





**Photoschaltbare Glycomimetika zur Untersuchung  
konformationeller Kontrolle in der Glycobiologie:  
Synthese und Anwendung von Glycothymidinen**

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**Kirsten Schwekendiek**

aus Emden

Kiel 2010

Referentin: Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst

Koreferent: Prof. Dr. Ulrich Lüning

Tag der Disputation: 15.07.2010

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 20.07.2010

gez. Prof. Dr. Lutz Kipp, Dekan

**Erklärung:**

Ich versichere an Eides statt, dass ich bis zum heutigen Tage weder an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel noch an einer anderen Hochschule ein Promotionsverfahren endgültig nicht bestanden habe oder mich in einem entsprechenden Verfahren befinde. Ich versichere an Eides statt, dass ich die Inanspruchnahme fremder Hilfen aufgeführt habe, sowie, dass ich die wörtlich oder inhaltlich aus anderen Quellen entnommen Stellen als solche gekennzeichnet habe.

Kirsten Schwekendiek

Diese Arbeit wurde von Mai 2006 bis Mai 2010 am Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden publiziert:

Alexander Schierholt, Mirja Hartmann, Kirsten Schwekendiek, Thisbe K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3120-3128, "Cysteine-Based Mannoside Glycoclusters: Synthetic Routes and Antiadhesive Properties".



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Im Überblick</b>	<b>III</b>
<b>At a Glance</b>	<b>IV</b>
<b>Allgemeine Abkürzungen</b>	<b>V</b>
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Kommunikation durch konformationelle Kontrolle</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Aufbau und Funktion der eukaryontischen Zellmembran</b>	<b>3</b>
1.2.1 Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen	7
1.2.2 Multivalenz	8
<b>1.3 Glycomimetika</b>	<b>10</b>
<b>2 ZIELSETZUNG</b>	<b>12</b>
<b>3 KONZEPT</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Design eines photoschaltbaren Glycomimetikums</b>	<b>13</b>
3.1.1 Typ-1-Fimbrien-vermittelte bakterielle Adhäsion zur Testung der zellulären Adhäsion	14
3.1.2 Thymidin als geeigneter Photoschalter	16
3.1.3 Design der Glycothymidine	19
<b>4 ERGEBNISSE</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Darstellung und Untersuchung von Glycothymidinderivaten</b>	<b>21</b>
4.1.1 Synthese der Glycothymidine	21
4.1.2 Photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition der Glycothymidine	44
4.1.3 Biologische Tests der Glycothymidine	48
<b>4.2 Glycothymidin-Arrays</b>	<b>58</b>
4.2.1 Bakterielle Adhäsion an schaltbare Glycothymidin-Oberflächen – Proof of Principle	58
4.2.2 Versuche zur Analyse der funktionalisierten Mikrotiterplatte	70
4.2.3 Strukturelle Variation des Spacers	78
<b>4.3 Glycothymidin-SAMs auf Quarzoberflächen</b>	<b>85</b>
<b>4.4 Synthese eines divalenten Glycothymidins auf PAMAM-Basis</b>	<b>90</b>
<b>4.5 Glycothymidin-funktionalisierte Polystyrolkolloide – Nanocandies</b>	<b>94</b>
4.5.1 Synthese und Photovernetzung von Thymidin-funktionalisierten Polystyrolkolloiden	96
4.5.2 Synthese und Photovernetzung von Glycothymidin-funktionalisierten Polystyrolkolloiden	100
4.5.3 Wechselwirkung von Glykokolloiden mit Typ-1-fimbrierten <i>E.coli</i>	106
<b>4.6 Glycothymidin-Micellen – ein Membranmodell</b>	<b>116</b>
<b>4.7 Synthese eines DMAdo-Phosphoramidits</b>	<b>128</b>

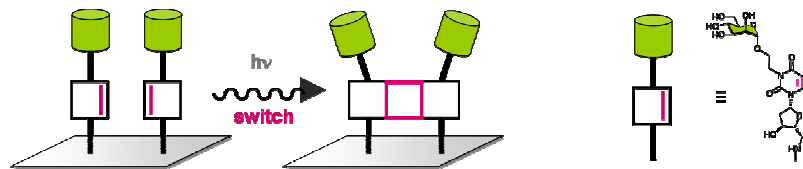


<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>131</b>
<b>6</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b>	<b>136</b>
<b>6.1</b>	<b>Allgemeine Methoden</b>	<b>136</b>
<b>6.2</b>	<b>Einzelvorschriften</b>	<b>141</b>
<b>6.3</b>	<b>Bakterielle Adhäsionstests</b>	<b>233</b>
<b>7</b>	<b>LITERATUR</b>	<b>237</b>

## Im Überblick

Die Kommunikation zwischen Zellen und ihrer Umgebung ist grundlegend für das Leben jedes Organismus. Neben den Proteinen und den Nucleinsäuren sind die Kohlenhydrate eine dritte Klasse von Biopolymeren, die eine zentrale Rolle in der Zellerkennung und Zellkommunikation spielt. Oligosaccharide und Glykokonjugate werden in großer Zahl auf der Plasmamembran eukaryontischer Zelloberflächen exponiert und bilden eine heterogene nanodimensionierte Zuckerschicht, die als Glycocalyx bezeichnet wird. Die Glycocalyx ist in eine Reihe essentieller biologischer Prozesse involviert, deren molekulare Details noch nicht umfassend verstanden sind. Ein in der Glycobiologie bisher vernachlässigter Aspekt bei der Zellkommunikation ist das Prinzip der konformationellen Kontrolle.

Daher widmet sich die vorliegende Arbeit der Untersuchung konformationeller Veränderungen auf glycosylierten Oberflächen und ihren Auswirkungen auf die zelluläre Adhäsion. Es wurde ein glycomimetisches System entworfen, welches die Untersuchung mannosespezifischer bakterieller Adhäsion an maßgeschneiderte glycosylierte Oberflächen in Abhängigkeit konformationeller Veränderungen innerhalb des Glycoarrays erlaubt. Neuartige Glycothymidin-Derivate wurden als photoschaltbare Glycomimetika synthetisiert und ihr photochemisches Verhalten untersucht. Ihre Belichtung mit  $\lambda > 295$  nm induziert eine [2+2]-Cycloaddition und führt so zur Bildung von Dimeren. Bei der Testung der Glycothymidin-Derivate als Inhibitoren Typ-1-Fimbrien-vermittelter bakterieller Adhäsion zeigte sich in Lösung kein Unterschied zwischen den valenzbereinigten inhibitorischen Potenzen der monomeren und der dimeren Form. Weitere Derivatisierung ermöglichte die Immobilisierung der Derivate auf Mikrotiterplatten zur Darstellung eines photosensitiven Glycoarrays. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Belichtung des Glycoarrays zu einer [2+2]-Cycloaddition der immobilisierten Glycothymidin-Derivate führt. Die daraus resultierende strukturelle Veränderung bewirkt im Gegensatz zu der Situation in Lösung eine signifikante Verminderung der bakteriellen Adhäsion an die entsprechende Oberfläche. Diese Ergebnisse lieferten erste Hinweise auf einen Effekt konformationeller Veränderung innerhalb einer glycosylierten Oberfläche auf die zelluläre Adhäsion.



Für eine bessere Charakterisierung der immobilisierten Glycanoberfläche wurden Glycothymidin-Derivate dargestellt, die in Form von *self assembled monolayers* (SAMs) auf Quarzoberflächen immobilisiert werden konnten. Auf Quarz kann die Oberfläche mittels UV-Spektroskopie analysiert werden.

Photoschaltbare Glycothymidine ermöglichten außerdem die Funktionalisierung kolloidaler Polystyrolpartikel. Durch die erhöhte Hydrophilie der Partikeloberfläche waren die Kolloide in Wasser dispergierbar. Die photosensitive Glycothymidin-Einheit erlaubte erstmals eine lichtinduzierte reversible Vernetzung der Partikel in wässriger Dispersion, was für die Untersuchung von Cluster- und Gelbildungsprozessen kolloidaler Dispersionen interessant ist. In der Wechselwirkung mit Bakterien zeigte sich eine spezifische Interaktion mit den glycosylierten Partikeln. Als Konsequenz der großen Zahl an Kohlenhydrat-Liganden auf der Partikeloberfläche, gepaart mit der Vielzahl bakterieller Fimbrien führte die dreidimensionale Interaktion zur Vernetzung der Komponenten in Form makroskopisch sichtbarer Aggregate.

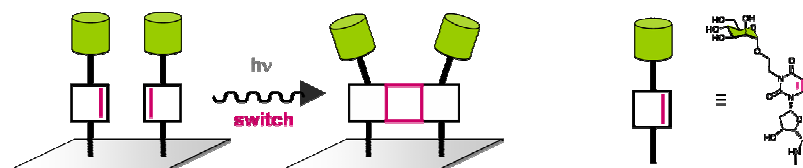
Schließlich wurde auch die Darstellung gemischter Micellen aus amphiphilen Glycothymidin-Derivaten und SDS als einfaches Membranmodell realisiert. Die erfolgreiche Einlagerung in die Micellen wurde mittels NMR-Diffusionsmessungen belegt. Die Belichtung der Micellen führte zur Dimerbildung, die mittels NMR-Spektroskopie verfolgt werden konnte. Dies liefert einen wichtigen Hinweis darauf, dass die photoinduzierte Dimerisierung von Glycothymidinen auch in einem supramolekularen Verbund abläuft.

Glycothymidin-Derivate stellen also eine neue Klasse photoschaltbarer Glycomimetika dar, deren Photodimerisierung in Lösung, auf Oberflächen oder in kolloidaler Dispersion gezeigt werden konnte. Dabei wird jeweils eine konformationelle Änderung der Glycan-Präsentation induziert, die sich tatsächlich auf das Ausmaß bakterieller Adhäsion an die glycosylierte Oberfläche auswirkt. Damit wurden erstmals Hinweise auf den Einfluss konformationeller Kontrolle bei der Kohlenhydraterkennung deutlich.

## At a Glance

Communication between cells and their environment is fundamental for every living organism. Besides proteins and nucleic acids, carbohydrates are a third class of essential biopolymers that serve as molecular key players in cell recognition and cellular communication. A multitude of oligosaccharides and glycoconjugates are displayed on the plasma membrane of eukaryotic cells, forming a heterogeneous nanodimensioned sugar layer, the so-called glycocalyx. The glycocalyx is involved in a variety of biological communication processes, however, the molecular details behind these processes are not yet completely understood. Among the various mechanistic principles functioning in glycobiology, conformational control has been neglected so far, whereas it represents an otherwise renowned control mechanism in biology.

Consequently, this thesis is focussed on the investigation of conformational changes on glycosylated surfaces and their influence on cellular adhesion. To allow such a study, a glycomimetic system was designed to probe mannose-specific bacterial adhesion to a tailor-made glycosylated surface dependent on photoinduced conformational changes within this glycoarray. Thus, new glycothymidine derivatives were synthesized and their photochemical properties were investigated. Irradiation with  $\lambda > 295$  nm induces a [2+2]-cycloaddition leading to the formation of dimers (cf. Figure). Testing of glycothymidine monomers as well as dimers as inhibitors of type 1 fimbriae-mediated bacterial adhesion revealed no significant difference between the monomers and the respective dimers on a valency-corrected basis. Then, further derivatisation allowed immobilization of the glycothymidines on microtiter plates. The glycothymidines within the obtained photosensitive glycoarray can be assumed to undergo a [2+2]-cycloaddition upon irradiation of the surface. Whereas photodimerisation did not influence the inhibitory potency of the ligand in solution, the concomitant subtle conformational change within the glycosylated surface led to significantly reduced bacterial adhesion to the respective surface. This finding provides a first indication that a conformational change within a glycoarray has an effect on cellular adhesion.



To allow characterisation of the immobilized glycan surface via UV spectroscopy, glycothymidine derivatives suitable for immobilization on glass, were synthesized to form glycoarrays in form of *self assembled monolayers* (SAMs).

Furthermore, photoswitchable glycothymidines allowed the functionalisation of colloidal polystyrene particles. Due to the higher hydrophilicity of the particle surface, a sterically stabilised dispersion in water is formed. The photosensitive glycothymidine unit allowed for a light-induced reversible cross-linking of the particles in aqueous dispersion, which has not yet been described for similar systems. This is of interest for the investigation of cluster formation and gelation processes of colloidal dispersions. The glycosylated particles were shown to specifically interact with type 1-fimbriated bacteria. As a consequence of the pronounced multivalency of carbohydrate ligands displayed on the particle surface in combination with the large number of bacterial fimbriae, the interaction led to crosslinking and formation of macroscopic aggregates.

Finally, the formation of mixed micelles with amphiphilic glycothymidines and SDS was realized as a simple membrane model. Success of the glycothymidine integration into micelles was proven by NMR diffusion experiments. Irradiation of the micelles led to internal dimer formation, which was followed by NMR spectroscopy. This finding provides an important hint, that the light-induced dimerisation of glycothymidines is possible in a three-dimensional supramolecular assembly.

In conclusion, glycothymidines present a new class of photoswitchable glycomimetics, which can be photodimerised in solution, on surfaces or in colloidal dispersions. In either case a conformational change of the glycan presentation is induced upon irradiation, which was shown to influence the amount of bacterial adhesion to the respective glycosylated surface. This finding provides, for the first time, an indication about an effect of conformational control in carbohydrate recognition.

## Allgemeine Abkürzungen

9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AIBN	2,2'-Azoisobutyronitril
Aquiv.	Äquivalente
Ar	Aryl
atm.	Atmosphären
ATR	<i>engl.</i> : attenuated total reflection
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
br (IR)	breit
BSA	<i>engl.</i> : bovine serum albumine
Bz	Benzoyl
c	Konzentration
CCA	<i>engl.</i> : $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid
cm <sup>-1</sup>	Wellenzahl
cmc	<i>engl.</i> : critical micelle concentration
COSY	<i>engl.</i> : correlated spectroscopy
CPD	Cyclobutanpyrimidindimer
CRD	<i>engl.</i> : carbohydrate recognition domain
Cy	Cyclohexan
$\delta$	chemische Verschiebung in ppm
D	Diffusionskonstante
d	Tag
d (NMR)	Dublett
DBDMH	Dibromdimethylhydanthoin
DBU	1,8-Diazobicyclo[5.4.0.]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	<i>engl.</i> : distortionless enhancement by polarisation transfer
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat

---

DIPEA	<i>N</i> -Diisopropyl- <i>N</i> -ethylamin
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMT	4,4'-Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DOSY	<i>engl.</i> : diffusion ordered spectroscopy
ELISA	<i>engl.</i> : enzyme linked immunosorbent assay
ESI	<i>engl.</i> : electrospray ionisation
Et	Ethyl
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
g	Gramm
Gal	Galactose
GC	Gaschromatographie
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Glc	Glucose
GFP	<i>engl.</i> : green fluorescent protein
GPC	Gel-Permeationschromatographie
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GT	Glycothymidin
h	Stunde(n)
HBTU	O-(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HMBC	<i>engl.</i> : heteronuclear multiple bond correlation
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>engl.</i> : high performance liquid chromatography
HRESI	<i>engl.</i> : high resolution electrospray ionisation
HSQC	<i>engl.</i> : heteronuclear single quantum coherence
Hz	Hertz
IC	Inhibitorische Konzentration
IR	Infrarot
IUPAC	International Union for Pure and Applied Chemistry

LB	<i>engl.</i> : lysogeny broth
kat.	katalytisch
m	Meter
m (NMR)	Multiplett
m <sub>c</sub> (NMR)	zentriertes Multiplett
mg	Milligramm
mL	Milliliter
mol	Mol
M	Molmasse
M	Molarität
MALDI	<i>engl.</i> : matrix assisted laser desorption ionisation
Man	Mannose
MBP	<i>engl.</i> : mannose binding protein
Me	Methyl
MeMan	Methyl- $\alpha$ -D-mannosid
min	Minuten
MPLC	<i>engl.</i> : medium pressure liquid chromatography
MS	Massenspektrometrie
NMR	<i>engl.</i> : nuclear magnetic resonance
OD	Optische Dichte
<i>p</i>	<i>para</i>
p.a.	<i>lat.</i> pro analysi
PAMAM	Polyamidoamin
PBS	<i>engl.</i> : phosphate buffered saline
PBST	<i>engl.</i> : phosphate buffered saline tween
PEG	Polyethylenglycol
Ph	Phenyl
<i>p</i> NPMan	<i>p</i> -Nitrophenylmannosid
ppm	<i>engl.</i> : parts per million
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
PS	Polystyrol
q (NMR)	Quartett
quant.	quantitativ
R	Rest

---

Ribo	Ribose
RIP	<i>engl.</i> : relative inhibitory potency
RNA	Ribonucleinsäure
Raumtemp.	Raumtemperatur
RP	<i>engl.</i> : reversed phase
$R_f$	Retentionsfaktor
$R_H$	hydrodynamischer Radius
s (NMR)	Singulett
SAM	<i>engl.</i> : self assembled monolayer
SD	<i>engl.</i> : standard deviation
SDS	<i>engl.</i> : sodium dodecyl sulfate
SFG	<i>engl.</i> : sum frequency generation
T	Temperatur
t (NMR)	Triplett
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TEG	Triethylenglycol
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TFA	Trifluoressigsäure
Tf	Trifluormethansulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
thy	Thymin
TMS (NMR)	Trimethylsilan
TMS	Trimethylsilyl
ToF	Time of Flight
Tol	Toluol
UpM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett





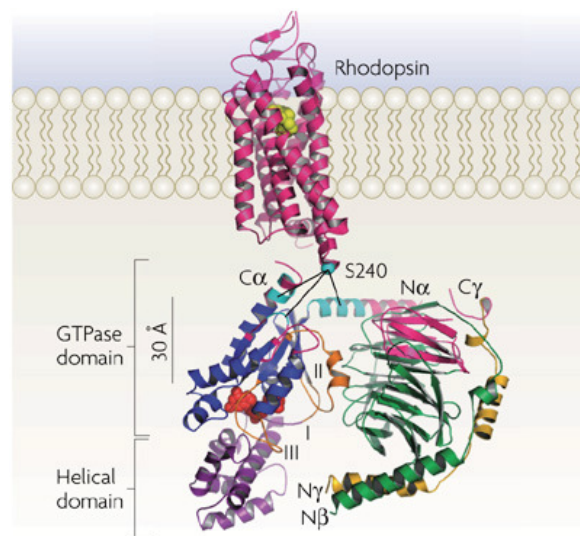
# 1 Einleitung

## 1.1 Kommunikation durch konformationelle Kontrolle

Die Kommunikation zwischen Zellen und ihrer Umgebung ist grundlegend für das Leben eines jeden Organismus.<sup>[1-3]</sup> Chemische und physikalische Reize aus der Umgebung werden von der Zelle empfangen, weitergeleitet und in eine intrazelluläre Reaktion umgesetzt („Signalling“). Diese Kommunikationsprozesse zwischen „Innen und Außen“ einer Zelle stehen mit der Regulation von Entwicklung und Wachstum sowie der körpereigenen Immunantwort in engem Zusammenhang. Dem Signaltransfer liegt ein komplexes Netzwerk biochemischer Prozesse zugrunde. Das primäre Signal wird in der Regel in kaskadenartigen Prozessen durch chemische und elektrische Vorgänge mehrfach umgewandelt und weiterverarbeitet und resultiert schließlich in einer biochemischen Antwort wie Änderung von Genexpression oder Enzymaktivität. Verschiedene Signalwege der interzellulären Kommunikation unterscheiden sich deutlich in der Natur des Signals und den Mechanismen seiner Registrierung und Weiterleitung. So können Zellen Signale in Form von chemischen Botenstoffen (z. B. Hormone, Pheromone und Neurotransmitter), in Form von optischen Reizen (z. B. die lichtinduzierte Synthese von Vitamin D), elektrischen Reizen (z. B. Änderungen des Membranpotentials zur Reizweiterleitung im Nerv) oder anderen Reizen erhalten. Für die Aufnahme und Weiterleitung des Signals sind in vielen Fällen spezialisierte Proteine verantwortlich, die als Rezeptoren bezeichnet werden. Der Empfang des Signals durch den Rezeptor geht häufig mit seiner konformationellen Änderung einher. Diese Änderung stellt dann den initialen Impuls der intrazellulären Signalkaskade dar, die letztendlich zu einer definierten biochemischen Antwort führt.

Ein prominentes Beispiel für eine Reaktionskaskade, bei der eine konformationelle Änderung die erste Reaktion auf einen externen Impuls darstellt, ist der Sehprozess, für den der Proteinkomplex Rhodopsin eine entscheidende Funktion hat. Rhodopsin ist einer der bekanntesten Vertreter der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren.<sup>[4-7]</sup> Diese stellen eine der größten Klassen integraler Membranrezeptoren dar und sind unter anderem für die Aufnahme von Licht-, Geruchs- und zahlreichen Geschmacksreizen verantwortlich.<sup>[8]</sup> Auch die Rezeptoren für Neurotransmitter oder Hormone wie Adrenalin und Glucagon sind Vertreter dieser Klasse. Charakteristisch für die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren sind sieben Transmembranhelices, die nach Bindung des Agonisten eine Konformationsänderung eingehen (Abbildung 1). Infolge dieser strukturellen Änderung wird das Signal über GTP-

bindende Proteine (G-Proteine) in das Innere der Zelle weitergegeben. Im Fall der visuellen Transduktion wird der Rezeptor Rhodopsin anstelle der Bindung eines Agonisten durch den Einfall von Licht auf die Retina aktiviert. Das Chromophor 11-*cis*-Retinal ist in Form einer Schiff'schen Base über eine Lys- $\epsilon$ -Aminogruppe kovalent an den Proteinteil (Opsin) des Rhodopsins gebunden. Die Absorption eines Photons reicht aus, um eine *cis-trans*-Isomerisierung des 11-*cis*-Retinals zum all-*trans*-Retinal zu bewirken. Die Strukturänderung des Chromophors resultiert in einer konformationellen Änderung in den Transmembranhelices des Proteins und stellt den ersten Schritt der Signaltransduktion dar.



**Abbildung 1:** Struktur des Rhodopsins im Komplex mit dem G-Protein Transducin. Das Rhodopsin (pink) besitzt sieben Transmembranhelices und hat seinen Carboxyterminus auf der cytosolischen Seite der Membran. Das Chromophor Retinal (gelb) ist über eine Schiff'sche Base an die Seitenkette von Lys256 gebunden und befindet sich ungefähr im Zentrum der Lipiddoppelschicht.<sup>[5]</sup>

Infolge der konformationellen Änderung des Rhodopsins wird ein zweites Protein, Transducin, auf der cytosolischen Seite der Membran aktiviert. Dieses heterotrimere G-Protein bindet im inaktiven Zustand GDP, welches im aktivierten Zustand durch GTP aus dem Cytosol ersetzt wird. Die anschließende Dissoziation des Transducins führt dazu, dass eine integrale cGMP-Phosphodiesterase aktiviert und das Signal so weiterleitet wird. Aus der Enzymreaktion resultiert die Bildung eines Botenstoffes, der die Schließung bestimmter Ionenkanäle bewirkt, infolgedessen der Wiedereintritt von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ca}^{2+}$  blockiert ist. Ein Photon als initialer Stimulus bewirkt also eine Veränderung des Membranpotentials der Zelle.

Neben den Proteinen (*proteome*) und Nucleinsäuren (*genome*) stellen die Kohlenhydrate eine dritte Klasse essentieller Biopolymere dar, die Schlüsselemente zellulärer Kommunikation und Zellerkennung, sowie in der körpereigenen Immunantwort sind.<sup>[9-12]</sup> Zucker werden in

großer Zahl auf Zelloberflächen in Form von Oligosacchariden und Glycokonjugaten exponiert, die teilweise in der Zellmembran verankert sind oder über adhäsive Kräfte an Zelloberflächenmoleküle gebunden sind. Auf diese Weise ist die Zelle von einer nanodimensionierten Zuckerschicht umgeben, die als Glycocalyx bezeichnet wird.

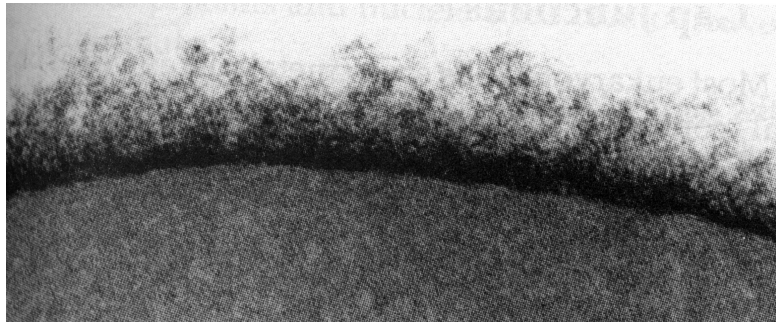
Die strukturelle Diversität von Kohlenhydraten übersteigt die der Nucleinsäuren und Proteine um ein Vielfaches.<sup>[13, 14]</sup> Die große Anzahl funktioneller Gruppen und Stereozentren resultiert in einer Vielzahl komplexer und hoch verzweigter Strukturen. Dies stellt die Basis der molekularen Komplexität des *glycome* dar, dessen Saccharidstrukturen in essentiellen biologischen Prozessen wie der Zellentwicklung, der Signaltransduktion, der Immunantwort<sup>[15, 16]</sup> und der Interaktion mit Toxinen<sup>[17]</sup> und Mikroben und damit auch in der bakteriellen Adhäsion involviert sind.<sup>[18, 19]</sup> Die molekularen Details, die diesen Prozessen zu Grunde liegen, sowie die Zusammenhänge zwischen Struktur und biologischer Funktion sind jedoch in vielen Fällen noch unbekannt.<sup>[20]</sup> Die Aufklärung dieser Prozesse wird durch die strukturelle Komplexität der Kohlenhydrate sowie die Dynamik von Struktur und Zusammensetzung der Zelloberflächen-Glycokonjugate erschwert. Hinzu kommen typische Multivalenzeffekte, die nicht unabhängig von der Konformation der Liganden und ihrem konformationellen Zusammenspiel betrachtet werden können.<sup>[21-25]</sup>

Das verhältnismäßig junge Feld der Glycobiologie, welches seine Ursprünge in der klassischen Kohlenhydratchemie und der Biochemie hat, gewinnt mit den wachsenden Erkenntnissen über die Funktion von Glycokonjugaten und Oligosacchariden auf der Zelloberfläche stetig an Bedeutung. Es besitzt eine große Relevanz für andere grundlegende Forschungsfelder, etwa in der Medizin oder der Biotechnologie.<sup>[26, 27]</sup>

## 1.2 Aufbau und Funktion der eukaryontischen Zellmembran

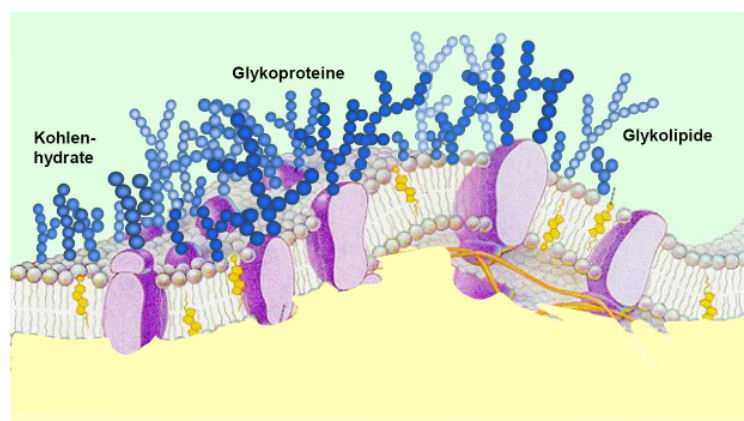
Auf der extrazellulären Seite jeder eukaryontischen Zellmembran wird eine komplexe Vielfalt verschiedener Kohlenhydratstrukturen exponiert (Abbildung 2). Diese nanodimensionierte heterogene Oligosaccharid-Schicht kann eine Dicke von 100 nm und mehr haben und wird unter anderem durch den Kohlenhydratteil von Glycokonjugaten, wie Glycolipiden, Glycoproteinen und GPI-Ankern gebildet, die über ihren hydrophoben Teil in der Zellmembran verankert sind oder als Proteoglycane nicht-kovalent an Zelloberflächenmoleküle anhaften.<sup>[12, 14]</sup> Die Gesamtheit dieser Glycokonjugat-Strukturen wird als Glycocalyx bezeichnet. Ihre Dicke, ihre Strukturierung wie auch ihre Zusammensetzung variieren stark mit dem Zelltyp und sind darüber hinaus auch vom

Entwicklungsstand einer Zelle und ihrem physiologischen bzw. pathologischen Zustand beeinflusst.<sup>[28, 29]</sup>



**Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Erythrocytenzelle.<sup>[2]</sup>**

Auch wenn der Großteil der natürlichen Oligosaccharidstrukturen im Wesentlichen aus den sechs Monosacchariden L-Fucose, D-Mannose, D-Galactose, N-Acetyl-D-glucosamin, N-Acetyl-D-galactosamin und N-Acetylneuraminsäure aufgebaut ist, stellen die Kohlenhydrate durch die Vielzahl ihrer funktionellen Gruppen und ihrer stereochemischen Information ein außergewöhnlich großes Repertoire zum Aufbau struktureller Vielfalt und zur molekularen Verschlüsselung von Information in der Glycocalyx dar.<sup>[30]</sup> Hinzu kommen unterschiedliche Modifikationen wie Acetylierung, Sulfatierung und Phosphorylierung, die die strukturelle Diversität noch erweitern. In dieser scheinbar unüberschaubaren Strukturvielfalt der Glycokonjugate gibt es jedoch sowohl unter den Glycoproteinen als auch unter den Glycolipiden einige wichtige Strukturen, die immer wieder auftreten (Abbildung 3).

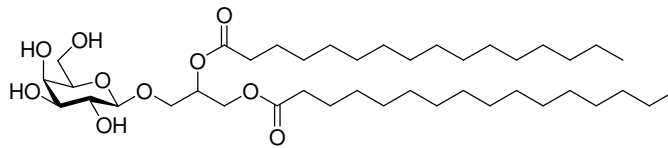


**Abbildung 3: Schematische Darstellung der eukaryontischen Zellmembran.<sup>[31]</sup>**

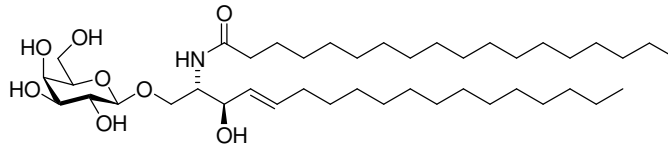
Die Glycolipide stellen den mengenmäßig größten Bestandteil der in der eukaryontischen Zellmembran verankerten Glycokonjugate dar. Wie bei allen Lipiden handelt es sich um

amphiphile Strukturen, wobei der hydrophile Teil von einem Saccharid gebildet wird.<sup>[32-34]</sup> Dieser kann im einfachsten Fall, wie bei den Cerebrosiden aus einem Galactose- oder Glucose-Monosaccharid bestehen, aber bei den Gangliosiden auch aus komplexen Oligosacchariden aufgebaut sein. Der lipophile Teil besteht entweder aus einem 1,2-Fettsäurediester des Glycerins oder aus dem Fettsäureamid von *N*-Acylsphingosin, der Ceramidstruktur. Man unterscheidet die beiden Glycolipid-Klassen in Glycoglycerolipide und Glycosphingolipide (Abbildung 4).

Galactosyldiacylglycerid - ein Glycoglycerolipid

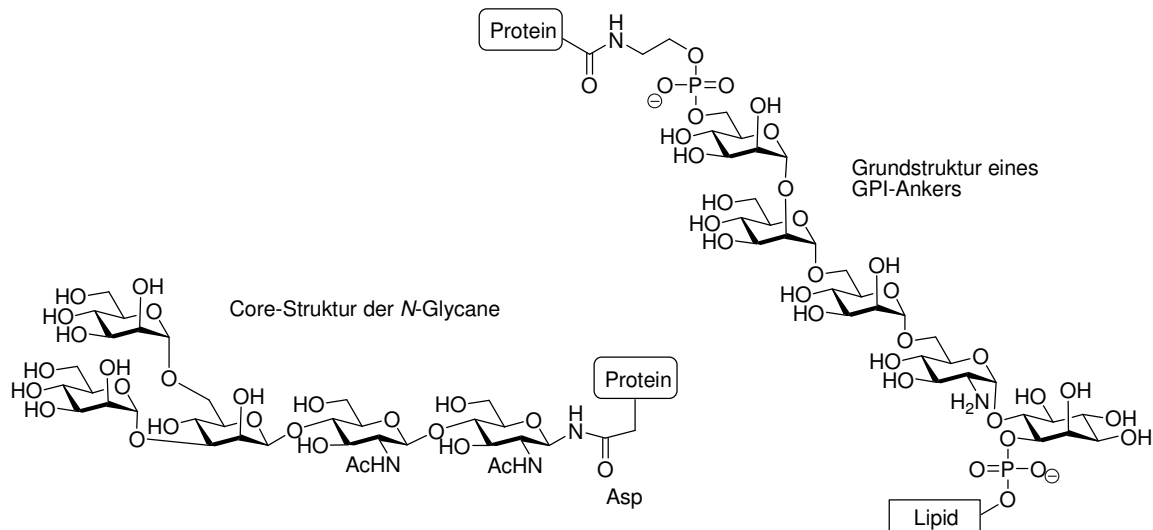


Galactosylcerebrosid - ein Glycosphingolipid



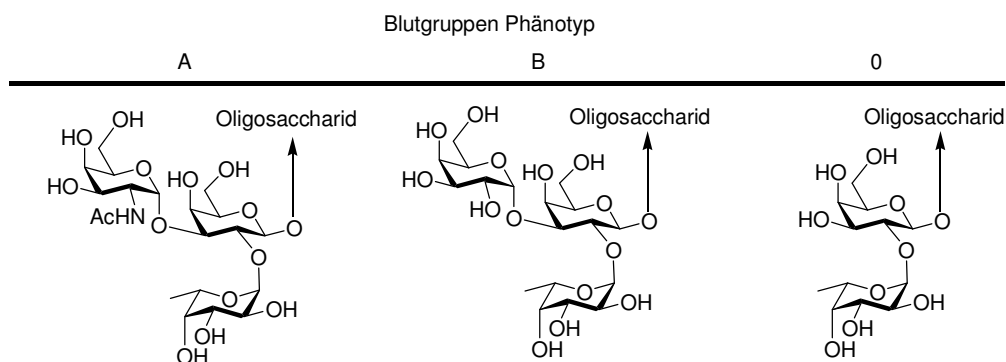
**Abbildung 4: Exemplarische Vertreter der Glycoglycerolipide und der Glycosphingolipide.**

In den natürlich vorkommenden Glycoproteinen ist die Saccharidstruktur meistens über eine *N*- oder über eine *O*-glycosidische Bindung mit dem jeweiligen Protein verbunden. In den sogenannten GPI-Ankern (Glycosylphosphatidylinositol-Anker) erfolgt die Verknüpfung der Saccharide mit dem Protein über einen Ethanolaminphosphat-Linker.<sup>[12, 35, 36]</sup> Im Falle der *N*-Glycoproteine sind die Glycane stets über eine terminale *N*-Acetylglucosamin-Einheit mit der Seitenkette eines Asparaginsäureesters des Proteins verbunden.<sup>[37]</sup> Die *O*-Glycoproteine sind durch die Verknüpfung verschiedener Kohlenhydrate mit der Seitenkette von Serin- oder Threonin gekennzeichnet. Während *O*-Glycane keine einheitliche Kernstruktur aufweisen, ist in den *N*-Glycanen und den GPI-Ankern jeweils eine festgelegte Gerüststruktur zu finden. Die *N*-Glycoproteine zeigen alle ein Pentasaccharidfragment, welches als *core region* bezeichnet wird (Abbildung 5). Die GPI-Anker bestehen aus einem Proteinteil, einem Kohlenhydrateil und einem Lipidteil. Ihre gemeinsame Minimalstruktur beinhaltet einen an das Protein gebundenen Phosphatidylethanolamin-Linker, ein Tetrasaccharid und eine Inositol-Einheit, welche mit einem Lipid verbunden ist (Abbildung 5). Beide Substanzklassen treten ausgehend von diesen Grundstrukturen in einfachen unverzweigten und hochverzweigten Formen auf.



**Abbildung 5: Kernstrukturen der N-Glycane und der GPI-Anker. Auehend von diesen Kernstrukturen bilden beide Verbindungsklassen weitere komplexe Verzweigungen („Antennen“) aus.**

Neben dem mechanischen Schutz der Zelle dient die Saccharidschicht als Dockingstelle für andere Zellen, Moleküle, Pathogene und regulatorische Faktoren und übernimmt wesentliche Aufgaben in der Zellkommunikation und Zelldifferenzierung.<sup>[35]</sup> Gleiche Zellen können sich erkennen und zu Verbänden zusammenschließen. Beim Eindringen von Fremdkörpern kann es hingegen zur Bildung von Antikörpern kommen. Ein anschauliches Beispiel für die Wichtigkeit Zell-spezifischer Glycosylierungsmuster sind die unterschiedlichen Blutgruppentypen, die durch Blutgruppen determiniert sind. So führen Unterschiede im Aufbau der Kohlenhydratepitope der Erythrocyten zu einer durch Antigene eingeleiteten Immunreaktion. Hierbei reagieren diese Antigene spezifisch auf die Saccharidstrukturen der verschiedenen Blutgruppen (Abbildung 6).<sup>[38]</sup>



**Abbildung 6: Darstellung der Kohlenhydratepitope der drei Blutgruppen A, B und 0.**

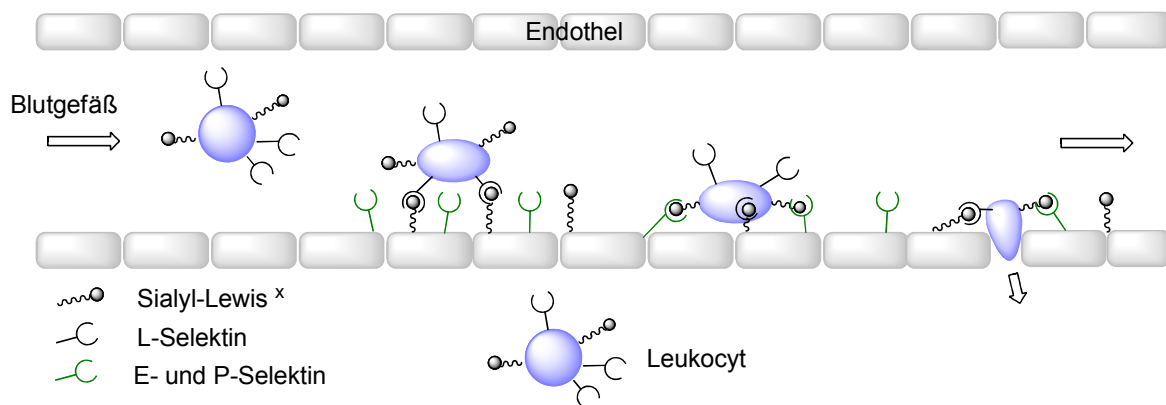
Alle Blutgruppen haben als Kohlenhydratepitope eine an die 2-Position eines D-Galactosids gebundene L-Fucose gemeinsam. Sie unterscheiden sich hingegen in der Substitution an der 3-Position des Galactosids. Während die Blutgruppe A an dieser Stelle eine

Funktionalisierung mit *N*-Acetylgalactosamin aufweist, tragen die Zellen der Blutgruppe B dort D-Galactose. Die Blutgruppe 0 ist an dieser Stelle unsubstituiert. Beim Kontakt mit dem Blut einer fremden Blutgruppe werden Antikörper gegen die jeweiligen Kohlenhydrat-Antigene gebildet.

### 1.2.1 Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen

Die Wechselwirkungen zwischen den natürlichen Saccharidstrukturen der Zelloberflächen und Proteinen basiert auf der Erkennung und der reversiblen Bindung hochspezifischer Proteinstrukturen. Diese sind in Antikörpern, bestimmten Enzymen und den sogenannten Lektinen zu finden.<sup>[39-42]</sup> Als Lektine werden alle kohlenhydratbindenden Proteine bezeichnet, die weder eine Enzymaktivität besitzen, noch Teil einer Immunreaktion sind. Meist sind dies integrale Membranproteine mit ihrer kohlenhydraterkennenden Domäne auf der extrazellulären Seite der Membran. Es gibt jedoch auch lösliche Lektine im Serum oder der extrazellulären Matrix. Bei den Lektinen handelt es sich um eine sehr heterogene Klasse von Proteinen, die stark in ihrer Funktion, Größe, Struktur, Vorkommen und vor allem in der Art der Kohlenhydratbindung variieren. Der an der Kohlenhydrat-Bindung beteiligte Teil des Proteins wird als kohlenhydraterkennende Domäne (*carbohydrate recognition domain*, CRD) bezeichnet. Die Erkennung basiert hierbei auf dem Zusammenwirken von Wasserstoffbrückenbindungen, die oft auch über Wassermoleküle oder  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen vermittelt werden, und hydrophoben Wechselwirkungen zwischen aromatischen Resten der Proteine mit den hydrophoben Anteilen der Saccharidstrukturen.<sup>[2, 43]</sup> Hierbei können spezifisch Monosaccharide, aber auch Di-, Tri-, Tetra- oder Oligosaccharide gebunden werden.<sup>[44]</sup> Viele Lektine sind oligovalent im Bezug auf die Anzahl ihrer CRDs und sind daher in der Lage ihre Liganden oder ganze Zellen zu vernetzen, so dass es zur Agglutination kommt. Ein Beispiel ist die Lektin-vermittelte Agglutination von Erythrocyten, die sogenannte Häm-Agglutination. Die Klassifizierung von Lektinen erfolgt anhand der Struktur und Aminosäuresequenz ihrer CRDs. So unterscheidet man Lektine vom C-, P-, I- und S-Typ (Galectine). Hierbei sind die C-Typ-Lektine, die eine  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige Kohlenhydratbindung gemeinsam haben, die größte Klasse der tierischen Lektine. Sie werden weiter in endocytotische Lektine, Kollektine und Selektine unterteilt. Die Funktion der Selektine bei Entzündungsreaktionen soll hier als Beispiel für ihre Rolle in vielen wichtigen biologischen Prozessen dargestellt werden (Abbildung 7).<sup>[45]</sup> Selektine werden entsprechend ihrer spezifischen Bindung an exponierte Kohlenhydrate des Endothels (E-Typ), der Lymphknoten (L-Typ) oder aktivierter

Thrombozyten (P-Typ) differenziert. Infolge eines Gewebeschadens produzieren Endothelzellen E- und P-Selektine, die an Sialyl-Lewis<sup>X</sup>-Einheiten auf der Leukozytenoberfläche binden. Die L-Selektine auf der Oberfläche der weißen Blutkörperchen wiederum erfassen das Tetrasaccharid auf der Gefäßwand. Dies führt dazu, dass die Leucocyten im Blutstrom an der Stelle des Entzündungsherdes abgebremst werden. Die inzwischen genau untersuchte Abfolge dieser attraktiven Wechselwirkungen ermöglicht den Leukozyten schließlich die Bewegung durch das Endothel hin zum Entzündungsherd und wird als Adhäsionskaskade der Leukozyten bezeichnet (Abbildung 7).<sup>[14, 46]</sup>



**Abbildung 7: Schematische Darstellung der Leukozyten-Adhäsion an Endothelzellen. Auf die Darstellung für die Bindung essentiellen Protein-Protein-Wechselwirkungen wurde verzichtet, und lediglich die Selektin-SLe<sup>X</sup>-Wechselwirkung gezeigt.**

## 1.2.2 Multivalenz

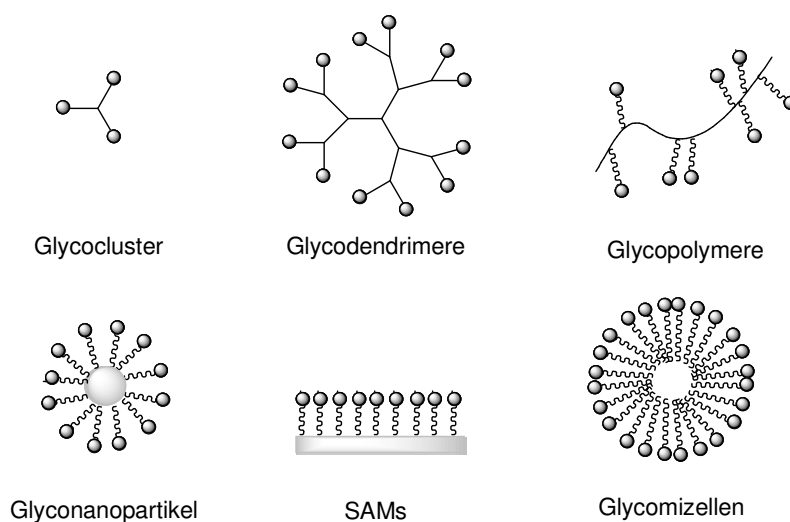
Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen regulieren essentielle zelluläre Vorgänge wie die Zellproliferation und die Zelladhäsion. Die Interaktion erfolgt über Zusammenwirken von Wasserstoffbrückenbindungen, ionische Interaktionen,  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen und van-der-Waals-Kräften. Die Affinität zwischen einem einzelnen Saccharid und einer CRD eines Lektins ist jedoch im Vergleich zu Protein-Protein-Wechselwirkung sehr schwach und in vielen Fällen wenig spezifisch. Die Bindungskonstanten liegen typischerweise im millimolaren bis mikromolaren Bereich. Erst das komplexe Zusammenspiel vieler dieser schwachen Interaktionen ermöglicht die hoch spezifische Wechselwirkung mit hoher Avidität und kann zu effektiver biologischer Bindung führen.<sup>[21, 23]</sup> Zu dieser multivalenten Interaktion führt einerseits die multivalente Präsentation der Kohlenhydratepitope auf der Glycocalyx, während in den Lektinen Multivalenz verschiedene Formen annehmen kann. So weisen einige Lektine mehrere CRDs innerhalb eines Polypeptids auf, wie im Fall des Mannose-Macrophagen-Rezeptors (MMR),<sup>[47]</sup> oder bilden oligomere Strukturen, wie das pflanzliche Lektin ConA, welches in dimerer oder tetramerer Form vorliegen kann. Darüber hinaus



können, wie im Fall der Selektine, Lektine geclustert in der Zellmembran vorliegen und so multivalente Interaktionen ermöglichen. Das Prinzip der Multivalenz weist gegenüber einer einzigen starken Bindung einige Vorteile auf. So kann eine Feinsteuerung, quasi ein Dimmen, der biologischen Aktion erfolgen. Die Oberflächenkontakte können maximiert werden, was die Stabilität der Bindung gegenüber Scherkräften erhöht und einen konformationellen Einfluss auf die Oberfläche ausübt. Darüber hinaus kann über multivalente Interaktionen ein Cross-Linking und die Aggregation multivalenter Glycoprotein-Rezeptoren auf der Zelloberfläche erfolgen, was wiederum Signaltransduktionsprozesse induzieren kann.<sup>[21, 23, 36, 48-50]</sup> Die ersten synthetischen Oligosaccharide, für die ein Multivalenz-Effekt beobachtet wurde, wurden 1978 von Y. C. LEE beschrieben.<sup>[51]</sup> Diese einfachen Clusterglycoside zeigten einen exponentiellen Zusammenhang zwischen ihrer Avidität und der Ligandenzahl, was als *glycoside cluster effect* beschrieben wurde. Seither gab es zahlreiche Versuche zur Beschreibung und Aufklärung dieses Effektes. Allgemein anerkannte Prinzipien, die sicherlich mit für den Effekt verantwortlich sind, sind der Chelat-Effekt und die durch eine Präorganisation der Liganden erhöhte Wahrscheinlichkeit der Bindung. Jedoch setzt ein umfassendes Verständnis von Multivalenz bei der Kohlenhydrat-Erkennung die genaue Kenntnis der in die jeweilige Interaktion involvierte Zahl und Konformation der Liganden und CRDs voraus, was meist nicht gegeben ist. Das Verständnis der Bedeutung von Multivalenz wird zusätzlich dadurch erschwert, dass es durch die multivalente Natur von Ligand und Rezeptor zur Bildung komplexer Netzwerke (Lattices) kommen kann. Dieses Feld wurde von F. BREWER detailliert untersucht.<sup>[48, 52, 53]</sup> Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass in biologisch relevanten Prozessen wie der zellulären Adhäsion im Gegensatz zu einer ‚isolierten‘ Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung zusätzlich die konformationelle Erreichbarkeit der Liganden, ihre Präsentation und die Ligandendichte, sowie makromolekulare Verhakelungen (*velcro effect*) eine Rolle spielen, die zunehmend Beachtung finden.<sup>[20]</sup> Unter der Vielzahl der für die Funktion der Glycocalyx essentiellen Faktoren, ist es wichtig, auch den Effekt konformationeller Veränderungen innerhalb der Zelloberflächensaccharide zu untersuchen. Dieser Aspekt spielt in vielen Bereichen biochemischer Prozesse eine Schlüsselrolle und wurde dort detailliert untersucht.<sup>[4, 54-57]</sup> Häufig stellt eine aus einem Bindungsereignis resultierende Konformationsänderung den ersten Schritt einer Signalkaskade dar, die letztlich in einer biochemischen Antwort mündet. Der Sehprozess und die ATP-Synthase sind prominente Beispiele für diesen Verlauf. Dieses ubiquitäre Prinzip der konformationellen Kontrolle biochemischer Abläufe fand bislang jedoch wenig Beachtung in der Glycobiologie.

### 1.3 Glycomimetika

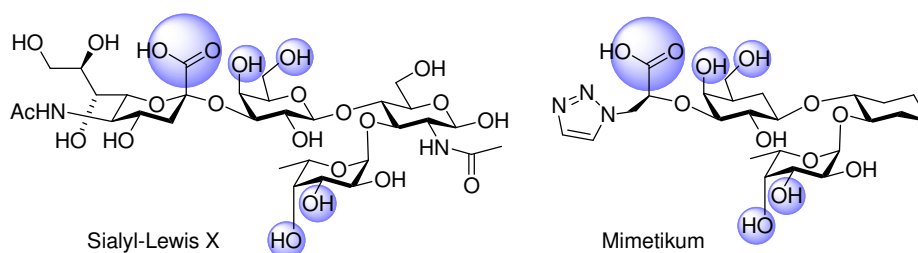
Zur Aufklärung der Funktion von Sacchariden und von Struktur-Aktivitätsbeziehungen biologisch relevanter Kohlenhydrate und Glykokonjugate werden die Substanzen in ausreichenden Mengen benötigt. Die Extraktion aus natürlichen Quellen ist aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit geeigneten Materials problematisch. Dies liegt vor allem an der hohen Diversität der Oberflächenglykokonjugate, die auch als Mikroheterogenität bezeichnet wird. Die Komplexität und Diversität der Strukturen erschwert auch deren Aufbau mittels chemischer oder enzymatischer Synthese und ist häufig nur in sehr aufwendigen Prozessen mit Hilfe umfangreicher Schutzgruppenstrategien möglich. Ein alternativer Ansatz ist daher die Verwendung so genannter Glycomimetika.<sup>[58]</sup> Hierunter werden modifizierte Saccharide verstanden, die die Struktur und Funktion natürlicher Kohlenhydrate imitieren, aber leichter zugänglich und gut variierbar sind. So kann die multivalente Natur der Oligosaccharide und Glykokonjugate bei der Synthese von Glycomimetika durch die Verwendung etablierter Methoden (z. B. Festphasensynthese, kombinatorische Chemie) erzielt werden. Basierend auf verschiedenen Gerüststrukturen können auf diese Weise zahlreiche Klassen von Glycomimetika, wie Glycocluster, Glycodendrimere, Glycomicellen oder Glycopolymere, etc. dargestellt werden.<sup>[23]</sup> Exemplarisch sind in Abbildung 8 einige Klassen multivalenter Mimetika veranschaulicht.



**Abbildung 8:** Verschiedene Klassen multivalenter Glycomimetika: Glycocluster, Glycodendrimere, Glycopolymere/Glycopeptide, Glyconanopartikel, Kohlenhydrat-Monoschichten (SAMs), Glycomicellen.

Ein entscheidender Vorteil bei der Verwendung von Glycomimetika ist die Option eines individuellen und maßgeschneiderten Designs, das für die jeweilige Anwendung optimiert und angepasst werden kann. So können durch zielgerichtete Optimierung Glycomimetika dargestellt werden, die beispielsweise im Vergleich mit ihren natürlichen Vorbildern eine

erhöhte biologische Aktivität, verbesserte pharmakologische Eigenschaften oder eine erhöhte Stabilität aufweisen. Exemplarisch soll hier die große Zahl der synthetisierten Mimetika für das Trisaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> erwähnt werden (Abbildung 9).<sup>[46, 59]</sup> Mit Hilfe der Untersuchung von Mimetika in der Selektin-Bindung konnten Aussagen über die für die Bindung relevanten funktionellen Gruppen sowie über andere strukturell relevante Aspekte getroffen werden. Im natürlichen Strukturgerüst sind lediglich die Säurefunktion der *N*-Acetyl-Neuraminsäure-Einheit sowie vier Hydroxylgruppen (4- und 6-OH der D-Galactose sowie 3- und 4-OH der L-Fucose) essentiell für die Bindung an E-Selektin. Ein kürzlich von ERNST et al.<sup>[60]</sup> publiziertes Beispiel für ein synthetisches Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetikum mit einer um den Faktor zwei verbesserten Affinität gegenüber dem Selektin ist in Abbildung 9 dargestellt. Hierbei wurde sowohl der strukturegebende Kern des Tetrasaccharids als auch die Neuraminsäureeinheit modifiziert.



**Abbildung 9: Sialyl-Lewis<sup>x</sup> und ein für die Selektin-Bindung optimiertes Mimetikum. Hervorgehoben sind jeweils die für die Bindung relevanten Gruppen.**

Neben der Optimierung und Aufklärung von Bindungsmechanismen bestimmter Liganden können bei der Synthese von Glycomimetika gezielt funktionelle Gruppen zur Untersuchung eines bestimmten funktionalen Aspektes in ein Mimetikum eingebaut werden. Die Integration eines Photoaffinitäts-Markers<sup>[61]</sup> oder eines Photoschalters<sup>[62]</sup> sind zwei wichtige Beispiele. Die Methode der Photoaffinitäts-Markierung wurde in der Arbeitsgruppe LINDHORST dazu genutzt, durch die Modifikation eines Kohlenhydrat-Liganden mit photolabilen funktionellen Gruppen lichtinduziert ein für diesen Liganden spezifisches Lektin zu markieren und somit Erkenntnisse über die CRD zu erhalten.<sup>[61]</sup> Photoschaltbare Glycomimetika wurden unter anderem von JAYARAMAN et al. beschrieben. Durch den Einbau einer Azobenzoleinheit in das Zentrum eines oligovalenten Glycoclusters konnte lichtinduziert die Affinität des Liganden gegenüber einem Lektin geschaltet werden.<sup>[62, 63]</sup> Die Synthese und Untersuchung geeigneter Glycomimetika kann so zu einem umfassenderen Verständnis der kohlenhydratvermittelten Prozesse auf natürlichen Zellmembranen führen. Schaltbare Glycomimetika sollten sich gerade auch für die Betrachtung des Aspektes der konformationellen Kontrolle in der Glycobiologie eignen.

## 2 Zielsetzung

Konformationelle Veränderungen sind ein ubiquitäres Phänomen in biologischen Kommunikationsprozessen und stellen häufig den ersten Schritt einer Signaltransduktionskaskade dar. Während das Prinzip konformationeller Kontrolle biologischer Funktion für zahlreiche Proteinzrezeptoren detailliert untersucht wurde, sind im Bereich der Glycobiologie in dieser Hinsicht viele Fragen offen.

Ziel der vorliegenden Dissertation ist die Synthese photoschaltbarer Glycomimetika zur Untersuchung des Effektes konformationeller Veränderungen auf die kohlenhydratvermittelte zelluläre Adhäsion. Ergebnisse dieser Untersuchung können möglicherweise erste Erkenntnisse über die Rolle konformationeller Kontrolle innerhalb der Glycocalyx bei biologischen Kommunikationsprozessen liefern.

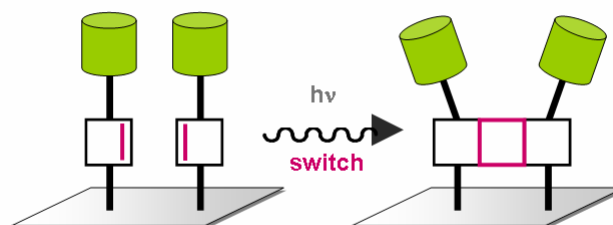
Zur Realisierung der Idee müssen geeignete photoschaltbare Glycokonjugate dargestellt werden, ihr photochemisches Verhalten untersucht und die Auswirkung der Schaltung auf die inhibitorische Potenz in der bakteriellen Adhäsion in Lösung untersucht werden. Bei der zellulären Adhäsion an glycosylierte Oberflächen spielen Multivalenz- und makromolekulare Effekte eine andere Rolle als in Lösung. Daher muss, zusätzlich zur Umsetzung des Konzeptes in Lösung, die Darstellung eines photosensitiven Glycoarrays mithilfe geeigneter Modelloberflächen realisiert werden und die bakterielle Adhäsion in Abhängigkeit der konformationellen Eigenschaften der Oberfläche getestet werden. Das Konzept sollte darüber hinaus durch die Funktionalisierung von kolloidalen Partikeln und Micellen auf dreidimensionale Systeme ausgedehnt werden.

## 3 Konzept

### 3.1 Design eines photoschaltbaren Glycomimetikums

Ziel dieser Arbeit ist das Design eines molekularen Systems zur Untersuchung der kohlenhydratspezifischen zellulären Adhäsion an glycosylierte Oberflächen in Abhängigkeit von konformationellen Veränderungen innerhalb dieser Oberfläche. Die zur Untersuchung der zellulären Adhäsion vorgesehene Glycoarray-Technik ist eine weit verbreitete Methode zur Analyse von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen. Sie erlaubt es, individuell maßgeschneiderte Glycan-Oberflächen schnell in vielen biologischen Systemen parallel zu untersuchen.<sup>[64]</sup>

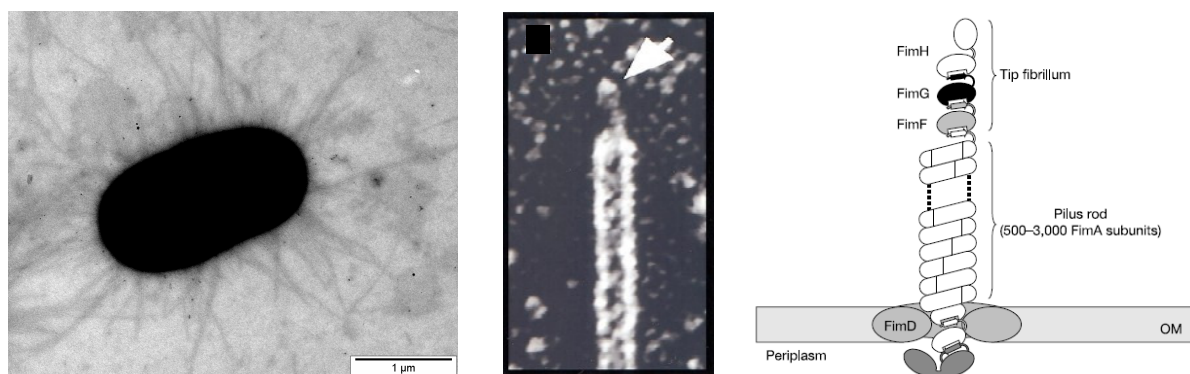
Es soll eine schaltbare glycomimetische Oberfläche hergestellt werden, in der durch einen externen nicht-invasiven Impuls eine Konformationsänderung ausgelöst werden kann. Zur konformationellen Kontrolle des Systems ist daher ein gut untersuchter molekularer Schalter in das Glycomimetikum einzubauen. Hierzu eignet sich idealerweise ein Photoschalter. Um den Fokus der Untersuchung ausschließlich auf die Rolle der Konformation bei der Kohlenhydraterkennung zu richten, muss das System gewährleisten, dass durch den Schaltvorgang andere Parameter, insbesondere die Valenz der Kohlenhydrate sowie ihre Ligandeneigenschaften, nicht beeinflusst werden. Das Konzept eines photoschaltbaren Glycoarrays ist schematisch in Abbildung 10 gezeigt. Zur Realisierung eines solchen photosensitiven Glycoarrays wird sowohl ein geeigneter Photoschalter als auch ein geeignetes Testsystem für die zelluläre Adhäsion benötigt.



**Abbildung 10:** Photoschaltbares Glycomimetikum zur Testung der zellulären Adhäsion an glycosylierte Oberflächen in Abhängigkeit von den konformationellen Eigenschaften des Glycoarrays. In diesem System werden durch das Schalten weder die Natur der Kohlenhydratliganden (grüne Zylinder) noch die Anzahl der Liganden verändert.

### 3.1.1 Typ-1-Fimbrien-vermittelte bakterielle Adhäsion zur Testung der zellulären Adhäsion

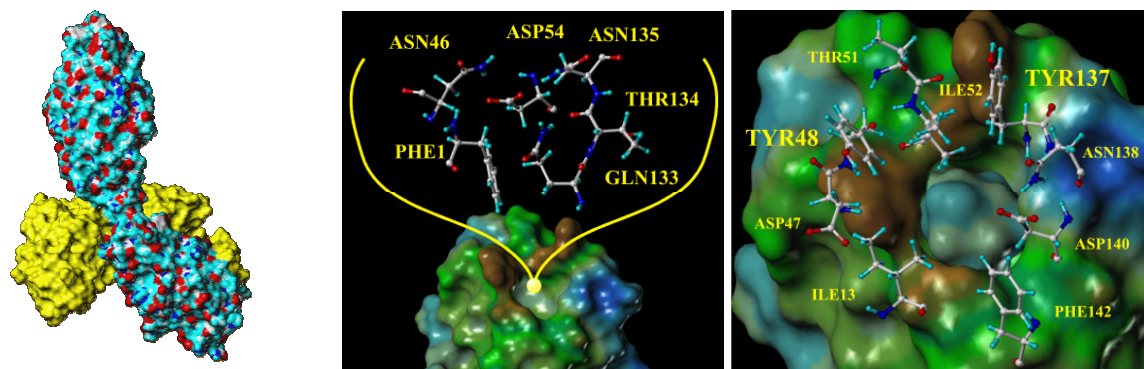
Um den Einfluss der konformationellen Änderung innerhalb eines photosensitiven Glycoarrays zu untersuchen, wurde die bakterielle Adhäsion als Testsystem gewählt. Die Mechanismen, die dieser Adhäsion zugrunde liegen, sind von zentralem Interesse in der biologischen Chemie.<sup>[65, 66]</sup> Ein etabliertes Testsystem zur Untersuchung der zellulären Adhäsion an glycosylierte Oberflächen ist die Typ-1-Fimbrien-vermittelte bakterielle Adhäsion an  $\alpha$ -mannosylierte Oberflächen.<sup>[67]</sup> Typ-1-Fimbrien sind adhäsive Organellen der uropathogenen *Escherichia coli*-Bakterien. In ihrer Funktion, die Anheftung der Bakterien an die Wirtszelle zu vermitteln und dadurch erst eine anschließende Invasion in die Zelle zu ermöglichen, besitzen die Fimbrien eine Schlüsselrolle für die bakterielle Virulenz.<sup>[68]</sup> In Gram-negativen Bakterien werden mehr als 25 dieser adhäsiven Organellen ausgebildet.<sup>[69]</sup> Die filamentartigen Protein-Komplexe, deren Biosynthese über den für viele adhäsive Organellen typischen „Chaperone/Usher-pathway“<sup>[70]</sup> verläuft, sind aus Hunderten einzelner Fim-Proteine aufgebaut.<sup>[71]</sup> Der Hauptbestandteil der Fimbrien sind die proteinogenen FimA-Untereinheiten. Diese sind, bedingt durch die so genannte Donor-Strang-Komplementierung<sup>[69]</sup> im Verlauf der Fimbrienbiosynthese, nicht-kovalent verknüpft und bilden den rechtsgängigen helicalen Schaft der Fimbrie. An der Spitze der Fimbrien sind die Adapter-Untereinheiten FimF und FimG und das Adhäsin FimH lokalisiert (Abbildung 11).



**Abbildung 11:** Links: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme eines Typ-1-fimbrierten *E. coli* Bakteriums. Mitte: Hochauflösende Elektronenmikroskopie einer Typ-1-Fimbrie, in der die zusammengesetzte Struktur der Fimbrien deutlich wird. Der Pfeil zeigt das Adhäsin FimH.<sup>[72]</sup> Rechts: Schematische Darstellung einer aus den unterschiedlichen Fim-Proteinen aufgebauten Typ-1-Fimbrie.<sup>[73]</sup>

Das für die bakterielle Adhäsion wichtige Protein FimH ist aus zwei Domänen aufgebaut. Die N-terminalen Lektindomäne wird Adhäsine genannt und ist für die spezifische Bindung der Kohlenhydrate verantwortlich, während die C-terminale Domäne als Pilin-Teil bezeichnet

wird und das Adhäsins mit dem Rest der Fimbrie verbindet.<sup>[74]</sup> Die erste Kristallstruktur von FimH mit gebundenem Liganden in der *carbohydrate recognition domain* (CRD) wurde 1999 von KNIGHT *et al.*<sup>[69]</sup> publiziert, wobei die Kristallisation des Lektins im Komplex mit dem Chaperone FimC erfolgte. Weitere Kristallstrukturen mit anderen Liganden folgten 2002<sup>[75]</sup>, 2005<sup>[74]</sup> bzw. 2008.<sup>[76]</sup> Alle Röntgenstrukturanalysen sprechen für die Existenz einer einzigen an der Spitze des FimH-Proteins lokalisierten Kohlenhydrat-erkennenden Domäne, die spezifisch für die Bindung von  $\alpha$ -D-Mannosiden ist. Die Bindung der  $\alpha$ -D-Mannoside ist hierbei zum einen durch die Verdrängung von sechs Wassermolekülen aus der CRD entropisch begünstigt. Zum anderen spielen mit der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen allen OH-Gruppen der Mannose und den überwiegend hydrophilen Aminosäuren innerhalb der CRD auch enthalpische Effekte für die Komplexierung eine Rolle. Abbildung 12 zeigt den FimH-FimC-Komplex mit einer Connolly-Oberfläche und die CRD in einer Darstellung, die die Hydrophilie der Aminosäuren widerspiegelt.



**Abbildung 12:** Links: FimH-FimC-Komplex mit einer Connolly-Oberfläche (FimC: gelb, FimH: die Farben stehen für die Atome; weiß: Kohlenstoff, cyan: Wasserstoff, rot: Sauerstoff, blau: Stickstoff). Rechts: Strukturelle Details der CRD,<sup>[77]</sup> a) hydrophile Aminosäuren im Inneren der CRD bilden Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Mannosyl-Liganden; b) Aminosäuren mit hydrophoben Seitenketten befinden sich am Eingang der CRD. Die Aminosäuren Tyr48 und Tyr137 bilden das so genannte „Tyrosin-Tor“ außerhalb der CRD und bewirken eine besondere Interaktion mit Mannosiden mit hydrophobem bzw. aromatischem Aglycon.<sup>[67, 69, 75]</sup>

Während das Innere der CRD maßgeblich aus hydrophilen Aminosäuren aufgebaut ist, wird die Peripherie der CRD durch Aminosäuren mit hydrophoben Seitenketten flankiert. Vor allem die Phenoleinheiten von Tyr48 und Tyr137, die das so genannte „Tyrosin-Tor“ bilden,<sup>[67, 69]</sup> sind für den hydrophoben Charakter im Eingangsbereich der Bindungstasche verantwortlich. Dies hat zur Folge, dass Mannoside mit einem hydrophoben, speziell einem aromatischen Aglycon eine deutlich höhere Affinität gegenüber dem Lektin FimH besitzen als beispielsweise Methylmannosid.<sup>[74, 75, 77]</sup> Zur Bestimmung der Affinität von Mono- und

Oligosacchariden gegenüber dem Lektin in Lösung wurden in der Arbeitsgruppe LINDHORST klassische Hämagglutinationshemmtests,<sup>[78]</sup> kompetitive ELISA<sup>[79]</sup> oder verwandte Inhibitions-Adhäsionstests verwendet.<sup>[80]</sup> Hierzu wurde in allen Fällen ein modifizierter *E. coli*-Stamm eingesetzt, der ausschließlich Typ-1-Fimbrien exprimiert. Darüber hinaus wurden diese Typ-1-fimbrierten *E. coli* genutzt, um direkt die bakterielle Adhäsion an unterschiedliche glycosylierte Oberflächen zu messen.<sup>[80]</sup> Dieses Testsystem eignet sich daher besonders zu der im Rahmen dieser Arbeit angestrebten Untersuchung des Einflusses einer konformationellen Änderung innerhalb eines photosensitiven Glycoarrays auf die zelluläre Adhäsion.

### 3.1.2 Thymidin als geeigneter Photoschalter

Eine weit verbreitete Klasse molekularer Schalter sind photochrome Verbindungen, die durch Bestrahlung mit einer spezifischen Wellenlänge zwischen elektronischen Konfigurationen hin und her wechseln können. Isomerisierungen und Cycloadditionen, wie sie von Azobenzolen, Diarylethenen, Dithienylethenen, Fulgiden, Stilbenen und Spiropyranen eingegangen werden, stellen die häufigsten Vertreter dieser photoinduzierten Reaktionen dar.<sup>[63, 81-88]</sup>

Eine unverzichtbare Anforderung an den molekularen Photoschalter ist vor allem ein gut untersuchter Schaltprozess, der zu einer signifikanten konformationellen Änderung führt. Darüber hinaus sind zueinander orthogonale funktionelle Gruppen erforderlich, die sowohl eine Substitution mit dem Glycosid als auch eine Immobilisierung an einer Oberfläche erlauben. Jedoch spielen auch die Faktoren Biokompatibilität und Wasserlöslichkeit für die Untersuchung der zellulären Adhäsion eine entscheidende Rolle, Kriterien, die von vielen gängigen molekularen Schaltern nicht erfüllt werden.

In diesem Zusammenhang erhält das Thymidin-Molekül eine besondere Attraktivität. Die photoinduzierte Cycloaddition von Thymidin stellt einen der häufigsten DNA-Schäden dar, so dass diese Photoreaktion ein Thema aktueller Forschung ist. Durch UV-Strahlung im Sonnenlicht kommt es zu einer [2+2]-Cycloaddition benachbarter Thymin-Nukleobasen im DNA-Doppelstrang. Dies kann zu einer fehlerhaften Replikation und Transkription führen, wenn dieser Schaden nicht durch Reparaturmechanismen behoben wird. *In vivo*-Studien haben ergeben, dass vor allem die CPD-Schäden (CPD: Cyclobutanpyrimidindimer) die Ursache der UV-bedingten Störung des Zellzyklus sind und in großen Teilen zur Karzinogenese beitragen. In Säugern erfolgt die Reparatur dieses Schadens über *nucleotide excision repair*.<sup>[89]</sup> Ein Reparatur-Enzym hydrolysiert zwei Phosphordiesterbindungen beidseits des Schadens, die entstehende Lücke wird anschließend von einer DNA-Polymerase



aufgefüllt und von einer Ligase verschlossen. In Bakterien findet zusätzlich eine direkte Reparatur durch Photolyasen statt. Diese Proteine besitzen als chromophoren Cofaktor immer ein nicht-kovalent gebundenes Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) und katalysieren unter Bestrahlung mit Licht größerer Wellenlängen (350-450 nm) die Photoreversion.<sup>[90-92]</sup>

Neben den Arbeiten zur Aufklärung von DNA-Reparaturmechanismen, gewinnen Thymidin und die Nucleobase Thymin jedoch auch als molekulare Photoschalter zunehmend an Bedeutung. So wurde die mit der Thymin-Photodimerisierung einhergehende strukturelle Veränderung dazu genutzt die Morphologie von Nanofasern<sup>[93]</sup> oder die Benetzbarkeit von Oberflächen<sup>[94]</sup> zu verändern. Darüber hinaus wurde die Cycloaddition zum Crosslinking von Polymeren und Nanopartikeln durch eine Funktionalisierung mit Thymin verwendet. Unter diesem Aspekt gelang INAKI etwa die reversible Photovernetzung von Polyvinylalkohol in wässriger Lösung.<sup>[95]</sup> NAKA nutzte die Reaktion zur photochemischen Aggregation von Gold-Nanopartikeln.<sup>[96]</sup>

Das Absorptionsmaximum von Thymidin liegt bei ca. 270 nm (Abbildung 13). Bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlängen  $\lambda > 280$  nm geht die Doppelbindung in der Nucleobase eine [2+2]-Cycloaddition ein, was zur Dimerisierung zweier Thymidin-Moleküle unter Bildung eines Cyclobutan-Derivates führt. Aufgrund der Repulsivität der im Dimer benachbarten Methylgruppen ist diese Cycloaddition im Gegensatz zu der von Uridin reversibel, wobei die Cycloreversion mit relativ energiereicher Strahlung bei einer Wellenlänge von 240 nm erfolgt. Bei Bestrahlung mit weißem Licht stellt sich ein photostationäres Gleichgewicht ein.

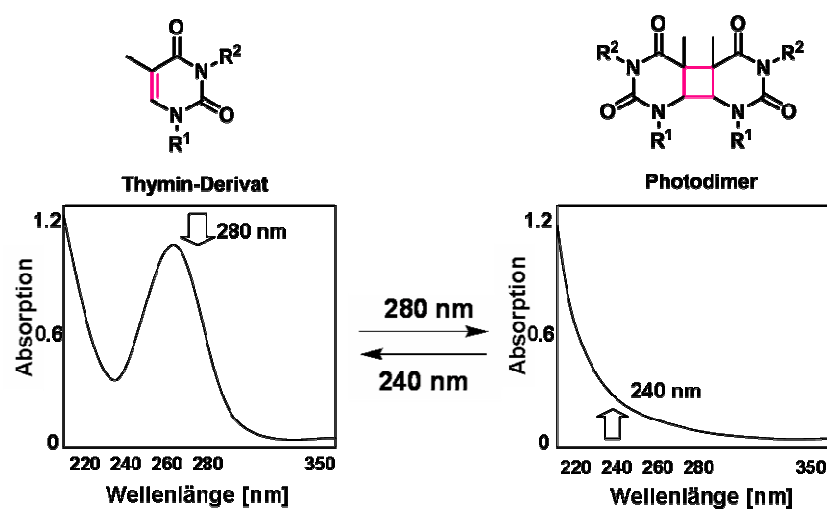
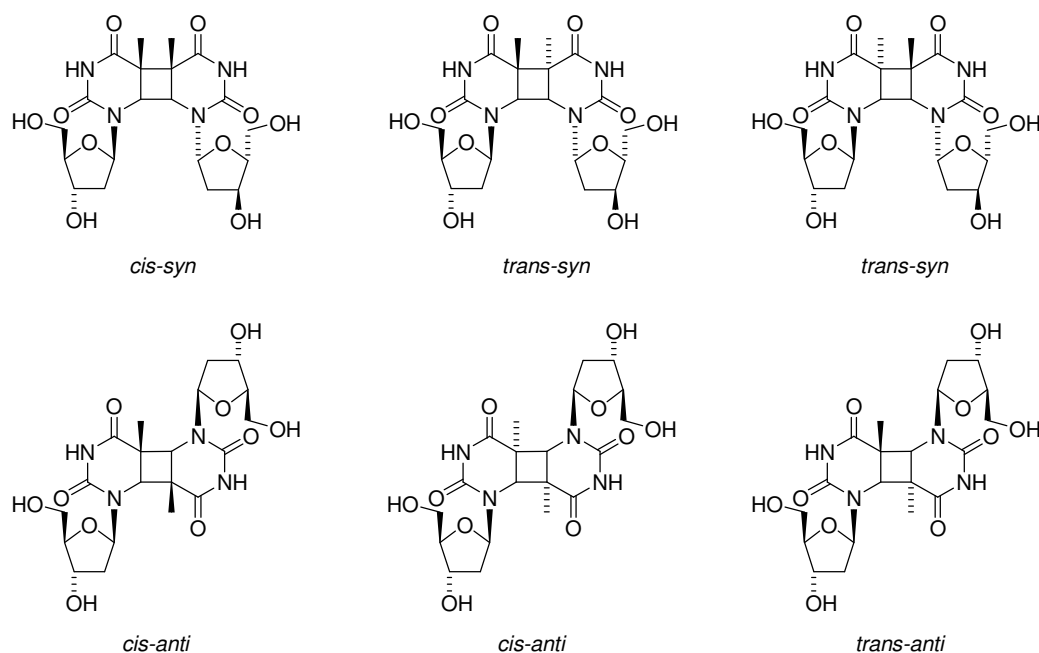


Abbildung 13: Die Photodimerisierung von Thymidin lässt sich unmittelbar anhand der UV-Spektren nachweisen.<sup>[97]</sup>

Generell sind Thymidin und seine Derivate in verdünnter Lösung relativ stabil gegenüber UV-Strahlung. In Lösung erfolgt die Dimerisierung aus dem Triplett-Zustand und die Intensität des Intersystem-Crossings ist gering. Hohe Cycloadditions-Ausbeuten können jedoch erzielt werden, wenn Aceton als Triplett-Sensitizer zugesetzt wird. Triplett-Sensitizer besitzen eine hohe Quantenausbeute beim Intersystem-Crossing und fördern so den Übergang von Thymidin in den Triplett-Zustand. In aggregierter Form, wie in den Strängen der DNA, in synthetischen Polymeren oder im Feststoff erfolgt die photoinduzierte Cycloaddition hingegen überwiegend aus dem Singulett-Zustand und verläuft daher mit hoher Reaktionsgeschwindigkeit.<sup>[97]</sup> Als Reaktionsprodukte der [2+2]-Cycloaddition entstehen je nach Orientierung der Nucleobasen zueinander sowohl *syn*- als auch *anti*-Produkte. Darüber hinaus kommt es aufgrund der Prochiralität an den Kohlenstoffatomen C5<sub>thy</sub> und C6<sub>thy</sub> bei der Dimerisierung zur Bildung von Stereoisomeren der Cyclobutanderivate. Wie in Abbildung 14 dargestellt können sich ein *cis-syn*-, zwei *trans-syn*-, zwei *cis-anti*- und ein *trans-anti*-Dimer bilden.



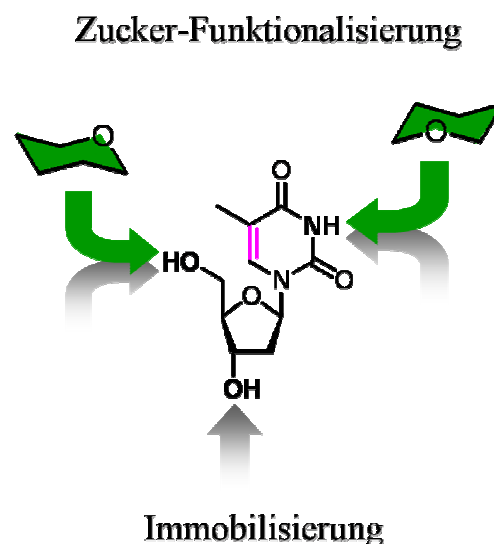
**Abbildung 14:** Bei der Belichtung von Thymidin entstehen sechs verschiedene Isomere des dimeren Cycloadditionsproduktes.

Im Vergleich zu zahlreichen anderen molekularen Photoschaltern bringt Thymidin einige Vorteile mit sich. Zwei wichtige Faktoren, die für die Verwendung als Schalter in einem Glycoarray entscheidend sind, sind die Biokompatibilität und die Wasserlöslichkeit. Diese sind gerade im Fall der häufig eingesetzten Azobenzolderivate im Gegensatz zu Thymidin nicht gegeben. Darüber hinaus bietet Thymidin als tetrafunktioneller Baustein eine hohe

Variabilität in der Funktionalisierung. Neben der Doppelbindung, die unter Bestrahlung selektiv die gewünschte Cycloaddition eingeht, stehen die primäre und die sekundäre Hydroxyfunktion der Ribose sowie die Imidfunktion der Pyrimidin-Nucleobase zur Funktionalisierung zur Verfügung. Das Nucleosid Thymidin wird somit allen Anforderungen gerecht, die an einen Photoschalter für die Verwendung in einem glycomimetischen System gestellt werden.

### 3.1.3 Design der Glycothymidine

Um die Synthese eines photosensitiven Glycomimetikums auf der Basis von Thymidin möglichst einfach und effektiv zu gestalten, wurde die Kohlenhydrateinheit auf die Minimalstruktur zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen reduziert. Im Fall des vorgesehenen Testsystems der Typ-1-Fimbrien vermittelten bakteriellen Adhäsion genügt die Wechselwirkung des Lektins FimH mit  $\alpha$ -D-Mannosyleinheiten. Daher war die Funktionalisierung des Nucleosids mit dieser für FimH spezifischen Glycosyleinheit vorgesehen. Diese Funktionalisierung mit der  $\alpha$ -D-Mannosyleinheit erfolgt hierbei am praktischsten über die 5'-Position der Ribose oder über die 3-Position der Nucleobase (Abbildung 15). Für die Immobilisierung stehen hingegen alle drei Funktionalitäten, die beiden Hydroxyfunktionen der Ribose sowie die Imidfunktion der Nucleobase, zur Verfügung.



**Abbildung 15: Möglichkeiten zur Funktionalisierung und Immobilisierung des Nucleosids Thymidin.**

So soll eine neue Klasse photosensitiver Glycokonjugate entstehen, die Glycothymidine. Glycothymidine erfüllen alle wichtigen Kriterien eines photosensitiven Glycomimetikums:

zum einen eine einfache Synthese, zum anderen die Möglichkeit zur spezifischen Variation einzelner struktureller Details. Vor allen Dingen erlaubt die photosensitive Gruppe durch einen externen Impuls (Licht) selektiv zwischen zwei Zuständen zu schalten. Die Immobilisierung dieser Glycithymidin-Derivate auf einer Oberfläche ermöglicht die Darstellung eines photosensitiven Glycoarrays. Durch Bestrahlung des Arrays könnte dann die [2+2]-Cycloaddition immobilisierter Glycithymidin-Moleküle ausgelöst werden, die in einer konformationellen Änderung der Oberfläche resultierte. Der Effekt dieser Veränderung auf die Wechselwirkung der Glycoarrays mit Proteinen bzw. Bakterien ist Ziel der Studie.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Darstellung und Untersuchung von Glycothymidinderivaten

#### 4.1.1 Synthese der Glycothymidine

Um Aussagen über den Effekt konformationeller Änderung innerhalb eines Glycoarrays aus photosensitiven Glycothymidin-Molekülen auf die bakterielle Adhäsion treffen zu können, wurden die Glycothymidine zunächst in Lösung auf ihre Affinität gegenüber dem Lektin FimH untersucht. Es wurden verschiedene Glycothymidin-Derivate synthetisiert, in denen sowohl die Position der Glycofunktionalisierung als auch die Art des Linkers zwischen Zucker und Nucleosid variieren. Dabei war man im Design der Derivate relativ frei, da das bakterielle Lektin FimH, abgesehen von seiner Spezifität für  $\alpha$ -D-Mannoside, keine weiteren strukturellen Anforderungen an seinen Liganden stellt.

#### Versuche zur Darstellung von 5'-O-funktionalisierten Glycothymidinderivaten

Ziel der ersten Synthesen war zunächst die selektive Funktionalisierung der primären Hydroxygruppe an der 5'-Position des Nucleosids mit einem  $\alpha$ -D-Mannosid. Als Ausgangssubstanz für diese Zuckerfunktionalisierung konnte mittels einer dreistufigen Synthese ein Thymidinderivat dargestellt werden, welches an der 3'-Position geschützt war und dessen 5'-Position für die weitere Funktionalisierung zu Verfügung stand (Abbildung 16). Zunächst wurde hierzu die 5'-Hydroxyfunktion durch die in der Nucleotidchemie sehr verbreitete Dimethoxytritylschutzgruppe regioselektiv geschützt.<sup>[98]</sup> Diese modifizierte Tritylschutzgruppe ist, neben sperrigen Silylschutzgruppen, eine der wenigen Gruppen, die aufgrund ihres hohen sterischen Anspruchs selektiv an der 5'-Position des Thymidins reagiert. Eine Umsetzung mit DMTCI lieferte das geschützte Nucleosid **2** in 89 %iger Ausbeute. Als Schutzgruppe für die 3'-Position wurde eine Allylfunktion gewählt. Diese ist zum einen orthogonal zu den meisten anderen funktionellen Gruppen, zum anderen bietet sie zahlreiche Möglichkeiten der weiteren Funktionalisierung. So könnten etwa eine Hydroborierung oder eine Kreuzmetathese zur Immobilisierung genutzt werden. Die Umsetzung mit Allylbromid im Ultraschallbad<sup>[99]</sup> lieferte das geschützte Thymidin **3**<sup>[100]</sup> in guten Ausbeuten von 93 %. Nach abschließender Abspaltung der DMT-Gruppe in 3 %iger TFA-Lösung in Dichlormethan<sup>[101]</sup> konnte das 3'-Allylthymidin **4**<sup>[102]</sup> in guten Ausbeuten erhalten werden.

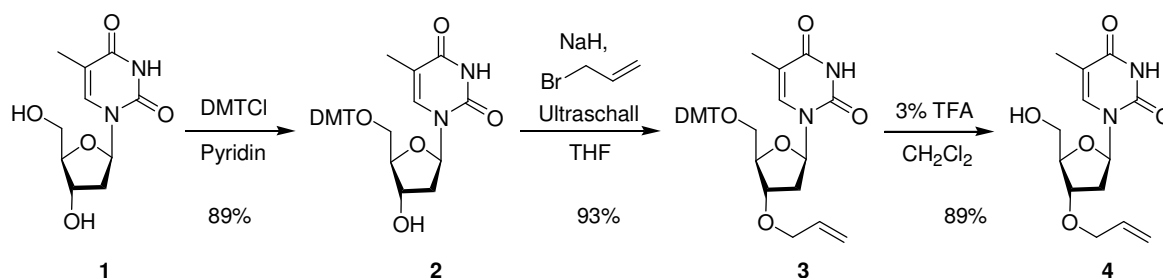


Abbildung 16: Darstellung des 3'-Allylthymidins **4** ausgehend von Thymidin **1** in drei Stufen.

Der erste Versuch einer selektiven Funktionalisierung mit einem Mannosylderivat erfolgte unter den Bedingungen einer Mitsunobu-Veretherung.<sup>[103, 104]</sup> Veretherungen unter Mitsunobu-Bedingungen erfordern neben einem aliphatischen Alkohol, der im Laufe der Reaktion durch einen nucleophilen Angriff substituiert wird, auch ein Phenolderivat. Dies fungiert unter den Reaktionsbedingungen als Protonendonator, da die Säurestärke aliphatischer Alkohole hierfür zu gering ist. Zur Darstellung der phenolischen Komponente wurde ausgehend von D-Mannose (**5**) das acetylierte *p*-Hydroxyphenylmannosid **10** synthetisiert, wobei die Glycosylierung nach Schmidts Trichloracetimidatmethode<sup>[105]</sup> erfolgte (Abbildung 17).

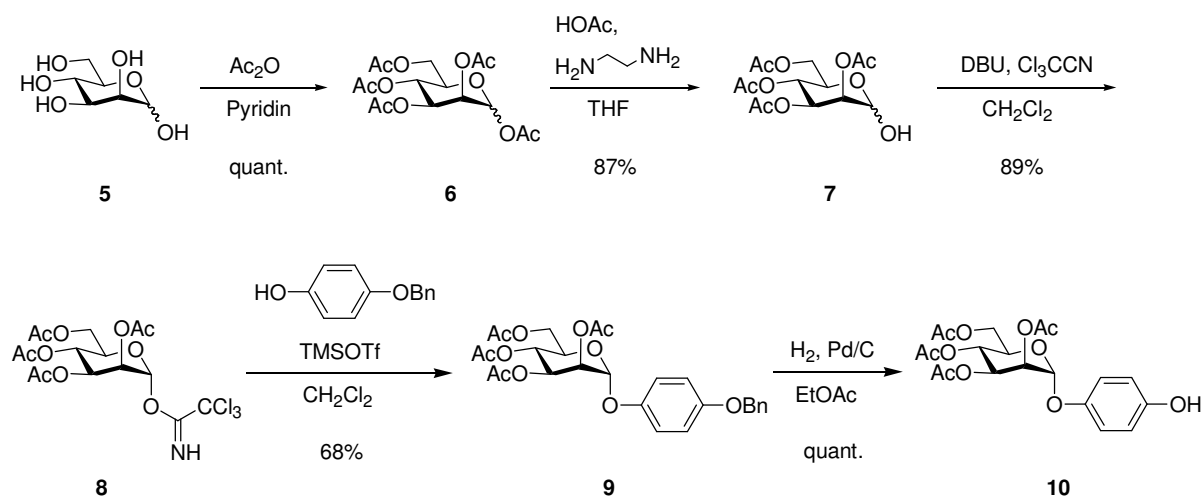


Abbildung 17: Synthese des *p*-Hydroxyphenylmannosids **10** ausgehend von D-Mannose (**5**) in fünf Stufen.

Zur Synthese des hierzu erforderlichen Glycosyldonors wurde D-Mannose (**5**) zunächst peracetyliert und anschließend mit Ethylendiamin und Essigsäure selektiv am anomeren Zentrum entschützt.<sup>[106]</sup> Die resultierende Tetraacetylmannose **7** wurde unter thermodynamischer Kontrolle mit der starken Base DBU und Trichloracetonitril stereoselektiv zum  $\alpha$ -Trichloracetimidat **8** umgesetzt.<sup>[105, 107]</sup> Die Glycosylierung mit *p*-Benzyloxyphenol verlief in moderaten Ausbeuten, wobei die Aktivierung des Glycosyldonors mit Hilfe katalytischer Mengen der Lewis-Säure TMSOTf in Dichlormethan erfolgte. In

einem letzten Schritt lieferte eine hydrogenolytische Abspaltung der Benzylschutzgruppe mit Palladium auf Aktivkohle unter Wasserstoffatmosphäre das freie Hydroxyphenylmannosid **10** in quantitativen Ausbeuten.

Der Versuch der Umsetzung von 3'-Allylthymidin **4** mit *p*-Hydroxyphenylmannosid **10** erfolgte unter Standard-Mitsunobu-Bedingungen mit Triphenylphosphin und DIAD (Abbildung 18). Jedoch konnte weder bei Raumtemperatur noch bei 40 °C eine Umsetzung der Edukte zum gewünschten Glycothymidin **11** beobachtet werden.

