich ihr Einfluss sogar auf zelluläre Prozesse weit abseits der Proteinbiosynthese erstreckt und sie somit eine weitere Kontrollebene eröffnen. Ein besonderes Augenmerk richtet sich auf die etwa 30 Modifikationen an der Wobble-Position einer tRNA – der ersten Position jedes Antikodons. Im Zusammenhang mit deren Einfluss auf die Kodonerkennung, die zu etwa 40% über eine Wobble-Basenpaarung verläuft, und der Tatsache, dass die Abwesenheit bestimmter Modifizierungen zu einem schweren Krankheitsbild führen kann, offenbart sich eine wichtige Rolle dieser Modifikationen.

Eine der außergewöhnlichsten Hypermodifikationen an der Wobble-Position ist Queuosin, das neben der Einführung einer Cyclopentenseitenkette zusätzlich eine Umbildung des kanonischen Grundgerüsts zu einem Desazaguanosin erfahren hat (Abb. 1). Untersuchungen der letzten Jahrzehnte lieferten Einblicke in die Funktion dieser Modifikation sowie dessen freier Base Queuin, welche auf ein breites Aufgabenfeld teils abseits der Proteinbiosynthese schließen lassen. Dagegen ist die Funktion der ausschließlich in Tieren vorkommenden glykosylierten Derivate von Queuosin, Galaktosylqueuosin (galQ, **1**) und Mannosylqueuosin (manQ, **31**) (Abb. 1), weiterhin ungeklärt. Im Gegensatz zu Queuosin, dessen Struktur u.a. durch Totalsynthese eindeutig bewiesen werden konnte, basiert die Struktur dieser beiden Nukleoside im Wesentlichen auf NMR-spektroskopischen Untersuchungen einer natürlichen Probe. Eine Totalsynthese von Galaktosylqueuosin und Mannosylqueuosin zur endgültigen Klärung des strukturellen Aufbaus war bislang nicht bekannt.

Basierend auf einer konvergenten Synthesestrategie konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit Galaktosylqueuosin (**1**) und Mannosylqueuosin (**31**) erstmals totalsynthetisch dargestellt werden (Abb. 1).

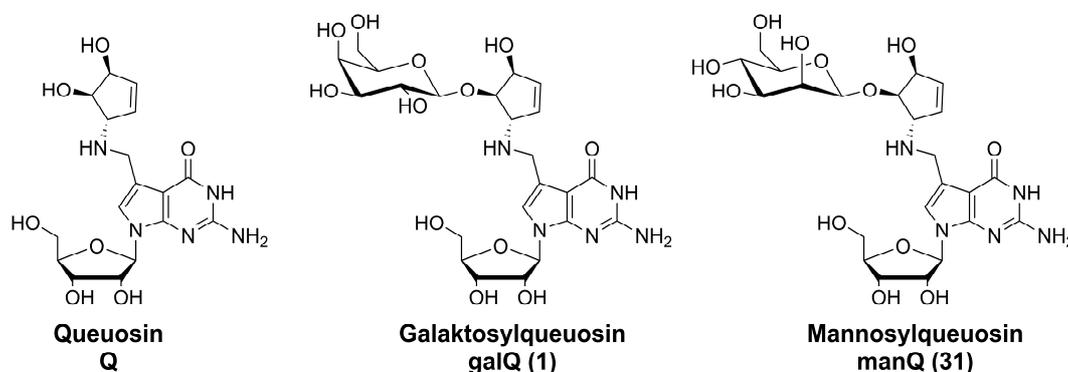
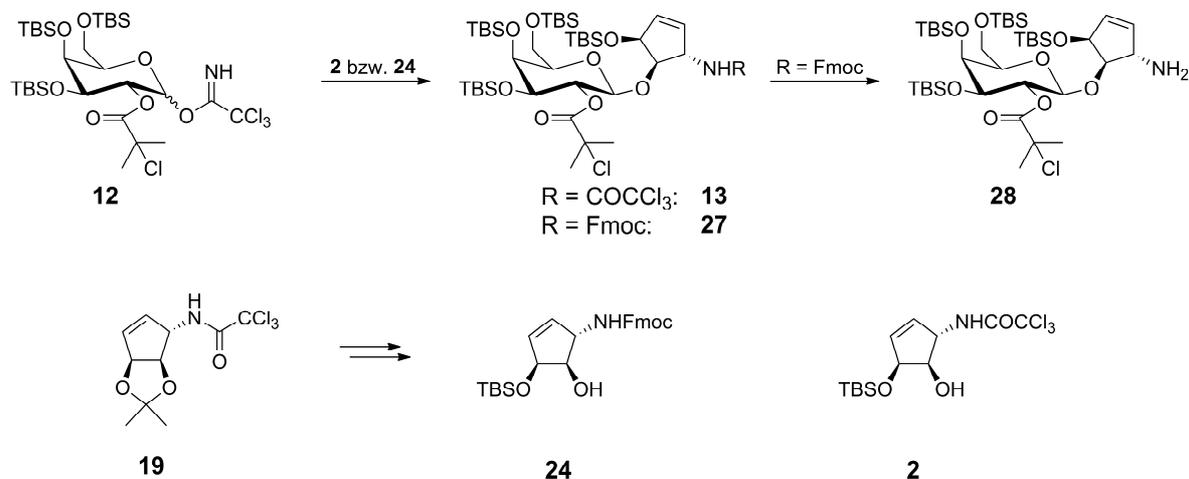
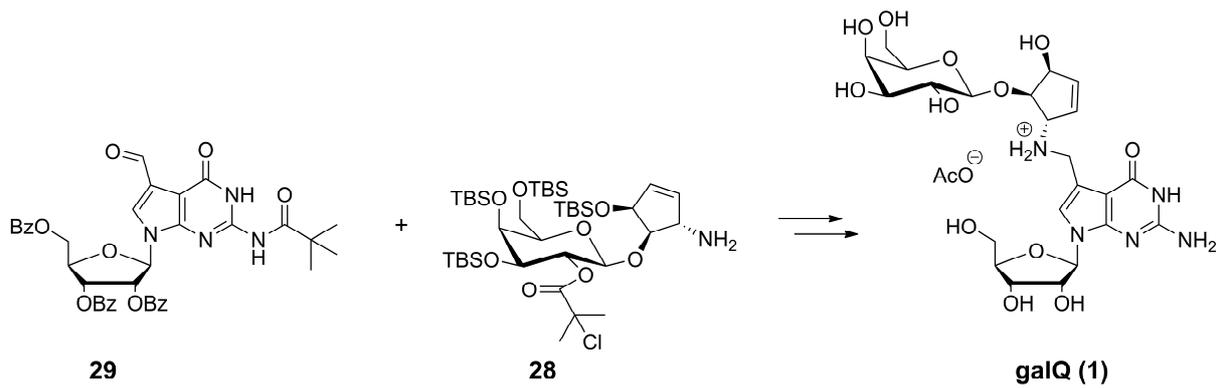


Abb. 1: Queuosin und seine glykosylierten Derivate Galaktosylqueuosin und Mannosylqueuosin.

Der Galaktosedonor **12** wurde synthetisiert und erfolgreich zur Anknüpfung des Galaktose-rests an die nichtallylische Position des Cyclopentens **2** mittels direkter stereoselektiver β -Glykosylierung eingesetzt (Schema 1). Allerdings zeigte sich die Trichloracetamidgruppe des resultierenden Galaktosids **13** resistent gegenüber der Abspaltung unter basischen Bedingungen. Mit Entwicklung der Synthese des Fmoc-geschützten Cyclopentens **24** konnte nach stereoselektiver Einführung des Galaktoserests die Aminofunktion erfolgreich entschützt werden. Nach Umsetzung des freien Amins **28** mit Aldehyd **29** unter reduktiven Bedingungen wurde Galaktosylqueuosin (**1**) nach vollständiger Entschützung erstmalig auf synthetischem Wege isoliert (Schema 2).



Schema 1: Schlüsselschritte der Darstellung des galaktosemodifizierten Cyclopentenderivats **28**.



Schema 2: Reduktive Aminierung und vollständige Entschützung zu Galaktosylqueuosin (**1**). (Nach Aufreinigung mittels HPLC wurde das Acetatsalz erhalten.)

Für die endgültige Klärung der Struktur natürlichen Galaktosylqueuosins wurde der enzymatische Verdau einer tRNA-Probe aus Schweineleber mit synthetischem Galaktosylqueuosin versetzt und LC-MS-analytisch untersucht. Durch Zunahme der Signalintensität des natürlichen Galaktosylqueuosins ohne das Auftreten weiterer Signale konnte der strukturelle Aufbau eindeutig bewiesen werden (Abb. 2). Das Nucleosid wurde erstmals vollständig NMR-spektroskopisch charakterisiert.

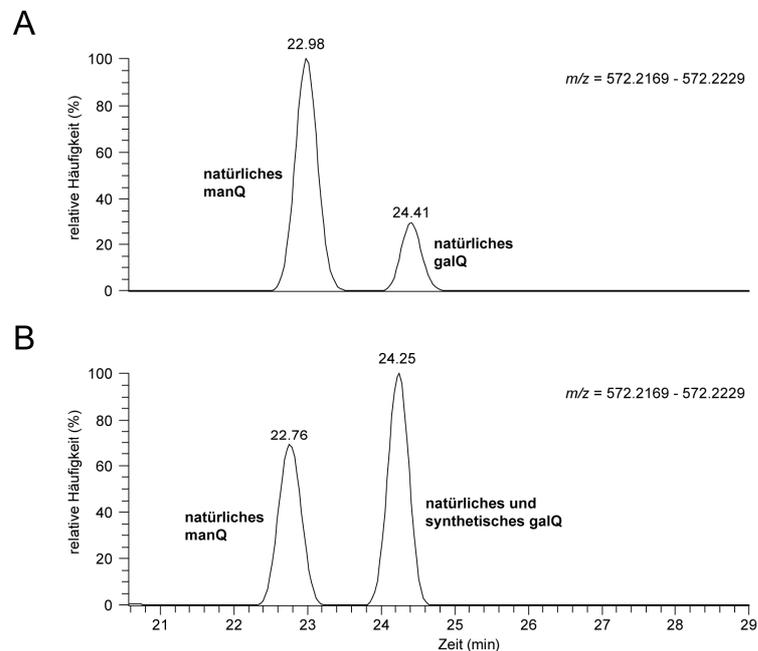
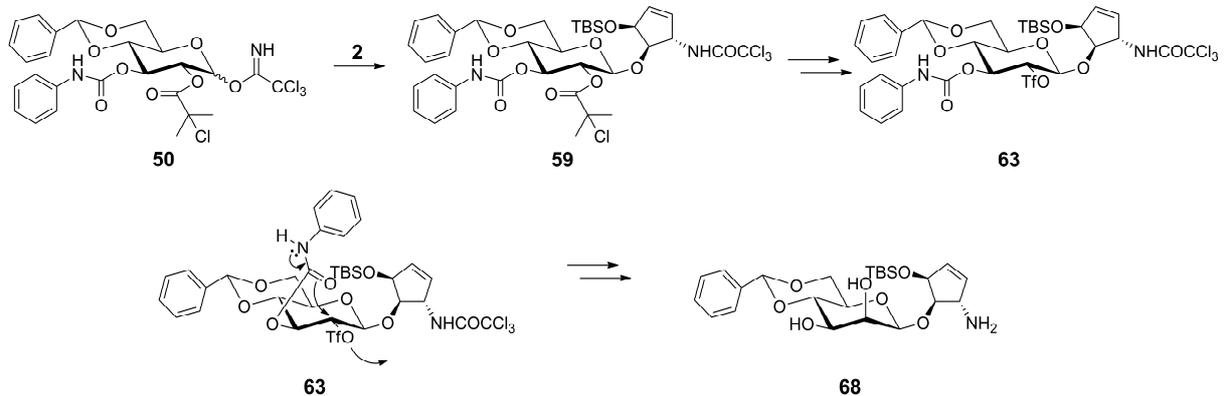


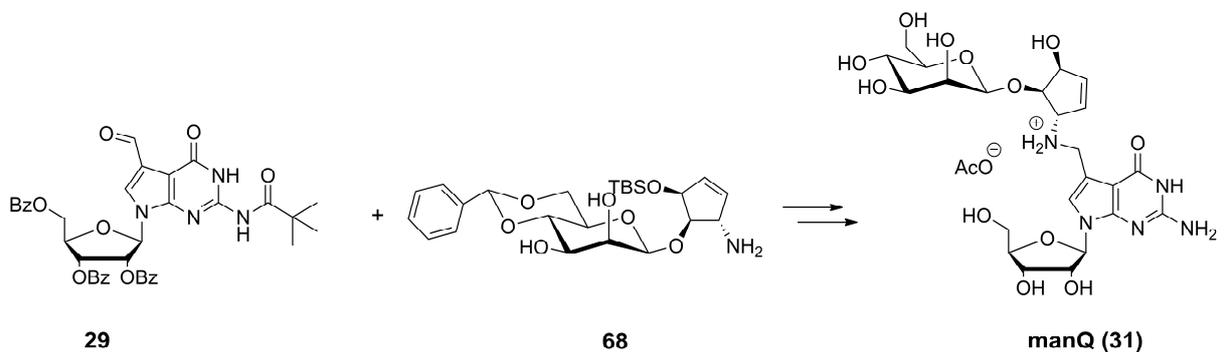
Abb. 2: A: LC-MS-analytische Untersuchung des Verdau der natürlichen tRNA-Probe. B: Intensitätszunahme des Signals von Galaktosylqueuosin durch Koinjektion von synthetischem galQ. (Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in beiden Graphiken nur Nucleoside mit $m/z = 572.2169 - 572.2229$ berücksichtigt.)

Zur Synthese von Mannosylqueuosin (**31**) wurde eine indirekte Methode auf Basis der Inversion eines zuvor β -selektiv eingeführten Glukoserests für die Darstellung des β -mannosemodifizierten Cyclopentenderivats gewählt. Die Untersuchung intermolekularer und intramolekularer Methoden führte zu dem Ergebnis, dass der β -mannosylierte Cyclopentenbaustein **68** ausschließlich über die intramolekulare Inversion erfolgreich zugänglich ist (Schema 3). Bestätigt wurde die Inversion mittels einer NMR-spektroskopischen Untersuchung, sowie durch die Synthese des entsprechenden glukosemodifizierten Cyclopentenderivats und dem Abgleich mit dessen spektroskopischen Daten.



Schema 3: Schlüsselschritt der Synthese von Mannosylqueuosin (**31**). Intramolekulare Inversion des β -konfigurierten Glukosids **63** zu Mannosederivat **68**.

Durch Umsetzung des freien Amins **68** mit Aldehyd **29** unter reduktiven Bedingungen konnte nach vollständiger Entschützung Mannosylqueuosin (**31**) erstmalig totalsynthetisch erhalten werden (Schema 4).



Schema 4: Reduktive Aminierung und vollständige Entschützung zu Mannosylqueuosin (**31**). (Nach Aufreinigung mittels HPLC wurde das Acetatsalz erhalten.)

Entsprechend der Vorgehensweise bei Galaktosylqueuosin wurde der Verdau einer natürlichen tRNA-Probe mit synthetischem Mannosylqueuosin versetzt und LC-MS-analytisch untersucht. Entgegen der erwarteten Intensitätszunahme des Signals von natürlichem Mannosylqueuosin konnte jedoch ein Signal bei höherer Retentionszeit beobachtet werden (Abb. 3). Dieses Ergebnis ist Beweis dafür, dass die Struktur des natürlichen Nukleosids von dem synthetischen Material abweicht.

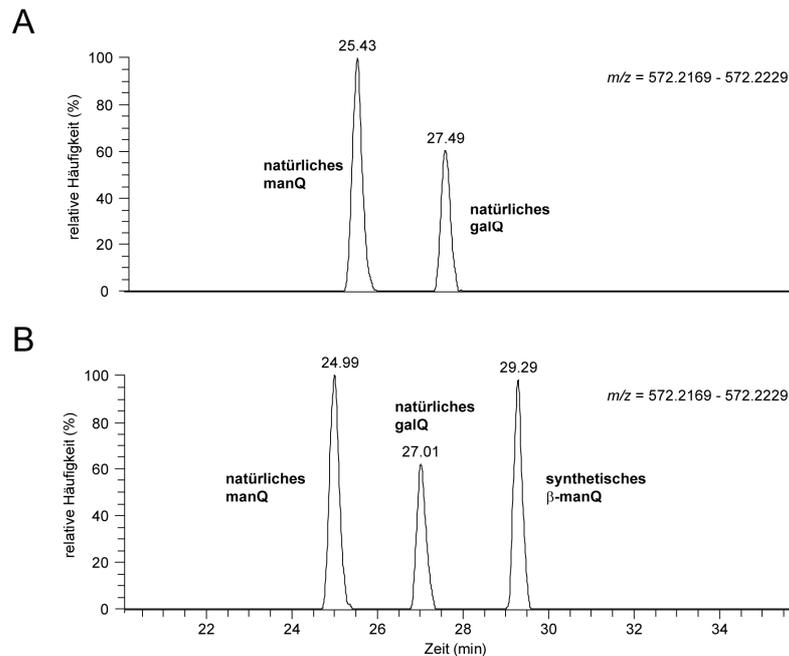


Abb. 3: A: LC-MS-analytische Untersuchung des Verdaus der natürlichen tRNA-Probe. B: Ergebnis des Koinjektionsexperiments eines Verdaus natürlicher tRNA versetzt mit synthetischem β -manQ. (Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in beiden Graphiken nur Nucleoside mit $m/z = 572.2169 - 572.2229$ berücksichtigt.)

Mittels LC-MS-Fragmentierungsexperimenten konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass natürliches und synthetisches Mannosylqueuosin ein nahezu identisches Fragmentspektrum besitzen und demzufolge das natürliche Nucleosid eine ähnliche Struktur aufweisen sollte (Abb. 4). Aus diesem Ergebnis wurde eine α -konfigurierte *O*-glykosidische Bindung der Mannose zum Cyclopentenrest abgeleitet.

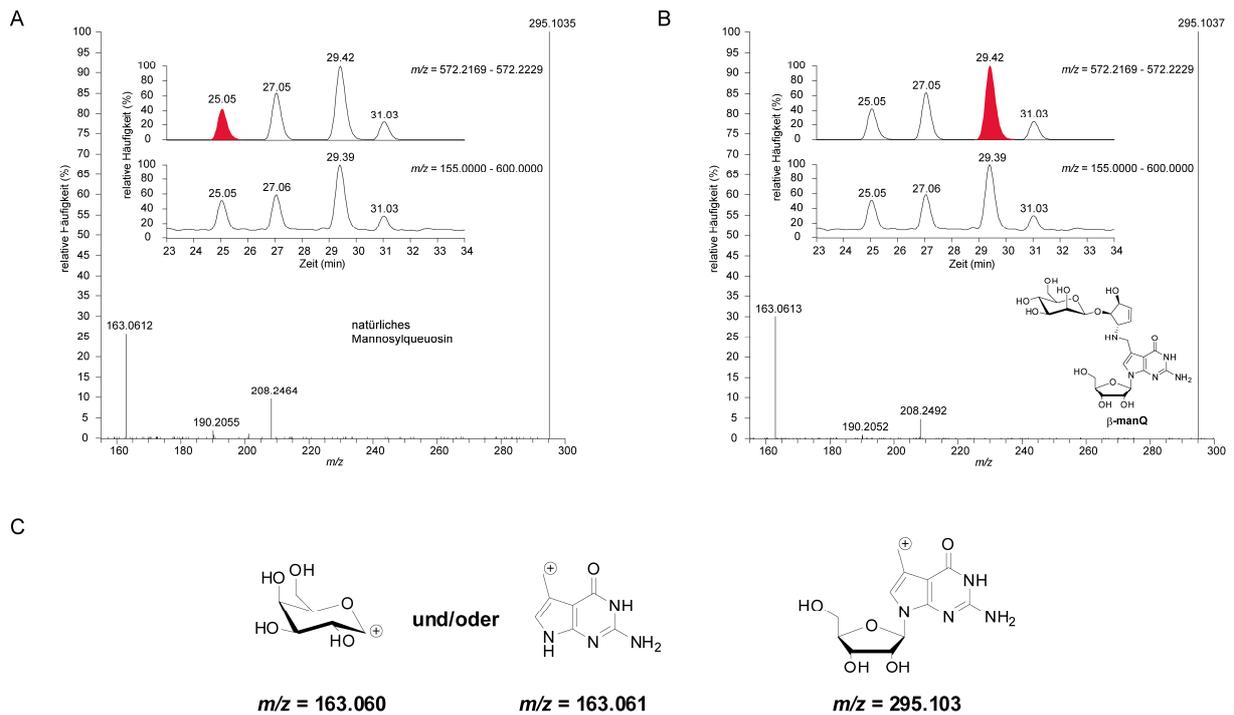
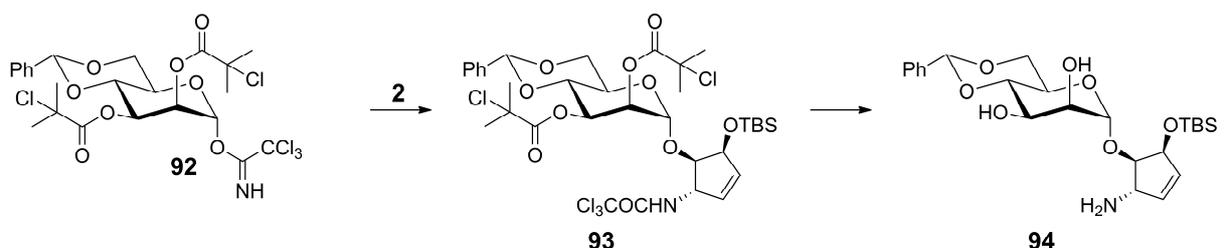
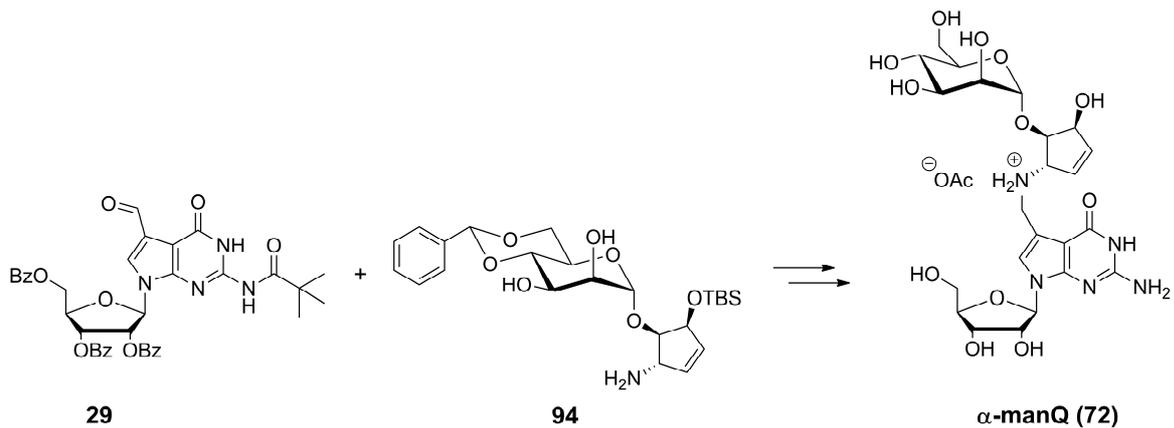


Abb. 4: A und B: Fragmentspektrum des natürlichen Nucleosids (A) und von synthetischen β -Mannosylqueosin (B). Die Inset-Spektren zeigen die Massespur der LC-MS analytischen Untersuchung des Verdaus einer natürlichen tRNA-Probe mit dem koinjizierten synthetisch dargestellten Mannosylqueosin. Das dem jeweiligen Queosinderivat entsprechende Signal ist farbig hinterlegt. Die weiteren Signale sind natürlichem und synthetischem Galaktosylqueosin (27.05 min) und synthetischem Glukosylqueosin (31.03 min) zuzuordnen. Die Signale bei $m/z = 190.21$ und $m/z = 208.24$ sind nicht dem jeweiligen Nucleosid zuordenbare Artefaktsignale. C: Strukturen der Hauptfragmente während der Fragmentierungsexperimente in MS/MS-Spektren von natürlichem Mannosylqueosin und synthetischem β -Mannosylqueosin.

Eine erfolgreiche stereokontrollierte Einführung eines α -konfigurierten Mannoserest in die nichtallylische Position des Cyclopentens **2** gelang mit Hilfe des Mannosendonors **92**. Nach Überführung des resultierenden Mannosids **93** in das entsprechende freie Amin **94** (Schema 5) konnte α -Mannosylqueosin (**72**) nach reduktiver Aminierung des Aldehyds **29** und vollständiger Entschützung isoliert werden (Schema 6).



Schema 5: Stereokontrollierte Synthese des α -konfigurierten mannosemodifizierten Cyclopentenderivats **94**.



Schema 6: Reduktive Aminierung und vollständige Entschützung zu α -Mannosylqueuosin (**72**). (Nach Aufreinigung mittels HPLC wurde das Acetatsalz erhalten.)

Die Umkehr der Konfiguration der *O*-glykosidischen Bindung zu α -Mannosylqueuosin (**72**) führte zu einer deutlichen Steigerung der Polarität des Nucleosids (Abb. 5), jedoch zu keiner vollständigen Überlagerung mit dem Signal des natürlichen Mannosylqueuosins.

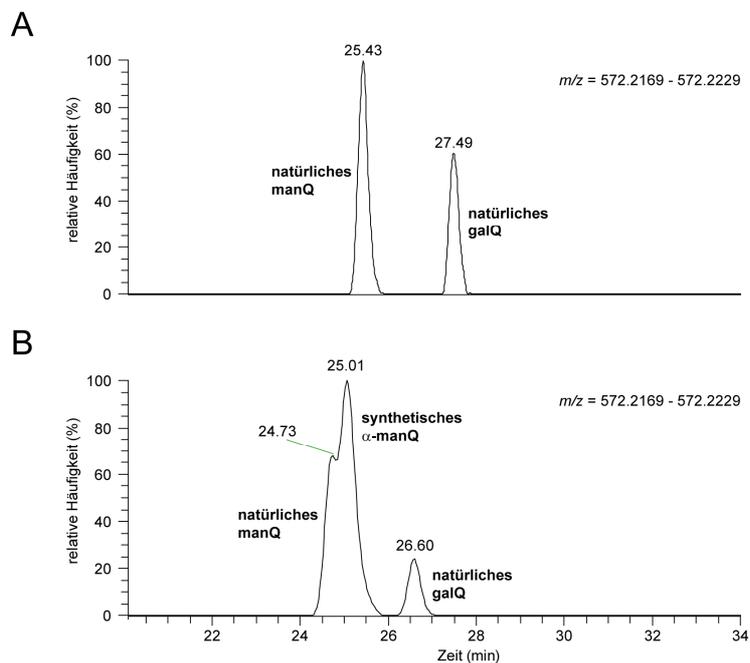


Abb. 5: A: LC-MS-analytische Untersuchung des Verdaus der natürlichen tRNA-Probe. B: Ergebnis des Koinjektionsexperiments eines Verdaus natürlicher tRNA versetzt mit synthetischem α -manQ. (Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in beiden Graphiken nur Nucleoside mit $m/z = 572.2169 - 572.2229$ berücksichtigt.)

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Abspaltung der Aminoschutzgruppe aller im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten Glykoside stark von der Polarität des jeweiligen Zuckerrests abhängig ist. Hoch apolare Schutzgruppen wie zum Beispiel TBS oder

TES konnten die Entfernung der Aminoschutzgruppe in polaren Medien vollständig unterbinden. Polare Glykoside ließen sich hingegen problemlos in die entsprechenden freien Amine überführen.

Die Darstellung der in Abb. 6 gezeigten sieben methylierten Guanosinderivate war Teil eines Projekts im Arbeitskreis *Carell* zur quantitativen Ermittlung des Modifikationsgrades extrahierter Gesamt-tRNA basierend auf einer HPLC-MS Analysemethode. Grundlage für diese Quantifizierungsmethode sind schweratommarkierte Derivate der natürlich vorkommenden Nukleoside, weshalb zusätzlich die isotope markierten Methylmodifikationen von Guanosin synthetisiert wurden (Abb. 6). Zusätzlich konnte erstmals 2'-O-2-N-Dimethylguanodin (m²Gm) totalsynthetisch erhalten werden.

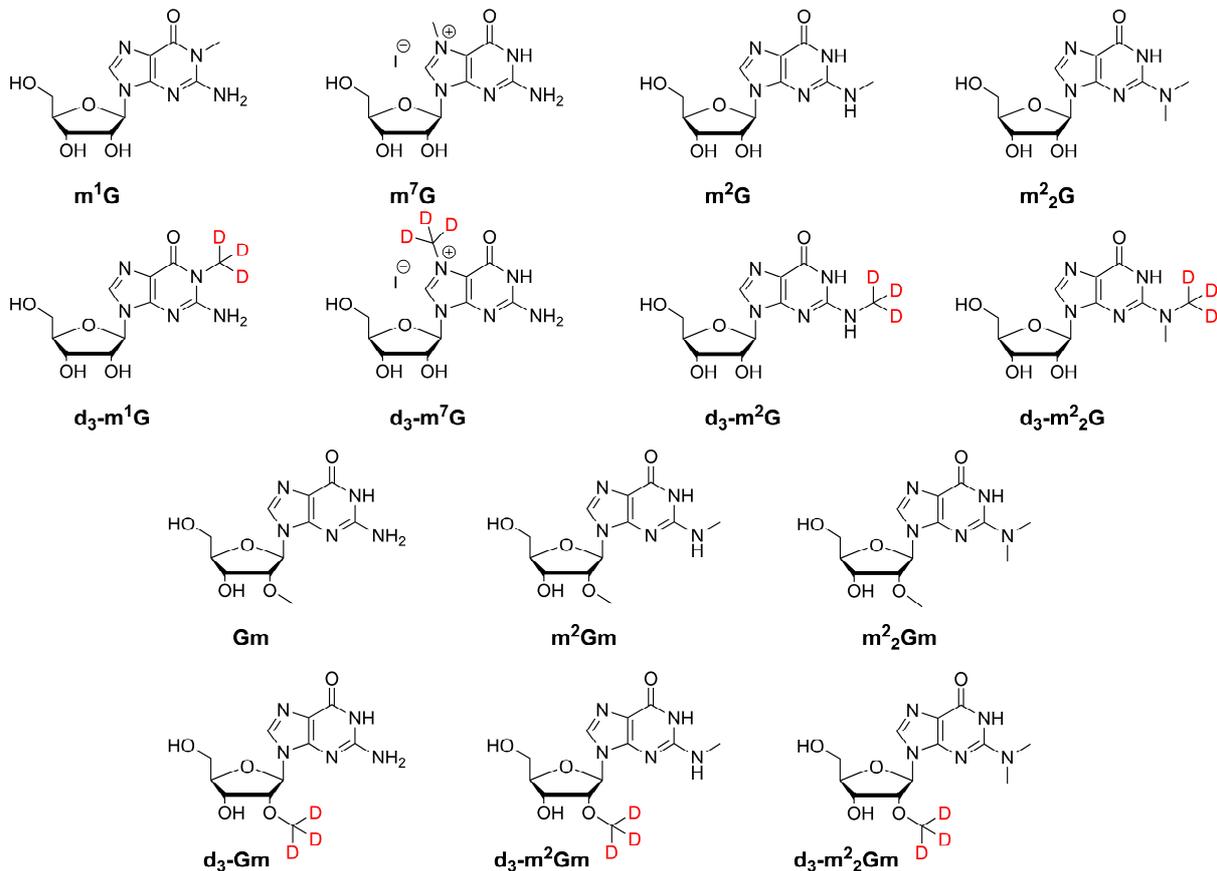


Abb. 6: Synthetisierte Methylguanosine und deren schweratommarkierte Derivate. Die Schweratommarkierung ist rot hervorgehoben.

Summary

Chemical modification of the canonical RNA bases guanosine, adenosine, cytosine and uridine as well as inosine is a prevalent tool mainly used for the regulation of translation in all kingdoms of life. Pursuant to cellular requirements of the respective species a large repertoire of chemically diverse nucleosides has been evolved in the course of evolution containing a total of 110 modifications to date, whereupon more than 90 are exclusively limited to tRNA. Particularly interesting are hypermodifications, highly modified nucleosides with additional complex side chains, extending their canonical core structure. Studies for clarifying their functions prove that their task area involves fine-tuning of codon recognition. Further investigations show that their influence extends over cellular processes far apart from protein biosynthesis and hence they open up an additional level of control. Special attention deserve about 30 modifications at the wobble position of tRNA – the first position of each anticodon. The codon recognition, 40% of which is accomplished *via* wobble base pairing, along with the fact, that certain absent modifications are responsible for fatal diseases reveal the importance of these modifications.

One of the most exceptional hypermodifications at the wobble position is queuosine featuring a cyclopentene side chain, which experienced an additional rearrangement of the canonical core structure to a deazaguanosine (Fig. 1). Investigations over the last decades provided insight into the function of this modification and its free base queuine suggesting a major influence on processes aside from protein biosynthesis. In contrast, the function of the glycosylated derivatives galactosyl-queuosine (galQ, **1**) and mannosyl-queuosine (manQ, **31**) (Fig. 1), which are exclusively found in animals, is unknown. Contrary to queuosine, whose structure has been unambiguously assigned by total synthesis, the structure of these both nucleosides is mainly based on NMR-spectroscopic investigations of a natural sample. A total synthesis of galactosyl-queuosine and mannosyl-queuosine to finally clarify their structural constitution was not performed.

Based on a convergent synthesis strategy galactosyl-queuosine (**1**) and mannosyl-queuosine (**31**) were synthesized for the first time in the course of the present work (Fig. 1).

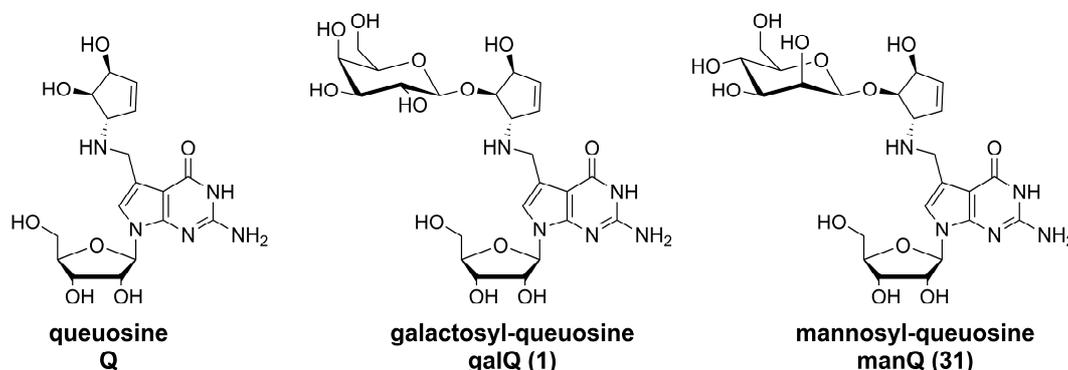
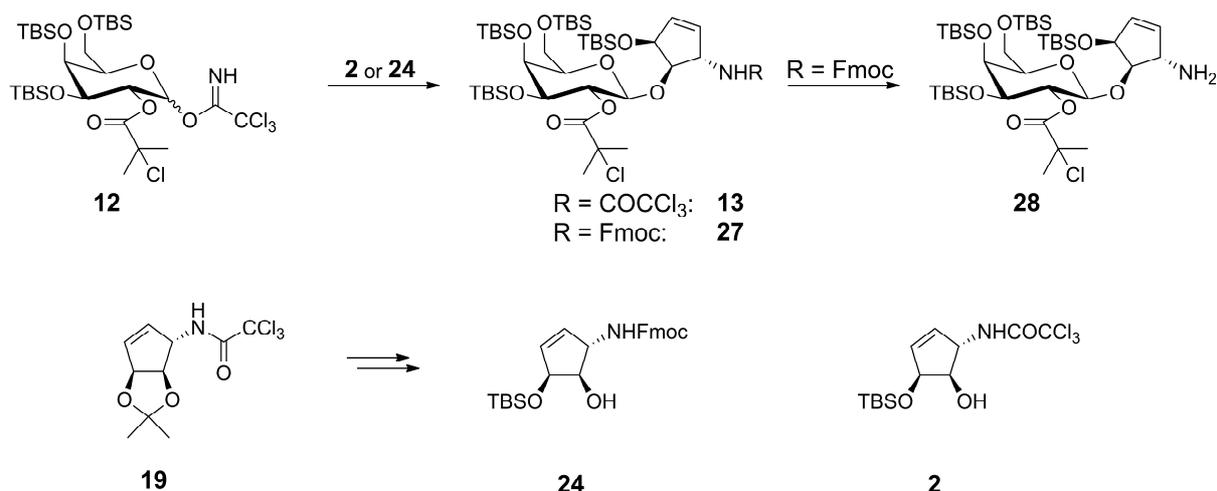
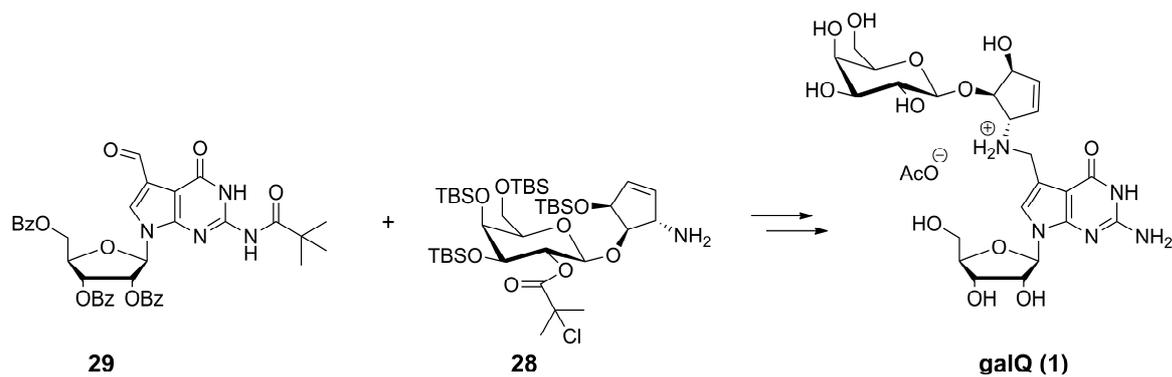


Fig. 1: Queuosine and its glycosylated derivatives galactosyl-queuosine (**1**) and mannosyl-queuosine (**31**).

Galactosyl donor **12** was prepared and successfully employed for the introduction of a galactosyl moiety into the non-allylic position of cyclopentene **2** *via* direct stereoselective β -glycosylation. However, the trichloroacetamide group of the resulting galactoside **13** proved to be resistant toward basic cleavage. By means of development of the synthesis of Fmoc-protected cyclopentene **24** the amino group was successfully deprotected after the galactose moiety was introduced stereoselectively. Reaction of free amine **28** with aldehyde **29** under reductive conditions provided galactosylqueuosine (**1**) after global deprotection for the first time.



Scheme 1: Key steps of the synthesis of galactose modified cyclopentene derivative **28**.



Scheme 2: Reductive amination and global deprotection toward galactosyl-queuosine (1). (After purification *via* HPLC the acetate salt was obtained.)

On the way to assign the structure of natural galactosyl-queuosine an enzymatic digest of a tRNA sample extracted from pork liver was spiked with synthetic galactosyl-queuosine and analyzed using LC-MS-techniques. The constitution was unambiguously proven by means of the increase of the signal intensity of natural galactosyl-queuosine without the appearance of an additional signal.

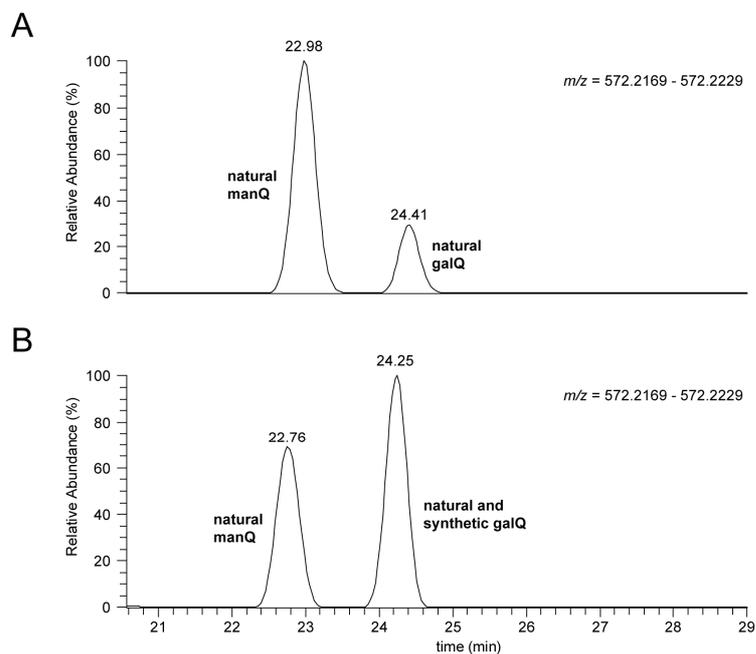
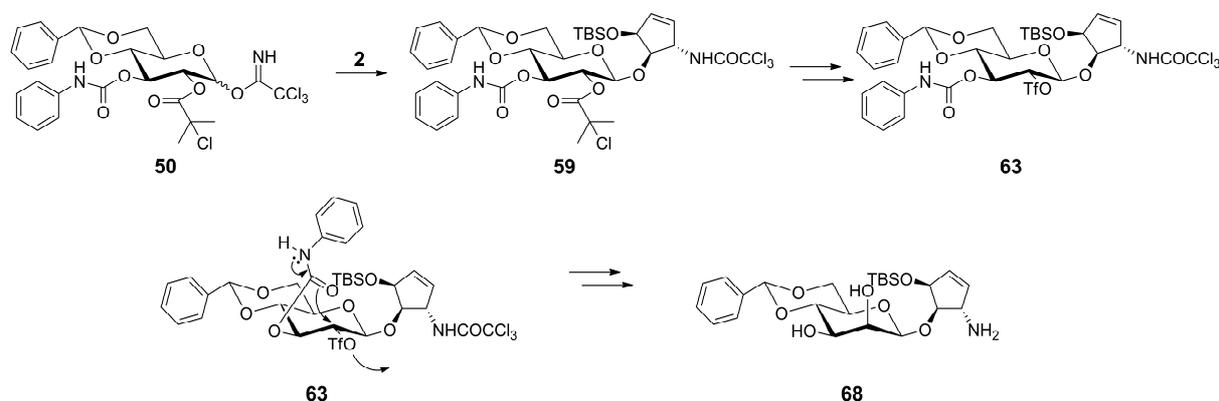


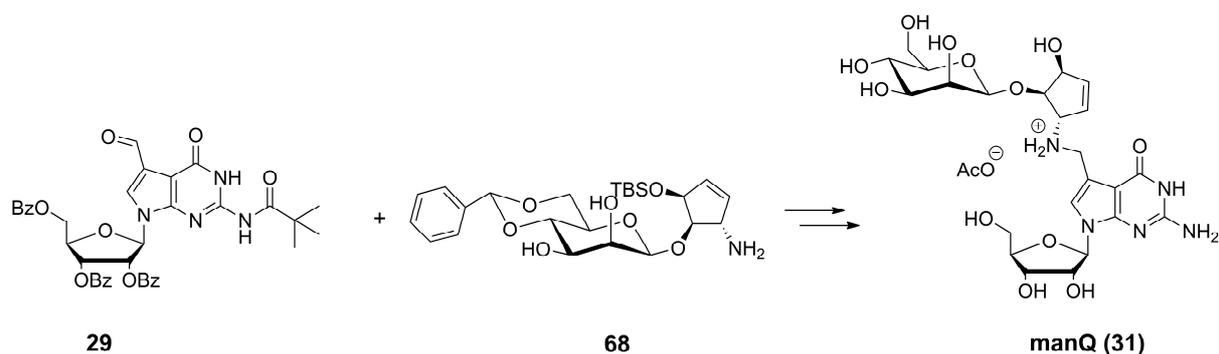
Fig. 2: A: LC-MS based analysis of a digest of a natural tRNA sample. B: Result of co-injection experiments of a digest of a natural tRNA sample spiked with synthetic galQ. (For reasons of clarity only nucleosides with $m/z = 572.2169 - 572.2229$ are considered.)

Concerning the synthesis of mannosyl-queuosine (**31**) an indirect method based on the inversion of a previously β -selectively introduced glucose moiety was chosen to prepare a β -mannose modified cyclopentene derivative. The investigation of intermolecular as well as intramolecular methods provided the result, that the β -mannosylated cyclopentene building block **68** is only available *via* an intramolecular inversion (scheme 3). The inversion was proven both by NMR-spectroscopic analysis and *via* the synthesis of the corresponding glucose modified cyclopentene derivative followed by a comparison of spectroscopic data of both diastereomeric compounds.



Scheme 3: Key step of the synthesis of mannosyl-queuosine (**31**). Intramolecular inversion of the β -configured glucoside **63** to mannose derivative **68**.

Reaction of free amine **68** with aldehyde **29** under reductive conditions furnished synthetic mannosyl-queuosine (**31**) after global deprotection.



Scheme 4: Reductive amination and global deprotection toward mannosyl-queuosine (**31**). (After purification *via* HPLC the acetate salt was obtained.)

Following the procedure applied for galactosyl-queuosine a digest of a natural tRNA sample was spiked with synthetic mannosyl-queuosine and subjected to LC-MS-analysis. Contrary to the expected increase in signal intensity of natural mannosyl-queuosine an additional signal at higher retention time appeared (Fig. 3). This result provided the proof that the constitution of natural mannosyl-queuosine does not comply with the structure previously derived from NMR-spectroscopic investigations.

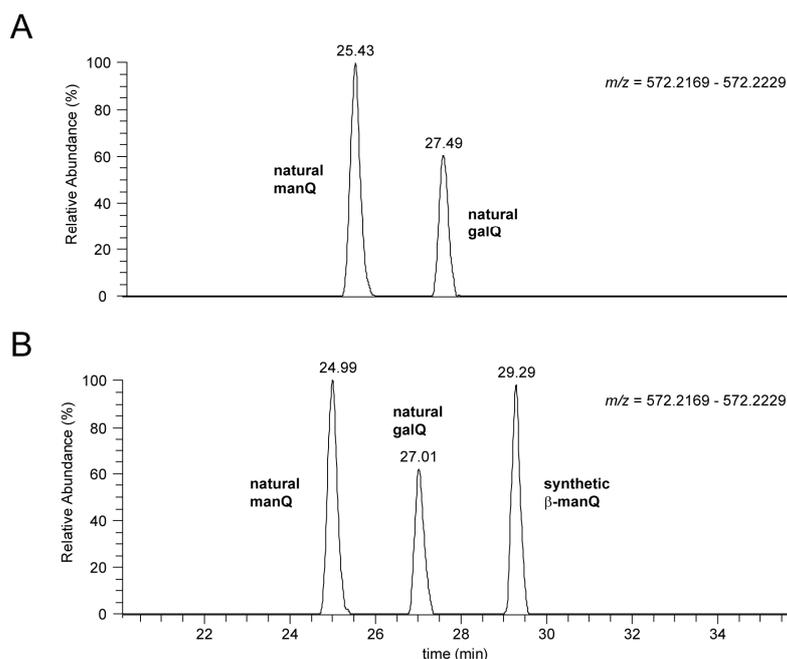


Fig. 3: A: LC-MS based analysis of a digest of a natural tRNA sample. B: Result of co-injection experiments of a digest of a natural tRNA sample spiked with synthetic β -manQ. (For reasons of clarity in both picture only nucleosides with $m/z = 572.2169 - 572.2229$ are considered.)

In the present work by use of LC-MS fragmentation experiments, it was shown that natural and synthetic mannosyl-queuosine exhibit virtual identical fragmentation spectra and hence a similar structure (Fig. 4). Thus an α -configured *O*-glycosidic bond between the mannose moiety and the cyclopentene residue was speculated to be the cause for the discrepancy.

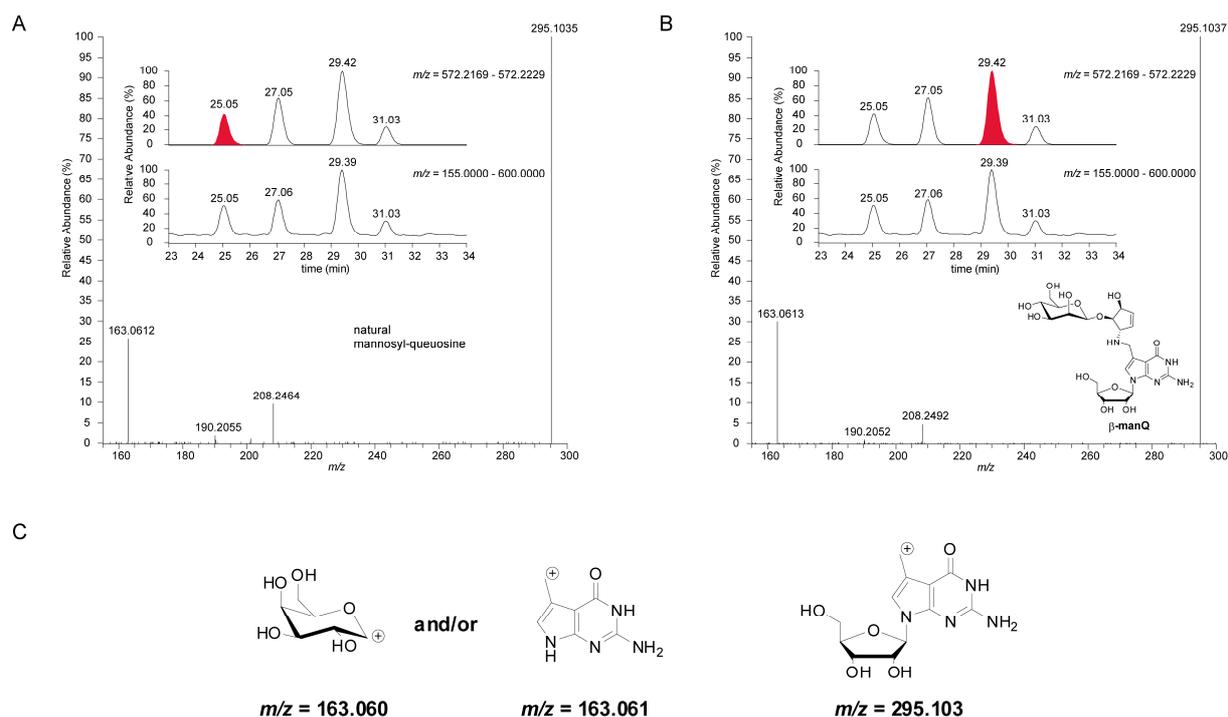
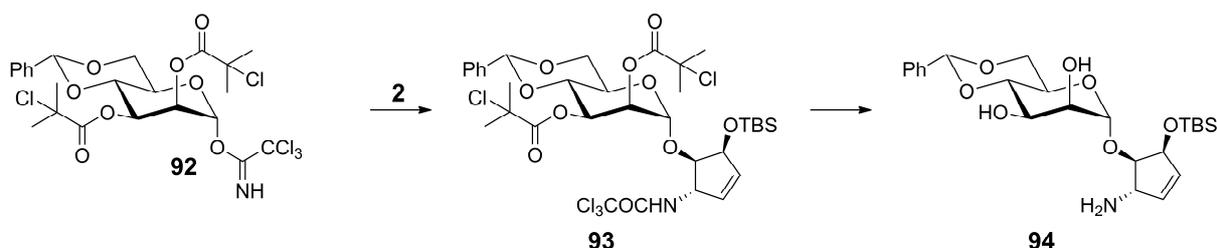
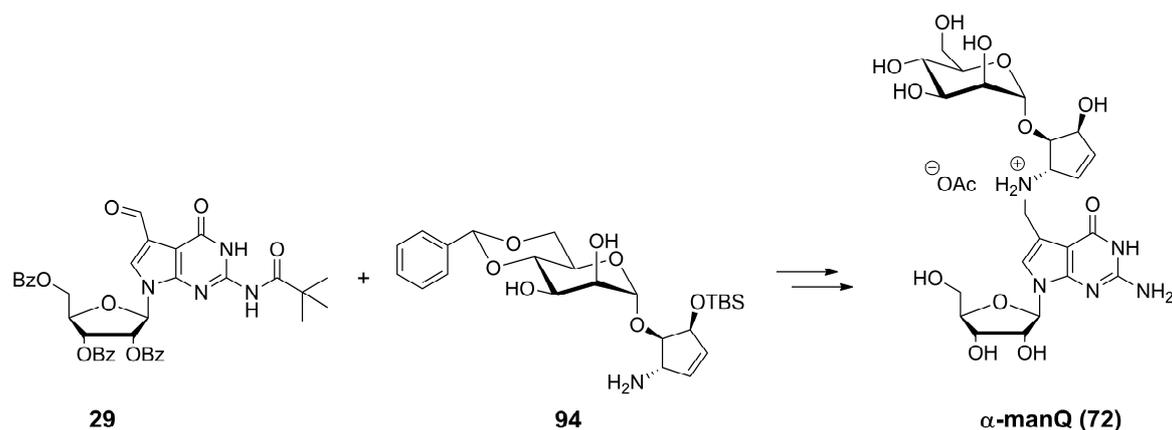


Fig. 4: A and B: Fragmentation spectra of the natural nucleoside (A) and synthetic mannosyl-queuosine (B). The inset-spectra show the mass trace of the LC-MS-analysis of the digest of a natural tRNA sample spiked with synthetic samples mannosyl-queuosine, galactosyl-queuosine and glucosyl-queuosine. Signals corresponding to natural mannosyl-queuosine and synthetic β -mannosyl-queuosine are highlighted in red. Further signals can be assigned to natural and synthetic galactosyl-queuosine (27.05 min) and synthetic glucosyl-queuosine (31.03 min). Signals at $m/z = 190.21$ and $m/z = 208.25$ are artifact signals not relating to the respective nucleoside. C: Structures of main fragments detected in MS/MS-fragmentation experiments of natural mannosyl-queuosine and synthetic β -mannosyl-queuosine.

The α -configured mannose moiety was successfully introduced into the non-allylic position of cyclopentene **2** in a stereocontrolled way using the mannose donor **92**. After conversion of the resulting mannoside **93** into the corresponding free amine **94** (scheme 5), α -mannosyl-queuosine (**72**) was obtained *via* a reductive amination followed by global deprotection (scheme 6).



Scheme 5: Stereocontrolled synthesis of the α -configured mannose modified cyclopentene derivative **94**.



Scheme 6: Reductive amination and global deprotection toward α -mannosyl-queuosine (**72**). (After purification via HPLC the acetate salt was obtained.)

The inversion of the configuration of the *O*-glycosidic bond provided the compound with a considerable increase of its polarity (Fig. 5). However, there was no total match with the signal of natural mannosyl-queuosine.

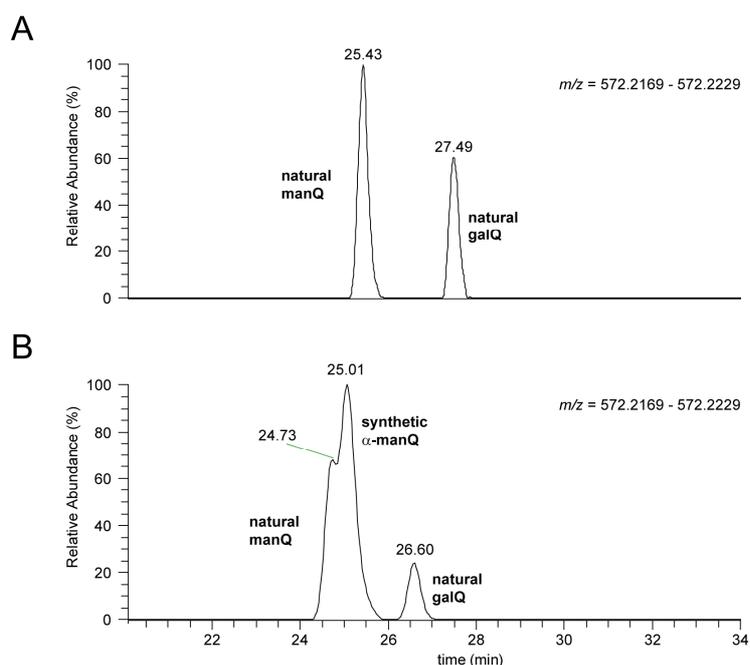


Fig. 5: A: LC-MS based analysis of a digest of a natural tRNA sample. B: Result of co-injection experiments of a digest of a natural tRNA sample spiked with synthetic β -manQ. (For reasons of clarity in both picture only nucleosides with $m/z = 572.2169 - 572.2229$ are considered.)

In the present work it was further shown that the cleavage of the amino protecting group of all synthesized glycosides herein is strongly dependent on the polarity of the particular sugar moiety. High apolar protecting groups like TBS or TES totally prevented the removal of the

amino protecting group. In contrast polar glycosides could be converted into the corresponding free amine effortlessly.

The synthesis of seven methylated guanosine derivatives shown in Fig. 6 was part of a project in the *Carell* group for quantitative evaluation of the modification level of extracted bulk tRNA based on a HPLC-MS analysis method. Fundamental for investigating particular quantitative data is the availability of isotopically labeled derivatives of the naturally occurring nucleosides. To this end the heavy atom labeled methyl modifications of guanosine were synthesized (Fig. 6). In the course of this work the first synthetic route to 2'-*O*-2-*N*-dimethylguanosine (m^2Gm) was established.

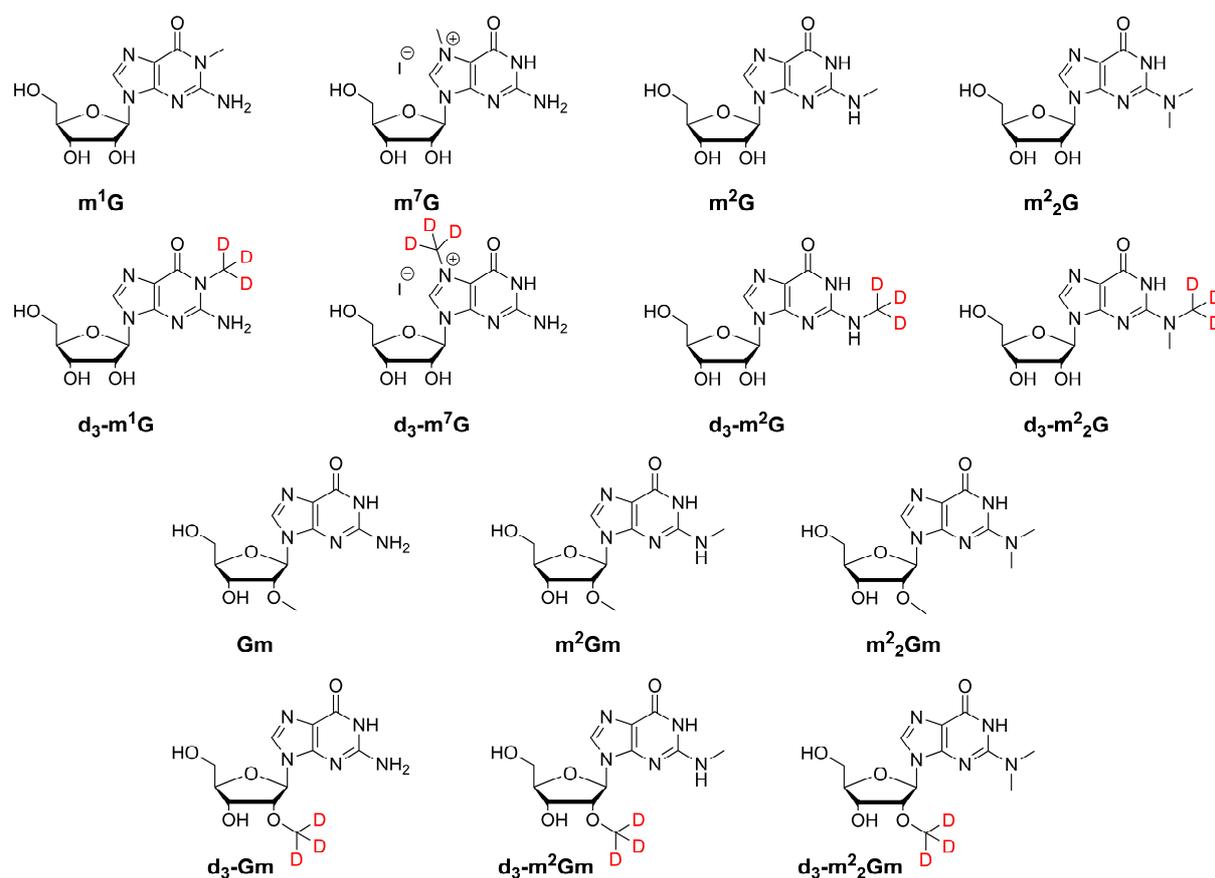


Fig. 6: Synthesized methyl guanosines and their heavy atom labeled derivatives. The isotope label is highlighted in red.

1 Einleitung

1.1 Die Wobble-Position

1.1.1 Natürliche Modifikationen kanonischer Basen an der Wobble-Position

Der Begriff „Wobble-Position“ bezeichnet die erste Stelle (Position 34) des drei Basen umfassenden Antikodons (Base 34 – 36) einer Transfer-Ribonukleinsäure (tRNA) (Abb. 7, A) und geht auf eine Veröffentlichung von *Francis Crick* zurück.^[1] Die wesentliche Aufgabe der tRNA ist die Dekodierung der in Messenger-Ribonukleinsäure (mRNA) enthaltenen genetischen Information im Zuge der Proteinsynthese. Mit Hilfe der Wobble-Hypothese versuchte *Crick* die Degeneriertheit des genetischen Codes, d.h. mehrere Basentriplets kodieren eine Aminosäure (Abb. 7, B), zu erklären. Er postulierte, dass die zweite und dritte Position des Antikodons strikt einer Watson-Crick-Basenpaarung folgt, wohingegen die erste Stelle eine höhere Flexibilität der Basenpaarungsspezifität besitzt.^[1] Unterstützt wurde diese These durch die Bindungspräferenz von Inosin, der ersten aufgefundenen Modifizierung einer kanonischen Base, welche eine Basenpaarung zu Adenosin (A), Cytosin (C) und Uridin (U) eingehen kann.^[1-3] *Crick* vermutete bereits richtig, dass Inosin eine von Adenosin abstammende Modifizierung darstellt.^[1]

Tatsächlich wurden in den letzten fünf Jahrzehnten 110 verschiedene RNA-Modifikationen gefunden, wobei mit 93 modifizierten Basen der größte Anteil auf die tRNA entfällt.^[4-5] Neben einfachen Modifikationen wie Methylderivate kanonischer Basen sind vor allem sogenannte Hypermodifikationen, d.h. hochmodifizierte Basen mit zusätzlichen komplexen Seitenketten wie Aminosäuren, zyklischen aromatischen Systemen oder Zuckern, in den Fokus gerückt.^[6-8] Die vielseitige Chemie der an der oft mehrstufigen Biosynthese beteiligten Enzyme ist hierbei von besonderem Interesse. Beispielsweise konnten erst kürzlich die exakte Enzymfolge der Umsetzung von Guanosintriphosphat zur Queuosinvorstufe preQ₁ sowie das Enzym der letzten Stufe der Biosynthese von Queuosin aufgeklärt werden (Schema 7, Kapitel 1.2.1).^[9-11]

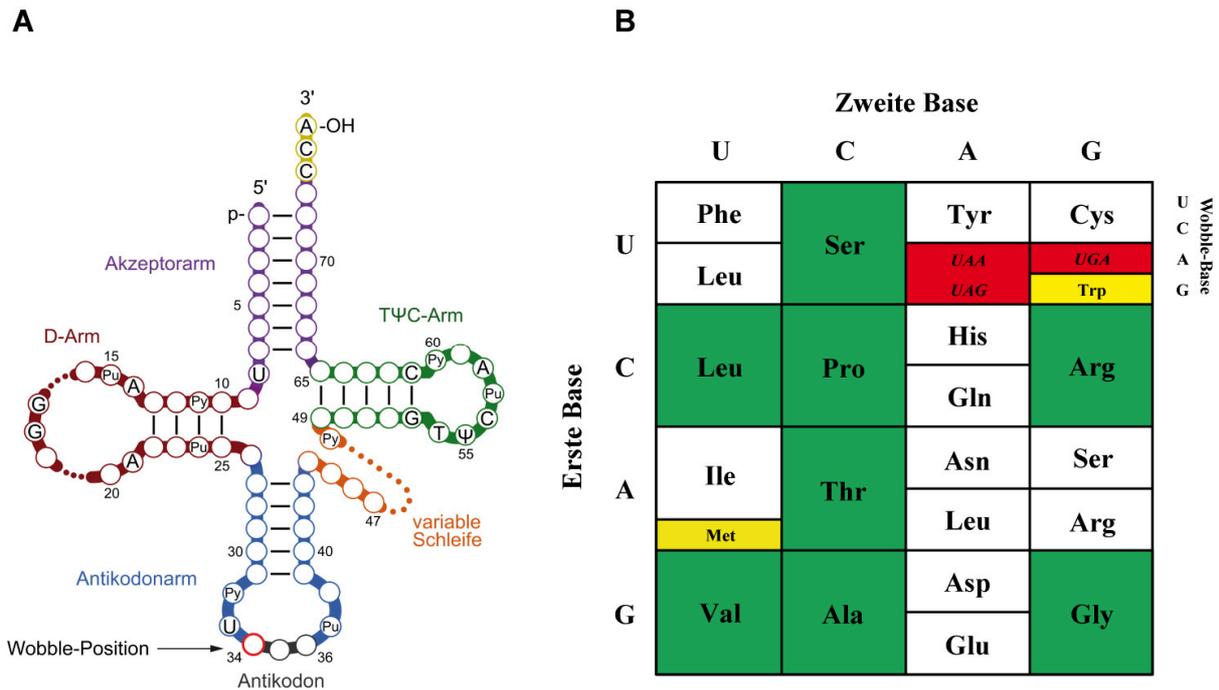


Abb. 7: A: Schematische Darstellung der Sekundärstruktur der tRNA.^[12] Die Wobble-Position ist durch einen roten Ring gekennzeichnet. B: Der genetische Code. Farblich hervorgehoben sind vierfach degenerierte Kodonboxen (grün), die drei Stopkodons (rot) und die einfach auftretenden Kodons für Methionin (Met) und Tryptophan (Trp) (jeweils gelb).

Umfangreiche Untersuchungen zu den Eigenschaften von Wobble-Basen haben gezeigt, dass sich im Lauf der Evolution unterschiedliche Strategien zur Dekodierung des genetischen Codes in Abhängigkeit von der steigenden Anzahl verfügbarer tRNA-Gene bzw. Isoakzeptoren entwickelt haben.^[13-14] Die damit einhergehende zunehmende Komplexität modifizierter Derivate kanonischer Basen, vor allem zur Vermeidung unerwünschter Fehlpaarungen, führte schließlich an der Wobble-Position zur Verwendung des umfangreichsten Repertoires an Nucleosidmodifikationen innerhalb der tRNA (Abb. 8).^[4, 13, 15]

Angesichts der Tatsache, dass 30 – 40% der Kodonerkennung mittels Wobble-Basenpaarung verläuft, beschränkt sich das Vorkommen etwa eines Drittels aller 93 bekannten tRNA-Modifikationen ausschließlich auf die Wobble-Position.^[5, 16-17] Aufgrund dieser häufigen Beteiligung hochmodifizierter Basen an der Entschlüsselung des genetischen Codes ist folglich deren exakte Funktion von besonderem Interesse. Nicht zuletzt auch im Hinblick auf die mit der Abwesenheit mitochondrialer tRNA-Wobble-Modifikationen verbundenen folgenschweren Erkrankungen.^[18-26]

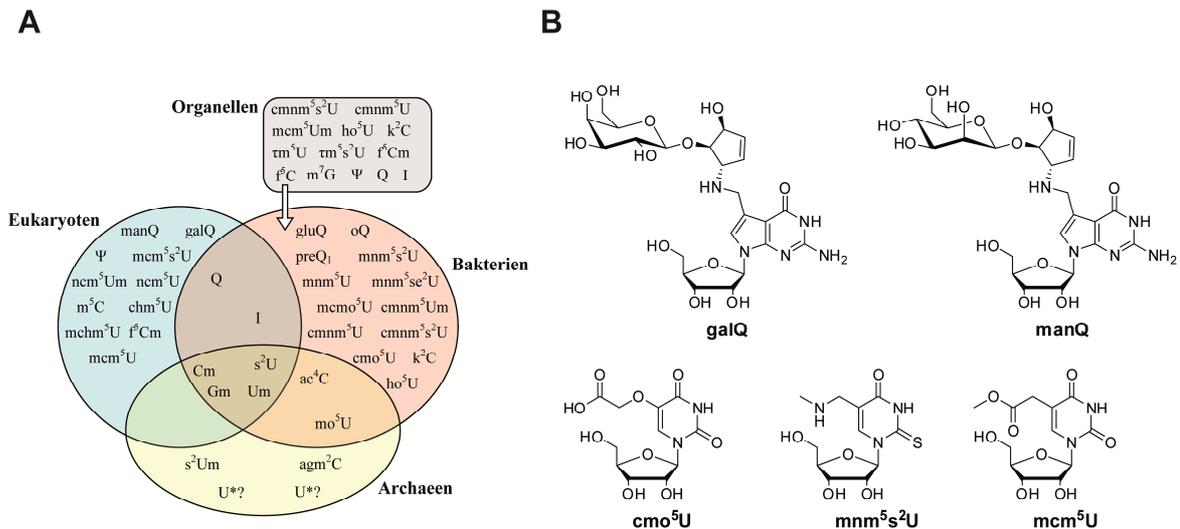


Abb. 8: A: Erweiterte Übersicht bekannter natürlicher Nucleosidmodifikationen an der Wobble-Position. Die Daten wurden von *Suzuki*^[17] und *Grosjean et al.*^[13] übernommen. U*? sind modifizierte Uridine, deren Struktur noch unbekannt ist. B: Auswahl hochmodifizierter natürlicher Wobble-Nucleoside.

1.1.2 Funktionen natürlicher Wobble-Modifikationen

Wobble-Modifikationen sind neben ihrem Einfluss auf die Stabilität der Antikodonschleife maßgeblich an der Regulierung der Translationseffizienz mittels Kodonerkennung über drei verschiedene Mechanismen beteiligt:^[17, 27-30]

- Einschränkung der Bindungspräferenz
- Erweiterung der Bindungspräferenz
- Umkehrung der Bindungspräferenz (Umpolung der Aminosäurespezifität)

Im Folgenden wird näher auf die Bedeutung dieser Nucleosidmodifizierungen eingegangen. Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass oftmals eine exakte Klassifizierung dieser modifizierten Basen nach den oben aufgeführten Aufgaben nicht möglich ist, da einige Modifikationen (u.a. Queuosin, Lysidin und Agmatidin) mehrere Funktionen ausüben und die Grenzen somit fließend verlaufen. Funktionen von Wobble-Modifikationen abseits der Kodonerkennung werden in Kapitel 1.3 näher betrachtet.

Mit Blick auf die Degeneriertheit des genetischen Codes erscheint die gezielte Einführung modifizierter Nucleoside in die Wobble-Position als direkte Konsequenz zur Einschränkung der Bindungseigenschaften von tRNA-Molekülen. Tatsächlich befinden sich in dieser

Position von tRNAs, die Basentriplets aus zwei- oder mehrfach degenerierten Kodonboxen^a dekodieren, hochmodifizierte Nukleoside in allen Domänen des Lebens.^[13, 16, 31] Insbesondere für die Entschlüsselung einzelner Basentriplets in Gegenwart strukturell ähnlicher Kodons ist die Anwesenheit von Modifikationen strikt erforderlich.^[13, 16] Nichtsdestotrotz zeigen tiefere Einblicke in die Funktion und Aufgaben modifizierter Basen, dass die ursprüngliche Meinung, deren Anwesenheit sei für viele der beobachteten Änderungen der Bindungsspezifität von Bedeutung,^[32-34] neu bewertet werden muss.^[31, 35-36]

Die Kontrolle der Entschlüsselung des einzigen Methioninkodons AUG in Bakterien und Archaeen erfolgt sowohl durch Modifizierung der Wobble-Position methioninspezifischer tRNA (4-Acetylcytosin/ac⁴C in Bakterien und 2'-O-Methylcytosin/Cm in Archaeen)^[13] als auch durch Restriktion der Bindungseigenschaften der tRNA für das dritte Isoleucinkodon AUA.^[37-39] Dem Fehlen einer tRNA mit UAU-Antikodon geschuldet, erfolgt dessen Dekodierung durch eine ursprünglich methioninspezifische tRNA_{CAU}, deren Cytosin in der Wobble-Position entweder durch Lysin (Bakterien; Lysidin k²C)^[39] oder Agmatin (Archaeen; Agmatidin agm²C bzw. C⁺)^[37] modifiziert ist. Die Einführung der jeweiligen Modifikation bedingt eine Umpolung der Kodonspezifität, sodass anstelle der Basenpaarung zu Guanosin ausschließlich die Wobblepaarung zu Adenosin eintritt und demzufolge das Methioninkodon nicht mehr erkannt wird.^[37-38] Darüber hinaus bedingt diese Modifizierung des Antikodons eine ausschließliche Beladung der tRNA_{C*AU} (C* = k²C bzw. agm²C) mit Isoleucin.^[37-38] Demgegenüber ist zur exakten Translation des Tryptophankodons UGG lediglich eine Methylierung der 2'-O-Hydroxygruppe des Cytosins in der Wobble-Position Tryptophan kodierender tRNA_{CCA} erforderlich.^[13] Die somit verminderte Bewegungsfreiheit des modifizierten Nukleosids führt zu besonders destabilisierten Wobble-Basenpaarungen^[32, 40] und demzufolge zur ausschließlichen Dekodierung des UGG-Kodons. Ein weiteres Beispiel für restriktive Kodonerkenntnis ist die Modifizierung von Tyrosin kodierender tRNA_{QΨA} mit Queuosin zur Vermeidung einer Fehlpaarung mit dem UAG-Stopkodon. Für eine ausführliche Diskussion des Mechanismus sei auf Kapitel 1.2.2 verwiesen.

Das breiteste Spektrum an Bindungskapazitäten eröffnen modifizierte Uridine in allen Domänen des Lebens, anhand derer die Feinjustierung der Kodonerkenntnis durch variable Modifizierung der kanonischen Base besonders deutlich wird.^[13, 31, 41-42] Ausgehend von der Wobble-Hypothese^[1] war man zunächst der Ansicht, dass angesichts des Auftretens modifizierter Uridine in tRNA-Molekülen, die in zweifach degenerierten Kodonboxen auf

^a In einer Kodonbox werden all jene Basentriplets (Kodons) zusammengefasst, die sich nur an der dritten Stelle (Wobble-Base) unterscheiden (Abb. 7).

Purine endende Kodons entschlüsseln, diese eine einschränkende Funktion besitzen.^[32-34] Spätere Untersuchungen zeigten, allerdings beschränkt auf die eukaryotischen Modifikationen 5-Methoxycarbonylmethyluridin (mcm^5U , Abb. 8) und 5-Methoxycarbonylmethyl-2-thiouridin (mcm^5s^2U) und prokaryotischen Modifikationen 5-Methylaminomethyluridin (mnm^5U) und 5-Methylaminomethyl-2-thiouridin (mnm^5s^2U , Abb. 8), dass nicht die Einführung der Modifikationen Ursprung für die beobachtete Restriktion ist.^[35-36, 43-44] Vielmehr stellte sich dabei heraus, dass die durch die Geometrie eines Wobble-Pyrimidin-Basenpaares stark eingeschränkte bzw. fehlende Stabilisierung des Antikodons durch Basenstapelung, insbesondere in Gegenwart einer Pyrimidinbase in Position 35, verantwortlich ist.^[36, 45] Diese Studien offenbarten ebenfalls, dass oben aufgeführte Modifikationen eine ausgeprägte Präferenz für die Interaktion mit Purinen besitzen, wobei eine Bindung mit G von mcm^5U bzw. mnm^5U begünstigt wird, wohingegen mcm^5s^2U bzw. mnm^5s^2U eine Paarung mit A bevorzugen.^[31, 36, 46] Auch wenn keine aktive Beteiligung der Modifikation an der Paarungsrestriktion nachgewiesen werden konnte, ist durch die Bevorzugung des jeweiligen auf ein Purin endenden Kodons in Abhängigkeit von der Modifizierung dennoch in gewissem Umfang eine Einschränkung der Basenpaarung vorhanden.^[31, 35-36, 43]

Eine tatsächliche Einschränkung der Wobble-Paarungseigenschaften durch eine Modifizierung von Uridin zeigen dagegen 5-Carboxymethylaminomethyl-2'-*O*-methyluridin ($cmnm^5Um$) aus *Escherichia coli* und 5-Carbamoylmethyl-2'-*O*-methyluridin (ncm^5Um), aufgefunden in *Saccharomyces cerevisiae*. Die mit der entsprechenden Modifikation ausgestatteten tRNA-Moleküle bevorzugen das UUA-Kodon für Leucin und unterbinden parallel eine Fehlpaarung zu beiden Phenylalanin kodierenden Basentripletts.^[42, 47] Angesichts der Tatsache, dass ncm^5U und vermutlich $cmnm^5U$ allein die Dekodierungskapazität nicht zwangsläufig auf Purinbasen endende Kodons beschränken können (vgl. z.B. mnm^5U oben), wird der Methylgruppe in 2'-*O*-Position eine restriktive Funktion durch Verringerung der konformationellen Freiheit zugeschrieben. Im Zusammenspiel mit der Modifikation an Position 5 ist demzufolge die Ausbildung stabiler Wobble-Basenpaarungen nicht mehr möglich.^[31-32, 40]

Eine Erweiterung der Dekodierungseigenschaften durch Modifizierung der kanonischen Base wurde bislang nur mit Uridin-5-oxyessigsäure (cmo^5U , Abb. 8), die ausschließlich in vierfach degenerierten Kodonboxen zu finden ist, beobachtet. Anhand der Ergebnisse zur Ermittlung der Dekodierungskapazität von cmo^5U in Abhängigkeit von den entsprechenden Aminosäurekodons,^[48-51] sowie struktureller Untersuchungen der Basenpaarung mit synthetischen

cmo^5U -modifizierten tRNA^{Val} -Antikodonschleifen^[52] wurde ein Modell^[50] zur Aufklärung der Erweiterung der Bindungsspezifität entwickelt.

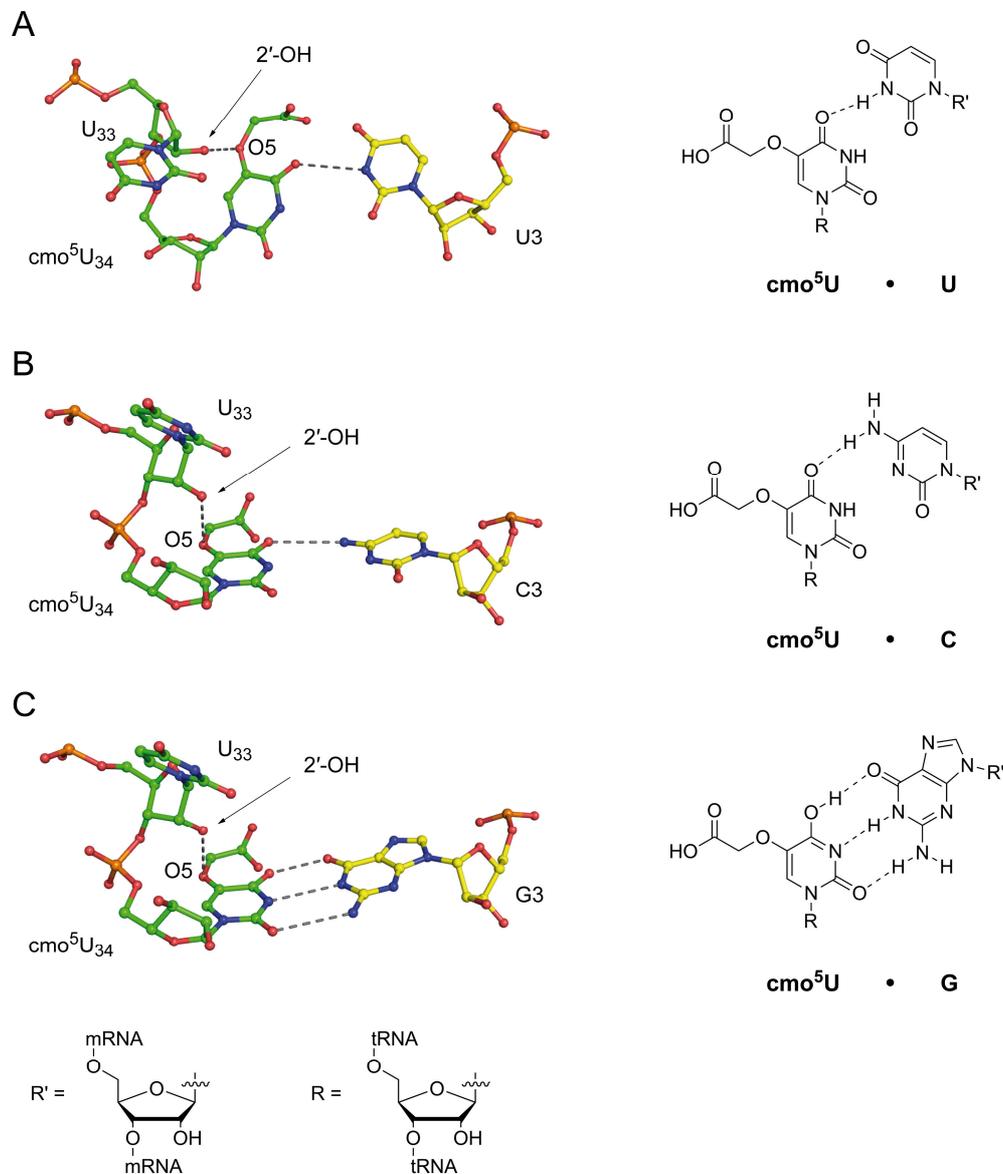


Abb. 9: Kristallstrukturen der nichtkanonischen (Wobble-) Basenpaarungen der Modifikation Uridin-5-oxoessigsäure (cmo^5U).^[52] Die Wobble-Basenpaarungen von cmo^5U mit U, C bzw. G besitzen eine Watson-Crick-Geometrie. Auftretende Wasserstoffbrücken sind als gestrichelte Linien gekennzeichnet. A und B: Die Pyrimidin-Pyrimidin-Basenpaare $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{U}$ und $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{C}$. (Zugangscode für Proteindatenbank: 2UUB bzw. 2UUA) C: Das $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{G}$ -Basenpaar. Die Enolisierung von cmo^5U über eine Keto-Enol-Tautomerie ermöglicht die Ausbildung einer zusätzlichen Wasserstoffbrücke zu G. (Zugangscode für Proteindatenbank: 2UU9)

Demzufolge wird $\text{cmo}^5\text{U}_{34}$ durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke der 2'-OH-Gruppe von U_{33} zum Ethersauerstoff der Oxyessigsäure-Modifizierung (Abb. 9) in einer Position fixiert, die ausschließlich die Ausbildung einer Basenpaarung in Watson-Crick-Geometrie

erlaubt und folglich ein $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{U}$ - bzw. $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{C}$ -Wobble-Paar stabilisieren kann (Abb. 9). Zusätzlich begünstigt eine durch die Modifizierung hervorgerufene Enolisierung des Uridins die Bildung eines ungewöhnlichen stabilen $\text{cmo}^5\text{U}\cdot\text{G}$ -Basenpaars (Abb. 9).^[50, 52] Nichtsdestotrotz bleibt dieses Modell die Erklärung der sehr geringen bzw. sogar fehlenden Bereitschaft cmo^5U -modifizierter Antikodons, Cytosin endende Kodons wirksam zu entschlüsseln, schuldig.^[50]

Die im Zusammenhang mit 5-Carbamoylmethyluridin (ncm^5U) in Hefe aufgefundene Ausweitung der Bindungspräferenz sei hier nur am Rande erwähnt, da die Entschlüsselung aller Prolin kodierenden Basentriplets unabhängig von der Modifikation an der Wobble-Position verlaufen kann.^[31]

1.2 Queuosin

Im Rahmen einer Studie zum Bindungsverhalten von *E. coli* tRNA^{Tyr} in Bezug auf das UAG-Stopkodon (*amber stop codon*) berichteten *Goodman et al.* 1968 über die Entdeckung einer unbekanntes Nukleobase im Antikodon mit guanosinähnlichen Eigenschaften.^[53] Weiterführende Untersuchungen von *Harada* und *Nishimura* an verschiedenen tRNA-Spezies von *E. coli* zeigten, dass das neu entdeckte Nukleosid Queuosin bzw. dessen Base Queuin ausschließlich an Position 34, der sogenannten Wobble-Position, der tRNAs für Aspartat, Asparagin, Histidin und Tyrosin lokalisiert ist.^[54] Die spätere Strukturaufklärung von Queuosin bestätigte, dass, wie bereits von *Goodman et al.* richtig vermutet wurde,^[53] die Modifizierung des Nukleosids in der fünfgliedrigen Untereinheit des Guaningerüsts zu finden ist.^[55-57] Jedoch offenbarte die Strukturanalyse ebenfalls, dass nicht die kanonische Nukleobase Guanin selbst, sondern eine an Position 7 der Purinstruktur durch Kohlenstoff ersetzte Modifizierung, ein sogenanntes 7-Desazaguanin, die Grundstruktur von Queuosin bildet.^[55, 57] Die für Queuosinderivate charakteristische Cyclopentendiolgruppe, die über eine Aminomethylbrücke mit dem an Position 7 befindlichen Kohlenstoff verbunden ist, bildet die Grundlage für alle weiteren Modifizierungen des QueuosinGrundgerüsts (Abb. 10).

Untersuchungen zum Verbreitungsgrad von Queuosin in verschiedenen Organismen führten schließlich zur Entdeckung von Galaktosylqueuosin (galQ) und Mannosylqueuosin (manQ), deren nichtallylische Hydroxygruppe der Cyclopentendiolseitenkette^b mit der jeweiligen

^b Die Bestimmung der Struktur erfolgte ausschließlich über NMR-Daten auf Grundlage der Basizität des Aminomethylstickstoffs im Vergleich zu Queuosin. Kristallographische Untersuchungen der beiden zuckermodifizierten Queuosinderivate galQ und manQ sind nicht bekannt.

Hexose über eine β -glykosidische Bindung verknüpft ist (Abb. 9).^[58-59] Im Gegensatz zum ubiquitären Auftreten von Queuosin beschränkt sich ihr Vorkommen ausschließlich auf Tyrosin (galQ) bzw. Asparat (manQ) kodierende tRNA in Tieren.^[60-61] Demgegenüber ist Epoxyqueuosin (oQ), eine an der Doppelbindung des Cyclopentenrings epoxydierte Modifikation und direkte biosynthetische Vorstufe von Queuosin, ausschließlich in der tRNA von Bakterien, die Tyrosin kodiert, zu finden (Abb. 10).^[62]

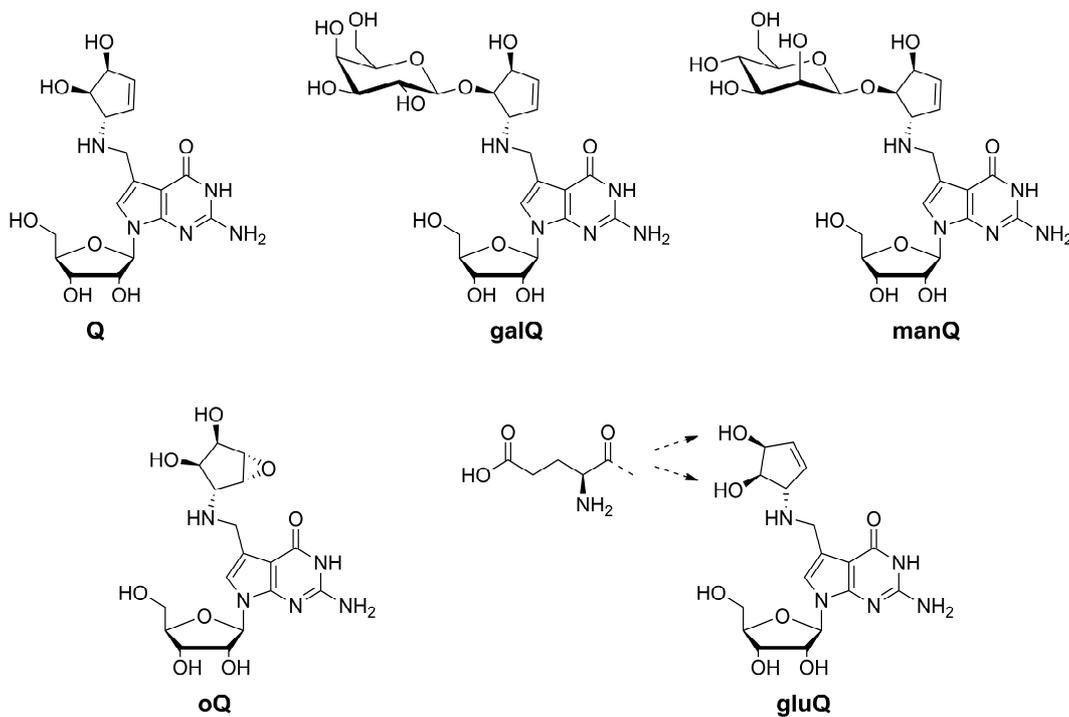


Abb. 10: Queuosin und natürliche Queuosinderivate.

Bezeichnend für die Ausnahmestellung der Q-Familie ist die Variationsbreite an Modifikationen, die insbesondere durch das neueste in Aspartat kodierender *E. coli* tRNA aufgefundene Derivat Glutamylqueuosin (gluQ) hervorgehoben wird. Hier ist eine Esterbindung der Cyclopentenseitenkette zur α -Carboxylgruppe eines Glutamatrests entscheidend.^[63] Angesichts fehlender struktureller sowie spektroskopischer Daten ist die exakte Position der Esterverknüpfung mit dem Diol der Queuosinseitenkette noch unbekannt (Abb. 10). Die späte Entdeckung dieser Modifikation liefert jedoch einen Anhaltspunkt dafür, dass weitere Queuosinderivate existieren könnten, diese jedoch unter den bislang verwendeten Aufarbeitungs- und Isolierungsmethoden für eine Identifizierung zu instabil gewesen sein könnten.^[17]

1.2.1 Biosynthese von Queuosin und dessen glykosylierten Derivaten

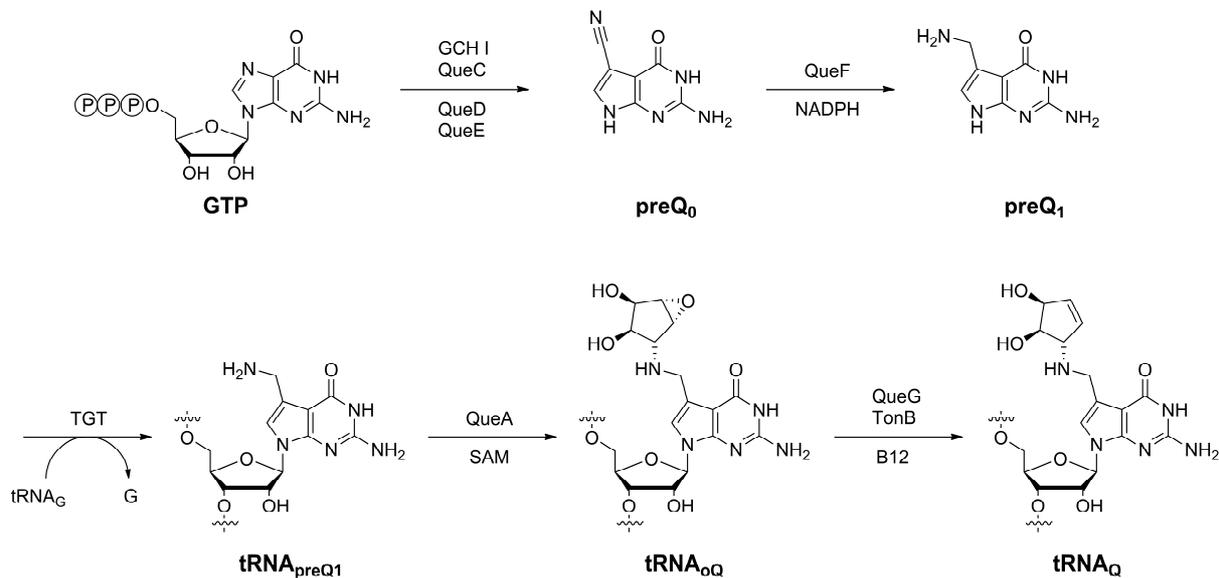
Die Q-Familie zählt innerhalb der tRNA-Modifikationen nicht zuletzt angesichts ihrer einzigartigen Struktur und einer signifikant unterschiedlichen Biosynthese in Prokaryoten und Eukaryoten zu den bemerkenswertesten Nucleosiden bzw. Nucleobasen. Trotz ihrer bivalenten Funktion – Beteiligung an der Proteinbiosynthese und regulative Funktionen des Zellmetabolismus – sind diese hochmodifizierten Basen jedoch für alle Eukaryoten essenziell.^[64-65] Mit Ausnahme von *S. cerevisiae*, die kein Queuosin in ihren tRNA-Molekülen aufweist,^[58] sind demzufolge alle Eukaryoten auf eine Aufnahme von Queuin oder Queuosin über die Nahrung oder zusätzlich bei höheren Eukaryoten auf die Resorption des von der Darmflora als Abfallprodukt des tRNA-Abbaus ausgeschiedenen Queuins oder Queuosins angewiesen.^[64-65] Im Gegensatz zu Prokaryoten, die Queuosin *de novo* synthetisieren können, und es somit als „normalen“ Metabolit der Proteinbiosynthese nach Erfüllung seiner Funktion wieder ausscheiden,^[66] besitzen Eukaryoten ein hocheffizientes Wiederverwertungssystem.^[67-68] Dieses soll eine bestmögliche Bestückung der entsprechenden tRNAs mit Queuosin bzw. Aufrechterhaltung der Konzentration freier Q-Base in Zellen gewährleisten, wie durch Untersuchungen an keimfreien Mäusen, die eine queuosin- bzw. queuinfreie, chemisch definierte Nahrung erhielten, bewiesen werden konnte.^[64-65] Eine vollständige Abwesenheit der Modifikation in den entsprechenden tRNAs wurde erst nach etwa einem Jahr festgestellt. Auf die vier Wochen nach Beginn des Langzeitexperiments aufgefundene unterschiedliche Verteilung der Modifikation auf die entsprechenden tRNAs wird in Kapitel 1.2.2 näher eingegangen.^[64]

Die Biosynthese umfasst in Prokaryoten eine mehrstufige Reaktionsfolge, deren vollständige Aufklärung sowie die Ermittlung aller beteiligten Enzyme erst in den letzten Jahren abgeschlossen werden konnte (Schema 7).

Abweichend von der Biosynthese nahezu aller tRNA-Nucleosidmodifikationen beginnt die Biosynthese der 7-Desazaguanosinderivate ausserhalb der tRNA. Als Startmolekül dient hierbei Guanosintriphosphat (GTP),^[69] das bei der biosynthetischen Darstellung weiterer bedeutender biologisch aktiver Moleküle als Ausgangsmaterial Verwendung findet und somit ein breites Spektrum an Funktionalität in Bezug auf zelluläre Prozesse eröffnet.^[70-74]

Erster Schritt ist die vier Stufen umfassende Überführung von GTP zu preQ₀ (7-Cyano-7-desazaguanin). Mittels ¹³C-Markierungsexperimenten sowie iterativer Überprüfung der Aktivität der an dieser Katalysesequenz beteiligten Enzyme GCH I, QueC, QueD und QueE auf die entsprechenden Zwischenprodukte der preQ₀-Synthese konnte diese Reaktionssequenz

aufgeklärt werden.^[9-10] Hierbei wurde zusätzlich die Eliminierung des C8-Kohlenstoffs sowie des N7-Stickstoffs des Guaningerüsts von GTP bestätigt.^[6, 10, 69]



Schema 7: Biosynthese von Queuosin in Prokaryoten.

Im zweiten Schritt des tRNA-unabhängigen Biosyntheseabschnitts erfolgt eine NADPH-abhängige Reduktion von preQ₀ zu preQ₁ (7-Aminomethyl-7-desazaguanin), die durch die Nitrilreduktase QueF katalysiert wird.^[75-77] Anhand neuester strukturanalytischer Untersuchungen dieses Enzyms konnte der auf strukturellen Voruntersuchungen basierende vorläufige Reaktionsmechanismus,^[75, 77] dessen zentrale Struktur ein intermediäres Thiohalbamin bildet, bestätigt werden.^[78] Im nachfolgenden Schritt erfolgt der Einbau von preQ₁ in die tRNA. Der sogenannten tRNA-Guanin-Transglycosylase (TGT), welche unter einer Basenexzisionsreaktion den Austausch von Guanin in Position 34 (Wobble-Position) gegen preQ₁ an allen Q-spezifischen tRNAs katalysiert, fällt hierbei eine zentrale Schlüsselrolle zu.^[79] Interessant hierbei ist, dass diesem Enzym einzig eine U₃₃G₃₄U₃₅-Sequenz im Antikodonstamm als Erkennungsstelle zur Durchführung der Reaktion genügt.^[80-82]

Die abschließenden Schritte der Biosynthese, der Einbau des intermediären Epoxy-cyclopentanrings sowie dessen Reduktion zur charakteristischen Cyclopentenstruktur, verlaufen direkt am in die tRNA integrierten 7-DesazaguaninGrundkörper. Die Einführung des für die Q-Familie charakteristischen Cyclopentenrings erfolgt über eine von der S-Adenosylmethionin:tRNA-Ribosyltransferase-Isomerase (QueA) katalysierten Reaktion. Diese führt nach einer mehrstufigen Umlagerung des Co-Substrats S-Adenosylmethionin unter Eliminierung von Adenin und Methionin zunächst zu einer mit Epoxyqueuosin

modifizierten tRNA (oQ_{tRNA}) (Schema 7).^[83-86] Experimente an verschiedenen *knock-out*-Strängen von *E. coli* haben gezeigt, dass zur Überführung dieses Epoxids in die Alkenfunktion die Aktivität zweier Enzyme erforderlich ist.^[11] Die Vitamin B12 abhängige Umwandlung des Epoxids wird durch die Eisen-Schwefel-Cluster enthaltende Epoxyqueuosinreduktase QueG durchgeführt, wohingegen die Aufgabe des zweiten Enzyms, TonB, die Aufnahme von Vitamin B12 und Eisen ist. Eine Ausschaltung des Gens eines der jeweiligen Enzyme führte zur Anreicherung von oQ in der tRNA.^[11] Obgleich die Biosynthese von Queuosin vollständig aufgeklärt werden konnte, ist der Reaktionsmechanismus der abschließenden Umsetzung sowie die Beteiligung des Vitamins B12 an der Reaktion noch nicht verstanden.

Eukaryoten besitzen nicht die Fähigkeit, Queuosin *de novo* zu synthetisieren, weshalb sie auf die externe Zufuhr von Queuosin oder Queuin angewiesen sind.^[64-65] In eukaryotischen Zellen wird deshalb mit Hilfe eukaryotischer TGTs die vollständige Q-Base Queuin über einen den prokaryotischen TGTs ähnlichen Mechanismus unter Eliminierung von Guanin in die spezifischen tRNAs integriert.^[87-88] Entgegen der aus dieser Ähnlichkeit abgeleiteten Theorie, dass sowohl pro- als auch eukaryotische TGTs eine konvergente Evolution durchlaufen haben müssen,^[66] zeigt eine neuere Studie an humaner sowie *E. coli* TGT, dass vielmehr eine divergente Evolution beider Enzyme stattgefunden haben muss.^[89] Interessant ist ebenfalls, dass das Enzym, das nach Abbau der tRNA die Abspaltung der Riboseeinheit von Queuosinmonophosphat katalysiert, vermutlich eine Untereinheit eukaryotischer TGTs ist und eine sehr hohe Substratspezifität bezüglich des Queuosins besitzt.^[68, 89-90] Aktivitätsstudien haben gezeigt, dass weder Guanosin noch Epoxyqueuosin als Substrat erkannt werden.^[90] Diese Spezifität könnte dahingehend erklärt werden, dass in eukaryotischen Zellen kein Epoxyqueuosin vorkommt und somit aus evolutionsbiologischen Gründen für das Enzym keine Notwendigkeit besteht, oQ als Substrat umzusetzen.^[62, 89]

Ein bislang wenig beachtetes Feld der Queuosinderivate ist die weitere Modifizierung von Queuosin zu Mannosylqueuosin (manQ) bzw. Galaktosylqueuosin (galQ) in tierischen Zellen.^[59, 61] In bisherigen Untersuchungen konnte zwar das Enzym, das die Mannosylgruppe einführt – eine von GDP-aktivierter Mannose abhängige Mannosyltransferase – ermittelt und sogar in *in-vitro*-Studien erfolgreich zur Mannosylierung von Q-tRNA eingesetzt werden, jedoch sind weder Struktur noch der exakte Reaktionsmechanismus des Enzyms geklärt.^[91] Das Enzym zur Einführung des Galaktoserests in Q-modifizierte tRNA hingegen ist bislang unbekannt. Angesichts der hohen Substratspezifität^[68, 89-90] des Enzyms für die Rückgewinnung von Queuin nach Abbau der tRNA ist davon auszugehen,^[90] dass kein

zuckermodifiziertes Queuin vorliegt bzw. in die tRNA integriert wird und deshalb möglicherweise die tRNA-Struktur für die Erkennung des Cyclopentenrings während der Übertragung der Zuckerreste von Bedeutung ist. Tatsächlich konnten *Haumont und Mitarbeiter* zeigen, dass sowohl die Art der Nukleoside in Position 36, 37 und 38 als auch die Gesamtstruktur der tRNA einen entscheidenden Einfluss auf die Effizienz der enzymatischen Zuckermodifizierung besitzen.^[91]

1.2.2 Physiologische Funktionen der Q-Familie

In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche Funktionen von Queuosin, der weiteren Derivate sowie der freien Q-Base Queuin aufgefunden, wobei der molekulare Wirkmechanismus nur in zwei Fällen zweifelsfrei wissenschaftlich belegt werden konnte.^[92-96] Dagegen stützen sich die Vermutungen zu weiteren Funktionen weitgehend auf empirische Beobachtungen und Untersuchungen. Hierzu gehört die Konzentration der mRNA bestimmter Enzyme, die Konzentration und Aktivität spezifischer Proteine, der Modifizierungsgrad der tRNA mit Queuosin oder das Auftreten zusätzlicher Metaboliten. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die bislang gefundenen physiologischen Funktionen der Mitglieder der Q-Familie und deren mögliche biologische Bedeutung. Im Folgenden werden die wichtigsten Funktionen näher betrachtet.

Unterdrückung des Überlesens des amber-Stopkodons

Eine der wenigen, bis auf molekularer Ebene aufgeklärten physiologischen Funktionen von Queuosin ist die Unterdrückung des Überlesens des UAG-Stopkodons (*amber stop codon*) durch an der Wobble-Position mit Q modifizierter tRNA^{Tyr}.^[92-94] Bereits 1968 berichteten *Goodman et al.* von einer modulierten Translation in *E. coli*, die sie auf eine Modifikation des Antikodons in der tRNA^{Tyr} zurückführten.^[53] Ähnliche Beobachtungen wurden 1981 von *Bienz und Kubli* in *Drosophila* beschrieben.^[97] Wegweisende Arbeiten von *Beier et al.* mit Tabakmosaikvirus-mRNA (TMV-mRNA) führten schließlich zur endgültigen Aufklärung des molekularen Mechanismus des Überlesens des UAG-Stopkodons bzw. dessen Verhinderung durch queuosinmodifizierte tRNA^{Tyr}.^[92-93]

Im Gegensatz zu dem von *Bienz und Kubli* untersuchten Hybridsystem aus *Drosophila*-tRNA^{Tyr} und UAG-Stopkodon-enthaltender TMV-mRNA,^[97] welches vermuten lässt, dass nur einer der beiden tRNA^{Tyr}-Isoakzeptoren die Fähigkeit besitzt, das UAG-Stopkodon zu

überlesen, zeigten die Studien von *Beier et al.*, dass in mit TMV infizierten Tabakblättern beide Isoakzeptoren UAG als reguläres Kodon für Tyrosin erkennen und dekodieren.^[92]

Tabelle 1: Physiologische Funktionen von Queuin und Queuosin bzw. seinen Derivaten: ^{a)} Biologische Bedeutung nicht in allen Fällen vollständig geklärt. ^{b)} siehe Text. ^{c)} reaktive Q-Spezies nicht vollständig geklärt.

| <i>Funktion</i> | <i>Biologische Bedeutung^{a)}</i> | <i>aktive Q-Spezies</i> | <i>Referenz</i> |
|--|---|------------------------------------|---------------------|
| Unterdrückung des Überlesens eines Stopkodons | Alternative Translation | Q-tRNA ^{Tyr} | [92-94] |
| Tyrosinbiosynthese | Regulation des Stoffwechsels | Q-tRNA | [98-99] |
| Regulierung der LDH | Regulation des aeroben Stoffwechsels | Queuin und Q-tRNA ^{b)} | [100-105] |
| Regulierung antioxidativer Enzyme | Schutz vor oxidativem Stress | Queuin oder Q-tRNA ^{c)} | [106-107] |
| Zellproliferation | Zellwachstum | Queuin | [101, 103, 108-110] |
| Stabilisierung der tRNA gegen Abbau | Regulation des tRNA-Metabolismus | glykosylierte Q-tRNA ^{c)} | [64-65, 111] |
| Regulierung des EFG-R | Regulation zellulärer Prozesse | Queuin | [101-102] |
| Regulierung der Zelldifferenzierung | Zellwachstum | Queuin | [112-113] |
| Änderung der Bindungspräferenz | Alternative Translation | Q-tRNA ^{His} | [114] |
| Regulierung von Apoptoseproteinen | Wachstum | Queuin | [115] |
| Regulierung der Phosphorylierung von Proteinen | Zellwachstum | Queuin | [116-117] |
| Regulierung der Pathogenität | Alternative Translation | oQ-tRNA ^{Tyr} | [95-96] |

Die Sequenzierung beider tRNA^{Tyr} legte offen, dass in der Wobble-Position ein unmodifiziertes Guanosin vorhanden war, wohingegen bei einer Sequenzanalyse der tRNA^{Tyr}-Isoakzeptoren aus Weizenkeimlingen, welche das Überlesen des Stopkodons verhindern, Queuosin in der Wobble-Position gefunden wurde.^[93] Dieses Ergebnis zeigt, dass der Modifizierungsgrad der tRNA mit Queuosin in Bezug auf das Entwicklungsstadium in Pflanzen offenbar invers zu nichtpflanzlichen Eukaryoten ist, bei denen eine Zunahme des Queuosins im Lauf der Entwicklung gefunden wurde.^[93] Erwähnenswert ist, dass die bislang ausschließlich in tierischen Zellen auftretende weitere Modifizierung des Queuosins in tRNA^{Tyr} mit Galaktose nicht gefunden wurde.^[93]

Gemeinsames Merkmal aller tRNA^{Tyr}-Isoakzeptoren in Tabakpflanzen, unabhängig vom Nukleosid an der Wobble-Position, ist Pseudouridin (Ψ) in Position 35 des Antikodons. Dessen Anwesenheit ist essentiell für das erfolgreiche Überlesen des UAG-Stopkodons. Bindungsstudien mit unterschiedlich modifizierten tRNA^{Tyr}, die ein unmodifiziertes U an Position 35 des Antikodons trugen, zeigten keine *amber*-Supressoreigenschaften, woraus geschlossen wurde, dass Pseudouridin eine bedeutende Rolle bei der Wechselwirkung mit dem UAG-Stopkodon spielen muss.^[94] Zentrales Element der Supressordekodierung ist eine ungewöhnliche konformationell ungünstige G•G-Wechselwirkung in der Wobble-Position,^[94] deren nachteiliger Effekt nur durch die starke Bindung zwischen Ψ und A ausgeglichen werden kann. Obgleich aus ersterer Bindungssituation nur eine geringfügige Stabilisierung der gesamten Kodon-Antikodon-Wechselwirkung zu erwarten ist, so zeigt sich dennoch, dass durch Verhinderung eines G•G-Basenpaares mittels Einbau von Queuosin das Überlesen des Stopkodons vollständig unterbunden wird (Abb. 11).^[94]

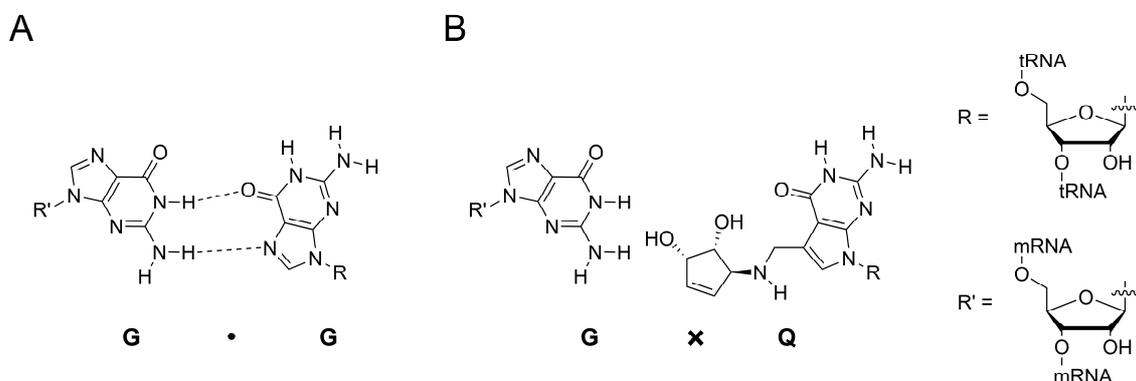


Abb. 11: Schematische Darstellung der Funktion von Queuosin zur Unterdrückung des Überlesens des *amber*-Stopkodons UAG.^[94] A: Das G•G-Basenpaar. Wasserstoffbrücken sind als gestrichelte Linien gekennzeichnet. B: Einbau von Queuosin in die tRNA blockiert stabilisierende Wasserstoffbrücken und demzufolge wird eine Ausbildung eines G•Q-Basenpaares verhindert. Das UAG-Stopkodon wird somit nicht als Tyrosinkodon erkannt.

Ein weiterer Faktor, der ein erfolgreiches Überlesen des *amber*-Stopkodons beeinflusst, ist der Kodonkontext zu beiden Seiten des Stopkodons.^[94, 118] In Abhängigkeit von der Basenzusammensetzung der Kodons erfolgt eine Modulierung der Supressoreigenschaften der tRNA^{Tyr}-Isoakzeptoren, die zu einer alternativen Proteinbiosynthese führen kann. Unter Einbeziehung der Eigenschaft queuosinhaltiger tRNA^{Tyr} eröffnet sich demnach in *Drosophila*, das nur in einer tRNA^{Tyr}-Isoakzeptor Queuosin an der Wobble-Position besitzt,^[97] möglicherweise alternative Translation von Proteinen im Vergleich zu Tabakpflanzen.^[114]

Tyrosinbiosynthese

Bereits 1970 ließ eine Studie zur Stabilität von Mausleukämiezellen mit queuosinhaltiger bzw. queuosinfreier tRNA^{Asn} gegenüber Asparaginase den Schluss zu, dass Queuin bzw. Queuosin möglicherweise an der Biosynthese von Aminosäuren beteiligt ist.^[119] In Anlehnung an dieses Ergebnis konnte von *Marks* und *Farkas* in ihren Untersuchungen an keimfreien Mäusen eine Beteiligung des Queuins oder Queuosins an der Biosynthese von Tyrosin nachgewiesen werden.^[98] Die zusätzlich beobachtete drastisch erhöhte Mortalität der untersuchten Tiere bei gleichzeitigem Entzug von Queuin bzw. Queuosin und Tyrosin bestätigte, dass die proteinogene Aminosäure Tyrosin als Vorstufe zahlreicher für den Stoffwechsel bedeutsamer Moleküle in Eukaryoten indirekt an vielen zellulären Prozessen involviert sein muss.^[120-122]

Die frühere Vermutung, dass die Regulierung der Tyrosinbiosynthese über eine queuosinabhängige Translation des Enzyms Phenylalaninhydroxylase (PAH), das in Gegenwart elementaren Sauerstoffs die Überführung von Phenylalanin zu Tyrosin katalysiert, erfolgt, wurde jedoch mittels einer neueren Studie zur Aufklärung des molekularen Mechanismus der Einflussnahme des Queusins widerlegt.^[6, 99, 123] Weder die Expression des PAH-Proteins noch dessen Aktivität wurden durch die Abwesenheit von Queuosin in den entsprechenden tRNAs beeinträchtigt. Jedoch zeigten *knock-out*-Mäuse, die die Fähigkeit, Queuin in die tRNA einzubauen, durch die Ausschaltung der TGT-Gene einbüßten, einen Rückgang der Tyrosinbiosynthese, aber keine auffälligen Verhaltensänderungen.^[99] Einhergehend mit der Desaktivierung der TGTs wurde eine Abnahme von Tetrahydrobiopterin (BH4) – ein Cofaktor der PAH – sowie ein Anstieg von Dihydrobiopterin (BH2), welches als kompetitiver Inhibitor des PAH-Proteins auftreten kann, beobachtet.^[99, 124] Der Ursprung dieser metabolischen Fehlregulierung konnte bislang nicht eindeutig geklärt werden. Angesichts dieser komplexen Zusammenhänge zwischen der Tyrosinbiosynthese und dessen Folgeprodukten, deren Biosynthese unter der Kontrolle von BH4 über die Aktivität

des PAH-Enzyms steht, kommen die Autoren nur zu einem vorläufigen Ergebnis. Die queuosinabhängige Einflussnahme auf die Tyrosinbiosynthese tritt vermutlich als Konsequenz eines Eingriffs in zelluläre Prozesse durch eine von der Queuosinmodifikation der tRNA modulierte Proteintranslation ein.^[99]

Regulierung der Lactatdehydrogenasen und antioxidativer Enzyme

Angesichts der Tatsache, dass Queuosin bzw. die Q-Base erstmals in Prokaryoten aufgefunden wurde, die den Zellstoffwechsel unter fakultativ-anaeroben Bedingungen betreiben können, verdichten sich die Hinweise, dass die Q-Familie einen erheblichen regulativen Einfluss auf den aeroben Zellstoffwechsel ausüben muss.^[100, 102, 106]

Zentrale Schlüsselenzyme des Metabolismus sind Lactatdehydrogenasen (LDH), die reversibel die Umsetzung von Pyruvat zu Lactat katalysieren. Deren Isoformen LDH A₄ und LDH B₄ sowie Mischformen beider tetrameren Enzyme sind in Abhängigkeit der verfügbaren Sauerstoffmenge aktiv. Untersuchungen haben gezeigt, dass unter hypoxischen Bedingungen überwiegend LDH A₄ („anaerobe“ Form) aktiv ist, wohingegen unter aeroben Bedingungen LDH B₄ („aerobe“ Form) die höchste Aktivität aufweist.^[104] Zusätzlich wurde die weitere Isoform LDH_k (LDH 6/k) gefunden, die bei Sauerstoffmangel als anoxisches Stressprotein aktiviert wird.^[102, 125] All diesen NAD-abhängigen LDH-Enzymen, die Pyruvat zu D(-)-Lactat umsetzen, gemeinsam ist die strikte Kontrolle der Aktivität durch die freie Q-Base Queuin,^[102] wohingegen die Aktivität aller L-(+)-Lactat-produzierenden und NAD-abhängigen LDH-Enzyme vermutlich über eine Q-tRNA-abhängige alternative Translation der Untereinheiten kontrolliert wird.^[126-127] Im Folgenden werden alle überwiegend unter anaeroben Bedingungen aktiven LDH-Enzyme unter LDH A bzw. alle überwiegend unter aeroben Bedingungen aktiven LDH-Enzyme unter LDH B zusammengefasst, wobei ausschließlich D(-)-Lactat-produzierende LDH-Enzyme berücksichtigt werden.

Untersuchungen an queuosinfreien HeLa-Zellen zeigten, dass unter hypoxischen Wachstumsbedingungen die Aktivität von LDH_k stark erhöht ist, wohingegen in Gegenwart von Queuin keine Erhöhung der Aktivität dieses Enzyms beobachtet wurde.^[101] Ähnliche Ergebnisse in Bezug auf die Aktivität von LDH A und LDH B lieferte die Behandlung von an DLAT (*Dalton`s Lymphoma ascites tumor*) erkrankten Mäusen mit Queuin, wodurch eine Abnahme der Aktivität von LDH A bzw. eine Erhöhung bei LDH B in allen untersuchten Organen mit Ausnahme des Muskels erfolgte.^[104-105] Studien von *Reisser et al.* an HeLa-Zellen zeigten, dass die regulative Kontrolle des Metabolismus durch Queuin von den Wachstumsbedingungen abhängig ist.^[102] Die Behandlung der Zellen mit Queuin unter

hypoxischen Bedingungen begünstigte die Aktivität der LDH A (vorwiegend A₄), wohingegen unter aeroben Bedingungen eine deutliche Abnahme der Aktivität von LDH A₄ beobachtet wurde.^[102] Die Q-Base verhindert somit eine unter aeroben Bedingungen ablaufende „Milchsäuregärung“, wie sie erstmals von *Warburg* an Tumorzellen beschrieben wurde.^[128]

Einhergehend mit der Modulierung zu Gunsten eines aeroben metabolischen Status der HeLa-Zellen wurde ein Anstieg des Elektronenflusses in den Mitochondrien verzeichnet, der auf eine erhöhte mitochondriale Aktivität hindeutet.^[102] In Einklang zu diesem Resultat stehen zwei Studien, die eine gesteigerte Aktivität antioxidativer Enzyme in Gegenwart von Queuin oder Q-tRNA beschreiben.^[106-107] Während des aeroben Metabolismus ist durch die in Mitochondrien ablaufenden Prozesse eine erhöhte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS) zu erwarten, die aufgrund ihrer Reaktivität einer strikten Kontrolle bedürfen.^[129-131]

All diese Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass Queuin für die Anpassung des Metabolismus durch Regulierung der LDH-Enzyme unter Sauerstoffmangelbedingungen von besonderer Bedeutung ist.^[104] Angesichts des hemmenden Einflusses auf den anaeroben Metabolismus, wie er sehr häufig im Tumorgewebe vorzufinden ist, wird in der Literatur sogar eine antikarzinogene Wirkung diskutiert.^[104]

Regulierung der Zellproliferation

Die Modulierung der Zellproliferation steht in enger Beziehung zur queuinvermittelten Regulierung von Wachstumsfaktoren bzw. deren Rezeptoren sowie des Stoffwechsels durch Queuin über LDH-Enzyme. Untersuchungen von *Langgut et al.* zeigten, dass der Einfluss der Q-Base auf die Zellproliferation weniger von der Verfügbarkeit von Sauerstoff als vielmehr von der metabolischen Prädisposition der Zellen abhängig ist, d.h. ob die Energiegewinnung der Zellen vorwiegend über einen anaeroben oder aeroben Metabolismus abläuft.^[108] Grundlage für eine durch Queuin begünstigte Zellproliferation ist demzufolge ein aerober metabolischer Status, wobei bei Verlust von Queuin diese Fähigkeit der metabolischen Anpassung zellulärer Prozesse verloren gehen kann.^[103, 108, 110]

Der positive Effekt auf das Zellwachstum unter aeroben Bedingungen ist jedoch nur in Gegenwart ausreichender Mengen an Wachstumsfaktoren zu beobachten, was deshalb eine wachstumsfördernde Funktion der Q-Base allein ausschließt.^[110] Im Gegensatz dazu wurde die von EGF (*epidermal growth factor*) induzierte Proliferation in Gegenwart von Queuin

vollständig gehemmt, welche erst durch höhere Konzentration des Wachstumsfaktors wieder einsetzte.^[109] Dieses Resultat lässt darauf schließen, dass die Proliferation bestimmter Zellen in Säugetieren durch die Anwesenheit von Queuin reguliert werden könnte (Überlebensrate von Krebszellen wird durch die Signale des EGF-Rezeptors begünstigt)^[132], und der induzierende Effekt erst bei erhöhter Expression des EGF-Proteins eintritt, hervorgerufen u.a. durch Verletzungen.^[110]

Der Wiedereintritt von im Ruhezustand befindlicher Zellen in die Zellproliferation kann jedoch zu einer vorübergehenden hypoxischen Stresssituation führen,^[101] die eine Erhöhung der Aktivität des anoxischen Stressproteins LDH_k bedingt^[101] und gleichzeitig zu einem Stillstand des Zellzyklus^[133] führen kann. Studien an HeLa-Zellen belegen, dass dieser Zustand indes nur unter queuinfreien Bedingungen entsteht.^[101] Unter physiologischen Bedingungen hingegen ist die freie Q-Base ubiquitär^[60] und, wie weiterhin in dieser Studie^[101] gezeigt werden konnte, führt die Anwesenheit von Queuin zu einer vollständigen Hemmung der Aktivität von LDH_k. Deshalb gehen die Autoren davon aus, dass freies Queuin Säugetierzellen vor einer hypoxischen Stresssituation, die u.a. durch Stimulierung der Proliferation hervorgerufen werden kann, schützt und infolgedessen den Fortschritt des Zellzyklus begünstigt.^[101]

Stabilisierung der tRNA gegen Abbau

Die physiologischen Funktionen von galQ und manQ, zwei der wohl aussergewöhnlichsten Mitglieder der Q-Familie, sind weitestgehend noch unbekannt. *Farkas* stellte in seiner einleitenden Studie zur Aufklärung des Biosynthesewegs in Eukaryoten bei keimfreien Mäusen, die eine chemisch definierte, jedoch queuin- bzw. queuosinfreie Nahrung erhielten, fest, dass vier Wochen nach Beginn der Studie die tRNAs für Tyrosin bzw. Aspartat noch vollständig mit Queuosin modifiziert waren. Demgegenüber trugen lediglich 15% der histidin- bzw. asparaginspezifischen tRNAs die Modifikation.^[64] Die deutlich geringere Abnahme des Modifizierungsgrades in tRNA^{Tyr} und tRNA^{Asp} deutet vermutlich auf eine höhere Stabilität der tRNAs mit glykosyliertem Queuosin hin.^[111] Angesichts einer Halbwertszeit von etwa zwei bis drei Tagen ist jedoch davon auszugehen, dass weitere Faktoren an der Stabilität beteiligt sein müssen.^[134-135]

In weiterführenden Experimenten von *Farkas und Mitarbeitern*, ebenfalls mit keimfreien Mäusen, deren tRNAs kein Queuosin enthielten, wurde beobachtet, dass bei gezielter Gabe von Queuin die tRNA für Aspartat bereits bei einer deutlich geringeren Menge vollständig mit Queuosin modifiziert ist als vergleichsweise die histidinspezifische tRNA.^[65] Die höhere

Affinität dieser tRNA könnte dadurch bedingt sein, dass Queuosin zur korrekten Translation bestimmter mRNAs erforderlich ist, und somit während des tRNA-Metabolismus anfallendes Queuin sofort in diese tRNA integriert wird. In Aminoacylierungsstudien an allen Q-spezifischen tRNAs wurde weiterhin deutlich, dass eine vollständige Acylierung der tRNA^{Asp} und tRNA^{Tyr} nur in Gegenwart von Queuosin möglich ist.^[111]

Obleich in den vorgestellten Studien kein eindeutiger Beweis für eine Beteiligung glykosylierter Queuosinderivate nachgewiesen werden konnte,^c zeigen die Ergebnisse dennoch deutlich, dass die glykosyliertes Queuosin enthaltenden tRNA^{Tyr} und tRNA^{Asp} eine Ausnahmestellung innerhalb des tRNA-pools eines Organismus zu besitzen scheinen. Deshalb ist noch zu klären, ob die glykosylierten Q-Derivate innerhalb dieser tRNAs tatsächlich selbst an einer höheren Stabilität beteiligt sind, indem sie den enzymatischen Abbau der tRNA-Struktur hemmen. Oder ob die ermittelten Eigenschaften der tRNA^{Tyr} und tRNA^{Asp} lediglich die Konsequenz für die Bedeutung glykosylierter Q-tRNA für zelluläre Prozesse ist, bleibt unklar.