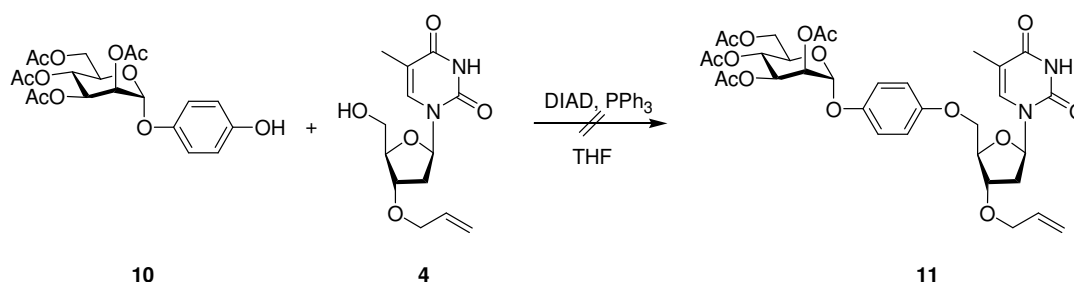


Abbildung 18: Versuch der 5'-*O*-Funktionalisierung von 3'-Allylthymidin **4** mit *p*-Hydroxyphenylmannosid **10** unter Mitsunobu-Bedingungen.

Als alternative Methode zur Verknüpfung des Thymidinderivates **4** mit einem Mannosid wurde eine Williamson'sche Ethersynthese gewählt. Hierzu erfolgte zunächst die Darstellung eines entsprechenden Mannosylbenzylhalogenids in zwei Stufen (Abbildung 19). In einer Glycosylierungsreaktion wurde ausgehend vom Trichloracetimidat **8** und *p*-Kresol als Glycosylakzeptor mit TMSOTf als Promotor das *p*-Methylphenylmannosid **12**<sup>[108]</sup> in guten Ausbeuten erhalten. Alternativ dazu wurde ebenfalls Bortrifluorid-Diethyletherat als Promotor eingesetzt, wobei vergleichbare Ausbeuten erzielt wurden. Anschließend wurde durch eine radikalische Bromierung analog zur Wohl-Ziegler-Bromierung<sup>[109]</sup> mit AIBN und Dibromdimethylhydantoin (DBDMH) selektiv die Seitenkette des Aromaten einfach bromiert<sup>[110]</sup> und das *p*-(Brommethyl)-phenylmannosid **13** in guten Ausbeuten erhalten.<sup>[111]</sup>

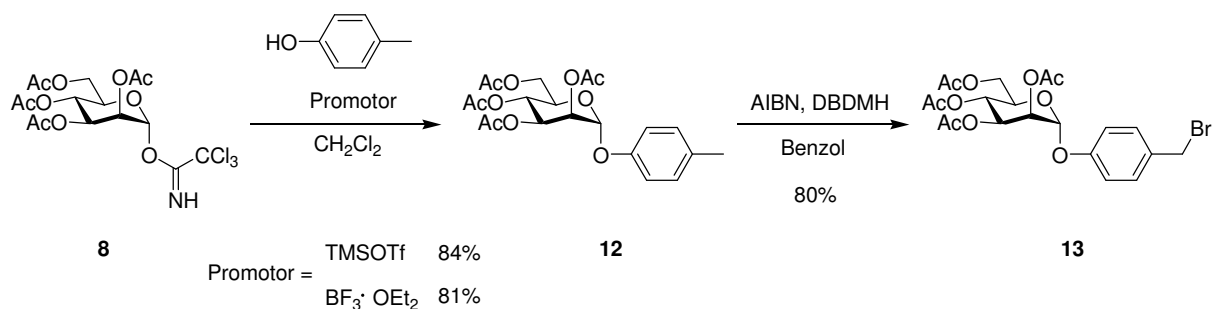


Abbildung 19: Darstellung von *p*-(Brommethyl)-phenylmannosid **13** durch Glycosylierung mit *p*-Kresol und anschließender radikalischer Bromierung.

Durch Umsetzung mit dem *p*-(Brommethyl)-phenylmannosid **13** sollte unter Bedingungen einer Williamson'schen Ethersynthese die selektive Funktionalisierung des 3'-Allylthymidins **4** an der 5'-Position gelingen (Abbildung 20). Die Umsetzung der beiden Komponenten in THF führte jedoch sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 60 °C nicht zur gewünschten Reaktion. Auch durch die Zugabe von NaI und durch eine anschließende Behandlung mit Ultraschall konnte das Produkt **14** nicht dargestellt werden. Um die Reaktivität der Edukte zu erhöhen, wurde DMF als polar aprotisches Lösungsmittel verwendet. Unter den veränderten Reaktionsbedingungen konnte nun die nucleophile Substitution des Bromids im Glycosid **13** durch das Thymidin-Derivat **4** erzielt werden. ESI-MS bestätigte die Bildung eines Glycothymidin-Derivates mit der gewünschten Masse. Jedoch wies das HMBC-NMR-Spektrum (Abbildung 21) des Produktes deutlich zwei Kreuzpeaks jeweils zwischen den Protonen der benzylichen CH<sub>2</sub>-Gruppe im Mannosid und den beiden Carbonyl-Kohlenstoffatomen der Nucleobase auf. Diese Kopplung zeigte, dass die Alkylierung an N<sup>3</sup>-Position unter Bildung des Glycothymidins **15** stattgefunden hatte. Beim Vergleich der pK<sub>s</sub>-Werte aller aciden Protonen des Thymidins wird deutlich, dass das Imid-Proton mit einem pK<sub>s</sub>-Wert von ca. 9.8<sup>[112]</sup> deutlich acider ist als das des primären Alkohols mit einem pK<sub>s</sub>-Wert von ca. 12. Das gebildete Imid-Anion ist über beide Carbonylgruppen stabilisiert, so dass bei Zugabe eines Äquivalents Base die Nucleobase zuerst deprotoniert wird. Das entstehende Anion ist das stärkere Nucleophil gegenüber dem primären Alkohol, so dass unter den gewählten Bedingungen bevorzugt eine *N*-Alkylierung stattfindet.

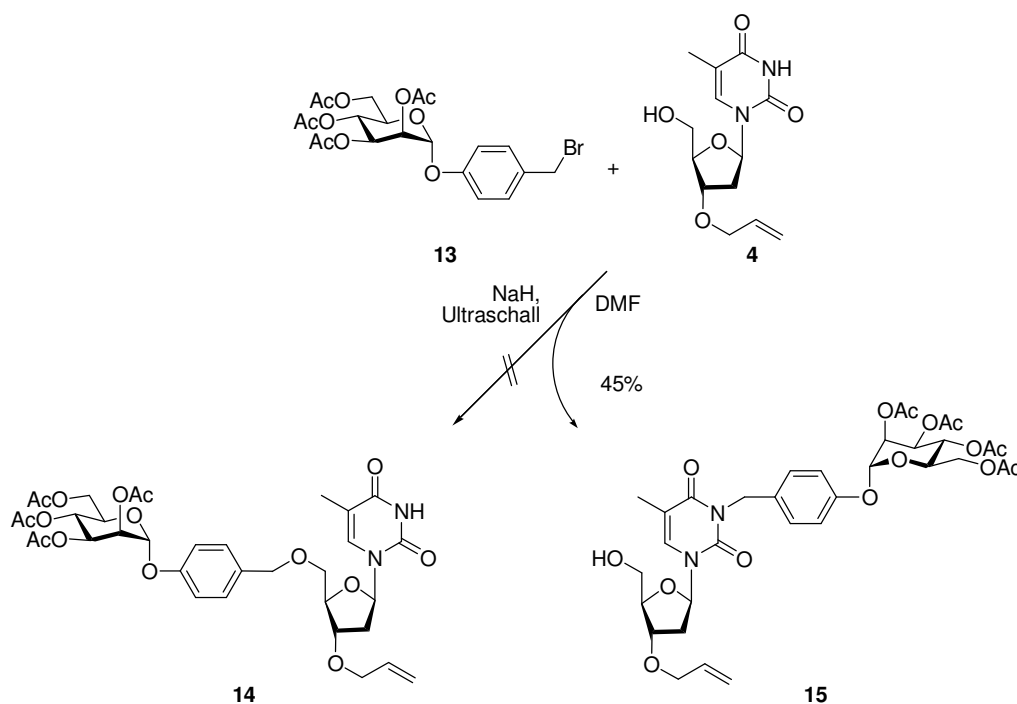


Abbildung 20: *N*-Alkylierung von 3'-Allylthymidin (**4**) unter den Bedingungen einer Williamson'schen Ethersynthese.



Für eine Zusammenfassung der Regioselektivitäten bei der Alkylierung von Thymidin und seinen Derivaten siehe Exkurs S. 40.

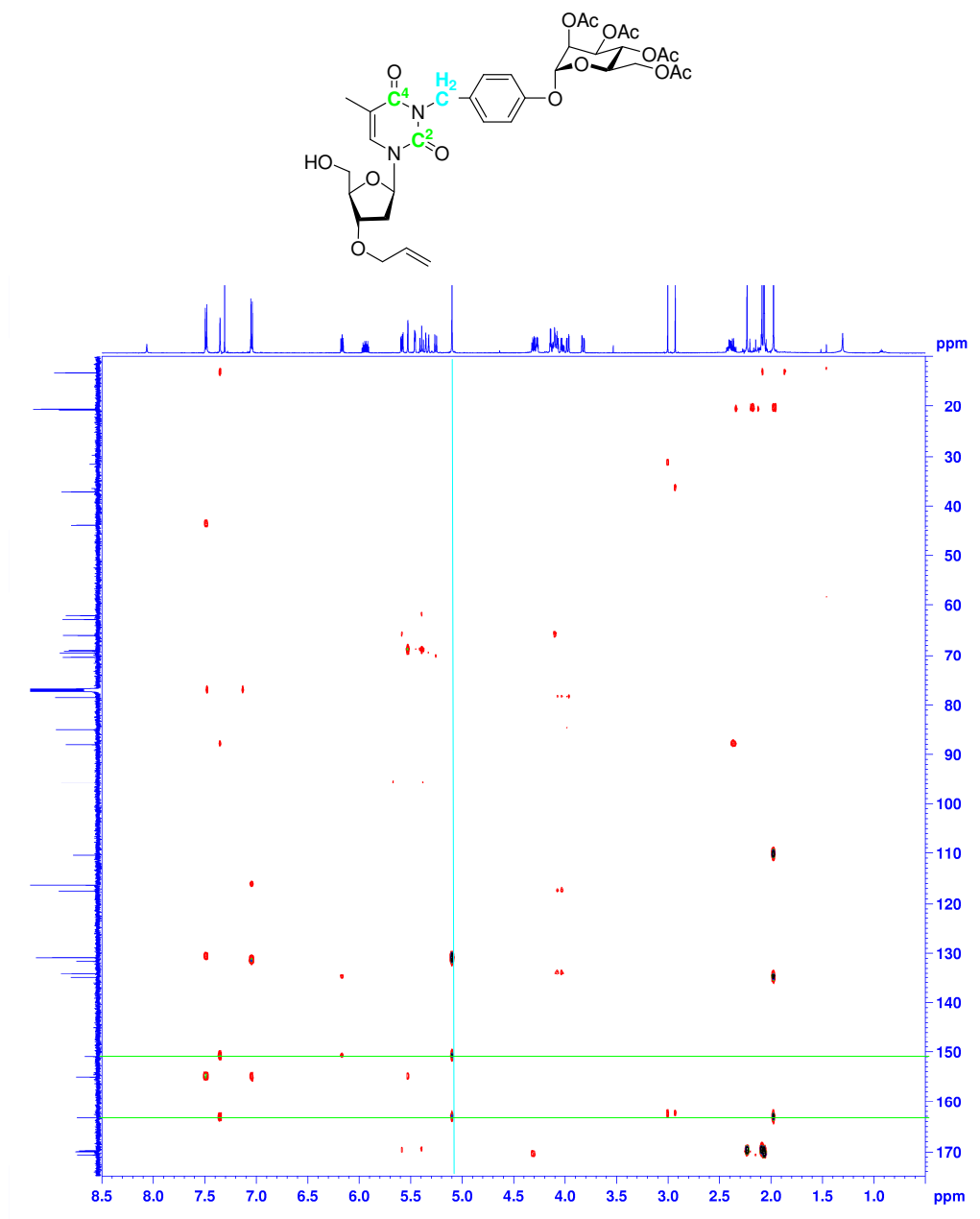


Abbildung 21: HMBC-NMR-Spektrum der *N*-alkylierten Verbindung **15**. Kreuzpeaks jeweils zwischen den Carbonylcarbonatomen C2 und C4 des Thymins (grün) und den Protonen der benzylichen CH<sub>2</sub>-Gruppe (cyan) beweisen die Position der Alkylierung.

Die Tatsache, dass unter den verwendeten Bedingungen einer Williamson'schen Ethersynthese eine *N*-Alkylierung stattfand, sollte ausgenutzt werden, um durch Umsetzung des Thymidinderivates **4** mit zwei Äquivalenten Base und zwei Äquivalenten des Mannosids **13** ein bifunktionelles Glycothymidinderivat wie **16** durch zweifache Alkylierung an der *N*<sup>3</sup>- und an der 5'-*O*-Position darzustellen. Jedoch führte die Reaktion unter den genannten Bedingungen ebenfalls ausschließlich zur Einfach-Alkylierung des Thymidins unter Bildung des *N*-alkylierten Glycothymidins **15** (Abbildung 22).

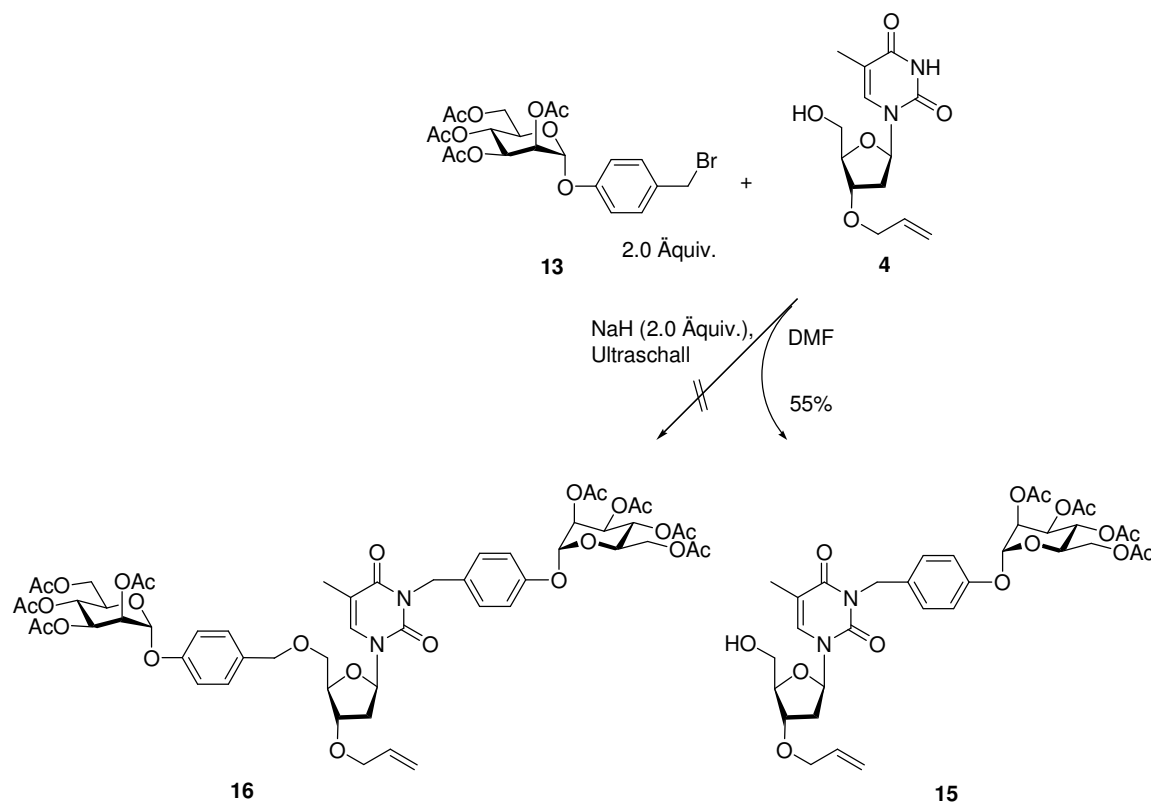
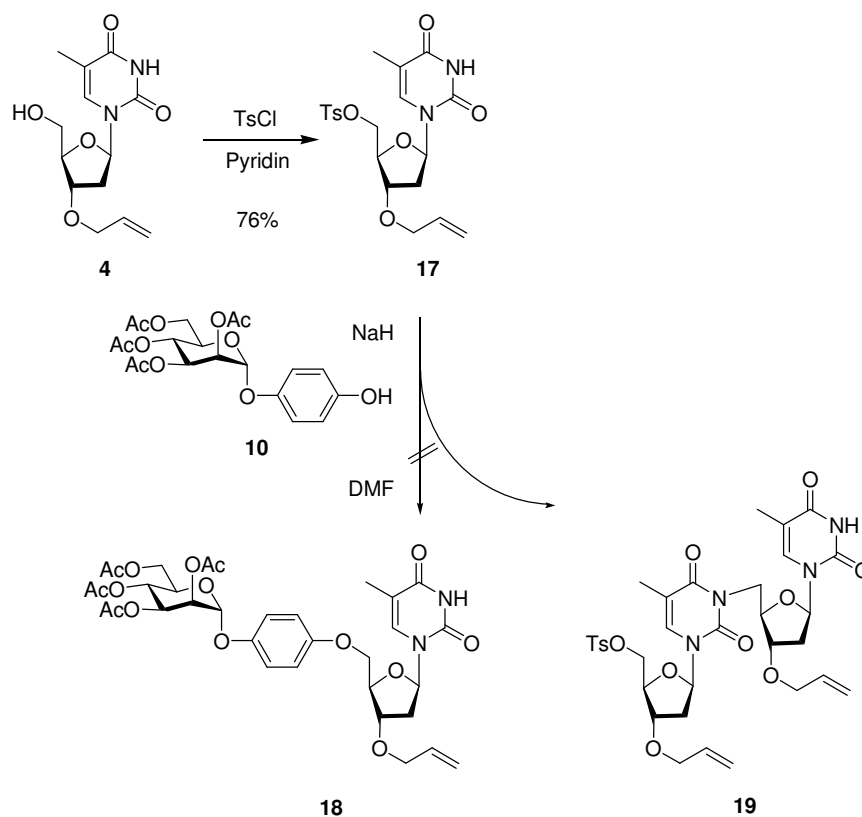


Abbildung 22: Versuch der Darstellung eines bifunktionellen Glycothymidins 16.

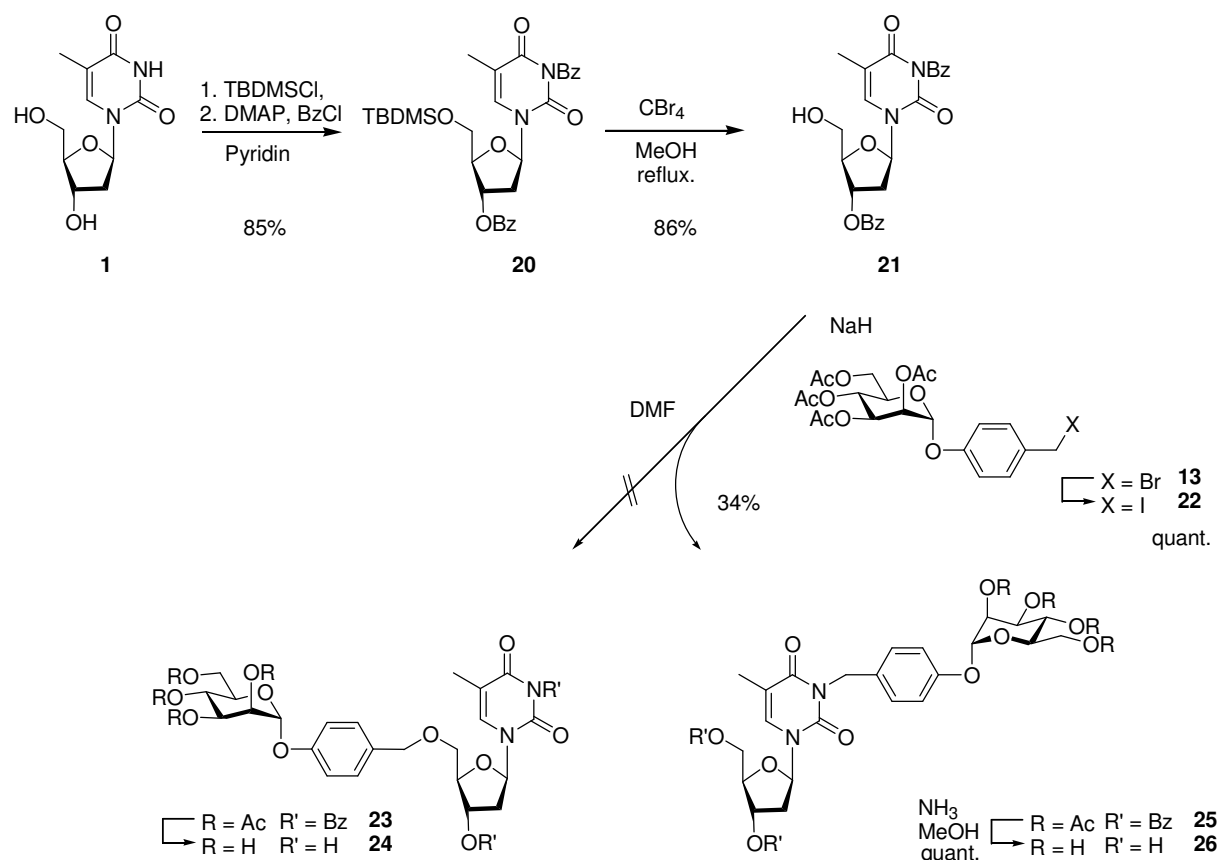
Ein weiterer Versuch, eine Funktionalisierung des 3'-Allylthymidins **4** an der 5'-Position zu erreichen, war einer nucleophilen Substitution gewidmet, in der das Thymidinderivat im Gegensatz zu der bislang gew\u00e4hlten Reaktionen nicht als Nucleophil, sondern als Elektrophil fungieren sollte. Hierzu wurde das 3'-*O*-Allylthymidin **4** durch Reaktion mit Tosylchlorid in Pyridin<sup>[101]</sup> zun\u00e4chst in das entsprechende Tosylat **17** \u00fcberf\u00fchrt (Abbildung 23). *p*-Hydroxyphenylmannosid **10** wurde als Nucleophil eingesetzt, mit Natriumhydrid als Base vorgelegt und langsam mit dem Tosylat **17** versetzt. Auch in diesem Fall ergab eine massenspektrometrische Untersuchung der Reaktionsl\u00f6sung per MALDI-MS keine Produktbildung. Es konnte lediglich eine Masse detektiert werden, die dem dimeren Thymidinderivat **19** entspricht. Allerdings war anzunehmen, dass auch oligomere oder polymere Produkte auf diese Art gebildet wurden, die im MALDI nicht detektiert werden konnten und eine Bildung des gew\u00fcnschten Produktes verhindert haben.



**Abbildung 23:** Versuch der Substitution des 5'-Tosylates **17** durch das *p*-Hydroxyphenylmannosid (**10**). Die Bildung des Dimers **19** wurde massenspektrometrisch nachgewiesen.

Um die in den bisherigen Versuchen beobachtete *N*-Alkylierung zugunsten einer *O*-Alkylierung zu verhindern, sollte die Imidfunktion der Nucleobase in den folgenden Versuchen geschützt werden. ZERROUKI et al.<sup>[113]</sup> beschreiben in diesem Zusammenhang die Synthese von 5'-Allylthymidin über eine einfache Schutzgruppenstrategie ausgehend von Thymidin. Hierbei wird zunächst selektiv die 5'-Position von Thymidin (**1**) mit TBDMSCl geschützt und das Produkt *in situ* mit Benzoylchlorid zum vollständig geschützten Thymidinderivat **20** umgesetzt (Abbildung 24). Die Abspaltung der Silylschutzgruppe erfolgt mit Tetrabrommethan in Methanol, so dass ausschließlich die 5'-Position zur selektiven Funktionalisierung zur Verfügung steht. Die Synthese konnte erfolgreich reproduziert werden und lieferte das entschützte Dibenzoylthymidin **21** in guten 73 % über drei Stufen. Zur Darstellung eines *O*-verknüpften Glycothymidins wurde analog zu der von ZERROUKI beschriebenen Alkylierung das geschützte Thymidinderivat **21** mit  $\text{NaH}$  vorgelegt und anschließend mit dem entsprechenden Halogenid umgesetzt. Um die Reaktivität des Mannosylbenzylhalogenids **13** zu erhöhen, wurde zuvor ein Brom-Iod-Austausch unter Finkelsteinbedingungen durchgeführt und das Produkt **22** ohne weitere Aufreinigung in der Alkylierung eingesetzt. Das Produkt der Alkylierungsreaktion wurde  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch und massenspektrometrisch per MALDI-ToF und ESI nachgewiesen und

direkt mit einer 7 M Ammoniaklösung in Methanol quantitativ zum deacylierten Glycothymidin umgesetzt.



**Abbildung 24:** Synthese des 3'-O,N<sup>3</sup>-Dibenzoylthymidins 21 und anschließender Versuch der O-Alkylierung. Isolierung des N-alkylierten Glycothymidins legt die intermediäre Migration der Benzoylgruppe nahe.

Die vollständige Charakterisierung des Produktes mittels zweidimensionaler NMR-Spektroskopie zeigte im HMBC-Spektrum die für eine N-Alkylierung charakteristischen Kreuzpeaks zwischen der benzyliischen CH<sub>2</sub>-Gruppe des Mannosids und den beiden Carbonyl-Kohlenstoffatomen C2 und C4 des Thymins. Diese Kopplung deutete darauf hin, dass die Alkylierung, trotz Benzoylschätzung, an der N<sup>3</sup>-Position der Nucleobase stattgefunden hatte. Eine plausible Erklärung hierfür ist, dass unter den basischen Bedingungen der Alkylierungsreaktion eine Migration der Benzoylschutzgruppe von der N<sup>3</sup>-Position zur 5'-Hydroxyfunktion stattfindet und somit wieder das Imid als Nucleophil in der Alkylierungsreaktion zur Verfügung stand.

Da ZERROUKI mit Allylbromid unter denselben Bedingungen eine O-Alkylierung beobachtete, wurde in Kooperation mit H. DAUMLECHNER<sup>[114]</sup> die entsprechende Synthese mit Allylbromid als Elektrophil wiederholt. Die im Reaktionsprodukt erhaltenen <sup>1</sup>H-NMR-Daten stimmen mit den von ZERROUKI für das 5'-Allylthymidin beschriebenen Daten überein. Jedoch zeigte auch

in diesem Fall eine genauere Betrachtung mit Hilfe zweidimensionaler NMR-Spektroskopie, dass die Alkylierung an der  $N^3$ -Position und nicht an der 5'- $O$ -Position stattgefunden hatte. Es wurde deshalb angenommen, dass auch ZERROUKI et al. das  $N$ -Alkylierungsprodukt erhalten haben, es jedoch fälschlicherweise als 5'- $O$ -Allylthymidin identifizierten.

Die für **21** beobachtete Wanderung von Estergruppen könnte durch eine Variation der Schutzgruppenstrategie in weiteren Versuchen zur  $O$ -Alkylierung verhindert werden (Abbildung 25). Hierzu ließe sich die Imidfunktion entweder irreversibel durch eine Methylierung blockieren oder durch eine Benzylierung reversibel schützen. Zunächst wurde die  $N$ -Methylierung durchgeführt. Hierzu wurden beide Hydroxylgruppen des Thymidins mit TBDMSCl geschützt und das disilylierte Thymidinderivat **27**<sup>[115]</sup> in quantitativer Reaktion erhalten. Anschließend konnte mit Kaliumcarbonat und Methyljodid die  $N^3$ -Position in moderaten Ausbeuten zum  $N$ -Methylthymidin **28** umgesetzt werden. Unter Verwendung von Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (PPTS)<sup>[116]</sup> konnte der primäre Silylether regioselektiv gespalten und das Thymidinderivat **29** mit freier 5'-Hydroxylfunktion in moderaten Ausbeuten dargestellt werden. Alternativ gelang die Entschützung des Alkohols auch mit Essigsäure in einem Wasser-THF-Gemisch,<sup>[117]</sup> jedoch konnten die Ausbeuten der Reaktion unter diesen Bedingungen nicht gesteigert werden.

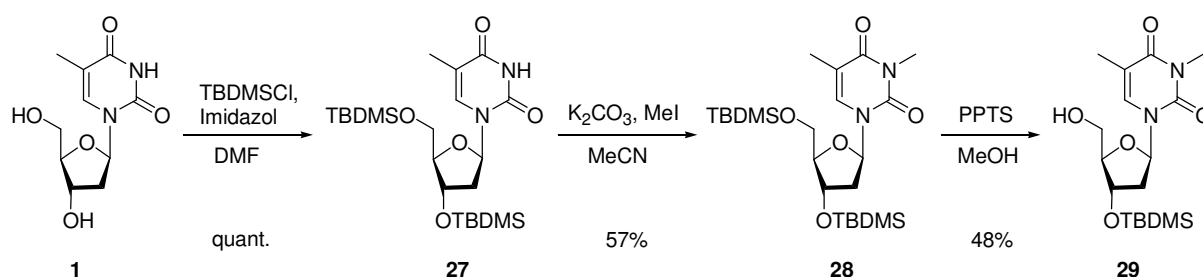


Abbildung 25: Darstellung des  $N$ -Methylthymidinderivates mit freier 5'-Hydroxyfunktion durch selektive Spaltung des primären Silylethers von **28**.

Mit Hilfe des  $N$ -Methylthymidins **29** sollte unter den Veretherungsbedingungen, die in bisherigen Versuchen ausschließlich zu einer  $N$ -Alkylierung geführt hatten, eine Veretherung an der 5'-Position erzielt werden. Als Alkylhalogenid wurde peracetyliertes 2-Bromethylmannosid **30**<sup>[118, 119]</sup> eingesetzt, welches ausgehend von Mannosepentaacetat (**6**) in einer Stufe erhalten wurde (Abbildung 26). Das 2-Bromethylmannosid **30** ist im Vergleich zu dem bisher verwendeten mannosidischen Benzylbromid **13** deutlich leichter zugänglich, sehr viel stabiler und daher besser lagerbar.

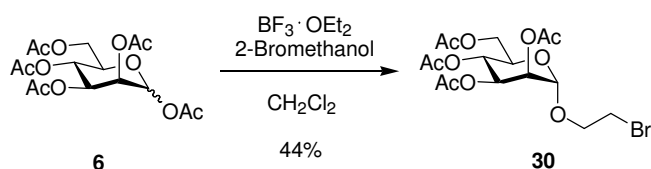


Abbildung 26: Darstellung von 2-Bromethylmannosid **30**.

Bei der Umsetzung von *N*-Methylthymidin **29** mit dem 2-Bromethylmannosid **30** konnte unter den verwendeten Bedingungen keine Produktbildung erreicht werden. Auch die direkte Glycosylierung durch Umsetzung von **29** mit dem Mannosyltrichloracetimidat **8** scheiterte und führte lediglich zur Zersetzung des Glycosyldonors (Abbildung 27). Der Versuch einer Funktionalisierung der 5'-*O*-Position mit einem Mannosid blieb daher weiterhin ohne Erfolg.

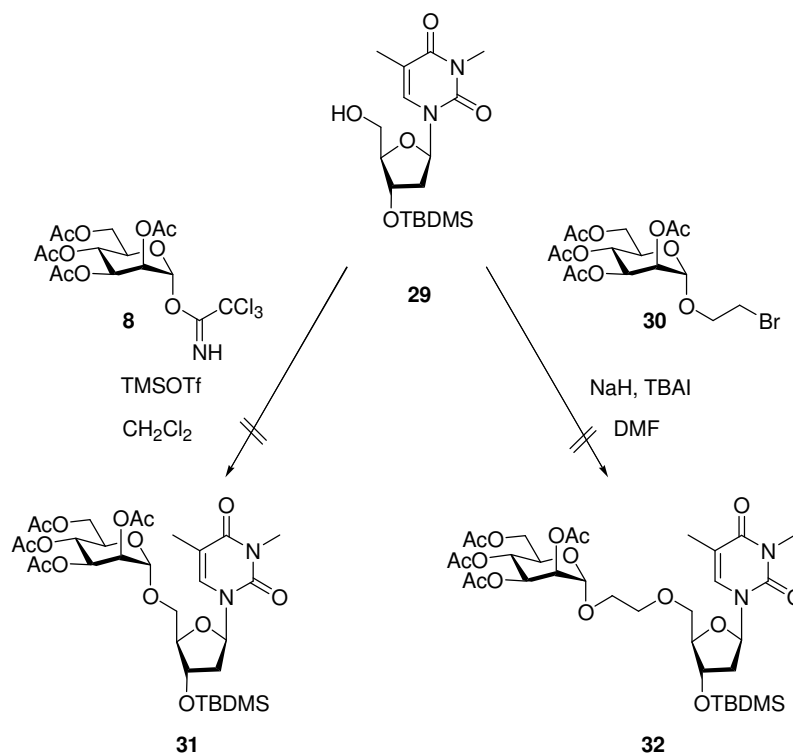


Abbildung 27: Versuche zur Funktionalisierung der 5'-*O*-Position des Thymidins durch eine Glycosylierung mit Trichloracetimidat **8**, sowie durch eine Williamson'sche Ethersynthese mit **30**.

Anhand der bisherigen Ergebnisse der Versuche zur 5'-*O*-Alkylierung lässt sich erkennen, dass die Nucleophilie der 5'-Hydroxygruppe in Thymidin offenbar sehr gering ist. Erfolgreiche Alkylierungen, die in der Literatur beschrieben sind, beschränken sich im Wesentlichen auf Reaktionen mit sehr reaktiven Alkylhalogeniden, wie Allyl- oder Tritylhalogeniden. Diese Reaktionen verlaufen nach einem  $\text{S}_{\text{N}}1$ -Mechanismus, weshalb trotz einer geringen Nucleophilie des Alkohols eine Reaktion stattfindet. Aus diesem Grund wurde, wie bereits zuvor beschrieben, versucht, das Thymidinderivat durch Überführung der 5'-

Hydroxygruppe in eine gute Abgangsgruppe nicht als Nucleophil, sondern als Elektrophil in einer nucleophilen Substitution einzusetzen. Die beiden anderen funktionellen Gruppen des Thymidins waren erneut zu schützen. Um die Funktionalisierung  $N^3$ -Position reversibel zu gestalten, was für die bisher beschriebene Methylierung nicht gegeben ist, wurde die Schutzgruppenstrategie geändert. Es wurde auch von der Silylschätzung der 3'-Position abgesehen, um eine möglicherweise auftretende Silylgruppenwanderung von der sekundären zur primären OH-Funktion unter basischen Bedingungen auszuschließen, wie sie unter anderem von DI FABIO<sup>[120]</sup> beschrieben wurde. Ausgehend von 5'-*O*-Dimethoxytritylthymidin (**2**) wurden sowohl die 3'-Hydroxygruppe als auch die Imidfunktion der Nucleobase mit Benzylbromid umgesetzt (Abbildung 28). Dies führte zur Bildung des vollständig geschützten Thymidin-Derivates **33** in moderaten Ausbeuten. Mit 3%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan konnte der Tritylether gespalten und das Dibenzylthymidin **34** in guten Ausbeuten von 75% erhalten werden. Die anschließende Umsetzung mit Mesylchlorid lieferte das gewünschte Thymidinylmesylat **35** in guten 72 %.

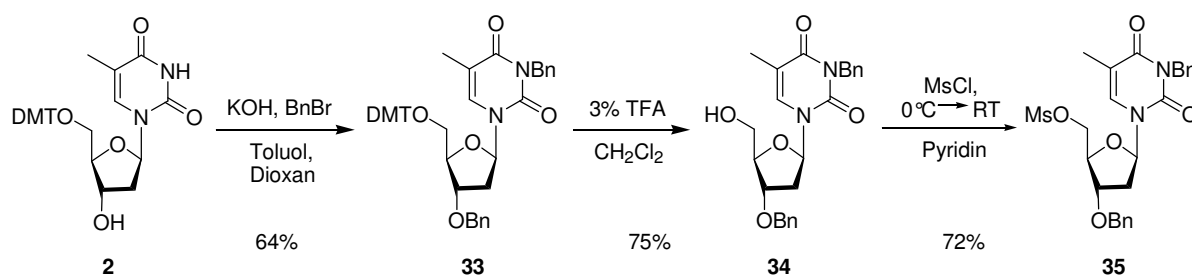


Abbildung 28: Darstellung eines benzylierten Thymidinylmesylates **35** ausgehend von **2** in drei Stufen.

Es folgte der Versuch, das Mesylat mit Hilfe des *p*-Hydroxyphenylmannosids **10** als gutem Nucleophil zum entsprechenden Glycothymidin umzusetzen. Das Phenolderivat **10** wurde mit DBU vorgelegt und anschließend mit dem Mesylat **35** versetzt (Abbildung 29). Jedoch fand weder bei Raumtemperatur noch bei einer Erhöhung der Temperatur auf 40 °C eine Reaktion statt.

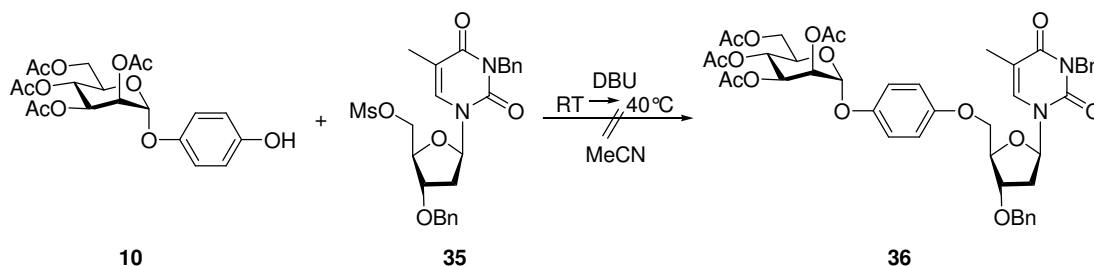


Abbildung 29: Versuch der Darstellung des 5'-verknüpften Glycothymidinderivates **36** durch die Substitution von **35** mit **10**.

Eine der wenigen literaturbekannten Reaktionen dieser Art, die die nucleophile Substitution einer Abgangsgruppe an der 5'-Position beinhaltet, wurde bereits 1980 von HATA et al.<sup>[121]</sup> beschrieben. Er entwickelte die Synthese von 5'-Azido-5'-desoxythymidin durch eine selektive Umsetzung der primären Hydroxylfunktion von Thymidin über eine Appel-analoge Reaktion unter Zusatz von Lithiumazid als Nucleophil. Diese Reaktion verläuft vermutlich über die intermediäre Bildung eines Alkylbromids oder den direkten Angriff des Azids am Oxyphosphoniumintermediat. Daher wurde versucht, in dieser Reaktion anstelle des Azids ein mannosidisches Nucleophil einzusetzen, um so Thymidin mit *p*-Hydroxyphenylmannosid **10** zur Umzsetzung zu bringen (Abbildung 30). Die Analyse der Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie zeigte allerdings keine Umsetzung der Edukte.

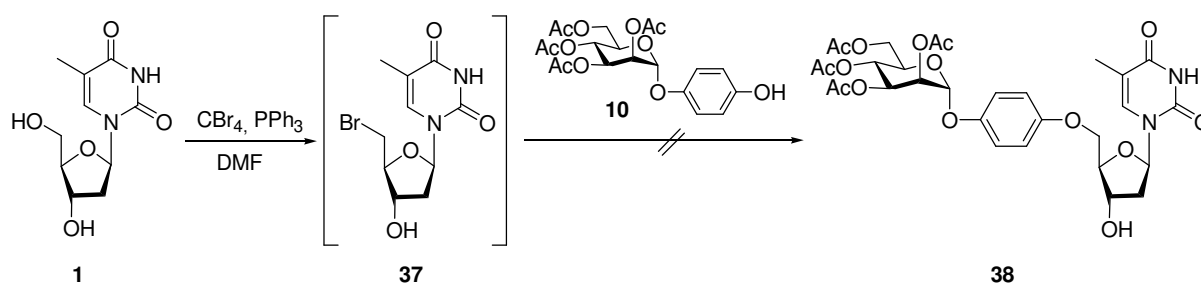


Abbildung 30: Versuch der Synthese eines 5'-*O*-funktionalisierten Glycothymidins über eine Appel-analoge Reaktion und der *in situ*-Umsetzng mit *p*-Hydroxyphenylmannosid **10**.

### Darstellung von $N^3$ -verknüpften Glycothymidinen

Da alle bisherigen Versuche zur Funktionalisierung der 5'-Position von Thymidin erfolglos blieben, wurde dieser Ansatz zunächst zurückgestellt. Das Augenmerk sollte im Folgenden auf die Synthese von Glycothymidinen gelegt werden, bei denen die Glycoside über die  $N^3$ -Position mit dem Thymidinderivat verknüpft sind. Die bei den Versuchen der *O*-Alkylierung gesammelten Erfahrungen konnten jetzt genutzt werden. Während die Acidität des Imids und die Nucleophilie des entsprechenden Anions, sich bei einer *O*-Alkylierung noch als störende Faktoren erwiesen, sollten sie für eine *N*-Alkylierung von Vorteil sein. Allerdings führte die direkte Umsetzung des silylgeschützten Thymidins **27** mit dem Trichloracetimidat **8** lediglich zur Zersetzung des Glycosyldonors (Abbildung 31).



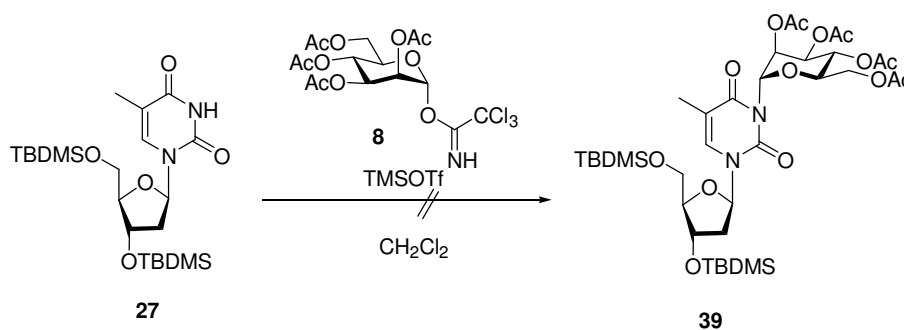
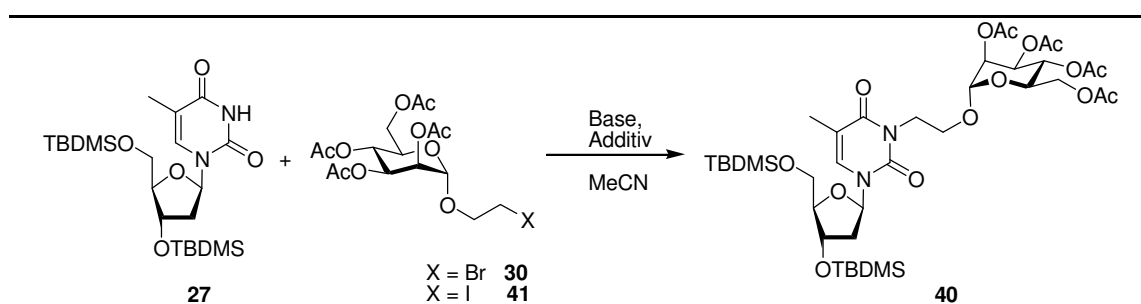


Abbildung 31: Versuch der direkten Glycosylierung von Thymidin an der N<sup>3</sup>-Position.

Daher wurde auf die bereits zuvor beobachtete Alkylierung der N<sup>3</sup>-Position unter den Bedingungen einer Williamson'schen Ethersynthese zurückgegriffen. Abbildung 32 zeigt die Darstellung zweier Glycothymidinderivate durch eine N-Alkylierung des geschützten Thymidinderivates **27**. Zunächst wurde das silylgeschützte Thymidin **27** mit dem Bromethylmannosid **30** unter Verwendung von DBU als Base zur Reaktion gebracht. Als Lösungsmittel wurde in diesem Fall Acetonitril gewählt.<sup>[122]</sup> Dies führte zum gewünschten Glycothymidin **40** in moderaten Ausbeuten von 54 % (Tabelle 1). Die Ausbeuten waren an dieser Stelle unabhängig von der verwendeten Base. Die Verwendung von NaH lieferte eine vergleichbare Ausbeute von 52%. Durch den Einsatz des Iodethylmannosids **41** anstelle von Bromethylmannosid (**30**), das durch eine Finkelsteinreaktion aus dem Alkylbromid **30** erhalten wurde, konnte die Ausbeute auf 77 % gesteigert werden. Eine weitere Erhöhung der Ausbeute auf 89 % gelang durch den Einsatz von zwei Äquiv. Base und der Darstellung des Alkyljodids *in situ* durch Zugabe von TBAI.



Base	X	Additiv	Ausbeute
DBU, 1.0 Äquiv.	Br	-	54 %
NaH, 1.0 Äquiv.	Br	-	52 %
DBU, 1.0 Äquiv.	I	-	77 %
DBU, 2.0 Äquiv.	Br	TBAI	89 %

Tabelle 1: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Darstellung des Glycothymidins **40**.

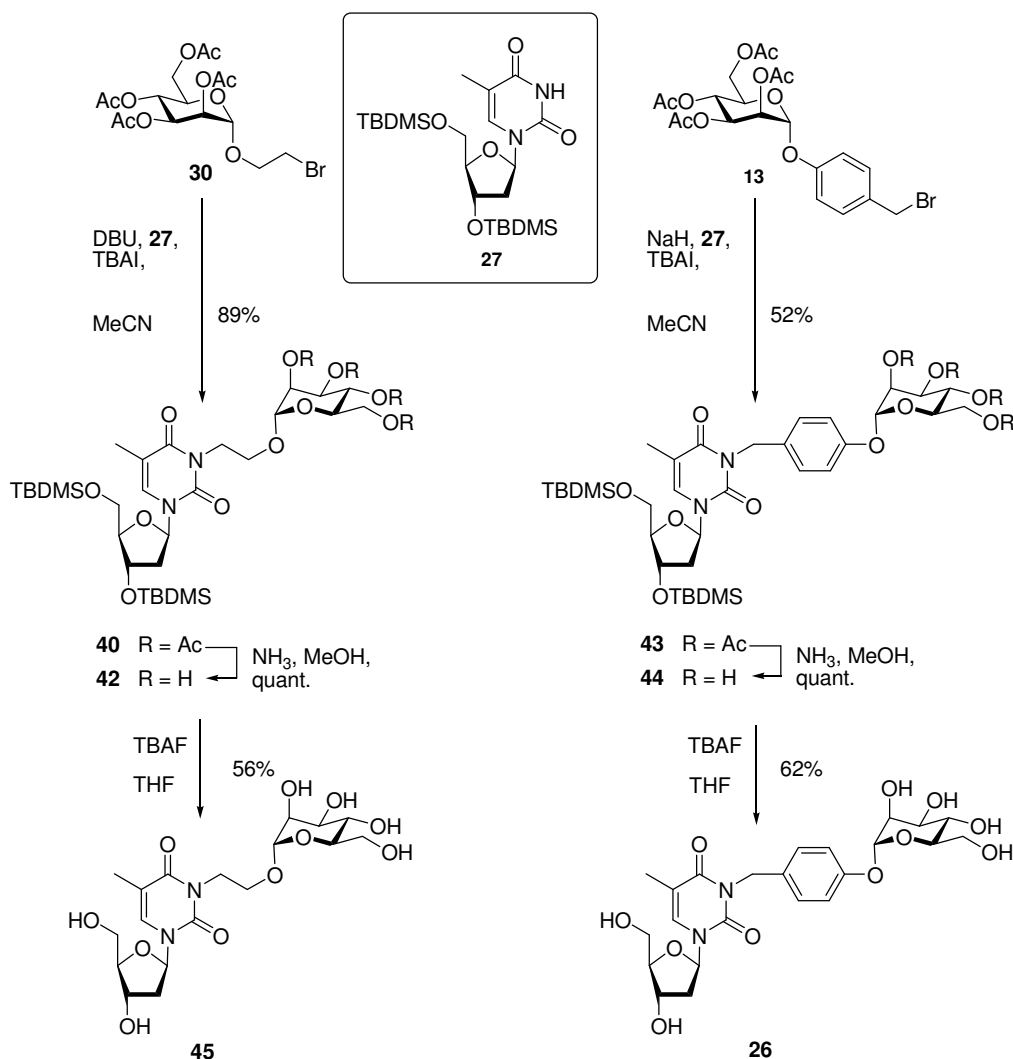
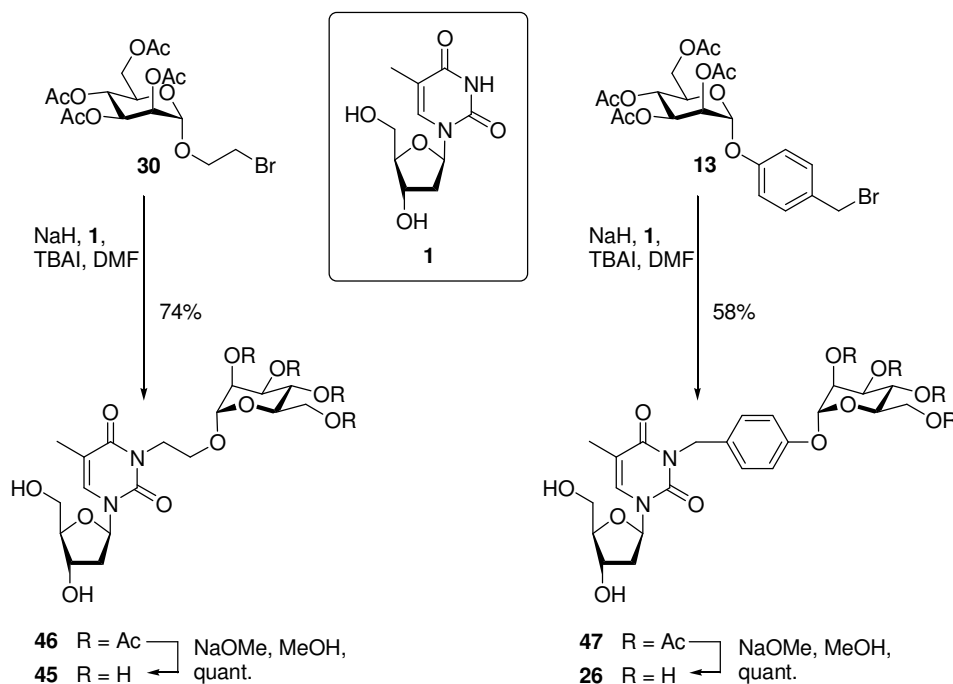


Abbildung 32: Darstellung der Glycothymidinderivate 26 und 45 über Alkylierung des silylgeschützten Thymidins 27 an der N<sup>3</sup>-Position mit Bromethylmannosid (30) bzw. *p*-(Brommethyl)-phenylmannosid (13).

Das geschützte Glycothymidin 40 konnte durch zwei aufeinander folgende Entschüttungsschritte in das freie Glycothymidin 45 überführt werden. Hierzu wurde zunächst mit Ammoniak deacetyliert und anschließend die Silylether durch Zugabe von TBAF gespalten. Das freie Glycothymidin 45 wurde nach MPLC-Reinigung in moderaten Ausbeuten von 56 % erhalten. Analog zu der beschriebenen Darstellung des Glycothymidins 45 konnte das Glycothymidin 26 durch die Reaktion von *p*-(Brommethyl)-phenylmannosid 13 mit 27 erfolgreich synthetisiert werden. Während im Fall von 45 ein Ethylspacer den Thymidinteil mit dem Mannosid verbindet, ist dies bei 26 ein Benzylspacer.

In vorhergehenden Versuchen wurde unter Alkylierungsbedingungen in DMF auch beim Einsatz nur teilweise geschützter Thymidinderivate eine Selektivität zugunsten einer *N*-Alkylierung beobachtet. Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass die Darstellung

der Glycothymidine **26** und **45** auch ohne den Einsatz von Schutzgruppen am Thymidin erzielt werden kann. Tatsächlich führte die Umsetzung von freiem 2'-Desoxythymidin **1** mit den Mannosiden **30** und **13** in DMF unter Zusatz von TBAI wie erwartet selektiv zu den *N*-alkylierten Glycothymidinen **26** und **45** in moderaten bis guten Ausbeuten (Abbildung 33). Die Reaktion verlief in DMF jeweils genauso gut wie in Acetonitril/DMF (15:6) und darüber hinaus lieferte DBU als Base die gleichen Ausbeuten wie NaH.



**Abbildung 33:** Darstellung der Glycothymidine **26** und **45** ohne die Verwendung von Schutzgruppen am Thymidin.

Durch den Verzicht auf Schutzgruppen am Thymidin konnte die Synthese der Glycothymidine **26** und **45** ausgehend von  $\alpha$ -D-Mannose von sechs auf vier bzw. von neun auf sieben Stufen verkürzt werden. Außerdem konnte die Aufreinigung erheblich erleichtert werden, da die aufwendige Abtrennung von Nebenprodukten bei der Silylentschützung entfiel. Für den Adhäsionstest mit Typ-1-fimbrierten Bakterien war es interessant, zwei Glycothymidinderivate mit unterschiedlichem Aglycon testen zu können. Es war in diesem Zusammenhang anzunehmen, dass sich die Möglichkeit einer hydrophoben Interaktion zwischen der Aryleinheit im Aglycon von **45** und den Aminosäuren im Eingangsbereich der CRD positiv auf die Affinität des Liganden auswirken würde.

## Darstellung von Glycothymidinen durch Derivatisierung der 5'-Position von Thymidin

Neben der erfolgreichen Verknüpfung von Mannosiden mit der  $N^3$ -Position der Nucleobase durch einfache Alkylierung wurde nach einer Möglichkeit gesucht die Funktionalisierung über die 5'-Position der Ribose zu erzielen. So ließe sich die strukturelle Vielfalt der dargestellten Substrate erhöhen. Im Fall einer Konjugation über die 5'-Position ist der Abstand zwischen Ligand und Schaltstelle deutlich größer als bei den imidverknüpften Glycothymidinen **26** und **45**. Dies impliziert eine andere Flexibilität der Glycothymidine nach der Dimerisierung, was sich auf die Ligandeneigenschaften der Dimere auswirken könnte. Weiterhin erlauben 5'-konjugierte Glycothymidine die Immobilisierung der Verbindung über die Imidfunktion, was zusätzliche Möglichkeiten eröffnet. Da sowohl eine Alkylierung der primären Hydroxylfunktion von Thymidin als auch die Substitution des entsprechenden *O*-Sulfonats bislang ohne Erfolg waren, wurde nun auf eine andere Strategie zurückgegriffen. Die von HATA<sup>[121]</sup> beschriebene selektive Substitution der 5'-Hydroxylgruppe durch ein Azid unter Appel-Bedingungen mit Zusatz von Lithiumazid wurde von BANNWARTH<sup>[123]</sup> leicht modifiziert und so erfolgreich reproduziert (Abbildung 34). Das 5'-Azidothymidin **48** wurde ausgehend von 2'-Desoxythymidin mit Triphenylphosphin, Tetrabrommethan und Natriumazid in DMF in guten Ausbeuten von 76% erhalten. Ausgehend von 5'-Azidothymidin **48** gibt es zahlreiche Möglichkeiten für die Konjugation mit einem Kohlenhydratderivat an der 5'-Position. Eine Reduktion mit Wasserstoff unter Palladiumkatalyse zum 5'-Aminothymidin **49** in quantitativer Ausbeute eröffnete noch weitere Optionen.

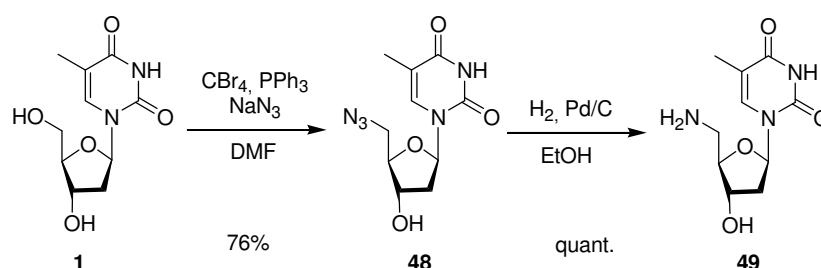
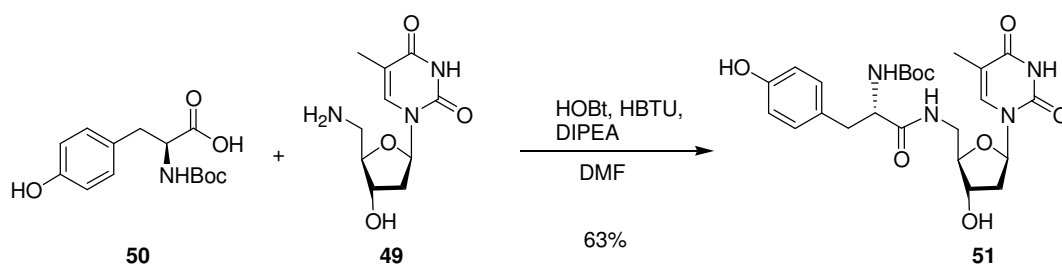


Abbildung 34: Synthese von 5'-Azidothymidin **48** und anschließende Reduktion zu 5'-Aminothymidin **49**.

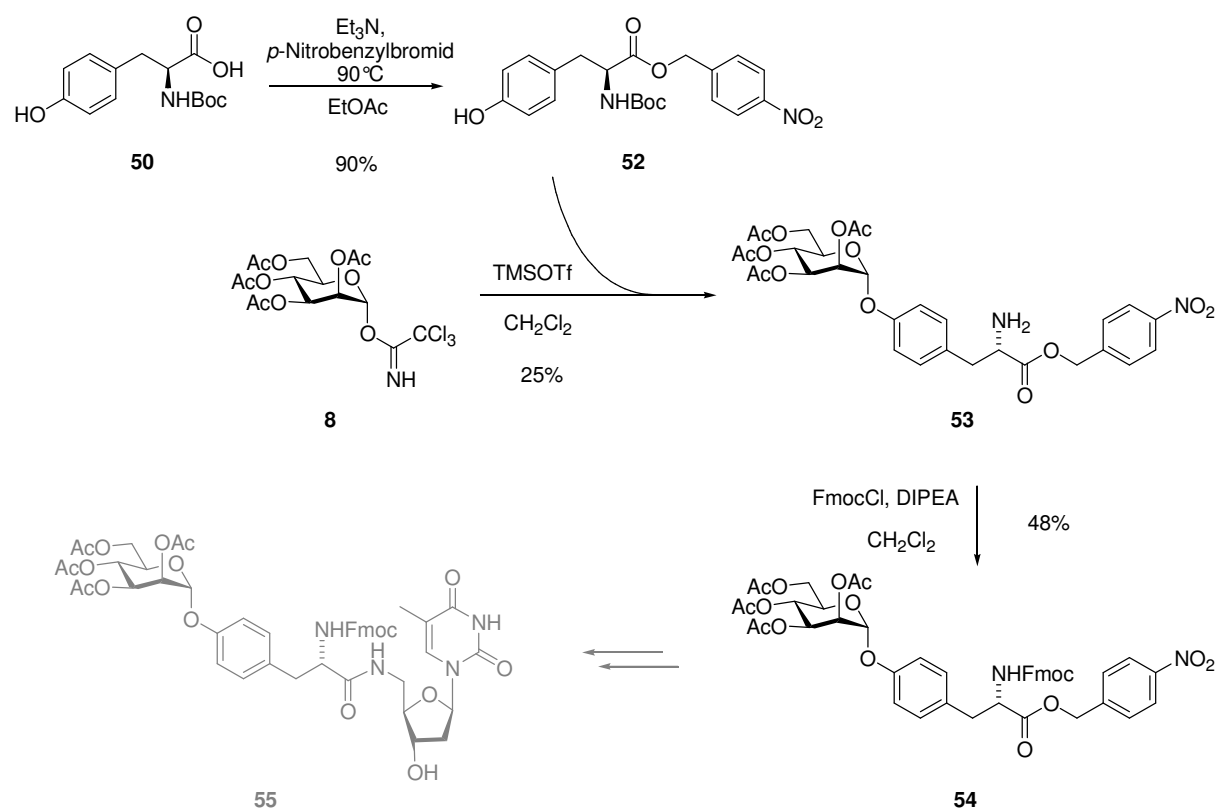
Erste Überlegungen legten die Verknüpfung des 5'-Aminothymidins mit einer Glycoaminosäure über eine Peptidkupplung nahe. Zur Evaluation geeigneter Reaktionsbedingungen für die Peptidkupplung wurde das Aminothymidin **49** zunächst mit einem einfachen Aminosäurederivat umgesetzt. Als Aminosäuren, die später eine

Glycosylierung erlauben, kamen Serin, Threonin und Tyrosin, alle mit einer Hydroxylfunktion in der Seitenkette, in Frage. Zu Testzwecken wurde *N*-Boc-Tyrosin **50** in einer Peptidkupplung unter Verwendung von HOBt und HBTU mit **49** umgesetzt. Die Reaktion lieferte das gewünschte Thymidin-Tyrosin-Konjugat **51** in moderaten Ausbeuten von 63 % (Abbildung 35). Lediglich die Abtrennung der Kupplungsreagenzien bereitete einige Probleme und war nur mittels Säulenchromatographie an Kieselgel und anschließender GPC erfolgreich.



**Abbildung 35:** Synthese des Thymidin-Tyrosin-Konjugates **51** durch Peptidkupplung von 5'-Aminothymidin **49** mit *N*-Boc-Tyrosin (**50**).

Parallel dazu wurde die Glycoaminosäure **53** synthetisiert, die schließlich in der Peptidkupplung mit 5'-Aminothymidin **49** eingesetzt werden kann (Abbildung 36). Dazu wurde die Säurefunktion des käuflichen Boc-Tyr-OH **50** als *p*-Nitrobenzylester geschützt. Diese etwas ungewöhnliche Schutzgruppe wurde gewählt, da der Nitrobenzylester mit Hilfe von Natriumdithionit selektiv in Gegenwart von Acetylschutzgruppen gespalten werden kann, während die Benzyleinheit des Tyrosins bei dieser Methode intakt bleibt.<sup>[124]</sup> Die Schützung der Säure **50** durch die Reaktion mit *p*-Nitrobenzylbromid verlief in sehr guten Ausbeuten von 90 %. Bei der anschließenden Glycosylierungsreaktion wurden jedoch nur geringe Ausbeuten von 25 % erzielt. Zudem fand unter den gewählten Bedingungen durch die Lewis-Acidität des TMSOTf eine Spaltung der Boc-Gruppe statt, so dass das freie Amin mit Boc<sub>2</sub>O oder FmocCl wieder geschützt werden musste. Um diese unerwünschte Entschützung während der Reaktion zu vermeiden, wurde der Einsatz des milderen Ytterbiumtriflates als Lewis-Säure in der Glycosylierung getestet. Jedoch fand unter diesen Bedingungen keine Umsetzung statt. Eine bessere Alternative wäre an dieser Stelle die Verwendung einer Fmoc-geschützten Aminosäure.

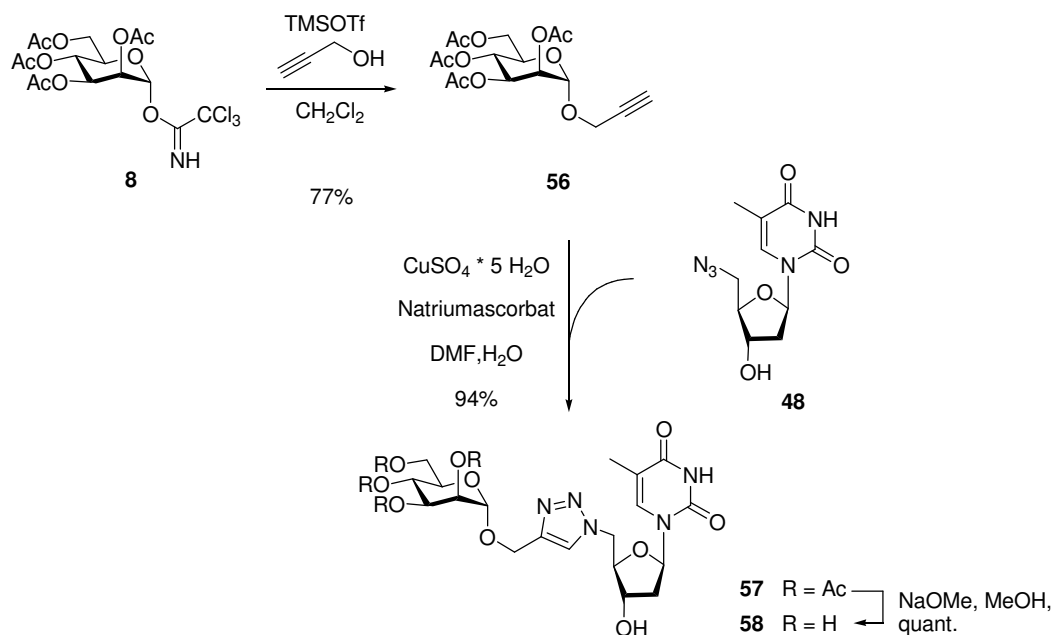


**Abbildung 36:** Ansatz zur Darstellung eines Tyrosin-verknüpften Glycothymidins. Die grau dargestellten Syntheseschritte wurden nicht durchgeführt.

Auf eine weitere Umsetzung der dargestellten Glycoaminosäure **54** zum Glycothymidin mit Tyrosinspacer **54** wurde verzichtet, weil die Herstellung von **54** aufwendig ist und nur in geringen Ausbeuten verläuft. Die weitere Synthese würde eine Entschützung der Säurefunktion des Tyrosinteils, eine anschließende Peptidkupplung mit dem 5'-Aminothymidin **49** und eine abschließende Entschützung erfordern. Von der Fmoc-geschützten Aminosäure ausgehend, würde die Synthese des Glycothymidins **55** damit insgesamt elf Stufen umfassen. Als problematisch könnte sich im Weiteren zudem die freie Aminfunktion im Glycothymidin **55** erweisen. Diese zusätzliche funktionelle Gruppe ist für die Funktion und Synthese des Glycomimetikums nicht essentiell und birgt das Risiko sich störend auf nachfolgende Reaktionen bzw. eine Immobilisierung auszuwirken.

Um eine effizientere Strategie für die 5'-Konjugation von Thymidin zu finden, erschien die Verwendung des 5'-Azidothymidin **48** vielversprechend. Die Reaktion mit Propargylmannosid **56** mithilfe einer kupferkatalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition sollte die Bildung eines triazolverknüpften Glycothymidins **58** ermöglichen (Abbildung 37). Diese kupferkatalysierte Variante der Huisgen-Reaktion<sup>[125]</sup> wurde 2002 von SHARPLESS<sup>[126]</sup> und MELDAL<sup>[127]</sup> zeitgleich publiziert und wird mittlerweile synonym mit dem Begriff „Click-Reaktion“ verwendet. Die Click-Chemie ist in ihrer ursprünglichen Definition ein generelles

Konzept, welches 2001 von SHARPLESS begründet wurde.<sup>[128]</sup> Es umfasst alle Reaktionen, die modular und atomökonomisch sind, in sehr guten Ausbeuten verlaufen und eine hohe Substratbreite tolerieren. Hierzu zählen neben der kupferkatalysierten Huisgen-Reaktion z.B. die Diels-Alder-Reaktion oder die Synthese von Thioharnstoffen aus Isothiocyanaten und Aminen.<sup>[129]</sup>



**Abbildung 37:** Darstellung eines triazolverknüpften Glycothymidins über kupferkatalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von 5'-Azidothymidin **48** an Propargylmannosid **56**.

Das Propargylmannosid **56**<sup>[130]</sup> wurde unter Standard-Glycosylierungsbedingungen in guten Ausbeuten aus dem Trichloracetimidat **8** dargestellt. Die anschließende Click-Reaktion mit 5'-Azidothymidin (**48**) wurde zunächst unter Zusatz von Kupfer-(I)-bromid durchgeführt, was jedoch nicht zur Umsetzung der Edukte führte. Eine andere Methode ist der Einsatz von Kupfer-(II)-sulfat, welches *in situ* durch zugesetztes Natriumascorbat zu Kupfer-(I) reduziert wird. Unter diesen Bedingungen gelang die Synthese des triazolverknüpften Glycothymidins **57** in sehr guten Ausbeuten von 94 %. Abschließende Entschützung unter Zemplén-Bedingungen<sup>[131]</sup> lieferte das freie Glycothymidin **58** in quantitativer Ausbeute. Auf diesem Weg konnte schließlich in wenigen Stufen ein Glycothymidin dargestellt werden, in dem die 5'-Position des Thymidins mit einem Mannosid funktionalisiert ist.

### Exkurs: Untersuchung der Regioselektivität der Alkylierung von Thymidin

Aus den in Abschnitt 4.1.1 beschriebenen Ergebnissen wird deutlich, dass die Regioselektivität der Alkylierung von 2'-Desoxythymidin (**1**) und seinen Derivaten stark von den Substraten und den Reaktionsbedingungen abhängt. In diesem Exkurs sollen die erhaltenen Ergebnisse zur Regiochemie der durchgeführten Alkylierungsreaktionen zusammengefasst und interpretiert werden. Dabei werden auch in der Literatur beschriebene Synthesen diskutiert. Ausgehend von diesen Ergebnissen könnten Bedingungen einer selektiven Alkylierung von ungeschütztem 2'-Desoxythymidin (**1**) an der 5'-Position erarbeitet werden.

Eigene Ergebnisse sowie ein Blick in die Literatur zeigen eine selektive Alkylierung an der 5'-Position ausschließlich für Reaktionen mit einem sterisch anspruchsvollen Elektrophil, die nach einem  $S_N1$ -Mechanismus ablaufen. Ein Beispiel ist die DMT-Schätzung (Abbildung 38).<sup>[98]</sup> Darüber hinaus gelingt eine selektive Funktionalisierung der 5'-Position mit oxophilen Reagenzien. Neben der Reaktion mit Silylchloriden zu 5'-Silylethern<sup>[115]</sup> (Abbildung 38) gibt es unterschiedliche Beispiele für eine Aktivierung mit Triphenylphosphin. So ist unter Appel-analogen Bedingungen die Darstellung von 5'-Azidothymidin beschrieben<sup>[123]</sup> und unter Mitsunobu-Bedingungen gelingt mit geeigneten Säurederivaten selektiv eine Acylierung an der 5'-Position.<sup>[104, 132]</sup>

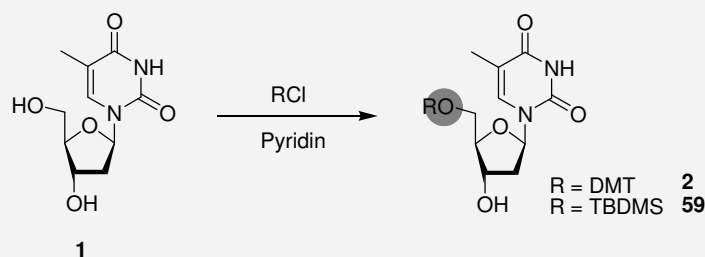


Abbildung 38: Selektive Umsetzung der 5'-O-Position von 2'-Desoxythymidin (**1**).

Erfolgreiche Alkylierungen mit anderen Alkylhalogeniden, die in dieser Arbeit sowie in der Literatur beschrieben wurden, gehen immer von einem einfach O-geschützten Thymidinderivat aus. Daher sollen an dieser Stelle zunächst die Selektivitäten der Alkylierungsreaktionen betrachtet werden, in denen die 5'-Position oder die 3'-Position von Thymidin geschützt ist. In Abbildung 39 sind die durchgeführten Alkylierungen ausgehend von 5'-O-DMT-Thymidin **2** zusammengefasst. Es wird deutlich, dass bei der Verwendung von THF als Lösungsmittel unter Zusatz von 2.5 Äquiv. Base und 2.5 Äquiv. des Alkylhalogenids selektiv eine O-Alkylierung an der 3'-Position erfolgte, sofern ein reaktives Alkylhalogenid wie Allyl- oder Propargylbromid verwendet wurde (Synthese von **3** und **61**).



Dies stimmt mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen überein.<sup>[99, 100, 133]</sup> Im Falle eines weniger reaktiven Alkylhalogenids wie Phthalimidoethylbromid wurde unter denselben Bedingungen keine Umsetzung beobachtet. Wenn dagegen DMF als Lösungsmittel verwendet wurde, wurde unter Zusatz von Base und Alkylierungsreagenz in stöchiometrischen Mengen selektiv das *N*-Alkylierungsprodukt erhalten.<sup>[134]</sup> Bei der Verwendung von zwei oder mehr Äquiv. Base und Alkylhalogenid entstanden je nach Alkylierungsreagenz, Base und Temperatur, selektiv das *N*-alkylierte Produkt, Gemische aus *N*- und *O*-Alkylierungsprodukten oder es fand eine Dialkylierung an beiden Positionen wie im Fall von **33** statt. Auch diese Ergebnisse finden sich in der Literatur wieder.<sup>[135]</sup>

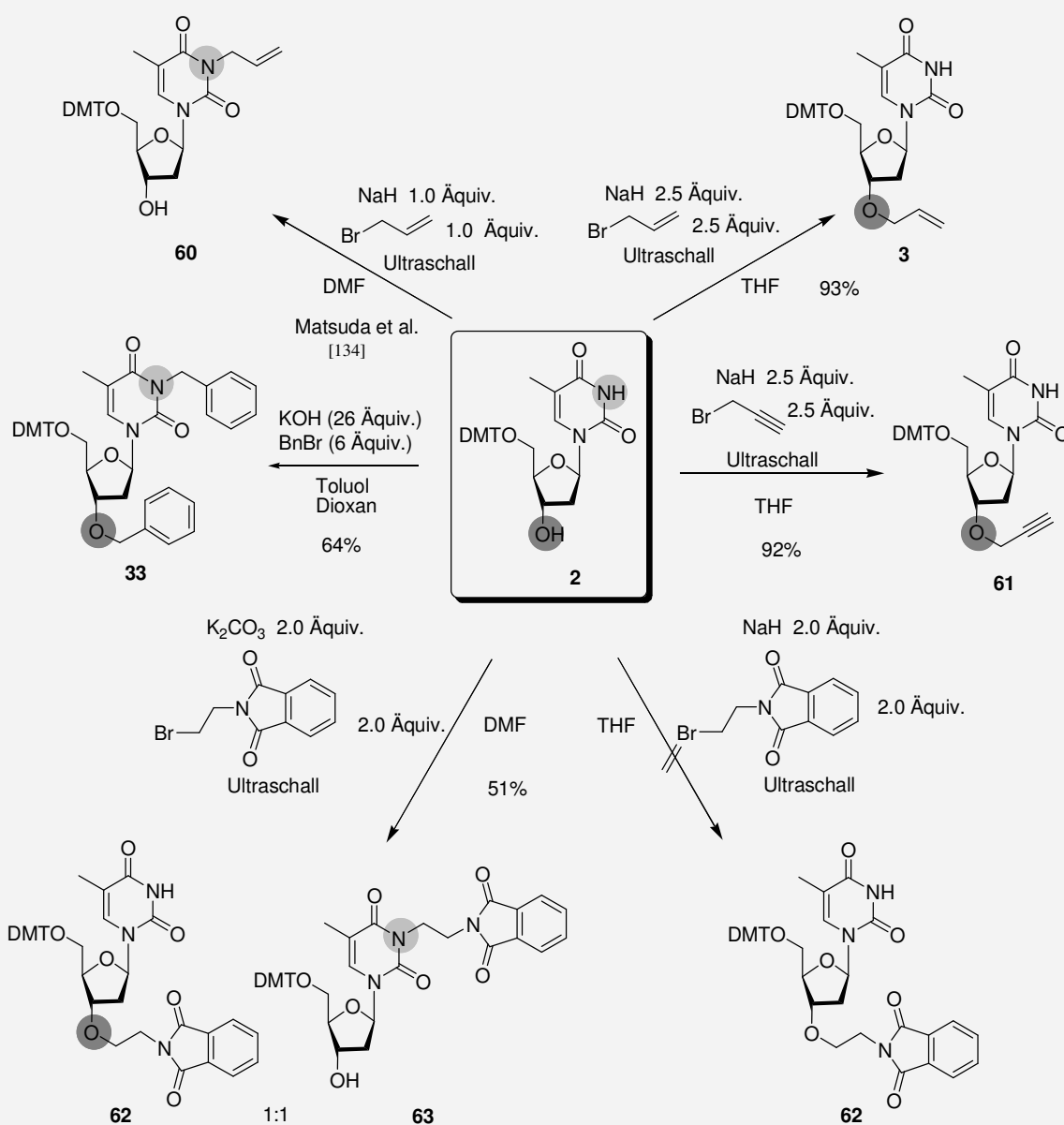


Abbildung 39: Regioselektivität der Alkylierung von 5'-*O*-(4,4'-Dimethoxytrityl)-thymidin (**2**) unter verschiedenen Bedingungen.

Nachdem die in diesem Abschnitt beschriebenen Untersuchungen durchgeführt wurden, ist eine Arbeit von ZERROUKI et al.<sup>[135]</sup> erschienen, die die lösungsmittelabhängige Regioselektivität der Alkylierung einfach geschützter Thymidinderivate untersucht und diskutiert. Sie stellt die Hypothese auf, dass die Regioselektivität der Alkylierung von der Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels abhängt. Lösungsmittel mit einer Dielektrizitätskonstante unter 10 wie THF (7.58), Dioxan (2.21) oder Dichlormethan (8.93) liefern selektiv das *O*-alkylierte Produkt, während Lösungsmittel mit einer höheren Dielektrizitätskonstante wie DMF (37.0) und DMSO (46.7) zum *N*-Alkylierungsprodukt führten.

Identische Ergebnisse finden sich, wenn anstelle eines 5'-substituierten Substrates ein Thymidinderivat verwendet wird, welches an der 3'-Position geschützt ist. Ein Beispiel gibt Abbildung 40. Unter Verwendung von THF als Lösungsmittel findet mit Propargylbromid eine *O*-Alkylierung von 3'-*O*-Allylthymidin statt, in diesem Fall an der noch freien 5'-Position. Auch hierfür gibt es Beispiele in der Literatur.<sup>[100, 136]</sup>

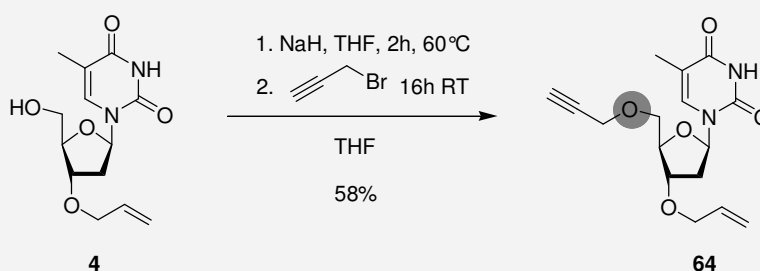
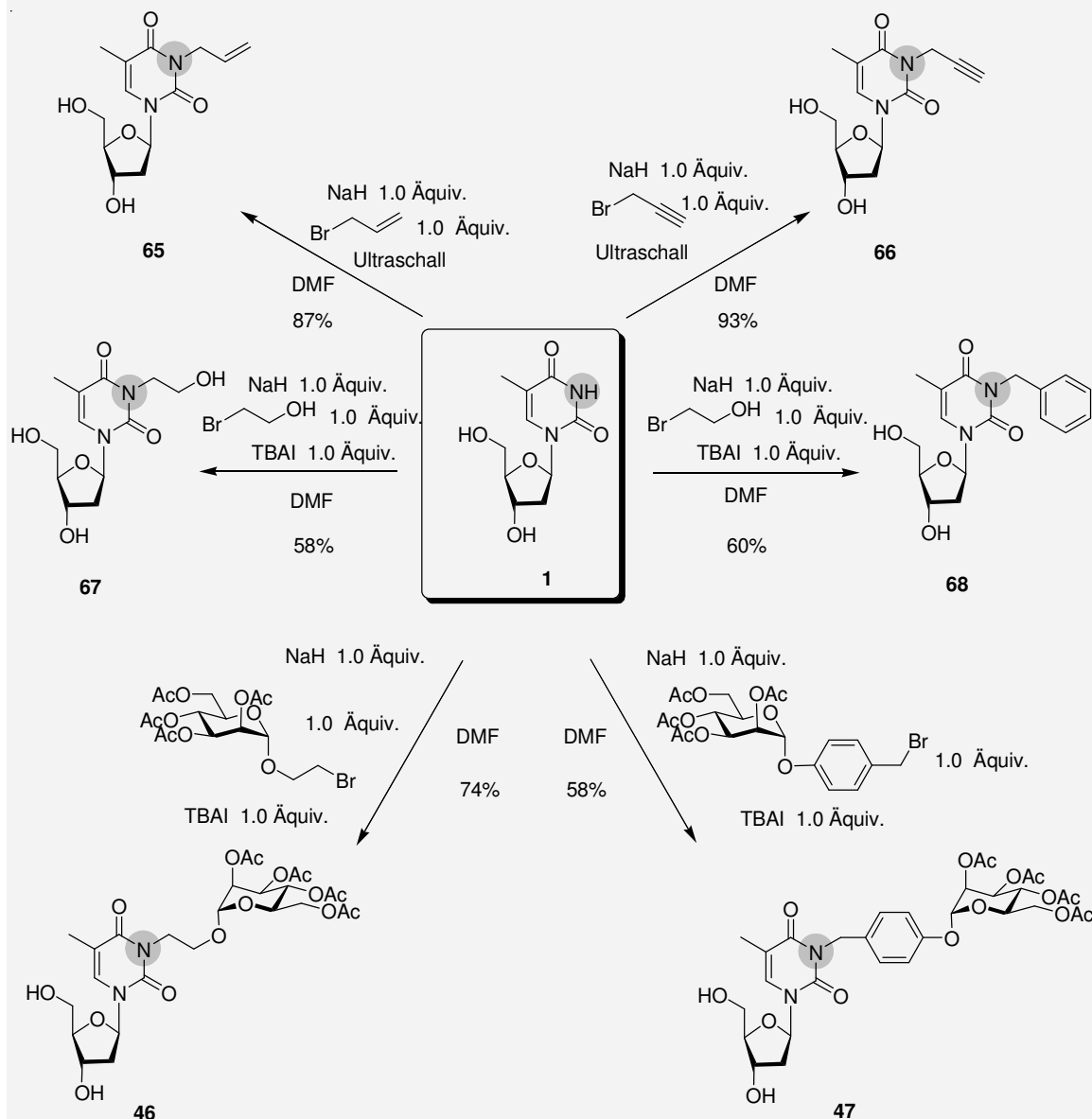


Abbildung 40: Selektive 5'-*O*-Alkylierung von 3'-*O*-Allylthymidin 4 in THF.

Ausgehend von diesen Ergebnissen wurde untersucht, ob unter bestimmten Bedingungen auch eine selektive Alkylierung des ungeschützten Thymidins 1 an der 5'-Position möglich ist. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche zur Alkylierung in DMF lieferten allerdings alle ausschließlich das *N*-alkylierte Produkt, wie in Abbildung 41 zusammengestellt.

Systematische Untersuchungen zur *O*-Alkylierung von 1 unter Variation der Bedingungen, wurden maßgeblich von H. DAUMLECHNER<sup>[114]</sup> im Rahmen ihrer Diplomarbeit durchgeführt. Testreihen mit den Alkylhalogeniden Allylbromid und Propargylbromid ergaben, dass die Reaktion in DMF selektiv das *N*-alkylierte Produkt liefert, während eine Umsetzung in THF, Dioxan, Acetonitril, vermutlich aufgrund mangelnder Löslichkeit des Eduktes in diesen Solventien zu keiner Umsetzung führten. Darüber hinaus wurden sowohl die Art als auch die Menge der zugesetzten Base variiert. Es stellte sich heraus, dass die Selektivität der Reaktion

weder von der Art noch von der Menge der Base abhing und in allen Fällen ausschließlich eine *N*-Alkylierung beobachtet wurde.



**Abbildung 41:** Zusammenstellung der durchgeführten *N*-Alkylierungen ausgehend von ungeschütztem 2'-Desoxythymidin (**1**).

Zusammenfassend kann geschlussfolgert werden, dass unter den bislang getesteten Bedingungen mit primären Alkylhalogeniden keine selektive *O*-Alkylierung von ungeschütztem Thymidin (**1**) möglich ist.

## SYNTHESE VON GLYCOHYMIDINEN – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der in diesem Kapitel beschriebenen Synthesen ist es gelungen, drei verschiedene Glycothymidine darzustellen (Abbildung 42), die in ihrem photochemischen Verhalten untersucht und auf ihre inhibitorische Potenz gegenüber bakterieller Adhäsion getestet werden sollten. Das Glycothymidin **45** konnte über einfache *N*-Alkylierung von Thymidin mit acetylgeschütztem 2-Bromethylmannosid **30** dargestellt werden. Auf dieselbe Weise wurde das entsprechende Benzylderivat **26** erhalten. Für dieses Derivat wurde aufgrund zusätzlicher hydrophober Wechselwirkungen in der Lektin CRD eine deutlich höhere Affinität gegenüber dem bakteriellen Adhäsin FimH erwartet. Bedingt durch die aufgetretenen Probleme bei einer 5'-*O*-Alkylierung von Thymidin wurde zur Synthese eines 5'-konjugierten Glycothymidins auf eine Click-Reaktion zurückgegriffen. Nach Darstellung des 5'-Azidothymidins unter Appel-analogen Bedingungen konnte das triazolverbrückte Glycothymidin **58** in einer kupferkatalysierten Click-Reaktion mit Propargylmannosid dargestellt werden.

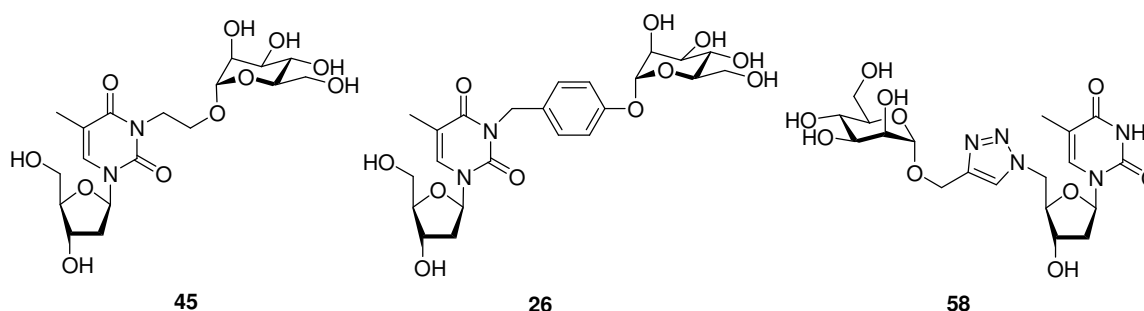


Abbildung 42: Übersicht über die dargestellten Glycothymidine.

### 4.1.2 Photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition der Glycothymidine

Die Photodimerisierung von Thymidin und seinen Derivaten ist sehr gut untersucht und wurde auf die synthetisierten Glycothymidine **26**, **45** und **58** in Lösung angewendet. Es war zu erwarten, dass eine Bestrahlung nahe dem Absorptionsmaximum auch für die neuen Glycothymidine zu einer [2+2]-Cycloaddition führen würde, die sechs verschiedene Stereo- und Regioisomere des jeweiligen Dimers liefert (Abbildung 43). Da die Cycloaddition in Lösung aus dem Triplett-Zustand erfolgt und das Intersystem-Crossing nur sehr langsam ist, war der Zusatz eines Triplett-Sensitizers für die Reaktion erforderlich. Dieser wird durch Absorption in den  $S_1$ -Zustand angeregt und erreicht anschließend durch Intersystem-Crossing einen Triplett-Zustand. Die Energie wird unter Spinerhaltung an die Reaktionspartner, in

diesem Fall die Glycothymidine, abgegeben, wodurch diese aus dem Triplett-Zustand photodimerisieren können. Die Belichtung einer wässrigen Lösung der Glycothymidine **26**, **45** und **58** mit Licht der Wellenlängen  $\lambda > 295$  nm unter Zusatz von Aceton als Triplett-Sensitizer führte zu der gewünschten Dimerisierung in allen drei Fällen. Die Bildung des Photoadditionsproduktes wurde durch UV-Spektroskopie, Massenspektrometrie, und NMR-Spektroskopie nachgewiesen. Der Vergleich der UV-Spektren vor und nach der Belichtung zeigt deutlich das Verschwinden des charakteristischen Thymidin-Absorptionsmaximums bei ca. 267 nm und das Auftreten eines für das Cyclobutan-Dimer typischen Absorptionsmaximums bei  $\sim 240$  nm. Die NMR-Analytik belegt die Entstehung verschiedener isomerer Dimere. Am Beispiel der Dimersierung von Glycothymidin **45** sind die MALDI-MS-Spektren (Abbildung 44), die UV-Spektren (Abbildung 45) und die IR-Spektren (Abbildung 46) von Monomer und Dimer sowie das NMR-Spektrum des Dimers (Abbildung 47) exemplarisch dargestellt.

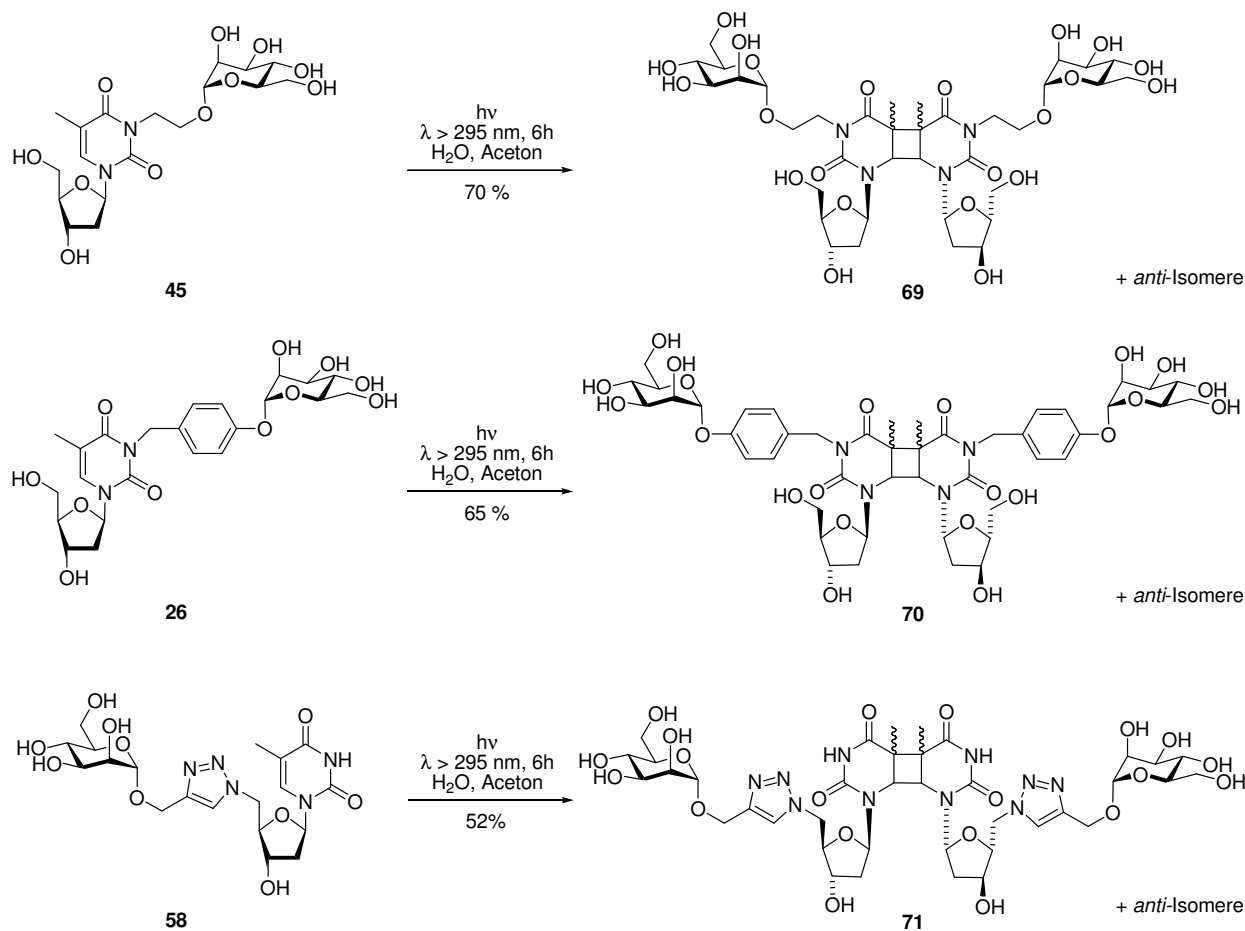


Abbildung 43: Photodimerisierung der dargestellten Glycothymidine.

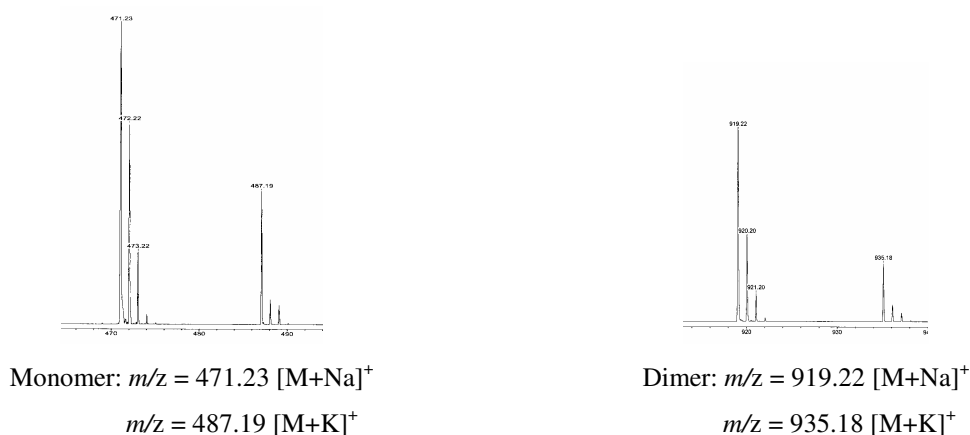


Abbildung 44: MALDI-ToF-MS-Spektren des Glycothymidins **45** (links) und des Dimers **69** (rechts).

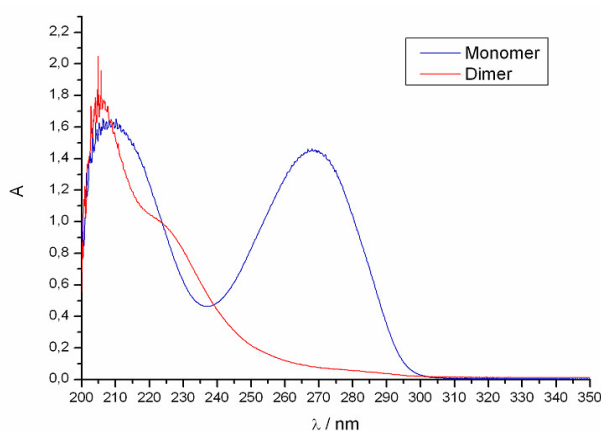


Abbildung 45: UV-Spektren des Glycothymidins **45** (blau) und des Dimers **69** (rot).

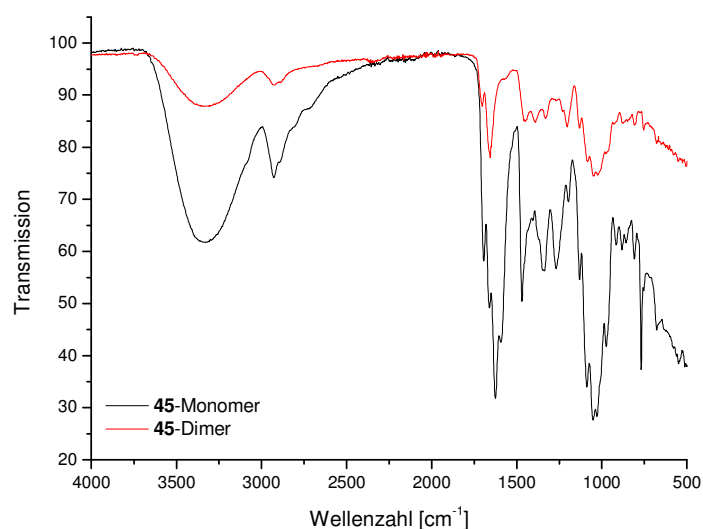


Abbildung 46: IR-Spektren des Glycothymidins **45** (schwarz) und des Dimers **69** (rot).

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **69** (Abbildung 47) zeigt deutlich die Entstehung der verschiedenen isomeren Produkte. Während das monomere Glycothymidin ein Signal für das anomere Proton der Ribose zeigt, sind für das Dimer in diesem Spektrum mindestens sieben verschiedene Signale im Bereich zwischen 5.5 und 6.5 ppm zu erkennen. Von den sechs

möglichen Stereoisomeren haben die *trans-syn*- und die *cis-anti*-Isomere eine  $C_2$ -Ache, so dass beide Thymidin-Einheiten des jeweiligen Dimers identisch sind und daher auch ihre Protonen im NMR zu nur jeweils einem Signal führen. Das *cis-syn* und das *trans-anti*-Produkt weisen dagegen keine Symmetrieachse auf, so dass die Protonen der beiden Thymidin-Einheiten im Dimer im NMR jeweils zwei unterschiedliche Signale zeigen. Diese für  $H_{1_{\text{ribo}}}$  hervorgehobene Aufspaltung erfolgt auch für die anderen Protonen.

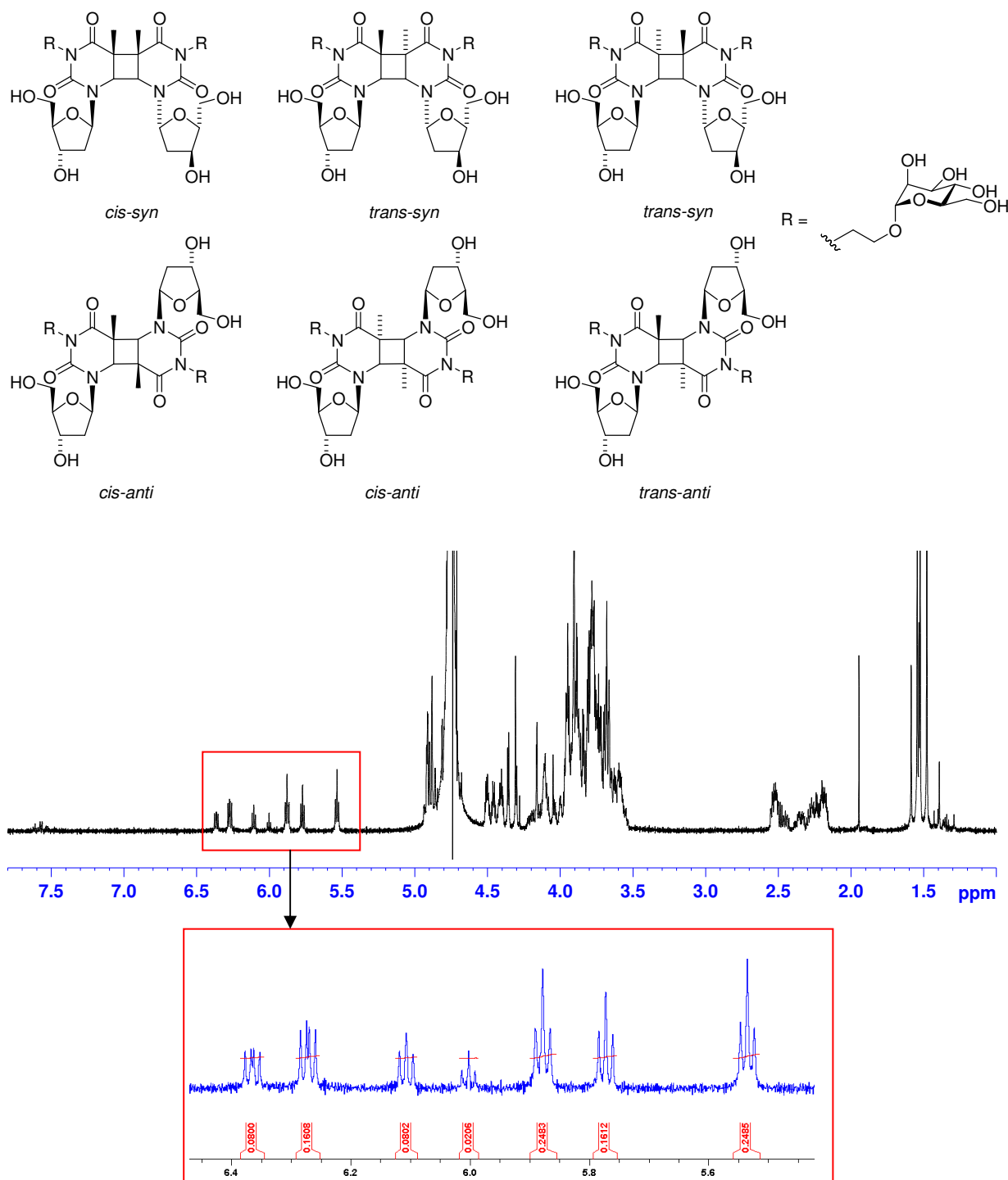


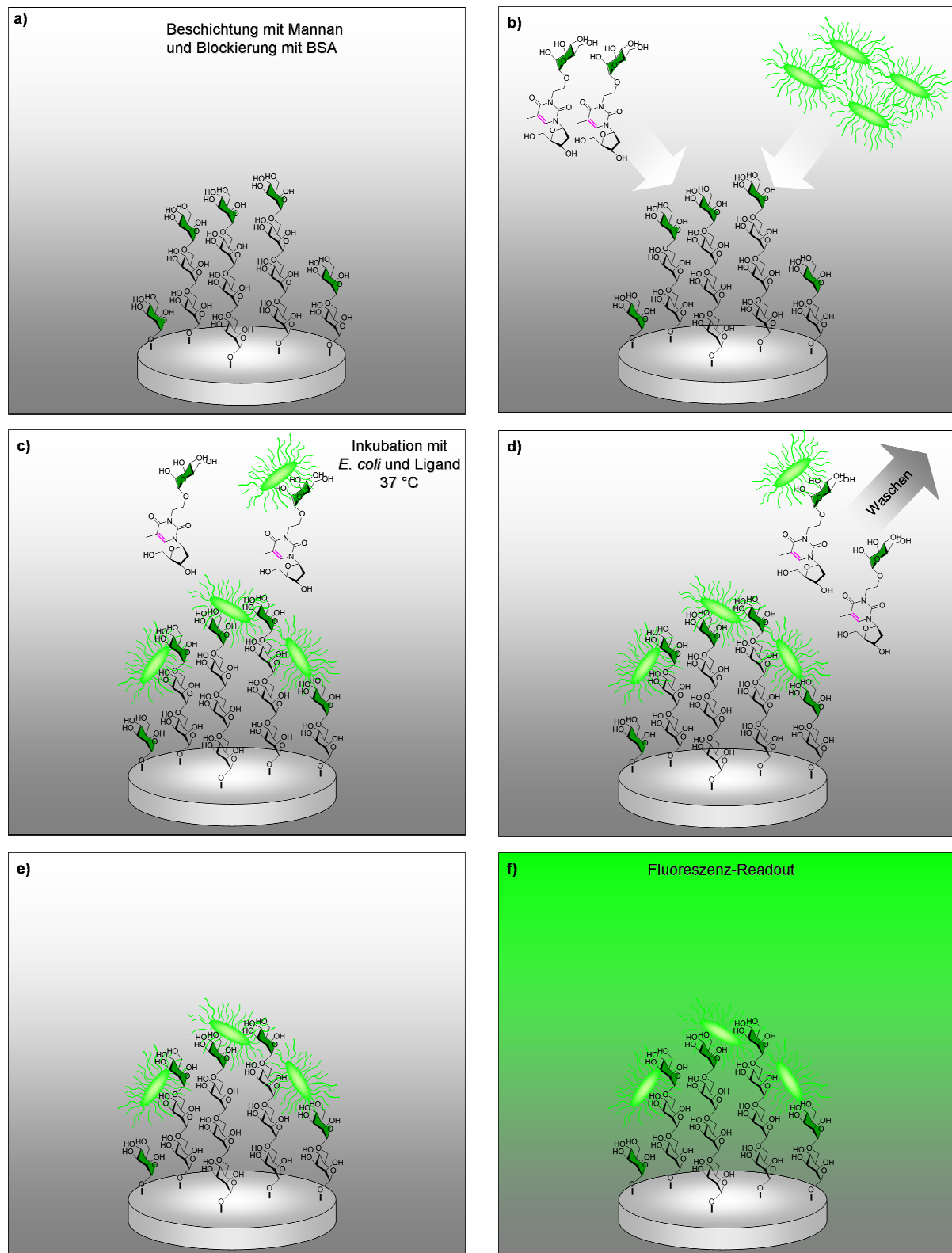
Abbildung 47:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Glycothymidin-Dimers 69. Hervorgehoben sind exemplarisch die Signale der anomeren Ribose-Protonen  $H_{1_{\text{ribo}}}$ .

### 4.1.3 Biologische Tests der Glycothymidine

Die drei unterschiedlich verknüpften Glycothymidine **26**, **45** und **58** sowie ihre Dimerisierungsprodukte sollten als Inhibitoren der Adhäsion Typ-1-fimbrierter *E. coli* an eine Mannan-beschichtete Mikrotiterplattenoberfläche getestet werden. In dem zur Bestimmung der inhibitorischen Potenz verwendeten Assay konkurriert ein Inhibitor in Lösung mit dem Polysaccharid Mannan um die Bindung an das bakterielle Lektin FimH. Der Assay wurde in der Vergangenheit meist in Form eines ELISA<sup>[79]</sup> durchgeführt. Zur Detektion der adhärenierten Bakterien wird in diesem Fall ein gekoppeltes Antikörpersystem verwendet. Der zweite Antikörper wird hierbei als Konjugat mit einer Peroxidase eingesetzt, die anschließend eine Farbreaktion katalysiert. Durch Auslesen der aus der Farbreaktion resultierenden optischen Dichte (OD) kann eine Quantifizierung der gebundenen Bakterien erfolgen. Dieser Test wurde kürzlich von M. HARTMANN<sup>[80]</sup> durch die Verwendung eines GFP-markierten *E. coli*-Stammes modifiziert, was eine Quantifizierung der adhärenierten Bakterien durch einfaches Fluoreszenz-Auslesen der Mikrotiterplatte ermöglicht. Der GFP-basierte Assay umfasst daher deutlich weniger Inkubations- und Waschschrte als der ELISA und wurde hier als Testverfahren zur Bestimmung der inhibitorischen Potenz der Glycothymidine gewählt.

Die einzelnen Schritte des GFP-Assays sind in Abbildung 48 schematisch dargestellt. Zunächst erfolgte eine nicht kovalente Beschichtung der Polystyrol-Mikrotiterplatten mit dem Polysaccharid Mannan, welches aus  $\alpha$ -(1→6)-verknüpften Mannoseeinheiten aufgebaut ist (a). Um eine unspezifische Adhäsion der Bakterien an die Polystyrolplatte zu verhindern, wurden anschließend freie Flächen mit dem Protein BSA blockiert. Die Wells der Mikrotiterplatte wurden im nächsten Schritt mit der Inhibitorlösung in serieller Verdünnung bestückt und anschließend zusammen mit den Typ-1-fimbrierten *E. coli* bei 37 °C inkubiert (c). In diesem kompetitiven Assay konkurriert der Inhibitor, in diesem Fall das Glycothymidin, mit dem oberflächengebundenen Polysaccharid um die CRD des bakteriellen Lektins FimH. Je stärker die inhibitorische Potenz der Testsubstanz, desto geringer ist die Adhäsion der Bakterien an die Oberfläche. Nach der Inkubation folgte mehrfaches Waschen der Platte, wodurch nicht an die Oberfläche gebundene Bakterien und der Inhibitor entfernt wurden. Die oberflächengebundenen GFP-transfizierten *E. coli* können schließlich durch Auslesen der Fluoreszenz quantifiziert werden.





**Abbildung 48: GFP-basierter bakterieller Adhäsionstest: Kompetitiver Assay, in dem der Inhibitor mit dem oberflächengebundenen Polysaccharid Mannan um die CRD des bakteriellen Lektins FimH konkurriert. Die Quantifizierung erfolgt über Fluoreszenzdetektion der GFP-markierten Bakterien.**

Zur Bestimmung der prozentualen Inhibition bei den jeweiligen Inhibitorkonzentrationen wurde als Vergleichswert die Fluoreszenz einer Blindprobe ohne Inhibitor herangezogen. Die

Fluoreszenz dieser Blindprobe entspricht per definitionem 100% und die daraus resultierende inhibitorische Potenz 0 %. Die prozentuale inhibitorische Potenz (I%) für den Inhibitor unterschiedlicher Konzentrationen berechnet sich danach wie folgt:

$$I\% = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100$$

**Formel 1: Bestimmung der prozentualen Inhibition aus dem gemessenen Fluoreszenzwert der Inhibitorlösungen (I) und dem der Blindprobe (I<sub>0</sub>).**

Hierbei ist I<sub>0</sub> die Fluoreszenzintensität der Blindprobe ohne Inhibitor und I die Fluoreszenzintensität bei der jeweiligen Inhibitorkonzentration. Durch graphische Auftragung der prozentualen Inhibition gegen die Inhibitorkonzentration auf einer logarithmischen Skala ergibt sich eine sigmoidale Inhibitionskurve. Aus dieser Kurve kann der so genannte IC<sub>50</sub>-Wert bestimmt werden, der die inhibitorische Potenz einer Testsubstanz widerspiegelt und mit der Affinität eines Liganden zu dem Lektin reziprok korreliert. Der IC<sub>50</sub>-Wert ist die Inhibitorkonzentration, bei der die Inhibition der bakteriellen Adhäsion an die Oberfläche 50 % beträgt. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten und durch die experimentelle Durchführung bedingte Schwankungen in den Ergebnissen zu eliminieren, wurden die IC<sub>50</sub>-Werte aller getesteten Inhibitoren in Relation zu dem Standardinhibitor Methyl- $\alpha$ -D-mannosid (MeMan) angegeben, der jeweils auf derselben Platte getestet wurde. MeMan zeigt typische IC<sub>50</sub>-Werte im millimolaren Bereich. Die daraus resultierenden so genannten relativen inhibitorischen Potenzen (RIP) wurden wie folgt berechnet:

$$RIP = \frac{IC_{50}(\text{Standard})}{IC_{50}(\text{Testsubstanz})}$$

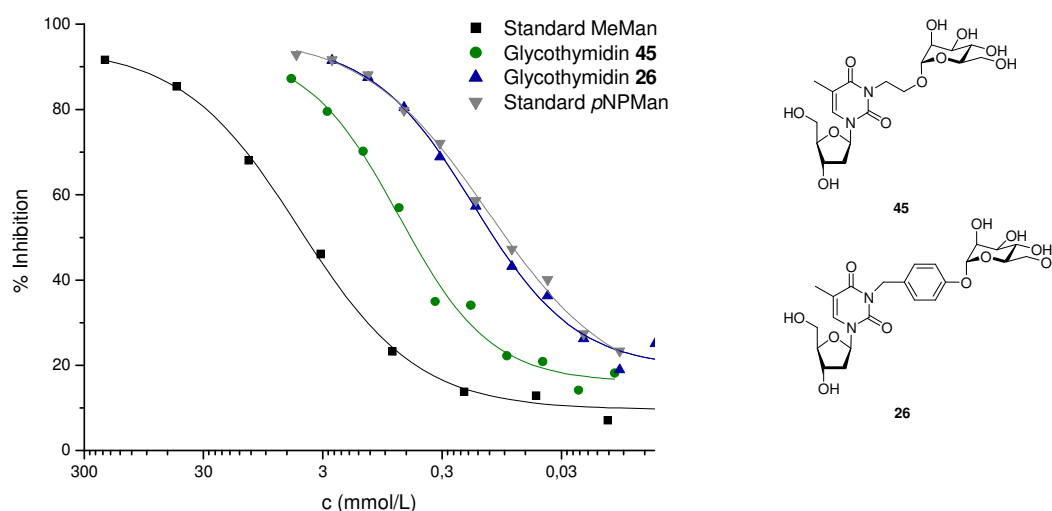
**Formel 2: Bestimmung der relativen inhibitorischen Potenz (RIP) im Vergleich zu dem Standardinhibitor MeMan, der auf derselben Platte getestet wurde; RIP (MeMan)  $\equiv$  1.**

Für multivalente Inhibitoren wird außerdem die valenzbereinigte relative inhibitorische Potenz RIP<sub>vb</sub> angegeben, die die RIP pro Ligand angibt.

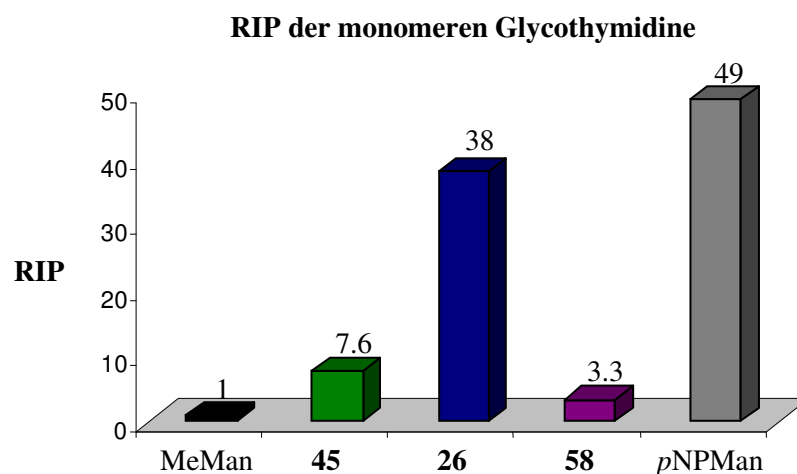
$$RIP_{vb} = \frac{RIP}{\text{Valenz}}$$

**Formel 3: Bestimmung der valenzbereinigten inhibitorischen Potenz RIP<sub>vb</sub>.**

Zunächst sollte die inhibitorische Potenz der monomeren Glycothymidine **26**, **45** und **58** bei der Typ-1-Fimbrien-vermittelten bakteriellen Adhäsion an eine Mannanoberfläche getestet werden. Exemplarisch sind die aus dem GFP-basierten Adhäsionsassay erhaltenen Inhibitionskurven der monomeren Glycothymidine mit Ethyl- und Benzylspacer, **45** und **26**, die zusammen auf einer Platte getestet wurden, in Abbildung 49 dargestellt. Als Standard wurde neben MeMan *p*-Nitrophenylmannosid (*p*NPMan) eingesetzt. Zum Vergleich sind die RIPs der beiden Glycothymidine **45** und **26**, sowie die des triazolverknüpften Glycothymidins **58** in Tabelle 2 gegenübergestellt. Alle drei Derivate zeigten sich in diesem Assay als potente Inhibitoren der bakteriellen Adhäsion und wiesen eine höhere inhibitorische Potenz auf als der Standard MeMan. Das ethylverbrückte Glycothymidin **45** zeigte eine RIP von ~8, was mit bisherigen Ergebnissen übereinstimmt, nach denen die Freie Bindungsenergie mit der Länge der Alkylkette des Mannosids korreliert.<sup>[74]</sup> Mit einer RIP von ~40 wies das benzylverbrückte Glycothymidin **26** den mit Abstand besten Wert auf und lag damit im Bereich des zweiten Standards *p*NPMan. Auch dieses Ergebnis war unter Berücksichtigung der Struktur der CRD des Lektins FimH zu erwarten, da Mannoside mit einem aromatischen Aglycon besonders stark an das bakterielle Lektin binden. Dies liegt am Eingang der FimH-CRD, wo eine hydrophobe  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkung zwischen dem aromatischen Ringsystem im Aglycon des Liganden und zwei Tyrosinresten des Lektins (Tyr48 und Tyr137), dem so genannten Tyrosintor, stattfinden kann.<sup>[67, 69, 74, 75, 77]</sup> Das triazolverbrückte Glycothymidin **58** zeigte mit einem RIP-Wert von 3 die geringste inhibitorische Potenz in dieser Reihe. Trotz der aromatischen Einheit im Aglycon sind scheinbar die Ligandeneigenschaften dieses Glycothymidinderivates nur geringfügig besser als die von MeMan.



**Abbildung 49:** Inhibitionskurven des bakteriellen Adhäsionstests der monomeren Glycothymidine **45** und **26** im Vergleich zu den Standardinhibitoren MeMan und *p*NPMan.



Verbindung	IC <sub>50</sub> (mmol/L)	RIP
MeMan	4.20	1
GT mit Ethylspacer <b>45</b>	0.55	7.6
GT mit Benzylspacer <b>26</b>	0.11	38
pNPMAN	0.085	49
MeMan	3.33	1
GT mit Triazolspacer <b>58</b>	1.00	3.3

**Tabelle 2:** IC<sub>50</sub>-Werte der Glycothymidine **45**, **26** und **58**, sowie deren RIP-Werte im Vergleich mit dem Standardinhibitor MeMan. MeMan, pNPMAN, **46** und **26** wurden zusammen auf einer Platte getestet, MeMan und **58** separat auf einer anderen. Relative inhibitorische Potenzen (RIP) wurden im Vergleich zu dem IC<sub>50</sub>-Wert von Methyl- $\alpha$ -D-mannosid (MeMan: IP  $\equiv$  1) berechnet, der auf derselben Mikrotiterplatte getestet wurde.

Um sicherzustellen, dass die inhibitorische Potenz der Glycothymidine auf der Bindungsaffinität der  $\alpha$ -D-Mannosyleinheit beruht und nicht maßgeblich auf andere, durch funktionelle Gruppen im Thymidin oder dem Spacer hervorgerufene Interaktionen zurückzuführen ist, wurden fünf Kontrollsubstanzen synthetisiert und getestet (Abbildung 50). Die Struktur der Kontrollsubstanzen wie auch ihre Synthese orientierte sich an den Strukturen der getesteten Glycothymidine. So wurden durch *N*-Alkylierung mit Natriumhydrid und TBAI unter Verwendung von Bromethanol bzw. Benzylbromid die nicht glycosylierten Thymidinderivate *N*<sup>3</sup>-(2-Hydroxyethyl)-thymidin **67** und *N*<sup>3</sup>-Benzylthymidin **68**, dargestellt. Durch eine Clickreaktion mit 5'-Azidothymidin **48** und Propargylalkohol konnte das Derivat **72** erhalten werden. Darüber hinaus wurde aus 2-Bromethyl-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**73**) das Glucoseanalogon **75** des mannosidischen Glycothymidins **45** synthetisiert. Diese vier Thymidinderivate **67**, **68**, **72** und **75** sowie 2'-

Desoxythymidin selbst wurden in Kontrollversuchen auf ihre inhibitorische Potenz in dem bakteriellen Inhibitionsassay getestet. Keine der Kontrollverbindungen zeigte jedoch eine signifikante Inhibition der bakteriellen Adhäsion, was darauf schließen lässt, dass auch keine Affinität zu dem Lektin FimH besteht. Eine  $\alpha$ -D-Mannosyleinheit ist somit für eine effektive Bindung an das Lektin unbedingt erforderlich, und alle drei Glycothymidine können als spezifische Liganden des bakteriellen Lektins FimH betrachtet werden.

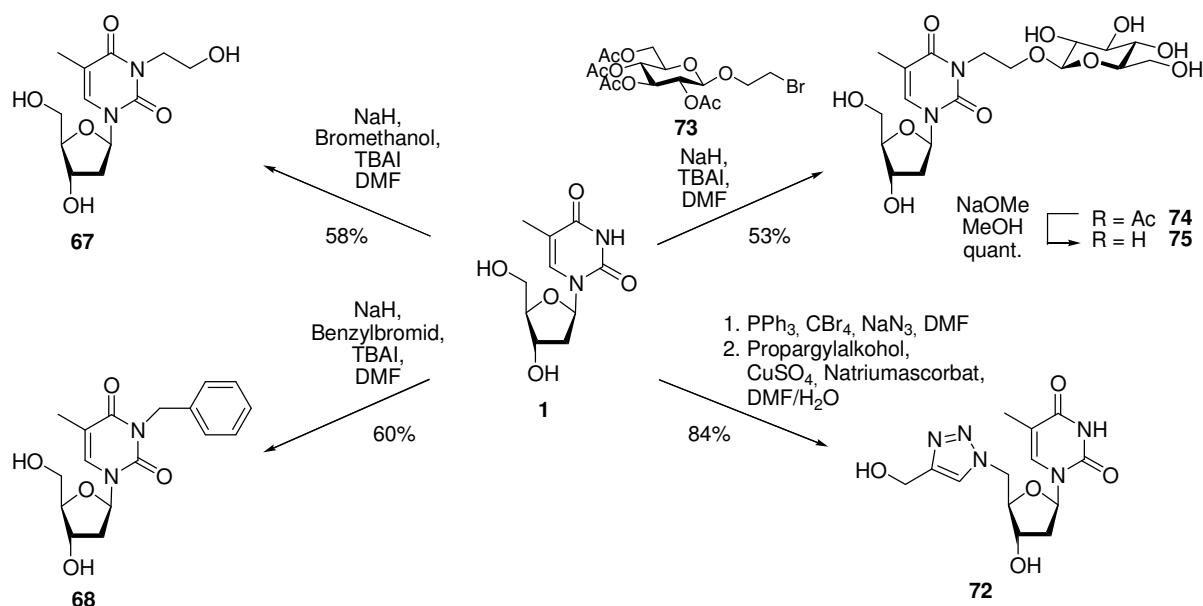


Abbildung 50: Darstellung der Kontrollsubstanzen.

Nachdem die neuen monomeren Glycothymidine als effiziente und spezifische Inhibitoren der bakteriellen Adhäsion in dem GFP-basierten Inhibitionsassay feststanden, konnte nunmehr die wichtige Fragestellung der Auswirkung einer konformationellen Änderung im Liganden auf dessen Eigenschaften in der bakteriellen Adhäsion angegangen werden. Zu diesem Zweck sollte der Einfluss der Photoreaktion auf die Affinität der drei Glycothymidinderivate in dem GFP-basierten Inhibitionsassay getestet werden. Neben den isolierten Dimerisierungsprodukten **69**, **70** und **71** wurden in diesem Zusammenhang auch Lösungen der Monomere getestet, die einer dreistündigen bzw. einer sechsständigen Belichtung unterzogen wurden und demzufolge sowohl monomeres als auch dimeres Glycothymidin enthielten. Durch den Vergleich dieser Ergebnisse sollte der Einfluss der Dimerisierung und der damit verbundenen konformationellen Einschränkung des Liganden auf die inhibitorische Potenz in Lösung bestimmt werden.

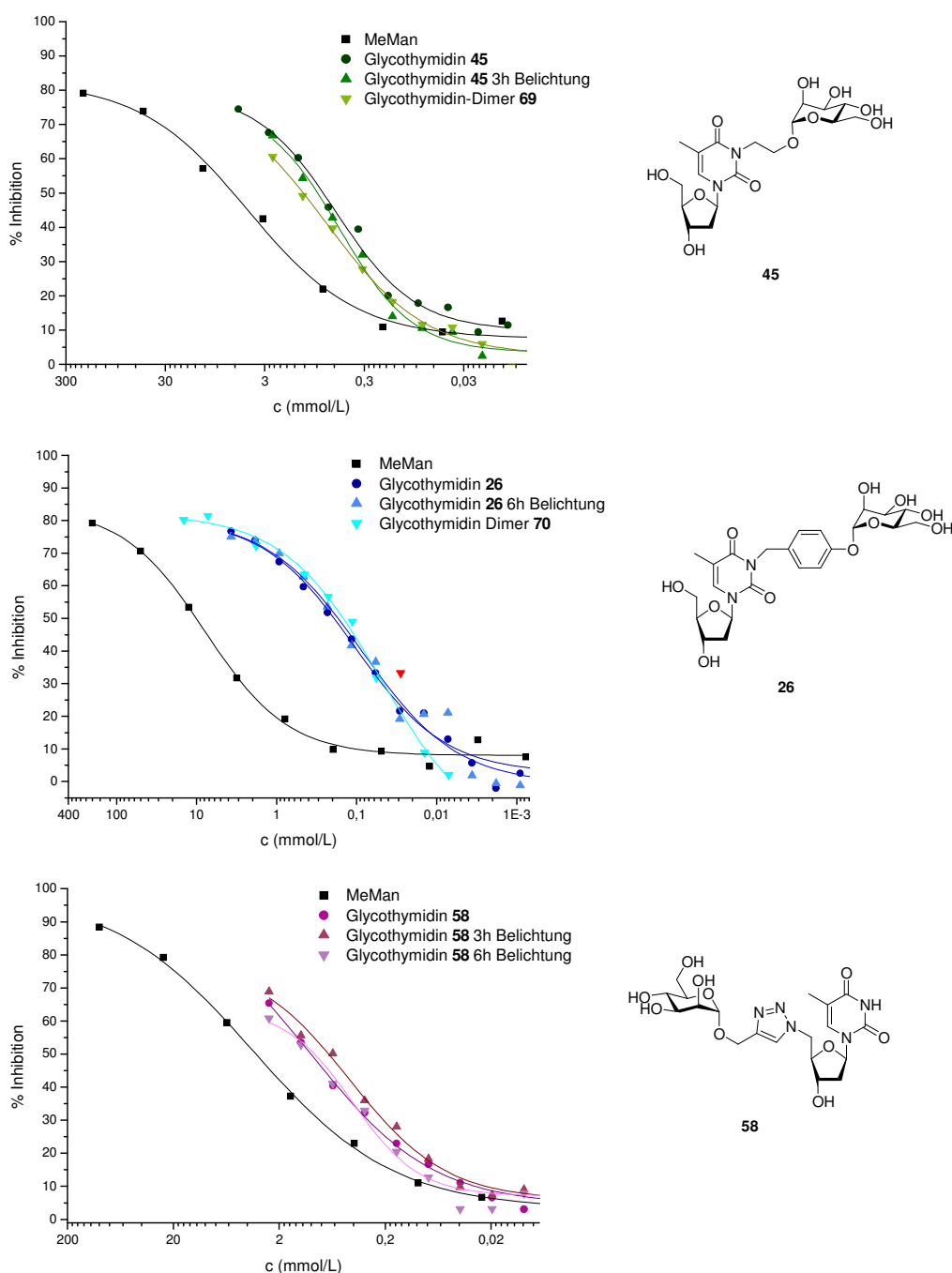
In Abbildung 51 sind exemplarisch für jedes der drei Glycothymidinderivate Inhibitionskurven des Monomers und zweier Belichtungsprodukte dargestellt. Diese sind

jeweils dem Standard MeMan gegenübergestellt, der auf derselben Mikrotiterplatte getestet wurde. Tabelle 3 zeigt die aus den Inhibitionskurven mehrerer Tests erhaltenen und gemittelten  $RIC_{50}$ -Werte. Werden zunächst die inhibitorischen Potenzen des Glycothymidins **45** betrachtet, so ergibt sich für die monomere Substanz vor der Belichtung ein RIP-Wert von 9.7. In Folge einer drei- bzw. sechsständigen Belichtung von **45**, weist das erhaltene Produktgemisch einen valenzbereinigten  $RIP_{vc}$ -Wert von 7.3 bzw. von 7.0 auf. Die inhibitorische Potenz nimmt also im Laufe der Dimerisierung nur geringfügig ab. Das isolierte Dimer zeigt ebenfalls einen vergleichbaren  $RIP_{vc}$ -Wert von 4.6, was einem RIP-Wert von 9.3 entspricht. Zwar zeigen diese Werte eine leichte Abnahme der inhibitorischen Potenz in Folge der Belichtung, jedoch können unter Berücksichtigung der Ungenauigkeit des Testverfahrens die erhaltenen Werte als nahezu identisch innerhalb der Fehlergrenzen betrachtet werden. Es wird daher angenommen, dass die Dimerisierung der Glycothymidine somit keinen signifikanten Einfluss auf die Lektinbindung in Lösung hat. Scheinbar findet durch die Ligandendimerisierung keine Präorganisation statt, die statistisch die Wahrscheinlichkeit einer Bindung erhöht und sich somit vorteilhaft auf die Wechselwirkung des Liganden mit dem Lektin auswirkt. Dies passt zu dem relativ starren und sperrigen Cyclobutangerüst, das die beiden  $\alpha$ -D-Mannosyleinheiten in **69** exponiert.

Ähnliche Ergebnisse wie das Glycothymidin **45** zeigen auch die beiden anderen Derivate mit aromatischem (**26**) bzw. heteroaromatischem Aglycon (**58**). Während für das Glycothymidin **45** eine leichte Abnahme der inhibitorischen Potenz im Verlauf der Belichtung beobachtet wird, ist für das Glycothymidin **26** eine leichte Zunahme erkennbar. Diese Zunahme könnte auf Multivalenzeffekte zurückzuführen sein.<sup>[22]</sup> Da es sich bei der Lektin-Kohlenhydratbindung um einen dynamischen Prozess handelt, wird durch die Dimerisierung und die damit verbundene räumliche Nähe der Liganden die Wahrscheinlichkeit einer Bindung erhöht. Jedoch liefern einzelne Tests beider Glycothymidine identische  $IC_{50}$ -Werte für alle auf einer Mikrotiterplatte getesteten Derivate, unabhängig von ihrer Belichtungsdauer. Daher wurde davon ausgegangen, dass die Dimerisierung weder für **26** noch für **45** einen signifikanten Effekt auf die Ligandenaffinität in Lösung besitzt. Für das Glycothymidin **58** konnte ebenfalls keine signifikante Veränderung der RIP im Verlauf der Dimerisierung beobachtet werden. Es wurde daher geschlussfolgert, dass die Dimerisierung auch für dieses Glycothymidin keinen Effekt auf die Lektinbindung hat.

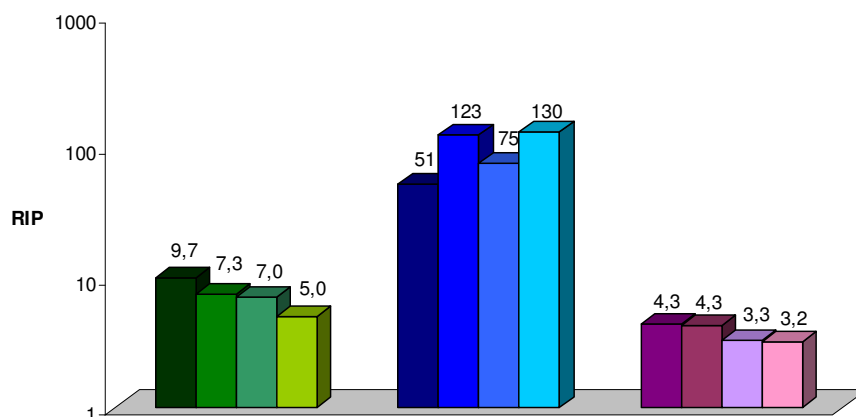
Das Glycothymidin **58** unterscheidet sich von den anderen beiden Glycothymidinen dadurch, dass das Thymidinderivat mit der Mannosyleinheit über die 5'-Position der Ribose verknüpft ist. Dadurch ist der Abstand zwischen Ligand und Doppelbindung, die die Cycloaddition zum

Cyclobutandimer eingeht, sehr viel größer. Dies bringt vermutlich eine höhere Flexibilität der Liganden im Dimer mit sich. Ist dies der Fall, schlägt es sich nicht in einem größeren Einfluss der Belichtung auf die Lektinbindung nieder. Abschließend lässt sich also feststellen, dass die inhibitorischen Potenzen aller drei Glycothymidinderivate **26**, **45** und **58** innerhalb der Fehlergrenzen nahezu unabhängig von ihrem „Schaltzustand“ sind.



**Abbildung 51:** Adhäsions-Inhibitionsassays in Lösung lieferten die Inhibitionskurven der belichteten und unbelichteten Glycothymidinderivate. Exemplarische Darstellung einiger Inhibitionskurven, die jeweils auf einer Mikrotiterplatte getestet wurden. Die angegebene Konzentration bezieht sich jeweils auf die  $\alpha$ -D-Mannosyleinheiten in Lösung.

## RIP der Glycothymidine-Einfluss der Dimerisierung



Verbindung	Monomer	Lösung nach 3h Belichtung	Lösung nach 6h Belichtung	Dimer
	RIP (SD)	RIP (SD)	RIP (SD)	RIP (SD) —RIP <sub>vc</sub> (SD)
MeMan	1			
Glycothymidin <b>45</b>	9.7 (1.6)	7.3 (0.4)	7.0 (1.3)	9.3 (0.85) — 4.6 (0.4)
Glycothymidin <b>26</b>	51 (4.6)	123 (39)	75 (14)	130 (53) — 65 (26)
Glycothymidin <b>58</b>	4.3 (0.8)	4.3 (0.7)	3.3 (0)	6.4 (0.2) — 3.2 (0.1)

**Tabelle 3:** Adhäsions-Inhibitionsassays in Lösung lieferten die Inhibitionskurven der belichteten und unbelichteten Glycothymidinderivate. Daraus wurden für jeden Inhibitor IC<sub>50</sub>-Werte bestimmt. Relative inhibitorische Potenzen (RIP) wurden im Vergleich zu dem IC<sub>50</sub>-Wert des Standard-Inhibitors Methyl- $\alpha$ -D-mannosid (MeMan; IP  $\equiv$  1) berechnet, der jeweils auf derselben Mikrotiterplatte getestet wurde. Valenz-bereinigte Werte (RIP<sub>vc</sub>) berücksichtigen die Zahl der  $\alpha$ -D-Mannosyleinheiten pro Ligand. SD = Standardabweichung (standard deviation).

### PHOTOREAKTION UND TESTUNG – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG

Alle drei neuen Glycothymidinderivate **26**, **45** und **58** konnten bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlängen  $\lambda > 295$  nm unter Zusatz eines Triplet-Sensitizers erfolgreich zu den jeweiligen Glycothymidin-Dimeren umgesetzt werden. Im GFP-basierten Adhäsionstest zeigten sich alle Glycothymidinderivate als potente Inhibitoren der Typ-1-Fimbrien-vermittelten bakteriellen Adhäsion. Das triazolverbrückte Glycothymidin **58** wies trotz der aromatischen Einheit im Aglycon einen kleinen RIP-Wert von 4 auf. Für das ethylverbrückte Glycothymidin **45** hingegen wurde ein RIP-Wert von  $\sim 10$  bestimmt. Das benzylverbrückte Glycothymidin **26** zeigte wie erwartet mit einem RIP-Wert von  $\sim 50$  die höchste inhibitorische Potenz. Dies ist vermutlich auf hydrophobe Interaktionen mit aromatischen Seitenketten in der Peripherie der CRD von FimH zurückzuführen. Für alle drei Glycothymidine wurden die Monomere, die



isolierten Dimere, wie auch belichtete Proben, die sowohl monomere als auch dimere Substanz enthielten, im Adhäsionstest getestet. Jedoch konnte für keines der drei Glycothymidinderivate ein signifikanter Unterschied der gemessenen RIP-Werte in Folge der Belichtung festgestellt werden. Demnach kann der Schluss gezogen werden, dass der „Schaltzustand“ des Glycothymidins in Lösung keinen signifikanten Einfluss auf die Affinität des Glycomimetikums zu dem bakteriellen Lektin FimH besitzt.

## 4.2 Glycothymidin-Arrays

### 4.2.1 Bakterielle Adhäsion an schaltbare Glycothymidin-Oberflächen – Proof of Principle

Die Untersuchung der inhibitorischen Potenz der dargestellten Glycothymidinderivate **26**, **45** und **58** in der bakteriellen Adhäsion hat ihre Affinität gegenüber dem bakteriellen Lektin FimH bestätigt. Der Vergleich mit den inhibitorischen Potenzen der entsprechenden Dimerisierungsprodukte ergab, dass unter den gegebenen Bedingungen in Lösung kein signifikanter Einfluss des „Schaltzustandes“ (Monomer vs. Dimer) auf die inhibitorische Potenz der Glycothymidine besteht. Für das Phänomen der bakteriellen Adhäsion an eine glycosylierte Oberfläche spielen jedoch neben der einzelnen Protein-Ligand-Wechselwirkung die konformationelle Erreichbarkeit der Liganden, ihre Präsentation auf die Oberfläche und die Ligandendichte eine Rolle. Zusätzlich können makromolekulare Verhakelungen (*velcro effect*), die Adhäsion beeinflussen.<sup>[137, 138]</sup> Es könnte auch die These aufgestellt werden, dass, wie für viele Signaltransduktionsprozesse beschrieben, der initiale Rezeptor-Ligand-Kontakt eine Kaskade von Reaktionen auslöst, deren ungehinderter Ablauf Voraussetzung für die Zelladhäsion und -kommunikation ist. Es ist daher anzunehmen, dass im Gegensatz zu der Situation in Lösung, eine Strukturänderung, und sei es nur eine relativ subtile konformationelle Variation, innerhalb einer glycosylierten Oberfläche Auswirkungen auf die bakterielle Adhäsion bzw. auf die Zellerkennung haben kann. Um dies zu prüfen, wurde durch Funktionalisierung von Mikrotiterplatten eine photosensitive Glycothymidinoberfläche dargestellt, und die bakterielle Adhäsion an diese Oberfläche untersucht. Durch Bestrahlung der Mikrotiterplatte sollte die Cycloaddition der Glycothymidine auf der Oberfläche erfolgen und somit eine konformationelle Änderung innerhalb des Glycoarrays induziert werden (Abbildung 52).

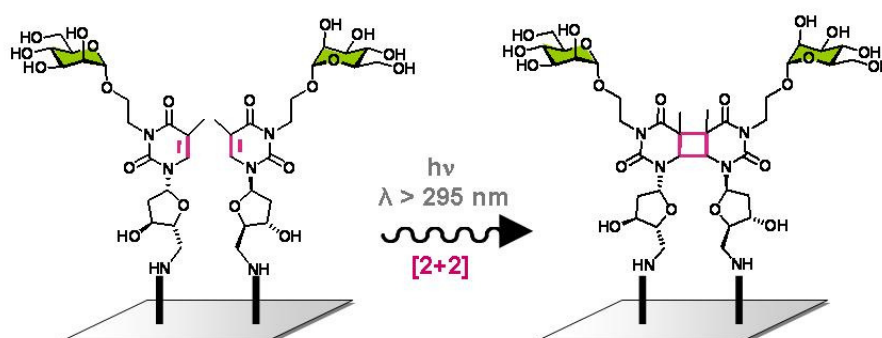


Abbildung 52: Schematische Darstellung des photosensitiven Arrays von Glycothymidinderivaten auf einer Oberfläche.

Die Glycoarray-Technik ist eine weit verbreitete Methode zur Analyse von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen und von zellulärer Adhäsion. Sie erlaubt ein individuelles Design maßgeschneiderter Glycan-Oberflächen sowie eine schnelle und parallele Untersuchung von Zuckern in vielen biologischen Systemen.<sup>[64, 139]</sup> Insbesondere die kürzlich entwickelte Carbohydrate-Microarray-Technik hat die Untersuchung von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen und die Aufklärung ihrer Spezifität in biologischen Erkennungsprozessen revolutioniert.<sup>[64, 140]</sup> Mit Hilfe der Microarrays können die meist in sehr geringem Mengen verfügbaren Oligosaccharide aus natürlichen Quellen oder chemischer Synthese auf Mikrochips immobilisiert werden und so multivalent auf einer Oberfläche präsentiert werden. Diese Miniaturisierung erlaubt die gleichzeitige Untersuchung kleinster Mengen hunderter Glycane auf die Spezifität und Stärke ihrer Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen. Zur Immobilisierung wird unter anderem die von T. FEIZI entwickelte Neoglycolipid-Technology (NGL) genutzt.<sup>[141]</sup> Diese Technik macht sich die Adhäsion langer Alkylketten an Oberflächen über hydrophobe Wechselwirkungen zunutze. Dazu werden zunächst Oligosaccharide mit einem Lipid-Molekül z.B. mittels reduktiver Aminierung funktionalisiert und auf diese Weise für eine Immobilisierung zugänglich gemacht. Neben der NGL gibt es zahlreiche Beispiele zur kovalenten Verknüpfung von Glycanen mit aktivierten Oberflächen.<sup>[142-145]</sup> Prinzipiell können die Verfahren, die sich für die Immobilisierung von Zuckern auf miniaturisierten Microarrays eignen, auch zur Funktionalisierung von Oberflächen in größerem Maßstab verwendet werden. So nutzten WITTMAN et al. isothiocyanatfunktionalisierte 96-Well-Mikrotiterplatten zur Immobilisierung unterschiedlicher GlcNAc-Derivate über eine Thioharnstoffkupplung. Ergebnisse eines Lektin-Assays zeigten, dass die Art der Präsentation der Liganden als Teil eines Glycoproteins oder als kovalent immobilisiertes Monosaccharid das Ergebnis des Assays beeinflussten.<sup>[146]</sup>

Für die Darstellung eines Glycothymidin-Arrays wurden hier so genannte 96-Well-Immobilizer-Amino-Mikrotiterplatten der Firma Thermo Scientific Nunc verwendet. Diese Polystyrolplatten sind vom Hersteller mit funktionellen Gruppen bestückt, mit Hilfe derer Amine oder andere starke Nucleophile zur Reaktion gebracht und so auf der Oberfläche immobilisiert werden können. Daher war für eine derartige Immobilisierung der Glycothymidine die Einführung einer Aminogruppe erforderlich. Für diese Derivatisierung standen prinzipiell alle drei Glycothymidinderivate **26**, **45** und **58** zur Verfügung. Um die Synthese der Derivate möglichst einfach zu gestalten, wurde das leicht zugängliche ethylverknüpfte Glycothymidinderivat **45** gewählt. Seine inhibitorische Potenz war mit einem

RIP-Wert von ~10 im GFP-basierten Adhäsionstest zwar vergleichsweise niedrig, jedoch sind für die geplanten Untersuchungen die absoluten Affinitäten gegenüber dem bakteriellen Lektin nicht entscheidend. Allein die relative Veränderung der Adhäsion durch den Einfluss einer lichtinduzierten Konformationsänderung (Dimerisierung) galt es zu untersuchen. Wie auch die Derivate **26** und **58**, hatte das Glycothymidin **45** in Lösung keinen signifikanten Einfluss des „Schaltzustandes“ auf seine inhibitorische Potenz gezeigt (Abschnitt 4.1.3). Dieses Verhalten in Lösung ist ein entscheidender Vorteil für die Interpretation der Ergebnisse auf der Oberfläche. Potentielle Unterschiede in der bakteriellen Adhäsion an die Oberfläche sind somit nicht auf die Ligandeneigenschaften der monomeren bzw. dimeren Glycothymidinderivate zurückzuführen, sondern müssen eindeutig auf strukturelle Veränderungen innerhalb des Glycoarrays zurückgeführt werden.

Die Möglichkeiten zur Darstellung eines Amins aus dem Glycothymidin **45** sind vielfältig, da sowohl die 3'- als auch die 5'-Position des Thymidins für eine Funktionalisierung zur Verfügung stehen. Um zunächst ein Aminoglycothymidin darzustellen, dessen Struktur möglichst wenig von der Grundstruktur des ursprünglichen Glycothymidins **45** abweicht und zudem einen schnellen Zugang über eine einfache Synthese bietet, wurde die in Abbildung 53 dargestellte Synthese des 5'-Aminothymidylmannosids **79** angestrebt. Ausgehend von dem 5'-Azidothymidin **48** konnte mit dem Bromethylmannosid **30** leicht das *N*-alkylierte 5'-Azidoglycothymidin **76** erhalten werden. Eine Deacetylierung unter Zemplén-Bedingungen lieferte das deacetylierte Produkt **77** in quantitativer Ausbeute. Die anschließende Palladium-katalysierte Reduktion des Azids **77** mit Wasserstoff führte überraschenderweise nicht ausschließlich zu dem gewünschten Aminoglycothymidin **79**, sondern ergab eine Mischung von mindestens vier Produkten, aus der das gewünschte Produkt nicht sauber isoliert werden konnte. Aus diesem Grund wurde die Reduktion unter Anwesenheit von Boc-Anhydrid durchgeführt, um eine *in situ*-Boc-Schützung des entstehenden Amins zu erzielen. Das Boc-geschützte Amin **78** wurde in guten Ausbeuten erhalten und konnte dann ohne Probleme gereinigt werden. In einem anschließenden Entschützungs-schritt mit TFA wurde das Carbamat gespalten und das freie Amin **79** quantitativ in Form seines Trifluoracetates erhalten und konnte ohne weitere Aufreinigung in der Immobilisierungsreaktion eingesetzt werden.

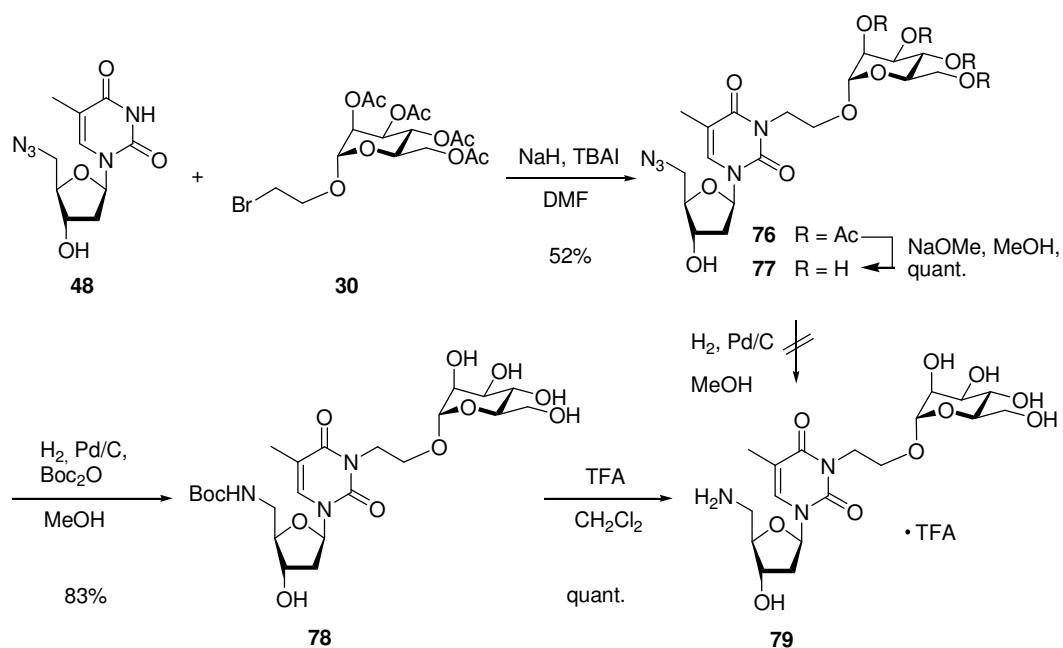


Abbildung 53: Darstellung des 5'-Aminoglycothymidins 79 ausgehend von 48 und 30 in drei Stufen.

Das Amin 79 wurde auf aktivierten Mikrotiterplatten immobilisiert. Hierzu wurde eine Lösung der Substanz in Carbonat-Puffer bei pH = 9.6 verwendet (Abbildung 54).

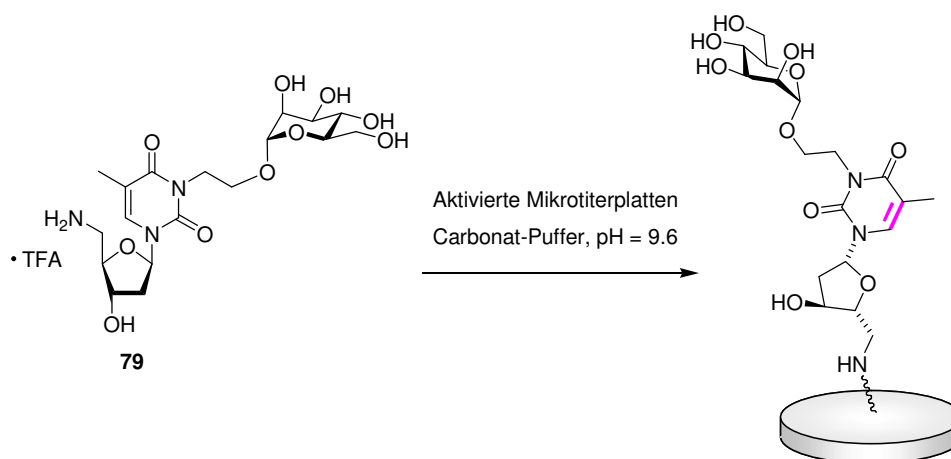
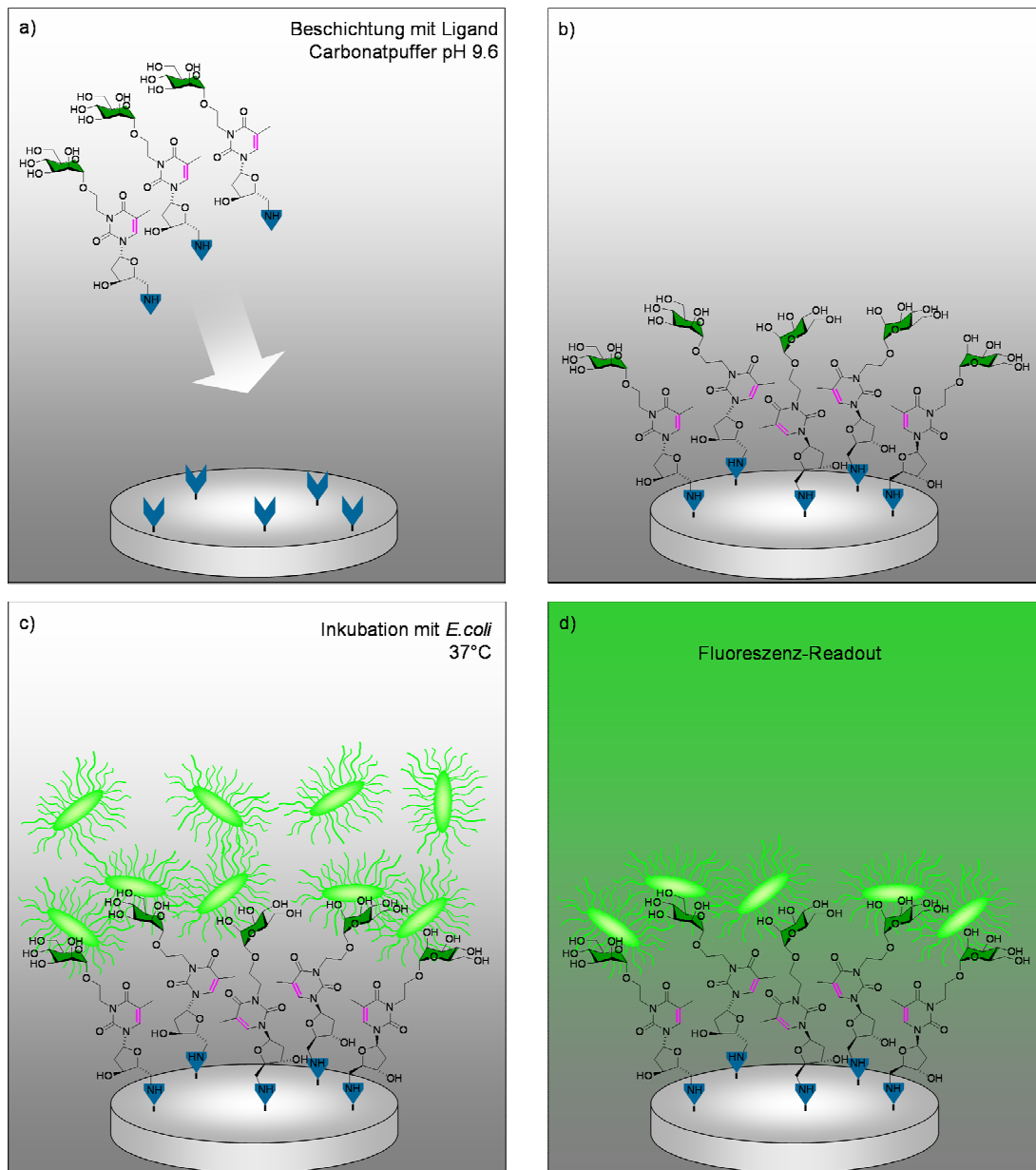


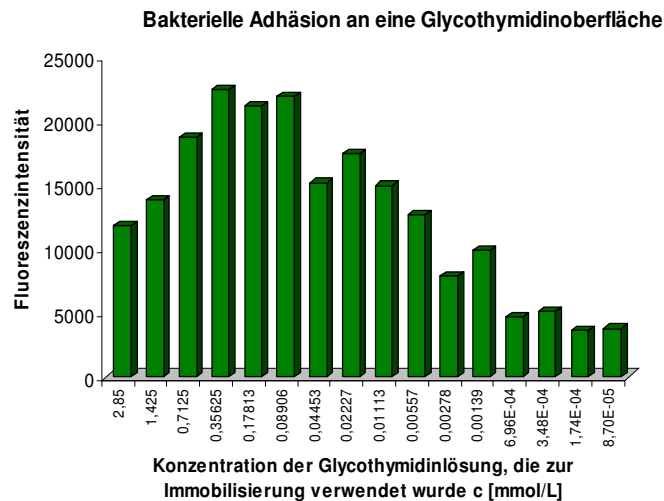
Abbildung 54: Immobilisierung des 5'-Aminoglycothymidins auf der aktivierten Mikrotiterplattenoberfläche.



**Abbildung 55:** Schematische Darstellung der Immobilisierung der Aminoglycothymidine auf der aktivierten Mikrotiterplatte mit anschließendem Test der bakteriellen Adhäsion: a) Beschichtung der aktivierten Mikrotiterplatte mit dem Liganden in serieller Verdünnung; b) Nach Waschen und Blockieren mit Ethanolamin-Lösung wird die beschichtete Oberfläche erhalten; c) Inkubation mit GFP-transfizierten *E. coli*-Bakterien bei 37°C für 90 min und anschließendes Waschen; d) Quantifizierung der oberflächengebundenen Bakterien über Fluoreszenz-Auslesen der Mikrotiterplatte.

Vor der Untersuchung des Einflusses einer Photodimerisierung auf die bakterielle Adhäsion an die Glycanoberfläche wurde zunächst der Einfluss der Konzentration des immobilisierten monomeren Glycothymidins **79** auf die bakterielle Adhäsion bestimmt. Hierzu wurde das Aminoglycothymidin **79** in Carbonatpuffer gelöst und in serieller Verdünnung auf der aktivierten Mikrotiterplatte immobilisiert (Abbildung 55 a, b). Die nach der Funktionalisierung nicht umgesetzten Bindungsstellen auf der Platte wurden mit einer Ethanolaminlösung in Carbonatpuffer blockiert, um eine kovalente Bindung von Proteinen

über freie Aminfunktionen zu verhindern. Die Adhäsion der Bakterien an die Oberfläche erfolgte durch Inkubation mit einer Lösung der GFP-markierten *E. coli* für 1.5 h bei 37 °C (c) und wurde nach abschließendem Waschen über das Auslesen der Fluoreszenz auf der Platte quantifiziert (d). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 56 dargestellt.



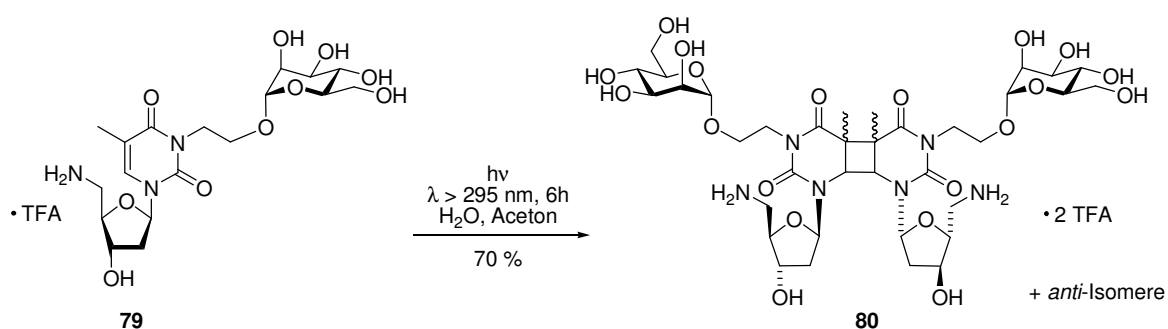
**Abbildung 56: Quantifizierung der bakteriellen Adhäsion an eine Mikrotiterplatte in Abhängigkeit von der Konzentration der für die Immobilisierung eingesetzten Glycothymidin-Lösung.**

Für die Immobilisierungsreaktion wurden jeweils 120  $\mu\text{L}$  einer Glycothymidin-Lösung pro Well in einem Konzentrationsbereich von 10 mM bis  $8.7 \cdot 10^{-5}$  mM verwendet ( $c > 2.85$  mmol/L wurde auf einer anderen Platte getestet und sind daher nicht dargestellt). Die Abhängigkeit der bakteriellen Adhäsion von der Konzentration des immobilisierten Liganden und der damit einhergehenden Belegungsichte des Glycoarrays nimmt einen interessanten Verlauf. Es fällt auf, dass in den hohen Konzentrationsbereichen von 10 mM bis ca. 0.4 mM eine Verringerung der Konzentration der immobilisierten Liganden eine Zunahme der bakteriellen Adhäsion zur Folge hat. Offensichtlich kann die Oberflächenbelegung mit den Glycothymidin-Liganden so hoch sein, dass die relativ großen fimbrierten Bakterien nicht optimal mit allen Liganden auf der Oberfläche wechselwirken können. Aus sterischen Gründen kommt es bei hohen Ligandenkonzentrationen daher zu einer verminderten bakteriellen Adhäsion. Im Konzentrationsbereich zwischen 0.4 mM und 0.1 mM wird über einen Plateaubereich ein Maximum bakterieller Adhäsion erreicht. Eine Veränderung in der Belegungsichte der Oberfläche hat in diesem Bereich praktisch keinen Einfluss auf die bakterielle Adhäsion. Unterhalb einer Konzentration von 0.1 mM nimmt die Stärke der bakteriellen Adhäsion erwartungsgemäß mit der Zahl der immobilisierten Glycothymidin-Moleküle ab. Wurde schließlich eine Konzentration von ca.  $7 \cdot 10^{-4}$  mM unterschritten,

entspricht der gemessene Wert für die Fluoreszenz dem Wert der Blindprobe ohne immobilisierte Liganden. Die in diesem Bereich detektierte Adhäsion ist demnach auf eine unspezifische Adhäsion der Bakterien an die Mikrotiterplatte zurückzuführen.

Um den Einfluss einer konformationellen Veränderung innerhalb des Glycoarrays auf die bakterielle Adhäsion zu bestimmen, wurde zunächst ein Inhibitionsassay analog zu dem in Kapitel 4.1.3 beschriebenen GFP-Assay durchgeführt. Anstelle der Mannanoberfläche wurde hier eine Glycothymidinoberfläche sowohl in belichteter als auch in unbelichteter Form verwendet. Die im Test verwendete Belegungsdichte der Oberfläche liegt sinnvollerweise in dem durch den Test festgestellten optimalen Bereich für die bakterielle Adhäsion. Für den Inhibitionsassay wurden die Wells der Mikrotiterplatten daher mit Glycothymidinlösungen der Konzentrationen 0.5 mM, 0.015 mM und 0.003 mM beschichtet. Eine Hälfte der Platte wurde belichtet und nach anschließender Blockierung beider Hälften mit Ethanolamin wurde der Inhibitionsassay analog zum GFP-Assay mit MeMan als Inhibitor durchgeführt. Zwar zeigte sich ein Einfluss der Belichtung auf die absoluten Fluoreszenzwerte der entsprechenden Wells, jedoch wirkte sich dieser Effekt ebenso auf den Wert  $I_0$ , die Adhäsion ohne den Inhibitor aus, so dass sich meist kein Unterschied in den resultierenden  $IC_{50}$ -Werten zeigte. Demnach konnten in diesem Assay keine aussagekräftigen Ergebnisse über den Einfluss der Thymidin-Dimerisierung erzielt werden. Daher wurde nun die bakterielle Adhäsion ohne Zusatz eines Inhibitors gemessen.

Im Rahmen des Inhibitionsassays wurde auch das Glycothymidin-Dimer **80** dargestellt (Abbildung 57) und immobilisiert, um in diesem Fall durch die Cycloreversion den Einfluss einer Konformationsänderung auf die bakterielle Adhäsion zu untersuchen.

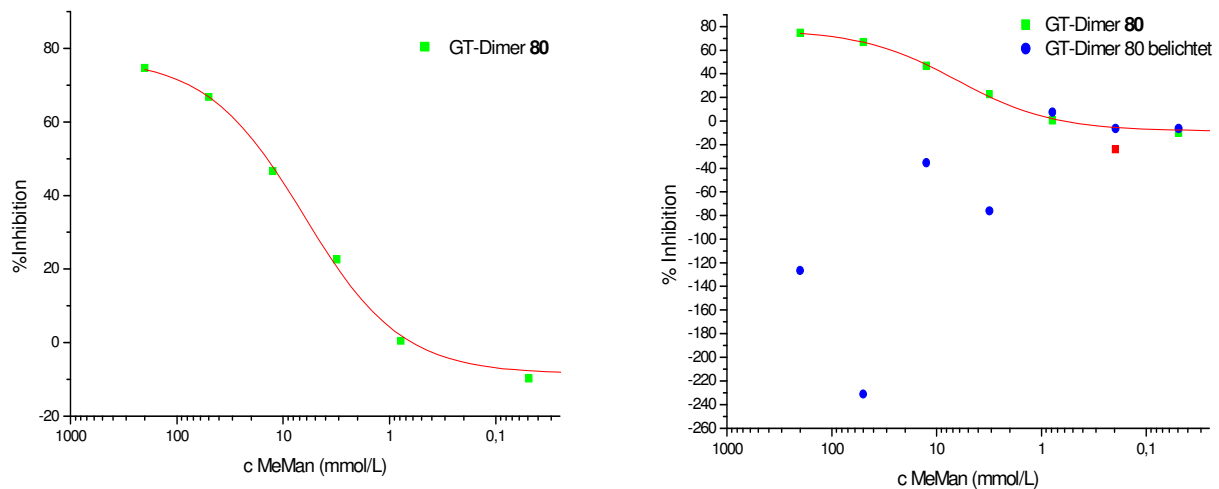


**Abbildung 57: Photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition des Amins **79**. Das Produkt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen und auf der Mikrotiterplatte immobilisiert.**

Hierzu wurde eine Hälfte der Platte mit den für die Cycloreversion erforderlichen Wellenlängen von  $\lambda > 230 \text{ nm}$  belichtet. Unter Verwendung der nicht belichteten



Glycothymidin-Dimer-Oberfläche liefert der Inhibitionstest die in Abbildung 58 links dargestellte Inhibitionskurve für den Inhibitor MeMan. In Folge einer Bestrahlung wurden bei der Bestimmung der bakteriellen Adhäsion hingegen nicht systematische Ergebnisse mit z.T. negativen Werten der prozentualen Inhibition bei hohen Inhibitorkonzentrationen erhalten. In Abbildung 58 rechts sind die Inhibitionskurven beider Oberflächen gegenübergestellt. Die energiereiche Strahlung bewirkt neben der angestrebten Cycloreversion vermutlich noch weitere Reaktionen oder die Zerstörung der Oberfläche.



**Abbildung 58: Inhibitionskurve für MeMan als Inhibitor der bakteriellen Adhäsion an eine Mikrotiterplatte, die mit dem Glycothymidin-Dimer 80 beschichtet ist. Links: vor der Belichtung, rechts: vor und nach 3h Belichtung mit  $\lambda > 230$  nm.**

Aus den oben genannten Gründen wurde für den Adhäsionsassay dazu übergegangen direkt die bakterielle Adhäsion an die Glycanoberfläche zu messen. Neben der höheren Praktikabilität der Durchführung und der besseren Verwertbarkeit der Ergebnisse bietet diese Versuchsweise den Vorteil, dass der Fokus auf dem Phänomen der bakteriellen Adhäsion selbst liegt. Dies trifft viel stärker den Kern der Fragestellung dieser Arbeit als die Untersuchung der Inhibition dieser Adhäsion.

Um den Einfluss der durch die lokale photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition hervorgerufenen konformationellen Veränderungen innerhalb eines Glycoarrays zu untersuchen, wurde die Adhäsion von GFP-markierten *E. coli*-Bakterien in einem Test, wie in Abbildung 59 dargestellt, bestimmt.

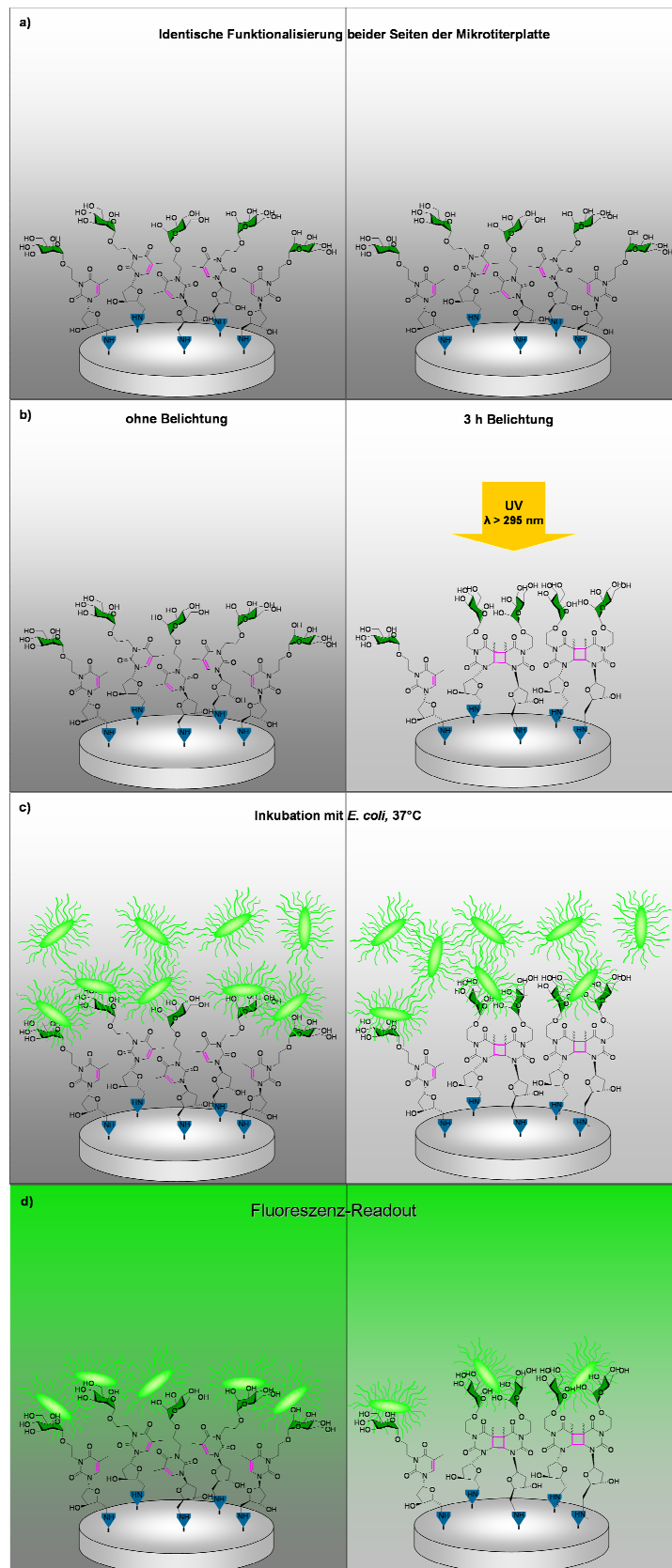
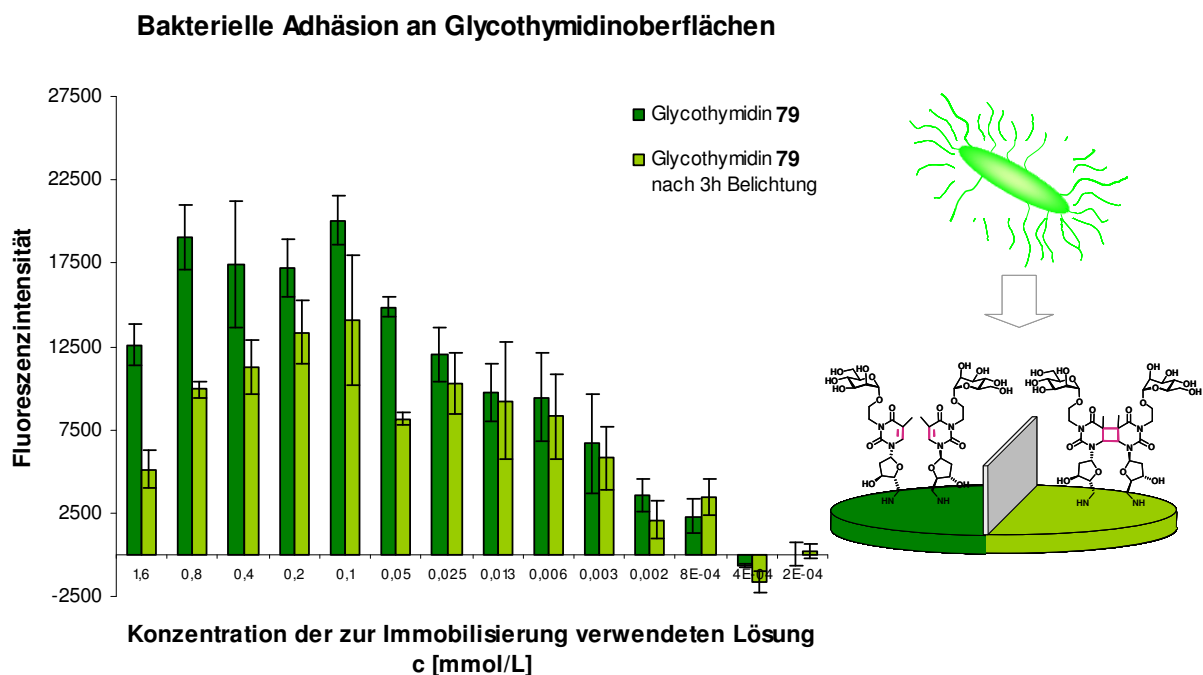


Abbildung 59: Schematische Darstellung des Adhäsionsassays in Abhängigkeit vom „Schaltzustand“ der Glycothymidinoberfläche. a) Identische Beschichtung beider Hälften der aktivierten Mikrotiterplatte mit dem Liganden 79 in serieller Verdünnung; b) Belichtung einer Hälfte für 3 h mit Wellenlängen von  $\lambda > 295 \text{ nm}$ , während die andere Hälfte vor Lichteinwirkung geschützt wurde; anschließend Blockieren beider Hälften mit Ethanolamin; c) Inkubation beider Hälften mit GFP-transfizierten *E. coli*-Bakterien bei 37°C für 90 min; d) Quantifizierung der oberflächengebundenen Bakterien über Fluoreszenz-Auslesen der Mikrotiterplatte.

Für den Adhäsionstest in Abhängigkeit vom „Schaltzustand“ der Oberfläche wurde die Mikrotiterplatte in zwei Hälften geteilt. Beide Hälften wurden symmetrisch mit dem 5'-Aminoglycothymidin **79** in serieller Verdünnung beschichtet (a). Während die eine Hälfte mit Alufolie vor Lichteinwirkung geschützt wurde, wurde die andere Hälfte einer dreistündigen Belichtung mit  $\lambda > 295$  nm ausgesetzt (b). Da die Dimerisierung von Thymidin in immobilisierter Form aus dem Singulettzustand erfolgt,<sup>[97]</sup> kann in diesem Fall auf den Zusatz eines Triplett-Sensitizers verzichtet werden. Nach der Belichtung wurden mögliche freie Bindungsstellen durch Reaktion mit Ethanolamin blockiert, um eine kovalente Bindung der Bakterien über freie Aminfunktionen auszuschließen. Anschließend wurden beide Teile der Mikrotiterplatte gleichermaßen für 90 min bei 37 °C mit einer Lösung der GFP-transfizierten *E. coli* inkubiert, so dass eine Bindung der Bakterien an die Glycanoberfläche erfolgen konnte (c). Nach abschließenden Waschschrritten konnte die Quantifizierung der oberflächengebundenen Bakterien durch Auslesen der Fluoreszenz erfolgen (d). Die Ergebnisse sind in Abbildung 60 dargestellt.



**Abbildung 60:** Aminoglycothymidin **79** wurde auf Mikrotiterplatten immobilisiert und die bakterielle Adhäsion in Abhängigkeit des „Schaltzustandes“ der Oberfläche gemessen. Durch die Belichtung des Glycoarrays konnte ein signifikanter Unterschied in der bakteriellen Adhäsion hervorgerufen werden. Im Konzentrationsbereich zwischen 1.6 mmolar und 50  $\mu$ molar der Lösungen von **79**, die für die Immobilisierung verwendet wurden, wurde nach Bestrahlung eine deutliche Abnahme der bakteriellen Adhäsion beobachtet. Die angegebene Fluoreszenzintensität ergibt sich aus den gemessenen Fluoreszenzwerten abzüglich der für die Blindprobe ohne Glycothymidin-Beschichtung erhaltenen Werte ( $FI_0 = 7684$ ).

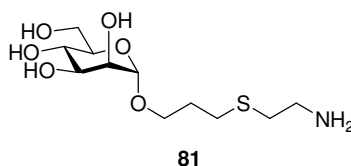
Bemerkenswerterweise zeigte sich in einem Konzentrationsbereich zwischen 1.6 mmol/L und 50  $\mu\text{mol/L}$  der zur Funktionalisierung verwendeten Glycothymidin-Lösungen ein signifikanter Unterschied in der bakteriellen Adhäsion nach der Belichtung. Die gemessenen Fluoreszenzwerte spiegelten deutlich eine verminderte bakterielle Adhäsion an die belichtete Oberfläche wider. Es wurde angenommen, dass durch die Belichtung die gewünschte [2+2]-Cycloaddition induziert wurde und daher auf dieser Oberfläche überwiegend der dimerisierte Glycothymidin-Ligand exponiert wurde. In niedrigen Konzentrationsbereichen des Glycothymidins ( $< 50 \mu\text{mol/L}$ ) wurde kein Unterschied in der bakteriellen Adhäsion zwischen belichteter und unbelichteter Oberfläche beobachtet. Die Oberflächenbelegung mit dem Liganden ist in diesem Bereich vermutlich zu gering und somit die Abstände benachbarter Liganden zu groß, um eine Photoaddition der immobilisierten Glycothymidine zu ermöglichen.

Das beobachtete Phänomen, in dem die bakterielle Adhäsion an eine Glycothymidin-Oberfläche vom „Schaltzustand“ abhängt, ist bislang nicht beschrieben. Um diese Ergebnisse beurteilen zu können, muss berücksichtigt werden, dass alle Parameter, die im Normalfall zur Untersuchung molekularer Details von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen verändert werden, in dem gezeigten Fall konstant gehalten wurden. Weder die Natur der Kohlenhydrat-Liganden, noch ihre konformationelle Flexibilität, die Ligandendichte auf der Oberfläche oder die Valenz der Kohlenhydrate wurden durch die Schaltung beeinflusst.

Die Tatsache, dass die Tests in Lösung ergeben haben, dass eine Dimerisierung sich nicht auf die Bindungsaffinität der Glycothymidine auswirkt, lässt vermuten, dass nicht die Eigenschaften der einzelnen Liganden, bzw. Ligandenpaare für einen Unterschied in der bakteriellen Adhäsion verantwortlich sind. Eine mögliche Interpretation der Ergebnisse ist, dass eine Cycloaddition zu einer geringeren Erreichbarkeit der  $\alpha\text{-D-Mannosyl-Liganden}$  für die Wechselwirkung mit der CRD des Mannose-bindenden Lektins FimH führt. So bewirkt die Dimerisierung zweier Thymidineinheiten eine lokale Erhöhung der Ligandendichte. Wie bereits gezeigt, kann eine zu hohe Dichte aus sterischen Gründen zu einer verringerten bakteriellen Adhäsion führen. Jedoch bieten die Ergebnisse Raum für alternative Interpretationen. Es ist anzunehmen, dass auch die Eigenschaften des gesamten supramolekularen Glycoarrays durch die Dimerisierung verändert wurden und somit diesen Unterschied in der bakteriellen Adhäsion hervorgerufen haben. So wird durch die Cycloaddition die supramolekulare Flexibilität des Glycoarrays zu einem gewissen Maß eingeschränkt.

Es könnte an dieser Stelle die Hypothese aufgestellt werden, dass bakterielle Adhäsion generell durch zwei kooperative Effekte vermittelt wird. Zunächst findet eine Kohlenhydrat-Erkennung statt, gefolgt von einer konformationellen Veränderung des supramolekularen Systems. Diese begünstigt dann die bakterielle Adhäsion. In dem hier untersuchten Fall greift möglicherweise die photochemisch induzierte konformationelle Veränderung des Glycoarrays in diese Kaskade ein und beeinflusst so die bakterielle Adhäsion.

Es muss an dieser Stelle jedoch einschränkend angemerkt werden, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt eine Charakterisierung der Oberfläche nach der Belichtung nicht erfolgreich war. (Die Versuche zur Charakterisierung sind in Abschnitt 4.2.2 beschrieben). Es wurde angenommen, dass die veränderte bakterielle Adhäsion aus einer Dimerisierung der Thymidineinheiten auf der Oberfläche resultiert. Jedoch konnte im Gegensatz zu der Dimerisierung in Lösung die Cycloaddition auf der Oberfläche nicht nachgewiesen werden. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass durch die relativ energiereiche Strahlung die Beschichtung der Oberfläche zerstört wird. Eine daraus resultierende Verringerung der Anzahl exponierter Liganden könnte auf diese Weise ebenfalls zu verringerter bakterieller Adhäsion führen. Eine solche Zerstörung der Oberfläche könnte zum einen durch eine unspezifische Nebenreaktion der Thymidinderivate, zum anderen durch eine lichtinduzierte Reaktion der Polystyroloberfläche bzw. der für die Vorfunktionalisierung verwendeten Linkermoleküle verursacht werden. Um letzteres auszuschließen wurden in Kooperation mit M. HARTMANN Kontrollexperimente durchgeführt, in denen eine Mikrotiterplatte anstelle des Glycothymidins mit einem photochemisch inaktiven Monosaccharid **81** beschichtet wurde. Die anschließende Belichtung und der Adhäsionstest wurden unter identischen Bedingungen wie für die Glycothymidin-Oberflächen durchgeführt.



**Abbildung 61: Photochemisch inaktives Monosaccharid als Kontrollsubstanz.**

Die Kontrollexperimente zeigten für dieses System keinen Unterschied in der bakteriellen Adhäsion in Folge einer Belichtung. Dieses Ergebnis liefert einen wichtigen Baustein für den angestrebten Beweis, dass die Veränderung der bakteriellen Adhäsion im Fall der Glycothymidin-Oberflächen aus einer photoinduzierten Dimerisierung resultiert.

## GLYCOARRAYS – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG

Die in diesem Teil der Arbeit entwickelten Glycothymidin-Glycomimetika zeichnen sich durch eine einfache Synthese aus und erfüllen die Anforderungen eines photosensitiven molekularen Schalters. Die durch Licht einer bestimmten Wellenlänge induzierte [2+2]-Photodimerisierung aller drei Glycothymidinderivate führte zu den divalenten Liganden. Sowohl monomere als auch dimere Glycothymidine **26**, **45** und **58** zeigten sich als potente Liganden des bakteriellen Lektins FimH mit jeweils sehr ähnlicher Affinität. Eine geringe Modifikation des ethylverbrückten Glycothymidins **45** erlaubte die Immobilisierung auf einer Mikrotiterplattenoberfläche. Es wurde gezeigt, dass die bakterielle Adhäsion an den resultierenden Glycoarray signifikant von dem „Schaltzustand“ der Oberfläche abhing. Eine durch Licht induzierte, geringfügige strukturelle Änderung auf molekularer Ebene, die annähernd keinen Einfluss auf die Affinität gegenüber dem bakteriellen Lektin in Lösung hatte, führte zu einer signifikant verminderten bakteriellen Adhäsion an die entsprechende Oberfläche. Dieses beobachtete Phänomen kann zu diesem Zeitpunkt noch nicht vollständig verstanden werden, lieferte jedoch erste Anzeichen für einen Effekt konformationeller Änderung innerhalb einer glycosylierten Oberfläche auf die Zelladhäsion. Dieser Zusammenhang könnte auch entscheidende Auswirkungen auf die Adhäsionsvorgänge *in vivo* haben. Die Ergebnisse könnten ein erster Schritt zu einem umfassenderen Verständnis der Rolle der Konformation bei der Kontrolle der Zelladhäsion an die Glycocalyx sein.