Offene Fragen zu den beobachteten physiologischen Funktionen von Queuosin

Anhand der in diesem Kapitel vorgestellten und weiterer dargestellten Untersuchungen eröffnet sich langsam ein tieferer Einblick in die physiologischen Funktionen von Queuosin, dessen Derivaten sowie der freien Queuinbase weit abseits der Biosynthese von Proteinen bis hin zu zellulären Regulierungsmechanismen. In diesem Zusammenhang wird der Q-Base auch eine zytokinähnliche Funktion in Säugetieren zugeschrieben.^[108]

Ein Aspekt, der im Zusammenhang mit der physiologischen Rolle der Q-Familie betrachtet werden muss, ist die regulative Funktion auf den Zellstoffwechsel. Wie aus Tabelle 1 entnommen werden kann, moduliert die freie Q-Base zahlreiche zelluläre Prozesse, wobei insbesondere der Einfluss auf den EGF-Rezeptor (*epidermal growth factor receptor*) in Gegenwart des EGF hervorzuheben ist.^[102] Verschiedene Untersuchungen in Bezug auf die Regulation zellulärer Vorgänge haben gezeigt, dass die Modulation einiger in Tabelle 1 aufgeführter Prozesse bzw. Enzyme (Zellproliferation, Glukosemetabolismus, Stressantwort, etc.) als Folge einer nachgelagerten Signalübertragung ausgehend von der Aktivierung des EGF-Rezeptors erfolgt.^[101-102] Deshalb ist nicht auszuschließen, dass die beobachteten Änderungen bei einigen Prozessen vielmehr die Folge der Aktivierung bzw. Inhibierung des EGF-Rezeptors durch Queuin sind, als weniger ein direkter Einfluss der Q-Base auf die

^c Die Autoren der Studien^[64-65, 109] unterschieden nicht zwischen Queuosin und den glykosylierten Queuosinderivaten galQ und manQ.

entsprechenden Enzyme selbst. Im Fall der Regulierung des aeroben Zellstoffwechsels wäre es durchaus denkbar, dass an dessen Modulation weitere Enzyme beteiligt sind, die über den EGF-Rezeptor durch Queuin aktiviert bzw. deaktiviert werden.^[101-102] Ein weiteres mögliches Beispiel wäre die queuosinabhängige Biosynthese von Tyrosin, welche indirekt als Teil eines Signalübertragungsweges durch Queuin oder Queuosin gesteuert werden könnte. Allerdings würde sich eine Untersuchung des Mechanismus der Einflussnahme von Queuin auf verschiedene Prozesse über eine Modulierung des EGF-Rezeptors schwierig gestalten. Studien an *knock-out*-Mäusen, deren EGF-Rezeptor-Gen ausgeschaltet wurde, zeigten, dass zum Teil schwere Schäden des zentralen Nervensystems sowie verschiedener Organe zu erwarten sind.^[136-137]

Entgegen den aus zahlreichen Krebszelllinien gewonnenen Erkenntnissen über den tiefgreifenden Einfluss von Queuosin auf den zellulären Metabolismus, zeigten jedoch Untersuchungen an verschiedenen prokaryotischen und eukaryotischen Organismen, dass die Abwesenheit der Q-Base bzw. queuosinmodifizierte tRNA im zeitlichen Rahmen dieser Studien keine nennenswerten phänotypischen Auswirkungen hervorrief.^[65, 138-140] Angesichts dieser Diskrepanz zwischen den Ergebnissen gibt es noch immer zahllose unbeantwortete Fragen bezüglich der physiologischen Rolle von Queuosin in gesunden Organismen, insbesondere im Hinblick auf die glykosylierten Queuosinderivate galQ und manQ, deren Funktion weitestgehend noch immer im Dunklen liegt.

1.3 Nichtkanonische Funktionen von Wobblemodifikationen und RNA-Editing

Modifikationen der kanonischen Nukleinsäurebasen spielen zweifelsohne eine wichtige Rolle u.a. im komplexen Zusammenspiel aller Komponenten bei der Proteinbiosynthese.^[141] Dennoch zeigten Studien der letzten Jahre, dass sich der Einfluss einiger (tRNA-gebundener) modifizierter Nukleoside auf derart weite Bereiche zellulärer Vorgänge erstreckt, die zum Teil weit abseits der eigentlichen Funktion dieser Modifikationen liegen.^[142-147] Obgleich der Umfang der zusätzlichen Aufgaben sowie die daran beteiligten Nukleoside nahezu vollständig ungeklärt sind, wurde aus den bislang gewonnenen Erkenntnissen deutlich, dass zur Regulierung einzelner kanonischer Funktionen der tRNA mittels nichtkanonischer Aufgaben teilweise eine gegenseitige Abhängigkeit (*interdependence model*) zwischen zwei bislang unabhängigen, die tRNA modulierenden Mechanismen besteht.^[148] Einerseits die Modifizierung von Nukleosiden, andererseits sogenanntes *RNA Editing*, das zum post-

transkriptionellen Austausch unmodifizierter Nukleoside bzw. Inosin führt und demzufolge die ursprünglich in der DNA festgelegte genetische Information der entsprechenden RNA-Spezies verändert.^[149-150] Für nähere Informationen sei auf die Übersichtsartikel hingewiesen.^[149-153]

Ziele zur Untersuchung und Aufklärung nichtkanonischer Funktionen von modifizierten Nukleosiden sowie den Auswirkungen von *RNA Editing* in unterschiedlichen Spezies waren vor allem Mitochondrien. Die oftmals auftretende unzureichende Anzahl an mitochondrialen tRNA Genen erfordert spezielle Strategien, u.a. den Import zytosolischer tRNA oder *tRNA Editing*, um den mitochondrialen genetischen Code ordnungsgemäß entschlüsseln zu können.^[143, 149-150]

Im Vergleich zum mitochondrialen Genom vieler Säugetiere, das einen vollständigen Satz an tRNA Genen besitzt, wurden in der mitochondrialen DNA von *Leishmania tarentolae* und *Trypanosoma brucei* keine derartigen Gensequenzen gefunden,^[143] weshalb sich die Frage stellte, inwiefern der Import zytosolischer tRNA reguliert wird. Eine Studie^[143] auf Basis einer früheren Analyse der Sequenz von tRNAs^[154] lieferte schließlich erste Einblicke in den Mechanismus bei *L. tarentolae* anhand der insgesamt sechs Isoakzeptoren für Glutamin, Glutamat bzw. Lysin. Ausschlaggebend ist demzufolge die weitere Modifizierung einer einzelnen Modifikation in Abhängigkeit von der intrazellulären Lokalisierung dieser tRNA-Moleküle, die nach Transkription und Reifung die gemeinsame Modifikation 5-Methoxycarbonylmethyluridin (mcm^5U ; Abb. 8) an der Wobble-Position tragen.^[143] Im Fall der beiden für Lysin kodierenden Isoakzeptoren, die nahezu ausschließlich in Mitochondrien zu finden sind, erfolgt nach Import eine Methylierung der 2'-O-Position der Riboseeinheit von mcm^5U zu 5-Methoxycarbonylmethyl-2'-O-methyluridin (mcm^5Um). Demgegenüber wird nur ein bestimmter Anteil der entsprechenden Isoakzeptoren für Glutamin bzw. Glutamat importiert und die Wobble-Position zu mcm^5Um modifiziert, wobei die im Zytosol verbleibenden tRNAs an Position 2 des Pyrimidingerüsts mit einer Thiocarbonylgruppe versehen werden (5-Methoxycarbonylmethyl-2-thiouridin, mcm^5s^2U).^[143] Diese Gruppe dient den für den Import verantwortlichen Proteinen als ein Signal, diese tRNAs nicht in das Mitochondrium einzuschleusen.^[143] Der Mechanismus zur Regulierung des importierten Anteils an Glutamin- bzw. Glutamat-tRNAs, die sich den gemeinsamen *pool* teilen, ist allerdings noch unbekannt.

Die gegenseitige Abhängigkeit (*interdependence*) zwischen einer Nukleosidmodifizierung und dem *RNA Editing* wird bei der Regulierung zur Erweiterung von Bindungseigenschaften

Tryptophan kodierender mitochondrialer tRNA von *T. brucei* deutlich.^[150] Hintergrund hierfür ist die Rekodierung des regulären UGA-Stopkodons zu einem zusätzlichen für Tryptophan spezifischen Kodons im mitochondrialen genetischen Code, welches allerdings durch die aus dem Zytosol importierte tRNA^{Trp} nicht gelesen werden kann. Durch enzymatische Desaminierung (*Editing*) des an der Wobble-Position befindlichen Cytosins zu Uridin wird ein erheblich breiteres Spektrum an Bindungsmöglichkeiten eröffnet^[13, 31, 41-42] und demzufolge das UAG-Kodon zur Entschlüsselung als Tryptophan zugänglich.^[146] Die Regulierung dieses posttranskriptionellen „Austauschs“ von Nucleosiden erfolgt ähnlich der oben diskutierten Steuerung des Imports von tRNA, jedoch durch Modifizierung des benachbarten U33 zu 2-Thiouridin (s²U) an importierter tRNA^{Trp},^[155] wodurch die enzymatische Desaminierung erheblich erschwert wird.^[147]

Eine weitere weitreichende Bedeutung der Verknüpfung zwischen *RNA Editing* und Nucleosidmodifizierung ist sehr gut anhand der Biosynthese von Queuosin in Aspartat kodierender mitochondrialer tRNA von Beuteltieren dokumentiert.^[142, 144] Im Gegensatz zu der oben beschriebenen von Trypanosomen verfolgten Strategie des Imports zytosolischer tRNA bei unzureichender Anzahl mitochondrialer tRNA Gene, wurde bei Beuteltieren eine nachhaltige Spezifitätsänderung einer mitochondrial kodierten tRNA beobachtet. Die Überführung des in Position 35 befindlichen Cytosins zu Uridin in glycinspezifischer tRNA verändert einerseits die Bindungspräferenz,^[142, 144] andererseits wird gleichzeitig die Signalsequenz U₃₃G₃₄U₃₅ für TGT-Enzyme^[80-82] geschaffen, die als Folge davon Queuin in die Wobble-Position einbauen können. Zusätzlich wird diese editierte tRNA nun ausschließlich mit Aspartat beladen.^[142, 144]

Obgleich diese Studien lediglich einen kleinen Ausschnitt aus dem umfangreichen Aufgabenrepertoire modifizierter Nucleoside widerspiegeln mögen, so sind angesichts der zahllosen Kontrollmechanismen zellulärer Prozesse in naher Zukunft zweifelsohne weitere Funktionen von Nucleosidmodifikationen abseits der kanonischen Aufgaben zu erwarten.

2 Aufgabenstellung

Modifizierte Nukleoside leisten einen wichtigen Beitrag für die vollständige Funktionsfähigkeit von tRNA-Molekülen. Insbesondere Modifikationen an der Wobble-Position modulieren die Kodonerkennung u.a. durch die an spezifischen Wechselwirkungen beteiligten zusätzlichen Seitenketten. Zahlreiche Studien der letzten Jahre führten zu einem tieferen Einblick in die Funktionsweise individueller Modifizierungen der kanonischen Basen und trugen somit zur Aufklärung der beobachteten Wobble-Basenpaarungen bei.

Queuosin ist eine der wenigen Modifikationen, von denen die Funktion der Seitenkette noch nahezu vollständig ungeklärt ist. Von großem Interesse sind zudem die ausschließlich in Tieren auftretenden glykosylierten Derivate Galaktosylqueuosin und Mannosylqueuosin, deren speziesspezifisches Auftreten, sowie die damit verbundenen Funktionen vollkommen unbekannt sind. Für zukünftige biochemische und kristallographische Untersuchungen ist ein synthetischer Zugang zu diesen modifizierten Nukleosiden deshalb von Bedeutung.

Das Ziel dieser Arbeit war folglich die Totalsynthese der beiden glykosylierten Queuosinderivate Galaktosylqueuosin und Mannosylqueuosin und die damit verbundene endgültige Klärung der Verknüpfung des jeweiligen Zuckers mit dem vicinalen Diol der Cyclopenten-seitenkette des natürlichen Nukleosids.

Hierfür sollte eine Synthesestrategie entwickelt werden, die eine zuverlässige und stereoselektive Einführung des jeweiligen Zuckerrests in das Cyclopentenderivat gewährleistet. Die strukturelle Identität der synthetisch dargestellten Nukleoside zum entsprechenden natürlichen Nukleosid sollte aufgrund des sehr geringen natürlichen Vorkommens durch LC-MS-Koinjektionsexperimente bewiesen werden. Der enzymatische Verdau einer natürlichen tRNA-Probe, die beide Modifikationen enthält, sollte mit dem synthetischen Nukleosid in ähnlicher Konzentration versetzt und anschließend LC-MS-analytisch untersucht werden. Die vollständige Überlagerung der entsprechenden Signale der synthetischen und natürlichen Modifikation sollte dann der Beweis für den identischen strukturellen Aufbau sein.

Im Gegensatz zu den hochmodifizierten Derivaten kanonischer Nukleoside, welche sich nahezu ausschließlich im Antikodonstamm einer tRNA befinden, verteilen sich die Methyl-derivate der Basen über die gesamte tRNA-Struktur. Neben der Beteiligung an der Kodonerkennung tragen sie somit auch zur strukturellen Stabilisierung der tRNA bei. Anhand des Modifikationsgrades einer tRNA lassen sich Rückschlüsse auf den Einfluss verschiedener Umweltfaktoren auf den zellulären Metabolismus ableiten. Im Zusammenhang mit einem Projekt zur quantitativen Ermittlung des Modifikationsgrades von Gesamt-tRNA im Arbeitskreis *Carell* sollte zudem eine Synthesestrategie zur Darstellung von natürlichen Methyl-derivaten des Guanosins entwickelt werden. Zusätzlich sollte diese Route die Einführung einer Isotopenmarkierung ermöglichen.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Synthese von Galaktosylqueuosin

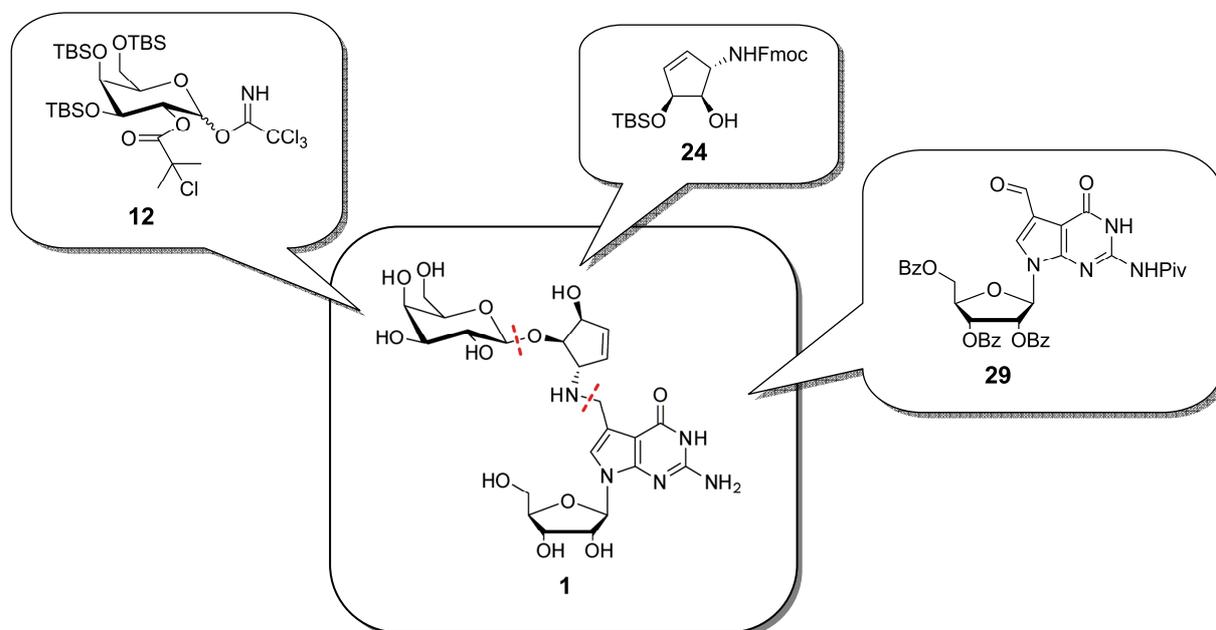


Abb. 12: Retrosynthetische Übersicht zur Darstellung von Galaktosylqueuosin (1). Die Schnittstellen sind rot hervorgehoben.

Zur Orientierung für die nachfolgenden Ausführungen zur Totalsynthese von Galaktosylqueuosin (1) sind in Abb. 12 die verwendeten Synthesebausteine aufgeführt.

3.1.1 Synthese des Galaktosyldonors 12

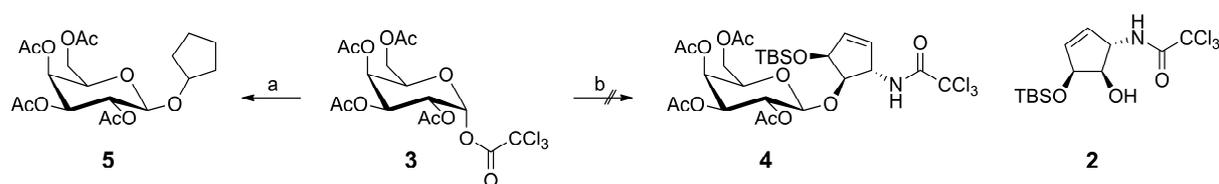
Ein Schlüsselschritt der Totalsynthese von Galaktosylqueuosin 1 ist die Einführung eines Galaktosebausteins in die nichtallylische Position des Cyclopentenylamins mittels stereoselektiver Glykosylierung. Deshalb mussten zunächst einige wichtige Aspekte bezüglich der Eigenschaften eines geeigneten Zuckerdonors betrachtet werden.

Das wichtigste Kriterium, das der Donor zu erfüllen hatte, ist die Stereoselektivität der Glykosylierungsreaktion. Wünschenswert ist ein Donor, mit dessen Hilfe sich der Zuckerbaustein stereoselektiv in β -konfigurierter Form einführen lässt, um die oft aufwändige Aufreinigung der Anomerengemische zu vermeiden.

Ein weiterer Aspekt, der betrachtet werden muss, ist die Wahl der Schutzgruppen für die Hydroxygruppen des Zuckers. Essenziell für die stereoselektive Einführung des Zuckerbausteins ist ein Acylrest an der 2-O-Position des Zuckers, der durch den von ihm ausgeübten Nachbargruppeneffekt die β -selektive Glykosylierung gewährleisten könnte. Mit Blick auf die spätere basenvermittelte Entschützung der Aminofunktion der Cyclopenteneinheit und die nachfolgende Aufreinigung sollten die restlichen Schutzgruppen nur eine geringe Basenlabilität aufweisen, jedoch gleichzeitig die Glykosylierungsreaktion in ihrer Selektivität durch sterische Hinderung nicht beeinträchtigen.

Schließlich muss auch die Reaktivität des Zuckerdonors im Zusammenhang mit sterisch anspruchsvollen Akzeptoren berücksichtigt werden, da die Glykosylierung trotz erfolgreicher Aktivierung des Zuckerdonors oftmals an der sterischen Abschirmung der zu glykosylierenden Position durch benachbarte Gruppen scheitert.^[156] Vorrangiges Ziel war es deshalb, einen Galaktosedonor zu finden, der diesen hohen Ansprüchen gerecht wird.

In einleitenden Experimenten zur Modifizierung des Cyclopentens **2**^[157] mit einem Galaktosebaustein wurde der Weg von *Ovaa et al.* untersucht, der ausgehend vom Galaktosedonor **3**^[158] durch Umsetzung mit Cyclopenten **2** (Kapitel 3.5) erstmals das modifizierte Cyclopenten **4** erhalten hatte (Schema 8).^[157] Jedoch zeigte sich sehr schnell, dass weder unter den von *Ovaa et al.* angegebenen Bedingungen,^[157] noch bei Verwendung der alternativen Lewisäure Bortrifluorid eine Umsetzung stattfand. Deshalb wurde zunächst der Einfluss der Schutzgruppen am Cyclopenten **2** untersucht, da der Galaktosedonor **3** nur sterisch wenig anspruchsvolle Acetylgruppen besitzt.



Schema 8: Einführende Experimente zur Darstellung eines galaktosemodifizierten Cyclopentens. a) Cyclopentanol, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 22 h, 35%; b) **2**, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 3 d.

Hierfür wurde Cyclopentanol, eine rudimentäre Struktur des eigentlichen Substrats **2**, als Modellsubstanz eingesetzt, mit dem Ergebnis, dass das gewünschte β -konfigurierte Glykosid **5** in moderater Ausbeute isoliert werden konnte (Schema 8). Anhand dieser in Schema 8 gezeigten Umsetzung sowie weiteren im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Glykosylierungsreaktionen mit verschiedenen Galaktosedonoren^[159-161] ließ sich bereits

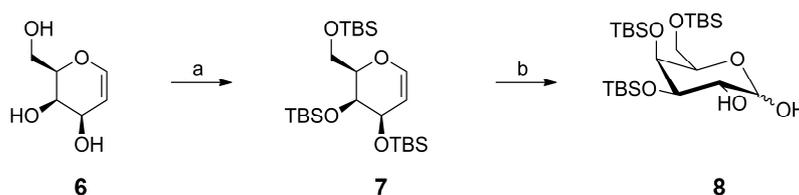
erkennen, dass beide, die homoallylische Hydroxygruppe des Cyclopentens **2** flankierenden Schutzgruppen, ein nicht zu unterschätzender Faktor für die Glykosylierungsreaktion sind.

Entgegen dieser Beobachtungen konnten *Szpilman et al.* in ihrer Arbeit zeigen, dass der Reaktionsverlauf einer Glykosylierung weniger auf die sterische Hinderung des zu glykosylierenden Hydroxygruppe zurückzuführen ist, sondern vielmehr mit der Reaktivität des Donors im Zusammenhang steht. Durch die Wahl eines hinlänglich reaktiven Zuckerdonors konnten sie sterisch anspruchsvolle Alkohole β -selektiv in hohen Ausbeuten in die entsprechenden Glykoside überführen.^[162] Diese Methode stellte daher einen interessanten Ansatz der Synthese eines galaktosemodifizierten Cyclopentens dar. Dennoch stellte sich angesichts der Tatsache, dass dieser Donor nur innerhalb eines gewissen Spektrums an sterischer Hinderung des Alkohols eine reine β -Selektivität zeigte,^[162] die Frage, ob eine Glykosylierung des Cyclopentens **2** ohne Verlust der Stereoselektivität durchführbar ist. Zur Überprüfung des Reaktionsverhaltens in Bezug auf die Seitenkette **2** wurde in Anlehnung an die Arbeit von *Szpilman et al.* eine Synthesestrategie für einen Galaktosedonor entwickelt, dessen erhöhte Reaktivität die verminderte Nukleophilie der nichtallylischen Hydroxygruppe kompensieren sollte.

Ausgehend von D-Galaktal **6** wurden zunächst die primäre und sekundären Hydroxygruppen mit der TBS-Gruppe in Gegenwart von Imidazol geschützt, wobei erst nach zwei Tagen bei 60 °C vollständiger Umsatz zu beobachten war.^[163] Die Reaktion des geschützten Galaktals **7** zum Galaktosederivat **8** gelang mittels einer osmiumkatalysierten Dihydroxylierung, deren Stereoselektivität an Position 2 des Zuckers nicht auf den Zusatz eines chiralen Auxiliars beruhte, sondern vielmehr durch die sterisch anspruchsvollen TBS-Gruppen vermittelt wurde (Schema 9).^[164] Einer ¹H-NMR-spektroskopischen Untersuchung des erhaltenen Diols zufolge wurden erwartungsgemäß zwei Produkte gefunden. Den endgültigen Aufschluss über die Stereoselektivität der Dihydroxylierung lieferte schließlich die Ermittlung der Kopplungskonstante zwischen den C1- und C2-gebundenen Protonen, die im gewünschten β -konfigurierten Diastereomer eine *trans*-Position zueinander einnehmen (7.3 Hz im Vergleich zu 3.6 Hz des α -konfigurierten Diols). Demnach konnten die beiden Produkte dem α - bzw. β -konfigurierten Diol **8** zugewiesen werden. Anhand dieser Untersuchung ist davon auszugehen, dass die Abschirmung der „Oberseite“ des Pyranrings durch die TBS-Gruppen einen Angriff der Alkenfunktion durch Osmiumtetroxid ausschließlich von der „Unterseite“ des Moleküls zuließ. Untersuchungen der Reaktion an acetylgeschütztem Galaktal im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigten, dass durch die sterisch wenig anspruchsvollen

Acetylgruppen keine Stereoinformation auf die Position 2 des Zuckers übertragen wird, was zur Bildung eines komplexen Gemischs führte.

Im Gegensatz zur Literaturvorschrift, in der der direkte Einsatz des Katalysators Osmiumtetroxid beschrieben wird,^[164] wurde bei Verwendung von Kaliumosmat in Verbindung mit dem Oxidationsmittel *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid eine Verlängerung der Reaktionszeit auf zwei Tage beobachtet, dennoch konnte eine sehr gute Ausbeute (88%) des Galaktosederivats **8** erzielt werden.



Schema 9: Darstellung des Galaktosederivats **8**: a) TBSCl, DMF, 55 °C, 2 d, 87%; b) K₂O₈·2 H₂O, NMO, THF, *tert*-Butanol, H₂O, RT, 2 d, 88%.

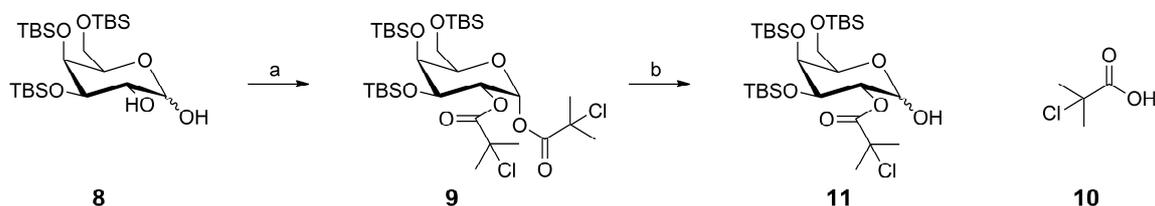
Die nächsten Schritte beinhalteten die Installation der Acylgruppe an Position 2 des Zuckers in Form eines α -Chlorisobuttersäureesters und die Einführung der Trichloracetimidatgruppe, die zur Aktivierung des Zuckerbausteins während der Glykosylierung erforderlich war.

Entgegen den Angaben der Literatur^[162] wurde zur Einführung des α -Chlorisobuttersäurerests die freie Säure verwendet, da sich die Aufreinigung des in der Literatur verwendeten entsprechenden Säurechlorids als äußerst aufwändig herausstellte. Ausgehend von Diol **8** wurden beide Hydroxygruppen unter dehydratisierenden Bedingungen unter Verwendung von Diisopropylcarbodiimid (DIC) in Gegenwart katalytischer Mengen DMAP in den α -Chlorisobuttersäureester umgewandelt (Schema 10). Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das gewünschte Produkt **9** jedoch nur im Gemisch mit dem aus DIC entstandenen Harnstoffderivat isoliert werden, wobei als weitere Nebenprodukte die jeweils mit einer Säuregruppe veresterten Verbindungen identifiziert wurden. Trotz Verlängerung der Reaktionszeit sowie erneuter Zugabe an DIC und 2-Chlorisobuttersäure konnte keine weitere Umsetzung beobachtet werden.

Deshalb wurden zusätzlich alternative Reagenzien (EDC, PyBOP, 2,4,6-Trichlorbenzoesäurechlorid) zur Darstellung des Diesters **9** auf ihre Eignung hin überprüft, wobei entweder nur sehr geringer Umsatz zum gewünschten Produkt beobachtet wurde (EDC) oder interessanterweise selektiv das am anomeren Zentrum veresterte Produkt erhalten wurde (PyBOP, 2,4,6-Trichlorbenzoesäurechlorid). Erwähnenswert ist hier die Tatsache, dass durch

Umsetzung des Diols **8** mit PyBOP selektiv der β -konfigurierte anomere Monoester gebildet wurde. Die beobachtete Stereoselektivität der Veresterung mit PyBOP ist vermutlich auf den kinetischen anomeren Effekt oder β -Effekt zurückzuführen.^[165] Die unter basischen Bedingungen auftretende höhere Nukleophilie der äquatorial orientierten anomeren deprotonierten Hydroxygruppe beruht auf der gegenseitigen Abstoßung der freien Elektronenpaare dieser Hydroxygruppe und der freien Elektronenpaare des endozyklischen Sauerstoffatoms. Trotz eines hohen Überschusses an *in situ* aktivierter α -Chlorisobuttersäure (Benzotriazolester der Carbonsäure) reagierte ausschließlich die äquatorial orientierte anomere Hydroxygruppe unter diesen milden Bedingungen. Weiterhin wird dieser Reaktionsverlauf der Auswirkung der 1,3-Abstoßung zugeschrieben.^[165]

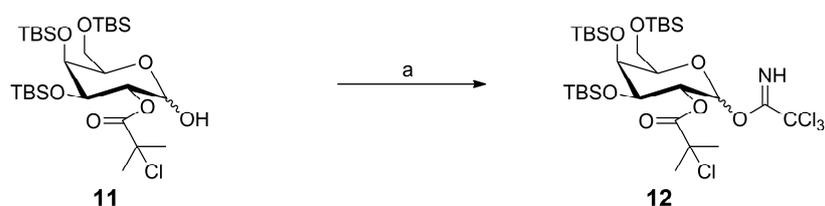
Entgegen diesen Beobachtungen zeigte die Veresterung des Diols **8** mit DIC in Gegenwart katalytischer Mengen DMAP reine α -Selektivität, die vermutlich auf die Abwesenheit des β -Effekts zurückzuführen ist, was zu einer erhöhten Reaktivität der α -Position geführt haben könnte. Begünstigt wurde die thermodynamisch kontrollierte Bildung des α -konfigurierten Produkts **9**, das durch den anomeren Effekt besonders stabilisiert wird, vermutlich zusätzlich durch die Abschirmung der äquatorialen anomeren Position durch die TBS-Gruppen.



Schema 10: Darstellung des Galaktosedonors **11**: a) **10**, DIC, DMAP, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 2.5 h; b) $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{AcOH}$, DMF, $-40\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 3.5 h, 19% (2 Stufen).

Bedingt durch die aufwändige Aufreinigung von α -Chlorisobuttersäure **10** (Kapitel 3.7) wurde zusätzlich die Möglichkeit untersucht, ob alternativ die Pivaloylgruppe für die angedachte Syntheseroute (vgl. Schema 10 und 11) verwendet werden kann. Jedoch stellte sich hierbei heraus, dass bei Verwendung von Pivaloylchlorid selbst nach einer Reaktionszeit von 20 Stunden bei $90\text{ }^\circ\text{C}$ unter DMAP-Katalyse nur ein mäßiger Umsatz stattfand. Den endgültigen Beweis für den sterisch deutlich höheren Anspruch der Pivaloylgruppe gegenüber dem α -Chlorisobutyrylrest lieferte schließlich die erneute Umsetzung des isolierten monoveresterten Galaktosederivats mit Pivaloylchlorid bei $100\text{ }^\circ\text{C}$. Selbst nach einer Reaktionszeit von fünf Tagen konnte keine Umsetzung beobachtet werden. Angesichts dieses Ergebnisses wurde von weiteren Untersuchungen abgesehen.

In Vorbereitung auf die anschließende Einführung der Trichloracetimidatgruppe zur Aktivierung des Donors wurde zunächst das anomere Zentrum von **9** regioselektiv mittels Hydraziniumacetat entschützt (Schema 10). Aufgrund des literaturbekannten spontanen Reaktionsabbruchs bei Verwendung von α -Chlorisobuttersäuregruppen^[162] war es nicht überraschend, dass die Umsetzung zu Monoester **11** stoppte, wobei jedoch nach jeder Durchführung der nicht umgesetzte Diester **9** wieder isoliert werden konnten. Überraschend war jedoch, dass weder die Zugabe zusätzlichen Entschützungsreagenzes noch die Verlängerung der Reaktionszeit zu weiterem Umsatz führten. Selbst bei Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 50 – 55 °C wurde nach vier Stunden keine nennenswerte Steigerung der Ausbeute verzeichnet. Hingegen war bei Umsetzung mit Hydrazinhydrat unter identischen Bedingungen bereits nach einer Stunde eine teilweise Zersetzung zu beobachten, wie die dünnschichtchromatographische Analyse des Gemischs belegte.



Schema 11: Synthese des Galaktosyldonors **12**: a) Cl_3CCN , Cs_2CO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 4 h, 72%.

Die basenkatalytische Additionsreaktion von Trichloracetonitril zu **12** zur Einführung der Trichloracetimidatgruppe in das Halbacetal **11** in Gegenwart von Cäsiumcarbonat verlief demgegenüber reibungslos (Schema 11).

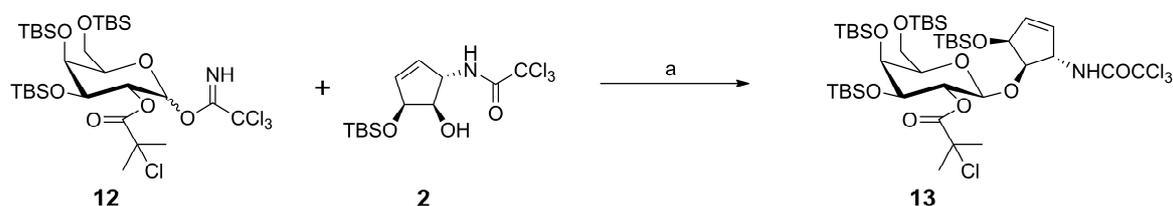
3.1.2 Untersuchungen zur Darstellung des Cyclopentenylamins **14**

3.1.2.1 Synthese des Galaktosids **13**

Die Einführung des Galaktosebausteins in die nichtallylische Position der Cyclopentenseitenkette des Queuosins mit β -konfigurierter Stereochemie am anomeren Zentrum stellte einen der zentralen Schritte auf dem Weg zur Synthese von Galaktosylqueuosin dar. Hierzu sollte eine Glykosylierungsreaktion unter den von *Szpilman et al.* erarbeiteten Bedingungen eingesetzt werden.^[162]

Hierzu wurde eine Lösung des Zuckerdonors **12** und des Cyclopentens **2** in *n*-Hexan zunächst über Molekularsieb getrocknet und anschließend mit einer katalytischen Menge des

brønstedsauren Aktivators 2-Chlor-6-methyl-pyridiniumtrifluormethansulfonat (CMPOTf)^[166] versetzt (Schema 12).



Schema 12: Synthese des Galaktosids **13**: a) CMPOTf, MS 3Å, *n*-Hexan, 2 h, 81%.

Erstes Indiz für eine erfolgreiche Umsetzung des Galaktosedonors **12** war die bereits nach 20 min einsetzende Präzipitation von in *n*-Hexan schwerlöslichem Trichloracetamid. Den endgültigen Beweis lieferte jedoch erst die ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung des isolierten Produkts, welche die β -selektive Einführung des Galaktosebausteins in die Cyclopenteneinheit bestätigte. Mit Hilfe dieser Glykosylierungsmethode konnte somit die galaktosylierte Queuosinseitenkette in guter Ausbeute (81%) erhalten werden. Eine genaue Analyse der Fraktionen nach säulenchromatographischer Aufreinigung des Galaktosids **13** zeigte, dass trotz des sterischen Anspruchs der beiden der homoallylischen Position benachbarten Gruppen kein α -konfiguriertes Produkt gebildet wurde. Des Weiteren konnte auch die Bildung des entsprechenden Orthoesters ausgeschlossen werden.

Ein entscheidender Faktor für die Kupplung war das Lösemittel *n*-Hexan, das bereits in vorangegangenen Arbeiten erfolgreich eingesetzt wurde. Dessen Einfluss auf die Reaktion konnte bislang noch nicht vollständig aufgeklärt werden.^[162, 166-167]

3.1.2.2 Untersuchungen zur Entschützung der Aminofunktion von **13**

Mit Blick auf den zweiten Schlüsselschritt der Reaktionssequenz, der Kopplung des freien Amins **14** mit dem 7-Desazaguanosinbaustein (vgl. Abb. 12) zur Vervollständigung des Galaktosylqueuosingerüsts, sollte die Aminofunktion an der Cyclopenteneinheit des Galaktosids **13** unter basischen Bedingungen entschützt werden. Überraschenderweise gestaltete sich jedoch diese Umsetzung angesichts der unerwarteten Nebenreaktion schwieriger als erwartet (Schema 13). Tabelle 2 bietet eine Zusammenfassung aller Bedingungen, die zur Untersuchung dieser Reaktion getestet wurden.

Tabelle 2: Bedingungen zur Untersuchung der Darstellung desamins **14**.

| <i>Nr.</i> | <i>Reagenzien</i> | <i>Lösemittel, Temperatur, Zeit</i> | <i>Beobachtung</i> |
|------------|--------------------------------|---------------------------------------|---|
| 1 | NaOH (2M) | MeOH, RT, 18 h | 15 und 16 |
| 2 | NaOH (2M) | MeOH, RT, 40 h | 16 |
| 3 | NH ₃ | MeOH, 43 °C, 18 h | 15 und 16 |
| 4 | Me ₂ NH (2M) | THF, RT, 18 h | komplexes Gemisch |
| 5 | Me ₂ NH (2M) | THF, RT, 40 h; 75 °C, 3 h | komplexes Gemisch |
| 6 | Me ₂ NH (8M) | EtOH, RT, 18 h; 40 °C, 18 h | 15 (Spuren) und 16 |
| 7 | MeNH ₂ | MeNH ₂ , -78 °C – RT, 18 h | kein Umsatz |
| 8 | NH ₃ | NH ₃ , -78 °C – RT, 18 h | kein Umsatz |
| 9 | K ₂ CO ₃ | MeOH/THF (3:1), RT, 15 h | 15 (Spuren) und 16 (Spuren) |

Im starken Gegensatz zu den in Tabelle 2 aufgeführten Ergebnissen steht die Umsetzung des am Zucker benzylgeschützten Galaktosids **17** (Abb. 13). Im Rahmen dieser Arbeit konnte **17** unter den in Eintrag 1 aufgeführten Bedingungen problemlos ohne die Bildung von Nebenprodukten in das entsprechende freie Amin unter gleichzeitiger Abspaltung des Esters am Zuckergerüst überführt werden. Angesichts der anschließenden nicht erfolgreichen Kopplung mit einem Desazaguanosinbaustein wurde die Route über eine TBS-Schätzung verfolgt. Deshalb stellte sich hier die Frage, in welchem Zusammenhang die TBS-Schätzung der Zuckerhydroxygruppen mit der Abspaltung der Trichloracetamidgruppe steht.

Eine mögliche Ursache für die drastisch verringerte Reaktivität der Trichloracetamidgruppe von **13** wäre ein Umklappen des Pyranrings in die ¹C₄-Konformation, die durch die sperrigen TBS-Gruppen hervorgerufen werden könnte (Abb. 13, **18**). So könnte im Gegensatz zu Verbindung **17** das Galaktosid **13** eine Konformation einnehmen, die die Trichloracetamidgruppe für das Entschätzungsreagenz unzugänglich macht. Tatsächlich wurde solch eine grundlegende Konformationsänderung an TBS-geschützten Zuckerderivaten bereits beobachtet.^[156]

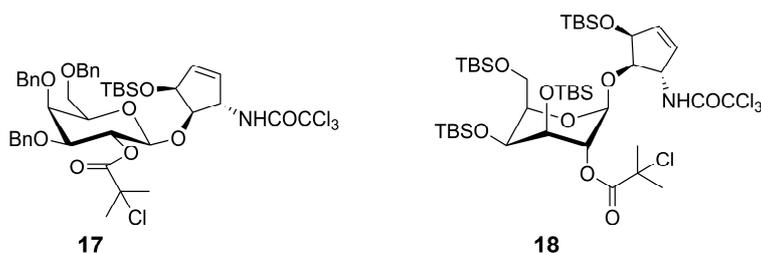


Abb. 13: Benzylgeschütztes Galaktosid **17** und alternative Struktur des Galaktosids **13** (Konformer **18**).

Allerdings zeigte die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung des Galaktosids **13**, dass eine derartige strukturelle Veränderung des Zuckergerüsts (Umklappen des Pyransessels) (Abb. 13, **18**) für die aufgetretene Inertheit der Trichloracetamidgruppe gegenüber den angewendeten Hydrolysebedingungen ausgeschlossen werden kann. Dennoch besteht die Möglichkeit, dass trotz Beibehaltung der $^4\text{C}_1$ -Konformation des Zuckergerüsts das Galaktosid **13** eine durch die Sperrigkeit der TBS-Gruppen am Zucker bzw. am Cyclopentenrest bedingte Konformation einnimmt, die einen Zugang zur Trichloracetamidgruppe verwehrt.

Konformationelle Änderungen des Galaktosids **13** in polaren Medien, wodurch die Carbonylgruppe der Amidfunktion gegen einen nukleophilen Angriff des Entschützungsreagenzes abgeschirmt wird, könnten unter Umständen auch dem stark apolaren Charakter der TBS-Schutzgruppen zuzurechnen sein und somit die Resistenz der Trichloracetamidgruppe gegen deren Abspaltung erklären. Demgegenüber zeigte die Umsetzung in THF (Eintrag 4 und 5), dass die Verwendung bzw. die Zugabe eines relativ apolaren Lösemittels vermutlich zu einer der in polaren Medien abweichenden Konformation führt. Hierbei wird die Amidfunktion zwar möglicherweise zugänglich, jedoch läuft die Zersetzung aufgrund der Abwesenheit einer Quelle für leicht zugängliche Protonen (z.B. MeOH/EtOH) zur Absättigung auftretender anionischer Übergangszustände vermutlich bevorzugt ab (vgl. im Gegensatz dazu Eintrag 6 und 9). Vom Zusatz von DMSO zur eventuellen Unterstützung einer Konformationsänderung in polaren Medien wurde jedoch abgesehen, da sich TBS-Gruppen unter wässrig-basischen Bedingungen in Gegenwart von DMSO selbst bei Raumtemperatur als äusserst labil erwiesen haben.^[169]

3.1.3 Synthese des Cyclopentenylamins 28

3.1.3.1 Synthese des Fmoc-geschützten Cyclopentens 24

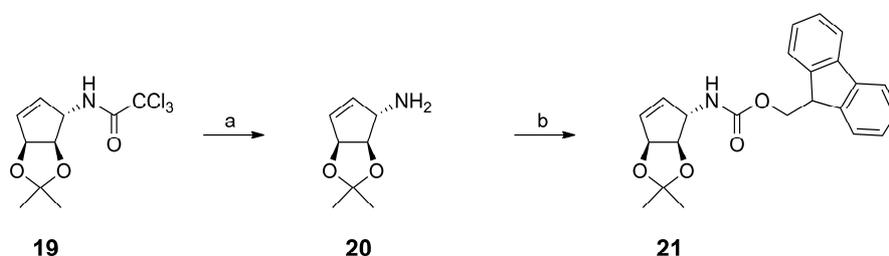
Angesichts der selbst unter milden basischen Bedingungen (Tabelle 1, Eintrag 9) auftretenden Silylwanderung wurden keine weiteren Bestrebungen mehr unternommen, die oben beschriebene Syntheseroute zu Amin **14** über eine basische Hydrolyse der Trichloracetamidfunktion in Gegenwart von TBS-Gruppen weiter zu verfolgen. Deshalb stellte sich hier nun die Frage, inwiefern diesem Reaktionsverhalten des Moleküls begegnet werden könnte, ohne aufwändige Änderungen am Zuckerdonor sowie am Cyclopenten vornehmen zu müssen. Wie sich im späteren Verlauf dieser Arbeit noch zeigen sollte, führen Abweichungen im Substitutionsmuster eines Zuckerdonors in Bezug auf den in diesem Kapitel verwendeten Donor **12** zu erheblichen Reaktivitätseinbußen (Kapitel 3.2/3.3).

Die Einführung einer alternativen Schutzgruppe an der Aminofunktion des Cyclopentens stellte sich hierbei, vor allem jedoch aus synthetischer Sicht, am günstigsten heraus. Aus der Synthese von **2** war bereits eine Zwischenstufe vorhanden, von der ausgehend die alternative Schutzgruppe innerhalb weniger Schritte eingeführt werden könnte. Jedoch hatte diese vier wichtige Kriterien zu erfüllen:

- Die Polarität der Cyclopentenseitenkette sollte sich nicht zu stark erhöhen, um die Durchführung der Glykosylierungsreaktion weiterhin in *n*-Hexan zu ermöglichen.
- Der sterische Anspruch der neuen Schutzgruppe sollte eine regioselektive Schützung der allylischen Hydroxygruppe gewährleisten, da die Regioselektivität nicht alleine auf der höheren Nukleophilie dieser Gruppe bzw. des sterischen Anspruchs der Schutzgruppe für die allylische Hydroxygruppe beruht. Jedoch musste beachtet werden, dass die Reaktivität der nichtallylischen Hydroxygruppe nicht zu stark durch die benachbarte Aminoschutzgruppe beeinträchtigt wird, um eine Kupplung bei der Glykosylierungsreaktion sicherzustellen.
- In Bezug auf den mit der Abspaltung des α -Chlorbutyrylrests verbundenen Silylshift sollte die Methode zur Freisetzung der Aminofunktion zwingend die Anwendbarkeit einer nichtnukleophilen Base voraussetzen.
- Die Schutzgruppe sollte säurestabil sein, um die während der Abspaltung der Isopropylidengruppe am vicinalen Diol auftretenden sauren Bedingungen zu überstehen.

Demzufolge wurde die 9*H*-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylgruppe (Fmoc) zur Schützung der Aminofunktion ausgewählt, die im Vergleich zu den weiteren in Betracht gezogenen Schutzgruppen zwei Vorteile besitzt. Einerseits konnte die Abspaltung mittels nicht-nukleophiler Basen durchgeführt werden, wodurch eine Silylwanderung vermeidbar wird. Andererseits bot der Abspaltungsmechanismus dahingehend einen Vorteil, dass das reaktive Zentrum in einiger Entfernung zum Glykosidgerüst liegt und somit die Wahrscheinlichkeit einer sterischen Hinderung seitens der Schutzgruppen des Zuckers oder Cyclopentenrings verringert wird. Jedoch blieb zunächst offen, ob durch die zusätzliche Methylenoxygruppe eine hinreichend große Sperrigkeit in Hinsicht auf die selektive Schützung der allylischen Position des Cyclopentens gewährleistet wird. Die Untersuchung dieser Reaktion zeigte, dass, obgleich die regioselektive Einführung der TBS-Gruppe gelingt, dies jedoch nur durch eine Modifizierung des zu **2** führenden Protokolls (Kapitel 3.5),^[157] bedingt durch die zur Trichloracetylgruppe abweichenden sterischen Eigenschaften der Fmoc-Gruppe, ermöglicht wird.

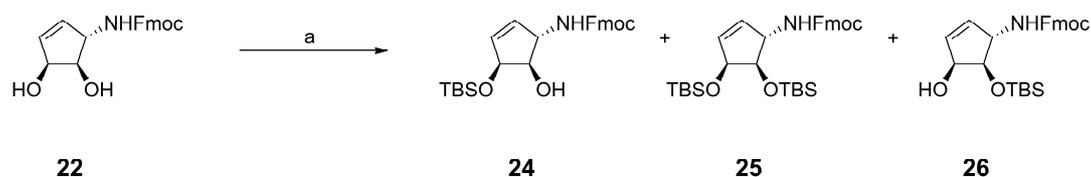
Vor Einführung der Fmoc-Gruppe war eine Entschützung der Aminofunktion der Zwischenstufe **19** nötig, die unter basischen Bedingungen reibungslos durchgeführt werden konnte und das freie Amin **20** lieferte. Nach Neutralisation der Reaktionslösung wurde jedoch auf eine Isolierung verzichtet und nach Entfernen des Lösemittels das freie Amin in wässrigem Dioxan direkt mit Fmoc-OSu umgesetzt, was schließlich zum gewünschten Cyclopenten **21** in sehr guter Ausbeute (80% über zwei Stufen) führte (Schema 14). Dessen Isolierung wurde dahingehend enorm erleichtert, dass die Nebenprodukte während der säulenchromatographischen Aufreinigung bereits mit Dichlormethan abgetrennt werden konnten, wohingegen **21** erst mit einer polaren Mischung aus EtOAc und Isohexan eluiert wurde.



Schema 14: Darstellung von **21**. a) NaOH (2M), MeOH, RT, 18 h; b) Fmoc-OSu, NaHCO₃ (ges.), Dioxan, H₂O, 0 °C → RT, 3 h, 80% (zwei Stufen).

20 Minuten vollständig abgelaufen war und trotz Freisetzung von Trifluormethansulfonsäure keine Abspaltung der Fmoc-Gruppe stattgefunden hat. Obwohl die Bildung des doppelt silylgeschützten Produktes **25** bei beiden Reaktionen zunächst etwas unglücklich erschien, konnte jedoch ein wichtiger Rückschluss über die Reaktivität der nichtallylischen Hydroxygruppe der Verbindung **24** auch in Hinsicht auf die spätere Umsetzung mit dem Galaktosyldonor **12** gezogen werden. Die bevorzugte Entstehung des doppelt geschützten Produkts **25** zeigte einerseits, dass die Fmoc-Schutzgruppe im Vergleich zur Trichloracetamidgruppe – gewünschtes Produkt **2** war Hauptprodukt – einen geringeren sterischen Einfluss auf die nichtallylische Position besitzt bzw. die als Elektrophil auftretende TBS-Gruppe durch die Fmoc-Gruppe in geringerem Umfang an der Reaktion mit der nichtallylischen Hydroxygruppe sterisch gehindert wird. Trotz der höheren Reaktivität der allylischen Hydroxygruppe bewies andererseits die Bildung der selektiv an der nichtallylischen Hydroxygruppe geschützten Verbindung **26** mit TBSOTf sowie die Reisolierung von **22** bei der Umsetzung mit reaktionsärmeren TBSCl, dass die Fmoc-Gruppe auch einen sterischen Einfluss auf die allylische Position ausüben musste. Angesichts dieser Hinderung wurde das gewünschte Produkt **24** sowie das selektiv am nichtallylischen Alkohol geschützte Cyclopenten **26** durch Umsetzung mit TBSOTf bei Raumtemperatur in ähnlicher Ausbeute erhalten, was folglich auf eine ähnliche Reaktivität beider Hydroxygruppen bei dieser Temperatur schließen ließ. Ausgehend von diesem Ergebnis bedurfte es daher, um die höhere Nukleophilie der allylischen Hydroxygruppe für die regioselektive Schützung nutzen zu können, einer Absenkung der Reaktionstemperatur. Hierdurch konnte schließlich bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ die an der allylischen Hydroxygruppe selektiv geschützte Verbindung **24** mit 63% Ausbeute isoliert werden. Jedoch wurden die Nebenprodukte **25** und **26** weiterhin beobachtet (Schema 16).

Zusammenfassend sollte die Fmoc-Gruppe offenbar keinen allzu großen sterischen Einfluss auf die Glykosylierungsreaktion besitzen.



Schema 16: Synthese von **24**. a) TBSOTf, DMF, $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min, 63% (**24**), 10% (**25**), <1% (**26**).

Erwähnenswert sei abschließend, dass in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren aller Fmoc-geschützten Cyclopentenderivate sowie des im folgenden Kapitel besprochenen Galaktosids **27** eine signifikante Signalverbreiterung der Protonen der Cyclopentenstruktur auftrat, die sich im Fall von **27** sogar teilweise auf die Protonen des Zuckergerüsts erstreckte (Abb. 16A). Zur weiteren Klärung dieser Beobachtung wurde deshalb Verbindung **21** (Abb. 14) exemplarisch für alle Fmoc-geschützten Cyclopentenderivate, nicht zuletzt aufgrund deren hohen Temperaturstabilität, einer temperaturabhängigen $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchung unterzogen, deren Ergebnis in Abb. 15 zusammengefasst ist.

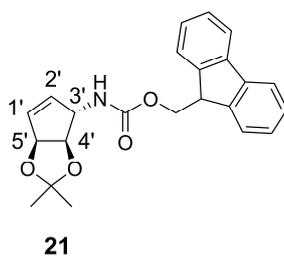


Abb. 14: Fmoc-geschütztes Cyclopentenderivat **21**.

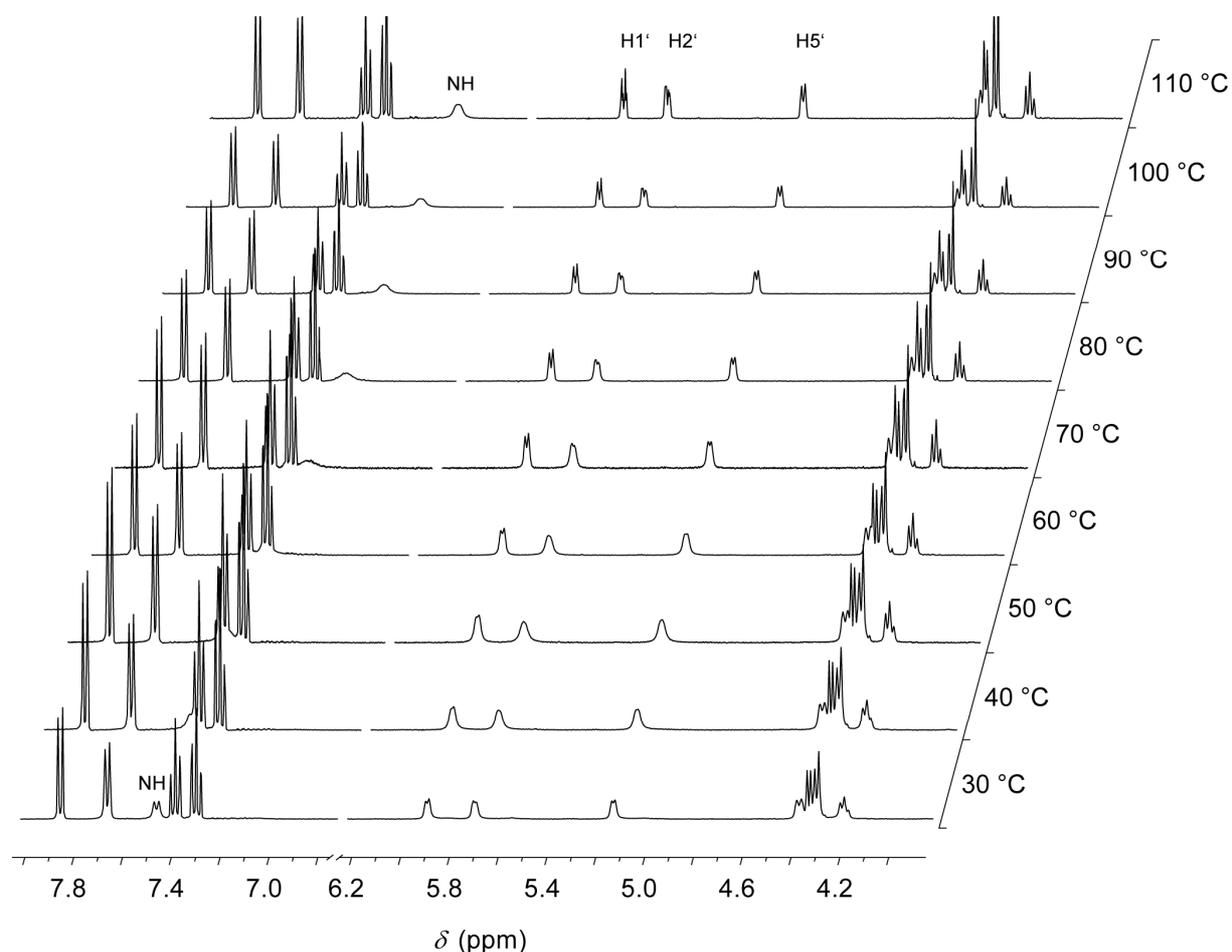
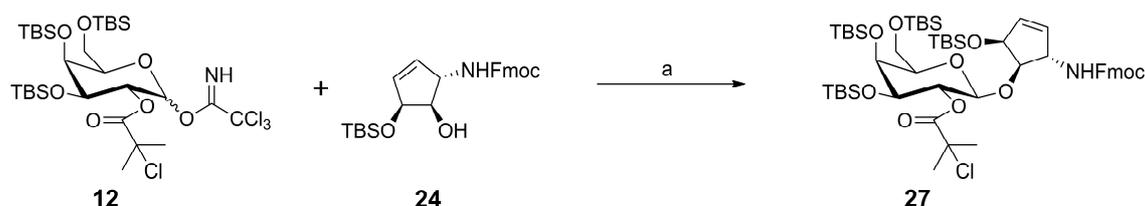


Abb. 15: Zusammenfassende Übersicht der temperaturabhängigen $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchung von **21** in DMSO-d_6 .

Hierbei ist zu erkennen, dass einhergehend mit Zunahme der Temperatur eine zum Teil signifikante Änderung der Signalstruktur stattfindet, wobei dies besonders deutlich an den Signalen der olefinischen Protonen des Cyclopentenrings (ca. 5.90 und 5.70 ppm) zum Vorschein tritt. Die im Zusammenhang mit der Abnahme der Wechselwirkung stehenden Veränderungen der elektronischen Struktur des Cyclopentenrings wird insbesondere durch die signifikante Hochfeldverschiebung des Amidprotons (ca. 7.50 ppm/30 °C → ca. 7.00 ppm/110 °C) hervorgehoben. Mit Ausnahme einiger Signale ist dieser Effekt, wenn auch nur in sehr geringem Umfang, im gesamten Spektrum zu beobachten. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich somit zweifelfrei ein Hinweis auf die Beteiligung der Doppelbindung an intermolekularen Wechselwirkungen ableiten. Im starken Gegensatz dazu stehen die Signale der aromatischen Protonen der Fmoc-Gruppe, die mit Zunahme der Temperatur überraschenderweise keinen nennenswerten Veränderungen unterworfen werden. Jedoch ist davon auszugehen, dass das aromatische System der Fmoc-Gruppe Ursache für das Auftreten der anhand von Signalverbreiterungen beobachteten Wechselwirkungen ist,^[170] da im Vergleich zu den nicht Fmoc-geschützten Cyclopentenderivaten keine derartigen Veränderungen im ¹H-NMR-Spektrum auftraten.

3.1.3.2 Synthese des Galaktosids 27

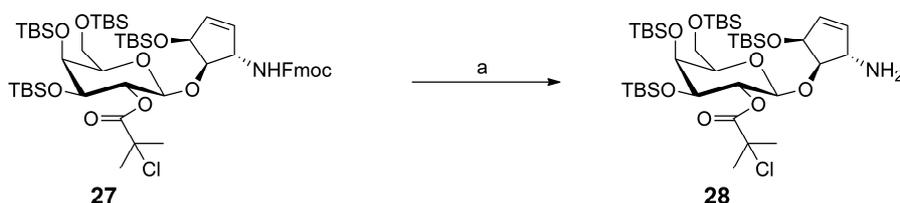
Die Umsetzung des neuen Cyclopentenbausteins **24** mit Galaktosedonor **12** unter den in Schema 12 beschriebenen Bedingungen führte selektiv zum gewünschten β -konfigurierten Galaktosid **27** mit 68% Ausbeute (Schema 17). Weiterhin gab es hierbei ebenfalls keinen Hinweis auf die Bildung des entsprechenden α -konfigurierten Produkts bzw. Orthoesters. Mit Rückblick auf die oben geforderten Kriterien an die alternative Aminoschutzgruppe sei hier allerdings erwähnt, dass im Gegensatz zur Umsetzung von **2** ein geringfügiger Zusatz von Dichlormethan (ca. 7vol%) zur Erhöhung der Löslichkeit von **24** in *n*-Hexan nötig war.



Schema 17: Glykosylierung des Fmoc-geschützten Cyclopentens **24** zu Galaktosid **27**: a) CMPOTf, MS 3Å, *n*-Hexan, CH₂Cl₂, RT, 2 h, 68%.

3.1.3.3 Synthese des Cyclopentenyamins **28**

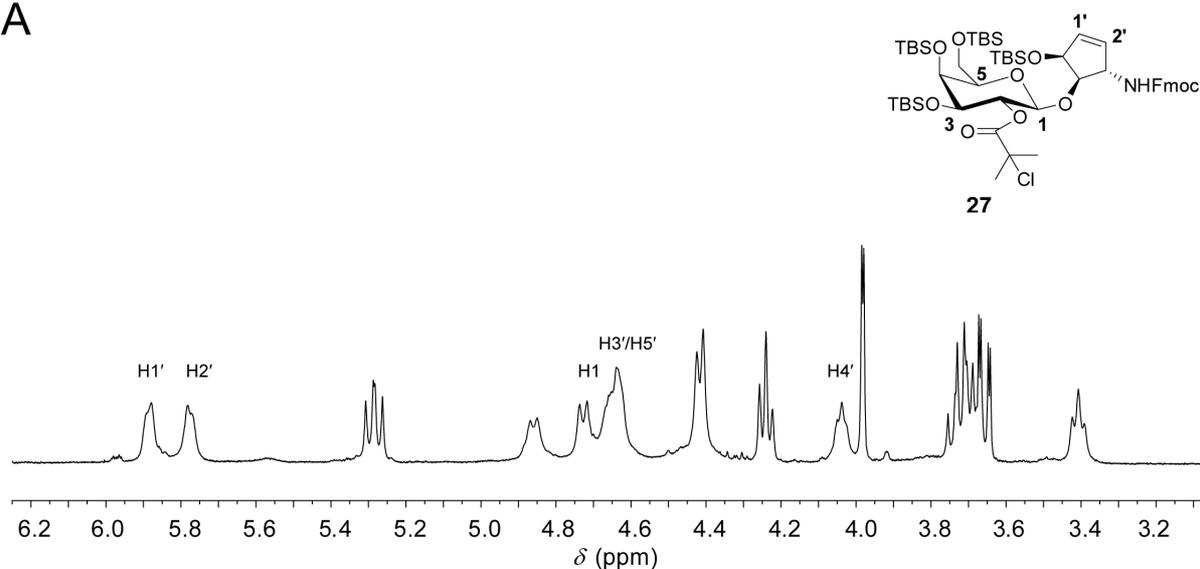
Die abschließende Entschützung der Aminofunktion sollte nun zeigen, ob mit Einführung der Fmoc-Schutzgruppe eine alternative Strategie zur Darstellung eines freienamins geschaffen werden konnte. Wie bereits oben erläutert wurde, führten nukleophile Basen zur Abspaltung der Esterfunktion am Zuckergerüst und erlaubten somit eine Wanderung der TBS-Gruppe an die Hydroxygruppe in Position 2 des Zuckers. Unter Verwendung der nichtnukleophilen Base DBU gelang es schließlich, das freie Amin **28** in guter Ausbeute (76%) zu isolieren (Schema 18).



Schema 18: Synthese des freien Amins **28**: a) DBU, MeCN, RT, 1.25 h, 76%.

Mit Hilfe des ¹H-NMR-Spektrum des freien Amins **28** konnte zusätzlich das Argument, dass die beobachteten Signalverbreiterungen von Wechselwirkungen olefinischer und/oder aromatischer Gruppen innerhalb der entsprechenden Fmoc-geschützten Verbindungen hervorgerufen werden könnten (Kapitel 3.1.3.1), untermauert werden. Nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe waren wiederum scharfe Signale der entsprechenden Protonen der Cyclopenteneinheit zu beobachten. Insbesondere die olefinischen Protonen H1' und H2' bzw. das allylische Proton H5' von **28** zeigten wieder ein ausgeprägtes Kopplungsmuster (Abb. 16B).

A



B

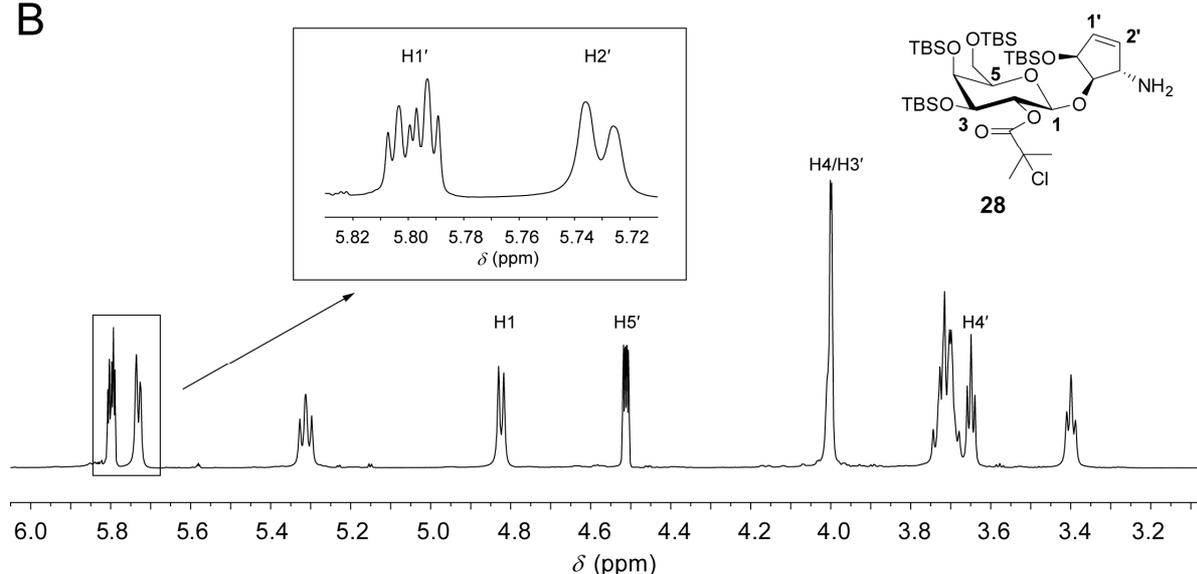


Abb. 16: A: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von **27**. B: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von **28**.

3.1.4 Synthese von Galaktosylqueuosin (1)

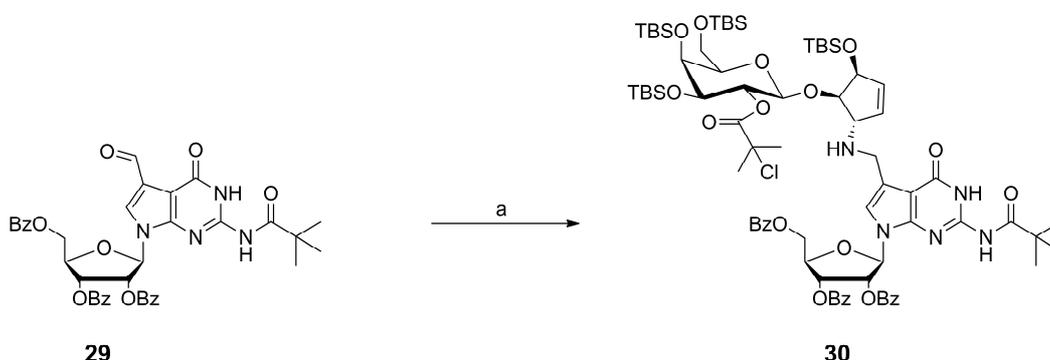
Grundlage für den zweiten Schlüsselschritt – die Einführung der glykosylierten Cyclopentenseitenkette in das 7-Desazaguanosingerüst – war eine Strategie, die mittels einer reduktiven Aminierung zur Queuosingrundstruktur führen sollte.^[171] Durch Kondensation des Amins **28** an den zentralen Nucleosidbaustein 7-Formyl-7-Desazaguanosin **29** sollte nach Reduktion des intermediären Imins das geschützte Galaktosylqueuosin **30** erhalten werden (Schema 19). Ein Vorteil dieser Methode läge darin, dass die Einführung der Seitenkette unter

sehr milden Bedingungen durchgeführt werden könnte, ohne die empfindliche glykosidische Bindung zwischen dem Galaktoserest und dem Cyclopenten zu beeinträchtigen. Diese Strategie versprach ebenfalls einen effizienten Einsatz der entsprechenden Komponenten, was insbesondere in Bezug auf die zeitintensive Darstellung des zuckermodifiziertenamins **28** im Vergleich zu anderen bekannten Methoden ein deutlicher Vorteil war.^[172] Dennoch stellte sich vorab die Frage, ob diese anvisierte Methode mit dem immerhin recht sterisch anspruchsvollen Amin **28** überhaupt möglich ist, da nach dieser Strategie bislang nur das sterisch wenig gehinderte unmodifizierte Amin **20** erfolgreich gekuppelt werden konnte.^[171]

Zur bestmöglichen Kontrolle der Kondensationsreaktion zwischen dem Amin **28** und dem Aldehyd **29** wurden angesichts der Hydrolyseempfindlichkeit des intermediär gebildeten Imins ¹H-NMR-Studien dieser Umsetzung durchgeführt. Hierzu wurden beide Komponenten zusammen in deuteriertem Benzol gelöst, wobei das Aldehydproton im ¹H-NMR als Indikatordesignal dienen sollte. Tatsächlich trat nach fünf Stunden Reaktionszeit bei Raumtemperatur ein neues Signal im ¹H-NMR-Spektrum auf, wohingegen das Signal des Aldehydprotons nicht mehr zu beobachten war. Untermauert wurde dieses Ergebnis schließlich durch eine massenspektrometrische Analyse des unaufgereinigten Zwischenprodukts, die zweifelsfrei die Existenz des gewünschten intermediären Imins belegte. Nach Entfernen des Lösemittels wurde zur NMR-spektroskopischen Kontrolle der nachfolgenden reduktiven Aminierung mit Natriumborhydrid zu **30** das Rohprodukt in deuteriertem Methanol gelöst. Die ¹H-NMR-Analyse der Reaktionsmischung zeigte, dass bereits innerhalb einer Stunde bei 0 °C eine vollständige Reduktion des Imins stattgefunden hatte, da das als Indikator verwendete Iminproton nach dieser Zeitspanne nicht mehr zu detektieren war. Zusätzlich wurde dieses Ergebnis durch eine weitere massenspektrometrische Analyse bestätigt.

Das geschützte Galaktosylqueuosin **30** konnte somit in einer guten Ausbeute von 57% über beide Stufen isoliert werden (Schema 19). Allerdings sei hier erwähnt, dass als Nebenreaktion dieser Umsetzung die Abspaltung der Pivaloylgruppe von der exozyklischen Aminofunktion des Nukleosids auftrat, weshalb auf die mildere Hydridquelle Natriumcyanoborhydrid zurückgegriffen wurde. Die Umsetzung zum gewünschten Produkt **30** benötigte zwar 21 Stunden, verlief jedoch unter diesen Bedingungen in ähnlich guter Ausbeute, dennoch fand überrascherweise erneut die Abspaltung der exozyklischen Amidfunktion statt. Jedoch darf nicht davon ausgegangen werden, dass die Abspaltung durch die während der Aufarbeitung durch Zugabe von Wasser generierte Natronlauge geschieht, da angesichts der leichteren Verseifbarkeit von Estern die entsprechenden Massesignale bei einer massenspektro-

metrischen Untersuchung des Rohprodukts nach der Umsetzung mit Natriumborhydrid nicht gefunden werden konnten.



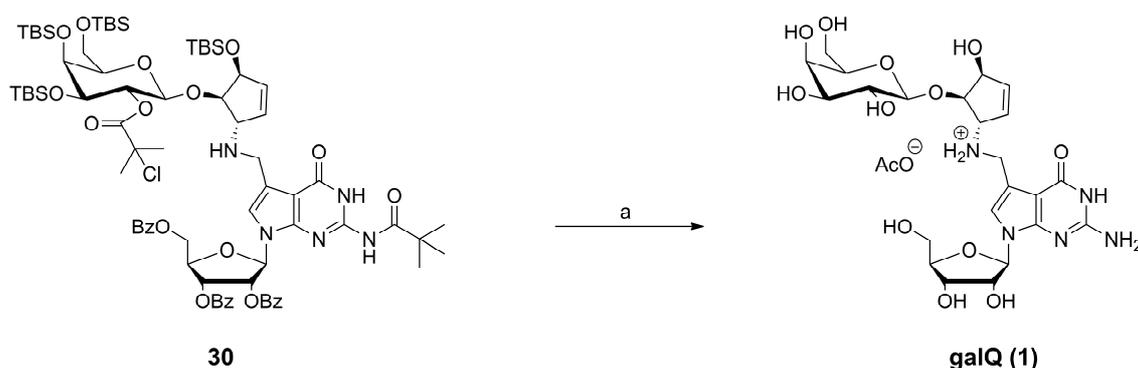
Schema 19: Synthese von geschütztem Galaktosylqueuosin **30**: a) **28**, C₆H₆, RT, 5 h; NaBH₄, MeOH, 0 °C, 1 h, 57%.

Zur Vermeidung eventuell auftretender Zersetzung des intermediären Imins während der Entfernung des Lösemittels Benzol wurde parallel untersucht, ob die Kondensationsreaktion in Methanol als Lösemittel ebenfalls durchführbar ist. Die ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung ergab, dass die Reaktion ebenfalls nach fünf Stunden abgeschlossen und ein neues Signal im Spektrum zu beobachten war. Durch NMR-spektroskopische sowie massenspektrometrische Untersuchung des Produkts, das nach reduktiver Aminierung des in Methanol generierten Imins erhalten wurde, konnte kein Unterschied festgestellt werden. Dem Ergebnis dieser Untersuchung zufolge ist Benzol somit als Lösemittel für eine erfolgreiche Umsetzung zum intermediären Imin nicht zwingend erforderlich. Diese Untersuchung sollte sich für die spätere Darstellung weiterer glykosylierter Queuosinderivate als äußerst hilfreich erweisen (Kapitel 3.2, 3.3 und 3.4).

In den beiden abschließenden Syntheseschritten sollte nun **30** durch Abspaltung aller Schutzgruppen in die natürliche tRNA-Base Galaktosylqueuosin (galQ, **1**) überführt werden (Schema 20). Beginnend mit den TBS-Gruppen wurde zunächst versucht, diese mit TBAF in THF zu entfernen, wobei sich schnell herausstellte, dass selbst nach 18 Stunden keine vollständige Entschützung der TBS-tragenden Hydroxygruppen erfolgte. Vielmehr ergab eine massenspektroskopische Untersuchung des Rohprodukts, dass ein Gemisch aus mit in unterschiedlicher Anzahl an TBS-Gruppen geschützten Nucleosiden vorlag. Sogar bei Verwendung des reaktiveren Et₃N·3 HF in dreifachem Überschuss (neun Äquivalente HF pro TBS-Gruppe) konnte das vollständig TBS-entschützte Produkt nach 18 Stunden lediglich in Spuren nachgewiesen werden. Diese erschwerte Abspaltung legte den Schluss nahe, dass die

axial positionierte 4-Hydroxygruppe offensichtlich einen hohen sterischen Anspruch besitzt. Angesichts der empfindlichen glykosidischen Bindung zur Cyclopentenseitenkette wurde jedoch auf die Verwendung reaktiverer Reagenzien bzw. Erhöhung der Reaktionstemperatur verzichtet.

Erst ein hoher Überschuss an $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3 \text{ HF}$ (ca. 25 Äquivalente HF pro TBS-Gruppe) und eine Verlängerung der Reaktionszeit auf drei Tage führte schließlich zur vollständigen Abspaltung der TBS-Gruppen. Die massenspektrometrische Analyse des Rohprodukts ergab, dass keine Spaltung der säurelabilen glykosidischen Bindung stattgefunden hat. Die basische Hydrolyse der Ester- und Amidgruppen erfolgte hingegen problemlos innerhalb von 48 Stunden. Nach HPL chromatographischer Aufreinigung wurde das natürliche Nucleosid Galaktosylqueuosin (**1**) als Acetatsalz im Gemisch mit Triethylammoniumacetat in 28% Ausbeute erhalten. Die vollständige Entfernung des Puffers führte jedoch zu langsamer Zersetzung des Nucleosids.



Schema 20: Vollständige Entschützung von **30** zu Galaktosylqueuosin (**1**): a) 1) $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3 \text{ HF}$, CH_2Cl_2 , RT, 3 d; 2) NaOMe , MeOH , RT, 2 d, 28%.

3.1.5 Identifizierung von Galaktosylqueuosin (**1**)

Zur eindeutigen Identifizierung des auf synthetischem Weg erhaltenen Galaktosylqueuosins (**1**) können die im Rahmen der Strukturaufklärung von Galaktosyl- und Mannosylqueuosin ermittelten NMR-spektroskopischen Daten nur sehr begrenzt verwendet werden, da diese unvollständig publiziert wurden.^[59] Aus den Literaturdaten konnte nur die β -Konfiguration der glykosidischen Bindung des Galaktoserests entnommen werden. Mittels NMR-Spektroskopie wurde dies bestätigt (Abb. 17). Des Weiteren konnte, wie von *Kasai et al.* ermittelt,^[59] die Verknüpfung des Galaktoserests mit der nichtallylischen Position am Cyclopentenring bestätigt werden.

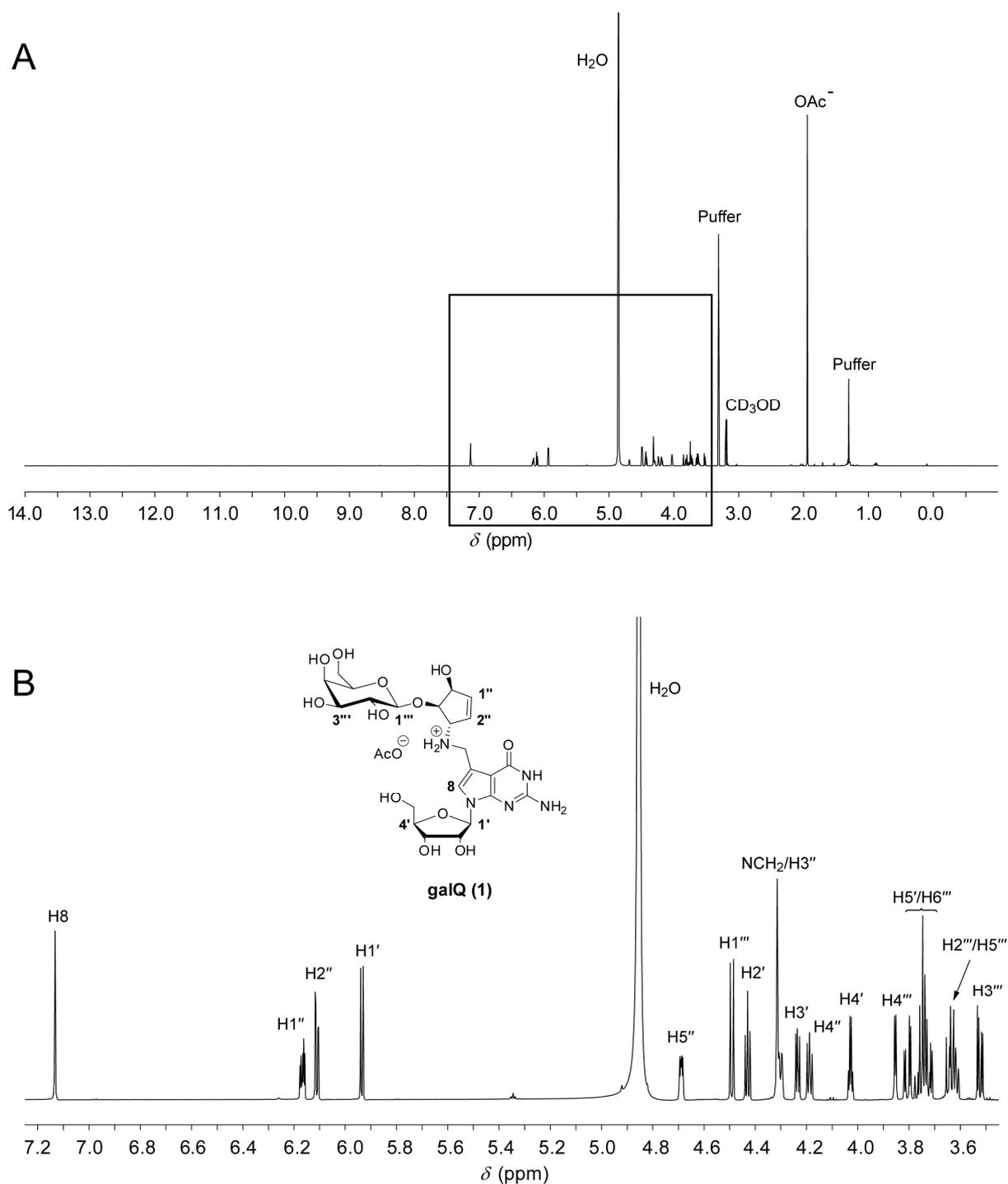


Abb. 17: A: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Galaktosylqueuosin (**1**) in CD_3OD . (Puffer: Triethylammoniumacetat). B: vergrößerte Darstellung des markierten Bereichs des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Galaktosylqueuosin (**1**) unter Berücksichtigung aller Protonen des Nucleosids.

Die Struktur des synthetischen Galaktosylqueuosins konnte letztendlich durch Heranziehen einer LC-MS-analytischen Methode basierend auf Koinjektionsexperimenten bewiesen werden. Hierzu wurde aus einem enzymatischen Verdau natürlicher tRNA gewonnenes natürliches Galaktosylqueuosin eingesetzt. Zur Durchführung dieser Experimente wurde der

von Verdau aus Schweineleber extrahierter Gesamt-tRNA verwendet, da bislang Galaktosylqueuosin nur in Tieren gefunden wurde.^[61]

Zur Ermittlung der Retentionszeit von natürlichem Galaktosylqueuosin wurde das Nukleosidgemisch zunächst HPLC-MS-analytisch untersucht (Abb. 18, A). Die Überprüfung der korrekten Stereochemie erfolgte durch Zugabe einer Lösung von synthetischem galQ ähnlicher Konzentration zum tRNA-Verdau (*spiken*), mit dem Ergebnis, dass das Massesignal von galQ an Intensität gewann. Neue Signale wurden nicht beobachtet (Abb. 18, C). Anhand dieser Messung konnte die Strukturformel des natürlichen Galaktosylqueuosins eindeutig durch Vergleich mit dem synthetischen Material bestätigt werden.

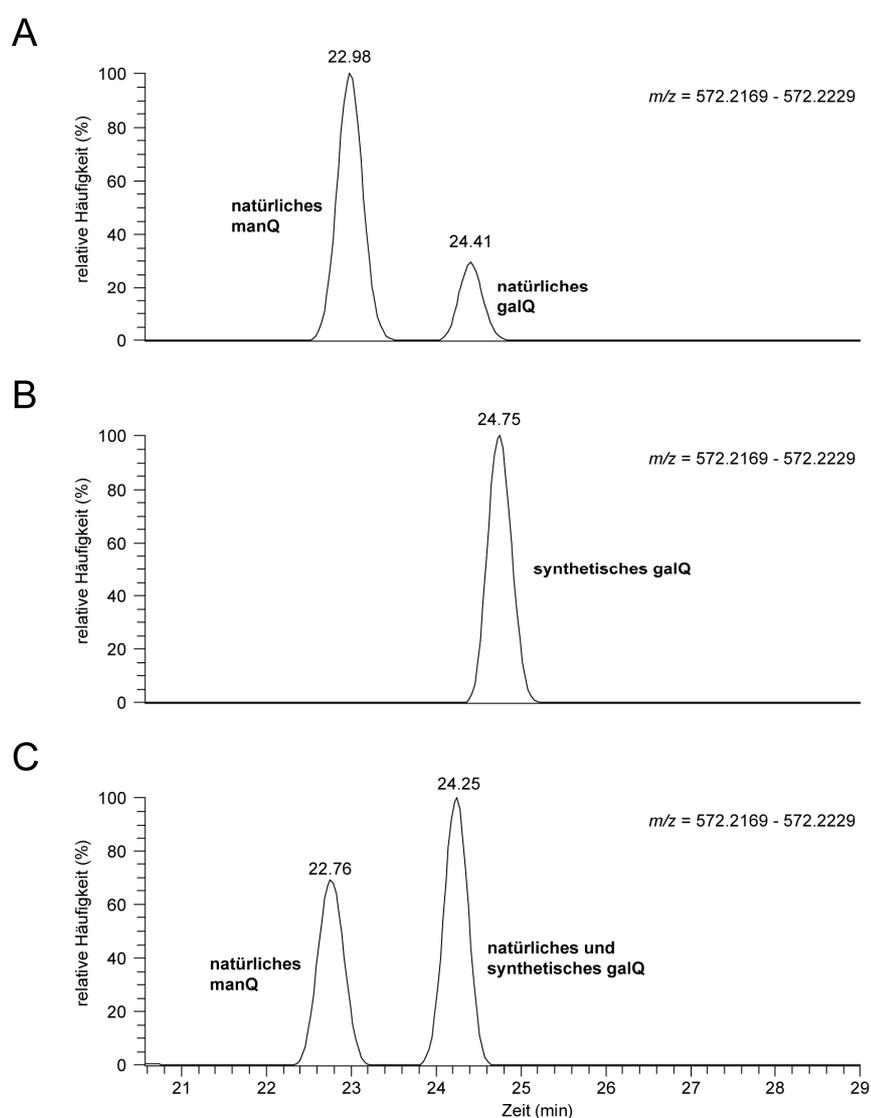
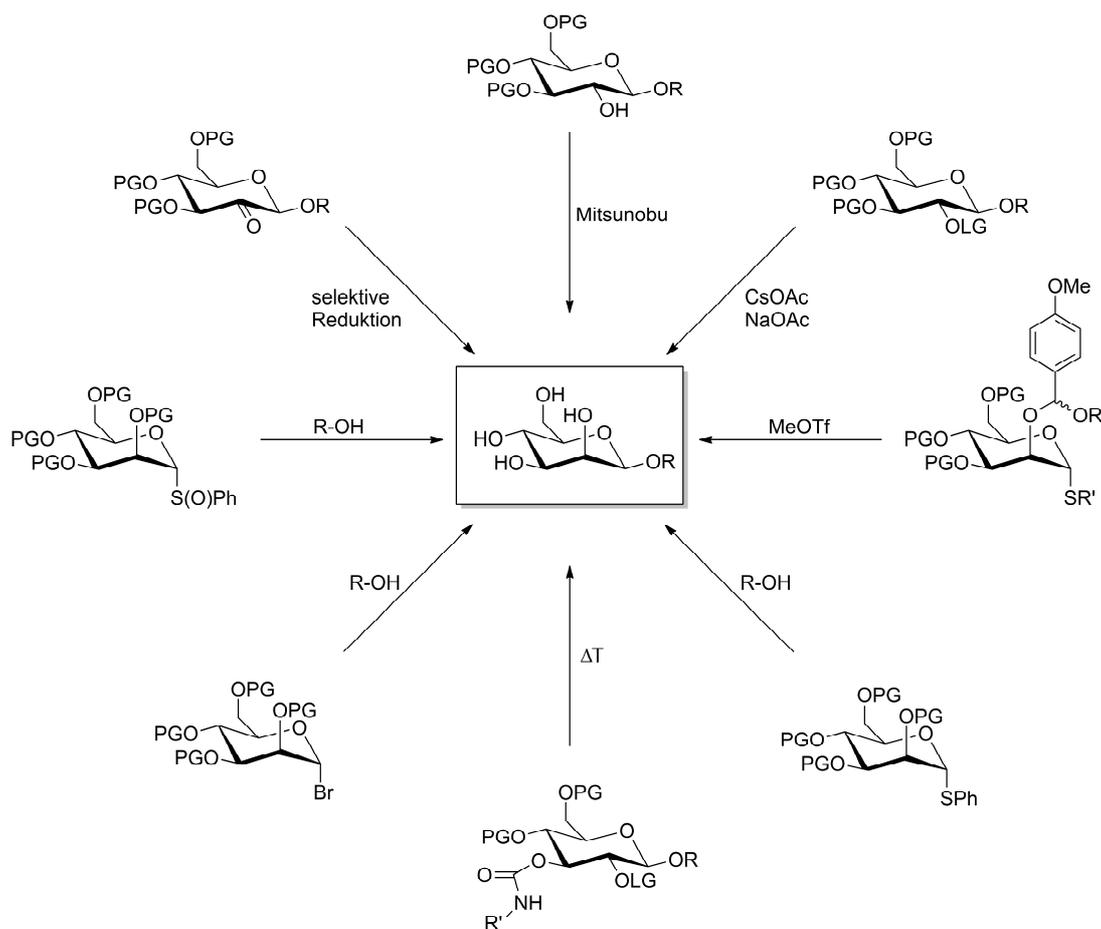


Abb. 18: LC-MS-analytische Untersuchung eines Verdau natürlicher tRNA. A: Massespur der zwei glykosylierten natürlichen Queuosinderivate. B: Massespur des synthetischen Galaktosylqueuosins (**1**). C: Massespur des Verdau natürlicher tRNA, der mit synthetischem Galaktosylqueuosin versetzt wurde.

3.2 Synthese von β -Mannosylqueuosin

Die Synthese α -konfigurierter Mannosederivate lässt sich leicht über den Nachbargruppeneffekt der Acylgruppen an der axial positionierten 2-Hydroxygruppe steuern, wobei die α -anomere Konfiguration zusätzlich über den anomeren Effekt stabilisiert wird.^[156] Dagegen zählt die stereoselektive Synthese β -glykosidischer Bindungen in Mannosederivaten noch heute zu den großen Herausforderungen der Chemie.^[173-174]



Schema 21: Schematische Zusammenstellung verschiedener Methoden zur Darstellung β -konfigurierter Mannoside.

Bislang wurden zahlreiche Methoden entwickelt, den Mannoserest mit der β -Konfiguration einzuführen (Schema 21).^[175] Hochfunktionalisierte Glykosylakzeptoren beschränken allerdings die Anzahl geeigneter Schutzgruppen am Zuckergerüst für eine stereoselektive Reaktion. Die Abspaltung der für die β -selektive Einführung des Mannoserests erforderlichen Schutzgruppen bedarf zum Teil harscher Bedingungen, die mit hochfunktionalisierten Systemen – zum Beispiel natürliche Modifikationen kanonischer Nukleoside – nicht vereinbar

sein können.^[176] Oft zeigen die selektiven Glykosylierungen von Mannose jedoch keine echte β -Stereoselektivität,^[173] was zur Bildung eines Anomerengemischs führt.

Bei einer Synthese der mannosemodifizierten Cyclopentenseitenkette des Queuosins basierend auf einer direkten β -selektiven Einführung der Mannoseeinheit gab es eine weitere Einschränkung zu betrachten. Die bislang entwickelten Methoden bzw. Mannosendonoren wurden größtenteils zur Synthese oligosaccharidischer Strukturen genutzt.^[175-176] Das Wissen, inwiefern sich sterisch anspruchsvolle, nicht-saccharidische Alkohole in Bezug auf die Stereoselektivität verhalten, ist deshalb sehr beschränkt. Es konnte zwar gezeigt werden, dass mit sterisch gehinderten Alkoholen eine direkte Einführung des Mannoserests möglich ist, die Stereoselektivität jedoch stark vom verwendeten Zuckerdonor abhängig war.^[176-177]

Angesichts der noch immer mit der β -Mannosylierung verbundenen Schwierigkeiten wäre es daher im Zuge der Totalsynthese von Mannosylqueuosin von Vorteil, eine Methode zu finden, die eine stereoselektive Darstellung der an der nichtallylischen Hydroxygruppe mannosemodifizierten Cyclopentenseitenkette gewährleisten würde.

Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Strategie ins Auge gefasst, die auf einer Inversion der C2-Hydroxygruppe der Zuckereinheit eines mit Glukose modifizierten Cyclopentens basieren sollte. Zu dessen Synthese könnte die zur Darstellung von Galaktosylqueuosin erfolgreich angewendete Glykosylierungsmethode herangezogen werden. Im Anschluss an die erfolgreich durchgeführte Inversion sollte nach Entschützung der Aminofunktion die bereits zur Synthese des Galaktosylqueuosins verwendete reduktive Aminierung zur Kopplung des mannosemodifizierten Cyclopentens an den Desazaguanosinbaustein **29** erfolgen.

Zur Orientierung für die folgende nähere Betrachtung der Darstellung von Mannosylqueuosin (**31**) ist in Abb. 19 eine Übersicht der verwendeten Synthesebausteine gezeigt. Zur eindeutigen Abgrenzung zu dem ebenfalls in dieser Arbeit synthetisierten α -Mannosylqueuosin (Kapitel 3.3) wird Mannosylqueuosin (**31**) ab hier β -Mannosylqueuosin (β -manQ) bezeichnet.

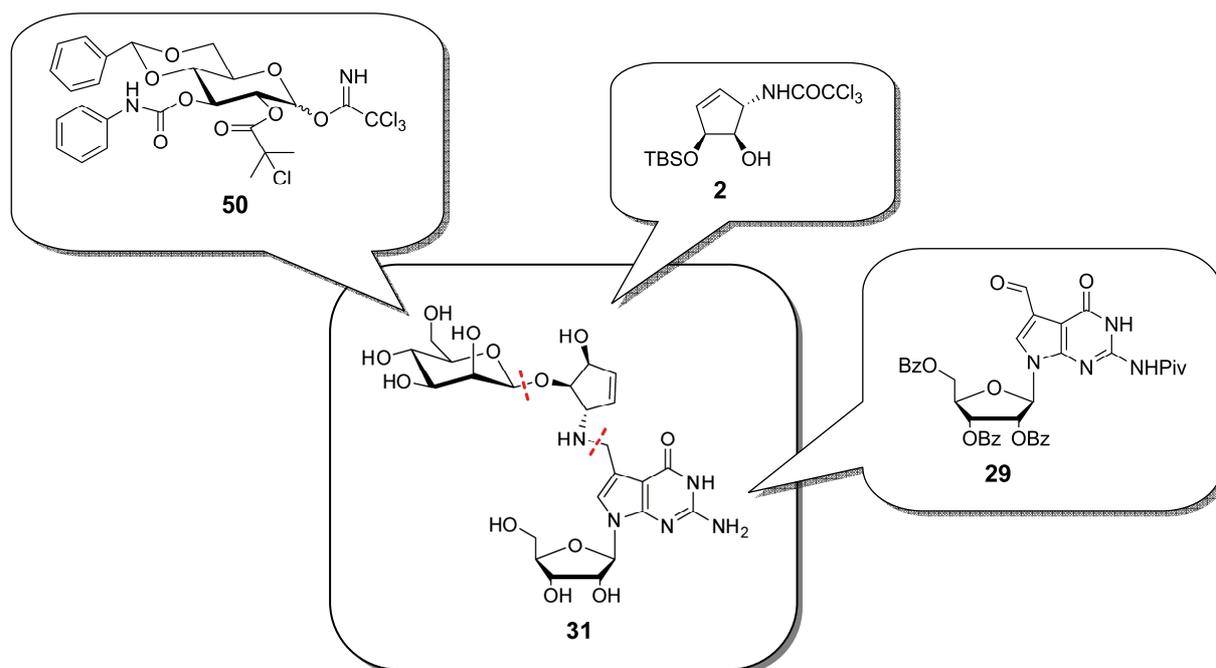
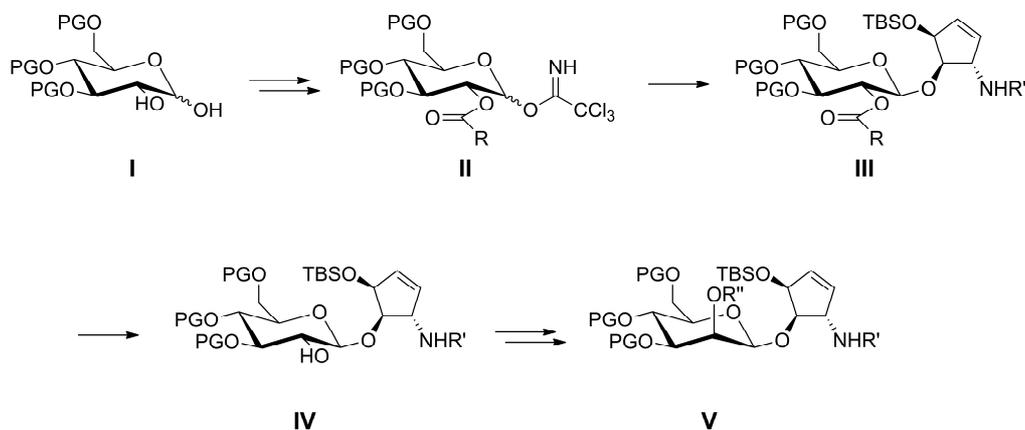


Abb. 19: Retrosynthetische Übersicht zur Darstellung von β -Mannosylqueuosin (**31**). Die Schnittstellen sind rot hervorgehoben.

3.2.1 Voraussetzungen zur Synthese von β -Mannosylqueuosin auf Basis der Inversion von Glukose

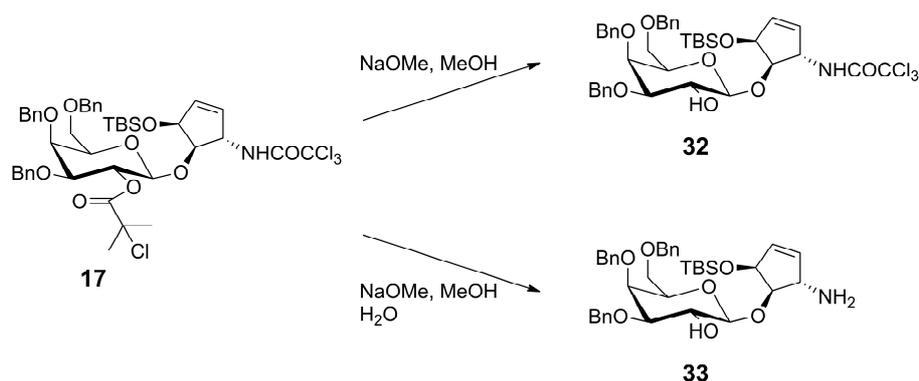
In Anbetracht der geplanten Syntheseroute zur Darstellung eines β -konfigurierten Mannosids (Schema 22) lag das Hauptaugenmerk zunächst auf der Wahl eines geeigneten Cyclopenten-derivats für die Glykosylierung mit Glukose.



Schema 22: Schematische Darstellung der geplanten Syntheseroute zu einem β -mannosylierten Cyclopenten.

Wichtigstes Kriterium hierbei war die Stabilität der Aminoschutzgruppe gegenüber den bei der regioselektiven Abspaltung der Estergruppe an der Glukoseeinheit auftretenden basischen Bedingungen. Angesichts der Tatsache, dass Amidgruppen unter diesen Voraussetzungen eine im Vergleich zu Estern geringere Neigung zur Spaltung aufweisen, wurde zunächst die Trichloracetamidgruppe zur Schützung der Aminofunktion der Cyclopenteneinheit beibehalten, obgleich der von der Trichlormethylgruppe ausgeübte elektronenziehende Effekt eher auf eine begünstigte Abspaltung hindeutete.

Entgegen dieser Befürchtung zeigte die Amidfunktion in einleitenden Untersuchungen an Verbindung **17** zur Überprüfung der chemischen Eigenschaften dieser Aminoschutzgruppe unter wasserfreien Bedingungen eine hohe Stabilität (Schema 23). Selbst nach 18 Stunden Reaktionszeit in Gegenwart eines Überschusses an Natriummethanolat konnten neben dem gewünschten Alkohol **32** lediglich Spuren des freien Amins **33** detektiert werden. Erst nach Zugabe von Wasser war die vollständige Entschützung der Aminofunktion zu beobachten.



Schema 23: Voruntersuchungen zur selektiven Abspaltung der Esterfunktion in Position 2 des Zuckergüsts.

Weitere Voraussetzungen, die die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Glukosedonoren zu erfüllen hatten, werden aus Gründen der besseren Verständlichkeit in den jeweiligen Kapiteln zu deren Darstellung näher betrachtet. Deshalb seien hier der Vollständigkeit halber nur kurz die erforderliche β -Stereoselektivität bei der Einführung der Glukoseeinheit in die nichtallylische Position des Cyclopentens **2** sowie die Basenstabilität der Schutzgruppen in Bezug auf die oben beschriebene chemoselektive Abspaltung der Esterfunktion erwähnt.

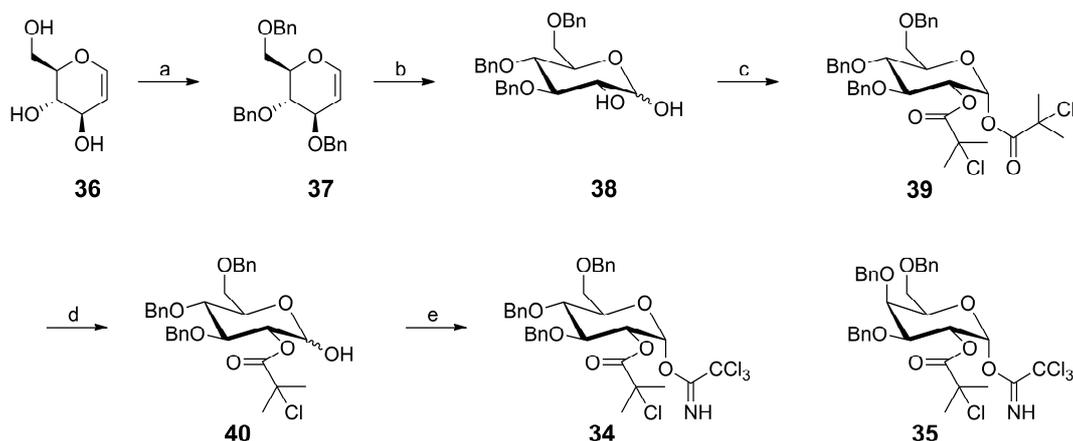
3.2.2 Untersuchung der auf intermolekularer Inversion basierenden Syntheseroute

3.2.2.1 Synthese des Glukosyldonors **34**

Die chemoselektive Abspaltung des α -Chlorisobuttersäureesters in Position 2 des Glukosegerüsts ist für die geplante Inversion dieses Zentrums von zentraler Bedeutung. Deshalb war neben der Wahl eines geeigneten Cyclopentenderivats zur Glykosylierung die Basenstabilität der Schutzgruppen am Zuckergerüst ein weiteres wichtiges Kriterium. Im Hinblick auf die abschließende vollständige Entschützung eines synthetisierten β -Mannosylqueuosins beschränkte sich allerdings die Zahl geeigneter Schutzgruppen am Glukosegerüst beträchtlich. Die im vollständigen Nukleosid vorhandenen funktionellen Gruppen sind mit einer Vielzahl von Entschützungsmethoden nicht zu vereinbaren. TBS-Gruppen besitzen zwar eine vergleichsweise hohe Basenstabilität, neigen jedoch unter basischen Bedingungen zur Wanderung auf benachbarte freie Hydroxygruppen, was zur Bildung eines Gemisches aus Regioisomeren führen kann (siehe Kapitel 3.1.2.2).^[168] Bedingt durch die gewählte Synthesestrategie waren jedoch sterisch anspruchsvolle Gruppen zur Übertragung der Stereoinformation während der Dihydroxylierung erforderlich (vgl. Schema 24). Deshalb wurde auf die Benzylgruppe zurückgegriffen.

Angesichts der Tatsache, dass der gewählte Donor **34** (Schema 24) bereits erfolgreich zur selektiven Synthese β -konfigurierter Glukosederivate im Zusammenhang mit sterisch anspruchsvollen Alkoholen eingesetzt werden konnte,^[162] bestanden deshalb gute Aussichten zur selektiven Einführung des Glukosebausteins in die Cyclopenteneinheit. Nicht zuletzt auch deshalb, weil im Rahmen dieser Arbeit mit Hilfe des strukturell ähnlichen Donors **35** (Schema 24) bereits sehr gute Ergebnisse erzielt werden konnten. Es bestanden deshalb keine Zweifel, dass der Glukosedonor **34** das zweite Kriterium – die β -Stereoselektivität (vgl. Kapitel 3.2.1) – erfüllen würde.

Die Darstellung des benzylgeschützten Glukosyldonors **34**, die in Schema 24 zu sehen ist, wurde in Anlehnung an die bereits bestehende Synthese durchgeführt.^[162]



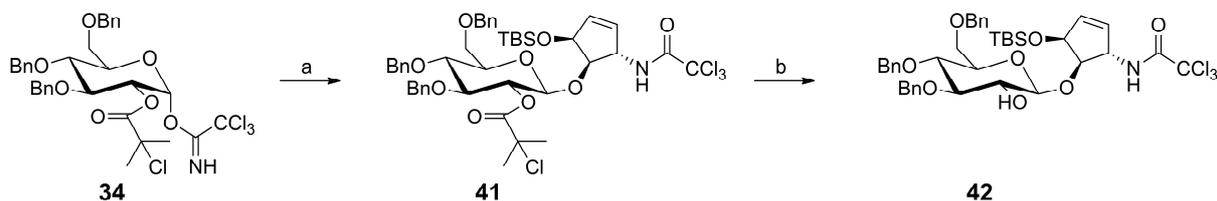
Schema 24: Synthese des Glukosendonors **34**.^[162, 164, 178] a) BnBr, NaH, DMF, 0 °C → RT, 22 h, 92%; b) K₂OsO₄·2 H₂O, NMO, THF, *tert*-Butanol, H₂O, RT, 3 d, 87%; c) **10**, DIC, DMAP, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3 h, 68%; d) N₂H₄·AcOH, DMF, -40 °C → RT, 3.75 h, 44%; e) Cl₃CCN, Cs₂CO₃, RT, 3 h, 87%.

Ausgehend von D-Glukal **36** wurden die Hydroxygruppen in Anlehnung an die Synthese eines benzylmodifizierten Galaktals mit Benzylbromid in Gegenwart von Natriumhydrid geschützt. Glukal **37** wurde in sehr guter Ausbeute (92%) erzielt.^[178] Das geschützte Glukosederivat **38** wurde anschließend durch osmiumkatalysierte Dihydroxylierung des Glukals **37** erhalten.^[164] Die stereochemische Selektivität an Position 2 des Zuckers ist analog zu **8** auf die sperrigen Benzylgruppen zurückzuführen. Die dehydratative Veresterung in Gegenwart von DIC sowie katalytischen Mengen DMAP lieferte stereoselektiv Diester **39** als einziges Produkt. Trotz der geringeren Sperrigkeit der Benzylgruppen wurde interessanterweise praktisch ausschließlich das α -konfigurierte Glukosederivat erhalten, dessen nahezu selektive Bildung vermutlich auf eine sterische Abschirmung der β -Position sowie die thermodynamische Stabilisierung durch den anomeren Effekt zurückzuführen ist. Es ist daher davon auszugehen, dass unter den gewählten Bedingungen bevorzugt das α -konfigurierte Halbacetal **40** umgesetzt wurde. Entsprechend der bisherigen Erfahrung mit einer auf Hydraziniumacetat basierenden selektiven Abspaltung einer anomeren α -Chlorisobutyrylgruppe wurde erneut nur partieller Umsatz beobachtet, wobei die Reaktion bei 44% Ausbeute stoppte. Auf den Einsatz von stärker basischem Hydrazinhydrat wurde aufgrund der beobachteten Zersetzung des Diesters **9** verzichtet. Ebenso wurde die Durchführung der Reaktion bei erhöhter Temperatur nicht untersucht, weil hierdurch bereits bei der Darstellung des Halbacetals **11** keine nennenswerte Ausbeutesteigerung erkennbar war (vgl. Kapitel 3.1.1). Weitaus weniger problematisch erwies sich dagegen die abschließende basenkatalysierte Additionsreaktion von Trichloracetonitril an das Halbacetal **40**, die schließlich zum trichloracetimidatgeschützten Glukose-

donor **34** führte (Schema 24).^[162] Dieser konnte im Anschluss zur Glykosylierung des Cyclopentenderivats **2** eingesetzt werden (Schema 25).

3.2.2.2 Synthese des Glukosids **42**

Entsprechend der bisherigen Erfahrungen erfolgte die Glykosylierung des Cyclopentens **2** mit benzylgeschütztem Donor **34** in Gegenwart des Aktivators CMPOTf zwar problemlos, jedoch ließ sich das gebildete Glukosid **41** nur im Gemisch mit im Überschuss eingesetzten Cyclopenten **2** isolieren (Schema 25). Angesichts des aus einleitenden Untersuchungen erhaltenen Ergebnisses, dass die Trichloracetamidgruppe während der basischen Abspaltung des α -Chlorisobuttersäureesters nicht reagiert, sollte jedoch die spätere Isolierung des entsprechenden freien Alkohols **42** keine Probleme bereiten. Allerdings musste zunächst die Stereochemie der glykosidischen Bindung bestimmt werden. Die NMR-spektroskopische Untersuchung der Produktfraktion aus einem HPLC-aufgereinigten Teil des Gemischs zeigte, dass ausschließlich das gewünschte β -konfigurierte glukosemodifizierte Cyclopenten **41** entstanden war.



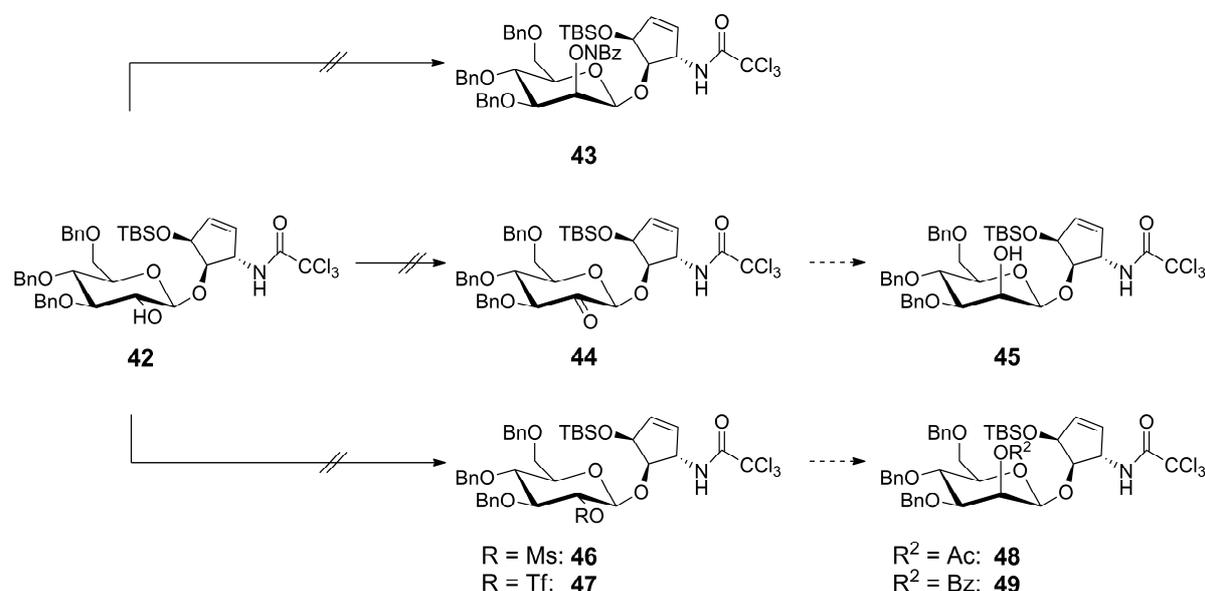
Schema 25: Darstellung des regioselektiv entschützten Glukosids **42**: a) **2**, CMPOTf, MS 3Å, *n*-Hexan, RT, 1.5 h; b) NaOMe, MeOH, RT, 18 h, 49% (2 Stufen).

In Anlehnung an die einleitenden Untersuchungen an der strukturell ähnliche Verbindung **31** zur chemoselektiven Abspaltung der Esterfunktion, wurde im folgenden Schritt das Produktgemisch aus **41** und Cyclopenten **2** mit einem Überschuss an methanolischer Natrium-methanolatlösung in Methanol umgesetzt (Schema 25). Hierbei wurde sehr schnell deutlich, dass die benachbarte Benzylgruppe sowie die Cyclopenteneinheit die Carbonylgruppe des Esters in Position 2 des Zuckers sterisch abschirmen. Die Reaktion verlief zwar langsam, das entsprechende freie Amin von **42** wurde jedoch nur in Spuren beobachtet. Mit säulen-chromatographischer Aufreinigung gelang schließlich die Abtrennung des Cyclopentens **2** aus dem Gemisch nach selektiver Entschützung zu Alkohol **42** (49% über zwei Stufen).

3.2.2.3 Untersuchungen zur intermolekularen Inversion des Glukose-C2-Kohlenstoffzentrums

Entsprechend der ursprünglichen Synthesestrategie sollten zur nachfolgenden Inversion des C2-Kohlenstoffzentrums der Glukoseeinheit von **42** die in Schema 26 dargestellten intermolekularen Methoden untersucht werden (vgl. Tabelle 3).

Zu Beginn der Untersuchung der Inversion des sterisch gehinderten C2-Zentrums der Glukoseeinheit von **42** wurde eine Mitsunobu-Inversion (Eintrag 1-3) ins Auge gefasst. Angesichts der mit 4-Nitrobenzoesäure in vorangegangenen Arbeiten erzielten Erfolge, sterisch gehinderte Alkohole in teilweise guten Ausbeuten zu invertieren, wurde daher vom Gebrauch der für diese Reaktion traditionell verwendeten Benzoesäure abgesehen.^[179-182] Trotz Verwendung einer auf detaillierten Untersuchungen der Mitsunobu-Reaktion^[183] basierenden Methode, die zunächst eine selektive Aktivierung des Alkohols gewährleisten sollte (Eintrag 1),^[184] wurde selbst bei vollständiger Durchführung der Reaktion bei Raumtemperatur keine Bildung von **43** beobachtet (Eintrag 2).



Schema 26: Übersicht untersuchter Methoden zur intermolekularen Inversion.

Tabelle 3: Zusammenfassung der Ergebnisse aus der Untersuchung der intermolekularen Inversion.

| <i>Nr.</i> | <i>Reagenzien</i> | <i>Reaktionsbedingungen</i> | <i>Beobachtung</i> |
|------------|---|---|------------------------------|
| 1 | Nitrobenzoesäure, PPh ₃ , DIAD | THF, -23 °C, 1 h; RT, | keine Produktbildung 18 h |
| 2 | Nitrobenzoesäure, PPh ₃ , DIAD | THF, RT, 18 h | keine Produktbildung |
| 3 | Nitrobenzoesäure, PPh ₃ , DIAD | Toluol, RT, 3 d; 80 °C, | keine Produktbildung 24 h |
| 4 | Dess-Martin-Periodinan | CH ₂ Cl ₂ , RT, 24 h | keine Produktbildung |
| 5 | IBX | MeCN, 80 °C, 4 h | keine Produktbildung |
| 6 | TPAP, NMO | CH ₂ Cl ₂ , RT, 3 h | keine Produktbildung |
| 7 | PCC | CH ₂ Cl ₂ , RT, 18 h | keine Produktbildung |
| 8 | PCC | Benzol, 80 °C, 18 h | Zersetzung |
| 9 | PDC, Ac ₂ O | CH ₂ Cl ₂ , RT, 18 h | Zersetzung |
| 10 | MsCl | Pyridin, RT, 18 h | keine Produktbildung |
| 11 | MsCl, NEt ₃ , DMAP | CH ₂ Cl ₂ , RT, 18 h | keine Produktbildung |
| 12 | Tf ₂ O | CH ₂ Cl ₂ , Pyridin, RT, 18 h | keine Produktbildung |

Die mangelnde Reaktivität der 2-Hydroxygruppe selbst bei erhöhter Temperatur (Eintrag 3) zeigte eindeutig, dass diese Position eine ausgesprochen hohe sterische Hinderung durch die umgebenden Gruppen erfährt. Zusätzlich können derartige S_N2-Reaktion am C2-Kohlenstoffzentrum durch den sterischen Einfluss des der Angriffssachse eines Nucleophils koaxial orientierten freien Elektronenpaares des endozyklischen Sauerstoffatoms erschwert werden.^[185] Die zweite anvisierte Inversionsstrategie beruhte auf der Oxidation der Hydroxygruppe zu **44** und anschließender stereoselektiver Reduktion zum invertierten Alkohol **45** (Eintrag 4-9).^[186] Doch weder mit organischen (Eintrag 4 und 5)^[187] noch auf Metallen (Eintrag 6-9)^[188-190] basierenden Oxidationsmitteln konnte eine Umsetzung zur entsprechenden Carbonylverbindung erzielt werden, vielmehr zeigte sich Zersetzung des Edukts (Eintrag 8 und 9). Auch die dritte getestete Methode, die Einführung einer Abgangsgruppe (**46** und **47**) und nachfolgender Substitution zu **48** bzw. **49**,^[191] musste aufgrund mangelnder Reaktivität verworfen werden (Eintrag 10-12), da bereits die Einführung der entsprechenden Abgangsgruppe scheiterte (Schema 26).

3.2.3 Synthese der β -mannosemodifizierten Cyclopentenseitenkette mittels intramolekularer Inversion

Angesichts der Komplikationen bei der Darstellung einer β -konfigurierten mit Mannose modifizierten Queuosinseitenkette auf Basis der intermolekularen Inversion war deshalb eine Änderung der Synthesestrategie notwendig. Einerseits sollte nach selektiver Entfernung des α -Chlorisobuttersäureesters die Einführung einer Abgangsgruppe ermöglicht werden und andererseits sollte der nachfolgende Angriff eines Nukleophils nicht behindert werden. Bei der Suche nach einer geeigneten Methode, die beide Kriterien erfüllen könnte, fiel die Wahl schließlich auf die sogenannte intramolekulare oder interne Inversion. Hierbei wird ein latentes Nukleophil, das gleichzeitig als Schutzgruppe dient, in einer dem zu invertierenden Zentrum benachbarten Position eingeführt und zu einem späteren Zeitpunkt der Synthese gezielt unter speziellen Bedingungen zur Reaktion gebracht. Aufgrund vorangegangener Arbeiten zur Synthese sogar hochmolekularer, β -Mannoseeinheiten enthaltender Oligosaccharide wurde die *N*-Phenylcarbamoylgruppe als latentes Nukleophil eingesetzt.^[192-194]

Entsprechend dem Resultat aus den einleitenden Experimenten zur chemoselektiven Abspaltung der Esterfunktion sollte auch diesmal das trichloracetamidgeschützte Cyclopenten **2** bei der Glykosylierung zum Einsatz kommen.

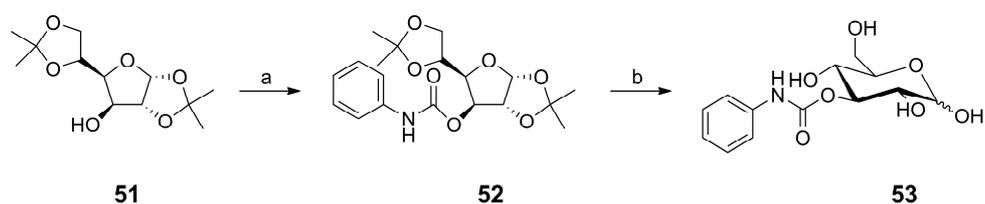
3.2.3.1 Synthese des Glukosyldonors **50**

Das erheblich abweichende Schutzgruppenmuster des geplanten Glukosedonors **50** (Schema 29) zu den zur Glykosylierung sterisch anspruchsvoller Alkohole in dieser Arbeit verwendeten Zuckerdonoren (vgl. **12** und **34**) warf die Frage auf, ob eine β -selektive Einführung in das Cyclopenten **2** noch durchführbar ist. Bislang konnten an Position 2 geringfügig veränderte Varianten dieses Donors erfolgreich zur Synthese β -konfigurierter Oligosaccharide eingesetzt werden.^[192-194] Dennoch blieb die Befürchtung, dass die von den Schutzgruppen ausgeübten elektronischen sowie stereochemischen Effekte die Reaktivität des geplanten Donors derart beeinflussen, dass eine Reaktion mit dem bereits in seiner Nukleophilie eingeschränkten Cyclopenten **2** vollständig unterbleibt. Die bereits in dieser Arbeit erfolgreich eingesetzte α -Chlorisobuttersäuregruppe zur Steuerung der Stereochemie des anomeren Zentrums während der Glykosylierung sollte jedoch beibehalten werden.

Angesichts dieser Bedenken rückte das dritte Kriterium, die Stabilität der Schutzgruppen bezüglich der selektiven Abspaltung der α -Chlorisobuttersäuregruppe, in den Hintergrund.

Aufgrund des für die intramolekulare Inversion festgelegten Substitutionsmusters blieb als einzig zusätzliche basenlabile Funktion nur die *N*-Phenylcarbamoylgruppe an Position *O*-3 des Glukosegerüsts.

Zu Beginn der sechs Stufen umfassenden Synthese des Zuckerbausteins **50** (Schema 29) wurde die *N*-Phenylcarbamoylgruppe an Position *O*-3 eingeführt (Schema 27). Die Einführung dieser Gruppe gelang durch eine DMAP-katalysierte Additionsreaktion von Phenylisocyanat an diisopropylidengeschützte Glukose **51**.^[193] Für die anschließende Abspaltung beider Isopropylidengruppen wird in der Literatur ein zweistufiger Prozess beschrieben.^[193]



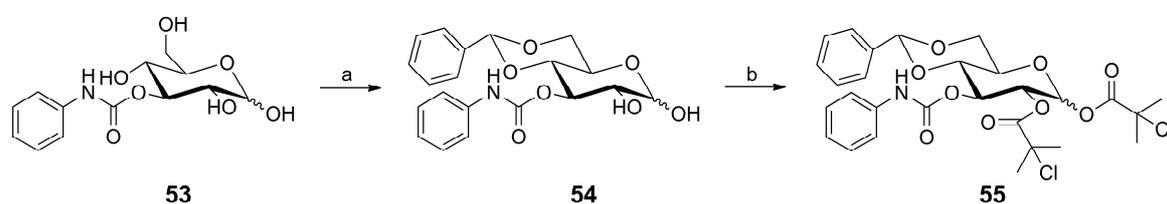
Schema 27: Synthese von carbamatgeschützter Glukose **53**: a) PhNCO, DMAP, PhMe, 100 °C, 3 h, 92%; b) H₂SO₄ (0.05M), Dioxan, 100 °C, 7 h, 82%.^[193]

Gemäß der Literatur wurde nach kurzer Aufarbeitung des Carbaminsäureesters **52** zunächst die exozyklische 5,6-*O*-Isopropylidengruppe in Gegenwart wässriger Essigsäure selektiv entfernt. Im Anschluss an eine säulenchromatographische Aufreinigung wurde die zweite Schutzgruppe mittels verdünnter Schwefelsäure abgespalten, was zu Verbindung **53** führt.^[193] Beide Entschützungsstufen lieferten zwar gute Ausbeuten, jedoch war diese Methode unbequem, da zwischen beiden säurevermittelten Entschützungen eine säulenchromatographische Aufreinigung erforderlich war. Deshalb wurden beide Schutzgruppen gleichzeitig mit verdünnter Schwefelsäure entfernt. Das vollständig entschützte Carbamat **53** wurde nach Säulenchromatographie in guter Ausbeute (82%) erhalten. Allerdings verlängerte sich die Reaktionszeit angesichts der geringen Löslichkeit von **52** in wässrigem Dioxan auf sieben Stunden (Schema 27). Es sei noch erwähnt, dass eine Aufreinigung von Verbindung **52** vor der Umsetzung mit Schwefelsäure zwar nicht zwingend erforderlich war, jedoch wurde die Isolierung des Carbamats **53** erleichtert.