### 4.2.2 Versuche zur Analyse der funktionalisierten Mikrotiterplatte

Die im vorangehenden Abschnitt diskutierten Ergebnisse zeigen deutlich einen signifikanten Unterschied in der bakteriellen Adhäsion an eine mit Glycothymidinen beschichtete Mikrotiterplatte vor und nach einer Bestrahlung. Bisherige literaturbekannte Arbeiten<sup>[93]</sup> sowie eigene Untersuchungen in Lösung legen nahe, dass dieser Unterschied der Zelladhäsion aus einer photoinduzierten [2+2]-Cycloaddition der Thymin-Einheiten zum Cyclobutanpyrimidindimer resultiert. Jedoch ist dieser Reaktionsschritt auf der Platte nicht nachgewiesen. Im folgenden Abschnitt werden die Versuche zur Charakterisierung der Mikrotiterplattenoberfläche und zum Nachweis der Dimerisierung beschrieben. Auskünfte über die Zusammensetzung des Linkers und der aktivierten Gruppe auf der vorfunktionalisierten Mikrotiterplatte erteilt die Firma Nunc nicht, was eine Charakterisierung der Oberfläche erschwert. Zu Testzwecken wurden die Mikrotiterplatten anstelle des 5'-Aminoglycothymidins **79** mit dem leichter zugänglichen 5'-Aminothymidin **83** beschichtet.

Analog zur Darstellung des 5'-Aminoglycothymidins **79** wurde hier das 5'-Azidothymidin **48** reduziert und das entstehende Amin zur besseren Aufreinigung *in situ* mit Boc<sub>2</sub>O geschützt. Das Carbamat wurde anschließend mit TFA gespalten und das 5'-Aminothymidin **83** in Form seines Trifluoracetates erhalten.

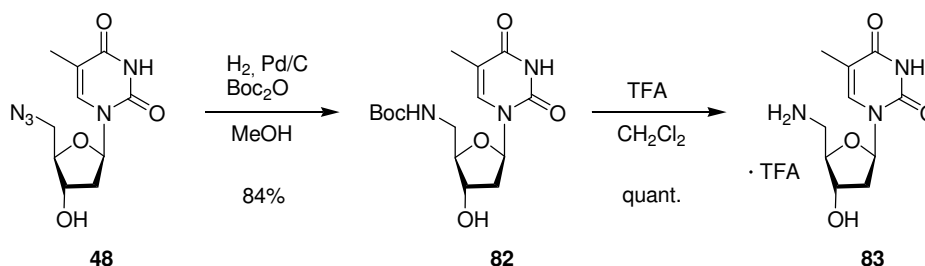


Abbildung 62: Darstellung des 5'-Aminothymidins ausgehend von 5'-Azidothymidin **48** durch Reduktion und Boc-Schätzung *in situ*.

### Chemische Spaltung der *N*-glycosidischen Bindung

Eine direkte Charakterisierung der Glycothymidin-Oberfläche ist zum einen aufgrund der geringen Konzentration, zum anderen wegen der störenden Eigenschaften des Polystyrols nicht trivial. Daher ist ein genereller Ansatz zum Nachweis der Dimerisierung die selektive Spaltung einer der kovalenten Bindungen innerhalb der immobilisierten Verbindung mit anschließender Analytik in Lösung. Bei der Vorfunktionalisierung handelt es sich vermutlich um Aktivester, die durch Reaktion mit Aminen zum Amid reagieren. Die Amidbindung kann chemisch nur unter stark basischen Bedingungen gespalten werden, unter denen jedoch auch die Imidfunktion nicht stabil ist. Eine Möglichkeit bleibt die Spaltung der *N*-glycosidischen Bindung von Thymidin. Glycosidische Bindungen werden generell unter sauren Bedingungen gespalten. Jedoch wird diese Art der Spaltung *N*-glycosidischer Bindungen in Nucleosiden, Nucleotiden und Nucleinsäuren in der Literatur ausschließlich genutzt, um die abasischen Ribosederivate zu generieren, nicht aber, um die abgespaltene Nucleobase zu isolieren.<sup>[147, 148]</sup> So lieferte eine Reaktion von Thymidin mit HCl bei 60 °C zwar in geringen Ausbeuten die Nucleobase Thymin, jedoch wurden bei der Reaktion noch mindestens vier weitere Produkte gebildet, die sich strukturell von Thymin ableiteten und NMR-spektroskopisch detektiert werden konnten. Die Reaktion bei Raumtemperatur führte zu keiner Umsetzung. CHEN et al.<sup>[149]</sup> entwickelten ein Verfahren zur selektiven Spaltung von *N*-Alkylbindungen unter Verwendung von hypophosphoriger Säure und Iod in Essigsäure. In diesem Zusammenhang wurde auch die selektive Spaltung der *N*-glycosidischen Bindung von Thymidin beschrieben, ohne dass die Imidfunktion angegriffen wurde. Zwar wurde bei der Verwendung *N*<sup>3</sup>-alkylierter

Thymidinderivate diese *N*-Alkylbindung ebenfalls gespalten, jedoch spielt das für die Analyse der Dimerisierung keine Rolle. In Lösung konnte die Spaltung von Thymidin **1** erfolgreich reproduziert werden und Thymin **84** in guten Ausbeuten isoliert werden (Abbildung 63).

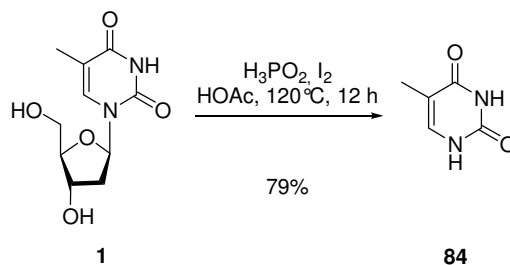


Abbildung 63: Spaltung der *N*-glycosidischen Bindung von Thymidin nach CHEN.<sup>[149]</sup>

Für die analoge Spaltung des immobilisierten Thymidins zur Analyse der beschichteten Mikrotiterplatten wurden die Böden der Wells herausgetrennt und in die Reaktionslösung gegeben. Jedoch konnte auch nach mehrstündiger Reaktionszeit Thymin in der Reaktionslösung massenspektrometrisch nicht nachgewiesen werden (Abbildung 64). Die hohe Reaktionstemperatur wurde an dieser Stelle zum Problem, da die Beständigkeit von Polystyrol in Säuren nur bedingt gegeben und zudem temperaturabhängig ist. Unter den verwendeten Reaktionsbedingungen schmolzen die eingesetzten Böden der Wells sofort zusammen. Dies könnte zur Folge gehabt haben, dass die beschichtete Oberfläche vollständig von Polystyrol umschlossen war und so nicht mit den Reagenzien in Kontakt kam. Auch im Fall einer erfolgreichen Spaltung könnte entstandenes Thymin auf diese Weise eingeschlossen worden sein und daher nicht frei in Lösung vorgelegen haben. Ein weiterer Grund für die negativen Ergebnisse des Tests könnte die im Vergleich zu der erforderlichen Reaktionslösungsmenge geringe Konzentration auf der Mikrotiterplatte gewesen sein.

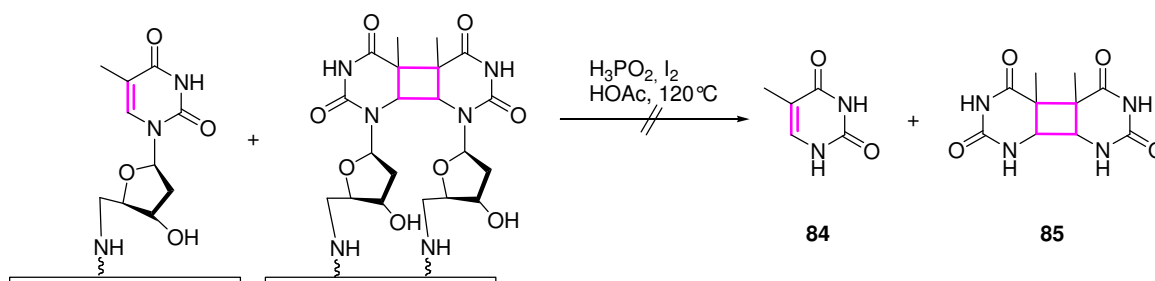


Abbildung 64: Versuch der Spaltung der *N*-glycosidischen Bindung von immobilisiertem 5'-Aminothymidin.



### **Infrarot- und massenspektrometrische Oberflächenanalytik**

Darüber hinaus wurde versucht die Dimerisierung mithilfe unterschiedlicher Oberflächenanalytik nachzuweisen. Die Charakterisierung der Oberfläche mittels *sum frequency generation* (SFG) blieb erfolglos, da die erforderliche Laserintensität zur Messung von SFG-Spektren nicht mit der Stabilität von Polystyrol kompatibel ist. Der Versuch, die Beschichtung der Polystyroloberfläche mittels ATR-IR zu analysieren, blieb ebenfalls ohne Erfolg. Der Vergleich der gemessenen ATR-IR-Spektren vor und nach der Beschichtung ergab keinen Unterschied. Die Analyse eines Wells mittels MALDI-MS zeigte zwar ein scharfes Massensignal bei  $m/z = 542$ , jedoch schien dies von einem Additiv im Polystyrol oder der vom Hersteller durchgeführten Beschichtung herzurühren. Die Analyse eines belichteten Wells und die eines unfunktionalisierten Wells lieferten das gleiche Ergebnis.

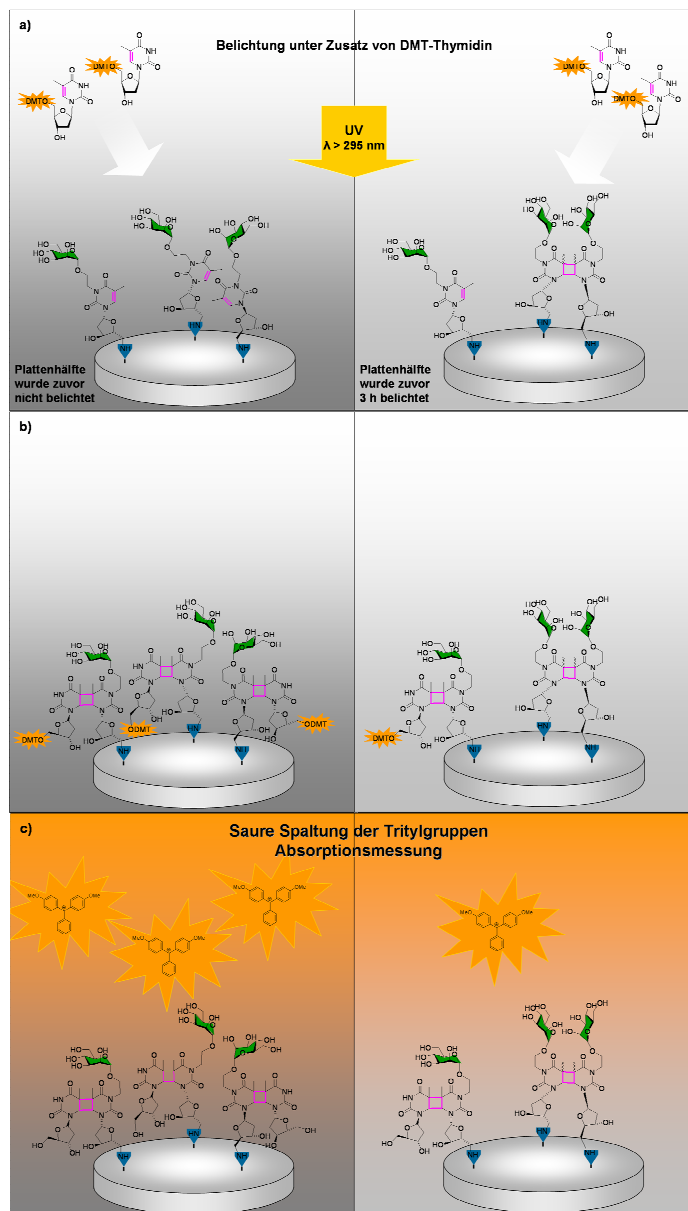
### **NMR-spektroskopische Analyse der Wellböden**

Ein dritter Versuch, die Beschichtung und die Dimerisierung auf der Mikrotiterplatte nachzuweisen griff auf eine NMR-Messung zurück. Hierzu wurden die Polystyrolböden der Platte in deuteriertem THF gelöst bzw. angelöst. Durch Unterdrückung der Polystyrolsignale wurde versucht, die Substanzen auf der Oberfläche im NMR-Spektrum detektieren zu können. Neben den Polystyrolsignalen konnten zwar zahlreiche weitere Signale im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum detektiert werden, jedoch konnte keines davon einem Thymidinderivat zugeordnet werden. Vermutlich wurden durch den Lösungsvorgang auch Additive wie Weichmacher aus dem Polystyrol herausgelöst, die die zusätzlichen Signale verursachten. Für die Tatsache, dass die Signale des Thymidinderivates nicht detektiert werden konnten, schienen zwei Erklärungen plausibel. Zum einen war vermutlich die Konzentration des Thymidins im Vergleich zu den Additiven relativ gering und zum anderen konnte auch die Flexibilität der Thymidinderivate aufgrund einer geringen Linkerlänge eingeschränkt sein, so dass die Protonen NMR-spektroskopisch nicht detektiert werden konnten.

### **Versuch eines spezifischen Farbstofflabelings**

Ein speziell entwickelter Farbstoffnachweis bot einen weiteren möglichen Ansatz zum Nachweis der Dimerisierung auf der Mikrotiterplattenoberfläche. Dieser Test basiert auf der Idee, zwischen Thymidin und seinem Cyclobutanpyrimidindimer durch eine selektive chemische Reaktion zu differenzieren. Durch ein an den Reaktionspartner gebundenes Farbstofflabel sollte die Differenzierung sichtbar gemacht werden. Als selektive Reaktion wurde zweckmäßigerweise die photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition gewählt. Immobilisierte

monomere Thymidinderivate sollten mit der noch intakten Doppelbindung eine photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition mit einem gelabelten Thymidinderivat eingehen und so markiert werden können. Immobilisierte Thymidinderivate, die auf der Oberfläche dimerisiert wurden, sollten hingegen diese Reaktion nicht eingehen können. Auf diese Weise sollte eine Differenzierung der beiden Formen, Monomer und Dimer, erzielt und visualisiert werden können. Die Farbintensität sollte im Idealfall direkt mit der Konzentration der auf der Oberfläche immobilisierten monomeren Thymidinspezies korrelieren. Das Konzept dieses Nachweises ist schematisch in Abbildung 65 dargestellt.



**Abbildung 65:** Konzept des Farbstofflabelings zum Nachweis der Dimerisierung auf der Mikrotiterplatte: a) Beide Hälften einer Mikrotiterplatte, von der wie im Adhäsionsassay (Abbildung 59) eine Hälfte zuvor 3h belichtet wurde, wurden nach Zusatz von DMT-Thymidin (2) mit Wellenlängen von  $\lambda > 295 \text{ nm}$  belichtet; b) Durch Belichtung sollten die zuvor monomeren Glycorthymidinderivate auf der Oberfläche, im Gegensatz zu denen, die bereits dimerisiert vorlagen, durch eine [2+2]-Cycloaddition mit dem DMT-Thymidin gelabelt werden; c) Die saure Spaltung der Tritelgruppen mit TFA und anschließende Absorptionsmessung sollte eine Quantifizierung des oberflächengebundenen DMT-Thymidins erlauben.

Als gelabeltes Thymidinderivat wurde der Dimethoxytritylether von Thymidin (**2**) gewählt, welcher durch Reaktion mit Säure das intensiv farbige Dimethoxytrityl-Kation mit einer Absorption bei 490 nm liefert. Die Beschichtung der Mikrotiterplatte erfolgte durch Inkubation mit einer Lösung des Aminoglycothymidinderivates analog zur Immobilisierung im Adhäsionsassay. Es wurde auch für diesen Test das leichter zugängliche 5'-Aminothymidin **83** verwendet. Während eine Hälfte der Mikrotiterplatte vor Lichteinwirkung geschützt wurde, wurde die andere 3 h mit  $\lambda > 295$  nm belichtet. Beide Teile der Mikrotiterplatte wurden anschließend nach Zugabe des gelabelten Thymidins **2** erneut belichtet (a). Hierzu wurden Belichtungszeiten von 3-12 h gewählt und wässrige wie auch ethanolische Lösungen des DMT-Thymidins **2** als auch der Feststoff **2** verwendet. Nach anschließendem Waschen der Wells zum Entfernen des überschüssigen DMT-Thymidins wurden die Wells zur Spaltung der Dimethoxytritylgruppe mit TFA in Dichlormethan versetzt (c). Es konnte jedoch in keinem der Wells eine Absorption bei 490 nm detektiert werden, obwohl das Prinzip in Lösung sehr gut funktionierte und sofort eine intensiv orange Färbung nach TFA-Behandlung eintrat.

Eine mögliche Ursache für den Fehlschlag des Konzeptes könnte sein, dass aufgrund des hohen sterischen Anspruchs des verwendeten Farbstofflabels eine Cycloaddition mit den immobilisierten Thymidinderivaten aus sterischen Gründen nicht stattfinden konnte. Die Cycloaddition von DMT-Thymidin **2** in Lösung lieferte das dimerisierte DMT-Thymidin **86** tatsächlich in nur sehr geringer Ausbeute von 4 % (Abbildung 66). Demnach ist davon auszugehen, dass die Dimerisierung auch auf der Mikrotiterplatte aus sterischen Gründen tatsächlich nicht erfolgen kann.

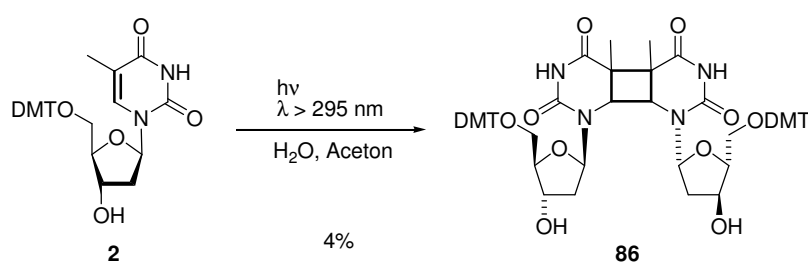


Abbildung 66: Dimerisierung von DMT-Thymidin in Lösung.

Die Verwendung eines sterisch weniger anspruchsvollen Farbstoffes oder der Einsatz eines längeren Linkers wären somit allerdings viel versprechende Versuche, die Funktionalisierung und Dimerisierung mit Hilfe des hier beschriebenen spezifischen Labelings erfolgreich nachzuweisen.

## **Enzymatische Spaltung der Peptidbindung**

In Zusammenarbeit mit C. TREITZ und A. THOLEY<sup>[150]</sup> am Institut für Experimentelle Medizin der Universität Kiel wurde ein Ansatz zur enzymkatalysierten Spaltung einer kovalenten Bindung der immobilisierten Thymidinderivate für die Charakterisierung der Oberfläche verfolgt. Es wurde davon ausgegangen, dass die von Nunc erhältlichen Immobilizier-Mikrotiterplatten mit einem Aktivester beschichtet sind, so dass die Funktionalisierung mit einem Amin zur Bildung einer Amidbindung führt. Demnach sollte die Inkubation der beschichteten Mikrotiterplatten mit einem Mix aus unspezifischen Proteasen, der so genannten „Pronase“, zur enzymatischen Spaltung der Peptidbindung zwischen der Oberfläche und dem eingesetzten Aminothymidin-Derivat führen. Hierzu wurden Mikrotiterplatten mit dem Aminothymidin **83** in unterschiedlichen Konzentrationen beschichtet und mit dem Pronase-Mix inkubiert. Der Überstand wurde massenspektrometrisch per MALDI-MS analysiert. Das Aminothymidin **83** konnte jedoch auch nach 24 h nicht als Spaltprodukt der Enzymreaktion nachgewiesen werden. Nach 48 h konnten lediglich die Autoprotolysefragmente der Pronase nachgewiesen werden. Der Grund für das Scheitern dieses Versuches lag vermutlich in der Struktur und Funktionsweise der Proteasen. Der verwendete Mix schneidet zwar unspezifisch Amidbindungen, jedoch benötigen die Proteasen zur Substraterkennung idealerweise einen Peptidstrang von mindestens sechs Aminosäuren. Ein Ansatz wäre daher, über Festphasenpeptidsynthese das Glycithymidin-System um eine kurze Aminosäuresequenz zu erweitern und so eine Spaltstelle für die Proteasen zu generieren. Da dieses System jedoch eine veränderte Struktur und eine deutlich unterschiedliche Flexibilität als das ursprüngliche System beinhaltet, müssten die bakteriellen Adhäsionstests auch für dieses Substrat wiederholt werden.

## **CHARAKTERISIERUNGSVERSUCHE DER OBERFLÄCHE - EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG UND PERSPEKTIVE**

Um eine eindeutige Analyse und Interpretation der Ergebnisse zu erlauben, die bei der Bestimmung bakterieller Adhäsion an Glycithymidin-Oberflächen in Abhängigkeit vom „Schaltzustand“ erhalten wurden, ist es wünschenswert, strukturelle Informationen über die Zusammensetzung der Molekülschicht auf der Mikrotiterplatte zu erhalten. Es wurden zahlreiche Versuche zur Charakterisierung der Mikrotiterplattenoberfläche unternommen. Weder die chemische oder enzymatische Spaltung einer Bindung noch die direkte Charakterisierung der Oberfläche brachten den gewünschten Erfolg. Um in Zukunft eine Analyse der immobilisierten Glycithymidinderivate zu ermöglichen, wurde in Kooperation

mit H. DAUMLECHNER damit begonnen, Derivate der Glycothymidine mit eingebauter Sollbruchstelle darzustellen. Durch die Wahl entsprechender Reaktionsbedingungen sollte es so möglich sein, an der vorgesehenen Stelle die Bindung selektiv zu spalten und das Spaltprodukt zu charakterisieren. Als geeignet schien hierzu die Einführung eines Esters in das Aminoglycothymidin **79**. Eine Behandlung einer mit einem solchen Aminoglycothymidin funktionalisierten Oberfläche unter basischen Bedingungen sollte die Spaltung des Esters bewirken und das freie Glycothymidin generieren. Mithilfe massenspektrometrischer Untersuchungen der Lösung sollte in Abhängigkeit des „Schaltzustandes“ das monomere bzw. das dimere Thymidin-Derivat nachgewiesen werden können. Auf diese Weise könnten die entsprechenden Oberflächen vor und nach einer Belichtung analysiert und differenziert werden.

Zur Prüfung des Konzeptes wurde zunächst ein Thymidylester **90** ohne Zuckerfunktionalisierung dargestellt. Ausgehend von dem silylgeschützten Derivat **27** wurde eine selektive Entschützung des primären Alkohols unter sauren Bedingungen durchgeführt. Die anschließende Veresterung von **87** mit *N*-Boc-Glycin lieferte das Thymidin-Glycin-Konjugat **88** in Ausbeuten von 77%. Eine Spaltung des Silylethers unter sauren Bedingungen führte teilweise auch zur Spaltung des Carbamates. Daher wurde nach Neutralisation der Lösung *in situ* eine erneute Boc-Schützung durchgeführt, um die Aufreinigung des Produktes zu erleichtern. Das geschützte Amin **89** wurde in relativ geringen, aber noch nicht optimierten Ausbeuten von 38% erhalten. Im letzten Schritt erfolgte wie bei allen zur Immobilisierung verwendeten Substanzen die Entschützung desamins unter sauren Bedingungen. Der aminfunktionalisierte Ester **90** wurde in Form des Trifluoracetates erhalten.

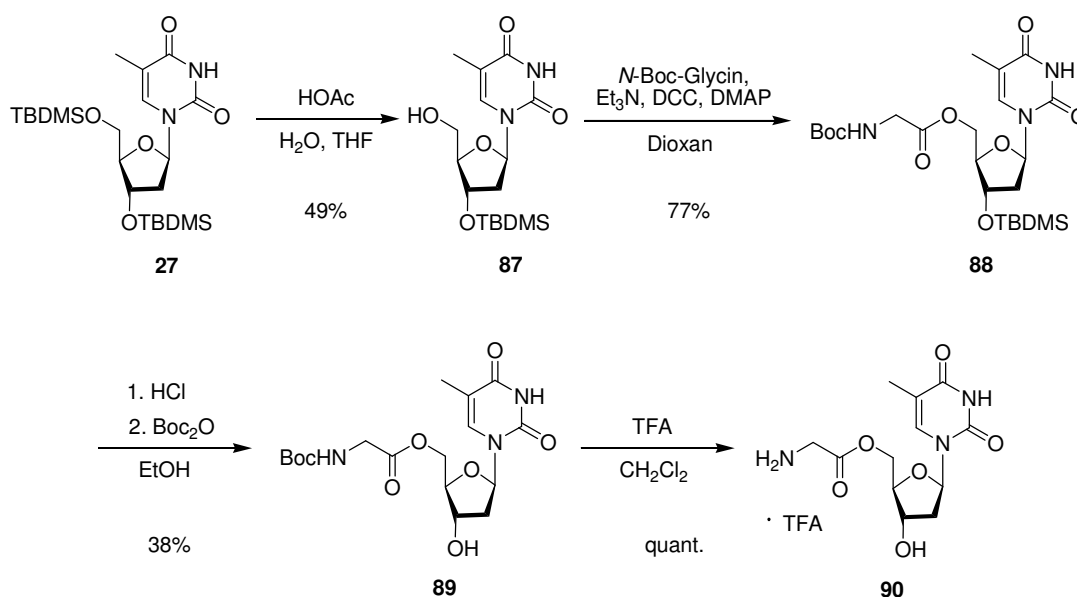


Abbildung 67: Synthese des Thymidylesters zur Immobilisierung und anschließenden kontrollierten Spaltung von der Mikrotiterplatte. Die Synthese wurde von H. DAUMLECHNER durchgeführt.

Aufgrund der Instabilität des Esters **90** unter basischen Bedingungen, kann die Immobilisierung für dieses Derivat nicht wie bisher in Carbonatpuffer bei pH 9.6 durchgeführt werden und müssen angepasst werden. Zudem verlangt dieser Ansatz, dass die biologischen Tests mit den derivatisierten Glycothymidinderivaten erneut durchgeführt werden. Der Hauptteil dieser Experimente konnte daher im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr erfolgen.

### 4.2.3 Strukturelle Variation des Spacers

Die Synthese des 5'-Aminoglycothymidins **79** hat die Herstellung einer schaltbaren Glycanoberfläche ermöglicht, an der die zelluläre Adhäsion durch Lichteinwirkung beeinflusst werden kann. Der beobachtete Einfluss der Dimerisierung auf die bakterielle Adhäsion war hierbei signifikant. Es ist anzunehmen, dass durch gezielte Optimierung des Systems dieser Effekt noch gesteigert werden kann. Faktoren, die in diesem Zusammenhang vermutlich das Ausmaß der Veränderung beeinflussen, sind die strukturelle Flexibilität des Systems und die Distanzen innerhalb des Glycomimetikums, sowohl zwischen dem Ligand und der Schaltstelle als auch zwischen der Schaltstelle und der Oberfläche. Daher wurden als Varianten des 5'-Aminoglycothymidin **79** weitere Aminoglycothymidine dargestellt, die sich für eine Immobilisierung auf Amino-Immobilizer Platten eignen und im Idealfall einen stärkeren Effekt der Belichtung auf die bakterielle Adhäsion zeigen.

### Modulare Derivatisierung durch Amin-Isothiocyanat-Click-Chemie

Der Hersteller der funktionalisierten Mikrotiterplatten gibt keine Auskunft über die Länge und Art des Linkers zwischen der Oberfläche und der funktionellen Gruppe. Daher ließ sich die Flexibilität der Glycothymidin-Oberfläche vor und nach der Dimerisierung nicht exakt beurteilen. Um zunächst den Einfluss der Linker-Länge zwischen Oberfläche und Photoschalter abschätzen zu können, wurden zwei Aminoglycothymidinderivate synthetisiert, die an der 5'-Position mit Spacern verschiedener Länge funktionalisiert waren.

Hierzu wurde als Schlüsselfunktion eine Isothiocyanatgruppe an der 5'-Position eingeführt, die durch Umsetzung mit Diaminen einen schnellen Zugang zu Thioharnstoff-verbrückten Aminoglycothymidinen mit unterschiedlichen Spacern eröffnet. Zur Darstellung des Isothiocyanates wurde ausgehend vom Azidoglycothymidin **76** zunächst die freie 3'-Hydroxylgruppe acetyliert. Anschließend wurde in einer Staudinger-analogen Reaktion mit

Triphenylphosphin und Kohlenstoffdisulfid das Azid an der 5'-Position in guten Ausbeuten in das entsprechende Isothiocyanat **92** überführt (Abbildung 68).

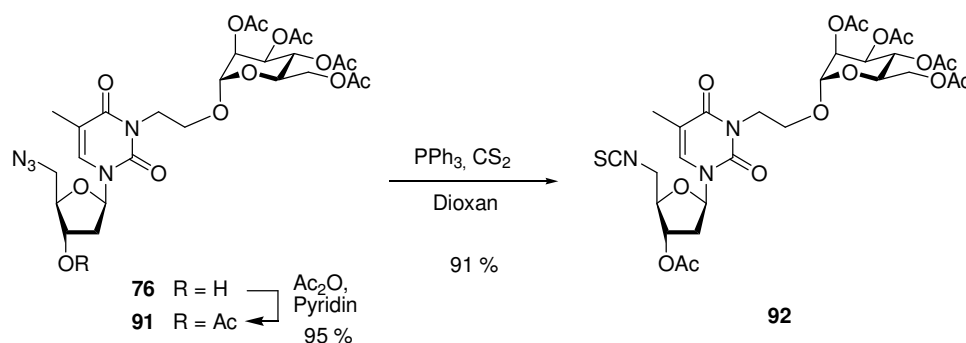


Abbildung 68: Darstellung des 5'-Isothiocyanatoglycothymidins **92**.

Aufgrund der hohen Reaktivität des Isothiocyanates gegenüber Nucleophilen musste die Umsetzung mit den jeweiligen Aminen vor der Deacetylierung erfolgen. Eine Deacetylierung des Isothiocyanates **92** unter Zemplén-Bedingungen würde neben der Deacetylierung zu der Bildung des entsprechenden Methylthiocarbamates führen. Das Glycothymidin-Isothiocyanat **92** wurde zur Derivatisierung mit zwei verschiedenen Diaminen umgesetzt. Zur Vermeidung einer Difunktionalisierung der Amine wurden die einfach Boc-geschützten Derivate eingesetzt. Zum einen erfolgte die Umsetzung mit *N*-Boc-Ethylendiamin, zum anderen mit dem *N*-Boc-1,ω-Diaminotriethylenglycol **93** (Abbildung 69). Im Falle des längeren Spacers wurde ein Ethylenglycolderivat anstelle eines Alkylderivates verwendet, um eine hydrophobe Interaktion zwischen dem Spacer und der Polystyroloberfläche zu vermeiden und die Flexibilität des Linkers in wässrigem Medium zu garantieren. Die Umsetzungen zu den entsprechenden Thioharnstoffen **94** und **95** verliefen in guten Ausbeuten von 83 % bzw. 76 %. Die erhaltenen Thioharnstoffderivate konnten durch Deacetylierung unter Zemplén-Bedingungen und anschließender Boc-Entschützung mit TFA in Dichlormethan in sehr guten Ausbeuten in die entsprechenden Aminoglycothymidine **98** und **99** in Form ihrer Trifluoracetate überführt werden.

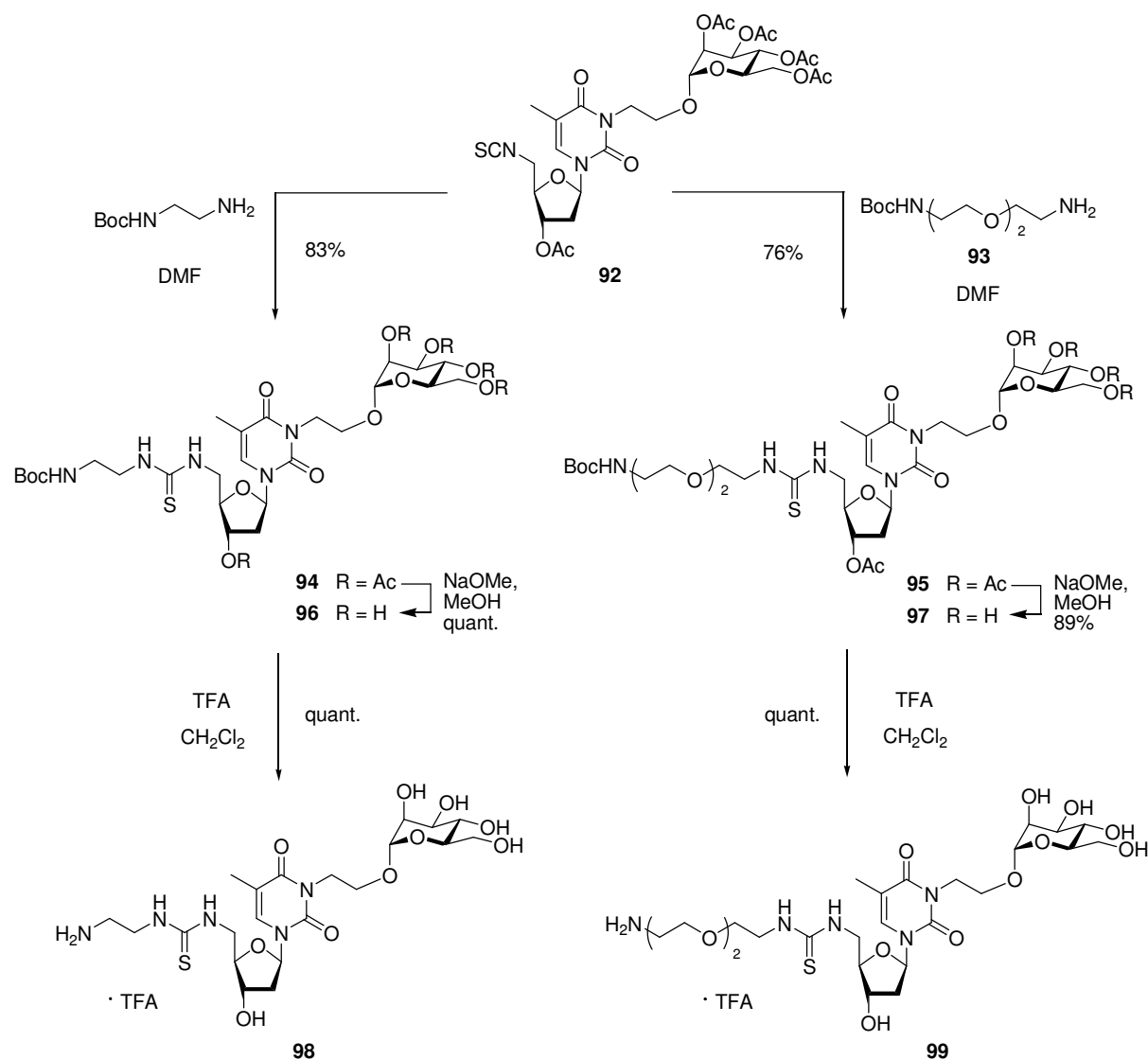


Abbildung 69: Darstellung der Aminoglycothymidine **98** und **99** mit unterschiedlichen Spacerlängen an der 5'-Position. Die Synthese erfolgte durch Reaktion der entsprechenden Diamine mit dem Isothiocyanatoglycothymidin **92**. Die Immobilisierung führt später zu unterschiedlichen Abständen zwischen Glycothymidin und Oberfläche.

### Modulare Derivatisierung durch Alkin-Azid-Click-Chemie

Neben der Funktionalisierung über die 5'-Position kann außerdem die 3'-Position zur Immobilisierung genutzt werden. Dazu geht ein erster Ansatz von 3'-Allylthymidin aus, da die Allylfunktion durch eine Hydroborierung die Synthese des entsprechenden Alkohols **100** erlauben sollte. Hierzu wurde 3'-Allylthymidin mit 9-BBN umgesetzt und oxidativ mit NaOH und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aufgearbeitet. Jedoch konnte auch nach einer Reaktionszeit von 24 h kein Umsatz erzielt werden. Die Durchführung der Reaktion im Ultraschallbad lieferte ebenfalls nicht das gewünschte Produkt. Die Analyse mittels Dünnschichtchromatographie zeigte hauptsächlich die Edukte. Eine mögliche Ursache könnte eine Koordination des Reagenzes 9-BBN an die



Carbonylgruppen des Imids sein, welche als Lewis-Säure-Lewis-Base-Addukt die gewünschte Reaktion mit der Doppelbindung verhindern würde.

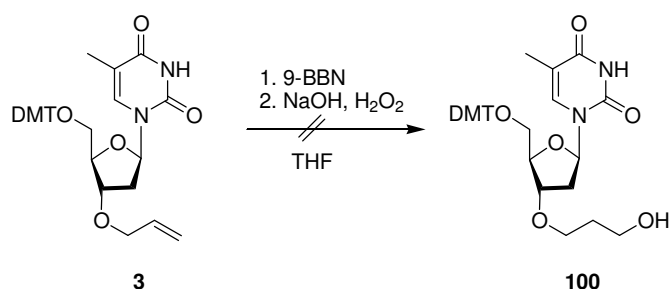


Abbildung 70: Versuch der Hydroborierung von 3'-Allylthymidin 3.

Da viele gängige Reaktionen zur Funktionalisierung von Doppelbindungen auch die Doppelbindung der Nucleobase nicht unangetastet lassen, wurde nach alternativen Reaktionswegen für die Funktionalisierung des Thymidins an der 3'-Position gesucht. Eine Möglichkeit ein 3'-aminofunktionalisiertes Derivat zu erhalten, welches sich unmittelbar immobilisieren ließe, ist die direkte Umsetzung von DMT-Thymidin (2) mit einem geschützten Aminoalkylbromid. Analog zu der Reaktion von 2 mit Allylbromid wurde nun mit 2-Bromethylphthalimid in THF umgesetzt. Jedoch führte die Reaktion, die für Allylbromid unter analogen Bedingungen selektiv zur 3'-Alkylierung geführt hatte, in diesem Fall nicht zur Umsetzung der Edukte. Bei der Verwendung von DMF als Lösungsmittel fand zwar eine Reaktion statt, jedoch wurde ein Gemisch aus *O*- und *N*-alkyliertem Produkt im Verhältnis 1:1 erhalten (Abbildung 71). Durch Reaktion des Produktgemisches mit Essigsäureanhydrid konnte selektiv die Hydroxygruppe des *N*-alkylierten Produktes 63 acetyliert werden und die regioisomeren Produkte auf diese Weise getrennt werden. Aufgrund der problematischen Regioselektivität bei der Alkylierung wurde dieser Syntheseweg nicht weiter verfolgt.

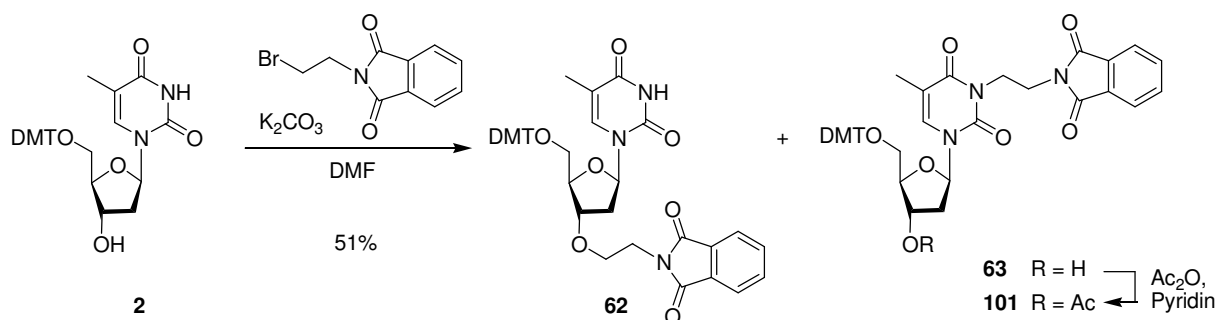


Abbildung 71: Regioselektivitätsprobleme bei der Alkylierung von (4,4'-Dimethoxytrityl)-thymidin 2 mit Bromethylphthalimid. Es wurde ein Gemisch aus *N*- und *O*-alkyliertem Produkt im Verhältnis 1:1 erhalten.

Wie bereits im Exkurs (siehe S. 40) ausgeführt und von ZERROUKI<sup>[135]</sup> beschrieben, findet bei der Verwendung von Lösungsmitteln wie DMF immer auch eine *N*-Alkylierung des Thymidins, bei der Verwendung von THF hingegen die *O*-Alkylierung statt. Da die Reaktion in THF den Einsatz sehr reaktiver Alkylhalogenide erfordert, sind die Reaktionsmöglichkeiten in dieser Hinsicht beschränkt. Allerdings sollte analog zur Alkylierung von DMT-Thymidin (**2**) die Umsetzung mit Propargylbromid gelingen. Die Reaktion **2** mit Propargylbromid lieferte 5'-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3'-propargylthymidin (**61**) mit sehr guten Ausbeuten von 92 %. Die anschließende Alkylierung an der Nucleobase unter den bekannten Bedingungen konnte sowohl mit dem Bromethylmannosid **30** als auch mit dem Brommethylphenylmannosid **13** durchgeführt werden (Abbildung 72).

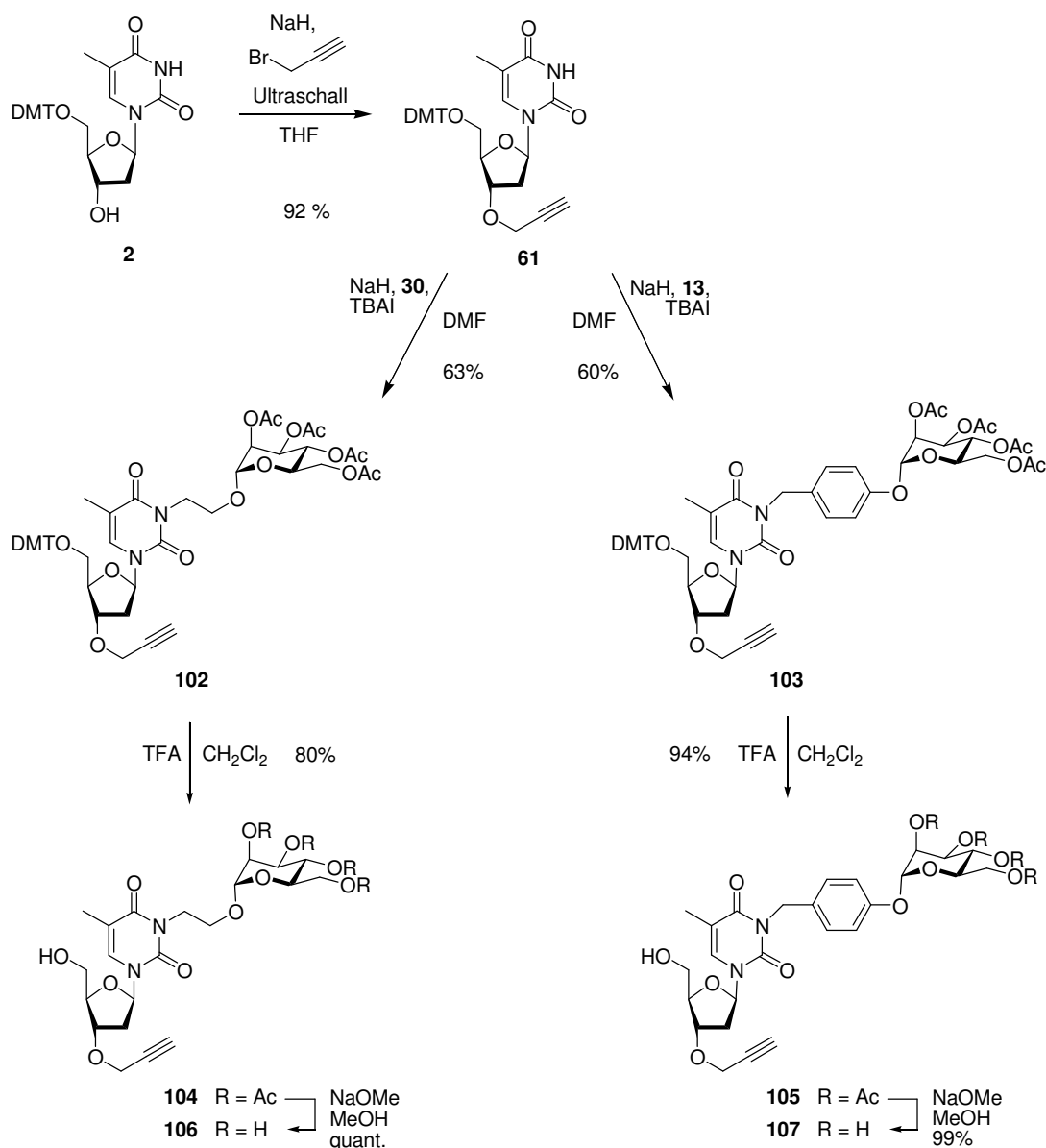
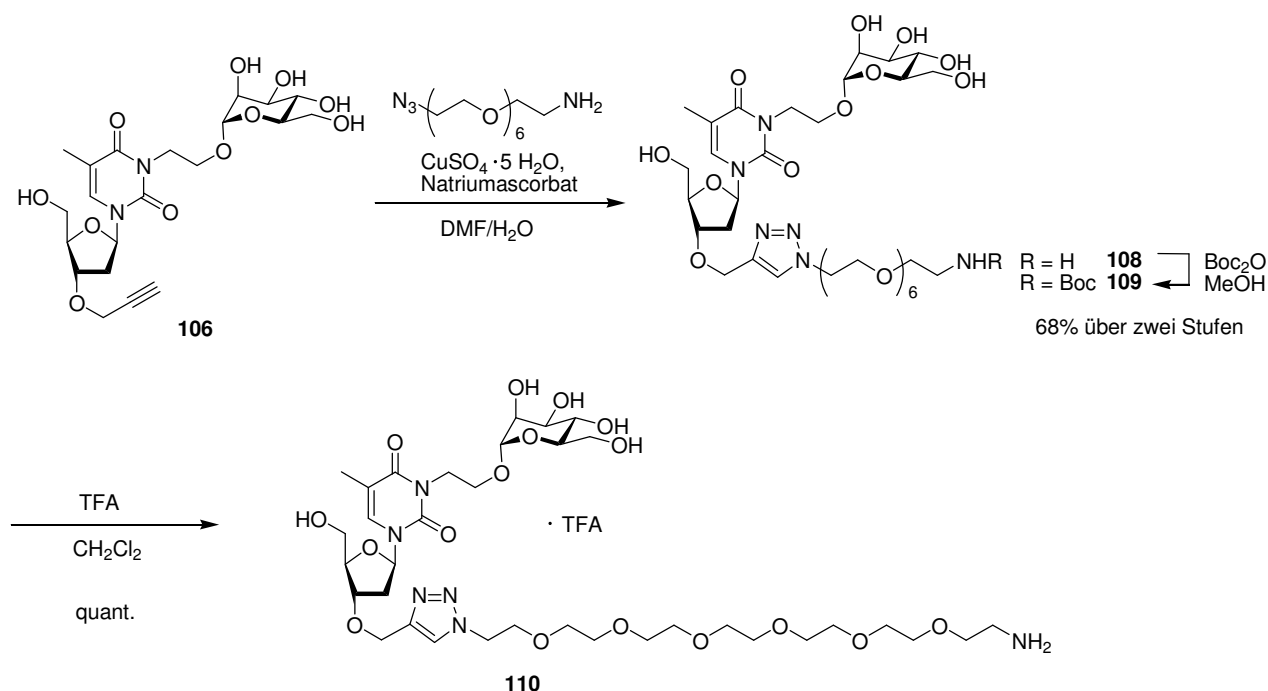


Abbildung 72: Darstellung der glycosylierten 3'-Propargylglycothymidine **106** und **107** mit aliphatischem bzw. aromatischem Aglycon.

Ähnlich wie das 5'-Isothiocyanatoglycothymidin **92** bieten die Glycothymidine mit einer 3'-*O*-Propargylgruppe, **106** und **107**, einen idealen Ausgangspunkt zur Funktionalisierung mit unterschiedlichen Linkern, in diesem Fall mittels der kupferkatalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition von Aziden an Alkine. Die hoch effiziente Click-Chemie bietet somit ausgehend von **106** und **107** mit diversen Amino-Aziden Zugang zu einer Strukturvielfalt von Aminoglycothymidinen, die dann über die 3'-Position immobilisiert werden können.

Um eine Acetylgruppenwanderung zum freien Amin unter basischen Bedingungen zu vermeiden und durch die freie Aminfunktion bedingte Probleme bei der Aufreinigung zu umgehen, sollten die Entschützungs Schritte vor der Click-Reaktion durchgeführt werden. Beide geschützten 3'-Propargylglycothymidine **102** und **103** konnten in guten Ausbeuten zunächst unter sauren Bedingungen detrityliert und anschließend unter basischen Bedingungen deacetyliert werden. Die ungeschützten Derivate **106** und **107** standen somit für Derivatisierungen über Click-Reaktionen zur Verfügung.

Im Weiteren wurde das Propargyl-Glycothymidin **106** unter Verwendung von Kupfer-(II)-sulfat-Pentahydrat und Natriumascorbat als Katalysatorsystem mit 1-Amino- $\omega$ -Azidoheptaethylenglycol ( $N_3$ -OEG<sub>7</sub>-NH<sub>2</sub>) unter Bildung von **109** umgesetzt (Abbildung 73).



**Abbildung 73:** Darstellung des über die 3'-Position verknüpften Aminoglycothymidins **110** mittels Click-Chemie.

Es wurde an dieser Stelle ein Heptaethylenglycol-Einheit (OEG<sub>7</sub>) als Spacer verwendet, da Oligoethylenglycoleinheiten im Allgemeinen eine repulsive Wechselwirkung zugeschrieben wird.<sup>[151, 152]</sup> Dies wird genutzt, um bei der Untersuchung der Zelladhäsion an synthetische

Oberflächen bzw. Arrays, die unspezifische Wechselwirkung der Proteine mit der Oberfläche zu vermeiden. Der Einfluss der OEG-Einheiten auf diese Wechselwirkungen wird auch als Biorepulsivität bezeichnet. Das Produkt der Click-Reaktion **108** konnte zwar in guten Ausbeuten erhalten werden, jedoch war die Aufreinigung problematisch. Aus diesem Grund wurde dieselbe Strategie, wie schon bei der Synthese des 5'-Aminoglycothymidins **79** angewandt und das Amin **108** *in situ* mit Boc<sub>2</sub>O geschützt, um die Aufreinigung zu erleichtern. Nach anschließender Entschützung unter sauren Bedingungen konnte das freie Amin **110** in Form seines Trifluoracetates erhalten werden und stand zur Immobilisierung zur Verfügung.

#### VARIATION DER SPACER – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von dem Isothiocyanatoglycothymidin **92** konnte durch Umsetzung mit verschiedenen Diaminen ein Zugang zu Thioharnstoff-verbrückten Aminoglycothymidinen mit verlängertem Spacer ermöglicht werden. Über diesen Syntheseweg wurden die Derivate **98** und **99** mit einem Ethylen- bzw. einem Triethylenglycolspacer in guten Ausbeuten dargestellt. Daneben konnte ausgehend von dem 3'-Propargylglycothymidin **106** über eine kupferkatalysierte Click-Reaktion das triazolverknüpfte Derivat **110** mit einem biorepulsiven Oligoethylenglycolspacer erhalten werden. Analog zu der in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Untersuchung von Glycothymidin-**79**-Oberflächen stehen die drei Aminoglycothymidine **98** und **99** und **110** zur Immobilisierung auf Mikrotiterplatten zur Verfügung.

### 4.3 Glycothymidin-SAMs auf Quarzoberflächen

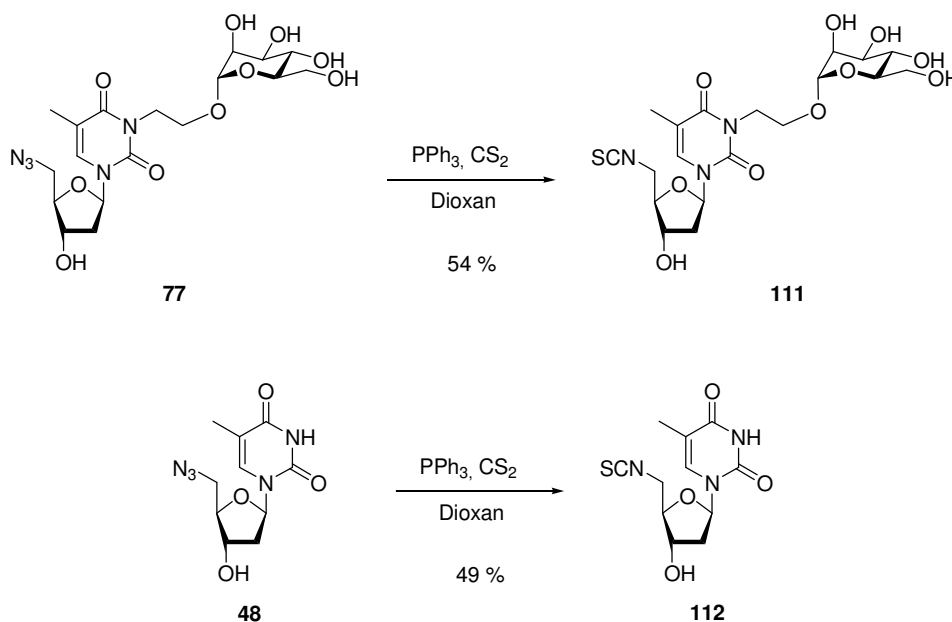
Die Aufklärung der über multivalente Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen vermittelten zellulären Erkennungs- und Kommunikationsprozesse erfordert künstliche Glycanoberflächen als Mimikri glycosylierter Zellmembranen. Neben der bereits vorgestellten und im Rahmen dieser Arbeit auf die Glycothymidine übertragenen Glycoarray-Technik<sup>[64, 139]</sup> (Abschnitt 4.2) treten gerade zur Immobilisierung glycomimetischer Systeme selbstanordnende Monoschichten (*self-assembled monolayers*, SAMs) als zweidimensionales Mimetikum der Zelloberfläche immer stärker in den Vordergrund.<sup>[129, 153-157]</sup> Mit Hilfe dieser so genannten Glyco-SAMs lassen sich durch Immobilisierung von glycosylierten Alkanthiolen auf Gold maßgeschneiderte Glycanoberflächen zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen darstellen. Gleichzeitig sind diese Oberflächen für diverse analytische Techniken wie Surface-Plasmon-Resonance (SPR),<sup>[158, 159]</sup> Ellipsometrie<sup>[160, 161]</sup> oder AFM<sup>[162]</sup> zugänglich.

SAMs wurden erstmals in den 80er Jahren eingeführt<sup>[163-165]</sup> und finden seither zahlreiche Anwendungen zur Untersuchung von Grenzflächenphänomenen.<sup>[166, 167]</sup> In der Biologischen Chemie dienen sie als Modell-Systeme für Zelloberflächen zur Untersuchung molekularer Details, sowie der Thermodynamik und Kinetik biologischer Erkennungsprozesse. Hierzu zählen die Wechselwirkungen von Oberflächen mit biologisch relevanten Molekülen, wie Proteine, Kohlenhydrate und Antikörper.<sup>[168-171]</sup> Bei der großen Mehrheit an Veröffentlichungen zu dem Thema SAMs handelt es sich um selbstanordnende Monoschichten von Alkanthiolen auf Goldoberflächen, jedoch ist das Feld sehr viel breiter. So ist die Immobilisierung von Organosilanverbindungen auf Quarz unter Ausbildung kovalenter Si-O-Si-Bindungen ein wichtiges Verfahren, welches weitere Vorteile mit sich bringt, die im Rahmen dieser Arbeit genutzt wurden.<sup>[172]</sup> Die Immobilisierung auf Quarzoberflächen wird durch Berichte über photoschaltbare SAMs auf Quarzglas besonders attraktiv. So ist es W. KNOLL et al. gelungen in einer Azobenzol-Monoschicht auf Quarzoberflächen durch entsprechende Belichtungen *cis-trans*-Isomerisierungen zu induzieren und nachzuweisen.<sup>[173, 174]</sup>

Auf Polystyrol-Mikrotiterplatten konnte der Beweis einer erfolgreichen Dimerisierung immobilisierter Glycothymidine bislang nicht erbracht werden. Gründe hierfür waren neben der geringen Konzentration des Substrates auf der Oberfläche vor allem die für viele analytische Methoden störenden Effekte des Polystyrols. Wird dagegen Quarz als Oberfläche für eine Immobilisierung verwendet, kann die Oberfläche im Gegensatz zu Polystyrol oder

Gold mittels UV-Spektroskopie untersucht werden. Diese Option ermöglicht idealerweise den Nachweis der Dimerisierung auf der Oberfläche.

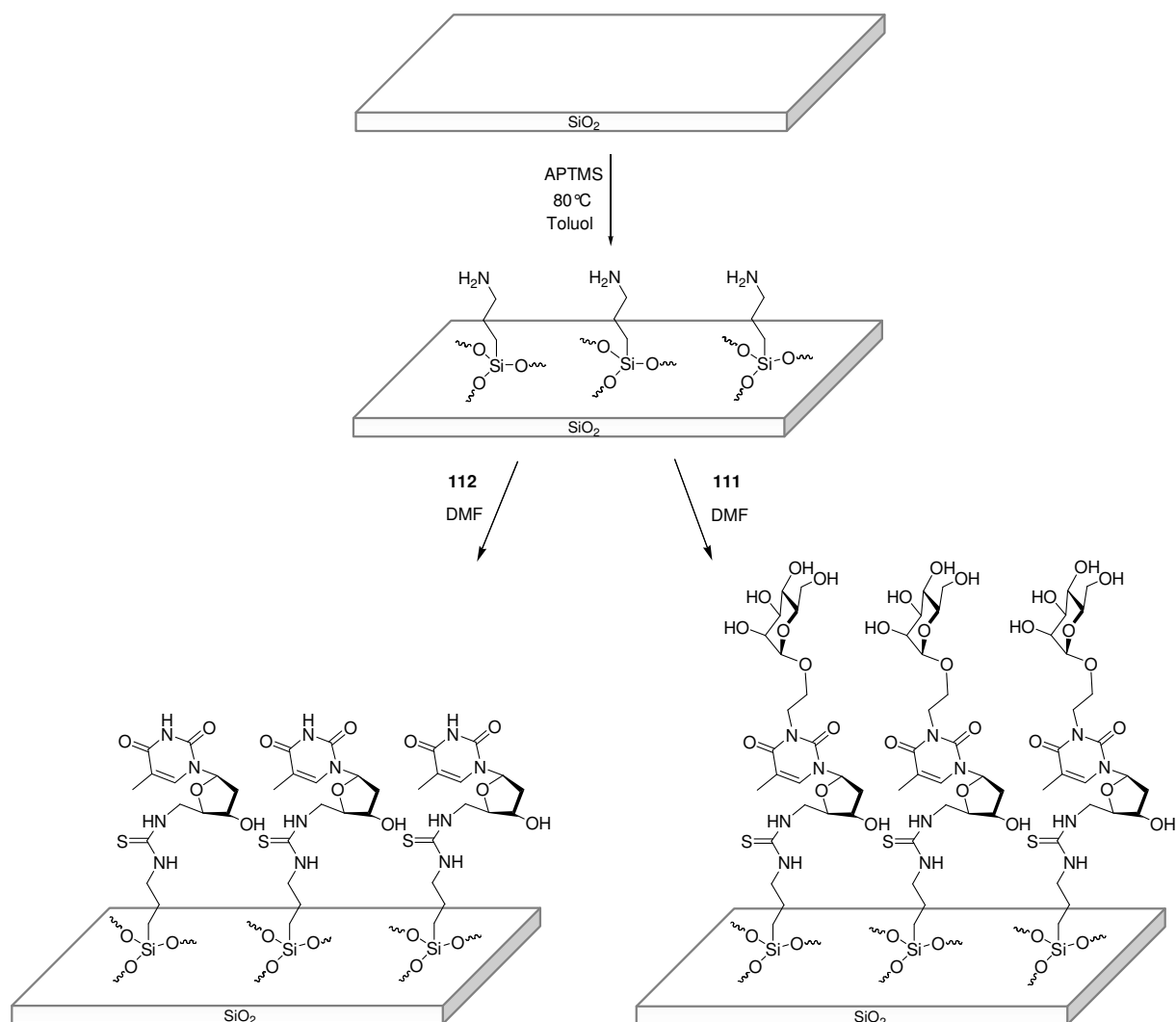
Die Darstellung der Glycothymidin-funktionalisierten Quarzoberflächen wurde in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von A. TERFORT<sup>[175]</sup> sowie mit M. RIED<sup>[176]</sup> aus der Arbeitsgruppe R. HERGES durchgeführt. Um die Funktionalisierung möglichst effektiv zu gestalten, sollte eine Reaktion mit hoher Ausbeute und Spezifität zur Umsetzung vorfunktionalisierter Silicium-Wafer genutzt werden. Aufgrund der leichten Zugänglichkeit des Isothiocyanatoglycothymidins **112**, wurde zum einen die bereits erfolgreich eingesetzte Thioharnstoff-Verknüpfung mit Amin-terminierten Quarzoberflächen gewählt. Eine Entschützung des in Kapitel 4.2.3 beschriebenen acetylgeschützten Analogon **92** unter Zemplén-Bedingungen würde neben der Deacetylierung auch zu einer Umsetzung des reaktiven Isothiocyanates mit Methanolat zum entsprechenden Methylthiocarbamat führen. Daher musste die Darstellung des Isothiocyanates **111** ausgehend von dem bereits entschützten Azid **77** erfolgen (Abbildung 74). Für die Optimierung der Immobilisierungsreaktion wurde auch das leicht zugängliche nicht-glycosylierte Isothiocyanatothymidin **112** hergestellt.



**Abbildung 74:** Darstellung des ungeschützten Isothiocyanates zur Funktionalisierung aminoterminierter Quarzoberflächen.

Die für die Immobilisierung der Thymidin-Derivate **111** und **112** erforderliche Aminfunktionalisierung der Si-Wafer wurde in der Arbeitsgruppe TERFORT durchgeführt. Hierzu wurde zunächst die Oberfläche mit einem Plasmareiniger gereinigt und anschließend

durch Behandlung mit einer 10%igen Lösung (3-Aminopropyl)-trimethoxysilan (APTMS) in Toluol bei 80 °C beschichtet (Abbildung 75). Der Erfolg dieser Oberflächenfunktionalisierung wurde durch eine Testreaktion mit Fluoreszeinisothiocyanat und anschließender UV-spektroskopischer Charakterisierung verifiziert. Anschließend wurden die aminterminierten Quarzplatten mit den Isothiocyanaten **111** und **112** beschichtet, unter Bedingungen wie sie auch für die Thioharnstoffkupplung in Lösung erfolgreich waren.



**Abbildung 75:** Funktionalisierung von Quarzplatten. Zur Immobilisierung der Thymidinderivate erfolgte zunächst eine Beschichtung mit (3-Aminopropyl)-trimethoxysilan (APTMS). Anschließend wurden die primären Amine in einer Thioharnstoffkupplung mit den isothiocyanatfunktionalisierten Thymidinderivaten **111** und **112** umgesetzt.

Eine UV-spektroskopische Untersuchung der beschichteten Quarzplatten lieferte die in Abbildung 76 dargestellten Spektren. Die Absorption beider Platten bei einer Wellenlänge von ca. 270 nm belegt die erfolgreiche Funktionalisierung mit den jeweiligen Thymidinderivaten **111** und **112**. Die Belichtungsversuche stehen allerdings noch aus.

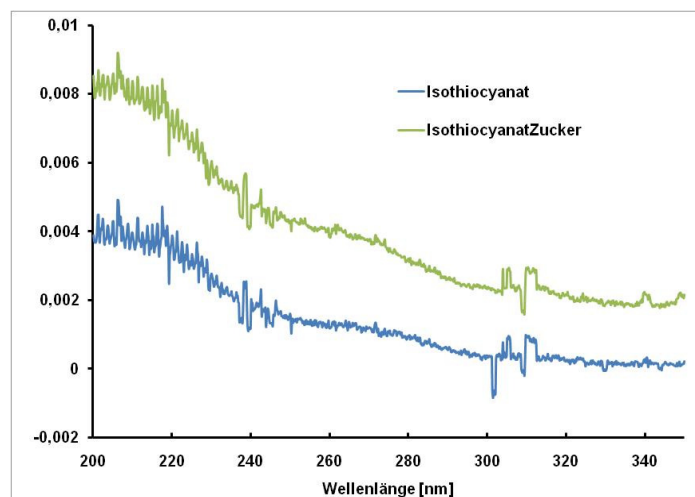


Abbildung 76: UV-Absorptionsspektren der mit **111** (grün) bzw. **112** (blau) funktionalisierten Quarzplatten zeigen beide die für Thymidin charakteristische Absorption bei einer Wellenlänge von ~270 nm.

Eine zweite Möglichkeit zur Beschichtung von Quarz bietet die kupferkatalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden an Alkine. Von M. RIED wurden gereinigte Quarzplatten zunächst mit 11-Bromundecyltrichlorsilan funktionalisiert und anschließend ein Brom-Azid-Austausch auf den beschichteten Oberflächen durchgeführt. Für die Click-Reaktion wurde das in Abschnitt 4.2.3 beschriebene 3'-Propargylglycothymidin **106** gewählt. Eine dreitägige Reaktionszeit unter Standardbedingungen der Click-Reaktion mit Kupfer-(II)-sulfat und Natriumascorbat lieferte die gewünschte Funktionalisierung der Quarzplatten (Abbildung 77).

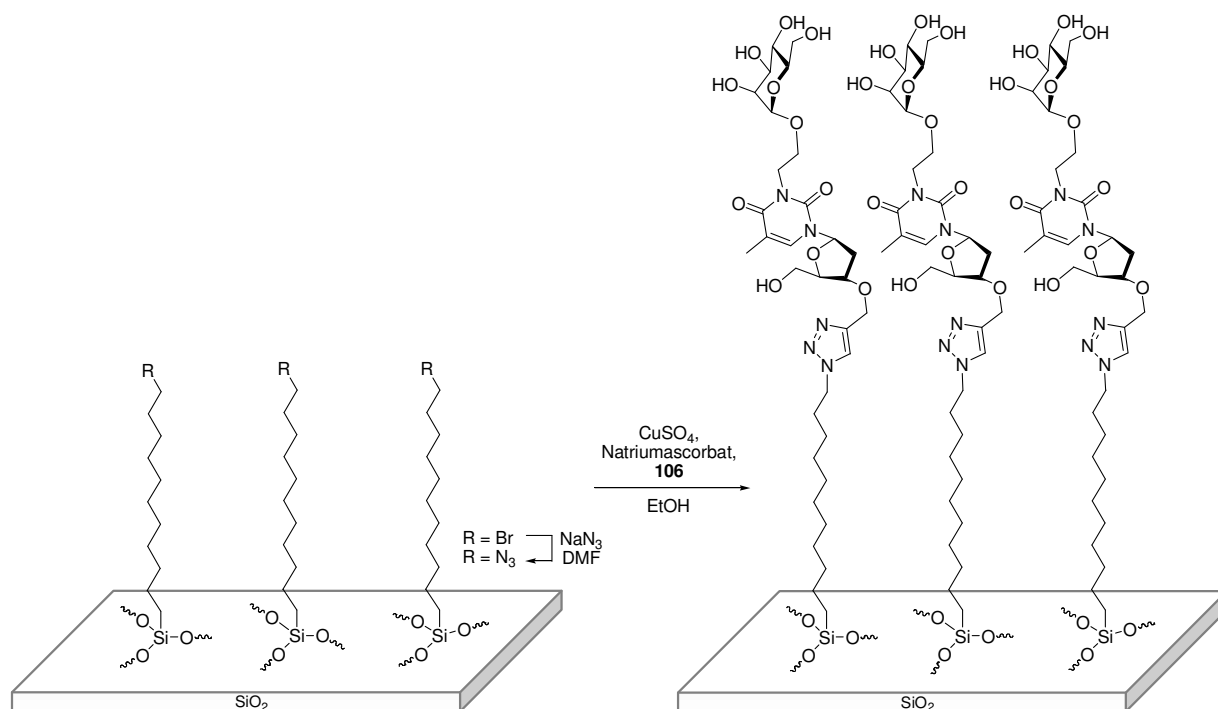
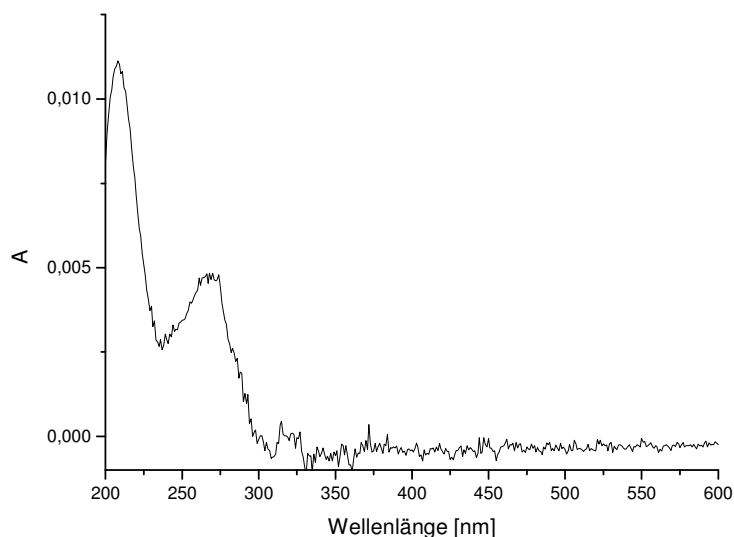


Abbildung 77: Funktionalisierung der Quarzplatten mit dem 3'-Propargylglycothymidin **106** über eine kupferkatalysierte Click-Reaktion.



Mittels UV-spektroskopischer Analytik konnte die Funktionalisierung mit dem Glycothymidin zweifelsfrei nachgewiesen werden. Das in Abbildung 78 dargestellte Spektrum zeigt die charakteristische Absorption von Thymidin bei ca. 270 nm.



**Abbildung 78: UV-Absorptionsspektren der mit 106 funktionalisierten Quarzplatte.**

### **GLYCOTHYIMIDIN-SAMs – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG UND PERSPEKTIVE**

Im Rahmen zweier Kooperationen konnten die Glycothymidinderivate **106** und **111** genutzt werden, um SAMs auf Quarz darzustellen. Zum einen wurde das 5'-Isothiocyanatoglycothymidin **111** in einer Thioharstoffkupplung an 3-Aminopropylsilan-funktionalisierte Quarzoberflächen geknüpft. Zum anderen wurde eine kupferkatalysierte Click-Reaktion genutzt, um das 3'-Propargylglycothymidin **106** auf einer 11-Azidoundecyltrichlorsilan-funktionalisierten Oberfläche zu immobilisieren. Mittels UV-Spektroskopie konnte in beiden Fällen die Funktionalisierung der Oberflächen nachgewiesen werden. Diese Möglichkeit der Charakterisierung der immobilisierten Substanzen stellt einen erheblichen Vorteil gegenüber den Polystyrol-Oberflächen dar. Zudem eignet sich Quarz aufgrund seiner Resistenz gegenüber UV-Strahlung für die angestrebten Untersuchungen besser als Polystyrol. Ein dritter Vorteil der Verwendung von Quarz gegenüber den Amino-Immobilizer-Platten ist, dass alle Bestandteile der Funktionalisierung bekannt sind und demnach unkalkulierbare Nebenreaktionen ausgeschlossen werden können. Die Verwendung von Glycothymidin-funktionalisierten Quarz-Mikrotiterplatten wäre demnach ein viel versprechender Ansatz für zukünftige Arbeiten.

## 4.4 Synthese eines divalenten Glycothymidins auf PAMAM-Basis

Natürliche Oligosaccharide werden auf eukaryontischen Zellen in hoch verzweigter Form präsentiert. Eine Möglichkeit diesen hohen Grad an Verzweigung nachzuahmen, ist die Nutzung der Dendrimerchemie. Der Begriff Dendrimer leitet sich von den griechischen Worten *dendron* - der Baum und *meros* - der Teil ab und umfasst uniforme Makromoleküle, deren Struktur sich ausgehend von einem multifunktionellen Kernmolekül durch generationsweises Wachstum verzweigt. Die einzelnen Äste eines Dendrimers werden hierbei als Dendronen bezeichnet. Für den Aufbau solcher Dendrimere und Dendronen können unterschiedliche iterative Synthesemöglichkeiten verwendet werden. Die ersten Dendrimere wurden 1978 von VÖGTLE et al. beschrieben. Die Synthese dieser Polypropylenimin-Dendrimere (PPI) basiert auf der Umsetzung eines primärenamins mit Acrylnitril in einer Michael-analogen Addition und der anschließenden Reduktion der Nitrile zu den entsprechenden Aminen.<sup>[177]</sup> Die Amine stehen dann als neues Core-Molekül für eine erneute Michael-Addition zum Aufbau der nächsten Generation zur Verfügung. Wenig später entwickelte TOMALIA die so genannten Starburst-Dendrimere. Hinter diesem wirkungsvollen Namen verbergen sich Poly(amidoamin)-(PAMAM-)-Dendrimere, deren iterative Synthese aus der Addition eines Polyamin-Kernmoleküls an Methylacrylat und der anschließenden Umsetzung mit Ethylendiamin besteht.<sup>[178-180]</sup> Die vielseitig einsetzbaren Starburst-Dendrimere sind mittlerweile bis zur neunten Generation und mit verschiedenen Core-Molekülen im Handel erhältlich. Die große Zahl identischer Einheiten im Inneren der dreidimensionalen Struktur ermöglicht die Einlagerung von Wirtsmolekülen ab Dendrimeren der vierten Generation.<sup>[181]</sup> Gleichzeitig werden auf der Oberfläche funktionelle Gruppen exponiert, die eine Funktionalisierung mit Biomolekülen erlauben. Diese Eigenschaften ermöglichen eine Kombination von Wirt-Gast-Chemie und Grenzflächen-Interaktionen, was sie für den Transport von Pharmazeutika und Kontrastmitteln sowie für Anwendungen im Bereich des *tissue-targeting* eignet.<sup>[181]</sup> Darüber hinaus finden sie auch Anwendung zur Darstellung von Microarrays mit multivalenten Liganden.<sup>[182]</sup> Auch im Bereich der Glycobiologie spielt die Dendrimerchemie eine zentrale Rolle. Die hypervverzweigte Struktur natürlicher Oligosaccharide und Glycokonjugate legt nahe, sich bei der Synthese glycomimetischer Systeme der Dendrimerchemie zu bedienen. In der Literatur finden sich Glycodendrimere sowohl in Form Kohlenhydrat-terminierter Dendrimere, Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere als auch als in Form von Dendrimeren, in der Verknüpfung über

Kohlenhydrate erfolgt.<sup>[183-186]</sup> Erstere zeichnen sich insbesondere als hoch affine Inhibitoren mikrobieller Adhäsion aus.<sup>[187, 188]</sup>

Hier sollte die PAMAM-Chemie in Ansätzen genutzt werden, um einen gewissen Grad an Verzweigung in die auf der Oberfläche exponierten Liganden einzuführen.

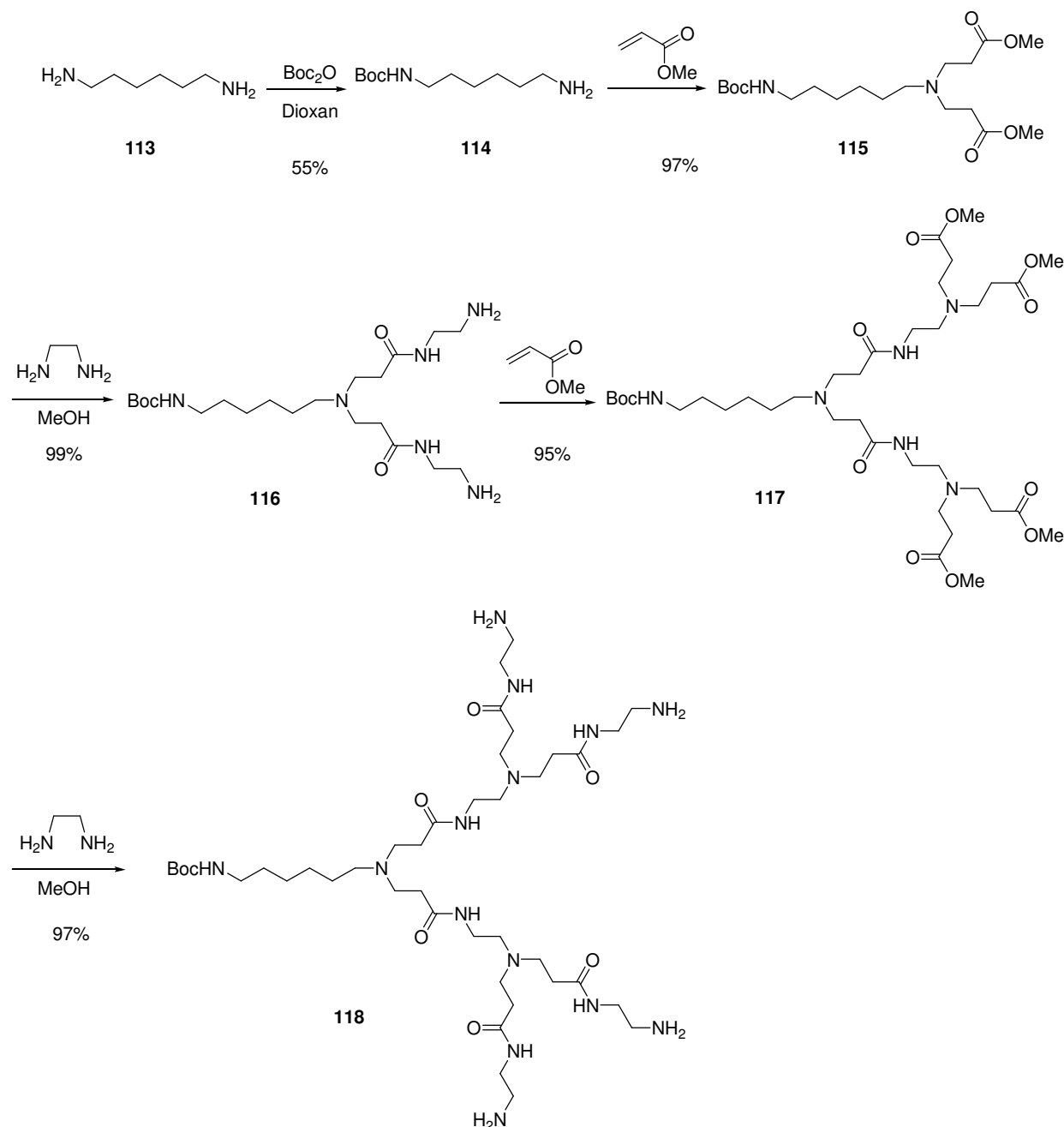
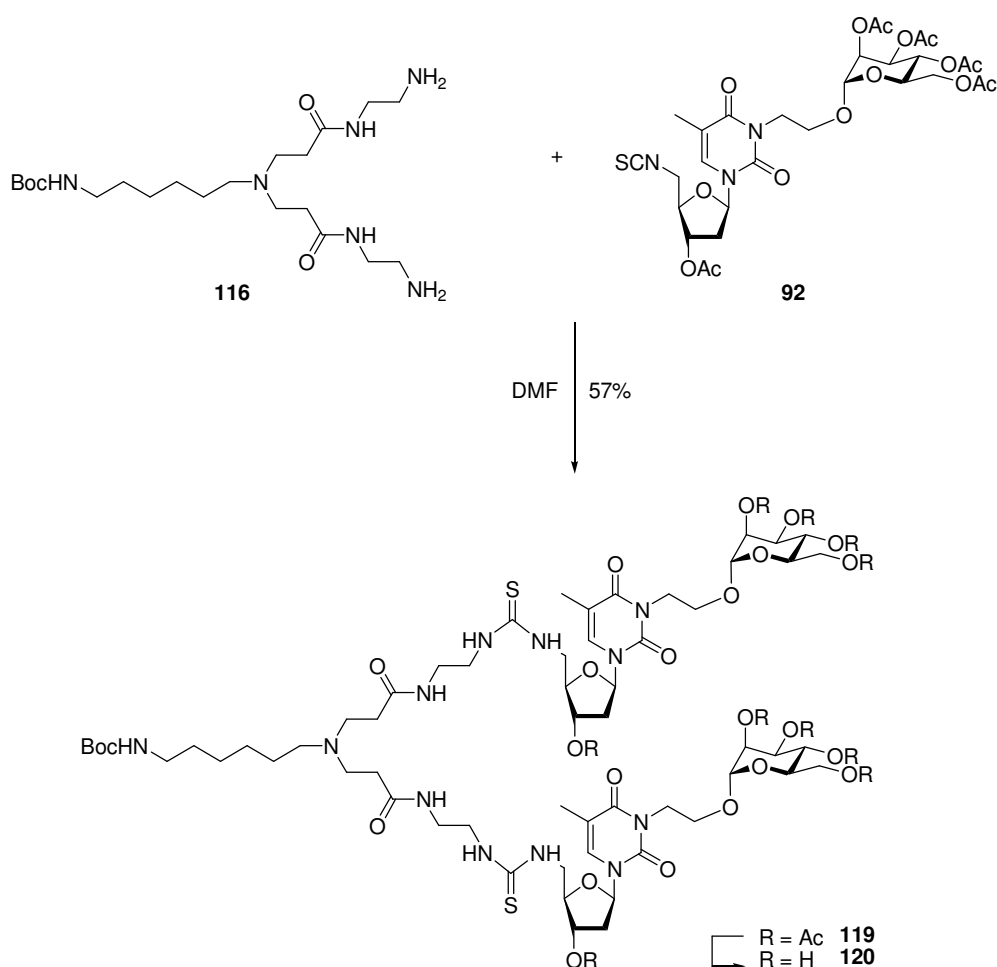


Abbildung 79: Synthese des divalenten Amins 116 und des tetravalenten Amins 118, die zur Funktionalisierung mit Glycothymidinen zur Verfügung stehen.

Hierzu wurde von 1,6-Diaminohexan 113 als Kernmolekül ausgegangen. Um das Wachstum in eine Richtung zu begrenzen und die Option der nachträglichen Immobilisierung zu

gewährleisten, wurde eine einfach Boc-Schützung des Diamins durchgeführt.<sup>[189]</sup> *N*-Boc-1,6-Diaminohexan **114** wurde in guten Ausbeuten erhalten. Das verbleibende primäre Amin wurde in einer doppelten Michael-Addition an Methylacrylat zum Diester **115** umgesetzt und die anschließende Reaktion mit Ethylendiamin lieferte das Diamin **116** in sehr guten Ausbeuten. Zum Aufbau der zweiten Generation wurden die Michael-Addition und die Reaktion mit Ethylendiamin erneut durchgeführt, was das Tetraamin **118** in sehr guten Ausbeuten lieferte. Die PAMAM-Struktur **118** wurde im Arbeitskreis LINDHORST bereits erfolgreich in der Synthese eines fluoreszenzgelabelten tetraantennären *N*-Acetyl-Glucosamins über Thioharnstoffkupplung eingesetzt.<sup>[190]</sup>



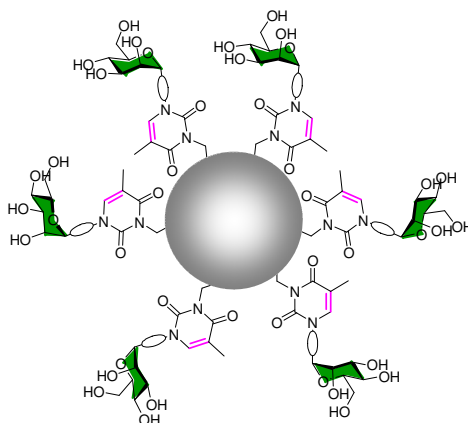
**Abbildung 80:** Synthese des divalenten Glycothymidins durch die Umsetzung eines durch PAMAM-Chemie dargestellten Diamins mit dem Isothiocyanatoglycothymidin **92**.

Beide Amine ermöglichen durch eine Umsetzung mit dem bereits in Reaktionen mit Aminen erprobten Isothiocyanatoglycothymidin **92** (Abschnitt 4.2.3) die Darstellung multivalenter Glycothymidine. Zu Testzwecken wurde zunächst die Synthese eines divalenten Glycothymidins angestrebt. Das Diamin **116** wurde in einer Thioharnstoff-Kupplung zum

Aufbau des divalenten Glycothymidins **119** genutzt. Die Reaktion verlief in moderaten Ausbeuten von 57 %. Die anschließende Entschützung unter Zemplén-Bedingungen lieferte das divalente Glycothymidin **120**, welches zur Immobilisierung auf Oberflächen über die Aminfunktion zur Verfügung steht. Aufgrund der noch ausstehenden Charakterisierung der Veränderungen auf der Oberfläche in Folge der Belichtung wurde dieses wertvolle Glycothymidin bislang nicht immobilisiert oder in der bakteriellen Adhäsion getestet. Im Gegensatz zu den beschriebenen monovalenten Glycothymidinen wird für dieses divalente System angenommen, dass zusätzlich zu der intermolekularen Cycloaddition auch intramolekulare Vernetzungen erfolgen. Insbesondere für dendritische Strukturen höherer Generationen, die über den hier dargestellten Ansatz zugänglich sind, ist so ein hohes Maß an Vernetzung und daraus resultierender konformationeller Änderung innerhalb der Oberfläche vorstellbar. Dieses Konzept ist damit ein interessanter Ausgangspunkt für die Synthese weiterer multivalenter Glycothymidinderivate zur Darstellung hyperverzweigter photosensitiver Glycanoberflächen.

## 4.5 Glycothymidin-funktionalisierte Polystyrolkolloide – Nanocandies

Die Forschung in dem Bereich zellulärer Kommunikation ist auf die Darstellung synthetischer Glycokonjugatmimetika und Zellmimetika angewiesen. Um die für eine effektive Bindung zwischen Mimetikum und Lektinen erforderliche Multivalenz der Liganden zu erzielen, wurden in der Vergangenheit u. a. Glycocluster<sup>[20]</sup> und Glycodendrimere<sup>[184]</sup> synthetisiert und auf ihre biologische Funktion untersucht. Darüber hinaus können die eher schwachen monovalenten Wechselwirkungen durch multivalente Bindungen auf einem zweidimensionalen Glycoarray verstärkt werden (Abschnitt 4.2). Ein weiterer Ansatz ist die Synthese dreidimensionaler glycosylierter Partikel. Solche sphärischen Partikel stellen aus struktureller Sicht ein Glycomimetikum dar, das stark an das natürliche Vorbild einer von Oligosacchariden bedeckten Zelle angelehnt ist. In diesem Zusammenhang ist in den letzten Jahren das Potential von nanodimensionierten Partikeln, deren Oberflächen mit biologisch aktiven Liganden<sup>[191, 192]</sup> bedeckt sind, erkannt und genutzt worden. Insbesondere Kohlenhydrat-funktionalisierte kolloidale Partikel<sup>[193]</sup> und Gold-Nanopartikel<sup>[194-196]</sup> sowie Glycopolymere spielen für die genannten Untersuchungen eine entscheidende Rolle. Anwendungen finden sich unter anderem im Bereich der *drug delivery devices*,<sup>[192, 197]</sup> als magnetische Nanosensoren zur Detektion viraler Partikel,<sup>[191]</sup> sowie zu Studien über die Vernetzung multivalenter Systeme.<sup>[48]</sup> Im Hinblick auf die interzelluläre Kommunikation ist gerade die Untersuchung der Wechselwirkung glycosylierter Nanopartikel oder Vesikel mit Lektinen und Bakterien besonders interessant.<sup>[198-200]</sup>



**Abbildung 81:** Schematische Darstellung eines photosensitiven Glycokolloids. Die Darstellung wurde aufgrund einer besseren Übersichtlichkeit auf die für die Funktion relevanten Bausteine – Thymin und Mannose – beschränkt. Der Spacer ist in der Darstellung allgemein gehalten.

Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Glycothymidinderivate wurden daher zur Darstellung photosensitiver glycosylierter Kolloide genutzt (Abbildung 81). Diese sollten anschließend hinsichtlich der Interaktion mit Typ-1-fimbrierten *E. coli*-Bakterien untersucht werden. Die Synthese und Untersuchung solcher Glykokolloide wurde in Kooperation mit A. ZILLESSEN der Arbeitsgruppe von E. BARTSCH am Institut für Makromolekulare Chemie der Universität Freiburg durchgeführt. Die Arbeitsgruppe BARTSCH beschäftigt sich unter anderem mit der Synthese photovernetzbarer kolloidaler Mikrogele. Mit Hilfe solcher Systeme sollen die Clusterbildung sowie Gelbildungsprozesse in kolloidalen Dispersionen untersucht werden. Eine Funktionalisierung der kolloidalen Partikel mit photoreaktiven Gruppen ermöglicht ein Photo-Crosslinking der Partikel durch nicht-invasive Methoden wie UV-Strahlung. Durch die Ausbildung kovalenter Netzwerke wird auf diese Weise die Rückreaktion zu einem monodispersen System verhindert. So können kolloidale Überstrukturen wie Cluster oder Gele, aber auch temporär vorliegende Zustände wie transiente Cluster, gewissermaßen „eingefroren“ und auf diese Weise analysiert werden. Der Einbau von Benzophenoneinheiten in Polystyrol (PS)-Mikrogele erlaubte beispielsweise ein Crosslinking der Partikel unter UV-Belichtung. Diese Photovernetzung beruht auf einer radikalischen Reaktion der Benzophenon-Einheiten mit benachbarten Polystyrolpolymerketten und ist somit irreversibel.<sup>[201]</sup> Ein weiteres von A. ZILLESSEN entwickeltes System basiert auf der [2+2]-Cycloaddition von Coumarineinheiten, die durch die Copolymerisation mit Styrol in die Kolloide eingeführt wurden.<sup>[202]</sup> Bislang beschränken sich die Arbeiten zu kolloidalen Aggregationsphänomenen auf Untersuchungen in organischen Lösungsmitteln oder theoretische Computersimulationen.<sup>[203-205]</sup> Auch alle bisher literaturbekannten Photovernetzungen von Kolloiden sind auf organische Solvenzien angewiesen. Gleichzeitig sind gerade wässrige Dispersionen von Polymerkolloiden für Produkte wie Dispersionsfarben, Papierveredelungen, etc. von großer industrieller Bedeutung.<sup>[206]</sup>

Daher schien der Versuch attraktiv durch Funktionalisierung mit den beschriebenen Glycothymidinen die Hydrophilie der Oberflächen kolloidaler Partikel soweit zu erhöhen, dass die sterische Stabilisierung der Partikel in Wasser möglich ist. Gleichzeitig sollte die photosensitive Thymidineinheit eine Vernetzung der Kolloide in wässriger Dispersion erlauben. Neben der im Fokus dieser Arbeit stehenden Untersuchung der bakteriellen Adhäsion an die Glykokolloide wurde im Rahmen dieses Kooperationsprojektes auch die Untersuchung der kolloidalen Aggregation in wässriger Dispersion angestrebt. Photovernetzbare Kolloide, die in Wasser sterisch stabilisiert sind, sind bislang nicht bekannt.