Die regioselektive Schützung des exozyklischen 4,6-*O*-Diols in Gegenwart des vicinalen 1,2-*O*-Diols der Verbindung **53** stellte im weiteren Verlauf der Synthese das erste Hindernis dar (Schema 28). Die für derartige 4,6-*O*-Schützungen von Zuckern bzw. deren Derivaten üblicherweise verwendeten Reagenzien führen zu einer Überreaktion,^[194] weshalb zunächst

die Di-*tert*-butylsilylengruppe in Betracht gezogen wurde. Nicht zuletzt auch deshalb, da diese Gruppe unter Bedingungen abgespalten werden kann, welche die zu einem späteren Zeitpunkt der Synthese von β -manQ (**31**) eingeführte *O*-glykosidische Bindung unberührt lassen. Unerwarteterweise zeigte jedoch diese Gruppe unter den Bedingungen der intramolekularen Inversion eine geringe Stabilität. Es wurde eine nahezu vollständige Zersetzung des Zuckerderivats beobachtet. Deshalb musste auf die Benzylidengruppe zurückgegriffen werden. Obgleich sie, wie sich später herausstellen sollte, einen destabilisierenden Einfluss auf die Glykosylierung ausübt, war sie dennoch zur Durchführung der intramolekularen Inversion unerlässlich. Deshalb wurde, um die oben angesprochene Überreaktion zu vermeiden, die „traditionelle“ Methode durch Umsetzung des carbamatgeschützten Zuckers **53** mit Benzaldehyd und katalytischer Mengen zuvor frisch getrockneten Zinkchlorids angewendet, wodurch schließlich die regioselektive Einführung in die 4,6-*O*-Position gelang.^[194] Angesichts der Schwerlöslichkeit führte die Aufarbeitung und Aufreinigung des benzylidengeschützten Produkts **54** zu unerwarteten Schwierigkeiten, die erst durch eine geringfügige Modifizierung des Literaturprotokolls beseitigt werden konnten.

Entgegen der Vorschrift wurde die erhaltene Suspension zunächst vollständig in Ethylacetat gelöst und anschließend mit Wasser gewaschen, wodurch eine Präzipitation des Produkts während der Aufarbeitung vermieden wurde. Mit nachfolgender säulenchromatographischer Aufreinigung des Gemischs wurde eine deutliche Steigerung der Ausbeute (87% gegenüber 34%^[194]) erzielt. Entsprechend der bisherigen Veresterungen mit α -Chlorisobuttersäure konnte das vicinale Diol **54** reibungslos zu Verbindung **55** überführt werden, wobei aufgrund fehlender sterischer Abschirmung der β -Position beide Anomere im ^1H -Spektrum beobachtet werden konnten (Schema 28).



Schema 28: Synthese des Diesters **55**: a) Benzaldehyd, ZnCl₂, RT, 3 d, 87%; b) **10**, DIC, DMAP, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 3.5 h, 51%.

Um eine kostengünstigere Alternative für die bislang verwendete α -Chlorisobuttersäure zu finden wurden zusätzlich kommerziell erhältliche Säurehalogenide eingesetzt und die in

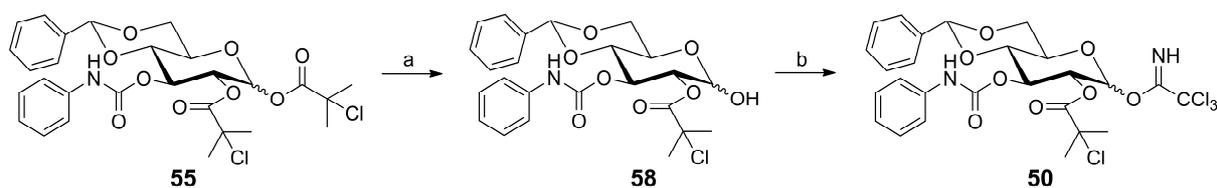
Abb. 20 gezeigten Glukosederivate **56** und **57** auf ihre Eigenschaften in Bezug auf die anomere Entschützung überprüft.



Abb. 20: Vorstufen für Alternativen zu Zuckerdonor **50**.

Die Umsetzung des vicinalen Diols **54** zu den entsprechenden Diestern **56** bzw. **57** verlief in guter Ausbeute (75% bzw. 62%). Die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung beider Verbindungen offenbarte überraschenderweise, dass im Vergleich zu **55** ausschließlich der β -konfigurierte Diester beider Glukosederivate gebildet wird, was vermutlich auf das Zusammenspiel der sterisch anspruchsvolleren Säurereste und der nach unten orientierten Phenylgruppe des Benzylidenacetals zurückzuführen ist. Jedoch stellte sich bei der anschließenden Umsetzung heraus, dass in beiden Fällen eine selektive Entschützung der anomeren Position weder mit Hydraziniumacetat noch mit stärker basischem Hydrazinhydrat durchführbar ist.

Im Gegensatz dazu konnte der α -Chlorisobuttersäurerest am anomeren Zentrum des Diesters **55** zwar erwartungsgemäß durch Hydraziniumacetat selektiv abgespalten werden, dennoch brach die Reaktion erneut vorzeitig bei 40% Ausbeute ab (Schema 29).

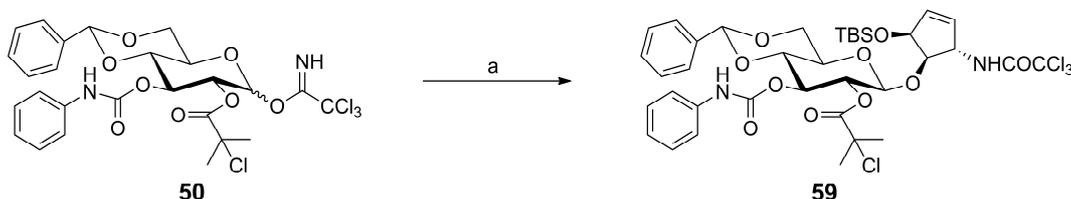


Schema 29: Synthese des Glukosendonors **50**: a) $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{AcOH}$, DMF, $-40\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 3.5 h, 40%; b) Cl_3CCN , Cs_2CO_3 , CH_2Cl_2 , RT, 3.5 h, 72%.

Der letzte Syntheseschritt beinhaltete die Aktivierung des Zuckerderivats durch Umsetzung des Halbacetals **58** mit Trichloroacetonitril zum Glukosedonor **50** (Schema 29). Entgegen der bislang in Gegenwart von Cäsiumionen beobachteten bevorzugten Bildung α -konfigurierter Trichloracetimidate,^[175] konnte hierbei überraschenderweise keine Präferenz festgestellt werden. Deshalb wurden die anomeren Diastereomere in einem 1:1-Verhältnis erhalten.

3.2.3.2 Synthese des Glukosids **59**

Trotz des stark abweichenden Schutzgruppenmusters des Glukosedonors **50** konnte das gewünschte β -konfigurierte Glukosid **59** mit 42% Ausbeute isoliert werden (Schema 30). Jedoch ließ der deutliche Rückgang der Ausbeute im Vergleich zu **13** und **26** vermuten, dass die Reaktivität eines Zuckerdonors in engem Zusammenhang mit der Stabilität des entsprechenden reaktiven Übergangszustands steht.^[156] Die verminderte Reaktivität des Donors **50** ist sowohl auf elektronische als auch auf stereochemische Effekte, deren Ursprung in den Schutzgruppen zu suchen ist, zurückzuführen.



Schema 30: Darstellung des β -mannosylierten Cyclopentens **59**: a) **2**, CMPOTf, *n*-Hexan, CH_2Cl_2 , MS 3Å, 1.75 h, 42%.

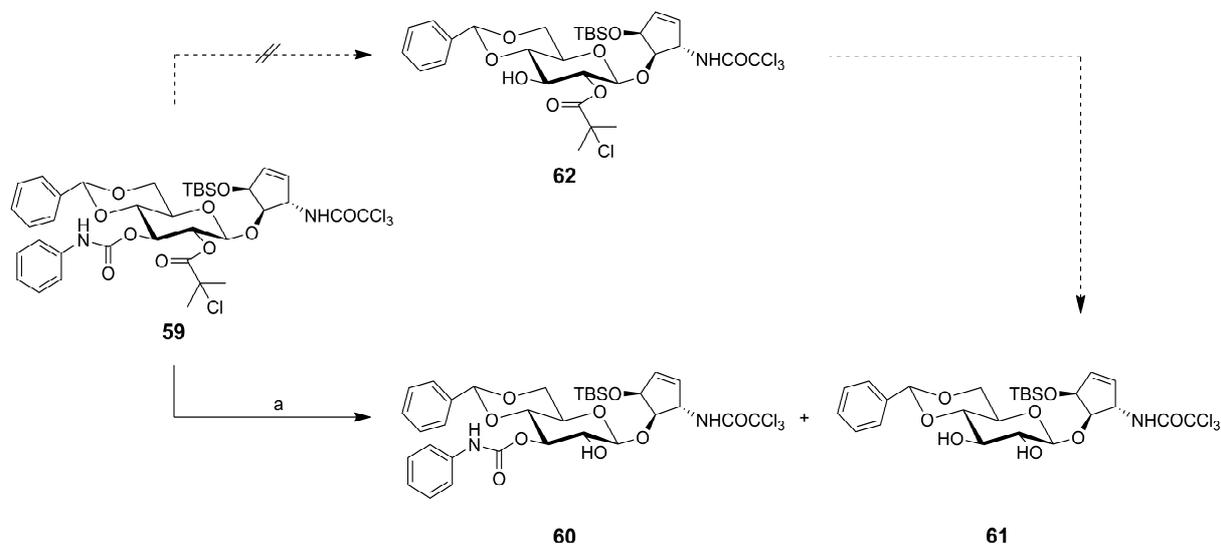
Die Einführung der elektronenziehenden *N*-Phenylcarbamoylgruppe, und die Fixierung des Zuckergerüsts in der ${}^4\text{C}_1$ -Konformation durch die Benzylidengruppe destabilisiert das nach der Aktivierung des Donors gebildete planare Oxacarbeniumion.^[195] Der bisherigen Ansicht zufolge liefern benachbarte Acylreste in Ausübung des Nachbargruppeneffekts (*anchimeric assistance*)^[196] einerseits die Grundlage für die β -selektive Einführung eines Glukosebausteins. Andererseits sorgen sie durch die Bildung einer energetisch begünstigten Acyloxoniumionzwischenstufe für eine zusätzliche Stabilisierung des Oxacarbeniumions.^[156] Arbeiten von *Crich et al.* zeigen dagegen, dass sie eine weitere Ebene an zusätzlicher Reaktivität eröffnen.^[196] Interessanterweise ließ sich trotz dieser Einflüsse keine Veränderung der Reaktionsgeschwindigkeit erkennen. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle der Reaktion zeigte nicht nur, dass der Donor vollständig aktiviert wurde, sondern auch, dass die Umsetzung zum Glukosid **59** bereits innerhalb von 90 Minuten abgeschlossen war. Mit Isolierung eines Nebenprodukts, dessen Ursprung sich nach ${}^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischer Untersuchung eindeutig auf den Glukosedonors zurückführen ließ, zeigte sich dennoch, dass die destabilisierenden Eigenschaften der Schutzgruppen auf das Oxacarbeniumion Ursache für die moderate Ausbeute sind.

3.2.3.3 Intramolekulare Inversion des Glukose-C2-Kohlenstoffzentrums von Glukosid **60** zur β -mannosylierten Queuosinseitenkette **67**

Chemoselektive Entschützung

In Vorbereitung auf den anschließenden Schlüsselschritt dieser Synthese sollte zunächst die chemoselektive Abspaltung der Esterfunktion am Glukoserest des Glukosids **59** unter basischen Bedingungen erfolgen (Schema 31). Hierbei zeigte sich, dass ein vollständiger Umsatz nur bei längerer Reaktionszeit (40 Stunden) stattfindet, was vermutlich auf die sterische Hinderung der Carbonylfunktion des Esters zurückzuführen war.

Problematisch an dieser Entschützung war, dass, obgleich das gewünschte Glukosid **60** stets als Hauptprodukt isoliert werden konnte, mit zunehmender Reaktionszeit die Bildung des Nebenprodukts **61** beobachtet wurde (Schema 31). Eine Verkürzung der Reaktionszeit auf 24 Stunden konnte die Bildung von **61** zwar unterdrücken, brachte jedoch keine nennenswerte Verbesserung, da angesichts der geringen Reaktivität innerhalb dieser Zeit zu wenig des Glukosids **59** umgesetzt wurde.



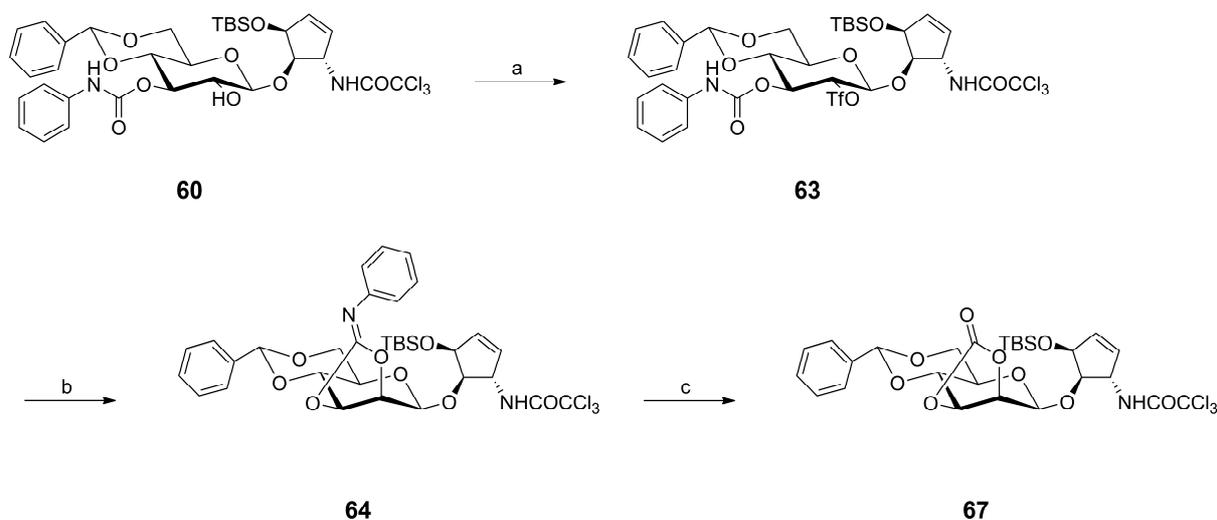
Schema 31: Regioselektive Entfernung des 2-Chlorisobuttersäureesters: a) NaOMe, MeOH, RT, 40 h, 31% (**60**), 13% (**61**).

Obgleich zu diesem Zeitpunkt noch nicht absehbar, erwies sich die Bildung des Nebenprodukts **61** für den weiteren Verlauf der Synthese als äusserst hilfreich. Erwähnenswert ist, dass niemals das selektiv an Position 3 der Glukoseeinheit entschützte Produkt **62** beobachtet wurde, was darauf schließen ließ, dass **61** erst nach selektiver Abspaltung der Esterfunktion aus **60** entstanden sein muss. Im Einklang mit den Ergebnissen aus den einleitenden

Experimenten zur selektiven Spaltung des Esters (Kapitel 3.2.1) wurde trotz einer Verlängerung der Reaktionszeit die Abspaltung der Trichloracetamidgruppe nur in Spuren beobachtet.

Intramolekulare Inversion

Grundlegend für den Schlüsselschritt – die Inversion des C2-Kohlenstoffzentrums der Glukoseeinheit von Glykosid **60** zu Mannose – war eine von *Kunz* erarbeitete dreistufige Strategie (Schema 32).^[185, 193]

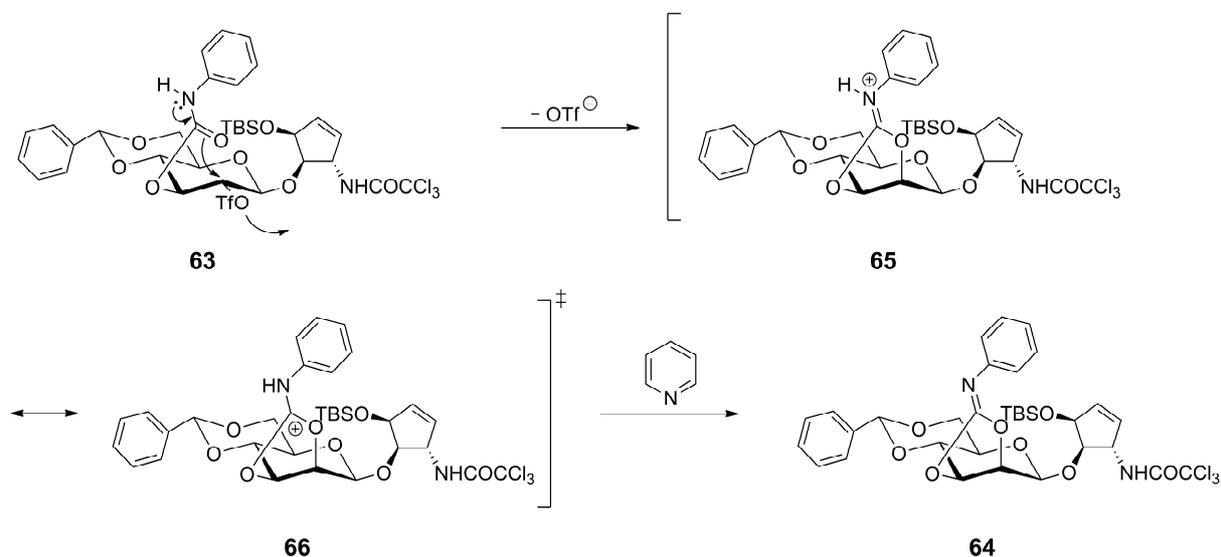


Schema 32: Intermolekulare Inversion des Glukosids **60** zu Mannosederivat **67**: a) Tf₂O, CH₂Cl₂, Pyridin, 0 °C → RT, 1.5 h; b) DMF, Pyridin, 65 °C, 5.25 h; c) AcOH, Dioxan, H₂O, RT, 3 h, 49% (3 Stufen).

Im Gegensatz zur langsamen selektiven Spaltung der Estergruppe konnte der freie Alkohol **60** entsprechend dieser Methode mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid problemlos in das Triflat **63** überführt werden. Jedoch sei zu erwähnen, dass angesichts der sterischen Hinderung durch die benachbarten Gruppen erst bei Raumtemperatur eine merkliche Umsetzung zu beobachten war, die nach etwa einer Stunde vollständig abgeschlossen war. Nach Entfernen des Lösemittels wurde das Triflat **63** ohne Aufreinigung der intramolekularen Inversion zugeführt. Die dünnschichtchromatographische Analyse dieser Reaktion zeigte nach ca. fünf Stunden bei 65 °C eine saubere Überführung zum Mannosederivat **64** (Schema 32).

Der entropisch gesteuerte cisoidale nukleophile Angriff des Carbonylsauerstoffs der Carbamoylgruppe auf die benachbarte C2-Position führte über eine Ammonium- (**65**) bzw. Acyloxoniumzwischenstufe (**66**) zur Bildung des intermediären zyklischen Iminocarbonats **64**

(Schema 33).^[193] Der Vorteil dieser Synthesestrategie besteht darin, dass das Nukleophil bereits nahezu ideal für eine S_N2 -Reaktion ausgerichtet war, wodurch sterische Einflüsse seitens der Schutzgruppen oder des der Angriffssachse des Nukleophils koaxial orientierten freien Elektronenpaares des endozyklischen Sauerstoffatoms minimiert werden konnten.

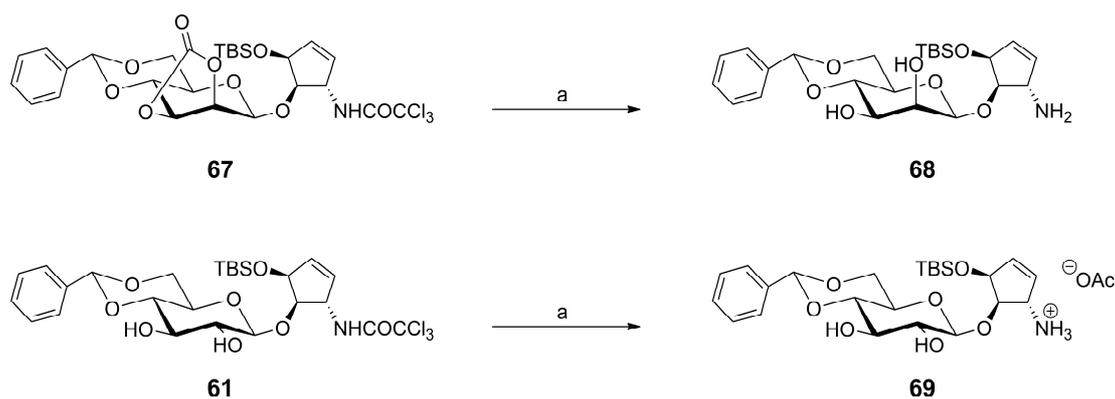


Schema 33: Mechanismus der intramolekularen Inversion.

Triebkraft der Reaktion ist allerdings weniger die Ausrichtung der Reaktionspartner zueinander als vielmehr die durch die gleichzeitige Freisetzung von Trifluormethansulfonsäure bzw. Pyridiniumtriflat gewonnene entropische Energie.^[185]

Die saure Hydrolyse des Iminocarbonats **64** in verdünnter Essigsäure lieferte schließlich das entsprechende zyklische Carbonat **67** nach Aufarbeitung und Aufreinigung in einer hervorragenden Ausbeute von 49% über drei Stufen (Schema 32). Entgegen der Literaturvorschrift, die vor der säulenchromatographischen Aufreinigung eine sofortige Entfernung des Lösemittels vorsah,^[194] war zunächst eine kurze extractive Aufarbeitung zur Neutralisation der eingesetzten Essigsäure notwendig, um eine Abspaltung der TBS-Gruppe am allylischen Alkohol der Cyclopenteneinheit des Mannosids **67** zu vermeiden.

Die abschließende reibungslose Überführung der invertierten Verbindung **67** mit Natronlauge in Methanol zum freien Amin **68** durch Abspaltung der Trichloracetamidgruppe unterstrich zweifelsfrei die aufgestellte These einer gehinderten Abspaltung der Aminoschutzgruppe durch eine von apolaren Schutzgruppen an der Zuckereinheit hervorgerufenen Konformationsänderung in polaren Medien (Kapitel 3.1.2.2).



Schema 34: Synthese der freien Amine **68** und **69**: a) NaOH (2M), MeOH, RT, 18 h, 69% (**68**) bzw. 72% (**69**).

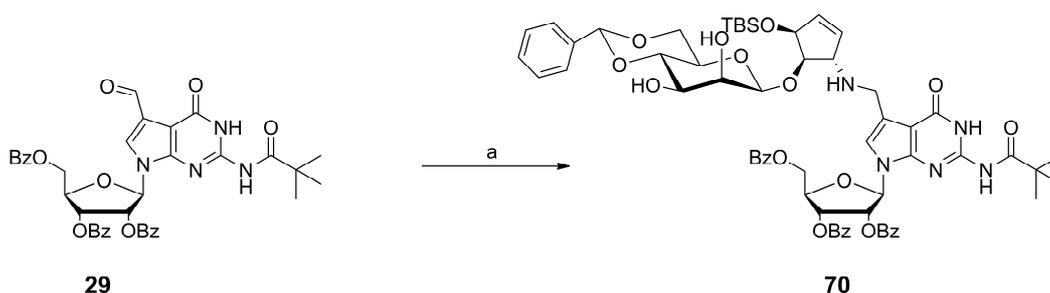
Mit Blick auf den nachfolgenden Schritt des vollständigen Aufbaus des β -Mannosylqueuosingerüsts war zunächst eine eindeutige Klärung der Stereochemie des C2-Kohlenstoffzentrums der Zuckereinheit der Verbindung **68** notwendig. Hierzu wurde die diastereomere Verbindung **69** (Kapitel 3.4), welche ausgehend von der als Nebenprodukt bei der Synthese von **60** auftretenden Verbindung **61** durch basische Abspaltung der Trichloracetamidgruppe erhalten werden konnte, als Referenzverbindung für NMR-spektroskopische Untersuchungen herangezogen (Schema 34). Es wurde die Kopplungskonstante zwischen den C1- und C2-gebundenen Protonen des Zuckergerüsts der Verbindungen **68** und **69** ermittelt. Im Falle der mannosemodifizierte Verbindung **68** befinden sich die untersuchten Protonen in *cis*-Position zueinander und die Kopplung ergab somit einen Wert von $J_{1,2} = 1.0$ Hz. Bei der mit Glukose modifizierten Verbindung, deren entsprechende Protonen eine *trans*-Position zueinander einnehmen, wurde hingegen ein Wert von $J_{1,2} = 7.7$ Hz gefunden.

Demzufolge wurde ein β -konfiguriertes Mannosederivat der Seitenkette von Queuosin synthetisiert.

3.2.4 Synthese von β -Mannosylqueuosin (**31**)

Für die Synthese von β -Mannosylqueuosin wurde analog der Darstellung von Galaktosylqueuosin (**1**) die zweistufige Einführung der Cyclopentenseitenkette über eine Iminzwischenstufe, gefolgt von einer reduktiven Aminierung, verfolgt.^[171] Angesichts der hohen Polarität des freien Amins **68** wurde sowohl die Kondensationsreaktion mit Aldehyd **29** zum intermediären Imin als auch dessen Reduktion mittels Natriumborhydrid in Methanol durchgeführt, wobei geschütztes β -Mannosylqueuosin **70** in einer guten Ausbeute von 55% erzielt werden konnte (Schema 35).

Die abschließenden drei Schritte der Synthese von β -manQ (**31**) umfassten die Abspaltung aller Schutzgruppen (Schema 36), wobei die Entfernung der Benzylidengruppe das größte Hindernis darstellte. Hierbei musste eine Methode gefunden werden, die eine selektive Spaltung der Acetalstruktur der Benzylidengruppe gewährleistete, jedoch weder die zuvor aufgebaute *O*-glykosidische Bindung zwischen Mannoserest und dem Cyclopenten noch die *N*-glykosidische Bindung der Desazaguanosineinheit zu beeinflussen. Zusätzlich erschwerend kam hinzu, dass die oftmals gegen saure Bedingungen stabilisierende Estergruppe in direkter Nachbarschaft zur *O*-glykosidischen Bindung an der Mannoseeinheit fehlte.^[197]



Schema 35: Reduktive Aminierung des Desazaguanosins **29** zu β -Mannosylqueuosin **70**: a) 1) **68**, MeOH, RT, 5 h; 2) NaBH₄, MeOH, 0 °C, 1 h, 55%.

Obwohl zahlreiche Methoden zur Abspaltung der Benzylidengruppe bekannt sind,^[169] beschränkte sich deren Anwendbarkeit angesichts der in Verbindung **70** vorhandenen weiteren funktionellen Gruppen erheblich. Eine milde Methode, die parallel zur selektiven Abspaltung der Benzylidengruppe eine Spaltung der TBS-Gruppe in Aussicht stellte, war die Anwendung von an Silicagel adsorbierter Phosphormolybdänsäure.^[198] Jedoch führte weder die Reaktionsdurchführung in Acetonitril noch THF zu einer nennenswerten Umsetzung zum gewünschten Produkt, weshalb auf eine selektive Benzylidenspaltung in Gegenwart von Trifluoressigsäure in Dichlormethan bei 0 °C ausgewichen wurde. Hierdurch konnte Verbindung **71** (Abb. 21) schließlich innerhalb von 30 Minuten erhalten werden.^[199]

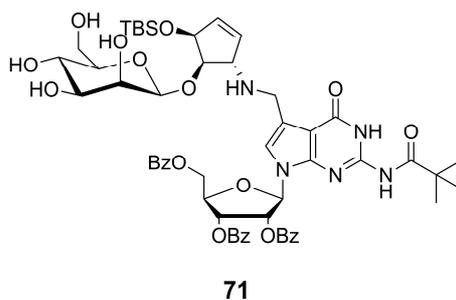
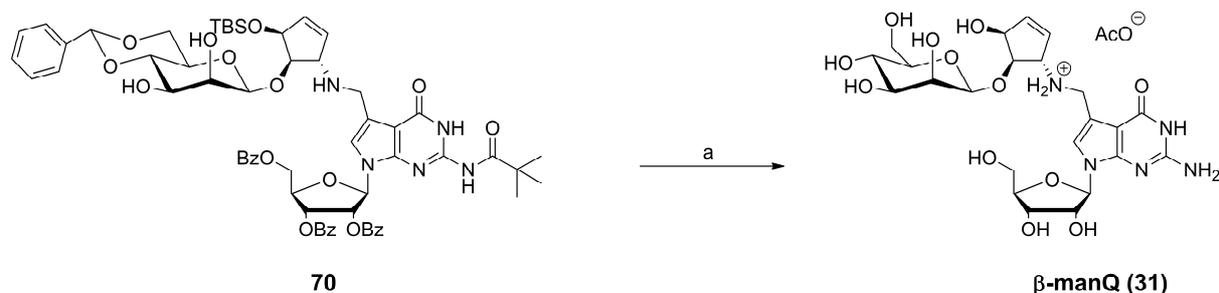


Abb. 21: Partiiell geschütztes β -Mannosylqueuosin **71** nach Abspaltung der Benzylidengruppe mit TFA.

Nach kurzer Aufarbeitung wurde das unaufgereinigte Zwischenprodukt der $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{ HF}$ -vermittelten Entfernung der TBS-Gruppe zugeführt, bevor abschließend die Pivaloyl-Gruppe und die Benzoyl-ester mit wässriger Natronlauge (2M) in Methanol abgespalten wurden. Die HPL chromatographische Aufreinigung lieferte β -Mannosylqueosin (**31**) in Form eines weißen Feststoffs als Acetatsalz (Schema 36).



Schema 36: Totalentschützung zu β -Mannosylqueosin (**31**): a) 1) TFA, CH_2Cl_2 , 0 °C, 30 min; 2) $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{ HF}$, CH_2Cl_2 , RT, 3 d; 3) NaOH (2M), MeOH, RT, 2 d, 30% (nach Aufreinigung mittels HPLC).

3.2.5 Identifizierung von β -Mannosylqueosin (**31**)

Mit Abschluss der Totalsynthese von β -Mannosylqueosin (**31**) bot sich schließlich die Möglichkeit, die von *Kasai et al.* postulierte Struktur^[59] auf Basis einer LC-massenspektrometrischen Untersuchung eines Verdaus natürlicher tRNA, der mit synthetischem β -Mannosylqueosin ähnlicher Konzentration versetzt war (Abb. 22), zu überprüfen. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von β -Mannosylqueosin (**31**) (Abb. 23) wurde zwar ebenfalls eine Kopplungskonstante zwischen anomeren Proton und an C2-gebundenem Proton gefunden, die dem Ergebnis von *Kasai et al.* entspricht (β -manQ: $J_{1,2} = 0.7\text{ Hz}$; Lit.:^[59] $J_{1,2} < 1\text{ Hz}$) und somit zweifelsfrei die β -Konfiguration der glykosidischen Bindung bestätigte. Jedoch geht aus dem HPL-Chromatogramm (Abb. 22) hervor, dass synthetisches β -Mannosylqueosin eine deutlich niedrigere Polarität (29.29 min) besitzt als das natürliche Nukleosid (24.99 min), wie anhand der Retentionszeiten abzulesen ist. Angesichts dieses Ergebnisses darf davon ausgegangen werden, dass das natürliche Nukleosid nicht der postulierten Struktur entspricht.

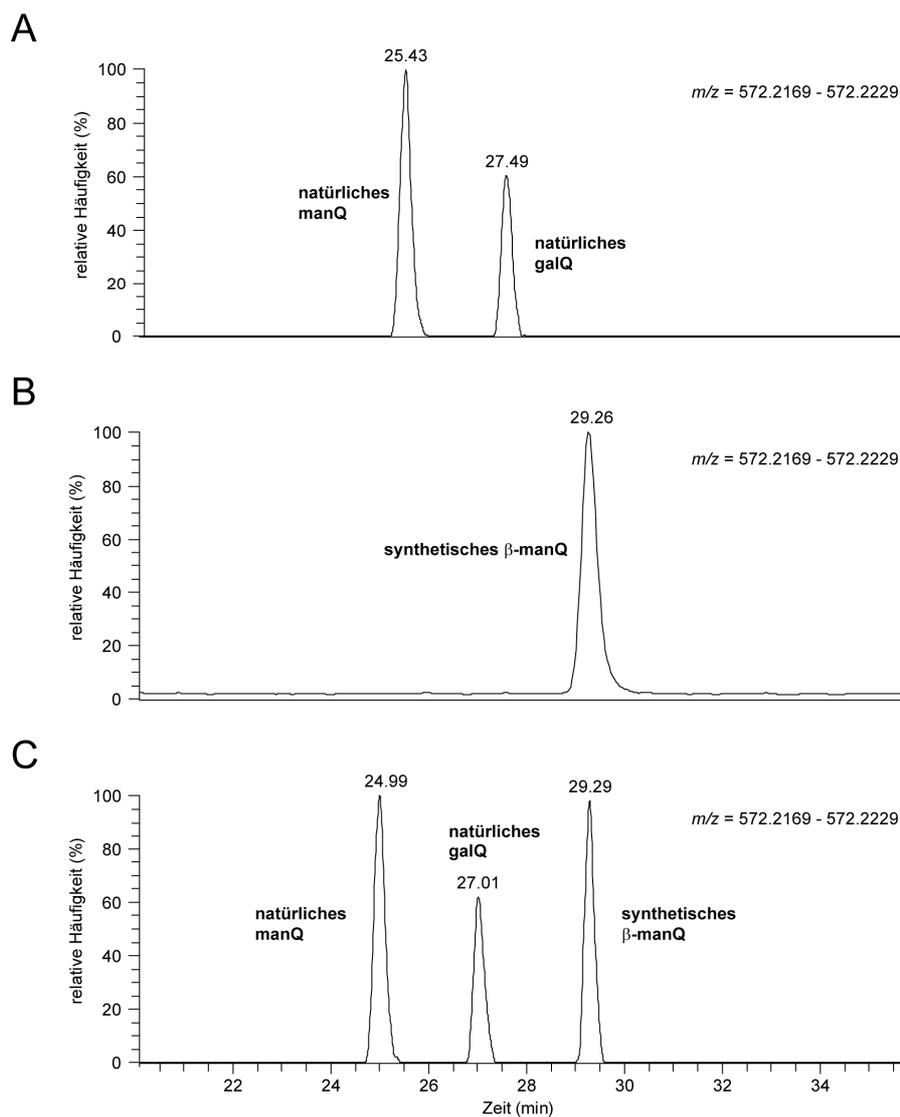


Abb. 22: LC-MS-analytische Untersuchung eines Verdaus natürlicher tRNA. A: Massespur der zwei glykosylierten natürlichen Queuosinderivate. B: Massespur des synthetischen β -Mannosylqueuosins (**31**). C: Massespur des Verdaus natürlicher tRNA, der mit synthetischem β -Mannosylqueuosin versetzt wurde.

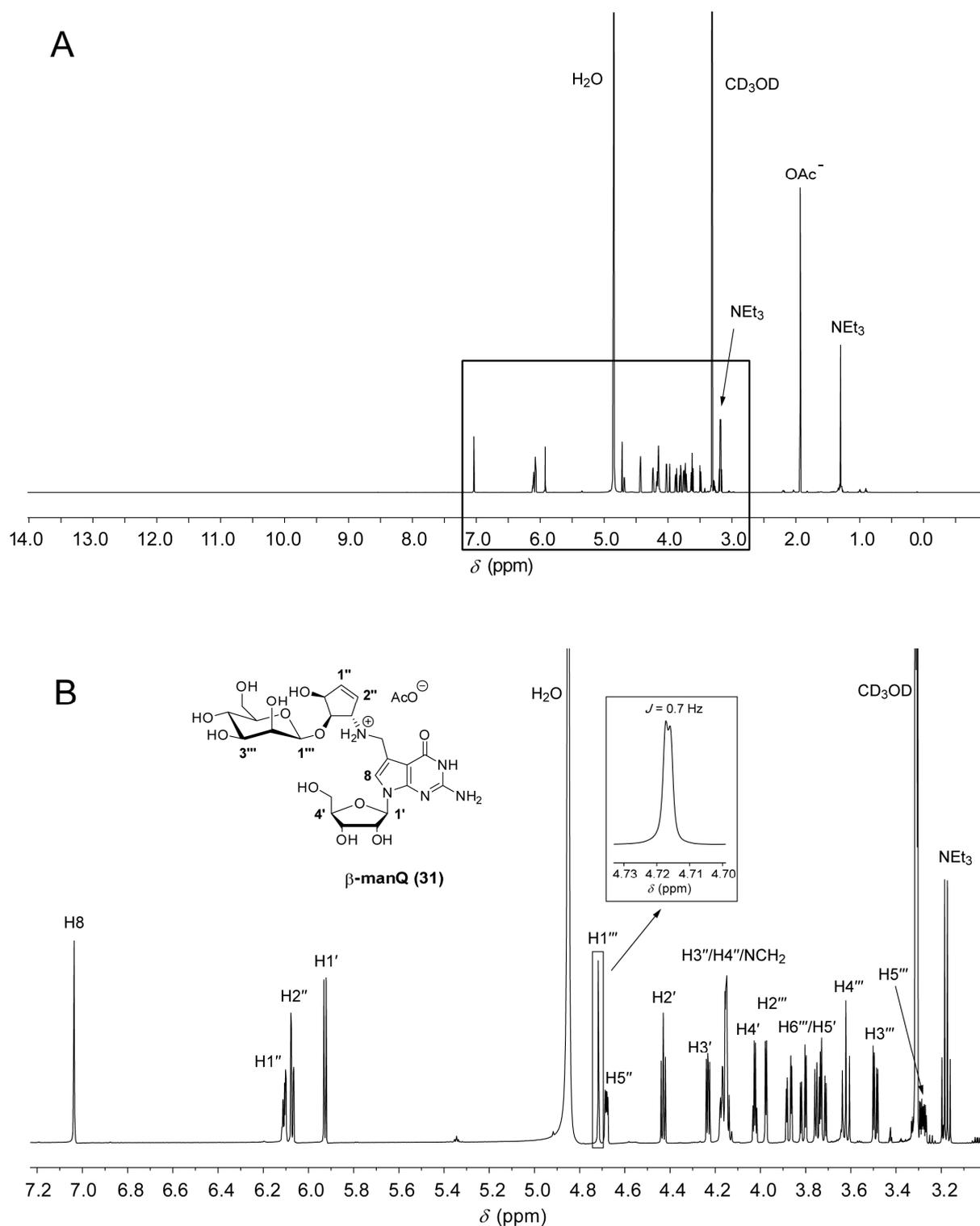


Abb. 23: A: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von β -Mannosylqueosin (**31**) in CD_3OD . (Triethylamin aus dem HPLC-Puffer Triethylammoniumacetat). B: vergrößerte Darstellung des markierten Bereichs des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von β -Mannosylqueosin (**31**) unter Berücksichtigung aller Protonen des Nucleosids.

3.3 Synthese von α -Mannosylqueuosin

Das Ergebnis der LC-MS-Untersuchung ist, dass die natürliche Struktur von β -manQ nicht mit der postulierten Strukturformel übereinstimmt. Ein Vergleich der Fragmentierungsmuster des synthetischen Nucleosids (Abb. 24, B) sowie des Massesignals der Verbindung in der natürlichen Probe (Abb. 24, A) zeigte jedoch ein identisches Molekulargewicht (Abb. 24, Inset-Spektren) und auch nahezu identische MS/MS-Daten (Abb. 24). Die Struktur der Hauptfragmente $m/z = 163.061$ und $m/z = 295.103$ ist in Abb. 25 gezeigt ist.

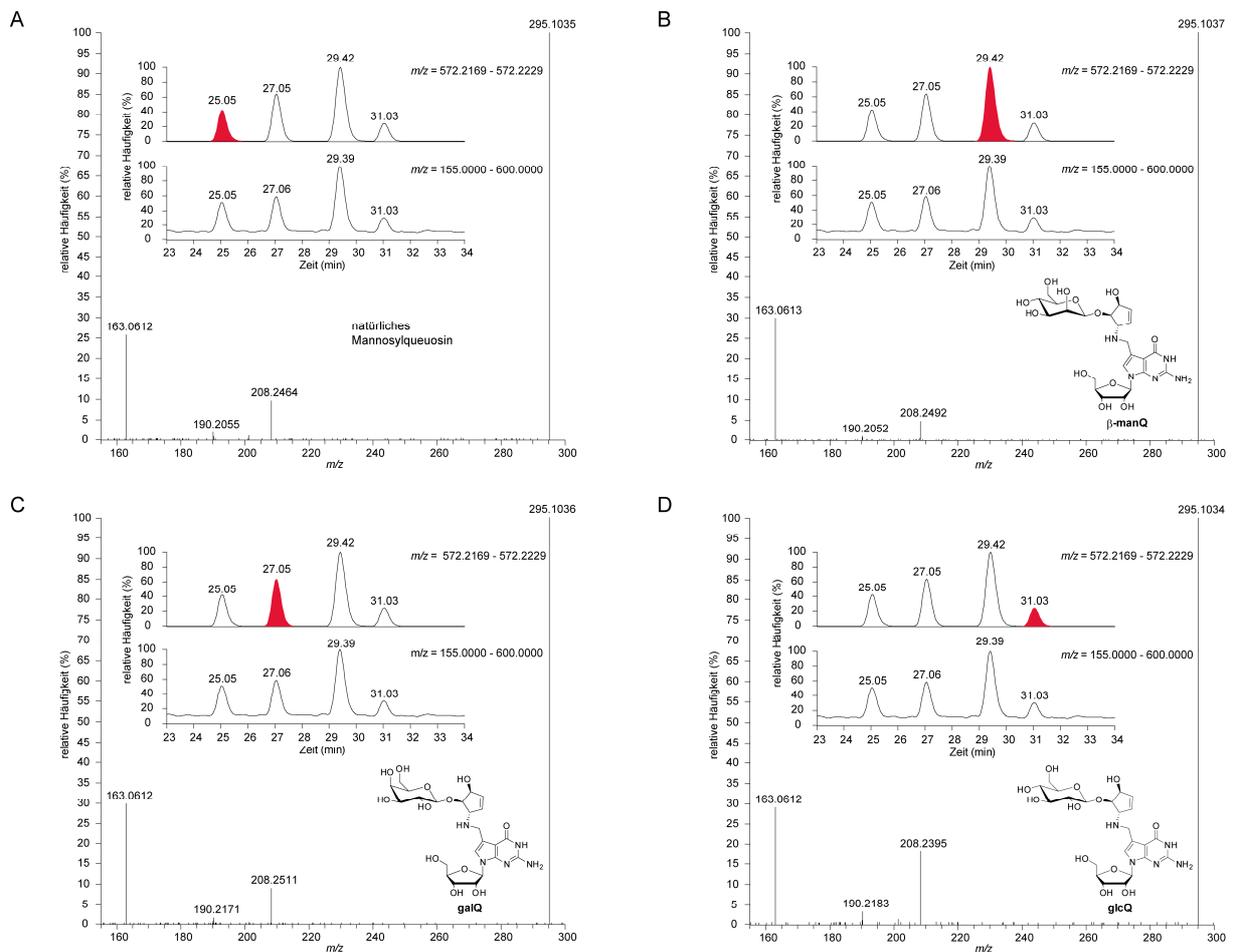


Abb. 24: A und B: Fragmentspektrum des natürlichen Nucleosids (A) und synthetischen β -Mannosylqueuosins (B). Im Vergleich dazu die Fragmentspektren von Galaktosylqueuosin (C) und nichtnatürlichem Glukosylqueuosin (D). Die Inset-Spektren zeigen die Massespur der LC-MS analytischen Untersuchung des Verdauens einer natürlichen tRNA-Probe mit den koinjizierten synthetisch dargestellten Nucleosiden. Das dem jeweiligen Queuosinderivat entsprechende Signal ist farbig hinterlegt. Die Signale bei $m/z = 190.21$ und $m/z = 208.25$ sind nicht dem jeweiligen Nucleosid zuordenbare Artefaktsignale.

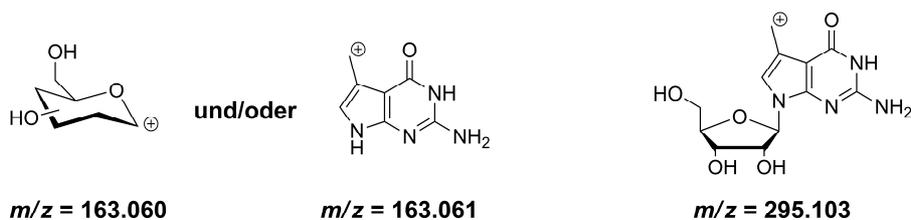


Abb. 25: Strukturen der Hauptfragmente während der Fragmentierungsexperimente in MS/MS-Spektren der Queuosinderivate.

Unter Einbeziehung früherer Arbeiten,^[58-59] sowie dem Ergebnis aus dieser Arbeit, dass Glukose als mögliche Modifizierung ausgeschlossen werden kann (Abb. 24 und Kapitel 3.4), kamen wir deshalb zu dem Schluss, dass das natürliche Nukleosid möglicherweise eine α -konfigurierte glykosidische Bindung zwischen Mannose und dem Cyclopentenrest aufweisen könnte.

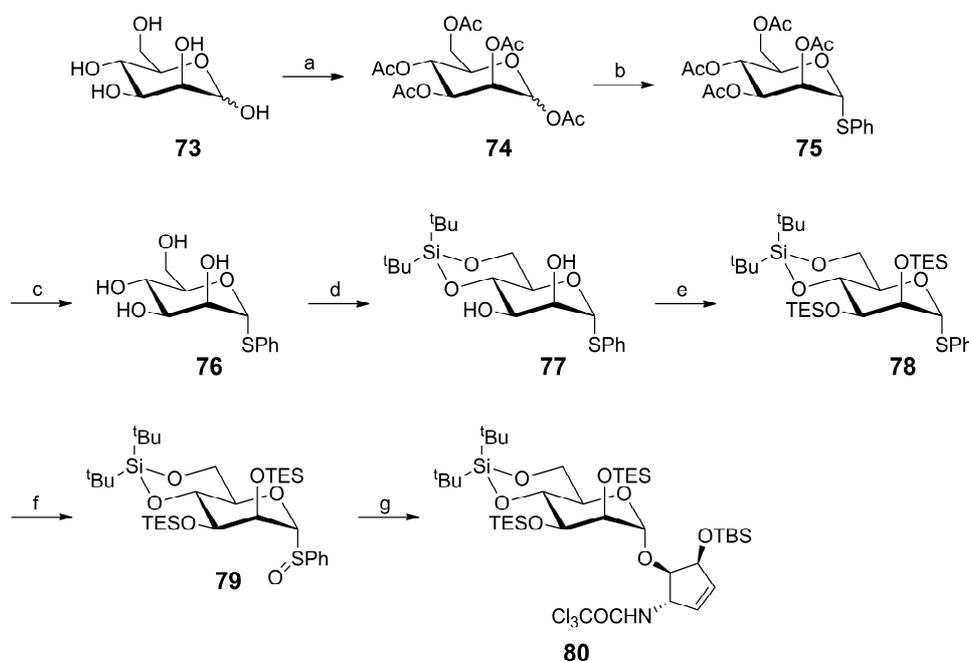
Zur Darstellung von α -Mannosylqueuosin (**72**) konnte zunächst auf eine Route zurückgegriffen werden, die auf einer alternativen Strategie zur Synthese von β -manQ (**31**) beruhte und im folgenden Kapitel näher betrachtet wird.

3.3.1 Ursprünglich geplante Syntheseroute zu α -Mannosylqueuosin (**72**)

Parallel zu der in Kapitel 3.2 vorgestellten Synthesestrategie zur Darstellung von β -Mannosylqueuosin (**31**) wurde eine Syntheseroute entwickelt, die auf einer direkten β -selektiven Einführung eines Mannosylrests in die nichtallylische Position des Cyclopentenrings basieren sollte, falls die intramolekulare Inversion nicht zum gewünschten Erfolg geführt hätte. Jedoch zeigte sich bei der Glykosylierung mit **2**, dass sich entgegen des erwarteten β -konfigurierten Produkts selektiv das α -Anomer des gewünschten Glykosids gebildet hatte, weshalb zunächst diese Route zur Darstellung von α -Mannosylqueuosin (**72**) gewählt wurde (Schema 37).

Als Ausgangsmaterial für die nach dieser Strategie geplanten Synthese von α -manQ diente D-Mannose **73**, die in nahezu quantitativer Ausbeute in das peracetylierte Derivat **74** überführt wurde. Dieses wurde in Gegenwart der Lewis-Säure $\text{Et}_2\text{O} \cdot \text{BF}_3$ mit Thiophenol spezifisch zum α -konfigurierten Thioacetal **75** umgesetzt.^[200] Die basische Methanolyse der Acetylgruppen führte schließlich zu Verbindung **76**.^[200] In Fortführung der angedachten Synthesestrategie wurde die 4,6-*O*-Position von **76** in Form einer Di-*tert*-butylsilylengruppe geschützt und Diol **77** nach säulenchromatographischer Aufreinigung in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten. Die nachfolgende Umsetzung mit Triethylchlorsilan zu **78** verlief trotz des sterischen

Anspruchs beider Silylgruppen problemlos. Das gewünschte Produkt konnte nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur in guter Ausbeute (78%) isoliert werden. Den Abschluss dieser Synthese bildete die Monooxidation des Schwefels des Thioacetals **78** mittels *m*CPBA zu Mannosedonor **79**. Einleitende Experimente, entsprechend einer Vorschrift von *Crich et al.* zur Darstellung derartiger Zuckerdonoren, zeigten,^[201] dass bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ selbst nach acht Stunden praktisch keine Reaktion stattfand, weshalb der Ansatz für zwei Tage bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert und damit vollständiger Umsatz erzielt wurde. Angesichts dieser zeitaufwändigen Reaktionsführung wurde deshalb die Umsetzung bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ wiederholt, wobei zwar nach drei Stunden ein deutlicher Umsatz zu beobachten war, jedoch erst die Lagerung über Nacht bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ die Reaktion zur Vollendung führte. Das monooxydierte Produkt **79** wurde mit 98% Ausbeute erhalten (Schema 37).

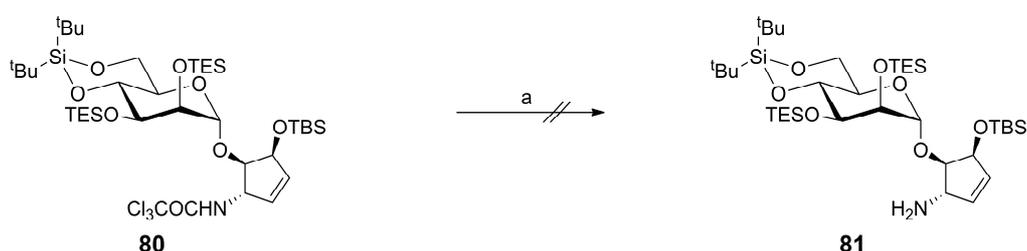


Schema 37: Ursprünglich geplante Syntheseroute zu α -mannosylierter Cyclopentenseitenkette. a) Ac_2O , Pyridin, $0\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h, 98%; b) PhSH, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h, 89%; c) NaOMe, MeOH, RT, 75 min, 89%; d) *tert*- Bu) $_2\text{Si}(\text{OTf})_2$, DMF, Pyridin, $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 40 min, 96%; e) TESCl, Imidazol, DMF, RT, 18 h, 78%; f) *m*CPBA, CH_2Cl_2 , $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 h, dann $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 18 h, 98%; g) **2**, Tf_2O , TTBP, MS 4 \AA , CH_2Cl_2 , $-75 \rightarrow -70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 min, $-63\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2 h, 43%.

Entgegen der üblichen in dieser Arbeit verwendeten Glykosylierungsmethode, bei der keine explizite Voraktivierung des Zuckerdonors notwendig war, wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von *Crich et al.* zunächst vollständig die Oxacarbeniumzwischenstufe aus **79** generiert,^[201] die im Anschluss durch den Glykosylakzeptor **2** abgefangen wurde. Hierzu wurde der Mannosedonor **79** in Gegenwart der sterisch anspruchsvollen Base TTBP mit

Trifluormethansulfonsäureanhydrid bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 20 Minuten umgesetzt, wonach im Anschluss die Zugabe einer Lösung von **2** in Dichlormethan erfolgte. Nach zwei Stunden bei $-63\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ war vollständiger Umsatz zum α -konfigurierten Mannosid **80** zu beobachten, das mit 43% Ausbeute isoliert werden konnte (Schema 37).

Mit Rückblick auf Resultate der basischen Entschützung des Galaktosids **13** (Kapitel 3.1.2.2) wurde im nachfolgenden Schritt erneut die unerwartet hohe Stabilität der Trichloracetamidgruppe unter basischen Bedingungen beobachtet. Diese stand der Entschützung der Aminofunktion im Weg. Trotz Verwendung verschiedener Methoden ist es nicht gelungen, Mannosid **80** in das gewünschte freie Amin **81** zu überführen (Schema 38).



Schema 38: Geplante Entschützung der Aminofunktion des Mannosids **80**: a) NaOH (2M), MeOH, RT, 16 h bzw. NH_3 (7M in MeOH), MeOH, $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 h.

Somit lieferte dieses Ergebnis einen weiteren Beweis dafür, dass eine größere Anzahl an Schutzgruppen auf der Zuckereinheit eines Glykosids, welche unter basischen Bedingungen nur sehr schwer abspaltbar sind (z.B. Silylgruppen), in polaren Medien offensichtlich die Entschützung der Amidfunktion behindern kann. Zusätzlich untermauert wurde dieses Ergebnis durch andere Beobachtungen von im Rahmen dieser Dissertation erfolgreich durchgeführten Entschützungsreaktionen an zwei strukturell ähnlichen Molekülen **82^d** und **67** (Abb. 26).

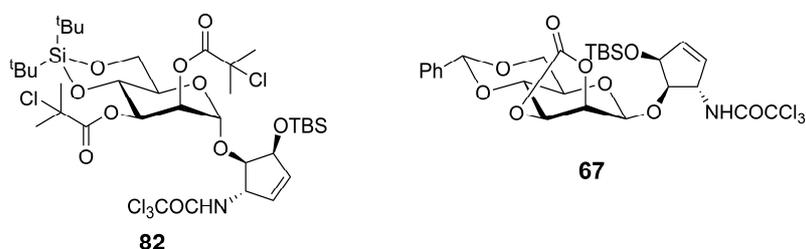
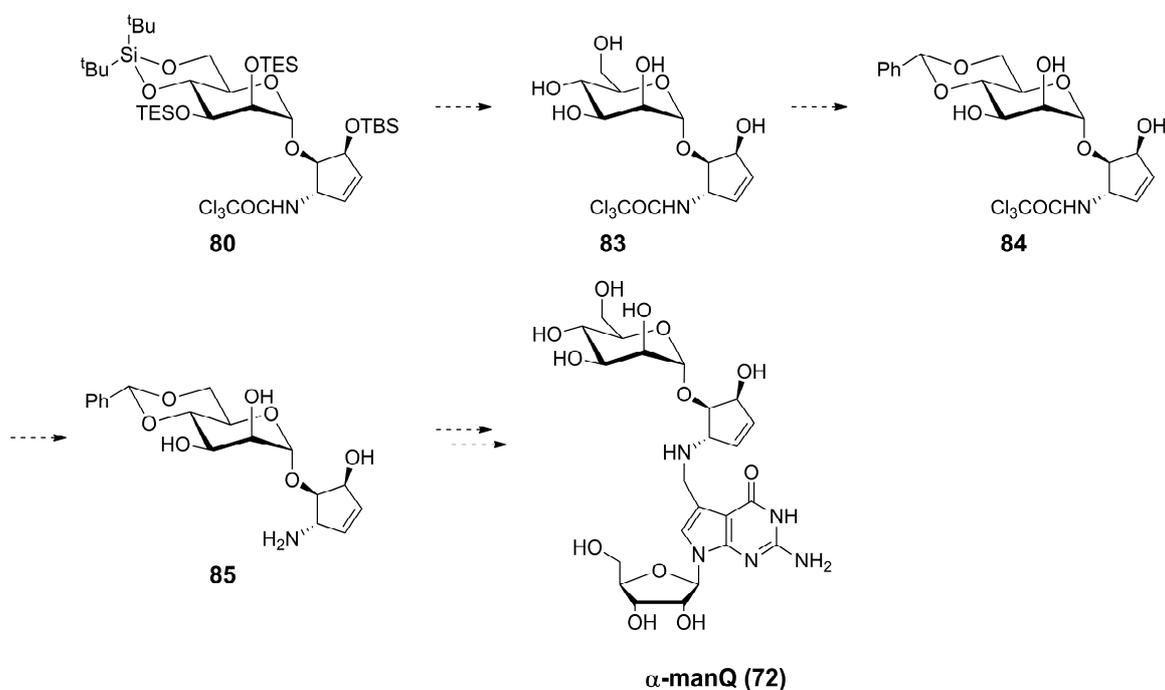


Abb. 26: Synthetisierte Mannoside **82** und **67**.

^d Di-*tert*-butylsilylengruppe wurde während Abspaltung der Trichloracetamidgruppe ebenfalls geöffnet.

Als Folge des polaren Charakters der entsprechenden intermediären Diole beider Moleküle konnte die Trichloracetylgruppe problemlos abgespalten werden. Demgegenüber war der durch die Schutzgruppen hervorgerufene stark apolare Charakter des Glykosids **81** vermutlich erneut Ursprung dieses ungewöhnlichen Verhaltens. Vermutlich nimmt das Molekül in polaren Medien (z.B. wässriges Methanol) eine Konfiguration ein, die einen Zugang zur Amidfunktion an der Cyclopenteneinheit versperrte.

Angesichts dieses unerwarteten Resultats – der Inertheit der Trichloracetamidgruppe – würde mit der in Schema 39 gezeigten Reaktionssequenz zwar ein möglicher Ausweg zur Verfügung stehen, doch schien die Entwicklung einer neuen zielgerichteten Synthese effizienter, insbesondere im Hinblick auf eine stereokontrollierte Einführung des Zuckers in die Cyclopenteneinheit.



Schema 39: Mögliche Ausweichroute zur Darstellung von α -Mannosylqueosin (**72**).

3.3.2 Neue Syntheseroute zu α -Mannosylqueosin (**72**)

Die neue Syntheseroute sollte in Anlehnung an die β -selektive Einführung eines Zuckerrests im Zuge der Synthese von galQ (**1**) und β -manQ (**31**) gezielt durch Ausnutzung des Nachbargruppeneffekts von Acylresten erfolgen. Des Weiteren sollte in Anlehnung an Schema 39 (**83** \rightarrow **84**) die 4,6-*O*-Position durch Einführung der Benzylidengruppe geschützt werden, da sich die DTBS-Gruppe im Rahmen dieser Arbeit unter wässrigen basischen

Bedingungen als instabil erwiesen hatte (Umsetzung von Verbindung **82** (Abb. 26) nach den in Schema 42 aufgeführten Bedingungen.). Vorteilhaft erschien zudem auch, dass unter Zuhilfenahme der Ergebnisse aus der Synthese von β -manQ (**31**, Kapitel 3.2) die Entschützung der Aminofunktion problemlos verlaufen sollte. Einzig nicht kalkulierbares Risiko war die Empfindlichkeit der α -konfigurierten *O*-glykosidischen Bindung im Hinblick auf die saure Entschützung der Benzylidengruppe.

Eine Zusammenfassung der verwendeten Synthesebausteine zur Darstellung von α -Mannosylqueuosin (**72**) ist in Abb. 27 gezeigt.

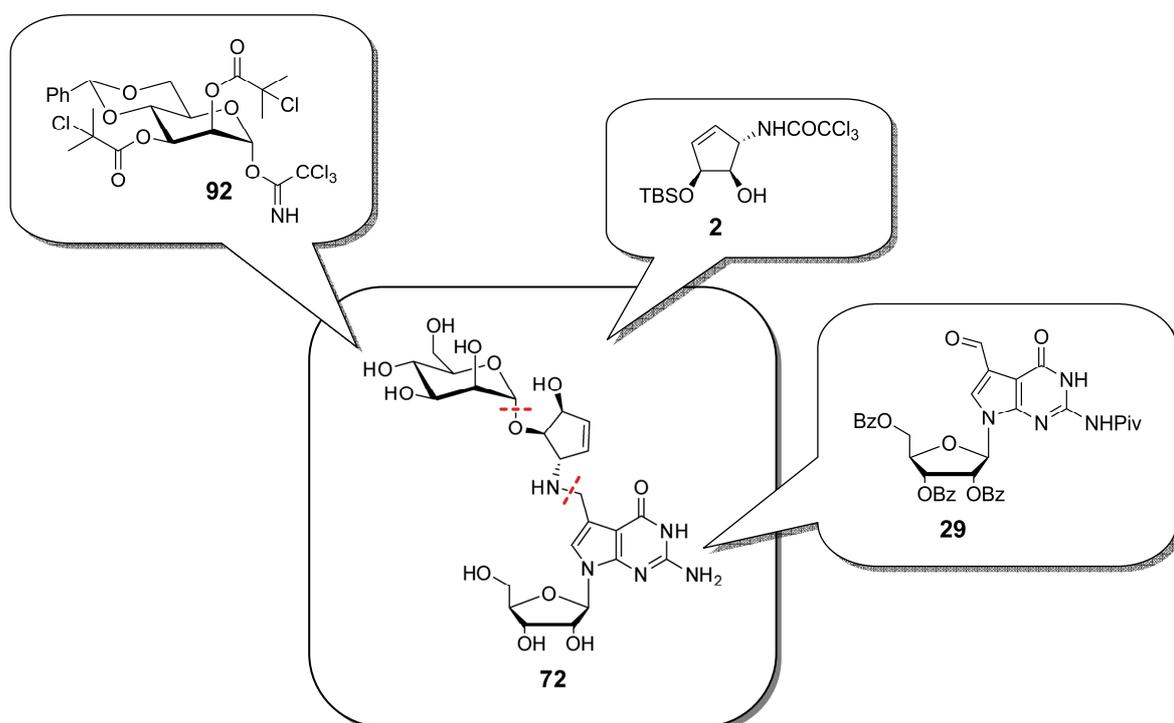
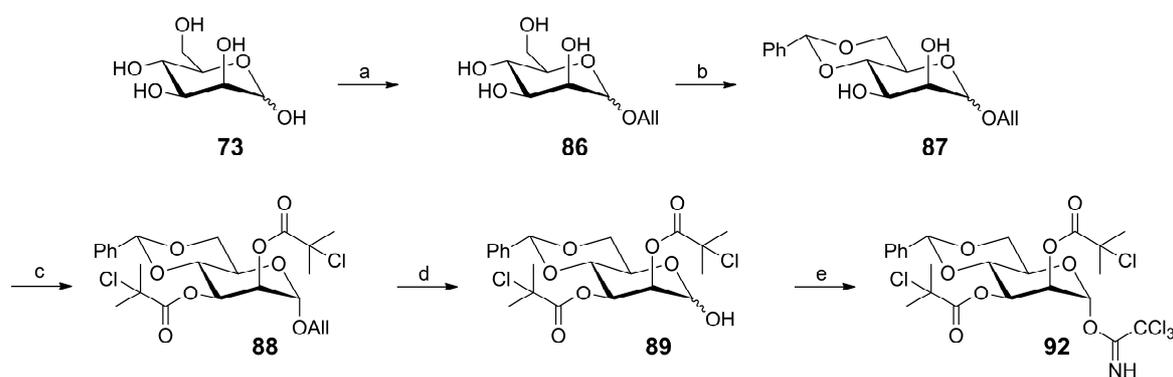


Abb. 27: Retrosynthetische Übersicht der Darstellung von α -Mannosylqueuosin (**72**). Die Schnittstellen sind rot hervorgehoben.

3.3.2.1 Synthese des Mannosyldonors **92**

Die Verwendung einer Allylschutzgruppe für die anomere Position ist eine vielversprechende Alternative, da bislang die selektive Spaltung der anomeren α -Chlorisobutyrylester-Schutzgruppe mit Hydraziniumacetat immer problematisch war (Schema 40). Zur Steuerung der Stereoselektivität der Glykosylierung wurde die α -Chlorisobuttersäureester-Schutzgruppe an Position *O*-2 jedoch beibehalten.



Schema 40: Synthese des Mannosyldonors **92**: a) Allylalkohol, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 120 °C, 6 h, 76%; b) $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$, DMF, *p*-TsOH, 60 °C, 2.5 h, 37%; c) **10**, DIC, DMAP, CH_2Cl_2 , 0 °C → RT, 3 h, 73%; d) PdCl_2 , NaOAc, EtOAc, AcOH, H_2O , RT, 23 h, e) Cl_3CCN , Cs_2CO_3 , RT, 24 h, 31% (2 Stufen).

Zunächst wurde D-Mannose **73** unter Lewisäurekatalyse in Allylalkohol zum entsprechenden Allylglykosid **86** umgesetzt,^[202] das anschließend in Gegenwart katalytischer Mengen an *p*-Toluolsulfonsäure mit Benzaldehyddimethylacetal zur 4,6-*O*-benzylidengeschützten Verbindung **87** überführt wurde.^[203] In Anlehnung an weitere Veresterungen mit α -Chlorisobuttersäure (**10**) im Rahmen dieser Arbeit konnte das Diol **87** problemlos in Gegenwart von DIC zum entsprechenden Diester **88** überführt werden. Schlüsselreaktion ist die anschließende Abspaltung der zu Beginn eingeführten Allylfunktion am anomeren Zentrum. Im Gegensatz zu den bisherigen durch Hydrazin vermittelten Entschützung (vgl. Kapitel 3.1.1 und 3.2.3.1) sollte die gewünschte Verbindung **89** nach Umsetzung des Allylacetals **88** mit PdCl_2 in essigsaurer Lösung erhalten werden.^[204] Tatsächlich ist es gelungen, das Halbacetal **89** mit Hilfe dieser Methode darzustellen (Schema 40). Jedoch fand entgegen aller Erwartung eine Konkurrenzreaktion statt, die in nicht unbedeutender Menge die am Allylrest oxidierten, nicht abtrennbaren Produkte **90** und **91** lieferte (Abb. 28). Die abschließende Additionsreaktion von Trichloracetonitril an das Halbacetal **89** führte schließlich zum gewünschten Mannosedonor **92** (Schema 40).

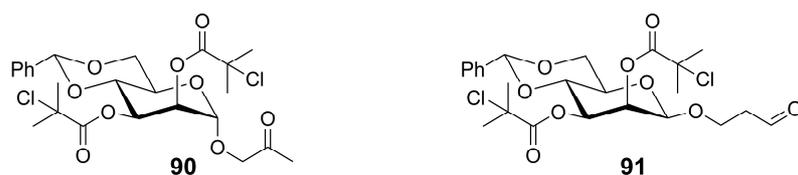
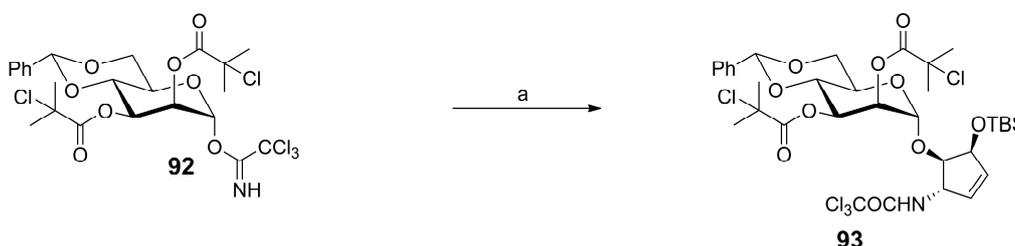


Abb. 28: Nebenprodukte der palladiumkatalysierten Abspaltung der Allylgruppe von Allylacetal **88**.

3.3.2.2 Synthese des α -konfigurierten Mannosids **80**

Die Umsetzung des Glukosendonors **50** mit Cyclopenten **2** (Schema 30) zeigte, dass bereits geringe Veränderungen der elektronischen sowie stereochemischen Struktur des Donors zu einer erheblichen Destabilisierung des für die Bildung eines Glykosids wichtigen Oxacarbeniumions beitragen und demzufolge Nebenprodukte begünstigen können. Deshalb war es nicht unerwartet, dass mit Einführung einer weiteren α -Chlorisobuttersäuregruppe in Mannosedonor **92** erneut neben dem gewünschten Produkt **93** zusätzliche Nebenprodukte entstanden (Schema 41). Diese konnten jedoch säulenchromatographisch nicht abgetrennt werden. Die zusätzlich auftretenden Signale des Nebenprodukts ließen trotz des α -dirigierenden Effekts der benachbarten α -Chlorisobutyrylgruppe auf die Bildung des entsprechenden β -konfigurierten Mannosids schließen.

Trotz der zusätzlichen Destabilisierung des intermediär auftretenden Oxacarbeniumions konnte nach Umsetzung von Mannosedonor **92** mit Cyclopenten **2** dennoch das gewünschte α -konfigurierte Mannosids **93** im Gemisch mit dem Nebenprodukt erhalten werden. Dieses ließ sich jedoch erst im nächsten Schritt identifizieren.

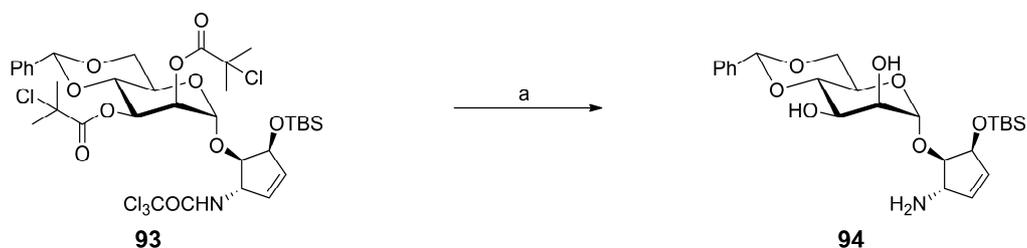


Schema 41: α -selektive Glykosylierung zu Mannosid **93**: a) **2**, CMPOTf, MS 3Å, *n*-Hexan, RT, 2.5 h.

3.3.2.3 Synthese des mannosylierten Cyclopentenylamins **94**

Entsprechend der bisherigen Vorgehensweise basierend auf der reduktiven Aminierung wurde die Aminogruppe von **93** anschließend basisch mit wässriger Natronlauge (2M) in Methanol entschützt und das freie Amin **94** erhalten. Hierbei fand gleichzeitig die Spaltung beider Esterfunktionen statt (Schema 42). Allerdings musste die wässrige Natronlauge tropfenweise zugegeben werden, da selbst bei langsamer Zugabe aufgrund des stark apolaren Charakters des Mannosids **93** teilweise sofortige Präzipitation zu beobachten war. Das Präzipitat ging jedoch sofort wieder in Lösung. Mit Hilfe dieser Methode sollte sichergestellt werden, dass zunächst die leicht hydrolysierbaren Estergruppen entfernt werden, wodurch die Gefahr der

vollständigen Präzipitation des Edukts **93** bei sofortiger Zugabe der gesamten Menge an wässriger Natronlauge vermieden wurde. Nach 18 Stunden bei Raumtemperatur bildete sich eine Suspension, deren dünnschichtchromatographische Kontrolle zwar ein deutlich polareres Produkt zeigte, dessen Bildung jedoch erst nach weiteren 24 Stunden bei Raumtemperatur vollständig war.



Schema 42: Darstellung des freien Amins **94**: a) NaOH (2M), MeOH, RT, 18 h.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung des nach Säulenchromatographie erhaltenen untrennbaren Produktgemischs schien die oben erwähnte These der Bildung der β -konfigurierten Verbindung **68** zunächst zu erhärten. Jedoch führte ein Vergleich mit den ^1H -NMR-Daten der bereits im Zuge der Synthese von β -manQ (**31**) erhaltenen Verbindung **68** allerdings zu dem Ergebnis, dass die während dieser Glykosylierung aufgetretene Nebenreaktion lediglich zu einer strukturell ähnlichen Verbindung geführt haben muss. Nach eingehender Analyse der NMR-spektroskopischen Daten des Produktgemischs konnte das Nebenprodukt als der entsprechende Orthoester **95** (Abb. 29) identifiziert werden.

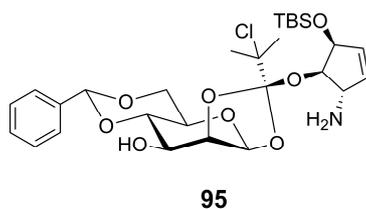
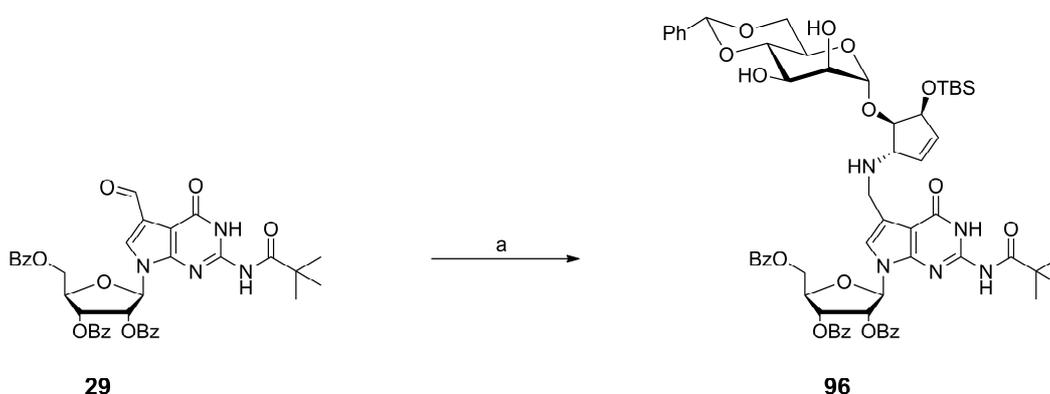


Abb. 29: Als Nebenprodukt der Synthese des Mannosids **93** entstandener Orthoester **95** nach Abspaltung der Aminoschutzgruppe.

Ogleich aus den erhaltenen Daten die Stereochemie des zentralen Kohlenstoffatoms des Orthoesters nicht bestimmt werden konnte, darf jedoch angesichts des sterischen Anspruchs der Cyclopenteneinheit davon ausgegangen werden, dass selektiv das *exo*-Produkt gebildet wurde, da keine Hinweise auf ein weiteres Isomer gefunden wurden.

3.3.2.4 Synthese von α -Mannosylqueuosin (72)

Das erhaltene Produktgemisch aus Amin **94** und dem entsprechenden α -Chlorisobutyryl-orthoester **95** wurde anschließend reduktiv mit Aldehyd **29** umgesetzt (Schema 43). Bedingt durch die hohe Polarität desamins **94** wurde entsprechend der Synthese von **31** die Kondensation mit Aldehyd **29** wieder in Methanol durchgeführt, wonach im Anschluss ohne weitere Aufarbeitung die direkte Umsetzung des Zwischenprodukts mit Natriumborhydrid bei 0 °C für eine Stunde zum geschützten α -manQ **96** erfolgte. Zusätzlich wurde das orthoesterenthaltende Mannosylqueuosinderivat **97** massenspektrometrisch nachgewiesen (Abb. 30).



Schema 43: Reduktive Aminierung zu α -Mannosylqueuosin **96**: a) **94**, MeOH, RT, 5 h; NaBH₄, MeOH, 0 °C, 1 h, 6% (ausgehend von **92**).

Den Abschluss der Synthese bildete schließlich die Abspaltung aller Schutzgruppen, wobei auf die bei der diastereomeren Verbindung **70** angewandte Entschützungsstrategie zurückgegriffen wurde (Schema 44). Entsprechend diesem Vorgehen wurde zunächst die Benzylidengruppe mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan bei 0 °C abgespalten.^[199]

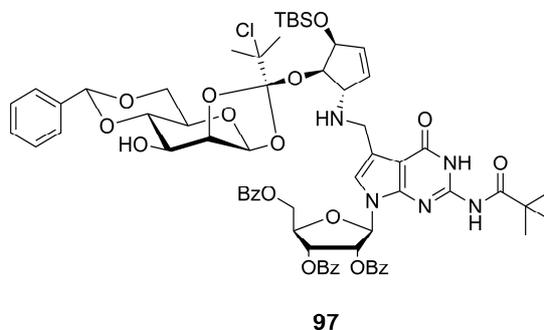
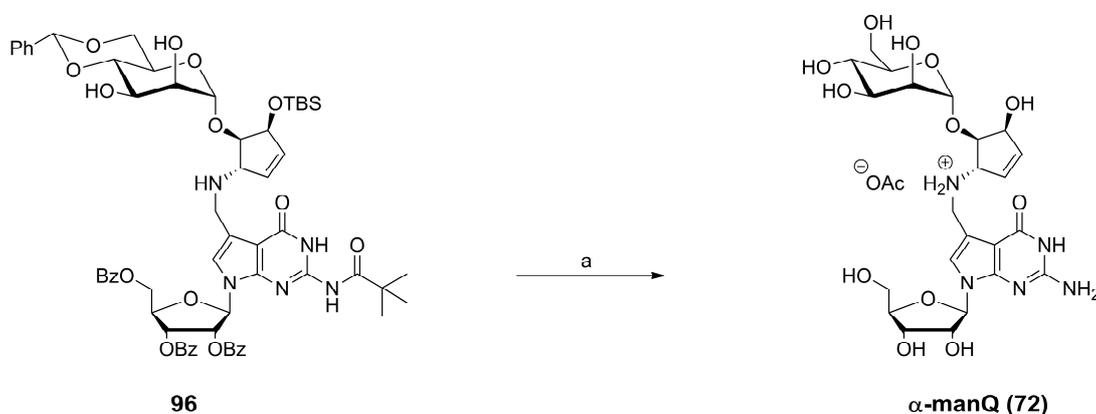


Abb. 30: Nebenprodukt der reduktiven Aminierung des Gemischs aus **94** und **95**.

Angesichts der im nachfolgenden Schritt nach kurzer Aufarbeitung und ohne weitere Aufreinigung durchgeführten Entfernung der TBS-Gruppe mittels $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{ HF}$ konnte deren geringfügige Abspaltung während der sauren Entschützung des 4,6-*O*-Diols des Zuckers vernachlässigt werden. Die abschließende, durch wässrige Natronlauge vermittelte Verseifung der Ester- bzw. Amidschutzgruppen in Methanol führte nach HPL chromatographischer Aufreinigung schließlich zum Acetatsalz des α -konfigurierten Mannosylqueuosins (α -manQ, **72**). Trotz mehrfacher Aufreinigung ist es nicht gelungen, das abgespaltene Benzoat vollständig zu entfernen. Somit wurde zusätzlich Benzoesäure erhalten (Abb. 32A). Angesichts des aus der LC-MS-Untersuchung erhaltenen Ergebnisses (siehe Abb. 31) wurde von einer Optimierung der gesamten Synthese abgesehen.



Schema 44: Synthese von α -Mannosylqueuosin (**72**): a) 1) TFA, CH_2Cl_2 , 0 °C, 30 min; 2) $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{ HF}$, CH_2Cl_2 , RT, 2 d; 3) NaOH (2M), MeOH, 2 d, 34% (nach HPLC-Aufreinigung).

3.3.2.5 Identifizierung von α -Mannosylqueuosin (**72**)

Zu Beginn des Kapitels 3.3 wurde aufgrund der aus der LC-MS-Untersuchung einer mit einem Verdau natürlicher tRNA versetzten Probe von synthetischem β -manQ (**31**) erhaltenen Ergebnisse die These aufgestellt, dass entgegen der postulierten Struktur von natürlichem manQ – β -Konfiguration der *O*-glykosidischen Bindung – eventuell die entsprechend α -konfigurierte Verbindung vorliegt. Zur Überprüfung wurden deshalb zur Untersuchung des synthetisierten α -Mannosylqueuosins (**72**) NMR-spektrometrische als auch LC-MS-basierende Analysemethoden herangezogen, welche bereits zur Untersuchung von galQ (**1**) und β -manQ (**31**) Verwendung fanden.

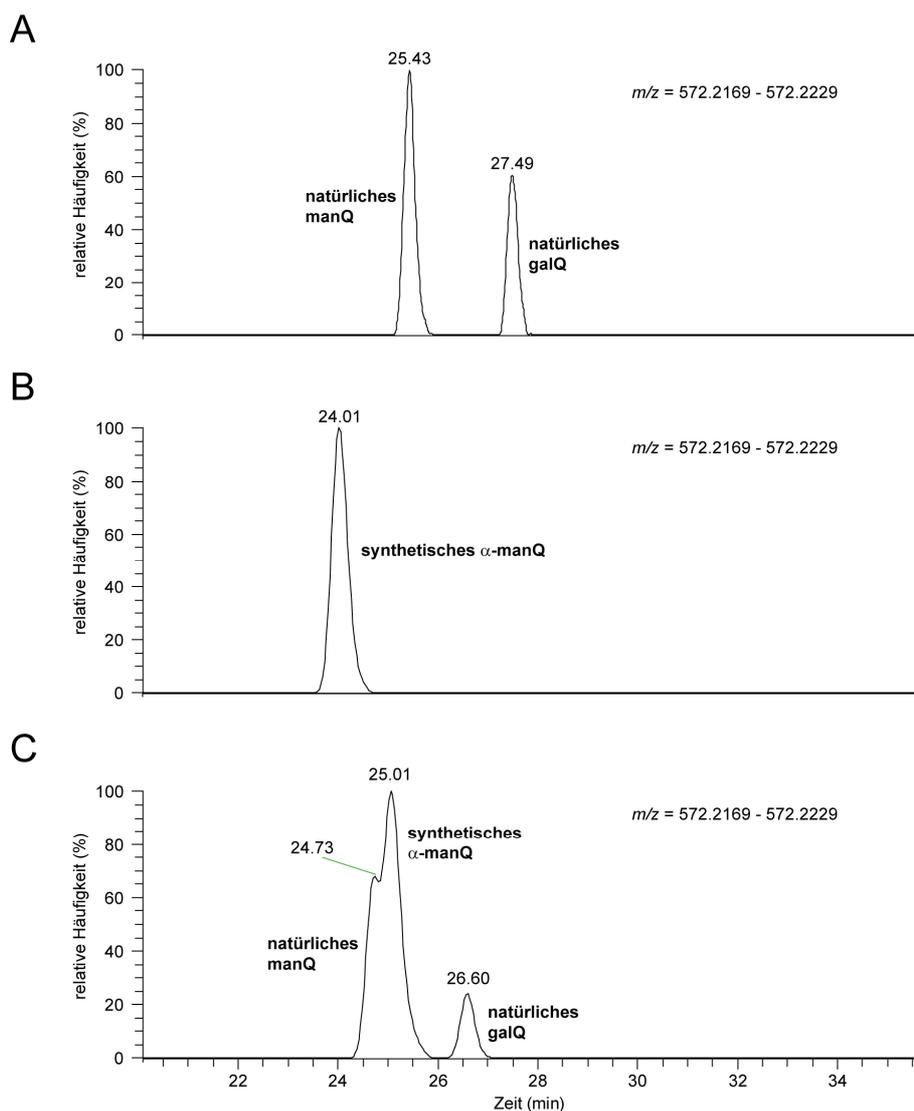


Abb. 31: LC-MS-analytische Untersuchung eines Verdaus natürlicher tRNA. A: Massespur der zwei glykosylierten natürlichen Queuosinderivate. B: Massespur des synthetischen α -Mannosylqueuosins (**72**). C: Massespur des Verdaus natürlicher tRNA, der mit synthetischem α -Mannosylqueuosin versetzt wurde.

Hierbei stellte sich heraus, dass die Konfigurationsumkehr der *O*-glykosidischen Bindung zwischen Mannose und der Cyclopenteneinheit im Vergleich zu β -manQ (**31**) zwar eine deutliche Erhöhung der Polarität des Nukleosids herbeiführte, wie die verringerte Retentionszeit (25.06 min) bewies, jedoch erneut keine vollständige Überlagerung mit dem Massesignal des natürlichen Nukleosids (24.73 min) zu beobachten war (Abb. 31).

Tabelle 4: Übersicht über die chemische Verschiebung der Protonen von natürlichem manQ im Vergleich zu den synthetisierten Queuosinderivaten. Die chemische Verschiebung ist in ppm angegeben. ^{a)} ¹H-NMR in D₂O. ^{b)} ¹H-NMR in CD₃OD. ^{c)} Die Autoren^[59] machen keine Angaben über die chemische Verschiebung der Ribose- bzw. Mannoseprotonen. ^{d)} Verbrückendes Stickstoffatom unprotoniert (NHCH₂). ^{e)} Verbrückendes Stickstoffatom protoniert (NH₂CH₂⁺).

| <i>Proton</i> | <i>natürliches manQ^{a)}</i> | <i>β-manQ^{b)}</i> | <i>α-manQ^{b)}</i> |
|------------------|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| H8 | 6.98 | 7.04 | 7.04 |
| H1' | 5.89 | 5.93 | 5.93 |
| H2' | k.A. ^{c)} | 4.43 | 4.43 |
| H3' | k.A. ^{c)} | 4.23 | 4.23 |
| H4' | k.A. ^{c)} | 4.02 | 4.02 |
| H5' | k.A. ^{c)} | 3.81; 3.72 | 3.80; 3.76 – 3.70 |
| H1'' | 6.03 | 6.11 | 6.11 |
| H2'' | 6.09 | 6.07 | 6.05 |
| H3'' | 3.6 – 3.9 ^{d)} | 4.19 – 4.12 ^{e)} | 4.19 – 4.13 ^{e)} |
| H4'' | 4.09 | 4.19 – 4.12 | 4.26 |
| H5'' | 4.62 | 4.68 | 4.77 – 4.75 |
| H1''' | 4.91 | 4.72 | 5.04 |
| H2''' | k.A. ^{c)} | 3.98 | 3.93 |
| H3''' | k.A. ^{c)} | 3.49 | 3.78 |
| H4''' | k.A. ^{c)} | 3.62 | 3.62 |
| H5''' | k.A. ^{c)} | 3.28 | 3.76 – 3.70 |
| H6''' | k.A. ^{c)} | 3.87; 3.75 | 3.92 – 3.90; 3.76 – 3.70 |
| NCH ₂ | 3.6 – 3.9 ^{d)} | 4.19 – 4.12 ^{e)} | 4.19 – 4.13 ^{e)} |

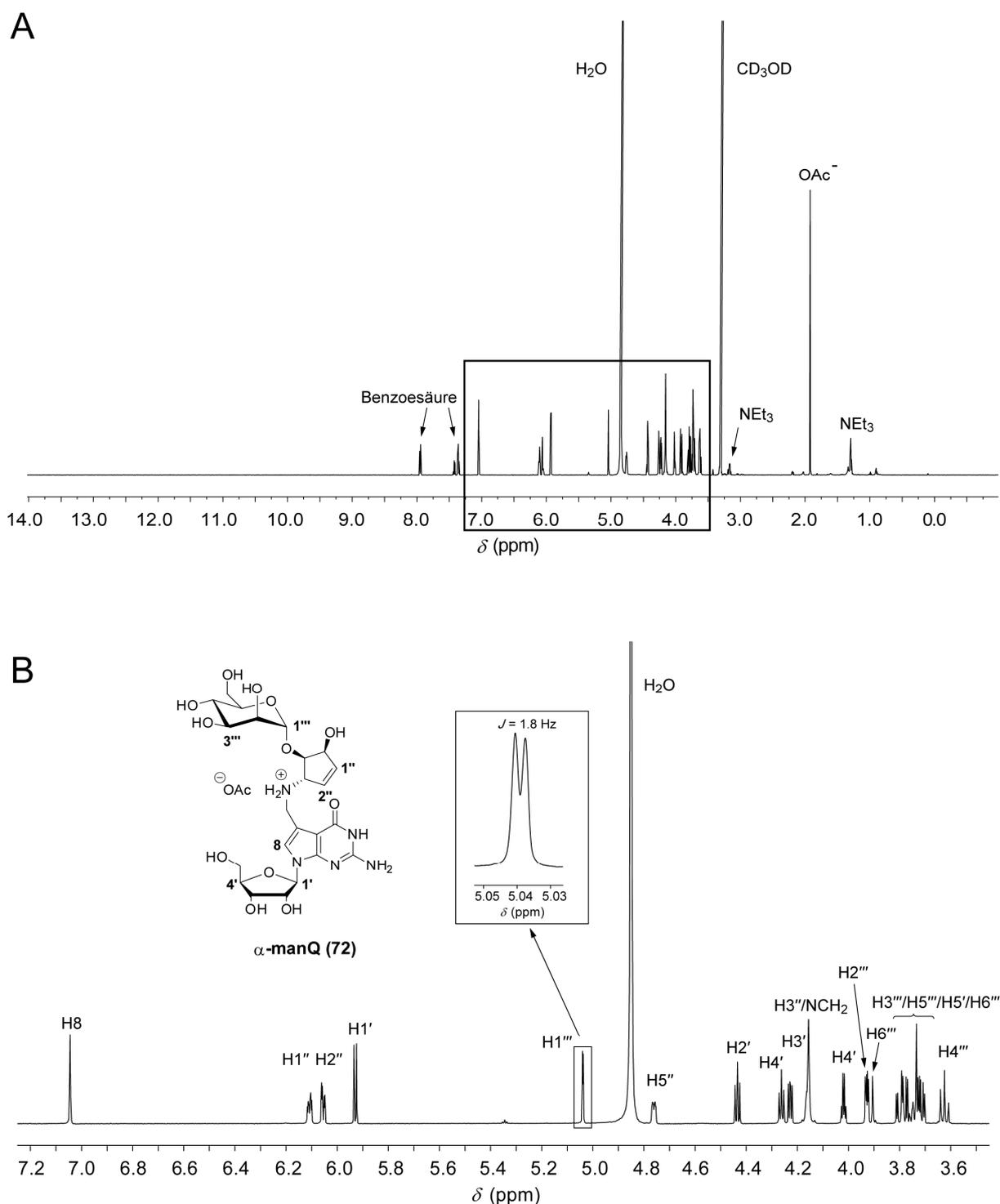


Abb. 32: A: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von α -Mannosylqueosin (**72**) in CD_3OD . (NEt_3 : Triethylamin). B: vergrößerte Darstellung des markierten Bereichs des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von α -Mannosylqueosin (**72**) unter Berücksichtigung aller Protonen des Nucleosids.

Dieses Ergebnis wurde schließlich durch die $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchung bestätigt, die sowohl eine deutliche Tieffeldverschiebung des ^1H -Signals des anomeren Protons der Mannoseeinheit (α -manQ: $\delta = 5.04$ ppm; β -manQ: $\delta = 4.72$ ppm) (Abb. 32 und Abb. 23) als auch eine signifikante Erhöhung der Kopplungskonstante zwischen anomerem

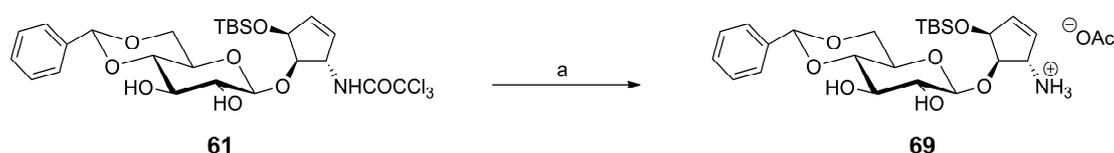
Proton und des Protons an Position C-2 (α -manQ: $J_{H1,H2} = 1.8$ Hz; β -manQ: $J_{H1,H2} = 0.7$ Hz; Lit.^[59] $J_{H1,H2} < 1$ Hz) offenbarte. Tabelle 4 bietet eine Übersicht über die NMR-spektroskopischen Daten der natürlichen sowie synthetischen glykosylierten Queuosinderivate.

Angesichts dieser Ergebnisse konnte die vermutete α -Konfiguration der *O*-glykosidischen Bindung in natürlichem manQ nicht bestätigt werden.

3.4 Synthese von Glukosylqueuosin (98)

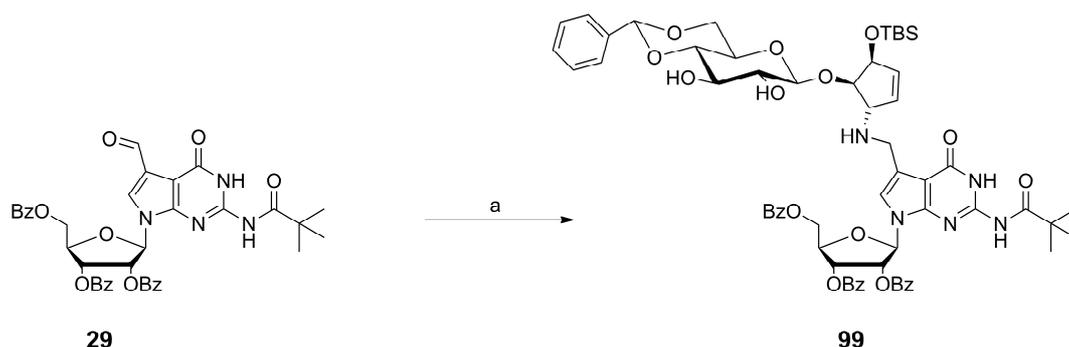
Bisher konnte noch kein Glukosederivat von Queuosin in Organismen nachgewiesen werden.^[58-59] Dennoch birgt die Synthese von nichtnatürlichem Glukosylqueuosin (**98**) einen wissenschaftlich interessanten Ansatz, der zu einem näheren Verständnis der Funktion der zusätzlichen Zuckermodifizierung des Queuosins im Zusammenhang mit der Proteinbiosynthese führen kann. Zur Erforschung der Einflussnahme wäre es daher interessant, inwiefern sich der Austausch von Galaktose bzw. Mannose gegen Glukose auf die Translation, insbesondere die Kodonerkenkung auswirkt. Anhand solcher Ergebnisse könnte somit ein Rückschluss auf die Funktion der beiden Zucker Galaktose und Mannose gezogen werden. Deshalb muss zunächst eine Synthesestrategie entwickelt werden, die das Glukosederivat von Queuosin zugänglich macht.

Zur erstmaligen Synthese des nichtnatürlichen Glukosylqueuosins (**98**) in dieser Dissertation wurde das als Nebenprodukt bei der Synthese von **60** anfallende Glukosid **61** verwendet, wobei der gezielte Zugang über die Strategie, nach der Galaktosylqueuosin (**1**) erhalten wurde, totalsynthetisch am geeignetsten ist.



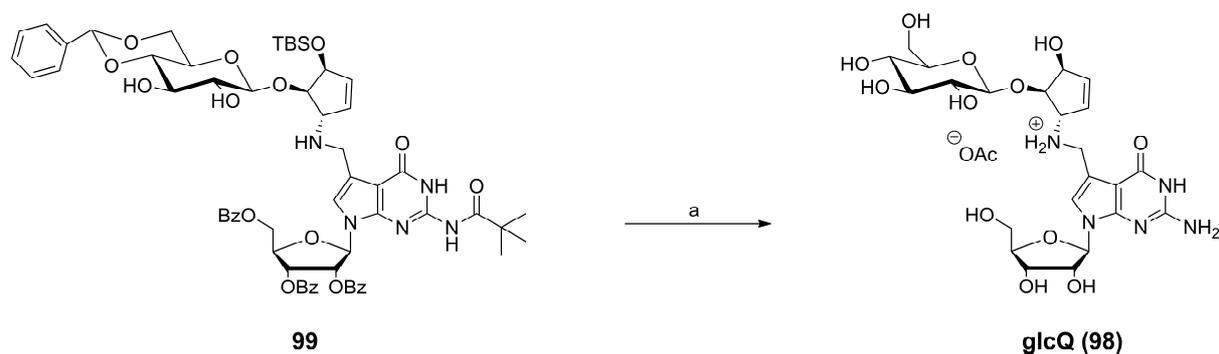
Schema 45: Darstellung des Acetatsalzes des Amins **69**: a) NaOH (2M), MeOH, RT, 18 h, 81%.

Ausgehend von der benzylidengeschützten Verbindung **61** wurde nach basischer Abspaltung der Trichloracetamidgruppe das Amin **69** nach Neutralisation und Aufreinigung als Acetatsalz erhalten (Schema 45). Vermutlich begünstigt durch leicht saure Eigenschaften von **69** wurde das geschützte Glukosylqueuosin **99** nach Umsetzung mit dem Aldehyd **29** und anschließender reduktiver Aminierung in einer sehr guten Ausbeute von 91% erhalten (Schema 46).



Schema 46: Reduktive Aminierung von **29** zu **99**: a) 1) **69**, MeOH, RT, 5 h; 2) NaBH₄, MeOH, 0 °C, 1 h, 91%.

Die abschließenden Schritte der Synthese von Glukosylqueosin (**98**) wurden entsprechend der Darstellung von α - und β -Mannosylqueosin durchgeführt. Die Abspaltung der Benzylidengruppe erfolgte demnach mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan bei 0 °C,^[199] woraufhin die TBS-Gruppe mit Et₃N·3 HF entfernt wurden. Die basische Hydrolyse der Pivaloylgruppe und der Benzoylgruppen führte nach HPL chromatographischer Aufreinigung zum Acetatsalz des nichtnatürlichen Nukleosids Glukosylqueosin (**98**) (Schema 47).



Schema 47: Synthese des Acetatsalzes von Glukosylqueosin (**85**): a) 1) TFA, CH₂Cl₂, 0 °C, 30 min; 2) Et₃N·3 HF, CH₂Cl₂, RT, 2 d; 3) NaOH (2M), MeOH, 2 d, 59%.

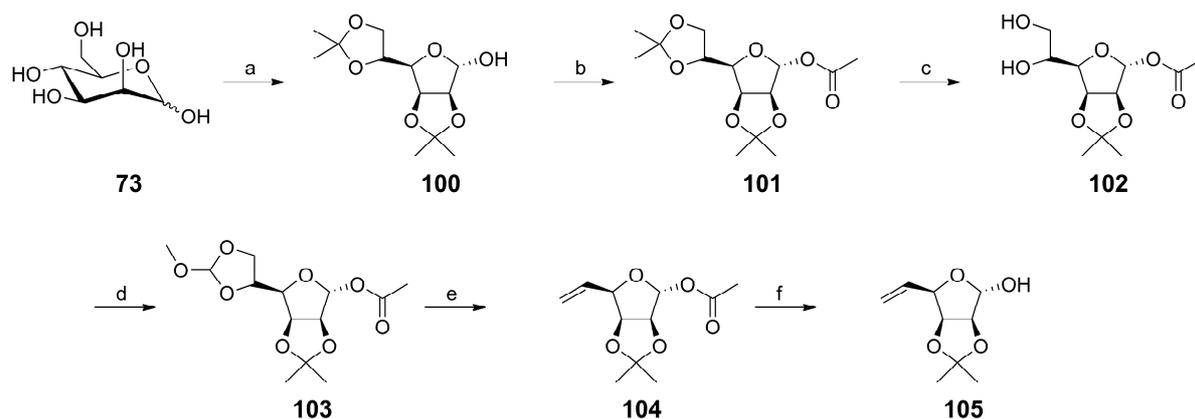
Die bei dieser Synthese erhaltene Verbindung **69** wurde als Referenzsubstanz für die NMR-spektroskopische Untersuchung der entsprechenden diastereomeren Mannosederivate **68** benutzt, wodurch die Inversion des C2-Kohlenstoffzentrums nach der von *Kunz* entwickelten Methode^[185, 193] eindeutig bewiesen werden konnte (Kapitel 3.2).

3.5 Synthese des Cyclopentenderivats **2**

Bislang sind verschiedene Synthesestrategien, basierend auf unterschiedlichen Startmaterialien, zur Darstellung von **19** oder **20** (Schema 14) veröffentlicht worden.^[157, 172, 205-209] Eine sehr kurze Variante wurde von *Klepper et al.* entwickelt, die, ausgehend von D-Ribose, das Cyclopenten **20** innerhalb von sechs Stufen liefert.^[208] Die Verwendung von explosiver Stickstoffwasserstoffsäure zur Einführung der Aminofunktion durch Überführung des intermediären Azids mittels einer Staudinger-Reaktion verhinderte jedoch die Anwendung dieser Synthesestrategie zur Darstellung größerer Mengen des Cyclopentens **19**. Es ist zwar vor kurzem gelungen, Diphenylphosphorylazid als Stickstoffquelle für diese Reaktion nutzbar zu machen,^[209] dennoch schien die längere Syntheseroute nach *Vonlanthen et al.*^[210] und *Ovaa et al.*^[157, 206] angesichts der im Rahmen dieser Arbeit benötigten Mengen der Zwischenstufe **19** effizienter. Ausgehend von D-Mannose konnte das gewünschte Zielmolekül **19** innerhalb von zehn Stufen erhalten werden (Schema 48 und 49). Basierend darauf wurden die beiden Glykosylakzeptoren **2** (Schema 49) und **24** (Kapitel 3.1.2.3.1) synthetisiert.

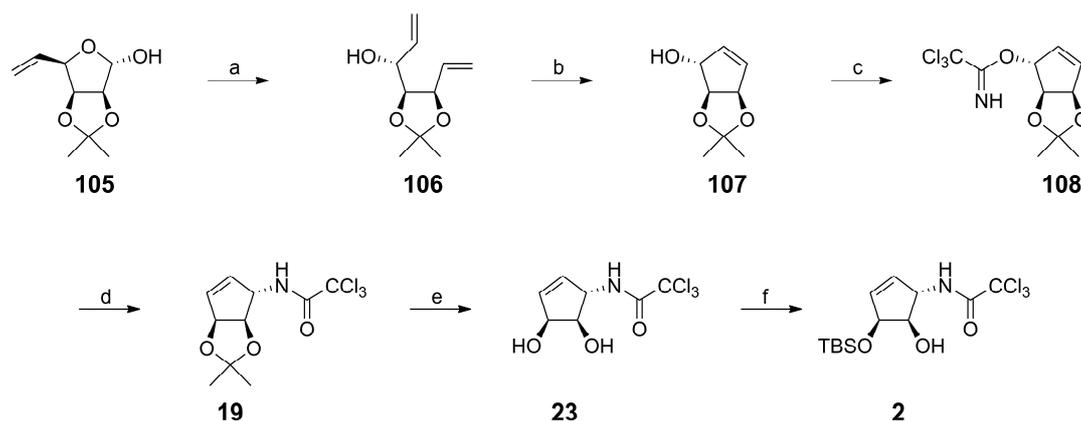
Ausgehend von D-Mannose **73** wurde diese säurekatalytisch mit 2,2-Dimethoxypropan in Aceton umgesetzt, um die doppelt acetonidgeschützte Mannofuranose **100** in quantitativer Ausbeute zu erhalten. Im nächsten Schritt erfolgte eine Acetylierung der anomeren Hydroxygruppe mit Essigsäureanhydrid in Pyridin zu **101**. Die regioselektive Abspaltung der 5,6-*O*-Isopropylidengruppe mittels Essigsäure zu Diol **102** sowie dessen anschließende säurekatalysierte Überführung zu Orthoesters **103** lieferte nach Decarboxylierung den Alkenzucker **104**. Die basenkatalysierte Abspaltung der Acetylschutzgruppe am anomeren Zentrum führte nach destillativer Aufreinigung zu Zwischenstufe **105** in einer sehr guten Ausbeute von 72% über sechs Stufen (Schema 48).^[210]

Der nächste Schritt auf dem Weg zur Darstellung der Zwischenstufe **19** bestand in der Einführung einer weiteren Alkenfunktion, die durch Überführung des Halbacetals **105** zum Dien **106** mittels einer salzfreien Wittig-Reaktion in 71% Ausbeute erzielt werden konnte. Der anschließende Aufbau der Cyclopentenstruktur von **107** wurde durch eine Ringschlussmetathese, die unter Verwendung des Grubbs-Katalysators der ersten Generation durchgeführt wurde, realisiert. Nach einer Additionsreaktion von Trichloracetonitril an den allylischen Alkohol **107** zu Trichloracetimidat **108** und dessen anschließender Overman-Umlagerung wurde das trichloracetylgeschützte Cyclopenten **19** erhalten (Schema 49).^[206]



Schema 48: Synthese des Alkenzuckers **105**: a) $(\text{H}_3\text{C})_2\text{CH}(\text{OMe})_2$, Aceton, *p*-TsOH, RT, 1 h, quant.; b) Ac_2O , Pyridin, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 18 h; c) AcOH , H_2O , $55\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h; d) $\text{HC}(\text{OMe})_3$, $100\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min; e) Ac_2O , $130\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h; f) KO^tBu , MeOH, RT, 20 min, 72% (ausgehend von **73**).^[210]

Wie bereits eingangs erwähnt, sollte der Zuckerbaustein in die nichtallylische Position des Cyclopentens eingeführt werden, weshalb das Acetonid **19** in verdünnter Essigsäure entschützt wurde. Entgegen der ursprünglichen Vorschrift, die nach Entfernen des Lösemittels eine sofortige Umsetzung vorsah,^[157] wurde das entschützte Diol **23** zunächst durch Ausfällen aus methanolischer Lösung mit Diethylether isoliert und mittels dieser Methode in hoher Reinheit erhalten. Die abschließende regioselective Schützung des allylischen Alkohols zu Cyclopenten **2** gelang schließlich durch Umsetzung des Diols **23** mit TBSCl in Pyridin, wofür die höhere Nucleophilie dieser Hydroxygruppe ausgenutzt wurde (Schema 49).

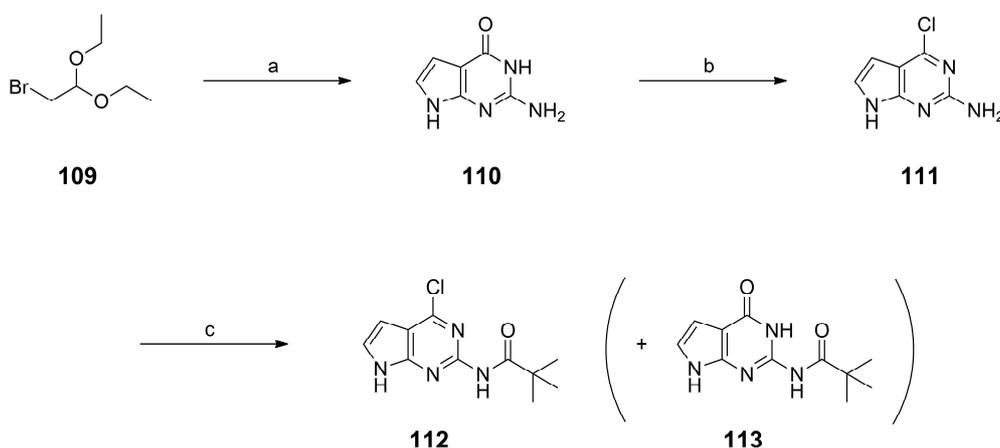


Schema 49: Darstellung des Glykosylakzeptor **2**: a) Ph_3PMeBr , NaH, DMSO, THF, $68\text{ }^\circ\text{C}$, 6 h, 71%; b) Grubbs-Katalysator (1. Generation), CH_2Cl_2 , RT, 26 h, 79%; c) Cl_3CCN , DBU, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 20 min, 92%; d) *o*-Xylol, $150\text{ }^\circ\text{C}$, 5 h, 63%; e) AcOH , H_2O , $35\text{ }^\circ\text{C}$, 18 h, 94%; f) TBSCl, Pyridin, $35\text{ }^\circ\text{C}$, 18 h, 55%.^[157, 206, 210]

3.6 Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin 29

Zur Synthese der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten zuckermodifizierten Queuosinderivate auf Basis der reduktiven Aminierung wurde der dafür nötige zentrale Baustein 7-Formyl-7-desazaguanosin **29** über eine sieben Stufen umfassende Synthese dargestellt.^[208, 211]

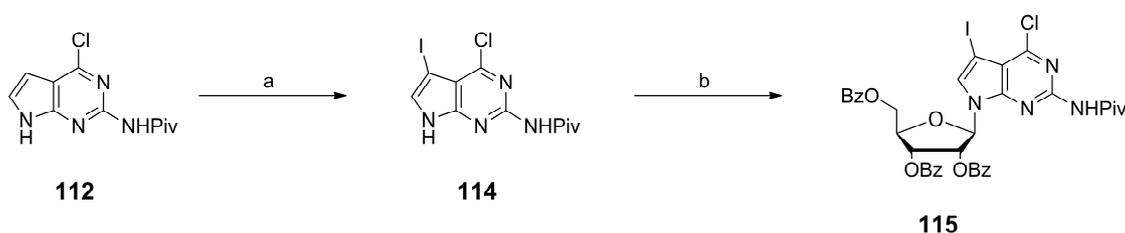
Bromacetaldehyddiethylacetal **109**, welches zunächst unter sauren Bedingungen „entschützt“ wurde, wurde mit 2,6-Diamino-4-pyrimidinon in sehr guten Ausbeuten zu Desazaguanin **110** kondensiert. Die nachfolgende desoxygenierende Chlorierung der Position 6 mit Phosphorylchlorid unter Aromatisierung des sechsgliedrigen Rings lieferte Verbindung **111**.^[208] Das nach destillativer Abtrennung zurückerhaltene Phosphorylchlorid konnte problemlos in einer weiteren Umsetzung ohne nennenswerte Ausbeuteverluste eingesetzt werden. Im Gegensatz zu der bislang reibungslos verlaufenden Synthese bereitete die Einführung der Pivaloylgruppe in die exozyklische Aminogruppe von **111** Schwierigkeiten. Obgleich bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle vollständiger Umsatz zu beobachten war, konnten trotz geringer Spuren an Nebenprodukten lediglich 35% des gewünschten Produkts **112** isoliert werden (Schema 50). Eine genauere Analyse der Nebenprodukte ergab, dass offensichtlich Dechlorierung zu Verbindung **113** stattfand.



Schema 50: Synthese des Desazaguanins **112**: a) $\text{HCl}_{(\text{konz.})}$, H_2O , $90\text{ }^\circ\text{C}$, 40 min; 2,6-Diamino-4-pyrimidinon, NaOAc , H_2O , $80\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 89%; b) POCl_3 , $115\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 74%; c) $(\text{H}_3\text{C})_3\text{COCl}$, Pyridin, RT, 2 h, 35%.^[208]

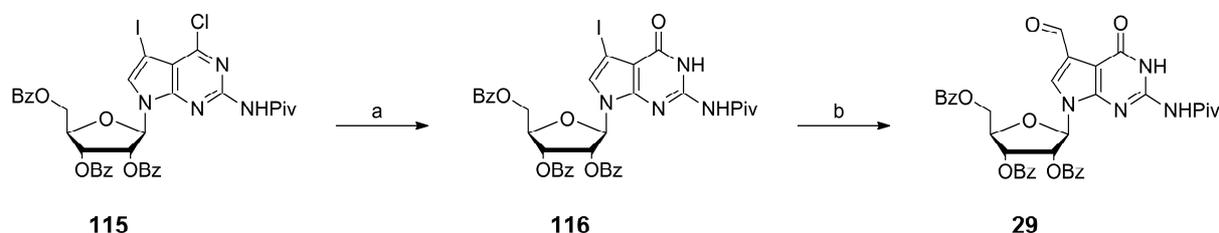
Die anschließende regioselektive Iodierung zu **114** an Position 7 mit *N*-Iodsuccinimid hingegen verlief wiederum in sehr guter Ausbeute von 90%. Obwohl die unter Anwendung der Vorbrüggen-Bedingungen durchgeführte Glykosylierung des zuvor erhaltenen 7-Iod-desazaguanins **114** mit 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose problemlos zum

β -konfigurierten Nukleosid **115** führte (Schema 51),^[211] gestaltete sich die säulenchromatographische Isolierung des gewünschten Nukleosids angesichts einer parallel ablaufenden Zersetzungsreaktion des Ribosedonors unerwartet schwierig. Wie aus dem Dünnschichtchromatogramm des Reaktionsgemischs hervorging, besaßen das Produkt **115** sowie die Nebenprodukte eine nahezu identische Polarität. Die Trennung des Reaktionsgemischs gelang schließlich, indem zunächst die Nebenprodukte mit Dichlormethan eluiert wurden, woraufhin sich das gewünschte Produkt **115** mit einem Gemisch aus Isohexan und Ethylacetat isolieren ließ.



Schema 51: Darstellung des 7-Iod-7-desazaguanosins **115**: a) NIS, THF, RT, 1 h, 90%; b) BSA, 1'-O-Acetyl-2',3',5'-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranose, TMSOTf, MeCN, 50 °C, 32 h, 46%.^[208, 211]

Nach der DABCO-vermittelten hydrolytischen Dechlorierung der Position 6 von **115** in Gegenwart von Triethylamin wurde abschließend die Carbonylfunktion in Position 7 eingeführt. In Anlehnung an eine carbonylierende Stille-Kupplung wurde Verbindung **116** unter einer Kohlestoffmonoxidatmosphäre mit CO in Gegenwart des Katalysators $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ umgesetzt (Schema 52). Die intermediäre metallierte Acylverbindung, welche durch Insertion von CO gebildet wurde, führte nach Umsetzung mit Tributylzinnhydrid zum gewünschten formylierten Nukleosid **29**.^[208] Hierbei sei erwähnenswert, dass trotz der Durchführung der Reaktion unter Normaldruck eine gute Ausbeute von 80% erzielt wurde.



Schema 52: Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin **29**: a) CsOAc , DABCO, NEt_3 , DMF, RT, 48 h; H_2O , RT, 30 min, 70%; b) PPh_3 , $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$, CO, PhMe, 55 °C, 4 h, 80%.^[208]

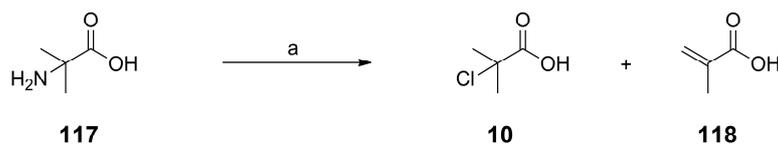
3.7 Synthese von α -Chlorisobuttersäure (**10**)

Der α -Chlorisobuttersäurerest war für die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Glykosylierungsreaktion von zentraler Bedeutung. Angesichts des sterisch anspruchsvollen Charakters dieser Gruppe sollte einerseits eine β -selektive Einführung eines Zuckerbausteins in ein Akzeptormolekül gewährleistet werden, andererseits sollte jedoch der bei ähnlich sterischen Carbonsäureresten problematischen Abspaltung durch den zusätzlichen $-I$ -Effekt des Chloratoms Rechnung getragen werden.^[162]

Die Einführung der α -Chlorisobutyrylgruppe in die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Zuckerbausteine sollte zunächst analog zu *Szpilman et al.* über das entsprechende Säurechlorid von **10** erfolgen.^[162] Hierzu wurde Isobuttersäurechlorid in Gegenwart katalytischer Mengen konzentrierter Salzsäure mit *N*-Chlorsuccinimid (NCS) in Thionylchlorid bei 85 °C umgesetzt.^[212] Zwar konnte nach eineinhalb Stunden vollständiger Umsatz beobachtet werden, jedoch gestaltete sich die Abtrennung des Säurechlorids von Thionylchlorid unerwartet schwierig. Trotz mehrfacher Destillation konnte das gewünschte Produkt niemals vollständig von Thionylchlorid abgetrennt und isoliert werden. Deshalb wurde getestet, ob sich durch Verwendung alternativer Lösemittel die Aufreinigung erleichtern ließe. Das erfolgte mit dem Ergebnis, dass ausschließlich die Umsetzung in Thionylchlorid das gewünschte Produkt liefert.

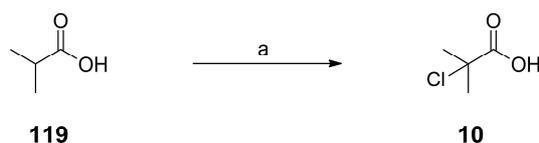
Angesichts dieser lösemittelabhängigen Reaktivität wurde beschlossen, den α -Chlorisobuttersäurerest abweichend von der Literaturvorschrift^[162] über die entsprechende freie Säure **10** einzuführen. Zur Darstellung von **10** standen zwar mehrere Wege zur Verfügung. Um die Synthese möglichst effizient zu gestalten, konnten nur Strategien zum Einsatz kommen, die das Chloratom selektiv in die α -Position der Säure einführen würden.

Die ursprünglich angedachte Syntheseroute (Schema 53) über die Substitution der α -ständigen Aminogruppe von 2-Aminoisobuttersäure (**117**) mittels Diazotierung in halbkonzentrierter Salzsäure (6M) lieferte nach destillativer Aufreinigung ein Gemisch aus 2-Chlorisobuttersäure **10** und 2-Methacrylsäure **118** (ca. 1:1).^[213] Es gelang zwar nach mehrmaliger fraktionierter Destillation das Nebenprodukt fast vollständig abzutrennen, doch angesichts der erzielten Ausbeute (5%) wurde diese Syntheseroute verworfen.



Schema 53: Synthese von α -Chlorisobuttersäure (**10**) mittels Substitution einer Aminogruppe: a) HCl (6M), NaNO₂, H₂O, -20 °C → RT, 16 h, 5%.

Die freie α -Chlorisobuttersäure (**10**) konnte schließlich durch eine regioselektive Einführung des Chloratoms über eine säurekatalysierte elektrophile Substitution des α -Protons der Isobuttersäure (**119**) in Gegenwart von NCS selektiv in reiner Form erhalten (Schema 54). Entsprechend einer Vorschrift zur selektiven Darstellung α -bromierter Carbonsäuren wurde zunächst eine Lösung von Isobuttersäure (**119**), NCS und einer katalytischen Menge konzentrierter Schwefelsäure in Trifluoressigsäure über Nacht auf 85 °C erhitzt,^[214] wobei sich überraschenderweise herausstellte, dass unter diesen Bedingungen kaum Umsatz stattfand.



Schema 54: Synthese von α -Chlorisobuttersäure **10**: a) NCS, H₂SO_{4,(konz.)}, TFA, 100 °C, 5 d, 42%.

Selbst nach anschließendem Erhitzen der Reaktionsmischung für vier Tage auf 100 °C waren einer ¹H-NMR-spektroskopischen Kontrolle der Reaktion zufolge noch etwa 20% des Edukts Isobuttersäure (**119**) vorhanden. Es konnte jedoch keine Bildung von unerwünschten Nebenprodukten beobachtet werden. Auffallend war dennoch, dass, obgleich NCS im Überschuss eingesetzt wurde, ausschließlich Signale des Folgeprodukts Succinimid im Spektrum zu beobachten waren, was auf eine säurebedingte Zersetzung von NCS schließen ließ. Mit Zugabe von NCS und weiteren zwei Tagen bei 100 °C konnte die Reaktion schließlich vervollständigt werden. Mit Hilfe dieses Ergebnisses wurde schließlich ein Protokoll entwickelt, das innerhalb von fünf Tagen zwar zum gewünschten Produkt führte, jedoch angesichts der aufwändigen Aufreinigung, vor allem durch zweifache Destillation zur Entfernung des Lösemittels sowie NCS und Succinimid, lediglich eine moderate Ausbeute von 42% lieferte.

3.8 Methylierte Guanosinderivate

Methylderivate der kanonischen Base Guanosin sind in verschiedenen Arten der RNA aller Domänen des Lebens zu finden, wobei insbesondere die tRNA mit neun unterschiedlichen methylierten Modifizierungen die größte Anzahl der bislang elf bekannten Methylderivate beherbergt.^[4]

Im Rahmen dieser Dissertation wurden sieben methylierte Guanosinderivate (Abb. 33) synthetisiert. Die Darstellung dieser Nucleoside war Teil eines Projekts im Arbeitskreis *Carell* zur quantitativen Ermittlung des Modifikationsgrades extrahierter Gesamt-tRNA unterschiedlicher Lebensformen bzw. unterschiedlicher Gewebearten eines Organismus basierend auf einer HPLC-MS Analysemethode.^[215-220] Grundlage für diese Quantifizierungsmethode sind schweratommarkierte Derivate der natürlich vorkommenden Nucleoside,^[215] weshalb zusätzlich die in Abb. 33 gezeigten isotonenmarkierten Methylmodifikationen von Guanosin synthetisiert wurden.

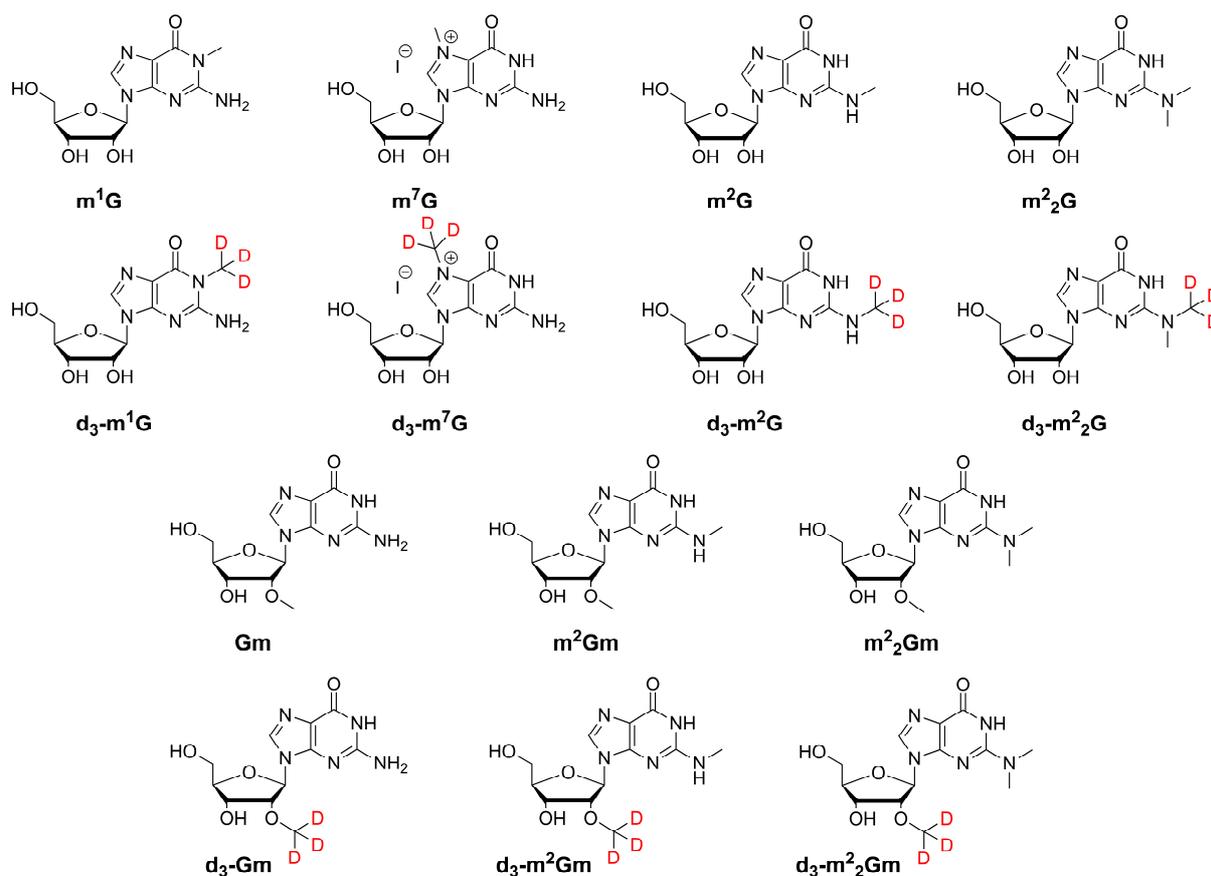


Abb. 33: Synthetisierte Methylguanosine und deren schweratommarkierte Derivate. Die Schweratommarkierung ist rot hervorgehoben.

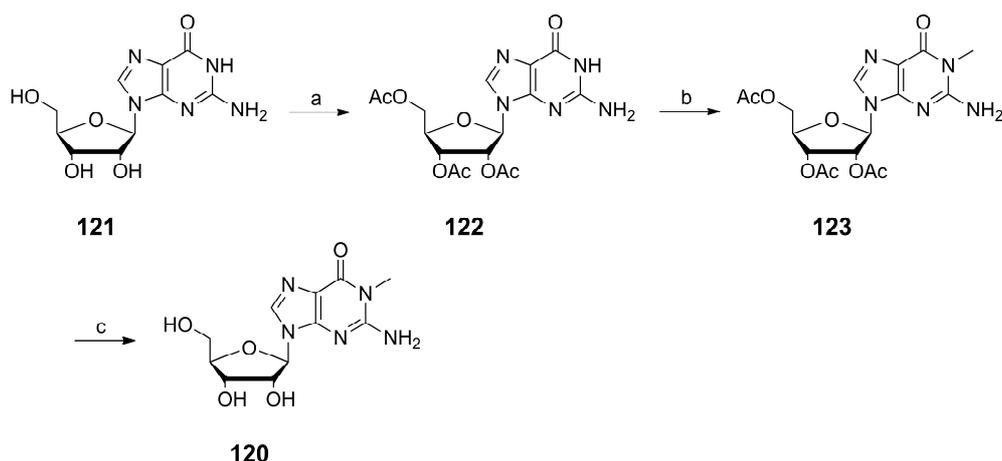
3.8.1 Synthese von 1-*N*-Methylguanosen (m^1G) und d_3 -1-*N*-Methylguanosen (d_3 - m^1G)

3.8.1.1 Synthese von 1-*N*-Methylguanosen (m^1G) (**120**)

Die regioselektive Alkylierung des endozyklischen Stickstoffs in der sechsgliedrigen Untereinheit von Guanosen wurde zunächst in Anlehnung an vorangegangene Arbeiten zur Darstellung von 1-*N*-Methylguanosen (m^1G , **120**) am ungeschützten Nucleosid untersucht. Hierfür wurde entsprechend einer Vorschrift nach *Höbartner et al.* das ungeschützte Guanosen in DMSO suspendiert und jeweils mit einer stöchiometrischen Menge Natriumhydrid und Methyljodid versetzt.^[221] Die massenspektrometrische Untersuchung des nach Aufarbeitung und Umkristallisation erhaltenen Feststoffes zeigte jedoch, dass das gewünschte Produkt nur in sehr geringem Umfang entstanden war. Vielmehr konnte ein doppelt alkyliertes Nucleosid als Hauptprodukt dieser Umsetzung identifiziert werden.

Um eine Überreaktion der Hydroxygruppen der Riboseeinheit ausschließen zu können, wurde Guanosen (**121**) in Anlehnung an eine Vorschrift in Gegenwart von Essigsäureanhydrid, Triethylamin und DMAP zu 2',3',5'-Tri-*O*-acetylguanosen (**122**) umgesetzt (Schema 55).^[222] Interessanterweise zeigte die massenspektrometrische Untersuchung nach Durchführung der Methylierung des geschützten Guanosins **122** in DMF erneut eine Doppelalkylierung, was darauf schließen ließ, dass trotz Schützung der Hydroxygruppen, eine weitere Position am geschützten Guanosen **122** für die Alkylierung zur Verfügung steht. Mit einer massenspektrometrischen sowie NMR-spektroskopischen Untersuchung der Produkte, die durch Umsetzung von geschütztem Guanosen **122** mit überschüssigem Methyljodid erhalten wurden, konnte bewiesen werden, dass die exozyklische Aminofunktion des Guanosins unter den gegebenen Bedingungen ebenfalls methyliert wird. Dabei wurde sowohl eine Mono- als auch Dialkylierung des Stickstoffs gefunden.

Ursache für die Mehrfachalkylierung war, wie später herausgefunden werden konnte, weniger die eingesetzte Menge an Methyljodid als vielmehr die Aufarbeitungsmethode. Wurde das Lösemittel ohne vorherige Aufarbeitung entfernt, konnte eine wesentlich höhere Menge an mehrfach methyliertem Produkt beobachtet werden. Im Vergleich dazu war mehrfach alkyliertes Produkt nur in Spuren vorhanden, wenn die Reaktion vor Entfernen des Lösemittels mit gesättigter wässriger Ammoniumchloridlösung abgebrochen wurde (Schema 55).

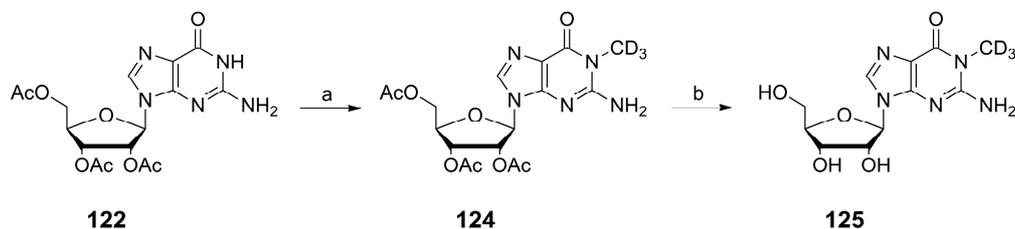


Schema 55: Synthese von 1-*N*-Methylguanosin (m^1G , **120**): a) Ac_2O , DMAP, Et_3N , MeCN, RT, 2 h, 95%; b) MeI, NaH, DMF, RT, 3 h; c) NaOMe, MeOH, RT, 18 h, 34% (nach HPLC-Aufreinigung, ausgehend von **122**).

Die abschließende basenkatalysierten Abspaltung der Acetylschutzgruppen von **123** führte schließlich nach HPL chromatographischer Aufreinigung zum natürlichen Nukleosid m^1G (**120**).

3.8.1.2 Synthese von d_3 -1-*N*-Methylguanosin (d_3 - m^1G) (**125**)

Mit diesem Wissen konnte nun die Schweratommarkierung von Guanosin durchgeführt werden. Geschütztes Guanosin **122** wurde hierfür mit d_3 -Methyliodid in Gegenwart von Natriumhydrid zu **124** umgesetzt. Die nach Entfernung der Acetylschutzgruppen durchgeführte HPL chromatographische Aufreinigung lieferte schließlich isotopenmarkiertes d_3 - m^1G (**125**) (Schema 56).



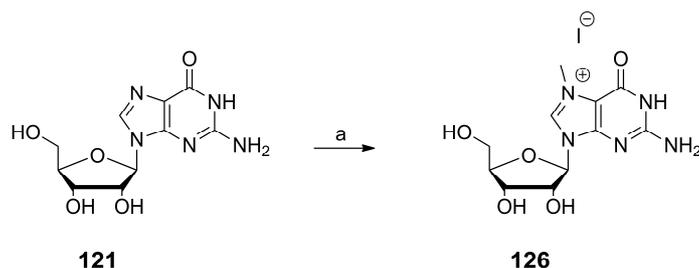
Schema 56: Synthese von d_3 -1-*N*-Methylguanosin (d_3 - m^1G , **125**): a) d_3 -MeI, NaH, DMF, RT, 3 h; b) NaOMe, MeOH, RT, 18 h; 27% (ausgehend von **122**).

3.8.2 Synthese von 7-*N*-Methylguanodin (m^7G) und d_3 -7-*N*-Methylguanodin (d_3 - m^7G)

7-*N*-Methylguanodin (m^7G , **126**) wurde erstmals Mitte der vierziger Jahre von *Bredereck* beschrieben, jedoch in der Annahme, dass es sich bei dem durch Umsetzung von 2',3',5'-Tri-*O*-acetylguanodin mit Diazomethan erhaltenen Produkt um 1-*N*-Methylguanodin (m^1G , **120**) handele.^[223] In einer weiteren Arbeit berichteten *Bredereck et al.* später, dass sich durch Umsetzung von Guanodin mit Dimethylsulfat das identische Produkt bildet.^[224] Erst fünfzehn Jahre später konnten *Haines et al.* eindeutig die betainoide Struktur von m^7G beweisen.^[225]

3.8.2.1 Synthese von 7-*N*-Methylguanodin (m^7G) (**126**)

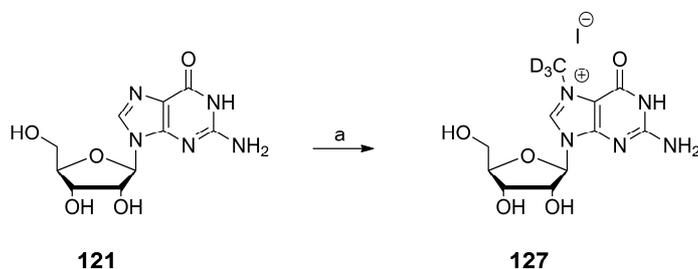
In Anlehnung an die Arbeiten von *Bredereck* und *Jones et al.* wurde ungeschütztes Guanodin mit Methyljodid umgesetzt.^[224, 226] Entscheidend für eine erfolgreiche Umsetzung war hierbei allerdings die Wahl des Lösemittels. In DMF konnte selbst nach drei Tage keine Umsetzung beobachtet werden, wohingegen die Reaktion in DMA nach drei Tagen Reaktionszeit problemlos zum gewünschten Produkt **126** führte (Schema 57). Nach Entfernen des im Überschuss eingesetzten Methyljodids über Nacht im Stickstoffstrom konnte das Hydroiodid nach Ausfällen mit Diethylether in einer guten Ausbeute von 82% erhalten werden. Demgegenüber führte eine HPL chromatographische Aufreinigung zur Zersetzung des Nucleosids.



Schema 57: Darstellung von 7-*N*-Methylguanodin (m^7G , **126**): a) MeI, DMA, RT, 3 d, 82%.

3.8.2.2 Synthese von d_3 -7-*N*-Methylguanodin (d_3 -m⁷G) (**127**)

Die Darstellung von d_3 -7-*N*-Methylguanodin (d_3 -m⁷G, **127**) wurde analog der Synthese von m⁷G (**126**) durchgeführt, wobei mit d_3 -Methyliodid als Alkylierungsmittel eine ähnlich gute Ausbeute (85% erzielt werden konnte (Schema 58).



Schema 58: Synthese von d_3 -7-*N*-Methylguanodin (d_3 -m⁷G, **127**): a) d_3 -MeI, DMA, RT, 3 d, 85%.

3.8.3 Synthese der aminomethylierten Guanosinderivate 2-*N*-Methylguanodin (m²G) und 2-*N,N*-Dimethylguanodin (m²₂G) und deren schweratom-markierte Derivate d_3 -m²G und d_3 -m²₂G

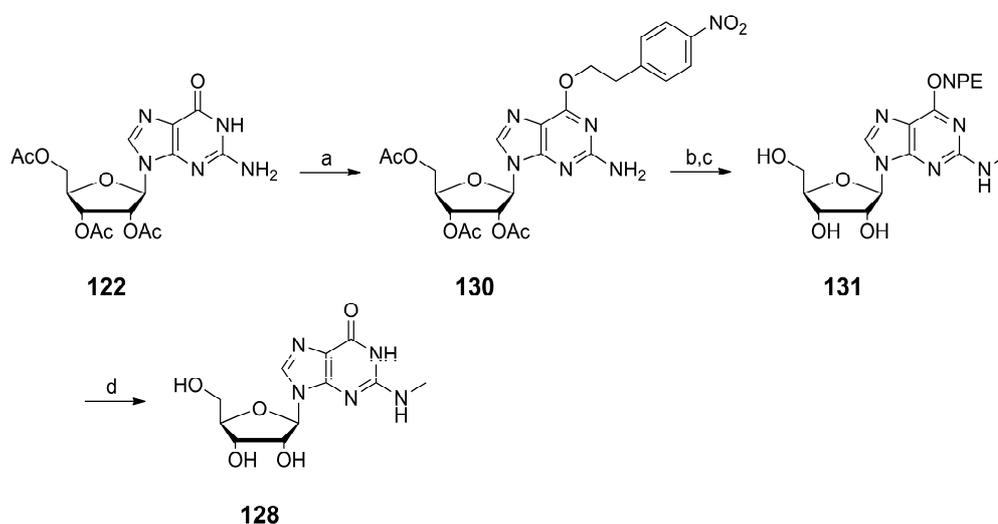
Bereits Anfang der dreißiger Jahre berichteten *Levene* und *Tipson*, dass das tetramethylierte Derivat 2-*N*-2',3',5'-*O*-Tetramethylguanodin durch Umsetzung von geschütztem Guanodin **122** mit Dimethylsulfat unter stark basischen Bedingungen erhalten werden kann.^[227] Spätere Untersuchungen dieses Ergebnisses durch *Townsend et al.* zeigten jedoch, dass unter den von *Levene* und *Tipson* gewählten Bedingungen weniger eine Methylierung der exozyklischen Aminofunktion als vielmehr eine Methylierung an Position 7 stattgefunden haben müsse.^[228] Als Folge davon tritt unter basischen Bedingungen eine Öffnung der Imidazoluntereinheit des Guanodins auf.^[225-226, 228] Eine direkte Methylierung der Aminofunktion ist folglich ausgeschlossen, obgleich sie, wie in Kapitel 3.5.1 bzw. 3.5.5 beschrieben, als Nebenreaktion stattfinden kann.

Die erste zielgerichtete Synthese beider an der exozyklischen Aminogruppe methylierten Derivate des Guanodins – 2-*N*-Methylguanodin (**128**) und 2-*N,N*-Dimethylguanodin (**129**) – gelang *Gerster et al.* durch Beschreiten eines Umwegs über ein 2-Fluorinosin.^[229] Die anschließende nukleophile Substitution des Fluoratoms durch Umsetzung mit Methylamin bzw. Dimethylamin führte schließlich zum gewünschten Nukleosid.^[229]

3.8.3.1 Synthese von 2-*N*-Methylguanodin (m^2G) (**128**)

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Synthese von 2-*N*-Methylguanodin (m^2G , **128**) und 2-*N,N*-Dimethylguanodin (m^2_2G , **129**) eine bereits bestehende Strategie verfolgt, die einen kürzeren, jedoch dem von *Gerster* in wesentlichen Schritten nachempfundenen Weg, beschreibt.^[221]

Hierfür wurde zunächst 2',3',5'-Tri-*O*-acetylguanodin **122** mit Hilfe einer der Mitsunobu-Inversion ähnlichen Reaktionsfolge durch Umsetzung mit 2-(4-Nitrophenyl)ethanol (NPE-OH) in Gegenwart von DIAD und Triphenylphosphin an Position *O*-6 geschützt (Schema 59).^[230] Entgegen aller Erwartung ließ sich das Produkt **130** trotz aufwändiger säulenchromatographischer Aufreinigung allerdings erst nach mehrmaligem Umfällen von Triphenylphosphin bzw. dessen Oxid abtrennen. Die anschließende Umsetzung zum 2-Fluorinosin erfolgte über die Balz-Schiemann-Reaktion, wofür das Guanodin **130** in Gegenwart von Tetrafluorborosäure bei -20 °C mit Natriumnitrit versetzt wurde. Die Zersetzung des intermediären Diazoniumtetrafluoroborats zum entsprechenden 2-Fluorinosin trat hierbei bereits bei Erwärmen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur ein.



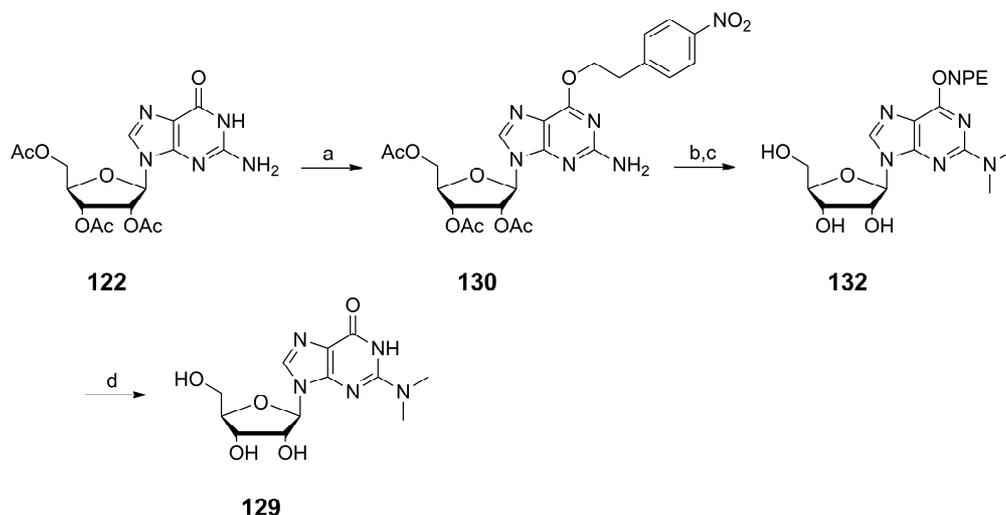
Schema 59: Synthese von 2-*N*-Methylguanodin (m^2G , **128**): a) 2-(4-Nitrophenyl)ethanol, DIAD, Ph_3P , Dioxan, 80 °C , 45 min, 70 °C , 1 h; b) HBF_4 , NaNO_2 , Aceton, H_2O , $-20\text{ °C} \rightarrow \text{RT}$, 3.5 h; c) MeNH_2 , EtOH, 18 h, RT, 21% (ausgehend von **122**); d) DBU, MeCN, RT, 2.5 h, 10% (nach HPLC-Aufreinigung).

Erwähnenswert sei, dass, wie sich bei späteren Versuchen herausstellte, die bei der Schützung der Position *O*-6 anfallenden Nebenprodukte keinen Einfluss auf die Bildung des 2-Fluorinosins ausüben, wodurch sich die aufwändige Aufreinigung des nach Säulenchromatographie erhaltenen Gemischs erübrigte.

Dennoch konnte **131**, das durch nukleophile Substitution des Fluoratoms mit Methylamin erhalten wurde, angesichts der harschen Bedingungen im Zuge der Balz-Schiemann-Reaktion lediglich in einer Ausbeute von 21% ausgehend von geschütztem Guanosin **122** erzielt werden. Die basenlabile 2-(4-Nitrophenyl)ethylschutzgruppe wurde schließlich durch Umsetzung mit DBU abgespalten.^[231] Das natürliche Nukleosid **128** wurde nach HPL chromatographischer Aufreinigung als farbloser Feststoff erhalten (Schema 59).

3.8.3.2 Synthese von 2-*N,N*-Dimethylguanosin (m^2_2G) (**129**)

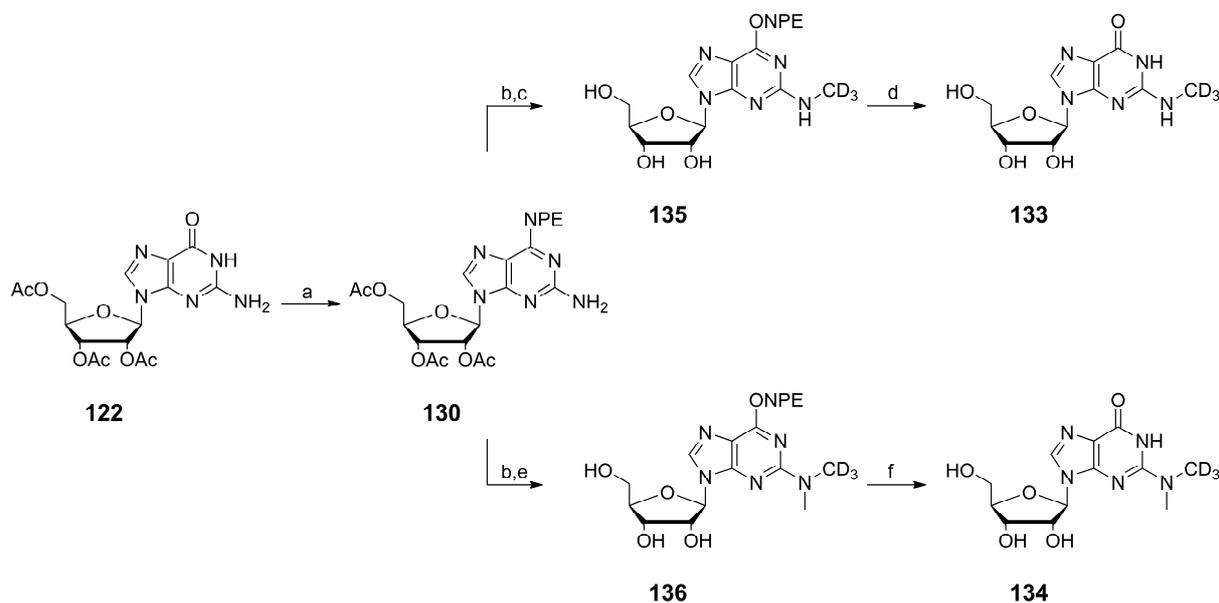
Zur Darstellung von m^2_2G (**129**) wurde eine ähnliche Syntheseroute gewählt, die zu m^2G führte (Schema 60). Die indirekte Einführung der 2-*N*-Methylgruppen erfolgte in diesem Fall jedoch durch nukleophile Substitution des Fluoratoms des intermediären 2-Fluorinosins mit ethanolischer Dimethylamin-Lösung. Die Spaltung der Acetylschutzgruppen gelang mit ethanolischer Dimethylaminlösung und nachfolgend mit einer wässrigen Dimethylaminlösung in einem Zweischrittprozess (Schema 60).^[221]



Schema 60: Synthese von 2-*N,N*-Dimethylguanosin (m^2_2G , **129**): a) 2-(4-Nitrophenyl)ethanol, DIAD, Ph_3P , Dioxan, 80 °C, 45 min, 70 → 60 °C, 1 h; b) HBF_4 , NaNO_2 , Aceton, H_2O , -20 °C → RT, 3,5 h; c) Me_2NH , EtOH, RT, 1 h, dann Me_2NH , H_2O , RT, 18 h, 27% (ausgehend von **122**); d) DBU, MeCN, RT, 2,5 h, 28% (nach HPLC-Aufreinigung).

3.8.3.3 Synthese von d_3 -2-*N*-Methylguanodin (d_3 -m²G) (**133**) und d_3 -2-*N,N*-Dimethylguanodin (d_3 -m²₂G) (**134**)

Zur Synthese der beiden schweratommarkierten Guanosinderivate d_3 -2-*N*-Methylguanodin (d_3 -m²G, **133**) und d_3 -2-*N,N*-Dimethylguanodin (d_3 -m²₂G, **134**) (Schema 61) mussten die entsprechenden deuterierten Amine, welche nur in Form ihrer Hydrochloride kommerziell erhältlich waren, „entschützt“ werden. Vorversuche mit den jeweiligen „normalen“ Hydrochloriden zeigten, dass eine zunächst anvisierte *in situ*-„Entschützung“ mit Kaliumcarbonat bzw. Silberoxid nicht zum gewünschten Produkt führt. In Gegenwart von Kaliumcarbonat konnte keine Umsetzung des 2-Fluorinosins zum gewünschten methylierten Produkt beobachtet werden, wohingegen die Verwendung von Silberoxid zur vollständigen Zersetzung des Nucleosids führte. Deshalb wurden die entsprechenden ethanolischen Lösungen der isotopenmarkierten Amine kurz vor Verwendung separat durch Umsetzung der Hydrochloride mit Silberoxid, das die Amine deutlich schneller freisetzte, hergestellt und anschließend über einen Microfilter abfiltriert.



Schema 61: Darstellung von d_3 -2-*N*-Methylguanodin (d_3 -m²G, **133**) und d_3 -2-*N,N*-Dimethylguanodin (d_3 -m²₂G, **134**): a) 2-(4-Nitrophenyl)ethanol, DIAD, Ph₃P, Dioxan, 80 °C, 45 min, 70 → 60 °C, 1 h; b) HBF₄, NaNO₂, Aceton, H₂O, -20 °C → RT, 3.5 h; c) d_3 -MeNH₂·HCl, Ag₂O, EtOH, RT, 18 h, dann MeNH₂, EtOH, 1 h, 31% (ausgehend von **122**); d) DBU, MeCN, RT, 2.5 h, 76% (nach HPLC-Aufreinigung); e) (1,1,1)- d_3 -Me₂NH·HCl, Ag₂O, EtOH, RT, 18 h, dann Me₂NH, H₂O, RT, 3 h, 17% (ausgehend von **122**); f) DBU, MeCN, RT, 2.5 h, 50% (nach HPLC-Aufreinigung).

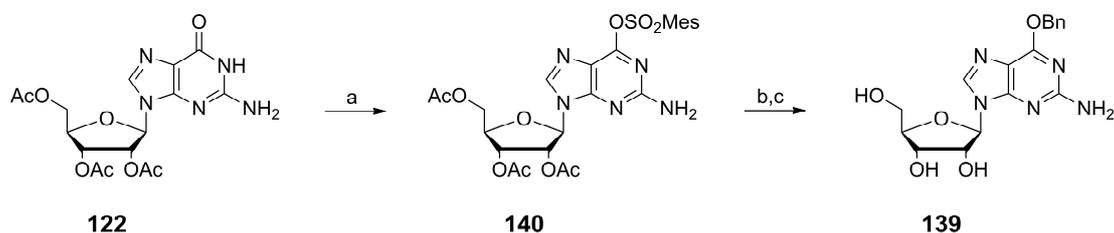
Um eine vollständige Abspaltung der Acetylschutzgruppen an der Riboseinheit zu gewährleisten, wurde nach jeweils 18 Stunden eine ethanolische Lösung der „normalen“ Amine bzw. im Fall des Dimethylamins eine wässrige Lösung zugegeben. Analog den undeuterten Nucleosiden wurde als letzter Schritt die 2-(4-Nitrophenylethyl)schutzgruppe mittels DBU abgespalten (Schema 61).^[231]

3.8.4 Synthese von 2'-O-Methylguanosen (Gm) und *d*₃-2'-O-Methylguanosen (*d*₃-Gm)

Bei der Wahl einer geeigneten Syntheseroute für 2'-O-Methylguanosen (**137**) war zu berücksichtigen, dass die der Darstellung des natürlichen Nucleosids zugrunde liegende Strategie eine Einführung der Methylgruppe in isotopenmarkierter Form erlaubt. Mit dieser Einschränkung als Voraussetzung wurde daher eine Route gewählt, die die Verwendung von Methyljodid bzw. *d*₃-Methyljodid gestattete.

3.8.4.1 Synthese von 2'-O-Methylguanosen (Gm) (**137**)

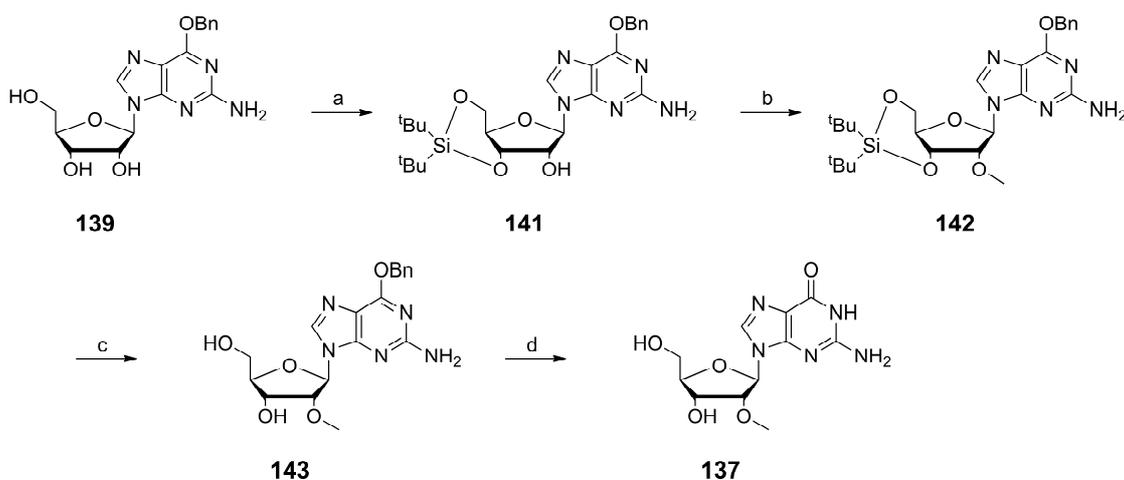
Aufgrund von Aufreinigungsschwierigkeiten bei der Darstellung von **139** durch die Mitsunobu-Reaktion ausgehend von **122** wurde deshalb eine Strategie in Anlehnung an eine Arbeit von *Shah et al.* verfolgt.^[232] Hierbei war zwar ein zweistufiger Prozess durch Substitution einer 2,4,6-Trimethylbenzolsulfonylgruppe erforderlich, der gewünschte Nucleosidbaustein **139** konnte jedoch ohne Nebenprodukte erhalten werden (Schema 62).^[232]



Schema 62: Synthese von 6-O-Benzylguanosen (**139**): a) 2,4,6-Trimethylbenzolsulfonsäurechlorid, DMAP, Et₃N, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 4.5 h, 96%; b) Benzylalkohol, DABCO, DBU, RT, 20 h; c) NaOMe, MeOH, RT, 3.5 h, 79% (ausgehend von **140**).

Ausgehend von geschütztem Guanosin **122** wurde die Trimethylbenzolsulfonylgruppe in nahezu quantitativer Ausbeute (96%) eingeführt (**140**, Schema 62). Die anschließende nukleophile Substitution durch die Benzylgruppe unter Zuhilfenahme von DABCO und DBU gelang zwar problemlos, allerdings trat als Nebenreaktion eine teilweise Abspaltung der Acetylgruppen an der Riboseinheit auf. Die vollständige Überführung des nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhaltenen Gemischs zu **139** erfolgte mittels methanolischer Natriummethanolatlösung, wodurch schließlich der gewünschte Guanosinbaustein **139** in einer guten Ausbeute von 79% über beide Stufen erhalten wurde.

In Vorbereitung auf die regioselektive Umsetzung der 2'-*O*-Position der Riboseinheit wurden zunächst die Hydroxygruppen in 3'-*O*- und 5'-*O*-Position der Verbindung **139** mit der Di-*tert*-butylsilylenschutzgruppe geschützt und Nukleosid **141** erhalten.^[233] Die Einführung der Methylgruppe in die 2'-*O*-Position wurde mittels einer klassischen Williamson-Ethersynthese durchgeführt (Schema 63). Im Gegensatz zur Synthese von 1-*N*-Methylguanosin (**120**) wurde keine Methylierung des exozyklischen Stickstoffs beobachtet.

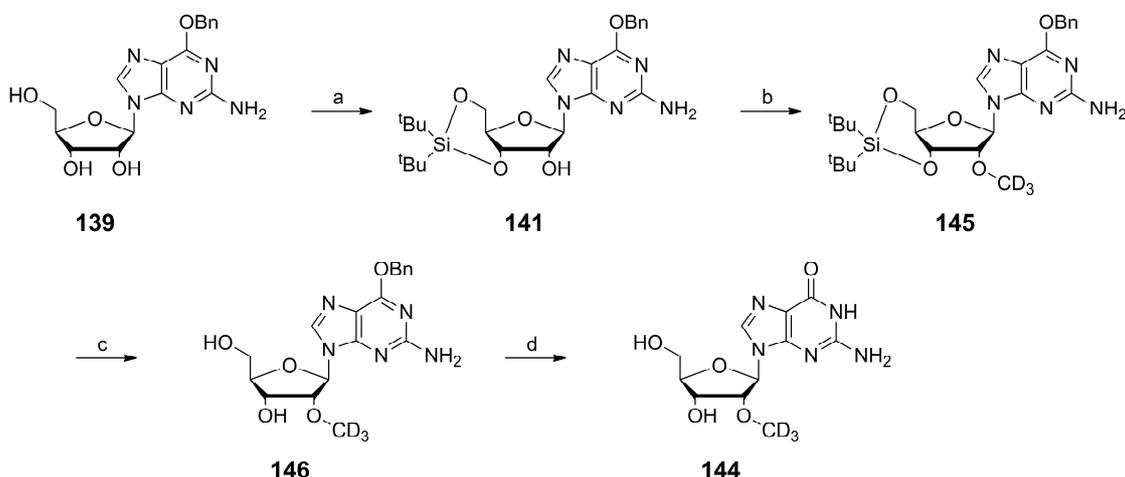


Schema 63: Synthese von 2'-*O*-Methylguanosen (Gm, **137**): a) (*tert*-Bu)₂Si(OTf)₂, DMF, RT, 20 min, 89%; b) MeI, NaH, DMF, 0 °C, 1.5 h, 32%; c) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h, 68%; d) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 87% (nach HPLC-Aufreinigung).

Nach Abspaltung der Silylschutzgruppe mit Et₃N·3 HF erfolgte die Entfernung der Benzylschutzgruppe von **143** durch Wasserstofftransferhydrierung in Gegenwart von Palladium auf Aktivkohle und Cyclohexen als Wasserstoffdonor. Das natürliche Nukleosid 2'-*O*-Methylguanosen (Gm, **137**) wurde nach Aufreinigung mittels HPLC als weißer Feststoff erhalten (Schema 63).

3.8.4.2 Synthese von d_3 -2'-*O*-Methylguanosin (d_3 -Gm) (**144**)

Zur Darstellung von d_3 -Gm (**144**) wurde die Synthesestrategie angewendet, die auch zu Gm (**137**) führte (Schema 64). Die Einführung der schweratommarkierten Methylgruppe an der 2'-*O*-Position erfolgte hierbei ebenfalls mit d_3 -Methyliodid.



Schema 64: Synthese von d_3 -2'-*O*-Methylguanosin (d_3 -Gm, **144**): a) $(tert\text{-}Bu)_2Si(OTf)_2$, DMF, RT, 20 min, 89%; b) d_3 -MeI, NaH, DMF, 0 °C, 1.5 h, 28%; c) $Et_3N \cdot 3 HF$, THF, RT, 1 h, 74%; d) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 83% (nach HPLC-Aufreinigung).

3.8.5 Synthese von 2'-*O*-2-*N,N*-Dimethylguanosin (m^2 Gm) und 2'-*O*-2-*N,N,N*-Trimethylguanosin (m^2_2 Gm)

Im Zuge der strukturellen Aufklärung verschiedener methylierter bzw. acetylierter Modifikationen kanonischer Basen wurde die Synthese von 2'-*O*-2-*N,N*-Trimethylguanosin (m^2_2 Gm, **147**) erstmals von *Edmonds et al.* beschrieben.^[234] Allerdings wurden für die Einführung der Methylgruppe an der 2'-*O*-Position keine synthetischen Details angegeben. Die Identifizierung des erhaltenen Nukleosids beschränkte sich lediglich auf LC-MS analytische Untersuchungen sowie einen Vergleich mit den vom natürlichen Nukleosid erhaltenen Daten. Eine Synthese von 2'-*O*-2-*N,N*-Dimethylguanosin (m^2 Gm, **148**) ist bislang nicht bekannt.

Abweichend von der bereits bestehenden Darstellung von m^2_2 Gm (**147**) wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Totalsynthese für m^2 Gm (**147**) bzw. m^2_2 Gm (**148**) basierend auf den aus den Synthesen von m^2 G (**128**) bzw. m^2_2 G (**129**) sowie Gm (**137**) gewonnenen Erkenntnissen

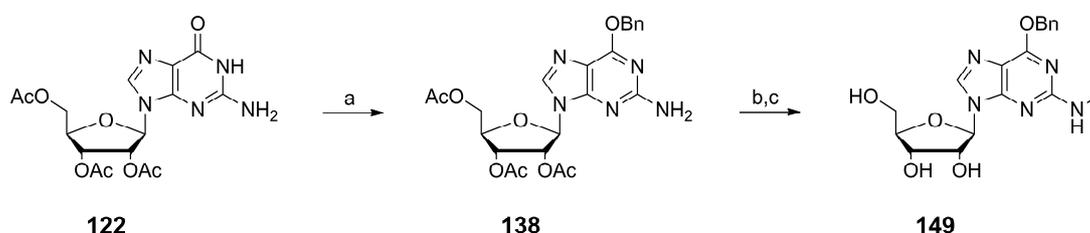
entwickelt. Die Methoden erlaubten somit zusätzlich die Einführung einer schweratommarkierten Methylgruppe.

3.8.5.1 Synthese von 2'-O-2-N-Dimethylguanodin (m²Gm) (**148**)

Im Gegensatz zur Synthese von Gm (**137**) bzw. d₃-Gm (**144**) wurde die Benzylgruppe ausgehend von geschützten Guanodin **122** über eine Mitsunobu-Inversion ähnliche Reaktion eingeführt, da die Acetylgruppen auf der Riboseeinheit aufgrund der sauren Bedingungen während der Diazotierung zur Stabilisierung der Verbindung erforderlich waren. Sie verhinderten die Depurinierung, die durch Spaltung der N-glykosidischen Bindung auftreten kann (Schema 65).^[197]

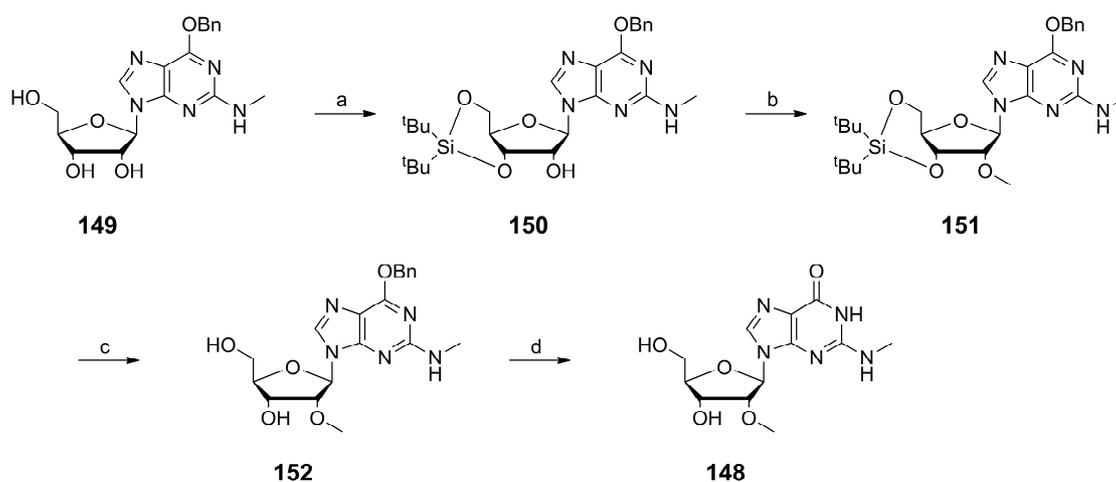
Die indirekte Einführung der Methylgruppe am exozyklischen Stickstoff des Guanodins entsprechend den Bedingungen zur Synthese von m²G (**128**) und m²₂G (**129**) gestaltete sich jedoch unerwartet schwierig. Nach Überführung der exozyklischen Aminogruppe durch Anwendung der Balz-Schiemann-Reaktion in ein Fluorid und dessen anschließender nukleophiler Substitution mittels ethanolischer Methylaminlösung konnte das alkylierte Nucleosid **149** (Schema 65) oftmals nur in weniger als 10% Ausbeute erhalten werden. Eine Untersuchung der Reaktionsprodukte legte den Verdacht einer oxidativen Debenzylierung nahe. In Kapitel 3.8.5.4 wird näher auf dieses Reaktionsergebnis eingegangen.

Analog der Synthese von Gm (**137**) wurden zunächst die 3'- und 5'-Hydroxygruppen von **149** mit (tert-Bu)₂Si(OTf)₂ geschützt, bevor anschließend die Methylierung der 2'-Hydroxygruppe von **150** erfolgte (Schema 66). Neben der an 2'-O-Position gewünschten Methylierung wurde als Nebenreaktion jedoch eine zusätzliche Alkylierung des exozyklischen Stickstoffs beobachtet.



Schema 65: Synthese von **147**: a) Benzylalkohol, DIAD, PPh₃, Dioxan, 80 °C, 45 min, 75 °C → 60 °C, 1 h; b) HBF₄, NaNO₂, Aceton, H₂O, -20 °C → RT, 3,5 h; c) MeNH₂, EtOH, RT, 18 h, 9% (ausgehend von **122**).

Trotz des ähnlichen strukturellen Aufbaus von **150** zu **141** (Schema 57 bzw. 58) und der damit verbundenen Absenkung der Basizität bzw. Nukleophilie des Elektronenpaares am exozyklischen Stickstoff des Guanosins musste ein weiterer elektronischer Effekt eine wichtige Rolle spielen. Durch Konjugation des freien Elektronenpaares der exozyklischen Aminogruppe mit dem aromatischen Ringsystem wird die Elektronendichte an dieser Gruppe herabgesetzt. Die dadurch induzierte geringere Verfügbarkeit des Elektronenpaares für nukleophile Angriffe wurde durch den positiven induktiven Effekt (+I) der Methylgruppe am exozyklischen Stickstoff vermutlich mehr als kompensiert.



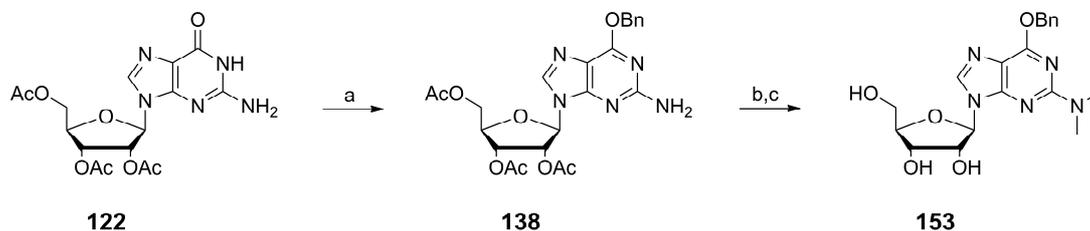
Schema 66: Synthese von 2'-O-2-N-Dimethylguanosin (m^2Gm , **148**): a) $(tert\text{-}Bu)_2Si(OTf)_2$, DMF, RT, 20 min, 75%; b) MeI, NaH, DMF, 0 °C, 1.5 h; c) $Et_3N \cdot 3 HF$, THF, RT, 1 h; d) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 8% (ausgehend von **150**, nach HPLC-Aufreinigung). Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf eine Abbildung des am exozyklischen doppelt methylierten Nebenprodukts verzichtet.

Weniger Probleme bereitete die abschließende Abspaltung beider Schutzgruppen des Nukleosidgemischs. Ohne nennenswerte Zwischenfälle konnte die DTBS-Gruppe durch Umsetzung mit Triethylamintrihydrofluorid in THF entfernt werden. Danach erfolgte die Spaltung der Benzyletherfunktion wasserstofftransfervermittelt in Gegenwart von Palladium und Cyclohexen (Schema 66). Das erhaltene Nukleosidgemisch konnte anschließend HPL chromatographisch getrennt werden.

3.8.5.2 Synthese vom 2'-O-2-N,N-Trimethylguanosin (m^2_2Gm) (**147**)

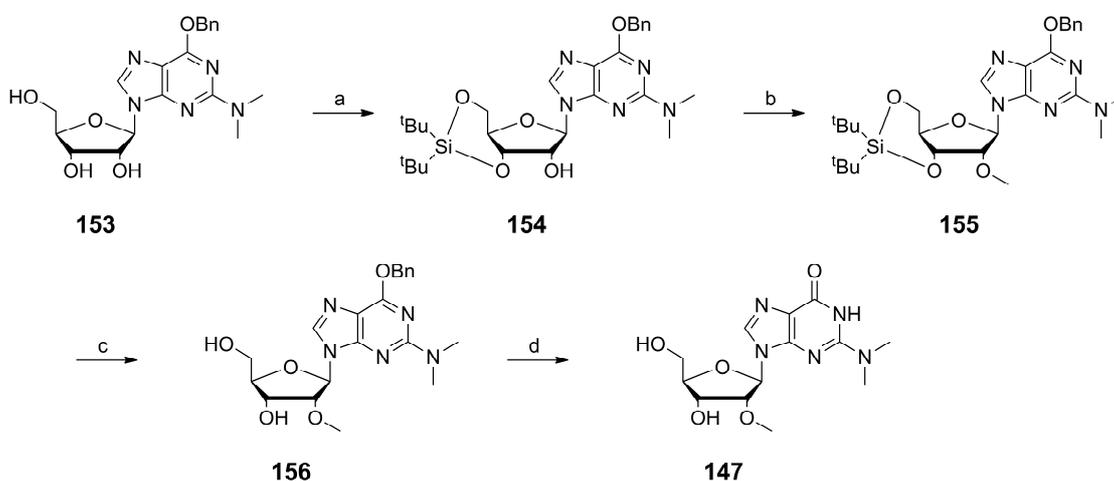
Zur Darstellung von m^2_2Gm (**147**) wurde eine Synthesestrategie angewendet, die in wesentlichen Zügen der Synthese von m^2Gm (**148**) entspricht, wobei die indirekte Einführung der Dimethylaminogruppe hierbei durch nukleophile Substitution des intermediären Fluorids

mit ethanolischer Dimethylaminlösung erfolgte (Schema 67). Zusätzlich konnte während der Balz-Schiemann-Reaktion ebenfalls eine oxidative Debenzylierung beobachtet werden (Kapitel 3.8.5.4).



Schema 67: Synthese von **153**: a) Benzylalkohol, DIAD, PPh₃, Dioxan, 80 °C, 45 min, 80 °C → 60 °C, 1 h; b) HBF₄, NaNO₂, Aceton, H₂O, -20 °C → RT, 3.5 h; c) Me₂NH, EtOH, RT, 3 h; Me₂NH, H₂O, RT, 18 h, 8% (ausgehend von **122**).

Zusätzlich zur üblichen Vorgehensweise wurde die Einführung der (*tert*-Bu)₂Si-Gruppe in Verbindung **153** in Gegenwart der Base Imidazol untersucht, mit dem unerwarteten Ergebnis, dass deren Verwendung sowohl eine signifikante Verlängerung der Reaktionszeit auf eine Stunde sowie einen deutlichen Rückgang der Ausbeute an **154** (48%) zur Folge hatte. Demgegenüber konnte **154** ohne Basenzusatz mit 85% isoliert werden (Schema 68).



Schema 68: Synthese von 2'-*O*-2-*N,N*-Trimethylguanidin (m²₂Gm, **147**): a) (*tert*-Bu)₂Si(OTf)₂, DMF, RT, 20 min, 85%; b) MeI, NaH, DMF, 0 °C, 2 h, dann RT, 30 min, 76%; c) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h, quant.; d) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 48% (nach HPLC-Aufreinigung).

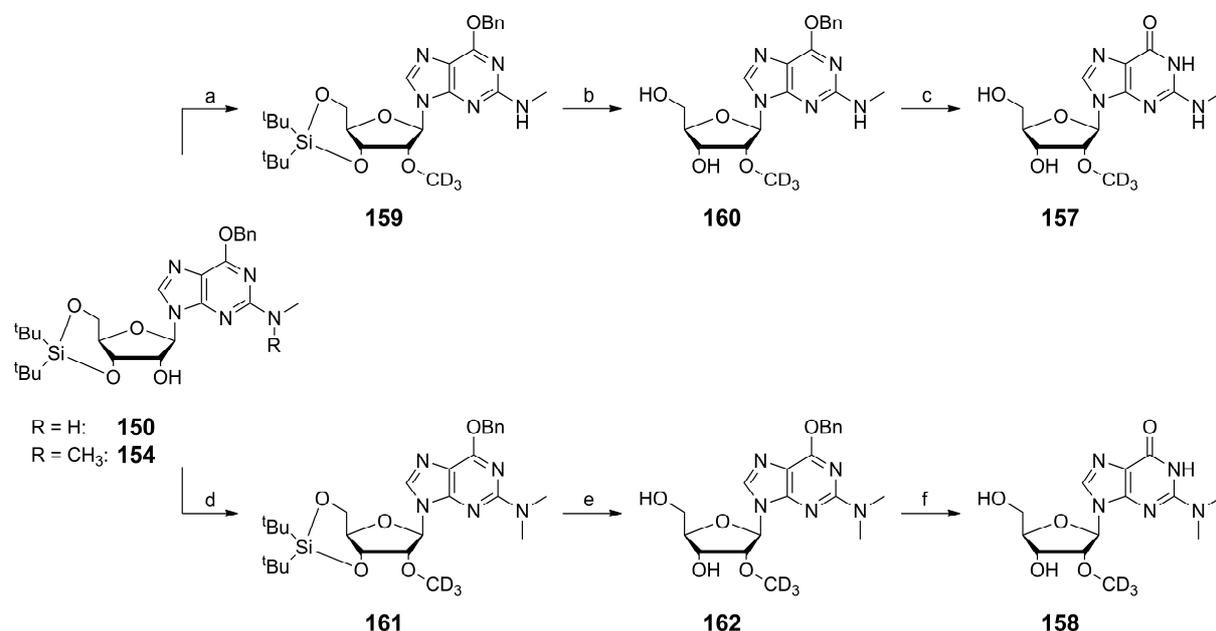
Die 2'-*O*-methylierte Verbindung **155** konnte in einer guten Ausbeute (76%) erhalten werden, obwohl sich durch die zusätzliche Methylgruppe am exozyklischen Stickstoff von **154** die Basizität des freien Elektronenpaares weiter erhöhte. Es ist deshalb davon auszugehen, dass

die sterisch abschirmende Funktion beider Methylgruppen dem elektronischen Effekt entgegenwirkte und somit eine Quartärnisierung des exozyklischen Stickstoffs verhinderte.

Die $(tert\text{-Bu})_2\text{Si}$ -Gruppe als auch die Benzylgruppe wurden analog der in Kapitel 3.8.5.1 beschriebenen Methoden problemlos in guten Ausbeuten entfernt. Das natürliche Nukleosid **147** wurde nach HPL chromatographischer Aufreinigung in einer Ausbeute von 48% erhalten (Schema 68).

3.8.5.3 Synthese von d_3 -2'-*O*-Methyl-2-*N*-Dimethylguanosen (d_3 -m²Gm) (**157**) und d_3 -2'-*O*-2-*N,N*-Trimethylguanosen (d_3 -m²₂Gm) (**158**)

Die Darstellung der Nukleoside d_3 -m²Gm (**157**) und d_3 -m²₂Gm (**158**) gelang durch Einführung der schweratommarkierten Methylgruppe mittels Umsetzung der entsprechenden an der exozyklischen Aminogruppe methyliertem Guanosinderivat **150** bzw. **154** mit d_3 -Methyliodid in Gegenwart von Natriumhydrid (Schema 69). Im Fall der am exozyklischen Stickstoffatom monomethylierten Verbindung **159** konnte erneut eine zusätzliche 2-*N*-Alkylierung beobachtet werden.



Schema 69: Synthese der von d_3 -2'-*O*-2-*N*-Dimethylguanosen (d_3 -m²Gm, **157**) und d_3 -2'-*O*-2-*N,N*-Trimethylguanosen (d_3 -m²₂Gm, **158**). a) d_3 -MeI, NaH, DMF, 0 °C, 1 h; b) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h; c) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 10% (ausgehend vom **150**, nach HPLC-Aufreinigung); d) d_3 -MeI, NaH, DMF, 0 °C, 1 h, 69%; e) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h, 71%; f) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 76% (nach HPLC-Aufreinigung). Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde im Falle der am exozyklischen Stickstoff monomethylierten Verbindung auf die Abbildung des 2-*N*-dimethylierten Nebenprodukts verzichtet.

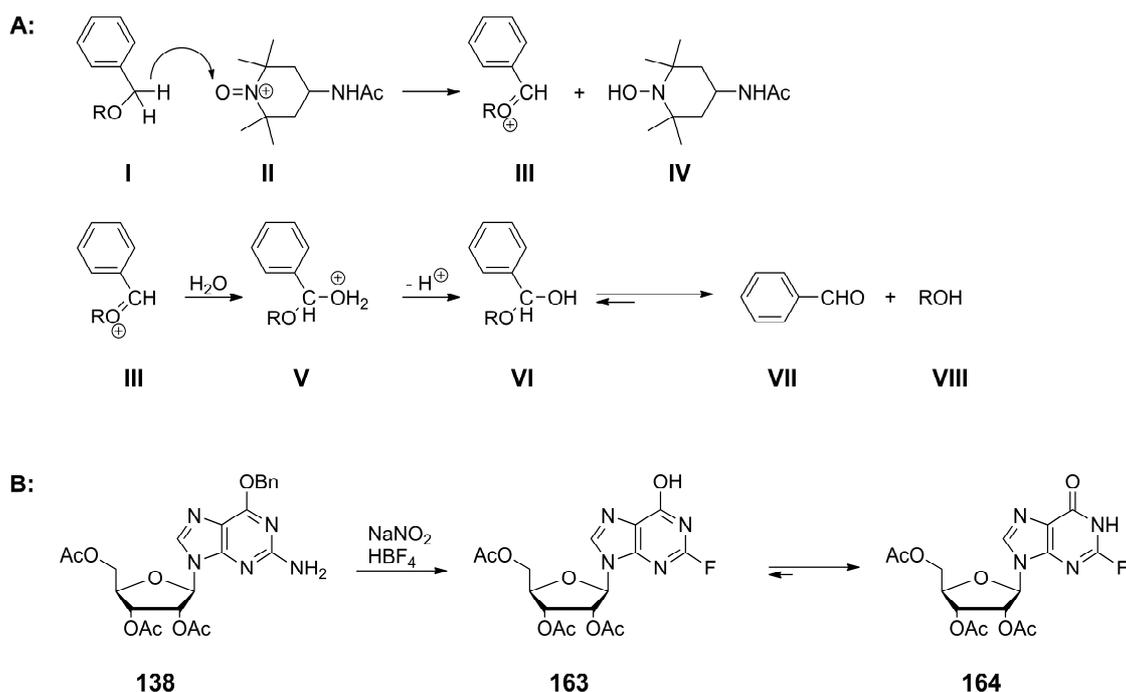
3.8.5.4 Oxidative Debenzylierung und alternative 6-*O*-Schutzgruppe

3.8.5.4.1 Oxidative Debenzylierung

Die oxidative Debenzylierung als Nebenreaktion im Zusammenhang mit der Fluorierung benzylgeschützter aromatischer Verbindungen mittels der Balz-Schiemann-Reaktion wurde bislang noch nicht beschrieben. Zudem gibt es nur sehr wenige Studien, die das Verhalten des Nitrosoniumions gegenüber Benzylethern beschreiben.^[235] Allerdings kann aufgrund der in diesen Studien verwendeten Bedingungen die Benzylspaltung während der Balz-Schiemann-Reaktion nicht erklärt werden. Deshalb wurde zur näheren Betrachtung des Reaktionsablaufs auf Arbeiten zurückgegriffen, die auf der Verwendung von Oxammoniumionen beruhen, welche eine weitestgehend ähnliche Reaktivität zeigen.^[236]

Sowohl anhand dieser neueren Studie^[236] zur oxidativen Abspaltung von Benzylgruppen sowie der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Bedingungen für die Balz-Schiemann-Reaktion kann davon ausgegangen werden, dass die Nebenreaktion mittels Abstraktion eines benzyllischen Hydridions (vgl. **I** → **III**, Schema 70) durch das in stark saurer Lösung gebildete Nitrosoniumion erfolgte.^[237] Der anschließende nukleophile Angriff eines Wassermoleküls (**III** → **V**) unter Freisetzung eines Protons überführt das intermediäre Oxacarbeniumion **III** in ein Halbacetal **VI**, das spontan zu Benzaldehyd (**VII**) und dem entsprechenden Alkohol **VIII** (Schema 70, A) zerfällt,^[236] wobei das Gleichgewicht dieser Reaktion, begünstigt durch die Entropie, nahezu vollständig auf Seite der Produkte liegt.

Im Falle des Guanosinderivats **138** können nach Abspaltung der Benzylgruppe die in Schema 62 gezeigten Strukturen gebildet werden. Die spontane Isomerisierung des Iminols **163** zur Inosinstruktur **164** (Schema 70, B) begünstigt zusätzlich die Einstellung des Gleichgewichts, da der entsprechende Alkohol **164** der Rückreaktion (vgl. Schema 70, A: **VI** → **VII**) entzogen wird. Dadurch liegt das Gleichgewicht praktisch vollständig auf der Seite des 6-*O* entschützten Nukleosids **164**.



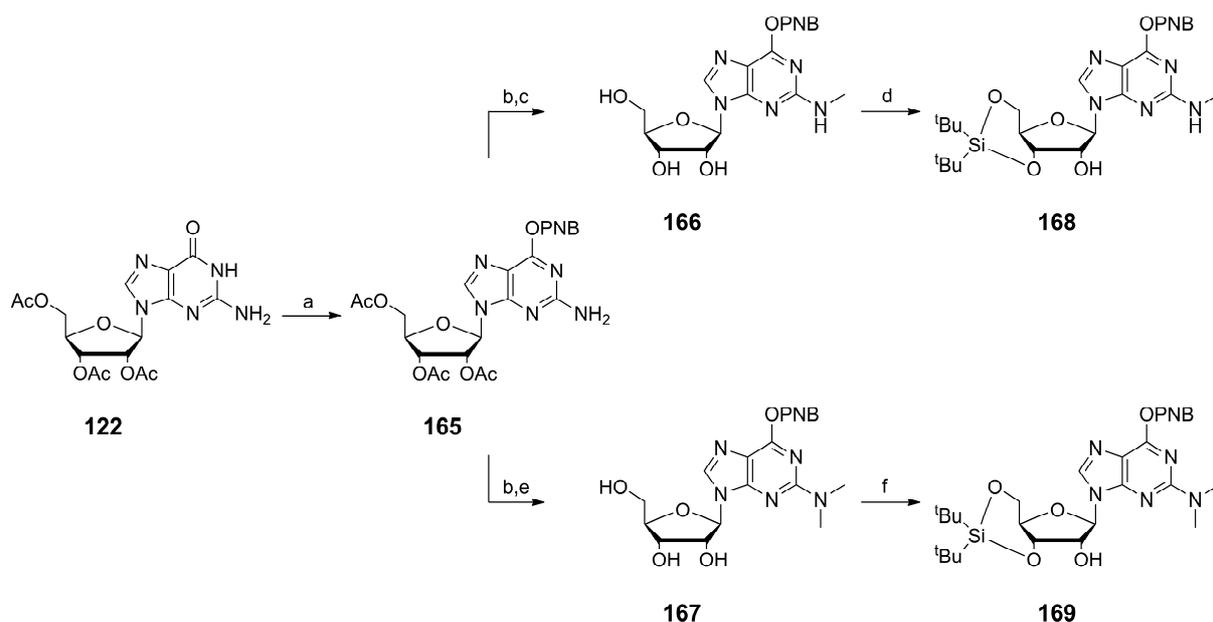
Schema 70: A: Von *Pradhan et al.* vorgeschlagener Mechanismus zur oxidativen Debenzylierung;^[236]
 B: mögliche Strukturen nach oxidativer Debenzylierung von Guanosinderivat **138**.

Die oben erwähnte Studie^[236] legte weiterhin nahe, dass die Geschwindigkeit der oxidativen Debenzylierung von den Substituenten am aromatischen Teil der Benzylgruppe und der damit verbundenen Elektronendichte des Aromaten abhängt. Substituenten wie zum Beispiel die Methoxygruppe, die die Elektronendichte durch einen positiven mesomeren Effekt (+M-Effekt) erhöht, beschleunigt die Abspaltung der Benzylgruppe, wohingegen die Nitrogruppe (–M-Effekt) dem Aromaten Elektronen entzieht und die Abspaltung damit verhindert. Die unsubstituierte Benzylgruppe nimmt dabei eine Mittelstellung ein.^[236]

Mit diesem Wissen konnte nun untersucht werden, ob sich durch Verwendung der 4-Nitrobenzylgruppe die Balz-Schiemann-Reaktion effizienter gestalten lässt.

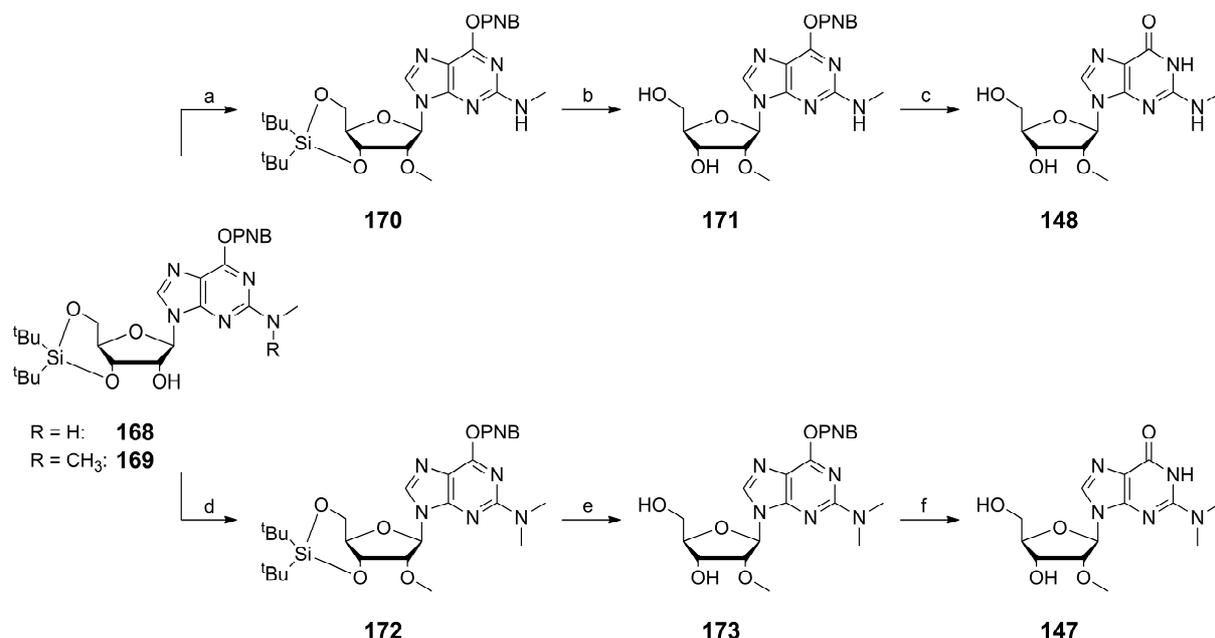
3.8.5.4.2 4-Nitrobenzylgruppe als alternative 6-O-Schutzgruppe

Die Einführung der 4-Nitrobenzylgruppe erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift, die bereits zur Darstellung des entsprechenden benzylierten Nukleosids **138** verwendet wurde.^[230] Von größerem Interesse war allerdings, ob die Verwendung der 4-Nitrobenzylgruppe im Rahmen der indirekten Alkylierung der exozyklischen Aminogruppe zu einer deutlichen Verbesserung der Ausbeute an den entsprechenden methylierten Nukleosiden beitragen würde.



Schema 71: Synthese der PNB-geschützten Guanosinderivate **168** und **169**: a) 4-Nitrobenzylalkohol, DIAD, PPh₃, Dioxan, 80 °C, 45 min, 75 → 60 °C, 1 h; b) HBF₄, NaNO₂, Aceton, H₂O, -20 °C → RT, 3,5 h; c) MeNH₂, EtOH, RT, 18 h; 27% (ausgehend von **122**); d) (*tert*-Bu)₂Si(OTf)₂, DMF, RT, 20 min, 63%; e) Me₂NH, EtOH, RT, 2 h; MeNH₂, H₂O, 29% (ausgehend von **122**); f) (*tert*-Bu)₂Si(OTf)₂, DMF, RT, 20 min, 76%.

Tatsächlich ist es gelungen, die entsprechenden aminomethylierten Nukleoside **166** und **167** mit einer für diese Umsetzung guten Ausbeute von etwa 30% zu isolieren (Schema 71). Zusätzlich wurde kein Hinweis auf die Bildung von 4-Nitrobenzaldehyd gefunden. Im nachfolgenden Schritt wurden die 3'- und 5'-Hydroxygruppen entsprechend der bisherigen Vorgehensweise (vgl. Schema 66) mit der DTBS-Gruppe geschützt. Im Fall der 2-*N*-monomethylierten Verbindung **170** war erneut eine zusätzliche Methylierung der exozyklischen Aminogruppe zu beobachten. Die abschließenden Reaktionen – die Abspaltung der Silylgruppe und sowie der 4-Nitrobenzylgruppe – wurden analog zu den benzylgeschützten Verbindungen (vgl. Schema 66 und 68) durchgeführt und verliefen in ähnlich guten Ausbeuten (Schema 72).



Schema 72: Synthese der von 2'-*O*-2-*N*-Dimethylguanosin (m^2Gm , **148**) und 2'-*O*-2-*N,N*-Trimethylguanosin (m^2Gm , **147**). a) MeI, NaH, DMF, 0 °C, 2 h; b) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h; c) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 1% (ausgehend von **168**, nach HPLC-Aufreinigung); d) MeI, NaH, DMF, 0 °C, 2 h; RT, 1 h, 43%; e) Et₃N·3 HF, THF, RT, 1 h, 85%; f) Cyclohexen, Pd/C, EtOH, 90 °C, 5 h, 42% (nach HPLC-Aufreinigung).

Insgesamt betrachtet bot die Verwendung der 4-Nitrobenzylgruppe als alternative Schutzgruppe für die 6-*O* Position im Zuge der indirekten Methylierung der exozyklischen Aminogruppe über ein durch die Balz-Schiemann-Reaktion zugängliches Fluorinosin einen deutlichen Vorteil. Durch Unterbinden der bisher oxidationsbedingten Bildung von Benzaldehyd gelang es, eine bessere Ausbeute an den gewünschten Nukleoside **166** und **167** (Schema 71) zu erzielen. Im entscheidenden Reaktionsschritt der verfolgten Strategie – die Alkylierung der 2'-*O*-Position – hingegen, der gleichzeitig als Ansatzpunkt zur Schweratommarkierung der Guanosinderivate diente (vgl. Schema 69), zeigten sich jedoch nachteilige Eigenschaften (Schema 72). Die 4-Nitrobenzylgruppe ist somit zur Synthese der isotopenmarkierten Guanosinderivate ungeeignet.

4 Experimenteller Teil

4.1 Material und Methoden

Allgemein: Alle Reaktionen unter Wasser- und Sauerstoffausschluss wurden in ausgeheizten (Ofen oder Heizpistole) Glasgeräten unter Stickstoff- oder Argonatmosphäre durchgeführt. Wasserfreie Lösemittel oder Reagenzien wurden mittels einer Kanüle oder Spritze in das Reaktionsgefäß überführt. Das Entfernen der Lösemittel *in vacuo* erfolgte am Membranpumpenvakuum mit den Rotationsverdampfern *Laborota 4000 efficient* bzw. *Hei-VAP Advantage* der Firma *Heidolph* oder *RV 05-ST* der Firma *Janke und Kunkel*. Alle Reaktionsprodukte wurden am Hochvakuum ($10^{-2} - 10^{-3}$ mbar) getrocknet. Wässrige Lösungen von HPLC-aufgereinigten Produkten wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren und mittels eines *Alpha 2-4 LDplus Lyophilisators* der Firma *Christ* am Ölpumpenvakuum getrocknet. Molekularsieb (3Å) wurde vor Verwendung für mehrere Tage bei 100 °C oder über Nacht im Sandbad bei 300 °C getrocknet.

Chemikalien und Lösemittel: Chemikalien wurden von den Firmen *ABCR*, *Acros*, *Alpha Aesar*, *CarboSynth*, *Iris Biotech*, *Fluka*, *Sigma-Aldrich* oder *TCI* in den Qualitäten puriss., p.a. oder purum bezogen. Trockene Lösungsmittel (Wassergehalt < 50 ppm) über Molekularsieb wurden von den Firmen *Acros* und *Fluka* bezogen. Bidestilliertes Wasser (*ddH₂O*) wurde einer *Milli-Q Plus* Anlage der Firma *Millipore* entnommen. Lösemittel zur Extraktion oder säulenchromatographischen Aufreinigung waren von technischer Qualität und wurden vor Gebrauch durch Destillation gereinigt. Für HPLC-basierende Auftrennungen wurden Lösemittel der HPLC-Qualität *gradient grade* von den Firmen *Fisher*, *Sigma-Aldrich* und *VWR* bezogen.

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden Aluminium-Fertigplatten *Kieselgel 60 F₂₅₄* (Schichtdicke 0.25 mm) der Firma *Merck* verwendet. Die Detektion der Substanzen erfolgte mittels UV-Licht ($\lambda = 254$ nm bzw. 366 nm) und durch Anfärbung mit Tauchreagenzien. Hierzu wurden eine Cer-Phosphormolybdänsäure-Lösung (25 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 25 g Phosphormolybdänsäure, 60 mL $\text{H}_2\text{SO}_{4,(\text{konz.})}$, 940 mL H_2O) oder eine Ninhydrin-Lösung (0.3 g Ninhydrin, 3.0 mL Eisessig, 100 mL *n*-Butanol) verwendet. Die Platten wurden anschließend mit einer Heizpistole erhitzt.

Säulenchromatographie: Die Säulenchromatographie wurde nach der Flash-Methode mittels N_2 -Überdruck bei Raumtemperatur durchgeführt. Hierzu wurde Kieselgel 60 der Firma *Merck* mit einer Korngröße von 0.024 – 0.063 mm eingesetzt. Das verwendete Lösemittelgemisch ist in Volumenanteile angegeben.

HPL-Chromatographie: Die präparative Aufreinigung wurde auf Anlagen der Hersteller *Merck-Hitachi* oder *Waters* durchgeführt. Die *Merck-Hitachi*-Anlage ist wie folgt aufgebaut: *L-7000* Interfacemodul, *L-7150* Pumpe, *Rheodyne P/N 7725i* Einspritzventil, *L-7420* UV/VIS-Detektor und *ERC-3415* Lösemittelentgaser. Die *Waters*-Anlagen bestehen aus folgenden Komponenten: *2487 Dual λ Absorbance Detector*, *1525 Binary HPLC Pump* und *Rheodyne P/N 7725i* Einspritzventil. Für analytische Trennungen wurden zwei Anlagen von *Waters* verwendet: *2695 Separations Module* (mit Autosampler und Gradientenpumpensystem) und *2996 Photodiode Array Detector*. Sämtliche Säulen für Normal- und Umkehrphasentrennungen wurden von *Macherey-Nagel* bezogen. Für Umkehrphasentrennungen wurden folgende Säulen und Säulenmaterialien benutzt: *VP 250/10 Nucleodur 100-5 C₁₈*, *VP 250/10 Nucleosil 100-7 C₁₈*, *VP 250/32 Nucleosil 100-7 C₁₈* mit *VP 50/21 Nucleosil 100-7 C₁₈* als Vorsäule für präparative Aufreinigungen und *CC 250/4 Nucleosil 120-3 C₁₈*, *CC 250/4 Nucleosil 100-3 C₁₈*, *CC 250/4 Nucleodur 100-3 C₁₈* zu analytischen Trennungen. Für die präparative Normalphasentrennung wurde folgende Säule benutzt: *VP 250/21 Nucleodur 100-5*. Als mobile Phase für Umkehrphasentrennungen (RP) bzw. Normalphasentrennungen (NP) wurden folgende Puffersysteme verwendet:

Puffersystem RP1: 0.1M Triethylammoniumacetat in *ddH₂O*, pH 7.0 (Puffer A).
0.1M Triethylammoniumacetat in 20/80 *ddH₂O*/Acetonitril, pH 7.0 (Puffer B).

Puffersystem RP2: *ddH₂O* (Puffer A).
Acetonitril (Puffer B).

Puffersystem NP1: Heptan (Puffer A).
Ethylacetat (Puffer B).

Aufgrund starker Fluktuationen der Retentionszeiten bei präparativen Aufreinigungen einer Substanz innerhalb mehrerer Durchläufe wurde auf die Angabe der Retentionszeit verzichtet.

Kernresonanzspektroskopie (NMR): ^1H -Kernresonanzspektren mit einer Feldstärke von 200 MHz wurden an einem *Varian Oxford 200* oder *Varian Mercury 200VX* Gerät aufgenommen. ^1H -Kernresonanzspektren höherer Feldstärke sowie ^{13}C -NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Departments Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität München aufgenommen. Hierbei wurden die Geräte *Bruker AC 300*, *Varian INOVA 400* und *Bruker AMX 600* verwendet. Die Messfrequenz in MHz, das verwendete Lösemittel und die Messtemperatur sind in Klammern angegeben. Die chemische Verschiebungen δ ist relative zu Tetramethylsilan ($\delta = 0.00$ ppm) in ppm angegeben. Die Kopplungskonstanten (J) sind in Hertz (Hz) angegeben. Signalmultiplizitäten sind als s (Singulett), bs (*broad* Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett) sowie gegebenenfalls als deren Kombinationen gekennzeichnet. Nicht zuordenbare Multiplizitäten sind als m (Multipllett) angegeben. Die Signalzuordnung wurde anhand von COSY-, HSQC-, HMBC- und NOESY-Spektren bestimmt.

Infrarotspektroskopie (IR): Zur Aufnahme von Infrarotspektren wurde ein *Perkin-Elmer 281* Spektrometer mit Diamant-ATR-Einheit verwendet und die Substanzen als Reinstoffen gemessen. Die Charakterisierung der Banden erfolgte nach folgenden Abkürzungen: *vs* (*very strong*), *s* (*strong*), *m* (*medium*), *w* (*weak*), *bm* (*broad medium*) bzw. *bw* (*broad weak*).

Hochaufgelöste Massenspektrometrie (HRMS): Hochauflösende Massenspektren wurden von der Abteilung Massenspektrometrie des Departments Chemie und Pharmazie der Ludwig-Maximilians-Universität München aufgenommen. Für ESI-Massenspektren wurde ein *Thermo Finnigan LTQ-FT* Spektrometer mit ESI-Quelle verwendet. EI-Massenspektren wurden mit einem *Varian MAT 95* aufgenommen.

Schmelzpunkt: Zur Schmelzpunktbestimmung wurde eine *Büchi MeltingPoint B-540* Schmelzpunktapparatur verwendet. Die Schmelzpunkte wurden nicht korrigiert.

Spezifischer Drehwert: Der Drehwert einer Probenlösung wurde mit einem *P8000-T* Polarimeter der Firma *Krüüss* aufgenommen. Eine genau abgewogene Menge der Substanz wurde in 5.0 mL des angegebenen Lösemittels gelöst und in einer Küvette (Länge: 5 cm) bei

einer Wellenlänge von $\lambda = 589$ nm (Natrium D-Linie) gemessen. Die Konzentration (c) ist in g/ml angegeben. Jede Messung bestand aus 20 Durchläufen, wobei vor jeder Messung mit dem reinen Lösemittel ein Nullabgleich durchgeführt wurde. Der spezifische Drehwert wurde anschließend berechnet.

Enzymatischer Verdau von tRNA und HPLC-ESI-MS: Der Verdau der tRNA und die Messung der Proben wurden von Ines Thoma durchgeführt. Für den enzymatischen Totalverdau eines bereits vorhandenen Gesamt-tRNA-Extrakts aus Schweineleber, dessen Herstellung in der Dissertation von Dr. Tobias Brückl beschrieben ist,^[216] wurde ein bestehendes Literaturprotokoll verwendet.^[238] Der tRNA-Verdau und die synthetischen Nukleoside wurden zunächst einzeln HPLC-ESI-MS analytisch untersucht. Für die Beweisführung der strukturellen Identität der synthetischen Queuosinderivate wurde das jeweilige synthetische Nukleosid zum Verdau in ähnlicher Konzentration hinzupipettiert und das Nukleosidgemisch anschließend mittels HPLC-ESI-MS analysiert. Die HPL chromatographische Auftrennung der Nukleoside erfolgte über ein *Dionex Ultimate 3000* HPLC System, welche direkt im Anschluss mittels einer *Thermo Finnigan LTQ Orbitrap XL* massenspektrometrisch analysiert wurden. Zur Auftrennung wurde eine *Uptisphere HDO 3 μ m 150x2.1mm* Säule der Firma *Interchim*, welche konstant auf 30 °C gehalten wurde, bei einem Fluss von 0.15 mL/min und folgendem Puffersystem benutzt:

Puffersystem MS: 2mM Ammoniumformiat in *ddH₂O*, pH 5.5 (Puffer A).

2mM Ammoniumformiat in 20/80 *ddH₂O*/Acetonitril, pH 5.5 (Puffer B).

Gradient für Messungen mit galQ: 0% B \rightarrow 6% B, 41.25 min; 6% \rightarrow 60% B, 41.25 min \rightarrow 80 min; 60% B \rightarrow 100% B, 80 min \rightarrow 82 min.

Gradient für Messungen mit α -manQ, β -manQ und/oder glcQ: 0% B \rightarrow 7% B, 30 min; 7% \rightarrow 60% B, 30 min \rightarrow 35 min; 60% B \rightarrow 100% B, 35 min \rightarrow 37 min.

Die Messung der Proben erfolgte unter folgenden Parametern: sheath gas flow rate, 16 arb; auxiliary gas flow rate, 11 arb; sweep gas flow rate, 4 arb; source voltage 5.0 kV; Kapillartemperatur, 200 °C; Kapillarspannung 20 V, tube lens 65 V. Es wurde hierbei über den gesamten Messbereich von $m/z = 150.0 - 1000.0$ bei einer Auflösung von 30.000 im positiven Ionisierungsmodus gemessen.

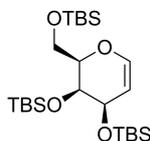
Für Tandem-Massenspektrometrieexperimente wurden folgende Einstellungen benutzt:

- *orbitrap detection* (FTMS + c): MS/MS $m/z = 572.22$: Messbereich $m/z = 155.0 - 600.0$, Auflösung 7.500, CID CE 20%, Q 0.25. time 30.0 ms, IsoW 2.0 u, Kapillarspannung 0.0 V.
- *ion trap detection* (ITMS + c): MS2 $m/z = 572.22$: Messbereich $m/z = 120.0 - 600.0$, CID CE 20%, Q 0.25. time 30.0 ms, IsoW 2.0 u, Kapillarspannung 0.0 V; MS3: $m/z = 440.18$: Messbereich $m/z = 120.0 - 600.0$, CID CE 25%, Q 0.25. time 30.0 ms, IsoW 2.0 u, Kapillarspannung 0.0 V.

4.2 Synthesevorschriften

4.2.1 Synthese von Galaktosylqueuosin (1)

3,4,6-Tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-galactal (7)^[163]



D-(+)-Galaktal **6** (1.47 g, 10.06 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (28 mL) gelöst, mit Imidazol (4.82 g, 70.81 mmol, 7.0 eq.) und TBSCl (5.23 g, 34.72 mmol, 3.5 eq.) versetzt und 2 d auf 55 °C erwärmt. Die Lösung wurde in Wasser (300 mL) gestürzt und die milchige Suspension mit Diethylether (3 × 150 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser (300 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 200:1 → 150:1) lieferte 4.29 g (8.77 mmol, 87%) **7** als farbloses Öl.

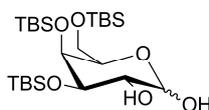
DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.75$.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 6.21$ (dd, $^3J_{H1,H2} = 6.1$, $^4J_{H1,H3} = 0.8$ Hz, 1H; C1H), 4.68 – 4.62 (m, 1H; C2H), 4.16 – 3.98 (m, 4H; C3H, C4H, C5H, C6Ha), 3.90 – 3.85 (m, 1H; C6Hb), 0.91 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.90 (2s, 18H; SiC(CH₃)₃), 0.10 (2s, 6H; SiCH₃), 0.07 (2s, 6H; SiCH₃), 0.07 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (s, 3H; SiCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 142.7$ (C1), 102.6 (C2), 79.6 (C5), 68.7 (C4), 65.0 (C3), 60.9 (C6), 26.0 ($2 \times 3\text{C}$; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.2 (SiCH_3), -4.4 (SiCH_3), -4.8 (SiCH_3), -4.9 (SiCH_3), -5.1 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{52}\text{O}_4\text{Si}_3 + \text{NH}_4]^+$: 506.3512, gef.: 506.3515.

3,4,6-Tri-*O-tert*-butyldimethylsilyl-D-galactopyranose (**8**)^[164]



Geschütztes Galaktal **7** (2.09 g, 4.27 mmol, 1.0 eq.) wurde in einem Gemisch aus THF (14 mL), *tert*-Butanol (6 mL) und Wasser (2 mL) gelöst, mit NMO (1.51 g, 12.87 mmol, 3.0 eq.) und $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (0.07 g, 0.20 mmol, 0.05 eq.) versetzt und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (40 mL) verdünnt, mit Na_2SO_3 (2.69 g, 21.35 mmol, 5.0 eq.) versetzt und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach weiterer Zugabe von Wasser (40 mL) wurde die wässrige Suspension mit EtOAc dreimal extrahiert und die organische Phase einmal mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO_4 wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der ölige Rückstand mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 9:1) aufgereinigt. Es wurde 1.96 g (3.75 mmol, 88%, α/β ca. 2.5:1) **8** als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.12$ (α), $R_f = 0.14$ (β).

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 5.29$ (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.6$ Hz, 1H; C1H), 4.01 – 3.98 (m, 1H; C4H), 3.92 (dd, $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.5$, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.6$ Hz, 1H; C2H), 3.88 (pseudo t, $^3J_{\text{H5,H6a}} = ^3J_{\text{H5,H6b}} = 6.7$ Hz, 1H; C5H), 3.87 (dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 9.6$, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.3$ Hz, 1H; C3H), 3.69 – 3.63 (m, 2H; C6Ha, C6Hb), 0.94 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.90 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.14 (s, 3H; SiCH_3), 0.13 (s, 3H; SiCH_3), 0.12 (s, 3H; SiCH_3), 0.08 (s, 3H; SiCH_3), 0.06 (2s, 6H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 93.0$ (C1), 72.7 (2C; C3, C5), 71.5 (C4), 69.5 (C2), 61.7 (C6), 26.3 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.1 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6

(SiC(CH₃)₃), 18.5 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), -3.9 (2C; SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃), -5.3 (2C; SiCH₃).

β-Anomer:

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 4.53 (d, ³J_{H1,H2} = 7.3 Hz, 1H; C1H), 3.95 (d, ³J_{H4,H3} = 2.1 Hz, 1H; C4H), 3.72 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.0, ³J_{H6a,H5} = 7.8 Hz, 1H; C6Ha), 3.69 – 3.63 (m, 2H; C6Hb, C2H), 3.53 (dd, ³J_{H3,H2} = 9.6, ³J_{H3,H4} = 2.4 Hz, 1H; C3H), 3.41 (ddd, ³J_{H5,H6a} = 7.7, ³J_{H5,H6b} = 5.8, ³J_{H5,H4} = 0.6 Hz, 1H; C5H), 0.94 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.14 (2s, 6H; SiCH₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃), 0.09 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (2s, 6H; SiCH₃).

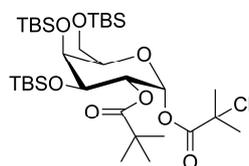
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 97.6 (C1), 76.2 (C5), 75.9 (C3), 72.9 (C2), 70.7 (C4), 61.3 (C6), 26.3 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.6 (2C; SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), -3.9 (2C; SiCH₃), -4.4 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃), -5.3 (2C; SiCH₃).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu}$ = 3408 (*bm*), 2953 (*s*), 2929 (*s*), 2886 (*s*), 2857 (*s*), 1472 (*m*), 1463 (*m*), 1389 (*w*), 1361 (*w*), 1251 (*s*), 1091 (*s*), 833 (*s*), 774 (*s*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₄H₅₄O₆Si₃ + Na]⁺: 545.3120, gef.: 545.3122.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde von der Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts abgesehen.

3,4,6-Tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-1,2-di-*O*-(2-chlorisobutyryl)-α-D-galactopyranose (9)



Eine Lösung des Diols **8** (5.03 g, 9.62 mmol, 1.0 eq.) in CH₂Cl₂ (68 mL) wurde mit einer Lösung aus 2-Chlorisobuttersäure **10** (2.85 g, 23.29 mmol, 2.4 eq.) in CH₂Cl₂ (20 mL) und DMAP (0.07 g, 0.60 mmol, 0.05 eq.) versetzt und im Eisbad gekühlt. Nach Zugabe von DIC (3.75 mL, 24.07 mmol, 2.5 eq.) ließ man für weitere 30 min bei Eisbadtemperatur und 2 h bei Raumtemperatur rühren. Das präzipitierte Harnstoffderivat wurde abfiltriert und die

organische Phase wurde mit wässriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit Diethylether (3×60 mL) wurden die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 100:1) lieferte 4.17 g eines Gemischs aus **9** und dem Harnstoffderivat als farbloses Öl.

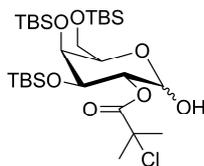
DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.56$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.29$ (d, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 3.4$ Hz, 1H; C1H), 5.46 (dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.3$, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.4$ Hz, 1H; C2H), 4.21 (dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.3$, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.2$ Hz, 1H; C3H), 4.14 (d, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 2.3$ Hz, 1H; C4H), 3.88 (t, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{a}} = ^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{b}} = 6.8$ Hz, 1H; C5H), 3.70 (dd, $^3J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 10.3$, $^3J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 7.6$ Hz, 1H; C6Ha), 3.64 (dd, $^3J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_6\text{a}} = 10.3$, $^3J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_5} = 6.1$ Hz, 1H; C6H), 1.81 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.79 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.76 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.73 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.93 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.92 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.87 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.17 (s, 3H; SiCH_3), 0.16 (s, 6H; SiCH_3), 0.11 (s, 3H; SiCH_3), 0.04 (s, 3H; SiCH_3), 0.03 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 171.3$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 169.8 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 91.7 (C1), 75.3 (C5), 71.8 (C4), 71.5 (C2), 70.0 (C3), 64.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 64.3 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 61.0 (C6), 30.0 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.7 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.6 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.2 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.7 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (SiCH_3), -3.9 (SiCH_3), -4.7 (SiCH_3), -4.9 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3), -5.4 (SiCH_3).

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{32}\text{H}_{64}\text{O}_8\text{Cl}_2\text{Si}_3 + \text{NH}_4]^+$: 748.3624, gef.: 748.3630.

Ein IR-Spektrum und der Drehwert wurden aufgrund des erhaltenen Produktgemischs nicht aufgenommen.

3,4,6-Tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-*O*-(2-chlorisobutyryl)galactopyranose (11)

Das Gemisch aus Diester **9** und dem Harnstoffderivat (4.14 g) wurde in DMF (40 mL) gelöst, auf $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{AcOH}$ (0.42 g, 4.56 mmol) versetzt. Innerhalb von 30 min ließ man die Lösung auf $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Die Lösung wurde auf Wasser (400 mL) gegeben und die milchige Suspension mit Diethylether ($3 \times 120\text{ mL}$) extrahiert. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 50:1 \rightarrow 9:1) wurde 1.14 g (1.82 mmol, 19% über zwei Stufen, α/β ca. 1:0.8) **11** als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.27$ (α und β).

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 5.38$ (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.3\text{ Hz}$, 1H; C1H), 5.20 – 5.12 (m, 1H; C2H), 4.15 (dd, $^3J_{\text{H3,H4}} = 9.4$, $^3J_{\text{H3,H2}} = 2.3\text{ Hz}$, 1H; C3H), 4.10 – 4.05 (m, 1H; C4H), 3.94 (td, $^3J_{\text{H5,H6a}} = ^3J_{\text{H5,H6b}} = 6.7$, $^3J_{\text{H5,H4}} = 1.1\text{ Hz}$, 1H; C5H), 3.80 – 3.65 (m, 2H; C6Ha, C6Hb), 2.65 (bs, 1H; C1-OH), 1.81 (2s, 6H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.93 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.91 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.18 (s, 3H; SiCH₃), 0.16 (s, 3H; SiCH₃), 0.14 (s, 3H; SiCH₃), 0.12 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (s, 6H; SiCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 171.4$ ($\text{COC}(\text{CH}_3)_2$), 96.2 (C1), 73.7 (C2), 73.3 (C5), 71.5 (C4), 69.6 (C3), 64.6 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 60.9 (C6), 29.9 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.2 ($2 \times 3\text{C}$; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 (2C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (2C; SiCH₃), -4.6 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃), -5.3 (2C; SiCH₃).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 5.20$ – 5.12 (m, 1H; C2H), 4.58 (bs, 1H; C1H), 4.10 – 4.05 (m, 1H; C4H), 3.80 – 3.65 (m, 3H; C3H, C6Ha, C6Hb), 3.49 – 3.43 (m, 1H; C5H), 3.05 (bs, 1H; C1-OH), 1.80 (2s, 6H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.92 (2s, 18H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.15 (s, 3H; SiCH₃), 0.14 (s, 3H; SiCH₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (s, 6H; SiCH₃).

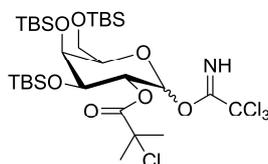
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 172.2$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 90.2 (C1), 76.5 (C2), 76.2 (C5), 73.3 (C3), 70.8 (C4), 64.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 61.0 (C6), 30.2 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 30.1 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.2 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.1 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (SiCH_3), -4.0 (SiCH_3), -4.6 (2C; SiCH_3), -5.2 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu} = 3448$ (*bm*), 2954 (*s*), 2939 (*s*), 2886 (*s*), 2858 (*s*), 1739 (*m*), 1472 (*m*), 1463 (*m*), 1390 (*w*), 1252 (*s*), 1166 (*s*), 1112 (*s*), 1045 (*s*), 834 (*s*), 774 (*s*) cm^{-1} .

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{59}\text{O}_7\text{ClSi}_3 + \text{Na}]^+$: 649.3149, gef.: 649.3151.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde von der Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts abgesehen.

3,4,6-Tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-*O*-(2-chlorisobutyryl)-*D*-galactopyranosyl-1-*O*-trichloracetimidat (**12**)



Eine Lösung des Monoesters **11** (2.50 g, 3.98 mmol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (125 mL) wurde mit Cs_2CO_3 (0.78 g, 2.40 mmol, 0.6 eq.) und Cl_3CCN (4.0 mL, 39.89 mmol, 10.0 eq.) versetzt und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde gesättigte NaHCO_3 -Lösung (100 mL) zugegeben und weitere 5 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (4 \times 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 100:1) lieferte 2.21 g (2.86 mmol, 72%, nahezu ausschließlich α -Anomer) **12** als farbloses Öl.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.50$.

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 8.54 (s, 1H; NHCCCl_3), 6.48 (d, $^3J_{\text{H1,H2}}$ = 3.4 Hz, 1H; C1H), 5.49 (dd, $^3J_{\text{H2,H3}}$ = 10.4, $^3J_{\text{H2,H1}}$ = 3.4 Hz, 1H; C2H), 4.30 (dd, $^3J_{\text{H3,H2}}$ = 10.4, $^3J_{\text{H3,H4}}$ = 2.2 Hz, 1H; C3H), 4.16 (d, $^3J_{\text{H4,H3}}$ = 1.9 Hz, 1H; C4H), 3.94 (dd, $^3J_{\text{H5,H6a}}$ = 7.8, $^3J_{\text{H5,H6b}}$ = 6.1 Hz, 1H; C5H), 3.72 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}}$ = 10.2, $^3J_{\text{H6a,H5}}$ = 8.0 Hz, 1H; C6Ha), 3.64 (dd, $^2J_{\text{H6b,H6a}}$ = 10.2, $^3J_{\text{H6b,H5}}$ = 5.9 Hz, 1H; C6Hb), 1.76 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.74 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.93 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.92 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.18 (s, 3H; SiCH_3), 0.16 (s, 3H; SiCH_3), 0.15 (s, 3H; SiCH_3), 0.12 (s, 3H; SiCH_3), 0.02 (s, 3H; SiCH_3), 0.01 (s, 3H; SiCH_3).

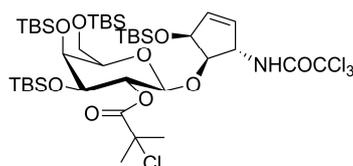
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 171.4 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 160.9 (NHCCCl_3), 94.3 (C1), 91.4 (CCl_3), 75.1 (C5), 71.7 (2C; C2, C4), 69.9 (C3), 64.2 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 60.8 (C6), 30.0 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.2 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.7 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (SiCH_3), -4.0 (SiCH_3), -4.7 (SiCH_3), -4.9 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3), -5.4 (SiCH_3).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu}$ = 3350 (w), 2954 (s), 2930 (s), 2887 (m), 2858 (s), 1747 (s), 1674 (s), 1472 (m), 1463 (m), 1270 (m), 1253 (s), 1174 (m), 1140 (m), 1111 (s), 963 (m), 834 (s), 774 (s) cm^{-1} .

HRMS (ESI $^-$) m/z : ber. für $[\text{C}_{30}\text{H}_{59}\text{NO}_7\text{Cl}_4\text{Si}_3 + \text{Cl}]^-$: 804.2047, gef.: 804.2064.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde auf die Aufnahme des Drehwerts verzichtet.

1-O-((3S,4R,5S)-((N-trichloracetyl)-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-O-tert-butyldimethylsilyl-2-O-(2-chlorisobutyryl)- β -D-galactopyranose (13)



Eine Lösung des Zuckerdonors **12** (181 mg, 234 μmol , 1.0 eq.) in *n*-Hexan (10 mL) wurde unter einer Argonatmosphäre mit einer Lösung des Cyclopentens **2** (174 mg, 0.46 mmol, 2.0 eq.) in *n*-Hexan (2 mL) und MS 3Å versetzt und gerührt. Nach 2 h wurde 2-Chlor-6-

methylpyridiniumtriflat (7 mg, 25 μmol , 0.1 eq.) zugegeben und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde durch einen Microfilter in gesättigte wässrige NaHCO_3 -Lösung filtriert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3 \times 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung des öligen Rückstands durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 50:1 \rightarrow 20:1) erhielt man 187 mg (190 μmol , 81%) **13** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.40$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 6.71$ (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.7$ Hz, 1H; NHCO), 5.99 (dt, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.1$ Hz, $^3J_{\text{H}1',\text{H}5'} = 2.2$ Hz, 1H; C1'H), 5.81 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 1.6$ Hz, 1H; C2'H), 5.30 (dd, $^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.8$, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = 8.0$ Hz, 1H; C2H), 4.86 – 4.82 (m, 1H; C3'H), 4.73 – 4.70 (m, 2H; C5'H, C1H), 4.21 (t, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 5.3$ Hz, 1H; C4'H), 3.99 (d, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = 2.0$ Hz, 1H; C4H), 3.71 (dd, $^2J_{\text{C}6\text{Ha},\text{C}6\text{Hb}} = 9.8$, $^3J_{\text{C}6\text{Ha},\text{H}5} = 7.7$ Hz, 1H; C6Ha), 3.69 – 3.64 (m, 2H; C6Hb, C3H), 3.37 (t, $^3J_{\text{H}5,\text{H}6\text{a}} = ^3J_{\text{H}5,\text{H}6\text{b}} = 6.7$ Hz, 1H; C5H), 1.80 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.78 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.92 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.19 (s, 3H; SiCH_3), 0.10 (s, 3H; SiCH_3), 0.09 (s, 6H; SiCH_3), 0.08 (2s, 6H; SiCH_3), 0.06 (s, 6H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 170.4$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 161.3 (NHCO), 136.2 (C1'), 131.4 (C2'), 100.0 (C1), 92.6 (CCl_3), 79.9 (C4'), 75.9 (C5), 74.3 (C5'), 74.1 (C3), 73.7 (C2), 71.3 (C4), 65.2 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 61.3 (C6), 60.8 (C3'), 30.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 30.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.2 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.1 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 (2C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.6 (SiCH_3), -3.7 (SiCH_3), -4.3 (SiCH_3), -4.7 (SiCH_3), -4.8 (SiCH_3), -5.1 (SiCH_3), -5.3 (2C; SiCH_3).

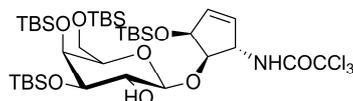
IR: $\tilde{\nu} = 3342$ (w), 2953 (s), 2930 (s), 2886 (m), 2857 (s), 1751 (m), 1707 (m), 1514 (m), 1472 (m), 1463 (m), 1362 (w), 1252 (s), 1152 (w), 1113 (s), 1069 (s), 1006 (w), 960 (w), 896 (w), 832 (vs), 774 (s), 676 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{41}\text{H}_{79}\text{O}_9\text{NCl}_4\text{Si}_4 + \text{NH}_4]^+$: 1004.3478, gef.: 1004.3477.

$[\alpha]_D^{22} = 13.0^\circ$ (c = 0.001, CHCl_3).

Schmelzpunkt: 59.0 – 62.2 $^\circ\text{C}$.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-(*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-galactopyranose (15**)**



Exemplarische Vorschrift:

Das Galaktosid **13** (27 mg, 31 μ mol, 1.0 eq.) wurde in einer Lösung aus NH_3 in Methanol (7M, 2 mL) gelöst und 18 h bei 43 °C gerührt. Nach Entfernung des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (Isohexan/EtOAc 20:1) aufgereinigt. Es wurden 12 mg **15** (14 μ mol, 45%) und 7 mg **16** (8 μ mol, 26%) erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.28$.

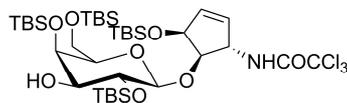
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.74$ (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.2$ Hz, 1H; NH), 6.03 (ddd, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.2$, $^3J_{\text{H}1',\text{H}5'} = 2.4$, $^4J_{\text{H}1',\text{H}3'} = 2.0$ Hz, 1H; C1'H), 5.92 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.2$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 1.8$ Hz, 1H; C2'H), 4.99 – 4.94 (m, 1H; C3'H), 4.70 (ddd, $^3J_{\text{H}5',\text{H}4'} = 5.3$, $^3J_{\text{H}4',\text{H}1'} = 2.5$, $^5J_{\text{H}5',\text{H}3'} = 0.9$ Hz, 1H; C5'H), 4.42 (d, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = 7.5$ Hz, 1H; C1H), 4.06 (t, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 5.5$ Hz, 1H; C4'H), 3.90 (d, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = 2.2$ Hz, 1H; C4H), 3.72 (dd, $^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.7$, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = 7.5$ Hz, 1H; C2H), 3.69 (dd, $^2J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 9.9$, $^3J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 7.6$ Hz, 1H; C6Ha), 3.62 (dd, $^2J_{\text{H}6b,\text{H}6a} = 9.9$, $^3J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 5.9$ Hz, 1H; C6Hb), 3.49 (dd, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 9.6$, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 2.4$ Hz, 1H; C3H), 3.37 – 3.32 (m, 1H; C5H), 0.92 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 27H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.13 (s, 3H; SiCH_3), 0.11 (s, 3H; SiCH_3), 0.11 (s, 6H; SiCH_3), 0.09 (s, 3H; SiCH_3), 0.07 (s, 3H; SiCH_3), 0.05 (s, 6H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 161.8$ (NHCO), 135.9 (C1'), 132.0 (C2'), 103.6 (C1), 92.5 (CCl_3), 82.2 (C4'), 76.1 (C5), 75.8 (C3), 74.3 (C5'), 70. (2C; C2, C4), 61.5 (C6), 60.6 (C3'), 26.3 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.1 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.7 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.4 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (SiCH_3), -4.0 (SiCH_3), -4.2 (SiCH_3), -4.3 (SiCH_3), -4.9 (2C; SiCH_3), -5.2 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{37}\text{H}_{74}\text{NO}_8\text{Cl}_3\text{Si}_4 + \text{NH}_4]^+$: 895.3895, gef.: 895.3903.

Ein IR-Spektrum, der Schmelzpunkt und der Drehwert wurden nicht aufgenommen.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-(*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl)-2,4,6-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-galactopyranose (16)



DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: $R_f = 0.44$.

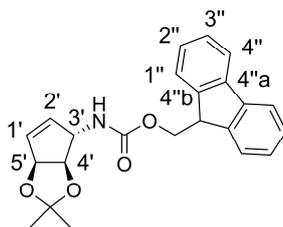
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.59$ (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.5$ Hz, 1H; NH), 6.01 – 5.98 (m, 1H; C1'H), 5.86 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 1.9$ Hz, 1H; C2'H), 4.88 – 4.82 (m, 1H; C3'H), 4.68 (ddd, $^3J_{\text{H}5',\text{H}4'} = 5.3$, $^3J_{\text{H}4',\text{H}1'} = 2.5$, $^5J_{\text{H}5',\text{H}3'} = 0.7$ Hz, 1H; C5'H), 4.43 (d, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = 7.4$ Hz, 1H; C1H), 4.04 (t, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 5.4$ Hz, 1H; C4'H), 4.01 (d, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = 2.2$ Hz, 1H; C4H), 3.71 (dd, $^2J_{\text{H}6\text{a},\text{H}6\text{b}} = 10.0$, $^3J_{\text{H}6\text{a},\text{H}5} = 7.2$ Hz, 1H; C6Ha), 3.68 – 3.63 (m, 2H; C6Hb, C2H), 3.45 – 3.40 (m, 1H; C3H), 3.40 – 3.35 (m, 1H; C5H), 2.01 (d, $^3J_{\text{C}3\text{-OH},\text{H}3} = 3.7$ Hz, 1H; C3-OH), 0.91 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 18H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.12 (s, 3H; SiCH_3), 0.11 (s, 3H; SiCH_3), 0.10 (s, 9H; SiCH_3), 0.07 (s, 3H; SiCH_3), 0.05 (s, 9H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 161.5$ (NHCO), 136.3 (C1'), 131.5 (C2'), 103.2 (C1), 92.5 (CCl_3), 81.6 (C4'), 75.9 (C3), 75.3 (C5), 74.5 (C5'), 72.8 (C2), 69.5 (C4), 61.7 (C6), 60.5 (C3'), 26.1 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.9 (9C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.5 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.3 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 (2C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.8 (SiCH_3), -4.2 (SiCH_3), -4.3 (SiCH_3), -4.9 (2C; SiCH_3), -5.0 (SiCH_3), -5.3 (2C; SiCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{37}\text{H}_{74}\text{NO}_8\text{Cl}_3\text{Si}_4 + \text{Na}]^+$: 900.3449, gef.: 900.3460.

Ein IR-Spektrum, der Schmelzpunkt und der Drehwert wurden nicht aufgenommen.

(3*S*,4*R*,5*S*)-(N-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonyl)-4,5-*O*-isopropylidencyclopent-1-en-4,5-diol (21**)**



Eine Lösung des Cyclopentens **19** (6.03 g, 20.05 mmol, 1.0 eq.) in Methanol (200 mL) wurde mit Natronlauge (2*M*, 135 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit HCl (2*M*) versetzt und überschüssige Säure mit gesättigter NaHCO₃-Lösung entfernt. Die Suspension wurde zur Trockne eingengt und der Rückstand in Dioxan (150 mL), gesättigter NaHCO₃-Lösung (30 mL) und Wasser (20 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von Fmoc-OSu (8.88 g, 26.32 mmol, 1.3 eq.) ließ man die Suspension weitere 30 min bei 0 °C und 2.5 h bei Raumtemperatur rühren. Die Suspension wurde mit Wasser (200 mL) verdünnt und mit EtOAc (3 × 150 mL) extrahiert. Nach Trocknung über MgSO₄ wurde die organische Phase *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂ → Isohexan/EtOAc 3:1) lieferte 6.04 g (16.00 mmol, 80%) **21** als farblosen Feststoff.

DC [Isohexan/EtOAc (3:1)]: $R_f = 0.17$.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 7.79 - 7.74$ (m, 2H; C4''H), 7.64 – 7.55 (m, 2H; C1''H), 7.40 (t, $^3J_{H3'',H2''} = ^3J_{H3'',H4''} = 7.2$ Hz, 2H; C3''H), 7.32 (td, $^3J_{H2'',H1''} = ^3J_{H2'',H3''} = 7.4$, $^4J_{H2'',H4''} = 1.2$ Hz, 2H; C2''H), 6.02 – 5.97 (m, 1H; C1'H), 5.79 – 5.73 (m, 1H; C2'H), 5.26 – 5.19 (m, 1H; C5'H), 4.83 – 4.74 (m, 1H; NH), 4.69 – 4.63 (m, 1H; C3'H), 4.50 – 4.43 (m, 3H; OCH₂CH, C4'H), 4.26 – 4.18 (m, 1H; OCH₂CH), 1.43 (s, 3H; CH₃), 1.35 (s, 3H; CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 155.6$ (NHCO), 143.8 (2C; C4''b), 141.3 (2C; C4''a), 135.5 (C1'), 132.0 (C2'), 127.7 (2C; C3''), 127.0 (2C; C2''), 124.9 (2C; C1''), 120.0 (C4''), 119.9 (C4''), 111.6 (C(CH₃)₂), 84.7 (C4'), 84.3 (C5'), 66.6 (OCH₂CH), 62.7 (C3'), 47.2 (OCH₂CH), 27.3 (CH₃), 25.7 (CH₃).

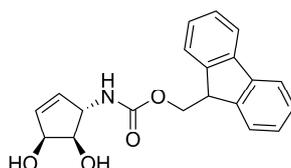
IR: $\tilde{\nu} = 3360$ (*bw*), 2989 (*w*), 1691 (*s*), 1521 (*s*), 1445 (*w*), 1377 (*w*), 1364 (*w*), 1305 (*m*), 1239 (*s*), 1224 (*s*), 1207 (*s*), 1147 (*m*), 1083 (*s*), 1059 (*s*), 1028 (*s*), 760 (*s*), 732 (*s*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₃H₂₃O₄N + Na]⁺: 400.1519, gef.: 400.1519.

[α]_D²²: = 97.5° (c = 0.009, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 161.2 – 161.5 °C.

(3*S*,4*R*,5*S*)-((*N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonyl))-cyclopent-1-ene-4,5-diol (22**)**



Zu einer Lösung des Fmoc-geschützten Cyclopentens **21** (3.56 g, 9.44 mmol) in Eisessig (60 mL) wurden Wasser (12 mL) und EtOAc (21 mL) gegeben und 24 h bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde Kieselgel zugegeben und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 10:1) konnte 2.81 g (8.33 mmol, 88%) **22** als farbloser Feststoff erhalten werden.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.47.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 7.89 (d, ³J_{H4'',H3''} = 7.5 Hz, 2H; C4''H), 7.71 (d, ³J_{H1'',H2''} = 7.4, 2H; C1''H), 7.47 – 7.39 (m, 3H; NH, C3''H), 7.37 – 7.30 (m, 2H; C2''H), 5.87 – 5.82 (m, 1H; C1'H), 5.72 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.1, ⁴J_{H2',H5'} = 1.4 Hz, 1H; C2'H), 4.65 (d, ³J_{C5'-OH,H5'} = 6.0 Hz, 1H; C5'-OH), 4.60 (d, ³J_{C4'-OH,H4'} = 6.9 Hz, 1H; C4'-OH), 4.40 – 4.28 (m, 4H; C3'H, C5'H, OCH₂CH), 4.26 – 4.19 (m, 1H; OCH₂CH), 3.77 (dt, ³J_{H4',C4'-OH} = 6.5, ³J_{H4',H5'} = ³J_{H4',H3'} = 5.6 Hz, 1H; C4'H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 156.0 (NHCO), 143.9 (2C; C4''b), 140.7 (2C; C4''a), 134.9 (C2'), 133.7 (C1'), 127.6 (2C; C3''), 127.0 (2C; C2''), 125.2 (2C; C1''), 120.1 (2C; C4''), 75.7 (C4'), 72.5 (C5'), 65.3 (OCH₂CH), 61.4 (C3'), 46.7 (OCH₂CH).

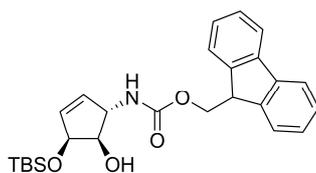
IR: $\tilde{\nu}$ = 3390 (*bw*), 3303 (*m*), 3060 (*w*), 3017 (*w*), 2958 (*w*), 1690 (*s*), 1540 (*s*), 1320 (*w*), 1252 (*m*), 1104 (*m*), 1092 (*m*), 1050 (*m*), 762 (*w*), 737 (*s*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₁₉O₄N + Na]⁺: 360.1206, gef.: 360.1206.

$[\alpha]_D^{22} := 126.4^\circ$ ($c = 0.007$, MeOH).

Schmelzpunkt: 158.3 – 158.9 °C (Zersetzung).

(3*S*,4*R*,5*S*)-(N-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonyl)-5-*O*-*tert*-butyldimethylsilylcyclopent-1-en-4,5-diol (24**)**



Das Diol **22** (2.81 g, 8.34 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (50 mL) gelöst und auf -55°C gekühlt. Nach Zugabe von TBSOTf (2.3 mL, 9.81 mmol, 1.2 eq.) ließ man die Lösung für 15 min bei $-50 - -55^\circ\text{C}$ rühren und stürzte sie anschließend auf gesättigte wässrige NaHCO_3 -Lösung (500 mL). Die milchig weiße Suspension wurde mit CH_2Cl_2 viermal extrahiert, die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 7:1) lieferte 2.37 g (5.25 mmol, 63%) **24** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.67$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27°C): $\delta = 7.89$ (d, $^3J_{\text{H}4'',\text{H}3''} = 7.5$ Hz, 2H; C4''H), 7.71 (d, $^3J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 7.5$ Hz, 2H; C1''H), 7.45 (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 8.4$ Hz, 1H; NH), 7.42 (t, $^3J_{\text{H}3'',\text{H}2''} = ^3J_{\text{H}3'',\text{H}4''} = 7.4$ Hz, 2H; C3''H), 7.33 (t, $^3J_{\text{H}2'',\text{H}1''} = ^3J_{\text{H}2'',\text{H}3'} = 7.4$ Hz, 2H; C2''H), 5.85 (dt, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.0$, $^3J_{\text{H}1',\text{H}5'} = ^4J_{\text{H}1,\text{H}3} = 2.2$ Hz, 1H; C1'H), 5.76 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.1$, $^4J_{\text{H}2',\text{H}5'} = 1.5$ Hz, 1H; C2'H), 4.49 (dd, $^3J_{\text{H}5',\text{H}4'} = 5.0$, $^4J_{\text{H}5',\text{H}2'} = 2.0$ Hz, 1H; C5'H), 4.36 (m, 1H; C3'H), 4.31 (m, 3H; OCH_2CH , C4'-OH), 4.22 (t, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH},\text{OCH}_2\text{CH}} = 6.9$ Hz, 1H; OCH_2CH), 3.75 (m, 1H; C4'H), 0.87 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.08 (s, 3H; SiCH_3), 0.06 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , 27°C): $\delta = 156.1$ (NHCO), 143.9 (C4''b), 143.8 (C4''b), 140.7 (2C; C4''a), 135.9 (C2'), 132.9 (C1'), 127.6 (2C; C3''), 127.0 (2C; C2''), 125.1 (2C; C1''), 120.1 (2C; C4''), 75.8 (C4'), 74.3 (C5'), 65.3 (OCH_2CH), 60.8 (C3'), 46.7 (OCH_2CH), 25.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.6 (SiCH_3), -4.6 (SiCH_3).

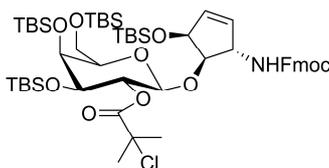
IR: $\tilde{\nu}$ = 3437 (*bw*), 3315 (*m*), 3062 (*w*), 2953 (*m*), 2929 (*m*), 2888 (*m*), 2858 (*m*), 1691 (*s*), 1679 (*s*), 1529 (*s*), 1250 (*m*), 1240 (*m*), 1081 (*m*), 1017 (*m*), 1050 (*m*), 835 (*m*), 779 (*m*), 762 (*w*), 737 (*s*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₆H₃₃NO₄Si + Na]⁺: 474.2071, gef.: 474.2070.

$[\alpha]_D^{22}$: = 120.4° (*c* = 0.012, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 88.2 – 90.2 °C.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-(*N*-(9*H*-Fluoren-9-yl)methoxycarbonyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-*O*-(2-chloroisobutyryl)- β -D-galactopyranose (27)



Eine Lösung des Galaktosedonors **12** (2.20 g, 2.85 mmol, 1.0 eq.) in *n*-Hexan (150 mL) wurde unter Argonatmosphäre mit Fmoc-geschütztem Cyclopenten **24** (2.18 g, 4.83 mmol, 1.7 eq.), CH₂Cl₂ (12 mL) und MS 3Å versetzt und gerührt. Nach 2 h wurde 2-Chlor-6-methylpyridiniumtriflat (0.08 g, 0.29 mmol, 0.1 eq.) zugegeben und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde durch einen Microfilter in gesättigte NaHCO₃-Lösung filtriert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3 × 60 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung des öligen Rückstands durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 30:1 → 10:1) wurde 2.06 g (1.94 mmol, 68%) **27** als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (8:1)]: R_f = 0.31.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.79 – 7.75 (m, 2H; C4''H), 7.62 – 7.58 (m, 2H; C1''H), 7.43 – 7.38 (m, 2H; C3''H), 7.35 – 7.29 (m, 2H; C2''H), 5.91 – 5.86 (m, 1H; C1'H), 5.80 – 5.75 (m, 1H; C2'H), 5.29 (dd, ³J_{H2,H3} = 9.7, ³J_{H2,H1} = 8.0 Hz, 1H; C2H), 4.86 (d, ³J_{NH,H3'} = 7.4 Hz, 1H; NH), 4.73 (d, ³J_{H1,H2} = 8.0 Hz, 1H; C1H), 4.69 – 4.60 (m, 2H; C3'H, C5'H),

4.42 (d, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH},\text{OCH}_2\text{CH}} = 6.6$ Hz, 2H; OCH_2CH), 4.24 (t, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH},\text{OCH}_2\text{CH}} = 6.9$ Hz, 1H; OCH_2CH), 4.07 – 4.01 (m, 1H; C4'H), 3.98 (d, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 2.1$ Hz, 1H; C4H), 3.73 (dd, $^2J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 9.9$, $^3J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 7.5$ Hz, 1H; C6Ha), 3.71 – 3.68 (m, 1H; C6Hb), 3.66 (dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.0$, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.3$ Hz, 1H; C3H), 3.44 – 3.38 (m, 1H; C5H), 1.77 (s, 6H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 0.93 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.89 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.86 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.20 (s, 3H; SiCH_3), 0.10 (s, 3H; SiCH_3), 0.08 (s, 3H; SiCH_3), 0.07 (3s, 9H; SiCH_3), 0.06 (s, 3H; SiCH_3), 0.05 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 170.5$ ($\text{COC}(\text{CH}_3)_2$), 155.7 (NHCO), 144.0 (C4''b), 143.8 (C4''b), 141.4 (C4''a), 141.3 (C4''a), 134.7 (C1'), 133.4 (C2'), 127.7 (2C; C3''), 127.0 (2C; C2''), 125.0 (C1''), 124.9 (C1''), 120.0 (2C; C4''), 100.5 (C1), 81.0 (C4'), 75.8 (C5), 74.3 (C2), 74.0 (C3), 73.7 (C5'), 71.4 (C4), 66.6 (OCH_2CH), 65.2 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 61.4 (C6), 59.8 (C3'), 47.2 (OCH_2CH), 30.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_3$), 26.2 ($2 \times 3\text{C}$; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 (3C ; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.8 (3C ; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.4 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 (2C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -3.6 (SiCH_3), -3.8 (SiCH_3), -4.2 (SiCH_3), -4.6 (SiCH_3), -4.7 (SiCH_3), -5.0 (SiCH_3), -5.2 (SiCH_3), -5.3 (SiCH_3).

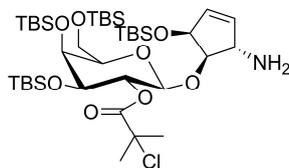
IR: $\tilde{\nu} = 3343$ (bw), 2953 (s), 2929 (s), 2886 (m), 2856 (s), 1746 (m), 1723 (m), 1711 (m), 1513 (w), 1471 (m), 1462 (m), 1390 (w), 1362 (w), 1251 (s), 1164 (m), 1113 (s), 1070 (s), 833 (s), 774 (s), 740 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{54}\text{H}_{90}\text{O}_{10}\text{NClSi}_4 + \text{NH}_4]^+$: 1077.5669, gef.: 1077.5672.

$[\alpha]_D^{22} = 28.1^\circ$ ($c = 0.001$, CHCl_3).

Schmelzpunkt: 67.1 – 68.6 °C.

1-O-((3S,4R,5S)-(3-Amino-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-O-tert-butyldimethylsilyl-2-O-(2-chlorisobutyryl)-β-D-galactopyranose (28)



Das Galaktosid **27** (144 mg, 136 μmol, 1.0 eq.) wurde in Acetonitril (6 mL) gelöst, mit DBU (0.9 mL, 6.02 mmol) versetzt und 1.25 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 5:1 → 4:1) gereinigt. Man erhielt 87 mg (104 μmol, 76%) **28** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.05$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 5.80$ (dt, $^3J_{H1',H2'} = 6.0$, $^3J_{H1',H5'} = ^4J_{H1',H3'} = 2.4$ Hz, 1H; C1'H), 5.73 (d, $^3J_{H2',H1'} = 6.0$ Hz, 1H; C2'H), 5.31 (t, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = 8.3$ Hz, 1H; C2H), 4.82 (d, $^3J_{H1,H2} = 7.9$ Hz, 1H; C1H), 4.51 (ddd, $^3J_{H5',H4'} = 5.3$, $^3J_{H5',H1'} = 2.7$, $^4J_{H5',H2'} = 0.9$ Hz, 1H; C5'H), 4.02 – 3.98 (m, 2H; C4H, C3'H), 3.75 – 3.67 (m, 3H; C3H, C6Ha, C6Hb), 3.65 (t, $^3J_{H4',H5'} = ^3J_{H4',H3'} = 5.6$ Hz, 1H; C4'H), 3.40 (t, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.6$ Hz, 1H; C5H), 1.80 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.79 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 0.93 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.90 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.84 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.20 (s, 3H; SiCH₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (4s, 12H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.6$ (COCCl(CH₃)₂), 138.4 (C2'), 132.0 (C1'), 101.5 (C1), 86.4 (C4'), 75.9 (C5), 74.9 (C5'), 74.1 (C3), 73.9 (C2), 71.5 (C4), 65.1 (CCl(CH₃)₂), 61.6 (C6), 59.8 (C3'), 30.8 (CCl(CH₃)₂), 30.5 (CCl(CH₃)₂), 26.2 (6C; SiC(CH₃)₃), 26.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.6 (SiC(CH₃)₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (2C; SiC(CH₃)₃), -3.6 (SiCH₃), -3.9 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.6 (2C; SiCH₃), -4.9 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃).

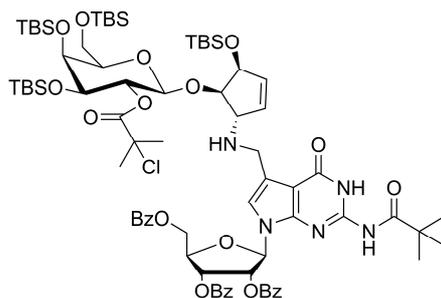
IR: $\tilde{\nu} = 2953$ (s), 2929 (s), 2886 (s), 2857 (s), 1749 (m), 1472 (m), 1463 (m), 1388 (w), 1362 (w), 1252 (s), 1114 (s), 1068 (s), 831 (s), 774 (s) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₃₉H₈₀O₈NCISi₄ + H]⁺: 838.4722, gef.: 838.4724.

[α]_D²²: = 88.0° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 46.5 – 50.5 °C.

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(3,4,6-tri-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)-2-*O*-(2-chloriso-butryl)- β -D-galactopyranosyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-3-yl)amino)-methyl)-2-pivaloylamino-2',3',5'-tri-*O*-benzoylguanosin (30)



Das Amin **28** (150 mg, 179 μ mol, 1.2 eq.) und das 7-Formyl-desazaguanosin **29** (105 mg, 145 μ mol, 1.0 eq.) wurden in Benzol (2 mL) gelöst und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der erhaltene Schaum ohne weitere Aufarbeitung in Methanol (2 mL) gelöst. Nach Kühlung der Lösung auf 0 °C wurde NaBH₄ (20 mg, 0.53 mmol, 3.6 eq.) zugegeben und die Lösung für 1 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (0.15 mL) abgebrochen, weitere 10 min bei 0 °C gerührt und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 5:1 \rightarrow 2:1) des schwarzbraunen Rückstands lieferten 129 mg (83 μ mol, 57%) **30** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.53$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 11.60$ (s, 1H; NHCO), 8.72 (s, 1H; NHCOC(CH₃)₃), 8.02 – 7.98 (m, 2H; ArH), 7.92 – 7.89 (m, 2H; ArH), 7.80 – 7.77 (m, 2H; ArH), 7.63 – 7.51 (m, 3H; ArH), 7.47 – 7.43 (m, 2H; ArH), 7.39 – 7.35 (m, 2H; ArH), 7.34 – 7.30 (m, 2H; ArH), 6.93 (dd, ³ $J_{H3',H4'}$ = 8.3, ³ $J_{H3',H2'}$ = 5.0 Hz, 1H; C3'H), 6.76 (s, 1H; C8H), 6.49 (dd, ³ $J_{H2',H3'}$ = 5.0, ³ $J_{H2',H1'}$ = 1.8 Hz, 1H; C2'H), 6.01 (d, ³ $J_{H1',H2'}$ = 1.8 Hz, 1H; C1'H), 5.89 (dd, ³ $J_{H2'',H1''}$ = 6.2, ⁴ $J_{H2'',H5''}$ = 1.4 Hz, 1H; C2''H), 5.80 – 5.77 (m, 1H; C1''H), 5.27 (dd, ³ $J_{H2''',H3'''}$ = 10.0, ³ $J_{H2''',H1'''}$ = 7.9 Hz, 1H; C2'''H), 4.93 (d, ³ $J_{H1''',H2'''}$ = 7.8 Hz, 1H; C1'''H), 4.77 (dt, ³ $J_{H4',H3'}$ = 8.3, ³ $J_{H4',H5'a}$ = ³ $J_{H4',H5'b}$ = 3.2 Hz, 1H; C4'H), 4.71 (dd, ² $J_{H5'a,H5'b}$ = 12.4, ³ $J_{H5'a,H4'}$ = 3.2 Hz, 1H; C5'Ha), 4.64 (dd, ² $J_{H5'b,H5'a}$ = 12.4, ³ $J_{H5'b,H4'}$ = 3.3 Hz, 1H; C5'Hb), 4.59 (dd, ³ $J_{H5'',H4''}$ = 5.2, ⁴ $J_{H5'',H2''}$ = 1.9 Hz, 1H; C5''H), 4.04 – 4.00 (m, 2H; C4''H, C4'''H), 3.95 – 3.89 (m, 2H;

NHCH₂, C3''H), 3.81 – 3.76 (m, 2H; NHCH₂, C3'''H), 3.73 (dd, ²J_{H6'''a,H6'''b} = 9.9, ³J_{H6'''a,H5'''} = 7.8 Hz, 1H; C6'''Ha), 3.70 (dd, ²J_{H6'''b,H6'''a} = 9.9, ³J_{H6'''b,H5'''} = 6.0 Hz, 1H; C6'''Hb), 3.51 – 3.46 (m, 1H; C5'''H), 1.72 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.68 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.35 (s, 9H; COC(CH₃)₃), 0.93 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.88 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.84 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.20 (s, 3H; SiCH₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃), 0.08 (s, 3H; SiCH₃), 0.07 (s, 3H; SiCH₃), 0.06 (s, 3H; SiCH₃), 0.05 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 179.9 (COC(CH₃)₃), 170.6 (COCCl(CH₃)₂), 166.1 (ArCO), 166.0 (ArCO), 165.1 (ArCO), 157.7 (C6), 146.9 (C4), 145.2 (C2), 135.0 (C2''), 133.7 (2C; Ar), 133.4 (Ar), 132.9 (C1''), 129.8 (2C; Ar), 129.7 (2C; Ar), 129.3 (2C; Ar), 129.1 (Ar), 128.9 (Ar), 128.8 (Ar), 128.6 (2C; Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 120.2 (C8), 120.0 (C7), 105.3 (C5), 100.3 (C1'''), 89.4 (C1'), 80.9 (C4''), 78.2 (C4'), 75.4 (C5'''), 74.8 (C5''), 74.6 (C2'), 74.1 (C2'''), 74.0 (C3'''), 71.5 (C4'''), 70.7 (C3'), 65.9 (C3''), 65.1 (CCl(CH₃)₂), 61.8 (C5'), 61.4 (C6'''), 43.2 (NHCH₂), 40.2 (COC(CH₃)₃), 30.5 (CCl(CH₃)₂), 30.4 (CCl(CH₃)₂), 26.9 (3C; COC(CH₃)₃), 26.2 (6C; SiC(CH₃)₃), 26.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.6 (SiC(CH₃)₃), 18.5 (SiC(CH₃)₃), 18.1 (2C; SiC(CH₃)₃), -3.6 (SiCH₃), -3.8 (SiCH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃), -5.1 (SiCH₃), -5.2 (SiCH₃), -5.3 (SiCH₃).

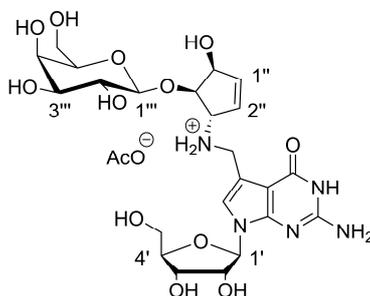
IR: $\tilde{\nu}$ = 3352 (w), 3218 (bw), 2953 (s), 2928 (s), 2888 (s), 2856 (s), 1728 (m), 1676 (s), 1608 (m), 1472 (w), 1451 (m), 1388 (w), 1251 (s), 1152 (w), 1115 (s), 1069 (s), 1026 (w), 832 (s), 776 (s), 708 (m), 670 (w) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₇₇H₁₁₄O₁₇N₅ClSi₄ + H]⁺: 1528.7048, gef.: 1528.7044.