### 4.5.1 Synthese und Photovernetzung von Thymidin-funktionalisierten Polystyrolkolloiden

Mit Hilfe einer *seeded growth*-Emulsionspolymerisation wurden von A. ZILLESSEN Polystyrolmikrogele mit einem hydrodynamischen Radius von  $R_H = 464 \pm 28$  nm dargestellt, wobei der Vernetzungsgrad innerhalb der Kolloide auf 1:50 eingestellt wurde. Diese Angabe gibt das molekulare Verhältnis zwischen *p*-Vinylstyrol und Styrol in der Polymerisation an. Der Durchmesser eukaryontischer Zellen liegt im unteren Mikrometerbereich. Damit sind die verwendeten Kolloide in der Größenordnung eukaryontischer Zellen und können in starker Vereinfachung als Zellmimetikum betrachtet werden. Zur Funktionalisierung der PS-Partikel **121** wurde ein im Arbeitskreis BARTSCH<sup>[202]</sup> etabliertes Verfahren genutzt und zunächst eine teilweise Chlormethylierung der Styroleinheiten durchgeführt. Dies eröffnet die Option der Funktionalisierung über eine nucleophile Substitution in benzylicher Position. Zunächst erfolgte auf diese Weise eine Funktionalisierung mit 2'-Desoxythymidin (**1**) über einen nucleophilen Angriff der  $N^3$ -Position der Nucleobase (Abbildung 82). Hierzu wurden die chlormethylierten Polystyrolkolloide **122** zwei Tage in DMF dispergiert, um ein vollständiges Quellen der Kolloide zu erreichen. Aufgrund der Löslichkeit von PS in DMF liegen die Kolloide in Form von gequollenen Mikrogelen vor. Die nucleophile Substitution wurde analog zu den bisherigen Alkylierungen an Thymidin durchgeführt, wobei die Reaktionszeit auf 2 d verlängert wurde. Nicht umgesetztes Thymidin konnte nach der Reaktion durch Zentrifugation abgetrennt und die Thymidin-funktionalisierten Kolloide **123** erhalten werden.

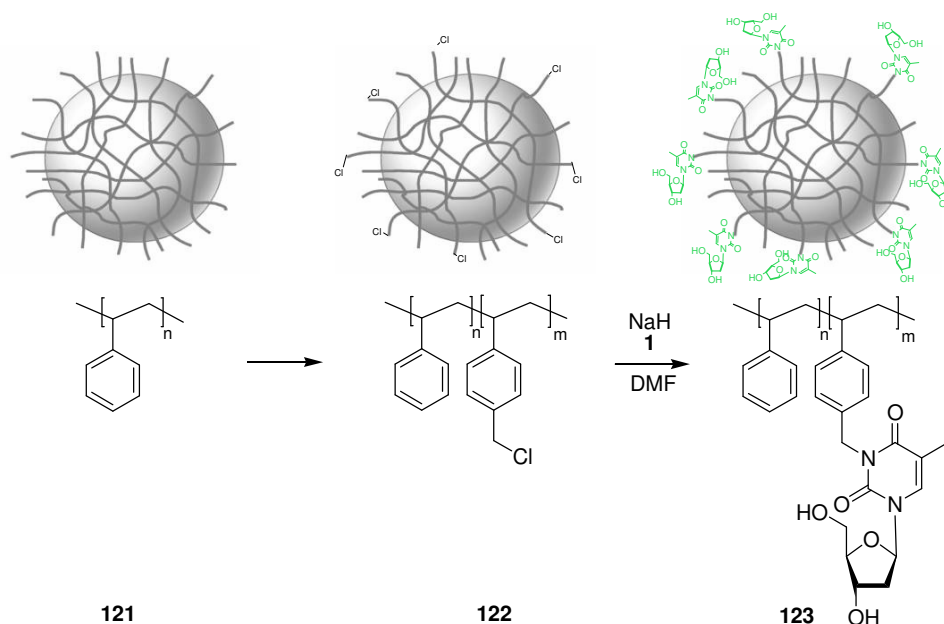
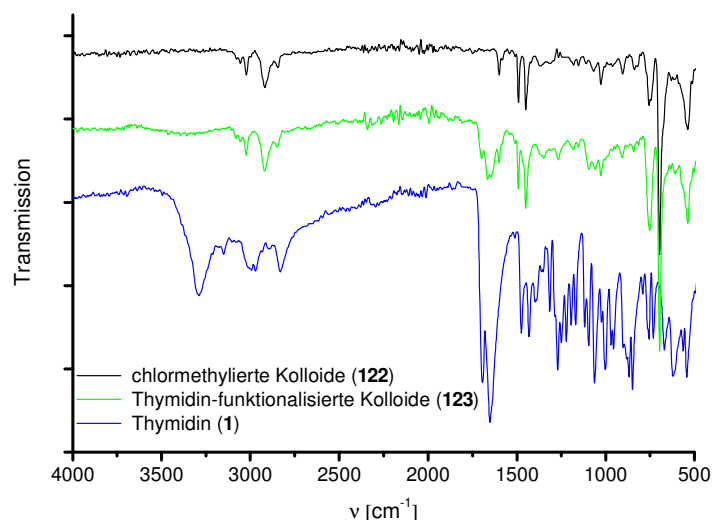


Abbildung 82: Darstellung der Thymidin-funktionalisierten Polystyrolkolloide. Zunächst erfolgte eine Chlormethylierung der Styroleinheiten und anschließend eine nucleophile Substitution des Chlorids durch das Nucleosid **1**.



Der Nachweis der Funktionalisierung erfolgte mittels ATR-IR-Spektroskopie. Ein Vergleich der Spektren der PS-Partikel vor der Funktionalisierung, von molekularem 2'-Desoxythymidin (**1**) und der funktionalisierten Partikeln ist in Abbildung 83 dargestellt. Vor allem anhand der im Bereich um  $\nu \sim 1700$  und  $1650 \text{ cm}^{-1}$  auftretenden C=O-Valenzschwingungen der Carbonylgruppen der Nucleobase ist deutlich der Erfolg der Funktionalisierung zu erkennen. Tabelle 4 stellt die charakteristischen Banden der drei Spezies gegenüber.



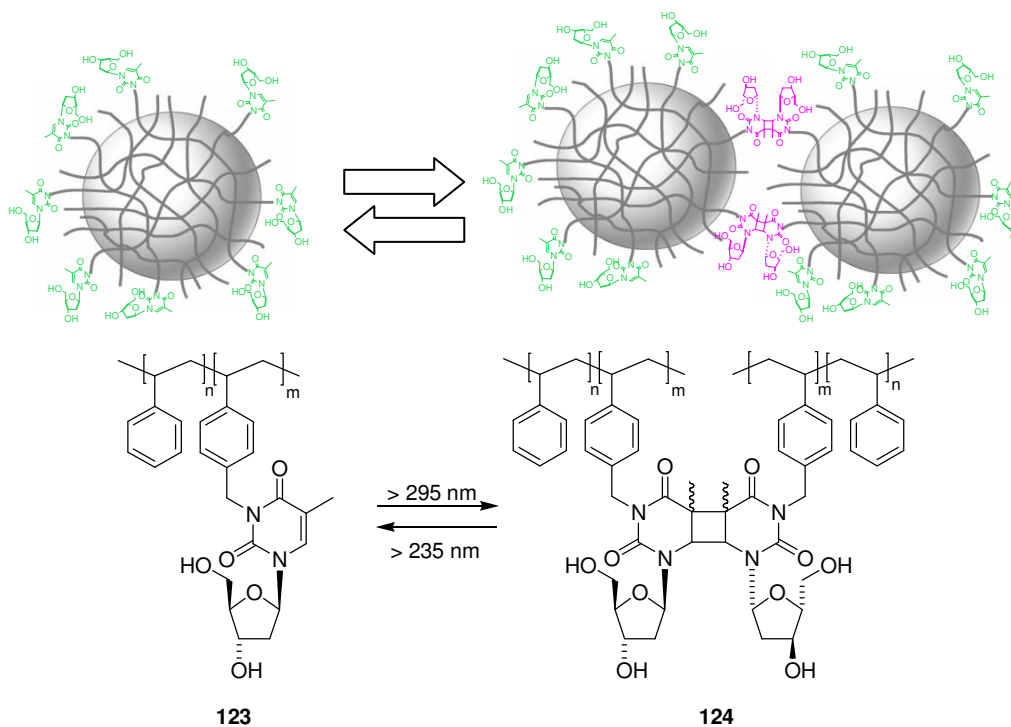
**Abbildung 83: IR-Spektroskopischer Nachweis der Funktionalisierung der Polystyrolmikrogele.**

Schwingung	Ar-H	C=O	C=C ar.	O-H	C-O	C-H ar.
	Valenz	Valenz	Valenz	Deform.	Valenz	Deform.
Chlormethylierte Kolloide ( <b>122</b> )	3024		1600 1490			756
2'-Desoxy-thymidin ( <b>1</b> )		1694 1652		1270	1096 1062	
Funktionalisierte Kolloide ( <b>123</b> )	3024	1698 1664	1600 1492	1270	1098 1059	752

**Tabelle 4: Vergleich der charakteristischen IR-aktiven Schwingungen der chlormethylierten Polystyrol-Kolloide, des 2'-Desoxythymidins und der Kolloide nach der Funktionalisierung.**

Es zeigte sich, dass alleine durch die Funktionalisierung der Partikel mit Thymidin die Hydrophilie der Oberfläche nicht ausreichte, um eine sterisch stabilisierte Dispersion der Partikel in Wasser zu erreichen. Daher wurde zunächst die Vernetzbarkeit solcher Thymidin-funktionalisierten Partikel **123** durch Belichtung im Feststoff untersucht. Hierzu wurden gefriergetrocknete Proben der funktionalisierten Kolloide für 8 h mit einer

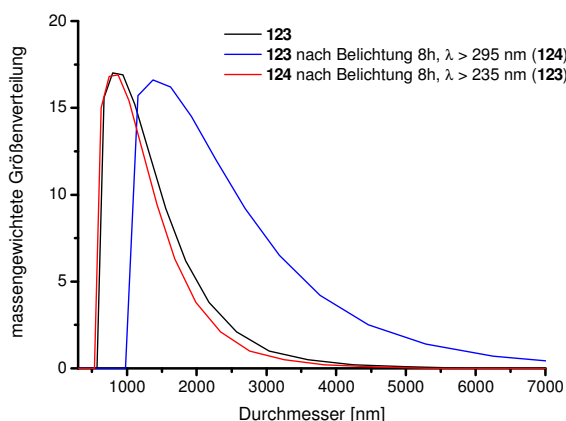
Quecksilberhochdrucklampe mit  $\lambda > 295$  nm unter Zusatz von Aceton als Sensitizer bestrahlt. Eine photoinduzierte Dimerisierung der Thymidineinheiten kann hierbei grundsätzlich sowohl interpartikular als auch intrapartikular erfolgen. Während über die Dimerisierung innerhalb eines Partikels keine Aussage möglich war, konnte die interpartikulare Vernetzung der Partikel mit Hilfe dynamischer Lichtstreuung (DLS) verfolgt werden. In Abbildung 84 ist schematisch die Photovernetzung der Thymidin-funktionalisierten Partikel dargestellt.



**Abbildung 84:** Schematische Darstellung der interpartikularen Photovernetzung der Thymidin-funktionalisierten Kolloide. Die Darstellung oben symbolisiert den Mikrogelcharakter der Kolloide mit den so genannten *dangling ends*.

Es wurde jeweils vor und nach der Belichtung der Partikeldurchmesser in THF als Lösungsmittel durch dynamische Lichtstreuung bestimmt. Dabei wurde in einem festen Winkel von  $90^\circ$  bei konstanter Temperatur von  $25^\circ\text{C}$  gemessen und die Verteilung der Größen relativ zur Masse berechnet. Abbildung 85 zeigt die graphische Darstellung der Größenverteilung vor und nach der Cycloaddition. Es ist deutlich zu erkennen, dass der mittlere Partikeldurchmesser in Folge der Belichtung signifikant zugenommen hat. Die vernetzten Partikel wurden anschließend einer weiteren Belichtung, diesmal ohne Filter, mit  $\lambda > 235$  nm unterzogen. Das Absorptionsmaximum dimerer Thyminderivate liegt bei ca.  $240$  nm und eine Bestrahlung im Bereich dieser Wellenlängen bewirkt die Cycloreversion der Cyclobutanderivate. Bei einer Bestrahlung über den gesamten Spektralbereich der Quecksilberdampfampe wäre die Einstellung eines photostationären Gleichgewichtes zu erwarten. Da die mit DLS bestimmte Größenverteilung nach der zweiten Belichtung der

ursprünglichen Verteilung entsprach, war davon auszugehen, dass das Gleichgewicht auf der Seite der Cycloreversionsprodukte lag.



**Abbildung 85:** Die Photovernetzung Thymidin-funktionalisierter Polystyrol-Partikel wurde mit Hilfe dynamischer Lichtstreuung (DLS) verfolgt. Nach einer Belichtung von 123 mit  $\lambda > 295$  nm nimmt die mittlere Größe der Partikel aufgrund der Photovernetzung deutlich zu (124, blau). Nach anschließender Belichtung mit  $\lambda > 235$  nm, die die Cycloreversion katalysiert, entspricht die Größenverteilung wieder der in der ursprünglichen Dispersion (123, rot).

Die Dimerisierung von Thymidin erfolgt im Feststoff wie auch in immobilisierter Form aus dem Singulett-Zustand. Daher wurde die Belichtung der Partikel auch in Abwesenheit eines Sensitizers durchgeführt. Dies führte zwar ebenfalls zu einer Vergrößerung der gemessenen Partikelgrößen, jedoch war die Zunahme in diesem Fall deutlich kleiner. Die Ergebnisse der DLS beider Belichtungsexperimente sind in Tabelle 5 dargestellt. Die Angaben in Prozent beziehen sich auf den Massenanteil, der unterhalb des angegebenen Durchmessers liegt.

Partikel	Partikelgröße [nm]		
	10 %	50 %	90 %
Glycothymidin-Partikel <b>123</b>	634	947	1726
<b>123</b> nach 8 h Bel. ( $\lambda > 295$ nm) ( <b>124</b> ) ohne Aceton	900	1320	2582
mit Aceton	1092	1654	3132
<b>124</b> nach 8 h Bel. ( $\lambda > 235$ nm)	596	886	1586

**Tabelle 5:** Größenverteilungen der Thymidin-funktionalisierten Kolloide vor und nach Belichtungen mit geeigneten Wellenlängen. Die Angaben in Prozent beziehen sich auf den Massenanteil der unterhalb des angegebenen Durchmessers liegt.

## 4.5.2 Synthese und Photovernetzung von Glycothymidin-funktionalisierten Polystyrolkolloiden

Die aus den Ergebnissen für die Thymidin-funktionalisierten Kolloide gewonnenen Erkenntnisse sollten dazu genutzt werden eine analoge Funktionalisierung von PS-Partikeln mit Glycothymidinen zu erzielen. Auf diesem Wege könnte, bedingt durch die hohe Hydrophilie der Kohlenhydrate, die Darstellung und Untersuchung eines Systems in wässriger Dispersion ermöglicht werden. Als Glycothymidin wurde das triazolverknüpfte Derivat **57** gewählt. Die Synthese der Glycokolloide ist schematisch in Abbildung 86 dargestellt. **57** wurde unter den für eine *N*-Alkylierung entwickelten Bedingungen in DMF mit Hilfe einer starken Base an der Imidfunktion deprotoniert und mit dem gequollenen chlormethylierten Mikrogel umgesetzt. Eine zweitägige Reaktionszeit führte zu der gewünschten Funktionalisierung der Kolloide. Nicht umgesetztes Glycothymidin konnte nach der Reaktion durch Zentrifugation abgetrennt werden. Die anschließende Deacetylierung unter Zemplén-Bedingungen konnte auch auf der Partikeloberfläche erfolgreich durchgeführt werden. Abschließend erfolgte eine Reinigung der Partikel durch mehrmaliges Waschen mit Methanol und Wasser sowie durch Dialyse. Nach der Gefriertrocknung waren die glycosylierten Kolloide **126** in Wasser dispergierbar und ließen sich weder durch Einfrieren und Auftauen noch durch Zugabe von Calciumchlorid zur Aggregation bringen. Die durch die Mannose bedingte Hydrophilie der Partikeloberfläche reichte demnach aus, um die Kolloide sterisch stabilisiert in Wasser zu dispergieren.

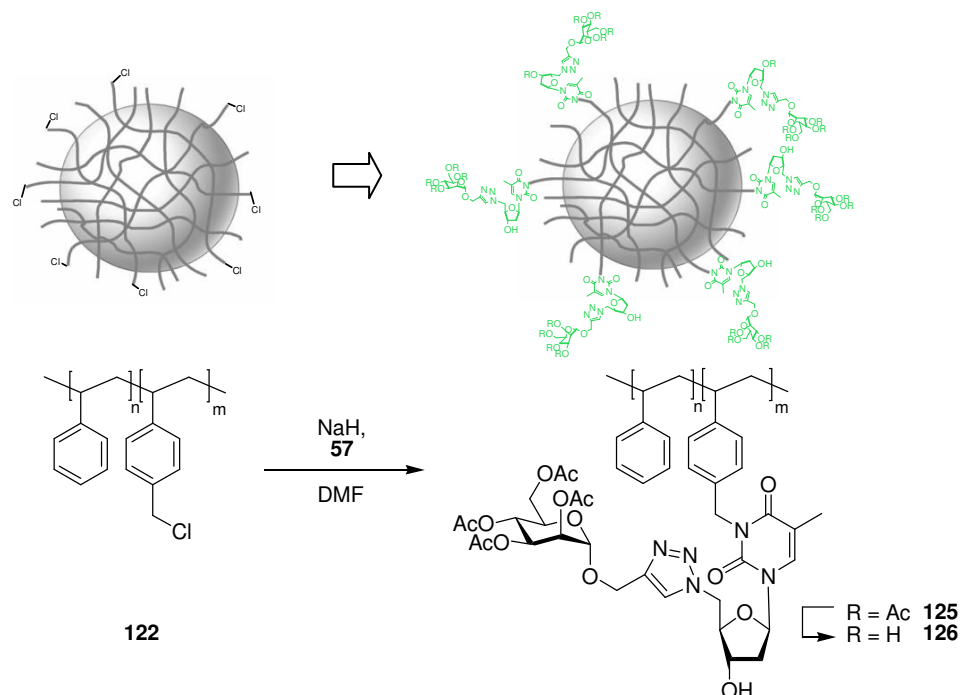
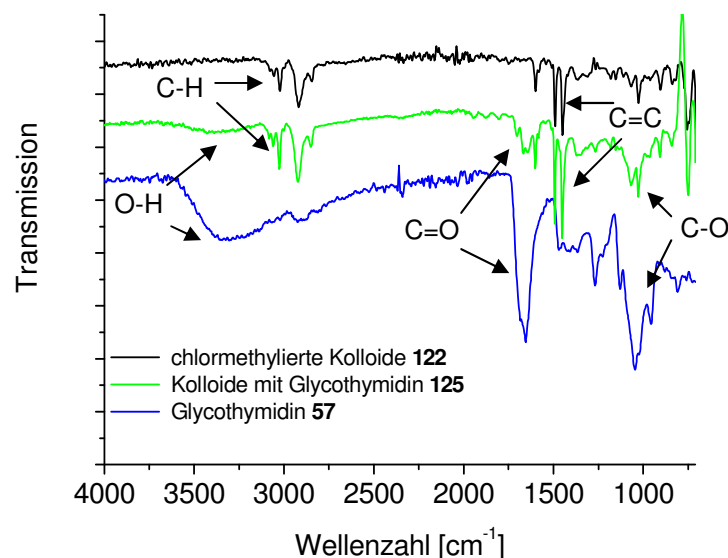


Abbildung 86: Darstellung der photosensitiven Glycokolloide durch Umsetzung der chlormethylierten PS-Kolloide mit triazolverknüpftem Glycothymidin **57** in einer nucleophilen Substitution.

Der Nachweis der Funktionalisierung erfolgte erneut durch ATR-IR-Spektroskopie. Abbildung 87 zeigt den Vergleich der Spektren der chlormethylierten Kolloide **122**, der funktionalisierten Kolloide **125**, sowie des reinen Glycothymidins **57**.



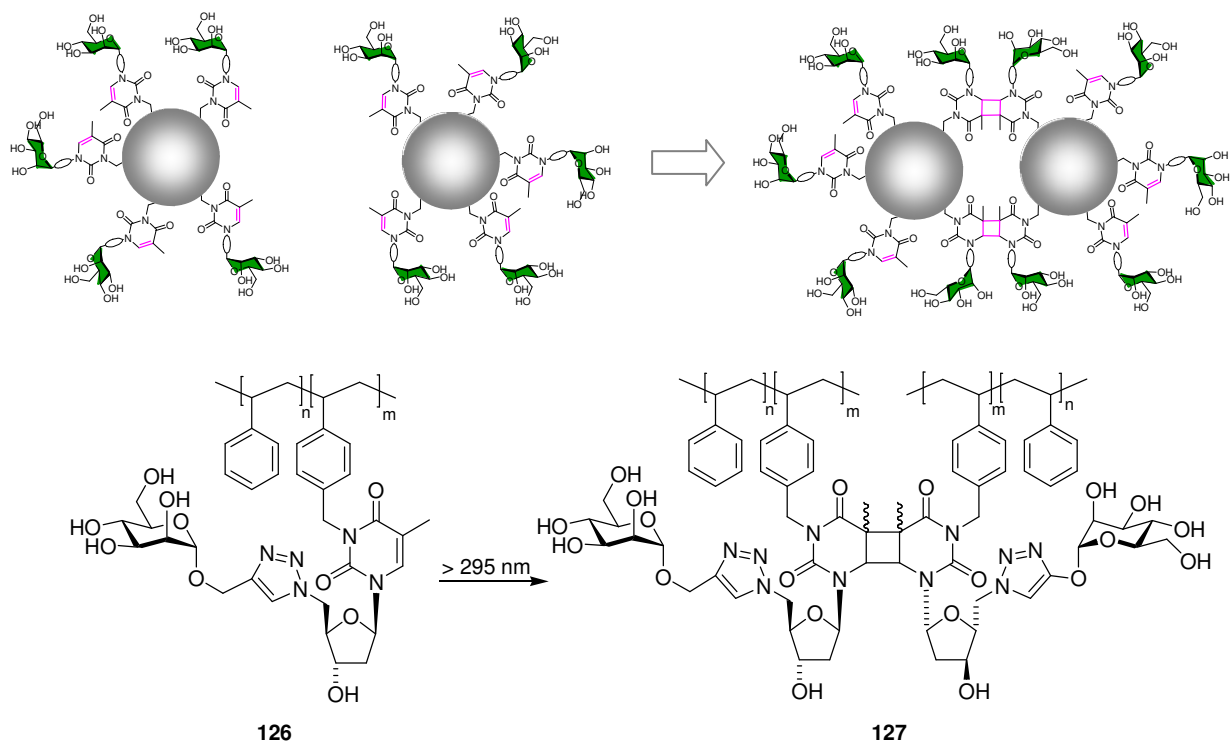
**Abbildung 87:** Vergleich der IR-Spektren der chlormethylierten Kolloide **122**, des Glycothymidins **57** und der funktionalisierten Kolloide **125**.

Im Spektrum der unfunktionalisierten Kolloide, welches identisch mit dem von Polystyrol ist, sind als signifikante Banden die der CH-Valenzschwingungen bei  $\sim 3000 \text{ cm}^{-1}$  und die der C=C-Valenzschwingungen bei  $1490 \text{ cm}^{-1}$  und  $1450 \text{ cm}^{-1}$  zu erkennen. Diese Banden finden sich auch im Spektrum der funktionalisierten Kolloide wieder. Das Spektrum des Glycothymidins **57** zeigt die charakteristischen Banden der O-H-Valenzschwingung bei  $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$  (sehr breite Bande), der C=O-Valenzschwingung der Carbonylgruppen in der Nucleobase bei  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$  sowie die Schwingungen der C-O-Gruppen bei  $1160\text{-}920 \text{ cm}^{-1}$ . Alle drei Banden sind ebenfalls im Spektrum der funktionalisierten Kolloide zu erkennen. Somit konnte durch IR-Spektroskopie die Funktionalisierung der chlormethylierten PS-Kolloide **122** mit dem Mannosylthymidin **57** nachgewiesen werden.

Durch Elementaranalyse der entschützten Kolloide **126** konnte über den Stickstoffgehalt der Probe der Grad der Funktionalisierung bestimmt werden. Demnach belief sich die Funktionalisierung mit Mannosylthymidin auf 12.9 % (w/w), was einem molaren Verhältnis von 2.5 mol% entspricht. Bezogen auf einzelne Partikel bedeutet dies, dass jedes Kolloid mit  $1.07 \cdot 10^6$  Glycothymidinmolekülen bestückt ist. Unter der Annahme, dass die Funktionalisierung im Wesentlichen auf der Oberfläche der Kolloide erfolgt ist, resultiert

daraus ein Bedeckungsgrad von ca. 2 Einheiten pro  $\text{nm}^2$ . Damit ist in Anbetracht der Größe der aufgefropften Moleküle die Belegungsdichte relativ hoch.

Durch die Funktionalisierung der Oberfläche von PS-Kolloiden konnte die sterische Stabilisierung der Kolloide in Wasser erzielt werden. Analog zur Photovernetzung von Thymidin-Kolloiden führte auch eine Belichtung der Glycothymidin-Kolloide im Feststoff erwartungsgemäß zu einer Vergrößerung der hydrodynamischen Radien. Als nächstes konnte daher die eigentliche Fragestellung einer möglichen Photovernetzung der dargestellten Glycothymidinkolloide in wässriger Dispersion untersucht werden. Die geplante Photovernetzung der glycosylierten Kolloide ist schematisch in Abbildung 88 dargestellt.



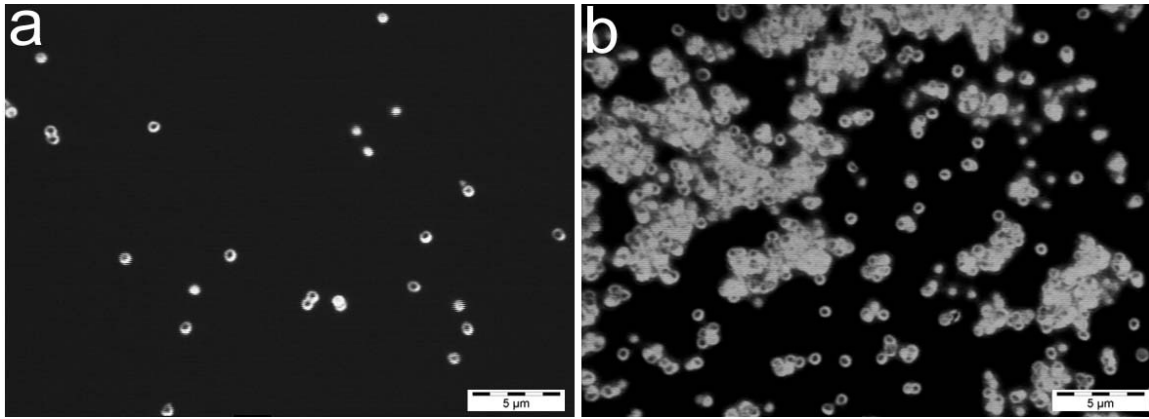
**Abbildung 88:** Schematische Darstellung der photoinduzierten Vernetzung der Glycothymidin-Kolloide 126. Durch die gegenüber Abbildung 86 veränderte schematische Darstellung der Partikel wird hier deutlich gemacht, dass die PS-Partikel in dem gewählten Lösungsmittel, in diesem Fall Wasser, aufgrund der Unlöslichkeit von Polystyrol nicht mehr quellen. Daher handelt es sich nicht mehr um Mikrogele und der hydrodynamische Radius ist dementsprechend kleiner.

Versuche mit Coumarin-funktionalisierten Partikeln (A. ZILLESSEN) hatten zuvor gezeigt, dass diese im Feststoff photovernetzbar sind. Partikel in einer Dispersion nicht ohne attraktive Kräfte zwischen den Kolloiden durch eine Bestrahlung vernetzt werden konnten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die Kolloide sich in einer Dispersion aufgrund ihrer sterischen Stabilisierung abstoßen. Die Partikel kommen demnach nur bei diffusionsbedingten Stößen kurz in Kontakt. Diese Kontaktzeit ist so gering, dass die Photoreaktion nicht ablaufen kann. Um eine Verlängerung der Kontaktzeiten der Partikel zu erreichen, wurde der so genannte

*depletion*-Effekt ausgenutzt. Mit Hilfe dieses Effektes können kurzreichweitige, schwache attraktive Kräfte in einer kolloidalen Dispersion erzeugt werden. Diese *depletion*-Attraktion wird durch die Zugabe eines linearen Polymers zu einer kolloidalen Dispersion bewirkt. AASAKURA und OSAWA<sup>[207]</sup> sowie VRIJ<sup>[208]</sup> entwickelten ein Modell zum Verständnis dieser Attraktion. Nach diesem Modell bewirkt die Zugabe von freiem Polymer eine Erhöhung des osmotischen Drucks auf die Kolloide. Wird der Abstand zwischen zwei Kolloiden diffusionsbedingt sehr gering, befindet sich kein freies Polymer mehr zwischen den Kolloiden und der osmotische Druck ist demnach zwischen den Kolloiden nicht mehr erhöht. Somit bewirkt das beide Kolloide umgebende Polymer auf den Außenseiten, dass die Partikel zusammengedrückt werden und sich dadurch ihre Kontaktzeiten verlängern. Der osmotische Druck des zugesetzten freien Polymers führt also faktisch zu einer attraktiven Kraft zwischen den Partikeln. Diese Kraft ist allerdings meist nicht so stark, dass es zur Aggregation kommt, sondern lediglich die Kontaktzeiten zwischen den Partikeln verlängert werden.

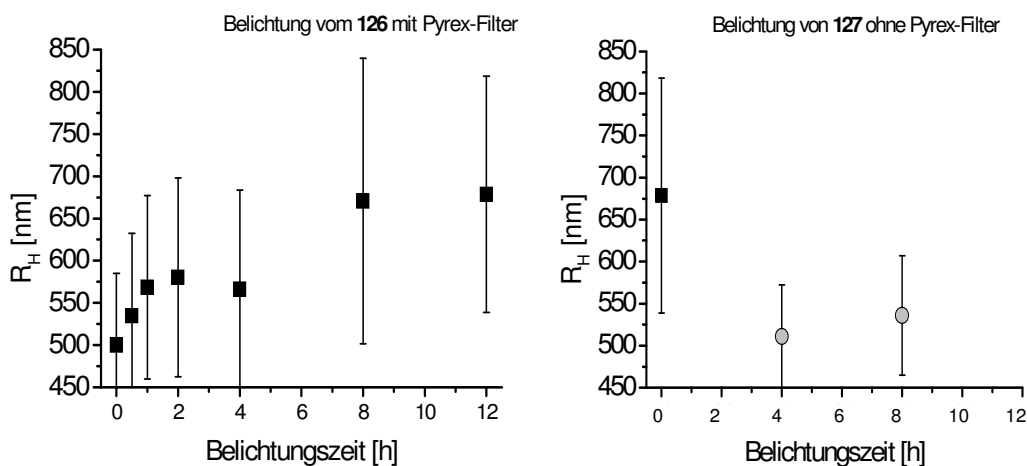
Zur Photovernetzung der Glycokolloide in wässriger Dispersion wurde mit Polyethylenglycol (PEG) ( $M_n = 191\,000\text{ g/mol}$ ,  $M_w = 220\,000\text{ g/mol}$ ,  $M_w/M_n = 1.16$ ) ein wasserlösliches lineares Polymer als *depletion agent* zugesetzt. Während der Probenvorbereitung für die Photovernetzung ergaben sich experimentelle Schwierigkeiten bei der Darstellung einer ausreichend konzentrierten Dispersion. Daher wurde zunächst eine Dispersion mit einem Volumenbruch (anteiliges Volumen einer Komponente an der Summe der Volumina aller Komponenten) von  $\Phi = 0.1 - 0.2$  dargestellt, die anschließend durch Zentrifugation aufkonzentriert wurde. Auf diesem Weg wurde eine Dispersion mit einem Volumenbruch von 0.4 und einem PEG-Gehalt von 33 g/L dargestellt. Unter diesen Bedingungen konnte erfolgreich eine Photovernetzung der Glycokolloide durchgeführt werden. Für die Belichtung wurde eine breitbandige Quecksilberdampfampe mit  $\lambda_{\max} = 254\text{ nm}$  und ein Filter aus Pyrex®-Glas verwendet.

Mikroskopische Aufnahmen der Dispersionen vor und nach der Belichtung sind in Abbildung 89 dargestellt. Die Photovernetzung der Kolloide ist hier deutlich erkennbar. Während die Partikel vor der Belichtung in einer monodispersen Form vorlagen, konnte nach der Belichtung die Bildung großer Aggregate beobachtet werden.



**Abbildung 89:** Optische Mikroskopie-Aufnahmen der kolloidalen Dispersionen. a) vor einer Belichtung; b) nach 8 h Belichtung unter Zusatz von PEG als depletion agent (33 g/L) und einem Volumenbruch der Kolloide  $\Phi \approx 0.4$ .

Die mit Hilfe optischer Mikroskopie qualitativ nachgewiesene Photovernetzung wurde durch dynamische Lichtstreuung (DLS) quantitativ untersucht. In Abbildung 90 ist der Verlauf der aus den DLS-Messungen ermittelten hydrodynamischen Radien der Kolloide mit zunehmender Belichtungszeit dargestellt.

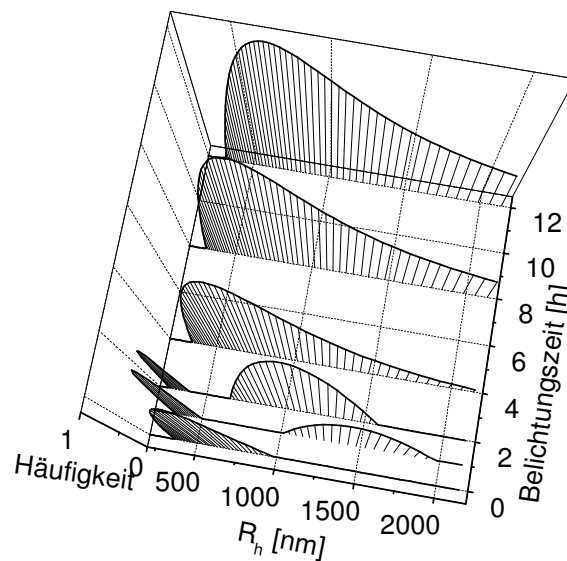


**Abbildung 90:** Verlauf der mittels DLS bestimmten  $R_H$  der Glykokolloide 126. Die Belichtung erfolgte in wässriger Dispersion ( $\Phi \approx 0.4$ ,  $c_{\text{PEG}} = 33 \text{ g/L}$ ) mit einer Quecksilberdampf Lampe. Für die Cycloaddition wurde ein Pyrex-Filter verwendet, für die Cycloreversion wurde anschließend ohne Filter belichtet. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung gemittelt über 6 Winkel wieder.

Vor der Belichtung wurde für die Glykokolloide ein hydrodynamischer Radius  $R_H \sim 500 \text{ nm}$  gemessen. Innerhalb der ersten zwei Stunden war ein rascher und signifikanter Anstieg der hydrodynamischen Radien auf ca. 600 nm zu beobachten. Anschließend nahm im Verlauf zunehmender Belichtungszeit die Geschwindigkeit der Vernetzung ab, bis nach ca. 8-12 h eine Sättigung bei einem hydrodynamischen Radius von ca. 700 nm erreicht wurde. Die Vernetzung der Kolloide in wässriger Dispersion konnte somit unter Zusatz eines *depletion agent* erfolgreich durchgeführt werden. Eine Belichtung der aggregierten, kovalent vernetzten



Kolloide ohne Pyrex®-Filter führte bereits nach 4 h wieder zu monodispersen Kolloiden mit dem ursprünglichen hydrodynamischen Radius von  $R_H \sim 500$  nm. Die photosensitiven Glycokolloide sind somit vollständig reversibel in wässriger Dispersion photovernetzbar. Bei einer durch A. ZILLESSEN durchgeführten CONTIN-Analyse der DLS-Messungen der Photovernetzung wurden die in Abbildung 91 dargestellten Teilchengrößenverteilungen in Abhängigkeit der Belichtungszeit erhalten. (Eine CONTIN-Analyse ist ein mathematisches Verfahren zur Analyse von DLS-Messungen). Die Analysen zeigen, dass nach kurzen Belichtungszeiten eine bimodale Teilchengrößenverteilung zu beobachten ist. Neben der ursprünglichen Verteilung der Partikel entsteht eine zweite Bande im Mikrometerbereich, die mit steigender Belichtungszeit zunimmt. Nach einer Belichtungszeit von ca. 4 h verschmelzen diese beiden Banden zu einer kontinuierlichen asymmetrischen Verteilung der hydrodynamischen Radien. Die Vernetzung erfolgt also nicht durch die Kollision und Photoreaktion einzelner Partikel, sondern durch die Bildung größerer Cluster, die durch die Photoreaktion „eingefroren“ werden.<sup>[209, 210]</sup> Dieser Verlauf der Teilchengrößenverteilungen wurde bereits für die mit Coumarin funktionalisierten Kolloide bei einer Vernetzung in Benzol beobachtet.<sup>[202]</sup>



**Abbildung 91: CONTIN-Analyse der DLS-Messungen im Verlauf der Belichtung.**

Das Auftreten der bimodalen Teilchengrößenverteilung nach kurzen Belichtungszeiten zeigt, dass auch in Wasser mit PEG als *depletion agent* dynamische Heterogenitäten vor dem Gelübergang vorliegen. Dies ist der durch zunehmende attraktive Kräfte zwischen den Kolloiden bedingte Übergang von der Dispersion zum Gel. Bislang ist über das Phasenverhalten von sterisch stabilisierten Dispersionen in Wasser wenig beschrieben, so dass ein Vergleich mit analogen Systemen derzeit nicht möglich ist. Das beschriebene System

stellt einen interessanten Ausgangspunkt für die Untersuchung des Gelübergangs und des Phasenverhaltens von sterisch stabilisierten Kolloiden in Wasser dar.

#### 4.5.3 Wechselwirkung von Glykokolloiden mit Typ-1-fimbrierten *E.coli*

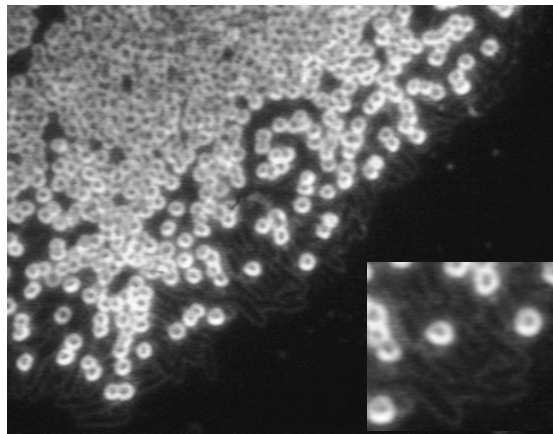
Die dargestellten Glykokolloide wurden neben ihrer Photovernetzung in wässriger Dispersion auch hinsichtlich ihrer Funktion als Mimetika glycosylierter Zellen untersucht. Die in den Kapiteln 4.1 und 4.2 beschriebenen Glycothymidine erwiesen sich als geeignete Systeme, um die Adhäsionseigenschaften einer glycosylierten Oberfläche zu verändern. Diese Untersuchung sollte auf photosensitive Glykokolloide übertragen werden. Es war davon auszugehen, dass durch die Funktionalisierung der Kolloide mit  $\alpha$ -Mannosyl-Einheiten eine Adhäsion von Typ-1-fimbrierten *E. coli* an die glycosylierten Kolloide erfolgt. Zur Untersuchung einer solchen Interaktion wurde in einem ersten Experiment eine verdünnte Suspension der Bakterien in PBS-Puffer zu einer verdünnten Dispersion der Glykokolloide **126** in Wasser gegeben. Schon nach wenigen Sekunden war die Bildung makroskopischer Aggregate zu beobachten, während sich gleichzeitig die Trübung der Lösung verringerte. Diese Aggregatbildung ist in Abbildung 92 gezeigt.



**Abbildung 92:** Links: verdünnte Suspension der Bakterien (2 mg/mL); Mitte: Mischung der Bakterienlösung mit der kolloidalen Dispersion; rechts: verdünnte Dispersion der Glykokolloide.

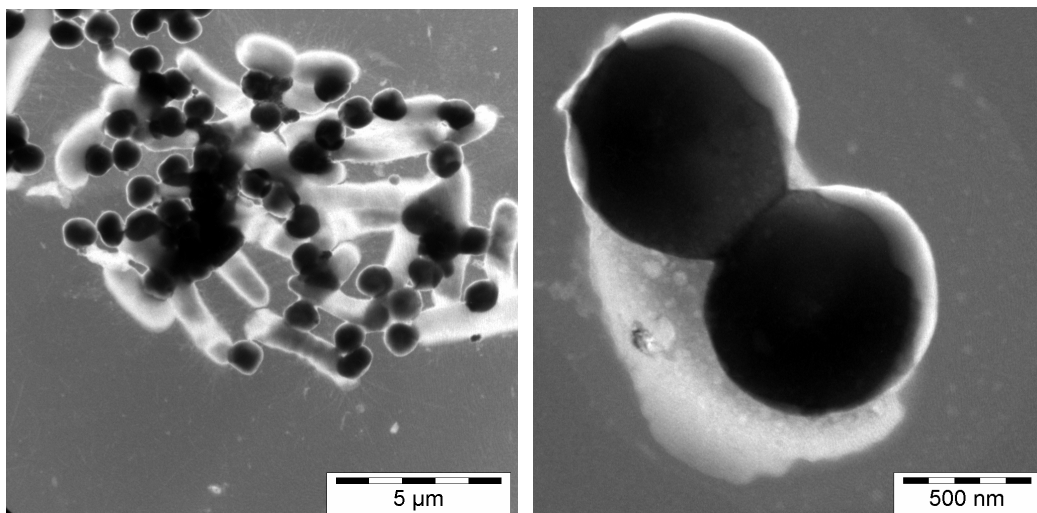
Eine Untersuchung der Aggregatbildung bei verschiedenen Kolloidkonzentrationen zeigte, dass die Aggregation konzentrationsabhängig war. Unter Verwendung einer Bakterienlösung mit einer Konzentration von 1 mg/mL und einer Partikelkonzentration von 2 mg/mL wurde die Bildung sehr großer Aggregate beobachtet. Wurde die Kolloidkonzentration verringert, war auch eine Abnahme der Aggregatgröße zu beobachten, bis schließlich unterhalb einer Kolloid-Konzentration von ca. 0.07 mg/mL keine Aggregation mit bloßem Auge mehr erkennbar war. Durch eine Elementaranalyse wurde bestimmt, dass die Glykokolloide ca.  $10^6$  Kopien des für das bakterielle Lektin FimH spezifischen Liganden Mannose auf ihrer

Oberfläche tragen. Es war daher davon auszugehen, dass die Aggregation aus der spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Interaktion zwischen den mannosylierten Kolloiden und dem bakteriellen Lektin FimH der *E. coli* resultiert. Um die Struktur der Aggregate genauer zu untersuchen, wurde die Probe mittels optischer Mikroskopie und nach Trocknung mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) untersucht. Abbildung 93 zeigt die optische Mikroskopieaufnahme eines der Aggregate. Es sind deutlich die stäbchenförmigen *E. coli* Bakterien (dunkelgrau) und die sphärischen PS-Partikel (hell) zu erkennen. Bei der mikroskopischen Betrachtung wurde festgestellt, dass die meisten Aggregate sehr groß waren.



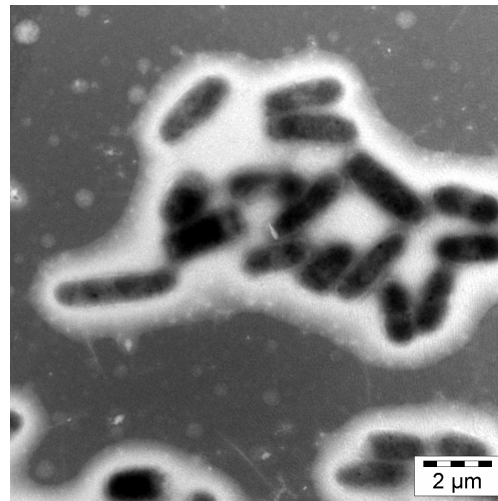
**Abbildung 93: Optische Mikroskopie-Aufnahme eines großen Aggregates aus *E. coli* und Glycokolloiden.**

Eine Untersuchung mittels Transmissionselektronenmikroskopie erlaubte eine detailliertere Betrachtung der Aggregate. Die Aufnahmen sind in Abbildung 94 dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Partikel bei der Aggregatbildung sowohl an den Seiten als auch an den Spitzen der stäbchenförmigen Bakterien binden und so die Bildung größerer Netzwerke verursachen (Abbildung 94, links). Nur in geringem Maß sind einzelne Bakterien mit gebundenen Kolloiden zu finden (Abbildung 94, rechts).



**Abbildung 94: TEM-Aufnahmen der Kolloid-Bakterien-Netzwerke.**

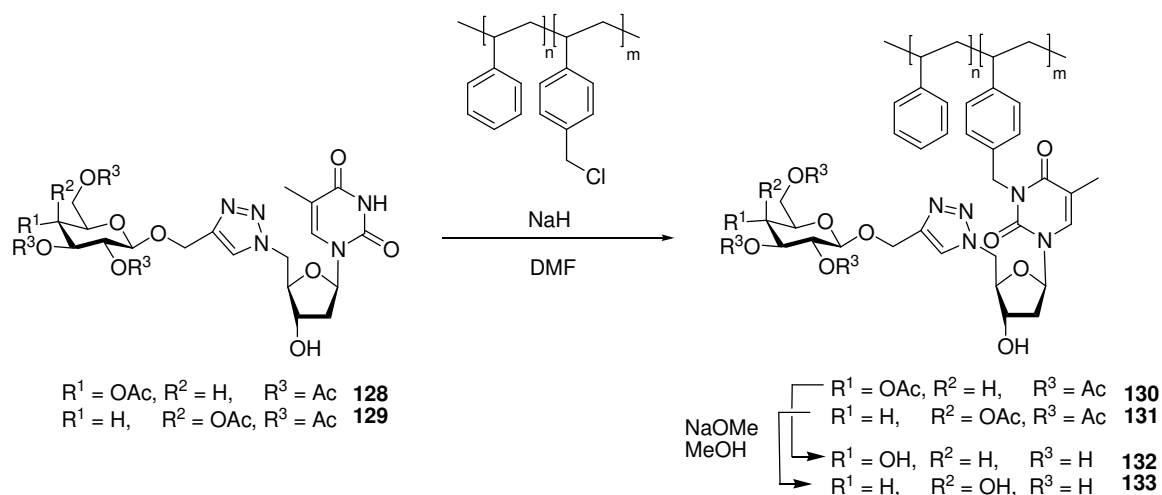
Ein weiteres interessantes Phänomen, welches bei der Untersuchung einer anderen Probe beobachtet werden konnte, ist in Abbildung 95 dargestellt. In diesem Fall sind keine einzelnen Kolloide mehr erkennbar. Stattdessen war eine Art Filmbildung um die Bakterien zu beobachten. Es konnte jedoch nicht festgestellt werden, ob diese Schicht auf einer Verfilmung der Kolloide durch die Bakterien zurückzuführen war. Auch die Zusammensetzung dieses Films konnte nicht geklärt werden.



**Abbildung 95: TEM-Aufnahme der beobachteten Filmbildung auf den Bakterien.**

Die durchgeführten Aggregationsversuche und mikroskopischen Untersuchungen der Aggregate bestätigten die vorhergesagte Affinität der glycosylierten Kolloide gegenüber Typ-1-fimbrierten *E. coli*. Ob es sich bei dieser Interaktion um eine spezifische Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung handelt oder um die unspezifische Adhäsion der Bakterien an das Polystyrol,<sup>[211]</sup> musste nachgewiesen werden. Hierzu wurden Negativkontrollen der Kolloide synthetisiert, die anstelle des für FimH spezifischen Liganden  $\alpha$ -D-Mannose, die epimeren Kohlenhydrate  $\beta$ -D-Glucose und  $\beta$ -D-Galactose trugen. Die Synthese erfolgte analog zur Darstellung der Mannosyl-Kolloide und ist in Abbildung 96 dargestellt.

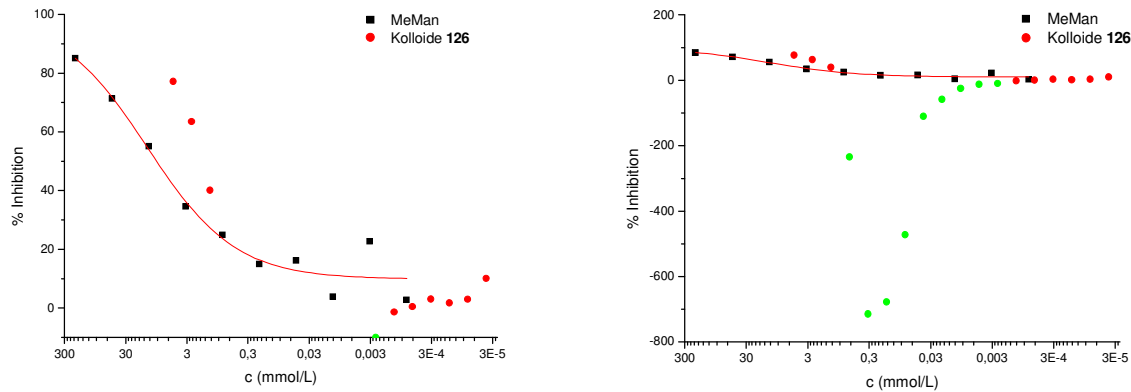
Aggregationsversuche mit den drei kolloidalen Dispersionen von **126**, **132** und **133** zeigten, dass für die Glucose-Kolloide noch eine sehr geringe Tendenz zur Aggregatbildung vorhanden war. Für die Galactosepartikel wurde hingegen bei keiner der getesteten Konzentrationen eine Aggregation der Bakterien beobachtet. Diese Untersuchungen bestätigten, dass die Aggregation auf der spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung zwischen den  $\alpha$ -D-Mannosiden der Kolloide und dem bakteriellen Lektin FimH beruht.



**Abbildung 96:** Darstellung der Negativkontrollen zur Untersuchung der Spezifität der Bakterien-Partikel-Interaktion. Als Kontrollsubstanzen für die Funktionalisierung wurden die  $\beta$ -analogen Glucose- und Galactosederivate gewählt.

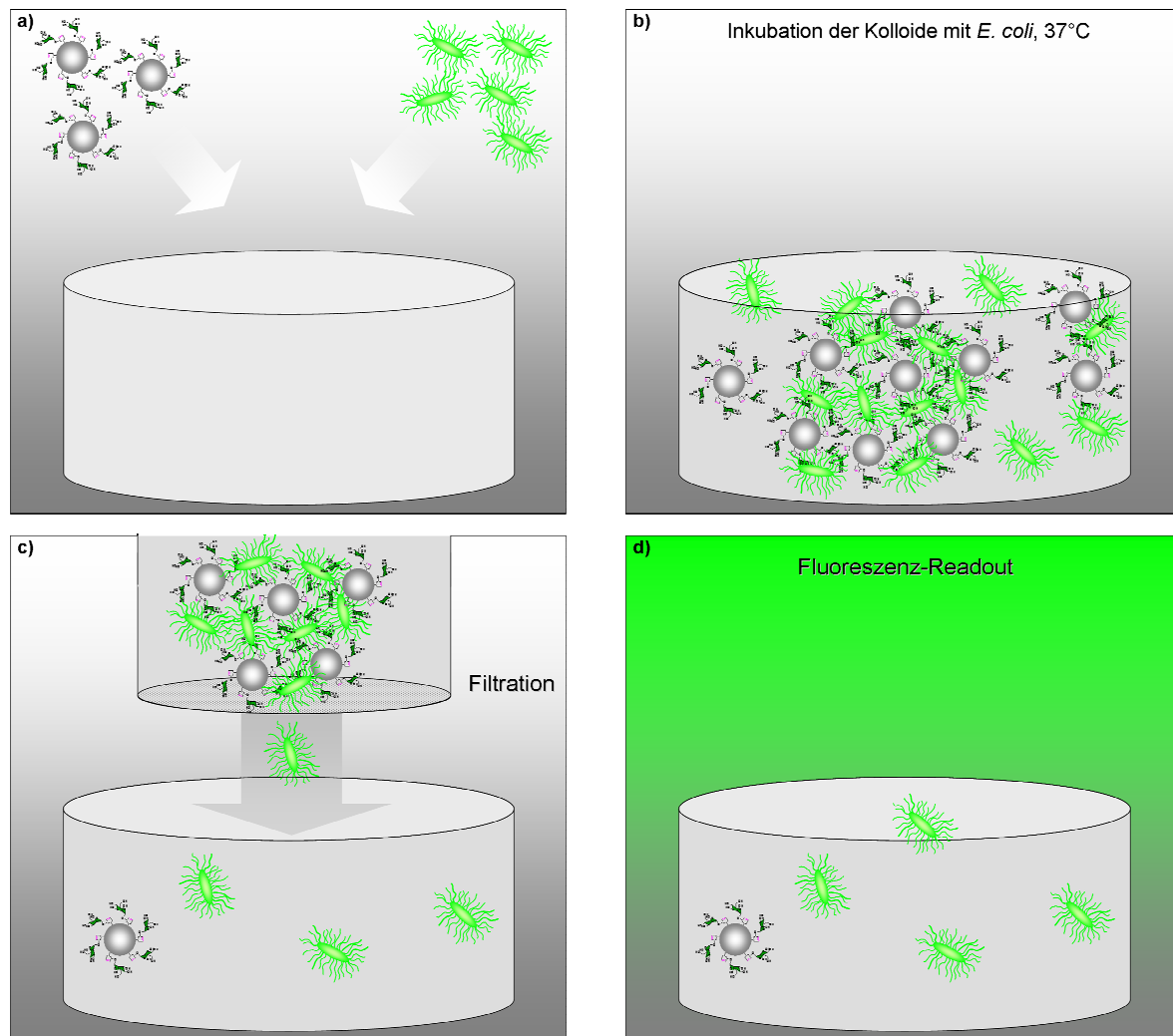
Zur Quantifizierung der Affinität der Glykokolloide gegenüber dem Lektin FimH sollte zunächst über den einfachen GFP-Assay (Abschnitt 4.1) die inhibitorische Potenz der Glykokolloide festgestellt werden. Die Tendenz der Kolloide zur Ausbildung von Netzwerken verhindert jedoch eine herkömmliche Auswertung dieses Tests. Die aus dem Test erhaltenen Inhibitionskurven sind in Abbildung 97 dargestellt. Die Abbildung links zeigt die Inhibitionskurve für den Standardinhibitor MeMan sowie die zwischen 0 und 100 % fallenden Werte der prozentualen Inhibition für die Glykokolloide. Rechts sind dieselben Inhibitionskurven mit einer für alle erhaltenen Werte angepassten Skalierung der y-Achse dargestellt. Bei hohen Kolloidkonzentrationen verläuft die Inhibitionskurve der Kolloide normal und auch bei niedrigen Konzentrationen nähert sie sich erwartungsgemäß asymptotisch dem Wert für 0% Inhibition an. In einem breiten Konzentrationsbereich liefern die gemessenen Fluoreszenzwerte rechnerisch allerdings negative Werte für die prozentuale Inhibition. Dies bedeutet, dass die Glykokolloide die bakterielle Adhäsion an die Mikrotiterplatte in diesem Konzentrationsbereich verstärken, statt sie zu inhibieren. Der Grund ist auch hier die durch die hohe Multivalenz bedingte Aggregation. Bei hohen Glykokolloid-Konzentrationen waren vermutlich die Fimbrien aller Bakterien durch die Bindung an Kolloide abgesättigt, so dass keine Adhäsion an die Platte mehr erfolgen konnte. Bei geringeren Kolloid-Konzentrationen ist anzunehmen, dass an einige Fimbrien der Bakterien Kolloide gebunden waren und andere noch zur Bindung an die Oberfläche zur Verfügung standen. Auf diese Weise wurden die Glykokolloide über die bakterielle Bindung auf der Oberfläche immobilisiert. Dies führte dazu, dass weitere Mannose-Liganden in Form der Glykokolloide auf der Oberfläche exponiert wurden und somit wiederum eine zusätzliche

Bindung von Bakterien ermöglicht wurde. Die fluoreszierenden *E. coli* konnten auf diese Weise quasi in mehreren Schichten an die Oberfläche gebunden werden. Im Prinzip findet auch hier eine Bildung von Aggregaten statt, die über Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen zusätzlich an die Mikrotiterplatte gebunden sind.



**Abbildung 97:** Versuch zur Bestimmung der inhibitorischen Potenz der Glycokolloide 126 mit dem GFP-Assay. In einem breiten Konzentrationsbereich werden negative Werte für die prozentuale Inhibition erhalten, was auf die Tendenz der Glycokolloide zur Agglutination zurückzuführen ist.

Aufgrund der aufgetretenen Probleme bei der Durchführung des GFP-basierten Inhibitionsassays wurden alternative Konzepte zur Quantifizierung der bakteriellen Adhäsion an die Glycokolloide entwickelt. Der erste Ansatz basierte auf der Idee, nicht aggregierte *E. coli* durch Filtration von den Aggregaten abzutrennen und zu quantifizieren. Die schematische Durchführung des Filtrationsassays ist in Abbildung 98 dargestellt. Es wurden jeweils kolloidale Dispersionen der verschiedenen Glycokolloide (20  $\mu\text{L}$ ,  $c = 4 \text{ mg/mL}$ ) mit einer Bakteriensuspension in PBS (200  $\mu\text{L}$ ,  $c = 2 \text{ mg/mL}$ ) zusammengegeben (a), mit 200  $\mu\text{L}$  PBS verdünnt und zur Aggregation für 30 min bei 37  $^{\circ}\text{C}$  inkubiert (b). Anschließend wurden die Proben durch einen Filter mit einer Porengröße von 4.5  $\mu\text{m}$  filtriert (c). Die Filtration sollte eine Abtrennung der großen Aggregate von den ungebundenen, ca. 2  $\mu\text{m}$  großen *E. coli* bewirken. Eine Bestimmung der Fluoreszenz des Filtrates sollte in reziprokem Zusammenhang mit der Tendenz zur Aggregatbildung stehen (d).



**Abbildung 98:** Schematische Darstellung der einzelnen Schritte des Filtrationsassays. a) Zunächst wurden die dispergierten Kolloide mit einer Bakteriensuspension zusammengegeben; b) Die Inkubation bei 37 °C führt zur Aggregation; c) Die Abtrennung der Aggregate erfolgt durch Filtration. d) Quantifizierung der *E. coli* durch Fluoreszenzmessung des Filtrates.

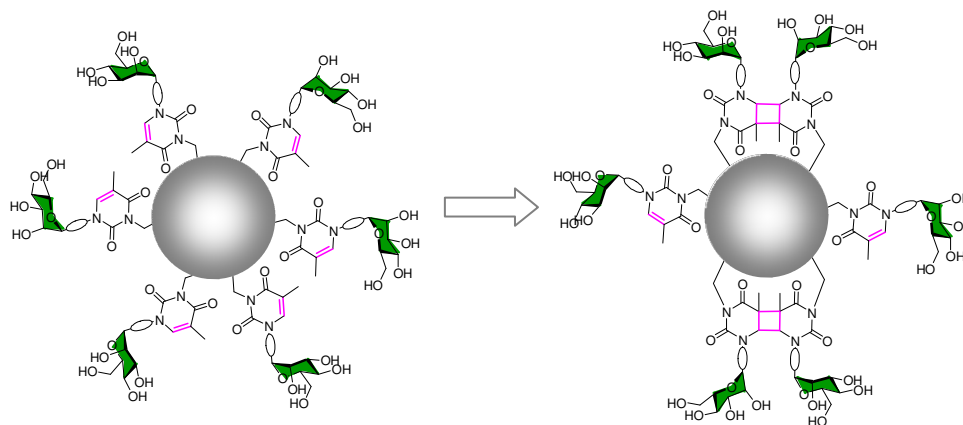
Ein exemplarisches Ergebnis des Tests ist in Tabelle 6 dargestellt. Die gemessenen Fluoreszenzintensitäten (FI) sind jeweils in Relation zu der Fluoreszenzintensität ohne zugesetzte Kolloide angegeben. Dieser Wert wurde per definitionem auf 100 % gesetzt.

	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> + Man-Kolloide <b>126</b>	<i>E. coli</i> + Glc-Kolloide <b>132</b>	<i>E. coli</i> + Gal-Kolloide <b>133</b>	<i>E. coli</i> + <b>126</b> (bel.)
FI	6493	4937	6672	6447	4840
FI%	100%	76%	103%	99%	75%

**Tabelle 6:** Ergebnisse des Filtrationsassays zur Bestimmung der bakteriellen Adhäsion an die Kolloide. FI ist die gemessene Fluoreszenzintensität der Filtrate und FI% die prozentuale Fluoreszenzintensität gegenüber dem maximal zu erhaltenen Wert, der sich aus dem Filtrat ohne Kolloide ergibt.

Im Vergleich zu diesem Standard wurde die Menge der ungebundenen Bakterien bei Zugabe der Mannose-funktionalisierten Kolloide bedingt durch die Aggregatbildung auf 76 % herabgesetzt. Die Glucose-funktionalisierten Kolloide wie auch die Galactose-funktionalisierten Kolloide lieferten mit 103 % bzw. 99 % Fluoreszenzwerte, die innerhalb der Fehlergrenzen dem Wert des Standards entsprachen. Demnach fand für diese Negativkontrollen keine Aggregation statt, so dass der Schluss gezogen werden kann, dass die Aggregation der Mannose-funktionalisierten Partikel auf einer spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung beruht. Die Ergebnisse des Tests waren erwartungsgemäß stark von der verwendeten Bakterienkonzentration abhängig. Die experimentelle Bestimmung der Konzentration mittels Wiegen der getrockneten Bakterienmasse, war aber relativ ungenau. Darüber hinaus konnte die Phase des Vermehrungszyklus der Bakterien mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht bestimmt werden und war somit nicht in allen Experimenten einheitlich. Daher traten bei wiederholten Durchführungen des Tests zwar gleiche Trends beim Vergleich der unterschiedlichen Kolloide auf, jedoch waren die absoluten Werte nicht vergleichbar.

Mit Hilfe des Filtrationsassays sollte auch der Einfluss einer durch eine interpartikuläre [2+2]-Cycloaddition induzierte Konformationsänderung innerhalb der Oberfläche auf die bakterielle Adhäsion an die Kolloide bestimmt werden. Hierzu wurden die Kolloide in wässriger Dispersion 8 h unter Zusatz von Aceton ohne *depletion agent* belichtet. Die Cycloaddition auf der Partikeloberfläche ist schematisch in Abbildung 99 dargestellt.

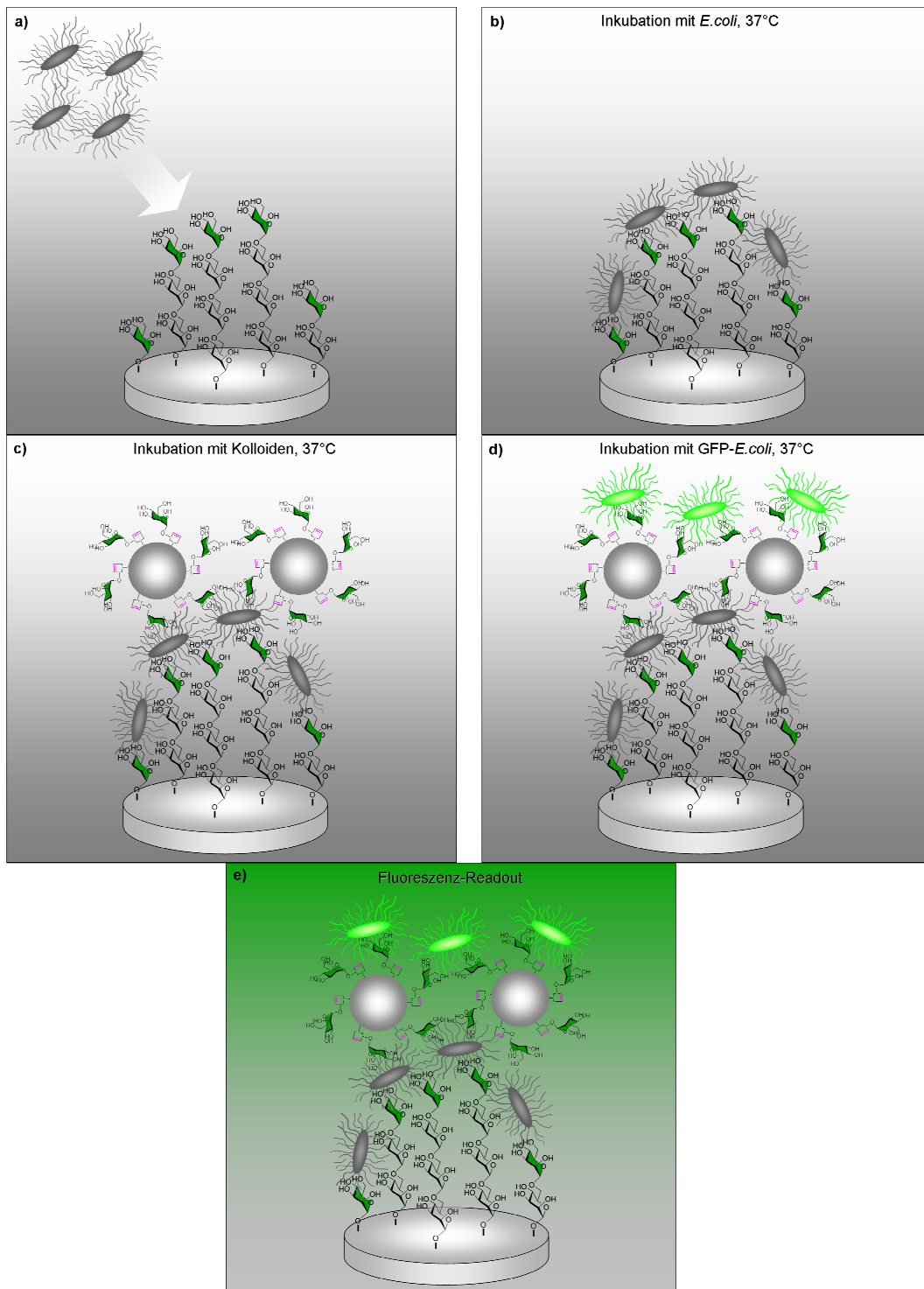


**Abbildung 99: Schematische Darstellung der photoinduzierten interpartikulären [2+2]-Cycloaddition.**

Der Test der belichteten Kolloide lieferte mit 75 % einen im Vergleich zu den unbelichteten Kolloiden nahezu identischen Wert. Da jedoch auch der Unterschied zwischen den Mannose-Kolloiden und der Negativkontrolle nur relativ gering war, wurde vermutet, dass dieser Assay geringe Unterschiede in der Affinität nicht erfasst. Daher wurde eine Alternative für die Bestimmung der Adhäsion gesucht. Von M. HARTMANN wurde der so genannte



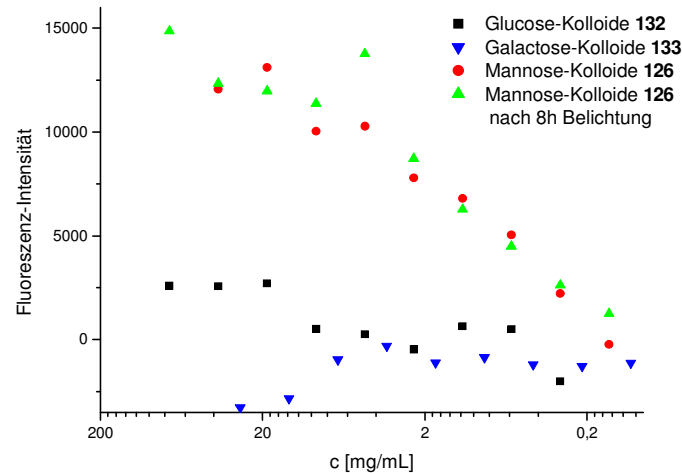
Sandwichassay zur Untersuchung der vernetzenden Eigenschaften glycosylierter Nanodiamanten<sup>[212]</sup> gegenüber Typ-1-fimbrierten Bakterien entwickelt. Diese sind mit ~ 5 nm zwar deutlich kleiner als die Glykokolloide und weisen mit 0.1 mmol Mannosid pro Gramm Diamant auch einen geringeren Funktionalisierungsgrad pro Partikel auf, zeigen im GFP-basierten Assay jedoch dieselbe Tendenz zur Aggregatbildung.



**Abbildung 100:** Schematische Darstellung der einzelnen Schritte des Sandwichassays: a) Verwendung einer Mannan-beschichteten Mikrotiterplattenoberfläche; b) Inkubation mit nicht-fluoreszierenden *E. coli*, 37°C; c) Inkubation mit Glykokolloiden, 37°C; d) Inkubation mit GFP-transfizierten *E. coli*, 37°C; Quantifizierung der oberflächengebundenen GFP-transfizierten *E. coli* über Fluoreszenz-Readout.

Im Sandwichassay wurde die Aggregatbildung ausgenutzt, um die Affinität von *E. coli* gegenüber den multivalenten Partikeln zu bestimmen. Mit Hilfe eines zweiten nicht fluoreszierenden *E. coli*-Stammes wurden die Glykokolloide auf der Mikrotiterplatte immobilisiert. Vergleichbar zu dem Adhäsionsassay wurde anschließend die Adhäsion der fluoreszierenden Bakterien an die Glykokolloid-Oberfläche bestimmt. Die einzelnen Schritte des Sandwichassays sind in Abbildung 100 dargestellt. Im ersten Schritt erfolgte durch Inkubation bei 37 °C eine Immobilisierung nicht fluoreszierender Typ-1-fimbrierter *E. coli* auf den mit Mannan beschichteten Wells einer Mikrotiterplatte (a,b). Nach anschließendem Waschen zum Entfernen überschüssiger Bakterien erfolgte eine Inkubation mit Glykokolloid-Lösungen in serieller Verdünnung (c). Auf diese Weise wurden die Kolloide auf der Mikrotiterplattenoberfläche immobilisiert. Nach erneutem Waschen erfolgte analog zur Durchführung des Adhäsionsassays ein letzter Inkubationsschritt mit den fluoreszierenden *E. coli* (d). Die oberflächengebundenen GFP-transfizierten Bakterien konnten schließlich durch Auslesen der Fluoreszenz quantifiziert werden (e). Die Menge der detektierten Bakterien sollte mit der Tendenz der Kolloide zur Aggregatbildung korrelieren.

Auf diese Weise wurden die Mannose-Kolloide vor und nach der Belichtung, wie auch die als Negativkontrollen verwendeten Glucose- und Galactose-Kolloide, auf ihre Tendenz zur Vernetzung Typ-1-fimbrierter *E. coli* getestet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 101 dargestellt. Die graphische Auftragung zeigt die gemessene Fluoreszenz auf der Mikrotiterplattenoberfläche abzüglich der Fluoreszenz ohne Zugabe von Kolloiden in Abhängigkeit der Glykokolloid-Konzentration. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Galactose-Kolloide keine Tendenz zur Aggregatbildung zeigten. Auch die Glucose-Kolloide weisen nur bei sehr hohen Konzentrationen eine geringfügige Zunahme der durch die Aggregation der Bakterien bedingten Fluoreszenz auf. Damit konnte zweifelsfrei nachgewiesen werden, dass die durch die Mannose-Kolloide hervorgerufene Agglutination der Bakterien auf einer spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung basiert. Bei einem Vergleich der belichteten mit den unbelichteten Mannose-Kolloiden konnte jedoch kein Unterschied in der durch den Sandwichassay bestimmten Tendenz zur Aggregatbildung festgestellt werden. Es ist jedoch auch in diesem Test zu beachten, dass seine Empfindlichkeit gering ist. Wie in Abbildung 101 dargestellt, führt eine Halbierung der Konzentration der kolloidalen Dispersion nur zu einer geringfügigen Verminderung der gemessenen Fluoreszenz. Daher ist auch in diesem Fall anzunehmen, dass der Test nicht ideal geeignet ist, um geringe Unterschiede in der bakteriellen Adhäsion, wie sie z.B. durch eine Belichtung hervorgerufen werden könnte, nachzuweisen.



**Abbildung 101: Graphische Auswertung des Sandwichassays. Anhand der Auftragung der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit der Kolloid-Konzentration können Aussagen über die Tendenz zur Aggregatbildung getroffen werden. Die angegebene Fluoreszenzintensität ergibt sich aus der Differenz der gemessenen Fluoreszenzwerte und dem Wert der Bildprobe ohne zugesetzte Kolloide.**

## GLYKOKOLLOIDE – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen eines Kooperationsprojektes mit der Arbeitsgruppe BARTSCH konnten Glykokolloide synthetisiert werden, die aufgrund der erhöhten Hydrophilie der Oberfläche in Wasser sterisch stabilisiert sind. Durch die integrierte Thymidinfunktion ließen sich die Kolloide in wässriger Dispersion unter Zusatz eines *depletion agents* reversibel photovernetzen.

Darüber hinaus wurden die Glykokolloide als Mimetikum einer mit Kohlenhydraten bedeckten Zelle eingesetzt und hinsichtlich ihrer Funktion in der Interaktion mit Typ-1-fimbrierten *E. coli* untersucht. Hierbei wurde eine starke Tendenz zur Aggregatbildung beobachtet, die auf der spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung zwischen den  $\alpha$ -D-Mannosiden der Kolloide und dem bakteriellen Lektin FimH beruht. Die Spezifität dieser Interaktion wurde durch Untersuchung von Negativkontrollen belegt. Hierzu wurden mit dem Filtrationsassay und dem Sandwichassay zwei verschiedene Testverfahren zur Untersuchung der Aggregation angewendet. Eine Belichtung der Partikel, die in wässriger Dispersion ohne *depletion agent* vermutlich zu einer intrapartikulären Cycloaddition führt, zeigte in den verwendeten Assays keinen Einfluss auf die Stärke der Aggregatbildung. Es ist allerdings denkbar, dass die Sensibilität der Testverfahren zu gering ist, um einen solch kleinen Unterschied nachweisen zu können. Eine Möglichkeit, die Stärke von Kohlenhydrat-Lektin-Bindungen der dargestellten Glykokolloide näher zu untersuchen, wäre die Untersuchung der Bindung an isolierte Lektine wie FimH oder ConA mittels isothermer Titrationskalorimetrie.<sup>[52, 213, 214]</sup>

## 4.6 Glycothymidin-Micellen – ein Membranmodell

Natürliche Oligosaccharide und Glycokonjugate finden sich auf eukaryontischen Zelloberflächen vor allem in Form von Glycolipiden und Glycoproteinen, die mit ihrem hydrophoben Teil in der Zellmembran verankert sind. Diese nicht-kovalente Fixierung erlaubt den Glycokonjugaten eine relativ ungehinderte laterale Diffusion in der Lipidmatrix. Diese Umgebung von Glycokonjugaten stand bisher nicht im Mittelpunkt dieser Arbeit. Glycothymidinderivate wurden sowohl in Lösung, als auch in Form zweidimensionaler Arrays oder als dreidimensionale kolloidale Polystyrolpartikel als photosensitives Glycomimetikum eingesetzt. Darüber hinaus ist auch ihre Untersuchung in einem supramolekularen Verbund, ähnlich wie in der natürlichen Zellmembran, von Interesse. Deshalb wurde ein Micellen-Modell angestrebt, welches den Einbau amphiphiler photosensitiver Glycothymidine erlaubt und als Mimikry der natürlichen Plasmamembran dienen kann.

Während die Lipiddoppelschicht natürlicher Zellmembranen aus amphiphilen Phospholipiden aufgebaut ist, lassen sich für die Bildung von Liposomen und Micellen auch andere amphiphile Moleküle nutzen. So wurden SDS- und DPC-Micellen (*sodium dodecyl sulfate* und *dipalmitoyl phosphatidyl choline*) dazu verwendet Transmembranproteine unter Beibehaltung ihrer natürlichen Tertiärstruktur aus Zellmembranen zu extrahieren und in andere Membranen zu überführen.<sup>[215-218]</sup> Auch die Strukturaufklärung von Membranproteinen durch Kristallisation oder NMR-Spektroskopie stützt sich auf Solvation der Proteine in Detergens-Micellen.<sup>[215-217, 219]</sup>

Wichtig für die molekulare Erkennung von Sacchariden ist auch ihre Präsentation in einer Membran und der Einfluss der Membranumgebung. Zur Untersuchung dieser Faktoren nutzten ZERBE et al. Phospholipid-Micellen, in die synthetische Glycolipide eingelagert wurden, als Modell für membranständige Glycokonjugate.<sup>[220]</sup> Dieses Zell-Modell wurde in der Interaktion mit dem Mannose-bindenden Protein Cyanovirin N erfolgreich getestet und konnte mit Hilfe von NMR-Spektroskopie untersucht werden. BASU et al. berichteten über eine Methode zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen, bei der zwei verschiedene Membranmodelle betrachtet wurden.<sup>[221]</sup> Die Interaktion zwischen Glycolipid-Micellen und einer Glycolipid-Monoschicht bewirkte eine Änderung des Oberflächendruckes. Anhand dieser Änderung konnten Erkenntnisse über die zugrunde

liegende Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkung erhalten werden, wie sie unter anderem bei der Adhäsion von Melanomzellen an Endothelzellen eine Rolle spielt.

In diesem Projekt wurden Glycothymidinderivate mit einem micellbildenden Detergens zu einem micellaren Membranmodell kombiniert. Dieses System bringt den Vorteil mit sich, dass es im Gegensatz zu den bislang beschriebenen Systemen (Abschnitt 4.1-4.4) die direkte Untersuchung mittels NMR-Spektroskopie ermöglicht. Auch die photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition ließe sich auf diesem Weg spektroskopisch verfolgen. Für den Aufbau solcher modifizierten Micellen ist eine genaue Kenntnis der Micellparameter entscheidend. Daher wurde als Tensid Natriumlaurylsulfat (*sodium dodecyl sulfate*, SDS) gewählt, welches zu den am besten untersuchten Detergenzien gehört. SDS bildet sphärische Micellen und besitzt eine kritische Micellkonzentration (*critical micelle concentration*, cmc) von 0.0082 mol/L bei 25 °C.<sup>[222]</sup> Die Aggregationszahl, welche die Anzahl der Moleküle pro Micelle angibt, beträgt für SDS bei 25 °C ~62.<sup>[222]</sup> Für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen wurde SDS in deuterierter Form als SDS-d<sub>25</sub> eingesetzt. Dabei wurde davon ausgegangen, dass weder die cmc noch die Aggregationszahl von SDS-d<sub>25</sub> signifikant von den Parametern von SDS abweichen.

Zur Einlagerung in SDS-Micellen wurden amphiphile Glycothymidinderivate dargestellt. Während das Glycothymidin selbst als polare Kopfgruppe fungieren kann, wurde als hydrophobe Einheit eine Alkylkette eingeführt. Hierzu wurde das Isothiocyanato-Glycothymidin **92** mit Octylamin umgesetzt, um das thioharnstoffverbrückte Derivat **134** zu erhalten. Nach anschließender Deacetylierung konnte somit in zwei Stufen und guter Ausbeute das amphiphile Octyl-Glycothymidin **135** dargestellt werden (Abbildung 102).

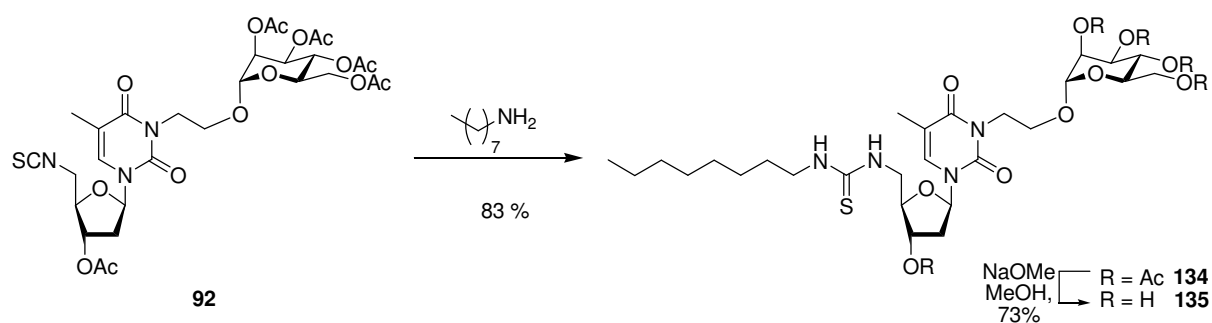
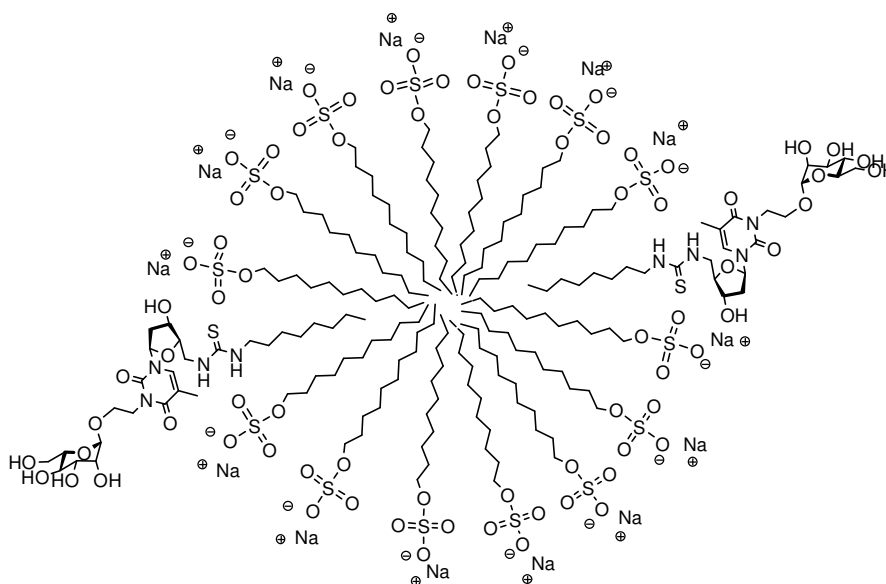


Abbildung 102: Darstellung eines amphiphilen Glycothymidins **135**.

Mit diesem molekularen Aufbau und einem definierten molekularen Verhältnis zwischen Detergens und Glycothymidin sollte eine Selbsteinlagerung der Glycothymidine in die SDS-Micellen erfolgen. Um hierbei die ursprüngliche Geometrie nicht zu sehr zu verändern und so

in guter Näherung von den Parametern einer reinen SDS-Micelle ausgehen zu können, wurde zunächst die Einlagerung von zwei Alkyl-Glycothymidin-Molekülen pro Micelle angestrebt. Zur Darstellung der Lösung wurde eine SDS-Konzentration von 0.16 mol/L gewählt, was dem Zwanzigfachen der cmc entspricht. Die Alkylglycothymidinkonzentration wurde demzufolge auf 5.2 mmol/L eingestellt, was zu einem SDS-Glycothymidin-Verhältnis von ca. 62:2 führt. Auf diese Weise sollten sich Micellen bilden, die zwei eingelagerte Glycothymidinmoleküle in jeder SDS-Micelle enthalten (Abbildung 103).



**Abbildung 103:** Schematische Darstellung einer SDS-Micelle mit zwei eingelagerten Glycothymidin-Molekülen **135** ohne Berücksichtigung der korrekten Anzahl der Detergenzmoleküle (SDS). Die Deuterierung von SDS ist nicht gezeigt.

Die Analyse der gemischten Micelllösung gelang mithilfe der NMR-Spektroskopie. Beim Vergleich des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des amphiphilen Glycothymidins **135** ohne Detergens bei 25 °C mit einem Glycothymidin **45** ohne hydrophobe Alkylkette zeigten sich deutlich verbreiterte Signale. Ein möglicher Grund für die Linienverbreiterung gegenüber dem Spektrum von **45** ist, dass sich aufgrund des amphiphilen Charakters des Alkyl-Glycothymidins, auch ohne zugesetztes Detergenz, Micellen oder andere Überstrukturen bilden, die die Beweglichkeit innerhalb des Moleküls einschränken. Eine ähnliche Linienverbreiterung zeigen auch die Spektren des amphiphilen Glycothymidinderivates **135** mit zugesetztem SDS. Dieses Ergebnis spricht auf den ersten Blick für die Bildung der gemischten Micellen aus SDS und **135**, was jedoch durch weitere Experimente zu belegen war. Zur besseren Charakterisierung und Auswertung konnte eine deutliche Verringerung der Linienbreite und eine damit einhergehende stärkere Feinaufspaltung der Signale durch die

Erhöhung der Temperatur auf 35 °C bzw. auf 45 °C erreicht werden. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren bei den verschiedenen Temperaturen sind in Abbildung 104 dargestellt.

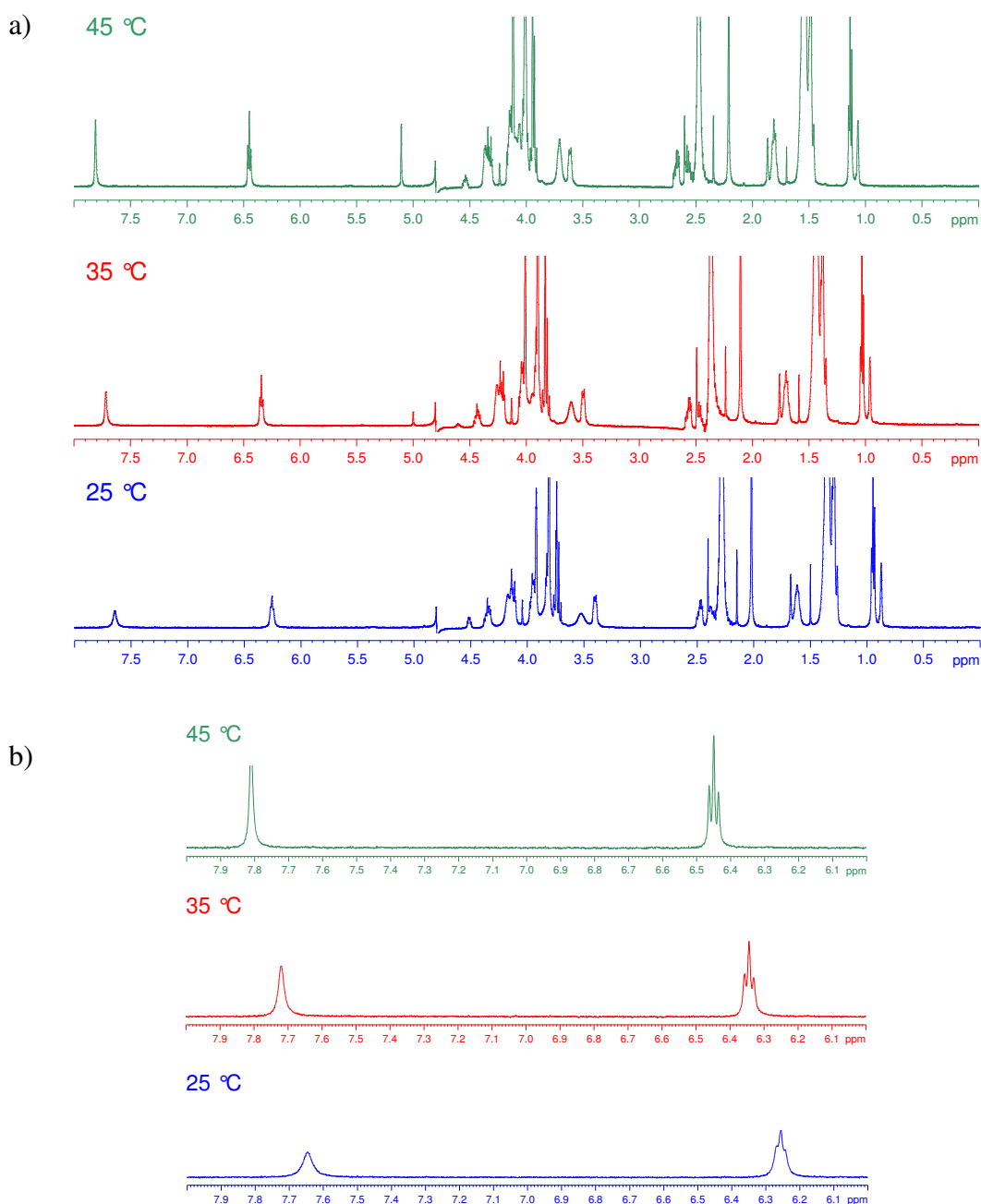


Abbildung 104: a)  $^1\text{H}$ -NMR-Übersichtsspektren (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) des amphiphilen Glycothymidins **135** in SDS bei unterschiedlichen Temperaturen: 25 °C (blau), 35 °C (rot), 45 °C (grün); b) Spektrenausschnitt der charakteristischen Signale  $\text{H6}_{\text{dhy}}$  (7.6 ppm) und  $\text{H1}'_{\text{ribo}}$  (6.2 ppm) des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von **135** in SDS bei unterschiedlichen Temperaturen: 25 °C (blau), 35 °C (rot), 45 °C (grün).