[α]_D²²: = 39.9° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 93.4 – 95.3 °C.

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(β -D-galactopyranosyl)-5-hydroxy-cyclopent-1-en-3-yl)-amino)methyl)guanosin (galQ) (1)



Eine Lösung des Nukleosids **30** (85 mg, 55 μ mol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (2 mL) wurde mit Triethylamintrihydrofluorid (0.3 mL) versetzt und 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde anschließend mit Methoxytrimethylsilan (1 mL) gestoppt und nach 1 h das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Das erhaltene desilylierte Zwischenprodukt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen. Ohne weitere Aufreinigung wurde der erhaltene Feststoff in einer Lösung aus NaOMe in Methanol (0.5M, 3 mL) gelöst und weitere 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde vorsichtig mit HCl (2M) neutralisiert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Aufreinigung mittels HPLC lieferte insgesamt 15 mg eines 2.5:1-Gemischs aus dem Acetatsalz von galQ (**1**) (28%) und Triethylammoniumacetat.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/10 *Nucleosil*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 45 min, Fluss 5 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 25.2$ min.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 7.13$ (s, 1H; C8H), 6.17 (ddd, $^3J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 6.3$, $^3J_{\text{H}1'',\text{H}5''} = 2.6$, $^4J_{\text{H}1'',\text{H}3''} = 2.2$ Hz, 1H; C1''H), 6.11 (dd, $^3J_{\text{H}2'',\text{H}1''} = 6.4$, $^4J_{\text{H}2'',\text{H}5''} = 1.5$ Hz, 1H; C2''H), 5.93 (d, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 5.9$ Hz, 1H; C1'H), 4.69 (ddd, $^3J_{\text{H}5'',\text{H}4''} = 5.2$, $^3J_{\text{H}5'',\text{H}1''} = 2.8$, $^4J_{\text{H}5'',\text{H}2''} = 1.3$ Hz, 1H; C5''H), 4.49 (d, $^3J_{\text{H}1''',\text{H}2''' } = 7.7$ Hz, 1H; C1'''H), 4.43 (t, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 5.6$ Hz, 1H; C2'H), 4.31 (s, 2H; NHCH_2), 4.31 – 4.29 (m, 1H; C3''H), 4.23 (dd, $^3J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 5.3$, $^3J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.6$ Hz, 1H; C3'H), 4.19 (dd, $^3J_{\text{H}4'',\text{H}3''} = 6.2$, $^3J_{\text{H}4'',\text{H}5''} = 5.4$ Hz, 1H; C4''H), 4.03 (q, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'a} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'b} = 3.4$ Hz, 1H; C4'H), 3.85 (dd, $^3J_{\text{H}4''',\text{H}3'''} = 3.3$, $^3J_{\text{H}4''',\text{H}5'''} = 0.6$ Hz, 1H; C4'''H), 3.81 (dd, $^2J_{\text{H}5'a,\text{H}5'b} = 12.2$, $^3J_{\text{H}5'a,\text{H}4'} = 3.1$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.76 (dd, $^2J_{\text{H}6''',\text{H}6''b} = 11.2$, $^3J_{\text{H}6''',\text{H}5'''} = 7.0$ Hz, 1H; C6'''Ha), 3.73 (dd, $^2J_{\text{H}6''b,\text{H}6''a} = 11.2$, $^3J_{\text{H}6''b,\text{H}5'''} = 5.1$ Hz, 1H; C6'''Hb), 3.72 (dd, $^2J_{\text{H}5'b,\text{H}5'a} = 12.2$, $^3J_{\text{H}5'b,\text{H}4'} = 3.6$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.64 (dd, $^3J_{\text{H}2''',\text{H}3'''} = 9.7$,

$^3J_{\text{H2}''',\text{H1}'''} = 7.6 \text{ Hz}$, 1H; C2'''H), 3.62 (ddd, $^3J_{\text{H5}''',\text{H6}'''\text{a}} = 6.9$, $^3J_{\text{H5}''',\text{H6}'''\text{b}} = 5.2$, $^3J_{\text{H5}''',\text{H4}'''} = 1.2 \text{ Hz}$, 1H; C5'''H), 3.52 (dd, $^3J_{\text{H3}''',\text{H2}'''} = 9.7$, $^3J_{\text{H3}''',\text{H4}'''} = 3.3 \text{ Hz}$, 1H; C3'''H), 1.94 (s, 3H, CO₂CH₃⁻).

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 162.4$ (C6), 154.4 (C2), 153.8 (C4), 136.9 (C1''), 131.5 (C2''), 120.2 (C8), 111.9 (C7), 105.5 (C1'''), 100.6 (C5), 89.7 (C1'), 86.6 (C4'), 84.8 (C4''), 77.0 (C5'''), 75.8 (C2'), 74.8 (C5''), 74.6 (C3'''), 72.4 (C2''), 72.2 (C3'), 70.3 (C4''), 65.8 (C3''), 63.3 (C5'), 62.4 (C6'''), 43.7 (NCH₂), 22.3 (CO₂CH₃⁻).

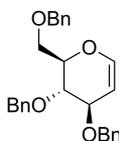
IR: $\tilde{\nu} = 3331$ (bw), 2934 (bw), 1682 (m), 1657 (s), 1616 (m), 1504 (w), 1452 (m), 1371 (w), 1325 (w), 1139 (m), 1162 (m), 1094 (m), 1072 (s), 1052 (m), 1027 (w), 976 (m), 866 (w), 801 (w), 745 (s), 726 (w).

HRMS (ESI⁻) *m/z*: ber. für [C₂₃H₃₃O₁₂N₅ + Cl]⁻: 606.1820, gef.: 606.1820.

Zur Stabilisierung von galQ (**1**) gegen Zersetzung wurde nach HPL-chromatographischer Aufreinigung das Acetatsalz des Nukleosids im Gemisch mit Triethylammoniumacetat isoliert. Deshalb wurde von der Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts abgesehen.

4.2.2 Synthese von β -Mannosylqueuosin (**31**)

3,4,6-Tri-*O*-benzylglucal (**37**)^[178]



D-(+)-Glucal **36** (2.63 g, 18.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (45 mL) gelöst und bei 0 °C mit Natriumhydrid (60% in Öl, 4.32 g, 108.08 mmol, 6.0 eq.) versetzt. Nach Ende der H₂-Entwicklung wurde Benzylbromid (10 mL, 84.08 mmol, 4.7 eq.) langsam zugetropft und 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde nach 20 h Rühren bei Raumtemperatur mit gesättigter wässriger NH₄Cl-Lösung abgebrochen. Die Suspension wurde mit Wasser (450 mL) verdünnt und die wässrige Phase mit Diethylether (4 × 150 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde je einmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO₄ wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt

und der ölige Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 9:1 → 4:1) aufgereinigt. Es wurden 6.92 g (16.61 mmol, 92%) **37** als farbloser Feststoff erhalten.

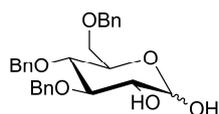
DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.42$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.37 - 7.24$ (m, 15H; ArH), 6.44 (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 6.1$ Hz, 1H; C1H), 4.89 (dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 6.1$, $^3J_{\text{H2,H3}} = 2.3$ Hz, 1H; C2H), 4.85 (d, $^2J_{\text{PhCH2a,PhCH2b}} = 11.3$ Hz, 1H; PhCHa), 4.68 – 4.62 (m, 2H; PhCHb, PhCHc), 4.61 – 4.55 (m, 3H; PhCHd, PhChe, PhCHf), 4.24 – 4.21 (m, 1H; C3H), 4.08 (ddd, $^3J_{\text{H5,H4}} = 8.2$, $^3J_{\text{H5,H6a}} = 5.0$, $^3J_{\text{H5,H6b}} = 2.9$ Hz, 1H; C5H), 3.88 (dd, $^3J_{\text{H4,H5}} = 8.6$, $^3J_{\text{H4,H3}} = 6.2$ Hz, 1H; C4H), 3.83 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.7$, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.0$ Hz, 1H; C6Ha), 3.78 (dd, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 10.7$, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 2.9$ Hz, 1H; C6Hb).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 144.7$ (C1), 138.3 (Ar), 138.2 (Ar), 138.0 (Ar), 128.4 (4C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 127.9 (2C; Ar), 127.8 (2C; Ar), 127.7 (3C; Ar), 127.6 (2C; Ar), 99.9 (C2), 76.8 (C5), 75.7 (C3), 74.4 (C4), 73.7 (PhCH₂), 73.5 (PhCH₂), 70.4 (PhCH₂), 68.5 (C6).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_4 + \text{Na}]^+$: 439.1880, gef.: 439.1879.

3,4,6-Tri-*O*-benzylglucopyranose (**38**)^[164]



Das Glukal **37** (6.89 g, 16.54 mmol, 1.0 eq.) wurde in einem Gemisch aus THF (54 mL), *tert*-Butanol (23 mL) und Wasser (7.7 mL) gelöst, mit NMO (5.81 g, 49.59 mmol, 3 eq.) und $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (0.31 g, 0.84 mmol, 0.05 eq.) versetzt und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Wasser (165 mL) verdünnt, mit Na_2SO_3 (10.42 g, 5.0 eq.) versetzt und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach weiterer Zugabe von Wasser (165 mL) wurde die wässrige Suspension mit EtOAc (4 × 200 mL) extrahiert und die organische Phase einmal mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO_4 wurde das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung des öligen Rückstandes mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 2:1 → 1:1) wurde 6.52 g (14.47 mmol, 87%) **38** als untrennbares Gemisch beider Anomere ($\alpha/\beta = 2.5:1$) in Form eines amorphen farblosen Feststoffs erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.15$ (α und β).

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.39 - 7.25$ (m, 13H; ArH), 7.19 – 7.14 (m, 2H; ArH), 5.25 (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.7$ Hz, 1H; C1H), 4.92 – 4.79 (m, 3H; PhCH₂), 4.62 – 4.48 (m, 3H; PhCH₂), 4.06 (dt, $^3J_{\text{H5,H4}} = 9.8$, $^3J_{\text{H5,H6a}} = ^3J_{\text{H5,H6b}} = 3.5$ Hz, 1H; C5H), 3.80 (t, $^3J_{\text{H3,H2}} = ^3J_{\text{H3,H4}} = 9.1$ Hz, 1H; C3H), 3.73 – 3.61 (m, 3H; C2H, C6Ha, C6Hb), 3.61 – 3.50 (m, 1H; C4H), 2.55 (s, 1H; C1-OH), 2.26 (s, 1H; C2-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 138.5$ (Ar), 138.0 (Ar), 137.7 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (4C; Ar) 128.0 (2C; Ar), 127.9 (5C; Ar), 127.8 (2C; Ar), 92.4 (C1), 82.5 (C3), 77.7 (C4), 75.3 (PhCH₂), 74.9 (PhCH₂), 73.5 (PhCH₂), 72.8 (C2), 70.5 (C5), 68.8 (C6).

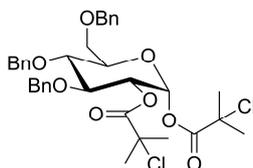
β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.39 - 7.25$ (m, 13H; ArH), 7.19 – 7.14 (m, 2H; ArH), 4.92 – 4.79 (m, 3H; PhCH₂), 4.62 – 4.48 (m, 4H; PhCH₂, C1H), 3.73 – 3.61 (m, 2H; C6Ha, C6Hb), 3.61 – 3.50 (m, 3H; C3H, C4H, C5H), 3.50 – 3.44 (m, 1H; C2H), 2.55 (s, H; C1-OH), 2.26 (s, 1H; C2-OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 138.5$ (Ar), 137.9 (Ar), 137.7 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (4C; Ar) 128.0 (3C; Ar), 127.9 (4C, Ar), 127.8 (Ar), 127.7 (Ar), 96.7 (C1), 84.3 (C3), 77.6 (C4), 75.6 (C2), 75.3 (PhCH₂), 75.2 (PhCH₂), 74.8 (C5), 73.5 (PhCH₂), 68.8 (C6).

HRMS (Anomerengemisch, ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_6 + \text{Na}]^+$: 823.1026, gef.: 823.1028.

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-1,2-di-*O*-(2-chlor)isobutyryl-D-glucopyranose (**39**)^[162]



Das Diol **38** (6.00 g, 13.32 mmol, 1.0 eq.) wurde in CH_2Cl_2 (110 mL) gelöst, mit einer Lösung aus 2-Chlorisobuttersäure **10** (4.11 g, 33.50 mmol, 2.5 eq.) in CH_2Cl_2 (20 mL) und DMAP (100 mg, 0.82 mmol, 0.06 eq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (4.95 mL, 31.97 mmol, 2.4 eq.) wurden tropfenweise zugegeben und weitere

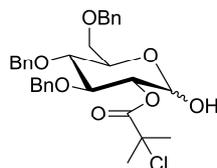
30 min bei 0 °C gerührt. Nach 2.5 h bei Raumtemperatur wurde präzipitiertes Harnstoffderivat abfiltriert, das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand in wenig eiskaltem Aceton aufgenommen und Isohexan zugegeben. Ausgefallenes Harnstoffderivat wurde abfiltriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Nach Aufnahme des Rückstands in Diethylether (250 mL) wurde das Harnstoffderivat erneut abfiltriert und die organische Phase mit HCl (1M, 3 × 50 mL,) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit wenig Diethylether einmal rückextrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden je einmal mit gesättigter wässriger NaHCO₃-Lösung und gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 19:1 → 9:1) erhielt man 5.99 g (9.08 mmol, 68%) **39** als farbloses Öl.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.52$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 7.41 - 7.31$ (m, 13H; ArH), 7.23 – 7.20 (m, 2H; ArH), 6.48 (d, $^3J_{H1,H2} = 3.6$ Hz, 1H; C1H), 5.19 (dd, $^3J_{H2,H3} = 10.0$, $^3J_{H2,H1} = 3.6$, Hz, 1H; C2H), 4.95 (d, $^2J_{PhCHa,PhCHb} = 11.0$ Hz, 1H; PhCHa), 4.89 (d, $^2J_{PhCHb,PhCHa}$ bzw. $^2J_{PhCHc,PhCHd} = 10.9$ Hz, 2H; PhCHa, PhCHc), 4.67 (d, $^2J_{PhChe,PhChf} = 12.1$ Hz, 1H; PhChe), 4.62 (d, $^2J_{PhCHd,PhCHc} = 10.7$ Hz, 1H; PhCHd), 4.56 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H; PhChf), 4.16 (pseudo t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.6$ Hz, 1H; C3H), 4.06 (ddd, $^3J_{H5,H4} = 10.2$, $^3J_{H5,H6a} = 3.2$, $^3J_{H5,H6b} = 2.0$ Hz, 1H; C5H), 3.94 (dd, $^3J_{H4,H5} = 10.0$, $^3J_{H4,H3} = 9.3$ Hz, 1H; C4H), 3.85 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 11.1$, $^3J_{H6a,H5} = 3.4$ Hz, 1H; C6Hab), 3.74 (dd, $^2J_{H6b,H6a} = 11.1$, $^3J_{H6b,H5} = 1.9$ Hz, 1H; C6Hb), 1.86 (s, 3H; CH₃), 1.85 (s, 3H; CH₃), 1.78 (s, 6H; CH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.5$ (COCCl(CH₃)₂), 169.5 (COCCl(CH₃)₂), 137.8 (Ar), 137.6 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.3 (4C; Ar), 128.0 (2C; Ar), 127.9 (Ar), 127.8 (2C; Ar), 127.7 (2C; Ar), 127.6 (2C; Ar), 90.7 (C1), 79.2 (C3), 76.8 (C4), 75.4 (PhCH₂), 75.3 (PhCH₂), 73.6 (C2), 73.4 (2C; C5, PhCH₂), 67.7 (C6), 64.2 (CCl(CH₃)₂), 64.1 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (2C; CH₃), 29.5 (2C; CH₃).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₃₅H₄₀O₈Cl₂ + NH₄]⁺: 676.2438, gef.: 676.2445.

3,4,6-Tri-*O*-benzyl-2-*O*-(2-chlor)isobutyryl-D-glucopyranose (40)^[162]

Diester **39** (5.72 g, 8.67 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (78 mL) gelöst und bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit Hydraziniumacetat (0.65 g, 7.04 mmol, 0.8 eq.) versetzt. Man ließ innerhalb von 30 min auf $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufwärmen und rührte weitere 3.25 h bei Raumtemperatur. Die Reaktionslösung wurde in Wasser (800 mL) gestürzt und die milchige Suspension mit Diethylether ($3 \times 150\text{ mL}$) extrahiert. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Die Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 9:1 \rightarrow 2:1) lieferte 2.11 g (3.80 mmol, 44%) **40** als amorphen farblosen Feststoff. Das Produkt wurde als untrennbares Gemisch beider Anomere (nahezu ausschließlich die α -konfigurierte Verbindung) isoliert.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.12$ (α und β).

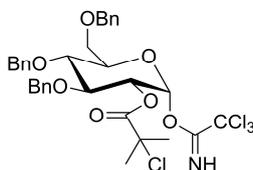
α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 7.37 - 7.27$ (m, 13H; ArH), 7.19 – 7.13 (m, 2H; ArH), 5.48 (t, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{C1-OH,H1}} = 3.4\text{ Hz}$, 1H; C1H), 4.93 – 4.76 (m, 4H; C2H, PhCH₂), 4.63 – 4.49 (m, 3H; PhCH₂), 4.20 – 4.09 (m, 2H; C3H, C5H), 3.69 – 3.59 (m, 4H; C4H, C6Ha, C6Hb, C1-OH), 1.80 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.78 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 171.0$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 138.2 (Ar), 137.9 (Ar), 137.6 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.3 (4C; Ar), 127.9 (2C; Ar), 127.8 (2C; Ar), 127.7 (2C; Ar), 127.6 (3C, Ar), 89.9 (C1), 79.4 (C3), 77.9 (C4), 75.4 (2C; PhCH₂, C2), 75.0 (PhCH₂), 73.4 (PhCH₂), 70.1 (C5), 68.6 (C6), 64.3 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.8 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.6 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

HRMS (ESI) m/z : ber. für $[\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{ClO}_7 + \text{Cl}]^-$: 589.1765, gef.: 589.1766.

3,4,6-Tri-O-benzyl-2-O-(2-chlor)isobutyryl- α -D-glucopyranosyl-1-O-trichloracetimidat (34)^[162]



Der Monoester **40** (2.77 g, 4.99 mmol, 1.0 eq.) wurde in CH₂Cl₂ (150 ml) gelöst, mit Cs₂CO₃ (1.03 g, 3.15 mmol, 0.6 eq.) und Trichloracetonitril (5.0 mL, 49.87 mmol, 10 eq.) versetzt und 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3 × 80 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 9:1) lieferte 3.04 g (4.35 mmol, 87%) **34** als farbloses Öl.

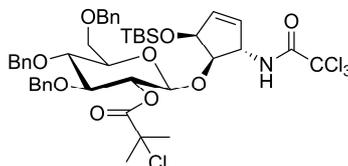
DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: R_f = 0.43.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 8.61 (s, 1H; NH), 7.36 – 7.26 (m, 13H; ArH), 7.19 – 7.12 (m, 2H; ArH), 6.62 (d, ³J_{H1,H2} = 3.6 Hz, 1H; C1H), 5.15 (dd, ³J_{H2,H3} = 10.0, ³J_{H2,H1} = 3.6 Hz, 1H; C2H), 4.91 (d, ²J_{PhHa,PhHb} = 10.9 Hz, 1H; PhCHa), 4.84 (d, ²J_{PhHb,PhHa} bzw. ²J_{PhHc,Phd} = 10.8 Hz, 2H; PhCHb, PhHc), 4.64 (d, ²J_{PhHe,PhHf} = 12.0 Hz, 1H; PhCHe), 4.57 (d, ²J_{PhHd,PhHc} = 10.7 Hz, 1H; PhCHd), 4.51 (d, ²J_{PhHf,PhHe} = 12.0 Hz, 1H; PhCHf), 4.18 (dd, ³J_{H3,H2} = 9.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 9.3 Hz, 1H; C3H), 4.09 – 4.04 (m, 1H; C5H), 3.91 (dd, ³J_{H4,H5} = 10.1, ³J_{H4,H3} = 9.2 Hz, 1H; C4H), 3.82 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 11.1, ³J_{H6a,H5} = 3.3 Hz, 1H; C6Ha), 3.70 (dd, ²J_{H6b,H6a} = 11.1, ³J_{H6b,H5} = 1.9 Hz, 1H; C6Hb), 1.73 (s, 3H; CH₃), 1.72 (s, 3H; CH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 170.7 (COCCl(CH₃)₂), 160.8 (HN=CCCl₃), 138.0 (Ar), 137.7 (2C; Ar), 128.4 (6C; Ar), 128.1 (2C; Ar), 127.9 (3C; Ar), 127.8 (Ar), 127.7 (3C; Ar), 93.4 (C1), 91.0 (CCl₃), 79.3 (C3), 76.9 (C4), 75.5 (PhCH₂), 75.4 (PhCH₂), 74.0 (C2), 73.5 (PhCH₂), 73.4 (C5), 67.8 (C6), 64.1 (CCl(CH₃)₂), 29.8 (CH₃), 29.6 (CH₃).

HRMS (ESI⁻) *m/z*: ber. für [C₃₃H₃₅Cl₄NO₇ + Cl]⁻: 732.0862, gef.: 732.0864.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-(*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-*O*-(2-chlorisobutyryl)- β -D-glucopyranose (41**)**



Eine Lösung des Zuckerdonors **34** (3.01 g, 4.30 mmol, 1.0 eq.) in *n*-Hexan (150 mL) wurde mit einer Lösung aus dem Cyclopenten **2** (2.94 g, 7.84 mmol, 1.8 eq.) in *n*-Hexan (50 mL) und MS 3Å versetzt. Nach 2 h wurde CMPOTf (0.12 g, 0.43 mmol, 0.1 eq.) zugegeben und weitere 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde durch einen Microfilter in gesättigte wässrige NaHCO₃-Lösung filtriert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3 × 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung des öligen Rückstands durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 30:1 → 10:1) wurde 4.24 g eines untrennbaren Gemischs des Produkts **41** und dem Cyclopenten **2** im Verhältnis 2:1 erhalten. Zur Durchführung der vollständigen Analytik wurde ein Teil des Gemisches mittels HPLC aufgereinigt. Es wurde ein zähflüssiges Öl erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: R_f = 0.39.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/21 *Nucleosil*): Puffersystem NP1, Gradient: 0% Puffer B → 20% Puffer B, 45 min, Fluss 25 mL/min, R_t = 28.18 min.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.35 – 7.16 (m, 15H; ArH), 6.71 (d, ³J_{NH,H3'} = 8.0 Hz, 1H; NH), 6.01 (ddd, ³J_{H1',H2'} = 6.1, ³J_{H1',H5'} = 2.5, ⁴J_{H1',H3'} = 2.0 Hz, 1H; C1'H), 5.80 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.1, ⁴J_{H2',H5'} = 1.9 Hz, 1H; C2'H), 5.08 (dd, ³J_{H2,H3} = 9.0, ³J_{H2,H1} = 8.0 Hz, 1H; C2H), 4.88 – 4.85 (m, 1H; C3'H), 4.79 (d, ²J_{PhCHa,PhCHb} = 11.0 Hz, 1H; PhCHa), 4.79 (d, ³J_{H1,H2} = 7.9 Hz, 1H; C1H), 4.76 (s, 2H; PhCH₂), 4.72 (ddd, ³J_{H5',H4'} = 5.5, ³J_{H5',H1'} = 2.5, ⁴J_{H5',H2'} = 1.0 Hz, 1H; C5'H), 4.58 (d, ²J_{PhCHc,PhCHd} = 12.1 Hz, 1H; PhCHc), 4.57 (d, ²J_{PhCHb,PhCHa} = 10.9 Hz, 1H; PhCHb), 4.52 (d, ²J_{PhCHd,PhCHc} = 12.1 Hz, 1H; PhCHd), 4.17 (t, ³J_{H4',H3'} = ³J_{H4',H5'} = 5.5 Hz, 1H; C4'H), 3.76 – 3.68 (m, 4H; C3H, C4H, C6H), 3.53 (ddd, ³J_{H5,H4} = 9.3, ³J_{H5,H6a} = 5.0, ³J_{H5,H6b} = 2.0 Hz, 1H; C5H), 1.78 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.75 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃).

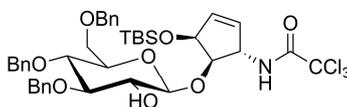
^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 169.7 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 161.4 (NHCO), 138.1 (Ar), 137.9 (2C; Ar), 135.9 (C1'), 131.7 (C2'), 128.4 (4C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 127.9 (2C; Ar), 127.8 (Ar), 127.6 (6C; Ar), 99.6 (C1), 92.4 (CCl_3), 83.1 (C3), 80.7 (C4'), 78.0 (C4), 75.3 (PhCH_2), 75.1 (C5), 75.0 (PhCH_2), 74.7 (C2), 74.3 (C5'), 73.3 (PhCH_2), 69.0 (C6), 64.7 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 60.7 (C3'), 29.8 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.7 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 25.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.4 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.4 (SiCH_3), -5.0 (SiCH_3).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3340 (*bw*), 2926 (*w*), 2881 (*w*), 2854 (*w*), 1751 (*m*), 1703 (*m*), 1514 (*m*), 1497 (*w*), 1453 (*m*), 1361 (*m*), 1269 (*m*), 1250 (*m*), 1154 (*m*), 1115 (*m*), 1092 (*s*), 1060 (*vs*), 1027 (*m*), 986 (*w*), 958 (*w*), 930 (*w*), 834 (*vs*), 820 (*w*), 777 (*m*), 734 (*s*), 696 (*vs*), 676 (*w*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{44}\text{H}_{55}\text{O}_9\text{NCl}_4\text{Si} + \text{H}]^+$: 932.2292, gef.: 932.2296.

$[\alpha]_D^{22}$: = 54.0° (*c* = 0.012, CHCl_3).

1-O-((3*S*,4*R*,5*S*)-((*N*-trichloracetyl)-5-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-3,4,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranose (42)



Das Gemisch aus Glykosid **41** und dem Cyclopenten **2** wurde in Methanol (15 mL) gelöst und mit einer Lösung aus NaOMe in Methanol (0.5M, 30 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Trockeneis neutralisiert und mit Kieselgel versetzt. Die Suspension wurde *in vacuo* zur Trockne eingeeengt und säulenchromatographisch aufgereinigt (Isohexan/EtOAc 30:1 \rightarrow 8:1). Es wurden 1.71 g (2.23 mmol, 49% über zwei Stufen) **42** als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: R_f = 0.25.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 7.41 – 7.26 (m, 13H; ArH), 7.19 – 7.16 (m, 2H; ArH), 6.84 (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.8$ Hz, 1H; NH), 6.03 (dt, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.2$, $^4J_{\text{H}1',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}1',\text{H}5'} = 2.3$ Hz, 1H; C1'H), 5.88 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.2$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 1.8$ Hz, 1H; C2'H), 5.03 – 4.98 (m, 2H; C3'H, PhCHa), 4.85 (d, $^2J_{\text{PhCHc},\text{PhCHd}} = 10.8$ Hz, 1H; PhCHc), 4.81 (d, $^2J_{\text{PhCHb},\text{PhCHa}} = 11.1$ Hz, 1H; PhCHb), 4.72 (ddd, $^3J_{\text{H}5',\text{H}4'} = 5.5$, $^3J_{\text{H}5',\text{H}1'} = 2.6$, $^5J_{\text{H}5',\text{H}3'} = 1.0$ Hz, 1H; C5'H), 4.56 – 4.51 (m,

4H; PhCHd, PhCHe, PhCHf, C1H), 4.11 (t, $^3J_{H4',H3'} = ^3J_{H4',H5'} = 5.6$ Hz, 1H; C4'H), 3.71 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.6$, $^3J_{H6a,H5} = 1.9$, 1H; C6Ha), 3.65 (dd, $^2J_{H6b,H6a} = 10.6$, $^3J_{H6b,H5} = 5.0$ Hz, 1H; C6Hb), 3.62 – 3.53 (m, 3H; C2H, C3H, C4H), 3.49 (ddd, $^3J_{H5,H4} = 9.4$, $^3J_{H5,H6b} = 4.9$, $^3J_{H5,H6a} = 1.8$ Hz, 1H; C5H), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 161.9 (NHCO), 138.6 (Ar), 138.0 (2C; Ar), 135.6 (C1'), 132.2 (C2'), 128.4 (4C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 128.1 (2C; Ar), 127.9 (2C; Ar), 127.7 (Ar), 127.6 (3C; Ar), 127.6 (Ar), 102.1 (C1), 92.3 (CCl₃), 84.4 (C3), 82.1 (C4'), 77.4 (C4), 75.2 (PhCH₂), 75.1 (PhCH₂), 75.0 (C5), 74.9 (C2), 74.3 (C5'), 73.3 (PhCH₂), 69.2 (C6), 60.3 (C3'), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.3 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃).

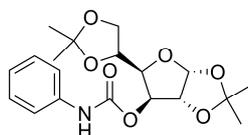
IR: $\tilde{\nu}$ = 3362 (*bw*), 2951 (*w*), 2926 (*w*), 2893 (*w*), (*w*), 2854 (*w*), 1694 (*m*), 1518 (*m*), 1497 (*w*), 1471 (*w*), 1453 (*w*), 1360 (*m*), 1251 (*m*), 1094 (*w*), 1059 (*vs*), 1027 (*m*), 984 (*w*), 955 (*w*), 937 (*w*), 834 (*vs*), 820 (*w*), 777 (*m*), 733 (*s*), 695 (*vs*), 675 (*w*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₄₀H₅₀NO₈Cl₃Si + NH₄]⁺: 823.2710, gef.: 823.2716.

[α]_D²²: = 59.7° (*c* = 0.003 mg, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 41.9 – 44.7 °C.

1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden-3-*O*-(*N*-phenylcarbamoyl)- α -D-glucofuranose (**52**)^[193]



Eine Lösung aus 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden- α -D-glucofuranose (**51**) (13.21 g, 50.75 mmol, 1.0 eq.) in Toluol (60 mL) wurde mit 4-DMAP (132 mg, 1.08 mmol, 0.02 eq.) und Phenylisocyanat (5.53 mL, 51.07 mmol, 1.0 eq.) versetzt und 3 h auf 100 °C erhitzt. Man ließ auf Raumtemperatur abkühlen und extrahierte die Mischung mit HCl (2M). Die organische Phase wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* erhielt man 17.47 g (46.05 mmol, 92%) **52** als farblosen Schaum.

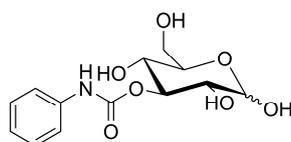
DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: R_f = 0.42.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.43 – 7.26 (m, 4H; ArH), 7.12 – 7.05 (m, 1H; ArH), 6.80 (s, 1H; NH), 5.89 (d, ³J_{H1,H2} = 3.7 Hz, 1H; C1H), 5.27 (d, ³J_{H3,H4} = 2.9 Hz, 1H; C3H), 4.65 (d, ³J_{H2,H1} = 3.7 Hz, 1H; C2H), 4.33 – 4.24 (m, 1H; C5H), 4.23 (dd, ³J_{H4,H5} = 8.1, ³J_{H4,H3} = 2.9 Hz, 1H; C4H), 4.10 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 8.6, ³J_{H6a,H5} = 5.7 Hz, 1H; C6Ha), 4.04 (dd, ²J_{H6b,H6a} = 8.7, ³J_{H6b,H5} = 4.8 Hz, 1H; C6Hb), 1.53 (s, 3H; CH₃), 1.43 (s, 3H; CH₃), 1.32 (s, 3H; CH₃), 1.31 (s, 3H; CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 151.9 (CONHPh), 137.3 (Ar), 129.1 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.7 (Ar), 112.3(C(CH₃)₂), 109.5 (C(CH₃)₂), 104.9 (C1), 83.4 (C2), 79.7 (C4), 77.0 (C3), 72.4 (C5), 67.2 (C6), 26.9 (CH₃), 26.7 (CH₃), 26.2 (CH₃), 25.3 (CH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₉H₂₅NO₇ + Na]⁺: 402.1523, gef.: 402.1522.

3-*O*-(*N*-Phenylcarbamoyl)-*D*-glucopyranose (**53**)^[193]



Eine Lösung des Zuckers **52** (16.24 g, 42.81 mmol) in Dioxan (90 mL) wurde mit H₂SO₄ (0.05M, 132 mL) versetzt und 7 h auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit festem K₂CO₃ neutralisiert und anschließend das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde in Methanol suspendiert, mit Kieselgel versetzt und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 7:1) wurde ein gelbes Öl erhalten, das mit wenig Methanol verdünnt und langsam in gerührtes CH₂Cl₂ (500 mL) getropft wurde. Der präzipitierte Feststoff wurde abfiltriert, mit CH₂Cl₂ und Diethylether gewaschen und anschließend getrocknet. Es wurden 10.46 g (34.95 mmol, 82%) **53** als untrennbares Gemisch beider Anomere (α/β ca. 10:9) in Form eines farblosen Feststoffs erhalten.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.09 (α und β).

α -Anomer:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 9.52 (s, 1H; NH), 7.52 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.30 – 7.23 (m, 2H; ArH), 6.98 – 6.93 (m, 1H; ArH), 6.52 (d, ³J_{C1-OH,H1} = 4.4 Hz, 1H; C1-OH),

5.06 (d, $^3J_{C4-OH,H4} = 6.7$ Hz, 1H; C4-OH), 4.99 (t, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H1,C1-OH} = 4.0$ Hz, 1H; C1H), 4.96 (t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 7.6$ Hz, 1H; C3H), 4.65 (d, $^3J_{C2-OH,H2} = 7.6$ Hz, 1H; C2-OH), 4.46 (t, $^3J_{C6-OH,H6a} = ^3J_{C6-OH,H6b} = 6.0$ Hz, 1H; C6-OH), 3.72 – 3.44 (m, 3H; C5H, C6Ha, C6Hb), 3.38 – 3.26 (m, 2H; C2H, C4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 153.7$ (NHCO), 139.6 (Ar), 128.6 (2C; Ar), 121.9 (2C; Ar), 118.0 (Ar), 92.2 (C1), 76.1 (C3), 72.0 (C5), 70.6 (C2), 68.3 (C4), 60.7 (C6).

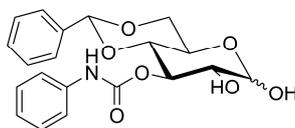
β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 9.55$ (s, 1H; NH), 7.52 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.30 – 7.23 (m, 2H; ArH), 6.98 – 6.93 (m, 1H; ArH), 6.81 (d, $^3J_{C1-OH,H1} = 6.4$ Hz, 1H; C1-OH), 5.17 (d, $^3J_{C2-OH,H2} = 5.4$ Hz, 1H; C2-OH), 5.11 (d, $^3J_{C4-OH,H4} = 6.4$ Hz, 1H; C4-OH), 4.70 (t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.4$ Hz, 1H; C3H), 4.56 (t, $^3J_{C6-OH,H6a} = ^3J_{C6-OH,H6b} = 5.8$ Hz, 1H; C6-OH), 4.42 (dd, $^3J_{H1,H2} = 7.7$, $^3J_{H1,C1-OH} = 6.5$ Hz, 1H; C1H), 3.72 – 3.44 (m, 2H; C6Ha, C6Hb), 3.38 – 3.26 (m, 1H; C4H), 3.21 (ddd, $^3J_{H5,H4} = 9.6$, $^3J_{H5,H6a} = 5.4$, $^3J_{H5,H6b} = 1.9$ Hz, 1H; C5H), 3.11 (ddd, $^3J_{H2,H3} = 9.6$, $^3J_{H2,H1} = 7.7$, $^3J_{H2,C2-OH} = 5.5$ Hz, 1H; C2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 153.4$ (NHCO), 139.6 (Ar), 128.6 (2C; Ar), 122.0 (2C; Ar), 118.0 (Ar), 96.9 (C1), 78.4 (C3), 76.5 (C5), 73.0 (C2), 68.3 (C4), 60.8 (C6).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_7 + \text{Na}]^+$: 322.0897, gef.: 322.0893.

4,6-*O*-Benzyliden-3-*O*-(*N*-phenylcarbamoyl)-*D*-glucopyranose (**54**)^[194]



Der Zucker **53** (4.49 g, 15.01 mmol, 1.0 eq.) und frisch getrocknetes ZnCl_2 (1.05 g, 7.70 mmol, 0.5 eq.) wurden in Benzaldehyd (38 mL) suspendiert und 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde in EtOAc (2 L) aufgenommen und mit Wasser (3 \times 300 mL) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden mit EtOAc (3 \times 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet, mit Kieselgel versetzt und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung

(Isohexan/EtOAc 6:1 → 1:1 → CH₂Cl₂/MeOH 20:1) lieferte 5.04 g (13.01 mmol, 87 %) **54** als untrennbares Gemisch beider Anomere ($\alpha/\beta = 5:1$) in Form eines farblosen Feststoffs.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.05$ (α und β).

α -Anomer:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 9.63$ (s, 1H; NH), 7.47 – 7.22 (m, 9H; ArH), 6.99 – 6.93 (m, 1H; ArH), 6.90 (s, 1H; C1-OH), 5.60 (s, 1H; PhCH), 5.17 (t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.7$ Hz, 1H; C3H), 5.09 (d, $^3J_{H1,H2} = 3.2$ Hz, 1H; C1H), 5.05 (d, $^3J_{C2-OH,H2} = 6.9$ Hz, 1H; C2-OH), 4.17 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.0$, $^3J_{H6a,H5} = 4.8$ Hz, 1H; C6Ha), 3.94 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.9$, $^3J_{H5,H6a} = 4.8$ Hz, 1H; C5H), 3.75 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 10.2$ Hz, 1H; C6Hb), 3.63 (t, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.6$ Hz, 1H; C4H), 3.60 – 3.54 (m, 1H; C2H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 153.1$ (NHCO), 139.2 (Ar), 137.5 (Ar), 128.9 (Ar), 128.7 (2C; Ar), 128.1 (2C; Ar), 126.1 (2C; Ar), 122.2 (2C; Ar), 118.1 (Ar), 100.5 (PhCH), 93.2 (C1), 79.1 (C4), 72.1 (C3), 70.9 (C2), 68.2 (C6), 62.1 (C5).

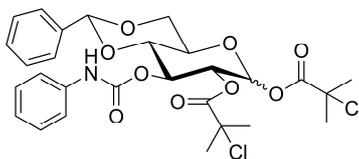
β -Anomer:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 9.65$ (s, 1H; NH), 7.52 – 7.22 (m, 9H; ArH), 6.99 – 6.94 (m, 1H; ArH), 6.90 (s, 1H; C1-OH), 5.61 (s, 1H; PhCH), 5.51 (d, $^3J_{C2-OH,H2} = 5.9$ Hz, 1H; C2-OH), 5.00 (t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.5$ Hz, 1H; C3H), 4.65 (d, $^3J_{H1,H2} = 7.7$ Hz, 1H; C1H), 4.23 (dd, $^3J_{H6a,H6b} = 10.2$, $^3J_{H6a,H5} = 4.9$ Hz, 1H; H6a), 3.75 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 10.2$ Hz, 1H; H6b), 3.64 (t, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.5$ Hz, 1H; C4H), 3.56 – 3.51 (m, 1H; C5H), 3.32 – 3.26 (m, 1H; C2H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 153.0$ (NHCO), 139.2 (Ar), 137.5 (Ar), 128.7 (2C; Ar), 128.5 (Ar), 128.1 (2C; Ar), 126.1 (2C; Ar), 122.2 (2C; Ar), 118.1 (Ar), 100.3 (PhCH), 97.6 (C1), 78.6 (C4), 74.3 (C3), 73.7 (C2), 67.9 (C6), 65.5 (C5).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₂₀H₂₁NO₇ + Na]⁺: 410.1210, gef.: 410.1208.

4,6-O-Benzyliden-3-O-(N-phenylcarbamoyl)-1,2-O-di(2-chlorisobutyryl)-D-glucopyranose (55)



Das Diol **54** (7.13 g, 18.40 mmol, 1.0 eq.) wurde in CH_2Cl_2 (150 mL) gelöst. Nach Zugabe von 2-Chlorisobuttersäure **10** (5.22 g, 42.59 mmol, 2.3 eq.) in CH_2Cl_2 (40 mL) und DMAP (225 mg, 1.84 mmol, 0.1 eq.) wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt. Die Lösung wurde mit DIC (6.93 mL, 44.48 mmol, 2.4 eq.) versetzt und weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend ließ man weitere 3 h bei Raumtemperatur rühren. Das erhaltene Harnstoffderivat wurde abfiltriert und die Reaktion mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (3 × 30 mL) rückextrahiert. Die organische Phase wurde mit NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, mit Kieselgel versetzt und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 9:1 → 6:1) lieferte 5.64 g (9.46 mmol, 51%) **55** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.70$ (α), $R_f = 0.72$ (β).

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.50 - 7.44$ (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.09 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.65 (s, 1H; NHCO), 6.41 (d, $^3J_{\text{H1},\text{H2}} = 3.8$ Hz, 1H; C1H), 5.68 (t, $^3J_{\text{H3},\text{H2}} = ^3J_{\text{H3},\text{H4}} = 9.9$ Hz, 1H; C3H), 5.57 (s, 1H; PhCH), 5.21 (dd, $^3J_{\text{H2},\text{H3}} = 9.9$, $^3J_{\text{H2},\text{H1}} = 3.8$ Hz, 1H; C2H), 4.38 (dd, $^2J_{\text{H6a},\text{H6b}} = 10.5$, $^3J_{\text{H6a},\text{H5}} = 4.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.14 (td, $^3J_{\text{H5},\text{H6b}} = ^3J_{\text{H5},\text{H4}} = 9.7$, $^3J_{\text{H5},\text{H6a}} = 4.7$ Hz, 1H; C5H), 3.86 – 3.79 (m, 2H; C4H, C6Hb), 1.88 (s, 3H; CH_3), 1.85 (s, 3H; CH_3), 1.71 (s, 3H; CH_3), 1.69 (s, 3H; CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 170.8$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 169.6 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 151.8 (NHCO), 137.3 (Ar), 136.4 (Ar), 129.2 (Ar), 129.1 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.8 (Ar), 101.8 (PhCH), 90.6 (C1), 78.4 (C4), 71.6 (C2), 69.7 (C3), 68.4 (C6), 65.5 (C5), 64.1 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 64.0 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.6 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.3 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 7.50 – 7.44 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.09 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.67 (s, 1H; NHCO), 5.92 (d, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2}$ = 8.1 Hz, 1H; C1H), 5.54 (s, 1H; PhCH), 5.49 (t, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2}$ = $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4}$ = 9.5 Hz, 1H; C3H), 5.30 (dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3}$ = 9.3, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2}$ = 8.2 Hz, 1H; C2H), 4.44 (dd, $^2J_{\text{H}_{6a},\text{H}_{6b}}$ = 10.4, $^3J_{\text{H}_{6a},\text{H}_5}$ = 4.7 Hz, 1H; C6Ha), 3.86 – 3.79 (m, 2H; C4H, C6Hb), 3.77 (td, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6b}}$ = $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4}$ = 9.6, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6a}}$ = 4.7 Hz, 1H; C5H), 1.78 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.78 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.72 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.69 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

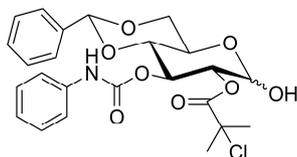
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 170.4 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 169.5 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 151.8 (NHCO), 137.2 (Ar), 136.4 (Ar), 129.2 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.8 (Ar), 101.8 (PhCH), 93.0 (C1), 78.0 (C4), 72.3 (C2), 72.1 (C3), 68.2 (C6), 67.4 (C5), 64.1 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 63.8 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.4 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.3 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu}$ = 3364 (w), 1746 (s), 1600 (m), 1529 (m), 1443 (m), 1389 (w), 1372 (w), 1313 (w), 1265 (m), 1208 (m), 1144 (w), 1110 (w), 1094 (w), 1082 (w), 1062 (m), 1021 (s), 939 (w), 913 (w), 852 (w), 753 (s), 711 (w), 692 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI $^-$) m/z : ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{NO}_9 - \text{H}]^-$: 594.1303, gef.: 594.1302.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde auf die Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts verzichtet.

4,6-*O*-Benzyliden-2-*O*-(2-chlorisobutyryl)-3-*O*-(*N*-phenylcarbamoyl)-*D*-glucopyranose (58)



Der Diester **55** (2.51 g, 4.21 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (30 mL) gelöst, auf -40 °C gekühlt und mit $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{AcOH}$ (320 mg, 3.47 mmol, 0.8 eq.) versetzt. Man ließ innerhalb von 30 min auf -30 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Die Lösung wurde auf Wasser (300 mL) gestürzt und mit EtOAc (3×100 mL) extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über MgSO_4 wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromato-

graphische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 6:1 → 3:1) lieferte 0.82 g (1.67 mmol, 40%) **58** als untrennbares Gemisch beider Anomere (α/β ca. 11:10) in Form eines farblosen Feststoffs.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.49$ (α und β).

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.48 - 7.43$ (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.07 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.65 (s, 1H; NH), 5.70 (t, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 9.9$ Hz, 1H; C3H), 5.54 (s, 1H; PhCH), 5.50 (d, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 3.7$ Hz, 1H; C1H), 4.97 (dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 9.8$, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.8$ Hz, 1H; C2H), 4.32 (dd, $^2J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 10.3$, $^3J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 5.0$ Hz, 1H; C6Ha), 4.25 (td, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = ^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{b}} = 9.9$, $^3J_{\text{H}_5\text{H}_6\text{a}} = 4.9$ Hz, 1H; C5H), 3.79 (t, $^2J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_6\text{a}} = ^3J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_5} = 10.3$ Hz, 1H; C6Hb), 3.74 (t, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.7$ Hz, 1H; C4H), 1.76 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.74 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 171.2$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 152.1 (NHCO), 137.4 (Ar), 136.7 (Ar), 129.1 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.7 (2C; Ar), 118.7 (Ar), 101.7 (PhCH), 90.9 (C1), 79.0 (C4), 73.4 (C2), 69.7 (C3), 68.8 (C6), 64.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 62.7 (C5), 29.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.48 - 7.43$ (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.07 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.71 (s, 1H; NH), 5.51 (s, 1H; PhCH), 5.44 (t, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 9.6$ Hz, 1H; C3H), 4.99 (dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 9.4$, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 7.9$ Hz, 1H; C2H), 4.93 (d, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.9$ Hz, 1H; C1H), 4.39 (dd, $^2J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 10.5$, $^3J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 5.0$ Hz, 1H; C6Ha), 3.83 (t, $^2J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_6\text{a}} = ^3J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_5} = 10.3$ Hz, 1H; C6Hb), 3.78 (t, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.5$ Hz, 1H; C4H), 3.63 (td, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = ^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{b}} = 9.8$, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{a}} = 5.0$ Hz, 1H; C5H), 1.76 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.74 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

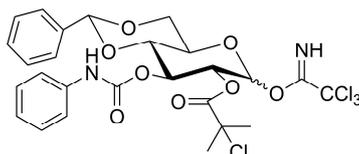
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 171.7$ ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 151.9 (NHCO), 137.3 (Ar), 136.6 (Ar), 129.2 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.7 (Ar), 101.6 (PhCH), 95.7 (C1), 78.4 (C4), 75.6 (C2), 71.9 (C3), 68.4 (C6), 66.8 (C5), 64.3 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.5 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu} = 3376$ (bm), 2862 (bw), 1739 (s), 1724 (s), 1598 (m), 1528 (s), 1444 (s), 1389 (w), 1375 (w), 1315 (m), 1276 (m), 1213 (s), 1168 (m), 1155 (m), 1100 (s), 1082 (s), 1066 (s), 1029 (s), 1001 (s), 960 (s), 755 (s), 740 (s), 697 (s), 689 (s), 620 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{NO}_8\text{Cl} + \text{NH}_4]^+$: 509.1685, gef.: 509.1686.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde auf die Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts verzichtet.

4,6-*O*-Benzyliden-2-*O*-(2-chlorisobutyryl)-3-*O*-(*N*-phenylcarbamoyl)-*D*-glucopyranosyl-trichloracetimidat (**50**)



Der Monoester **58** (2.10 g, 4.27 mmol, 1.0 eq.) wurde in CH₂Cl₂ (130 mL) gelöst, mit Cs₂CO₃ (836 mg, 2.57 mmol, 0.6 eq.) und Cl₃CCN (4.30 mL, 10.0 eq.) versetzt und 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3 × 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit. Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 6:1) lieferte 1.96 g (3.08 mmol, 72%) **50** (α/β ca. 1:1) als leicht gelblichen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.66$ (α), $R_f = 0.71$ (β).

α -Anomer:

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 8.78$ (s, 1H; C=NH), 7.50 – 7.44 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.08 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.65 (s, 1H; NHCO), 6.62 (d, $^3J_{H1,H2} = 3.8$ Hz, 1H; C1H), 5.76 (t, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.9$ Hz, 1H; C3H), 5.57 (s, 1H; PhCH), 5.24 (dd, $^3J_{H2,H3} = 9.9$, $^3J_{H2,H1} = 3.8$ Hz, 1H; C2H), 4.38 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.5$, $^3J_{H6a,H5} = 5.0$ Hz, 1H; C6Ha), 4.21 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.9$, $^3J_{H5,H6a} = 4.9$ Hz, 1H; C5H), 3.90 – 3.78 (m, 2H; C6Hb, C4H), 1.72 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.69 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.9$ (COCCl(CH₃)₂), 160.9 (C=NH), 151.8 (NHCO), 137.3 (Ar), 136.5 (Ar), 129.2 (Ar), 129.1 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.8 (Ar), 101.8 (PhCH), 93.2 (C1), 90.2 (CCl₃), 78.5 (C4), 71.9 (C2), 69.7 (C3), 68.5 (C6), 65.4 (C5), 64.2 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂), 29.4 (CCl(CH₃)₂).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 8.71 (s, 1H; C=NH), 7.50 – 7.44 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.26 (m, 7H; ArH), 7.08 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.69 (s, 1H; NHCO), 6.14 (d, $^3J_{\text{H1,H2}}$ = 8.0 Hz, 1H; C1H), 5.54 (s, 1H; PhCH), 5.50 (t, $^3J_{\text{H3,H2}} = ^3J_{\text{H3,H4}} = 9.4$ Hz, 1H; C3H), 5.40 (dd, $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.1$, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.0$ Hz, 1H; C2H), 4.46 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.4$, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.7$ Hz, 1H; C6Ha), 3.90 – 3.78 (m, 3H; C6Hb, C4, C5), 1.72 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.69 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

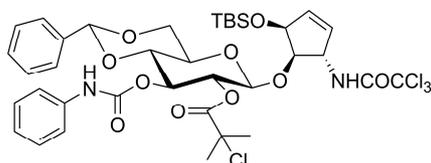
$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 170.3 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 160.7 (C=NH), 151.8 (NHCO), 137.2 (Ar), 136.5 (Ar), 129.2 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.8 (2C; Ar), 118.8 (Ar), 101.8 (PhCH), 95.4 (C1), 90.6 (CCl_3), 78.0 (C4), 72.6 (C2), 72.3 (C3), 68.4 (C6), 67.2 (C5), 64.1 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.6 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

IR (Anomerengemisch): $\tilde{\nu}$ = 3330 (*bw*), 1747 (*s*), 1675 (*m*), 1600 (*m*), 1529 (*m*), 1501 (*m*), 1443 (*m*), 1389 (*m*), 1373 (*m*), 1312 (*m*), 1270 (*m*), 1208 (*s*), 1098 (*s*), 1056 (*s*), 1025 (*s*), 969 (*s*), 913 (*m*), 835 (*m*), 795 (*s*), 750 (*s*), 693 (*s*), 644 (*s*) cm^{-1} .

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{N}_2\text{Cl}_4 + \text{Na}]^+$: 657.0336, gef.: 657.0338.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Anomerengemischs wurde auf die Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts verzichtet.

1-O-((3S,4R,5S)-((N-trichloracetyl)-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-O-benzyliden-3-O-(N-phenylcarbamoyl)-2-O-(2-chloroisobutyryl)- β -D-glucopyranose (59)



Trichloracetimidat **50** (1.91 g, 3.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in einem Gemisch aus *n*-Hexan (100 mL) und CH_2Cl_2 (15 mL) suspendiert und mit einer Lösung des Cyclopentens **2** (1.75 g, 1.5 eq.) in *n*-Hexan (50 mL) und $\text{MS } 3\text{\AA}$ versetzt. Nach 1.5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde CMPOTf (83 mg, 0.1 eq.) zugegeben. Nach Zugabe von weiterem CH_2Cl_2 (15 mL) wurde 1.75 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter

NaHCO₃-Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde mit CH₂Cl₂ (3 × 50 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 9:1) lieferte 1.07 g (1.26 mmol, 42%) **59** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: R_f = 0.26.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.45 – 7.43 (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.25 (m, 7H; ArH), 7.06 – 7.03 (m, 1H; ArH), 6.71 (d, ³J_{NH,H3'} = 7.5 Hz, 1H; NHCOCCl₃), 6.64 (s, 1H; PhNH), 6.03 – 6.00 (dt, ³J_{H1',H2'} = 6.1, ³J_{H1',H5'} = ⁴J_{H1',H3'} = 2.1 Hz, 1H; C1'H), 5.83 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.1, ³J_{H2',H3'} = 2.0 Hz, 1H; C2'H), 5.53 (s, 1H; PhCH), 5.36 (t, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.5 Hz, 1H; C3H), 5.07 (dd, ³J_{H2,H3} = 9.2, ³J_{H2,H1} = 7.9 Hz, 1H; C2H), 5.02 (d, ³J_{H1,H2} = 7.9 Hz, 1H; C1H), 4.82 – 4.79 (m, 1H; C3'H), 4.74 (dd, ³J_{H5',H4'} = 5.3, ³J_{H5',H1'} = 2.1 Hz, 1H; C5'H), 4.38 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.5, ³J_{H6a,H5} = 5.0 Hz, 1H; C6Ha), 4.20 (t, ³J_{H4',H5'} = ³J_{H4',H3'} = 5.2 Hz, 1H; C4'H), 3.80 (t, ²J_{H6b,H6a} = ³J_{H6b,H5} = 10.3 Hz, 1H; C6Hb), 3.73 (t, ³J_{H4,H5} = ³J_{H4,H3} = 9.6 Hz, 1H; C4H), 3.59 (td, ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 9.8, ³J_{H5,H6a} = 5.0 Hz, 1H; C5H), 1.76 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.71 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 0.91 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.12 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 170.2 (COCCl(CH₃)₂), 161.6 (NHCOCCl₃), 151.9 (PhNHCO), 137.4 (Ar), 136.6 (Ar), 136.2 (C1'), 131.4 (C2'), 129.2 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.7 (2C; Ar), 118.6 (Ar), 101.7 (PhCH), 100.3 (C1H), 92.3 (CCl₃), 81.6 (C4'), 78.5 (C4), 74.3 (C5'), 73.8 (C2), 72.7 (C3), 68.5 (C6), 66.4 (C5), 64.9 (CCl(CH₃)₂), 61.1 (C3'), 29.7 (CCl(CH₃)₂), 29.5 (CCl(CH₃)₂), 25.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

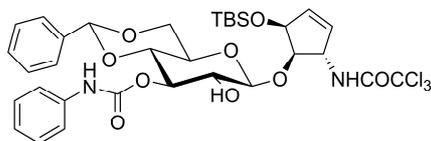
IR: $\tilde{\nu}$ = 3331 (*bw*), 1751 (*s*), 1713 (*s*), 1600 (*m*), 1525 (*s*), 1444 (*m*), 1370 (*m*), 1313 (*m*), 1271 (*m*), 1251 (*m*), 1214 (*s*), 1179 (*m*), 1154 (*m*), 1094 (*s*), 1059 (*s*), 1002 (*s*), 961 (*m*), 834 (*s*), 822 (*s*), 776 (*m*), 749 (*s*), 691 (*s*), 678 (*m*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₇H₄₆O₁₀N₂Cl₄Si + NH₄]⁺: 864.2014, gef.: 864.2027.

[α]_D²²: = 30.5° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 77.7 – 79.1 °C.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-(*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-*O*-benzyliden-3-*O*-(*N*-phenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranose (60**)**



Eine Lösung des Glukosids **59** (1.02 g, 1.20 mmol, 1.0 eq.) in MeOH (20 mL) wurde mit einer frisch hergestellten Lösung aus NaOMe in MeOH (0.5M, 2.70 mL) versetzt und 40 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Trockeneis neutralisiert und am Rotationsverdampfer von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1 \rightarrow 1:1) lieferte 274 mg (368 μ mol, 31%) **60** als farblosen Schaum. Zusätzlich wurden Edukt **59** (65 mg, 77 μ mol, 6%) und Diol **61** (99 mg, 158 μ mol, 13%) erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.08$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 7.47 - 7.44$ (m, 2H; ArH), 7.38 – 7.27 (m, 7H; ArH), 7.08 – 7.04 (m, 1H; ArH), 6.89 (d, $^3J_{\text{NH,H3}'} = 7.3$ Hz, 1H; NHCOCl_3), 6.74 (s, 1H; PhNH), 6.05 (dt, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 6.1$, $^3J_{\text{H1}',\text{H5}'} = ^4J_{\text{H1}',\text{H3}'} = 2.2$ Hz, 1H; C1'H), 5.91 (dd, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'} = 6.2$, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 1.9$ Hz, 1H; C2'H), 5.51 (s, 1H; PhCH), 5.15 (t, $^3J_{\text{H3},\text{H2}} = ^3J_{\text{H3},\text{H4}} = 9.4$ Hz, 1H; C3H), 5.03 – 4.98 (m, 1H; C3'H), 4.73 – 4.70 (m, 2H; C1H, C5'H), 4.33 (dd, $^2J_{\text{H6a},\text{H6b}} = 10.5$, $^3J_{\text{H6a},\text{H5}} = 4.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.09 (t, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 5.4$ Hz, 1H; C4'H), 3.77 (t, $^2J_{\text{H6b},\text{H6a}} = ^3J_{\text{H6b},\text{H5}} = 10.2$ Hz, 1H; C6Hb), 3.71 – 3.66 (m, 1H; C2H), 3.65 (t, $^3J_{\text{H4},\text{H3}} = ^3J_{\text{H4},\text{H3}} = 9.5$ Hz, 1H; C4H), 3.56 (td, $^3J_{\text{H5},\text{H6b}} = 9.7$, $^3J_{\text{H5},\text{H6a}} = 5.0$ Hz, 1H; C5H), 3.37 (s, 1H; C2-OH), 0.91 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.12 (s, 3H; SiCH_3), 0.09 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 162.2$ (NHCOCl_3), 153.2 (PhNHCO), 137.5 (Ar), 136.8 (Ar), 136.1 (C1'), 131.7 (C2'), 129.1 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 123.7 (2C; Ar), 118.9 (Ar), 103.8 (C1), 101.6 (PhCH), 92.3 (CCl_3), 84.2 (C4'), 78.6 (C4), 75.0 (C3), 74.0 (C5'), 73.6 (C2), 68.6 (C6), 66.4 (C5), 60.5 (C3'), 25.8 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.4 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.5 (SiCH_3), -4.7 (SiCH_3).

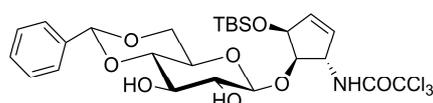
IR: $\tilde{\nu} = 3315$ (bw), 2948 (w), 2925 (w), 2881 (w), 2854 (w), 1699 (s), 1600 (m), 1524 (s), 1444 (m), 1367 (m), 1313 (m), 1218 (s), 1180 (m), 1083 (vs), 1068 (vs), 1028 (m), 1005 (m), 958 (w), 931 (w), 834 (vs), 822 (w), 776 (m), 748 (s), 694 (s), 675 (w) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₃H₄₁N₂O₉Cl₃Si + NH₄]⁺: 760.1985, gef.: 760.1998.

[α]_D²²: = 33.3° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 110.1 – 112.2 °C.

1-O-((3*S*,4*R*,5*S*)-((*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-*O*-benzyliden-β-D-glucopyranose (61)



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.50 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.39 – 7.35 (m, 3H; ArH), 6.75 (d, ³J_{NH,H3'} = 7.8 Hz, 1H; NH), 6.08 – 6.05 (m, 1H; C1'H), 5.88 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.2, ³J_{H2',H3'} = 1.9 Hz, 1H; C2'H), 5.54 (s, 1H; PhCH), 5.07 – 5.03 (m, 1H; C3'H), 4.72 (ddd, ³J_{H5',H4'} = 5.4, ³J_{H5',H1'} = 2.5, ⁵J_{H5',H3'} = 1.0 Hz, 1H; C5'H), 4.62 (d, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, 1H; C1H), 4.31 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.4, ³J_{H5,H6a} = 4.9 Hz, 1H; C6Ha), 4.03 (t, ³J_{H4',H3'} = ³J_{H4',H5'} = 5.4 Hz, 1H; C4'H), 3.84 (t, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.1 Hz, 1H; C3H), 3.75 (t, ²J_{H6b,H6a} = ³J_{H6b,H5} = 10.2 Hz, 1H; C6Hb), 3.55 (t, ³J_{H4,H3} = 9.3, ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, 1H; C4H), 3.54 (dd, ³J_{H2,H3} = 9.0, ³J_{H2,H1} = 7.7 Hz, 1H; C2H), 3.47 (td, ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 9.8, ³J_{H5,H6a} = 4.8 Hz, 1H; C5H), 0.90 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.09 (s, 3H; SiCH₃), .

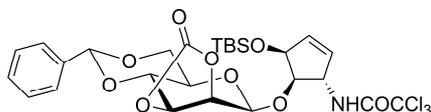
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 162.1 (NHCO), 136.9 (Ar), 136.6 (C1'), 131.4 (C2'), 129.3 (Ar), 128.3 (2C; Ar), 126.3 (2C; Ar), 103.3 (C1), 102.0 (PhCH), 92.3 (CCl₃), 84.1 (C4'), 80.5 (C4), 74.6 (C2), 74.2 (C5'), 73.0 (C3), 68.7 (C6), 66.5 (C5), 60.5 (C3'), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2926 (w), 2856 (w), 2361 (m), 2340 (m), 1717 (w), 1700 (s), 1684 (w), 1654 (m), 1559 (m), 1540 (m), 1522 (m), 1507 (m), 1472 (w), 1458 (w), 1362 (w), 1251 (m), 1177 (m), 1084 (vs), 1068 (vs), 1006 (s), 834 (vs), 776 (m), 749 (w), 698 (m), 668 (w) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₆H₃₆NO₈Cl₃Si + NH₄]⁺: 641.1614, gef.: 641.1609.

Der Schmelzpunkt und Drehwert wurden nicht aufgenommen.

1-O-((3S,4R,5S)-((N-trichloracetyl)-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-O-benzyliden-2,3-O-carbonyl-β-D-mannopyranose (67)



Das selektiv entschützte Glykosid **60** (263 mg, 353 μmol , 1.0 eq.) wurde in CH_2Cl_2 (15 mL) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Pyridin (0.23 mL) und Tf_2O (0.07 mL, 417 μmol , 1.2 eq.) versetzt. Nach 15 min Rühren bei 0 °C und 1.25 h bei Raumtemperatur wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Das erhaltene Zwischenprodukt **63** wurde in DMF (8 mL) aufgenommen, mit Pyridin (0.8 mL) versetzt und 5.25 h auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur, wurde die Lösung in gesättigte NaHCO_3 -Lösung (70 mL) gestürzt und mit EtOAc (3 \times 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer von Lösemittel befreit. Das Iminocarbonat **64** wurde in Dioxan (7.2 mL) gelöst, mit Wasser (1.4 mL) und Essigsäure (2.0 mL) versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung neutralisiert und die wässrige Phase mit EtOAc (3 \times 40 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 7:1) lieferte 113 mg (174 μmol , 49% über 3 Stufen) **67** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: $R_f = 0.41$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.48 - 7.44$ (m, 2H; ArH), 7.40 – 7.36 (m, 3H; ArH), 6.77 (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.2$, 1H; NH), 6.09 (dt, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.1$, $^3J_{\text{H}1',\text{H}5'} = ^4J_{\text{H}1',\text{H}3'} = 1.9$ Hz, 1H; C1'H), 5.90 (ddd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 2.2$, $^4J_{\text{H}2',\text{H}5'} = 0.8$ Hz, 1H; C2'H), 5.60 (s, 1H; PhCH), 5.40 – 5.39 (m, 1H; C1H), 4.89 – 4.86 (m, 3H; C2H, C3H, C5'H), 4.83 – 4.80 (m, 1H; C3'H), 4.58 – 4.52 (m, 1H; C4H), 4.37 (dd, $^2J_{\text{H}6\text{a},\text{H}6\text{b}} = 10.5$, $^3J_{\text{H}6\text{a},\text{H}5} = 5.0$ Hz, 1H; C6Ha), 4.27 (dd, $^3J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 5.4$, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 4.2$ Hz, 1H; C4'H), 3.75 (t, $^2J_{\text{H}6\text{b},\text{H}6\text{a}} = ^3J_{\text{H}6\text{b},\text{H}5} = 10.3$ Hz, 1H; C6Hb), 3.61 (td, $^3J_{\text{H}5,\text{H}4} = ^3J_{\text{H}5,\text{H}6\text{b}} = 10.1$, $^3J_{\text{H}5,\text{H}6\text{a}} = 5.0$ Hz, 1H; C5H), 0.95 (s, 9H; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.18 (s, 3H; SiCH_3), 0.15 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 162.0$ (NHCO), 153.8 (CO), 137.2 (C1'), 136.5 (Ar), 130.7 (C2'), 129.4 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 126.0 (Ar), 101.4 (PhCH), 95.2 (C1), 92.1

(CCl₃), 81.7 (C4'), 77.0 (C4), 75.8 (C3), 74.4 (C5'), 72.7 (C2), 69.5 (C6), 64.4 (C5), 60.9 (C3'), 26.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.3 (SiC(CH₃)₃), -4.1 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2952 (w), 2928 (w), 2882 (w), 2857 (w), 1802 (s), 1703 (s, 1517 (m), 1471 (w), 1378 (m), 1252 (m), 1144 (s), 1121 (s), 1081 (s), 1047 (s), 1028 (s), 985 (s), 834 (s), 821 (s), 776 (s), 751 (s), 698 (s), 678 (s), 648 (s) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₇H₃₄Cl₃NO₉Si + NH₄]⁺: 667.1407, gef.: 667.1404.

[α]_D²²: = 28.0° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 96.5 – 98.0 °C.

1-O-((3S,4R,5S)-(3-Amino-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-O-benzyliden-2,3-O-carbonyl- β -D-mannopyranose (68)



Eine Lösung des Glykosids **67** (111 mg, 171 μ mol) in MeOH (2.1 mL) wurde mit wässriger NaOH (2M, 1.49 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Neutralisation mit Essigsäure wurde mit MeOH (10 mL) verdünnt, Kieselgel zugegeben und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 10:1) lieferte 57 mg (119 μ mol, 69%) **68** als farblosen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.05.

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 7.52 – 7.49 (m, 2H; ArH), 7.36 – 7.32 (m, 3H; ArH), 5.95 (ddd, ³J_{H1',H2'} = 6.2, ³J_{H1',H5'} = 2.4, ⁴J_{H1',H3'} = 2.0 Hz, 1H; C1'H), 5.89 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.2, ³J_{H2',H3'} = 1.7 Hz, 1H; C2'H), 5.60 (s, 1H; PhCH), 4.89 (d, ³J_{H1,H2} = 1.0 Hz, 1H; C1H), 4.73 (ddd, ³J_{H5',H4'} = 5.3, ³J_{H5',H1'} = 2.5, ⁵J_{H5',H3'} = 1.0 Hz, 1H; C5'H), 4.27 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.2, ³J_{H6a,H5} = 4.9 Hz, 1H; C6Ha), 4.10 (dd, ³J_{H2,H3} = 3.4, ³J_{H2,H1} = 0.8 Hz, 1H; C2H), 4.05 (dtd, ³J_{H3',H4'} = 5.7, ³J_{H3',H2'} = ⁴J_{H3',H1'} = 1.7, ⁵J_{H3',H5'} = 1.1 Hz, 1H; C3'H), 3.90 (t, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.5 Hz, 1H; C4H), 3.84 (t, ³J_{H4',H5'} = ³J_{H4',H3'} = 5.5 Hz, 1H; C4'H), 3.84 (t, ²J_{H6b,H6a} = ³J_{H6b,H5} = 10.2 Hz, 1H; C6Hb), 3.77 (dd, ³J_{H3,H4} = 9.8, ³J_{H3,H2} = 3.4 Hz, 1H; C3H), 3.38 (ddd, ³J_{H5,H6b} =

10.0, $^3J_{\text{H5,H4}} = 9.4$, $^3J_{\text{H5,H6a}} = 4.9$ Hz, 1H; C5H), 0.92 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.16 (s, 3H; SiCH₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 139.2$ (Ar), 137.1 (C2'), 134.5 (C1'), 129.9 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 127.5 (2C; Ar), 103.3 (PhCH), 102.2 (C1), 86.8 (C4'), 79.9 (C4), 76.2 (C5'), 72.6 (C2), 71.9 (C3), 69.8 (C6), 68.6 (C5), 60.1 (C3'), 26.5 (3C; SiC(CH₃)₃), 19.2 (SiC(CH₃)₃), -4.2 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃).

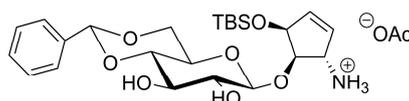
IR: $\tilde{\nu} = 2927$ (m), 2855 (m), 1472 (w), 1462 (w), 1386 (m), 1362 (m), 1251 (m), 1186 (w), 1090 (s), 1030 (m), 1003 (s), 937 (s), 832 (s), 807 (w), 776 (s), 750 (s), 728 (m), 697 (s), 677 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁻) m/z : ber. für [C₂₄H₃₆NO₇Si - H]⁻: 478.2267, gef.: 478.2266.

$[\alpha]_D^{22} = 52.0^\circ$ (c = 0.001, CD₃OD).

Schmelzpunkt: 82.7 – 84.9 °C.

1-O-((3S,4R,5S)-(3-Amino-5-O-(tert-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-O-benzyliden-2,3-O-carbonyl-β-D-glucopyranose (69)



Eine Lösung des Glykosids **61** (88 mg, 141 μmol) in MeOH (2.1 mL) wurde mit wässriger NaOH (2M, 1.49 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Neutralisation mit Essigsäure wurde mit MeOH (10 mL) verdünnt, Kieselgel zugegeben und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 10:1) lieferte 55 mg (102 μmol, 72%) des Acetatsalzes von **69** als farblosen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.04.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 7.53 - 7.49$ (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.33 (m, 3H; ArH), 6.19 (ddd, $^3J_{\text{H1',H2'}} = 6.3$, $^3J_{\text{H1',H5'}} = 2.6$, $^4J_{\text{H1',H3'}} = 2.1$ Hz, 1H; C1'H), 5.94 (dd, $^3J_{\text{H2',H1'}} = 6.3$, $^3J_{\text{H2',H3'}} = 1.6$ Hz, 1H; C2'H), 5.59 (s, 1H; PhCH), 4.68 (ddd, $^3J_{\text{H5',H4'}} = 5.2$, $^3J_{\text{H5',H1'}} = 2.6$, $^5J_{\text{H5',H3'}} = 0.9$ Hz, 1H; C5'H), 4.63 (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.7$ Hz, 1H; C1H), 4.32 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.2$,

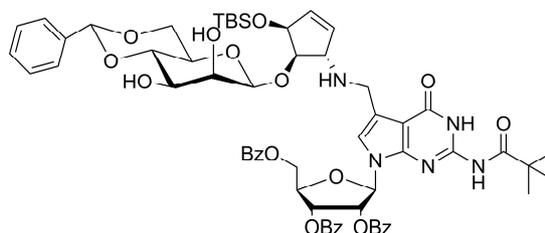
$^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.5$ Hz, 1H; C6Ha), 4.29 – 4.26 (m, 1H; C3'H), 3.99 (dd, $^3J_{\text{H4',H3'}} = 6.5$, $^3J_{\text{H4',H5'}} = 5.1$ Hz, 1H; C4'H), 3.81 (t, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = ^3J_{\text{H6b,H5}} = 10.2$ Hz, 1H; C6Hb), 3.68 (t, $^3J_{\text{H3,H2}} = ^3J_{\text{H3,H4}} = 9.0$ Hz, 1H; C3H), 3.54 – 3.48 (m, 1H; C5H), 3.49 – 3.46 (m, 1H; C4H), 3.45 (dd, $^3J_{\text{H2,H3}} = 8.9$, $^3J_{\text{H2,H1}} = 7.8$ Hz, 1H; C2H), 1.95 (s, 3H; CO_2CH_3^-), 0.91 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.15 (s, 3H; SiCH_3), 0.10 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): $\delta = 178.7$ (CO_2CH_3), 139.0 (Ar), 138.3 (C1'), 131.1 (C2'), 130.0 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 127.5 (2C; Ar), 105.7 (C1), 103.1 (PhCH), 85.4 (C4'), 82.2 (C4), 76.0 (C2), 75.7 (C5'), 74.7 (C3), 69.8 (C6), 68.0 (C5), 59.8 (C3'), 26.4 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.5 (CO_2CH_3^-), 19.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.2 (SiCH_3), -4.3 (SiCH_3).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_7\text{Si} + \text{H}]^+$: 480.2412, gef.: 480.2410.

Ein IR-Spektrum, der Schmelzpunkt und der Drehwert wurden nicht aufgenommen.

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- β -D-mannopyranosyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-3-yl)amino)methyl)-2-pivaloylamino-2',3',5'-tri-*O*-benzoyl-guanosin (β -manQ geschützt) (70)



Glykosid **68** (50 mg, 104 μmol , 1.2 eq.) und 7-Formyldesazaguanosin **29** (61 mg, 87 μmol , 1.0 eq.) wurden in Methanol (5 mL) gelöst und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt, mit NaBH_4 (12 mg, 317 μmol , 3.7 eq.) versetzt und für 1 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (0.5 mL) gestoppt und weitere 15 min bei 0 °C gerührt. Nach Verdünnen mit Methanol wurde Kieselgel zugegeben und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1) lieferte 56 mg (48 μmol , 55%) **70** als farblosen Feststoff.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.65$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 11.64 (s, 1H; NHCO), 8.73 (s, 1H; NHCOC(CH₃)₃), 8.00 – 7.97 (m, 2H; ArH), 7.93 – 7.89 (m, 2H; ArH), 7.81 – 7.78 (m, 2H; ArH), 7.62 – 7.49 (m, 5H; ArH), 7.46 – 7.41 (m, 2H; ArH), 7.40 – 7.30 (m, 7H; ArH), 6.87 (dd, ³J_{H3',H4'} = 8.3, ³J_{H3',H2'} = 5.0 Hz, 1H; C3'H), 6.77 (s, 1H; C8H), 6.47 (dd, ³J_{H2',H3'} = 5.0, ³J_{H2',H1'} = 1.8 Hz, 1H; C2'H), 6.03 (d, ³J_{H1',H2'} = 1.8 Hz, 1H; C1'H), 5.98 (dd, ³J_{H2'',H1''} = 6.3, ³J_{H2'',H3''} = 1.5 Hz, 1H; C2''H), 5.85 (dt, ³J_{H1'',H2''} = 6.2, ⁴J_{H1'',H3''} = ³J_{H1'',H5''} = 2.0 Hz, 1H; C1''H), 5.56 (s, 1H; PhCH), 4.90 (s, 1H; C1'''H), 4.76 (dt, ³J_{H4',H3'} = 8.2, ³J_{H4',H5'a} = ³J_{H4',H5'b} = 3.1 Hz, 1H; C4'H), 4.69 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 12.5, ³J_{H5'a,H4'} = 3.1 Hz, 1H; C5'Ha), 4.67 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 12.5, ³J_{H5'b,H4'} = 3.4 Hz, 1H; C5'Hb), 4.64 (ddd, ³J_{H5'',H4''} = 5.3, ³J_{H5'',H1''} = 2.4, ⁵J_{H5'',H3''} = 0.7 Hz, 1H; C5''H), 4.30 (dd, ²J_{H6'''a,H6'''b} = 10.4, ³J_{H6'''a,H5'''} = 5.0 Hz, 1H; C6'''Ha), 4.17 (dd, ³J_{H2'',H3''} = 3.5, ³J_{H2'',H1''} = 0.7 Hz, 1H; C2'''H), 3.99 – 3.97 (m, 1H; C3''H), 3.96 – 3.92 (m, 1H; C4''H), 3.92 – 3.88 (m, 3H; C4'''H, NHCH₂), 3.85 (dd, ³J_{H3''',H4'''} = 9.5, ³J_{H3''',H2'''} = 3.4 Hz, 1H; C3'''H), 3.82 (t, ²J_{H6'''b,H6'''a} = ³J_{H6'''b,H5'''} = 10.2 Hz, 1H; C6'''Hb), 3.39 (ddd, ³J_{H5''',H6'''b} = 9.9, ³J_{H5''',H4'''} = 9.3, ³J_{H5''',H6'''a} = 5.0 Hz, 1H; C5'''H), 1.35 (s, 9H; NHCOC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃), 0.08 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 180.1 (COC(CH₃)₃), 166.0 (2C; ArCO), 165.2 (ArCO), 157.9 (C6), 147.1 (C4), 146.3 (C2), 137.4 (Ar), 135.3 (C2''), 133.7 (2C; Ar), 133.4 (Ar), 132.9 (C1''), 129.8 (4C, Ar), 129.3 (2C; Ar), 129.1 (Ar), 129.0 (Ar), 128.8 (2C; Ar), 128.6 (2C; Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.3 (2C; Ar), 120.1 (C8), 119.5 (C7), 105.2 (C5), 102.1 (PhCH), 99.8 (C1'''), 89.3 (C1'), 82.7 (C4''), 79.0 (C4'''), 78.3 (C4'), 74.6 (C2'), 74.1 (C5''), 70.8 (C3'''), 70.7 (C3'), 70.2 (C2'''), 68.7 (C6'''), 66.7 (C5'''), 65.5 (C3''), 61.7 (C5'), 43.5 (NCH₂), 40.2 (COC(CH₃)₃), 26.9 (3C; COC(CH₃)₃), 25.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.4 (SiC(CH₃)₃), -4.5 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

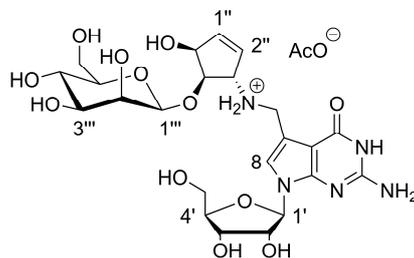
IR: $\tilde{\nu}$ = 2928 (w), 2854 (w), 1724 (s), 1669 (s), 1602 (s), 1538 (m), 1450 (s), 1370 (m), 1264 (s), 1177 (m), 1117 (s), 1091 (vs), 1068 (s), 1025 (s), 1002 (m), 965 (w), 926 (w), 834 (s), 778 (s), 709 (vs) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₆₂H₇₁N₅O₁₆Si + H]⁺: 1170.4738, gef.: 1170.4744.

[α]_D²²: = 29.4° (c = 0.007, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 132.8 – 135.3 °C.

7-Desaza-7-(((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(β -D-mannopyranosyl)-5-hydroxy-cyclopent-1-en-3-yl)-amino)methyl)guanosin (β -manQ) (31**)**



Nukleosid **70** (52 mg, 44 μ mol, 1.0 eq.) wurde in CH_2Cl_2 (0.6 mL) gelöst und bei 0 °C mit Trifluoressigsäure (1.2 mL) versetzt. Nach 30 min bei 0 °C wurde die Reaktion mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gestoppt und die wässrige Phase mit EtOAc (3×10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das benzylidenentschützte Zwischenprodukt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen, sowie zusätzlich desilyliertes Produkt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in CH_2Cl_2 (1.7 mL) gelöst, in ein Plastikröhrchen überführt und nach Zugabe von Triethylamintrihydrofluorid (0.02 mL) 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur *in vacuo* von Lösemittel befreit. Der erhaltene Rückstand wurde in Methanol (1.7 mL) gelöst, mit NaOH (2M, 0.35 mL) versetzt und 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende Suspension wurde mit HCl (2M, 0.35 mL) neutralisiert und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung mittels HPLC wurde 8.8 mg (30%) das Acetatsalz von β -manQ (**31**) als farbloser Feststoff im Gemisch mit Triethylamin (3.6:1) erhalten.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/10 *Nucleodur*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 6% Puffer B, 45 min, Fluss 5 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 29.2$ min.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , 27 °C): $\delta = 7.04$ (s, 1H; C8H), 6.11 (ddd, $^3J_{\text{H1}'',\text{H2}''} = 6.3$, $^3J_{\text{H1}'',\text{H5}''} = 2.6$, $^4J_{\text{H1}'',\text{H3}''} = 1.9$ Hz, 1H; C1''H), 6.07 (dd, $^3J_{\text{H2}'',\text{H1}''} = 6.3$, $^3J_{\text{H2}'',\text{H3}''} = 1.9$ Hz, 1H; C2''H), 5.93 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.9$ Hz, 1H; C1'H), 4.72 (d, $^3J_{\text{H1}''',\text{H2}'''} = 0.7$ Hz, 1H; C1'''H), 4.68 (ddd, $^3J_{\text{H5}'',\text{H4}''} = 5.1$, $^3J_{\text{H5}'',\text{H1}''} = 2.6$, $^5J_{\text{H5}'',\text{H3}''} = 1.5$ Hz, 1H; C5''H), 4.43 (t, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'} = ^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 5.5$ Hz, 1H; C2'H), 4.23 (dd, $^3J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.4$, $^3J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 3.6$ Hz, 1H; C3'H), 4.19 – 4.12 (m, 4H; C3''H, C4''H, NCH₂), 4.02 (q, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{a}} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{b}} = 3.4$ Hz, 1H; C4'H), 3.98 (dd,

$^3J_{H2''',H3'''} = 3.2$, $^3J_{H2''',H1'''} = 0.4$ Hz, 1H; C2'''H), 3.87 (dd, $^2J_{H6''',a,H6''',b} = 11.8$, $^3J_{H6''',a,H5'''} = 2.3$ Hz, 1H; C6'''Ha), 3.81 (dd, $^2J_{H5',a,H5',b} = 12.2$, $^3J_{H5',a,H4'}$ = 3.1 Hz, 1H; C5'Ha), 3.75 (dd, $^2J_{H6''',b,H6''',a} = 12.0$, $^3J_{H6''',b,H5'''} = 5.6$ Hz, 1H; C6'''Hb), 3.72 (dd, $^2J_{H5',b,H5',a} = 12.2$, $^3J_{H5',b,H4'}$ = 3.6 Hz, 1H; C5'Hb), 3.62 (t, $^3J_{H4''',H3'''} = ^3J_{H4''',H5'''} = 9.6$ Hz, 1H; C4'''H), 3.49 (dd, $^3J_{H3''',H4'''} = 9.4$, $^3J_{H3''',H2'''} = 3.2$ Hz, 1H; C3'''H), 3.28 (ddd, $^3J_{H5''',H4'''} = 9.8$, $^3J_{H5''',H6''',b} = 5.5$, $^3J_{H5''',H6''',a} = 2.3$ Hz, 1H; C5'''H), 1.93 (CO₂CH₃⁻).

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 162.3 (C6), 154.4 (C2), 153.6 (C4), 136.3 (C1''), 132.9 (C2''), 119.4 (C8), 113.9 (C7), 102.5 (C1'''), 100.8 (C5), 89.7 (C1'), 86.5 (C4'), 84.9 (C4''), 78.5 (C5'''), 75.7 (C2'), 75.1 (C3''') 75.0 (C5''), 72.3 (C2'''), 72.2 (C3'), 68.2 (C4'''), 65.9 (C3''), 63.3 (C5'), 62.6 (C6'''), 43.9 (NCH₂), 22.0 (CO₂CH₃⁻).

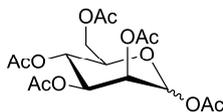
IR: $\tilde{\nu}$ = 3303 (*bw*), 3203 (*bw*), 2953 (*s*), 1635 (*m*), 1549 (*m*), 1405 (*m*), 1330 (*bw*), 1177 (*w*), 1069 (*s*), 1022 (*s*), 892 (*m*), 785 (*m*), 719 (*w*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₃H₃₃N₅O₁₂ + H]⁺: 572.2199, gef.: 572.2200.

Zur Stabilisierung von β -manQ (**31**) gegen Zersetzung wurde nach HPL-chromatographischer Aufreinigung das Acetatsalz des Nucleosids im Gemisch mit Triethylamin isoliert. Deshalb wurde auf die Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts verzichtet.

4.2.3 Synthese von α -Mannosylqueuosin (**72**)

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-D-mannopyranose (**74**)^[200]



D-(+)-Mannose (**73**) (10.0 g, 55.51 mmol, 1.0 eq.) wurde in Pyridin (60 mL) suspendiert und bei 0 °C mit Essigsäureanhydrid (50 mL, 0.53 mol, 9.5 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht auf Raumtemperatur aufwärmt und anschließend die Reaktion durch Zugabe von Ethanol (30 mL) bei 0 °C gestoppt. Nach 30 min wurde das Lösemittel *in vacuo*

entfernt und das zähflüssige Rohprodukt durch Destillation (210 °C/0.07 mbar) aufgereinigt. Es wurden 21.34 g (54.67 mmol, 98%) **74** als glasartiges Öl erhalten.

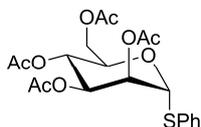
DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.32$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.07$ (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 1.9$ Hz, 1H; C1H), 5.34 – 5.32 (m, 2H; C3H, C4H), 5.24 (t, $^3J_{\text{H2,H1}} = ^3J_{\text{H2,H3}} = 2.2$ Hz, 1H; C2H), 4.26 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.08 (dd, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 2.5$ Hz, 1H; C6Hb), 4.05 – 4.01 (m, 1H; C5H), 2.16 (s, 3H; COCH_3), 2.15 (s, 3H; COCH_3), 2.07 (s, 3H; COCH_3), 2.04 (s, 3H; COCH_3), 1.99 (s, 3H; COCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 170.6$ (COCH_3), 169.9 (COCH_3), 169.7 (COCH_3), 169.5 (COCH_3), 168.0 (COCH_3), 90.5 (C1), 70.6 (C5), 68.7 (C3), 68.3 (C2), 65.5 (C4), 62.1 (C6), 20.8 (COCH_3), 20.7 (COCH_3), 20.6 (3C; COCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \text{Na}]^+$: 413.1054, gef.: 413.1054.

1-S-Phenyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranose (**75**)^[200]



Zu einer Lösung von peracetylierter Mannose **74** (5.87 g, 15.04 mmol, 1.0 eq.) und Thiophenol (4.60 mL, 45.01 mmol, 3.0 eq.) in CH_2Cl_2 (30 mL) wurde bei 0 °C $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2.86 mL, 22.57 mmol, 1.5 eq.) zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt und nach Verdünnen mit CH_2Cl_2 sukzessiv mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Die vereinten wässrigen Phasen wurden mit CH_2Cl_2 rückextrahiert, die vereinten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 9:1 → 3:1) lieferte 5.93 g (13.46 mmol, 89%) **75** als farblosen Feststoff.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: $R_f = 0.56$.

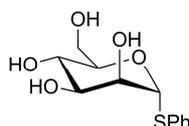
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.52$ – 7.44 (m, 2H; ArH), 7.36 – 7.27 (m, 3H; ArH), 5.52 – 5.47 (m, 2H; C1H, C2H), 5.35 – 5.28 (m, 2H; C3H, C4H), 4.54 (ddd, $^3J_{\text{H5,H4}} = 9.9$,

$^3J_{H5,H6a} = 5.9$, $^3J_{H6b,H5} = 2.4$ Hz, 1H; C5H), 4.30 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 12.2$, $^3J_{H6a,H5} = 5.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.10 (dd, $^2J_{H6b,H6a} = 12.2$, $^3J_{H6b,H5} = 2.4$ Hz, 1H; C6Hb), 2.14 (s, 3H; COCH₃), 2.07 (s, 3H; COCH₃), 2.04 (s, 3H; COCH₃), 2.01 (s, 3H; COCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.5$ (COCH₃), 169.9 (COCH₃), 169.8 (COCH₃), 169.7 (COCH₃), 132.6 (Ar), 132.0 (2C; Ar), 129.2 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 85.7 (C1), 70.9 (C2), 69.5 (C5), 69.3 (C4), 66.4 (C3), 62.4 (C6), 20.8 (COCH₃), 20.7 (2C; COCH₃), 20.6 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₂₄O₉S + Na]⁺: 463.1033, gef.: 463.1032.

1-S-Phenyl- α -D-mannopyranose (**76**)^[200]



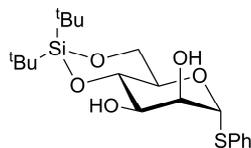
Eine Lösung acetylierten Thioacetals **75** (5.93 g, 13.46 mmol, 1.0 eq.) in Methanol (15 mL) wurde bei Raumtemperatur mit einer Lösung aus NaOMe in Methanol (0.5M, 1.75 mL, 0.88 mmol, 0.07 eq.) versetzt und 75 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach 10 min setzte die Präzipitation des Produkts ein. Die Suspension wurde mit Trockeneis neutralisiert, mit Kieselgel versetzt und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Aufreinigung mittel Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) lieferte 3.25 g (11.93 mmol, 89%) **76** als farblosen Schaum.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (6:1)]: R_f = 0.41.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 7.55 - 7.50$ (m, 2H; ArH), 7.34 – 7.24 (m, 3H; ArH), 5.43 (d, $^3J_{H1,H2} = 1.2$ Hz, 1H; C1H), 4.09 (dd, $^3J_{H2,H3} = 3.0$, $^3J_{H2,H1} = 1.6$ Hz, 1H; C2H), 4.06 – 4.01 (m, 1H; C5H), 3.82 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 12.0$, $^3J_{H6a,H5} = 2.6$ Hz, 1H; C6Ha), 3.77 (dd, $^2J_{H6b,H6a} = 11.8$, $^3J_{H6b,H5} = 5.5$ Hz, 1H; C6Hb), 3.73 (d, $^3J_{H4,H3} = 9.0$ Hz, 1H; C4H), 3.69 (dd, $^3J_{H3,H4} = 9.0$, $^3J_{H3,H2} = 3.0$ Hz, 1H; C3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 135.8$ (Ar), 132.9 (2C; Ar), 130.0 (2C; Ar), 128.5 (Ar), 90.4 (C1), 75.6 (C5), 73.8 (C2), 73.2 (C3), 68.7 (C4), 62.6 (C6).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₂H₁₆O₅S + NH₄]⁺: 290.1057, gef.: 290.1058.

1-S-Phenyl-4,6-O-di-*tert*-butylsilyl- α -D-mannopyranose (77)

Eine Lösung des Thioacetals **76** (3.25 g, 11.95 mmol, 1.0 eq.) in DMF (60 ml) wurde auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und mit Di-*tert*-butylsilylbis(trifluormethanesulfonat) (4.67 mL, 14.34 mmol, 1.2 eq.) und Pyridin (3.0 mL) versetzt. Nach 40 min Rühren bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde die Lösung in verdünnte NaHCO_3 -Lösung (600 mL) gestürzt und die wässrige Suspension mit EtOAc ($3 \times 200\text{ mL}$) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1) lieferte 4.71 g (11.41 mmol, 96%) **77** als farblosen Feststoff.

DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: $R_f = 0.10$.

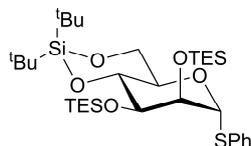
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 7.46 - 7.42$ (m, 2H; ArH), $7.34 - 7.25$ (m, 3H; ArH), 5.54 (d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 0.8\text{ Hz}$, 1H; C1H), 4.30 (dd, $^3J_{\text{H2,H3}} = 3.3$, $^3J_{\text{H2,H1}} = 1.2\text{ Hz}$, 1H; C2H), 4.24 (td, $^3J_{\text{H5,H4}} = ^3J_{\text{H5,H6b}} = 9.9$, $^3J_{\text{H5,H6a}} = 4.9\text{ Hz}$, 1H; C5H), 4.11 (t, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H4,H5}} = 9.4\text{ Hz}$, 1H; C4H), 4.05 (dd, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.0$, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.1\text{ Hz}$, 1H; C6Ha), 3.96 (t, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = ^3J_{\text{H6b,H5}} = 10.2\text{ Hz}$, 1H; C6Hb), 3.88 (dd, $^3J_{\text{H3,H4}} = 9.1$, $^3J_{\text{H3,H2}} = 3.3\text{ Hz}$, 1H; C3H), 2.84 (s, 1H; C2-OH o. C3-OH), 2.77 (s, 1H; C2-OH o. C3-OH), 1.06 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.03 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $27\text{ }^{\circ}\text{C}$): $\delta = 133.7$ (Ar), 131.4 (2C; Ar), 129.1 (2C; Ar), 127.6 (Ar), 87.6 (C1), 74.8 (C4), 72.3 (C3), 71.9 (C2), 67.7 (C5), 66.1 (C6), 27.4 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.0 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.6 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 20.0 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

IR: $\tilde{\nu} = 3383$ (w), 2931 (w), 2891 (w), 2858 (w), 1582 (w), 1474 (m), 1440 (w), 1394 (w), 1373 (w), 1364 (w), 1330 (w), 1265 (w), 1219 (w), 1153 (m), 1139 (m), 1103 (s), 1080 (s), 1065 (s), 1033 (m), 1023 (m), 1008 (w), 951 (w), 871 (m), 851 (s), 825 (s), 781 (m), 751 (s), 692 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{SSi} + \text{Na}]^+$: 435.1632, gef.: 435.1631.

Schmelzpunkt: $133.1 - 144.6\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1-S-Phenyl-4,6-O-di-tert-butylsilyl-2,3-O-bistriethylsilyl- α -D-mannopyranose (78)

Thioacetal **77** (0.62 g, 1.50 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (15 mL) gelöst, mit Imidazol (0.54 g, 7.96 mmol, 5.3 eq.) und Triethylchlorsilan (0.68 mL, 4.05 mmol, 2.7 eq.) versetzt und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Der Reaktionsansatz wurde in Wasser (ca. 100 mL) gestürzt und die resultierende Suspension mit Diethylether (3 × 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser (ca. 50 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 150:1) wurde 0.75 g (1.17 mmol, 78%) **78** als farbloses Öl erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (100:1)]: $R_f = 0.16$.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 7.46 - 7.42$ (m, 2H; ArH), 7.33 – 7.23 (m, 3H; ArH), 5.28 (dd, $^3J_{H1,H2} = 1.7$, $^4J_{H1,H5} = 0.4$ Hz, 1H; C1H), 4.18 (t, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.0$ Hz, 1H; C4H), 4.16 – 4.09 (m, 1H; C5H), 4.08 (dd, $^3J_{H2,H3} = 2.8$, $^3J_{H2,H1} = 1.6$ Hz, 1H; C2H), 4.06 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 9.9$, $^3J_{H6a,H5} = 4.7$ Hz, 1H; C6Ha), 3.95 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 9.9$ Hz, 1H; C6Hb), 3.79 (dd, $^3J_{H3,H4} = 8.7$, $^3J_{H3,H2} = 2.8$ Hz, 1H; C3H), 1.06 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (t, $^3J_{SiCH_2CH_3, SiCH_2CH_3} = 7.9$ Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.93 (t, $^3J_{SiCH_2CH_3, SiCH_2CH_3} = 7.9$ Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.74 – 0.53 (m, 12H; SiCH₂CH₃).

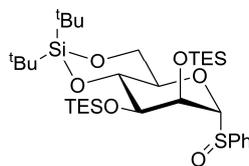
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 134.7$ (Ar), 131.0 (2C; Ar), 129.1 (2C; Ar), 127.2 (Ar), 90.0 (C1), 75.1 (C2), 74.5 (C4), 73.0 (C3), 69.3 (C5), 66.7 (C6), 27.6 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.7 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃), 7.0 (3C; SiCH₂CH₃), 6.8 (3C; SiCH₂CH₃), 5.0 (3C; SiCH₂CH₃), 4.9 (3C; SiCH₂CH₃).

IR: $\tilde{\nu} = 2953$ (w), 2935 (w), 2911 (w), 2877 (w), 2860 (w), 1584 (w), 1474 (m), 1414 (w), 1395 (w), 1364 (w), 1239 (w), 1157 (m), 1130 (w), 1097 (vs), 1065 (m), 1009 (s), 972 (m), 922 (m), 872 (vs), 825 (s), 766 (m), 725 (vs), 690 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₃₂H₆₀O₅SSi₃ + NH₄]⁺: 658.3808, gef.: 658.3810.

$[\alpha]_D^{22}$: = 24.7° (c = 0.002, CHCl₃).

1-*S*-Phenyl-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilyl-2,3-*O*-bistriethylsilyl- α -D-mannopyranosyl-1-*S*-oxid
(79)^[201]



Eine Lösung des Diols **78** (0.75 g, 1.17 mmol, 1.0 eq.) in CH₂Cl₂ (10 mL) wurde bei –50 °C mit *m*CPBA (70% w/w, 0.34 g, 1.38 mmol, 1.2 eq.) versetzt und nach Zugabe von weiterem CH₂Cl₂ (25 mL) wurde 3 h bei –40 – –50 °C gerührt. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht bei –20 °C gelagert und die Reaktion anschließend mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit CH₂Cl₂ (20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden sukzessiv mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 50:1) lieferte 0.75 g (1.14 mmol, 98%) **79** als farbloses Öl.

DC [Isohexan/EtOAc (19:1)]: R_f = 0.22.

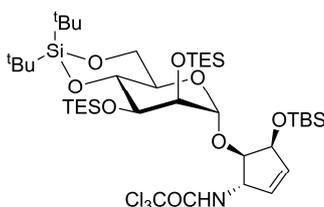
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.62 – 7.59 (m, 2H; ArH), 7.57 – 7.52 (m, 3H; ArH), 4.37 (dd, ³J_{H2,H3} = 2.8, ³J_{H2,H1} = 1.6 Hz, 1H; C2H), 4.28 (dd, ³J_{H1,H2} = 1.6, ⁴J_{H1,H4} = 0.4 Hz, 1H; C1H), 4.23 (t, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.2 Hz, 1H; C4H), 4.19 (dd, ³J_{H3,H4} = 9.3, ³J_{H3,H2} = 2.8 Hz, 1H; C3H), 4.06 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 9.9, ³J_{H6a,H5} = 5.0 Hz, 1H; C6Ha), 3.99 (td, ³J_{H5,H4} = ³J_{H5,H6b} = 9.5, ³J_{H5,H6a} = 4.9 Hz, 1H; C5H), 3.83 (t, ²J_{H6b,H6a} = ³J_{H6b,H5} = 10.0 Hz, 1H; C6Hb), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (t, ³J_{SiCH₂CH₃,SiCH₂CH₃} = 7.9 Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.85 (t, ³J_{SiCH₂CH₃,SiCH₂CH₃} = 7.9 Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.73 (q, ³J_{SiCH₂CH₃,SiCH₂CH₃} = 7.9 Hz, 6H; SiCH₂CH₃), 0.57 – 0.43 (m, 6H; SiCH₂CH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 142.1 (Ar), 131.3 (Ar), 129.3 (2C; Ar), 124.2 (2C; Ar), 99.9 (C1), 74.1 (C5), 73.6 (C4), 72.8 (C3), 69.7 (C2), 66.5 (C6), 27.6 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.7 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃), 7.0 (3C; SiCH₂CH₃), 6.7 (3C; SiCH₂CH₃), 5.0 (3C; SiCH₂CH₃), 4.7 (3C; SiCH₂CH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2953 (*m*), 2876 (*m*), 1474 (*m*), 1414 (*w*), 1364 (*w*), 1238 (*w*), 1160 (*w*), 1123 (*w*), 1098 (*s*), 1071 (*w*), 1044 (*m*), 1010 (*s*), 974 (*w*), 921 (*m*), 872 (*vs*), 826 (*s*), 765 (*w*), 726 (*vs*), 690 (*m*) cm^{–1}.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₂H₆₀O₆SSi₃ + H]⁺: 657.3491, gef.: 657.3495.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-((*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-*O*-di-*tert*-butylsilylen-2,3-*O*-bistriethylsilyl- α -D-mannopyranose (80**)**



Eine Lösung des Mannosendonors **79** (467 mg, 0.71 mmol, 1.0 eq.) und TTBP (421 mg, 1.70 mmol, 2.4 eq.) in CH₂Cl₂ (5.2 mL) wurde unter Argon mit fein gepulvertem MS 4Å versetzt und auf -75 °C gekühlt. Nach Zugabe von Tf₂O (0.1 mL, 0.59 mmol, 0.8 eq.) wurde innerhalb von 20 min auf -70 °C erwärmt und eine Lösung von Cyclopenten **2** (421 mg, 1.12 mmol, 1.6 eq.) in CH₂Cl₂ (3.2 mL) langsam hinzugegeben. Die Reaktion wurde nach 2 h bei -63 – -70 °C mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und mit CH₂Cl₂ verdünnt. Die organische Phase wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 20:1) lieferte 277 mg (306 µmol, 43%) **80** als farbloser Feststoff.

DC [Isohexan/EtOAc (7:1)]: R_f = 0.45.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 6.86 (d, ³J_{NH,H3'} = 6.8 Hz, 1H; NHCO), 6.02 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.2, ³J_{H2',H3'} = 1.6 Hz, 1H; C2'H), 5.99 (ddd, ³J_{H1',H2'} = 6.2, ³J_{H1',H5'} = 2.5, ⁴J_{H1',H3'} = 2.0 Hz, 1H; C1'H), 4.84 – 4.81 (m, 1H; C3'H), 4.72 (d, ³J_{H1,H2} = 1.8 Hz, 1H; C1H), 4.71 (ddd, ³J_{H5',H4'} = 5.2, ³J_{H5',H1'} = 2.5, ⁵J_{H5',H3'} = 0.9 Hz, 1H; C5'H), 4.15 (t, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, 1H; C4H), 4.08 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.0, ³J_{H6a,H5} = 5.0 Hz, 1H; C6Ha), 3.93 – 3.86 (m, 3H; C2H, C6Hb, C4'H), 3.83 (dd, ³J_{H3,H4} = 9.2, ³J_{H3,H2} = 2.8 Hz, 1H; C3H), 3.70 (td, ³J_{H5,H4} = ³J_{H5,H6b} = 10.0, ³J_{H5,H6} = 4.9 Hz, 1H; C5H), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.99 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.97 (t, ³J_{SiCH₂CH₃,SiCH₂CH₃} = 7.9 Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.94 (t, ³J_{SiCH₂CH₃,SiCH₂CH₃} = 8.0 Hz, 9H; SiCH₂CH₃), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.71 – 0.57 (m, 12H; SiCH₂CH₃), 0.08 (s, 3H; SiCH₃), 0.07 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 161.8 (NHCOCCL₃), 133.8 (C1'), 133.6 (C2'), 101.4 (C1), 92.4 (CCl₃), 81.9 (C4'), 74.2 (C4), 73.7 (C2), 72.5 (C5'), 72.1 (C3), 69.3 (C5), 66.9

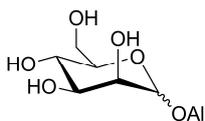
(C6), 60.6 (C3'), 27.7 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 25.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.7 (SiC(CH₃)₃), 19.9 (SiC(CH₃)₃), 18.2 (SiC(CH₃)₃), 7.0 (3C; SiCH₂CH₃), 6.9 (3C; SiCH₂CH₃), 5.1 (3C; SiCH₂CH₃), 5.0 (3C; SiCH₂CH₃), -4.2 (SiCH₃), -4.4 (SiCH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2953 (m), 2934 (m), 2912 (m), 2877 (m), 2860 (m), 1693 (m), 1520 (m), 1472 (m), 1413 (w), 1388 (w), 1363 (w), 1319 (w), 1241 (m), 1145 (s), 1123 (w), 1091 (s), 1068 (s), 1009 (s), 961 (w), 937 (w), 917 (m), 874 (s), 834 (vs), 824 (vs), 767 (w), 728 (vs), 679 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₉H₇₆Cl₃NO₈Si₄ + NH₄]⁺: 921.4052, gef.: 921.4068.

Der Schmelzpunkt und der Drehwert wurden nicht aufgenommen.

1-*O*-Allyl-*D*-mannopyranose (**86**)^[202]



D-(+)-Mannose (**73**) (20.0 g, 111.01 mmol, 1.0 eq.) wurde in Allylalkohol (105 mL) suspendiert, mit einer katalytischen Menge BF₃·OEt₂ (1.0 mL, 7.89 mmol, 0.07 eq.) versetzt und 6 h auf 120 °C erhitzt. Die erhaltene Lösung wurde mit Triethylamin neutralisiert und anschließend unter verminderten Druck von Lösemittel befreit. Die säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) lieferte 18.56 g (84.28 mmol, 76%) **86** (α/β ca. 9:1) als farblosen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (4:1)]: R_f = 0.48.

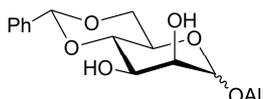
α -Anomer:

¹H-NMR (600 MHz, D₂O, 27 °C): δ = 6.02 – 5.95 (m, 1H; C2'H), 5.39 – 5.35 (m, 1H; C3'Ha), 5.30 – 5.27 (m, 1H; C3'Hb), 4.92 (s, 1H; C1H), 4.24 (dd, ²J_{H1'a,H1'b} = 12.7, ³J_{H1'a,H2'} = 5.4 Hz, 1H; C1'Ha), 4.08 (dd, ²J_{H1'b,H1'a} = 12.8, ³J_{H1'b,H2'} = 6.3 Hz, 1H; C1'Hb), 3.95 (dd, ³J_{H2,H3} = 3.3, ³J_{H2,H1} = 1.7 Hz, 1H; C2H), 3.89 (d, ²J_{H6a,H6b} = 12.1 Hz, 1H; C6Ha), 3.83 – 3.79 (m, 1H; C3H), 3.78 – 3.74 (m, 1H; C6Hb), 3.67 – 3.63 (m, 2H; C4H, C5H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D_2O , 27 °C): δ = 133.2 (C2'), 118.4 (C3'), 98.9 (C1), 72.7 (C5), 70.5 (C3), 70.0 (C2), 68.0 (C1'), 66.7 (C4), 60.8 (C6).

HRMS (Anomerengemisch, ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_6 + \text{NH}_4]^+$: 238.1285, gef.: 238.1287.

1-*O*-Allyl-4,6-*O*-benzyliden-*D*-mannopyranose (**87**)^[203]



Eine Lösung des Mannosids **86** (277 mg, 1.26 mmol, 1.0 eq.) in DMF (6 mL) wurde mit Benzaldehyddimethylacetal (0.23 mL, 1.53 mmol, 1.2 eq.) und einer katalytischen Menge *p*-Toluolsulfonsäure (54% in Et_2O , 1.15 mL, 8.43 mmol, 0.1 eq.) versetzt und 2.5 h bei 60 °C gerührt. Nach Verdünnen der Lösung mit CH_2Cl_2 wurde die Reaktion durch Zugabe von gesättigter NaHCO_3 -Lösung gestoppt. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/ EtOAc 1:3) aufgereinigt. Es wurden 145 mg (0.47 mmol, 37%) **87** als untrennbares Gemisch beider Anomere (nahezu ausschließlich β) in Form eines farblosen Feststoffs erhalten.

DC [Isohexan/ EtOAc (1:3)]: R_f = 0.48.

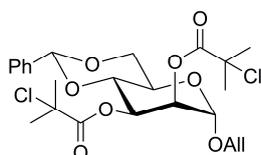
β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 7.50 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.34 (m, 3H; ArH), 5.88 (dddd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'a} = 17.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'b} = 10.3$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'b} = 6.0$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'a} = 5.3$ Hz, 1H; C2'H), 5.52 (s, 1H; PhCH), 5.29 (ddd, $^3J_{\text{H}3'a,\text{H}2'} = 17.3$, $^2J_{\text{H}3'a,\text{H}3'b} = 3.2$, $^4J_{\text{H}3'a,\text{H}1'a} = 1.6$ Hz, 1H; C3'Ha), 5.21 (ddd, $^3J_{\text{H}3'b,\text{H}2'} = 10.4$, $^2J_{\text{H}3'b,\text{H}3'a} = 2.7$, $^4J_{\text{H}3'b,\text{H}1'a} = 1.3$ Hz, 1H; C3'Hb), 4.80 (d, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = 1.4$ Hz, 1H; C1H), 4.22 (dd, $^2J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 8.8$ Hz, $^3J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 3.3$ Hz, 1H; C6Ha), 4.15 (ddt, $^2J_{\text{H}1'a,\text{H}1'b} = 12.9$, $^3J_{\text{H}1'a,\text{H}2'} = 5.3$, $^4J_{\text{H}1'a,\text{H}3'a} = ^4J_{\text{H}1'a,\text{H}3'b} = 1.5$ Hz, 1H; C1'Ha), 4.01 (dt, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 9.7$, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 4.0$ Hz, 1H; C3H), 3.96 – 3.91 (m, 2H; C1'Hb, C2H), 3.89 (t, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = ^3J_{\text{H}4,\text{H}5} = 9.3$ Hz, 1H; C4H), 3.81 – 3.78 (m, 2H; C5H, C6Hb), 3.57 (d, $^3J_{\text{C}3\text{-OH},\text{H}3} = 4.3$ Hz, 1H; C3-OH), 3.55 (d, $^3J_{\text{C}2\text{-OH},\text{H}2} = 3.2$ Hz, 1H; C2-OH).

^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 137.1$ (Ar), 133.4 (C2'), 129.1 (Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.2 (2C; Ar), 117.6 (C3'), 102.0 (PhCH), 99.5 (C1), 78.7 (C4), 70.8 (C2), 68.6 (C6), 68.4 (C3), 68.1 (C1'), 63.2 (C5).

HRMS (Anomerengemisch, ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_6 + \text{H}]^+$: 309.1333, gef.: 309.1336.

1-*O*-Allyl-2,3-di-*O*-(2-chlor)isobutyryl-4,6-*O*-benzyliden- α -D-mannopyranose (**88**)



Eine Lösung aus Mannopyranosid **87** (668 mg, 2.17 mmol, 1.0 eq.) in CH_2Cl_2 (18 mL) wurde mit einer Lösung aus 2-Chlorisobuttersäure **10** (611 mg, mmol, 2.3 eq.) in CH_2Cl_2 (5 mL) und DMAP (26 mg, 0.21 mmol, 0.1 eq.) versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von DIC (0.81 mL, mmol, 2.4 eq.) wurde 10 min bei 0 °C und anschließend 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das präzipitierte Harnstoffderivat wurde abfiltriert und die organische Phase mit wässriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit CH_2Cl_2 (2 \times 30 mL) wurden die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 20:1) lieferte 817 mg (1.58 mmol, 73%) **88** als farbloses Öl.

DC [Isohexan/EtOAc (9:1)]: $R_f = 0.37$.

^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 7.46 - 7.43$ (m, 2H; ArH), 7.37 - 7.31 (m, 3H; ArH), 5.90 (dddd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'a} = 17.2$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'b} = 10.4$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'b} = 6.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'a} = 5.3$ Hz, 1H; C2'H), 5.62 (s, 1H; PhCH), 5.56 (dd, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 10.2$, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 3.5$ Hz, 1H; C3H), 5.40 (dd, $^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 3.5$, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = 1.7$ Hz, 1H; C2H), 5.33 (ddd, $^3J_{\text{H}3'a,\text{H}2'} = 17.2$, $^2J_{\text{H}3'a,\text{H}3'b} = 3.1$, $^4J_{\text{H}3'a,\text{H}1'a} = 1.5$ Hz, 1H; C3'Ha), 5.25 (ddd, $^3J_{\text{H}3'b,\text{H}2'} = 10.4$, $^2J_{\text{H}3'b,\text{H}3'a} = 2.7$, $^4J_{\text{H}3'b,\text{H}1'a} = 1.3$ Hz, 1H; C3'Hb), 4.87 (d, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = 1.7$ Hz, 1H; C1H), 4.31 (dd, $^2J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 10.3$, $^3J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 4.8$ Hz, 1H; C6Ha), 4.25 - 4.21 (m, 1H; C1'Ha), 4.10 (t, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = ^3J_{\text{H}4,\text{H}5} = 9.9$ Hz, 1H; C4H), 4.07 - 4.00 (m, 2H; C1'Hb, C5H), 3.87 (t, $^2J_{\text{H}6b,\text{H}6a} = ^3J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 10.3$ Hz, 1H; C6Hb), 1.85 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.83 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.75 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 1.74 (s, 3H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

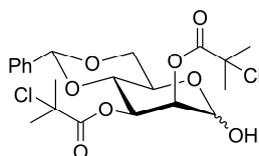
^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 170.5 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 170.4 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 137.0 (Ar), 132.9 (C'), 128.9 (Ar), 128.2 (2C; Ar), 125.9 (2C; Ar), 118.3 (C'), 101.4 (PhCH), 97.2 (C_1), 76.4 (C_4), 71.3 (C_2), 69.9 (C_3), 68.7 (C_6), 68.6 (C'), 64.4 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 64.1 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 63.9 (C_5), 29.8 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.7 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2985 (w), 2932 (w), 2866 (w), 1746 (vs), 1456 (m), 1388 (m), 1372 (m), 1269 (s), 1218 (w), 1156 (s), 1115 (vs), 1095 (vs), 1095 (vs), 1015 (s), 973 (w), 932 (w), 914 (w), 900 (w), 795 (w), 749 (s), 698 (vs), 664 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{Cl}_2\text{O}_8 + \text{H}]^+$: 517.1390, gef.: 517.1387.

Der Drehwert wurde nicht aufgenommen.

2,3-Di-*O*-(2-chlor)isobutyryl-4,6-*O*-benzyliden-*D*-mannopyranose (**89**)^[204]



Der Diester **88** (773 mg, 1.49 mmol, 1.0 eq.) wurde in EtOAc (10 mL) gelöst. Nach Zugabe von Essigsäure (90% in Wasser, 27.5 mL) und NaOAc (738 mg, 9.00 mmol, 6.0 eq.) wurde die Lösung mit PdCl_2 (396 mg, 2.23 mmol, 1.5 eq.) versetzt und anschließend für 23 h bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende Suspension wurde mit EtOAc (20 mL) verdünnt, über Kieselgur filtriert und das Filtrat nach Zugabe von Wasser (40 mL) mit EtOAc extrahiert (3×50 mL). Die vereinten organischen Phasen wurden anschließend mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 15:1 \rightarrow 10:1) lieferte 601 mg eines Gemischs aus **89** und den beiden am Allylrest oxidierten Produkten **90** und **91** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (6:1)]: R_f = 0.04.

α -Anomer:

^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 7.46 – 7.42 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.33 (m, 3H; ArH), 5.62 (s, 1H; PhCH), 5.59 (dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4}$ = 10.3, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2}$ = 3.5 Hz, 1H; C_3H), 5.42 (dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3}$ =

3.5, $^3J_{H2,H1} = 1.7$ Hz, 1H; C2H), 5.24 (dd, $^3J_{H1,C1-OH} = 3.7$, $^3J_{H1,H2} = 1.4$ Hz, 1H; C1H), 4.31 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.2$, $^3J_{H6a,H5} = 4.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.23 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.8$, $^3J_{H5,H6a} = 4.8$ Hz, 1H; C5H), 4.13 – 4.09 (m, 1H; C4H), 3.87 – 3.83 (m, 1H; C6Hb), 3.04 (d, $^3J_{C1-OH,H1} = 3.7$ Hz, 1H; C1-OH), 1.85 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.83 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.75 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.74 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.5$ (COCCl(CH₃)₂), 170.4 (COCCl(CH₃)₂), 137.0 (Ar), 128.9 (Ar), 128.2 (Ar), 125.9 (Ar), 101.5 (PhCH), 93.0 (C1), 76.1 (C4), 71.4 (C2), 69.7 (C3), 68.5 (C6), 64.4 (CCl(CH₃)₂), 64.1 (CCl(CH₃)₂), 63.9 (C5), 29.8 (2C; CCl(CH₃)₂), 29.7 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂).

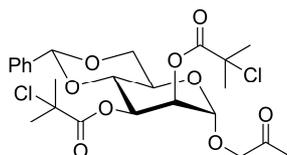
β -Anomer:

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 7.47$ – 7.41 (m, 2H; ArH), 7.39 – 7.31 (m, 3H; ArH), 5.56 – 5.55 (m, 1H; C2H), 5.28 (dd, $^3J_{H3,H4} = 10.3$, $^3J_{H3,H2} = 3.5$ Hz, 1H; C3H), 5.09 (dd, $^3J_{H1,C1-OH} = 10.1$, $^3J_{H1,H2} = 1.2$ Hz, 1H; C1H), 4.40 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.6$, $^3J_{H6a,H5} = 4.9$ Hz, 1H; C6Ha), 4.02 – 3.98 (m, 1H; C4H), 3.91 – 3.86 (m, 1H; C6Hb), 3.57 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.8$, $^3J_{H5,H6a} = 5.0$ Hz, 1H; C5H), 3.34 (d, $^3J_{C1-OH,H1} = 10.2$ Hz, 1H; C1-OH), 1.85 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.83 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.75 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.74 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.5$ (COCCl(CH₃)₂), 170.4 (COCCl(CH₃)₂), 136.9 (Ar), 128.9 (Ar), 128.2 (Ar), 125.9 (Ar), 101.5 (PhCH), 93.4 (C1), 75.5 (C4), 71.7 (C3), 71.5 (C2), 68.3 (C6), 67.1 (C5), 64.4 (CCl(CH₃)₂), 64.1 (CCl(CH₃)₂), 29.8 (2C; CCl(CH₃)₂), 29.7 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₂₁H₂₆Cl₂O₈ + H]⁺: 477.1077, gef.: 477.1073.

1-O-(2-Oxopropyl)-2,3-di-O-(2-chlor)isobutyryl-4,6-O-benzyliden- α -D-mannopyranose (90)



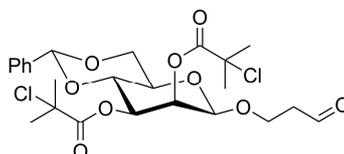
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 7.46$ – 7.41 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.32 (m, 3H; ArH), 5.63 (s, 1H; PhCH), 5.56 (dd, $^3J_{H3,H4} = 10.1$, $^3J_{H3,H2} = 3.6$ Hz, 1H; C3H), 5.52 (dd, $^3J_{H2,H3} =$

3.5, $^3J_{H2,H1} = 1.6$ Hz, 1H; C2H), 4.90 (d, $^3J_{H1,H2} = 1.6$ Hz, 1H; C1H), 4.31 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.2$, $^3J_{H6a,H5} = 4.7$ Hz, 1H; C6Ha), 4.25 (d, $^2J_{OCHaHbCO,OCHaHbCO} = 17.0$ Hz, 1H; OCHaHbCO), 4.16 (d, $^2J_{OCHaHbCO,OCHaHbCO} = 17.0$ Hz, 1H; OCHaHbCO), 4.16 – 4.09 (m, 1H; C4H), 4.03 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.7$, $^3J_{H5,H6a} = 4.6$ Hz, 1H; C5H), 3.87 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 10.2$ Hz, 1H; C6Hb), 2.21 (s, 3H, OCH₂COCH₃), 1.85 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.83 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.75 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.74 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 204.5$ (OCH₂COCH₃), 170.5 (COCCl(CH₃)₂), 170.3 (COCCl(CH₃)₂), 136.8 (Ar), 129.0 (Ar), 128.2 (2C; Ar), 125.8 (2C; Ar), 101.5 (PhCH), 98.1 (C1), 76.1 (C4), 72.2 (OCH₂CO), 70.8 (C2), 69.6 (C3), 68.5 (C6), 64.4 (2C; C5, CCl(CH₃)₂), 64.0 (CCl(CH₃)₂), 29.8 (CCl(CH₃)₂), 29.7 (2C; CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂), 26.5 (OCH₂COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₄H₃₀Cl₂O₉ + NH₄]⁺: 550.1605, gef.: 550.1600.

1-*O*-(3-Oxopropyl)-2,3-di-*O*-(2-chlor)isobutyryl-4,6-*O*-benzyliden- β -D-mannopyranose (91)



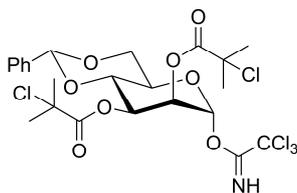
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 9.82$ (t, $^3J_{CHO,OCHaHbCH2} = 1.1$ Hz, 1H; CHO), 7.46 – 7.42 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.33 (m, 3H; ArH), 5.62 (s, 1H; PhCH), 5.47 (dd, $^3J_{H3,H4} = 10.3$, $^3J_{H3,H2} = 3.5$ Hz, 1H; C3H), 5.36 (dd, $^3J_{H2,H3} = 3.4$, $^3J_{H2,H1} = 1.5$ Hz, 1H; C2H), 4.85 (d, $^3J_{H1,H2} = 1.6$ Hz, 1H; C1H), 4.34 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.3$, $^3J_{H6a,H5} = 4.7$ Hz, 1H; C6Ha), 4.13 – 4.09 (m, 1H; C4H), 4.09 – 4.06 (m, 1H; OCHaHbCH₂), 3.98 (td, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 10.0$, $^3J_{H5,H6a} = 4.8$ Hz, 1H; C5H), 3.92 – 3.87 (m, 1H; C6Hb), 3.79 (dt, $^2J_{OCHaHbCH2,OCHaHbCH2} = 10.1$, $^3J_{OCHaHbCH2,OCHaHbCH2} = 6.1$ Hz, 2H; OCHaHbCH₂), 2.79 (td, $^3J_{OCHaHbCH2,OCHaHbCH2} = ^3J_{OCHaHbCH2,OCHaHbCH2} = 6.0$, $^3J_{OCHaHbCH2,CHO} = 1.1$ Hz, 1H; OCHaHbCH₂), 1.85 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.83 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.75 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.74 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 199.5$ (CHO), 170.4 (COCCl(CH₃)₂), 170.3 (COCCl(CH₃)₂), 136.8 (Ar), 129.0 (Ar), 128.2 (Ar), 125.9 (Ar), 101.3 (PhCH), 98.4 (C1),

76.2 (C4), 71.0 (C2), 69.8 (C3), 68.6 (C6), 64.4 (CCl(CH₃)₂), 64.1 (2C; C5, CCl(CH₃)₂), 61.7 (OCH₂CH₂), 43.3 (OCH₂CH₂), 29.8 (2C; CCl(CH₃)₂), 29.7 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₄H₃₀Cl₂O₉ + NH₄]⁺: 550.1605, gef.: 550.1600.

4,6-*O*-Benzyliden-2,3-di-*O*-(2-chlorisobutyryl)- α -D-mannopyranosyl-1-*O*-trichloracetimidat (92)



Eine Lösung des Produktgemisch (590 mg) in CH₂Cl₂ (40 mL) wurde mit Cs₂CO₃ (252 mg, 0.77 mmol) und Cl₃CCN (1.24 mL, 12.37 mmol) versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt. Nach 5 min Rühren bei Raumtemperatur wurde die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (2 × 30 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 7:1 → 3:1) lieferte 364 mg **92** (0.59 mmol, 31% über zwei Stufen) als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (6:1)]: R_f = 0.28.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 8.80 (s, 1H; NH=CCCl₃), 7.48 – 7.43 (m, 2H; ArH), 7.38 – 7.33 (m, 3H; ArH), 6.27 (d, ³J_{H1,H2} = 1.5 Hz, 1H; C1H), 5.66 (s, 1H; PhCH), 5.62 – 5.59 (m, 2H; C2H, C3H), 4.38 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 10.5, ³J_{H6a,H5} = 4.7 Hz, 1H; C6Ha), 4.25 – 4.21 (m, 1H; C4H), 4.18 (td, ³J_{H5,H4} = ³J_{H5,H6b} = 9.7, ³J_{H5,H6a} = 4.7 Hz, 1H; C5H), 3.90 (t, ²J_{H6b,H6a} = ³J_{H6b,H5} = 10.2 Hz, 1H; C6Hb), 1.87 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.86 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.77 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.76 (s, 3H; CCl(CH₃)₂).

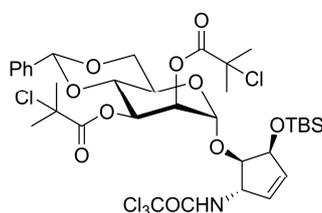
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 170.6 (COCCl(CH₃)₂), 170.1 (COCCl(CH₃)₂), 160.0 (NH=CCCl₃), 136.7 (Ar), 129.0 (Ar), 128.2 (2C; Ar), 125.8 (2C; Ar), 101.5 (PhCH), 94.9 (C1), 90.4 (CCl₃), 75.6 (C4), 69.7 (C2 o. C3), 69.6 (C2 o. C3), 68.4 (C6), 66.5 (C5), 64.3 (CCl(CH₃)₂), 63.9 (CCl(CH₃)₂), 29.8 (2C; CCl(CH₃)₂), 29.7 (CCl(CH₃)₂), 29.6 (CCl(CH₃)₂).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3334 (*w*), 2984 (*w*), 2934 (*w*), 2866 (*w*), 1750 (*s*), 1676 (*m*), 1453 (*m*), 1389 (*m*), 1372 (*m*), 1320 (*w*), 1266 (*s*), 1147 (*s*), 1116 (*w*), 1098 (*s*), 1055 (*w*), 1018 (*w*), 976 (*s*), 921 (*m*), 874 (*w*), 836 (*m*), 795 (*s*), 750 (*s*), 724 (*w*), 697 (*s*), 665 (*m*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁻) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{Cl}_5\text{NO}_8 + \text{Cl}]^-$: 653.9795, gef.: 653.9794.

Der Schmelzpunkt und Drehwert wurden nicht aufgenommen.

1-*O*-((3*S*,4*R*,5*S*)-((*N*-trichloracetyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-*O*-benzyliden-2,3-*O*-di(2-chlorisobutyryl)- α -D-mannopyranose (93**)**



Das Trichloracetimidat **92** (359 mg, 0.58 mmol, 1.0 eq.) wurde unter Argon mit einer Lösung des Cyclopentens **2** (360 mg, 0.96 mmol, 1.6 eq.) in *n*-Hexan (25 mL) und MS 3Å versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1.5 h wurde CMPOTf (7 mg, 25 μmol , 0.1 eq.) zugegeben und weitere 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die entstandene Suspension wurde durch einen Microfilter in gesättigte wässrige NaHCO_3 -Lösung filtriert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3×20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 15:1 \rightarrow 3:1) wurde 181 mg eines untrennbaren Gemischs aus **93** mit einem nicht weiter identifizierten Nebenprodukt als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (6:1)]: $R_f = 0.21$.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 7.44 – 7.40 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.32 (m, 3H; ArH), 6.63 (d, $^3J_{\text{NH},\text{H}3'} = 7.2$, 1H; NH), 6.04 (dt, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.0$, $^4J_{\text{H}1',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}1',\text{H}5} = 2.0$ Hz, 1H; C1'H), 5.95 (ddd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.1$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 2.1$, $^4J_{\text{H}2',\text{H}5} = 0.6$ Hz, 1H; C2'H), 5.59 (s, 1H; PhCH), 5.55 (dd, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 9.9$, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 3.5$ Hz, 1H; C3H), 5.50 (dd, $^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 3.5$, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = 1.6$ Hz, 1H; C2H), 4.99 (d, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = 1.5$ Hz, 1H; C1H), 4.91 – 4.86 (m, 1H; C3'H), 4.85 – 4.82 (m, 1H; C5'H), 4.41 (dd, $^2J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 10.3$, $^3J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 4.7$ Hz, 1H; C6Ha), 4.18 (t, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'} =$

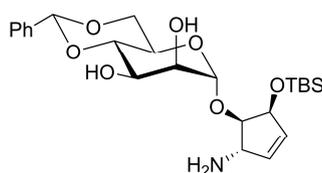
4.9 Hz, 1H; C4'H), 4.14 (dd, $^3J_{H5,H4} = 9.8$, $^3J_{H5,H6a} = 4.7$ Hz, 1H; C5H), 4.07 (t, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.8$ Hz, 1H; C4H), 3.84 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 10.1$ Hz, 1H; C6Hb), 1.84 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.81 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.73 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 1.72 (s, 3H; CCl(CH₃)₂), 0.88 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃), 0.09 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 170.3$ (COCCl(CH₃)₂), 169.9 (COCCl(CH₃)₂), 161.7 (NHCO), 137.1 (Ar), 136.2 (C1'), 131.8 (C2'), 128.9 (Ar), 128.1 (2C; Ar), 126.0 (2C; Ar), 101.5 (PhCH), 97.6 (C1), 92.3 (CCl₃), 79.4 (C4'), 76.3 (C4), 73.3 (C5'), 70.7 (C2), 69.9 (C3), 68.5 (C6), 64.4 (CCl(CH₃)₂), 64.3 (C5), 64.1 (CCl(CH₃)₂), 61.1 (C3'), 29.9 (CCl(CH₃)₂), 29.7 (3C; CCl(CH₃)₂), 25.8 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃), -4.8 (SiCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₄H₄₆Cl₅NO₁₀Si + NH₄]⁺: 849.1672, gef.: 849.1675.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde von der Aufnahme eines IR-Spektrums und des Schmelzpunkts abgesehen.

1-O-((3*S*,4*R*,5*S*)-(3-Amino-5-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4-yl))-4,6-O-benzyliden- α -D-mannopyranose (94)



Zu einer Lösung des Gemischs aus dem Mannosid **93** (177 mg) mit Nebenprodukt in MeOH (4 mL) wurde wässriger NaOH (2M, 1.85 mL) innerhalb 1 h versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die DC-Kontrolle der Reaktion zeigte nur partielle Entschützung des Glykosids. Die erhaltene Suspension wurde durch Zugabe von MeOH (10 mL) wieder in Lösung gebracht und weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Neutralisation mit Trockeneis wurde mit MeOH (10 mL) verdünnt, Kieselgel zugegeben und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1 → 6:1) lieferte 63 mg eines Gemischs aus **94** mit Orthoester **95** als farblosen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: *R_f* = 0.76.

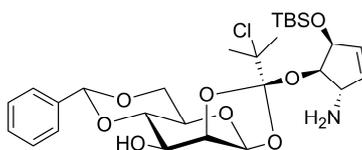
¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.33 (m, 3H; ArH), 5.92 (dt, $^3J_{H1',H2'} = 6.2$, $^3J_{H1',H5'} = ^4J_{H1',H3'} = 2.3$ Hz, 1H; C1'H), 5.88 (dd, $^3J_{H2',H1'} = 6.2$, $^3J_{H2',H3'} = 1.6$ Hz, 1H; C2'H), 5.62 (s, 1H; PhCH), 4.99 (d, $^3J_{H1,H2} = 1.5$ Hz, 1H; C1H), 4.78 (ddd, $^3J_{H5',H4'} = 5.2$, $^3J_{H5',H1'} = 2.5$, $^5J_{H5',H3'} = 1.1$ Hz, 1H; C5'H), 4.24 (dd, $^2J_{H6a,H6b} = 10.1$, $^3J_{H6a,H5} = 4.4$ Hz, 1H; C6Ha), 4.06 (dd, $^3J_{H3,H4} = 9.5$, $^3J_{H3,H2} = 3.4$ Hz, 1H; C3H), 4.00 (dd, $^3J_{H2,H3} = 3.4$, $^3J_{H2,H1} = 1.6$ Hz, 1H; C2H), 3.99 – 3.93 (m, 3H; C3'H, C4H, C5H), 3.83 (t, $^2J_{H6b,H6a} = ^3J_{H6b,H5} = 10.0$ Hz, 1H; C6Hb), 3.71 (t, $^3J_{H4',H3'} = ^3J_{H4',H5'} = 5.5$ Hz, 1H; C4'H), 0.92 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.13 (s, 3H; SiCH₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 139.3 (Ar), 138.6 (C2'), 133.3 (C1'), 129.9 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 127.5 (2C; Ar), 103.4 (PhCH), 101.8 (C1), 86.2 (C4') 80.2 (C4), 74.7 (C5'), 72.8 (C2), 69.7 (C6), 69.5 (C3), 65.6 (C5), 60.6 (C3'), 26.4 (3C; SiC(CH₃)₃), 19.1 (SiC(CH₃)₃), -4.1 (SiCH₃), -4.5 (SiCH₃).

HRMS (ESI⁻) m/z : ber. für [C₂₄H₃₇NO₇Si – H]⁻: 478.2267, gef.: 478.2267.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

(1S)-5,6-O-Benzyliden-1,2-O-((S)-2-chlorprop-2-yl)((3S,4R,5S)-3-amino-5-((tert-butyl-dimethylsilyl)oxy)cyclopent-1-en-4-oxy)methylenmannopyranose (95)

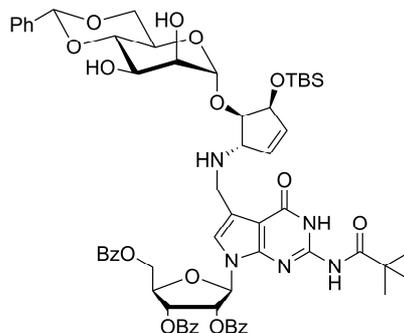


¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 7.53 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.31 (m, 3H; ArH), 5.94 – 5.92 (m, 1H; C1'H), 5.88 – 5.86 (m, 1H; C2'H), 5.66 (d, $^3J_{H1,H2} = 3.0$ Hz, 1H; C1H), 5.60 (s, 1H; PhCH), 4.90 (dd, $^3J_{H2,H3} = 4.7$, $^3J_{H2,H1} = 3.0$ Hz, 1H; C2H), 4.68 (ddd, $^3J_{H5',H4'} = 5.2$, $^3J_{H5',H1'} = 2.5$, $^5J_{H5',H3'} = 1.0$ Hz, 1H; C5'H), 4.27 – 4.23 (m, 1H; C6Ha), 4.08 (dd, $^3J_{H3,H4} = 9.9$, $^3J_{H3,H2} = 4.7$ Hz, 1H; C3H), 3.99 – 3.93 (m, 3H; C4H, C3'H, C4'H), 3.74 – 3.70 (m, 1H; C6Hb), 3.47 – 3.42 (m, 1H; C5H), 1.77 (CCl(CH₃)₂), 1.76 (CCl(CH₃)₂), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.10 (2s, 6H; SiCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD , 27 °C): $\delta = 139.1$ (Ar), 138.0 (C2'), 134.0 (C1'), 129.9 (Ar), 129.0 (2C; Ar), 127.5 (2C; Ar), 126.0 ($\text{CO}_3\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 103.0 (PhCH), 98.9 (C1), 82.7 (C4'), 81.8 (C2), 78.8 (C4), 75.6 (C5'), 72.7 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 70.3 (C3), 69.4 (C6), 66.5 (C5), 60.8 (C3'), 29.8 (3C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.7 (3C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 26.5 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 19.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.0 (2C; SiCH_3).

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{ClNO}_8\text{Si} + \text{H}]^+$: 584.2441, gef.: 584.2437.

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- α -*D*-mannopyranosyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-3-yl)amino)methyl)-2-pivaloylamino-2',3',5'-tri-*O*-benzoyl-guanosin (96)



Das Gemisch aus Glykosid **94** und Orthoester **95** (50 mg) und 7-Formyl-7-desazaguanosin **29** (60 mg, 87 μmol 1.0 eq.) wurden in Methanol (5 mL) gelöst und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt, mit NaBH_4 (12 mg, 317 μmol , 3.7 eq.) versetzt und 1 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (0.5 mL) gestoppt und 5 min bei 0 °C gerührt. Nach Verdünnen mit Methanol (10 mL) wurde Kieselgel zugegeben und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 60:1 \rightarrow 30:1) lieferte 41 mg (35 μmol , 6% ausgehend von **92**) **96** als leicht braunen Feststoff.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.71$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 11.57$ (s, 1H; NHCO), 8.75 (s, 1H; $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$), 7.95 – 7.92 (m, 2H; ArH), 7.91 – 7.88 (m, 2H; ArH), 7.78 – 7.75 (m, 2H; ArH), 7.63 – 7.55 (m, 2H; ArH), 7.52 – 7.42 (m, 5H; ArH), 7.39 – 7.27 (m, 7H; ArH), 6.95 (dd, $^3J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 8.2$, $^3J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 5.0$ Hz, 1H; C3'H), 6.88 (s, 1H; C8H), 6.44 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 4.9$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 1.3$ Hz, 1H;

C2'H), 5.94 (bs, 1H; C2''H), 5.85 (s, 2H; C1''H, C1'H), 5.56 (s, 1H; PhCH), 5.11 (s, 1H; C1'''H), 4.93 (s, 1H; C5''H), 4.70 – 4.65 (m, 2H; C5'Ha, C4'H), 4.64 – 4.59 (m, 1H; C5'Hb), 4.36 – 4.31 (m, 1H; C6'''Ha), 4.17 (bs, 2H; C2'''H, C3'''H), 4.13 – 4.04 (m, 2H; C4''H, C5'''H), 4.00 – 3.95 (m, 2H; C4'''H, NCH₂), 3.91 (bs, 2H; NCH₂, C3''H), 3.84 (t, $^2J_{\text{H6}''\text{b},\text{H6}''\text{a}} = ^3J_{\text{H6}''\text{b},\text{H5}''} = 10.3$ Hz, 1H; C6'''Hb), 2.69 (s, 1H; C2'''-OH o. C3'''-OH), 2.53 (s, 1H; C2'''-OH o. C3'''-OH), 1.34 (s, 9H; NHCOC(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 0.11 (s, 3H; SiCH₃), 0.10 (s, 3H; SiCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 180.0 (COC(CH₃)₃), 166.1 (ArCO), 166.0 (ArCO), 165.1 (ArCO), 157.8 (C6), 146.9 (C4), 146.1 (C2), 137.5 (Ar), 135.1 (C2''), 133.7 (2C; Ar), 133.4 (C1''), 129.8 (2C; Ar), 129.7 (2C; Ar), 129.3 (2C; Ar), 129.0 (Ar), 128.9 (Ar), 128.8 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.3 (Ar), 128.2 (Ar), 126.3 (2C; Ar), 120.6 (C8), 119.6 (C7), 102.4 (PhCH), 99.2 (C1'''), 89.5 (C1'), 79.9 (C4''), 79.1 (C4'''), 78.0 (C4'), 74.6 (2C; C2', C5''), 71.0 (C2'''), 70.6 (C3'), 69.0 (C6'''), 68.6 (C3'''), 66.5 (C3''), 63.5 (C5'''), 61.4 (C5'), 43.7 (NCH₂), 40.2 (COC(CH₃)₃), 26.9 (3C; COC(CH₃)₃), 25.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -4.3 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

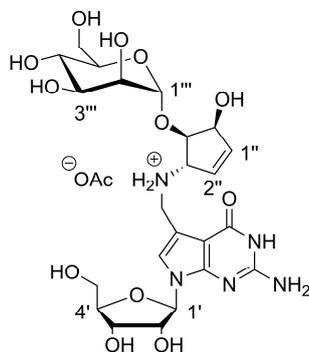
IR: $\tilde{\nu}$ = 2928 (w), 2854 (w), 1724 (s), 1669 (s), 1601 (s), 1538 (m), 1450 (m), 1372 (w), 1315 (w), 1264 (s), 1177 (w), 1093 (w), 1068 (w), 1025 (m), 974 (w), 925 (w), 832 (m), 776 (w), 710 (vs) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₆₂H₇₁N₅O₁₆Si + H]⁺: 1170.4738, gef.: 1170.4732.

Schmelzpunkt: 136.1 – 138.8 °C.

Der Drehwert wurde nicht bestimmt.

7-Desaza-7-(((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(α -D-mannopyranosyl)-5-hydroxycyclopent-1-en-3-yl)-amino)methyl)guanosin (α -manQ) (72**)**



Das Queuosinderivat **96** (36 mg, 31 μ mol, 1.0 eq.) wurde in CH_2Cl_2 (0.5 mL) gelöst und bei 0 °C mit Trifluoressigsäure (1.0 mL) versetzt. Nach 30 min Rühren bei 0 °C wurde die Reaktion mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gequencht, mit EtOAc (10 mL) verdünnt und die wässrige Phase mit EtOAc (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das erhaltene benzyliden-entschützte Zwischenprodukt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen zusammen mit zusätzlich desilyliertem Produkt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in CH_2Cl_2 (0.8 mL) und EtOAc (0.6 mL) gelöst, mit Triethylamintrihydrofluorid (0.05 mL) versetzt und 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur *in vacuo* von Lösemittel befreit. Der Rückstand wurde in Methanol (1.2 mL) gelöst, mit NaOH (2M, 0.24 mL) versetzt und 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde mit Trockeneis neutralisiert und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung mittels HPLC wurden insgesamt 7.5 mg des Acetatsalzes von α -manQ (**72**) (34%) als farbloser Feststoff im Gemisch mit Benzoesäure und Triethylamin (5:10:1) erhalten.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/10 *Nucleodur*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 5% Puffer B, 45 min, Fluss 5 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 26.9$ min.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , 27 °C): $\delta = 7.04$ (s, 1H; C8H), 6.11 (ddd, $^3J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 6.2$, $^3J_{\text{H}1'',\text{H}5''} = 2.4$, $^4J_{\text{H}1'',\text{H}3''} = 1.9$ Hz, 1H; C1''H), 6.05 (dd, $^3J_{\text{H}2'',\text{H}1''} = 6.2$, $^3J_{\text{H}2'',\text{H}3''} = 1.5$ Hz, 1H; C2''H), 5.93 (d, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.0$ Hz, 1H; C1'H), 5.04 (d, $^3J_{\text{H}1''',\text{H}2'''} = 1.8$ Hz, 1H; C1'''H), 4.77 – 4.75 (m, 1H; C5''H), 4.43 (t, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 5.7$ Hz, 1H; C2'H), 4.26 (t, $^3J_{\text{H}4'',\text{H}3''} = ^3J_{\text{H}4'',\text{H}5''} = 5.4$

Hz, 1H; C4''H), 4.23 (dd, $^3J_{H3',H2'} = 5.3$, $^3J_{H3',H4'} = 3.6$ Hz, 1H; C3'H), 4.19 – 4.13 (m, 3H; C3''H, NCH₂), 4.02 (q, $^3J_{H4',H3'} = ^3J_{H4',H5'a} = ^3J_{H4',H5'b} = 3.5$ Hz, 1H; C4'H), 3.93 (dd, $^3J_{H2''',H3'''} = 3.4$, $^3J_{H2''',H1'''} = 1.8$ Hz, 1H; C2'''H), 3.92 – 3.90 (m, 1H; C6Ha), 3.80 (dd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 12.2$, $^3J_{H5'a,H4'} = 3.2$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.78 (dd, $^3J_{H3''',H4'''} = 9.4$, $^3J_{H3''',H2'''} = 3.4$ Hz, 1H; C3'''H), 3.76 – 3.70 (m, 3H; C5'''H, C5'Hb, C6'''Hb), 3.62 (t, $^3J_{H4''',H3'''} = ^3J_{H4''',H5'''} = 9.4$ Hz, 1H; C4'''H), 1.92 (CO₂CH₃⁻).

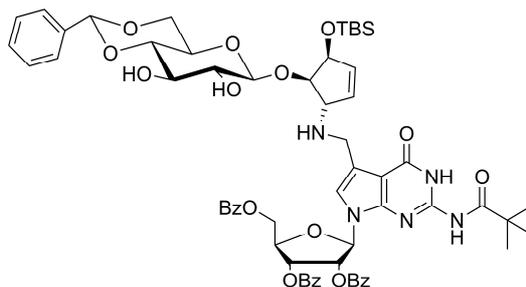
¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): $\delta = 162.3$ (C6), 154.3 (C2), 153.7 (C4), 137.2 (C1''), 132.2 (C2''), 119.4 (C8), 114.0 (C7), 100.8 (C5), 100.5 (C1'''), 89.5 (C1'), 86.5 (C4'), 79.0 (C4''), 75.6 (C2'), 75.6 (C5'''), 73.3 (C5''), 72.4 (C3'''), 72.2 (C3'), 71.8 (C2'''), 68.9 (C4'''), 66.4 (C3''), 63.3 (C5'), 63.1 (C6'''), 43.9 (NCH₂), 23.1 (CO₂CH₃⁻)

HRMS (ESI⁻) *m/z*: ber. für [C₂₃H₃₃N₅O₁₂ – H]⁻: 570.2053, gef.: 570.2052.

Zur Stabilisierung von α -manQ (**72**) gegen Zersetzung wurde nach HPL-chromatographischer Aufreinigung das Acetatsalz des Nukleosids im Gemisch mit Triethylamin isoliert. Zusätzlich wurde Benzoesäure als nicht abtrennbare Komponente erhalten. Deshalb wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums, des Schmelzpunkts und des Drehwerts verzichtet.

4.2.4 Synthese von Glukosylqueuosin (98)

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- β -D-glucopyranosyl)-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-3-yl)amino)methyl)-2-pivaloylamino-2',3',5'-tri-*O*-benzoylguanosen (99)



Das Glykosid **69** (42 mg, 78 μmol , 1.0 eq.) und das 7-Formyl-7-desazaguanosin **29** (54 mg, 76 μmol 1.0 eq.) wurden in Methanol (4 mL) gelöst und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt, mit NaBH_4 (11 mg, 317 μmol , 3.7 eq.) versetzt, und für 1 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (0.5 mL) abgebrochen und weitere 15 min bei 0 °C gerührt. Nach Verdünnen mit Methanol wurde Kieselgel zugegeben und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1) lieferte 81 mg (69 μmol , 91%) **99** als farblosen Feststoff.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.62$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 11.65$ (bs, 1H; NHCO), 8.72 (s, 1H; $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$), 8.00 – 7.97 (m, 2H; ArH), 7.92 – 7.89 (m, 2H; ArH), 7.81 – 7.78 (m, 2H; ArH), 7.61 – 7.49 (m, 5H; ArH), 7.45 – 7.42 (m, 2H; ArH), 7.39 – 7.31 (m, 7H; ArH), 6.85 (dd, $^3J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 8.2$, $^3J_{\text{H}_3',\text{H}_2'} = 5.0$ Hz, 1H; C3'H), 6.80 (s, 1H; C8H), 6.46 (dd, $^3J_{\text{H}_2',\text{H}_3'} = 5.0$, $^3J_{\text{H}_2',\text{H}_1'} = 1.9$ Hz, 1H; C2'H), 6.04 (d, $^3J_{\text{H}_1',\text{H}_2'} = 1.9$ Hz, 1H; C1'H), 5.98 (dd, $^3J_{\text{H}_2'',\text{H}_1''} = 6.3$, $^3J_{\text{H}_2'',\text{H}_3''} = 1.5$ Hz, 1H; C2''H), 5.86 – 5.83 (m, 1H; C1''H), 5.55 (s, 1H; PhCH), 4.76 (dt, $^3J_{\text{H}_4',\text{H}_3'} = 8.2$, $^3J_{\text{H}_4',\text{H}_5'a} = ^3J_{\text{H}_4',\text{H}_5'b} = 3.2$ Hz, 1H; C4'H), 4.70 (dd, $^2J_{\text{H}_5'a,\text{H}_5'b} = 12.4$, $^3J_{\text{H}_5'a,\text{H}_4'} = 3.1$ Hz, 1H; C5'Ha), 4.66 (dd, $^2J_{\text{H}_5'b,\text{H}_5'a} = 12.4$, $^3J_{\text{H}_5'b,\text{H}_4'} = 3.3$ Hz, 1H; C5'Hb), 4.61 (d, $^3J_{\text{H}_1''',\text{H}_2'''} = 7.6$ Hz, 1H; C1'''H), 4.59 (ddd, $^3J_{\text{H}_5'',\text{H}_4''} = 5.3$, $^3J_{\text{H}_5'',\text{H}_1''} = 2.7$, $^5J_{\text{H}_5'',\text{H}_3''} = 0.6$ Hz, 1H; C5''H), 4.32 (dd, $^2J_{\text{H}_6'''a,\text{H}_6'''b} = 10.4$, $^3J_{\text{H}_6'''a,\text{H}_5'''} = 5.0$ Hz, 1H; C6'''Ha), 4.03 – 4.00 (m, 1H; C3''H), 3.92 – 3.87 (m, 3H; NCH_2 , C4''H), 3.85 (t, $^3J_{\text{H}_3''',\text{H}_2'''} = ^3J_{\text{H}_3''',\text{H}_4'''} = 9.1$ Hz, 1H; C3'''H), 3.77 (t, $^2J_{\text{H}_6'''b,\text{H}_6'''a} = ^3J_{\text{H}_6'''b,\text{H}_5'''} = 10.3$ Hz, 1H; C6'''Hb), 3.59 (t, $^3J_{\text{H}_4''',\text{H}_3'''} = ^3J_{\text{H}_4''',\text{H}_5'''} = 9.4$ Hz, 1H; C4'''H), 3.57 (dd, $^3J_{\text{H}_2''',\text{H}_3'''} = 8.9$, $^3J_{\text{H}_2''',\text{H}_1'''} = 7.6$ Hz, 1H; C2'''H), 3.51 – 3.46 (m, 1H; C5'''H), 1.35 (s, 9H; $\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 0.88 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.09 (s, 3H; SiCH_3), 0.06 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 180.1$ ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 166.1 (ArCO), 166.0 (ArCO), 165.2 (ArCO), 158.0 (C6), 147.2 (C4), 146.2 (C2), 137.2 (Ar), 135.0 (C2''), 133.7 (2C; Ar),

133.5 (Ar), 132.7 (C1''), 129.8 (4C, Ar), 129.3 (2C; Ar), 129.1 (2C; Ar), 128.8 (2C; Ar), 128.6 (2C; Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 126.4 (2C; Ar), 120.3 (C8), 119.3 (C7) 105.3 (C5), 105.1 (C1'''), 101.8 (PhCH), 89.2 (C1'), 86.4 (C4''), 80.5 (C4'''), 78.3 (C4'), 75.4 (C2'''), 74.6 (C2'), 73.8 (C5''), 73.5 (C3'''), 70.7 (C3'), 68.9 (C6'''), 66.5 (C5'''), 65.3 (C3''), 61.7 (C5'), 43.7 (NCH₂), 40.2 (COC(CH₃)₃), 26.9 (3C; COC(CH₃)₃), 26.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 18.5 (SiC(CH₃)₃), -4.4 (SiCH₃), -4.7 (SiCH₃).

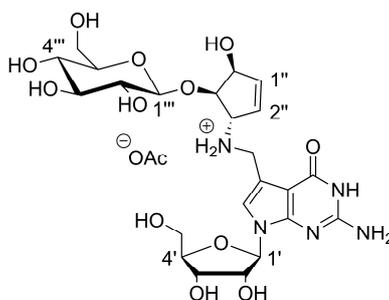
IR: $\tilde{\nu}$ = 2957 (w), 2928 (w), 2854 (w), 1725 (s), 1668 (s), 1601 (s), 1539 (m), 1450 (m), 1371 (w), 1315 (w), 1264 (s), 1177 (m), 1089 (w), 1068 (w), 1025 (m), 1002 (w), 928 (w), 834 (m), 776 (w), 708 (vs) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₆₂H₇₁N₅O₁₆Si + H]⁺: 1170.4738, gef.: 1170.4732.

[α]_D²²: = 33.6° (c = 0.001, CHCl₃).

Schmelzpunkt: 134.2 – 136.3 °C.

7-Desaza-7-((((3*S*,4*R*,5*S*)-4-*O*-(α -D-glucopyranosyl)-5-hydroxycyclopent-1-en-3-yl)-amino)methyl)guanosin (glcQ) (98)



Das Nukleosid **99** (15 mg, 13 μ mol, 1.0 eq.) wurde in CH₂Cl₂ (0.2 mL) gelöst und bei 0 °C mit Trifluoressigsäure (0.4 mL) versetzt. Nach 30 min bei 0 °C wurde die Reaktion mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und mit EtOAc (10 mL) verdünnt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit EtOAc (2 \times 10 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das erhaltene benzylidenentschützte Zwischenprodukt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen, sowie zusätzlich desilyliertes Produkt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in CH₂Cl₂ (0.5 mL) gelöst, mit Triethylamintrihydrofluorid (0.02 mL) versetzt und 3 d unter zusätzlicher

Zugabe von CH_2Cl_2 (0.5 mL) nach 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur *in vacuo* von Lösemittel befreit. Der erhaltene Rückstand wurde in Methanol (0.5 mL) gelöst, mit NaOH (2M, 0.1 mL) versetzt und 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die resultierende Suspension wurde mit HCl (2M, 0.1 mL) neutralisiert und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach Aufreinigung mittels HPLC wurde 5.0 mg eines Gemischs aus dem Acetatsalzes von glcQ (**98**) (59%) und Triethylamin (ca. 11:2) erhalten.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/10 Nucleodur): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 6% Puffer B, 45 min, Fluss 5 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 Nucleodur): Puffersystem RP1, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 31.8$ min.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , 27 °C): $\delta = 7.08$ (s, 1H; C8H), 6.12 (ddd, $^3J_{\text{H1}'',\text{H2}''} = 6.3$, $^3J_{\text{H1}'',\text{H5}''} = 2.5$, $^4J_{\text{H1}'',\text{H3}''} = 1.9$ Hz, 1H; C1''H), 6.10 (dd, $^3J_{\text{H2}'',\text{H1}''} = 6.3$, $^3J_{\text{H2}'',\text{H3}''} = 1.3$ Hz, 1H; C2''H), 5.93 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.9$ Hz, 1H; C1'H), 4.66 (ddd, $^3J_{\text{H5}'',\text{H4}''} = 5.3$, $^3J_{\text{H5}'',\text{H1}''} = 2.6$, $^5J_{\text{H5}'',\text{H3}''} = 1.2$ Hz, 1H; C5''H), 4.51 (d, $^3J_{\text{H1}''',\text{H2}'''} = 7.7$ Hz, 1H; C1'''H), 4.43 (t, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'} = ^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 5.6$ Hz, 1H; C2'H), 4.25 – 4.19 (m, 4H; C3'H, C3''H, NCH_2), 4.12 (dd, $^3J_{\text{H4}'',\text{H3}''} = 6.1$, $^3J_{\text{H4}'',\text{H5}''} = 5.4$ Hz, 1H; C4''H), 4.02 (q, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'a} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'b} = 3.4$ Hz, 1H; C4'), 3.85 (dd, $^2J_{\text{H6}''',\text{H6}''b} = 11.9$, $^3J_{\text{H6}''',\text{H5}'''} = 2.2$ Hz, 1H; C6'''Ha), 3.81 (dd, $^2J_{\text{H5}'a,\text{H5}'b} = 12.2$, $^3J_{\text{H5}'a,\text{H4}'} = 3.1$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.74 (dd, $^2J_{\text{H6}''b,\text{H6}''a} = 11.9$, $^3J_{\text{H6}''b,\text{H5}'''} = 4.8$ Hz, 1H; C6'''Hb), 3.72 (dd, $^2J_{\text{H5}'b,\text{H5}'a} = 12.2$, $^3J_{\text{H5}'b,\text{H4}'} = 3.6$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.42 – 3.38 (m, 2H; C3'''H, C4'''H), 3.36 (ddd, $^3J_{\text{H5}''',\text{H4}'''} = 9.6$, $^3J_{\text{H5}''',\text{H6}''b} = 4.9$, $^3J_{\text{H5}''',\text{H6}''a} = 2.4$ Hz, 1H; C5'''H), 3.34 – 3.31 (m, 1H; C2'''H), 1.93 (s, 3H; OAc^-).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD , 27 °C): $\delta = 178.3$ (CO_2CH_3^-), 162.5 (C6), 154.4 (C2), 153.8 (C4), 136.2 (C1''), 132.8 (C2''), 120.2 (C8), 113.6 (C7), 105.3 (C1'''), 100.6 (C5), 89.7 (C1'), 86.6 (C4'), 85.9 (C4''), 78.1 (C5'''), 77.9 (C3'''), 75.8 (C2'), 74.8 (C2'''), 74.2 (C5''), 72.2 (C3'), 70.9 (C4'''), 65.8 (C3''), 63.3 (C5'), 62.1 (C6'''), 43.7 (NCH_2), 21.8 (CO_2CH_3^-).

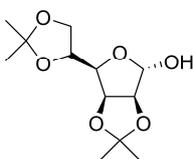
IR: $\tilde{\nu} = 2911$ (bw), 2681 (w), 2503 (w), 2385 (w), 2266 (w), 1645 (s), 1571 (m), 1554 (m), 1512 (w), 1450 (m), 1418 (w), 1368 (w), 1326 (w), 1167 (m), 1052 (s), 996 (w), 968 (w), 911 (w), 795 (w), 784 (m), 726 (m), 703 (w), 653 (w) cm^{-1} .

HRMS (ESI $^-$) m/z : ber. für $[\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_{12} - \text{H}]^-$: 570.2053, gef.: 570.2054.

Zur Stabilisierung von glcQ (**98**) gegen Zersetzung wurde nach HPL-chromatographischer Aufreinigung das Acetatsalz des Nukleosids im Gemisch mit Triethylamin isoliert. Deshalb wurde von der Aufnahme des Schmelzpunkts und des Drehwerts abgesehen.

4.2.5 Synthese des Cyclopentens (**2**)^[157]

2,3:5,6-Di-*O*-isopropyliden- α -D-mannofuranose (**100**)^[210]



D-Mannose (**73**) (54.0 g, 300 mmol, 1.0 eq.) wurde in 2,2-Dimethoxypropan (160 mL, 887 mmol, 4.4 eq.) und Aceton (160 mL) suspendiert und mit einer katalytischen Menge *p*-Toluolsulfonsäure (5.70 g, 30 mmol, 0.1 eq) versetzt. Die Suspension wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die erhaltene Lösung mit wässriger gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisiert und zur Hälfte eingengt. Der Rest wurde in EtOAc (150 mL) aufgenommen und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO₄ und Filtration wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Man erhielt 78.0 g (300 mmol, quant.) **100** als weißen Feststoff.

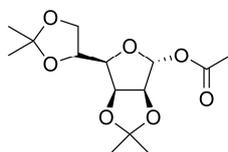
DC [Isohexan/EtOAc (1:4)]: R_f = 0.57.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 5.35 (d, ³J_{H1,C1OH} = 2.6 Hz, 1H; C1H), 4.78 (dd, ³J_{H3,H2} = 5.9, ³J_{H3,H4} = 3.7 Hz, 1H; C3H), 4.58 (d, ³J_{H2,H3} = 5.9 Hz, 1H; C2H), 4.42 – 4.34 (m, 1H; C5H), 4.15 (dd, ³J_{H4,H5} = 7.1, ³J_{H4,H3} = 3.6 Hz, 1H; C4H), 4.06 (dd, ²J_{H6a,H6b} = 8.6, ³J_{H6a,H5} = 6.0 Hz, 1H; C6Ha), 4.02 (dd, ²J_{H6b,H6a} = 8.7, ³J_{H6b,H5} = 5.1 Hz, 1H; C6Hb), 3.58 (d, ³J_{C1OH,H1} = 2.6 Hz, 1H; C1OH), 1.44 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.43 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.35 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.30 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 112.6 (C1), 109.1 (C(CH₃)₂), 101.1 (C(CH₃)₂), 85.5 (C2), 80.0 (C4), 79.6 (C3), 73.2 (C5), 66.4 (C6), 26.7 (C(CH₃)₂), 25.8 (C(CH₃)₂), 25.1 (C(CH₃)₂), 24.4 (C(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₂H₂₀O₆ + NH₄]⁺: 278.1598, gef.: 278.1603.

1-*O*-Acetyl-2,3:5,6-Diisopropyliden- α -D-mannofuranose (101)^[210]

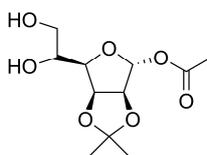


Mannofuranose **100** (78.0 g, 300 mmol, 1.0 eq.) wurde unter N₂ in Pyridin (60 mL) gelöst und bei 0 °C innerhalb von 30 min mit Essigsäureanhydrid (55 mL, 582 mmol, 1.9 eq.) versetzt. Es wurde für 1 h bei 0 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde anschließend erneut auf 0 °C gekühlt und mit EtOH versetzt. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt. Im Hochvakuum wurde **101**, das als gelbes Öl erhalten wurde, weiter getrocknet und anschließend ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt.

DC [Isohexan/EtOAc (1:4)]: R_f = 0.65.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₄H₂₂O₇ + NH₄]⁺: 320.1704, gef.: 320.1706.

1-*O*-Acetyl-2,3-isopropyliden- α -D-mannofuranose (102)^[210]



Das Mannosederivat **101** wurde in wässriger Essigsäure (64%, 500 mL) gelöst und für 4 h auf 55 °C erwärmt. Das Lösemittel wurde anschließend *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt **102** als gelbes Öl im Gemisch mit Essigsäure erhalten, das ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt wurde.

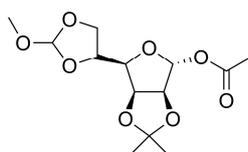
DC [Isohexan/EtOAc (1:4)]: $R_f = 0.16$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.15$ (s, 1H; C1H), 4.91 (dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 5.9$, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.8$ Hz, 1H; C3H), 4.69 (d, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 5.9$ Hz, 1H; C2H), 4.09 (dd, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 8.2$, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.8$ Hz, 1H; C4H), 4.02 – 3.99 (m, 1H; C5H), 3.85 (dd, $^2J_{\text{H}_{6a},\text{H}_{6b}} = 11.5$, $^3J_{\text{H}_{6a},\text{H}_5} = 3.3$ Hz, 1H; C6Ha), 3.71 (dd, $^2J_{\text{H}_{6b},\text{H}_{6a}} = 11.5$, $^3J_{\text{H}_{6b},\text{H}_5} = 5.5$ Hz, 1H; C6Hb), 2.06 (s, 3H; COCH_3), 1.49 (s, 3H; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.34 (s, 3H; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 169.4$ (COCH_3), 113.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 100.6 (C1), 84.8 (C2), 81.2 (C4), 79.8 (C3), 70.1 (C5), 64.1 (C6), 25.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 24.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 21.0 (COCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_7 + \text{NH}_4]^+$: 280.1391, gef.: 280.1391.

1-O-Acetyl-5,6-O-methoxymethylen-2,3-O-isopropyliden- α -D-mannofuranose (**103**)^[210]



Das Diol **102** wurde in *o*-Ameisensäuretrimethylester (165 mL) gelöst, wobei sich ein weißer Niederschlag bildete, der während des Erhitzens für 30 min auf 100 – 105 °C wieder in Lösung ging. Man ließ das Gemisch auf Raumtemperatur abkühlen und entfernte anschließend das Lösungsmittel *in vacuo*. Das als zähflüssiges Öl erhaltene Rohprodukt **103** wurde ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt.

DC [Isohexan/EtOAc (1:4)]: $R_f = 0.66$.

Isomer A:

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.12$ (s, 1H; CH_3OCH), 5.74 (s, 1H; C1H), 4.87 (dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 5.9$, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.7$ Hz, 1H; C3H), 4.69 (d, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 5.9$ Hz, 1H; C2H), 4.42 (dt, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4}$

= 8.2, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.6$ Hz, 1H; C5H), 4.17 (dd, $^3J_{H4,H5} = 8.3$, $^3J_{H4,H3} = 3.5$ Hz, 1H; C4H), 4.16 – 4.12 (m, 1H; C6Ha), 4.06 – 4.02 (m, 1H; C6Hb), 3.34 (s, 3H; CH_3OCH), 2.05 (s, 3H; $COCH_3$), 1.47 (s, 3H; $C(CH_3)_2$), 1.33 (s, 3H; $C(CH_3)_2$).

^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$, 27 °C): $\delta = 169.3$ ($COCH_3$), 116.4 (C1), 113.2 ($C(CH_3)_2$), 100.8 (CH_3OCH), 84.9 (C2), 82.6 (C4), 79.5 (C3), 72.8 (C5), 67.1 (C6), 52.1 (CH_3OCH), 25.9 ($C(CH_3)_2$), 24.6 ($C(CH_3)_2$), 21.0 ($COCH_3$).

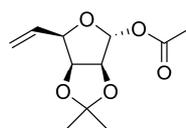
Isomer B:

1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$, 27 °C): $\delta = 6.13$ (s, 1H; CH_3OCH), 5.76 (s, 1H; C1H), 4.82 (dd, $^3J_{H3,H2} = 5.9$, $^3J_{H3,H4} = 3.7$ Hz, 1H; C3H), 4.68 (d, $^3J_{H2,H3} = 5.9$ Hz, 1H; C2H), 4.58 (td, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.6$, $^3J_{H5,H4} = 4.9$ Hz, 1H; C5H), 4.16 – 4.12 (m, 2H; C4H, C6Ha), 4.06 – 4.02 (m, 1H; C6Hb), 3.31 (s, 3H; CH_3OCH), 2.05 (s, 3H; $COCH_3$), 1.45 (s, 3H; $C(CH_3)_2$), 1.30 (s, 3H; $C(CH_3)_2$).

^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$, 27 °C): $\delta = 169.3$ ($COCH_3$), 115.5 (C1), 113.3 ($C(CH_3)_2$), 100.6 (CH_3OCH), 84.9 (C2), 81.4 (C4), 79.0 (C3), 72.7 (C5), 65.6 (C6), 51.7 (CH_3OCH), 25.7 ($C(CH_3)_2$), 24.4 ($C(CH_3)_2$), 21.0 ($COCH_3$).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[C_{13}H_{20}O_8 + NH_4]^+$: 322.1496, gef.: 322.1499.

(2*S*,3*S*,4*R*)-1-*O*-Acetyl-2,3-*O*-isopropyliden-4-vinyl- α -D-erythrofuranose (104)^[210]



Eine Lösung aus Orthoester **103** in Essigsäureanhydrid (210 mL) wurde für 5 h auf 128 – 133 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung lässt man auf Raumtemperatur abkühlen und kühlt

dann auf 0 °C. Nach Zugabe von EtOH (100 mL) wurde 5 min bei 0 °C und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Als Rohprodukt erhielt man ein braunes Öl, das in EtOAc aufgenommen wurde und mit wässriger gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen wurde. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit EtOAc rückextrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über MgSO₄ getrocknet und das Lösemittel *in vacuo in vacuo* entfernt. **104** wurde als braunes Öl erhalten und ohne weitere Aufreinigung für die nächste Stufe eingesetzt.

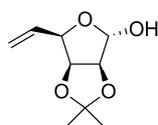
DC [Isohexan/EtOAc (3:1)]: $R_f = 0.44$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 6.18$ (bs, 1H; C1H), 5.97 (ddd, $^3J_{H5,H6a} = 17.5$, $^3J_{H5,H6b} = 10.5$, $^3J_{H5,H4} = 7.3$ Hz, 1H; C5H), 5.43 (dt, $^3J_{H6a,H5} = 17.4$, $^2J_{H6a,H6b} = ^4J_{H6a,H4} = 1.3$ Hz, 1H; C6Ha), 5.35 (ddd, $^3J_{H6b,H5} = 10.5$, $^2J_{H6b,H6a} = 1.4$, $^4J_{H6b,H4} = 0.9$ Hz, 1H; C6Hb), 4.76 (dd, $^3J_{H3,H2} = 5.8$, $^3J_{H3,H4} = 3.7$ Hz, 1H; C3H), 4.71 (d, $^3J_{H2,H3} = 5.8$ Hz, 1H; C2H), 4.53 (dd, $^3J_{H4,H5} = 7.3$, $^3J_{H4,H3} = 3.7$ Hz, 1H; C4H), 2.07 (s, 3H; COCH₃), 1.49 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.33 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 169.5$ (COCH₃), 131.5 (C5), 119.7 (C6), 113.2 (C(CH₃)₂), 100.6 (C1), 85.3 (C2), 83.3 (C4), 81.2 (C3), 26.1 (C(CH₃)₂), 25.0 (C(CH₃)₂), 21.1 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₁₁H₁₆O₅ + NH₄]⁺: 246.1336, gef.: 246.1337.

(2*S*,3*S*,4*R*)-2,3-*O*-Isopropyliden-4-vinylerythrofuranose (105)^[210]



Das Alken **104** wurde in MeOH (250 mL) gelöst und bei 0 °C mit Kalium-*tert*-butanolat (6.01 g, 53.56 mmol) versetzt. Das Gemisch wurde für 20 min bei Raumtemperatur gerührt

und anschließend mit Dowex H⁺-Resin neutralisiert. Die wässrige Phase wurde zweimal mit EtOAc und viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Nach Destillation (0.12 mbar/101 °C) erhielt man ein farbloses Öl, das nach Erkalten auskristallisierte. Der Destillationsrückstand wurde säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 6:1) aufgereinigt. Insgesamt wurden 40.34 g (216.78 mmol, 72% über 6 Stufen) **105** als farbloser Feststoff erhalten.

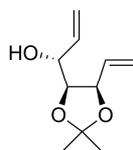
DC [Isohexan/EtOAc (4:1)]: R_f = 0.20.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 5.99 (ddd, ³J_{H5,H6b} = 17.5, ³J_{H5,H6a} = 10.4, ³J_{H5,H4} = 7.5 Hz, 1H; C5H), 5.41 (d, ³J_{H1,H2} = 2.4 Hz, 1H; C1H), 5.43 – 5.39 (m, 1H; C6Ha), 5.34 (ddd, ³J_{H6b,H5} = 10.4, ²J_{H6b,H6a} = 1.6 Hz, ⁴J_{H6b,H4} = 0.8 Hz, 1H; C6Hb), 4.73 (dd, ³J_{H3,H2} = 5.8, ³J_{H3,H4} = 3.7 Hz, 1H; C3H), 4.64 (d, ³J_{H2,H3} = 5.8 Hz, 1H; C2H), 4.61 (ddd, ³J_{H4,H5} = 7.4, ³J_{H4,H3} = 3.7, ⁴J_{H4,H6b} = 0.7 Hz, 1H; C4H), 2.70 (d, ³J_{C1-OH,H1} = 2.2 Hz, 1H; C1-OH), 1.47 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.32 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 132.2 (C5), 119.2 (C6), 112.6 (C(CH₃)₂), 101.1 (C1), 85.8 (C2), 81.5 (2C; C4, C3), 26.0 (C(CH₃)₂), 24.8 (C(CH₃)₂).

HRMS (EI) *m/z*: ber. für [C₉H₁₄O₄]: 186.0892, gef.: 186.0869.

(3*R*,4*S*,5*R*)-4,5-*O*-Isopropylidenhepta-1,6-dien-3,4,5-triol (106)^[210]



Natriumhydrid (14.85 g, 371.28 mmol, 2.0 eq., 60%ig als Öldispersion) wurde in THF (900 mL) suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde langsam DMSO (46.0 mL, 647.65 mmol, 3.0 eq.) zugetropft, weitere 5 min bei 0 °C und nach Aufwärmen auf Raumtemperatur 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Methyltriphenylphosphoniumbromid (155.31 g, 434.78 mmol, 2.0 eq.) bei 0 °C ließ man die Suspension wieder auf Raumtemperatur erwärmen, wobei sich nach kurzer Zeit Gasentwicklung zeigte und sich die Suspension gelb verfärbte. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde eine Lösung des Halbacetals **105** (40.34 g, 216.63 mmol, 1.0 eq.) in THF (100 mL) bei 0 °C zugegeben. Die Suspension verfärbte sich dabei hellbeige. Nachdem die Suspension für 2 h auf 68 °C (Innenthermometer) erhitzt wurde, kühlte man auf 0 °C und versetzte die Suspension erneut mit Methyltriphenylphosphoniumbromid (25.27 g, 70.74 mmol, 0.3 eq.) und NaH (3.52 g, 88.00 mmol, 0.4 eq., 60%ig als Öldispersion). Anschließend wurde für 4 h auf 68 °C erhitzt. Die Suspension ließ man im Eisbad auf 10 °C abkühlen, verdünnte mit *n*-Hexan und filtrierte über Kieselgur. Der Filtrerrückstand wurde mit *n*-Hexan (500 mL) und THF (300 mL) gewaschen. Das Filtrat wurde *in vacuo* von Lösemittel befreit und der Rückstand mit Wasser versetzt. Nach Zugabe von *tert*-Butylmethylether wurde die wässrige Phase zweimal mit *tert*-Butylmethylether extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser (5 × 200 mL) gewaschen und die vereinten wässrigen Phasen viermal mit *tert*-Butylmethylether reextrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 6:1) lieferte 28.43 g (154.32 mmol, 71%) **106** als gelbliches Öl.

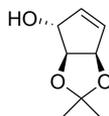
DC [Isohexan/EtOAc (6:1)]: $R_f = 0.22$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 6.00$ (ddd, $^3J_{H6,H7a} = 17.2$, $^3J_{H6,H7b} = 10.3$, $^3J_{H6,H5} = 7.9$ Hz, 1H; C6H), 5.84 (ddd, $^3J_{H2,H1a} = 17.2$, $^3J_{H2,H1b} = 10.5$, $^3J_{H2,H3} = 5.4$ Hz, 1H; C2H), 5.37 (dt, $^3J_{H1a,H2} = 17.2$, $^2J_{H1a,H1b} = ^4J_{H1a,H3} = 1.5$ Hz, 1H; C1Ha), 5.35 (ddd, $^3J_{H7a,H6} = 17.2$, $^2J_{H7a,H7b} = 1.5$, $^4J_{H7a,H5} = 1.1$ Hz, 1H; C7Ha), 5.28 (ddd, $^3J_{H7b,H6} = 10.3$, $^4J_{H7b,H7a} = 1.5$, $^4J_{H7b,H5} = 0.9$ Hz, 1H; C7Hb), 5.22 (dt, $^3J_{H1b,H2} = 10.6$, $^2J_{H1b,H1a} = ^4J_{H1b,H3} = 1.5$ Hz, 1H; C1Hb), 4.59 (ddt, $^3J_{H5,H6} = 7.7$, $^3J_{H5,H4} = 6.7$, $^4J_{H5,H7a} = ^4J_{H5,H7b} = 0.9$ Hz, 1H; C5H), 4.13 – 4.09 (m, 1H; C3H), 4.07 (dd, $^3J_{H4,H5} = 6.5$, $^3J_{H4,H3} = 5.5$ Hz, 1H; C4H), 2.37 (d, $^3J_{C3-OH,H3} = 5.2$ Hz, 1H; C3-OH), 1.52 (s, 3H; CH₃), 1.38 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 136.7$ (C2), 133.9 (C6), 119.4 (C7), 117.0 (C1), 108.8 (C(CH₃)₂), 80.6 (C4), 78.9 (C5), 70.5 (C3), 27.4 (C(CH₃)₂), 25.0 (C(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₀H₁₆O₃ + NH₄]⁺: 202.1438, gef.: 202.1439.

(3*R*,4*S*,5*R*)-4,5-*O*-Isopropylidencyclopent-1-en-3,4,5-triol (107)^[210]



Dien **106** (1.56 g, 8.44 mmol, 1.0 eq.) wurde in CH₂Cl₂ (85 mL) gelöst und mit Grubbs-Katalysator (1. Generation) (36 mg, 0.044 mmol, 0.005 eq.) versetzt. Die dunkelrote Lösung wurde 26 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend *in vacuo* von Lösemittel befreit. Die Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 3:1) lieferte 1.05 g (6.73 mmol, 79%) **107** als leicht bräunliches Öl.

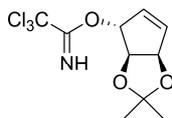
DC [Isohexan/EtOAc (3:1)]: R_f = 0.10.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 6.01 – 5.99 (m, 1H; C2H), 5.89 – 5.86 (m, 1H; C1H), 5.27 (dtd, ³J_{H3,H4} = 5.7, ³J_{H3,H2} = ⁴J_{H3,H1} = 1.7, ⁵J_{H3,H5} = 1.0 Hz, 1H; C3H), 4.76 (bs, 1H; C5H), 4.49 (d, ³J_{H4,H5} = 5.7 Hz, 1H; C4H), 2.58 (bs, 1H; C5-OH), 1.38 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.33 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 135.4 (C2), 134.7 (C1), 111.7 (C(CH₃)₂), 85.9 (C4), 84.2 (C3), 80.9 (C5), 27.3 (C(CH₃)₂), 25.7 (C(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁻) *m/z*: ber. für [C₈H₁₁O₁₃ + HCO₂]⁻: 201.0768, gef.: 201.0771.

(3*R*,4*S*,5*R*)-3-*O*-Trichloacetimidoyl-4,5-*O*-isopropylidencyclopent-1-en-3,4,5-triol (108)^[206]



Cyclopenten **107** (1.05 g, 6.73 mmol, 1.0 eq.) wurde unter N₂ bei Raumtemperatur in CH₂Cl₂ (20 mL) gelöst und bei 0 °C mit DBU (2.70 mL, 18.07 mmol, 1.3 eq.) versetzt. Nach Zugabe

von Trichloracetonitril (2.16 mL, 21.54 mmol, 1.5 eq.) wurde 5 min bei 0 °C und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit wässriger gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und die wässrige Phase nach Abtrennung mit CH₂Cl₂ viermal rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 10:1) des erhaltenen schwarzen Feststoffs fielen 1.85 g (6.16 mmol, 92%) **108** als farbloser Feststoff an.

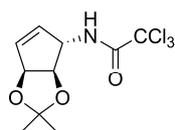
DC [Isohexan/EtOAc (10:1)]: $R_f = 0.38$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 8.47$ (bs, 1H; NH), 6.22 – 6.19 (m, 1H; C2H), 6.03 (dtd, $^3J_{H1,H2} = 5.9$, $^3J_{H1,H5} = ^4J_{H1,H3} = 1.8$, $^4J_{H1,H4} = 0.8$ Hz, 1H; C1H), 5.76 (bs, 1H; C5H), 5.32 (ddd, $^3J_{H3,H4} = 5.8$, $^3J_{H3,H1} = 2.6$, $^4J_{H3,H2} = 1.7$ Hz, 1H; C3H), 4.69 (d, $^3J_{H4,H5} = 5.8$ Hz, 1H; C4H), 1.44 (s, 3H; C(CH₃)₂), 1.37 (s, 3H; C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 162.0$ (NHCOCCl₃), 138.4 (C2), 130.7 (C1), 112.4 (C(CH₃)₂), 91.1 (CCl₃), 87.6 (C5), 84.0 (C3), 82.8 (C4), 27.3 (C(CH₃)₂), 25.7 (C(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₁₀H₁₂NO₃Cl₃ + H]⁺: 299.9956, gef.: 299.9959.

(3S,4R,5S)-3-Trichloracetylamino-4,5-O-isopropylidencyclopent-1-en-4,5-diol (19)^[206]



Trichloracetimidat **108** (1.83 g, 6.10 mmol) wurde in *o*-Xylol (56 mL) gelöst und 5 h auf 150 °C erhitzt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde das Rohprodukt als gelbes Öl

erhalten. Die Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 7:1 → 3:1) lieferte 1.16 g (3.86 mmol, 63%) **19** als farblosen Feststoff.

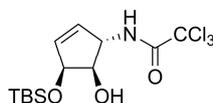
DC [Isohexan/EtOAc (7:1)]: $R_f = 0.15$.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.68 - 6.57$ (m, 1H; NH), 6.13 (dtd, $^3J_{\text{H1,H2}} = 5.7$, $^4J_{\text{H1,H3}} = ^3J_{\text{H1,H5}} = 1.1$, $^4J_{\text{H1,H4}} = 0.5$ Hz, 1H; C1H), 5.82 (ddt, $^3J_{\text{H2,H1}} = 5.7$, $^3J_{\text{H2,H3}} = 2.5$, $^4J_{\text{H2,H4}} = ^4J_{\text{H2,H5}} = 0.9$ Hz, 1H; C2H), 5.32 (dtd, $^3J_{\text{H5,H4}} = 5.7$, $^3J_{\text{H5,H1}} = ^4J_{\text{H5,H2}} = 1.7$, $^5J_{\text{H5,H3}} = 1.0$ Hz, 1H; C5H), 4.83 (ddtd, $^3J_{\text{H3,NH}} = 7.6$, $^3J_{\text{H3,H2}} = 2.5$, $^3J_{\text{H3,H4}} = ^4J_{\text{H3,H1}} = 1.6$, $^5J_{\text{H5,H3}} = 0.9$ Hz, 1H; C3H), 4.58 – 4.54 (m, 1H; C4H), 1.43 (s, 3H; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1.35 (s, 3H; $\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 161.5$ (NHCOCCl_3), 137.1 (C1), 130.5 (C2), 112.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 92.2 (CCl_3), 84.4 (C5), 83.7 (C4), 63.1 (C3), 27.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 25.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{Cl}_3 + \text{NH}_4]^+$: 317.0216, gef.: 317.0224.

(3*S*,4*R*,5*S*)-3-Trichloracetylamino-5-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)cyclopent-1-en-4,5-diol
(**2**)^[157]



Eine Lösung des Cyclopentens **19** (4.51 g, 15.01 mmol, 1.0 eq.) in wässriger Essigsäure (70%, 65 mL) wurde über Nacht auf 35 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wurde anschließend entfernt und das erhaltene gelbliche Zwischenprodukt (freies Diol) in wenig CH_2Cl_2 suspendiert. Die Suspension wurde für 30 min bei 0 °C gerührt und abfiltriert. Man erhielt 3.68 g (14.13 mmol, 94%) entschütztes Diol **23** als farblosen Feststoff. Anschließend wurde der Feststoff in Pyridin (40 mL) gelöst und mit TBSCl (2.77 g, 18.38 mmol, 1.3 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde erneut über Nacht unter Rühren auf 35 °C erwärmt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der gelbe, ölige Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen. Die Lösung wurde mit gesättigter NH_4Cl -Lösung und gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit CH_2Cl_2 rückextrahiert. Nach Trocknung über MgSO_4 wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Das gelbliche, ölige Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 10:1) aufgereinigt. Es wurden 2.94 g (7.84 mmol, 55%) **2** als farbloses Öl erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (7:1)]: $R_f = 0.25$.

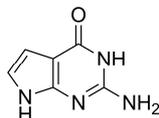
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 6.71$ (d, $^3J_{\text{NH,H3}} = 6.1$ Hz, 1H; NH), 5.98 (dt, $^3J_{\text{H1,H2}} = 6.1$, $^3J_{\text{H1,H5}} = ^4J_{\text{H1,H3}} = 2.1$ Hz, 1H; C1H), 5.93 (dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 6.1$, $^3J_{\text{H2,H3}} = 1.9$ Hz, 1H; C2H), 4.77 – 4.71 (m, 2H; C3H, C5H), 4.00 (ddd, $^3J_{\text{H4,C4-OH}} = 7.8$, $^3J_{\text{H4,H5}} = 5.6$, $^3J_{\text{H4,H3}} = 4.6$ Hz, 1H; C4H), 3.14 (d, $^3J_{\text{C4-OH,H4}} = 7.9$ Hz, 1H; C4-OH), 0.92 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 0.15 (s, 3H; SiCH_3), 0.13 (s, 3H; SiCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): $\delta = 161.9$ (NHCOCCL_3), 134.7 (C1), 133.3 (C2), 92.4 (CCl_3), 76.1 (C4), 74.4 (C5), 63.3 (C3), 25.7 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 18.1 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), -4.4 (SiCH_3), -4.9 (SiCH_3).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{NCl}_3\text{Si} + \text{NH}_4]^+$: 391.0773, gef.: 391.0777.

4.2.6 Synthese von 7-Formyl-7-desazaguanosin **29**^[208]

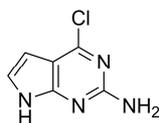
7-Desazaguanin (**110**)^[208]



Bromacetaldehyddiethylacetal (**109**) (64.2 mL, 426.76 mmol, 1.0 eq.) wurde in Wasser (210 mL) suspendiert und mit konzentrierter wässriger HCl (9 mL) versetzt. Nach ca. 40 min bei 90 °C wurde eine klare Lösung erhalten, zu der nach Abkühlen auf Raumtemperatur Natriumacetat (40.80 g, 497.36 mmol, 1.2 eq.) gegeben wurde. Diese Mischung wurde anschließend zu einer Suspension aus 2,6-Diamino-4-pyrimidinon (60.18 g, 477.16 mmol, 1.1 eq.) und Natriumacetat (21.12 g, 257.46 mmol, 0.60 eq.) in Wasser (450 mL) gegeben. Das erhaltene Gemisch wurde für 2 h auf 80 °C erhitzt, wobei eine teilweise Auflösung zu beobachten war, bevor das Produkt als rötlicher Feststoff ausfiel. Die erhaltene Suspension wurde für 80 min bei 0 °C gerührt und der erhaltene Feststoff abfiltriert. Nach Waschen des Niederschlags mit eiskaltem Wasser und Aceton wurde dieser bei 55 °C im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 56.81 g (378.39 mmol, 89%) **110** als rötlichen Feststoff.

HRMS (EI⁺) *m/z*: ber. für [C₆H₆N₄O]⁺: 150.0542, gef.: 150.0544.

6-Desoxy-6-chlor-7-desazaguanin (111)^[208]



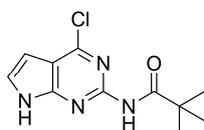
Desazaguanin **110** (15.92 g, 106 mmol, 1.0 eq.) wurde in POCl₃ (130 mL) suspendiert und 2 h auf 115 °C erhitzt. Die Suspension ließ man auf Raumtemperatur abkühlen und entfernte das Lösemittel *in vacuo*. Der erhaltene ölige Rückstand wurde vorsichtig unter Eiskühlung mit Eis und Eiswasser versetzt und die Suspension mit konzentriertem wässrigem Ammoniak auf pH = 4 eingestellt. Nach 30 min Rühren bei 0 °C wurde der erhaltene Niederschlag abfiltriert, mit eiskaltem Wasser und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum bei 55 °C getrocknet. Man erhielt 13.27 g (78.71 mmol, 74%) **111** als gelblich-beigen Feststoff.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 11.48 (bs, 1H; NH), 7.08 (d, ³J_{H8,H7} = 3.6 Hz, 1H; C8H), 6.47 (bs, 2H; NH₂), 6.24 (d, ³J_{H7,H8} = 3.6 Hz, 1H; C7H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.3 (C2), 154.6 (C4), 150.9 (C6), 123.2 (C8), 108.6 (C5), 98.6 (C7).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₆H₅N₄Cl + H]⁺: 169.0276, gef.: 169.0276.

6-Desoxy-6-chlor-2-pivaloylamino-7-desazaguanin (112)^[208]



Chloriertes Desazaguanin **111** (11.86 g, 70.33 mmol, 1.0 eq.) wurde in Pyridin (167 mL) suspendiert und mit Pivaloylchlorid (30.29 mL, 246.18 mmol, 3.5 eq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend *in vacuo* von Lösemittel befreit. Der ölige Rückstand wurde in CH₂Cl₂ (1 L) aufgenommen und mit HCl (0.1M, 2 × 500 mL) gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über MgSO₄ wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Aufreinigung des öligen Rückstandes mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 98:2) lieferte 6.22 g (24.61 mmol, 35%) **112** als gelblichen Feststoff.

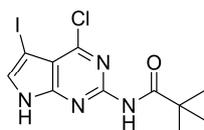
DC [CH₂Cl₂/MeOH (15:1)]: R_f = 0.45.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 12.32 (bs, 1H; NH), 10.02 (s, 1H; NHCO), 7.53 (dd, ³J_{H8,H7} = 3.3, ³J_{H8,NH} = 2.5 Hz, 1H; C8H), 6.52 (dd, ³J_{H7,H8} = 3.5, ⁴J_{H7,NH} = 1.8 Hz, 1H; C7H), 1.23 (s, 9H; C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 175.8 (NHCO), 152.7 (C6), 151.3 (C2), 150.2 (C4), 127.3 (C8), 113.2 (C5), 98.8 (C7), 39.3 (C(CH₃)₃), 26.9 (3C; C(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₃N₄ClO + Na]⁺: 275.0670, gef.: 275.0670.

6-Desoxy-6-chlor-7-iod-2-pivaloylamino-7-desazaguanin (**114**)^[208]



Pivaloylgeschütztes Desazaguanin **112** (3.68 g, 14.56 mmol, 1.0 eq.) wurde in THF (70 mL) gelöst und der Kolben mit Alufolie abgedunkelt. Nach Zugabe von *N*-Iodsuccinimid (3.61 g, 16.05 mmol, 1.1 eq.) wurde die Lösung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der braune Rückstand in CH₂Cl₂ (300 mL) aufgenommen, mit Wasser (2 × 150 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Die organische Phase wurde anschließend *in vacuo* von Lösemittel befreit und säulenchromatisch (CH₂Cl₂/MeOH 99:1) aufgereinigt. Man erhielt 4.98 g (13.15 mmol, 90%) **114** als gelblichen Feststoff.

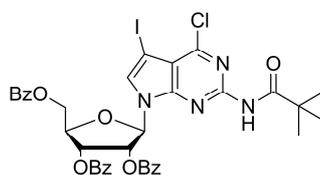
DC [CH₂Cl₂/MeOH (15:1)]: R_f = 0.56.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 12.69 (d, $^3J_{\text{NH,H8}} = 1.7$ Hz, 1H; NHCH), 10.09 (s, 1H; NHCO), 7.76 (d, $^3J_{\text{H8,NH}} = 2.4$ Hz, 1H; C8H), 1.22 (s, 9H; C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 175.8 (NHCO), 152.5 (C6), 151.4 (C2), 150.7 (C4), 132.7 (C8), 112.3 (C5), 51.6 (C7), 39.4 (C(CH₃)₃), 26.8 (3C; C(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₂N₄OClI + H]⁺: 378.9817, gef.: 378.9816.

2',3',5'-Tri-*O*-benzoyl-2-*N*-pivaloyl-6-desoxy-6-chlor-7-iod-7-desazaguanosin (**115**)^[211]



Desazaguanin **114** (4.45 g, 11.76 mmol, 1.0 eq.) wurde in Acetonitril (82 mL) suspendiert und tropfenweise mit *N,O*-Bistrimethylsilylacetamid (3.45 mL, 14.11 mmol, 1.2 eq.) versetzt. Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur wurde TMSOTf (2.77 mL, 15.30 mmol, 1.3 eq.) zugegeben und die Mischung auf 50 °C erwärmt und gerührt. 1-*O*-Acetyl-2,3,5-tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranose (11.88 g, 23.55 mmol, 2.0 eq.) wurde innerhalb von 24 h in drei Portionen zugegeben und weitere 8 h bei 50 °C erwärmt. Während dieser Zeit färbte sich die Lösung schwarz. Die Lösung wurde mit CH₂Cl₂ (1 L) verdünnt, mit gesättigter wässriger NaHCO₃-Lösung und gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels wurde ein schwarzes Öl erhalten, das erneut in CH₂Cl₂ gelöst und mit Kieselgel versetzt wird. Die Suspension wurde *in vacuo* von Lösemittel befreit und säulenchromatographisch (CH₂Cl₂ → Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt. Man erhielt 4.46 g (5.42 mmol, 46%) **115** als gelben Schaum.

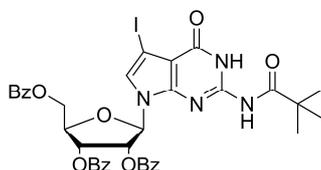
DC [Isohexan/EtOAc (3:1)]: $R_f = 0.24$.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 8.25 (s, 1H; NHCO), 8.01 – 7.94 (m, 6H; ArH), 7.58 – 7.52 (m, 3H; ArH), 7.44 – 7.34 (m, 6H; ArH), 7.38 (s, 1H; C8H), 6.50 (t, $^3J_{\text{H3',H2'}} = ^3J_{\text{H3',H4'}} = 6.0$ Hz, 1H; C3'H), 6.41 (d, $^3J_{\text{H1',H2'}} = 3.9$ Hz, 1H; C1'H), 6.25 (dd, $^3J_{\text{H2',H3'}} = 5.8$, $^3J_{\text{H2',H1'}} = 3.9$ Hz, 1H; C2'H), 4.88 (dd, $^2J_{\text{H5'a,H5'b}} = 12.2$, $^3J_{\text{H5'a,H4'}}$ = 3.4 Hz, 1H; C5'Ha), 4.82 – 4.79 (m, 1H; C4'H), 4.69 (dd, $^2J_{\text{H5'b,H5'a}} = 12.2$, $^3J_{\text{H5'b,H4'}}$ = 4.4 Hz, 1H; C5'Hb), 1.31 (s, 9H; C(CH₃)₃).

^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 175.1 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 166.1 (ArCO), 165.4 (ArCO), 165.2 (ArCO), 153.3 (C6), 151.5 (C4), 151.4 (C2), 133.6 (Ar), 133.5 (Ar), 133.3 (Ar), 132.0 (C8), 129.9 (2C; Ar), 129.8 (2C; Ar), 129.7 (2C; Ar), 129.5 (2C; Ar), 129.3 (Ar), 128.8 (Ar), 128.6 (2C, Ar), 128.4 (3C; Ar), 114.1 (C5), 88.3 (C1'), 80.0 (C4'), 74.5 (C2'), 71.3 (C3'), 63.4 (C5'), 53.5 (C7), 40.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 27.3 (3C; $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

HRMS (ESI^+) m/z : ber. für $[\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{N}_4\text{ClI} + \text{H}]^+$: 823.1026, gef.: 823.1028.

2',3',5'-Tri-*O*-benzoyl-2-*N*-pivaloyl-7-iod-7-desazaguanosin (**116**)^[208]



Desazaguanosin **115** (4.35 g, 5.28 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (16 mL) unter Argonatmosphäre gelöst und der Kolben mit Alufolie abgedunkelt. Die Lösung wurde mit CsOAc (3.04 g, 15.86 mmol, 3.0 eq.), 1,4-Diaza[2.2.2]bicyclooctan (0.60 g, 5.34 mmol, 1.0 eq.) und Triethylamin (2.23 mL, 16.0 mmol, 3.0 eq.) versetzt und 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von Wasser (20 mL) wurde weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Lösung wurde mit EtOAc (200 mL) verdünnt, wobei erst nach Zugabe von gesättigter wässriger NaCl-Lösung (50 mL) eine Phasentrennung eintrat. Nach Abtrennung der organischen Phase wurde die wässrige Phase einmal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 2:1) lieferte 3.00 g (3.73 mmol, 70%) **116** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: R_f = 0.40.

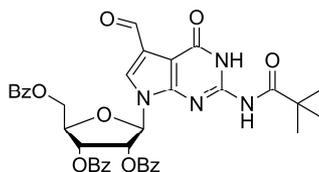
^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 11.56 (s, 1H; NHCO), 8.76 (s, 1H; $\text{NHCOC}(\text{CH}_3)_3$), 8.00 – 7.97 (m, 2H; ArH), 7.92 – 7.89 (m, 2H; ArH), 7.78 – 7.75 (m, 2H; ArH), 7.62 – 7.53 (m, 3H; ArH), 7.46 – 7.42 (m, 2H; ArH), 7.40 – 7.32 (m, 4H; ArH), 6.96 (s, 1H; C8H), 6.85 (dd, $^3J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 8.4$, $^3J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 5.0$ Hz, 1H; C3'H), 6.46 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 5.0$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 1.7$ Hz, 1H; C2'H), 6.01 (d, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 1.7$ Hz, 1H; C1'H), 4.77 (dt, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 8.4$, $^3J_{\text{H}4',\text{H}5'a} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'b} =$

3.0 Hz, 1H; C4'H), 4.72 (dd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 12.5$, $^3J_{H5'a,H4'} = 2.9$ Hz, 1H; C5'Ha), 4.64 (dd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 12.5$, $^3J_{H5'b,H4'} = 3.2$ Hz, 1H; C5'Hb), 1.35 (s, 9H; C(CH₃)₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 180.1$ (COC(CH₃)₃), 166.0 (2C; ArCO), 165.1 (ArCO), 156.6 (C6), 146.4 (C2), 146.2 (C4), 133.7 (2C; Ar), 133.5 (Ar), 129.8 (2C; Ar), 129.7 (2C; Ar), 129.2 (2C; Ar), 128.9 (Ar), 128.7 (Ar), 128.6 (3C; Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 127.1 (C8), 106.5 (C5), 89.3 (C1'), 78.5 (C4'), 74.4 (C2'), 70.5 (C3'), 61.4 (C5'), 56.0 (C7), 40.2 (COC(CH₃)₃), 26.8 (3C; C(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₃₇H₃₃O₉N₄I + H]⁺: 805.1365, gef.: 805.1375.

2',3',5'-Tri-*O*-benzoyl-2-*N*-pivaloyl-7-formyl-7-desazaguanosin (**29**)^[208]



7-Ioddesazaguanosin **116** (0.81 g, 1.00 mmol, 1.0 eq.), Triphenylphosphin (0.16 g, 0.6 mmol, 0.6 eq.) und Pd₂(dba)₃ (94 mg, 0.10 mmol, 0.1 eq.) wurden in Toluol (12.5 mL) gelöst. Der Kolben wurde anschließend dreimal mit CO geflutet. Nach Erwärmen der Lösung auf 55 °C wurde eine Lösung aus Tributylzinnhydrid (0.33 mL, 1.2 mmol, 1.2 eq.) in Toluol (2 mL) innerhalb 1 h mittels einer Spritzenpumpe zugegeben. Nach 3 h bei 55 °C wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1) aufgereinigt. Man erhielt 0.57 g (0.81 mmol, 80%) **29** als bräunlichen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: *R_f* = 0.28.

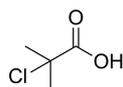
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): $\delta = 11.79$ (s, 1H; NHCO), 10.37 (s, 1H; CHO), 8.84 (s, 1H; NHCOC(CH₃)₃), 8.00 – 7.97 (m, 2H; ArH), 7.93 – 7.89 (m, 2H; ArH), 7.78 – 7.74 (m, 2H; ArH), 7.65 – 7.52 (m, 3H; ArH), 7.61 (s, 1H; C8H), 7.47 – 7.43 (m, 2H; ArH), 7.41 – 7.35 (m, 2H; ArH), 7.36 – 7.31 (m, 2H; ArH), 6.89 (dd, $^3J_{H3',H4'} = 8.4$, $^3J_{H3',H2'} = 5.0$ Hz, 1H; C3'H), 6.50 (dd, $^3J_{H2',H3'} = 5.0$, $^3J_{H2',H1'} = 1.7$ Hz, 1H; C2'H), 6.07 (d, $^3J_{H1',H2'} = 1.7$ Hz, 1H; C1'H), 4.82 (dt, $^3J_{H4',H3'} = 8.4$, $^3J_{H4',H5'a} = ^3J_{H4',H5'b} = 3.3$ Hz, 1H; C4'H), 4.76 (dd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 12.5$, $^3J_{H5'a,H4'} = 3.2$ Hz, 1H; C5'Ha), 4.67 (dd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 12.5$, $^3J_{H5'b,H4'} = 3.4$ Hz, 1H; C5'Hb), 1.38 (s, 9H; C(CH₃)₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , 27 °C): δ = 186.0 (CHO), 180.3 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 166.1 (ArCO), 166.0 (ArCO), 165.1 (ArCO), 156.7 (C6), 147.3 (C4), 147.2 (C2), 133.9 (Ar), 133.8 (Ar), 133.6 (Ar), 129.8 (4C; Ar), 129.2 (2C; Ar), 128.9 (Ar), 128.6 (6C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 126.6 (C8), 121.0 (C7), 104.7 (C5), 90.4 (C1'), 78.8 (C4'), 74.4 (C2'), 70.6 (C3'), 61.4 (C5'), 40.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{38}\text{H}_{34}\text{O}_{10}\text{N}_4 + \text{H}]^+$: 707.2348, gef.: 707.2350.

4.2.7 Synthese von 2-Chlorisobuttersäure (10)

2-Chlorisobuttersäure (10)^[214]



Isobuttersäure **119** (9.30 mL, 100.28 mmol), *N*-Chlorsuccinimid (10.00 g, 74.89 mmol, 0.75 eq.) und konzentrierte Schwefelsäure (2.51 g) wurden in Trifluoressigsäure (50 mL) gelöst und auf 100 °C erhitzt. Nach 2 d wurde erneut *N*-Chlorsuccinimid (10.00 g, 74.89 mmol, 0.75 eq.) zugegeben und weitere 2 d auf 100 °C erhitzt. Nach weiterer Zugabe von *N*-Chlorsuccinimid (10.07 g, 75.41 mmol, 0.75 eq.) und Erhitzen auf 100 °C für 24 h wurde vollständige Umsetzung beobachtet. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst am Hochvakuum destilliert (130 °C, 10 – 15 Pa), wobei ein Rohprodukt erhalten wurde, das neben Succinimid noch Trifluoressigsäure enthielt. Eine erneute Destillation (60 °C, 10 – 15 Pa) der Produktfraktionen lieferte 5.22 g (42.59 mmol, 42%) **10** als farbloses Öl, das nach Erkalten zu feinen farblosen Nadeln kristallisierte.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O , 27 °C): δ = 1.80 (s, 6H; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

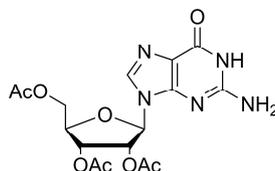
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O , 27 °C): δ = 175.8 ($\text{COCCl}(\text{CH}_3)_2$), 66.0 ($\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$), 29.0 (2C; $\text{CCl}(\text{CH}_3)_2$).

HRMS (EI) m/z : ber. für $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2]$: 122.0135, gef.: 122.0116.

4.2.8 Synthese methylierter Guanosinderivate

4.2.8.1 Synthese von 1-*N*-Methylguanosin (120)

2',3',5'-Tri-*O*-acetylguanosin (122)^[222]



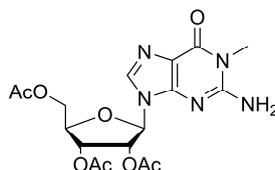
Eine Suspension von Guanosin **121** (25.0 g, 88.27 mmol, 1.0 eq.) in Acetonitril (700 mL) wurde mit 4-DMAP (0.92 g, 7.70 mmol, 0.09 eq.), Essigsäureanhydrid (33 mL, 353.07 mmol, 4.0 eq.) und Triethylamin (49 mL, 353.07 mmol, 4.0 eq.) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol (50 mL) gestoppt und anschließend das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Der ölige Rückstand wurde in CH₂Cl₂ (100 mL) gelöst und das Produkt mit Diethylether ausgefällt. Das erhaltene Rohprodukt wurde in Aceton (200 mL) suspendiert und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration erhielt man 34.37 g (83.96 mmol, 95%) **122** als weißen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.44.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 10.82 (s, 1H; NHCO), 7.92 (s, 1H; C8H), 6.57 (s, 2H; NH₂), 5.99 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.1 Hz, 1H; C1'H), 5.79 (t, ³J_{H2',H1'} = ³J_{H2',H3'} = 6.0 Hz, 1H; C2'H), 5.49 (dd, ³J_{H3',H2'} = 5.9, ³J_{H3',H4'} = 4.1 Hz, 1H; C3'H), 4.38 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.2, ³J_{H5'a,H4'} = 3.7 Hz, 1H; C5'Ha), 4.33 – 4.29 (m, 1H; C4'H), 4.26 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.2, ³J_{H5'b,H4'} = 5.6 Hz, 1H; C5'Hb), 2.11 (s, 3H; COCH₃), 2.04 (s, 3H; COCH₃), 2.03 (s, 3H; COCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 170.1 (COCH₃), 169.4 (COCH₃), 169.2 (COCH₃), 156.7 (C6), 153.9 (C2), 151.1 (C4), 135.6 (C8), 116.8 (C5), 84.4 (C1'), 79.5 (C4'), 72.0 (C2'), 70.3 (C3'), 63.1 (C5'), 20.5 (COCH₃), 20.4 (COCH₃), 20.2 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₆H₁₉N₅O₈ + H]⁺: 410.1306, gef.: 410.1311.

1-*N*-Methyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosin (123)^[239]

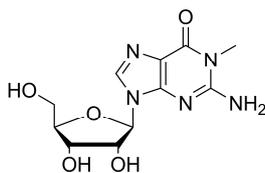
Das Nucleosid **122** (205 mg, 0.50 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (6 mL) gelöst, mit NaH (25 mg, 0.63 mmol, 1.3 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach tropfenweiser Zugabe von MeI (0.04 mL, 0.64 mmol, 1.3 eq.) wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend überschüssiges MeI mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gequenchet. Nach Entfernung des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) aufgereinigt und **123** im Gemisch mit beiden an *N*-2 mono- und dimethylierten entsprechenden Nucleosiden erhalten (110 mg).

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.53.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 7.93 (s, 1H; C8H), 7.12 (s, 2H; NH₂), 5.99 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.2 Hz, 1H; C1'H), 5.80 (t, ³J_{H2',H1'} = ³J_{H2',H3'} = 6.1 Hz, 1H; C2'H), 5.51 (dd, ³J_{H3',H2'} = 5.9, ³J_{H3',H4'} = 4.1 Hz, 1H; C3'H), 4.38 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.6, ³J_{H5'a,H4'} = 4.0 Hz, 1H; C5'Ha), 4.31 (dt, ³J_{H4',H5'b} = 5.9, ³J_{H4',H3'} = ³J_{H4',H5'a} = 4.1 Hz, 1H; C4'H), 4.26 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.6, ³J_{H5'b,H4'} = 5.9 Hz, 1H; C5'Hb), 3.31 (s, 3H; NCH₃), 2.11 (s, 3H; COCH₃), 2.04 (s, 3H; COCH₃), 2.03 (s, 3H; COCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 170.1 (COCH₃), 169.4 (COCH₃), 169.3 (COCH₃), 156.3 (C6), 154.4 (C2), 149.2 (C4), 135.8 (C8), 115.8 (C5), 84.2 (C1'), 79.6 (C4'), 72.0 (C2'), 70.4 (C3'), 63.2 (C5'), 28.1 (NCH₃), 20.6 (COCH₃), 20.4 (COCH₃), 20.2 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₇H₂₁N₅O₈ + H]⁺: 424.1463, gef.: 424.1459.

1-*N*-Methylguanodin (m¹G) (120)^[240]

Das Nucleosidgemisch (102 mg) wurde in Methanol (3 mL) gelöst, mit einer katalytischen Menge frisch hergestellter NaOMe-Lösung in Methanol (0.05 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Trockeneis gestoppt und das Lösemittel unter vermindertem Druck entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 51 mg **120** (171 μ mol, 34% über 2 Stufen).

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min \rightarrow 60 min, 3% Puffer B \rightarrow 5% Puffer B, 60 min \rightarrow 75 min, 5% Puffer B, 75 min \rightarrow 90 min, 5% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 90 min \rightarrow 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 32.3$ min.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 7.94$ (s, 1H; C8H), 7.04 (s, 2H; NH₂), 5.70 (d, ³ $J_{H1',H2'} = 6.1$ Hz, 1H; C1'H), 5.39 (d, ³ $J_{C2'-OH,H2'} = 6.1$ Hz, 1H; C2'-OH), 5.12 (d, ³ $J_{C3'-OH,H3'} = 4.7$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.01 (t, ³ $J_{C5'-OH,H5'a} = ^3J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.43 – 4.37 (m, 1H; C2'H), 4.10 – 4.06 (m, 1H; C3'H), 3.88 – 3.84 (m, 1H; C4'H), 3.61 (ddd, ² $J_{H5'a,H5'b} = 11.9$, ³ $J_{H5'a,C5'-OH} = 5.3$, ³ $J_{H5'a,H4'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.51 (ddd, ² $J_{H5'a,H5'b} = 11.8$, ³ $J_{H5'a,C5'-OH} = 5.5$, ³ $J_{H5'a,H4'} = 4.2$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.31 (s, 3H; NCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 156.4$ (C6), 154.2 (C2), 149.5 (C4), 135.7 (C8), 115.7 (C5), 85.9 (C1'), 85.1 (C4'), 73.6 (C2'), 70.4 (C3'), 61.4 (C5'), 28.1 (NCH₃).

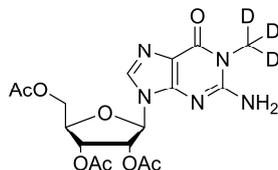
IR: $\tilde{\nu} = 3225$ (*bw*), 1704 (*m*), 1667 (*s*), 1640 (*w*), 1582 (*s*), 1536 (*s*), 1530 (*s*), 1483 (*w*), 1422 (*w*), 1390 (*w*), 1358 (*w*), 1221 (*w*), 1203 (*w*), 1119 (*w*), 1086 (*w*), 1055 (*s*), 969 (*w*), 903 (*w*), 868 (*w*), 773 (*s*), 732 (*w*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₅N₅O₅ + H]⁺: 298.1146, gef.: 298.1149.

Schmelzpunkt: 159.0 – 162.0 °C.

4.2.8.2 Synthese von *d*₃-1-*N*-Methylguanosin (125)

*d*₃-1-*N*-Methyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosin (124)



Das Nukleosid **122** (205 mg, 0.50 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (6 mL) gelöst, mit NaH (25 mg, 0.63 mmol, 1.3 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach tropfenweiser Zugabe von *d*₃-MeI (0.04 mL, 0.64 mmol, 1.3 eq.) wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend überschüssiges MeI mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gequenchet. Nach Entfernung des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) aufgereinigt und **124** im Gemisch mit beiden am *N*-2-Stickstoff mono- und dimethylierten entsprechenden Nukleosiden erhalten (138 mg).

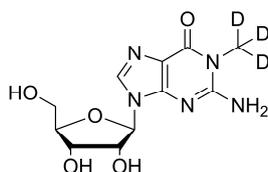
DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: *R*_f = 0.54.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 7.93 (s, 1H; C8H), 7.10 (s, 2H; NH₂), 5.99 (d, ³*J*_{H1',H2'} = 6.2 Hz, 1H; C1'H), 5.80 (t, ³*J*_{H2',H1'} = ²*J*_{H2',H3'} = 6.1 Hz, 1H; C2'H), 5.51 (dd, ³*J*_{H3',H2'} = 5.9, ³*J*_{H3',H4'} = 4.0 Hz, 1H; C3'H), 4.38 (dd, ²*J*_{H5'a,H5'b} = 11.2, ³*J*_{H5'a,H4'} = 3.7 Hz, 1H; C5'Ha), 4.34 – 4.29 (m, 1H; C4'H), 4.26 (dd, ²*J*_{H5'b,H5'a} = 11.2, ³*J*_{H5'b,H4'} = 5.8 Hz, 1H; C5'Hb), 2.12 (s, 3H; COCH₃), 2.04 (s, 3H; COCH₃), 2.03 (s, 3H; COCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 170.1 (COCH₃), 169.4 (COCH₃), 169.2 (COCH₃), 156.3 (C6), 154.4 (C2), 149.2 (C4), 135.8 (C8), 115.8 (C5), 84.2 (C1'), 79.6 (C4'), 72.0 (C2'), 70.4 (C3'), 63.1 (C5'), 20.5 (COCH₃), 20.4 (COCH₃), 20.2 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₇H₁₈D₃N₅O₈ + H]⁺: 427.1651, gef.: 427.1650.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

***d*₃-1-*N*-Methylguanosen (125)**

Das Nukleosidgemisch (129 mg) wurde in Methanol (3 mL) gelöst, mit einer katalytischen Menge frisch hergestellter NaOMe-Lösung in Methanol (0.07 mL) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Trockeneis gestoppt und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 41 mg **125** (137 μ mol, 27% über 2 Stufen).

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 15% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B \rightarrow 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 42.3$ min.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 7.93$ (s, 1H; C8H), 7.01 (s, 2H; NH₂), 5.70 (d, ³ $J_{H1',H2'}$ = 6.1 Hz, 1H; C1'H), 5.37 (d, ³ $J_{C2'-OH,H2'}$ = 6.0 Hz, 1H; C2'-OH), 5.10 (d, ³ $J_{C3'-OH,H3'}$ = 4.6 Hz, 1H; C3'-OH), 4.99 (t, ³ $J_{C5'-OH,H5'a}$ = ³ $J_{C5'-OH,H5'b}$ = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.44 – 4.37 (m, 1H; C2'H), 4.11 – 4.06 (m, 1H; C3'H), 3.89 – 3.84 (m, 1H; C4'H), 3.61 (ddd, ² $J_{H5'a,H5'b}$ = 11.9, ³ $J_{H5'a,C5'-OH}$ = 5.2, ³ $J_{H5'a,H4'}$ = 4.3 Hz, 1H; C5'Ha), 3.52 (ddd, ² $J_{H5'b,H5'a}$ = 11.9, ³ $J_{H5'b,C5'-OH}$ = 5.5, ³ $J_{H5'b,H4'}$ = 4.3 Hz, 1H; C5'Hb).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 156.4$ (C6), 154.2 (C2), 149.4 (C4), 135.6 (C8), 115.7 (C5), 86.0 (C1'), 85.1 (C4'), 73.6 (C2'), 70.4 (C3'), 61.4 (C5'), 27.4 (NCD₃).

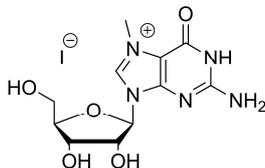
IR: $\tilde{\nu} = 3225$ (*bw*), 1702 (*m*), 1667 (*s*), 1632 (*w*), 1582 (*s*), 1536 (*s*), 1530 (*s*), 1478 (*w*), 1414 (*w*), 1358 (*w*), 1228 (*w*), 1208 (*w*), 1171 (*w*), 1119 (*w*), 1099 (*w*), 1037 (*s*), 967 (*w*), 902 (*w*), 869 (*w*), 772 (*s*), 729 (*w*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₂D₃N₅O₅ + H]⁺: 301.1334, gef.: 301.1337.

Schmelzpunkt: 163.0 – 165.0 °C.

4.2.8.3 Synthese von 7-*N*-Methylguanosin (**126**)

7-*N*-Methylguanosin Hydroiodid (m^7G) (**126**)^[226]



Guanosin (**121**) (566 mg, 2.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMA (5.5 mL) suspendiert, mit MeI (0.2 mL, 3.21 mmol, 1.6 eq.) versetzt und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges MeI wurde über eine weitere Nacht mit Stickstoff abgeblasen. Die erhaltene Lösung wurde in Diethylether getropft und solange gerührt bis die Suspension aufklarte. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert und der erhaltene Feststoff in Methanol gelöst. Durch Zugabe von Diethylether wurde das Produkt erneut ausgefällt und die überstehende Lösung abdekantiert. Die Prozedur wurde solange wiederholt, bis **126** (700 mg, 1.65 mmol, 82%) als weißer Feststoff erhalten wurde.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O, 27 °C): δ = 9.11 (s, 1H; C8H), 6.03 (d, $^3J_{H1',H2'} = 3.8$ Hz, 1H; C1'H), 4.67 (dd, $^3J_{H2',H3'} = 5.0$, $^3J_{H2',H1'} = 3.8$ Hz, 1H; C2'H), 4.40 – 4.36 (m, 1H; C3'H), 4.30 (ddd, $^3J_{H4',H3'} = 5.8$, $^3J_{H4',H5'b} = 4.0$, $^3J_{H4',H5'a} = 2.8$ Hz, 1H; C4'H), 4.09 (s, 3H; NCH₃), 3.95 (dd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 12.9$, $^3J_{H5'a,H4'} = 2.8$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.84 (dd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 12.9$, $^3J_{H5'b,H4'} = 4.1$, 1H; C5'Hb).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O, 27 °C): δ = 155.5 (C6), 155.1 (C2), 149.4 (C4), 136.4 (C8), 108.6 (C5), 89.8 (C1'), 85.2 (C4'), 74.1 (C2'), 69.2 (C3'), 60.3 (C5'), 35.8 (NCH₃).

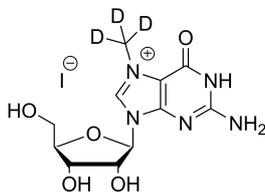
IR: $\tilde{\nu}$ = 3308 (*bm*), 3222 (*w*), 2927 (*w*), 1685 (*s*), 1643 (*s*), 1603 (*s*), 1524 (*w*), 1440 (*w*), 1385 (*m*), 1199 (*w*), 1102 (*s*), 1076 (*s*), 1051 (*s*), 1028 (*s*), 986 (*w*), 964 (*w*), 893 (*w*), 861 (*m*), 818 (*w*), 792 (*w*), 765 (*m*), 747 (*w*), 725 (*m*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₆N₅O₅]⁺: 298.1146, gef.: 298.1135.

Schmelzpunkt: T > 136.0 °C (Zersetzung).

4.2.8.4 Synthese von *d*₃-7-*N*-Methylguanodin (127)

*d*₃-7-*N*-Methylguanodin Hydroiodid (*d*₃-m⁷G) (127)



Guanosin (**121**) (566 mg, 2.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMA (5.5 mL) suspendiert, mit *d*₃-MeI (0.2 mL, 3.21 mmol, 1.6 eq.) versetzt und 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Überschüssiges *d*₃-MeI wurde über eine weitere Nacht abgeblasen. Die erhaltene Lösung wurde in Diethylether getropft und solange gerührt bis die Suspension aufklarte. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert und der erhaltene klebrige Feststoff in Methanol gelöst. Durch Zugabe von Diethylether wurde das Produkt erneut ausgefällt und die überstehende Lösung abdekantiert. Die Prozedur wurde solange wiederholt, bis das Hydroiodid **127** (730 mg, 1.70 mmol, 85%) als weißer Feststoff erhalten wurde.

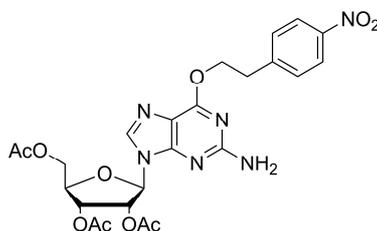
¹H-NMR (400 MHz, D₂O, 27 °C): δ = 9.10 (s, 1H; C8H), 6.02 (d, ³J_{H1',H2'} = 3.7 Hz, 1H; C1'H), 4.66 (dd, ³J_{H2',H3'} = 5.0, ³J_{H2',H1'} = 3.7 Hz, 1H; C2'H), 4.39 – 4.35 (m, 1H; C3'H), 4.25 (ddd, ³J_{H4',H3'} = 5.9, ³J_{H4',H5'b} = 4.0, ³J_{H4',H5'a} = 2.8 Hz, 1H; C4'H), 3.95 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 12.9, ³J_{H5'a,H4'} = 2.8 Hz, 1H; C5'Ha), 3.84 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 12.9, ³J_{H5'b,H4'} = 4.1, 1H; C5'Hb).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O, 27 °C): δ = 155.5 (C6), 155.1 (C2), 149.4 (C4), 136.4 (C8), 108.6 (C5), 89.8 (C1'), 85.2 (C4'), 74.2 (C2'), 69.2 (C3'), 60.4 (C5'), 35.2 (NCD₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3308 (*bm*), 3222 (*w*), 2928 (*w*), 1687 (*s*), 1643 (*s*), 1601 (*s*), 1557 (*m*), 1522 (*m*), 1439 (*w*), 1385 (*s*), 1295 (*w*), 1199 (*w*), 1177 (*w*), 1102 (*s*), 1074 (*s*), 1050 (*s*), 1027 (*s*), 987 (*w*), 963 (*w*), 895 (*w*), 860 (*m*), 816 (*w*), 784 (*w*), 765 (*m*), 747 (*w*), 723 (*w*), 683 (*w*) 643 (*w*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₁H₁₃D₃N₅O₅]⁺: 301.1334, gef.: 301.1324.

Schmelzpunkt: T > 136.0 °C (Zersetzung).

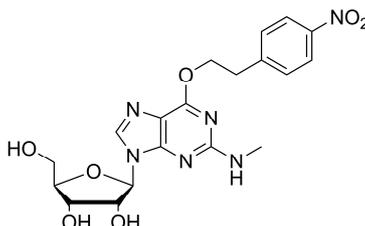
4.2.8.5 Synthese von 2-*N*-Methylguanosin (128)6-*O*-(4-Nitrophenyl)ethyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosin (130)^[230]

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.74.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.20 – 8.16 (m, 2H; ArH), 8.10 (s, 1H; C8H), 7.66 – 7.61 (m, 1H; ArH), 6.58 (s, 2H; NH₂), 6.08 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.1 Hz, 1H; C1'H), 5.87 (t, ³J_{H2',H1'} = ³J_{H2',H3'} = 6.0 Hz, 1H; C2'H), 5.55 (dd, ³J_{H3',H2'} = 5.8, ³J_{H3',H4'} = 4.2 Hz, 1H; C3'H), 4.68 (t, ³J_{OCH₂CH₂OCH₂CH₂ = 6.7 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 4.40 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.4, ³J_{H5'a,H4'} = 3.8 Hz, 1H; C5'Ha), 4.36 – 4.31 (m, 1H; C4'H), 4.27 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.4, ³J_{H5'b,H4'} = 5.7 Hz, 1H; C5'Hb), 3.25 (t, ³J_{OCH₂CH₂OCH₂CH₂ = 6.8 Hz, 1H; OCH₂CH₂), 2.12 (s, 3H; COCH₃), 2.03 (2s, 6H; COCH₃).}}

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 170.2 (COCH₃), 169.5 (COCH₃), 169.3 (COCH₃), 160.3 (C6), 160.0 (C2), 154.1 (C2), 146.7 (Ar), 146.3 (Ar), 138.1 (C8), 130.3 (2C; Ar), 123.5 (2C; Ar), 113.8 (C5), 84.6 (C1'), 79.6 (C4'), 71.9 (C2'), 70.4 (C3'), 65.7 (OCH₂CH₂), 63.1 (C5'), 34.4 (OCH₂CH₂), 20.6 (COCH₃), 20.4 (COCH₃), 20.2 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₄H₂₆N₆O₁₀ + H]⁺: 559.1783, gef.: 559.1797.

2-*N*-Methyl-6-*O*-(4-nitrophenyl)ethylguanosin (131)^[221]

Eine Suspension aus geschütztem Guanosin **122** (1.02 g, 2.50 mmol, 1.0 eq.), PPh₃ (0.98 g, 3.74 mmol, 1.5 mmol) und 2-(4-Nitrophenyl)ethanol (0.59 g, 3.53 mmol, 1.4 mmol) in Dioxan (15 mL) wurde für 45 min auf 80 °C erhitzt und anschließend bei 70 °C mit DIAD (0.74 mL, 3.77 mmol, 1.5 mmol) versetzt. Die Suspension klarte dabei sofort auf. Anschließend ließ man innerhalb 1 h auf 60 °C abkühlen. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Et₂O → Et₂O/CH₂Cl₂ 9:1 → Et₂O/CH₂Cl₂ 4:1 → CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 50:1 → CH₂Cl₂/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 1.53 g **130** im Gemisch mit Ph₃PO und Ph₃P erhalten. Das Gemisch wurde in Aceton (10 mL) gelöst und bei –20 °C mit wässriger HBF₄-Lösung (50%, 31.5 mL) und einer Lösung aus NaNO₂ (0.43 g) in Wasser (6 mL) versetzt. Die Lösung ließ man im Kältebad auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Nach Neutralisation mit NaHCO₃ wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde in ethanolischer Methylamin-Lösung (10 mL) gelöst, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend unter vermindertem Druck von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) lieferte 229 mg (0.51 mmol, 21% über zwei Stufen) **131** als gelben Schaum.

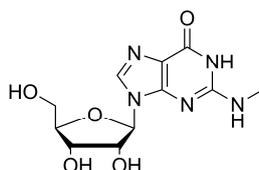
DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.43.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.22 – 8.15 (m, 2H; ArH), 8.06 (s, 1H; C8H), 7.65 – 7.60 (m, 2H; ArH), 6.90 (d, ³J_{NH,NCH₃} = 4.5 Hz, 1H; NH), 5.79 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.37 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.14 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.96 (s, 1H; C5'-OH), 4.70 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.6 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 4.57 (m, 1H; C2'H), 4.14 (m, 1H; C3'H), 3.90 (m, 1H; C4'H), 3.64 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.7, ³J_{H5'a,C5'-OH} = ³J_{H5'a,H4'} = 4.8 Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.7, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.9, ³J_{H5'b,H4'} = 4.5 Hz, 1H; C5'Hb), 3.26 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.8 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 2.82 (d, ³J_{NCH₃,NH} = 4.8, 3H; NCH₃).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 159.9 (C6), 159.3 (C2), 154.2 (C4), 146.7 (Ar), 146.3 (Ar), 138.4 (C8), 130.2 (2C; Ar), 123.4 (2C; Ar), 113.8 (C5), 86.9 (C1'), 85.3 (C4'), 73.1 (C2'), 70.6 (C3'), 65.4 (OCH₂CH₂), 61.6 (C5'), 34.4 (OCH₂CH₂), 28.3 (NCH₃).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₁₉H₂₂N₆O₇ + H]⁺: 447.1623, gef.: 447.1629.

2-*N*-Methylguanosin (m²G) (128)^[229]



Das Nucleosid **131** (229 mg, 513 μmol , 1.0 eq.) wurde in einer Lösung aus DBU in MeCN (1M, 4.1 mL) gelöst und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Bei Zugabe von Wasser zum Auftragen für eine HPL chromatographische Aufreinigung wurde eine schwer filtrierbare gelartige Masse erhalten, wodurch lediglich 16 mg (54 μmol , 10%) **128** als farbloser Feststoff erzielt wurden.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min \rightarrow 60 min, 3% Puffer B \rightarrow 5% Puffer B, 60 min \rightarrow 75 min, 5% Puffer B, 75 min \rightarrow 90 min, 5% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 90 min \rightarrow 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, R_f = 25.9 min.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.02.

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 10.69 (s, 1H; NH), 7.91 (s, 1H; C8H), 6.40 (q, $^3J_{\text{NHCH}_3, \text{NHCH}_3}$ = 4.3 Hz, 1H; NHCH₃), 5.72 (d, $^3J_{\text{H1}', \text{H2}'}$ = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.36 (d, $^3J_{\text{C2}'\text{-OH}, \text{H2}'}$ = 6.2 Hz, 1H; C2'-OH), 5.14 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH}, \text{H3}'}$ = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.91 (t, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH}, \text{H5}'\text{a}}$ = $^3J_{\text{C5}'\text{-OH}, \text{H5}'}$ = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.55 – 4.48 (m, 1H; C2'H), 4.14 – 4.08 (m, 1H; C3'H), 3.90 – 3.85 (m, 1H; C4'H), 3.65 – 3.58 (m, 1H; C5'Ha), 3.54 – 3.50 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{b}, \text{H5}'\text{a}}$ = 11.8, $^3J_{\text{H5}'\text{b}, \text{C5}'\text{-OH}}$ = 5.5, $^3J_{\text{H5}'\text{b}, \text{H4}'}$ = 4.7 Hz, 1H; C5'Hb), 2.81 (d, $^3J_{\text{NHCH}_3, \text{NHCH}_3}$ = 4.7 Hz, 3H; NHCH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 156.8 (C6), 153.2 (C2), 150.9 (C4), 136.0 (C8), 116.8 (C5), 86.7 (C1'), 85.2 (C4'), 73.3 (C2'), 70.5 (C3'), 61.6 (C5'), 27.7 (NCH $_3$).

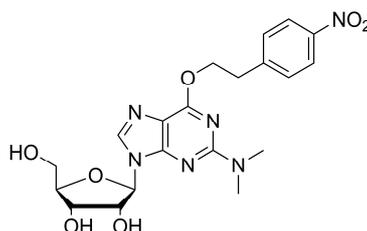
IR: $\tilde{\nu}$ = 3253 (*bw*), 1666 (*w*), 1644 (*w*), 1605 (*s*), 1566 (*m*), 1449 (*m*), 1398 (*m*), 1350 (*w*), 1320 (*m*), 1238 (*w*), 1211 (*w*), 1124 (*m*), 1057 (*s*), 1038 (*s*), 1018 (*m*), 948 (*s*), 911 (*m*), 859 (*w*), 803 (*w*), 700 (*m*), 649 (*w*) cm^{-1} .

HRMS (ESI $^+$) *m/z*: ber. für [C $_{11}$ H $_{15}$ N $_5$ O $_5$ + H] $^+$: 298.1146, gef.: 298.1151.

Schmelzpunkt: T > 210 °C (Zersetzung).

4.2.8.6 Synthese von 2-*N,N*-Dimethylguanosin (**129**)

2-*N,N*-Dimethyl-6-*O*-(4-nitrophenyl)ethylguanosin (**132**)^[221]



Eine Suspension von geschütztem Guanosin **122** (1.02 g, 2.50 mmol, 1.0 eq.), PPh $_3$ (0.98 g, 3.74 mmol, 1.5 mmol) und 2-(4-Nitrophenyl)ethanol (0.59 g, 3.53 mmol, 1.4 mmol) in Dioxan (15 mL) wurde für 45 min auf 80 °C erhitzt und anschließend bei 70 °C mit DIAD (0.74 mL, 3.77 mmol, 1.5 mmol) versetzt. Die Suspension klarte dabei sofort auf. Anschließend ließ man innerhalb 1 h auf 60 °C abkühlen. Nach Entfernen des Lösemittel wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Et $_2$ O \rightarrow Et $_2$ O/CH $_2$ Cl $_2$ 9:1 \rightarrow Et $_2$ O/CH $_2$ Cl $_2$ 4:1 \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH 50:1 \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 1.70 g **131** im Gemisch mit Ph $_3$ PO und Ph $_3$ P erhalten. Das Gemisch wurde in Aceton (10 mL) gelöst und bei -20 °C mit wässriger HBF $_4$ -Lösung (50% in H $_2$ O, 31.5 mL) und einer Lösung aus NaNO $_2$ (0.45 g, 6.52 mmol, 2.6 eq.) in Wasser (6 mL) versetzt. Die Lösung ließ man im Kältebad auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Nach Neutralisation mit NaHCO $_3$ wurde die wässrige Phase dreimal mit CH $_2$ Cl $_2$ extrahiert, die organische Phase über MgSO $_4$ getrocknet und von Lösemittel befreit. Das erhaltene

Zwischenprodukt wurde in ethanolischer Dimethylamin-Lösung (10 mL) gelöst und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von wässriger Dimethylamin-Lösung (10 mL) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung des Rückstands (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) lieferte 314 mg **132** (0.68 mmol, 27% über zwei Stufen) als gelben Schaum.

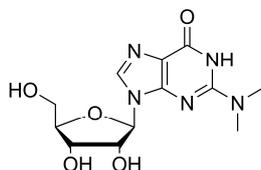
DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.43.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.20 – 8.16 (m, 2H; ArH), 8.09 (s, 1H; C8H), 7.64 – 7.59 (m, 2H; ArH), 5.80 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.9 Hz, 1H; C1'H), 5.38 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.18 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.9 Hz, 1H; C3'-OH), 4.92 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.74 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.6 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 4.61 (m, 1H; C2'H), 4.15 (m, 1H; C3'H), 3.89 (m, 1H; C4'H), 3.63 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.6, ³J_{H5'a,H4'} = 4.9 Hz, 1H; C5'Ha), 3.52 (dt, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8 Hz, ³J_{H5'b,H4'} = 5.1 Hz, 1H; C5'Hb), 3.27 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.7 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 3.13 (s, 6H; N(CH₃)₂).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.5 (C6), 158.5 (C2), 154.3 (C4), 146.7 (Ar), 146.3 (Ar), 138.9 (C8), 130.3 (2C; Ar), 123.5 (2C; Ar), 113.3 (C5), 87.0 (C1'), 85.2 (C4'), 73.0 (C2'), 70.5 (C3'), 65.4 (OCH₂CH₂), 61.6 (C5'), 37.2 (OCH₂CH₂), 34.4 (N(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₂₄N₆O₇ + H]⁺: 461.1779, gef.: 461.1784.

2-*N,N*-Dimethylguanosin (m²₂G) (**129**)^[229]



Das Guanosinderivat **132** (314 mg, 682 μmol, 1.0 eq.) wurde in einer Lösung aus DBU in MeCN (1M, 5.4 mL) gelöst und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Die nach Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 6:1) durchgeführte HPL chromatographische Aufreinigung des erhaltenen noch leicht verunreinigten Produkts lieferte 60 mg (193 μmol, 28%) **129** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min → 60 min, 3% Puffer B → 5% Puffer B, 60 min → 75 min, 5% Puffer B, 75 min → 90 min, 5% Puffer B → 8% Puffer B, 90 min → 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 42.6$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.04$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 10.69$ (s, 1H; NHCO), 7.93 (s, 1H; C8H), 5.72 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.8$ Hz, 1H; C1'H), 5.36 (d, $^3J_{\text{C2}'\text{-OH},\text{H2}'} = 6.2$ Hz, 1H; C2'-OH), 5.14 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH},\text{H3}'} = 5.0$ Hz, 1H; C3'-OH), 4.91 (t, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{a}} = ^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{b}} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.51 (m, 1H; C2'H), 4.11 (m, 1H; C3'H), 3.87 (m, 1H; C4'H), 3.61 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 11.7$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{C5}'\text{-OH}} = 5.2$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{H4}'}$ = 4.7 Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 – 3.49 (m, 1H; C5'Hb), 3.07 (s, 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 157.3$ (C6), 153.0 (C2), 150.8 (C4), 136.4 (C8), 116.1 (C5), 86.7 (C1'), 85.1 (C4'), 73.4 (C2'), 70.4 (C3'), 61.5 (C5'), 37.7 (2C; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

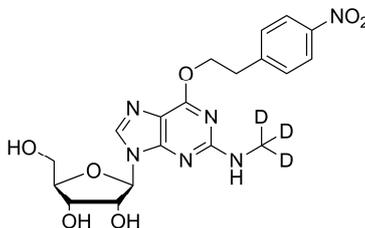
IR: $\tilde{\nu} = 3473$ (w), 3363 (w), 1687 (s), 1602 (s), 1534 (m), 1474 (w), 1413 (w), 1391 (w), 1370 (w), 1344 (w), 1316 (m), 1208 (w), 1190 (w), 1145 (w), 1134 (m), 1110 (w), 1051 (s), 1005 (s), 982 (w), 906 (w), 872 (w), 781 (m), 733 (m), 714 (m), 680 (m), 646 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 312.1302, gef.: 312.1311.

Schmelzpunkt: $T > 240.0$ °C (Zersetzung).

4.2.8.7 Synthese von *d*₃-2-*N*-Methylguanodin (133)

*d*₃-2-*N*-Methyl-6-*O*-(4-nitrophenyl)ethylguanodin (135)



Eine Suspension von geschütztem Guanodin **122** (1.02 g, 2.52 mmol, 1.0 eq.), PPh₃ (1.00 g, 3.81 mmol, 1.5 mmol) und 2-(4-Nitrophenyl)ethanol (0.59 g, 3.53 mmol, 1.4 mmol) in Dioxan (15 mL) wurde für 45 min auf 80 °C erhitzt und anschließend bei 70 °C mit DIAD (0.74 mL, 3.77 mmol, 1.5 mmol) versetzt. Die Suspension klarte dabei sofort auf. Anschließend ließ man innerhalb 1 h auf 60 °C abkühlen. Nach Entfernen des Lösemittel wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Et₂O → Et₂O/CH₂Cl₂ 9:1 → Et₂O/CH₂Cl₂ 4:1 → CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 50:1 → CH₂Cl₂/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 1.53 g **130** im Gemisch mit Ph₃PO und PPh₃ erhalten. Das Gemisch wurde in Aceton (10 mL) gelöst und bei –20 °C mit wässriger HBF₄ (50%, 31.5 mL) und einer Lösung aus NaNO₂ (0.43 g, 0.62 mmol, 2.5 eq.) in Wasser (6 mL) versetzt. Die Lösung ließ man auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Nach Neutralisation mit Na₂CO₃ wurde dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das Rohprodukt wurde in einer ethanolischen Lösung von *d*₃-Methylamin (25 mL) gelöst, die durch Umsetzung von 1,1,1-*d*₃-Methylaminhydrochlorid (1.00 g, 14.2 mmol, 5.2 eq.) mit Ag₂O (1.60 g) in Ethanol (20 mL) und anschließender Filtration erhalten wurde. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit ethanolischer Methylamin-Lösung (10 mL) versetzt und eine weitere Stunde gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) lieferte 346 mg **135** (0.77 mmol, 31% über zwei Stufen) als gelben Schaum.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.45.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 8.20 – 8.16 (m, 2H; ArH), 8.06 (s, 1H; C8H), 7.65 – 7.60 (m, 2H; ArH), 6.87 (s, 1H; NH), 5.79 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.37 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.15 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.97 (bs, 1H;

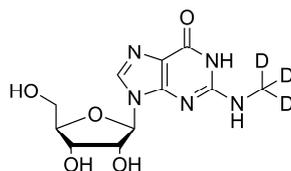
C5'-OH), 4.69 (t, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2} = 6.6$ Hz, 2H; OCH_2CH_2), 4.62 – 5.54 (m, 1H; C2'H), 4.14 (m, 1H; C3'H), 3.90 (m, 1H; C4'H), 3.64 (dt, $^2J_{\text{H}5'a,\text{H}5'b} = 11.8$, $^3J_{\text{H}5'a,\text{H}4'} = ^3J_{\text{H}5'a,\text{C}5'-\text{OH}} = 4.8$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (ddd, $^2J_{\text{H}5'b,\text{H}5'a} = 11.8$, $^3J_{\text{H}5'b,\text{C}5'-\text{OH}} = 5.9$, $^3J_{\text{H}5'b,\text{H}4'} = 4.4$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.26 (t, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2} = 6.7$ Hz, 2H; OCH_2CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 159.9$ (C6), 159.3 (C2), 154.2 (C4), 146.7 (Ar), 146.3 (Ar), 138.4 (C8), 130.3 (2C; Ar), 123.5 (2C; Ar), 113.8 (C5), 86.9 (C1'), 85.4 (C4'), 73.1 (C2'), 70.6 (C3'), 65.4 (OCH_2CH_2), 61.6 (C5'), 34.4 (OCH_2CH_2).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{D}_3\text{N}_6\text{O}_7 + \text{H}]^+$: 450.1811, gef.: 450.1805.

Ein IR-Spektrum und der Schmelzpunkt wurden nicht aufgenommen.

d_3 -2-N-Methylguanosin (d_3 -m²G) (**133**)



Isotopenmarkiertes Guanosin **135** (206 mg, 458 μmol , 1.0 eq.) wurde in einer Lösung aus DBU in MeCN (1M, 3.7 mL) gelöst und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel in vacuo entfernt. Die HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 105 mg (350 μmol , 76%) **133** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 15% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B \rightarrow 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_f = 32.7$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.02$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 10.69$ (s, 1H; NH), 7.91 (s, 1H; C8H), 6.30 (s, 1H; NHCH_3), 5.72 (d, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.0$ Hz, 1H; C1'H), 5.37 (d, $^3J_{\text{C}2'-\text{OH},\text{H}2'} = 6.1$ Hz, 1H; C2'-OH), 5.14 (d, $^3J_{\text{C}3'-\text{OH},\text{H}3'} = 4.8$ Hz, 1H; C3'-OH), 4.91 (t, $^3J_{\text{C}5'-\text{OH},\text{H}5'a} = ^3J_{\text{C}5'-\text{OH},\text{H}5'b} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.55 – 4.48 (m, 1H; C2'H), 4.14 – 4.09 (m, 1H; C3'H), 3.90 – 3.85 (m, 1H;

C4'H), 3.62 (dt, $^2J_{H5'a,H5'b} = 11.7$, $^3J_{H5'a,C5'-OH} = ^3J_{H5'a,H4'} = 4.9$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.56 – 3.49 (m, 1H; C5'Hb).

$^{13}\text{C-NMR}$ (140 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 156.8$ (C6), 153.2 (C2), 151.0 (C4), 136.1 (C8), 116.8 (C5), 86.7 (C1'), 85.2 (C4'), 73.3 (C2'), 70.5 (C3'), 61.6 (C5'), 27.0 (NCD $_3$).

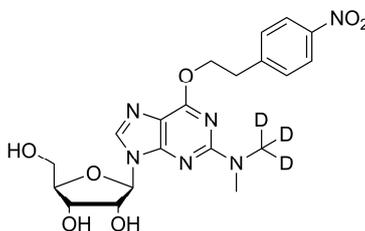
IR: $\tilde{\nu} = 3253$ (*bw*), 1666 (*w*), 1644 (*w*), 1605 (*s*), 1566 (*m*), 1449 (*m*), 1398 (*m*), 1350 (*w*), 1320 (*m*), 1238 (*w*), 1211 (*w*), 1124 (*m*), 1057 (*s*), 1038 (*s*), 1018 (*m*), 948 (*s*), 911 (*m*), 859 (*w*), 803 (*w*), 700 (*m*), 649 (*w*) cm^{-1} .

HRMS (ESI $^+$) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{D}_3\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 301.1334, gef.: 301.1337.

Schmelzpunkt: T > 210 °C (Zersetzung).

4.2.8.8 Synthese von (1,1,1)- d_3 -2-*N,N*-Dimethylguanosin (134)

(1,1,1)- d_3 -2-*N,N*-Dimethyl-6-*O*-(4-nitrophenyl)ethylguanosin (136)



Eine Suspension von geschütztem Guanosin **122** (1.03 g, 2.52 mmol, 1.0 eq.), PPh $_3$ (0.99 g, 3.77 mmol, 1.5 mmol) und 2-(4-Nitrophenyl)ethanol (0.59 g, 3.53 mmol, 1.4 mmol) in Dioxan (15 mL) wurde für 45 min auf 80 °C erhitzt und anschließend bei 70 °C mit DIAD (0.74 mL, 3.77 mmol, 1.5 mmol) versetzt. Die Suspension klarte dabei sofort auf. Anschließend ließ man innerhalb 1 h auf 60 °C abkühlen. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Et $_2$ O \rightarrow Et $_2$ O/CH $_2$ Cl $_2$ 9:1 \rightarrow Et $_2$ O/CH $_2$ Cl $_2$ 4:1 \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH 50:1 \rightarrow CH $_2$ Cl $_2$ /MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 1.31 g **130** im Gemisch mit Ph $_3$ PO und Ph $_3$ P erhalten. Das Gemisch wurde in Aceton gelöst und bei –20 °C mit wässriger HBF $_4$ und einer Lösung aus NaNO $_2$ in Wasser versetzt. Die Lösung ließ man auf Raumtemperatur aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Nach Neutralisation mit NaHCO $_3$ wurde dreimal mit CH $_2$ Cl $_2$ extrahiert, die vereinten organischen Phasen über Na $_2$ SO $_4$ getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit.

Das Rohprodukt wurde in einer ethanolischen Lösung (25 mL) aus 1,1,1-*d*₃-Dimethylamin (1.27 g, 15.02 mmol, 6.0 eq.) gelöst, die durch Umsetzung von 1,1,1-*d*₃-Dimethylaminhydrochlorid mit Ag₂O (3.48 g) in Ethanol (20 mL) und anschließender Filtration erhalten wurde. Nach 18 h Rühren bei Raumtemperatur wurde wässrige Dimethylamin-Lösung zugegeben, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1) lieferte 195 mg **136** (421 μmol, 17% über zwei Stufen) als gelben Schaum.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.40.

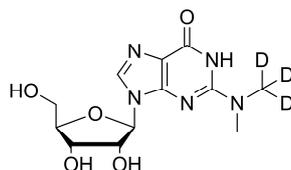
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 8.20 – 8.15 (m, 2H; ArH), 8.09 (s, 1H; C8), 7.64 – 7.59 (m, 2H; ArH), 5.81 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.9 Hz, 1H; C1'H), 5.37 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 5.8 Hz, 1H; C2'-OH), 5.16 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.3 Hz, 1H; C3'-OH), 4.90 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.74 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.7 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 4.61 (m, 1H; C2'H), 4.16 (m, 1H; C3'H), 3.89 (m, 1H; C4'H), 3.63 (dt, ³J_{H5'a,H5'b} = 11.6, ³J_{H5'a,H4'} = ³J_{H5'a,C5'-OH} = 4.9 Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (dt, ³J_{H5'b,H5'a} = 10.5, ³J_{H5'b,H4'} = ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.0 Hz, 1H; C5'Hb), 3.27 (t, ³J_{OCH₂CH₂,OCH₂CH₂} = 6.7 Hz, 2H; OCH₂CH₂), 3.13 (s, 3H; NCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 159.5 (C6), 158.5 (C2), 154.3 (C4), 146.8 (Ar), 146.3 (Ar), 138.9 (C8), 130.3 (Ar), 123.5 (Ar), 113.3 (C5), 87.0 (C1'), 85.2 (C4'), 73.0 (C2'), 70.5 (C3'), 65.4 (OCH₂CH₂), 61.6 (C5'), 37.1 (OCH₂CH₂), 34.4 (NCH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3308 (*bw*), 2926 (*bw*), 1613 (*m*), 1576 (*s*), 1517 (*s*), 1448 (*w*), 1396 (*m*), 1342 (*s*), 1263 (*m*), 1221 (*w*), 1048 (*s*), 985 (*w*), 897 (*w*), 856 (*m*), 785 (*m*), 743 (*m*), 735 (*m*), 697 (*m*), 631 (*m*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₂₁D₃N₆O₇ + H]⁺: 464.1968, gef.: 464.1952.

Schmelzpunkt: 87.5 – 95.1 °C.

(1,1,1)-d₃-2-*N,N*-Dimethylguanosin (m²₂G-d₃) (134)

Isotopenmarkiertes Guanosin **136** (195 mg, 434 μmol , 1.0 eq.) wurde in einer Lösung von DBU in MeCN (1M, 3.4 mL) gelöst und 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Die nach Säulenchromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 6:1) durchgeführte HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 68 mg (216 μmol , 50%) **134** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 17.5% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B \rightarrow 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_f = 59.2$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.04$.

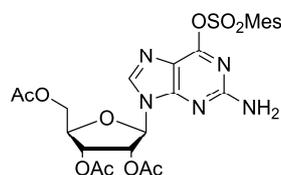
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 10.71$ (s, 1H; NH), 7.94 (s, 1H; C8H), 5.71 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.9$ Hz, 1H; C1'), 5.39 (d, $^3J_{\text{C2}'\text{-OH},\text{H2}'} = 6.2$ Hz, 1H; C2'H-OH), 5.17 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH},\text{H3}'} = 4.9$ Hz, 1H; C3'-OH), 4.93 (t, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.51 (m, 1H; C2'H), 4.11 (m, 1H; C3'H), 3.86 (m, 1H; C4'H), 3.64 – 3.57 (m, 1H; C5'Ha), 3.51 (dt, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 11.8$, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{H4}'} = ^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{C5}'\text{-OH}} = 4.9$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.06 (s, 3H; NCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 157.4$ (C6), 153.0 (C2), 150.8 (C4), 136.4 (C8), 116.1 (C5), 86.7 (C1'), 85.1 (C4'), 73.4 (C2'), 70.5 (C3'), 61.6 (C5'), 30.7 (NCH₃).

IR: $\tilde{\nu} = 3472$ (w), 3364 (w), 1687 (s), 1599 (s), 1535 (m), 1470 (w), 1413 (w), 1391 (w), 1373 (w), 1344 (w), 1317 (m), 1207 (w), 1174 (w), 1133 (m), 1110 (w), 1096 (w), 1051 (s), 1005 (s), 982 (w), 906 (w), 872 (w), 781 (m), 731 (m), 713 (m), 679 (m), 646 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI) m/z : ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{D}_3\text{N}_5\text{O}_5 - \text{H}]^-$: 313.1345., gef.: 313.1347.

Schmelzpunkt: T > 245 °C (Zersetzung).