Um Aussagen über die Überstrukturbildung des reinen Glycothymidinderivates **135** als auch über die Micelleigenschaften einer wässrigen Lösung von **135** und SDS treffen zu können, wurden NMR-spektroskopische Diffusionsmessungen durchgeführt.<sup>[223]</sup> Der Diffusionskoeffizient eines Moleküls oder eines Molekül-Verbundes hängt unter konstanten

Bedingungen von der Größe und Form der diffundierenden Spezies ab. Anhand der Diffusion lassen sich daher Aussagen über intermolekulare Wechselwirkungen in der Lösung treffen, wie sie für viele biologische und chemische Systeme von Bedeutung sind. In den letzten Jahren haben sich vor allem gepulste Feldgradienten-NMR-Experimente zur Bestimmung von Diffusionsvorgängen bewährt, wie sie erstmals 1965 von STEJSKAL und TANNER beschrieben wurden.<sup>[224]</sup> Da es sich hierbei um ein vollkommen nicht-invasives Verfahren handelt, ist diese Technik gerade für die Untersuchung biologischer und physiologischer Systeme besonders attraktiv. Die diffusionsgewichtete Magnetresonanztomographie (DW-MRT) stellt in diesem Zusammenhang eines der wichtigsten Anwendungsgebiete dar. Damit werden in der Medizin bildgebende Verfahren bezeichnet, welche die Diffusionsbewegung von Wasser im Gewebe bestimmen. Die DW-MRT wird in erster Linie zur Untersuchung von Diffusionsvorgängen im Gehirn bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems eingesetzt.

Grundlegend für NMR-Diffusionsmessungen ist das gepulste Gradienten-Spin-Echo-NMR-Experiment (*pulsed gradient spin echo*, PGSE).<sup>[225]</sup> In der Praxis werden zahlreiche komplexe Varianten dieses Experimentes eingesetzt, um experimentelle Probleme zu minimieren, die jedoch alle auf der PGSE-Pulssequenz basieren. Zusätzlich zu dem normalen  $90^\circ$ -Puls werden hier Gradienten-Pulse eingestrahlt. Dies hat zur Folge, dass das Magnetfeld in der Probe nicht mehr gleichmäßig, sondern positionsabhängig ist. Entscheidend für das Experiment ist, dass bei einem homogenen Gradienten in der Probe sich die Larmorfrequenz in Richtung des Gradienten ändert. Somit kann die räumliche Position NMR-aktiver Kerne über ihre Larmorfrequenz markiert werden.

Wie bei einem herkömmlichen NMR-Experiment wird zu Beginn der Messung ein  $90^\circ$ -Rf-Puls (Radiofrequenzpuls) eingestrahlt, der eine Rotation der Magnetisierung von der z-Achse in die x,y-Ebene zur Folge hat (Abbildung 105). Anschließend folgt ein Pulsgradient der Stärke  $G$  und der Dauer  $\delta$ , der dazu führt, dass die Spins eine Phasenverschiebung erfahren. Zum Ende der ersten Periode  $\tau$  wird ein  $180^\circ$ -Rf-Puls eingestrahlt, der eine Umkehrung der Vorzeichen der Präzession bewirkt oder anders ausgedrückt die Vorzeichen des ersten Gradienten umkehrt. Wie schon in der ersten Periode wird nun ein weiterer Pulsgradient angelegt, der von seiner Dauer und Stärke dem ersten entspricht und ebenfalls eine Phasenverschiebung zur Folge hat. Findet in dem System zwischen erstem und zweitem Gradientenpuls keine Diffusion statt, heben sich die Phasenverschiebungen der beiden Gradienten auf und alle Spins werden refokussiert. Dies führt zu einem maximalen Echosignal. Haben die Spins jedoch ihre Position in der Zeit  $\Delta$  zwischen den Gradientenpulsen geändert, unterscheiden sich die Werte beider Phasenverschiebungen. Die



Verteilung der Phasenwinkel einzelner Spins wird also teilweise aufgefächert und das resultierende Echosignal wird abgeschwächt. Der Grad der Dephasierung ist hierbei proportional zur Bewegung der Spins in der Zeit  $\Delta$  in Richtung des Gradienten. Die Diffusionskonstante ergibt sich schließlich aus dem Verhältnis zwischen der Signal- und der Echosignalintensität als Funktion der Pulsgradientenparameter.

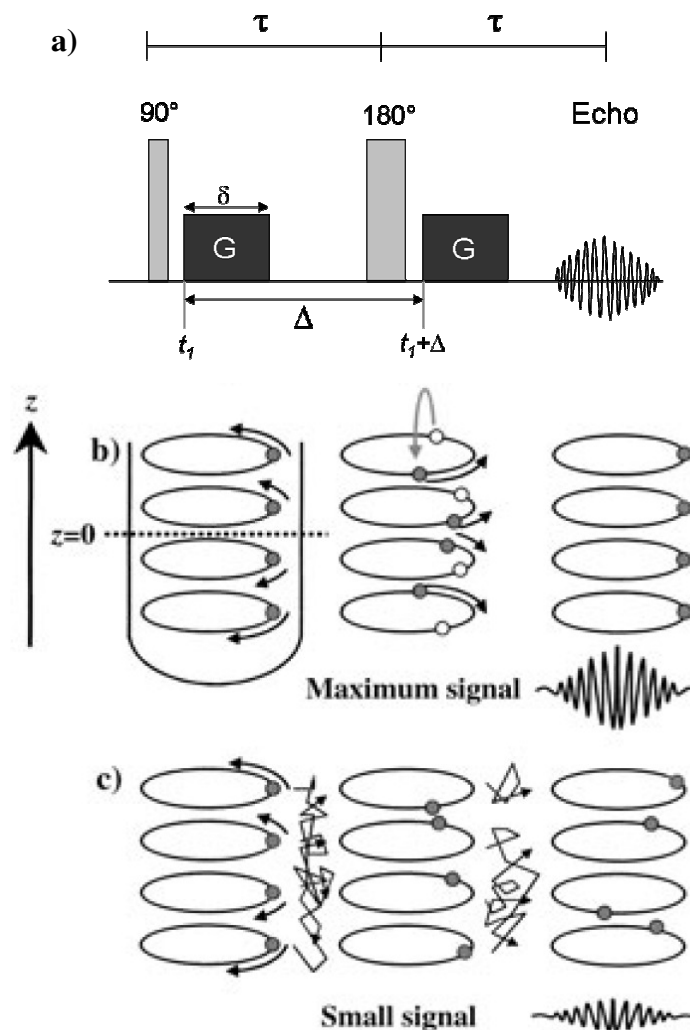


Abbildung 105: a) Pulssequenz des PGSE-Experimentes.  $\tau$  ist die Dauer einer Periode,  $G$  ist die Amplitude des Pulsgradienten,  $\delta$  die Pulsdauer und  $\Delta$  die Zeit vom Anfang des einen Pulsgradienten bis zum Anfang des folgenden. b) Ohne Diffusion sind die Phasenverschiebungen vom Betrag identisch und besitzen ein umgekehrtes Vorzeichen. Dies führt zur vollständigen Refokussierung der Spins und damit zu einem maximalen Echosignal. c) Findet in der Zeit  $\Delta$  eine Diffusion statt, unterscheiden sich die Größen der Phasenverschiebungen und das Echosignal wird abgeschwächt.<sup>[223]</sup>

Auf diese Weise wurde die Diffusion der Komponenten in der Micelllösung aus SDS und dem amphiphilen Glycothymidin **135** untersucht und die entsprechenden Diffusionskoeffizienten anhand ausgewählter Signale bestimmt. Zu Vergleichszwecken wurden außerdem Diffusionsmessungen einer Lösung des Alkylglycothymidins **135** und einer

Lösung eines Glycothymidins ohne Alkylkette **45** herangezogen. Anhand der ermittelten Diffusionskonstanten ( $D$ ) aller Systeme konnten Aussagen über die Größe der Moleküle bzw. Micellen und Aggregate getroffen werden. Darüber hinaus konnte auch der Nachweis erbracht werden, dass die gewünschte Einlagerung des Alkylthymidins **135** in die SDS-Micelle stattgefunden hat. Eine Übersicht der ermittelten Diffusionskonstanten gibt Tabelle 7.

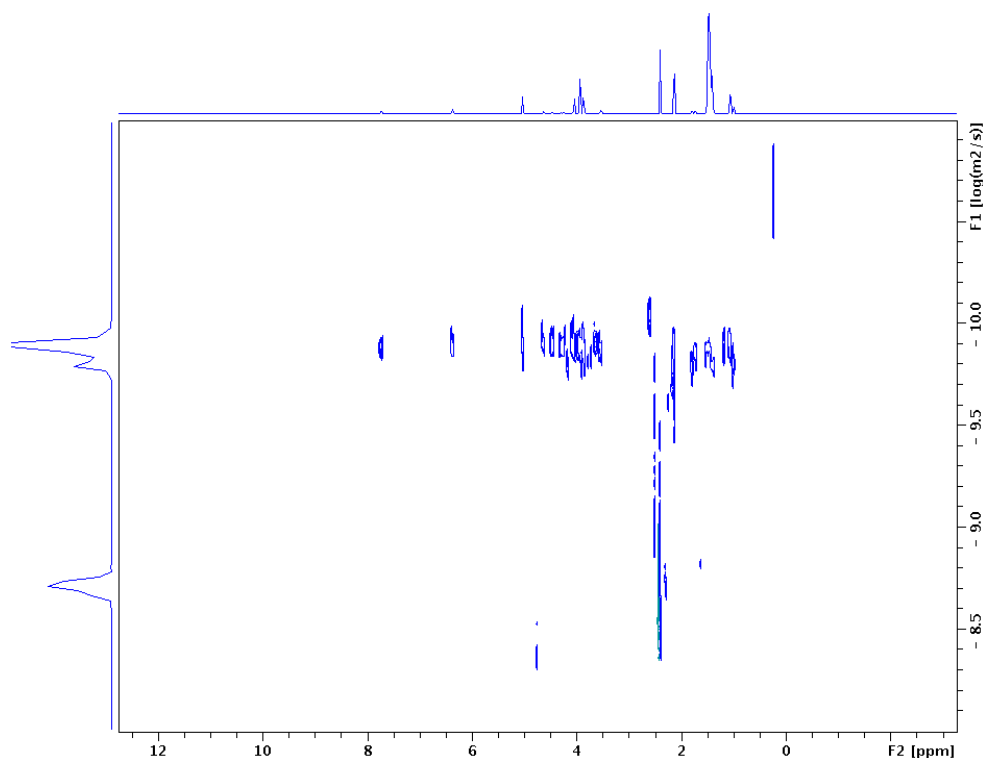
	Glycothymidin	Glycothymidin	Gemischte-SDS- <b>135</b> -Micellen	
	<b>45</b>	<b>135</b>	SDS	<b>135</b>
$D$ ( $\text{m}^2/\text{s}$ )	$3.86 \cdot 10^{-10}$	$1.53 \cdot 10^{-10}$	$6.11 \cdot 10^{-11}$	$5.81 \cdot 10^{-11}$

**Tabelle 7:** Mithilfe von NMR-spektroskopischen Diffusionsmessungen wurden Diffusionskonstanten  $D$  für **45** und **135** in reiner Lösung sowie für SDS und **135** in gemischten Micellen ermittelt.

Für das freie Glycothymidin ohne Alkylkette **45** wurde aus den Diffusionsmessungen eine Diffusionskonstante von  $3.86 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  erhalten. Dagegen zeigte das octylsubstituierte Glycothymidin **135** mit einem Wert von  $1.53 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  eine um den Faktor 2.5 kleinere Diffusionskonstante. Diese deutlich verminderte Diffusionsgeschwindigkeit ist zum einen auf die erhöhte Molekülgröße zurückzuführen. Zum anderen lässt die Größe des Unterschiedes vermuten, dass zu einem gewissen Maß auch eine Aggregation der amphiphilen Moleküle **135** stattgefunden hat, die ihre Diffusion zusätzlich verlangsamt. Die Untersuchung der beiden Komponenten in der Micelllösung, SDS und **135**, lieferte für das Glycothymidin **135** unter den verwendeten Bedingungen eine Diffusionskonstante von  $5.81 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ . Der für die SDS-Signale in denselben Micellen erhaltene Wert ist mit  $6.11 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$  nur geringfügig größer. Dieser Vergleich zeigt deutlich, dass die gewünschte Einlagerung der Alkylglycothymidin-Moleküle in die SDS-Micellen erfolgt ist. Die geringe Abweichung von 4.9 % zwischen den Diffusionskonstanten  $D$  für SDS und für **135** ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass in der Micelllösung ein stetiger Austausch zwischen micellgebundenen SDS-Molekülen und freien SDS-Molekülen stattfindet. Dieser Austausch führt dazu, dass die erhaltene Diffusionskonstante eine gemittelte Diffusionskonstante freier und micellgebundener Moleküle darstellt. Das Gleiche gilt auch für die Glycothymidin-Moleküle. Die erhaltenen Werte deuten darauf hin, dass im Fall der Detergenz-Moleküle das Gleichgewicht zwischen Molekülen in Lösung und in Micellen etwas stärker in Richtung der frei gelösten Moleküle verschoben ist als für die Glycothymidin-Moleküle.

Einen anschaulichen Beweis für die erfolgte Einlagerung der amphiphilen Glycothymidin-Moleküle in die SDS-Micellen zeigt das in Abbildung 106 dargestellte Ergebnis des DOSY-

Experimentes (*diffusion ordered spectroscopy*). In diesem Spektrum ist auf der x-Achse das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Probe dargestellt und auf der y-Achse der Logarithmus der Diffusionskonstanten  $\log(D)$ . Die Kreuzpeaks zeigen somit für jedes im  $^1\text{H}$ -NMR detektierte Proton die entsprechende Diffusionskonstante. Dies ermöglicht eine schnelle Zuordnung der Signale gleicher Diffusionsgeschwindigkeit. Auf den ersten Blick sind in dem gezeigten Spektrum zwei Signale mit verhältnismäßig hohen Diffusionskonstanten bei ca. 4.7 ppm und 2.3 ppm zu erkennen, die den Protonen des Wassers bzw. des für die nachfolgende Belichtung zugesetzten Acetons zugeordnet werden können. Alle Signale des SDS und des Glycothymidins weisen Diffusionskonstanten im  $\log(D)$ -Bereich von ca.  $-9.8 \log(\text{m}^2/\text{s})$  bis  $-10.0 \log(\text{m}^2/\text{s})$  auf. Wie bereits aus den in Tabelle 7 aufgeführten Diffusionskonstanten wird auch im DOSY-Experiment eine geringfügig größere Diffusionskonstante für die SDS-Moleküle im Vergleich zu **135** deutlich. Im Rahmen der Fehlergrenzen können jedoch die Diffusionskonstanten aller Signale des Glycothymidins und des SDS als nahezu identisch angesehen werden. Dies beweist die Einlagerung der Glycothymidinderivate in die Micellen.



**Abbildung 106:** Darstellung der Diffusionsmessungen als DOSY. Auf der x-Achse ist das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Probe dargestellt und auf der y-Achse der Logarithmus der Diffusionskonstanten  $\log(D)$ . Die Kreuzpeaks zeigen somit für jedes im  $^1\text{H}$ -NMR detektierte Proton die entsprechende Diffusionskonstante.

Aus der für die SDS-Micelle ermittelten Diffusionskonstante lässt sich über die Stokes-Einstein-Gleichung (Formel 4) der hydrodynamische Radius ( $R_H$ ) der Micelle bestimmen.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_H}$$

**Formel 4: Stokes-Einstein-Gleichung für harte Kugeln.** Hierbei ist  $k$  die Boltzmann-Konstante,  $T$  die Temperatur und  $\eta$  die Viskosität des Lösungsmittels, in diesem Fall  $D_2O$  bei  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .

Mit einer Viskosität von  $D_2O$  von  $1.095 \cdot 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ <sup>[226]</sup> und einer Temperatur von  $25\text{ }^\circ\text{C}$  ergibt sich danach für die gemessene gemischte Micelle ein hydrodynamischer Radius von  $32 \text{ \AA}$ . Für eine reine SDS-Micelle findet sich in der Literatur ein Wert von  $24 \text{ \AA}$ , was einer Abweichung von  $33\%$  entspricht.<sup>[227]</sup> Unter Berücksichtigung der eingeschlossenen Glycothymidine und der damit verbundenen Vergrößerung und eventuellen Deformation der Micelle, liegt der ermittelte Wert in einem im Vergleich mit der Literatur akzeptablen Bereich. Darüber hinaus muss berücksichtigt werden, dass in dem vorliegenden Fall deuteriertes SDS verwendet wurde und dass auch die Micellparameter einer SDS- $d_{25}$ -Micelle von denen der  $^1\text{H}$ -Variante ohne Deuterierung abweichen können.

Am Beispiel der Glycothymidin-SDS-Micellen konnte jetzt untersucht werden, ob die photoinduzierte Dimerisierung zweier Glycothymidinderivate auch in einem supramolekularen Verbund wie einer Micelle gelingt. Im Vergleich zu einer verdünnten Lösung von Thymidin-Derivaten, ist durch die Präorganisation in der Micelle die lokale Konzentration der Glycothymidinderivate erhöht. Es ist außerdem davon auszugehen, dass die laterale Diffusion der Detergenz-Moleküle und der Glycothymidinderivate in der Micelle relativ groß ist, was die beiden eingelagerten Moleküle immer wieder in räumliche Nähe zueinander bringt und somit die Dimerisierung erleichtert. Erfolgt die [2+2]-Cycloaddition innerhalb der Micellen kann dies NMR-spektroskopisch verfolgt werden.

Erste Belichtungsexperimente der Micelllösung erfolgten durch Bestrahlung mit einer  $150 \text{ W}$  Quecksilberdampfampe in den aus Borsilicatglas bestehenden NMR-Röhrchen ( $\lambda > 290 \text{ nm}$ ). Nach Belichtungszeiten von  $15 \text{ min}$ ,  $90 \text{ min}$  und  $230 \text{ min}$  wurden jeweils NMR-Spektren zur Reaktionskontrolle aufgenommen (Abbildung 107). Im Spektrum des Glycothymidins vor der Belichtung sind besonders charakteristischen Signale für das  $\text{H}_{6_{\text{thy}}}$  in der Nucleobase bei einer chemischen Verschiebung von ca.  $7.60 \text{ ppm}$  sowie das anomere Proton der Ribose  $\text{H}_{1'_{\text{ribo}}}$  bei ca.  $6.20 \text{ ppm}$  gut aufgelöst. Nach einer Belichtungsdauer von  $15 \text{ min}$  zeigen sich neben dem Triplet für das  $\text{H}_{1'_{\text{ribo}}}$  des Monomers bei  $6.20 \text{ ppm}$  weitere Triplets bei ca.  $6.29 \text{ ppm}$ ,  $6.24 \text{ ppm}$ ,  $6.16 \text{ ppm}$  und  $6.03 \text{ ppm}$ . Diese deuten auf die Bildung von Cycloadditionsprodukten der Glycothymidinderivate in verschiedenen isomeren Formen hin. Nach einer Belichtung von  $90 \text{ min}$  bzw.  $230 \text{ min}$  war die weitere Zunahme der Signalintensität der neu entstandenen Signale zu beobachten, während die Intensität der

Monomersignale abnahm. Diese Entwicklung der NMR-Spektren passt zu der erhofften Dimerisierung der Glycothymidinderivate im Micellverbund. Wurde die Probe einer deutlich längeren Belichtung von 19 h unterzogen, waren in keinem der charakteristischen Bereiche noch definierte Signale zu erkennen. Vielmehr wies das Spektrum lediglich sehr breite und unscharfe Signale auf, was darauf schließen lässt, dass eine zu lange Belichtungsdauer eine Zerstörung der Glycothymidinderivate zur Folge hat.

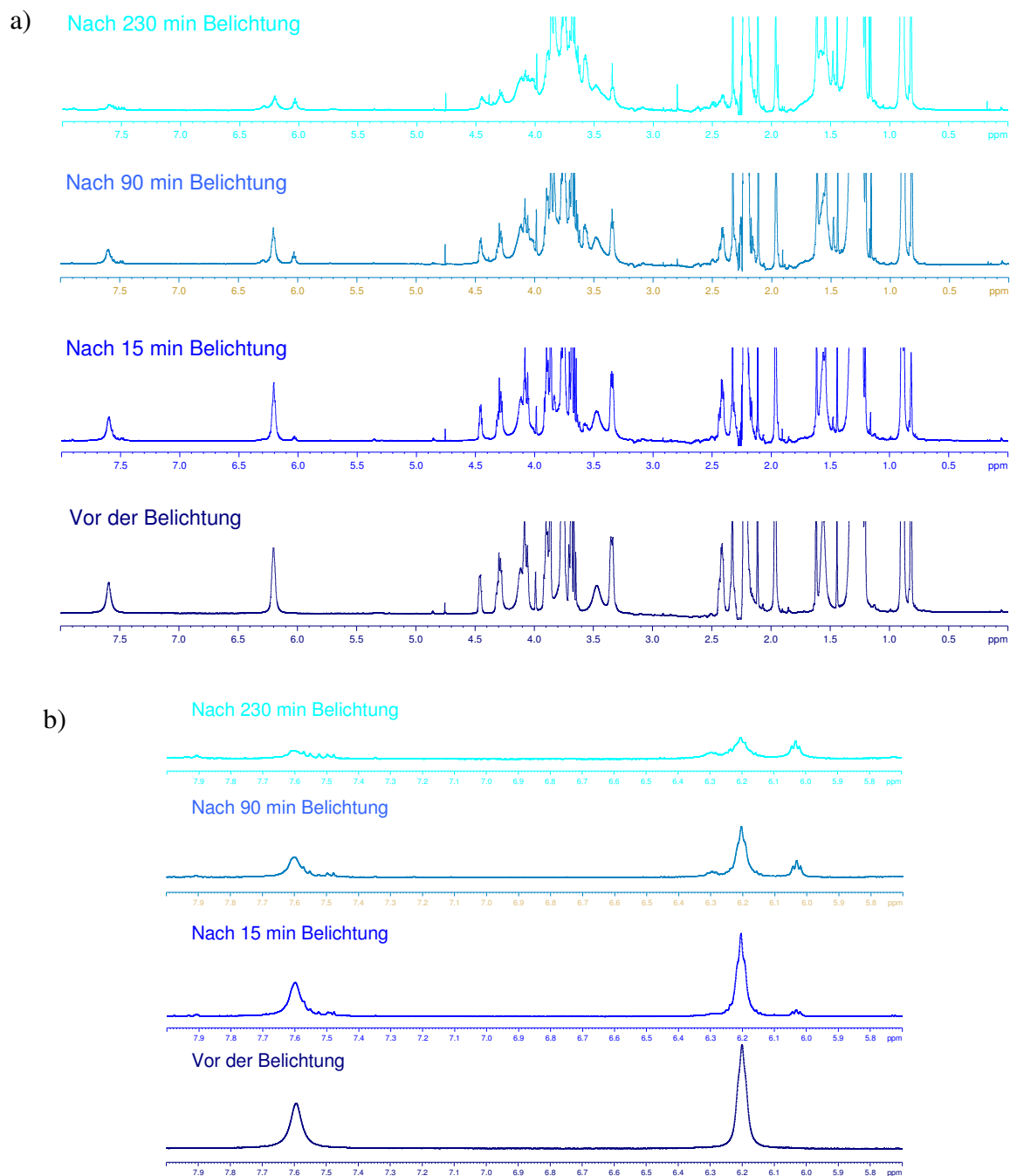


Abbildung 107: a)  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Micelllösung aus SDS und Glycothymidin 135 mit zunehmender Belichtungsdauer. 0 min (dunkelblau), 15 min (königsblau), 90 min, (mittelblau) und 230 min (cyan). b) Ausschnitt der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Micelllösung aus SDS und Glycothymidin 135 mit zunehmender Belichtungsdauer.

Es ist darüber hinaus festzustellen, dass bereits nach einer Belichtungszeit von 15 min zusätzlich zu den bekannten Dimersignalen einige Signale von geringer Intensität im Bereich zwischen 7.46 und 7.58 ppm auftreten, die jedoch bei längerer Belichtungszeit nicht signifikant an Intensität zunehmen. Es ist also davon auszugehen, dass die Belichtung in geringem Maß zur Bildung von Nebenprodukten führt, welche jedoch nicht charakterisiert wurden.

Diffusionsmessungen der belichteten Lösungen führten sowohl für die Monomersignale als auch für die neu gebildeten Dimersignale im Rahmen der Fehlergrenzen zu denselben Diffusionskonstanten wie vor der Belichtung. Demnach sind auch nach der Belichtung die monomeren und die dimeren Glycothymidinderivate in die Micelle eingelagert.

Es kann also geschlussfolgert werden, dass die Dimerisierung von Glycothymidinderivaten in einem supramolekularen Verbund wie einer Micelle grundsätzlich möglich ist. Zwar kann nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden, dass die Dimerisierung außerhalb der Micelle stattfindet und die so gebildeten Dimere sich anschließend wieder in die Micellen einlagern, jedoch ist die Wahrscheinlichkeit hierfür sehr gering. Zum einen beträgt die Gesamtkonzentration von **135** in der Lösung nur 5.2 mmol/L. Zum anderen ist, wie aus den Diffusionsmessungen ersichtlich, der größte Teil der Glycothymidinderivate in die Micellen eingelagert. Damit ist die resultierende Konzentration freier Derivate so gering, dass eine alleinige Dimerisierung außerhalb der Micellen sehr unwahrscheinlich ist.

Um die Konzentration an Kohlenhydraten im Micell-Modell weiter zu erhöhen, wurden Micellen mit einer vierfachen Glycothymidin-Konzentration (20.8 mmol/L) hergestellt. NMR-Diffusionsexperimente dieser Proben ergaben für **135** identische Diffusionskoeffizienten wie im Fall der geringeren Konzentration. Dieses Ergebnis spricht dafür, dass auch eine Einlagerung von acht Glycothymidinderivaten in eine SDS-Micelle möglich ist, ohne deren Struktur und Größe dabei wesentlich zu verändern.

## **GLYCOTHYMIDIN-MICELLEN – EINE KURZE ZUSAMMENFASSUNG UND PERSPEKTIVE**

Um die Photodimerisierung von Glycothymidinen in einem supramolekularen Verbund untersuchen zu können, wurden Micellen hergestellt und NMR-spektrskopisch vermessen. Dazu wurde ausgehend von dem Isothiocyanatoglycothymidin **92** über zwei Stufen das thioharnstoffverbrückte Octyl-Glycothymidinderivat **135** dargestellt. Der amphiphile Charakter dieser Verbindung ermöglichte ihre Einlagerung in SDS-Micellen, was mit Hilfe von NMR-spektrskopischen Diffusionsexperimenten belegt werden konnte. Die SDS-

Moleküle und die Octylglycothymidin-Moleküle in den Micellen zeigten in den Diffusionsexperimenten einen vergleichbaren Diffusionskoeffizienten im Bereich von  $5.8\text{--}6.1 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ , der sich damit um eine Größenordnung von dem des Glycothymidinderivates **45** ohne Alkylkette unterscheidet. Anhand des ermittelten Diffusionskoeffizienten wurde für die gemischten Micellen ein hydrodynamischer Radius von  $32 \text{ \AA}$  bestimmt. Das Micellsystem erlaubt darüber hinaus die photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition NMR-spektroskopisch zu verfolgen. Nach 90 min bzw. 230 min Belichtung konnte eine deutliche Signalverminderung der Monomersignale zugunsten neuer Dimersignale beobachtet werden.

Das Micell-Modell berücksichtigt die freie laterale Diffusion von Glycokonjugaten in der supramolekularen Umgebung, wie im Fall der Plasmamembran. Dies wurde durch die erfolgreiche Dimerisierung verdeutlicht.

In fernerer Zukunft wären unter optimierten Bedingungen auch Untersuchungen zu Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen an der Micellgrenzfläche denkbar, die eventuell ebenfalls NMR-spektroskopisch untersucht werden könnten.

## 4.7 Synthese eines DMAdo-Phosphoramidits

Synthetische Nucleosid-Analoga sind wichtige Werkzeuge zum Studium biologischer Systeme. Besonders zur Analyse der Struktur und der Funktionen von Oligonucleotiden sowie zur Verwendung als Inhibitoren Nucleotid-modifizierender Enzyme finden sie zahlreiche Anwendungen.<sup>[228, 229]</sup> Im Gegensatz zu den modifizierten RNA-Bausteinen sind in vielen Fällen die entsprechenden modifizierten desoxygenierten Nucleoside nicht kommerziell erhältlich. Daher wurden diverse Desoxygenierungsreaktionen zur Darstellung dieser Verbindungen etabliert.<sup>[230-232]</sup>

Das modifizierte Nucleosid  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin (DMAdo) unterscheidet sich von seinem natürlichen Analogon Adenosin (Ado) durch sein besonderes Fluoreszenzverhalten, einer so genannten dualen Fluoreszenz.<sup>[233-235]</sup> Zusätzlich zu dem *local excited* (LE) *state* Fluoreszenzmaximum bei  $\lambda_{fl} \approx 330$  nm, welches dem Purin Chromophor zugeordnet werden kann und auch im Fluoreszenzspektrum von Ado zu finden ist, zeigt das Spektrum von DMAdo eine stark rot-verschobene Bande. Diese zweite Emission bei  $\lambda_{fl} \approx 450-550$  nm wird im Allgemeinen einem Übergang vom LE-Zustand in einen intramolekularen *charge-transfer* (CT) Zustand zugeordnet. Hierbei wirkt die Dimethylaminogruppe als Elektronendonator und das Purin als Elektronenakzeptor. Untersuchungen von TEMPS et al. zeigten kürzlich, dass die Lebensdauer dieser Fluoreszenz von DMAdo mit bis zu 1,4 ns auffallend groß ist.<sup>[236]</sup> In Anbetracht der Tatsache, dass die Lebensdauern angeregter Zustände in vielen Fällen in Oligonucleotiden um Größenordnungen höher sein können als die in Mononucleotiden, stellt sich die Frage, ob das Desoxyribosid DMAdo als Fluoreszenzlabel in DNA genutzt werden kann.<sup>[237-239]</sup> In Kooperation mit der Arbeitsgruppe F. TEMPS wurde für die Untersuchung der Fluoreszenzeigenschaften DMAdo enthaltender einzelsträngiger DNA DMAdo in Form seines Phosphoramidits **136** für die automatisierte Oligonucleotidsynthese synthetisiert. Es trägt die für die Oligonucleotidsynthese übliche DMT-Schutzgruppe an der 5'-Position sowie ein  $N,N$ -Diisopropyl-2-cyanoethyl-phosphoramidit an der 3'-Position.

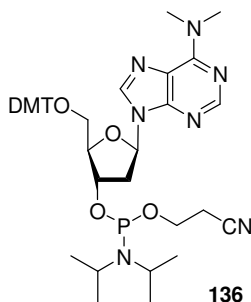


Abbildung 108: Das Nucleosid-Analogon DMAdo als Zielverbindung für die Oligonucleotidsynthese.



Die Synthese von 2'-Desoxy-5'-(4,4'-dimethoxytrityl)- $N^6,N^6$ -dimethyladenosin-3'-*O*-(2-cyanoethyl- $N,N$ -diisopropyl)-phosphoramidit (**136**) erfolgte in sechs Stufen ausgehend von kommerziell erhältlichem  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin (**137**) (Abbildung 109). Es wurde hierbei auf eine Synthesestrategie von MICURA et al.<sup>[240]</sup> zurückgegriffen, der diese Route zur Darstellung von  $N^6$ -Benzoyl-3-deaza-2'-desoxyadenosinphosphoramiditen durch Anwendung etablierter Schutzgruppen und Desoxygenierungstechniken nutzte.

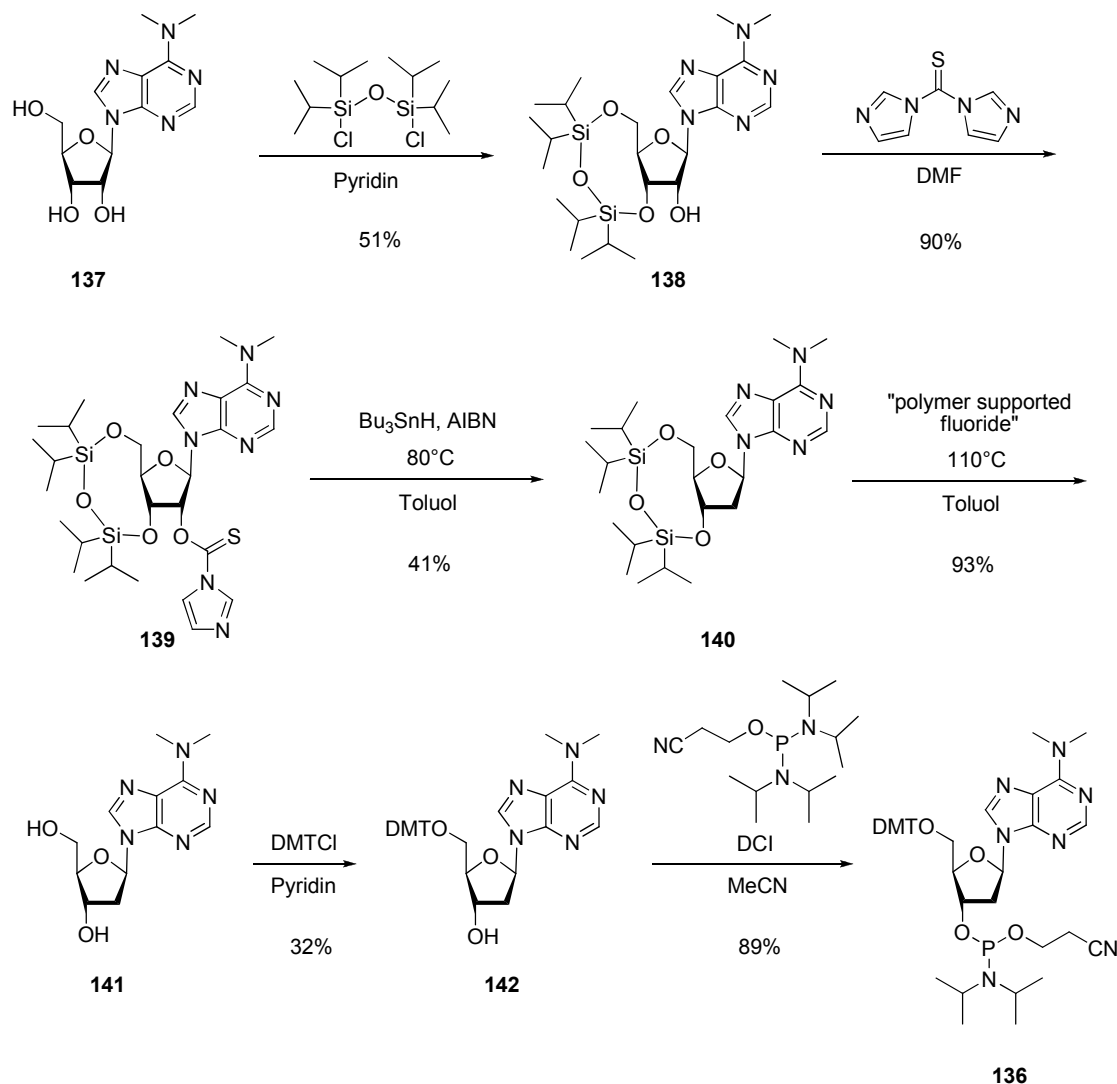


Abbildung 109: Synthese des DMT-geschützten DMT-Ado-Phosphoramidits **136** ausgehend von  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin **137** in einer sechstufigen divergenten Sequenz.

Ausgehend von  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin **137** wurde zunächst eine selektive Schützung der 5'- und der 3'-Position in einem Schritt durchgeführt, so dass die 2'-OH-Gruppe für eine anschließende Barton-McCombie-Desoxygenierung zur Verfügung stand. Für die Schützung wurde die in der Nucleosidchemie verbreitete cyclische Disiloxanschutzgruppe (Tetra-*iso*-propyldisiloxanylid, TIPDS) verwendet. Das Disiloxan **138** wurde in moderaten Ausbeuten

erhalten. Die Desoxygenierung des sekundären Alkohols wurde in zwei Stufen unter klassischen Barton-McCombie-Bedingungen durchgeführt.<sup>[241]</sup> Zur Transformation der 2'-Hydroxygruppe in ein Thiocarbamat wurde **138** mit Thiocarbonyldiimidazol in guten Ausbeuten zum Thiocarbamat **139** umgesetzt. Die anschließende radikalische Reduktion wurde mit Tributylzinnhydrid und AIBN als Initiator durchgeführt und lieferte das desoxygenierte Nucleosid **140** in moderaten Ausbeuten. Eine sehr praktische Methode wurde zur Spaltung der cyclischen Silylether angewendet. Der Einsatz von immobilisiertem Fluorid auf einem Polymerträger ermöglichte die Entschützung durch einfaches Rühren in Toluol unter Rückfluss. Bei Verwendung dieses Reagenzes wurde der freie Alkohol an das Trägermaterial gebunden, so dass entstehende Nebenprodukte mit dem Lösungsmittel nach Filtration verworfen werden können. Das Produkt konnte im Anschluss durch Waschen mit Methanol vom Trägermaterial gespalten und **141** in reiner Form und in sehr guten Ausbeuten isoliert werden. Mit Hilfe dieser Desoxygenierung und der dafür notwendigen Schutzgruppenchemie konnte aus dem Nucleosid **137** das analoge 2'-desoxygenierte Nucleosid **141** erhalten werden. Zur Überführung in das 5'-DMT geschützte Phosphoramidit **136**, das als Substrat für die automatisierte Oligonucleotid-synthese dient, mussten zwei weitere Stufen durchgeführt werden. Zunächst wurde 2'-Deoxy- $N^6,N^6$ -dimethyladenosin **141** mit DMTCl selektiv an der 5'-Position geschützt. Anschließend folgte die Umsetzung mit 2-Cyanoethyl- $N,N,N,N$ -tetrakispropylphosphordiamidit und 4,5-Dicyanoimidazol (DCI) in guten Ausbeuten und hoher Reinheit. Insgesamt konnte das DMAdo-Phosphoramidit **136** ausgehend von  $N^6,N^6$ -Dimethyladenosin über sechs Stufen mit einer Gesamtausbeute von 5 % dargestellt werden. HPLC-Analyse zeigte eine Reinheit der diastereomeren Produkte von > 95%.

Das erhaltene Produkt wurde anschließend in einer Festphasensynthese eingesetzt (biomers.net GmbH, Ulm). Es zeigte eine gute Kupplungseffizienz, so dass das Pentanucleotid d(A<sub>3</sub>DA<sub>3</sub>) als Testmolekül für die Fluoreszenzspektroskopie in der Arbeitsgruppe TEMPS erhalten werden konnte.

## 5 Zusammenfassung

Oligosaccharide und Glycokonjugate spielen eine entscheidende Rolle bei der Zellerkennung und der zellulären Kommunikation. Die molekularen Details, die diesen Prozessen zugrunde liegen, sind bislang nicht in allen Details verstanden. Ein in zahlreichen biochemischen Kommunikationsprozessen gut bekanntes mechanistisches Prinzip ist konformationelle Kontrolle von molekularer Erkennung. Dieser Aspekt wurde in der Glycobiologie jedoch bislang wenig untersucht. Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit glycomimetische Systeme entwickelt, die eine Untersuchung ihrer biochemischen Erkennung in Abhängigkeit einer konformationellen Veränderung, sozusagen per „Schaltung“, ermöglichen.

Im ersten Teil der Arbeit wurde zur Realisierung dieses Konzeptes eine neue Klasse photoschaltbarer Glycomimetika, die Glycothymidine, entwickelt. Thymidin bot sich aufgrund seiner Biokompatibilität und gut untersuchten photochemischen Eigenschaften als geeigneter Photoschalter an. Der Kohlenhydratteil der Glycothymidine wurde ausgehend von Mannose derivatisiert, da Mannose ein biologisch relevantes Monosaccharid und insbesondere der spezifische Ligand des Typ-1-fimbrialen Lektins FimH ist. Drei unterschiedliche Glycothymidinderivate **26**, **45** und **58** wurden ausgehend von 2'-

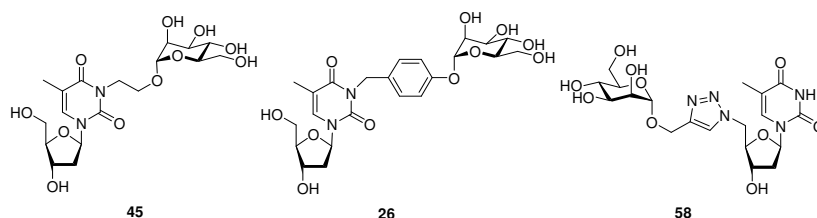


Abbildung 110: Dargestellte Glycothymidinderivate.

Desoxythymidin dargestellt (Abbildung 110). Die Regiochemie bei der Alkylierung des Thymidin-Nucleosids führte zu den *N*-

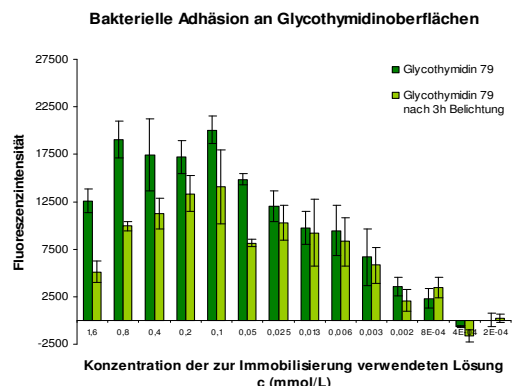
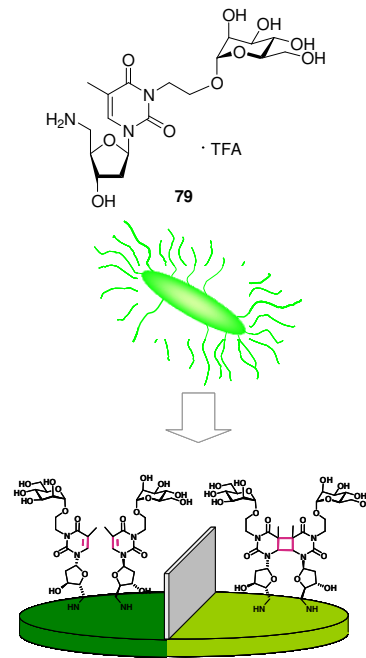
alkylierten Produkten **26** und **45**, während die Funktionalisierung des Thymidin-Scaffolds über die 5'-Position über eine Kombination aus Appel-Reaktion und Click-Chemie erzielt wurde (**58**). Alle drei Glycothymidinderivate wurden erfolgreich durch eine photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition zu den entsprechenden Dimeren umgesetzt.

Die Testung der Glycothymidinderivate als Liganden des Typ-1-fimbrialen Lektins FimH erfolgte in einem GFP-basierten Adhäsionsassay mit Typ-1-fimbrierten *E. coli*-Bakterien. Für alle drei Glycothymidine wurden die Monomere, die isolierten Dimere, sowie belichtete Proben, die sowohl die monomere als auch die dimere Substanz enthielten, im Adhäsionstest getestet. Die Glycothymidine erwiesen sich als ca. 5- bis 50-fach potentere Inhibitoren Typ-1-Fimbrien-vermittelter bakterieller Adhäsion als der bekannte Standard Methylmannosid (MeMan). Für keines der drei Derivate konnte nach Belichtung der Monomere ein

signifikanter Unterschied der inhibitorischen Potenz gemessen werden. Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass die Dimerisierung der Glycothymidine keinen signifikanten Einfluss auf ihre Affinität zu dem bakteriellen Lektin FimH in Lösung besitzt.

Also wurde in einem zweiten Teil der Arbeit die Immobilisierung von Glycothymidinen und ihre Untersuchung auf Oberflächen angegangen. Durch eine geringe Modifikation des ethylverbrückten Glycothymidins **45** wurde das Aminoglycothymidin **79** dargestellt, welches für die Immobilisierung auf einer funktionalisierten Mikrotiterplatte geeignet ist. Bei der Untersuchung bakterieller Adhäsion an die so erhaltenen Glycoarrays wurde gezeigt, dass diese signifikant von dem „Schaltzustand“ der Oberfläche, monomere vs. dimere Form der immobilisierten Glycothymidine, abhängt. Eine durch Licht induzierte geringfügige strukturelle Änderung auf molekularer Ebene, die annähernd keinen Einfluss auf die Affinität der Glycothymidine gegenüber dem bakteriellen Lektin in Lösung hatte, führte auf der entsprechenden Oberfläche zu einer deutlichen Verminderung bakterieller Adhäsion (Abbildung 111). Diese Beobachtung kann zu diesem Zeitpunkt noch nicht vollständig verstanden werden. Sie ist ein erster Hinweis auf einen

Effekt, der mit konformationeller Kontrolle zu tun haben könnte. Eine subtile Änderung der konformationellen Verhältnisse innerhalb eines Glycoarrays führte zu einer Auswirkung auf die bakterielle Adhäsion, was auch eine entscheidende Bedeutung für die Zelladhäsion *in vivo* haben könnte. Um eine eindeutige Interpretation der mit den Glycoarrays erhaltenen Ergebnisse zu erlauben, ist es notwendig, die molekularen und strukturellen Vorgänge auf der Glycothymidin-Oberfläche beim „Schalten“ genau zu kennen. Es wurden zahlreiche Versuche zur Charakterisierung der Mikrotiterplattenoberfläche unternommen. Weder die chemische oder enzymatische Spaltung einer Bindung, noch die direkte Charakterisierung der



**Abbildung 111: Testung der bakteriellen Adhäsion in Abhängigkeit konformationeller Veränderung.**

Oberfläche brachten den gewünschten Erfolg. Ein Ansatz für die zukünftige Lösung des Problems der Oberflächencharakterisierung könnte in diesem Fall die Darstellung von Glycothymidinderivaten mit eingebauter Sollbruchstelle sein. Nach einer Belichtung ließen diese Derivate sich selektiv von der Oberfläche abspalten und nachfolgend in Lösung charakterisieren. Für diesen Ansatz könnte die chemische Spaltung einer Esterbindung oder die enzymatische Spaltung eines Peptid-Linkers dienen.

Es war für zukünftige Untersuchungen wichtig, die Glycothymidine strukturell, z. B. bezüglich der eingebauten Spacer und Linker, zu variieren.

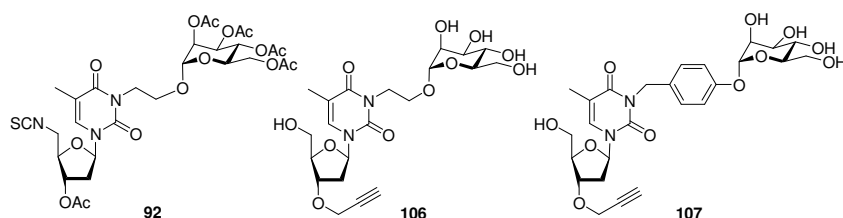


Abbildung 112: Schlüsselverbindungen zur Derivatisierung.

Mit den Glycothymidinderivaten **92**, **106** und **107** (Abbildung 112) waren durch „Click-Chemie“ und Thioharnstoff-Verbrückung weitere Strukturvariationen an der 3'- oder der 5'-Position des Thymidin-Scaffolds möglich.

Die Amino-Glycothymidinderivate **98** und **99** sowie das divalente Derivat **120** mit verlängerten Linkern wurden durch Thioharnstoff-Kupplung erhalten. Das triazolverknüpfte Glycothymidinderivat **110** mit einem Heptaethylenglycolspacer an der 3'-Position konnte mit Hilfe einer kupferkatalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition dargestellt werden.

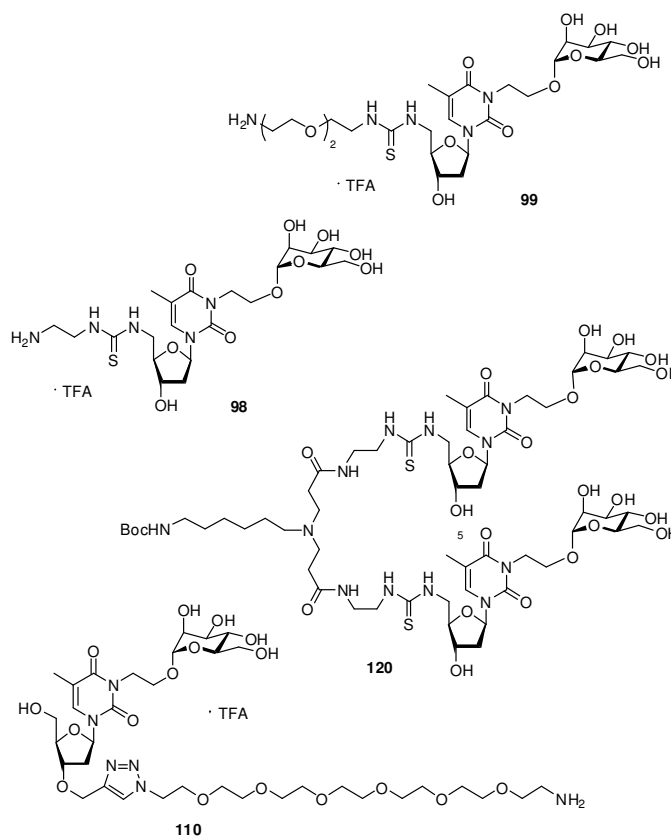


Abbildung 113: Aminfunktionalisierte Glycothymidine zur Immobilisierung.

Mit Hilfe derselben Click-Reaktionen konnten im Rahmen zweier Kooperationen die isothiocyanato- und propargyl-funktionalisierten Schlüsselintermediate **111** und **106** genutzt werden, um *self assembled monolayers* auf funktionalisierten Quarz-Oberflächen darzustellen (Abbildung

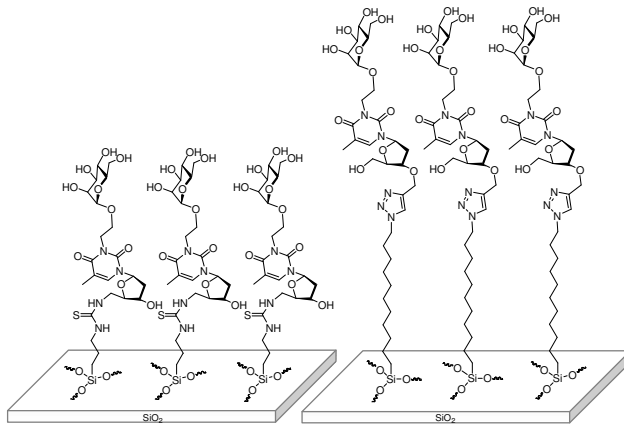


Abbildung 114: Glycothymidine auf SAMs.

114). Mittels UV-Spektroskopie konnte in beiden Fällen die Funktionalisierung der Oberflächen nachgewiesen und in einem Fall quantifiziert werden. Durch diese Möglichkeit der Charakterisierung der immobilisierten Substanzen stellt Glas einen erheblichen Vorteil gegenüber den im Adhäsionstest verwendeten Polystyrol-Mikrotiterplatten dar. Daher wäre die Verwendung von Quarz-Mikrotiterplatten ein viel versprechender Ansatz für zukünftige Arbeiten.

Im Rahmen einer anderen Kooperation konnten mit Glycothymidin funktionalisierte Polystyrolkolloide synthetisiert werden, die aufgrund der erhöhten Hydrophilie der Oberfläche in Wasser sterisch stabilisiert sind (Abbildung 115). Durch die integrierte Thymidinfunktion ließen sich die Kolloide in wässriger Dispersion unter Zusatz eines *depletion agent* reversibel photovernetzen. Dies ist für vergleichbare Systeme bislang nur in organischen Solventien beschrieben und stellt einen interessanten Ausgangspunkt für die Untersuchung von Cluster- und Gelbildungsprozessen in Wasser dar.

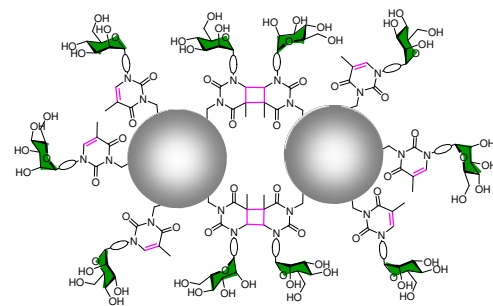


Abbildung 115: Crosslinking der Kolloide.

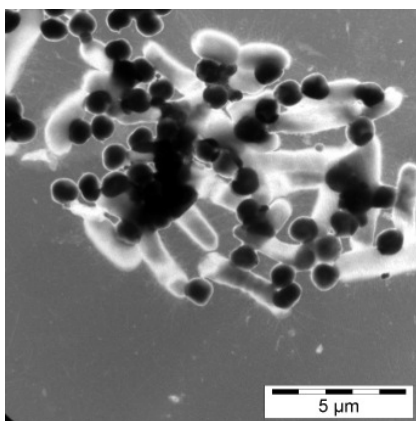


Abbildung 116: TEM-Aufnahme von Kolloid-*E.coli*-Aggregaten.

Darüber hinaus wurden die Glykokolloide als Mimetikum einer glycosylierten Zelle in Interaktion mit Typ-1-fimbrierten *E. coli* untersucht (Abbildung 116). Hierbei kamen zwei neue Testverfahren, ein Filtrationsassay und ein Sandwichassay, zum Einsatz. Es wurde eine starke Tendenz zur Aggregatbildung beobachtet, die auf der spezifischen Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkung zwischen den auf den Kolloiden präsentierten  $\alpha$ -D-Mannosiden und dem bakteriellen Lektin FimH beruht. Die Spezifität dieser Interaktion wurde durch Untersuchung von Negativkontrollen belegt. Eine Belichtung der Partikel, die in wässriger Dispersion ohne *depletion agent* vermutlich zu einer intrapartikulären Cycloaddition führt, zeigte in den verwendeten Assays keinen Einfluss auf die Stärke der Aggregatbildung. Es ist

allerdings denkbar, dass die Sensibilität der Testverfahren zu gering ist, um einen solchen kleinen Unterschied nachweisen zu können.

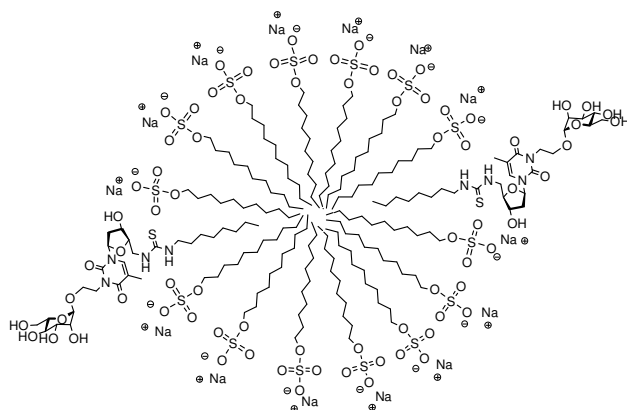


Abbildung 117: SDS-Micelle mit eingelagerten Glycothymidinen.

Um die Photodimerisierung von Glycothymidinen in einem supra-molekularen Verbund untersuchen zu können, wurden in einem weiteren Projekt Micellen auf der Basis von SDS hergestellt und NMR-spektroskopisch vermessen (Abbildung 117). Mithilfe einer Thioharnstoff-Kupplung des Isothiocyanatoglycothymidins **92**

konnte ein Octyl-Glycothymidinderivat

**135** dargestellt werden. Der amphiphile Charakter dieser Verbindung ermöglichte die Einlagerung in die Micellen, was mit Hilfe von NMR-spektroskopischen Diffusionsexperimenten belegt werden konnte. So zeigten beide Komponenten in der Micelle, SDS und Glycothymidin, vergleichbare Diffusionskoeffizienten im Bereich von  $5.89\text{--}6.18 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ . Daraus ergibt sich für die gemischten Micellen ein hydrodynamischer Radius von  $32 \text{ \AA}$ . Es wurden Micellen dargestellt, die auf ihrer Oberfläche ca. zwei bzw. acht Glycothymidin-Derivate enthielten. Nach Belichtung konnte in beiden Fällen die photoinduzierte [2+2]-Cycloaddition NMR-spektroskopisch verfolgt werden. Dies bedeutet, dass eine Dimerisierung von Glycothymidin-Derivaten auch in einem supra-molekularen Zusammenhang, wie dem einer Micelle, möglich ist. Das Micellmodell berücksichtigt die freie laterale Diffusion von Glycokonjugaten, wie sie in der supra-molekularen Umgebung der Plasmamembran gegeben ist.

In einem von der Fragestellung der konformationellen Kontrolle unabhängigen Teil der Arbeit konnte die gewonnene Erfahrung auf dem Gebiet der Nucleotidchemie zur Darstellung des bislang unbekanntes Phosphoramidits **136** (Abbildung 118) genutzt werden. Ausgehend von dem entsprechenden Ribosid konnte das nicht-natürliche Nucleosid Dimethyladenosin (DMAdo) in einer für die automatisierte Oligonucleotidsynthese geeigneten Form hergestellt werden. Die

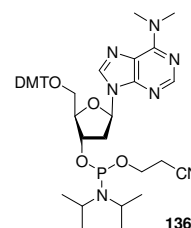


Abbildung 118: DMAdo-Phosphoramidit.

Integration von DMAdo in einen Oligonucleotidstrang ermöglicht die Untersuchung des Fluoreszenzverhaltens der in dieser Hinsicht interessanten Nucleobase in einem einzelsträngigen Oligonucleotid.

## 6 Experimenteller Teil

### 6.1 Allgemeine Methoden

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders vermerkt, unter normalen atmosphärischen Bedingungen durchgeführt. Für Reaktionen unter Schlenkbedingungen wurden ausgeheizte Apparaturen mit Stickstoff als Inertgas verwendet.

#### Lösungsmittel und Chemikalien

Lösungsmittel und Chemikalien wurden, falls nicht anders erwähnt, in kommerziell erhältlichen Qualitäten puriss., p.a. oder purum eingesetzt und von den Firmen Fluka, Aldrich, Acros, Lancaster, Applichem, und Merck bezogen. Lösungsmittel für Extraktionen und Säulenchromatographie waren von technischer Qualität und wurden vor der Verwendung durch Destillation gereinigt.

Die verwendeten absolutierten Lösungsmittel wurden entweder getrocknet vom Hersteller bezogen oder durch mehrstündiges Erhitzen unter Rückfluss über einem geeigneten Trockenmittel und anschließender Destillation erhalten.

Dichlormethan	über Calciumhydrid
Methanol	über Magnesiumspänen
DMF	getrocknet vom Hersteller
1,4-Dioxan	filtriert über basisches Aluminiumoxid
THF	über Natrium

#### Nomenklatur

Die systematische Benennung der chemischen Verbindungen erfolgte nach dem Nomenklaturprinzip der IUPAC-Kommision. Für die NMR-Auswertung sind entgegen der IUPAC-Nomenklatur die Signale des Thymins, der Ribose und der Mannose aus Gründen der Übersicht mit  $H_{\text{thy}}$  und  $C_{\text{thy}}$ ,  $H_{\text{ribo}}$  und  $C_{\text{ribo}}$  bzw.  $H_{\text{man}}$  und  $C_{\text{man}}$  bezeichnet.

#### Dünnschichtchromatographie

Dünnschichtchromatographie wurde auf Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>), RP-Dünnschichtchromatographie auf DC-Platten (RP-18 F<sub>254s</sub>) der Firmen Merck und Macherey und Nagel durchgeführt. Alle Lösungsmittelverhältnisse sind in v/v angegeben. Die Detektion



UV-aktiver Substanzen erfolgte mit Hilfe einer UV-Lampe der Firma CAMAG ( $\lambda = 254$  nm,  $\lambda = 366$  nm). Des Weiteren wurden folgende Anfärbereagenzien zur Detektion der Substanzen verwendet:

Schwefelsäure:	konz. Schwefelsäure (10 %ige Lösung in Ethanol)
Ninhydrin:	1.5 g Ninhydrin in 500 mL Ethanol und 15 mL Eisessig
Molybdophosphorsäure:	Molybdophosphorsäure (10 %ige Lösung in Ethanol)
Cer-(IV)-sulfat:	2.5 g Cer(IV)-sulfat, 6.25 g Phosphormolybdänsäure in 12 mL konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 235 mL Wasser
Kaliumpermanganat:	Kaliumpermanganat (0.5 %ige Lösung in Wasser)
Iod:	Iod in Substanz

### **Präparative Säulenchromatographie**

Die chromatographische Trennung erfolgte an Kieselgel 60 (0.04-0.2 mm, 230-400 mesh) der Firmen Merck und Macherey und Nagel unter leichtem Überdruck mit destillierten Lösungsmitteln.

### **Gelpermeationschromatographie**

Die Gelpermeationschromatographie wurde an Sephadex LH-20 der Firma Pharmacia Biotech oder an Biogel P4 der Firma BIO-RAD unter Verwendung einer peristaltischen Pumpe durchgeführt.

### **HPLC**

Analytische Trennung per HPLC wurde auf einer LaChrom-Anlage der Firma Merck durchgeführt: Interface D-7000, Pumpe L-7100, Autosampler L-7200, Column Oven L-7350 Dioden-Array-Detektor L-7455, RI-Detektor L-7490. Es wurden folgende Säulen verwendet: Merck RP-8, 5  $\mu$ m, Lichrospher, 250-4 mm; Merck RP-18e Chromolith Performance 100-4.6 mm; Merck Diol, 5  $\mu$ m, Lichrospher 100-4 mm.

Präparative Trennung per HPLC wurde auf einer Anlage der Firma Shimadzu durchgeführt: System Controller SCL-10A, Degasser DGU-14A, zwei Pumpen LC-8A, RI-Detektor RID-10A und Dioden-Array-Detektor SPD-M10A. Es wurden folgende Säulen verwendet: Hibar RT Merck RP-8, 7  $\mu$ m, LiChrosorb 250-25 mm.

### Kernresonanz-Spektroskopie

Die NMR-spektroskopischen Messungen erfolgten an den Geräten AV-200 (200 MHz, für  $^1\text{H}$ , 50 MHz für  $^{13}\text{C}$ ), ARX-300 (300 MHz, für  $^1\text{H}$ , 75 MHz für  $^{13}\text{C}$ ), DRX-500 (500.13 MHz, für  $^1\text{H}$ , 125.47 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) und AV-600 (600 MHz, für  $^1\text{H}$ , 150 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) der Firma Bruker. Die Zuordnung der Signale wurde mit Hilfe weiterer ein- und zweidimensionaler Methoden (DEPT,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY, HSQC und HMBC) vorgenommen. Die chemische Verschiebung  $\delta$  ist in ppm relativ zu TMS als interner Standard angegeben.

Die Spektren wurden mit Hilfe folgender Signale kalibriert:

$\text{CDCl}_3$	$^1\text{H}$	0.000 ppm (s) (interner Standard TMS)
	$^{13}\text{C}$	77.000 ppm (t)
$\text{MeOH-d}_4$	$^1\text{H}$	3.310 ppm (quint)
	$^{13}\text{C}$	49.050 ppm (sept)
$\text{DMSO-d}_6$	$^1\text{H}$	2.500 ppm (quint)
	$^{13}\text{C}$	30.838 ppm (sept)
$\text{D}_2\text{O}$	$^1\text{H}$	4.650 ppm (s)

### Massenspektrometrie

MALDI-ToF-Massenspektren wurden an einem Biflex III-Gerät der Firma Bruker-Daltonics aufgenommen. Als Matrices dienten DHB in Acetonitril/Wasser 1:1 (0.1% TFA) sowie CCA in Acetonitril/Wasser 1:1. Die Ionisierung erfolgte durch einen Stickstofflaser bei 337 nm mit 19 kV Beschleunigungsspannung.

ESI-Massenspektren wurden mit einem Mariner ESI-ToF 5280 der Firma Applied Biosystems aufgenommen.

### Drehwerte

Drehwerte wurden mit einem Polarimeter des Typs Perkin Elmer 341 (Na-D-Linie: 589 nm, Küvettenlänge: 1 dm) gemessen. Die Drehwerte  $\alpha$  sind in  $[\text{mL} \cdot (\text{mg} \cdot \text{dm})^{-1}]$  und die Konzentrationen  $c$  in  $[\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}]$  angegeben. Die Temperatur der Lösung für die jeweilige Messung ist hinter der Klammer in  $^\circ\text{C}$  angegeben.

### Infrarot-Spektroskopie

IR-Spektren wurden mit einem FT-IR-Spektrometer Paragon 1000 der Firma Perkin Elmer aufgenommen. Zur Probenvorbereitung wurde eine Golden-Gate-Diamant-ATR-Einheit mit Saphirstempel verwendet. Die Bandenlagen sind in Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) angegeben.

### **Elementaranalysen**

Die Elementaranalysen wurden in der analytischen Abteilung des Institutes für Anorganische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel angefertigt. Als Gerät diente ein Euro-EA, Elemental Analyzer der Firma EuroVector.

### **Bestrahlungsexperimente**

Bestrahlungsexperimente wurden mit Hilfe einer Mitteldruck-Quecksilberdampfampe TQ-150 (150 Watt) durchgeführt. Für die Dimerisierungsexperimente wurde ein Cut-Off-Filter W295 der Firma Schott verwendet.

### **Dynamische Lichtstreuung**

Universität Freiburg: Die DLS-Messungen wurden mit einem „compact goniometer system“ (ALV/DLS/SLS system 5000 der Firma ALV GmbH, Langen) unter Verwendung eines HeNe-Lasers (23 mW) der Firma JDS Uniphase mit einer Wellenlänge von 633 nm durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit einem „ALV 5000 Hardware-Korrelator“ unter der Verwendung der Software „ALV Correlator Software 3.0“. Die Proben wurden so weit verdünnt, bis keine Trübung mehr zu erkennen war. Die Messzeit pro Winkel betrug bei Winkeln  $\leq 30^\circ$  600 s und bei Winkeln  $> 30^\circ$  1200 s.

Universität Kiel: Die DLS-Messungen wurden an einem FPAR-1000 der Firma Photal in einem Winkel von  $90^\circ$  durchgeführt. Insbesondere bei breiten Teilchengrößeverteilungen dominiert der Beitrag großer Partikel die gesamte Streulichtintensität und kleine Partikel werden nicht genau erfasst. Die Verteilungen beziehen sich auf die Probenmasse. Die Angabe „10 % < 100 nm“ bedeutet, dass ein Anteil von Teilchen, der 10 % der Probenmasse ausmacht, eine Größe von unter 100 nm besitzt.

### **ELISA-Reader**

Zum Auswertung der biologischen Tests wurde ein Infinite F200-Reader der Firma Tecan mit der Magellan-Steuerungssoftware verwendet.

### **Mikrotiterplatten**

Es wurden folgende Mikrotiterplatten der Firma Thermo Fisher Scientific, Nunc verwendet: 96 Well Black, 96 Well Immobilizer Amino<sup>TM</sup> F96 MicroWell<sup>TM</sup> Black, 96 Well Immobilizer Amino<sup>TM</sup> F96 MicroWell<sup>TM</sup> Transparent Stripes.

**Optische Mikroskopie**

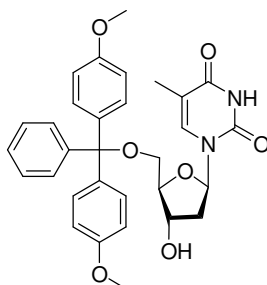
Für die optischen Mikroskopieaufnahmen wurde ein BX 60 Mikroskop der Firma Olympus mit Ölimmersionsoptik (numerische Apparatur 1.35).

**Transmissionselektronenmikroskopie**

Für die TEM-Messungen wurden wässrige Dispersionen der Proben auf einem TEMGrid mit Kohlefilm getrocknet. Die Messungen wurden mit einem TEM LEO 912 Omega der Firma Zeiss durchgeführt. Die Transmissionselektronenmikroskopie wurde in den Mikroskopiezentren der Universität Kiel (Abbildung 11 links) und der Universität Freiburg (Abbildung 94 und Abbildung 95) durchgeführt.

## 6.2 Einzelvorschriften

### 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2'-desoxythymidin (**2**)<sup>[98]</sup>



2'-Desoxythymidin (**1**, 500 mg, 2.06 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde dreimal mit abs. Pyridin (5 mL) codestilliert und anschließend in abs. Pyridin (20 mL) suspendiert. DMTCl (838 mg, 2.47 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde zugesetzt und die Reaktionsmischung 3 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von MeOH (1 mL) unter Eiskühlung beendet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 100 / 0 → 99 / 1, → 99 / 2 → 99 / 5) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

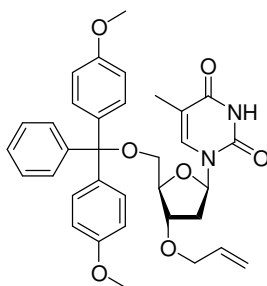
**Ausbeute:** 998 mg, 1.83 mmol (M = 544.56 g/mol), 89 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.37 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 9:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 8.62 (br s, 1H, NH), 7.58 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 7.37-7.41 (m, 2H, Ar-H), 7.27-7.30 (m, 7H, Ar-H), 6.83 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 4H, Ar-H), 6.41 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H, H<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 4.57 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 1H, H<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 3.47 (dd, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 3.37 (dd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.41 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 1.49 (s, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS): δ = 163.8 (C<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 158.7 (C<sub>q,Ar</sub>), 150.5 (C<sub>2<sub>thy</sub></sub>), 144.3 (C<sub>q,Ar</sub>), 135.7 (C<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 135.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>), 127.2 (CH<sub>Ar</sub>), 113.3 (CH<sub>Ar</sub>), 111.3 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>), 87.0 (C<sub>q,DMT</sub>), 86.2 (C<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 84.8 (C<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 72.5 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 63.6 (C<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 55.3 (2 x OCH<sub>3</sub>), 41.0 (C<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 11.8 (CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>31</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: *m/z* 567.2102 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 567.26143 [M+Na]<sup>+</sup>.

**3'-O-Allyl-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxythymidin (3)**<sup>[100]</sup>


Das Thymidinderivat **2** (50 mg, 0.092 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. THF (2 mL) gelöst und mit NaH (9 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.2 mmol, 2.5 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 15 min mit Ultraschall behandelt. Allylbromid (20 µL, 0.23 mmol, 2.5 Äquiv.) wurde zugegeben und es wurde weitere 5 h im Ultraschalbad gerührt. Die Lösung wurde in gesättigte wässrige NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (5 mL) gegeben und dreimal mit Essigsäureethylester (je 10 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und nach anschließender Filtration das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 50 mg, 0.086 mmol (M = 584.25 g/mol) 93 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.22 (Cy / EtOAc, 1:1);

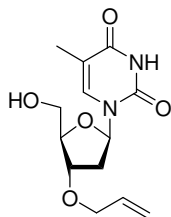
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 8.51 (s, 1H, NH), 7.61 (q, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 7.41-7.38 (m, 2H, Ar-H), 7.31-7.22 (m, 7H, Ar-H), 6.84 (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 4H, Ar-H), 6.35 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.85 (dddd~ddt, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.24 (dddd~ddt, <sup>2</sup>J = 1.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.19 (dddd~ddt, <sup>2</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.25 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.14 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.99 (dddd~ddt, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 12.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.92 (dddd~ddt, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>2</sup>J = 12.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.49 (dd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.31 (dd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.48 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.19 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.47 (d, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 163.6 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 158.8 (C<sub>q,Ar</sub>), 150.2 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 144.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 135.6 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 135.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 135.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 134.1 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>), 127.2 (CH<sub>Ar</sub>), 117.5 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 113.3 (CH<sub>Ar</sub>), 111.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>),

86.9 ( $C_{q,DMT}$ ), 84.9 ( $C_{1,ribo}$ ), 84.2 ( $C_{4,ribo}$ ), 78.8 ( $C_{3,ribo}$ ), 70.3 ( $CH_2CH=CH_2$ ), 63.6 ( $C_{5,ribo}$ ), 55.3 (2x  $OCH_3$ ), 38.1 ( $C_{2,ribo}$ ), 11.9 ( $C_{5,thy}-CH_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $C_{34}H_{36}N_2O_7$ :  $m/z$  607.2415  $[M+Na]^+$ ; gef.:  $m/z$  607.2477  $[M+Na]^+$ .

### 3'-*O*-Allyl-2'-desoxythymidin (**4**)<sup>[102]</sup>



Das DMT-geschützte Thymidinderivat **3** (40 mg, 0.068 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in TFA (3 % in  $CH_2Cl_2$ , 3 mL) gelöst. Die Reaktion wurde 15 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1 → 0:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

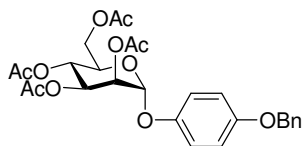
**Ausbeute:** 17 mg, 0.060 mmol ( $M = 282.12$  g/mol), 89 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.24 (EtOAc);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $CDCl_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 8.40$  (br s, 1H, NH), 7.36 (dq~pent.,  $^4J = 1.1$  Hz, 1H, H<sub>6,thy</sub>), 6.10 (dt,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H<sub>1,ribo</sub>), 5.91 (dddd~ddt,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^3J = 17.2$  Hz, 1H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 5.31 (dddd~ddt,  $^2J = 1.6$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz,  $^3J = 17.2$  Hz, 1H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 5.23 (dddd~ddt,  $^2J = 1.6$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz, 1H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 4.24 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>3,ribo</sub>), 4.12 (ddd~dt,  $^3J = 2.9$  Hz,  $^3J = 2.9$  Hz,  $^3J = 2.9$  Hz, 1H, H<sub>4,ribo</sub>), 4.04 (dddd~ddt,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^2J = 12.6$  Hz, 1H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 3.99 (dddd~ddt,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^2J = 12.6$  Hz, 1H,  $CH_2CH=CH_2$ ), 3.95 (dd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^2J = 11.9$  Hz, 1H, H<sub>5,ribo</sub>), 3.81-3.76 (m, 1H, H<sub>5,ribo</sub>), 2.65-2.48 (m, 1H,  $C_{5,ribo}-OH$ ), 2.37-2.35 (m, 2H, H<sub>2,ribo</sub>), 1.92 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H,  $C_{5,thy}-CH_3$ ) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz,  $CDCl_3 + 1Tr.$   $CD_3OD$ , 297 K, TMS)  $\delta = 164.1$  ( $C_{4,thy}$ ), 150.5 ( $C_{2,thy}$ ), 136.8 ( $C_{6,thy}$ ), 134.1 ( $CH_2CH=CH_2$ ), 117.4 ( $CH_2CH=CH_2$ ), 110.9 ( $C_{5,thy}$ ), 86.4 ( $C_{1,ribo}$ ), 85.2 ( $C_{4,ribo}$ ), 78.5 ( $C_{3,ribo}$ ), 70.4 ( $CH_2CH=CH_2$ ), 62.3 ( $C_{5,ribo}$ ), 37.3 ( $C_{2,ribo}$ ), 12.2 ( $C_{5,thy}-CH_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $C_{13}H_{18}N_2O_5$ :  $m/z$  305.1108  $[M+Na]^+$ ; gef.:  $m/z$  305.1110  $[M+Na]^+$ .

**(4-Benzyloxyphenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (9)**

Das Mannosyltrichloracetimidat **8** (900 mg, 1.83 mmol, 1 Äquiv.) und 4-Benzyloxyphenol (439 mg, 2.19 mmol, 1.2 Äquiv.) wurden zusammen zweimal in Toluol (5 mL) suspendiert und vom Lösungsmittel befreit. Das Gemisch wurde in abs. Dichlormethan (20 mL) gelöst, mit Molekularsieb (4 Å) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Unter Eiskühlung wurde über einen Zeitraum von 20 min TMSOTf (10 mL, 0.01 mmol in Dichlormethan) zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Es wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (15 mL) gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 662 mg, 1.25 mmol (M = 530.52 g/mol), 68 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.43 (Cy / EtOAc, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +57.9$  (c = 0.98, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 94 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 7.43$ -7.36 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>), 7.34-7.29 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.01 (d, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.97 (d, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.56 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 5.43 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 5.40 (d, <sup>3</sup>J = 2.0 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 5.35 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H<sub>4man</sub>), 5.02 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.28 (dd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 4.13 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H<sub>5man</sub>), 4.09 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 2.19 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.5$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 154.6 (C<sub>q,Ar</sub>), 149.9 (C<sub>q,Ar</sub>), 137.0 (C<sub>q,Ar</sub>), 128.6 (CH<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>), 127.4 (CH<sub>Ar</sub>), 117.8 (CH<sub>Ar</sub>), 115.8 (CH<sub>Ar</sub>), 96.6 (C<sub>1man</sub>), 70.5 (OCH<sub>2</sub>Ph), 69.5 (C<sub>2man</sub>), 69.1, 68.9 (C<sub>3man</sub>, C<sub>5man</sub>), 66.1 (C<sub>4man</sub>), 62.2 (C<sub>6man</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

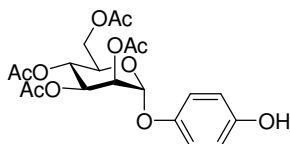
**ESI-MS:** ber. für C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>11</sub>: *m/z* 553.1680 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 553.1691 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 1750, 1734, 1505, 1367, 1245, 1204, 1109, 1084, 1070, 1048, 1028, 970, 954, 930, 825, 804, 768, 748, 700, 615, 470$  cm<sup>-1</sup>.



EA C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>11</sub> (M = 530.52 g/mol): ber.: C 61.13, H 5.70; gef.: C 61.17, H 5.75.

**(4-Hydroxyphenyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (10)**



(4-Benzyloxy-phenyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**9**, 100 mg, 0.188 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Essigsäureethylester (5 mL) gelöst. Es wurde Palladium auf Aktivkohle (20 mg) zugegeben und die Reaktion unter Wasserstoffatmosphäre 18 h heftig gerührt. Nach anschließender Filtration über Celite wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 83 mg, 0.19 mmol (M = 440.40 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.27 (Cy / EtOAc, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +66.8$  (c = 1.095, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 102 °C;

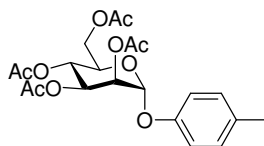
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 7.93$  (d, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.76 (d, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.88 (s, 1H, OH), 5.55 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 5.43 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 5.38 (d, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 5.36 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 4.28 (dd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.14 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 4.11 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 2.19 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.8$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 151.8 (C<sub>q,Ar</sub>), 149.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 117.9 (CH<sub>Ar</sub>), 116.0 (CH<sub>Ar</sub>), 96.6 (C1<sub>man</sub>), 69.5 (C2<sub>man</sub>), 69.0, 69.0 (C3<sub>man</sub>, C5<sub>man</sub>), 66.1 (C4<sub>man</sub>), 62.2 (C6<sub>man</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>: *m/z* 463.1211 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 463.1168 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3455, 2994, 1740, 1718, 1508, 1445, 1367, 1245, 1204, 1109, 1084, 1070, 1048, 1028, 970, 954, 930, 825, 804, 768, 748, 700, 615, 470$  cm<sup>-1</sup>.

EA C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub> (M = 440.3980 g/mol): ber.: C 54.54, H 5.49; gef.: C 54.54, H 5.57.

**(4-Methylphenyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (12)**<sup>[108]</sup>

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-mannopyranosyltrichloracetimidat (**8**, 1.00 g 2.03 mmol, 1 Äquiv.) und *p*-Kresol (264 mg, 2.44 mmol, 1.2 Äquiv.) wurden vereinigt und zweimal in Toluol (5 mL) suspendiert und vom Lösungsmittel befreit. Das Gemisch wurde in abs. Dichlormethan (20 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Unter Eiskühlung wurde über einen Zeitraum von 30 min TMSOTf (10 mL, 0.01 mmol in abs. Dichlormethan) zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Es wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen (15 mL), über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser kristalliner Feststoff erhalten.

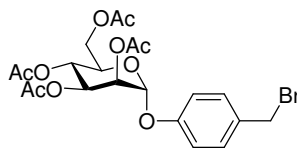
**Ausbeute:** 0.75 g, 1.71 mmol (M = 438.43 g/mol), 84 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.55 (Cy / EtOAc, 2:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.09 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.6 Hz, 2H H<sub>Ar</sub>), 6.97 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.6 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.56 (dd, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>), 5.47 (d, <sup>3</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1<sub>man</sub></sub>), 5.44 (dd, <sup>3</sup>*J* = 1.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2<sub>man</sub></sub>), 5.36 (dd~t, <sup>3</sup>*J* = 10.1 Hz, 1H, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 4.28 (dd, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.11 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 2.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.1 Hz, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 4.07 (dd, <sup>3</sup>*J* = 2.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 2.30 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.19 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 170.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 153.5 (C<sub>q,Ar</sub>), 132.5 (C<sub>q,Ar</sub>), 130.0 (CH<sub>Ar</sub>), 116.4 (CH<sub>Ar</sub>), 96.0 (C<sub>1<sub>man</sub></sub>), 69.4, 69.0, 68.9, 66.0 (C<sub>2<sub>man</sub></sub>, C<sub>3<sub>man</sub></sub>, C<sub>4<sub>man</sub></sub>, C<sub>5<sub>man</sub></sub>), 62.2 (C<sub>6<sub>man</sub></sub>), 20.9, 20.7, 20.7, 20.7, 20.6 (4 x C(O)CH<sub>3</sub>, Ar-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>: *m/z* 461.1424 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 461.1439 [M+Na]<sup>+</sup>;

**[4-(Brommethyl)-phenyl]-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (13)**

Das 4-Methylphenylmannosid **12** (206 mg, 0.470 mmol, 1.0 Äquiv.), Dibromdimethylhydantoin (DBDMH) (60 mg, 0.21 mmol, 0.45 Äquiv.) und AIBN (3 mg, 0.018 mmol, 0.039 Äquiv) wurden unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre in abs. Benzol (10 mL) gelöst und 90 min bei Bestrahlung mit einer 150 W Wolframlampe unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 3:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 194 mg, 0.375 mmol (M = 517.32 g/mol), 80 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.50 (Cy / EtOAc, 2:1);

$[\alpha]_D^{20} = +56.8^\circ$  (c = 1.25 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

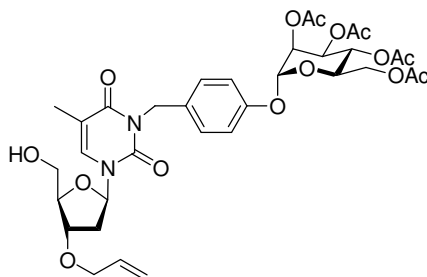
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS):  $\delta = 7.34$  (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.06 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.55 (dd, <sup>3</sup>J = 3.6 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 5.53 (d, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 5.43 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.6 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 5.36 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4man</sub>), 4.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Br), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 12.7 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 4.09-4.04 (m, 2H, H<sub>5man</sub>, H<sub>6man</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.6$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 155.5 (C<sub>q,Ar</sub>), 132.5 (C<sub>q,Ar</sub>), 130.5 (CH<sub>Ar</sub>), 116.7 (CH<sub>Ar</sub>), 95.6 (C<sub>1man</sub>), 69.3, 69.2, 68.8, (C<sub>2man</sub>, C<sub>3man</sub>, C<sub>5man</sub>), 65.9 (C<sub>4man</sub>), 62.1 (C<sub>6man</sub>), 33.1 (CH<sub>2</sub>Br), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>BrO<sub>10</sub>: *m/z* 539.0523, 541.0506 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 539.0546, 541.0520 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3359, 2953, 1741, 1610, 1588, 1510, 1433, 1365, 1214, 1180, 1127, 1089, 1057, 1029, 976, 938, 914, 832, 690, 623, 599$  cm<sup>-1</sup>.

***N*<sup>3</sup>-[(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-phenyl-*p*-methyl]-3'-*O*-allyl-2'-desoxythymidin (15)**



3'-Allylthymidinderivat **4** (16 mg, 0.057 mmol, 1.2 Äquiv.) wurde in abs. DMF (2 mL) vorgelegt, mit NaH (2.3 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.057 mmol, 1.2 Äquiv.) versetzt und 15 min mit Ultraschall behandelt. Anschließend wurde das (4-Brommethyl)-phenylmannosid **13** (24 mg, 0.047 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. DMF (1 mL) zugegeben und die Lösung 6 h mit Ultraschall behandelt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser (1 mL) beendet und dreimal mit Diethylether (je 5 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:4) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 15.2 mg, 0.021 mmol (M = 718.70 g/mol), 45 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.20 (Cy / EtOAc, 1:4);

$[\alpha]_D^{22} = +57.6$  (c = 0.535, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp:** 80 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS):  $\delta$  = 7.44 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.31 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 7.00 (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.12 (dd, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 5.89 (dddd~ddt, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.54 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 5.48 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 5.42 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 5.35 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4man</sub>), 5.31 (dddd~ddt, <sup>2</sup>J = 1.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.21 (dddd~ddt, <sup>2</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.26 (dd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 4.23 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.09 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 4.06 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>5man</sub>), 4.04 (dd, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 4.04 (dddd~ddt, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 12.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.98 (dddd~ddt, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz,

$^3J = 5.6$  Hz,  $^2J = 12.7$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.93 (dd,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^2J = 11.9$  Hz, 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 3.78 (dd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^2J = 11.9$  Hz, 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 2.36 (ddd,  $^3J = 3.0$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^2J = 13.7$  Hz, 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.32 (ddd,  $^3J = 6.5$  Hz,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^2J = 13.7$  Hz, 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.19 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.04 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.93 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H,  $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

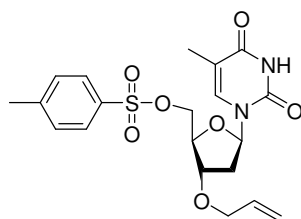
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.5$  ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.9 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.9 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 163.2 ( $\text{C4}_{\text{thy}}$ ), 155.1 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 151.0 ( $\text{C2}_{\text{thy}}$ ), 135.0 ( $\text{C6}_{\text{thy}}$ ), 134.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.6 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 130.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 117.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 116.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 110.4 ( $\text{C5}_{\text{thy}}$ ), 95.8 ( $\text{C1}_{\text{man}}$ ), 88.1 ( $\text{C1}_{\text{ribo}}$ ), 85.1 ( $\text{C4}_{\text{ribo}}$ ), 78.5 ( $\text{C3}_{\text{ribo}}$ ), 70.5 ( $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.4 ( $\text{C2}_{\text{man}}$ ), 69.1 ( $\text{C5}_{\text{man}}$ ), 68.9 ( $\text{C3}_{\text{man}}$ ), 66.0 ( $\text{C4}_{\text{man}}$ ), 62.9 ( $\text{C5}_{\text{ribo}}$ ), 62.1 ( $\text{C6}_{\text{man}}$ ), 43.8 ( $\text{NCH}_2\text{-Ar}$ ), 37.2 ( $\text{C2}_{\text{ribo}}$ ), 20.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 13.3 ( $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{15}$ :  $m/z$  741.2477  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  741.2385  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3461, 2933, 1744, 1699, 1667, 1639, 1509, 1467, 1367, 1214, 1127, 1086, 1033, 981, 918, 778$   $\text{cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{15}$  ( $M = 718.7017$  g/mol): ber.: C 56.82, H 5.89, N 3.90, gef.: C 56.93, H 5.94, N 3.92.

### 3'-O-Allyl-5'-O-(p-toluolsulfonyl)-2'-desoxythymidin (17)



Das Thymidinderivat **4** (20 mg, 0.071 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Pyridin (2 mL) gelöst und bei 0 °C mit Tosylchlorid (27 mg, 0.14 mmol, 2.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 36 h bei Raumtemp. gerührt. Es wurde Essigsäureestylester (10 mL) zugegeben und mit gesättigter wässriger  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (7 mL) und dest. Wasser (7 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:2) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

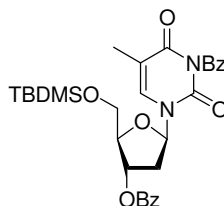
**Ausbeute:** 24 mg, 0.055 mmol ( $M = 436.48$  g/mol), 77 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.59 (Cy / EtOAc, 1:4);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 8.23 (s, br, 1H, NH), 7.79 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, CH-Ar), 7.38 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, CH-Ar), 7.38 (q, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 6.30 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 5.85 (ddt, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (ddt, <sup>2</sup>J = 1.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J = 17.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.21 (ddt, <sup>2</sup>J = 1.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 10.9 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.21 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 10.9 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.18-4.12 (m, 2H, H<sub>3ribo</sub>, H<sub>4ribo</sub>), 4.01 (ddt, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.92 (ddt, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, <sup>2</sup>J = 12.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 2.47 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.42 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.08 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 1.95 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 3H, C<sub>5ribo</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: *m/z* 459.1196 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 459.1080 [M+Na]<sup>+</sup>;

### Di-*N*<sup>3</sup>,*3'*-*O*-benzoyl-5'-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2'-desoxythymidin (20)<sup>[113]</sup>



2'-Desoxythymidin (**1**, 500 mg, 2.06 mmol, 1.00 Äquiv.) und TBDMSCl (327 mg, 2.17 mmol, 1.05 Äquiv.) wurden in abs. Pyridin (10 mL) gelöst und bei Raumtemp. 16 h gerührt. DMAP (378 mg, 3.09 mmol, 1.5 Äquiv.) und Benzoylchlorid (1.43 mL, 12.4 mmol, 6.00 Äquiv.) wurden zugegeben und die Lösung wurde erneut 26 h bei Raumtemp. gerührt. Es wurde mit Chloroform (30 mL) verdünnt und mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (20 mL) neutralisiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Chloroform (20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Tol / EtOAc, 100:0 → 20:1 → 9:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 989 mg, 1.75 mmol (M = 564.70 g/mol), 85 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.53 (Tol / EtOAc, 4:1);

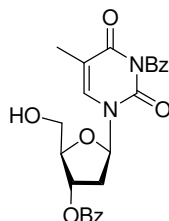
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS): δ = 8.02-8.00 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.95-7.93 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.72 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 7.66-7.63 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.60-7.56 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.51-

7.48 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.46-7.42 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.48 (dd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.52 (m<sub>c</sub>, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.28 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.06 (dd, <sup>3</sup>J = 2.0 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 4.01 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.62 (ddd, <sup>3</sup>J = 0.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.29 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.99 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.99 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.20 (s, 6H, 2x SiCH<sub>3</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 168.9 (C(O)Ph), 166.1 (C(O)Ph), 162.8 (C4<sub>thy</sub>), 149.4 (C2<sub>thy</sub>), 135.0 (CH<sub>Ar</sub>), 134.9 (C6<sub>thy</sub>), 133.6 (CH<sub>Ar</sub>), 131.7 (C<sub>q,Ar</sub>), 130.5 (CH<sub>Ar</sub>), 129.7 (CH<sub>Ar</sub>), 129.3 (C<sub>q,Ar</sub>), 129.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH<sub>Ar</sub>), 111.4 (C5<sub>thy</sub>), 85.7 (C1<sub>ribo</sub>), 85.1 (C4<sub>ribo</sub>), 76.0 (C3<sub>ribo</sub>), 63.7 (C5<sub>ribo</sub>), 38.3 (C2<sub>ribo</sub>), 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 12.6 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -5.3 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: ber. für C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>Si: *m/z* 587.2184 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 587.2084 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Di-*N*<sup>3</sup>,3'-*O*-benzoyl-2'-desoxythymidin (21)<sup>[113]</sup>



Zu einer Lösung von Di-*N*<sup>3</sup>,3'-*O*-benzoyl-5'-*O*-*tert*-butyldimethylsilylthymidin **20** (209 mg, 0.370 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Methanol (3 mL) wurde Tetrabrommethan (12 mg, 0.037 mmol, 0.1 Äquiv.) gegeben. Die Lösung wurde 90 min unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (CHCl<sub>3</sub> / EtOH, 100:0 → 95:5) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 144 mg, 0.320 mmol (M = 450.44 g/mol), 86 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.37 (CHCl<sub>3</sub>/EtOH 95:5);

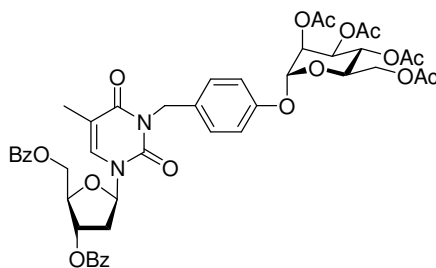
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS): δ = 8.04-8.01 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.95-7.93 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.72 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 7.66-7.63 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.61-7.58 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 7.51-7.48 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.47-7.44 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.40 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.61 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.27 (dt, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.03 (d, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, 2H, H5<sub>ribo</sub>), 2.60 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz,

$^1\text{H}$ ,  $\text{H}_{2\text{ribo}}$ ), 2.54 (ddd,  $^3J = 6.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.3 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.1 \text{ Hz}$ ,  $1\text{H}$ ,  $\text{H}_{2\text{ribo}}$ ), 1.99 (d,  $^4J = 1.2 \text{ Hz}$ ,  $3\text{H}$ ,  $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 297 K, TMS):  $\delta = 168.9$  ( $\text{C}(\text{O})\text{Ph}$ ), 166.1 ( $\text{C}(\text{O})\text{Ph}$ ), 162.8 ( $\text{C}_{4\text{thy}}$ ), 149.5 ( $\text{C}_{2\text{thy}}$ ), 136.0 ( $\text{C}_{6\text{thy}}$ ), 135.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 133.6 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 131.6 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 130.4 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 129.2 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 129.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.5 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 111.4 ( $\text{C}_{5\text{thy}}$ ), 85.8 ( $\text{C}_{1\text{ribo}}$ ), 85.3 ( $\text{C}_{4\text{ribo}}$ ), 75.3 ( $\text{C}_{3\text{ribo}}$ ), 62.6 ( $\text{C}_{5\text{ribo}}$ ), 37.7 ( $\text{C}_{2\text{ribo}}$ ), 12.6 ( $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

ESI-MS: ber.für  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_7$ :  $m/z$  473.132  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  473.206  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

### $N^3$ -[*p*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-benzyl]-3',5'-di-*O*-benzoyl-2'-desoxythymidin (25)



Das Mannosid **13** (21.4 mg, 0.041 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Aceton (2 mL) gelöst, mit NaI (6.2 mg, 0.041 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt und 10 min gerührt, um es in das entsprechende Iodid zu überführen. Das ausgefallene NaBr wurde abfiltriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Thymidinderivat **21** (18 mg, 0.041 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (1 mL) gelöst und mit NaH (1.6 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.041 mmol, 1.0 Äquiv) versetzt. Nach 30 minütigem Rühren wurde das Iodid in abs. DMF (1 mL) zugegeben und die Reaktionsmischung 14 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1  $\rightarrow$  1:1  $\rightarrow$  1:2) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 12.4 mg, 0.0139 mmol ( $M = 886.85 \text{ g/mol}$ ), 34 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.11 (Cy / EtOAc, 2:1);

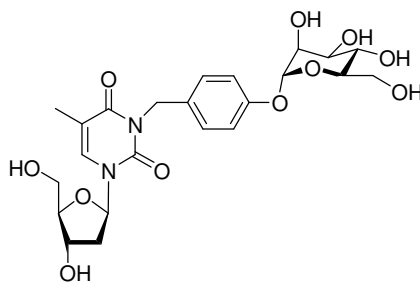
$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 297 K, TMS):  $\delta = 8.08\text{-}8.02$  (m, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.64-7.59 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.51-7.43 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.24 (q,  $^4J = 1.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{6\text{thy}}$ ), 7.00 (d,  $^3J = 8.8 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.50 (dd,  $^3J = 5.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ ), 5.66-5.63 (m, 1H,  $\text{H}_{3\text{ribo}}$ ), 5.54 (dd,  $^3J = 3.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{3\text{man}}$ ), 5.48 (d,  $^3J = 1.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{man}}$ ), 5.41 (dd,  $^3J = 1.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{2\text{man}}$ ), 5.35 (dd-t,  $^3J = 10.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{4\text{man}}$ ), 5.06 (d, 1H,



$^2J = 13.8$  Hz, CH<sub>2</sub>Ar), 5.02 (d, 1H,  $^2J = 13.6$  Hz, CH<sub>2</sub>Ar), 4.79 (dd,  $^3J = 3.0$  Hz,  $^2J = 12.2$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 4.67 (dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^2J = 12.$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 4.54-4.52 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.27 (dd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 11.9$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.06 (ddd,  $^3J = 2.3$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 4.03 (dd,  $^3J = 2.3$  Hz,  $^3J = 12.4$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 2.70 (ddd,  $^3J = 1.5$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.34-2.29 (m 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.19 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.65 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>45</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub>:  $m/z$  909.2689 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  909.2620 [M+Na]<sup>+</sup>.

### *N*<sup>3</sup>-[*p*-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-benzyl]-2'-desoxythymidin (26)



Zu einer Lösung des acetylgeschützten Glycothymidinderivates **47** (100 mg, 0.147 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Methanol (7 mL) wurde Natriummethanolat (63.7 mg, 1.18 mmol, 8.0 Äquiv.) gegeben und die Reaktion 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die basische Reaktionslösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 75.0 mg, 0.147 mmol (M = 510.49 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.28 (EtOAc / MeOH, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +34.1^\circ$  (c = 1.18, MeOH);

**Schmp.:** 92 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O, 297 K):  $\delta = 7.65$  (q,  $^4J = 1.3$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 7.27 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, CH<sub>Ar</sub>), 7.06 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, CH<sub>Ar</sub>), 6.26 (dd~t,  $^3J = 6.7$  Hz,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.56 (d,  $^3J = 1.9$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 5.03 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.42 (ddd~dt,  $^3J = 4.2$  Hz,  $^3J = 4.2$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.12 (dd,  $^3J = 1.9$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz, 1H H2<sub>man</sub>), 3.98-4.02 (m, 2H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>ribo</sub>), 3.81 (dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^2J = 12.4$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.64-3.75 (m, 5H, H5<sub>ribo</sub>, H4<sub>man</sub>, H5<sub>man</sub>, H6<sub>man</sub>, H6<sub>man</sub>), 2.35 (ddd,  $^3J = 4.4$  Hz,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^2J = 14.2$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>),

2.30 (ddd,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^2J = 14.2$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.90 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

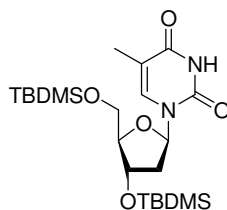
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 297 K):  $\delta = 167.2$  (C4<sub>thy</sub>), 156.5 (C<sub>Ar</sub>), 153.4 (C2<sub>thy</sub>), 137.4 (C6<sub>thy</sub>), 132.5 (C<sub>Ar</sub>), 130.7 (CH<sub>Ar</sub>), 118.9 (CH<sub>Ar</sub>), 112.5 (C5<sub>thy</sub>), 99.9 (C1<sub>man</sub>), 88.3 (C4<sub>ribo</sub>), 87.7 (C1<sub>ribo</sub>), 75.1, 72.1 (C4<sub>man</sub> C5<sub>man</sub>), 72.1 (C3<sub>ribo</sub>), 71.6 (C2<sub>man</sub>), 68.3 (C3<sub>man</sub>), 62.9, 62.4 (C5<sub>ribo</sub>, C6<sub>man</sub>), 45.8 (CH<sub>2</sub>Ar), 40.4 (C2<sub>ribo</sub>), 14.0 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>:  $m/z$  533.1742 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  533.1774 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3311, 2930, 2816, 2779, 1693, 1621, 1589, 1509, 1470, 1370, 1353, 1267, 1227, 1095, 1048, 1012, 978, 918, 856, 810, 785, 764$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub> (M = 510.4911 g/mol): ber.: C 54.11, H 5.92, N 5.49; gef.: C 45.05, H 6.01, N 4.33.

### 3',5'-Di-*tert*-butyldimethylsilyl-2'-desoxythymidin (27)<sup>[115]</sup>



2'-Desoxythymidin (**1**, 1.00 g, 4.13 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (20 mL) gelöst und mit Imidazol (1.69 g, 24.8 mmol, 6.0 Äquiv.) und TBDMSCl (1.87 g, 12.4 mmol, 3.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.94 g, 4.13 mmol (M = 470.75 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.55 (Cy / EtOAc, 1:1);

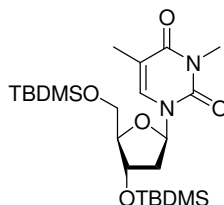
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS):  $\delta = 8.35$  (br s, 1H, NH), 7.47 (q,  $^4J = 0.8$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.33 (dd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 8.0$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.41 (ddd~dt,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 3.94 (ddd~dt,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 2.5$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.87 (dd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^2J = 11.4$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.76 (dd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^2J = 11.4$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.25 (ddd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^2J = 13.1$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.00 (ddd,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 8.0$  Hz,  $^2J = 13.1$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.92 (d,  $^4J = 0.8$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.93 (s, 9H,

SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.12 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS): δ = 163.7 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.2 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 135.5 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.8 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 87.8 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 84.9 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 72.3 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 63.0 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 41.4 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 12.5 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -4.6 (SiCH<sub>3</sub>), -4.8 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: ber. für C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>: *m/z* 493.2525 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 493.2591 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 3',5'-Di-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-*N*<sup>3</sup>-methyl-2'-desoxythymidin (28)



Das Thymidinderivat **27** (100 mg, 0.212 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Acetonitril (5 mL) gelöst und mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (70 mg, 0.51 mmol, 2.4 Äquiv.) und anschließend mit MeI (69 µL, 1.1 mmol, 5.2 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt und über Celite filtriert. Es wurde mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung (2 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Dichlormethan (10 mL) extrahiert und die organischen Phasen erneut mit gesättigter wässriger NaCl-Lösung (10 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 3:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 59 mg, 0.122 mmol (M = 484.78 g/mol), 57 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.41 (Cy / EtOAc, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +21.2$  (c = 0.965, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 65 °C;

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS): δ = 7.46 (q, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.36 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 7.9 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.40 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 3.94 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.86 (dd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.77 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.34 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.27 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.1 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.99 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz,

$^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 13.1$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.94 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.93 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

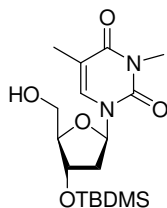
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 297 K, TMS):  $\delta = 163.7$  (C4<sub>thy</sub>), 151.1 (C2<sub>thy</sub>), 133.3 (C6<sub>thy</sub>), 109.8 (C5<sub>thy</sub>), 87.8 (C4<sub>ribo</sub>), 85.6 (C1<sub>ribo</sub>), 72.2 (C3<sub>ribo</sub>), 63.0 (C5<sub>ribo</sub>), 41.5 (C2<sub>ribo</sub>), 27.8 (NCH<sub>3</sub>), 25.9 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -4.6 (SiCH<sub>3</sub>), -4.8 (SiCH<sub>3</sub>), -5.3 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub>:  $m/z$  507.2681 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  507.2630 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2952, 2928, 2897, 2857, 1703, 1679, 1643, 1472, 1252, 1196, 1124, 1098, 1059, 1029, 1006, 979, 966, 951, 920, 829, 813, 775, 760, 753, 674$  cm<sup>-1</sup>.

**EA** C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> (M = 484.7769 g/mol): ber.: C 56.98, H 9.15, N 5.78, gef.: C 57.22, H 9.02, N 5.79.

### 3'-O-tert-Butyldimethylsilyl-N<sup>3</sup>-methyl-2'-desoxythymidin (29)



Das disilylierte Thymidinderivat **28** (130 mg, 0.268 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (10 mL) gelöst und mit PPTS (270 mg, 1.07 mmol, 4.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 16.5 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> abgebrochen und das Reaktionsgemisch dreimal mit Dichlormethan (je 20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 20 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 48 mg, 0.13 mmol (M = 370.52 g/mol), 48 %.

Alternative Synthese:

Das disilylierte Thymidinderivat **28** (140 mg, 0.289 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in einem Gemisch aus Essigsäure / Wasser / THF (15 mL, 13 : 7 : 3) gelöst und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> abgebrochen und das

Reaktionsgemisch dreimal mit Dichlormethan (je 20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 20 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

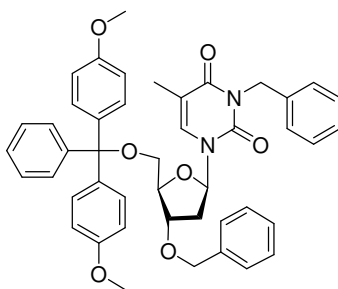
**Ausbeute:** 40 mg, 0.11 mmol (M = 370.52 g/mol), 40 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.43 (Cy / EtOAc, 1:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.32 (q, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.11 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.50 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 3.94 m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.92 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.33 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.38 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.21 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.7 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.94 (d, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.93 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.12 (s, 6H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS): δ = 163.6 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 151.1 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 134.9 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 88.1 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 87.6 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 71.7 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 62.2 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 40.5 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 27.8 (NCH<sub>3</sub>), 25.7 (2 x SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -4.7 (SiCH<sub>3</sub>), -4.8 (SiCH<sub>3</sub>) ppm.

### Di-*N*<sup>3</sup>,3'-*O*-benzyl-5'-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)-2'-desoxythymidin (33)



Das Thymidinderivat **2** (850 mg, 1.56 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in einem Toluol-Dioxan-Gemisch (20 mL, 3:1) gelöst und mit Benzylbromid (1.18 mL, 9.92 mmol, 6.4 Äquiv.) und Kaliumhydroxid (2.27 g, 41.2 mmol, 26 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei 110 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser (10 mL) beendet. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit HCl (5 mL, 2 N) neutralisiert und dreimal mit Dichlormethan (je 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 729 mg, 1.01 mmol (M = 724.84 g/mol), 64 %.

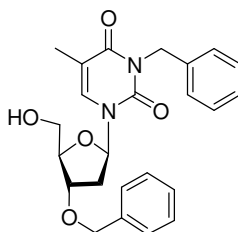
**R<sub>f</sub>:** 0.48 (Cy / EtOAc, 1:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.58 (q, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 7.50 (d, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.37-7.20 (m, 17H, H<sub>Ar</sub>), 6.80 (d, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, 4H, H<sub>Ar</sub>), 6.41 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.12 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.43 (d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.30 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.17 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.78 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.46 (dd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.29 (dd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.54 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.49 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 163.5 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 158.7 (C<sub>q,Ar</sub>), 151.0 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 144.3 (C<sub>q,Ar</sub>), 137.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 137.0 (C<sub>q,Ar</sub>), 135.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 133.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar</sub>), 129.3 (CH<sub>Ar</sub>), 128.5 (CH<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>), 127.9 (CH<sub>Ar</sub>), 127.6 (CH<sub>Ar</sub>), 127.6 (CH<sub>Ar</sub>), 127.1 (CH<sub>Ar</sub>), 113.3 (CH<sub>Ar</sub>), 110.4 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 86.9 (C<sub>q</sub> DMT), 85.5 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 84.0 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 78.6 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 71.3 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 63.5 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 55.2 (2x OCH<sub>3</sub>), 44.5 (NCH<sub>2</sub>), 38.1 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 12.6 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>45</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: *m/z* 747.3041 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 747.2972 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Di-*N*<sup>3</sup>,3'-*O*-benzyl-2'-desoxythymidin (34)



Das Thymidinderivat **33** (710 mg, 0.980 mmol) wurde in TFA (3 % in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 10 mL) gelöst und 25 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 309 mg, 0.731 mmol (M = 422.47 g/mol), 75 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.20 (Cy / EtOAc, 1:1);

**Schmp.**: 97 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +27.8$  (c = 1.02, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

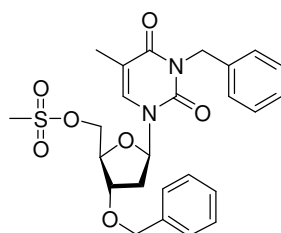
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300K, TMS): δ = 7.48-7.46 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.37-7.22 (m, 9H, H<sub>Ar</sub>, H<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 6.12 (dd, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, H<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 5.11 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.57 (d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.51 (d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.29 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 1H, H<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 4.15 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, 1H, H<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 3.91 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.41 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.35 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 1.92 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 163.4 (C<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 151.0 (C<sub>2<sub>thy</sub></sub>), 137.5 (C<sub>q,Ar</sub>), 136.7 (C<sub>q,Ar</sub>), 135.2 (C<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 129.2 (CH<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH<sub>Ar</sub>), 128.0 (CH<sub>Ar</sub>), 127.7 (CH<sub>Ar</sub>), 127.6 (CH<sub>Ar</sub>), 110.4 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>), 88.4 (C<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 85.1 (C<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 78.6 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 71.6 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>-OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 44.5 (NCH<sub>2</sub>), 37.2 (C<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 13.3 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: m/z 445.1734 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: m/z 445.1757 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3413, 3396, 2925, 2654, 1699, 1663, 1627, 1471, 1454, 1278, 1247, 1199, 1090, 1053, 1027, 916, 768, 751, 732, 719, 693, 642, 602, 538, 468 cm<sup>-1</sup>.

### Di-*N*<sup>3</sup>,3'-*O*-benzyl-5'-methylsulfonyl-2'-desoxythymidin (35)



Das dibenzylierte Thymidinderivat **34** (100 mg, 0.237 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Pyridin (6 mL) gelöst und die Lösung bei 0 °C tropfenweise mit Mesylchlorid (92µL, 1.18 mmol, 5.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde weitere 16 h bei 0 °C und weitere 6 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde in Chloroform (10 mL) aufgenommen und mit Wasser (5 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösemittel wurde *in*

*vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:2) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 85 mg, 0.17 mmol (M = 500.58 g/mol), 72 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.48 (Cy / EtOAc, 1:2);

**Schmp.:** 52 °C;

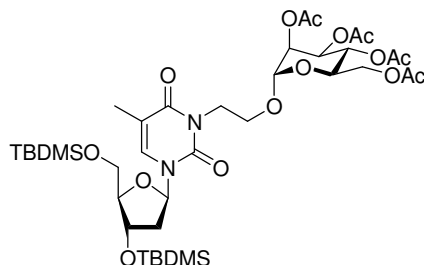
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.47-7.44 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.38-7.23 (m, 9H, H<sub>Ar</sub>, H<sub>6thy</sub>), 6.33 (dd, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 5.11 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, 1H, C<sub>3ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.49 (d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, 1H, C<sub>3ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 4.43 (dd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.33 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.2 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.25-4.21 (m, 2H, H<sub>3ribo</sub>, H<sub>4ribo</sub>), 2.98 (s, 3H, OSO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.48 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 13.9 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.10 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 1.95 (d, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 163.2 (C<sub>4thy</sub>), 150.9 (C<sub>2thy</sub>), 137.0 (C<sub>q,Ar</sub>), 136.8 (C<sub>q,Ar</sub>), 133.4 (C<sub>6thy</sub>), 129.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.6 (CH<sub>Ar</sub>), 128.4 (CH<sub>Ar</sub>), 128.2 (CH<sub>Ar</sub>), 127.8 (CH<sub>Ar</sub>), 127.6 (CH<sub>Ar</sub>), 110.8 (C<sub>5thy</sub>), 86.1 (C<sub>1ribo</sub>), 81.8 (C<sub>4ribo</sub>), 78.0 (C<sub>3ribo</sub>), 71.9 (C<sub>3ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 68.8 (C<sub>5ribo</sub>), 44.5 (NCH<sub>2</sub>), 37.6 (C<sub>2ribo</sub>), 37.3 (OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) 13.2 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: *m/z* 523.1509 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 523.1521 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3031, 2933, 1701, 1667, 1639, 1466, 1451, 1352, 1272, 1174, 1086, 1028, 958, 815, 766, 735, 697, 527, 515, 459 cm<sup>-1</sup>.

### 3',5'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2'-desoxythymidin (**40**)



Zu einer Lösung von Thymidinderivat **27** (987 mg, 2.10 mmol, 1.0 Äquiv.) und 2-Bromethylmannosid **30** (1.91 g, 4.19 mmol, 2.0 Äquiv.) in abs. Acetonitril (25 mL) wurden DBU (626  $\mu$ L, 4.19 mmol, 2.0 Äquiv.) und Tetrabutylammoniumiodid (1.55 g, 4.19 mmol, 2.0 Äquiv.) hinzugegeben und die Lösung bei Raumtemp. für 24 h gerührt. Anschließend



wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt in Dichlormethan (10 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 30:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 1.57 g, 1.86 mmol (M = 845.09 g/mol), 89 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.49 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 30:1);

$[\alpha]_D^{22} = +43.6$  (c = 1.18, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 54 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.47 (q, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.35 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.28 (dd, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>), 5.25 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 5.21 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 4.92 (d, <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.41 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.30 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 12.2 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.13 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J = 13.1 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.09 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 12.2 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.00-3.96 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.94 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.90-3.85 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.86 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.76 (dd, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.73 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>2</sup>J = 10.3 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 2.30 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.18-2.14 (m, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.14 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.10 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.94 (d, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.93 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.90 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.11 (s, 6H, 2 x SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

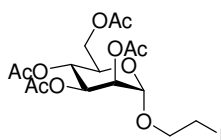
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS): δ = 170.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.3 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.8 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 133.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.0 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 96.8 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 87.8 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 85.5 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 72.3 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 69.4 (C<sub>2</sub><sub>man</sub>), 69.1 (C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 68.7 (C<sub>3</sub><sub>man</sub>), 66.1 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 63.5 (OCH<sub>2</sub>), 63.0 (C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 62.5 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 41.4 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 39.5 (NCH<sub>2</sub>), 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -4.7 (SiCH<sub>3</sub>), -4.9 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>38</sub>H<sub>64</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub>Si<sub>2</sub>: m/z 867.3737 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: m/z 867.3715 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3394, 2932, 1743, 1716, 1652, 1472, 1435, 1366, 1219, 1137, 1074, 1042, 976, 833, 786, 767, 607$  cm<sup>-1</sup>.

**EA** C<sub>38</sub>H<sub>64</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub>Si (M = 845.0902 g/mol): ber.: C 54.01, H 7.63, N 3.31, gef.: C 54.78, H 7.80, N 3.30.

**(2-Iodethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (41)**



Das Bromethylmannosid **30** (500 mg, 1.10 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Aceton (10 mL) gelöst und mit Natriumiodid (248 mg, 1.65 mmol, 1.5 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 7.5 h bei 50 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (20 mL) verdünnt und dreimal mit Dichlormethan (je 30 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und nach anschließender Filtration das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 479 mg, 0.954 mmol (M = 502.25 g/mol), 87 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.46 (Cy / EtOAc, 3:2);

$[\alpha]_D^{22} = +42.3$  (c = 0.955, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 98 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 5.36$  (dd, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>), 5.29 (t, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 5.27 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz, 1H, H<sub>2<sub>man</sub></sub>), 4.88 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1<sub>man</sub></sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>2</sup>J = 12.6 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.16-4.12 (m, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 4.14 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.6 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 3.93 (dt, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.9 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.84 (dt, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>2</sup>J = 11.0 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.31 (dd, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>I), 2.16 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

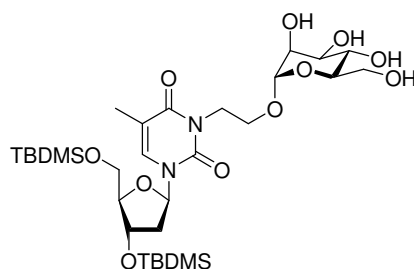
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.6$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 97.6 (C<sub>1<sub>man</sub></sub>), 69.5 (C<sub>2<sub>man</sub></sub>), 69.3, 69.2 (C<sub>3<sub>man</sub></sub>, C<sub>5<sub>man</sub></sub>), 69.0 (OCH<sub>2</sub>), 66.2 (C<sub>4<sub>man</sub></sub>), 62.5 (C<sub>6<sub>man</sub></sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 1.4 (CH<sub>2</sub>I) ppm,

**ESI-MS:** ber. für C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>IO<sub>10</sub>: m/z 525.0228 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: m/z 525.0222 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2962, 1743, 1733, 1380, 1366, 1225, 1176, 1136, 1082, 1047, 1010, 978, 957, 935, 909, 879, 798$  cm<sup>-1</sup>;

EA C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>IO<sub>10</sub> (M = 502.2523 g/mol): ber.: C 38.26, H 4.62, gef.: C 38.33, H 4.80.

**3',5'-Di-O-(tert-butyldimethylsilyl)-N<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2'-desoxythymidin (42)**



Glycothymidin **40** (1.00 g, 1.18 mmol) wurde in abs. Methanol (10 mL) gelöst und mit Ammoniak (7 M in Methanol, 20 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 64 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

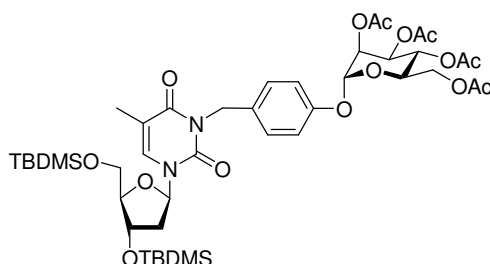
**Ausbeute:** 799 mg, 1.18 mmol (M = 676.94 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.31 (EtOAc);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.44-7.43 (m, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.33 (dd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.89 (s, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.40 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.27 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 3.93 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.91-3.54 (m, 7H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>, H<sub>3</sub><sub>man</sub>, H<sub>4</sub><sub>man</sub>, H<sub>5</sub><sub>man</sub>, 2x H<sub>6</sub><sub>man</sub>, OCH<sub>2</sub>), 3.85 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.76 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.68 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 10.3 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.47-3.44 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 2.27 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.03-1.98 (m, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.91 (s, 1H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.92 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.89 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.11 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.08 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.07 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS):  $\delta$  = 163.6 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.8 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 133.8 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.0 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 99.4 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 87.8 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 85.6 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 72.4, 72.2, 71.6, 70.8 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>, C<sub>2</sub><sub>man</sub>, C<sub>3</sub><sub>man</sub>, C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 67.0 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 63.4, 63.0, 61.5 (OCH<sub>2</sub>, C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>, C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 41.4 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 40.1 (NCH<sub>2</sub>), 26.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.4 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 18.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), -4.6 (SiCH<sub>3</sub>), -4.8 (SiCH<sub>3</sub>), -5.3 (SiCH<sub>3</sub>), -5.4 (SiCH<sub>3</sub>) ppm.

**3',5'-Di-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*<sup>3</sup>-[*p*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-benzyl]-2'-desoxythymidin (43)**



Das disilylierte Thymidinderivat **27** (100 mg, 0.212 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Acetonitril (5 mL) gelöst. Das Mannosid **13** (110 mg, 0.212 mmol, 1.0 Äquiv.), DBU (32  $\mu$ L, 0.212 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (78 mg, 0.212 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1  $\rightarrow$  1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

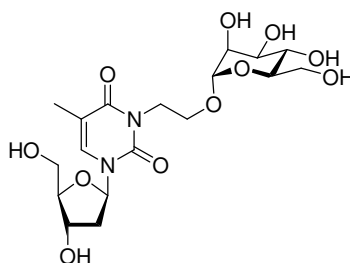
**Ausbeute:** 100 mg, 0.11 mmol (M = 907.16 g/mol), 52 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.49 (Cy/EtOAc, 1:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.43 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.43 (q, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 6.99 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.35 (dd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H, H<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 5.53 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>), 5.47 (d, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H<sub>1<sub>man</sub></sub>), 5.40 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2<sub>man</sub></sub>), 5.33 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 5.07 (d, <sup>3</sup>J = 13.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 5.02 (d, <sup>3</sup>J = 13.7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.38 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, 1H, H<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 4.25 (dd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.05 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 4.03 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 3.91 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, 1H, H<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 3.83 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 3.74 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.23 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.1 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.17 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.01 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.96 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.1 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 1.91 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>), 0.91 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.09 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>), 0.06 (s, 3H, SiCH<sub>3</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.5$  ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 169.9 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 169.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 169.7 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 163.4 ( $\text{C}_{4\text{thy}}$ ), 155.0 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 150.9 ( $\text{C}_{2\text{thy}}$ ), 133.6 ( $\text{C}_{6\text{thy}}$ ), 131.8 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 130.7 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 116.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 110.1 ( $\text{C}_{5\text{thy}}$ ), 95.8 ( $\text{C}_{1\text{man}}$ ), 87.8 ( $\text{C}_{1\text{ribo}}$ ), 85.5 ( $\text{C}_{4\text{ribo}}$ ), 72.3 ( $\text{C}_{3\text{ribo}}$ ), 69.4 ( $\text{C}_{2\text{man}}$ ), 69.1 ( $\text{C}_{5\text{man}}$ ), 68.9 ( $\text{C}_{3\text{man}}$ ), 66.0 ( $\text{C}_{4\text{man}}$ ), 62.1 ( $\text{C}_{5\text{ribo}}$ ), 62.1 ( $\text{C}_{6\text{man}}$ ), 43.8 ( $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 41.4 ( $\text{C}_{2\text{ribo}}$ ), 25.7 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.7 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 20.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 18.4 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 18.0 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 13.2 ( $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ), -4.7 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4.9 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5.4 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5.5 ( $\text{SiCH}_3$ ) ppm.

**$N^3$ -[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-2'-desoxythymidin (45)**



Das acetylgeschützte Glycothymidinderivat **46** (100 mg, 0.156 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (6 mL) gelöst. Natriummethanolat (68 mg, 1.25 mmol, 8.0 Äquiv.) wurde zugegeben und die Lösung für 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 70.0 mg, 156 mmol ( $M = 448.42$  g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.27 (EtOAc / MeOH, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +72.0$  ( $c = 1.08$ , MeOH);

**Schmp.:** 62-68 °C;

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD, 297 K):  $\delta = 7.87$  (q,  $^4J = 1.3$  Hz, 1H,  $\text{H}_{6\text{thy}}$ ), 6.32 (dd~t,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ ), 4.82 (d,  $^3J = 1.2$  Hz, 1H,  $\text{H}_{1\text{man}}$ ), 4.43 (ddd~dt,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz, 1H,  $\text{H}_{3\text{ribo}}$ ), 4.34 (ddd,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^3J = 8.0$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 4.08 (ddd~dt,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 3.95 (ddd~dt,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz, 1H,  $\text{H}_{4\text{ribo}}$ ), 3.91 (ddd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 8.0$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.84 (dd,  $^3J = 3.2$  Hz,  $^2J = 12.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{ribo}}$ ), 3.78 (dd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^2J = 12.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{ribo}}$  o.  $\text{H}_{6\text{man}}$ ), 3.77 (dd,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^2J = 12.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{ribo}}$  o.  $\text{H}_{6\text{man}}$ ), 3.78-3.76 (m, 1H,  $\text{H}_{2\text{man}}$ ), 3.76 (dd,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^2J = 12.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{ribo}}$  o.  $\text{H}_{6\text{man}}$ ),

3.74 (ddd~dt,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 10.4$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.72 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 3.67-3.61 (m, 2H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 3.39-3.37 (m, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 2.33 (ddd,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.27 (ddd~dt,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 1.94 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

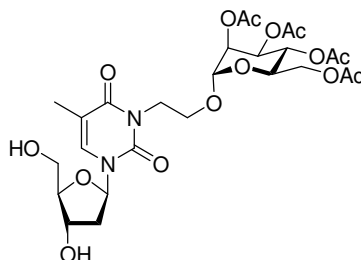
<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 152.4 (C<sub>2<sub>thy</sub></sub>), 136.7 (C<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 110.7 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>), 101.0 (C<sub>1<sub>man</sub></sub>), 88.9 (C<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 87.3 (C<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 74.8 (C<sub>5<sub>man</sub></sub>), 72.5 (C<sub>4<sub>man</sub></sub>), 72.1, 72.0 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>, C<sub>2<sub>man</sub></sub>), 68.4 (C<sub>3<sub>man</sub></sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8, 62.7 (C<sub>6<sub>man</sub></sub>, C<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 41.4, 41.2 (NCH<sub>2</sub>, C<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 13.3 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>:  $m/z$  471.1585 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  471.1556 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3336, 2921, 1694, 1661, 1623, 1470, 1334, 1267, 1131, 1088, 1052, 975, 769$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub> · 2/3 H<sub>2</sub>O (M = 448.4217 g/mol): ber.: C 46.95, H 6.08, N 6.42; gef.: C 46.98, H 6.50, N 6.03.

### *N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2'-desoxythymidin (**46**)



2'-Desoxythymidin (**1**, 100 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (6 mL) und abs. Acetonitril (15 mL) gelöst und mit 2-Bromethylmannosid **30** (203 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Nach Zugabe von DBU (66  $\mu$ L, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (165 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Dichlormethan (10 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 5 mL) gewaschen und die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 153 mg, 0.255 mmol (M = 616.57 g/mol), 57 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.45 (EtOAc / MeOH, 9:1);

$[\alpha]_D^{22} = +64.4$  ( $c = 0.96$ , MeOH);

**Schmp.:** 57 °C;

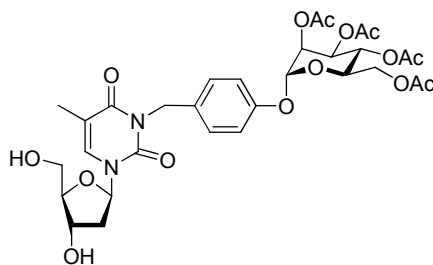
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 7.40$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H,  $\text{H6}_{\text{thy}}$ ), 6.12 (dd~t,  $^3J = 6.4$  Hz, 1H,  $\text{H1}_{\text{ribo}}$ ), 5.25 (dd~t,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H,  $\text{H4}_{\text{man}}$ ), 5.22 (dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H,  $\text{H3}_{\text{man}}$ ), 5.19 (dd,  $^3J = 1.7$  Hz,  $^3J = 3.1$  Hz, 1H,  $\text{H2}_{\text{man}}$ ), 4.91 (d,  $^3J = 1.5$  Hz, 1H,  $\text{H1}_{\text{man}}$ ), 4.58 (ddd~dt,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H,  $\text{H3}_{\text{ribo}}$ ), 4.31 (ddd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 4.26 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H,  $\text{H6}_{\text{man}}$ ), 4.13 (ddd~dt,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 4.09 (dd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^2J = 12.2$  Hz, 1H,  $\text{H6}_{\text{man}}$ ), 4.00 (ddd~dt,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^3J = 4.3$  Hz, 1H,  $\text{H4}_{\text{ribo}}$ ), 3.96 (ddd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H,  $\text{H5}_{\text{man}}$ ), 3.94 (dd,  $^3J = 3.0$  Hz,  $^2J = 11.2$  Hz, 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 3.89 (ddd,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 10.8$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.84 (dd,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 3.76 (ddd~dt,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^2J = 10.8$  Hz, 1H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 2.55 (br s, 1H, OH), 2.45 (br s, 1H, OH), 2.43 (ddd~dt,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.38 (ddd,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.15 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.11 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.04 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.95 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H,  $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.8$  ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 170.2 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 170.1 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 169.7 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 163.3 ( $\text{C4}_{\text{thy}}$ ), 151.0 ( $\text{C2}_{\text{thy}}$ ), 135.1 ( $\text{C6}_{\text{thy}}$ ), 110.1 ( $\text{C5}_{\text{thy}}$ ), 96.8 ( $\text{C1}_{\text{man}}$ ), 87.5 ( $\text{C1}_{\text{ribo}}$ ), 86.7 ( $\text{C4}_{\text{ribo}}$ ), 71.0 ( $\text{C3}_{\text{ribo}}$ ), 69.4 ( $\text{C3}_{\text{man}}$ ), 69.4 ( $\text{C2}_{\text{man}}$ ), 68.7 ( $\text{C5}_{\text{man}}$ ), 66.1 ( $\text{C4}_{\text{man}}$ ), 63.6 ( $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 62.5 ( $\text{C6}_{\text{man}}$ ), 62.3 ( $\text{C5}_{\text{ribo}}$ ), 40.6 ( $\text{C2}_{\text{ribo}}$ ), 39.4 ( $\text{NCH}_2$ ), 20.9 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 13.2 ( $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{15}$ :  $m/z$  639.2013  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  639.2043  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3343, 2921, 1743, 1699, 1662, 1634, 1469, 1368, 1217, 1136, 1085, 1042, 977, 768$   $\text{cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_{15}$  ( $M = 616.57$  g/mol): ber.: C 50.65, H 5.89, N 4.54; gef.: C 49.40, H 6.15, N 4.46.

***N*<sup>3</sup>-[*p*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-benzyl]-2'-desoxythymidin (47)**

2'-Desoxythymidin (**1**, 100 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (6 mL) und abs. Acetonitril (15 mL) gelöst. Mannosid **13** (213 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.), DBU (61  $\mu$ L, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (153 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 176 mg, 0.259 mmol (M = 678.64 g/mol), 58 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.15 (EtOAc);

$[\alpha]_D^{22} = +54.8^\circ$  (c = 0.54, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 90-93 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 7.43$  (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.33 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 7.00 (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.19 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 5.54 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 5.48 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 5.41 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 5.35 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4man</sub>), 5.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 4.57 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.25 (dd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 4.08-4.04 (m, 2H, H<sub>5man</sub>, H<sub>6man</sub>), 3.98 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 3.91 (dd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 3.82 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 2.39 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.30 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.7 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.18 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.93 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.6$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.3 (C<sub>4thy</sub>), 155.1 (C<sub>q,Ar</sub>), 151.0 (C<sub>2thy</sub>), 134.8 (C<sub>6thy</sub>), 131.6



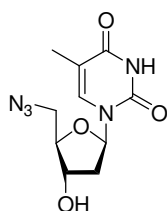
(C<sub>q,Ar</sub>), 130.8 (CH<sub>Ar</sub>), 116.4 (CH<sub>Ar</sub>), 110.5 (C5<sub>thy</sub>), 95.8 (C1<sub>man</sub>), 87.4 (C1<sub>ribo</sub>), 86.9 (C4<sub>ribo</sub>), 71.6 (C3<sub>ribo</sub>), 69.5 (C2<sub>man</sub>), 69.2 (C5<sub>man</sub>), 69.0 (C3<sub>man</sub>), 66.1 (C4<sub>man</sub>), 62.5 (C5<sub>ribo</sub>), 62.2 (C6<sub>man</sub>), 43.8 (CH<sub>2</sub>-Ar), 40.3 (C2<sub>ribo</sub>), 21.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> :  $m/z$  701.2170 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  701.2166 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3336, 2921, 1744, 1699, 1666, 1633, 1509, 1468, 1369, 1213, 1126, 1087, 1034, 917, 856, 778 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> (M = 678.6378 g/mol): ber.: C 54.86, H 5.64, N 4.13; gef.: C 53.89, H 5.99, N 4.11.

### 5'-Azido-2',5'-dideoxythymidin (**48**)<sup>[242]</sup>



2'-Desoxythymidin (**1**, 1.00 g, 4.13 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde mit Pyridin (5 mL) und anschließend mit Toluol (5 mL) codestilliert. Der Rückstand wurde in DMF (15 mL) aufgenommen und mit Triphenylphosphin (1.08 g, 4.13 mmol, 1.0 Äquiv.), Natriumazid (1.34 g, 20.7 mmol, 5 Äquiv.) und Tetrabrommethan (1.37 g, 4.13 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 23 h bei Raumtemp. gerührt, mit Methanol (1.5 mL) versetzt und 1 h weiter gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH, 98:2 → 90:10) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 893 mg, 3.34 mmol (M = 267.24 g/mol), 76 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.16 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / EtOH, 98:2);

$[\alpha]_D^{22} = +89.5$  (c = 0.94, MeOH);

**Schmp.:** 149 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.57 (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.30 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.38 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.00 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.67 (dd, <sup>3</sup>J = 3.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.61 (dd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.34 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz,

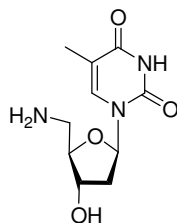
$^3J = 6.9$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H<sub>2\_ribo</sub>), 2.29 (ddd,  $^3J = 4.2$  Hz,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H<sub>2\_ribo</sub>), 1.90 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 166.3$  (C<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 152.3 (C<sub>2<sub>thy</sub></sub>), 137.7 (C<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 111.9 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>), 86.3 (C<sub>4<sub>ribo</sub></sub>, C<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 72.5 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 53.5 (C<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 40.3 (C<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 12.5 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>:  $m/z$  290.0865 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  290.0927 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (KBr):  $\tilde{\nu} = 3388, 3186, 2924, 2100, 1721, 1654$  cm<sup>-1</sup>.

### 5'-Amino-2',5'-dideoxythymidin (49)<sup>[243]</sup>

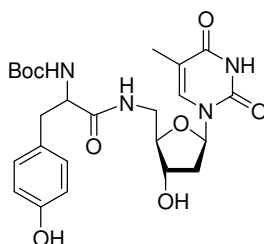


Das Azidothymidinderivat **48** (65 mg, 0.24 mmol) wurde in Ethanol (6.5 mL) gelöst und mit Palladium auf Aktivkohle (4 mg) versetzt. Die Suspension wurde unter Wasserstoff-Atmosphäre 6 h bei Raumtemp. heftig gerührt. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 57 mg, 0.24 mmol (M = 241.24 g/mol), 97 %.

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 7.39$  (q,  $^4J = 1.1$  Hz, 1H, H<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 6.40 (dd~t,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, H<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 4.35 (ddd~dt,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz, 1H, H<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 3.95 (ddd~dt,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 8.5$  Hz, 1H, H<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 3.07 (dd,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 2H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.95 (dd,  $^3J = 8.5$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 2H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.41 (ddd~dt,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.30 (ddd,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 1.83 (d,  $^4J = 0.8$  Hz, 3H, C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 167.6$  (C<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 152.5 (C<sub>2<sub>thy</sub></sub>), 137.9 (C<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 111.6 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>), 86.0 (C<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 84.8 (C<sub>4<sub>ribo</sub></sub>), 71.5 (C<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 42.1 (C<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 37.7 (C<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 11.6 (C<sub>5<sub>thy</sub></sub>-CH<sub>3</sub>) ppm.

**5'-N-[(N-tert-butyloxycarbonyl)-L-tyrosinamido]-2',5'-dideoxythymidin (51)**

*N*-Boc-Tyrosin (**50**, 135 mg, 0.480 mmol, 2.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (6 mL) gelöst und mit HOBt (65 mg, 0.480 mmol, 2.0 Äquiv.) und HBTU (163 mg, 0.430 mmol, 1.8 Äquiv.) versetzt und 10 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurden nacheinander DIPEA (80  $\mu$ L, 0.480 mmol, 2.0 Äquiv.) und Aminothymidinderivat **49** (57 mg, 0.240 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kielselgel (EtOAc / MeOH, 1:0  $\rightarrow$  20:1  $\rightarrow$  10:1) und anschließend mittels GPC an Sephadex LH-20 gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

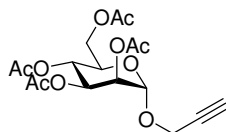
**Ausbeute:** 76 mg, 0.15 mmol ( $M = 504.53$  g/mol), 63 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.30 (EtOAc / MeOH, 8:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 298 K):  $\delta = 7.47$  (br s, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 7.08 (d, <sup>3</sup> $J = 8.5$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.72 (d, <sup>3</sup> $J = 8.4$  Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 6.16 (t, <sup>3</sup> $J = 7.0$  Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.27-4.23 (m, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 4.21-4.16 (m, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 3.95-3.90 (m, 1H, CH<sub>Tyr</sub>), 3.49 (d, <sup>3</sup> $J = 5.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-Ar), 3.01 (dd, <sup>3</sup> $J = 6.6$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.80 (dd, <sup>3</sup> $J = 8.2$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.22 (ddd, <sup>3</sup> $J = 3.1$  Hz, <sup>3</sup> $J = 6.0$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.6$  Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.14 (ddd~dt, <sup>3</sup> $J = 7.4$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7.4$  Hz, <sup>2</sup> $J = 14.5$  Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.95 (s, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.41 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, MeOD, 297 K):  $\delta = 174.8$  (C(O)NH<sub>Tyr</sub>), 166.4 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 157.3 (C<sub>q,Ar</sub>-OH), 152.3 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 138.3 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 131.4 (CH<sub>Ar</sub>), 129.1 (C<sub>q,Ar</sub>), 116.2 (CH<sub>Ar</sub>), 111.8 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 87.0 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 86.4 (CH<sub>Tyr</sub>), 80.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73.0 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 57.9 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 42.3 (CH<sub>2</sub>-Ar), 40.1 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 38.6 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 28.7 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 12.4 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm.

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>:  $m/z$  527.21 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  527.08 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Propargyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (56)**<sup>[130]</sup>

Das Mannosyltrichloracetimidat **8** (500 mg, 1.01 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Dichlormethan (10 mL) gelöst und mit Propargylalkohol (97  $\mu$ L, 1.5 mmol, 1.5 Äquiv.) versetzt. Unter Stickstoffatmosphäre wurden bei 0 °C über einen Zeitraum von 20 min Bortrifluorid-Diethyletherat (140  $\mu$ L, 1.01 mmol, 1.0 Äquiv.) in Dichlormethan (5 mL) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde gesättigte wässrige NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) zugegeben und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan (je 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser kristalliner Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 300 mg, 0.78 mmol (M = 386.35 g/mol), 77 %.

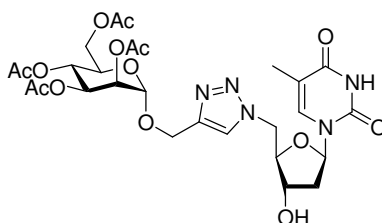
**R<sub>f</sub>:** 0.69 (EtOAc / MeOH, 3:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta$  = 5.31 (dd~t,  $J$  = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 5.29 (dd,  $^3J$  = 3.2 Hz,  $^3J$  = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>), 5.26 (dd,  $^3J$  = 1.7 Hz,  $^3J$  = 3.2 Hz, 1H, H<sub>2<sub>man</sub></sub>), 5.07 (d,  $^3J$  = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1<sub>man</sub></sub>), 4.39 (dd,  $^4J$  = 2.5 Hz,  $^2J$  = 16.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH), 4.36 (dd,  $^3J$  = 2.5 Hz,  $^2J$  = 16.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH), 4.30 (dd,  $^3J$  = 4.8 Hz,  $^2J$  = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.11 (dd,  $^3J$  = 2.5 Hz,  $^2J$  = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.09 (ddd,  $^3J$  = 2.3 Hz,  $^3J$  = 4.6 Hz,  $^3J$  = 9.9 Hz, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 2.97 (t,  $^4J$  = 2.4 Hz, 1H, C $\equiv$ CH), 2.18 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.08 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta$  = 172.4 (C(O)CH<sub>3</sub>), 171.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 171.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 171.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 97.6 (C<sub>1<sub>man</sub></sub>), 79.3 (C $\equiv$ CH), 76.8 (C $\equiv$ CH), 70.7 (C<sub>3<sub>man</sub></sub>), 70.6 (C<sub>2<sub>man</sub></sub>), 70.3 (C<sub>5<sub>man</sub></sub>), 67.2 (C<sub>4<sub>man</sub></sub>), 63.4 (C<sub>6<sub>man</sub></sub>), 55.8 (CH<sub>2</sub>C $\equiv$ CH), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.5 (C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>:  $m/z$  409.1105 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  409.1124 [M+Na]<sup>+</sup>.

**1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol (57)**



Das Propargylmannosid **56** (30 mg, 0.078 mmol, 1.0 Äquiv.) und Azidothymidinderivat **48** (21 mg, 0.078 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden in einem Wasser/DMF-Gemisch (0.6 mL/2 mL) gelöst. Es wurde eine Lösung von  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (5.0 mg, 0.016 mmol, 0.2 Äquiv.) in Wasser (0.1 mL) und Natriumascorbat (6.0 mg, 0.031 mmol, 0.4 Äquiv.) zugegeben und die Lösung 2 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde mit einem Gemisch aus Wasser und gesättigter wässriger  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (5 mL, 1:1) versetzt und dreimal mit EtOAc (je 5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 9:1) gereinigt. Es wurde ein weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute** : 48 mg, 0.074 mmol ( $M = 653.59 \text{ g/mol}$ ), 95 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.51 (EtOAc / MeOH, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +56.4$  ( $c = 0.745$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );

**Schmp.**: 166 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 8.83$  (s, 1H, NH), 7.74 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{Triazol}}$ ), 6.89 (q,  $^4J = 1.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H6}_{\text{thy}}$ ), 6.08 (dd~t,  $^3J = 6.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{ribo}}$ ), 5.33 (dd,  $^3J = 3.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H3}_{\text{man}}$ ), 5.30 (dd~t,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H4}_{\text{man}}$ ), 5.19 (dd,  $^3J = 1.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{man}}$ ), 4.95 (d,  $^3J = 1.5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{man}}$ ), 4.83 (d,  $^2J = 12.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{C}$ ), 4.75 (dd,  $^3J = 4.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 4.71 (d,  $^2J = 13.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{OCH}_2\text{C}=\text{C}$ ), 4.69 (dd,  $^3J = 5.6 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 4.48 (dt,  $^3J = 5.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 6.7 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H3}_{\text{ribo}}$ ), 4.27 (dd,  $^3J = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 12.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H6}_{\text{man}}$ ), 4.23 (dt,  $^3J = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H4}_{\text{ribo}}$ ), 4.13 (dd,  $^3J = 2.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 12.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H6}_{\text{man}}$ ), 4.06 (ddd,  $^3J = 2.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 9.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{man}}$ ), 2.40 (ddd,  $^3J = 6.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 6.9 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 13.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.36 (ddd,  $^3J = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.0 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 13.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.14 (s, 1H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.11 (s, 1H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.04 (s, 1H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.99 (s, 1H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.91 (d,  $^4J = 1.1 \text{ Hz}$ , 3H,  $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

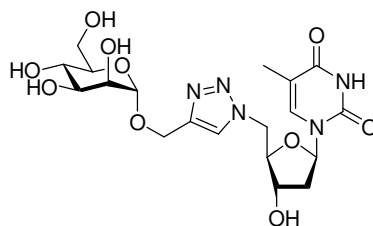
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.7$  ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 170.2 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 170.1 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 163.6 ( $\text{C}_{4\text{thy}}$ ), 150.2 ( $\text{C}_{2\text{thy}}$ ), 136.7 ( $\text{C}_{6\text{thy}}$ ), 125.6 ( $\text{CH}_{\text{triazol}}$ ), 111.3 ( $\text{C}_{5\text{thy}}$ ), 96.9 ( $\text{C}_{1\text{man}}$ ), 86.8 ( $\text{C}_{1\text{ribo}}$ ), 83.9 ( $\text{C}_{4\text{ribo}}$ ), 71.3 ( $\text{C}_{3\text{ribo}}$ ), 69.6 ( $\text{C}_{2\text{man}}$ ), 69.1 ( $\text{C}_{3\text{man}}$ ), 68.8 ( $\text{C}_{5\text{man}}$ ), 66.0 ( $\text{C}_{4\text{man}}$ ), 62.4 ( $\text{C}_{6\text{man}}$ ), 61.0 ( $\text{OCH}_2\text{C}=\text{C}$ ), 51.2 ( $\text{C}_{5\text{ribo}}$ ), 38.6 ( $\text{C}_{2\text{ribo}}$ ), 20.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 12.4 ( $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS**: ber. für  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_{14}$ :  $m/z$  676.2073  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  676.2061  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3394, 3112, 2948, 1739, 1717, 1652, 1476, 1435, 1366, 1253, 1219, 1138, 1096, 1072, 1042, 1026, 977, 936, 788, 608 \text{ cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_{14}$  ( $M = 653.5919 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 49.62, H 5.40, N 10.72; gef.: C 50.39, H 5.38, N 10.93.

### 1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxymethyl)-1H-1,2,3-triazol (58)



Zu Glycothymidinderivat **57** (24 mg, 0.037 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Methanol (2 mL) wurde Natriummethanolat (16 mg, 0.294 mmol, 8.0 Äquiv.) gegeben und die Reaktionsmischung 18 h bei Raumtemp. gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde durch Zugabe von Wasser (2 mL) gelöst und die basische Lösung mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 18 mg, 0.037 mmol ( $M = 485.45 \text{ g/mol}$ ), quant.

**R<sub>f</sub>**: 0.28 (EtOAc / MeOH, 3:1);

**$^1\text{H}$ -NMR** (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + 2\% \text{ MeOD}$ , 300 K):  $\delta = 8.03$  (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{Triazol}}$ ), 6.98 (q,  $^4J = 1.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{6\text{thy}}$ ), 6.20 (dd,  $^3J = 5.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ ), 4.93 (d,  $^3J = 1.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{man}}$ ), 4.81-4.60 (m, 4H, 2x  $\text{H}_{5\text{ribo}}$ , 2x  $\text{OCH}_2$ ), 4.44 (ddd~dt,  $^3J = 5.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{3\text{ribo}}$ ), 4.25 (ddd,  $^3J = 3.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{4\text{ribo}}$ ), 3.88 (dd,  $^3J = 1.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{2\text{man}}$ ), 3.82 (dd,  $^3J = 2.3 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 12.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{6\text{man}}$ ), 3.73

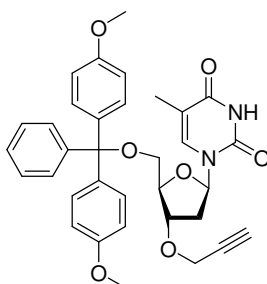
(dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 9.5$  Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 3.73 (dd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 3.64 (dd~t,  $^3J = 9.7$  Hz, 1H, H<sub>4man</sub>), 3.57 (ddd,  $^3J = 2.3$  Hz,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 9.9$  Hz, 1H, H<sub>5man</sub>), 2.37 (ddd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.29 (ddd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 1.82 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K): 167.9 (C<sub>4thy</sub>), 153.2 (C<sub>2thy</sub>), 145.4 (C<sub>q, triazol</sub>), 139.0 (C<sub>6thy</sub>), 128.0 (CH<sub>triazol</sub>), 113.1 (C<sub>5thy</sub>), 101.3 (C<sub>1man</sub>), 87.0 (C<sub>1ribo</sub>), 84.7 (C<sub>4ribo</sub>), 74.7 (C<sub>5man</sub>), 72.2 (C<sub>3man</sub>), 72.0 (C<sub>3ribo</sub>), 71.7 (C<sub>2man</sub>), 68.4 (C<sub>4man</sub>), 62.6 (C<sub>6man</sub>), 61.5 (C<sub>5ribo</sub>), 52.4 (OCH<sub>2</sub>C=C), 38.9 (C<sub>2ribo</sub>), 13.2 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>:  $m/z$  508.165 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  508.167 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3341$  (br), 2927, 1693, 1661, 1472, 1420, 1367, 1271, 1228, 1132, 1048, 958, 807 cm<sup>-1</sup>.

### 5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-3'-O-propargylthymidin (61)<sup>[244]</sup>



Das Thymidinderivat **2** (50 mg, 0.092 mmol, 1 Äquiv.) wurde in abs. THF (3 mL) gelöst und mit NaH (9 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.2 mmol, 2.5 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 20 min im Ultraschallbad behandelt. Propargylbromid (17  $\mu\text{L}$ , 0.23 mmol, 2.5 Äquiv.) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung weitere 6 h mit Ultraschall behandelt. Anschließend wurde die Lösung in gesättigte wässrige Ammoniumchlorid-Lösung (2 mL) gegeben und dreimal mit Essigsäureethylester (je 5 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 49 mg, 0.084 mmol (M = 582.64 g/mol), 92 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.40 (Cy / EtOAc, 1:1);

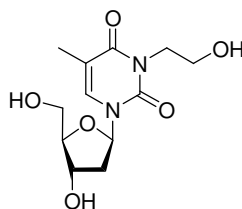
$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS):  $\delta = 8.67$  (s, 1H, NH), 7.60 (q,  $^4J = 1.3$  Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 7.42-7.39 (m, 2H, Ar-H), 7.32-7.23 (m, 7H, Ar-H), 6.84 (d,  $^3J = 8.9$  Hz, 4H, Ar-H),

6.34 (dd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.50 (ddd~dt,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.18 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 15.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡C), 4.15 (m<sub>c</sub>, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.13 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 15.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡C), 3.81 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 3.48 (dd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^2J = 10.6$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.36 (dd,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^2J = 10.6$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.52 (ddd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^2J = 13.7$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.42 (t,  $^4J = 2.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 2.23 (ddd,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 13.7$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.48 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS): δ = 163.8 (C4<sub>thy</sub>), 158.8 (C<sub>q</sub>-Ar), 150.3 (C2<sub>thy</sub>), 144.4 (C<sub>q</sub>,Ar), 135.5, 135.4 (C<sub>q</sub>,Ar), (C6<sub>thy</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar</sub>), 128.1 (CH<sub>Ar</sub>), 127.8 (CH<sub>Ar</sub>), 127.2 (CH<sub>Ar</sub>), 113.3 (CH<sub>Ar</sub>), 111.2 (C5<sub>thy</sub>), 87.0 (C<sub>q</sub> DMT), 84.8 (C1<sub>ribo</sub>), 83.9 (C4<sub>ribo</sub>), 79.2 (C≡CH), 78.6 (C3<sub>ribo</sub>), 75.1 (C≡CH), 63.5 (C5<sub>ribo</sub>), 56.6 (CH<sub>2</sub>C≡CH), 55.3 (2x OCH<sub>3</sub>), 37.8 (C2<sub>ribo</sub>), 11.9 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber.für C<sub>34</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: *m/z* 605.2258 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 605.2262 [M+Na]<sup>+</sup>.

### N<sup>3</sup>-(2-Hydroxyethyl)-2'-desoxythymidin (67)



2'-Desoxythymidin (**1**, 100 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (5 mL) gelöst. 2-Bromethanol (29 µL, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.), NaH (17 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (153 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung 13 h mit Ultraschall behandelt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 19:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 68.7 mg, 0.240 mmol (M = 286.28 g/mol), 58 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.13 (EtOAc / MeOH, 19:1);

$[\alpha]_D^{22} = +9.6$  (c = 0.49, MeOH);

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, MeOD, 300 K): δ = 7.84 (m<sub>c</sub>, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.30 (dd~t,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.39 (ddd~dt,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.10 (t,  $^3J = 6.2$  Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3.91 (ddd~dt,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.80 (dd,



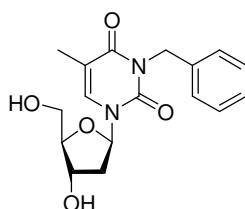
$^3J = 3.2$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.73 (dd,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.72 (t,  $^3J = 6.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 2.28 (ddd,  $^3J = 3.6$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.21 (ddd,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.91 (m<sub>c</sub>, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.7$  (C4<sub>thy</sub>), 152.6 (C2<sub>thy</sub>), 136.5 (C6<sub>thy</sub>), 110.7 (C5<sub>thy</sub>), 88.9 (C4<sub>ribo</sub>), 87.2 (C1<sub>ribo</sub>), 72.1 (C3<sub>ribo</sub>), 62.8 (C5<sub>ribo</sub>), 59.9 (CH<sub>2</sub>OH), 44.1 (NCH<sub>2</sub>), 41.4 (C2<sub>ribo</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>:  $m/z$  309.1057 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  309.1021 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3382$  (br), 2928, 1692, 1662, 1621, 1469, 1403, 1356, 1334, 1274, 1193, 1093, 1051, 919, 881, 856, 769 cm<sup>-1</sup>.

### ***N*<sup>3</sup>-Benzyl-2'-desoxythymidin (68)**<sup>[245]</sup>



2'-Desoxythymidin (**1**, 100 mg 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (5 mL) gelöst. Benzylbromid (49  $\mu\text{L}$ , 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.), NaH (17 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (153 mg, 0.413 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Lösung 13 h mit Ultraschall behandelt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 19:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 82.4 mg, 0.248 mmol (M = 332.35 g/mol), 60 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.41 (EtOAc / MeOH, 19:1);

$[\alpha]_D^{22} = +25.1$  (c = 1.14, MeOH);

**Schmp.:** 162 °C;

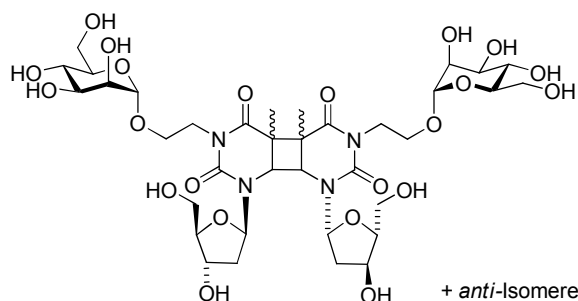
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.87$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 7.39-7.18 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 6.32 (dd~t,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.10 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (ddd~dt,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 3.92 (ddd~dt,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^3J = 3.4$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.82 (dd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.72 (dd,  $^3J = 3.8$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.29 (ddd,  $^3J = 4.0$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.20 (ddd,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.93 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (50 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.8$  ( $\text{C}_{4\text{thy}}$ ),  $152.9$  ( $\text{C}_{2\text{thy}}$ ),  $138.8$  ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ),  $137.1$  ( $\text{C}_{6\text{thy}}$ ),  $129.8$  (2C,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $129.7$  (2C,  $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $128.9$  ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ),  $111.2$  ( $\text{C}_{5\text{thy}}$ ),  $89.3$  ( $\text{C}_{4\text{ribo}}$ ),  $87.6$  ( $\text{C}_{1\text{ribo}}$ ),  $72.5$  ( $\text{C}_{3\text{ribo}}$ ),  $63.2$  ( $\text{C}_{5\text{ribo}}$ ),  $45.8$  ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ),  $41.8$  ( $\text{C}_{2\text{ribo}}$ ),  $13.7$  ( $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS**: ber. für  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ :  $m/z$  355.1264  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  355.1220  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3592, 3396, 3073, 2934, 2654, 2520, 1697, 1663, 1620, 1474, 1450, 1427, 1362, 1343, 1290, 1256, 1201, 1098, 1037, 985, 975, 928, 866, 768, 737, 700, 641, 614, 542$   $\text{cm}^{-1}$ .

### $N^3$ -[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2'-desoxythymidin-Dimer (69)



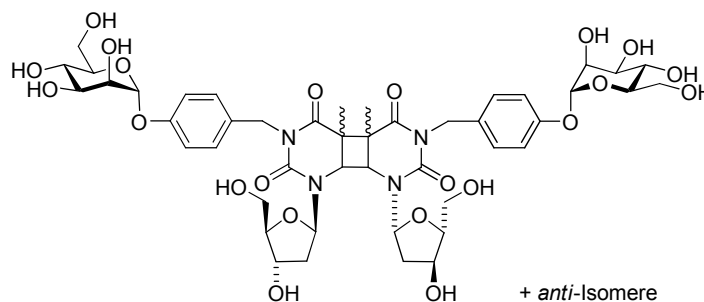
Zur Photodimerisierung wurde das Glycothymidinderivat **45** (20 mg, 0.045 mmol) in einer Quarzküvette in Wasser (1 mL) gelöst und mit Aceton (1 mL) wurde als Triplet Sensitizer versetzt. Zum Entgasen wurde die Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung 6 h mithilfe einer 150 W Quecksilber-Mitteldrucklampe und einem Cut-off-Filter mit einer Wellenlänge von  $\lambda \geq 295$  nm belichtet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Gemisch der Dimere durch GPC an Sephadex, LH-20, ( $\text{H}_2\text{O}$ ) gereinigt. Das Produktgemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 14 mg, 0.015 mmol ( $M = 896.84$  g/mol), 70 %.

**$^1\text{H}$ -NMR** (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K):  $\delta = 6.06$  (dd,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 8.4$  Hz) 6.27 (dd,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 9.0$  Hz), 6.11 (t,  $^3J = 6.6$  Hz), 6.00 (t,  $^3J = 6.4$  Hz), 5.88 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 0.25H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ ), 5.77 (t,  $^3J = 6.8$  Hz), 5.54 (t,  $^3J = 7.3$  Hz) 2H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ , 4.92-4.86 (m, 2H,  $\text{H}_{1\text{man}}$ ), 4.52-4.38 (m, 4H,  $\text{H}_{3\text{ribo}}$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 4.36, 4.35 4.31, 4.30, 4.28 (je s, 1H,  $\text{H}_{5\text{thy}}$ ), 4.20-3.55 (m, 24H,  $\text{NCH}_2$ , 2 x  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{H}_{4\text{ribo}}$ , 2 x  $\text{H}_{5\text{ribo}}$ , 2 x  $\text{H}_{6\text{man}}$ ,  $\text{H}_{2\text{man}}$ ,  $\text{H}_{3\text{man}}$ ,  $\text{H}_{4\text{man}}$ ,  $\text{H}_{5\text{man}}$ ), 2.55-2.15 (m, 4H,  $\text{H}_{2\text{ribo}}$ ), 1.59, 1.55, 1.53, 1.53, 1.48 (je s, 6H,  $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**MALDI-ToF-MS**: ber. für  $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{22}$ :  $m/z$  919.33  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  919.44  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3344, 2928, 1702, 1655, 1449, 1390, 1332, 1203, 1132, 1086, 1051, 1024, 877, 809, 754, 670, 649, 528, 459$   $\text{cm}^{-1}$ .

***N*<sup>3</sup>-[*p*-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-benzyl]-2'-desoxythymidin-Dimer (70)**

Zur Photodimerisierung wurde das Glycothymidinderivat **26** (20 mg, 0.039 mmol) in einer Quarzküvette in Wasser (1 mL) gelöst und mit Aceton (1 mL) wurde als Triplet Sensitizer versetzt. Zum Entgasen wurde die Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung 6 h mithilfe einer 150 W Quecksilber-Mitteldrucklampe und einem Cut-off-Filter mit einer Wellenlänge von  $\lambda \geq 295$  nm belichtet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Gemisch der Dimere durch GPC an Sephadex, LH-20, (H<sub>2</sub>O) gereinigt. Das Produktgemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten.

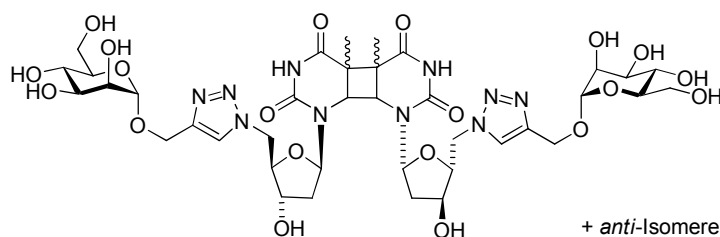
**Ausbeute:** 13 mg, 0.013 mmol ( $M = 1020.98$  g/mol), 65 %.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, D<sub>2</sub>O, 297 K):  $\delta = 7.35$ -7.23 (m, 4H, CH<sub>Ar</sub>), 7.15-7.96 (m, 4H, CH<sub>Ar</sub>), 6.27 (dd, <sup>3</sup> $J = 5.9$  Hz, <sup>3</sup> $J = 9.0$  Hz), 6.28-6.24 (m), 6.25 (dd, <sup>3</sup> $J = 6.1$  Hz, <sup>3</sup> $J = 9.1$  Hz), 6.05 (dd, <sup>3</sup> $J = 6.4$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7.2$  Hz), 6.0-5.95 (m), 5.76 (t, <sup>3</sup> $J = 7.2$  Hz) 2H, H1<sub>ribo</sub>, 5.58 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz), 5.58-5.57 (m), 5.57 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz), 5.54 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz), 5.54 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz), 5.53 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz), 5.49 (d, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz) 2H, H1<sub>man</sub>, 5.03 (s), 5.04 (s), 4.99 (s), 4.97 (s), 4.87-4.83 (m) 4H, CH<sub>2</sub>Ar, 4.57-4.32 (m, 4H, H5<sub>thy</sub>, H3<sub>ribo</sub>), 4.15-4.08 (m, 2H, H2<sub>man</sub>), 4.03-3.96 (m, 4H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>ribo</sub>), 3.90-3.35 (m, 12H, 2 x H5<sub>ribo</sub>, H4<sub>man</sub>, H5<sub>man</sub>, 2 x H6<sub>man</sub>), 2.40-2.05 (m, 4H, H2<sub>ribo</sub>), 1.51, 1.45, 1.44, 1.28, 1.27 (s, 6H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>46</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>O<sub>22</sub>:  $m/z$  1043.36 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  1043.50 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3332, 2940, 1704, 1661, 1610, 1510, 1454, 1393, 1338, 1227, 1093, 1048, 1011, 980, 914, 857, 810, 783, 666, 506, 411$  cm<sup>-1</sup>.

**1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-Dimer (71)**



Zur Photodimerisierung wurde das Glycothymidinderivat **58** (20 mg, 0.041 mmol) in einer Quarzküvette in Wasser (1 mL) gelöst und mit Aceton (1 mL) wurde als Triplet Sensitizer versetzt. Zum Entgasen wurde die Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung 6 h mithilfe einer 150 W Quecksilber-Mitteldrucklampe und einem Cut-off-Filter mit einer Wellenlänge von  $\lambda \geq 295$  nm belichtet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Gemisch der Dimere durch GPC an Sephadex, LH-20, (H<sub>2</sub>O) gereinigt. Das Produktgemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten.

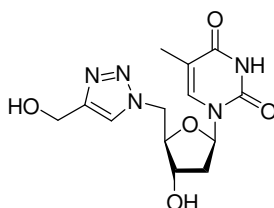
**Ausbeute:** 12 mg, 0.012 mmol (M = 970.89 g/mol), 58 %.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O + 2% MeOD, 300 K):  $\delta$  = 8.23, 8.21, 8.14, 8.13, 8.10, 8.09 (s, 1H, CH<sub>Triazol</sub>), 6.27 (dd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz), 6.21-6.18 (m), 5.91 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz), 5.74-5.69 (m), 5.49-5.45 (m) 1H, H1<sub>ribo</sub>, 4.98 (d, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz), 4.95-4.92 (m) 1H, H1<sub>man</sub>, 4.87-4.54 (m, 10H, 2x H5<sub>ribo</sub>, 2x OCH<sub>2</sub>, H5<sub>thy</sub>), 4.47-4.35 (m, 2H, H3<sub>ribo</sub>), 4.27-4.10 (m, 2H, H4<sub>ribo</sub>), 3.96-3.85 (m, 2H, H2<sub>man</sub>), 3.81-3.60 (m, 10H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>man</sub>, H5<sub>man</sub>, 2 x H6<sub>man</sub>), 2.75-1.95 (m, 4H, H2<sub>ribo</sub>), 1.55-1.44 (m, 6H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>38</sub>H<sub>54</sub>N<sub>10</sub>O<sub>20</sub>:  $m/z$  993.34 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  993.71 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3364, 2936, 1695, 1456, 1379, 1286, 1229, 1131, 1051, 960, 882, 807, 759, 667, 529, 406 cm<sup>-1</sup>.

**1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol (72)**



Das Azidothymidinderivat **48** (100 mg, 0.374 mmol, 1.0 Äquiv.) und Propargylalkohol (22  $\mu$ L, 0.374 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden in einem DMF / Wasser-Gemisch (4 mL, 3:1) gelöst und mit einer Lösung von  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (19 mg, 0.075 mmol, 0.2 Äquiv.) in Wasser (0.5 mL) und Natriumascorbat (30 mg, 0.15 mmol, 0.4 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 4 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 3:1) gereinigt. Das Produkt wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 102 mg, 0.314 mmol ( $M = 323.30$  g/mol), 84 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.42 (EtOAc / MeOH, 3:1);

$[\alpha]_D^{22} = +61.5$  ( $c = 0.325$ , MeOH);

**Schmp.:** Zersetzung bei 218 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.95$  (s, 1H, H<sub>triazol</sub>), 7.28 (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 6.23 (dd~t,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 4.80 (dd,  $^3J = 4.0$  Hz,  $^2J = 14.4$  Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.73 (dd,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^2J = 14.4$  Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>OH), 4.43 (ddd~dt,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.19 (ddd~dt,  $^3J = 4.1$  Hz,  $^3J = 4.1$  Hz,  $^3J = 6.9$  Hz, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 2.30 (ddd,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^2J = 13.9$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.27 (ddd~dt,  $^3J = 6.9$  Hz,  $^3J = 6.9$  Hz,  $^2J = 13.9$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 1.92 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

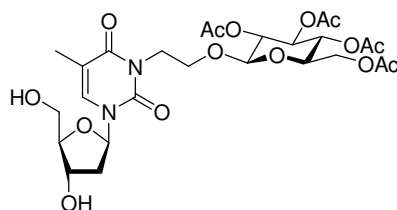
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 166.3$  (C<sub>4thy</sub>), 152.2 (C<sub>2thy</sub>), 149.2 (C<sub>q, triazol</sub>), 138.1 (C<sub>6thy</sub>), 125.2 (CH<sub>triazol</sub>), 111.2 (C<sub>5thy</sub>), 86.8 (C<sub>1ribo</sub>), 85.6 (C<sub>4ribo</sub>), 72.4 (C<sub>3ribo</sub>), 56.5 (CH<sub>2</sub>OH), 52.6 (C<sub>5ribo</sub>), 39.6 (C<sub>2ribo</sub>), 13.4 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>:  $m/z$  346.1122 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  346.1127 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3376, 3111, 3066, 2928, 1717, 1655, 1476, 1270, 1095, 1045, 1002, 980, 866, 785, 609$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> ( $M = 323.3046$  g/mol): ber.: C 48.29, H 5.38, N 21.66, gef.: C 48.35, H 5.39, N 21.02.

### ***N*<sup>3</sup>-(2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-ethyl)-2'-desoxythymidin (74)**



2'-Desoxythymidin (**1**, 100 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (6 mL) und abs. Acetonitril (15 mL) gelöst und mit Glucosylderivat **73** (203 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Nach Zugabe von DBU (66  $\mu$ L, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (165 mg, 0.446 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Dichlormethan (10 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 5 mL) gewaschen und die organischen Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 153 mg, 0.236 mmol (M = 616.57 g/mol), 53 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.45 (EtOAc / MeOH, 9:1);

**Schmp.:** 106 °C;

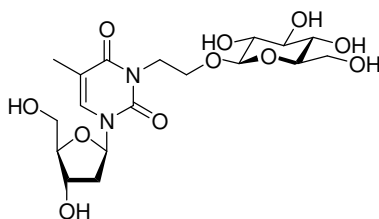
**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.42 (q, <sup>4</sup>J = 0.9 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.19 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.18 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>glc</sub>), 5.06 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.4 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>glc</sub>), 4.96 (dd, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>glc</sub>), 4.55 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>glc</sub>), 4.30-3.65 (m, 11H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>, 2x NCH<sub>2</sub>, 2x H<sub>6</sub><sub>glc</sub>, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>, 2x H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>, 2x OCH<sub>2</sub>, H<sub>5</sub><sub>glc</sub>), 2.77 (br s, 2H, OH), 2.42 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.32 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.09 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.99 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.92 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 170.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.3 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.3 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.9 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 135.1 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 100.5 (C<sub>1</sub><sub>glc</sub>), 87.3 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 86.9 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 72.8, 71.7, 71.4, 71.1, 68.4, (C<sub>2</sub><sub>glc</sub>, C<sub>3</sub><sub>glc</sub>, C<sub>4</sub><sub>glc</sub>, C<sub>5</sub><sub>glc</sub>, C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 65.9, 62.3, 62.0 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>, C<sub>6</sub><sub>glc</sub>, OCH<sub>2</sub>), 40.2 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.2 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub>: *m/z* 639.2013 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 639.2274 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3439 (br), 2948, 1748, 1699, 1667, 1634, 1469, 1367, 1213, 1166, 1094, 1033, 904, 769, 600 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> (M = 616.2116 g/mol): ber.: C 48.83, H 5.67, N 4.38; gef.: C 50.61, H 6.06, N 4.59.

***N*<sup>3</sup>-(2-(β-D-Glucopyranosyloxy)ethyl)-2'-desoxythymidin (75)**

Das acetylgeschützte Glucothymidinderivat **74** (100 mg, 0.156 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden in abs. Methanol (4 mL) gelöst. Natriummethanolat (68 mg, 1.25 mmol, 8.0 Äquiv.) wurde zugegeben und die Lösung für 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 70.0 mg, 0.156 mmol (*M* = 448.42 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.30 (EtOAc / MeOH, 3:1);

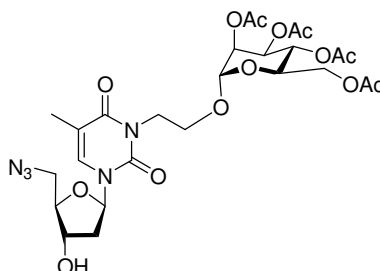
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K): δ = 7.86 (q, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.30 (dd~t, <sup>3</sup>*J* = 6.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.40 (ddd~dt, <sup>3</sup>*J* = 3.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.2 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.28 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>glc</sub>), 4.27 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 6.1 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.13 (ddd~dt, <sup>3</sup>*J* = 5.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.02 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.92 (ddd~dt, <sup>3</sup>*J* = 3.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.4 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.84 (dd, <sup>3</sup>*J* = 2.0 Hz, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>glc</sub>), 3.81 (dd, <sup>3</sup>*J* = 3.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.80 (ddd~dt, <sup>3</sup>*J* = 5.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.6 Hz, <sup>2</sup>*J* = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.65 (dd, <sup>3</sup>*J* = 5.4 Hz, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>glc</sub>), 3.36-3.33 (m, 1H, H<sub>3</sub><sub>glc</sub>), 3.29-3.23 (m, 2H, H<sub>4</sub><sub>glc</sub>, H<sub>5</sub><sub>glc</sub>), 3.14 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 9.2 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>glc</sub>), 2.29 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 3.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.27 (ddd, <sup>3</sup>*J* = 6.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 7.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 13.6 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.91 (d, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, MeOD, 300 K): δ = 165.6 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 152.6 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 136.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.9 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 104.7 (C<sub>1</sub><sub>glc</sub>), 88.9 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 87.3 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 78.0, 77.9 (C<sub>3</sub><sub>glc</sub>, C<sub>4</sub><sub>glc</sub>), 75.0 (C<sub>2</sub><sub>glc</sub>), 72.1 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 71.6 (C<sub>5</sub><sub>glc</sub>), 67.5 (OCH<sub>2</sub>), 62.8, 62.8 (C<sub>6</sub><sub>glc</sub>, C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 42.0 (NCH<sub>2</sub>), 41.4 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 13.2 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: *m/z* 471.1585 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 471.1504 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3353 (br), 2925, 1693, 1662, 1623, 1470, 1337, 1269, 1196, 1160, 1028, 919, 894, 770 cm<sup>-1</sup>.

***N*<sup>3</sup>-(2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-5'-azido-2',5'-di-desoxythymidin (76)**



Das Azidothymidinderivat **48** (150 mg, 0.561 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (3 mL) gelöst. Das Mannosylderivat **30** (255 mg, 0.561 mmol, 1.0 Äquiv.), DBU (84  $\mu$ L, 0.56 mmol, 1.0 Äquiv.) und TBAI (207 mg, 0.561 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Lösung 42 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand wurde in Dichlormethan (30 mL) aufgenommen. Es wurde dreimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 10 mL) gewaschen und die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 245 mg, 0.396 mmol (M = 641.58 g/mol), 71 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.48 (EtOAc);

**Schmp.:** 52 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +103.4^\circ$  (c = 0.95, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 7.38$  (q, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 1H, H<sub>6<sub>thy</sub></sub>), 6.21 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 1H, H<sub>1<sub>ribo</sub></sub>), 5.25 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H<sub>4<sub>man</sub></sub>), 5.21 (dd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 1H, H<sub>3<sub>man</sub></sub>), 5.19 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, 1H, H<sub>2<sub>man</sub></sub>), 4.94 (d, <sup>3</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H<sub>1<sub>man</sub></sub>), 4.44 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, 1H, H<sub>3<sub>ribo</sub></sub>), 4.33 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.5 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.26 (dd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.11 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J = 4.7 Hz, <sup>2</sup>J = 12.7 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.09 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 1H, H<sub>6<sub>man</sub></sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, 1H, H<sub>4<sub>thy</sub></sub>), 3.95 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 1H, H<sub>5<sub>man</sub></sub>), 3.88 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, <sup>2</sup>J = 10.9 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.76 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.7 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.74 (dd, <sup>3</sup>J = 3.6 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 3.59 (dd, <sup>3</sup>J = 4.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.2 Hz, 1H, H<sub>5<sub>ribo</sub></sub>), 2.43 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, 1H, H<sub>2<sub>ribo</sub></sub>), 2.27



(ddd,  $^3J = 6.7$  Hz,  $^3J = 6.7$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

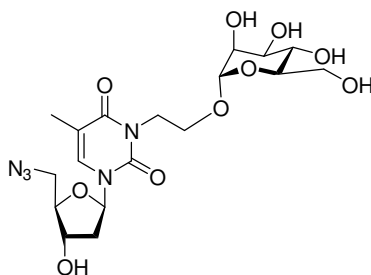
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.7$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.1 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.2 (C4<sub>thy</sub>), 150.9 (C2<sub>thy</sub>), 133.8 (C6<sub>thy</sub>), 110.2 (C5<sub>thy</sub>), 96.6 (C1<sub>man</sub>), 86.0 (C1<sub>ribo</sub>), 84.4 (C4<sub>ribo</sub>), 71.4 (C3<sub>ribo</sub>), 69.4 (C3<sub>man</sub>), 69.4 (C2<sub>man</sub>), 68.7 (C5<sub>man</sub>), 66.1 (C4<sub>man</sub>), 63.5 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C6<sub>man</sub>), 52.2 (C5<sub>ribo</sub>), 40.7 (C2<sub>ribo</sub>), 39.3 (NCH<sub>2</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>:  $m/z$  664.2107 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  664.1952 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3464, 2933, 2103, 1744, 1704, 1667, 1643, 1468, 1368, 1218, 1136, 1082, 1042, 975, 899, 768$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub> (M = 641.58 g/mol): ber.: C 48.67, H 5.50, N 10.92; gef.: C 48.76, H 5.69, N 10.65.

### 5'-Azido-N<sup>3</sup>-(2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)ethyl)-2',5'-dideoxythymidin (77)



Das acetylgeschützte Azidoglycothymidinderivat **76** (100 mg, 0.156 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (4 mL) gelöst. Natriummethanolat (67 mg, 1.25 mmol, 8.0 Äquiv.) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 73.9 mg, 0.156 mmol (M = 473.43 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.57 (EtOAc / MeOH, 1:1);

**Schmp.:** 54 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +110.6$  (c = 9.15, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.60$  (q,  $^4J = 1.3$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.31 (dd~t,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.81 (d,  $^3J = 1.8$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.38 (ddd~dt,  $^3J = 3.9$  Hz,

$^3J = 5.4$  Hz,  $^3J = 5.4$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.34 (ddd,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.09 (ddd~dt,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.01 (ddd~dt,  $^3J = 3.8$  Hz,  $^3J = 3.8$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.91 (ddd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.79 (dd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.76 (dd,  $^3J = 1.7$  Hz,  $^3J = 2.9$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.73 (ddd~dt,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.71 (dd,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.68 (dd,  $^3J = 3.7$  Hz,  $^2J = 13.3$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.65-3.61 (m, 2H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>man</sub>), 3.61 (dd,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^2J = 13.3$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.40 (ddd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 2.34 (dd,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.96 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

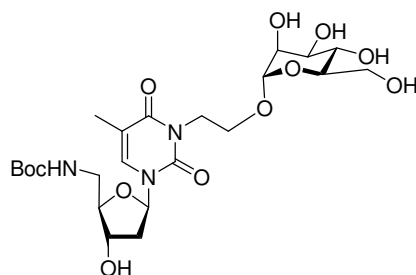
$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.3$  (C4<sub>thy</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.3 (C6<sub>thy</sub>), 111.0 (C5<sub>thy</sub>), 101.0 (C1<sub>man</sub>), 87.4 (C1<sub>ribo</sub>), 86.5 (C4<sub>ribo</sub>), 74.8 (C5<sub>man</sub>), 72.5 (C4<sub>man</sub>, C3<sub>ribo</sub>), 72.1 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C3<sub>man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C6<sub>man</sub>), 53.4 (C5<sub>ribo</sub>), 41.3 (NCH<sub>2</sub>), 40.5 (C2<sub>ribo</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>:  $m/z$  496.1650 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  496.1701 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3374, 2928, 2100, 1696, 1661, 1627, 1469, 1270, 1131, 1048, 972, 769$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub> · ½ H<sub>2</sub>O (M = 473.434 g/mol): ber.: C 44.81, H 5.85, N 14.52; gef.: C 44.90, H 5.94, N 13.94.

### 5'-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonylamino)-*N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin (78)



Azidoglycothymidinderivat **77** (15.0 mg, 31.7  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) wurde in Methanol (2 mL) gelöst. Palladium auf Aktivkohle (3 mg) und Boc<sub>2</sub>O (35.0 mg, 0.160 mmol, 5.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktionsmischung unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre 4 h bei Raumtemp. gerührt. Die Suspension wurde über Celite filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 3:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 14.4 mg, 26.3  $\mu\text{mol}$  ( $M = 547.55 \text{ g/mol}$ ), 83 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.33 (EtOAc / MeOH, 3:1);

**Schmp.:** 104 °C;

$[\alpha]_D^{22} = + 67.2^\circ$  ( $c = 1.9$ , MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 7.59$  (m<sub>c</sub>, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.23 (dd, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.78 (d, <sup>3</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.32 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.26 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 3.91-3.86 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.89 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.4 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.73 (m<sub>c</sub>, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.70 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.1 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.68 (dd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.60 (m<sub>c</sub>, 2H, H4<sub>man</sub>, H3<sub>man</sub>), 3.37-3.30 (m, 3H, H5<sub>man</sub>, 2x H5<sub>ribo</sub>), 2.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.95 (d, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

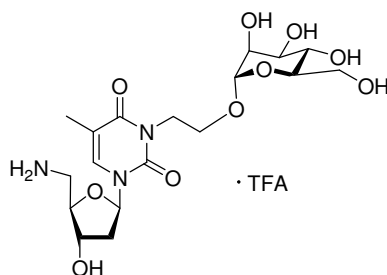
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C4<sub>thy</sub>), 158.7 (NHC(O)), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.5 (C6<sub>thy</sub>), 110.9 (C5<sub>thy</sub>), 100.9 (C1<sub>man</sub>), 87.5 (C1<sub>ribo</sub>), 87.2 (C4<sub>ribo</sub>), 80.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.8 (C5<sub>man</sub>), 72.9 (C4<sub>man</sub>), 72.5 C3<sub>ribo</sub>), 72.0 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C3<sub>man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C6<sub>man</sub>), 43.5 (C5<sub>ribo</sub>), 41.2 (NCH<sub>2</sub>), 40.5 (C2<sub>ribo</sub>), 28.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (CH<sub>3</sub>,<sub>thy</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>:  $m/z$  570.2269 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  570.2219 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3359, 2930, 1693, 1661, 1628, 1525, 1469, 1366, 1251, 1165, 1132, 1051, 1024, 974, 769 \text{ cm}^{-1}$ ;

**EA** C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub> · ½ H<sub>2</sub>O ( $M = 547.5528 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 49.63, H 6.88, N 7.55; gef.: C 49.83, H 7.21, N 7.27.

**5'-Amino-*N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-Hydrotrifluoracetat (79)**



Glycothymidinderivat **78** (14 mg, 0.026 mmol) wurde in abs. Dichlormethan (1 mL) und TFA (0.3 mL) gelöst. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt ohne zu erhitzen. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. Das Salz wurde ohne weitere Aufreinigung für die Funktionalisierung der Mikrotiterplatten verwendet.