4.2.8.9 Synthese von 2'-*O*-Methylguanosin (137)6-*O*-(2,4,6-Trimethyl)phenylsulfonyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosine (140)^[232]

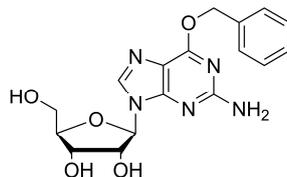
Geschütztes Guanosin **122** (8.19 g, 20.01 mmol, 1.0 eq.) und DMAP (0.25 g, 2.05 mmol, 0.1 eq.) wurden in CH₂Cl₂ (100 mL) suspendiert, auf 0 °C gekühlt und mit Triethylamin (8.35 mL, 60.24 mmol, 3.0 eq.) versetzt. Nach 15 min wurde 2,4,6-Trimethylbenzolsulfonsäurechlorid (9.20 g, 42.07 mmol, 2.1 eq.) zugegeben und weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Man ließ auf Raumtemperatur erwärmen und rührte weitere 4 h. Nach Zugabe von Kieselgel (50 g) wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung lieferte 11.40 g (19.27 mmol, 96%) **140** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: R_f = 0.11.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 7.79 (s, 1H; C8H), 6.98 (bs, 2H; ArH), 5.98 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.0, 1H; C1'H), 5.92 (t, ³J_{H2',H1'} = ³J_{H2',H3'} = 5.2, 1H; C2'H), 5.73 – 5.70 (m, 1H; C3'H), 5.00 (s, 2H; NH₂), 4.44 – 4.39 (m, 2H; C4'H, C5Ha), 4.36 – 4.32 (m, 1H; C5Hb), 2.74 (s, 6H; CH₃), 2.31 (s, 3H; CH₃), 2.12 (s, 3H; COCH₃), 2.08 (s, 3H; COCH₃), 2.05 (s, 3H; COCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃, 27 °C): δ = 170.5 (COCH₃), 169.5 (COCH₃), 169.3 (COCH₃), 158.6 (C6), 155.3 (2C; C2, C4), 144.0 (Ar), 140.3 (2C; Ar), 140.2 (C8H), 132.3 (Ar), 131.7 (2C; Ar), 116.8 (C5), 86.4 (C1'), 79.9 (C4'), 72.6 (C2'), 70.5 (C3'), 62.9 (C5'), 22.7 (2C; CH₃), 21.1 (CH₃), 20.7 (COCH₃), 20.5 (COCH₃), 20.4 (COCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₅H₃₀N₅O₁₀S + H]⁺: 592.1708, gef.: 592.1701.

6-O-Benzylguanosin (139)^[232]

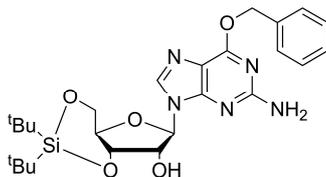
Das Nukleosid **140** (11.40 g, 19.27 mmol, 1.0 eq.), DABCO (4.33 g, 38.60 mmol, 2.0 eq.) und Benzylalkohol (10.0 mL, 96.54 mmol, 5.0 eq.) wurden unter Ar in CH₂Cl₂ (250 mL) gelöst, mit MS 3Å versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von DBU (4.31 mL, 28.85 mmol, 1.5 eq.) wurde weitere 20 h bei Raumtemperatur gerührt und die Mischung anschließend mit Kieselgel versetzt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte die säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1 → 15:1) ein Gemisch aus Produkt **139** und unvollständig entschütztem Produkt. Das Gemisch wurde in Methanol (27 mL) gelöst, mit einer Lösung aus NaOMe in Methanol (0.5M, 3.4 mL) versetzt und 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die erhaltene Suspension wurde mit Trockeneis neutralisiert, mit Kieselgel versetzt und unter vermindertem Druck von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 20:1 → 10:1) lieferte 5.65 g (15.13 mmol, 79%) **139** als farblosen Feststoff.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.33.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.12 (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.45 – 7.31 (m, 3H; ArH), 6.51 (s, 2H; NH₂), 5.79 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.52 (d, ²J_{PhCHa,PhCHb} = 12.2 Hz, 1H; PhCHa), 5.49 (d, ²J_{PhCHb,PhCHa} = 12.3 Hz, 1H; PhCHb), 5.41 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.15 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.7 Hz, 1H; C3'-OH), 5.11 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.6 Hz, 1H; C5'-OH), 4.47 (td, ³J_{H2',C2'-OH} = ³J_{H2',H1'} = 6.0, ³J_{H2',H3'} = 5.1 Hz, 1H; C2'H), 4.11 (td, ³J_{H3',C3'-OH} = ³J_{H3',H2'} = 4.8, ³J_{H3',H4'} = 3.7 Hz, 1H; C3'H), 3.90 (q, ³J_{H4',H3'} = ³J_{H4',H5'a} = ³J_{H4',H5'b} = 3.9 Hz, 1H; C4'H), 3.64 (ddd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.9, ³J_{H5'a,C5'-OH} = 5.1, ³J_{H5'a,H4'} = 4.2 Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.9, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 6.0, ³J_{H5'b,H4'} = 4.1 Hz, 1H; C5'Hb).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 160.1 (C6), 159.7 (C2), 154.4 (C4), 138.1 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.9 (C5), 86.6 (C1'), 85.3 (C4'), 73.5 (C2'), 70.4 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 61.4 (C5').

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₇H₁₉N₅O₅ + H]⁺: 374.1459, gef.: 374.1458.

3',5'-O-Di-*tert*-butylsilyl-6-O-benzylguanosin (141)

Benzylguanosin **139** (900 mg, 2.41 mmol, 1.0 eq.) wurde in DMF (14 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit DTBS(OTf)₂ (0.94 mL, 2.89 mmol, 1.2 eq.) versetzt. Nach 20 min wurde die Lösung auf verdünnte wässrige NaHCO₃-Lösung (200 mL) gekippt und die Suspension zweimal mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde jeweils mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (Isohexan/EtOAc 2:1 → 1:1) lieferte 1.10 g (2.14 mmol, 89%) **141** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.58.

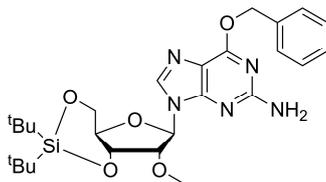
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.06 (s, 1H; C8H), 7.53 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.32 (m, 3H; ArH), 6.50 (s, 2H; NH₂), 5.82 (s, 1H; C1'H), 5.76 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 4.2 Hz, 1H; C2'-OH), 5.51 (d, ²J_{PhCHa,PhCHb} = 12.2 Hz, 1H; PhCHa), 5.48 (d, ²J_{PhCHb,PhCHa} = 12.2 Hz, 1H; PhCHb), 4.42 (t, ³J_{H2',H3'} = ³J_{H2',C2'-OH} = 4.6 Hz, 1H; C2'H), 4.38 – 4.31 (m, 2H; C3'H, C5'H), 4.02 – 3.97 (m, 2H; C4'H, C5'H), 1.06 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 160.1 (C6), 159.8 (C2), 153.8 (C4), 138.1 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.7 (C5), 89.5 (C1'), 76.2 (C3'), 73.7 (C4'), 72.9 (C2'), 66.9 (2C; C5', PhCH₂), 27.3 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.3 (SiC(CH₃)₃), 20.1 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3353 (*bw*), 2932 (*w*), 2857 (*w*), 1611 (*s*), 1580 (*s*), 1470 (*m*), 1407 (*m*), 1358 (*w*), 1329 (*w*), 1257 (*m*), 1196 (*w*), 1132 (*m*), 1054 (*s*), 1027 (*w*), 1010 (*w*), 938 (*w*), 826 (*s*), 788 (*m*), 736 (*m*), 695 (*m*), 652 (*s*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₅H₃₅N₅O₅Si + H]⁺: 514.2480, gef.: 514.2481.

Schmelzpunkt: 108.1 – 113.1 °C.

2'-O-Methyl-3',5'-O-di-tert-butylsilyl-6-O-benzylguanosin (142)

Das Nukleosid **141** (381 mg, 742 μmol , 1.0 eq.) wurde in DMF (9 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. 15 min nach Zugabe von NaH (60 mg, 1.50 mmol, 2.0 eq., 60%ig als Öldispersion) wurde MeI (0.07 mL, 1.12 mmol, 1.5 eq.) zugetropft und weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe gesättigter NH_4Cl -Lösung gestoppt und die Lösung auf Wasser (90 mL) gekippt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc (3×30 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt und 125 mg (237 μmol , 32%) **142** als farbloser Schaum erhalten.

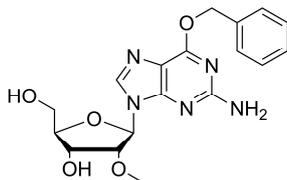
DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: $R_f = 0.67$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 8.06$ (s, 1H; C8H), 7.51 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.41 – 7.38 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.33 (m, 1H; ArH), 6.48 (s, 2H; NH_2), 5.87 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 0.7$ Hz, 1H; C1'H), 5.51 (d, $^2J_{\text{PhCHa},\text{PhCHb}} = 12.1$ Hz, 1H; PhCHa), 5.48 (d, $^2J_{\text{PhCHb},\text{PhCHa}} = 12.1$ Hz, 1H; PhCHb), 4.52 (dd, $^3J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 9.5$, $^3J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 4.9$ Hz, 1H; C3'H), 4.33 (dd, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 8.9$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{H4}'\text{a}} = 4.7$ Hz, 1H; C5'Ha), 4.22 (d, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 4.9$ Hz, 1H; C2'H), 4.01 (dd, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{H4}'\text{a}} = 10.5$, $^2J_{\text{H5}'\text{b},\text{H5}'\text{a}} = 9.0$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.94 (ddd, $^3J_{\text{H4}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 10.4$, $^3J_{\text{H4}'\text{a},\text{H3}'\text{a}} = 9.9$, $^3J_{\text{H4}'\text{a},\text{H5}'\text{a}} = 4.9$ Hz, 1H; C4'H), 3.53 (s, 3H; OCH_3), 1.07 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.01 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 160.1$ (C6), 159.8 (C2), 153.6 (C4), 138.1 (C8), 136.5 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.8 (C5), 87.5 (C1'), 81.6 (C2'), 76.8 (C3'), 73.9 (C4'), 66.9 (Ph CH_2), 66.7 (C5'), 58.5 (OCH_3), 27.3 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 26.9 (3C; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 22.2 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 19.9 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

HRMS (ESI $^+$) m/z : ber. für $[\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si} + \text{H}]^+$: 528.2637, gef.: 528.2637.

Ein IR-Spektrum und der Schmelzpunkt wurden nicht aufgenommen.

2'-O-Methyl-6-O-benzylguanosin (143)

Guanosin **142** (118 mg, 224 μmol , 1.0 eq.) wurde in THF (4.8 mL) gelöst und mit Triethylamintrihydrofluorid (0.07 mL, 429 μmol , 1.9 eq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 15 min Kieselgel zugegeben. Der Rückstand wurde nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1 \rightarrow $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1) aufgereinigt und 59 mg (152 μmol , 68%) **143** als farblosen Schaum erhalten.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.53$.

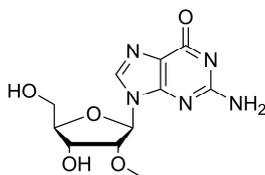
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 8.14$ (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.43 – 7.32 (m, 3H; ArH), 6.50 (s, 2H; NH_2), 5.90 (d, $^3J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 6.2$ Hz, 1H; C1'H), 5.52 (d, $^2J_{\text{PhCHaHb},\text{PhCHaHb}} = 12.2$ Hz, 1H; PhCHaHb), 5.48 (d, $^2J_{\text{PhCHaHb},\text{PhCHaHb}} = 12.2$ Hz, 1H; PhCHaHb), 5.21 (d, $^3J_{\text{C}3'\text{-OH},\text{H}3'} = 5.1$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.12 (t, $^3J_{\text{C}5'\text{-OH},\text{H}5'} = ^3J_{\text{C}5'\text{-OH},\text{H}5'\text{b}} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.29 (td, $^3J_{\text{H}3',\text{C}3'\text{-OH}} = ^3J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 5.0$, $^3J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.1$ Hz, 1H; C3'H), 4.24 (dd, $^3J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 6.2$, $^3J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 4.9$ Hz, 1H; C2'H), 3.92 (q, $^3J_{\text{H}4',\text{H}3'} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'\text{a}} = ^3J_{\text{H}4',\text{H}5'\text{b}} = 3.9$ Hz, 1H; C4'H), 3.63 (ddd, $^2J_{\text{H}5'\text{a},\text{H}5'\text{b}} = 11.9$, $^3J_{\text{H}5'\text{a},\text{C}5'\text{-OH}} = 5.2$, $^3J_{\text{H}5'\text{a},\text{H}4'} = 4.2$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, $^2J_{\text{H}5'\text{b},\text{H}5'\text{a}} = 11.9$, $^3J_{\text{H}5'\text{b},\text{C}5'\text{-OH}} = 5.8$, $^3J_{\text{H}5'\text{b},\text{H}4'} = 4.0$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.31 (s, 3H; OCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 160.1$ (C6), 159.8 (C2), 154.3 (C4), 137.9 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.8 (C5), 86.0 (C4'), 84.5 (C1'), 82.5 (C2'), 68.7 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 61.3 (C5'), 57.5 (OCH_3).

IR: $\tilde{\nu} = 3337$ (*bw*), 3211 (*bw*), 2927 (*w*), 1609 (*s*), 1579 (*s*), 1513 (*w*), 1455 (*m*), 1409 (*m*), 1358 (*m*), 1331 (*m*), 1241 (*s*), 1119 (*w*), 1064 (*s*), 1026 (*m*), 981 (*m*), 897 (*w*), 865 (*w*), 824 (*w*), 790 (*m*), 738 (*m*), 696 (*s*), 638 (*m*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 388.1615, gef.: 388.1614.

Schmelzpunkt: 81.1 – 84.4 $^\circ\text{C}$.

2'-O-Methylguanosin (Gm) (137)^[241]

Eine Lösung von **143** (54 mg, 139 μmol , 1.0 eq.) in Ethanol (5.2 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 11 mg) und Cyclohexen (0.52 mL) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde die Suspension über einen Microfilter filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 36 mg (121 μmol , 87%) **137** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min \rightarrow 60 min, 3% Puffer B \rightarrow 5% Puffer B, 60 min \rightarrow 75 min, 5% Puffer B, 75 min \rightarrow 90 min, 5% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 90 min \rightarrow 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 34.9$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.02$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 10.67$ (s, 1H; NHCO), 7.96 (s, 1H; C8H), 6.48 (s, 2H; NH_2), 5.79 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 6.3$ Hz, 1H), 5.20 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH},\text{H3}'} = 5.1$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.09 (t, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{a}} = ^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{b}} = 5.4$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.26 (dt, $^3J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 3.3$, $^3J_{\text{H3}',\text{H2}'} = ^3J_{\text{H3}',\text{C3}'\text{-OH}} = 4.9$ Hz, 1H; C3'H), 4.16 (dd, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 4.8$, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'} = 6.3$ Hz, 1H; C2'H), 3.89 (q, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{a}} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{b}} = 4.0$ Hz, 1H; C4'H), 3.60 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 11.9$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{C5}'\text{-OH}} = 5.3$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{H4}'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{b},\text{H5}'\text{a}} = 11.9$, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{C5}'\text{-OH}} = 5.5$, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{H4}'} = 4.0$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.31 (s, 3H; OCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 156.8$ (C6), 153.8 (C2), 151.2 (C4), 135.3 (C8), 116.6 (C5), 85.9 (C4'), 84.3 (C1'), 82.7 (C2'), 68.7 (C3'), 61.3 (C5'), 57.5 (OCH_3).

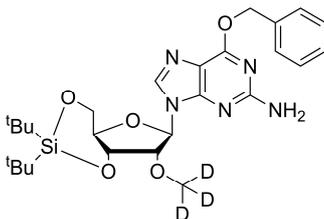
IR: $\tilde{\nu} = 3413$ (bw), 3176 (w), 2727 (w), 1712 (m), 1669 (w), 1627 (s), 1604 (m), 1567 (w), 1535 (m), 1484 (m), 1413 (w), 1380 (m), 1244 (w), 1207 (w), 1182 (m), 1103 (s), 1044 (s), 976 (w), 944 (m), 893 (w), 867 (m), 819 (w), 778 (s), 751 (w), 676 (s) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 298.1146, gef.: 298.1146.

Schmelzpunkt: T > 225 °C (Zersetzung).

4.2.8.10 Synthese von *d*₃-2'-*O*-Methylguanosin (**144**)

*d*₃-2'-*O*-Methyl-3',5'-*O*-di-*tert*-butylsilyl-6-*O*-benzylguanosin (**145**)



Das Nukleosid **141** (381 mg, 742 μ mol, 1.0 eq.) wurde in DMF (9 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. 15 min nach Zugabe von NaH (61 mg, 1.53 mmol, 2.1 eq.) wurde MeI (0.07 mL, 1.12 mmol, 1.5 eq.) zugetropft und weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und die Lösung auf Wasser (90 mL) gestürzt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc extrahiert (3 \times 30 mL), die vereinten organischen Phasen einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt und 112 mg **145** (211 μ mol, 28%) als farbloser Schaum erhalten.

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.71.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.06 (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.38 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.33 (m, 1H; ArH), 6.48 (s, 2H; NH₂), 5.87 (d, ³J_{H1',H2'} = 0.8 Hz, 1H; C1'H), 5.51 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.1 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.48 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.1 Hz, 1H; PhCHaHb), 4.52 (dd, ³J_{H3',H4'} = 9.5, ³J_{H3',H2'} = 4.9 Hz, 1H; C3'H), 4.33 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 8.9, ³J_{H5'a,H4'} = 4.7 Hz, 1H; C5'Ha), 4.22 (d, ³J_{H2',H3'} = 5.1 Hz, 1H; C2'H), 4.01 (dd, ³J_{H5'b,H4'} = 10.4, ²J_{H5b,H5a} = 8.9 Hz, 1H; C5Hb), 3.97 – 3.92 (m, 1H; C4'H), 1.07 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

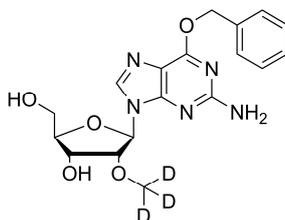
¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 160.1 (C6), 159.8 (C2), 153.6 (C4), 138.1 (C8), 136.5 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.8 (C5), 87.5 (C1'), 81.5 (C2'),

76.8 (C3'), 73.9 (C4'), 66.9 (PhCH₂), 66.7 (C5'), 27.3 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.2 (SiC(CH₃)₃), 19.9 (SiC(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₆H₃₄D₃N₅O₅Si + H]⁺: 531.2825, gef.: 531.2825.

Ein IR-Spektrum und der Schmelzpunkt wurden nicht aufgenommen.

*d*₃-2'-*O*-Methyl-6-*O*-benzylguanosin (**146**)



Markiertes Guanosin **145** (105 mg, 198 μmol, 1.0 eq.) wurde in THF (4.0 mL) gelöst und mit Triethylamintrihydrofluorid (0.06 mL, 368 μmol, 1.9 eq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 15 min Kieselgel zugegeben. Der Rückstand wurde nach Entfernen des Lösemittels säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1 → CH₂Cl₂/MeOH 30:1) aufgereinigt und 57 mg (146 μmol, 74%) **144** als farblosen Schaum.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.46.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.14 (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.43 – 7.32 (m, 3H; ArH), 6.50 (s, 2H; NH₂), 5.90 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.2 Hz, 1H; C1'H), 5.52 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.2 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.48 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.2 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.20 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 5.1 Hz, 1H; C3'-OH), 5.12 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.29 (dt, ³J_{H3',H2'} = ³J_{H3',C3'-OH} = 5.0, ³J_{H3',H4'} = 3.1 Hz, 1H; C3'H), 4.24 (dd, ³J_{H2',H1'} = 6.2, ³J_{H2',C3'} = 4.9 Hz, 1H; C2'H), 3.92 (t, ³J_{H4',H5'a} = ³J_{H4',H5'b} = 3.9 Hz, 1H; C4'H), 3.63 (ddd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.9, ³J_{H5'a,C5'-OH} = 5.2, ³J_{H5'a,H4'} = 4.2 Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.9, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.8, ³J_{H5'b,H4'} = 4.0 Hz, 1H; C5'Hb).

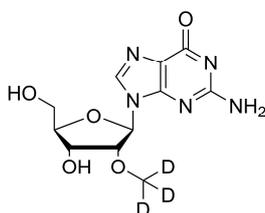
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 160.1 (C6), 159.8 (C2), 154.3 (C4), 137.9 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.8 (C5), 86.0 (C4'), 84.6 (C1'), 82.4 (C2'), 68.7 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 61.4 (C5').

IR: $\tilde{\nu}$ = 3336 (*bw*), 3203 (*bw*), 2923 (*w*), 1609 (*s*), 1580 (*s*), 1512 (*w*), 1456 (*m*), 1410 (*m*), 1357 (*w*), 1331 (*w*), 1242 (*s*), 1153 (*w*), 1064 (*s*), 1025 (*m*), 968 (*m*), 907 (*w*), 886 (*w*), 863 (*w*), 822 (*w*), 790 (*m*), 737 (*m*), 696 (*m*), 637 (*m*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{D}_3\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 391.1804, gef.: 391.1802.

Schmelzpunkt: 82.0 – 84.9 °C.

*d*₃-2'-*O*-Methylguanosin (*d*₃-Gm) (**144**)



Eine Lösung von Guanosin **146** (52 mg, 133 μmol , 1.0 eq.) in Ethanol (5.0 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 10 mg) und Cyclohexen (0.50 mL) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde die Suspension über einen Microfilter filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 33 mg (110 μmol , 83%) **144** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 15% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B → 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, R_t = 54.1 min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: R_f = 0.02.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): δ = 10.63 (s, 1H; NHCO), 7.96 (s, 1H; C8H), 6.46 (s, 2H; NH₂), 5.79 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 6.3 Hz, 1H; C1'H), 5.19 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH},\text{H3}'}$ = 5.1 Hz, 1H; C3'-OH), 5.07 (t, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{a}}$ = $^3J_{\text{C5}'\text{-OH},\text{H5}'\text{b}}$ = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.26 (dt, $^3J_{\text{H3}',\text{H4}'}$ = 3.3, $^3J_{\text{H3}',\text{H2}'}$ = $^3J_{\text{H3}',\text{C3}'\text{-OH}}$ = 4.9 Hz, 1H; C3'H), 4.16 (dd, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'}$ = 6.3, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'}$ = 4.8 Hz, 1H; C2'H), 3.89 (q, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'}$ = $^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{a}}$ = $^3J_{\text{H4}',\text{H5}'\text{b}}$ = 3.9 Hz, 1H; C4'H), 3.60 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}}$ = 11.9, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{C5}'\text{-OH}}$ = 5.3, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{H4}'}$ = 4.3 Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (ddd, $^2J_{\text{H5}'\text{b},\text{H5}'\text{a}}$ = 11.9, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{C5}'\text{-OH}}$ = 5.5, $^3J_{\text{H5}'\text{b},\text{H4}'}$ = 4.0 Hz, 1H; C5'Hb).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 156.8 (C6), 153.8 (C2), 151.2 (C4), 135.3 (C8), 116.6 (C5), 85.8 (C4'), 84.3 (C1'), 82.6 (C2'), 68.7 (C3'), 61.3 (C5').

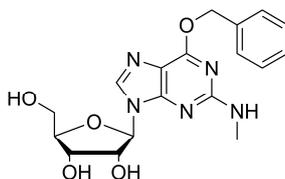
IR: $\tilde{\nu}$ = 3416 (*bw*), 3174 (*w*), 2718 (*bw*), 1714 (*m*), 1668 (*w*), 1628 (*s*), 1605 (*m*), 1567 (*w*), 1535 (*m*), 1484 (*m*), 1413 (*w*), 1381 (*m*), 1245 (*w*), 1207 (*w*), 1182 (*m*), 1112 (*s*), 1101 (*s*), 1044 (*s*), 965 (*w*), 946 (*w*), 891 (*w*), 869 (*m*), 819 (*w*), 778 (*s*), 749 (*w*), 675 (*s*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für $[\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{D}_3\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 301.1334, gef.: 301.1332.

Schmelzpunkt: T > 225 °C (Zersetzung).

4.2.8.11 Synthese von 2'-O-2-N-Dimethylguanosin (148)

2-N-Methyl-6-O-benzylguanosin (149)^[229]



Geschütztes Guanosin **122** (5.12 g, 12.50 mmol, 1.0 eq.) wurde in Dioxan (75 mL) suspendiert, mit PPh₃ (5.02 g, 19.14 mmol, 1.5 eq.) und Benzylalkohol (1.85 mL, 17.79 mmol, 1.4 eq.) versetzt und für 45 min auf 80 °C erhitzt. Nach Zugabe von DIAD (3.75 mL, 19.10 mmol, 1.5 eq.) bei 75 °C ließ man innerhalb einer Stunde auf 60 °C abkühlen und entfernte anschließend das Lösemittel *in vacuo*. Säulenchromatographische Aufreinigung (Et₂O → Et₂O/CH₂Cl₂ 9:1 → CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 50:1) lieferte ein Gemisch aus **130**, OPPh₃ und PPh₃, das in Aceton (50 mL) gelöst und auf –20 °C gekühlt wurde. Nach Zugabe von HBF₄ (115 mL, 50% in H₂O) wurde eine Lösung aus NaNO₂ (2.19 g, 31.74 mmol, 2.5 eq.) in Wasser (30 mL) zugegeben. Man ließ die Suspension auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3h bei Raumtemperatur. Präzipitiertes OPPh₃ und PPh₃ wurden abfiltriert, das Filtrat mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (100 mL) verdünnt und mit festem Na₂CO₃ neutralisiert. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit Dichlormethan (3 × 100 mL) wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel befreit. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in ethanolischer MeNH₂-Lösung (50 mL)

aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1 → 10:1) nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte 418 mg (1.08 mmol, 9% über 2 Stufen) **149** als bräunlichen Schaum. Als Nebenprodukt konnte Benzaldehyd identifiziert werden.

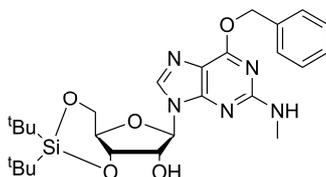
DC [CH₂Cl₂/MeOH (19:1)]: R_f = 0.04.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.09 (s, 1H; C8H), 7.53 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.43 – 7.31 (m, 3H; ArH), 6.93 (d, ³J_{NH,NCH₃} = 4.0 Hz, 1H; NH), 5.81 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.52 (s, 2H; PhCH₂), 5.39 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.16 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.99 (bs, 1H; C5'-OH), 4.60 (bs, 1H; C2'H), 4.16 (dd, ³J_{H3',H4'} = 8.3, ³J_{H3',C3'-OH} = 4.7 Hz, 1H; C3'H), 3.91 (dd, ³J_{H4',H3'} = 7.7, ³J_{H4',H5'b} = 4.2 Hz, 1H; C4'H), 3.65 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.7, ³J_{H5'a,H4'} = ³J_{H5'a,C5'-OH} = 4.7 Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.8, ³J_{H5'b,H4'} = 4.7 Hz, 1H; C5'Hb), 2.84 (d, ³J_{NCH₃,NH} = 4.8 Hz, 3H; NCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.9 (C6), 159.3 (C2), 154.3 (C4), 138.5 (C8), 136.7 (Ar), 128.4 (4C, Ar), 128.0 (Ar), 114.0 (C5), 87.0 (C1'), 85.4 (C4'), 73.1 (C2'), 70.6 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 61.6 (C5'), 28.3 (NCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₈H₂₁N₅O₅ + Na]⁺: 410.1435, gef.: 410.1436.

3',5'-O-Di-*tert*-butylsilyl-2-*N*-methyl-6-*O*-benzylguanosin (**150**)



Eine Lösung des Nukleosids **149** (414 mg, 1.07 mmol, 1.0 eq.) in DMF (6 mL) wurde mit Di-*tert*-butylsilylbistrifluormethansulfonat (0.42 mL, 1.29 mmol, 1.2 eq.) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf gesättigte NaHCO₃-Lösung gestürzt und die Suspension zweimal mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 7:1 → 2:1) lieferte 425 mg (0.81 mmol, 75%) **150** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: $R_f = 0.22$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 8.04$ (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.32 (m, 3H; ArH), 7.02 (s, 1H; NH), 5.81 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 0.7$ Hz, 1H; C1'H), 5.71 (d, $^3J_{\text{C2'-OH,H2}'} = 4.1$ Hz, 1H; C2'-OH), 5.50 (s, 2H; PhCH₂), 4.63 (s, 1H; C2'H), 4.54 (s, 1H; C3'H), 4.36 – 4.31 (m, 1H; C5'Ha), 3.99 – 3.90 (m, 2H; C5'Hb, C4'H), 2.81 (d, $^3J_{\text{NCH}_3,\text{NH}} = 4.7$ Hz, 3H; NCH₃), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.02 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

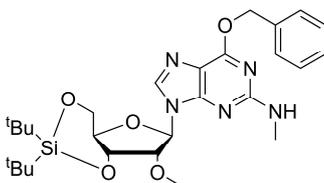
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 159.9$ (C6), 159.3 (C2), 153.5 (C4), 139.0 (C8), 136.6 (Ar), 128.4 (4C, Ar), 128.0 (Ar), 113.9 (C5), 90.4 (C1'), 76.2 (C2'), 73.6 (C4'), 72.2 (C3'), 66.9 (2C; PhCH₂, C5'), 28.2 (NCH₃), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.1 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu} = 2933$ (m), 2857 (m), 1612 (s), 1581 (s), 1551 (w), 1472 (m), 1407 (m), 1385 (m), 1356 (m), 1234 (m), 1127 (s), 1051 (s), 1010 (m), 939 (w), 826 (s), 788 (m), 734 (m), 695 (m), 651 cm^{-1} (s).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₂₆H₃₇N₅O₅Si + H]⁺: 528.2637, gef.: 528.2639.

Schmelzpunkt: 102.3 – 104.7 °C.

2'-O-Methyl-3',5'-O-di-*tert*-butylsilyl-2-N-methyl-6-O-benzylguanosin (151)



Guanosin **150** (188 mg, 347 μmol , 1.0 eq.) wurde in DMF (2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. 15 min nach Zugabe von NaH (30 mg, 0.75 mmol, 2.2 eq., 60%ig als Öldispersion) wurde MeI (0.03 mL, 482 μmol , 1.4 eq.) zugetropft und weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und die Lösung auf Wasser (20 mL) gestürzt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc (3 × 30 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulen-

chromatographisch (Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt und **151** im Gemisch mit an *N*-2 zweifach methyliertem Produkt im Verhältnis 12:1 erhalten (91 mg).

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: $R_f = 0.68$.

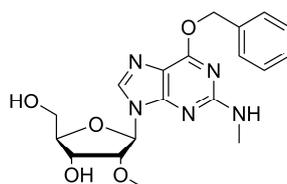
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 8.04$ (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.46 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.30 (m, 3H; ArH), 7.06 (bs, 1H; NH), 5.90 (s, 1H; C1'H), 5.50 (s, 2H; PhCH₂), 4.62 (bs, 1H; C4'H), 4.39 – 4.31 (m, C2'H, C5'Ha), 4.00 – 3.90 (m, 2H; C3'H, C5'Hb), 3.53 (s, 3H; OCH₃), 2.81 (d, $^3J_{\text{NHCH}_3,\text{NH}} = 4.7$ Hz, 3H; NHCH₃), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): $\delta = 159.9$ (C6), 159.3 (C2), 153.3 (C4), 138.6 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 114.0 (C5), 88.2 (C1'), 81.2 (C2'), 76.8 (C4'), 73.9 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 66.7 (C5'), 58.3 (OCH₃), 28.3 (NCH₃), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₂₇H₃₉N₅O₅Si + H]⁺: 542.2794, gef.: 542.2794.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

2'-*O*-Methyl-2-*N*-methyl-6-*O*-benzylguanosin (**152**)



Das Nukleosidgemisch (85 mg) wurde in THF (3.4 mL) gelöst, mit Et₃N·3 HF (0.05 mL) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt, 15 min bei Raumtemperatur gerührt und Kieselgel zugegeben. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 2:1 → CH₂Cl₂/MeOH 30:1) des Rückstands nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte **152** im Gemisch (50 mg) mit an *N*-2-dimethyliertem Produkt (ca. 16:1).

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: $R_f = 0.44$.

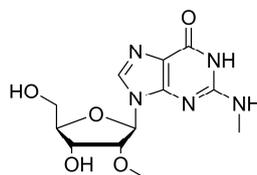
¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.12 (s, 1H; C8H), 7.52 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.37 (m, 2H; ArH), 7.37 – 7.32 (m, 1H; ArH), 6.98 (bs, 1H; NH), 5.92 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.2 Hz, 1H; C1'H), 5.55 – 5.48 (m, 2H; PhCH₂), 5.22 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 5.0 Hz, 1H; C3'-OH), 5.03 (bs, 1H; C5'-OH), 4.36 – 4.29 (m, 2H; C2'H, C3'H), 3.92 (dd, ³J_{H4',H3'} = 7.4, ³J_{H4',H5'b} = 4.1 Hz, 1H; C4'H), 3.65 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.7, ³J_{H5'a,H4'} = ³J_{H5'a,C5'-OH} = 4.9 Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.7, ³J_{H5'b,H4'} = 4.2 Hz, 1H; C5'Hb), 3.32 (s, 3H; OCH₃), 2.82 (d, ³J_{NHCH₃,NH} = 4.8 Hz, 3H; NHCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.8 (C6), 159.3 (C2), 154.0 (C4), 138.1 (C8), 136.7 (Ar), 128.4 (4C, Ar), 128.0 (Ar), 113.8 (C5), 85.7 (C4'), 85.0 (C1'), 82.3 (C2'), 68.7 (C3'), 66.8 (PhCH₂), 61.3 (C5'), 57.5 (OCH₃), 28.3 (NCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₉H₂₃N₅O₅ + H]⁺: 402.1772, gef.: 402.1772.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

2'-O-Methyl-2-N-methylguanosin (m²Gm) (148)



1. Methode:

Das Nukleosidgemisch (44 mg) wurde in EtOH (4.0 mL) gelöst, mit Cyclohexen (0.41 mL) und Palladium auf Aktivkohle (8 mg) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Die Suspension wurde über einen Microfilter filtriert und das Filtrat von Lösemittel *in vacuo* befreit. Die HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 9 mg (30 μ mol, 9% ausgehend von **150**) **148** als farblosen Feststoff.

2. Methode:

Das Nukleosidgemisch (9 mg) wurde in EtOH (1.0 mL) gelöst, mit Cyclohexen (0.10 mL) und Palladium auf Aktivkohle (2 mg) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Die Suspension wurde über einen Microfilter filtriert und das Filtrat von Lösemittel *in vacuo*

befreit. Die HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 1 mg (3 μ mol, 1% ausgehend von **168**) **148** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B \rightarrow 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min \rightarrow 60 min, 3% Puffer B \rightarrow 5% Puffer B, 60 min \rightarrow 75 min, 5% Puffer B, 75 min \rightarrow 90 min, 5% Puffer B \rightarrow 8% Puffer B, 90 min \rightarrow 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 67.8$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.06$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 10.72$ (s, 1H; NHCO), 7.96 (s, 1H; C8H), 6.40 – 6.34 (m, 1H; NHCH₃), 5.84 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.6$ Hz, 1H; C1'H), 5.21 (d, $^3J_{\text{C3'-OH},\text{H3}'} = 5.4$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.01 (t, $^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'a}} = ^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'b}} = 5.4$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.30 – 4.20 (m, 2H; C3'H, C2'H), 3.92 – 3.88 (m, 1H; C4'H), 3.63 (ddd, $^2J_{\text{H5'a},\text{H5'b}} = 11.9$, $^3J_{\text{H5'a},\text{C5'-OH}} = 5.3$, $^3J_{\text{H5'a},\text{H4}'} = 4.4$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, $^2J_{\text{H5'b},\text{H5'a}} = 11.9$, $^3J_{\text{H5'b},\text{C5'-OH}} = 5.3$, $^3J_{\text{H5'b},\text{H4}'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.35 (s, 3H; OCH₃), 2.80 (d, $^3J_{\text{NHCH}_3,\text{NH}} = 4.7$ Hz, 3H; NHCH₃).

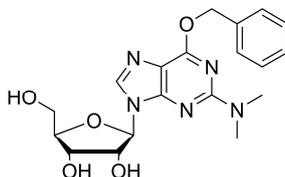
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 156.8$ (C6), 153.3 (C2), 150.7 (C4), 135.7 (C8), 116.8 (C5), 85.6 (C4'), 84.8 (C1'), 82.6 (C2'), 68.6 (C3'), 61.2 (C5'), 57.4 (OCH₃), 27.6 (NCH₃).

IR: $\tilde{\nu} = 3357$ (w), 1681 (s), 1627 (s), 1571 (m), 1455 (m), 1422 (m), 1351 (s), 1313 (m), 1184 (m), 1144 (s), 1106 (s), 1070 (s), 1041 (m), 996 (m), 960 (w), 840 (w), 789 (m), 780 (s), 758 (w), 712 (m), 655 (m), 634 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$: 312.1303, gef.: 312.1304.

Schmelzpunkt: T > 290 $^\circ\text{C}$ (Zersetzung).

4.2.8.12 Synthese von 2'-O-2-N,N-Trimethylguanosin (147)

2-N,N-Dimethyl-6-O-benzylguanosin (153)^[229]

Geschütztes Guanosin **122** (5.12 g, 12.50 mmol, 1.0 eq.) wurde in Dioxan (75 mL) suspendiert, mit PPh₃ (5.02 g, 19.14 mmol, 1.53 eq.) und Benzylalkohol (3.70 mL) versetzt und für 45 min auf 80 °C erhitzt. Nach Zugabe von DIAD (3.75 mL) bei 80 °C ließ man innerhalb von 1.5 h auf 60 °C abkühlen und entfernte anschließend das Lösemittel *in vacuo*. Säulenchromatographische Aufreinigung (Et₂O → Et₂O/CH₂Cl₂ 9:1 → CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 50:1) lieferte ein Gemisch aus **130**, PPh₃ und OPPh₃, das in Aceton (50 mL) gelöst und auf -20 °C gekühlt wurde. Nach Zugabe von HBF₄ (125 mL, 50% in H₂O) wurde eine Lösung aus NaNO₂ (2.19 g, 31.74 mmol, 2.54 eq.) in Wasser (30 mL) zugetropft. Man ließ die Suspension auf 0 °C aufwärmen und rührte 3 h bei Raumtemperatur. Präzipitiertes OPPh₃ wurde abfiltriert, das Filtrat mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und mit festem Na₂CO₃ neutralisiert. Nach Extraktion der wässrigen Phase dreimal mit CH₂Cl₂ wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in ethanolischer Me₂NH-Lösung (20 mL) aufgenommen und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe wässriger Me₂NH-Lösung (10 mL) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1 → 10:1) nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte 418 mg (1.04 mmol, 8% über 2 Stufen) **153** als bräunlichen Schaum. Als Nebenprodukt konnte Benzaldehyd identifiziert werden.

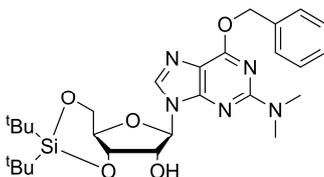
DC [CH₂Cl₂/MeOH (19:1)]: R_f = 0.08.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.12 (s, 1H; C8H), 7.51 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.31 (m, 3H; ArH), 5.81 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.9 Hz, 1H; C1'H), 5.55 (s, 2H; PhCH₂), 5.40 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.0 Hz, 1H; C2'-OH), 5.19 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.93 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.4 Hz, 1H; C5'-OH), 4.62 (m, 1H; C2'H), 4.15 (m, 1H; C3'H), 3.89 (m, 1H; C4'H), 3.63 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.4, ³J_{H5'a,H4'} = ³J_{H5'a,C5'-OH} = 4.7 Hz, 1H; C5'Ha), 3.52 (dt, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.6, ³J_{H5'b,H4'} = ³J_{H5'b,C5'-OH} = 4.9 Hz, 1H; C5'Hb), 3.13 (s, 6H; N(CH₃)₂).

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 159.4 (C6), 158.4 (C2), 154.4 (C4), 139.0 (C8), 136.9 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.4 (C5), 87.0 (C1'), 85.2 (C4'), 73.0 (C2'), 70.5 (C3'), 67.0 (PhCH₂), 61.6 (C5'), 37.2 (N(CH₃)₂).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₁₉H₂₃N₅O₅ + H]⁺: 402.1772, gef.: 402.1771.

2-*N,N*-Dimethyl-3',5'-*O*-di-*tert*-butylsilyl-6-*O*-benzylguanosin (**154**)



Eine Lösung des dimethylierten Guanosins **153** (1.06 g, 2.64 mmol, 1.0 eq.) in DMF (14 mL) wurde mit Di-*tert*-butylsilylbistrifluormethansulfonat (1.05 mL, 3.24 mmol, 1.2 eq.) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf verdünnte NaHCO₃-Lösung (150 mL) gestürzt und die Suspension mit EtOAc (3 × 60 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel unter vermindertem Druck befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 2:1) lieferte 1.21 g (2.23 mmol, 85%) **154** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:1)]: R_f = 0.40.

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 8.08 (s, 1H; C8H), 7.51 – 7.46 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.31 (m, 3H; ArH), 5.80 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 0.8$ Hz, 1H; C1'H), 5.72 (d, $^3J_{\text{C2}'\text{-OH},\text{H2}'} = 4.1$ Hz, 1H; C2'-OH), 5.54 (s, 2H; PhCH₂), 4.68 (t, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H2}',\text{C2}'\text{-OH}} = 4.6$ Hz, 1H; C2'H), 4.54 (dd, $^3J_{\text{H3}',\text{H4}'} = 9.1$, $^3J_{\text{H3}',\text{H2}'} = 5.1$ Hz, 1H; C3'H), 4.33 (dd, $^2J_{\text{H5}'\text{a},\text{H5}'\text{b}} = 8.3$, $^3J_{\text{H5}'\text{a},\text{H4}'}$ = 4.1 Hz, 1H; C5'Ha), 3.97 – 3.84 (m, 2H; C4'H, C5'Hb), 3.12 (s, 6H; N(CH₃)₂), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.02 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

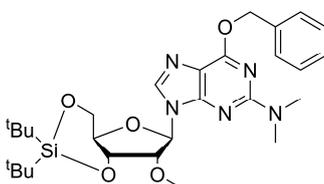
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 159.5 (C6), 158.5 (C2), 153.5 (C4), 139.8 (C8), 136.8 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.5 (C5), 90.6 (C1'), 76.3 (C3'), 73.6 (C4'), 71.9 (C2'), 67.1 (PhCH₂), 66.9 (C5'), 37.1 (N(CH₃)₂), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₂), 20.1 (SiC(CH₃)₂).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2933 (w), 2857 (w), 1616 (s), 1574 (s), 1546 (m), 1472 (w), 1395 (s), 1358 (w), 1326 (w), 1273 (m), 1197 (w), 1130 (s), 1055 (s), 1028 (w), 1010 (w), 939 (w), 856 (m), 826 (s), 799 (w), 786 (m), 734 (m), 696 (m), 651 (s) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_5\text{Si} + \text{H}]^+$: 542.2793, gef.: 542.2788.

Schmelzpunkt: 88.5 – 95.9 °C.

2'-*O*-Methyl-3',5'-di-*tert*-butylsilyl-2-*N,N*-dimethyl-6-*O*-benzylguanosin (**155**)



Eine Lösung von Guanosin **154** (110 mg, 203 μmol , 1.0 eq.) in DMF (2 mL) wurde bei 0 °C mit NaH (10 mg, 250 μmol , 1.25 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt. Nach Ende der Gasentwicklung wurde tropfenweise MeI (0.02 mL, 0.32 mmol, 1.6 eq.) zugegeben und 2 h bei 0 °C gerührt. Es wurde erneut NaH (10 mg, 250 μmol , 1.25 eq., 60%ig als Öldispersion) und MeI (0.02 mL, 0.16 mmol, 0.8 eq.) zugegeben und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH_4Cl -Lösung gestoppt und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde auf Wasser (20 mL) gestürzt und mit EtOAc (3 \times 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1) lieferte 86 mg (155 μmol , 76%) **155** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: R_f = 0.31.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): δ = 8.07 (s, 1H; C8H), 7.50 – 7.45 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.30 (m, 3H; ArH), 5.90 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 0.9 Hz, 1H; C1'H), 5.54 (s, 2H; PhCH₂), 4.66 – 4.61 (m, 1H; C4'H), 4.37 (dd, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'}$ = 5.1, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'}$ = 1.0 Hz, 1H; C2'H), 4.34 (d, $^3J_{\text{H5'a},\text{H4}'}$ = 4.3 Hz, 1H; C5'Ha), 3.96 – 3.92 (m, 2H; C3'H, C5'Hb), 3.52 (s, 3H; OCH₃), 3.12 (s, 6H; N(CH₃)₂), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): δ = 159.5 (C6), 158.5 (C2), 153.4 (C4), 139.3 (C8), 136.8 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.5 (C5), 88.4 (C1'), 81.0 (C2'),

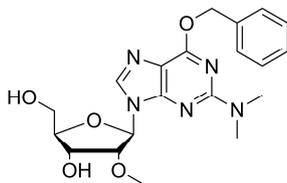
76.8 (C4'), 73.8 (C3'), 67.1 (PhCH₂), 66.8 (C5'), 58.3 (OCH₃), 37.1 (NCH₃), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2934 (*bw*), 1614 (*s*), 1579 (*s*), 1546 (*m*), 1396 (*s*), 1356 (*m*), 1283 (*m*), 1220 (*m*), 1119 (*w*), 1115 (*m*), 1061 (*s*), 1029 (*m*), 978 (*w*), 953 (*w*), 871 (*w*), 786 (*m*), 726 (*m*), 695 (*m*), 630 (*w*) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₈H₄₁N₅O₅Si + H]⁺: 556.2950, gef.: 556.2950.

Schmelzpunkt: 71.2 – 74.1 °C.

2'-O-Methyl-2-N,N-dimethyl-6-O-benzylguanosin (**156**)



Das Guanosinderivat **155** (59 mg, 106 μmol, 1.0 eq.) wurde in THF (2.2 mL) gelöst und mit Triethylamintrihydrofluorid (0.03 mL, 184 μmol, 1.7 eq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 15 min Kieselgel zugegeben. Der Rückstand wurde nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1 → CH₂Cl₂/MeOH 30:1) aufgereinigt und 44 mg (106 μmol, quant.) **156** als farblosen Schaum erhalten.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.55.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.16 (s, 1H; C8H), 7.50 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.41 – 7.37 (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.32 (m, 1H; ArH), 5.93 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.4 Hz, 1H; C1'H), 5.57 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.3 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.54 (d, ²J_{PhCHaHb,PhCHaHb} = 12.3 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.22 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 5.4 Hz, 1H; C3'-OH), 4.99 (t, ³J_{C5'-OH,H5'a} = ³J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5 Hz, 1H; C5'-OH), 4.36 – 4.33 (m, 1H; C2'H), 4.33 – 4.29 (m, 1H; C3'H), 3.91 (q, ³J_{H4',H3'} = ³J_{H4',H5'a} = ³J_{H4',H5'b} = 4.2 Hz, 1H; C4'H), 3.65 (ddd, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.8, ³J_{H5'a,C5'-OH} = 5.5, ³J_{H5'a,H4'} = 4.4 Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.4, ³J_{H5'b,H4'} = 4.4 Hz, 1H; C5'Hb), 3.34 (s, 3H; OCH₃), 3.13 (s, 6H; N(CH₃)₂).

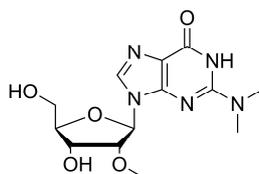
^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 159.4 (C6), 158.4, 154.1 (C4), 138.6 (C8), 136.9 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.4 (C5), 85.5 (C4'), 85.1 (C1'), 82.2 (C2'), 68.6 (C3'), 67.0 (PhCH₂), 61.2 (C5'), 57.5 (OCH₃), 37.1 (N(CH₃)₂).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3330 (*bw*), 3245 (*bw*), 2934 (*w*), 1611 (*s*), 1588 (*s*), 1582 (*s*), 1514 (*w*), 1466 (*w*), 1417 (*m*), 1401 (*m*), 1356 (*m*), 1327 (*m*), 1256 (*m*), 1220 (*m*), 1119 (*s*), 1091 (*s*), 1064 (*s*), 1028 (*s*), 993 (*m*), 978 (*m*), 958 (*w*), 911 (*w*), 863 (*w*), 787 (*s*), 757 (*w*), 725 (*s*), 692 (*s*), 628 (*s*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₂₅N₅O₅ + H]⁺: 416.1928, gef.: 416.1923.

Schmelzpunkt: 162.0 – 162.7 °C.

2'-O-Methyl-2-N,N-dimethylguanosin (m²₂Gm) (147)^[234]



1. Methode:

Eine Lösung des Guanosins **156** (37 mg, 89 μmol , 1.0 eq.) in Ethanol (3.4 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 7 mg) und Cyclohexen (0.33 mL) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde die Suspension über einen Microfilter filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte ein 14 mg (43 μmol , 48%) **147** als farblosen Feststoff.

2. Methode:

Eine Lösung des Guanosins **173** (70 mg, 152 μmol , 1.0 eq.) in Ethanol (5.5 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 11 mg) und Cyclohexen (0.57 mL) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde die Suspension über einen Microfilter filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte ein 21 mg (129 μmol , 42%) **147** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 20% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule

(250/4 Nucleodur): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min → 60 min, 3% Puffer B → 5% Puffer B, 60 min → 75 min, 5% Puffer B, 75 min → 90 min, 5% Puffer B → 8% Puffer B, 90 min → 105 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_t = 91.4$ min.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.08$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 10.71$ (s, 1H; NHCO), 7.97 (s, 1H; C8H), 5.84 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.4$ Hz, 1H; C1'H), 5.22 (d, $^3J_{\text{C3'-OH},\text{H3}'} = 5.4$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.00 (t, $^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'a}} = ^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'b}} = 5.4$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.29 – 4.26 (m, 1H; C3'H), 4.25 – 4.22 (m, 1H; C2'H), 3.91 – 3.86 (m, 1H; C4'H), 3.63 (ddd, $^2J_{\text{H5'a},\text{H5'b}} = 11.8$, $^3J_{\text{H5'a},\text{C5'-OH}} = 5.4$, $^3J_{\text{H5'a},\text{H4}'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, $^2J_{\text{H5'b},\text{H5'a}} = 11.9$, $^3J_{\text{H5'b},\text{C5'-OH}} = 5.2$, $^3J_{\text{H5'b},\text{H4}'} = 4.4$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.34 (s, 3H; OCH_3), 3.06 (s, 6H; NCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 157.3$ (C6), 153.1 (C2), 150.6 (C4), 136.1 (C8), 116.1 (C5), 85.4 (C4'), 84.8 (C1'), 82.6 (C2'), 68.5 (C3'), 61.1 (C5'), 57.5 (OCH_3), 37.8 (2C; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

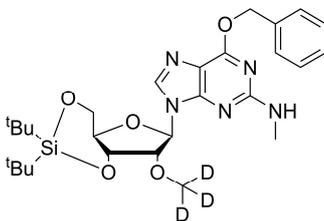
IR: $\tilde{\nu} = 3120$ (w), 2928 (w), 1681 (s), 1591 (s), 1539 (m), 1381 (m), 1348 (m), 1310 (m), 1214 (m), 1183 (m), 1107 (s), 1085 (s), 1067 (s), 953 (m), 914 (m), 779 (s), 721 (s), 636 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{Na}]^+$: 348.1272, gef.: 348.1278.

Schmelzpunkt: $T > 250$ °C (Zersetzung).

4.2.8.13 Synthese von *d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N*-methylguanosin (**157**)

*d*₃-2'-*O*-Methyl-3',5'-*O*-di-*tert*-butylsilyl-2-*N*-methyl-6-*O*-benzylguanosin (**159**)



Guanosin **151** (188 mg, 347 μ mol, 1.0 eq.) wurde in DMF (2 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. 15 min nach Zugabe von NaH (30 mg, 0.75 mmol, 2.2 eq., 60%ig als Öldispersion) wurde *d*₃-MeI (0.03 mL, 482 μ mol, 1.4 eq.) zugetropft und weitere 1.5 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und die Lösung auf Wasser (20 mL) gestürzt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc extrahiert (3 \times 30 mL), die vereinten organischen Phasen einmal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 4:1) aufgereinigt und **159** im Gemisch mit an *N*-2 zweifach methyliertem Produkt im Verhältnis 12:1 erhalten (100 mg).

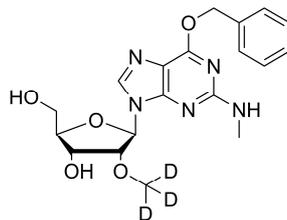
DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.70.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.05 (s, 1H; C8H), 7.51 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.32 (m, 3H; ArH), 7.06 (bs, 1H; NH), 5.89 (s, 1H; C1'H), 5.50 (s, 2H; PhCH₂), 4.63 (bs, 1H; C4'H), 4.39 – 4.31 (m, 2H; C2'H, C5'Ha), 3.98 – 3.92 (m, 2H; C3'H, C5'Hb), 2.81 (d, ³J_{NHCH₃,NH} = 4.5 Hz, 3H; NHCH₃), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.9 (C6), 159.3 (C2), 153.4 (C4), 138.6 (C8), 136.6 (Ar), 128.5 (2C; Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.1 (Ar), 113.9 (C5), 88.3 (C1'), 81.1 (C2'), 76.8 (C4'), 73.9 (C3'), 66.9 (PhCH₂), 66.8 (C5'), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₇H₃₇D₃N₅O₅Si + H]⁺: 445.2982, gef.: 445.2983.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde von der Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts abgesehen.

***d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N*-methyl-6-*O*-benzylguanosin (PT160)**

Das Nucleosidgemisch (98 mg) wurde in THF (3.6 mL) gelöst, mit Et₃N·3 HF (0.05 mL) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methoxytrimethylsilan (1 mL) gestoppt, 15 min bei Raumtemperatur gerührt und mit Kieselgel versetzt. Nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromato-graphisch aufgereinigt. Es wurde **160** im Gemisch (62 mg) mit an *N*-2-dimethyliertem Produkt (ca. 16:1) erhalten.

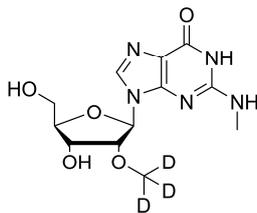
DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.45.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.12 (s, 1H; C8H), 7.51 – 7.48 (m, 2H; ArH), 7.41 – 7.37 (m, 1H; ArH), 7.36 – 7.32 (m, 1H; ArH), 6.98 (bs, 1H; NH), 5.91 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.2 Hz, 1H; C1'H), 5.21 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 5.1 Hz, 1H; C3'-OH), 5.03 (bs, 1H; C5'-OH), 4.36 – 4.29 (m, 2H; C2'H, 3'H), 3.92 (dd, ³J_{H4',H3'} = 7.4, ³J_{H4',H5'} = 4.1 Hz, 1H; C4'H), 3.65 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 11.6, ³J_{H5'a,C5'-OH} = ³J_{H5'a,H4'} = 4.8 Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.7, ³J_{H5'b,H4'} = 4.3 Hz, 1H; C5'Hb), 2.83 (d, ³J_{NHCH3,NH} = 4.8 Hz, 3H; NHCH₃).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.8 (C6), 159.3 (C2), 154.1 (C4), 138.0 (C8), 136.7 (Ar), 128.4 (4C, Ar), 128.0 (Ar), 113.8 (C5), 85.7 (C4'), 85.0 (C1'), 82.2 (C2'), 68.7 (C3'), 66.8 (PhCH₂), 61.3 (C5'), 28.3 (NCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₉H₂₀D₃N₅O₅ + H]⁺: 405.1960, gef.: 405.1959.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

***d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N*-methylguanosin (*d*₃-m²Gm) (**157**)**

Das Nukleosidgemisch (56 mg) wurde in EtOH (5.0 mL) gelöst, mit Cyclohexen (0.52 mL) und Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 10 mg) versetzt und unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Die Suspension wurde über einen Microfilter filtriert und das Filtrat von Lösemittel *in vacuo* befreit. Nach HPL chromatographischer Aufreinigung wurde 11 mg **157** (35 µmol, 10% ausgehend von **151**) als farbloser Feststoff erhalten.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 17.5% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B → 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, $R_f = 80.7$ min.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: $R_f = 0.08$.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 10.75$ (s, 1H; NH), 7.96 (s, 1H; C8H), 6.39 (bs, 1H; NHCH₃), 5.84 (d, $^3J_{H1',H2'} = 5.7$ Hz, 1H; C1'H), 5.21 (d, $^3J_{C3'-OH,H3'} = 5.4$ Hz, 1H; C3'-OH), 5.00 (t, $^3J_{C5'-OH,H5'a} = ^3J_{C5'-OH,H5'b} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.30 – 4.26 (m, 1H; C3'H), 4.25 – 4.22 (m, 1H; C2'H), 3.91 – 3.88 (m, 1H; C4'H), 3.63 (ddd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 11.9$, $^3J_{H5'a,C5'-OH} = 5.3$, $^3J_{H5'a,H4'} = 4.4$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 11.9$, $^3J_{H5'b,C5'-OH} = 5.4$, $^3J_{H5'b,H4'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Hb), 2.81 (d, $^3J_{NHCH3,NHCH3} = 4.7$ Hz, 3H; NHCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 27 °C): $\delta = 156.7$ (C6), 153.3 (C2), 150.7 (C4), 135.7 (C8), 116.8 (C5), 85.6 (C4'), 84.8 (C1'), 82.5 (C2'), 68.6 (C3'), 61.2 (C5'), 56.5 (OCD₃), 27.7 (NCH₃).

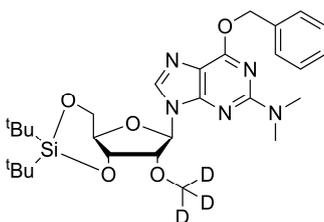
IR: $\tilde{\nu} = 3357$ (w), 2360 (w), 2340 (w), 1682 (s), 1628 (s), 1572 (m), 1456 (m), 1422 (m), 1313 (m), 1184 (m), 1136 (w), 1113 (w), 1070 (s), 1038 (m), 1010 (m), 989 (w), 840 (w), 796 (m), 780 (s), 759 (w), 711 (m), 657 (m), 634 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₂H₁₄D₃N₅O₅ + H]⁺: 315.1491, gef.: 315.1491.

Schmelzpunkt: T > 290 °C (Zersetzung).

4.2.8.14 Synthese von *d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N,N*-dimethylguanosin (**158**)

*d*₃-2'-*O*-Methyl-3',5'-*O*-di-*tert*-butylsilyl-2-*N,N*-dimethyl-6-*O*-benzylguanosin (**161**)



Eine Lösung von **152** (584 mg, 1.08 mmol, 1.0 eq.) in DMF (10 mL) wurde bei 0 °C mit NaH (52 mg, 2.17 mmol, 2.0 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt. Nach Ende der Gasentwicklung wurde tropfenweise *d*₃-MeI (0.08 mL, 1.29 mmol, 1.2 eq.) zugegeben und 1h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit EtOAc verdünnt, mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Die organische Phase wurde mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung lieferte 416 mg (0.74 mmol, 69%) **161** als farblosen Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (2:1)]: R_f = 0.25.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.07 (s, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 2H; ArH), 7.42 – 7.30 (m, 3H; ArH), 5.90 (d, ³J_{H1',H2'} = 1.0 Hz, 1H; C1'H), 5.55 (s, 2H; PhCH₂), 4.66 – 4.61 (m, 1H; C4'H), 4.37 (dd, ³J_{H2',H3'} = 5.0, ³J_{H2',H1'} = 0.9 Hz, 1H; C2'H), 4.34 (d, ³J_{H5',H4'} = 4.3 Hz, 1H; C5'Ha), 3.97 – 3.90 (m, 2H; C3'H, C5'Hb), 3.13 (s, 6H; NCH₃), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

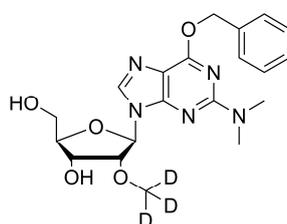
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.5 (C6), 158.5 (C2), 153.4 (C4), 139.3 (C8), 136.8 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.5 (C5), 88.4 (C1'), 80.9 (C2'), 76.8 (C4'), 73.8 (C3'), 67.1 (PhCH₂), 66.8 (C5'), 37.1 (N(CH₃)₂), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2934 (w), 2859 (w), 1615 (s), 1575 (s) 1546 (m), 1473 (w), 1396 (s), 1358 (w), 1326 (w), 1276 (m), 1201 (w), 1140 (s), 1059 (s), 1028 (m), 974 (w), 938 (w), 846 (s), 826 (s), 808 (w), 787 (m), 734 (m), 697 (m), 652 (s), 601 (w) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{D}_3\text{N}_5\text{O}_5\text{Si} + \text{H}]^+$: 559.3138, gef.: 559.3130.

Schmelzpunkt: 71.8 – 74.9 °C.

***d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N,N*-dimethyl-6-*O*-benzylguanosin (**162**)**



Das Guanosin **161** (68 mg, 122 μmol , 1.0 eq.) wurde in THF (2.6 mL) gelöst und mit Triethylamintrihydrofluorid (0.03 mL, 184 μmol , 1.5 eq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt und nach 15 min Kieselgel zugegeben. Der Rückstand wurde nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1 \rightarrow $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1) aufgereinigt und 36 mg (86 μmol , 71%) **162** als farblosen Schaum erhalten.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: R_f = 0.57.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): δ = 8.15 (s, 1H; C8H), 7.50 – 7.47 (m, 2H; ArH), 7.41 – 7.37 (m, 2H; ArH), 7.35 – 7.32 (m, 1H; ArH), 5.93 (d, $^3J_{\text{H1}'\text{H2}'}$ = 5.4 Hz, 1H; C1'H), 5.57 (d, $^2J_{\text{PhCHaHb,PhCHaHb}}$ = 12.2 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.54 (d, $^2J_{\text{PhCHaHb,PhCHaHb}}$ = 12.3 Hz, 1H; PhCHaHb), 5.21 (d, $^3J_{\text{C3'-OH,H3}'}$ = 5.4 Hz, 1H; C3'-OH), 4.99 (t, $^3J_{\text{C5'-OH,H5'a}} = ^3J_{\text{C5'-OH,H5'b}} = 5.4$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.35 – 4.32 (m, 1H; C2'H), 4.32 – 4.29 (m, 1H; C3'H), 3.91 (q, $^3J_{\text{H4}'\text{H3}'}$ = $^3J_{\text{H4}'\text{H5'a}} = ^3J_{\text{H4}'\text{H5'b}} = 4.2$ Hz, 1H; C4'H), 3.65 (ddd, $^2J_{\text{H5'a,H5'b}} = 11.7$, $^3J_{\text{C5'-OH,H5'a}} = 5.3$, $^3J_{\text{H5'a,H4}'}$ = 4.6 Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, $^2J_{\text{H5'b,H5'a}} = 11.8$, $^3J_{\text{C5'-OH,H5'b}} = 5.2$, $^3J_{\text{H5'b,H4}'}$ = 4.5 Hz, 1H; C5'Hb), 3.13 (s, 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

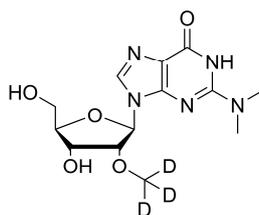
^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 159.4 (C6), 158.4 (C2), 154.1 (C4), 138.5 (C8), 136.9 (Ar), 128.4 (2C; Ar), 128.2 (2C; Ar), 128.0 (Ar), 113.4 (C5), 85.5 (C4'), 85.1 (C1'), 82.1 (C2'), 68.6 (C3'), 67.0 (PhCH₂), 61.2 (C5'), 37.1 (2C; N(CH₃)₂).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3256 (*bw*), 2933 (*w*), 2858 (*w*), 1615 (*s*), 1588 (*w*), 1582 (*s*), 1536 (*m*), 1466 (*w*), 1428 (*w*), 1397 (*s*), 1356 (*m*), 1327 (*w*), 1283 (*m*), 1219 (*m*), 1192 (*w*), 1123 (*m*), 1096 (*w*), 1063 (*s*), 1030 (*m*), 991 (*w*), 967 (*w*), 910 (*w*), 826 (*s*), 801 (*w*), 787 (*s*), 756 (*w*), 725 (*s*), 692 (*m*), 654 (*m*), 628 (*m*) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₀H₂₂D₃N₅O₅ + H]⁺: 419.2117, gef.: 419.2112.

Schmelzpunkt: 144.5 – 147.1 °C.

***d*₃-2'-*O*-Methyl-2-*N,N*-dimethylguanosin (*d*₃-*m*²Gm) (158)**



Eine Lösung des markierten Guanosins **162** (37 mg, 88 μmol , 1.0 eq.) in Ethanol (3.4 mL) wurde mit Palladium auf Aktivkohle (10% Pd, 7 mg) und Cyclohexen (0.33 mL) versetzt und unter Rühren unter Rühren 5 h auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde die Suspension über einen Microfilter filtriert und das Lösemittel *in vacuo* entfernt. HPL chromatographische Aufreinigung lieferte 22 mg (67 μmol , 76%) **158** als farblosen Feststoff.

HPLC-Aufreinigung: Präparative HPLC-Säule (250/32 *Nucleosil*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 25% Puffer B, 45 min, Fluss 15 mL/min; analytische HPLC-Säule (250/4 *Nucleodur*): Puffersystem RP2, Gradient: 0% Puffer B → 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B, 30 min, 3% Puffer B → 15% Puffer B, 45 min, Fluss: 0.5 mL/min, R_t = 89.1 min.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.09.

^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 27 °C): δ = 10.73 (*s*, 1H; NH), 7.99 (*s*, 1H; C8H), 5.83 (*d*, $^3J_{\text{H1}'\text{H2}'} = 5.4$ Hz, 1H; C1'H), 5.22 (*d*, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH,H3}'}$ = 5.5 Hz, 1H; C3'-OH), 5.01 (*t*, $^3J_{\text{C5}'\text{-OH,H5}'\text{a}}$ = $^3J_{\text{C5}'\text{-OH,H5}'\text{b}}$ = 5.4 Hz, 1H; C5'-OH), 4.30 – 4.21 (*m*, 2H; C3'H, C2'H), 3.91 – 3.86 (*m*, 1H;

C4'H), 3.63 (ddd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 11.9$, $^3J_{C5'-OH,H5'a} = 5.5$, $^3J_{H5'a,H4'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.53 (ddd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 11.9$, $^3J_{C5'-OH,H5'b} = 5.3$, $^3J_{H5'b,H4'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.06 (s, 6H; N(CH₃)₂).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 157.3$ (C6), 153.1 (C2), 150.6 (C4), 136.1 (C8), 116.1 (C5), 85.4 (C4'), 84.8 (C1'), 82.5 (C2'), 68.6 (C3'), 61.1 (C5'), 56.8 (OCD₃), 37.8 (2C; N(CH₃)₂).

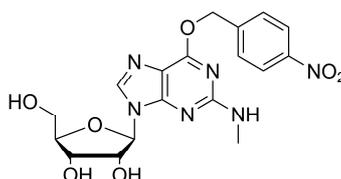
IR: $\tilde{\nu} = 3472$ (w), 3365 (w), 3138 (w), 2935 (w), 1687 (s), 1600 (s), 1535 (m), 1471 (w), 1413 (w), 13891 (w), 1345 (m), 1317 (m), 1207 (w), 1175 (w), 1134 (m), 1110 (w), 1052 (s), 1005 (s), 982 (w), 906 (w), 872 (w), 781 (m), 731 (m), 713 (m), 679 (m), 646 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₃H₁₇D₃N₅O₅ + H]⁺: 329.1647, gef.: 329.1646.

Schmelzpunkt: T > 250 °C (Zersetzung).

4.2.8.15 Synthese von 2'-O-Methyl-2-N-methylguanodin (148) mittels 4-Nitrobenzylschützung

2-N-Methyl-6-O-(4-nitrobenzyl)guanodin (166)



Geschütztes Guanodin **122** (2.05 g, 5.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in Dioxan (30 mL) suspendiert, mit PPh₃ (2.05 g, 7.82 mmol, 1.6 eq.) und 4-Nitrobenzylalkohol (1.15 g, 7.51 mmol, 1.5 eq.) versetzt und für 45 min auf 80 °C erhitzt. Nach Zugabe von DIAD (1.47 mL, 7.42 mmol, 1.5 eq.) bei 75 °C ließ man innerhalb einer Stunde auf 60 °C abkühlen und entfernte anschließend das Lösemittel *in vacuo*. Säulenchromatographische Aufreinigung (Et₂O → Et₂O/CH₂Cl₂ 9:1 → CH₂Cl₂ → CH₂Cl₂/MeOH 50:1) lieferte ein Gemisch aus **165**, PPh₃, OPPh₃ und 4-Nitrobenzylalkohol (2.53 g), das in Aceton (20 mL) gelöst und auf -20 °C gekühlt wurde. Nach Zugabe von HBF₄ (63 mL, 50% in H₂O) wurde eine Lösung aus NaNO₂

(868 mg, 12.58 mmol, 2.5 eq.) in Wasser (12 mL) zugetropft. Man ließ die Suspension auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Präzipitiertes Ph₃PO und PPh₃ wurden abfiltriert, das Filtrat mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und mit festem Na₂CO₃ neutralisiert. Nach dreimaliger Extraktion der wässrigen Phase mit CH₂Cl₂ wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in ethanolischer MeNH₂-Lösung (20 mL) aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Säulenchromatographische Aufreinigung (CH₂Cl₂/MeOH 30:1 → 20:1) nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte 577 mg (1.33 mmol, 27% über zwei Stufen) **166** als bräunlichen Schaum.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.36.

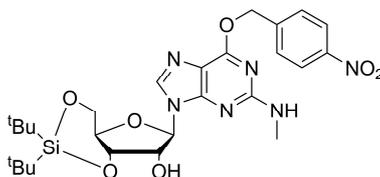
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.27 – 8.23 (m, 2H; ArH), 8.12 (s, 1H; C8H), 7.76 – 7.71 (m, 2H; ArH), 6.93 (d, ³J_{NHCH₃,NHCH₃} = 4.5 Hz, 1H; NH), 5.81 (d, ³J_{H1',H2'} = 6.0 Hz, 1H; C1'H), 5.67 (s, 2H; NO₂PhCH₂), 5.38 (d, ³J_{C2'-OH,H2'} = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.15 (d, ³J_{C3'-OH,H3'} = 4.8 Hz, 1H; C3'-OH), 4.97 (bs, 1H; C5'-OH), 4.60 (bs, 1H; C2'H), 4.15 (dd, ³J_{H3',H4'} = 8.2 Hz, ³J_{H3',C3'-OH} = 4.7 Hz, 1H; C3'), 3.90 (dd, ³J_{H4',H3'} = 7.7, ³J_{H4',H5'a} = 4.2 Hz, 1H; C4'), 3.65 (dt, ²J_{H5'a,H5'b} = 12.0, ³J_{H5'a,H4'} = ³J_{H5'a,C5'-OH} = 4.9 Hz, 1H; C5'Ha), 3.54 (ddd, ²J_{H5'b,H5'a} = 11.8, ³J_{H5'b,C5'-OH} = 5.8, ³J_{H5'b,H4'} = 4.5 Hz, 1H; C5'Hb), 2.80 (d, ³J_{NHCH₃,NHCH₃} = 4.8 Hz, 3H; NCH₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.4 (C6), 159.2 (C2), 154.4 (C4), 147.0 (Ar), 144.8 (Ar), 138.7 (C8), 128.7 (2C; Ar), 123.6 (2C; Ar), 113.8 (C5), 87.0 (C1'), 85.3 (C4'), 73.1 (C2'), 70.6 (C3'), 65.6 (PhCH₂), 61.6 (C5'), 28.3 (NCH₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 3308 (w), 2925 (w), 1689 (w), 1613 (s), 1584 (s), 1557 (m), 1449 (w), 1384 (m), 1342 (s), 1238 (m), 1051 (s), 984 (w), 901 (w), 854 (w), 785 (m), 765 (w), 736 (m), 699 (w), 682 (w), 630 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₈H₂₀N₆O₇ + H]⁺: 433.1466, gef.: 433.1466.

Schmelzpunkt: 157.2 – 161.1 °C.

3',5'-O-Di-*tert*-butylsilyl-2-*N*-methyl-6-*O*-(4-nitro)benzylguanosin (168)

Eine Lösung des Nukleosids **166** (514 mg, 1.19 mmol, 1.0 eq.) in DMF (7 mL) wurde mit Di-*tert*-butylsilylbistrifluormethansulfonat (0.47 mL, 1.44 mmol, 1.2 eq.) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf gesättigte NaHCO₃-Lösung (60 mL) gestürzt und die Suspension mit EtOAc (3 × 40 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1 → 2:1) lieferte 426 mg (0.74 mmol, 63%) **168** als gelben Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.47.

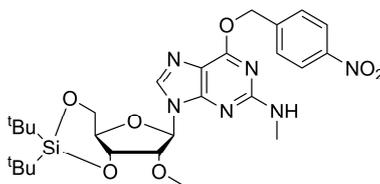
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.26 – 8.23 (m, 2H; ArH), 8.07 (s, 1H; C8H), 7.75 – 7.71 (m, 2H; ArH), 7.00 (s, 1H; NH), 5.81 (d, ³J_{H1',H2'} = 0.7 Hz, 1H; C1'H), 5.70 (d, ³J_{H2'-OH,H2'} = 4.2 Hz, 1H; C2'-OH), 5.65 (s, 2H; NO₂PhCH₂), 4.63 (s, 1H; C2'H), 4.52 (s, 1H; C3'H), 4.36 – 4.31 (m, 1H; C5'Ha), 4.01 – 3.89 (m, 2H; C4'H, C5'Hb), 2.79 (d, ³J_{NHCH₃,NH} = 4.8 Hz, 3H; NHCH₃), 1.05 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.02 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.5 (C6), 159.2 (C2), 153.7 (C4), 147.0 (Ar), 144.6 (Ar), 139.2 (C8), 128.7 (2C; Ar), 123.5 (2C; Ar), 113.8 (C5), 90.3 (C1'), 76.2 (C3'), 73.6 (C4'), 72.1 (C2'), 66.9 (C5'), 65.6 (PhCH₂), 28.2 (NCH₃), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.1 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2932 (w), 2857 (w), 1668 (w), 1615 (m), 1581 (m), 1553 (w), 1521 (m), 1472 (w), 1402 (w), 1386 (w), 1343 (s), 1196 (w), 1128 (m), 1052 (s), 1011 (m), 982 (w), 939 (w), 853 (w), 826 (s), 787 (m), 755 (w), 735 (m), 699 (w), 652 (s) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₆H₃₆N₆O₇Si + H]⁺: 573.2488, gef.: 573.2481.

Schmelzpunkt: 105.9 – 108.6 °C.

2'-O-Methyl-3',5'-O-di-*tert*-butylsilyl-2-N-methyl-6-O-(4-nitro)benzylguanosin (170)

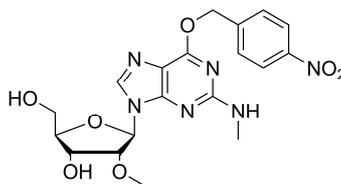
Eine Lösung von des Guanosins **168** (200 mg, 349 μmol , 1.0 eq.) in DMF (4.0 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit NaH (46 mg, 1.15 mmol, 3.3 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt. Dabei wurde ein Farbwechsel der Lösung von gelb nach dunkelgrün beobachtet. Nach 15 min wurde MeI (0.03 mL, 482 μmol , 1.4 eq.) zugegeben und 2 h bei 0 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH_4Cl -Lösung (0.5 mL) gestoppt, 15 min bei 0 °C gerührt und anschließend auf Wasser (40 mL) gestürzt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc (3 \times 30 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1) lieferte ein Gemisch aus **170** mit an N-2 zweifach methyliertem Produkt (28 mg).

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: $R_f = 0.57$.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 8.27 - 8.24$ (m, 2H; ArH), 8.08 (s, 1H; C8H), 7.75 – 7.72 (m, 2H; ArH), 7.04 (bs, 1H; NH), 5.90 (s, 1H; C1'H), 5.65 (s, 2H; NO_2PhCH_2), 4.64 (s, 1H; C4'H), 4.39 – 4.30 (m, 2H; C2'H, C5'Ha), 3.99 – 3.91 (m, 2H; C3'H, C5'Hb), 3.53 (s, 3H; OCH_3), 2.79 (d, $^3J_{\text{NHCH}_3, \text{NH}} = 4.8$ Hz, 3H; NHCH_3), 1.05 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.01 (s, 9H; $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$).

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_7\text{Si} + \text{H}]^+$: 587.2644, gef.: 587.2636.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet. Auf die Aufnahme eines $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrums wurde aufgrund des verfügbaren Materials verzichtet.

2'-*O*-Methyl-2-*N*-methyl-6-*O*-(4-nitro)benzylguanosin (171)

Das Nucleosidgemisch (27 mg) wurde in THF (1.0 mL) gelöst, mit Et₃N·3 HF (0.02 mL) versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methoxytrimethylsilan (1 mL) gestoppt, 15 min bei Raumtemperatur gerührt und mit Kieselgel versetzt. Nach Entfernen des Lösemittels unter vermindertem Druck wurde der Rückstand säulenchromatographisch (Isohexan/EtOAc 2:1 → CH₂Cl₂/MeOH 30:1) aufgereinigt. Es wurde **171** im Gemisch (8 mg) mit an *N*-2-dimethyliertem Produkt erhalten.

DC [CH₂Cl₂/MeOH (10:1)]: R_f = 0.45.

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 8.27 – 8.22 (m, 2H; ArH), 8.13 (s, 1H; C8H), 7.78 – 7.73 (m, 2H; ArH), 6.02 (d, ³J_{H1',H2'} = 5.0 Hz, 1H; C1'H), 5.69 (s, 2H; NO₂PhCH₂), 4.48 (t, ³J_{H3',H2'} = ³J_{H3',H4'} = 4.7 Hz, 1H; C3'H), 4.40 (t, ³J_{H2',H1'} = ³J_{H2',H3'} = 5.1 Hz, 1H; C2'H), 4.10 – 4.07 (m, 1H; C4'H), 3.88 (dd, ²J_{H5'a,H5'b} = 12.3, ³J_{H5'b,H4'} = 2.9 Hz, 1H; C5'Ha), 3.76 (dd, ²J_{H5'b,H5'a} = 12.3, ³J_{H5'b,H4'} = 3.4 Hz, 1H; C5'Hb), 3.48 (s, 3H; OCH₃), 2.93 (s, 3H; NCH₃).

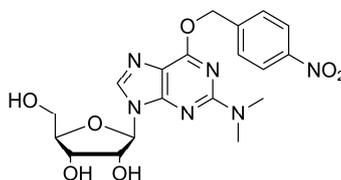
¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD, 27 °C): δ = 161.4 (C6), 161.2 (C2), 155.0 (C4), 149.0 (Ar), 145.9 (Ar), 140.0 (C8), 129.6 (2C; Ar), 124.6 (2C; Ar), 115.2 (C5), 88.5 (C1'), 87.2 (C4'), 84.4 (C2'), 70.6 (C3'), 67.4 (PhCH₂), 62.8 (C5'), 58.8 (OCH₃), 28.9 (NCH₃).

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₁₉H₂₂N₆O₇ + H]⁺: 447.1623, gef.: 447.1618.

Aufgrund des erhaltenen untrennbaren Produktgemischs wurde auf die Aufnahme eines IR-Spektrums und Schmelzpunkts verzichtet.

4.2.8.16 Synthese von 2'-O-Methyl-2-N,N-dimethylguanosin (147) mittels 4-Nitrobenzylschützung

2-N,N-Dimethyl-6-O-(4-nitrobenzyl)guanosin (167)



Geschütztes Guanosin **122** (2.05 g, 5.00 mmol, 1.0 eq.) wurde in Dioxan (30 mL) suspendiert, mit PPh_3 (2.05 g, 7.82 mmol, 1.56 eq.) und 4-Nitrobenzylalkohol (1.15 g, 7.51 mmol, 1.50 eq.) versetzt und für 45 min auf 80 °C erhitzt. Nach Zugabe von DIAD (1.47 mL, 7.42 mmol, 1.48 eq.) bei 75 °C ließ man innerhalb einer Stunde auf 60 °C abkühlen und entfernte anschließend das Lösemittel *in vacuo*. Säulenchromatographische Aufreinigung ($\text{Et}_2\text{O} \rightarrow \text{Et}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 9:1 $\rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1) lieferte ein Gemisch aus **165**, PPh_3 , OPPh_3 und 4-Nitrobenzylalkohol (3.58 g), das in Aceton (20 mL) gelöst und auf –20 °C gekühlt wurde. Nach Zugabe von HBF_4 (63 mL, 50% in H_2O) wurde eine Lösung aus NaNO_2 (875 mg) in Wasser (12 mL) zugetropft. Man ließ die Suspension auf 0 °C aufwärmen und rührte weitere 3 h bei Raumtemperatur. Präzipitiertes Ph_3PO und PPh_3 wurden abfiltriert, das Filtrat mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung verdünnt und mit festem Na_2CO_3 neutralisiert. Nach deimaliger Extraktion der wässrigen Phase mit CH_2Cl_2 wurde die organische Phase über MgSO_4 getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung in ethanolischer Me_2NH -Lösung (15 mL, 33% in EtOH) aufgenommen. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde wässrige Me_2NH -Lösung (10 mL) zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Ethanol suspendiert und mit Kieselgel versetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1 \rightarrow 20:1) nach Entfernen des Lösemittels *in vacuo* lieferte 657 mg (1.47 mmol, 29% über zwei Stufen) **167** als gelben Schaum.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.41$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , 27 °C): $\delta = 8.27 - 8.23$ (m, 2H; ArH), 8.15 (s, 1H; C8H), 7.74 – 7.70 (m, 2H; ArH), 5.82 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'}$ = 5.9 Hz, 1H; C1'H), 5.70 (s, 2H; NO_2PhCH_2), 5.38 (d, $^3J_{\text{H2}'\text{-OH},\text{H2}'}$ = 6.1 Hz, 1H; C2'-OH), 5.16 (d, $^3J_{\text{C3}'\text{-OH},\text{H3}'}$ = 4.9 Hz, 1H; C3'-OH), 4.91 (t,

$^3J_{C5'-OH,H5'a} = ^3J_{C5'-OH,H5'b} = 5.6$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.63 (q, $^3J_{H2',H1'} = ^3J_{H2',C2'-OH} = ^3J_{H2',H3'} = 5.7$ Hz, 1H; C2'H), 4.16 (dd, $^3J_{H3',H4'} = 8.6$, $^3J_{H3',C3'-OH} = 4.9$ Hz, 1H; C3'), 3.90 (dd, $^3J_{H4',H3'} = 8.1$, $^3J_{H4',H5'a} = 4.4$ Hz, 1H; C4'H), 3.67 – 3.60 (m, 1H; C5Ha), 3.57 – 3.50 (m, 1H; C5Hb), 3.08 (s, 6H; N(CH₃)₂).

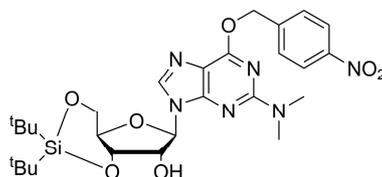
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): $\delta = 158.9$ (C6), 158.3 (C2), 154.5 (C4), 146.9 (Ar), 145.0 (Ar), 139.2 (C8), 128.4 (2C; Ar), 123.6 (2C; Ar), 113.3 (C5), 87.1 (C1'), 85.2 (C4'), 73.0 (C2'), 70.5 (C3'), 65.8 (NO₂PhCH₂), 61.6 (C5'), 37.1 (N(CH₃)₂).

IR: $\tilde{\nu} = 3254$ (bw), 2912 (w), 1684 (w), 1616 (m), 1570 (m), 1520 (m), 1435 (w), 1395 (m), 1342 (m), 1275 (w), 1254 (w), 1199 (m), 1094 (s), 1058 (m), 1042 (m), 1026 (m), 978 (m), 933 (w), 909 (w), 859 (w), 846 (m), 826 (w), 789 (m), 783 (s), 764 (w), 751 (w), 739 (m), 732 (m) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für [C₁₉H₂₂N₆O₇ + H]⁺: 447.1623, gef.: 447.1623.

Schmelzpunkt: 185.0 – 189.2 °C.

3',5'-O-Di-*tert*-butylsilyl-2-*N,N*-dimethyl-6-*O*-(4-nitro)benzylguanosin (**169**)



Eine Suspension des Guanosins **167** (618 mg, 1.38 mmol, 1.0 eq.) in DMF (15 mL) wurde mit Di-*tert*-butylsilylbistrifluormethansulfonat (0.48 mL, 1.47 mmol, 1.1 eq.) versetzt und 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde auf gesättigte NaHCO₃-Lösung gestürzt und die Suspension mit EtOAc (3 × 60 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und von Lösemittel *in vacuo* befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 6:1 → 2:1) lieferte 616 mg (1.05 mmol, 76%) **169** als gelben Schaum.

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: $R_f = 0.47$.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.27 – 8.23 (m, 2H; ArH), 8.10 (s, 1H; C8H), 7.75 – 7.70 (m, 2H; ArH), 5.81 (d, $^3J_{H1',H2'} = 0.8$ Hz, 1H; C1'H), 5.72 – 5.68 (m, 3H; C2'-OH, NO₂PhCH₂), 4.69 (t, $^3J_{H2',H1'} = ^3J_{H2',H3'} = 4.7$ Hz, 1H; C2'H), 4.53 (dd, $^3J_{H3',H4'} = 9.1$, $^3J_{H3',H2'} = 5.1$ Hz, 1H; C3'H), 4.33 (dd, $^2J_{H5'a,H5'b} = 8.4$, $^3J_{H5'a,H4'} = 4.3$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.95 (dd, $^3J_{H4',H3'} = 9.1$, $^3J_{H4',H5'a} = 4.3$ Hz, 1H; C4'H), 3.89 (dd, $^2J_{H5'b,H5'a} = 10.5$, $^3J_{H5'b,H4'} = 8.6$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.08 (s, 6H; N(CH₃)₂), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.02 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), .

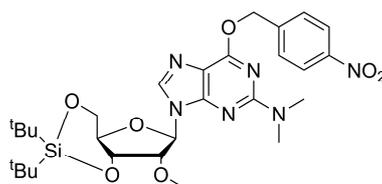
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.1 (C6), 158.3 (C2), 153.7 (C4), 147.0 (Ar), 145.0 (Ar), 140.0 (C8), 128.5 (2C; Ar), 123.6 (2C; Ar), 113.4 (C5), 90.6 (C1'), 76.3 (C3'), 73.6 (C4'), 71.9 (C2'), 66.9 (C5'), 65.9 (NO₂PhCH₂), 37.1 (2C; N(CH₃)₂), 27.2 (3C; SiC(CH₃)₃), 27.0 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.1 (SiC(CH₃)₃), 20.1 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2933 (w), 2858 (w), 1618 (m), 1575 (s), 1547 (w), 1522 (m), 1472 (w), 1443 (w), 1396 (s), 1343 (s), 1272 (w), 1192 (w), 1127 (s), 1055 (vs), 1010 (m), 980 (w), 939 (w), 853 (m), 826 (vs), 798 (w), 786 (m), 749 (w), 735 (s), 698 (w), 652 (s) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₇H₄₀N₆O₇Si + H]⁺: 587.2644, gef.: 587.2636.

Schmelzpunkt: 109.1 – 114.7 °C.

2'-*O*-Methyl-3',5'-di-*tert*-butylsilyl-2-*N,N*-dimethyl-6-*O*-(4-nitro)benzylguanosin (172)



Eine Lösung des Nukleosids **169** (301 mg, 513 μ mol, 1.0 eq.) in DMF (6.0 mL) wurde auf 0 °C gekühlt und mit NaH (32 mg, 0.08 mmol, 1.6 eq., 60%ig als Öldispersion) versetzt. Dabei wurde ein Farbwechsel der Lösung von gelb nach dunkelgrün beobachtet. Nach 15 min wurde MeI (0.04 mL, 643 μ mol, 1.3 eq.) zugegeben und 2 h bei 0 °C gerührt. Es wurden erneut NaH (38 mg, 0.95 mmol, 1.9 eq., 60%ig als Öldispersion) und MeI (0.04 mL, 643 μ mol, 1.3 eq.) zugegeben und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter NH₄Cl-Lösung (0.5 mL) gestoppt, 10 min gerührt und anschließend auf Wasser (50 mL) gestürzt. Die wässrige Suspension wurde mit EtOAc

(3 × 30 mL) extrahiert, die vereinten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und *in vacuo* von Lösemittel befreit. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 4:1) lieferte 131 mg (218 μmol, 43%) **172**.

DC [Isohexan/EtOAc (1:3)]: R_f = 0.63.

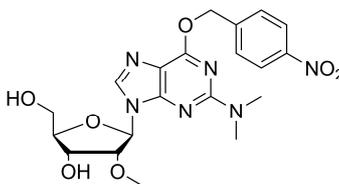
¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 8.26 – 8.23 (m, 2H; ArH), 8.10 (s, 1H; C8H), 7.74 – 7.71 (m, 2H; ArH), 5.91 (d, ³J_{H1',H2'} = 1.0 Hz, 1H; C1'H), 5.71 (d, ²J_{NO₂PhCHaHb,NO₂PhCHaHb} = 13.4 Hz, 1H; NO₂PhCHaHb), 5.68 (d, ²J_{NO₂PhCHaHb,NO₂PhCHaHb} = 13.6 Hz, 1H; NO₂PhCHaHb), 4.64 – 4.61 (m, 1H; C3'H), 4.38 (dd, ³J_{H2',H3'} = 5.1, ³J_{H2',H1'} = 0.8 Hz, 1H; C2'H), 4.35 – 4.34 (m, 1H; C5'Ha), 3.97 – 3.92 (m, 2H; C4'H, C5'Hb), 3.52 (s, 3H; OCH₃), 3.08 (s, 6H; N(CH₃)₂), 1.04 (s, 9H; SiC(CH₃)₃), 1.01 (s, 9H; SiC(CH₃)₃).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, 27 °C): δ = 159.1 (C6), 158.3 (C2), 153.5 (C4), 147.0 (Ar), 144.9 (Ar), 139.5 (C8), 128.4 (2C; Ar), 123.6 (2C; Ar), 113.4 (C5), 88.4 (C1'), 81.0 (C2'), 76.8 (C3'), 73.8 (C4'), 66.7 (C5'), 65.9 (NO₂PhCH₂), 58.3 (OCH₃), 37.1 (2C; N(CH₃)₂), 27.1 (3C; SiC(CH₃)₃), 26.9 (3C; SiC(CH₃)₃), 22.0 (SiC(CH₃)₃), 20.0 (SiC(CH₃)₃).

IR: $\tilde{\nu}$ = 2934 (w), 2860 (w), 1617 (m), 1581 (m), 1549 (w), 1522 (m), 1475 (w), 1439 (w), 1394 (s), 1342 (s), 1288 (w), 1258 (w), 1203 (w), 1142 (s), 1110 (w), 1063 (s), 1039 (w), 1023 (w), 1010 (w), 953 (w), 908 (w), 845 (m), 825 (s), 811 (w), 784 (m), 754 (w), 747 (w), 731 (s), 690 (w), 652 (s) cm⁻¹.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: ber. für [C₂₈H₄₀N₆O₇Si + H]⁺: 601.2801, gef.: 601.2792.

Schmelzpunkt: 153.0 – 157.6 °C.

2'-O-Methyl-2-N,N-dimethyl-6-O-(4-nitro)benzylguanosin (173)

Das Guanosinderivat **172** (117 mg, 191 μmol , 1.0 eq.) wurde in THF (4 mL) gelöst und mit Triethylamintrihydrofluorid (0.06 mL, 368 μmol , 1.9 eq.) versetzt. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktion mit Methoxytrimethylsilan (1.0 mL) gestoppt, Kieselgel zugegeben und *in vacuo* das Lösemittel entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Isohexan/EtOAc 2:1 \rightarrow $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30:1) lieferte 75 mg (163 μmol , 85%) **173** als farblosen Schaum.

DC [$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10:1)]: $R_f = 0.47$.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 8.27 - 8.23$ (m, 2H; ArH), 8.19 (s, 1H; C8H), 7.76 – 7.71 (m, 2H; ArH), 5.93 (d, $^3J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 5.3$ Hz, 1H; C1'H), 5.72 (d, $^2J_{\text{NO}_2\text{PhCHaHb},\text{NO}_2\text{PhCHaHb}} = 13.8$ Hz, 1H; $\text{NO}_2\text{PhCHaHb}$), 5.68 (d, $^2J_{\text{NO}_2\text{PhCHaHb},\text{NO}_2\text{PhCHaHb}} = 13.6$ Hz, 1H; $\text{NO}_2\text{PhCHaHb}$), 5.22 (d, $^3J_{\text{C3'-OH},\text{H3}'} = 5.3$ Hz, 1H; C3'-OH), 4.99 (t, $^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'a}} = ^3J_{\text{C5'-OH},\text{H5'b}} = 5.5$ Hz, 1H; C5'-OH), 4.34 (dd, $^3J_{\text{H2}',\text{H3}'} = 10.7$, $^3J_{\text{H2}',\text{H1}'} = 5.4$ Hz, 1H; C2'H), 4.34 – 4.29 (m, 1H; C3'H), 3.91 (q, $^3J_{\text{H4}',\text{H3}'} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5'a}} = ^3J_{\text{H4}',\text{H5'b}} = 4.2$ Hz, 1H; C4'H), 3.65 (ddd, $^2J_{\text{H5'a},\text{H5'b}} = 11.8$, $^3J_{\text{H5'a},\text{C5'-OH}} = 5.4$, $^3J_{\text{H5'a},\text{H4}'} = 4.5$ Hz, 1H; C5'Ha), 3.55 (ddd, $^2J_{\text{H5'b},\text{H5'a}} = 11.8$, $^3J_{\text{H5'b},\text{C5'-OH}} = 5.4$, $^3J_{\text{H5'b},\text{H4}'} = 4.4$ Hz, 1H; C5'Hb), 3.34 (s, 3H; OCH_3), 3.09 (s, 6H; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

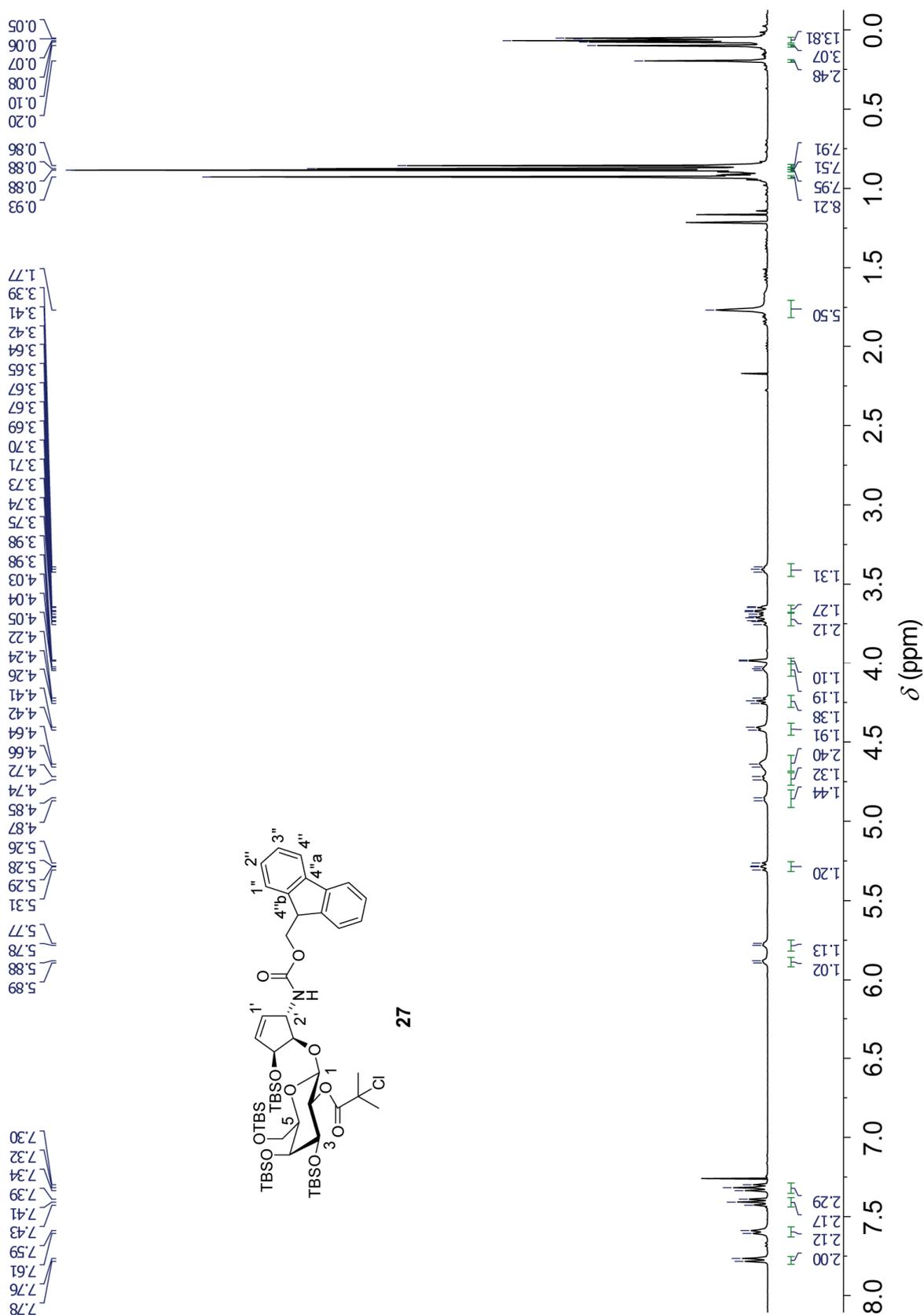
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , 27 $^\circ\text{C}$): $\delta = 159.0$ (C6), 158.3 (C2), 154.2 (C4), 147.0 (Ar), 145.0 (Ar), 138.8 (C8), 128.4 (2C; Ar), 123.6 (2C; Ar), 113.3 (C5), 85.5 (C4'), 85.1 (C1'), 82.2 (C2'), 68.6 (C3'), 65.8 (NO_2PhCH_2), 61.2 (C5'), 57.5 (OCH_3), 37.1 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

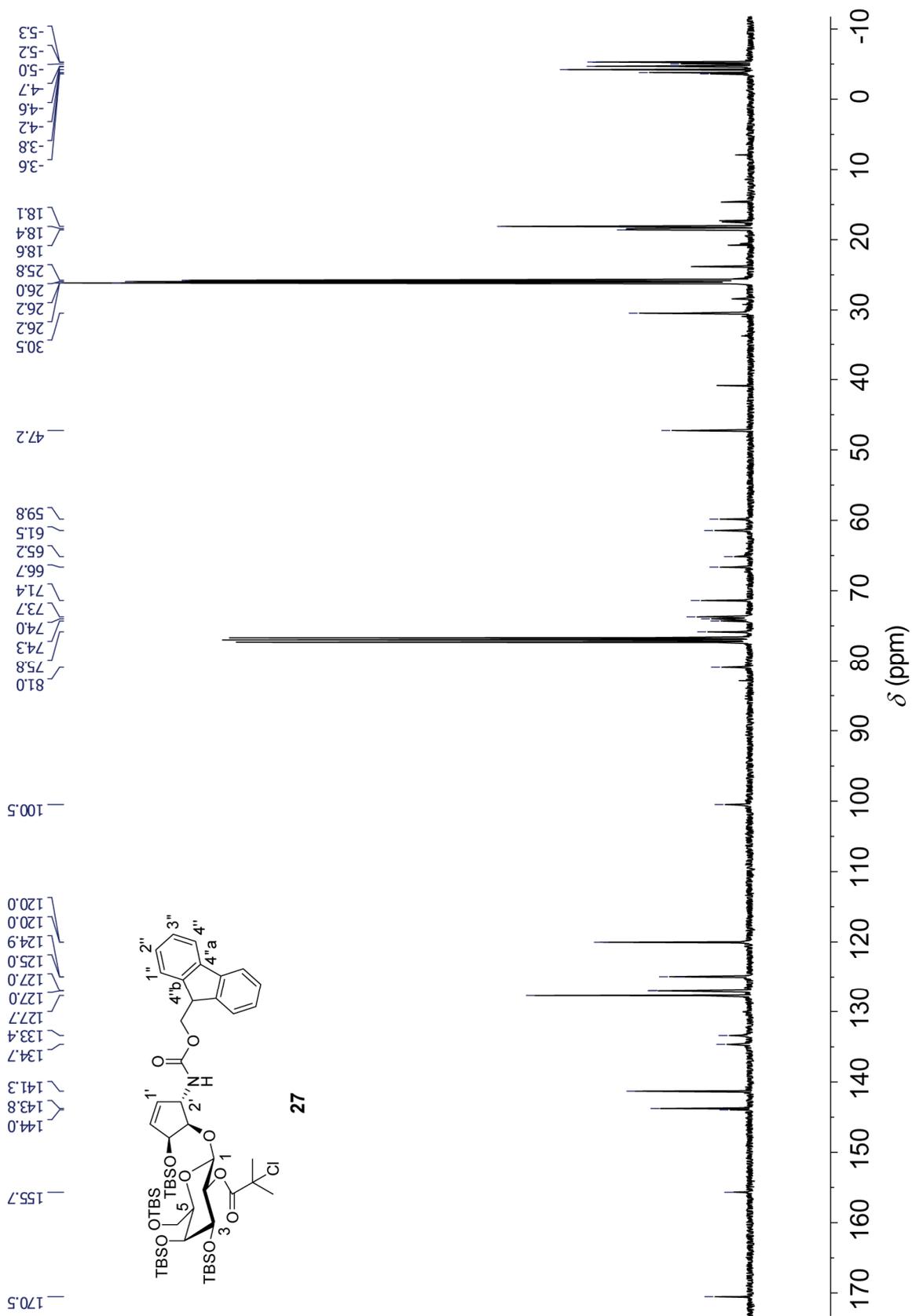
IR: $\tilde{\nu} = 3256$ (bw), 2932 (w), 2858 (w), 1618 (m), 1584 (s), 1540 (w), 1524 (w), 1479 (w), 1430 (w), 1418 (w), 1399 (m), 1343 (s), 1324 (w), 1284 (s), 1259 (m), 1220 (w), 1193 (m), 1146 (w), 1122 (m), 1093 (w), 1080 (w), 1039 (w), 1064 (s), 1034 (m), 958 (w), 909 (w), 877 (w), 847 (m), 823 (m), 785 (m), 756 (w), 734 (m), 678 (w), 623 (m) cm^{-1} .

HRMS (ESI⁺) m/z : ber. für $[\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{D}_3\text{N}_6\text{O}_7 + \text{H}]^+$: 461.1779, gef.: 461.1775.

Schmelzpunkt: 231.3 – 232.2 $^\circ\text{C}$ (Zersetzung).

5 Spektrenverzeichnis wichtiger Verbindungen

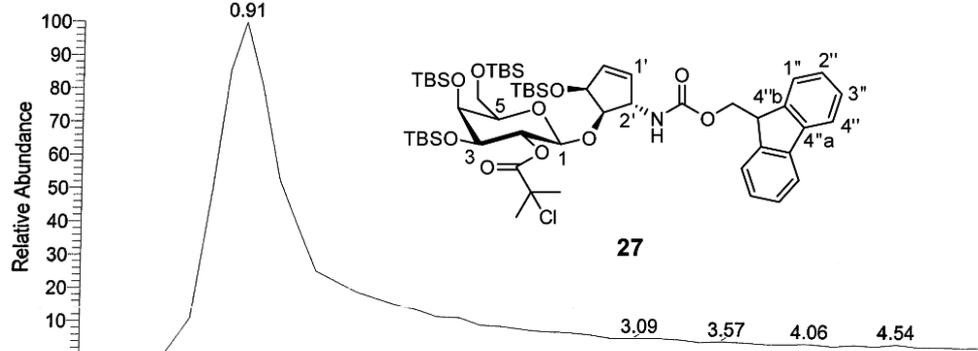




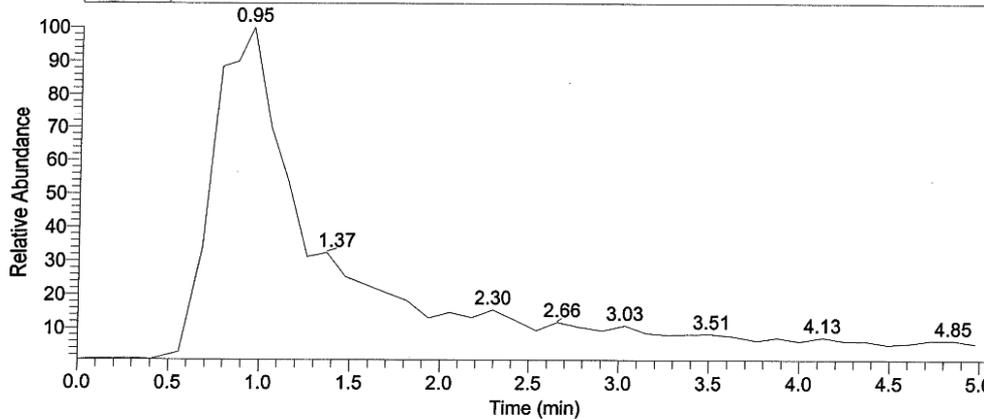
Probenbezeichnung: C:\Data\07-pt207-511
 Auftraggeber: Thumbs, Carell
 RT: 0.00 - 5.08

Probe: 1061, c54h90clno10si4, fest, Aceton
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 1.000000
 Zeit:

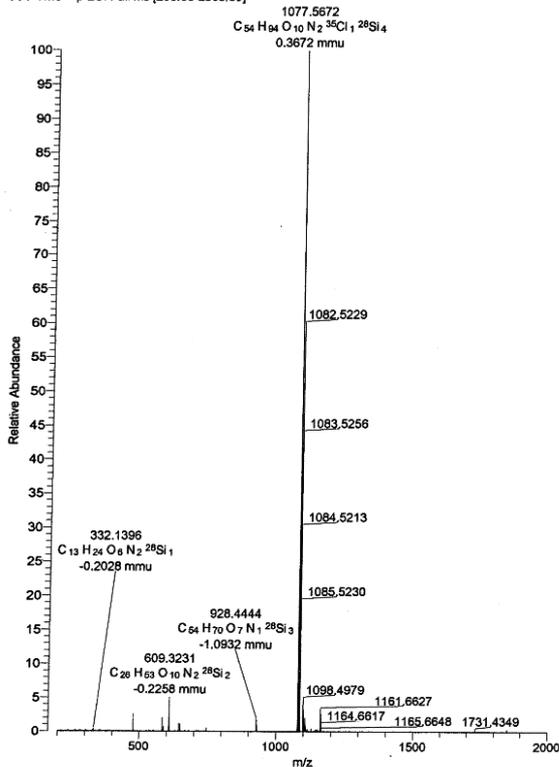


NL:
 6.44E6
 TIC F: FTMS -
 p ESI Full ms
 [200.00-
 2000.00] MS
 07-pt207-511

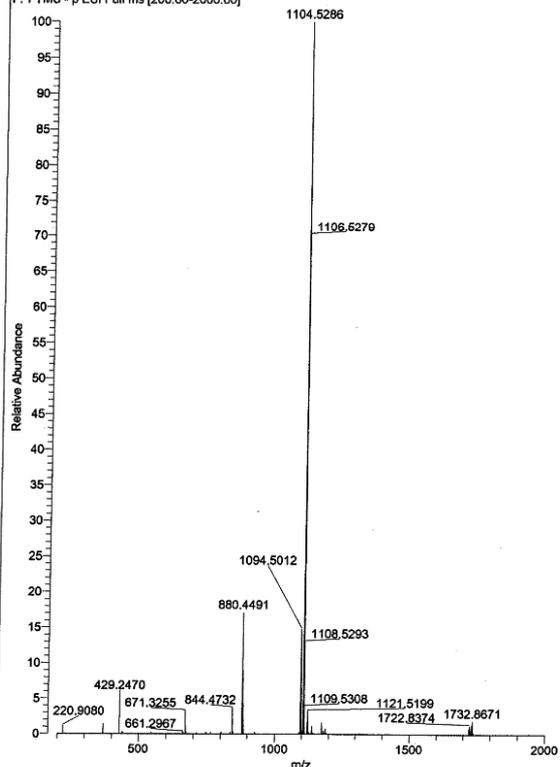


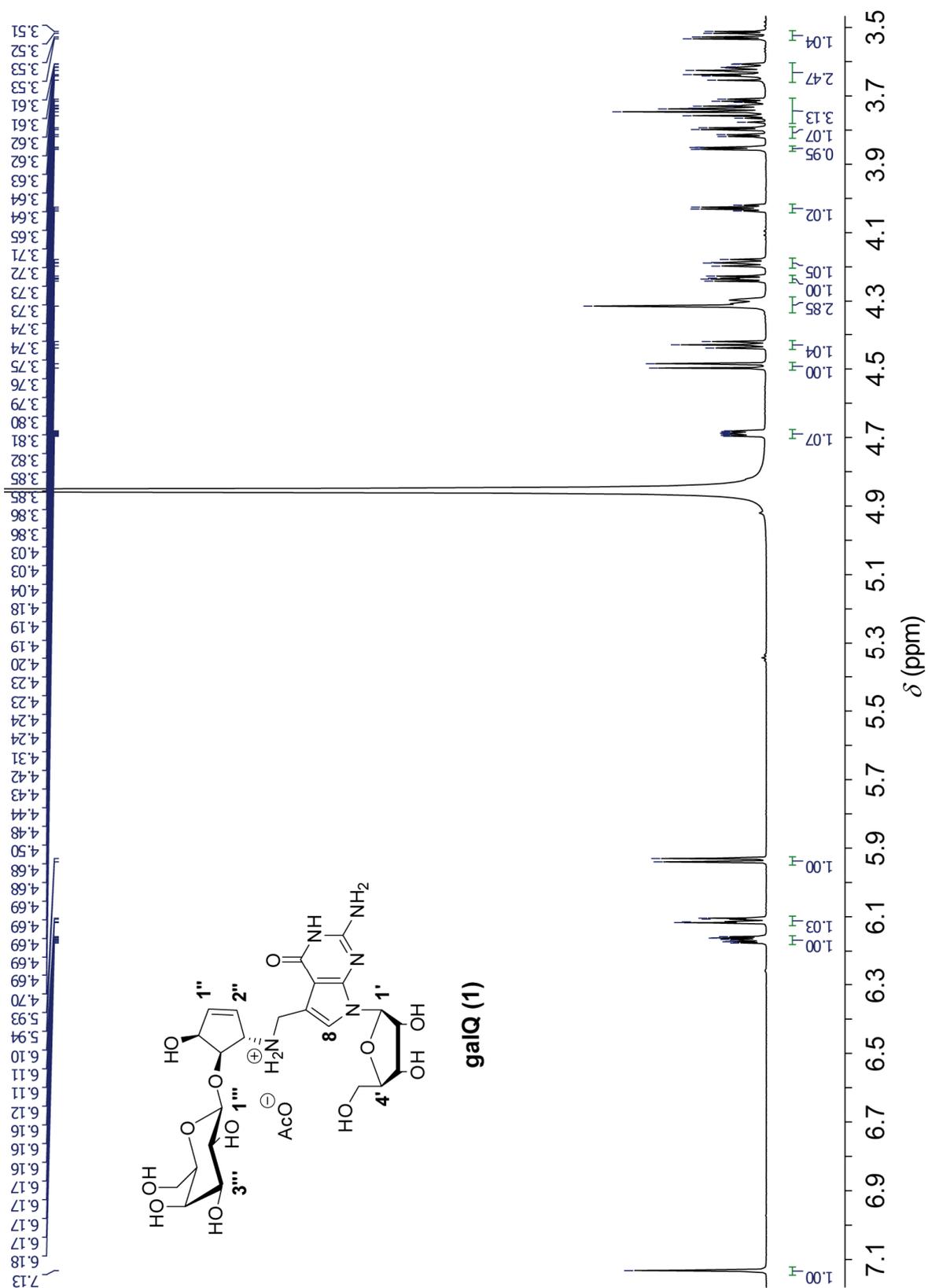
NL:
 6.28E6
 TIC F: FTMS +
 p ESI Full ms
 [200.00-
 2000.00] MS
 07-pt207-511

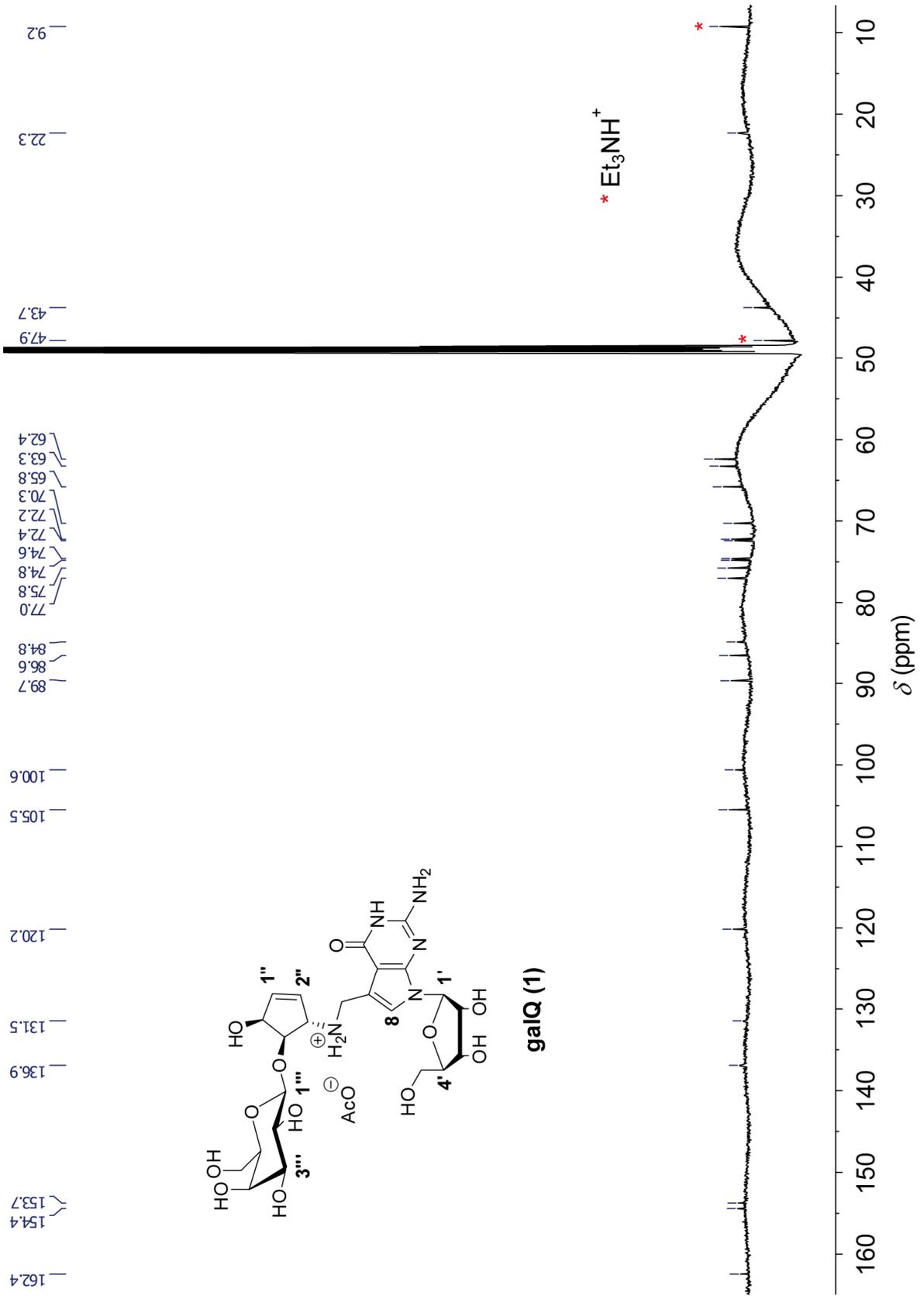
07-pt207-511 #22-104 RT: 0.68-1.81 AV: 12 NL: 5.59E5
 F: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]



07-pt207-511 #26-70 RT: 0.73-1.20 AV: 6 NL: 7.93E5
 F: FTMS - p ESI Full ms [200.00-2000.00]



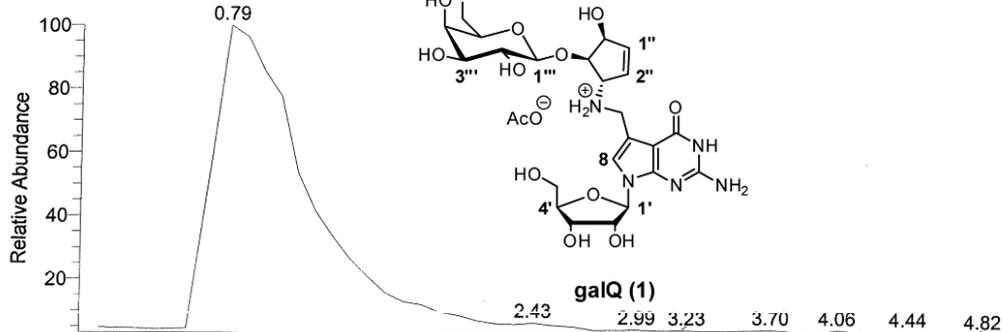




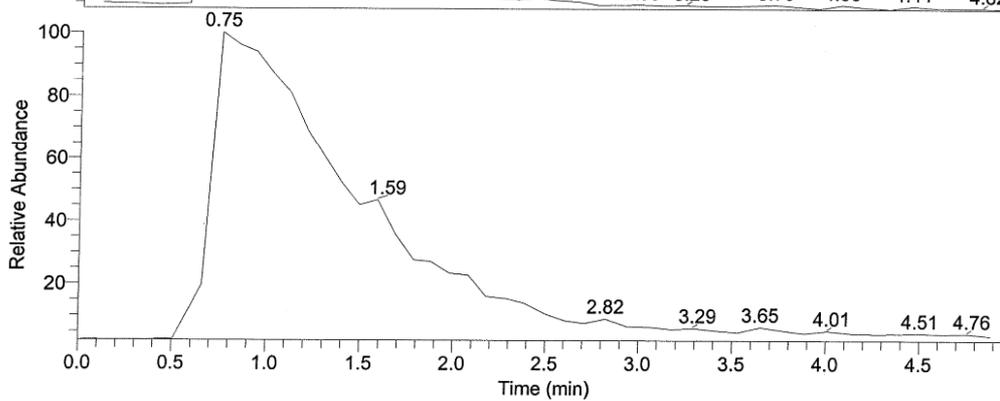
Probenbezeichnung: C:\Data\11-pt225nach14dH2O
 Auftraggeber: Thumbs, Carell
 RT: 0.00 - 5.00

Probe: 571, c23h33n5o12, geloest, Wasser
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 1.000000
 Zeit:

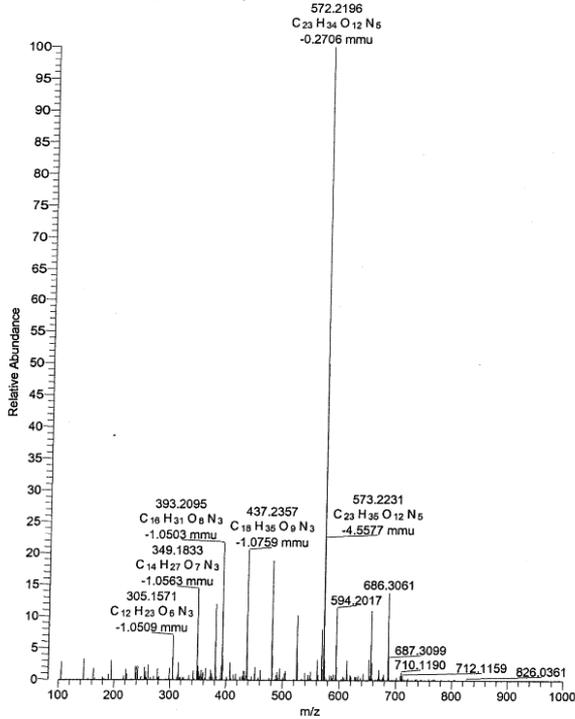


NL:
 6.13E6
 TIC F: FTMS - p
 ESI Full ms
 [100.00-1000.00]
 MS
 11-
 pt225nach14dH2
 O

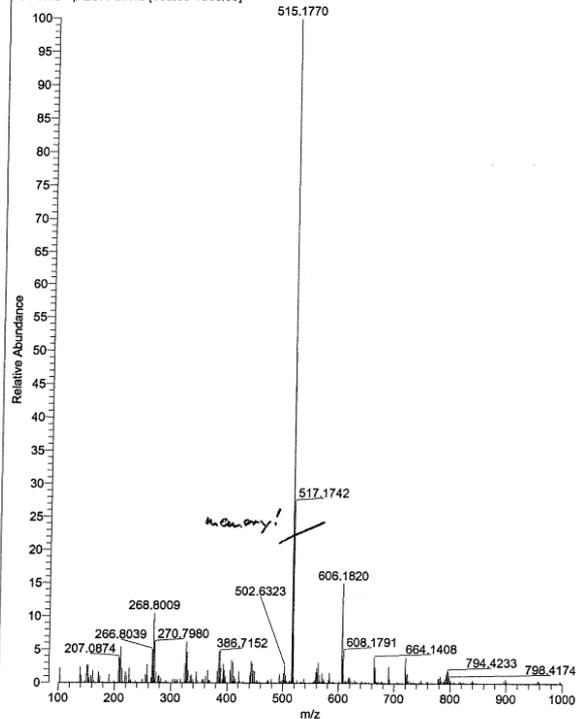


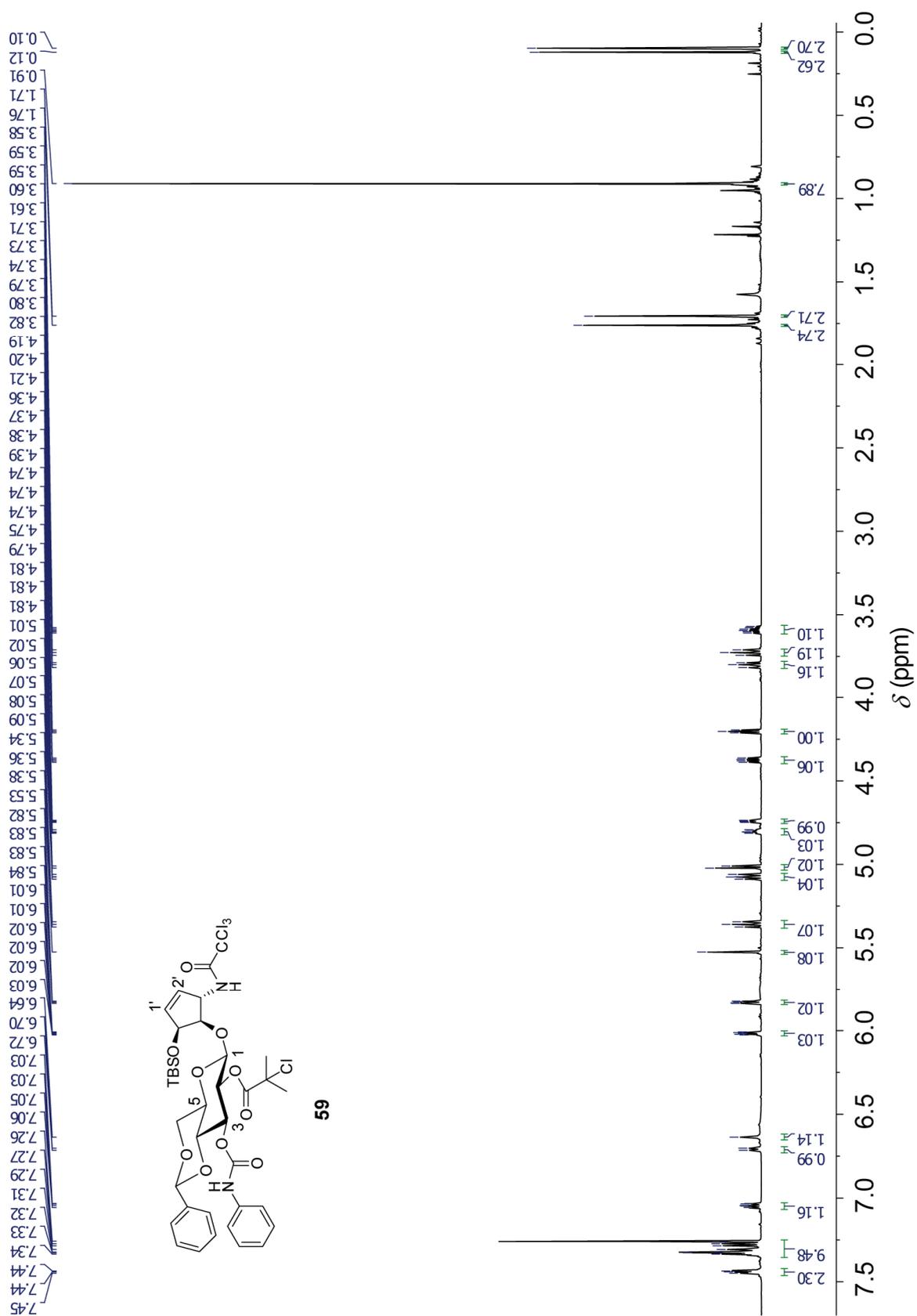
NL:
 1.05E7
 TIC F: FTMS + p
 ESI Full ms
 [100.00-1000.00]
 MS
 11-
 pt225nach14dH2
 O

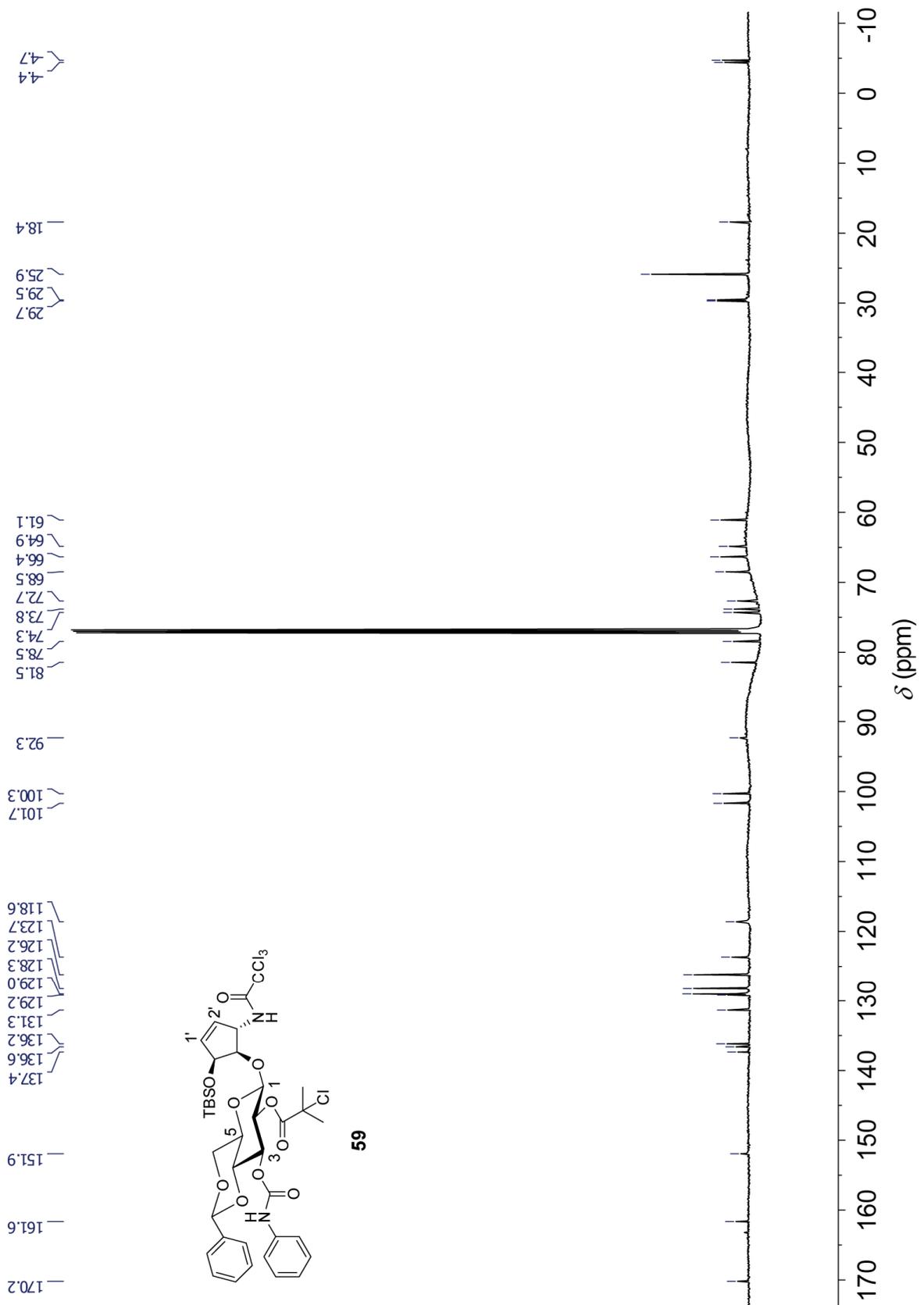
11-pt225nach14dH2O #31-149 RT: 0.66-2.08 AV: 16 NL: 2.63E6
 F: FTMS + p ESI Full ms [100.00-1000.00]



11-pt225nach14dH2O #28-105 RT: 0.70-1.44 AV: 9 NL: 1.81E6
 F: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]



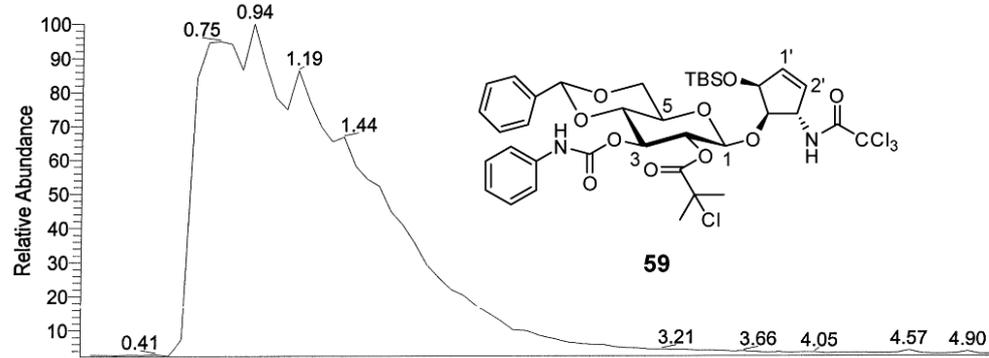




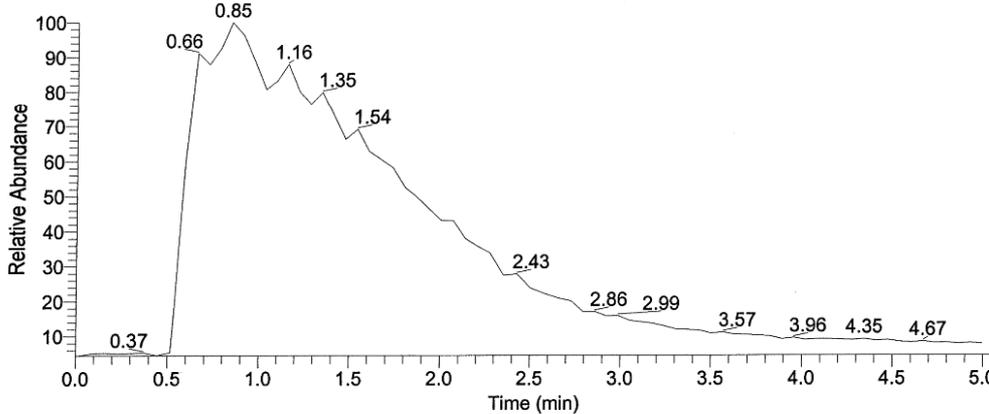
Probenbezeichnung: C:\Data\09-pt277-719
 Auftraggeber: Thumbs, Carell
 RT: 0.00 - 5.05

Probe: 848, c37h46cl4n2o10si, fest, Aceton
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 1.000000
 Zeit:

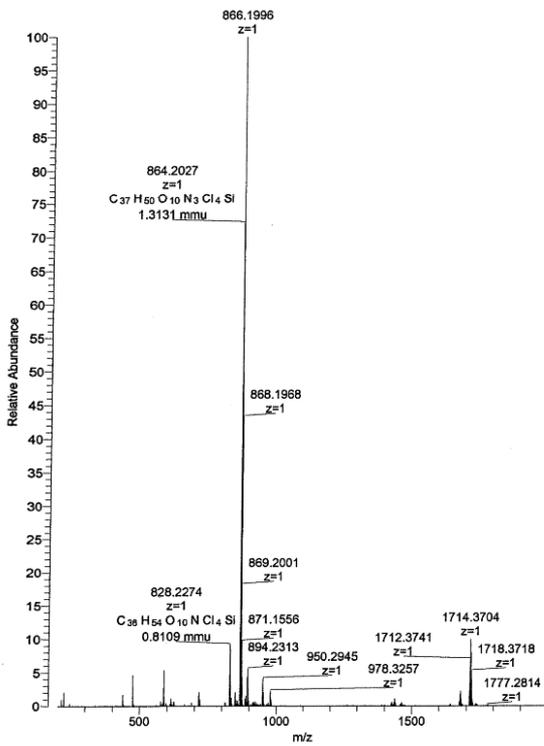


NL:
 1.13E7
 TIC F: FTMS -
 p ESI Full ms
 [200.00-
 2000.00] MS
 09-pt277-719

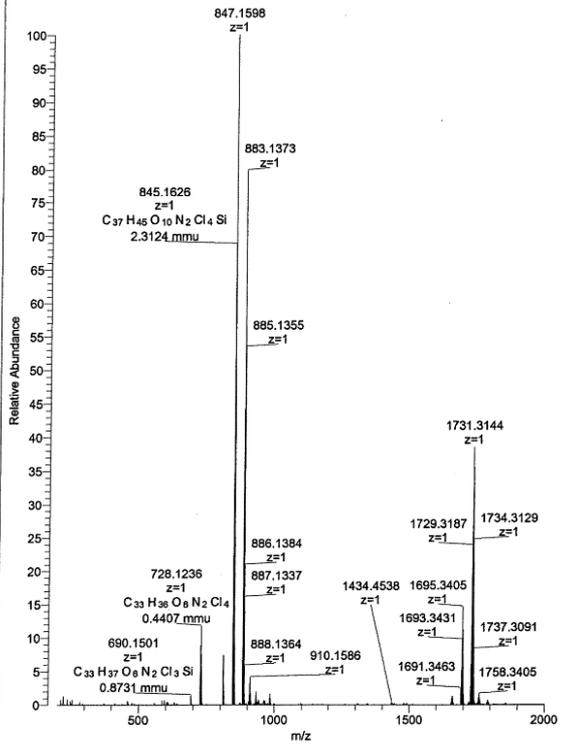


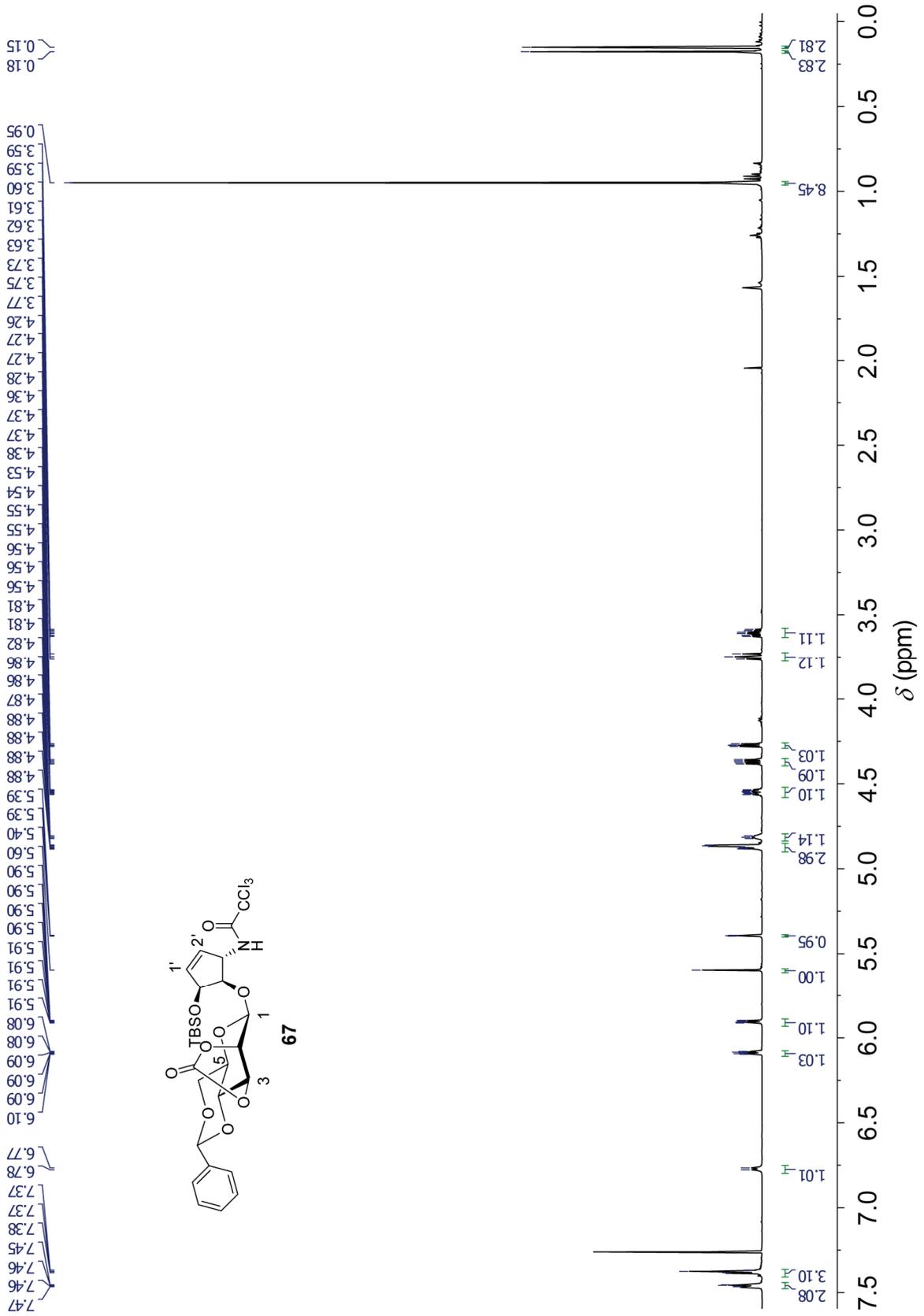
NL:
 1.20E7
 TIC F: FTMS +
 p ESI Full ms
 [200.00-
 2000.00] MS
 09-pt277-719

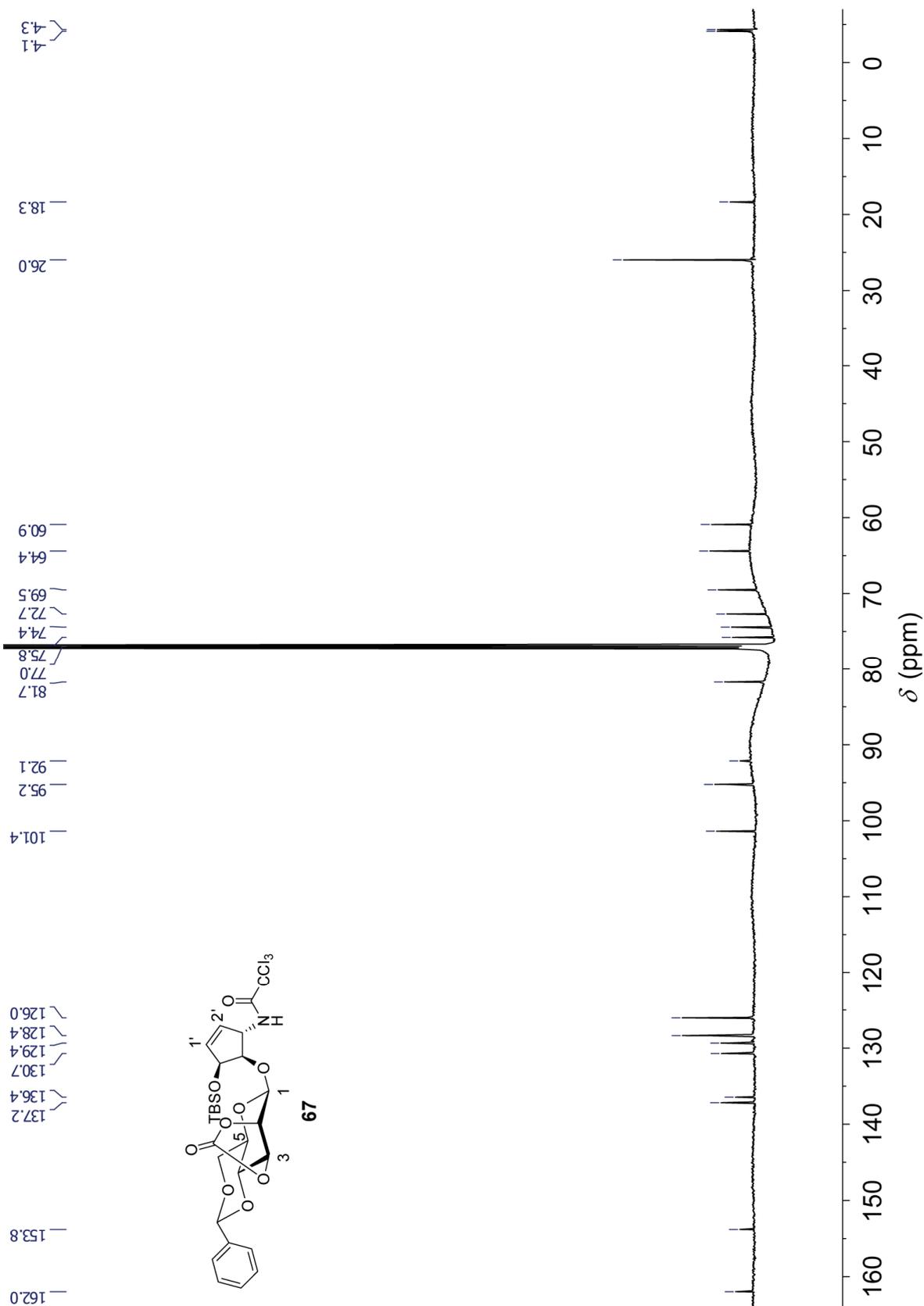
09-pt277-719 #58-186 RT: 0.69-1.74 AV: 19 NL: 1.08E6
 F: FTMS + p ESI Full ms [200.00-2000.00]



09-pt277-719 #66-251 RT: 0.69-2.39 AV: 27 NL: 4.54E5
 F: FTMS - p ESI Full ms [200.00-2000.00]





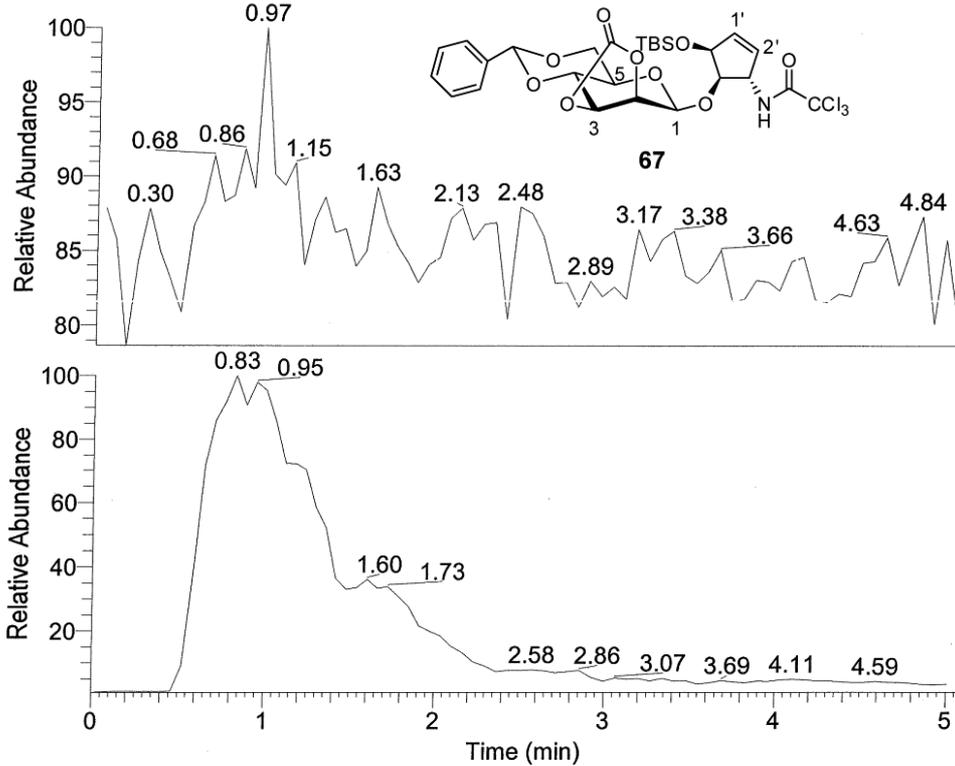


Probenbezeichnung: C:\Data\03-pt283-799
 Auftraggeber: Thumbs, Carell

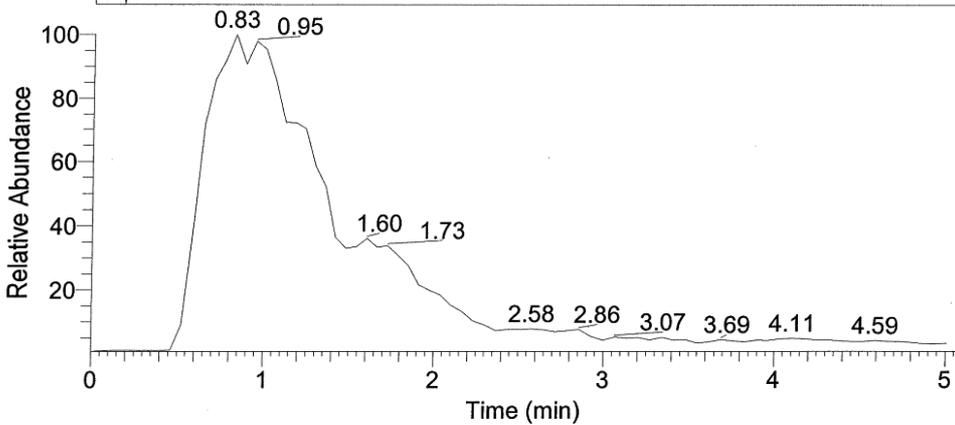
Probe: 651, c27h34cl3no9si, fest, Aceton
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 1.000000
 Zeit:

RT: 0.00 - 5.07

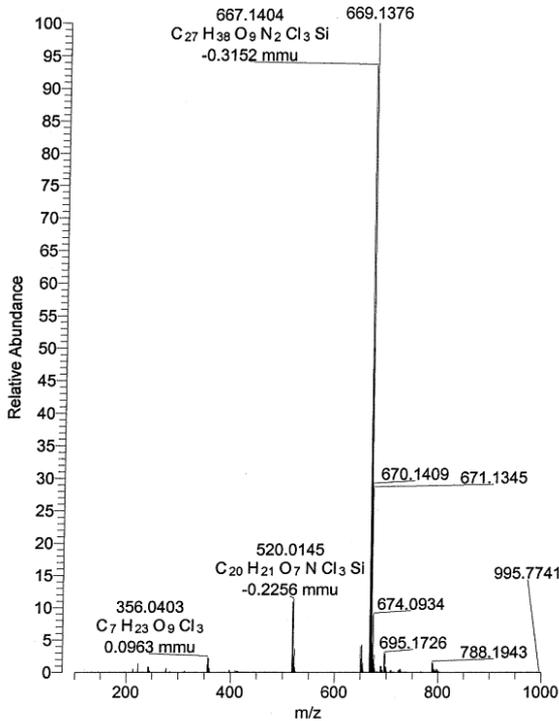


NL:
 3.80E5
 TIC F: FTMS -
 p ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 03-pt283-799

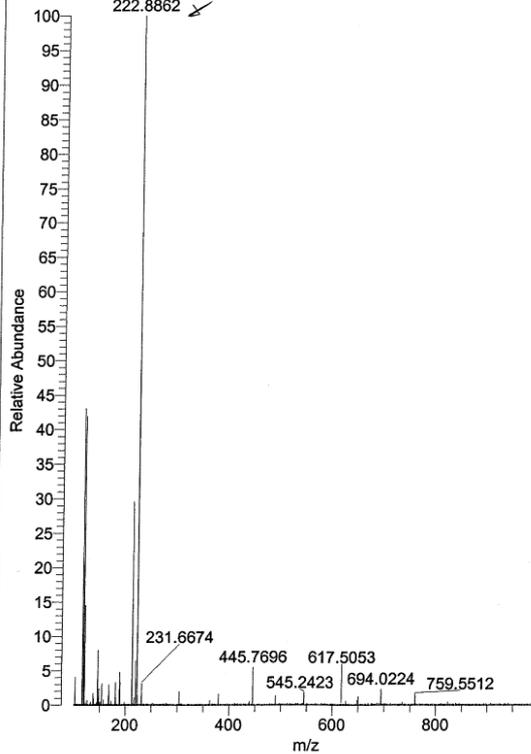


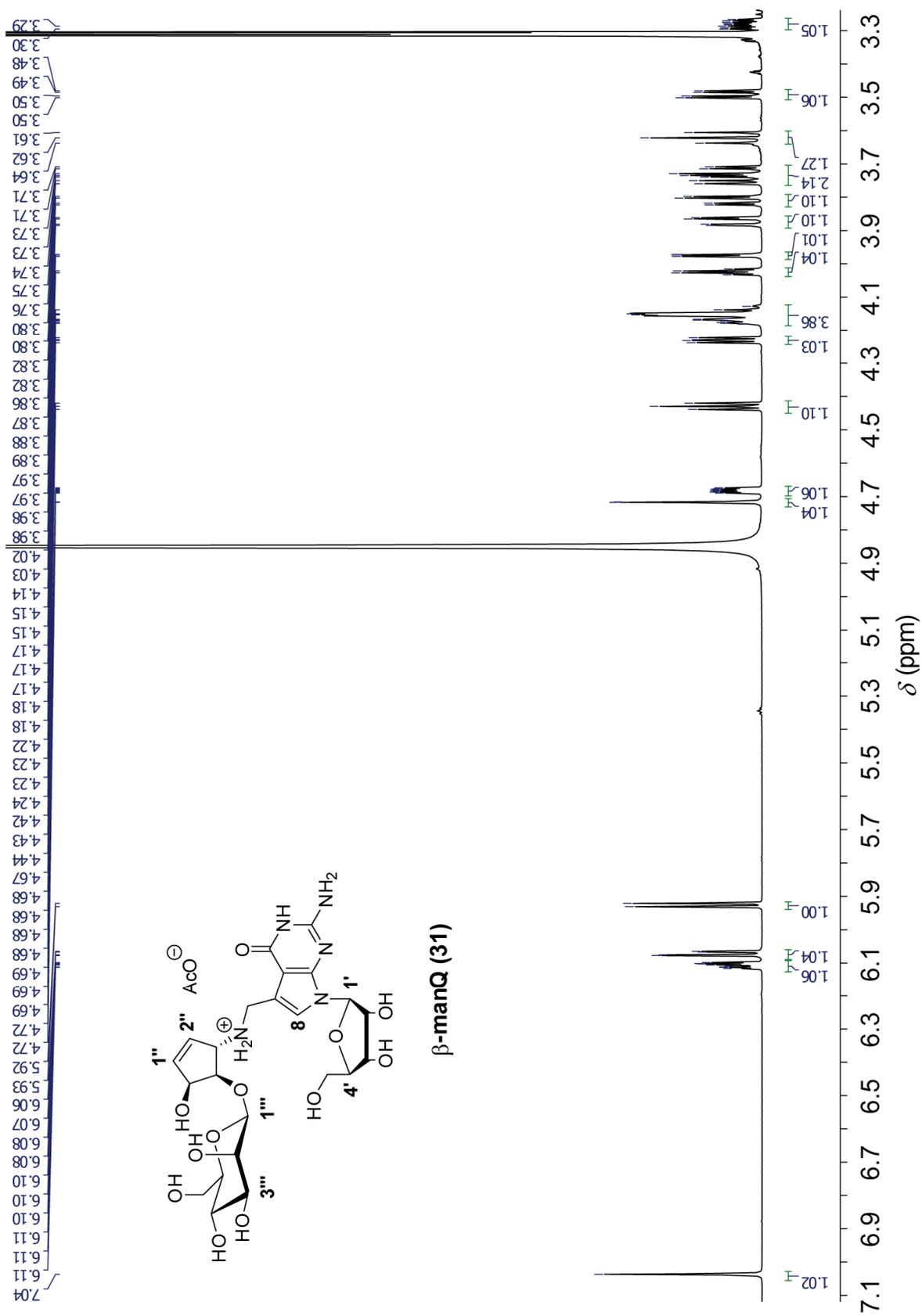
NL:
 3.84E7
 TIC F: FTMS +
 p ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 03-pt283-799

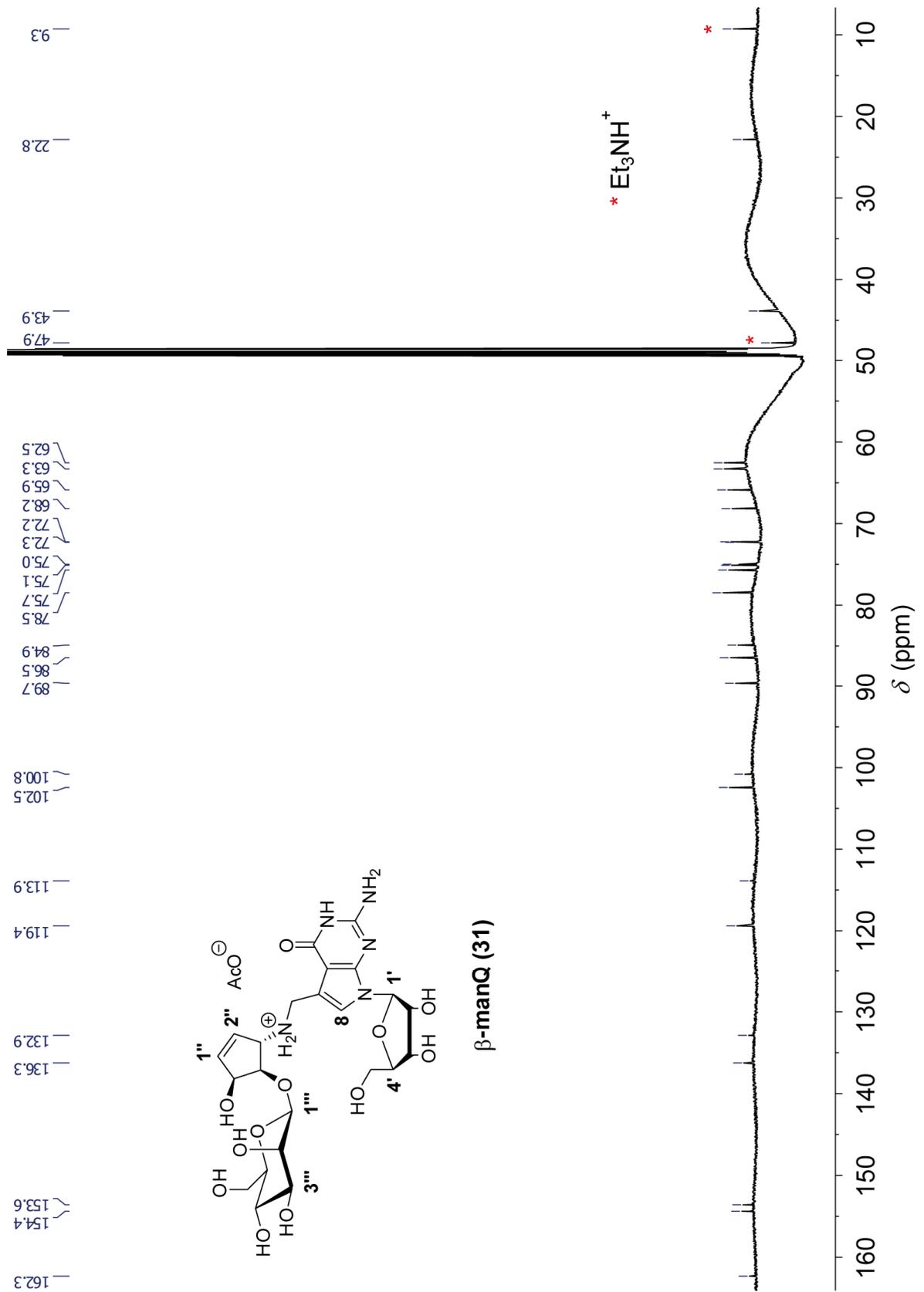
03-pt283-799 #59-250 RT: 0.65-2.23 AV: 27 NL: 3.45E6
 F: FTMS + p ESI Full ms [100.00-1000.00]



03-pt283-799 #51-133 RT: 0.56-1.21 AV: 12 NL: 1.40E4
 F: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]



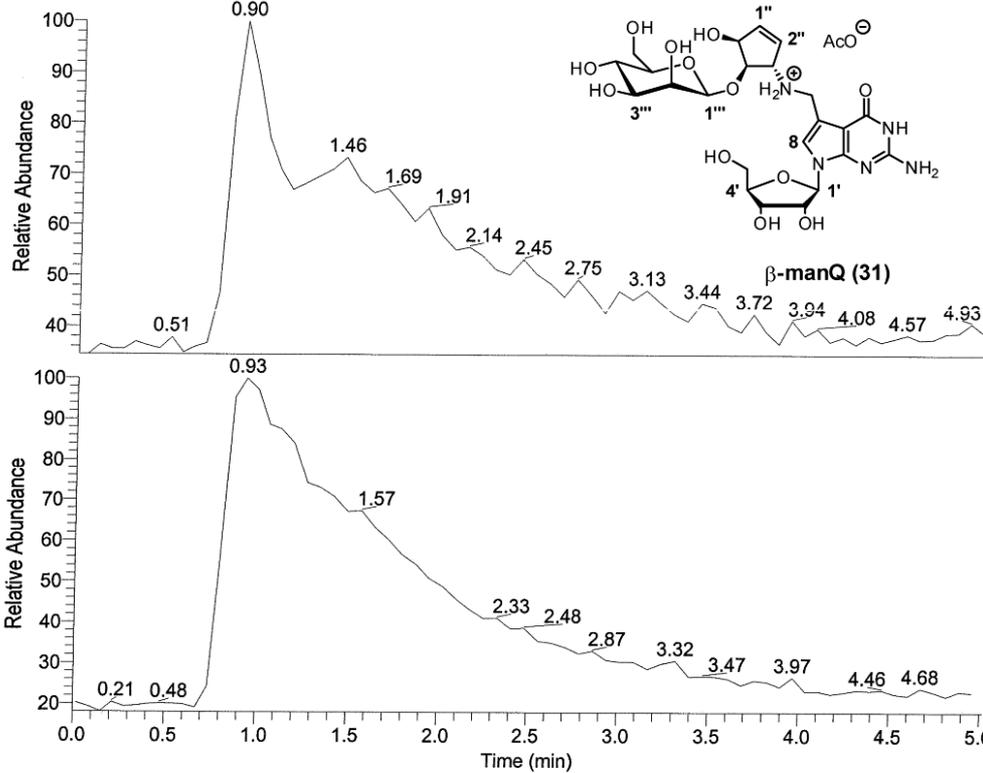




Probenbezeichnung: C:\Data\12-pt294-762_H2O
 Auftraggeber: Thumbs, Carell
 RT: 0.00 - 5.02

Probe: 571, c23h33n5o12, geloest, Methanol
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

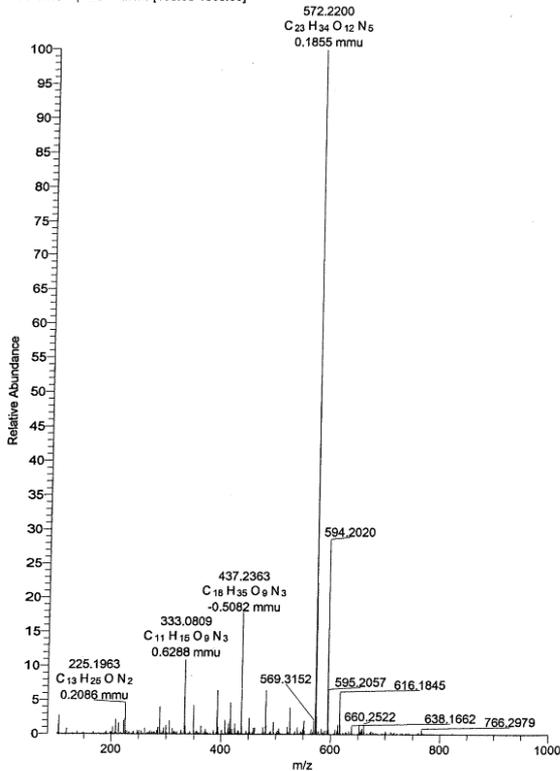
Inj Vol: 1.000000
 Zeit:



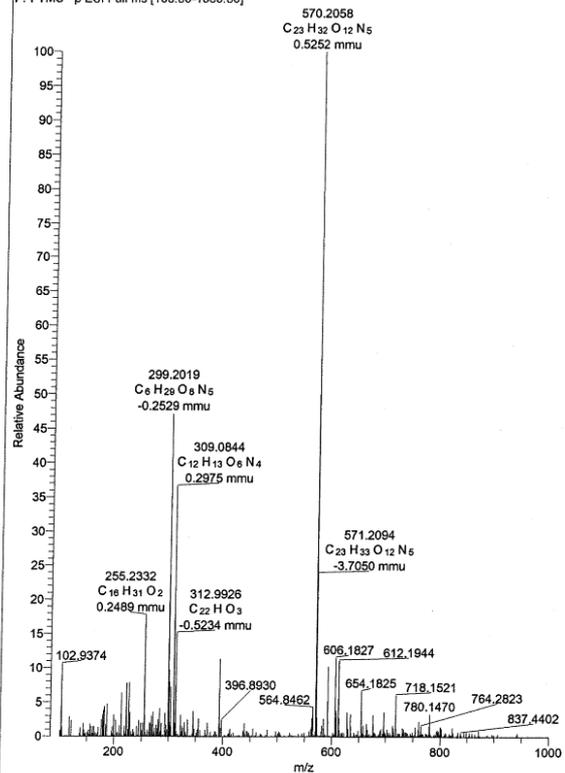
NL:
 1.24E6
 TIC F: FTMS - p
 ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 12-pt294-
 762_H2O

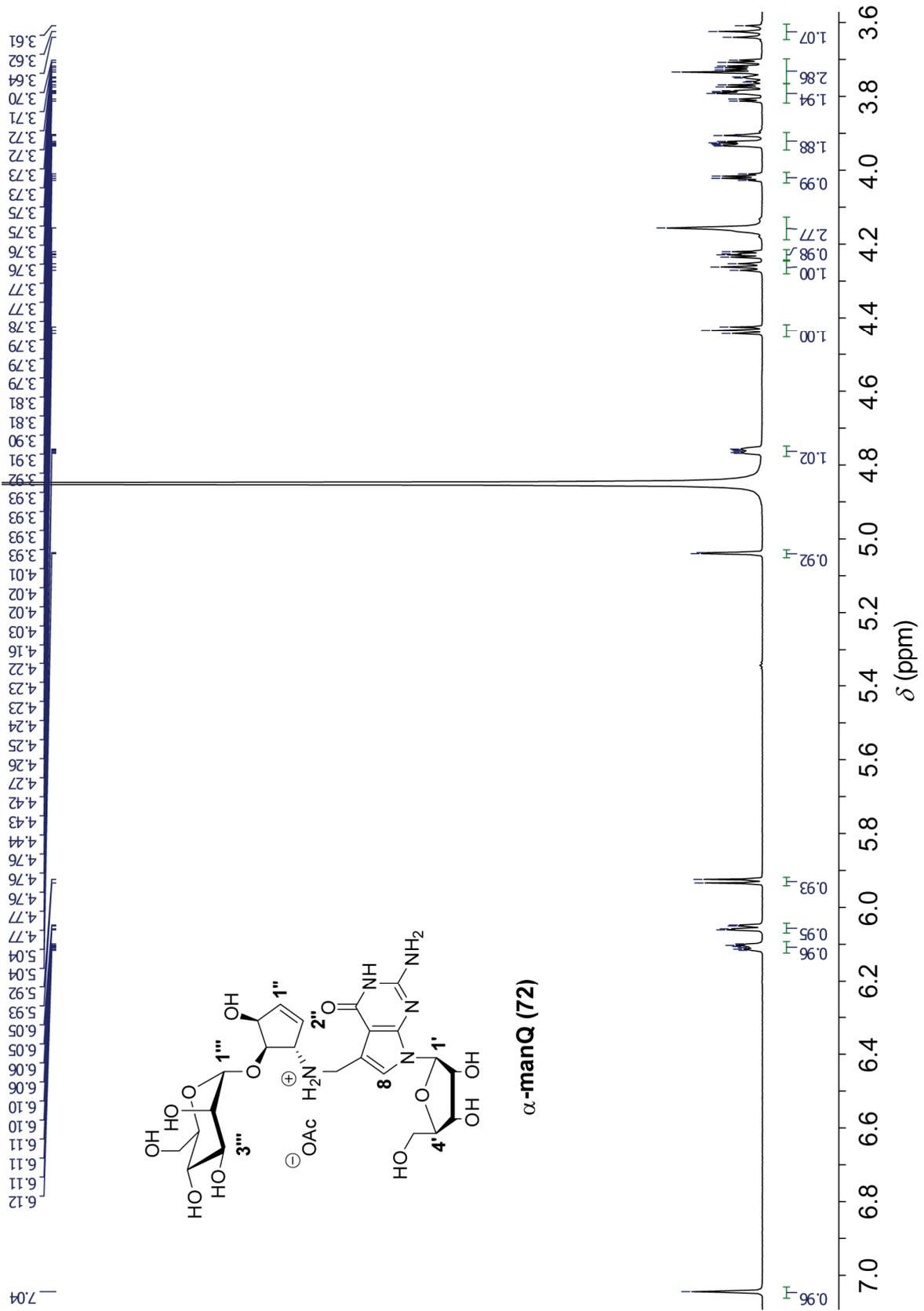
NL:
 2.54E6
 TIC F: FTMS + p
 ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 12-pt294-
 762_H2O

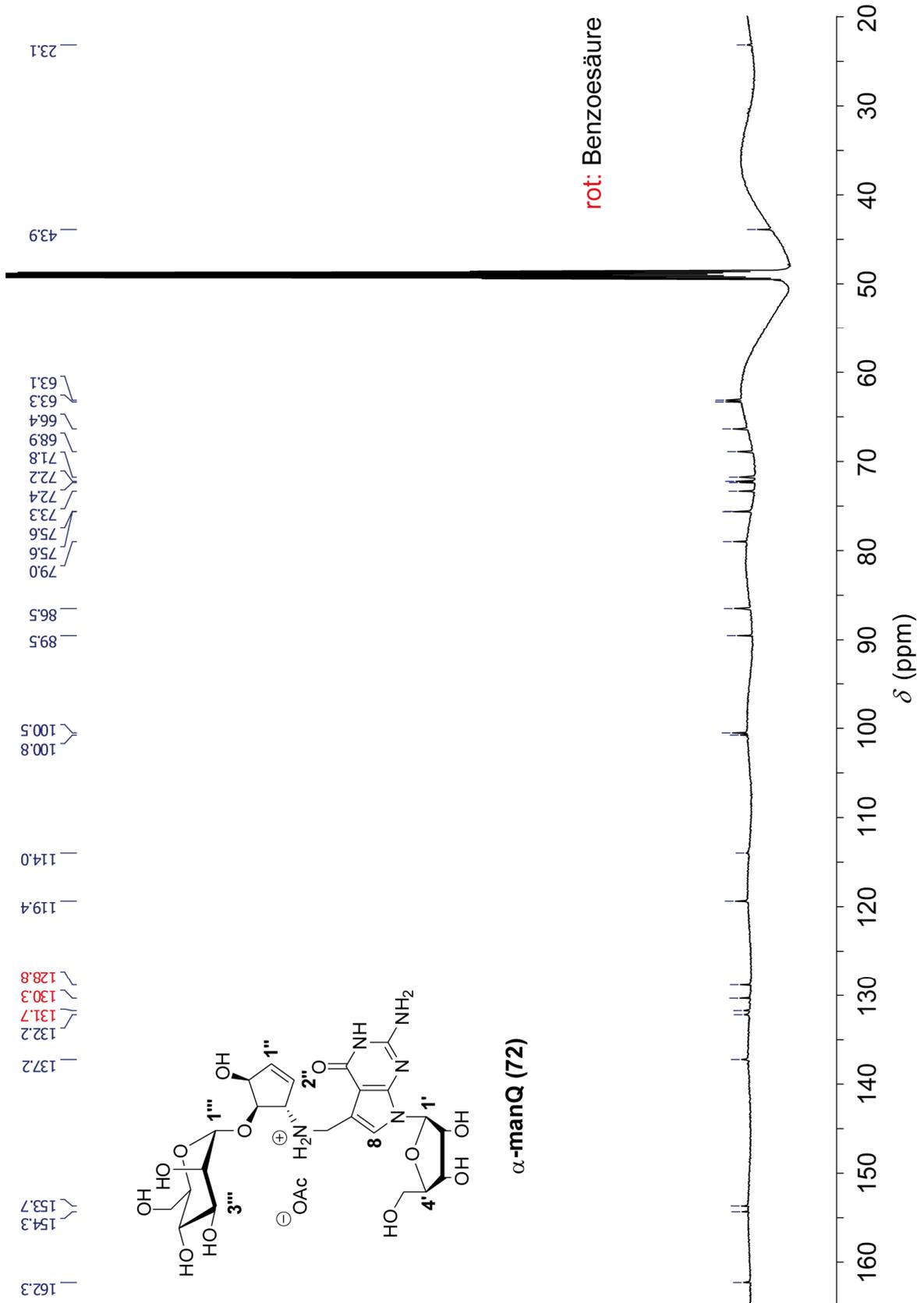
12-pt294-762_H2O #73-190 RT: 0.80-1.88 AV: 16 NL: 2.87E5
 F: FTMS + p ESI Full ms [100.00-1000.00]



12-pt294-762_H2O #73-197 RT: 0.84-1.91 AV: 16 NL: 5.60E4
 F: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]





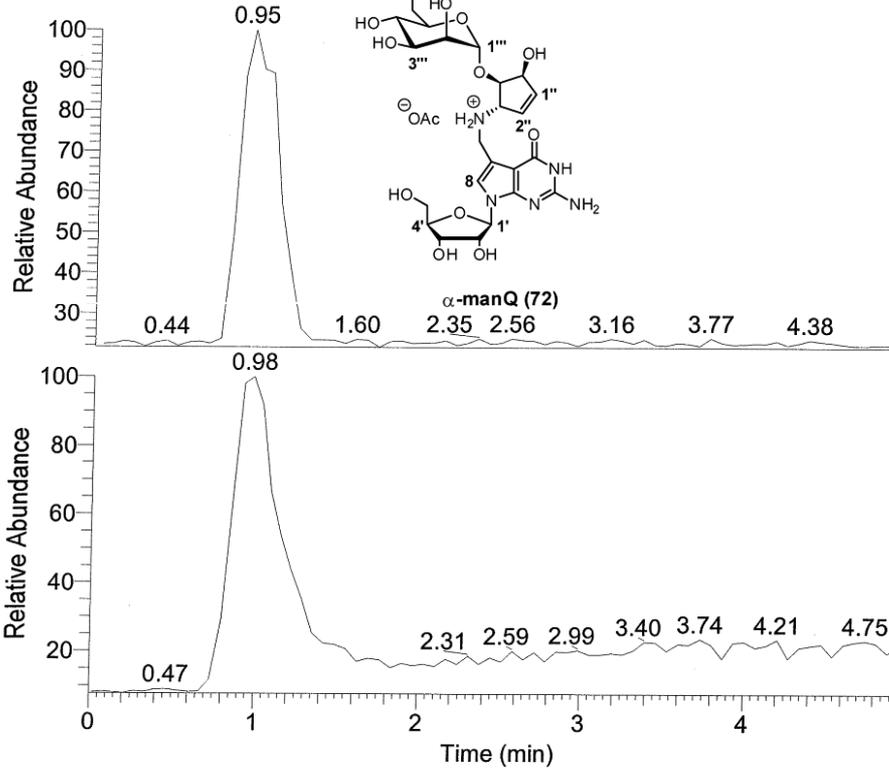


Probenbezeichnung: C:\Data\10-pt-alphananQ_121001141803
 Auftraggeber: Thumbs, Carell

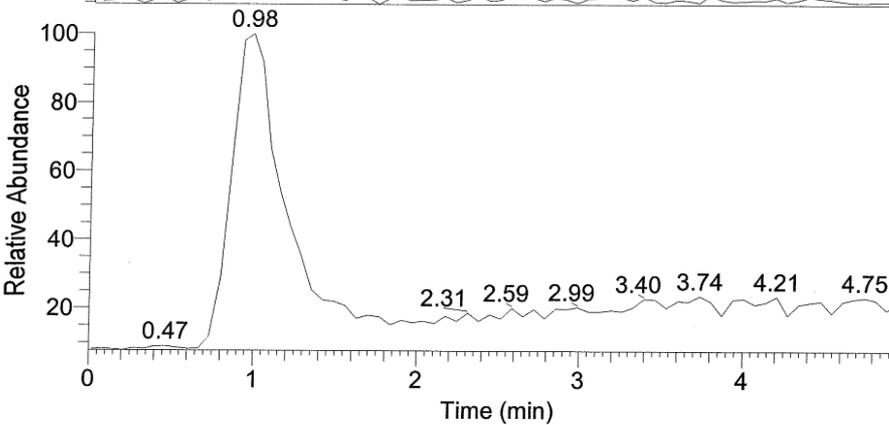
Probe: 571, c23h33n5o12, fest, Methanol
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 10.000000
 Zeit:

RT: 0.00 - 5.01

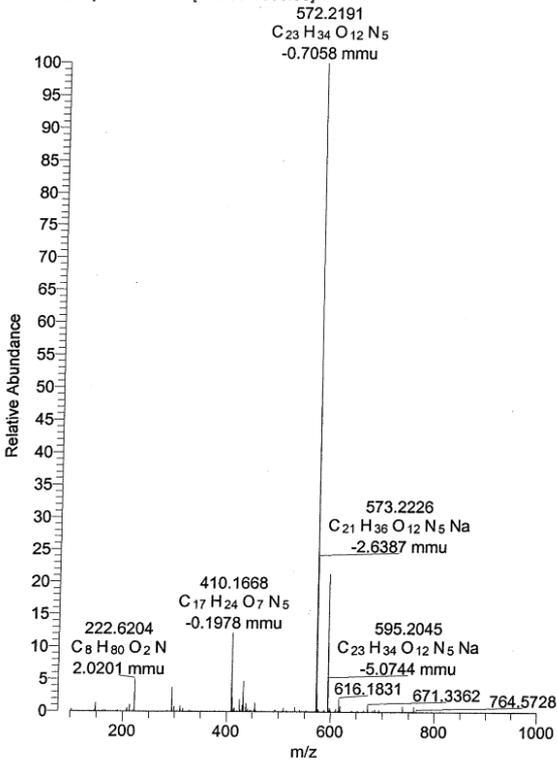


NL: 1.98E6
 TIC F: FTMS - p
 ESI Full ms
 [100.00-1000.00]
 MS
 10-pt-
 alphananQ_121001
 141803

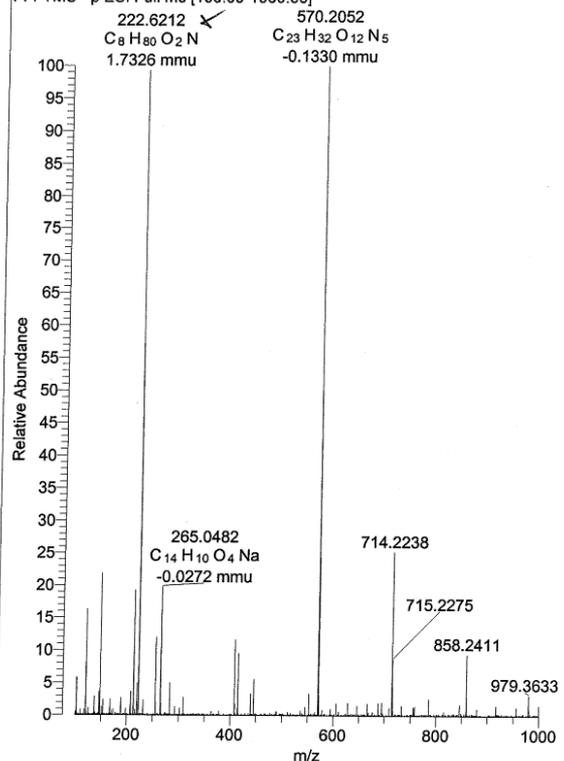


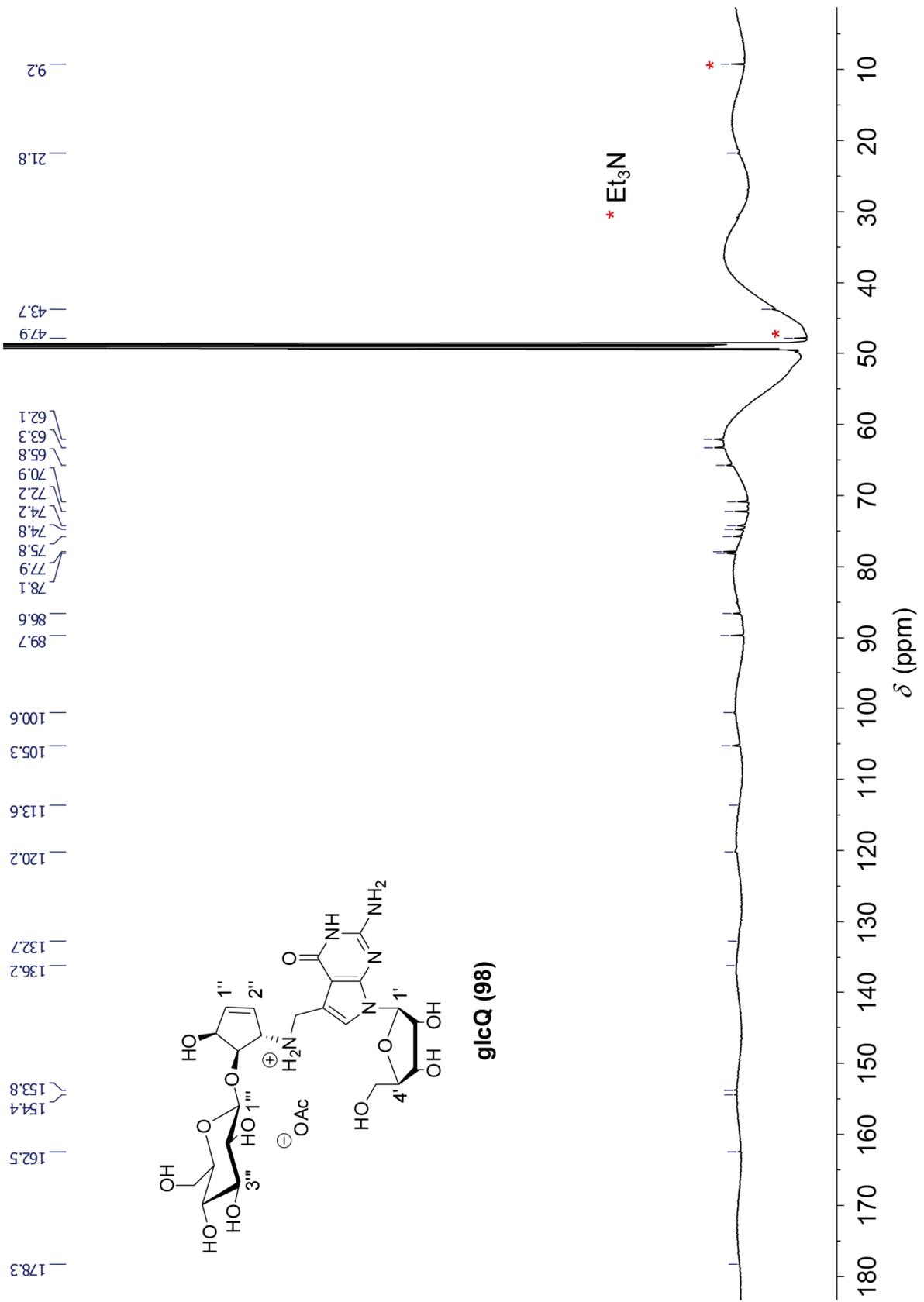
NL: 6.25E6
 TIC F: FTMS + p
 ESI Full ms
 [100.00-1000.00]
 MS
 10-pt-
 alphananQ_121001
 141803

10-pt-alphananQ_121001141803 #79-144 RT: 0.87-1.29 AV: 8 NL:
 F: FTMS + p ESI Full ms [100.00-1000.00]



10-pt-alphananQ_121001141803 #80-125 RT: 0.83-1.13 AV: 6 NL:
 F: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]



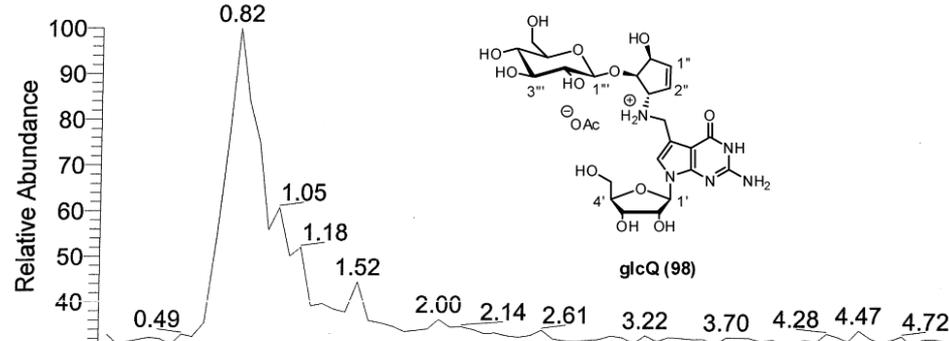


Probenbezeichnung: C:\Data\04-ptglcQHPLC
 Auftraggeber: Thumbs, Carell

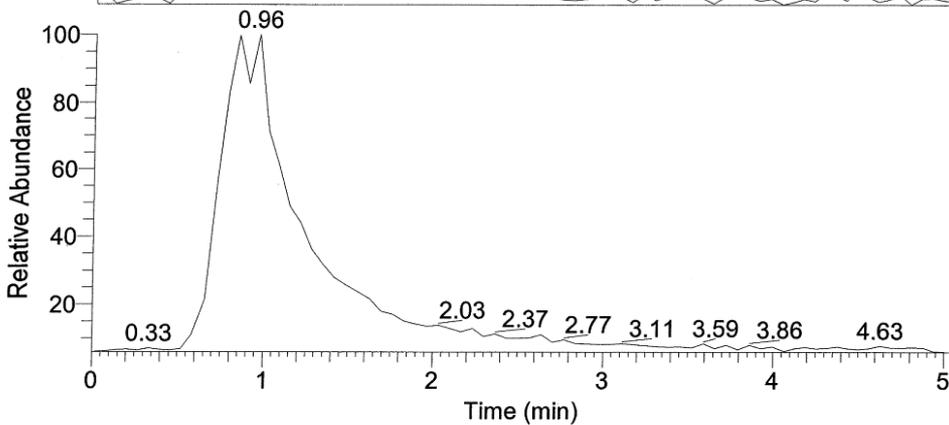
Probe: 571, c23h33n5o12, fest, Methanol
 Methode: 100 ul/min Acetonitril/Wasser, FIA/ESI, LTQ FT, Spahl

Inj Vol: 1.000000
 Zeit:

RT: 0.00 - 5.05

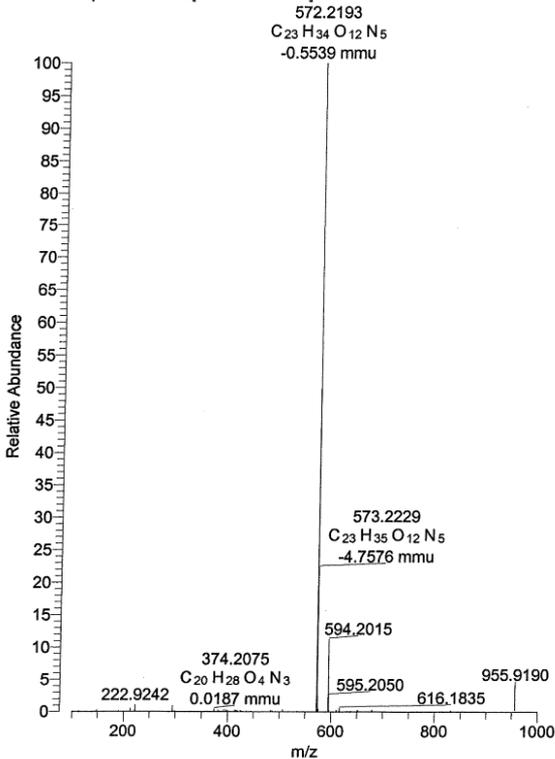


NL:
 1.27E6
 TIC F: FTMS -
 p ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 04-ptglcQHPLC

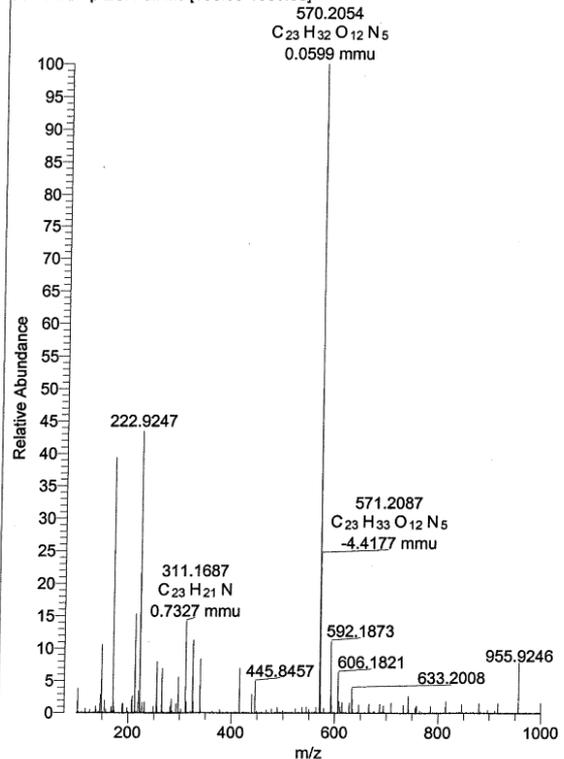


NL:
 9.57E6
 TIC F: FTMS +
 p ESI Full ms
 [100.00-
 1000.00] MS
 04-ptglcQHPLC

04-ptglcQHPLC #46-222 RT: 0.52-1.97 AV: 23 NL: 1.57E6
 F: FTMS + p ESI Full ms [100.00-1000.00]



04-ptglcQHPLC #60-138 RT: 0.69-1.18 AV: 9 NL: 4.73E4
 F: FTMS - p ESI Full ms [100.00-1000.00]



6 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|--|
| Å | Ångström |
| Ac | Acetyl |
| Ac ₂ O | Essigsäureanhydrid |
| Bn | Benzyl |
| ber. | berechnet |
| BSA | <i>N,O</i> -Bistrimethylsilylacetamid |
| Bz | Benzoyl |
| CIBA | α -Chlorisobuttersäure |
| CMPOFf | 2-Chlor-6-methylpyridiniumtrifluormethansulfonat/2-Chlor-6-methylpyridiniumtriflat |
| d | Tag/Tage |
| d | Dublett (NMR) |
| <i>dd</i> | bidestilliert |
| DABCO | 1,4-Diaza[2.2.2]bicyclooctan |
| DBU | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en |
| DC | Dünnschichtchromatogramm |
| DIAD | Diisopropylazodicarboxylat |
| DIC | <i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid |
| DMA | <i>N,N</i> -Dimethylacetamid |
| DMAP | 4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimethylformamid |
| DTBS | Di- <i>tert</i> -butylsilylen |
| EDC | 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid |
| eq. | Äquivalent |
| EtOAc | Ethylacetat |
| EtOH | Ethanol |
| Fmoc | 9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl |
| Fmoc-OSu | <i>N</i> -(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid |
| GCH I | GTP Cyclohydrolase I |
| gef. | gefunden |
| ges. | gesättigt |
| h | Stunde/Stunden |

| | |
|---------------|--|
| HPLC | <i>high pressure (performance) liquid chromatography</i> |
| Hz | Hertz |
| IBX | 2-Iodoxybenzoesäure |
| <i>J</i> | Kopplungskonstante (NMR) |
| konz. | konzentriert |
| LC-MS | Flüssigchromatographiegekoppelte Massenspektrometrie |
| LG | Abgangsgruppe (<i>leaving group</i>) |
| m | Multipllett (NMR) |
| <i>m</i> CPBA | <i>meta</i> -Chlorperoxobenzoensäure |
| MeOH | Methanol |
| Mes | Mesityl |
| min | Minuten |
| MS | Molsieb |
| MS | Massenspektrometrie |
| MsCl | Mesylchlorid |
| NADPH | Nicotinsäureamidadenindinukleotidphosphat (reduzierte Form) |
| NBz | <i>para</i> -Nitrobenzoyl |
| NCS | <i>N</i> -Chlorsuccinimid |
| NMO | <i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid |
| NP | Normalphase (<i>normal phase</i>) |
| NPE | 2-(4-Nitro)phenylethyl |
| Pa | Pascal |
| PCC | Pyridiumchlorochromat |
| PDC | Pyridiniumdichromat |
| PG | Schutzgruppe (<i>protecting group</i>) |
| Piv | Pivaloyl |
| PNB | <i>para</i> -Nitrobenzyl |
| PyBOP | Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat |
| q | Quartett (NMR) |
| QueA | Enzym zur Queuosinbiosynthese (<i>S</i> -Adenosylmethionin-tRNA-Ribosyltransferase-Isomerase) |
| QueC | Enzym zur Biosynthese von preQ ₀ |
| QueD | Enzym zur Biosynthese von preQ ₀ |
| QueE | Enzym zur Biosynthese von preQ ₀ |

| | |
|-------------------|--|
| QueF | Enzym zur Queuosinbiosynthese (Nitril-Oxidoreductase) |
| QueG | Enzym zur Queuosinbiosynthese (Epoxyqueuosinreductase) |
| R _f | Retentionsfaktor |
| RP | Umkehrphase (<i>reversed phase</i>) |
| RT | Raumtemperatur |
| R _t | Retentionszeit |
| SAM | S-Adenosylmethionin |
| t | Triplett (NMR) |
| TBAF | Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid |
| TBS | <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl |
| TBSCl | <i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid |
| TBSOTf | <i>tert</i> -Butyldimethylsilyltriluormethansulfonat/ <i>tert</i> -Butyldimethylsilyltriflat |
| TBTH | Tributylzinnhydrid |
| TESCl | Triethylsilylchlorid |
| TFA | Trifluoressigsäure |
| Tf ₂ O | Trifluormethansulfonsäureanhydrid |
| TGT | tRNA-Guanin Transglycosylase |
| THF | Tetrahydrofuran |
| TMSOTf | Trimethylsilyltriluormethansulfonat / Trimethylsilyltriflat |
| TPAP | Tetrapropylammoniumperruthenat |
| <i>p</i> -TsOH | <i>para</i> -Toluolsulfonsäure |
| TTBP | 2,4,6-Tri- <i>tert</i> -butylpyridin |
| vol | Volumen |
| w/w | Gewichtsanteil einer Substanz pro Gesamtmasse |

Nukleoside:

| | |
|----------------------|---|
| A | Adenosin |
| C | Cytosin |
| cmnm ⁵ U | 5-Carboxymethylaminomethyluridin |
| cmnm ⁵ Um | 5-Carboxymethylaminomethyl-2'- <i>O</i> -methyluridin |
| cmo ⁵ U | Uridin-5-oxoessigsäure |
| G | Guanosin |
| galQ | Galaktosylqueuosin |
| manQ | Mannosylqueuosin |

| | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| mcm ⁵ U | 5-Methoxycarbonylmethyluridin |
| mcm ⁵ s ² U | 5-Methoxycarbonylmethyl-2-thiouridin |
| mm ⁵ U | 5-Methylaminomethyluridin |
| mm ⁵ s ² U | 5-Methylaminomethyl-2-thiouridin |
| ncm ⁵ U | 5-Carbamoylmethyluridin |
| Q | Queuosin |
| U | Uridin |

7 Literaturverzeichnis

- [1] F. H. Crick, *Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis*. *J. Mol. Biol.* **1966**, *19*, 548-555.
- [2] R. W. Holley, J. Apgar, G. A. Everett, J. T. Madison, M. Marquisee, S. H. Merrill, J. R. Penswick, A. Zamir, *Structure of a Ribonucleic Acid*. *Science* **1965**, *147*, 1462-1465.
- [3] R. W. Holley, G. A. Everett, J. T. Madison, A. Zamir, *Nucleotide Sequences in the Yeast Alanine Transfer Ribonucleic Acid*. *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 2122-2128.
- [4] W. A. Cantara, P. F. Crain, J. Rozenski, J. A. McCloskey, K. A. Harris, X. Zhang, F. A. Vendeix, D. Fabris, P. F. Agris, *The RNA Modification Database, RNAMDB: 2011 update*. *Nucleic Acids Res.* **2011**, *39*, D195-201.
- [5] J. S. Krog, Y. Espanol, A. M. Giessing, A. Dziergowska, A. Malkiewicz, L. R. de Poupplana, F. Kirpekar, *3-(3-amino-3-carboxypropyl)-5,6-dihydrouridine is one of two novel post-transcriptional modifications in tRNA^{Lys}(UUU) from Trypanosoma brucei*. *FEBS J.* **2011**, *278*, 4782-4796.
- [6] D. Iwata-Reuyl, *Biosynthesis of the 7-deazaguanosine hypermodified nucleosides of transfer RNA*. *Bioorg. Chem.* **2003**, *31*, 24-43.
- [7] T. Carell, C. Brandmayr, A. Hienzsch, M. Müller, D. Pearson, V. Reiter, I. Thoma, P. Thumbs, M. Wagner, *Structure and function of noncanonical nucleobases*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 7110-7131.
- [8] S. Nishimura, K. Watanabe, *The discovery of modified nucleosides from the early days to the present: A personal perspective*. *J. Biosci.* **2006**, *31*, 465-475.
- [9] R. M. McCarty, A. Somogyi, V. Bandarian, *Escherichia coli QueD is a 6-carboxy-5,6,7,8-tetrahydropterin synthase*. *Biochemistry* **2009**, *48*, 2301-2303.
- [10] R. M. McCarty, A. Somogyi, G. Lin, N. E. Jacobsen, V. Bandarian, *The deazapurine biosynthetic pathway revealed: in vitro enzymatic synthesis of PreQ(0) from guanosine 5'-triphosphate in four steps*. *Biochemistry* **2009**, *48*, 3847-3852.
- [11] Z. D. Miles, R. M. McCarty, G. Molnar, V. Bandarian, *Discovery of epoxyqueuosine (oQ) reductase reveals parallels between halorespiration and tRNA modification*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 7368-7372.
- [12] Yikrazuul, *Allgemeine Struktur einer tRNA*.
http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:The_tRNA_cloverleaf_general.svg&filetimestamp=20100519185100, (aufgerufen am 03.12.2012).

- [13] H. Grosjean, V. de Crecy-Lagard, C. Marck, *Deciphering synonymous codons in the three domains of life: co-evolution with specific tRNA modification enzymes. FEBS Lett.* **2010**, 584, 252-264.
- [14] E. M. Novoa, M. Pavon-Eternod, T. Pan, L. Ribas de Pouplana, *A role for tRNA modifications in genome structure and codon usage. Cell* **2012**, 149, 202-213.
- [15] P. F. Agris, *The importance of being modified: roles of modified nucleosides and Mg²⁺ in RNA structure and function. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **1996**, 53, 79-129.
- [16] P. F. Agris, F. A. Vendeix, W. D. Graham, *tRNA's wobble decoding of the genome: 40 years of modification. J. Mol. Biol.* **2007**, 366, 1-13.
- [17] T. Suzuki, *Biosynthesis and function of tRNA wobble modifications. in Fine-Tuning of RNA Functions by Modification and Editing, Vol. 12* (Ed.: H. Grosjean), Springer Berlin Heidelberg, **2005**, 23-69.
- [18] T. Yasukawa, T. Suzuki, N. Ishii, T. Ueda, S. Ohta, K. Watanabe, *Defect in modification at the anticodon wobble nucleotide of mitochondrial tRNA(Lys) with the MERRF encephalomyopathy pathogenic mutation. FEBS Lett.* **2000**, 467, 175-178.
- [19] T. Yasukawa, T. Suzuki, N. Ishii, S. Ohta, K. Watanabe, *Wobble modification defect in tRNA disturbs codon-anticodon interaction in a mitochondrial disease. EMBO J.* **2001**, 20, 4794-4802.
- [20] T. Yasukawa, T. Suzuki, S. Ohta, K. Watanabe, *Wobble modification defect suppresses translational activity of tRNAs with MERRF and MELAS mutations. Mitochondrion* **2002**, 2, 129-141.
- [21] Y. Kirino, T. Yasukawa, S. Ohta, S. Akira, K. Ishihara, K. Watanabe, T. Suzuki, *Codon-specific translational defect caused by a wobble modification deficiency in mutant tRNA from a human mitochondrial disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101, 15070-15075.
- [22] T. Yasukawa, Y. Kirino, N. Ishii, I. J. Holt, H. T. Jacobs, T. Makifuchi, N. Fukuhara, S. Ohta, T. Suzuki, K. Watanabe, *Wobble modification deficiency in mutant tRNAs in patients with mitochondrial diseases. FEBS Lett.* **2005**, 579, 2948-2952.
- [23] Y. Kirino, T. Suzuki, *Human mitochondrial diseases associated with tRNA wobble modification deficiency. RNA Biol.* **2005**, 2, 41-44.
- [24] Y. Kirino, Y. Goto, Y. Campos, J. Arenas, T. Suzuki, *Specific correlation between the wobble modification deficiency in mutant tRNAs and the clinical features of a human mitochondrial disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, 102, 7127-7132.

- [25] T. Suzuki, A. Nagao, T. Suzuki, *Human mitochondrial diseases caused by lack of taurine modification in mitochondrial tRNAs*. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **2011**, 2, 376-386.
- [26] S. W. Schaffer, C. J. Jong, T. Ito, J. Azuma, *Role of taurine in the pathologies of MELAS and MERRF*. *Amino Acids* **2012**.
- [27] K. B. Gromadski, T. Daviter, M. V. Rodnina, *A uniform response to mismatches in codon-anticodon complexes ensures ribosomal fidelity*. *Mol. Cell* **2006**, 21, 369-377.
- [28] J. M. Ogle, D. E. Brodersen, W. M. Clemons, Jr., M. J. Tarry, A. P. Carter, V. Ramakrishnan, *Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit*. *Science* **2001**, 292, 897-902.
- [29] J. M. Ogle, F. V. Murphy, M. J. Tarry, V. Ramakrishnan, *Selection of tRNA by the ribosome requires a transition from an open to a closed form*. *Cell* **2002**, 111, 721-732.
- [30] W. Hillen, E. Egert, H. J. Lindner, H. G. Gassen, *Restriction or amplification of wobble recognition: the structure of 2-thio-5-methylaminomethyluridine and the interaction of odd uridines with the anticodon loop backbone*. *FEBS Lett.* **1978**, 94, 361-364.
- [31] M. J. Johansson, A. Esberg, B. Huang, G. R. Bjork, A. S. Bystrom, *Eukaryotic wobble uridine modifications promote a functionally redundant decoding system*. *Mol. Cell. Biol.* **2008**, 28, 3301-3312.
- [32] V. I. Lim, *Analysis of action of wobble nucleoside modifications on codon-anticodon pairing within the ribosome*. *J. Mol. Biol.* **1994**, 240, 8-19.
- [33] S. Yokoyama, T. Watanabe, K. Murao, H. Ishikura, Z. Yamaizumi, S. Nishimura, T. Miyazawa, *Molecular mechanism of codon recognition by tRNA species with modified uridine in the first position of the anticodon*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1985**, 82, 4905-4909.
- [34] S. Yokoyama, S. Nishimura, *Modified nucleosides and codon recognition*. in *tRNA: Structure, biosynthesis and function* (Eds.: D. Söll, U. RajBhandary), ASM Press, Washington, D.C., **1995**, 207-223.
- [35] T. G. Hagervall, S. C. Pomerantz, J. A. McCloskey, *Reduced misreading of asparagine codons by Escherichia coli tRNA^{Lys} with hypomodified derivatives of 5-methylaminomethyl-2-thiouridine in the wobble position*. *J. Mol. Biol.* **1998**, 284, 33-42.

- [36] F. V. Murphy IV, V. Ramakrishnan, A. Malkiewicz, P. F. Agris, *The role of modifications in codon discrimination by tRNA^{Lys}_{UUU}*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 1186-1191.
- [37] D. Mandal, C. Kohrer, D. Su, S. P. Russell, K. Krivos, C. M. Castleberry, P. Blum, P. A. Limbach, D. Soll, U. L. RajBhandary, *Agmatidine, a modified cytidine in the anticodon of archaeal tRNA^{Leu}, base pairs with adenosine but not with guanosine*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 2872-2877.
- [38] T. Muramatsu, K. Nishikawa, F. Nemoto, Y. Kuchino, S. Nishimura, T. Miyazawa, S. Yokoyama, *Codon and amino-acid specificities of a transfer RNA are both converted by a single post-transcriptional modification*. *Nature* **1988**, *336*, 179-181.
- [39] T. Muramatsu, S. Yokoyama, N. Horie, A. Matsuda, T. Ueda, Z. Yamaizumi, Y. Kuchino, S. Nishimura, T. Miyazawa, *A novel lysine-substituted nucleoside in the first position of the anticodon of minor isoleucine tRNA from Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 9261-9267.
- [40] G. Kawai, Y. Yamamoto, T. Kamimura, T. Masegi, M. Sekine, T. Hata, T. Iimori, T. Watanabe, T. Miyazawa, S. Yokoyama, *Conformational rigidity of specific pyrimidine residues in tRNA arises from posttranscriptional modifications that enhance steric interaction between the base and the 2'-hydroxyl group*. *Biochemistry* **1992**, *31*, 1040-1046.
- [41] P. F. Agris, *Decoding the genome: a modified view*. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 223-238.
- [42] N. Horie, Z. Yamaizumi, Y. Kuchino, K. Takai, E. Goldman, T. Miyazawa, S. Nishimura, S. Yokoyama, *Modified nucleosides in the first positions of the anticodons of tRNA(Leu)4 and tRNA(Leu)5 from Escherichia coli*. *Biochemistry* **1999**, *38*, 207-217.
- [43] P. C. Durant, A. C. Bajji, M. Sundaram, R. K. Kumar, D. R. Davis, *Structural effects of hypermodified nucleosides in the Escherichia coli and human tRNA^{Lys} anticodon loop: the effect of nucleosides s²U, mcm⁵U, mcm⁵s²U, mnm⁵s²U, t⁶A, and ms²t⁶A*. *Biochemistry* **2005**, *44*, 8078-8089.
- [44] G. R. Björk, B. Huang, O. P. Persson, A. S. Bystrom, *A conserved modified wobble nucleoside (mcm⁵s²U) in lysyl-tRNA is required for viability in yeast*. *RNA* **2007**, *13*, 1245-1255.

- [45] C. Yarian, M. Marszalek, E. Sochacka, A. Malkiewicz, R. Guenther, A. Miskiewicz, P. F. Agris, *Modified nucleoside dependent Watson-Crick and wobble codon binding by tRNA^{Lys}_{UUU} species. Biochemistry* **2000**, *39*, 13390-13395.
- [46] K. Takai, S. Yokoyama, *Roles of 5-substituents of tRNA wobble uridines in the recognition of purine-ending codons. Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 6383-6391.
- [47] A. L. Glasser, C. el Adlouni, G. Keith, E. Sochacka, A. Malkiewicz, M. Santos, M. F. Tuite, J. Desgres, *Presence and coding properties of 2'-O-methyl-5-carbamoylmethyluridine (ncm⁵Um) in the wobble position of the anticodon of tRNA^{Leu} (U*AA) from brewer's yeast. FEBS Lett.* **1992**, *314*, 381-385.
- [48] S. J. Nasvall, P. Chen, G. R. Bjork, *The modified wobble nucleoside uridine-5-oxyacetic acid in tRNA^{Pro}_{cmo5UGG} promotes reading of all four proline codons in vivo. RNA* **2004**, *10*, 1662-1673.
- [49] M. A. Sørensen, J. Elf, E. Bouakaz, T. Tenson, S. Sanyal, G. R. Björk, M. Ehrenberg, *Over expression of a tRNA^{Leu} isoacceptor changes charging pattern of leucine tRNAs and reveals new codon reading. J. Mol. Biol.* **2005**, *354*, 16-24.
- [50] S. J. Nasvall, P. Chen, G. R. Bjork, *The wobble hypothesis revisited: uridine-5-oxyacetic acid is critical for reading of G-ending codons. RNA* **2007**, *13*, 2151-2164.
- [51] U. Kothe, M. V. Rodnina, *Codon reading by tRNA^{Ala} with modified uridine in the wobble position. Mol. Cell* **2007**, *25*, 167-174.
- [52] A. Weixlbaumer, F. V. t. Murphy, A. Dziergowska, A. Malkiewicz, F. A. Vendeix, P. F. Agris, V. Ramakrishnan, *Mechanism for expanding the decoding capacity of transfer RNAs by modification of uridines. Nat. Struct. Mol. Biol.* **2007**, *14*, 498-502.
- [53] H. M. Goodman, J. Abelson, A. Landy, S. Brenner, J. D. Smith, *Amber suppression: a nucleotide change in the anticodon of a tyrosine transfer RNA. Nature* **1968**, *217*, 1019-1024.
- [54] F. Harada, S. Nishimura, *Possible anticodon sequences of tRNA^{His}, tRNA^{Asn}, and tRNA^{Asp} from Escherichia coli B. Universal presence of nucleoside Q in the first position of the anticodons of these transfer ribonucleic acids. Biochemistry* **1972**, *11*, 301-308.
- [55] H. Kasai, Z. Oashi, F. Harada, S. Nishimura, N. J. Oppenheimer, P. F. Crain, J. G. Liehr, D. L. von Minden, J. A. McCloskey, *Structure of the modified nucleoside Q isolated from Escherichia coli transfer ribonucleic acid. 7-(4,5-cis-Dihydroxy-1-cyclopenten-3-ylaminomethyl)-7-deazaguanosine. Biochemistry* **1975**, *14*, 4198-4208.

- [56] S. Yokoyama, T. Miyazawa, Y. Iitaka, Z. Yamaizumi, H. Kasai, S. Nishimura, *Three-dimensional structure of hyper-modified nucleoside Q located in the wobbling position of tRNA*. *Nature* **1979**, 282, 107-109.
- [57] N. Okada, S. Noguchi, S. Nishimura, T. Ohgi, T. Goto, P. F. Crain, J. A. McCloskey, *Structure determination of a nucleoside Q precursor isolated from E. coli tRNA: 7-(aminomethyl)-7-deazaguanosine*. *Nucleic Acids Res.* **1978**, 5, 2289-2296.
- [58] H. Kasai, Y. Kuchino, K. Nihei, S. Nishimura, *Distribution of the modified nucleoside Q and its derivatives in animal and plant transfer RNA's*. *Nucleic Acids Res.* **1975**, 2, 1931-1939.
- [59] H. Kasai, K. Nakanishi, R. D. Macfarlane, D. F. Torgerson, Z. Ohashi, J. A. McCloskey, H. J. Gross, S. Nishimura, *The structure of Q* nucleoside isolated from rabbit liver transfer ribonucleic acid*. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 5044-5046.
- [60] J. R. Katze, B. Basile, J. A. McCloskey, *Queuine, a modified base incorporated posttranscriptionally into eukaryotic transfer RNA: wide distribution in nature*. *Science* **1982**, 216, 55-56.
- [61] N. Okada, S. Nishimura, *Enzymatic synthesis of Q nucleoside containing mannose in the anticodon of tRNA: isolation of a novel mannosyltransferase from a cell-free extract of rat liver*. *Nucleic Acids Res.* **1977**, 4, 2931-2938.
- [62] D. W. Phillipson, C. G. Edmonds, P. F. Crain, D. L. Smith, D. R. Davis, J. A. McCloskey, *Isolation and structure elucidation of an epoxide derivative of the hypermodified nucleoside queuosine from Escherichia coli transfer RNA*. *J. Biol. Chem.* **1987**, 262, 3462-3471.
- [63] M. Ibba, C. Francklyn, *Turning tRNA upside down: When aminoacylation is not a prerequisite to protein synthesis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, 101, 7493-7494.
- [64] W. R. Farkas, *Effect of diet on the queuosine family of tRNAs of germ-free mice*. *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 6832-6835.
- [65] J. P. Reyniers, J. R. Pleasants, B. S. Wostmann, J. R. Katze, W. R. Farkas, *Administration of exogenous queuine is essential for the biosynthesis of the queuosine-containing transfer RNAs in the mouse*. *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 11591-11594.
- [66] R. C. Morris, M. S. Elliott, *Queuosine modification of tRNA: a case for convergent evolution*. *Mol. Genet. Metab.* **2001**, 74, 147-159.
- [67] U. Gündüz, J. R. Katze, *Salvage of the nucleic acid base queuine from queuine-containing TRNA by animal cells*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1982**, 109, 159-167.

- [68] U. Gündüz, J. R. Katze, *Queuine salvage in mammalian cells. Evidence that queuine is generated from queuosine 5'-phosphate*. *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 1110-1113.
- [69] Y. Kuchino, H. Kasai, K. Nihei, S. Nishimura, *Biosynthesis of the modified nucleoside Q in transfer RNA*. *Nucleic Acids Res.* **1976**, 3, 393-398.
- [70] B. Thöny, G. Auerbach, N. Blau, *Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions*. *Biochem. J.* **2000**, 347, 1-16.
- [71] A. Bermingham, J. P. Derrick, *The folic acid biosynthesis pathway in bacteria: evaluation of potential for antibacterial drug discovery*. *BioEssays* **2002**, 24, 637-648.
- [72] A. L. Miller, *The methylation, neurotransmitter, and antioxidant connections between folate and depression*. *Altern. Med. Rev.* **2008**, 13, 216-226.
- [73] A. Bacher, S. Eberhardt, W. Eisenreich, M. Fischer, S. Herz, B. Illarionov, K. Kis, G. Richter, *Biosynthesis of riboflavin*. *Vitam. Horm.* **2001**, 61, 1-49.
- [74] B. A. Buehler, *Vitamin B2: Riboflavin*. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* **2011**, 16, 88-90.
- [75] M. A. Swairjo, R. R. Reddy, B. Lee, S. G. Van Lanen, S. Brown, V. de Crecy-Lagard, D. Iwata-Reuyl, P. Schimmel, *Crystallization and preliminary X-ray characterization of the nitrile reductase QueF: a queuosine-biosynthesis enzyme*. *Acta. Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* **2005**, 61, 945-948.
- [76] S. G. Van Lanen, J. S. Reader, M. A. Swairjo, V. de Crecy-Lagard, B. Lee, D. Iwata-Reuyl, *From cyclohydrolase to oxidoreductase: discovery of nitrile reductase activity in a common fold*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, 102, 4264-4269.
- [77] B. W. Lee, S. G. Van Lanen, D. Iwata-Reuyl, *Mechanistic studies of Bacillus subtilis QueF, the nitrile oxidoreductase involved in queuosine biosynthesis*. *Biochemistry* **2007**, 46, 12844-12854.
- [78] V. M. Chikwana, B. Stec, B. W. Lee, V. de Crecy-Lagard, D. Iwata-Reuyl, M. A. Swairjo, *Structural Basis of Biological Nitrile Reduction*. *J. Biol. Chem.* **2012**, 287, 30560-30570.
- [79] N. Okada, S. Noguchi, H. Kasai, N. Shindo-Okada, T. Ohgi, T. Goto, S. Nishimura, *Novel mechanism of post-transcriptional modification of tRNA. Insertion of bases of Q precursors into tRNA by a specific tRNA transglycosylase reaction*. *J. Biol. Chem.* **1979**, 254, 3067-3073.
- [80] A. W. Curnow, F. L. Kung, K. A. Koch, G. A. Garcia, *tRNA-guanine transglycosylase from Escherichia coli: gross tRNA structural requirements for recognition*. *Biochemistry* **1993**, 32, 5239-5246.

- [81] A. W. Curnow, G. A. Garcia, *tRNA-guanine transglycosylase from Escherichia coli. Minimal tRNA structure and sequence requirements for recognition. J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 17264-17267.
- [82] S. Nakanishi, T. Ueda, H. Hori, N. Yamazaki, N. Okada, K. Watanabe, *A UGU sequence in the anticodon loop is a minimum requirement for recognition by Escherichia coli tRNA-guanine transglycosylase. J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 32221-32225.
- [83] R. K. Slany, M. Bosl, P. F. Crain, H. Kersten, *A new function of S-adenosylmethionine: the ribosyl moiety of AdoMet is the precursor of the cyclopentenediol moiety of the tRNA wobble base queuine. Biochemistry* **1993**, 32, 7811-7817.
- [84] R. K. Slany, M. Bosl, H. Kersten, *Transfer and isomerization of the ribose moiety of AdoMet during the biosynthesis of queuosine tRNAs, a new unique reaction catalyzed by the QueA protein from Escherichia coli. Biochimie* **1994**, 76, 389-393.
- [85] S. D. Kinzie, B. Thern, D. Iwata-Reuyl, *Mechanistic studies of the tRNA-modifying enzyme QueA: a chemical imperative for the use of AdoMet as a "ribosyl" donor. Org. Lett.* **2000**, 2, 1307-1310.
- [86] S. G. Van Lanen, S. D. Kinzie, S. Matthieu, T. Link, J. Culp, D. Iwata-Reuyl, *tRNA modification by S-adenosylmethionine:tRNA ribosyltransferase-isomerase. Assay development and characterization of the recombinant enzyme. J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 10491-10499.
- [87] N. Shindo-Okada, N. Okada, T. Ohgi, T. Goto, S. Nishimura, *Transfer ribonucleic acid guanine transglycosylase isolated from rat liver. Biochemistry* **1980**, 19, 395-400.
- [88] C. Boland, P. Hayes, I. Santa-Maria, S. Nishimura, V. P. Kelly, *Queuosine Formation in Eukaryotic tRNA Occurs via a Mitochondria-localized Heteromeric Transglycosylase. J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 18218-18227.
- [89] Y. C. Chen, A. F. Brooks, D. M. Goodenough-Lashua, J. D. Kittendorf, H. D. Showalter, G. A. Garcia, *Evolution of eukaryal tRNA-guanine transglycosylase: insight gained from the heterocyclic substrate recognition by the wild-type and mutant human and Escherichia coli tRNA-guanine transglycosylases. Nucleic Acids Res.* **2011**, 39, 2834-2844.
- [90] G. M. Kirtland, T. D. Morris, P. H. Moore, J. J. O'Brian, C. G. Edmonds, J. A. McCloskey, J. R. Katze, *Novel salvage of queuine from queuosine and absence of*

- queuine synthesis in Chlorella pyrenoidosa and Chlamydomonas reinhardtii. J. Bacteriol.* **1988**, *170*, 5633-5641.
- [91] E. Haumont, L. Droogmans, H. Grosjean, *Enzymatic formation of queuosine and of glycosyl queuosine in yeast tRNAs microinjected into Xenopus laevis oocytes. The effect of the anticodon loop sequence. Eur. J. Biochem.* **1987**, *168*, 219-225.
- [92] H. Beier, M. Barciszewska, G. Krupp, R. Mitnacht, H. J. Gross, *UAG readthrough during TMV RNA translation: isolation and sequence of two tRNAs with suppressor activity from tobacco plants. EMBO J.* **1984**, *3*, 351-356.
- [93] H. Beier, M. Barciszewska, H. D. Sickinger, *The molecular basis for the differential translation of TMV RNA in tobacco protoplasts and wheat germ extracts. EMBO J.* **1984**, *3*, 1091-1096.
- [94] K. Zerfass, H. Beier, *Pseudouridine in the anticodon G ψ A of plant cytoplasmic tRNA^{Tyr} is required for UAG and UAA suppression in the TMV-specific context. Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 5911-5918.
- [95] J. M. Durand, B. Dagberg, B. E. Uhlin, G. R. Björk, *Transfer RNA modification, temperature and DNA superhelicity have a common target in the regulatory network of the virulence of Shigella flexneri: the expression of the virF gene. Mol. Microbiol.* **2000**, *35*, 924-935.
- [96] J. K. Hurt, S. Olgen, G. A. Garcia, *Site-specific modification of Shigella flexneri virF mRNA by tRNA-guanine transglycosylase in vitro. Nucleic Acids Res.* **2007**, *35*, 4905-4913.
- [97] M. Bienz, E. Kubli, *Wild-type tRNA^{Tyr}_G reads the TMV RNA stop codon, but Q base-modified tRNA^{Tyr}_Q does not. Nature* **1981**, *294*, 188-190.
- [98] T. Marks, W. R. Farkas, *Effects of a diet deficient in tyrosine and queuine on germfree mice. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *230*, 233-237.
- [99] T. Rakovich, C. Boland, I. Bernstein, V. M. Chikwana, D. Iwata-Reuyl, V. P. Kelly, *Queuosine deficiency in eukaryotes compromises tyrosine production through increased tetrahydrobiopterin oxidation. J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 19354-19363.
- [100] H. Kersten, W. Kersten, *Biosynthesis and function of queuine and queuosine tRNAs. J. Chromatogr. B* **1990**, *45*, 69-108.
- [101] T. Reisser, A. Eicher, W. Langgut, *Mitogenic stimulation of HeLa cells increases the activity of the anoxic stress protein, LDH 6/k: suppression by queuine. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *197*, 1319-1325.

- [102] T. Reisser, W. Langgut, H. Kersten, *The nutrient factor queuine protects HeLa cells from hypoxic stress and improves metabolic adaptation to oxygen availability. Eur. J. Biochem.* **1994**, 221, 979-986.
- [103] W. Langgut, *Modulation of the proliferation and metabolism of tumor cells by the nutrition factor, queuine. Endocyt. Cell Res.* **1996**, 11, 233-238.
- [104] C. Pathak, M. Vinayak, *Modulation of lactate dehydrogenase isozymes by modified base queuine. Mol. Biol. Rep.* **2005**, 32, 191-196.
- [105] C. Pathak, Y. K. Jaiswal, M. Vinayak, *Modulation in the activity of lactate dehydrogenase and level of c-Myc and c-Fos by modified base queuine in cancer. Cancer Biol. Ther.* **2008**, 7, 85-91.
- [106] L. Szabo, S. Nishimura, W. R. Farkas, *Possible involvement of queuine in oxidative metabolism. Biofactors* **1988**, 1, 241-244.
- [107] C. Pathak, Y. K. Jaiswal, M. Vinayak, *Queuine promotes antioxidant defence system by activating cellular antioxidant enzyme activities in cancer. Biosci. Rep.* **2008**, 28, 73-81.
- [108] W. Langgut, T. Reisser, S. Nishimura, H. Kersten, *Modulation of mammalian cell proliferation by a modified tRNA base of bacterial origin. FEBS Lett.* **1993**, 336, 137-142.
- [109] W. Langgut, T. Reisser, H. Kersten, S. Nishimura, *Modulation of Epidermal Growth-Factor Receptor Activity and Related Responses by the 7-Deazaguanine Derivative, Queuine. Oncogene* **1993**, 8, 3141-3147.
- [110] W. Langgut, *Regulation of signalling by receptor tyrosine kinases in HeLa cells involves the q-base. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, 207, 306-311.
- [111] G. Ott, H. Kersten, *Differential turnover of tRNAs of the queuosine family in Dictyostelium discoideum and its possible role in regulation. Biol. Chem. Hoppe Seyler* **1985**, 366, 69-76.
- [112] V. K. Lin, W. R. Farkas, P. F. Agris, *Specific changes in Q-ribonucleoside containing transfer RNA species during Friend leukemia cell erythroid differentiation. Nucleic Acids Res.* **1980**, 8, 3481-3489.
- [113] M. A. Parniak, S. Andrejchyshyn, S. Marx, L. Kleiman, *Alterations in cell tetrahydrobiopterin levels may regulate queuine hypomodification of tRNA during differentiation of murine erythroleukemia cells. Exp. Cell. Res.* **1991**, 195, 114-118.

- [114] F. Meier, B. Suter, H. Grosjean, G. Keith, E. Kubli, *Queuosine modification of the wobble base in tRNA^{His} influences 'in vivo' decoding properties*. *EMBO J.* **1985**, *4*, 823-827.
- [115] C. Pathak, Y. K. Jaiswal, M. Vinayak, *Possible involvement of queuine in regulation of cell proliferation*. *Biofactors* **2007**, *29*, 159-173.
- [116] W. Langgut, T. Reisser, *Involvement of protein kinase C in the control of tRNA modification with queuine in HeLa cells*. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 2488-2491.
- [117] C. Pathak, Y. K. Jaiswal, M. Vinayak, *Queuine mediated inhibition in phosphorylation of tyrosine phosphoproteins in cancer*. *Mol. Biol. Rep.* **2008**, *35*, 369-374.
- [118] J. M. Skuzeski, L. M. Nichols, R. F. Gesteland, J. F. Atkins, *The signal for a leaky UAG stop codon in several plant viruses includes the two downstream codons*. *J. Mol. Biol.* **1991**, *218*, 365-373.
- [119] R. C. Gallo, J. L. Longmore, R. H. Adamson, *Asparaginyl-tRNA and resistance of murine leukaemias to L-asparaginase*. *Nature* **1970**, *227*, 1134-1136.
- [120] J. D. Milner, R. J. Wurtman, *Catecholamine synthesis: Physiological coupling to precursor supply*. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 875-881.
- [121] A. Nakashima, N. Hayashi, Y. S. Kaneko, K. Mori, E. L. Sabban, T. Nagatsu, A. Ota, *Role of N-terminus of tyrosine hydroxylase in the biosynthesis of catecholamines*. *J. Neural. Transm.* **2009**, *116*, 1355-1362.
- [122] Y.-C. Tyan, S.-B. Jong, M.-H. Yang, T.-L. Wu, T.-W. Chung, P.-C. Liao, C.-Y. Lin, Y.-F. Huang, *Utilizing isotope dilution-matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry as a reference procedure for the radioimmunoassay of serum thyroxine*. *Clin. Chim. Acta* **2013**, *420*, 99-103.
- [123] S. Nishimura, *Structure, biosynthesis, and function of queuosine in transfer RNA*. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **1983**, *28*, 49-73.
- [124] T. Xia, D. W. Gray, R. Shiman, *Regulation of rat liver phenylalanine hydroxylase. III. Control of catalysis by (6R)-tetrahydrobiopterin and phenylalanine*. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 24657-24665.
- [125] G. R. Anderson, W. P. Kovacic, *Ldhk, an Unusual Oxygen-Sensitive Lactate-Dehydrogenase Expressed in Human Cancer*. *P. Natl. Acad. Sci. U. S. A.-Biol.* **1981**, *78*, 3209-3213.

- [126] E. Schachner, H. J. Aschhoff, H. Kersten, *Specific changes in lactate levels, lactate dehydrogenase patterns and cytochrome b₅₅₉ in Dictyostelium discoideum caused by queuine.* *Eur. J. Biochem.* **1984**, *139*, 481-487.
- [127] U. Mahr, P. Böhm, H. Kersten, *Possible involvement of queuine in control mechanisms of protein synthesis and protein phosphorylation in eukaryotes.* *Biofactors* **1990**, *2*, 185-192.
- [128] O. Warburg, *Origin of Cancer Cells.* *Science* **1956**, *123*, 309-314.
- [129] F. Addabbo, M. Montagnani, M. S. Goligorsky, *Mitochondria and reactive oxygen species.* *Hypertension* **2009**, *53*, 885-892.
- [130] A. J. Kowaltowski, N. C. de Souza-Pinto, R. F. Castilho, A. E. Vercesi, *Mitochondria and reactive oxygen species.* *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *47*, 333-343.
- [131] A. J. Lambert, M. D. Brand, *Reactive oxygen species production by mitochondria.* *Methods Mol. Biol.* **2009**, *554*, 165-181.
- [132] E. S. Henson, S. B. Gibson, *Surviving cell death through epidermal growth factor (EGF) signal transduction pathways: implications for cancer therapy.* *Cell Signal* **2006**, *18*, 2089-2097.
- [133] G. L. Semenza, *Hypoxia. Cross talk between oxygen sensing and the cell cycle machinery.* *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2011**, *301*, C550-552.
- [134] P. A. Kanerva, P. H. Maenpaa, *Codon-specific serine transfer ribonucleic acid degradation in avian liver during vitellogenin induction.* *Acta. Chem. Scand. B* **1981**, *35*, 379-385.
- [135] U. Karnahl, C. Wasternack, *Half-life of cytoplasmic rRNA and tRNA, of plastid rRNA and of uridine nucleotides in heterotrophically and photoorganotrophically grown cells of Euglena gracilis and its apoplastic mutant W3BUL.* *Int. J. Biochem.* **1992**, *24*, 493-497.
- [136] D. W. Threadgill, A. A. Dlugosz, L. A. Hansen, T. Tennenbaum, U. Lichti, D. Yee, C. LaMantia, T. Mourton, K. Herrup, R. C. Harris, et al., *Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype.* *Science* **1995**, *269*, 230-234.
- [137] M. Sibilica, J. P. Steinbach, L. Stingl, A. Aguzzi, E. F. Wagner, *A strain-independent postnatal neurodegeneration in mice lacking the EGF receptor.* *EMBO J.* **1998**, *17*, 719-731.

- [138] S. Noguchi, Y. Nishimura, Y. Hirota, S. Nishimura, *Isolation and characterization of an Escherichia coli mutant lacking tRNA-guanine transglycosylase. Function and biosynthesis of queuosine in tRNA. J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 6544-6550.
- [139] G. Ott, H. Kersten, S. Nishimura, *Dictyostelium discoideum: a useful model system to evaluate the function of queuine and of the Q-family of tRNAs. FEBS Lett.* **1982**, 146, 311-314.
- [140] R. Gaur, G. R. Björk, S. Tuck, U. Varshney, *Diet-dependent depletion of queuosine in tRNAs in Caenorhabditis elegans does not lead to a developmental block. J. Biosci.* **2007**, 32, 747-754.
- [141] C. Yarian, H. Townsend, W. Czestkowski, E. Sochacka, A. J. Malkiewicz, R. Guenther, A. Miskiewicz, P. F. Agris, *Accurate translation of the genetic code depends on tRNA modified nucleosides. J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 16391-16395.
- [142] A. Janke, S. Pääbo, *Editing of a Transfer-Rna Anticodon in Marsupial Mitochondria Changes Its Codon Recognition. Nucleic Acids Res.* **1993**, 21, 1523-1525.
- [143] T. Kaneko, T. Suzuki, S. T. Kapushoc, M. A. Rubio, J. Ghazvini, K. Watanabe, L. Simpson, *Wobble modification differences and subcellular localization of tRNAs in Leishmania tarentolae: implication for tRNA sorting mechanism. EMBO J.* **2003**, 22, 657-667.
- [144] M. Mörl, M. Dorner, S. Pääbo, *C to U editing and modifications during the maturation of the mitochondrial tRNA^{Asp} in marsupials. Nucleic Acids Res.* **1995**, 23, 3380-3384.
- [145] G. Muralidhar, J. Ochieng, R. W. Trewyn, *Altered queuine modification of transfer RNA involved in the in vitro transformation of Chinese hamster embryo cells. Cancer Res.* **1989**, 49, 7110-7114.
- [146] A. Schneider, *Mitochondrial tRNA import and its consequences for mitochondrial translation. Annu. Rev. Biochem.* **2011**, 80, 1033-1053.
- [147] J. M. Wohlgamuth-Benedum, M. A. Rubio, Z. Paris, S. Long, P. Poliak, J. Lukes, J. D. Alfonzo, *Thiolation controls cytoplasmic tRNA stability and acts as a negative determinant for tRNA editing in mitochondria. J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 23947-23953.
- [148] M. Rubio, J. Alfonzo, *Editing and modification in trypanosomatids: the reshaping of non-coding RNAs. in Fine-Tuning of RNA Functions by Modification and Editing, Vol. 12 (Ed.: H. Grosjean), Springer Berlin Heidelberg, 2005, 71-86.*

- [149] J. D. Alfonzo, *Editing of tRNA for structure and function. Nucleic acids mol. biol.* **2008**, *20*, 33-50.
- [150] Z. Paris, I. M. Fleming, J. D. Alfonzo, *Determinants of tRNA editing and modification: avoiding conundrums, affecting function. Semin. Cell Dev. Biol.* **2012**, *23*, 269-274.
- [151] R. Aphasizhev, *RNA editing. Mol. Biol.* **2007**, *41*, 227-239.
- [152] R. Aphasizhev, I. Aphasizheva, *Uridine insertion/deletion editing in trypanosomes: a playground for RNA-guided information transfer. Wiley Interdiscip. Rev. RNA* **2011**, *2*, 669-685.
- [153] A. A. Su, L. Randau, *A-to-I and C-to-U editing within transfer RNAs. Biochemistry (Mosc)* **2011**, *76*, 932-937.
- [154] M. Sprinzl, C. Horn, M. Brown, A. Ioudovitch, S. Steinberg, *Compilation of tRNA sequences and sequences of tRNA genes. Nucleic Acids Res.* **1998**, *26*, 148-153.
- [155] P. F. Crain, J. D. Alfonzo, J. Rozenski, S. T. Kapushoc, J. A. McCloskey, L. Simpson, *Modification of the universally unmodified uridine-33 in a mitochondria-imported edited tRNA and the role of the anticodon arm structure on editing efficiency. RNA* **2002**, *8*, 752-761.
- [156] L. K. Mydock, A. V. Demchenko, *Mechanism of chemical O-glycosylation: from early studies to recent discoveries. Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 497-510.
- [157] H. Ovaa, J. D. C. Codée, B. Lastdrager, H. S. Overkleeft, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *A stereoselective and efficient route to (3S,4R,5S)-(+)-4,5-dihydroxycyclopent-1-en-3-ylamine: the side chain of the hypermodified nucleoside Q. Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7987-7990.
- [158] R. R. Schmidt, *New Methods for the Synthesis of Glycosides and Oligosaccharides - Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method?. Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 212-235.
- [159] T. J. Choi, J. Y. Baek, H. B. Jeon, K. S. Kim, *A new efficient glycosylation method employing glycosyl pentenoates and PhSeOTf. Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 9191-9194.
- [160] K. S. Kim, D. B. Fulse, J. Y. Baek, B. Y. Lee, H. B. Jeon, *Stereoselective direct glycosylation with anomeric hydroxy sugars by activation with phthalic anhydride and trifluoromethanesulfonic anhydride involving glycosyl phthalate intermediates. J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8537-8547.

- [161] R. S. Loka, C. M. Sadek, N. A. Romaniuk, C. W. Cairo, *Conjugation of Synthetic N-Acetyl-Lactosamine to Azide-Containing Proteins Using the Staudinger Ligation. Bioconjugate Chem.* **2010**, *21*, 1842-1849.
- [162] A. M. Szpilman, E. M. Carreira, β -Glycosidation of sterically hindered alcohols. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1305-1307.
- [163] D. Crich, T. J. Ritchie, *Preparation of 2-Deoxy- β -D-Lyxohexosides (2-Deoxy- β -D-Galactosides). Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, C3-C6.
- [164] K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, D. A. Longbottom, A. Z. Nalbandian, X. H. Huang, *New uses for the Burgess reagent in chemical synthesis: Methods for the facile and stereoselective formation of sulfamidates, glycosylamines, and sulfamides. Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5581-5606.
- [165] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Anomeric-Oxygen Activation for Glycoside Synthesis - the Trichloroacetimidate Method. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21-123.
- [166] A. M. Szpilman, J. M. Manthorpe, E. M. Carreira, *Synthesis and biological studies of 35-deoxy amphotericin B methyl ester. Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4339-4342.
- [167] K. C. Nicolaou, R. A. Daines, Y. Ogawa, T. K. Chakraborty, *Total synthesis of amphotericin B. 3. The final stages. J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4696-4705.
- [168] J. Mulzer, B. Schöllhorn, *Multiple 1,2-O,O-Shift of tert-Butyldiphenylsilyl Groups in Polyols. Angew. Chem. Int. Ed.* **1990**, *29*, 431-432.
- [169] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., Wiley-Interscience, New York, **1999**.
- [170] V. Castelletto, C. M. Moulton, G. Cheng, I. W. Hamley, M. R. Hicks, A. Rodger, D. E. Lopez-Perez, G. Revilla-Lopez, C. Aleman, *Self-assembly of Fmoc-tetrapeptides based on the RGDS cell adhesion motif. Soft Matter* **2011**, *7*, 11405-11415.
- [171] T. Kondo, K. Okamoto, T. Ohgi, T. Goto, *Syntheses of Hypermodified Nucleoside-Q, and Its Biosynthetic Precursors Preq0 and Preq1. Tetrahedron* **1986**, *42*, 207-213.
- [172] T. Ohgi, T. Kondo, T. Goto, *Total Synthesis of Optically Pure Nucleoside-Q - Determination of Absolute-Configuration of Natural Nucleoside-Q. J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 3629-3633.
- [173] A. V. Demchenko, *Stereoselective chemical 1,2-cis O-glycosylation: From 'sugar ray' to modern techniques of the 21st century. Synlett* **2003**, 1225-1240.
- [174] E. S. H. El Ashry, N. Rashed, E. S. I. Ibrahim, *Strategies of synthetic methodologies for constructing beta-mannosidic linkage. Curr. Org. Synth.* **2005**, *2*, 175-213.

- [175] A. V. Demchenko, *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*, 1 ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
- [176] X. M. Zhu, R. R. Schmidt, *New Principles for Glycoside-Bond Formation*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 1900-1934.
- [177] D. Crich, L. Li, *4,6-O-benzylidene-directed beta-mannopyranosylation and alpha-glucopyranosylation: the 2-deoxy-2-fluoro and 3-deoxy-3-fluoro series of donors and the importance of the O2-C2-C3-O3 interaction*. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 1681-1690.
- [178] W. Pilgrim, P. V. Murphy, *Alpha-glycosphingolipids via chelation-induced anomerization of O- and S-glucuronic and galacturonic acid derivatives*. *Org. Lett.* **2009**, 11, 939-942.
- [179] P. E. Eaton, P. G. Jobe, I. D. Reingold, *1,7-Cyclobutanonorbornane system*. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 6437-6439.
- [180] P. J. Kocienski, S. D. A. Street, C. Yeates, S. F. Campbell, *A directed aldol approach to (+)-milbemycin β_3* . *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 2171-2181.
- [181] S. F. Martin, J. A. Dodge, *Efficacious modification of the Mitsunobu reaction for inversions of sterically hindered secondary alcohols*. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3017-3020.
- [182] P. Tapolcsányi, J. Wélfling, E. Mernyák, G. Schneider, *The Mitsunobu Inversion Reaction of Sterically Hindered 17-Hydroxy Steroids*. *Monatsh. Chem.* **2004**, 135, 1129-1136.
- [183] D. L. Hughes, R. A. Reamer, J. J. Bergan, E. J. J. Grabowski, *A mechanistic study of the Mitsunobu esterification reaction*. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 6487-6491.
- [184] R. S. Coleman, E. B. Grant, *A low-temperature Mitsunobu reaction for the inversion of sterically hindered secondary alcohols*. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8341-8344.
- [185] H. Kunz, W. Günther, *β -Mannosides from β -Glucosides by Intramolecular Nucleophilic-Substitution with Inversion of Configuration*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, 27, 1086-1087.
- [186] C. Augé, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, M. Kiso, L. Anderson, *The synthesis of O- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O-(2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose*. *Carbohydr. Res.* **1980**, 82, 85-95.
- [187] V. V. Zhdankin, *Organoiodine(V) reagents in organic synthesis*. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 1185-1197.

- [188] S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Tetrapropylammonium Perruthenate, Pr₄N⁺RuO₄⁻, TPAP - a Catalytic Oxidant for Organic-Synthesis. Synthesis* **1994**, 639-666.
- [189] R. Raju, B. F. Castillo, S. K. Richardson, M. Thakur, R. Severins, M. Kronenberg, A. R. Howell, *Synthesis and evaluation of 3''- and 4''-deoxy and -fluoro analogs of the immunostimulatory glycolipid, KRN7000. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4122-4125.
- [190] A. Foldesi, J. Chattopadhyaya, *Studies towards the large scale chemical synthesis of the precursors of ribonucleosides-3',4',5',5''-²H₄ and -2',3',4',5',5''-²H₅. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2003**, *22*, 2093-2104.
- [191] A. Fürstner, I. Konetzki, *A practical synthesis of β-D-mannopyranosides. Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5721-5724.
- [192] W. Günther, H. Kunz, *Synthesis of a β-Mannosyl-Chitobiosyl-Asparagine Conjugate—a Central Core Region Unit of the N-Glycoproteins. Angew. Chem. Int. Ed.* **1990**, *29*, 1050-1051.
- [193] W. Günther, H. Kunz, *Synthesis of β-D-mannosides from β-D-glucosides via an intramolecular S_N2 reaction at C-2. Carbohydr. Res.* **1992**, *228*, 217-241.
- [194] C. Unverzagt, *Synthesis of a Core Trisaccharide as a Versatile Building Block for N-Glycans and Glycoconjugates. Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1369-1376.
- [195] B. Fraser-Reid, Z. Wu, C. W. Andrews, E. Skowronski, J. P. Bowen, *Torsional effects in glycoside reactivity: saccharide couplings mediated by acetal protecting groups. J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1434-1435.
- [196] D. Crich, M. Li, *Revisiting the armed-disarmed concept: the importance of anomeric configuration in the activation of S-benzoxazolyl glycosides. Org. Lett.* **2007**, *9*, 4115-4118.
- [197] H. Kunz, C. Unverzagt, *Protecting-Group-Dependent Stability of Intersaccharide Bonds—Synthesis of a Fucosyl-Chitobiose Glycopeptide. Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1697-1699.
- [198] P. S. Kumar, G. D. K. Kumar, S. Baskaran, *Truly Catalytic and Chemoselective Cleavage of Benzylidene Acetal with Phosphomolybdic Acid Supported on Silica Gel. Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 6063-6067.
- [199] K. Jansson, T. Frejd, J. Kihlberg, G. Magnusson, *2-trimethylsilylethyl glycosides. Anomeric deblocking of mono- and disaccharides. Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 361-362.

- [200] R. J. Tennant-Eyles, B. G. Davis, A. J. Fairbanks, *Solid phase peptide templated glycosidic bond formation. Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1201-1210.
- [201] D. Crich, M. A. de la Mora, R. Cruz, *Synthesis of the mannosyl erythritol lipid MEL A; confirmation of the configuration of the meso-erythritol moiety. Tetrahedron* **2002**, *58*, 35-44.
- [202] K. Pekari, D. Tailler, R. Weingart, R. R. Schmidt, *Synthesis of the fully phosphorylated GPI anchor pseudohexasaccharide of Toxoplasma gondii. J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7432-7442.
- [203] M. Poláková, M. U. Roslund, F. S. Ekholm, T. Saloranta, R. Leino, *Synthesis of β -(1 \rightarrow 2)-Linked Oligomannosides. Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 870-888.
- [204] J. D. Codee, L. H. Hossain, P. H. Seeberger, *Efficient installation of β -mannosides using a dehydrative coupling strategy. Org. Lett.* **2005**, *7*, 3251-3254.
- [205] K. Tanaka, K. Ogasawara, *Enantioselective synthesis of the cyclopentene segment of queuosine. Synthesis* **1996**, 219-222.
- [206] H. Ovaa, B. Lastdrager, J. D. C. Codee, G. A. van der Marel, H. S. Overkleeft, J. H. van Boom, *A flexible synthesis of cyclopentitol derivatives based on ring-closing metathesis of carbohydrate-derived 1,6-dienes. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 2370-2377.
- [207] B. M. Trost, M. T. Sorum, *The asymmetric synthesis of (3S,4R,5S)-3-amino-4,5-O-isopropylidenedioxycyclopentene. Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 432-435.
- [208] F. Klepper, E. M. Jahn, V. Hickmann, T. Carell, *Synthesis of the transfer-RNA nucleoside queuosine by using a chiral allyl azide intermediate. Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2325-2327.
- [209] A. F. Brooks, G. A. Garcia, H. D. H. Showalter, *A short, concise synthesis of queuine. Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4163-4165.
- [210] D. Vonlanthen, C. J. Leumann, *Hydroxycyclopentanone Derivatives from D-Mannose via Ring Closing Metathesis: An Improved Synthesis of a Key Intermediate of Tricyclo-DNA. Synthesis* **2003**, *2003*, 1087-1090.
- [211] F. Seela, X. H. Peng, *7-functionalized 7-deazapurine ribonucleosides related to 2-aminoadenosine, guanosine, and xanthosine: Glycosylation of pyrrolo[2,3-d]pyrimidines with 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-D-ribofuranose. J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 81-90.

- [212] D. N. Harpp, L. Q. Bao, C. J. Black, J. G. Gleason, R. A. Smith, *Efficient α -Halogenation of Acyl Chlorides by N-Bromosuccinimide, N-Chlorosuccinimide, and Molecular Iodine*. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 3420-3427.
- [213] B. Koppenhoefer, V. Schurig, *(S)-2-Chloroalkanoic Acids of High Enantiomeric Purity from (S)-2-Amino Acids - (S)-2-Chloropropanoic Acid*. *Org. Synth.* **1988**, *66*, 151-159.
- [214] L. H. Zhang, J. X. Duan, Y. L. Xu, W. R. Dolbier, *A simple and efficient method of preparing α -bromo carboxylic acids*. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9621-9622.
- [215] T. Brückl, D. Globisch, M. Wagner, M. Müller, T. Carell, *Parallel isotope-based quantification of modified tRNA nucleosides*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7932-7934.
- [216] T. Brückl, *Synthesis of natural and isotope-labeled tRNA nucleosides and their mass spectrometric quantification*, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (München), **2010**.
- [217] D. Globisch, D. Pearson, A. Hienzsch, T. Brückl, M. Wagner, I. Thoma, P. Thumbs, V. Reiter, A. C. Kneuttinger, M. Müller, S. A. Sieber, T. Carell, *Systems-based analysis of modified tRNA bases*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9739-9742.
- [218] D. Globisch, *Synthesis of natural modified nucleosides and their mass spectrometric quantification in cells and tissue*, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (München), **2011**.
- [219] C. Brandmayr, M. Wagner, T. Brückl, D. Globisch, D. Pearson, A. C. Kneuttinger, V. Reiter, A. Hienzsch, S. Koch, I. Thoma, P. Thumbs, S. Michalakis, M. Müller, M. Biel, T. Carell, *Isotope-Based Analysis of Modified tRNA Nucleosides Correlates Modification Density with Translational Efficiency*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11162-11165.
- [220] A. Hienzsch, *Synthese von natürlichen und isotopenmarkierten tRNA-Modifikationen und deren massenspektrometrische Quantifizierung*, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München (München), **2012**.
- [221] C. Höbartner, C. Kreutz, E. Flecker, E. Ottenschläger, W. Pils, K. Grubmayr, R. Micura, *The Synthesis of 2'-O-[(Triisopropylsilyl)oxy] methyl (TOM) Phosphoramidites of Methylated Ribonucleosides (m^1G , m^2G , m^2_2G , m^1I , m^3U , m^4C , m^6A , m^6_2A) for Use in Automated RNA Solid-Phase Synthesis*. *Monatsh. Chem.* **2003**, *134*, 851-873.

- [222] T. Park, E. M. Todd, S. Nakashima, S. C. Zimmerman, *A quadruply hydrogen bonded heterocomplex displaying high-fidelity recognition*. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18133-18142.
- [223] H. Bredereck, *Über methylierte Nucleoside und Purine und ihre pharmakologischen Wirkungen. 1. Methylierung von Nucleosiden durch Diazomethan*. *Chem. Ber.* **1947**, *80*, 401-405.
- [224] H. Bredereck, H. Haas, A. Martini, *Über methylierte Nucleoside und Purine und ihre pharmakologischen Wirkungen. 2. Methylierung von Nucleosiden durch Dimethylsulfat*. *Chem. Ber.* **1948**, *81*, 307-313.
- [225] J. A. Haines, C. B. Reese, L. Todd, *The methylation of guanosine and related compounds with diazomethane*. *J. Chem. Soc.* **1962**, 5281-5288.
- [226] J. W. Jones, R. K. Robins, *Purine Nucleosides. III. Methylation Studies of Certain Naturally Occurring Purine Nucleosides*. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 193-201.
- [227] P. A. Levene, R. S. Tipson, *The ring structure of guanosine*. *J. Biol. Chem.* **1932**, *97*, 491-495.
- [228] L. B. Townsend, R. K. Robins, *Ring Cleavage of Purine Nucleosides to Yield Possible Biogenetic Precursors of Pteridines and Riboflavin*. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 242-243.
- [229] J. F. Gerster, R. K. Robins, *Purine Nucleosides. X. The Synthesis of Certain Naturally Occurring 2-Substituted Amino-9-β-D-ribofuranosylpurin-6(1H)-ones (N2-Substituted Guanosines)*. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3752-3759.
- [230] H. Schirmeister, F. Himmelsbach, W. Pfeleiderer, *The 2-(4-Nitrophenyl)Ethoxycarbonyl (Npeoc) and 2-(2,4-Dinitrophenyl)Ethoxycarbonyl (Dnpeoc) Groups for Protection of Hydroxy Functions in Ribonucleosides and 2'-Deoxyribonucleosides*. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 385-401.
- [231] Z. Yang, D. Hutter, P. Sheng, A. M. Sismour, S. A. Benner, *Artificially expanded genetic information system: a new base pair with an alternative hydrogen bonding pattern*. *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 6095-6101.
- [232] K. Shah, F. Vincent, M. A. Cuento, *Modulators of GTPases and modulator-resistant enzymes and their uses in drug design and target validation*, WO 2004024082 A2 **2004**.
- [233] V. Serebryany, L. Beigelman, *Synthesis of 2'-O-substituted ribonucleosides. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2003**, *22*, 1007-1009.

- [234] C. G. Edmonds, P. F. Crain, T. Hashizume, R. Gupta, K. O. Stetter, J. A. McCloskey, *Structural Characterization of 4 Ribose-Methylated Nucleosides from the Transfer-Rna of Extremely Thermophilic Archaeobacteria*. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 909-910.
- [235] Y. Ogata, Y. Sawaki, *Kinetics of the Nitric Acid Oxidation of Benzyl Ethers to Benzaldehydes*. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 5832-5837.
- [236] P. P. Pradhan, J. M. Bobbitt, W. F. Bailey, *Oxidative cleavage of benzylic and related ethers, using an oxoammonium salt*. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 9524-9527.
- [237] G. A. Olah, N. Friedman, *The Reaction of Isopropylbenzenes with Nitrosonium Salts. A New Hydride-Abstraction Reaction*. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 5330-5331.
- [238] P. F. Crain, *Preparation and enzymatic hydrolysis of DNA and RNA for mass spectrometry*. *Methods Enzymol.* **1990**, 193, 782-790.
- [239] J. Liu, J. R. Barrio, N. Satyamurthy, *Kinetics and mechanism of the defluorination of 8-fluoropurine nucleosides in basic and acidic media*. *J. Fluor. Chem.* **2006**, 127, 1175-1187.
- [240] A. D. Broom, L. B. Townsend, J. W. Jones, R. K. Robins, *Purine Nucleosides. VI. Further Methylation Studies of Naturally Occurring Purine Nucleosides*. *Biochemistry* **1964**, 3, 494-500.
- [241] T. A. Khwaja, R. K. Robins, *Purine nucleosides. XVI. Synthesis of the naturally occurring 2'-O-methylpurine ribonucleosides and related derivatives*. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3640-3643.