**Ausbeute:** 14 mg, 26  $\mu$ mol ( $M = 544.4530$  g/mol) quant.

$[\alpha]_D^{22} = + 52.4$  ( $c = 1.00$ , MeOH);

**Schmp.:** 70 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 7.33$  ( $m_c$ , 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.05 (dd~t, <sup>3</sup> $J = 7.0$  Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.72-4.78 (m, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.30 (ddd~dt, <sup>3</sup> $J = 4.8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7.5$  Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.18 (ddd, <sup>3</sup> $J = 4.5$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8.8$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.9$  Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 3.96 (ddd, <sup>3</sup> $J = 3.4$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.9$  Hz, <sup>3</sup> $J = 9.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.91 (ddd~dt, <sup>3</sup> $J = 4.2$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.2$  Hz, <sup>2</sup> $J = 14.2$  Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 3.75 (ddd, <sup>3</sup> $J = 4.1$  Hz, <sup>3</sup> $J = 8.8$  Hz, <sup>2</sup> $J = 10.7$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.69 (dd~t, <sup>3</sup> $J = 1.9$  Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.63 (ddd~dt, <sup>3</sup> $J = 4.5$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.5$  Hz, <sup>2</sup> $J = 10.7$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.59 (dd, <sup>3</sup> $J = 2.4$  Hz, <sup>2</sup> $J = 12.2$  Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.53 (dd, <sup>3</sup> $J = 6.1$  Hz, <sup>2</sup> $J = 12.2$  Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.48-3.43 (m, 2H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 3.28 (dd, <sup>3</sup> $J = 3.0$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.7$ , 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.13 ( $m_c$ , 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.09 (dd, <sup>3</sup> $J = 10.1$  Hz, <sup>2</sup> $J = 13.6$ , 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.41 (ddd~dt, <sup>3</sup> $J = 7.1$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7.1$  Hz, <sup>2</sup> $J = 14.4$  Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.25 (ddd, <sup>3</sup> $J = 4.9$  Hz, <sup>3</sup> $J = 7.4$  Hz, <sup>2</sup> $J = 14.4$  Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.77 (d~s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm;

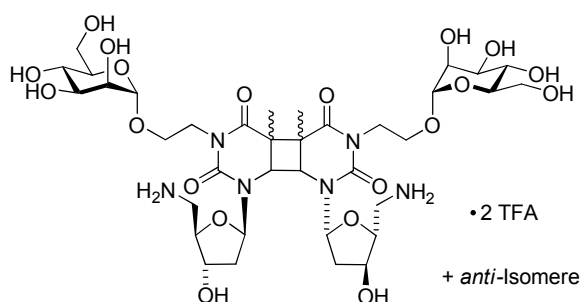
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 162.9 (q,  $J = 91$  Hz, C(O)CF<sub>3</sub>), 151.5 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 137.0 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 116.3 (q,  $J = 292$  Hz, C(O)CF<sub>3</sub>), 110.5 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 99.1 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 87.8 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 81.6 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 73.0 (C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 71.4 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 70.5 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 69.9 (C<sub>2</sub><sub>man</sub>), 66.4 (C<sub>3</sub><sub>man</sub>), 63.6 (OCH<sub>2</sub>), 60.7 (C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 41.3 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 40.4 (N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 37.6 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 12.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>:  $m/z$  448.1926 [M+H]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  496.1929 [M+H]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3377$  (br), 2934, 2100, 1667, 1632, 1471, 1180, 11130, 1049, 1027, 974, 770  $\text{cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , TFA ( $M = 544.4530$  g/mol): ber.: C 40.07, H 4.74, N 6.37; gef.: C 39.99, H 4.94, N 6.10.

**5'-Amino- $N^3$ -[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-Hydrotrifluoracetat-Dimer (80)**

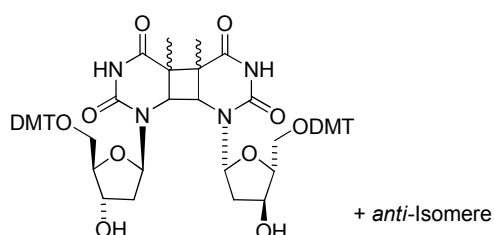


Zur Photodimerisierung wurde das Glycothymidinderivat **79** (20 mg, 0.037 mmol) in einer Quarzküvette in Wasser (1 mL) gelöst und mit Aceton (1 mL) wurde als Triplet Sensitizer versetzt. Zum Entgasen wurde die Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung 6 h mithilfe einer 150 W Quecksilber-Mitteldrucklampe und einem Cut-off-Filter mit einer Wellenlänge von  $\lambda \geq 295$  nm belichtet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Gemisch der Dimere durch GPC an Sephadex, LH-20, ( $\text{H}_2\text{O}$ ) gereinigt. Das Produktgemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Das Produkt wurde massenspektrometrisch nachgewiesen und auf der Mikrotiterplattenoberfläche immobilisiert.

**MALDI-ToF-MS:** ber. für  $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{20}$ :  $m/z$  917.36  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  917.71  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**5'-O-(4,4'-Dimethoxytrityl)-2'-desoxythymidin-Dimer (86)**



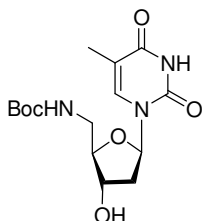
Zur Photodimerisierung wurde das Thymidinderivat **2** (100 mg, 0.184 mmol) in einer Quarzküvette in Wasser (1 mL) gelöst und mit Aceton (1 mL) wurde als Triplet Sensitizer versetzt. Zum Entgasen wurde die Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. Anschließend wurde die Lösung 6 h mithilfe einer 150 W Quecksilber-Mitteldrucklampe und einem Cut-off-Filter mit einer Wellenlänge von  $\lambda \geq 295$  nm belichtet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Gemisch der Dimere durch GPC an Sephadex, LH-20, (H<sub>2</sub>O) gereinigt. Das Produktgemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 4 mg, 0.0037 mmol (M = 1088.19 g/mol), 4 %.

Aufgrund der geringen Substanzmenge war eine detaillierte NMR-Analytik der Stereoisomere nicht möglich und das Produkt wurde lediglich massenspektrometrisch charakterisiert.

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>62</sub>H<sub>64</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub>: *m/z* 1111.43 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 1111.57 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 5'-(*N*-Boc-amino)-2',5'-dideoxythymidin (**82**)<sup>[246]</sup>



5'-Azido-2',5'-dideoxythymidin (**48**, 100 mg, 0.374 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (5 mL) gelöst. Palladium auf Aktivkohle (10 mg) und Boc<sub>2</sub>O (408 mg, 1.87 mmol, 5.0 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktion unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre 4 h bei Raumtemp. gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 107.2 mg, 0.314 mmol (M = 341.3596 g/mol), 84 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.23 (EtOAc);

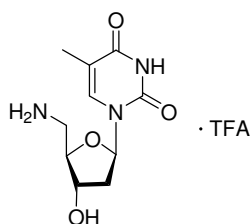
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta$  = 7.56 (s, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.21 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.26 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J = 6.4 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 3.87 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.34-3.28 (m, 2H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 2.25 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.21 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz,

$^3J = 6.9$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H<sub>2-ribo</sub>), 1.91 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C<sub>5-thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 166.4$  (C<sub>4-thy</sub>), 158.7 (NHC(O)<sub>Boc</sub>), 152.3 (C<sub>2-thy</sub>), 138.0 (C<sub>6-thy</sub>), 111.7 (C<sub>5-thy</sub>), 87.0 (C<sub>4-ribo</sub>), 86.5 (C<sub>1-ribo</sub>), 80.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72.9 (C<sub>3-ribo</sub>), 43.5 (C<sub>5-ribo</sub>), 40.2 (C<sub>2-ribo</sub>), 28.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 12.5 (C<sub>5-thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>:  $m/z$  364.35 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  364.42 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 5'-Amino-2',5'-dideoxythymidin-Hydrotrifluoracetat (83)<sup>[246]</sup>



Glycothymidinderivat **82** (70 mg, 0.20 mmol) wurde in abs. Dichlormethan (2 mL) und TFA (0.6 mL) gelöst. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt ohne zu erhitzen. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. Das Salz wurde ohne weitere Aufreinigung für die Funktionalisierung der Mikrotiterplatten verwendet.

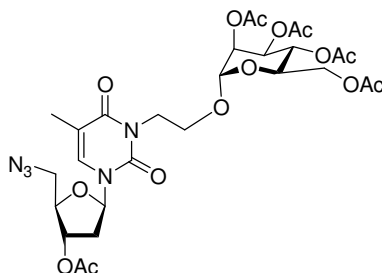
**Ausbeute:** 69 mg, 0.20 mmol (M = 338.26 g/mol), quant.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 7.41$  (q,  $^4J = 1.3$  Hz, 1H, H<sub>6-thy</sub>), 6.13 (dd~t,  $^3J = 6.9$  Hz, 1H, H<sub>1-ribo</sub>), 4.41 (ddd~dt,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^3J = 7.2$  Hz, 1H, H<sub>3-ribo</sub>), 4.07 (ddd~dt,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^3J = 9.5$  Hz, 1H, H<sub>4-ribo</sub>), 3.36 (dd,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, H<sub>5-ribo</sub>), 3.20 (dd,  $^3J = 9.5$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, H<sub>5-ribo</sub>), 2.53 (ddd~dt,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H<sub>2-ribo</sub>), 2.33 (ddd,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^2J = 14.4$  Hz, 1H, H<sub>2-ribo</sub>), 1.84 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3H, C<sub>5-thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta = 166.6$  (C<sub>4-thy</sub>), 151.6 (C<sub>2-thy</sub>), 138.8 (C<sub>6-thy</sub>), 116.5 (q,  $J = 296$  Hz, C(O)CF<sub>3</sub>), 111.4 (C<sub>5-thy</sub>), 87.2 (C<sub>1-ribo</sub>), 81.7 (C<sub>4-ribo</sub>), 71.5 (C<sub>3-ribo</sub>), 41.2 (C<sub>5-ribo</sub>), 37.3 (C<sub>2-ribo</sub>), 11.8 (C<sub>5-thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>:  $m/z$  242.25 [M+H]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  242.38 [M+H]<sup>+</sup>;

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-*O*-acetyl-5'-azido-2',5'-dideoxythymidin (91)**



Azidoglycothymidinderivat **76** (50 mg, 0.078 mmol) wurde in abs. Pyridin (0.3 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (0.1 mL) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 18 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde ohne weitere Aufreinigung als ein weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 523 mg, 0.765 mmol ( $M = 683.62$  g/mol), 95 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.75 (EtOAc);

**Schmp.:** 66 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +83.1^\circ$  ( $c = 1.01$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ );

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 7.38$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.34 (dd,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^3J = 8.9$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.26 (dd~t,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 5.24 (dd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 5.19 (ddd~dt,  $^3J = 2.2$  Hz,  $^3J = 2.2$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 5.19 (dd,  $^3J = 1.8$  Hz,  $^3J = 3.0$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 4.92 (d,  $^3J = 1.6$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.33 (ddd,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (dd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.13 (m<sub>c</sub>, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.12 (m<sub>c</sub>, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.08 (dd,  $^3J = 2.3$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.94 (ddd,  $^3J = 2.3$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.89 (ddd,  $^3J = 5.7$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.77 (dd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^2J = 13.1$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.75 (ddd,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^3J = 5.7$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.69 (dd,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^2J = 13.1$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.49 (ddd,  $^3J = 1.8$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.24 (ddd,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^3J = 8.9$  Hz,  $^2J = 14.3$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.98 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sub>thy</sub>); 1.97 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.7$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.0 (C4<sub>thy</sub>), 150.9 (C2<sub>thy</sub>), 133.1 (C6<sub>thy</sub>), 110.9 (C5<sub>thy</sub>), 96.7 (C1<sub>man</sub>), 85.2 (C1<sub>ribo</sub>), 82.5 (C4<sub>ribo</sub>), 74.6 (C3<sub>ribo</sub>), 69.3 (C2<sub>man</sub>), 69.1 (C3<sub>man</sub>), 68.7 (C5<sub>man</sub>), 66.0 (C4<sub>man</sub>), 63.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C6<sub>man</sub>), 52.6 (C5<sub>ribo</sub>), 39.5 (NCH<sub>2</sub>),



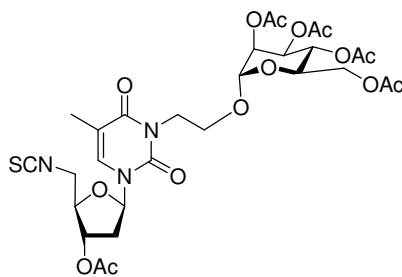
37.2 (C<sub>2-ribo</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.4 (CH<sub>3,thy</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>15</sub>: *m/z* 706.2178 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 706.2089 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 2940, 2103, 1739, 1705, 1668, 1645, 1466, 1368, 1217, 1136, 1084, 1043, 973, 895, 768 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>O<sub>15</sub> (M = 683.62 g/mol): ber.: C 49.19, H 5.46, N 10.24; gef.: C 49.46, H 5.51, N 9.87.

**N<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-O-acetyl-5'-isothiocyanato-2',5'-dideoxythymidin (92)**



Das Glycothymidinderivat **91** (15 mg, 0.022 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. THF (2 mL) gelöst und mit Kohlenstoffdisulfid (20  $\mu$ L, 0.329 mmol, 15 Äquiv.) und Triphenylphosphin (6.3 mg, 0.024 mmol, 1.1 Äquiv.) versetzt und die Reaktionsmischung 70 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc 2:1  $\rightarrow$  0:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 14 mg, 0.020 mmol (M = 699.68 g/mol), 91 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.28 (EtOAc / Cy, 2:1);

**Schmp.:** 60-62 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +12.9^\circ$  (c = 1.07, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.37 (q, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 1H, H<sub>6,thy</sub>), 6.39 (dd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, 1H, H<sub>1,ribo</sub>), 5.27 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4,man</sub>), 5.23 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3,man</sub>), 5.23 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>3,ribo</sub>), 5.19 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, 1H, H<sub>2,man</sub>), 4.92 (d, <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H<sub>1,man</sub>), 4.35 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6,man</sub>), 4.15-4.08 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>, H<sub>4,ribo</sub>), 4.08 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6,man</sub>), 4.02 (dd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz,

$^2J = 14.9$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.94 (dd,  $^3J = 2.9$  Hz,  $^2J = 14.9$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.93 (mc, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.90 (ddd,  $^3J = 5.6$  Hz,  $^3J = 7.9$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.75 (ddd,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^3J = 5.7$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 2.53 (ddd,  $^3J = 1.6$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^2J = 14.4$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.29 (ddd,  $^3J = 7.3$  Hz,  $^3J = 9.1$  Hz,  $^2J = 14.4$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3H, CH<sub>3,thy</sub>); 1.97 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>) ppm;

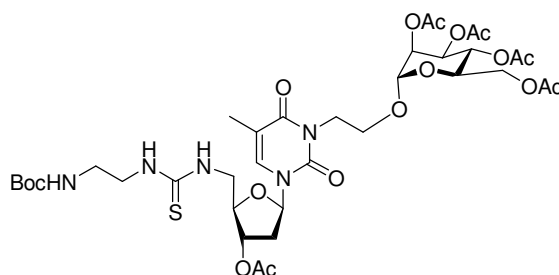
$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 170.7$  (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.0 (C4<sub>thy</sub>), 151.0 (C2<sub>thy</sub>), 133.0 (C6<sub>thy</sub>), 111.4 (C5<sub>thy</sub>), 96.7 (C1<sub>man</sub>), 84.9 (C1<sub>ribo</sub>), 81.7 (C4<sub>ribo</sub>), 74.6 (C3<sub>ribo</sub>), 69.3 (C2<sub>man</sub>), 69.1 (C3<sub>man</sub>), 68.7 (C5<sub>man</sub>), 66.0 (C4<sub>man</sub>), 63.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C6<sub>man</sub>), 47.1 (C5<sub>ribo</sub>), 39.6 (NCH<sub>2</sub>), 36.8 (C2<sub>ribo</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub>S:  $m/z$  722.1838 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  722.1725 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2956, 2097, 1736, 1704, 1665, 1647, 1465, 1450, 1367, 1216, 1135, 1083, 1041, 973, 894, 767$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>29</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub>S (M = 699.68 g/mol): ber.: C 49.78, H 6.01, N 5.33, S 4.58; gef.: C 49.87, H 5.47, N 5.81, S 4.13.

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-*O*-acetyl-5'-[2-(*N*-tert-butylloxycarbonylamino)-ethyl]-thioureido-2',5'-dideoxythymidin (**94**)**



*N*-Boc-Ethylendiamin (3.4  $\mu\text{L}$ , 0.022 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde in abs. DMF (1 mL) gelöst und bei 0°C mit Isothiocyanatoglycothymidinderivat **92** (10 mg, 0.014 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 10 mg, 0.012 mmol (M = 859.89 g/mol), 83 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.40 (EtOAc);

**Schmp.**: 72 °C;

$[\alpha]_D^{22} = + 30.9$  (c = 0.656, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.21 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 7.00-6.42 (br m, 2H, NHC(S)NH), 6.24 (dd, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.1 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.25 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 5.21 (dd, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>), 5.18 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 5.20-5.16 (m, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 5.09-5.03 (m, br, 1H, NHBoc), 4.90 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.37 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.16-4.08 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 4.08 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.95-3.80 (m, 3H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>, 2x H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>) 3.92 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.76 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.72-3.49 (m, 2H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 3.34-3.29 (m, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.45 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J = 14.3 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.38 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, <sup>2</sup>J = 14.5 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sub>thy</sub>); 1.96 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

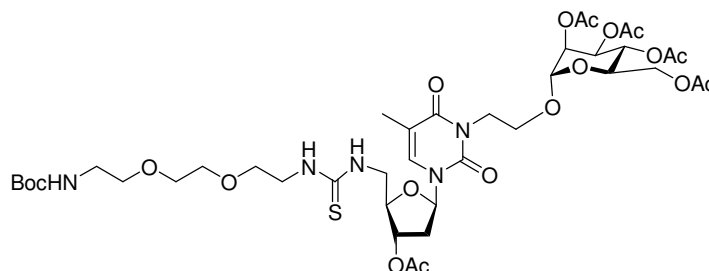
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 178.1 (C=S), 171.1 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.0 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 157.2 (NHC(O)OtBu), 151.0 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 133.8 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 111.2 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 96.7 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 86.0 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 82.6 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 80.1 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.6 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 69.3 (C<sub>2</sub><sub>man</sub>), 69.1 (C<sub>3</sub><sub>man</sub>), 68.6 (C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 65.9 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 63.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 46.4 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 45.3 (C(S)NHCH<sub>2</sub>), 39.9 (BocNHCH<sub>2</sub>), 39.6 (NCH<sub>2</sub>), 36.3 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 28.4 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 21.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.3 (CH<sub>3</sub><sub>thy</sub>) ppm;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>36</sub>H<sub>53</sub>N<sub>5</sub>O<sub>17</sub>S: *m/z* 882.3049 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 882.3036 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3347, 2933, 1743, 1702, 1643, 1520, 1466, 1367, 1225, 1193, 1181, 1169, 1136, 1084, 1047, 981, 905 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>36</sub>H<sub>53</sub>N<sub>5</sub>O<sub>17</sub>S (M = 859.89 g/mol): ber.: C 50.28, H 6.21, N 8.14, S 3.73; gef.: C 50.63, H 6.65, N 7.51, S 3.27.

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-*O*-acetyl-5'-(2-{2-[2-(*N*-tert-butyloxycarbonylamino)-ethoxy]-ethoxy}-thioureido)-2',5'-dideoxythymidin (**95**)**



*N*-Boc-1,8-Diaminotriethylenglycol (**93**, 66  $\mu$ L, 0.278 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde in abs. DMF (3 mL) gelöst und bei 0 °C mit Glycothymidinderivat **92** (130 mg, 0.186 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 133 mg, 0.140 mmol (M = 948.00 g/mol), 76 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.32 (EtOAc);

**Schmp.:** 68 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +35.9$  (c = 1.24, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.32 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.28 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.26 (dd-t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 5.23 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>), 5.22-5.18 (m, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 5.18 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 4.91 (d, <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.32 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.26 (dd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.18-4.15 (m, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 4.14-4.10 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.08 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.05-3.99 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.95-3.85 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.93 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.88 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.83-3.68 (m, 2H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 3.74 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.66-3.56 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHC(S)), 3.54 (t, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.28 (t, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.48 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J = 14.4 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.32-2.24 (m, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.10 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.99 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.43 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 183.4 (C=S), 170.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.1 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 156.0

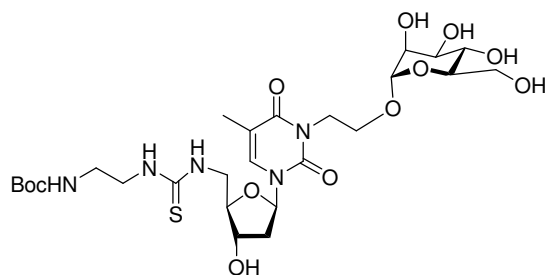
(NHC(O)OtBu), 150.9 (C<sub>2thy</sub>), 133.6 (C<sub>6thy</sub>), 111.0 (C<sub>5thy</sub>), 96.8 (C<sub>1man</sub>), 85.7 (C<sub>1ribo</sub>), 82.7 (C<sub>4ribo</sub>), 79.5 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.6 (C<sub>3ribo</sub>), 70.4 (3x OCH<sub>2,TEG</sub>), 70.1 (BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), (69.3 (C<sub>2man</sub>), 69.1 (C<sub>3man</sub>), 68.7 (C<sub>5man</sub>), 66.0 (C<sub>4man</sub>), 63.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C<sub>6man</sub>), 46.4 (C<sub>5ribo</sub>), 44.6 (C(S)NHCH<sub>2</sub>), 40.8 (BocNHCH<sub>2</sub>), 39.5 (NCH<sub>2</sub>), 36.7 (C<sub>2ribo</sub>), 28.4 (OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 21.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.2 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>40</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>19</sub>S: *m/z* 970.3574 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 970.3447 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3343, 2932, 1742, 1703, 1665, 1642, 1537, 1466, 1366, 1220, 1169, 1135, 1083, 1043, 978, 897, 769 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>40</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>19</sub>S (M = 947.9994 g/mol): ber.: C 50.68, H 6.49, N 7.39 S 3.38; gef.: C 51.15, H 6.70, N 7.28, S 3.27.

***N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'-[2-(*N*-*tert*-butyloxycarbonylamino)-ethyl]-thioureido-2',5'-dideoxythymidin (**96**)**



Das Glycothymidinderivat **94** (90 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (2 mL) gelöst. Natriummethanolat (32 mg, 0.58 mmol, 5.8 Äquiv.) wurde zugegeben und die Reaktionslösung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten

**Ausbeute:** 68 mg, 0.10 mmol (M = 649.7109 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.35 (EtOAc / MeOH, 3:1);

**Schmp.:** 121 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +56.1^\circ$  (c = 1.04, MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta$  = 7.52 (br s, 1H, H<sub>6thy</sub>), 6.22 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 4.78 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 4.37-4.33 (m, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.32 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.04-3.99 (m, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 3.97-3.88 (br m, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 3.89 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz,

$^3J = 8.0$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.82-3.68 (br m, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.75 (dd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.72 (dd,  $^3J = 1.7$  Hz,  $^3J = 3.0$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.70 (ddd~dt,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.68 (dd,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.62-3.43 (m, 2H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 3.63-3.57 (m, 2H, H4<sub>man</sub>, H3<sub>man</sub>), 3.35 (ddd,  $^3J = 2.4$  Hz,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^3J = 9.7$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.22 (t,  $^3J = 6.4$  Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.30 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz, 2H, H2<sub>ribo</sub>) 1.94 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, CH<sub>3,thy</sub>), 1.43 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

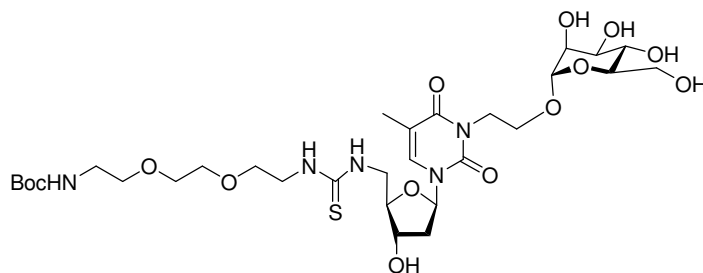
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C4<sub>thy</sub>), 158.8 (C=O<sub>Boc</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.7 (C6<sub>thy</sub>), 111.1 (C5<sub>thy</sub>), 101.0 (C1<sub>man</sub>), 87.9 (C1<sub>ribo</sub>), 86.5 (C4<sub>ribo</sub>), 80.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.8 (C5<sub>man</sub>), 72.9 (C4<sub>man</sub>), 72.5 (C3<sub>ribo</sub>), 72.1 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C3<sub>man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C6<sub>man</sub>), 45.2 C(S)NHCH<sub>2</sub>), 41.3 (NCH<sub>2</sub>), 40.9 (BocNHCH<sub>2</sub>), 40.1 (C2<sub>ribo</sub>), 28.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>S:  $m/z$  672.2521 [M+Na]<sup>+</sup>; gef:  $m/z$  672.2559 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3317, 2937, 1694, 1663, 1633, 1528, 1470, 1366, 1255, 1163, 1061, 1024, 974, 769$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>S (M = 649.7109 g/mol): ber.: C 48.06, H 6.67, N 10.78, S 4.94; gef.: C 46.87, H 6.84, N 10.12, S 4.97.

**N<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'-[(2-{2-[2-(*N*-*tert*-butyloxycarbonylamino)-ethoxy]-ethoxy}-ethyl)-thioureido]-2',5'-dideoxythymidin (97)**



Das Glycothymidinderivat **95** (85 mg, 0.090 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (3 mL) gelöst. Natriummethanolat (32 mg, 0.58 mmol, 6.4 Äquiv.) wurden zugegeben und die Reaktion 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 59.1 mg, 80.1  $\mu$ mol (M = 737.82 g/mol), 89 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.52 (EtOAc / MeOH, 2:1);

$[\alpha]_D^{22} = +58.5^\circ$  (c = 0.775, MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 7.56$  (m, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.27 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.81 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.38 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J = 4.74 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.08 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.07-4.02 (m, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 3.99-3.92 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>) 3.92 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.90-3.60 (m, 3H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>, 2x C(S)NHCH<sub>2</sub>), 3.79 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.73 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.71 (dd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.66-3.60 (m, 8H, H<sub>4</sub><sub>man</sub>, H<sub>3</sub><sub>man</sub>, 3x OCH<sub>2</sub>), 3.54 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.38 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.25 (t, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.35-2.32 (m, 2H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.98 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.47 (s, 9H, OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

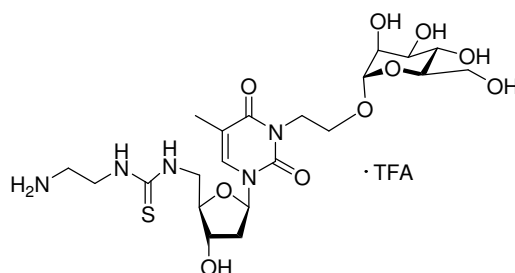
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 158.5 (NHC(O)), 152.4 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 136.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 111.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 100.9 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 87.8 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 86.6 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 80.2 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.8 (C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 72.9 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 72.6 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 72.1 (C<sub>2</sub><sub>man</sub>), 71.4 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 71.3 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 71.1 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 70.8 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 68.4 (C<sub>3</sub><sub>man</sub>), 64.3 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 47.3 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 45.5 (C(S)NHCH<sub>2</sub>), 41.2 (NCH<sub>2</sub>), 41.2 (BocNHCH<sub>2</sub>), 40.2 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 28.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS**: ber.für C<sub>30</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>S: *m/z* 760.3045 [M+Na]<sup>+</sup>; gef: *m/z* 760.3077 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3337, 2930, 1694, 1666, 1633, 1545, 1469, 1366, 1275, 1252, 1130, 1086, 1056, 974, 769$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>30</sub>H<sub>51</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>S (M = 737.8160 g/mol): ber.: C 48.87, H 6.97, N 9.49, S 4.35; gef.: C 48.75, H 7.06, N 8.69, S 3.82.

***N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'--(2-aminoethyl)-thioureido-2',5'-dideoxythymidin-Hydrotrifluoracetat (98)**



Das Aminoglycothymidinderivat **96** (35 mg, 0.054 mmol) wurden in abs. Dichlormethan (2 mL) und TFA (750  $\mu$ L) gelöst. Die Lösung wurde 20 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt ohne zu erhitzen. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. Das Salz wurde ohne weitere Aufreinigung für die Funktionalisierung der Mikrotiterplatten verwendet.

**Ausbeute:** 35 mg, 0.054 mmol (M = 646.6111 g/mol), quant.

$[\alpha]_D^{22} = +51.4$  (c = 0.90, MeOH);

**Schmp.:** 105 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 7.55$  (m<sub>c</sub>, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.25 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.80 (d, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.37 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, H3<sub>ribo</sub>), 4.37 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.08 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.09-4.04 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.96-3.83 (m, 4H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 2x H5<sub>ribo</sub>), 3.93 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.78 (dd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.73 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.72 (dd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.65 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 3.62 (dd, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 3.37 (m<sub>c</sub>, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.19 (t, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 2H, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2.40 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, H2<sub>ribo</sub>), 2.32 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.9 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, H2<sub>ribo</sub>), 1.97 (d, <sup>3</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C4<sub>thy</sub>), 156.1 (C(O)CF<sub>3</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 137.0 (C6<sub>thy</sub>), 111.1 (C5<sub>thy</sub>), 100.1 (C1<sub>man</sub>), 88.1 (C1<sub>ribo</sub>), 86.2 (C4<sub>ribo</sub>), 74.7 (C5<sub>man</sub>), 73.0 (C3<sub>ribo</sub>), 72.5 (C3<sub>man</sub>), 72.1 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C4<sub>man</sub>), 64.3 (OCH<sub>2</sub>), 62.7 (C6<sub>man</sub>), 48.0 (C5<sub>ribo</sub>), 42.5 (C(S)NHCH<sub>2</sub>), 41.2 (NCH<sub>2</sub>), 40.9 (BocNHCH<sub>2</sub>), 39.9 (C2<sub>ribo</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

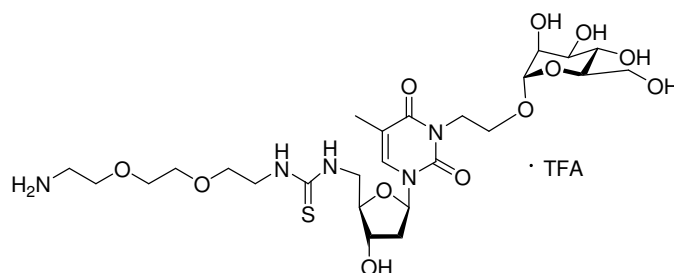
**ESI-MS:** ber. für C<sub>21</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>10</sub>S:  $m/z$  550.2177 [M+H]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  550.1957 [M+H]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3303$  (br), 3091, 2932, 1668, 1628, 1554, 1471, 1338, 1275, 1179, 1131, 1056, 974 cm<sup>-1</sup>.

**EA** C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub>F (M = 646.6111 g/mol): ber.: C 42.72, H 5.46, N 10.83, S 4.96; gef.: C 39.99, H 4.96, N 8.80, S 3.96.



***N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'-({2-[2-(2-amino-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-thioureido)-2',5'-dideoxythymidin-Hydrotrifluoracetat (99)**



Das Boc-geschützte Glycothymidinderivat **97** (50 mg, 0.068 mmol) wurde in abs. Dichlormethan (1 mL) und TFA (0.3 mL) gelöst. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt ohne zu erhitzen. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. Das Salz wurde ohne weitere Aufreinigung für die Funktionalisierung der Mikrotiterplatten verwendet.

**Ausbeute:** 50 mg, 0.068 mmol (M = 734.7162 g/mol), quant.

**Schmp.:** 82 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta$  = 7.55 (m<sub>c</sub>, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.24 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.77 (d, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.36-4.33 (m, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.35 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 4.04 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 4.03-3.99 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.95-3.86 (m, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.90 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.75-3.57 (m, 16H, H5<sub>ribo</sub>, H2<sub>man</sub>, H3<sub>man</sub>, H4<sub>man</sub>, 2x H6<sub>man</sub>, 8x OCH<sub>2,TEG</sub>, 2x H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 3.38-3.23 (m, 1H, H5<sub>man</sub>), (dd~t, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, H2<sub>man</sub>), 3.63 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, <sup>2</sup>J = 10.7 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.59 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, H6<sub>man</sub>), 3.53 (dd, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, H6<sub>man</sub>), 3.65 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 3.63 (dd, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 9.1 Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 3.28 (dd, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.7, H5<sub>ribo</sub>), 3.37 (m<sub>c</sub>, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.13 (t, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.33 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, H2<sub>ribo</sub>), 2.29 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, H2<sub>ribo</sub>), 1.94 (d, <sup>3</sup>J = 1.2 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm;

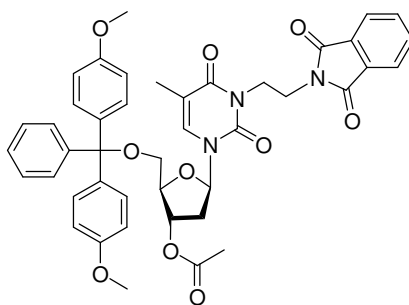
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta$  = 165.3 (C4<sub>thy</sub>), 158.8 (C(O)CF<sub>3</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.8 (C6<sub>thy</sub>), 117.2 (C(O)CF<sub>3</sub>), 111.1 (C5<sub>thy</sub>), 100.9 (C1<sub>man</sub>), 87.8 (C1<sub>ribo</sub>), 86.4 (C4<sub>ribo</sub>), 74.7 (C5<sub>man</sub>), 72.9 (C3<sub>ribo</sub>), 72.5, 72.0 (C2<sub>man</sub>), (C3<sub>man</sub>), 71.3 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 71.3 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 70.6 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 68.3 (C4<sub>man</sub>), 67.9 (OCH<sub>2,TEG</sub>), 64.3 (OCH<sub>2</sub>), 62.6 (C6<sub>man</sub>), 45.1 (C5<sub>ribo</sub>), 41.2 (NCH<sub>2</sub>), 40.7 (BocNHCH<sub>2</sub>), 40.0 (C2<sub>ribo</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber.für C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>S: *m/z* 638.2702 [M+H]<sup>+</sup>; gef: *m/z* 638.2745 [M+H]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3302, 2931, 1669, 1632, 1554, 1471, 1339, 1276, 1175, 1130, 1084, 1054, 973, 838, 800, 770  $\text{cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_{13}\text{S}$  ( $M = 734.7162 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 44.14, H 5.90, N 9.53, S 4.36; gef.: C 40.95, H 5.49, N 8.34, S 3.20.

**3'-O-Acetyl-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)- $N^3$ -(2-phthalimidoethyl)-2'-desoxythymidin (101)**



Das Thymidinderivat **2** (50 mg, 0.092 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (2 mL) gelöst und mit Kaliumcarbonat (46 mg, 0.18 mmol, 2.0 Äquiv.) und N-(2-Bromethyl)-phthalimid (0.18 mmol, 2.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 15 h bei 50 °C gerührt. Es wurde Wasser (2 mL) zugegeben und dreimal mit Diethylether (je 5 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösemittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt. Es wurde ein gelbliches Öl enthalten.

**R<sub>f</sub>**: 0.33 (Cy / EtOAc, 1:1);

**ESI-MS**: ber. für  $\text{C}_{41}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_9$ :  $m/z$  740.2579  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  740.2660  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

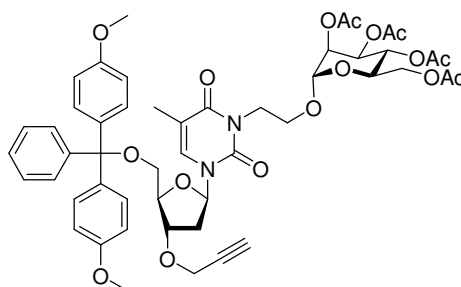
Analytik mittels NMR-Spektroskopie zeigte ein Gemisch von zwei Produkten, bei denen es sich um das *N*-alkylierte und das *O*-alkylierte Produkt im Verhältnis 1:1 handelte. Zur Trennung der beiden Produkte wurde das Gemisch (0.092 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Pyridin (2 mL) gelöst und mit Essigsäureanhydrid (17  $\mu\text{L}$ , 0.180 mmol, 2.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 14 h bei Raumtemp. gerührt und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**R<sub>f</sub>**: 0.53 (Cy / EtOAc, 1:1);

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.80 (m, 2H, Ar-H), 7.68 (m, 2H, Ar-H), 7.53 (q,  $^4J = 1.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{6\text{thy}}$ ), 7.41-7.38 (m, 2H, Ar-H), 7.33-7.26 (m, 7H, Ar-H), 6.87-6.83 (m,

4H, Ar-H), 6.25 (dd,  $^3J = 6.7$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.36-5.33 (m, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.34-4.24 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.10-4.08 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.07-3.98 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.47 (dd,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.39 (dd,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.32-2.29 (m, 2H, H2<sub>ribo</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.40 (d,  $^4J = 1.0$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm.

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)-3'-*O*-propargyl-2'-desoxythymidin (102)**



Das Thymidinderivat **61** (312 mg, 0.535 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (8 mL) gelöst und mit NaH (21 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.54 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemp. gerührt und anschließend mit 2-Bromethylmannosid **30** (365 mg, 0.803 mmol, 1.5 Äquiv.) und TBAI (297 mg, 0.803 mmol, 1.5 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde Wasser (1 mL) zugegeben und das Produkt mit Diethylether (5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel(Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 320 mg, 0.334 mmol (M = 956.98 g/mol), 63 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.37 (Cy / EtOAc, 1:1);

$[\alpha]_D^{22} = +45.5$  (c = 1.42, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

**Schmp.:** 75 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS):  $\delta = 7.62$  (q,  $^4J = 1.0$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 7.43-7.40 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.33-7.28 (m, 6H, H<sub>Ar</sub>), 7.25-7.21 (m, 1H, H<sub>Ar</sub>), 6.85-6.82 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>), 6.31 (dd,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.27 (dd~t,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 5.26-5.23 (m, 1H, H3<sub>man</sub>), 5.22 (dd,  $^3J = 1.6$  Hz,  $^3J = 3.0$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 4.96 (d,  $^3J = 1.4$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.49 (ddd~dt,  $^3J = 2.7$  Hz,  $^3J = 2.7$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.30 (ddd,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 13.7$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.28 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^2J = 12.2$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.22 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 15.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C $\equiv$ C), 4.16 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 15.9$  Hz, 1H,

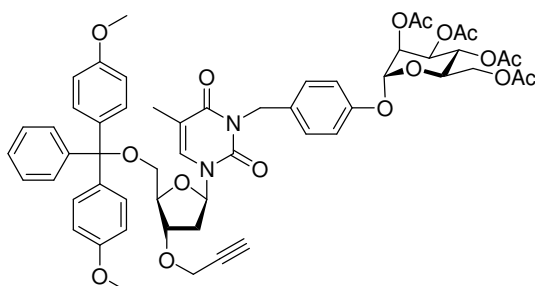
$\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 4.15-4.13 (m, 1H,  $\text{H}_{4\text{ribo}}$ ), 4.10 (dd,  $^3J = 2.1$  Hz,  $^2J = 12.2$  Hz, 1H,  $\text{H}_{6\text{man}}$ ), 3.99 (ddd,  $^3J = 2.2$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 9.7$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{man}}$ ), 3.86 (ddd,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^3J = 10.6$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.79 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.75 (ddd,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^2J = 10.7$  Hz, 1H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.46 (dd,  $^3J = 3.0$  Hz,  $^2J = 10.6$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5'\text{rib}}$ ), 3.36 (dd,  $^3J = 2.9$  Hz,  $^2J = 10.6$  Hz, 1H,  $\text{H}_{5\text{ribo}}$ ), 2.59 (ddd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 13.8$  Hz, 1H,  $\text{H}_{2\text{ribo}}$ ), 2.41 (t,  $^4J = 2.4$  Hz, 1H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 2.21 (ddd,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 7.5$  Hz,  $^3J = 13.9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{2\text{ribo}}$ ), 2.15 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.10 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.96 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.52 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H,  $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 170.7$  ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.9 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 169.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 163.3 ( $\text{C}_{4\text{thy}}$ ), 158.7 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 150.9 ( $\text{C}_{2\text{thy}}$ ), 144.4 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 135.5 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 133.8 ( $\text{C}_{6\text{thy}}$ ), 130.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 128.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 127.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 113.3 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 110.2 ( $\text{C}_{5\text{thy}}$ ), 96.7 ( $\text{C}_{1\text{man}}$ ), 86.9 ( $\text{C}_{\text{q}}$  DMT), 85.6 ( $\text{C}_{1\text{ribo}}$ ), 84.0 ( $\text{C}_{4\text{ribo}}$ ), 79.3 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 78.2 ( $\text{C}_{3\text{ribo}}$ ), 74.9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 69.3, 69.3 ( $\text{C}_{2\text{man}}$ ,  $\text{C}_{3\text{man}}$ ), 68.7 ( $\text{C}_{5\text{man}}$ ), 66.0 ( $\text{C}_{4\text{man}}$ ), 63.3 ( $\text{OCH}_2$ ), 63.3 ( $\text{C}_{5\text{ribo}}$ ), 62.5 ( $\text{C}_{6\text{man}}$ ), 56.5 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 55.3 (2x  $\text{OCH}_3$ ), 39.3 ( $\text{NCH}_2$ ), 37.7 ( $\text{C}_{2\text{ribo}}$ ), 20.9 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.8 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 20.7 ( $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 12.6 ( $\text{C}_{5\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $\text{C}_{50}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{17}$ :  $m/z$  979.3471 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ ; gef.:  $m/z$  979.3442 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2935$ , 1744, 1703, 1645, 1608, 1508, 1464, 1367, 1219, 1176, 1135, 1034, 977, 914, 829, 702, 584  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*<sup>3</sup>-[*p*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-benzyl]-5'-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)-3'-*O*-propargyl-2'-desoxythymidin (103)**



Das Thymidinderivat **61** (100 mg, 0.172 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (2 mL) gelöst und mit Natriumhydrid (7 mg, 60 % in Paraffinöl, 0.172 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 10 min mit Ultraschall behandelt und anschließend wurden das Mannosid **13** (106 mg, 0.206 mmol, 1.2 Äquiv.) und TBAI (76 mg, 0.206 mmol, 1.2 Äquiv.) zugegeben. Die Lösung wurde 16 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde Wasser (1 mL)

zugegeben und das Produkt mit Diethylether (5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 2:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 105 mg, 0.103 mmol ( $M = 1019.0522 \text{ g/mol}$ ), 60 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.42 (Cy / EtOAc, 1:1);

$[\alpha]_D^{22} = +46.9$  ( $c = 1.16$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

**Schmp.:** 98 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 298 K, TMS):  $\delta = 7.58$  (q,  $^4J = 1.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H6}_{\text{thy}}$ ), 7.47-7.44 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.41-7.38 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.30-7.27 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.24-7.20 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.02-6.99 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.83-6.80 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.35 (dd,  $^3J = 5.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{ribo}}$ ), 5.54 (dd,  $^3J = 3.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H3}_{\text{man}}$ ), 5.49 (d,  $^3J = 1.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{man}}$ ), 5.41 (dd,  $^3J = 1.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.5 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{man}}$ ), 5.35 (dd~t,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H4}_{\text{man}}$ ), 5.05 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Ar}$ ), 4.49 (ddd~dt,  $^3J = 2.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 2.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 6.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H3}_{\text{ribo}}$ ), 4.29-4.25 (m, 1H,  $\text{H4}_{\text{ribo}}$ ), 4.17 (dd,  $^4J = 2.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 15.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 4.12 (dd,  $^4J = 2.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 15.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ ), 4.06 (ddd,  $^3J = 2.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{man}}$ ), 3.778 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.776 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.45 (dd,  $^3J = 3.0 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 10.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 3.34 (dd,  $^3J = 2.8 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 10.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 2.50 (ddd,  $^3J = 2.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 13.7 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.40 (t,  $^4J = 2.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 2.20 (ddd,  $^3J = 6.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 13.7 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.19 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.04 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 1.49 (d,  $^4J = 1.0 \text{ Hz}$ , 3H,  $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

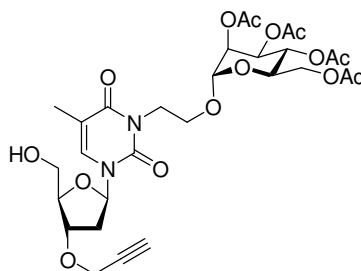
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 169.4$  ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 168.8 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 168.7 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 168.5 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 162.0 ( $\text{C4}_{\text{thy}}$ ), 153.9 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 149.8 ( $\text{C2}_{\text{thy}}$ ), 133.8 ( $\text{C6}_{\text{thy}}$ ), 129.7 ( $\text{C}_{\text{q,Ar}}$ ), 127.9 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 112.1 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 112.0 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 109.3 ( $\text{C5}_{\text{thy}}$ ), 94.6 ( $\text{C1}_{\text{man}}$ ), 86.9 ( $\text{C1}_{\text{ribo}}$ ), 83.7 ( $\text{C4}_{\text{ribo}}$ ), 78.0 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 77.2 ( $\text{C3}_{\text{ribo}}$ ), 73.9 ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 68.2 ( $\text{C2}_{\text{man}}$ ), 67.9 ( $\text{C5}_{\text{man}}$ ), 67.7 ( $\text{C3}_{\text{man}}$ ), 64.8 ( $\text{C4}_{\text{man}}$ ), 61.5 ( $\text{C5}_{\text{ribo}}$ ), 60.9 ( $\text{C6}_{\text{man}}$ ), 55.7 ( $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ), 42.6 ( $\text{NCH}_2$ ), 35.7 ( $\text{C2}_{\text{ribo}}$ ), 19.7 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 19.5 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 19.5 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 19.5 ( $\text{C(O)CH}_3$ ), 12.1 ( $\text{C5}_{\text{thy}}\text{-CH}_3$ ) ppm;

**ESI-MS:** ber.für  $\text{C}_{55}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_{17}$ :  $m/z$  1041.363  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  1041.368  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 1748, 1644, 1508, 1464, 1367, 1215, 1032, 801, 701, 584, 473 \text{ cm}^{-1}$ ;

**EA**  $\text{C}_{55}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_{17}$  ( $M = 1019.0522 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 64.82, H 5.74, N 2.75; gef.: C 57.03, H 5.46, N 2.21.

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-*O*-propargyl-2'-desoxythymidin (104)**



Das Glycothymidinderivat **102** (200 mg, 0.209 mmol) wurde in wässriger Essigsäure (14 mL, 80%) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei Raumtemp. gerührt. Es wurde mit gesättigter wässriger Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) neutralisiert und dreimal mit EtOAc (je 15 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc, 1:1 → 0:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 109 mg, 0.167 mmol (M = 654.62 g/mol), 80 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.56 (EtOAc);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 298 K, TMS):  $\delta$  = 7.36 (q, <sup>4</sup>J = 1.0 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.09 (dd, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.26 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 5.28 (dd, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, 1H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>), 5.19 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 4.92 (d, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.42 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 4.26 (dd, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡C), 4.20 (dd, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡C), 4.15-4.11 (m, 2H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>, NCH<sub>2</sub>), 4.09 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.98-3.94 (m, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.94 (dd, <sup>3</sup>J = 2.8 Hz, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.88 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, <sup>3</sup>J = 10.6 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.82 (dd, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 1H, H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.76 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 2.49 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J = 14.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.47 (t, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 1H, C≡CH), 2.21 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J = 14.0 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.95 (d, <sup>4</sup>J = 1.1 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;.

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 170.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.2 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.9 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 135.1 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 110.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 96.7

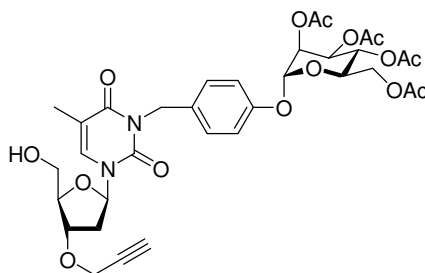
(C<sub>1man</sub>), 88.0 (C<sub>1ribo</sub>), 85.0 (C<sub>4ribo</sub>), 79.3 (C≡CH), 78.2 (C<sub>3ribo</sub>), 75.0 (C≡CH), 69.3 (C<sub>2man</sub>), 69.2 (C<sub>3man</sub>), 68.7 (C<sub>5man</sub>), 66.0 (C<sub>4man</sub>), 63.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.6 (C<sub>5ribo</sub>), 62.4 (C<sub>6man</sub>), 56.8 (CH<sub>2</sub>C≡CH), 39.4 (NCH<sub>2</sub>), 36.9 (C<sub>2ribo</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.3 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub>: *m/z* 677.2164 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 677.2197 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3478, 3264, 2931, 1744, 1699, 1666, 1640, 1467, 1368, 1218, 1136, 1085, 1042, 975, 897, 769 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> (M = 654.6164 g/mol): ber.: C 53.21, H 5.85, N 4.28; gef.: C 52.99, H 6.20, N 5.78.

**N<sup>3</sup>-[p-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-benzyl]-3'-O-propargyl-2'-desoxythymidin (105)**



Das Glycothymidinderivat **103** (190 mg, 0.186 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in wässriger Essigsäure (12 mL, 80%) gelöst und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit gesättigter wässriger Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (10 mL) neutralisiert und dreimal mit Essigsäureethylester (je 20 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rophprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Cy / EtOAc 1:1 → 0:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten.

**Ausbeute:** 125 mg, 174 mmol (M = 716.69 g/mol), 94 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.66 (EtOAc);

$[\alpha]_D^{22} = +56.3$  (c = 0.80, CHCl<sub>3</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 7.44 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 2H CH<sub>Ar</sub>), 7.33 (q, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 7.00 (d, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, 1H, CH<sub>Ar</sub>), 6.11 (dd, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 5.54 (dd, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, 1H, H<sub>3man</sub>), 5.49 (d, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 5.41 (dd, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 5.35 (dd~t, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H,

H4<sub>man</sub>), 5.05 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 4.42 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.27 (dd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.22 (dd, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.17 (dd, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 15.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.11 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.06 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 4.04 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.93 (dd, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.79-3.84 (m, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.58 (br s, 1H, OH), 2.47 (t, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 2.40 (ddd, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.8 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.19 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.93 (d, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>CH<sub>3</sub>) ppm;

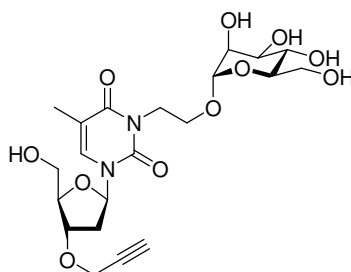
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 170.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 163.2 (C4<sub>thy</sub>), 155.0 (C<sub>q,Ar</sub>), 150.9 (C2<sub>thy</sub>), 135.0 (C6<sub>thy</sub>), 131.6 (C<sub>q,Ar</sub>), 130.9 (CH<sub>Ar</sub>), 116.3 (CH<sub>Ar</sub>), 110.5 (C5<sub>thy</sub>), 95.8 (C1<sub>man</sub>), 88.0 (C1<sub>ribo</sub>), 84.9 (C4<sub>ribo</sub>), 79.2 (C≡CH), 78.4 (C3<sub>ribo</sub>), 75.1 (C≡CH), 69.4 (C2<sub>man</sub>), 69.1 (C5<sub>man</sub>), 68.9 (C3<sub>man</sub>), 65.9 (C4<sub>man</sub>), 62.7 (C5<sub>ribo</sub>), 62.1 (C6<sub>man</sub>), 56.9 (CH<sub>2</sub>C≡CH), 43.8 (NCH<sub>2</sub>), 36.9 (C2<sub>ribo</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub>: *m/z* 739.232 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 739.230 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3470, 3279, 2933, 2252, 1745, 1699, 1667, 1638, 1509, 1466, 1368, 1214, 1126, 1086, 1035, 981, 913, 855, 804, 778, 728, 686, 647, 600, 533, 495, 469, 446, 407 cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>15</sub> (M = 716.6858 g/mol): ber.: C 56.98, H 5.63, N 3.91; gef.: C 53.23, H 4.90, N 3.47.

### **N<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-O-propargyl-2'-desoxythymidin (106)**



Das acetylgeschützte Glycothymidinderivat **104** (87 mg, 0.13 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (5 mL) gelöst. Natriummethanolat (57.5 mg, 1.06 mmol, 8.0 Äquiv.) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die basische



Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. **Ausbeute:** 63 mg, 0.13 mmol (M = 486.4697 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>:** 0.33 (EtOAc / MeOH, 1:4);

$[\alpha]_D^{22} = +82.1$  (c = 0.64, MeOH);

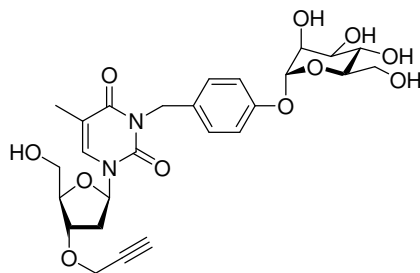
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.82$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.24 (dd,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.78 (d,  $^3J = 1.6$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.38 (ddd~dt,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.31 (ddd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.25 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 16.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.22 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 16.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.07 (ddd~dt,  $^3J = 3.2$  Hz,  $^3J = 3.2$  Hz,  $^3J = 3.2$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.05 (ddd~dt,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 3.89 (ddd,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.80 (dd,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.75 (dd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.74 (dd,  $^3J = 3.6$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.72 (dd,  $^3J = 1.7$  Hz,  $^3J = 2.7$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.70 (ddd~dt,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 10.4$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.67 (dd,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.61-3.56 (m, 2H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>man</sub>), 3.34 (ddd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^3J = 9.9$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 2.89 (t,  $^4J = 2.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 2.45 (ddd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^2J = 13.9$  Hz, H2<sub>ribo</sub>), 2.21 (ddd,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 13.9$  Hz, H2<sub>ribo</sub>), 1.92 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.4$  (C4<sub>thy</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.6 (C6<sub>thy</sub>), 110.9 (C5<sub>thy</sub>), 100.9 (C1<sub>man</sub>), 87.4 (C1<sub>ribo</sub>), 86.7 (C4<sub>ribo</sub>), 80.6 (C≡CH), 80.0 (C3<sub>ribo</sub>), 76.2 (C≡CH), 74.8 (C5<sub>man</sub>), 72.5 (C3<sub>man</sub>), 72.1 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C4<sub>man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 63.1 (C5<sub>ribo</sub>), 62.8 (C6<sub>man</sub>), 57.5 (CH<sub>2</sub>C≡CH), 41.3 (NCH<sub>2</sub>), 38.4 (C2<sub>ribo</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>: *m/z* 509.1742 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 509.1707 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3394, 2927, 1696, 1663, 1629, 1468, 1360, 1335, 1271, 1199, 1087, 1052, 975, 914, 809, 769$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub> (M = 486.1850 g/mol): ber.: C 51.85, H 6.22, N 5.76; gef.: C 52.99, H 6.20, N 5.78.

***N*<sup>3</sup>-[*p*-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-benzyl]-3'-*O*-propargyl-2'-desoxythymidin (**107**)**

Das GlycOTHYmidinderivat **105** (100 mg, 0.140 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (10 mL) gelöst und mit Natriummethanolat (15 mg, 0.279 mmol, 2.0 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 18 h bei Raumtemp. gerührt. Die basische Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten. **Ausbeute:** 76 mg, 0.139 mmol ( $M = 548.45$  g/mol), 99 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.34 (EtOAc / MeOH, 1:4);

$[\alpha]_D^{22} = +68.4$  ( $c = 0.75$ , MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.85$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H6<sub>thy</sub>), 7.36 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H CH<sub>Ar</sub>), 7.06 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, CH<sub>Ar</sub>), 6.28 (dd,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.48 (d,  $^3J = 1.9$  Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 5.06 (s, 2H NCH<sub>2</sub>), 4.41 (ddd~dt,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.28 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 16.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.24 (dd,  $^4J = 2.4$  Hz,  $^2J = 16.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 4.09 (ddd~dt,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^3J = 3.4$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.01 (dd,  $^3J = 1.9$  Hz,  $^3J = 3.4$  Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 3.91 (dd,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^3J = 9.5$  Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 3.83 (dd,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.77 (dd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.77 (dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.75 (dd~t,  $^3J = 9.6$  Hz,  $^3J = 9.6$  Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 3.72 (dd,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.60 (ddd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 9.8$  Hz, 1H, H5<sub>man</sub>), 2.91 (t,  $^4J = 2.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>C≡CH), 2.45 (ddd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.21 (ddd,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.95 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

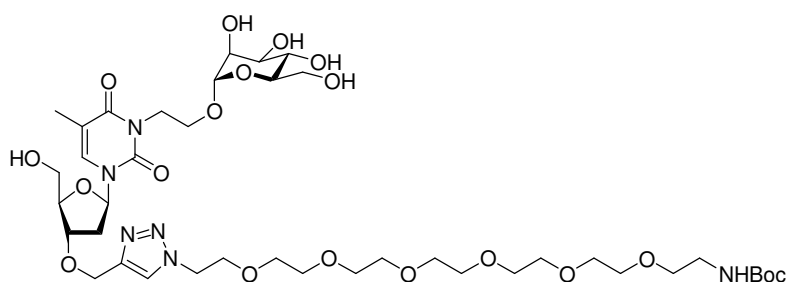
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 165.3$  (C4<sub>thy</sub>), 157.4 (C<sub>q,Ar</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 136.5 (C6<sub>thy</sub>), 132.3 (C<sub>q,Ar</sub>), 131.1 (CH<sub>Ar</sub>), 117.6 (CH<sub>Ar</sub>), 111.0 (C5<sub>thy</sub>), 100.2 (C1<sub>man</sub>), 87.3 (C1<sub>ribo</sub>), 86.7 (C4<sub>ribo</sub>), 80.6 (C≡CH), 80.0 (C3<sub>ribo</sub>), 76.2 (C≡CH), 75.4 (C5<sub>man</sub>), 72.4 (C3<sub>man</sub>), 72.0 (C2<sub>man</sub>), 68.4 (C4<sub>man</sub>), 63.1 (C5<sub>ribo</sub>), 62.7 (C6<sub>man</sub>), 57.5 (CH<sub>2</sub>C≡CH), 44.8 (NCH<sub>2</sub>), 38.4 (C2<sub>ribo</sub>), 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>:  $m/z$  571.190 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  571.192 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3404, 2936, 1697, 1666, 16, 33, 1510, 1470, 1271, 1230, 1104, 1065, 1014, 786, 687, 436 \text{ cm}^{-1}$ .

**EA**  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{11}$  ( $M = 548.5391 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 56.93, H 5.88, N 5.11; gef.: C 56.51, H 5.62, N 4.82.

**1-[2-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonylamino)-ethoxy]-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy)-ethoxy]-ethyl]-4-{*N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-5'-yl]-1*H*-1,2,3-triazol (109)**



Das Glycothymidinderivat **106** (35 mg, 0.072 mmol, 1.0 Äquiv.) und 1-Amino- $\omega$ -azidoheptaethylenglycol (33 mg, 0.94 mmol, 1.3 Äquiv.) wurden in einem DMF / Wasser-Gemische (3.9 mL, 3:1) gelöst und mit einer  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -Lösung (7 mg in 0.3 mL Wasser, 0.029 mmol, 0.4 Äquiv.) und Natriumascorbat (11 mg, 0.058 mmol, 0.8 Äquiv.) Die Lösung wurde 3 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt ohne Aufreinigung in der Boc-Schätzung eingesetzt. Der Rückstand wurde in abs. Methanol (5 mL) aufgenommen, mit  $\text{Boc}_2\text{O}$  (79 mg, 0.36 mmol, 5.0 Äquiv.) versetzt und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 47 mg, 0.049 mmol ( $M = 959.44 \text{ g/mol}$ ), 68 % über zwei Stufen.

**R<sub>f</sub>:** 0.15 (EtOAc / MeOH, 1:1);

$[\alpha]_D^{22} = +27.1$  ( $c = 1.3, \text{MeOH}$ );

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K)  $\delta = 8.11$  (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazol}}$ ), 7.85 (q,  $^4J = 1.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{6\text{thy}}$ ), 6.28 (dd,  $^3J = 6.0 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{ribo}}$ ), 4.81 (d,  $^3J = 1.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{1\text{man}}$ ), 4.72 (d,  $^2J = 12.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}_{3\text{ribo}}\text{-OCH}_2$ ), 4.69 (d,  $^2J = 12.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C}_{3\text{ribo}}\text{-OCH}_2$ ), 4.65 (t,  $^3J = 5.1 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{N}_{\text{triazol}}\text{CH}_2$ ), 4.35 (ddd,  $^3J = 5.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.8 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 13.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{N}^3\text{CH}_2$ ), 4.34-4.32 (m, 1H,  $\text{H}_{3\text{ribo}}$ ), 4.11 (ddd~dt,  $^3J = 3.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H}_{4\text{ribo}}$ ),

4.07 (ddd~dt,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 3.94 (t,  $^3J = 5.1$  Hz, 2H, N<sub>triazol</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.92 (ddd,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 8.1$  Hz,  $^2J = 10.5$  Hz, 1H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.82 (dd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^2J = 12.0$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.78 (dd,  $^3J = 2.5$  Hz,  $^2J = 11.7$  Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.77-3.70 (m, 4H, H5<sub>ribo</sub>, H2<sub>man</sub>, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, H6<sub>man</sub>), 3.67-3.61 (m, 22H, H3<sub>man</sub>, H4<sub>man</sub>, 20H aus OEG), 3.53 (t,  $^3J = 5.6$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.39-3.36 (m, 1H, H5<sub>man</sub>), 3.24 (t,  $^3J = 5.6$  Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 2.48 (ddd,  $^3J = 2.6$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.25 (ddd,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^2J = 13.8$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 1.95 (d,  $^4J = 1.0$  Hz, 3H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm;

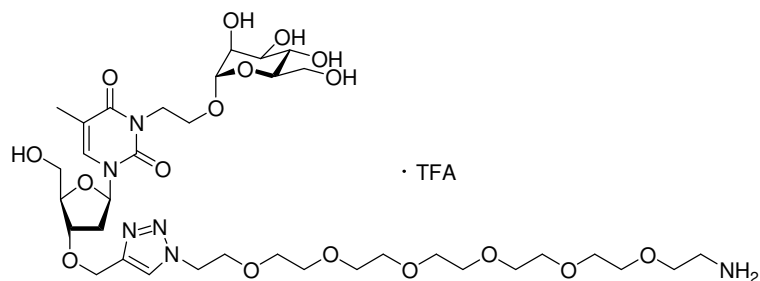
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, MeOD, 300 K): δ = 165.3 (C4<sub>thy</sub>), 158.4 (C(O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 152.4 (C2<sub>thy</sub>), 145.6 (C<sub>q, triazol</sub>), 136.6 (C6<sub>thy</sub>), 126.0 (CH<sub>triazol</sub>), 110.8 (C5<sub>thy</sub>), 100.9 (C1<sub>man</sub>), 87.4 (C1<sub>ribo</sub>), 86.7 (C4<sub>ribo</sub>), 80.4 (C3<sub>ribo</sub>), 80.1 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74.7 (C5<sub>man</sub>), 72.5 (C3<sub>man</sub>), 72.0 (C2<sub>man</sub>), 71.5 (8 x OCH<sub>2,EG</sub>), 71.4 (OCH<sub>2,EG</sub>), 71.2 (OCH<sub>2,EG</sub>), 71.1 (OCH<sub>2,EG</sub>), 70.4 (N<sub>triazol</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 68.4 (C4<sub>man</sub>), 64.4 (N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 63.4 (C5<sub>ribo</sub>), 63.1 (C3<sub>ribo</sub>-OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C6<sub>man</sub>), 51.5 (N<sub>triazol</sub>CH<sub>2</sub>), 41.3 (BocNHCH<sub>2</sub>), 41.2 (N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 38.6 (C2<sub>ribo</sub>), 28.8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 13.2 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>40</sub>H<sub>68</sub>N<sub>6</sub>O<sub>19</sub>: *m/z* 959.443 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 959.437 [M+Na]<sup>+</sup>;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>40</sub>H<sub>68</sub>N<sub>6</sub>O<sub>19</sub>: *m/z* 959.44 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 959.65 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR (ATR-IR):**  $\tilde{\nu} = 3366, 2872, 1698, 1664, 1637, 1523, 1466, 1365, 1275, 1250, 1087, 1056, 975, 769$  cm<sup>-1</sup>.

**1-(2-{2-[2-(2-{2-[2-(2-Amino-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl)-4-{N<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-5'-yl]-1H-1,2,3-triazol-Hydrotrifluoracetat (110)**



Das Boc-geschützte Aminoglycothymidinderivat **109** (33 mg, 0.035 mmol) wurde in abs. Dichlormethan (2 mL) und TFA (0.5 mL) gelöst. Die Lösung wurde 30 min bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt ohne zu erhitzen. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 33 mg, 35  $\mu\text{mol}$  ( $M = 933.90 \text{ g/mol}$ ) quant.

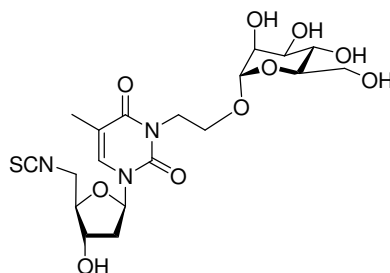
$[\alpha]_D^{22} = +10.8$  ( $c = 1.25 \text{ H}_2\text{O}$ );

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K):  $\delta = 8.09$  (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{triazol}}$ ), 7.59 (q,  $^4J = 1.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H6}_{\text{thy}}$ ), 6.19 (dd,  $^3J = 6.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.6 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{ribo}}$ ), 4.76 (d,  $^3J = 1.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H1}_{\text{man}}$ ), 4.70 (d,  $^2J = 12.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C3}_{\text{ribo-OCH}_2}$ ), 4.66 (d,  $^2J = 12.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{C3}_{\text{ribo-OCH}_2}$ ), 4.60 ( $m_{\text{c}}$ , 2H,  $\text{N}_{\text{triazol}}\text{CH}_2$ ), 4.29 (ddd~dt,  $^3J = 3.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.2 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 6.3 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H3}_{\text{ribo}}$ ), 4.27 (ddd~dt,  $^3J = 4.4 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 4.4 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{N}^3\text{CH}_2$ ), 4.09 (ddd~dt,  $^3J = 3.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 3.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 4.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H4}_{\text{ribo}}$ ), 3.99 (ddd~dt,  $^3J = 4.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 4.1 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.1 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{N}^3\text{CH}_2$ ), 3.92 ( $m_{\text{c}}$ , 2H,  $\text{N}_{\text{triazol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 3.83 (ddd,  $^3J = 4.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 8.19 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 10.8 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{N}^3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.77 (dd,  $^3J = 1.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 2.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{man}}$ ), 3.73 (dd,  $^3J = 3.9 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 12.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ), 3.73-3.51 (m, 28H,  $\text{H5}_{\text{ribo}}$ ,  $\text{N}^3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{H3}_{\text{man}}$ ,  $\text{H4}_{\text{man}}$ , 2 x  $\text{H6}_{\text{man}}$ , 22H aus OEG), 3.20 (ddd,  $^3J = 2.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 5.6 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 10.0 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H5}_{\text{man}}$ ), 3.14 (t,  $^3J = 5.6 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{H}_2\text{NCH}_2$ ), 2.46 (ddd,  $^3J = 3.1 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 6.3 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.4 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 2.27 (ddd,  $^3J = 6.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 7.7 \text{ Hz}$ ,  $^2J = 14.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{H2}_{\text{ribo}}$ ), 1.95 (d,  $^4J = 1.2 \text{ Hz}$ , 3H,  $\text{C5}_{\text{thy-CH}_3}$ ), 1.45 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3$ ) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 300 K):  $\delta = 165.4$  ( $\text{C4}_{\text{thy}}$ ), 162.8 (q,  $J = 36 \text{ Hz}$ ,  $\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$ ), 151.6 ( $\text{C2}_{\text{thy}}$ ), 143.4 ( $\text{C}_{\text{q, triazol}}$ ), 135.8 ( $\text{C6}_{\text{thy}}$ ), 125.8 ( $\text{CH}_{\text{triazol}}$ ), 116.3 (q,  $J = 292 \text{ Hz}$ ,  $\text{C}(\text{O})\text{CF}_3$ ), 110.6 ( $\text{C5}_{\text{thy}}$ ), 99.1 ( $\text{C1}_{\text{man}}$ ), 86.4 ( $\text{C1}_{\text{ribo}}$ ), 84.8 ( $\text{C4}_{\text{ribo}}$ ), 78.9 ( $\text{C3}_{\text{ribo}}$ ), 73.0 ( $\text{C5}_{\text{man}}$ ), 70.5 ( $\text{C4}_{\text{man}}$ ), 70.0 ( $\text{C2}_{\text{man}}$ ), 69.6, 69.5, 69.4, (10 x  $\text{OCH}_2\text{,EG}$ ), 68.6 ( $\text{N}_{\text{triazol}}\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 66.4 ( $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ), 66.4 ( $\text{C3}_{\text{man}}$ ), 63.6 ( $\text{N}^3\text{CH}_2\text{CH}_2$ ), 61.7 61.4 ( $\text{C5}_{\text{ribo}}$ ,  $\text{C3}_{\text{ribo-OCH}_2}$ ), 60.7 ( $\text{C6}_{\text{man}}$ ), 50.3 ( $\text{N}_{\text{triazol}}\text{CH}_2$ ), 40.5 ( $\text{N}^3\text{CH}_2$ ), 39.1 ( $\text{H}_2\text{NCH}_2$ ), 36.3 ( $\text{C2}_{\text{ribo}}$ ), 12.3 ( $\text{C5}_{\text{thy-CH}_3}$ ) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_{17}$ :  $m/z$  859.39  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ; gef.:  $m/z$  859.54  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 5'-Isothiocyanato- $\text{N}^3$ -[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin (111)



Das Azidoglycothymidinderivat **77** (180 mg, 0.380 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Dioxan (10 mL) gelöst und mit Kohlenstoffdisulfid (0.480 mL, 7.60 mmol, 20 Äquiv.) und

Triphenylphosphin (110 mg, 0.418 mmol, 1.1 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 24 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH 4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 98 mg, 0.200 mmol (M = 498.50 g/mol), 54 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.29 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 9:1);

$[\alpha]_D^{22} = +37.4$  (c = 0.81, MeOH);

**Schmp.:** 79 °C;

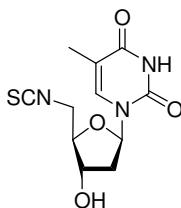
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K): δ = 7.50 (q, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 6.30 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 4.78 (q, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H<sub>1man</sub>), 4.37 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>3</sup>J = 4.1 Hz, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.07 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.3 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 3.99-3.96 (m, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 3.97 (dd, <sup>3</sup>J = 3.8 Hz, <sup>2</sup>J = 15.8 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 3.89 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.87 (dd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 15.8 Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 3.76 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 3.73 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.0 Hz, 1H, H<sub>2man</sub>), 3.70 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.68 (dd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6man</sub>), 3.61-3.58 (m, 2H, H<sub>3man</sub>, H<sub>4man</sub>), 3.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 9.7 Hz, 1H, H<sub>5man</sub>), 2.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.30 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>2</sup>J = 14.0 Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 1.96 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K): δ = 165.2 (C<sub>4thy</sub>), 152.3 (C<sub>2thy</sub>), 135.9 (C<sub>6thy</sub>), 133.8 (NCS), 111.3 (C<sub>5thy</sub>), 100.9 (C<sub>1man</sub>), 87.2 (C<sub>1ribo</sub>), 85.3 (C<sub>4ribo</sub>), 74.8 (C<sub>5man</sub>), 72.5 (C<sub>3man</sub>), 72.3 (C<sub>3ribo</sub>), 72.0 (C<sub>2man</sub>), 68.4 (C<sub>4man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C<sub>6man</sub>), 47.5 (C<sub>5ribo</sub>), 41.3 (NCH<sub>2</sub>), 40.4 (C<sub>2ribo</sub>), 13.3 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S: m/z 512.1309 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: m/z 512.1289 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3357, 2929, 2099, 1698, 1663, 1629, 1467, 1336, 1268, 1190, 1131, 1056, 1020, 975, 883, 809, 768$  cm<sup>-1</sup>;

**EA** C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S (M = 489.4968 g/mol): ber.: C 46.62, H 5.56, N 8.58, S 6.55; gef.: C 46.41, H 5.79, N 8.28, S 5.93.

**5'-Isothiocyanato-2',5'-dideoxythymidin (112)**

Das Azidothymidin **48** (234 mg, 0.87 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde unter Inertgasatmosphäre in abs. Dioxan (12 mL) gelöst und mit Kohlenstoffdisulfid (1.67 mL, 17.4 mmol, 20 Äquiv.) und Triphenylphosphin (251 mg, 0.96 mmol, 1.1 Äquiv.) versetzt und die Reaktionsmischung 48 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH 99:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 119 mg, 0.42 mmol (M = 283.30 g/mol), 49 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.31 (EtOAc / MeOH, 4:1);

$[\alpha]_D^{22} = +1.8$  (c = 1.15, MeOH);

**Schmp.:** 124 °C;

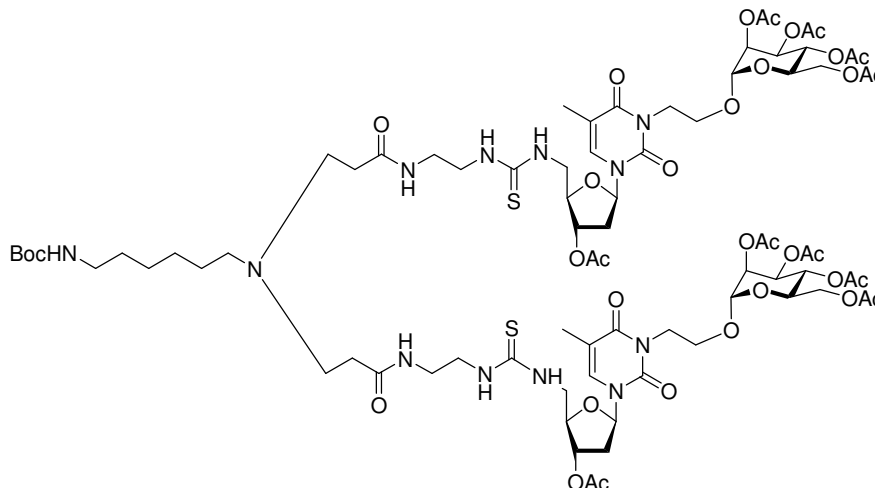
**<sup>1</sup>H-NMR** (200 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 7.48$  (q,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, H<sub>6thy</sub>), 6.30 (dd~t,  $^3J = 6.9$  Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 4.42-4.33 (m, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.04-3.92 (m, 2H, H<sub>4ribo</sub>, H<sub>5ribo</sub>) 3.86 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^2J = 15.5$  Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 2.34-2.24 (m, 2H, H<sub>2ribo</sub>), 1.93 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta = 166.3$  (C<sub>4thy</sub>), 152.3 (C<sub>2thy</sub>), 137.4 (C<sub>6thy</sub>), 133.4 (NCS), 112.1 (C<sub>5thy</sub>), 86.0 (C<sub>1ribo</sub>), 85.2 (C<sub>1ribo</sub>), 72.3 (C<sub>3ribo</sub>), 47.5 (C<sub>5ribo</sub>), 40.2 (C<sub>2ribo</sub>), 12.6 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S:  $m/z$  306.0519 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  306.0528 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3171, 3041, 2088, 1651, 1471, 1431, 1366, 1315, 1197, 1060, 957, 862, 763, 692, 552, 484$  cm<sup>-1</sup>.

***N*-([6-(*N,N*-Bis-2-[*N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-5'-yl-thioureido)-ethyl)-aminocarbonyl]-ethyl)-aminohexyl)-carbamidsäure-*tert*-butylester (119)**



Das Diamin **116** (6 mg, 14  $\mu$ mol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. DMF (3 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Die Lösung wurde mit dem Glycothymidinderivat **92** (24 mg, 35  $\mu$ mol, 2.5 Äquiv.) und DIPEA (2.2 mg, 17  $\mu$ mol, 1.2 Äquiv.) versetzt und anschließend 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 5 mg, 2.8  $\mu$ mol (M = 1843.97 g/mol), 20 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.48 (EtOAc / MeOH, 2:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, MeOD, 300 K):  $\delta$  = 7.50 (br s, 2H, H<sub>6thy</sub>), 6.15 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 2H, H1<sub>ribo</sub>), 5.20-5.16 (m, 2H, H3<sub>ribo</sub>), 5.07 (t, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 2H, H4<sub>man</sub>), 5.05-5.01 (4H, H2<sub>man</sub>, H3<sub>man</sub>), 4.78 (d, <sup>3</sup>J = 1.1 Hz, 2H, H1<sub>man</sub>), 4.29 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 2H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 4.13-4.07 (br m, 2H, H4<sub>ribo</sub>), 4.08 (dd, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 2H, H6<sub>man</sub>), 3.98 (dt, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>2</sup>J = 13.6 Hz, 2H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 3.94 (dd, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.88-3.42 (br m, 8H, H5<sub>ribo</sub>, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 3.83-3.78 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.69 (m<sub>c</sub>, 2H, H5<sub>man</sub>), 3.65 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.3 Hz, <sup>3</sup>J = 4.3 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.29-3.25 (m, 4H, CH<sub>2</sub>C(O)NHCH<sub>2</sub>), 2.92 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.78 (br m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 2.49 (br m, 2H, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 2.38-2.26 (m, 8H, H2<sub>ribo</sub>, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 2.02 (s, 6H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 6H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 6H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.94 (s, 6H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.87 (s, 6H, C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.84 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.45-1.30



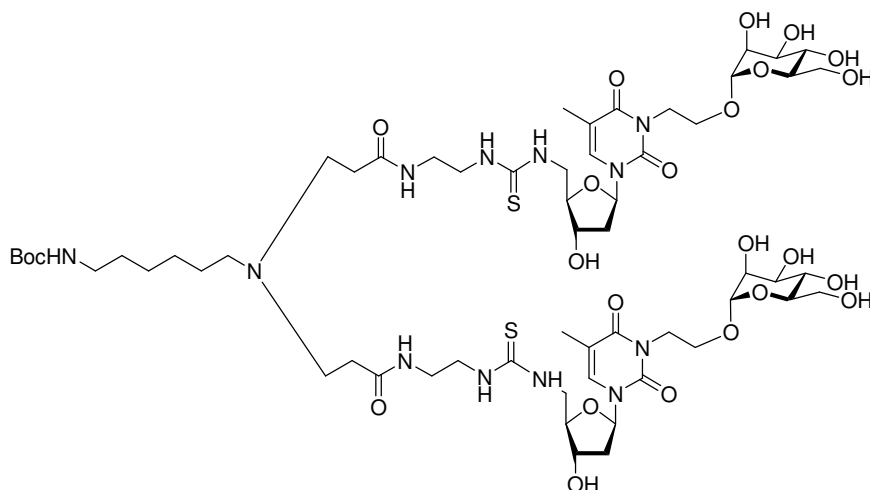
(m, 6H, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.33 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.26-1.20 (m, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) ppm;

**HSQC** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  (<sup>1</sup>H / <sup>13</sup>C) = 7.5 / 134.7 (CH<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 4.78 / 96.0 (CH<sub>1</sub><sub>man</sub>), 6.15 / 85.9 (CH<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.11 / 82.5 (CH<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 5.19 / 74.7 (CH<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 5.04 / 69.0 (CH<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.70 / 68.5 (CH<sub>5</sub><sub>man</sub>), 5.07 / 65.8 (CH<sub>4</sub><sub>man</sub>), 5.03 / 65.8 (CH<sub>3</sub><sub>man</sub>), 3.81; 3.65 / 63.1 (OCH<sub>2</sub>), 4.08; 3.94 / 62.0 (CH<sub>2</sub><sub>6</sub><sub>man</sub>), 2.49 / 52.8 (CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 2.78 / 49.3 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 4.29; 3.98 / 39.4 (N<sup>3</sup>-CH<sub>3</sub>), 2.92 / 39.8 1 (BocNHCH<sub>2</sub>), 3.27 / 38.5 (CH<sub>2</sub>C(O)NHCH<sub>2</sub>), 2.35; 2.30 / 35.9 (CH<sub>2</sub><sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.33 / 32.0 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 1.37 / 29.4 (CH<sub>2</sub>), 1.19 / 29.4 (CH<sub>2</sub>), 1.33 / 27.3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.23 / 26.4 (CH<sub>2</sub>), 1.43 / 25.6 (CH<sub>2</sub>), 2.02 / 19.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 / 19.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 1.97 / 19.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 1.94 / 19.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 1.84 / 19.1 (C(O)CH<sub>3</sub>), 1.87 / 11.7 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3302, 2924, 1744, 1701, 1645, 1555, 1366, 1225, 1137, 1045, 978, 769, 693, 601, 531, 484, 497, 432, 404 cm<sup>-1</sup>;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>79</sub>H<sub>118</sub>N<sub>12</sub>O<sub>34</sub>S<sub>2</sub>:  $m/z$  = 1843.739 [M+H+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z$  = 1843.316 [M+H]<sup>+</sup>.

***N*-([6-(*N,N*-Bis-2-[*N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-2',5'-dideoxythymidin-5'-yl-thioureido)-ethyl)-aminocarbonyl]-ethyl)-aminoethyl)-carbamidsäure-*tert*-butylester (120)**



Das divalente Glycothymidinderivat **119** (4 mg, 0.0022 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Methanol (1 mL) gelöst und mit Natriummethanolat (1 mg, 0.019 mmol, 8.5 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde 18 h bei Raumtemp. gerührt. Die basische Lösung wurde mit saurem

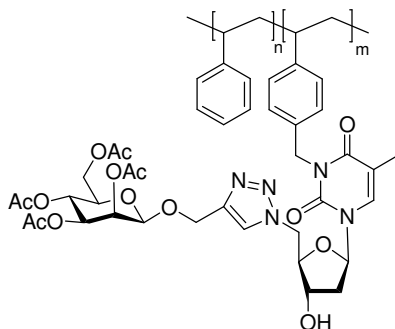
Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten. **Ausbeute:** 3.1 mg, 0.0022 mmol (M = 1423.61 g/mol), quant.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, D<sub>2</sub>O, 300 K):  $\delta$  = 7.51 (br s, 2H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.23 (t, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, 2H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.48-4.44 (m, 2H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.33 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 2H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 4.07 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>3</sup>J = 4.2 Hz, <sup>2</sup>J = 14.1 Hz, 2H, N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 4.13-3.33 (br m, 8H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.92-3.87 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.84-3.83 (m, 2H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.80-3.73 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.68 (dd, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 2H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.62-3.60 (m, 4H H<sub>3</sub><sub>man</sub>, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 3.49-3.43 (br m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)), 3.41-3.35 (br m, 4H, CH<sub>2</sub>C(O)NHCH<sub>2</sub>), 3.30-3.25 (m, 2H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 3.24-3.20 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))), 3.00 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>), 2.77 (m, 4H, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 2.44-2.39 (m, 4H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 1.93 (s, 6H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.82-1.60 (m, 6H, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.43 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.40-1.35 (m, 2H, BocNHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) ppm;

**HSQC** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  (<sup>1</sup>H / <sup>13</sup>C) = 7.5 / 137.0 (CH<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 4.85 / 99.1 (CH<sub>1</sub><sub>man</sub>), 6.23 / 86.9 (CH<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 3.27 / 73.2 (CH<sub>5</sub><sub>man</sub>), 4.46 / 71.4 (CH<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 3.61 / 70.5 (CH<sub>3</sub><sub>man</sub>), 3.84 / 69.8 (CH<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.61 / 66.4 (CH<sub>4</sub><sub>man</sub>), 3.90; 3.77 / 64.0 (OCH<sub>2</sub>), 3.74; 3.68 / 60.7 (CH<sub>2</sub><sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.22 / 54.0 (CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 3.45 / 49.8 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 4.33; 4.07 / 40.6 (N<sup>3</sup>CH<sub>2</sub>), 3.00; / 40.1 (BocNHCH<sub>2</sub>), 3.40 / 38.7 (CH<sub>2</sub>C(O)CH<sub>2</sub>), 2.40 / 38.1 (CH<sub>2</sub><sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.77 / 29.4 (N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O))<sub>2</sub>), 1.70 / 26.5 (CH<sub>2</sub>) 1.79 / 23.1 (CH<sub>2</sub>), 1.43 / 25.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.97 / 12.6 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**MALDI-ToF-MS:** ber. für C<sub>54</sub>H<sub>90</sub>N<sub>12</sub>O<sub>22</sub>S<sub>2</sub>: *m/z* 1345.56 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 1345.73 [M+Na]<sup>+</sup>.

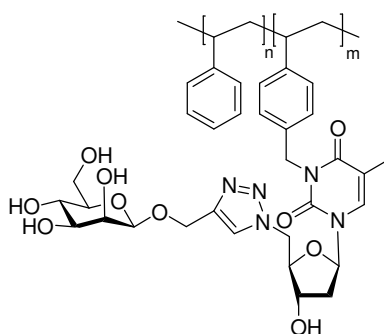
### Mannosylthymidin-Kolloide (125)



Die chlormethylierten Microgelkolloide (500 mg) wurden in abs. DMF (5 mL) dispergiert. Nachdem die Partikel zwei Tage gequollen waren, wurden die triazolverknüpften Glycothymidine **57** (707 mg, 1.08 mmol) mit NaH (43 mg, 60 % in Paraffinöl, 1.08 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde zwei Tage bei Raumtemp. gerührt. Die Dispersion wurde zentrifugiert und der Überstand abdekantiert. Das Pellet wurde in DMF resuspendiert und erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Pellet in dest. Wasser suspendiert und lyophyllisiert.

**Rückgewinnung:** 500 mg.

### Mannosylthymidin-Kolloide (126)



Die Glycothymidin-funktionalisierten Kolloide (500 mg) wurden zur Entschützung in abs. Methanol (2 mL) suspendiert und zwei Tage quellen gelassen. NaOMe (30 mg, 0.56 mmol) wurde zugegeben und die Suspension zwei Tage bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120) neutralisiert. Die Suspension wurde zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Pellet wurde mit dest. Wasser resuspendiert und lyophyllisiert. Das Rohprodukt wurde durch Dialyse gereinigt, um nicht flüchtige Nebenprodukte und Salze abzutrennen.

**Rückgewinnung:** 230 mg;

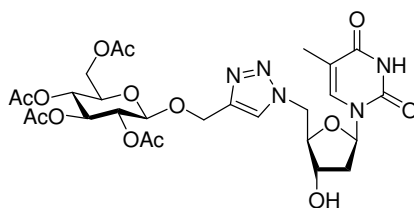
**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3060, 3025, 2923, 2850, 1704, 1668, 1646, 1601, 1493, 1452, 1372, 1267, 1182, 1068, 1028, 907, 843, 813, 756, 697, 540 \text{ cm}^{-1}$ ;

**EA:** gef.: C 85.74, H 7.64, N 1.24.

### Photocrosslinking der Kolloide

Die Photocrosslinking-Experimente wurden in einem Stratalinker bei Wellenlängen von 254 nm (5 Lampen mit je 8 W) in Quarz-Küvetten unter Benutzung eines Pyrex-Filters durchgeführt. Die Kolloide wurden in bidest. Wasser dispergiert, so dass ein Volumenbruch von 0.4 erhalten wurde. PEG ( $M_n = 191\,000$  g/mol,  $M_w = 220\,000$ ,  $M_w/M_n = 1.16$ ) wurde während der Belichtung als *depletion agent* mit einer Konzentration von 3.3 (w/w)% (33 g/L) zugesetzt.

### 1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyloxy-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol (128)



Propargyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-Glucopyranosid (150 mg, 0.389 mmol, 1.0 Äquiv.) und das Azidothymidinderivat **48** (109 mg, 0.389 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden in einem Wasser/DMF-Gemisch (3 mL/10 mL) gelöst. Bei Raumtemp. wurde eine  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -Lösung (25.0 mg, 0.15 mmol, 0.4 Äquiv. in 0.6 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) und Natriumascorbat (30 mg, 0.153 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben und die Lösung gerührt bis kein Edukt mehr vorhanden war. Nach 2 h wurde mit einem Gemisch aus  $\text{H}_2\text{O}$  / gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung (10 mL, 1:1) versetzt und dreimal mit EtOAc (je 5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 9:1) gereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 241 mg, 0.370 mmol ( $M = 653.59$  g/mol) 95 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.41 (EtOAc / MeOH, 9:1);

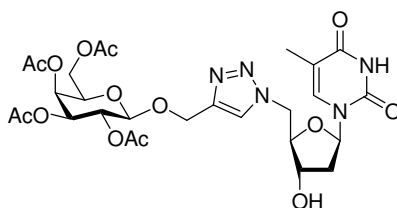
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 8.94$  (s, 1H, NH), 7.74 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{Triazol}}$ ), 6.86 (s, 1H,  $\text{H6}_{\text{thy}}$ ), 6.12-6.04 (m, 1H,  $\text{H1}_{\text{ribo}}$ ), 5.22 (t,  $^3J = 9.4$  Hz, 1H,  $\text{H3}_{\text{glc}}$ ), 5.10 (t,  $^3J = 9.6$  Hz, 1H,  $\text{H4}_{\text{glc}}$ ), 5.03-4.99 (m, 1H,  $\text{H2}_{\text{glc}}$ ), 4.72-4.58 (m, 3H, 2 x  $\text{H5}_{\text{ribo}}$   $\text{H1}_{\text{glc}}$ ), 4.54-4.42 (m, 1H,  $\text{H3}_{\text{ribo}}$ ), 4.32-3.96 (m, 5H,  $\text{H4}_{\text{ribo}}$ ,  $\text{H6}_{\text{glc}}$ ,  $\text{OCH}_2$ ), 3.80-3.63 (m, 1H,  $\text{H5}_{\text{glc}}$ ), 2.41-2.34 (m, 2H,

H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.09 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.01 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.00 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.92 (s, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 300 K, CDCl<sub>3</sub>, TMS): 170.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.3 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.5 (C(O)CH<sub>3</sub>), 164.2 (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 150.6 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 144.3 (C<sub>q, triazol</sub>), 136.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 124.6 (CH<sub>triazol</sub>), 111.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 100.3 (C<sub>1</sub><sub>gal</sub>), 86.5 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 83.7 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 72.6, 72.1, 71.7, 71.1, (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>, C<sub>2</sub><sub>glc</sub>, C<sub>3</sub><sub>glc</sub>, C<sub>5</sub><sub>glc</sub>), 68.1 (C<sub>4</sub><sub>glc</sub>), 62.1, 62.0 (C<sub>6</sub><sub>glc</sub>, OCH<sub>2</sub>C=C), 51.2 (C<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 38.3 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 20.4 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.4 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.3 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.3 (C(O)CH<sub>3</sub>), 12.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

ESI-MS: ber. für C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>: *m/z* = 654.2259 [M+H]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* = 654.2253 [M+H]<sup>+</sup>.

**1-(2',5'-Dideoxythymidin-5'-yl)-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyloxy-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol (129)**



Propargyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-Galactopyranosid (150 mg, 0.389 mmol, 1.0 Äquiv.) und das Azidothymidinderivat **48** (109 mg, 0.389 mmol, 1.0 Äquiv.) wurden in einem Wasser/DMF-Gemisch (3 mL/10 mL) gelöst. Bei Raumtemp. wurde eine CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O-Lösung (25.0 mg, 0.15 mmol, 0.4 Äquiv. In 0.6 mL H<sub>2</sub>O) und Natriumascorbat (30 mg, 0.153 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben und die Lösung gerührt bis kein Edukt mehr vorhanden war. Nach 2 h wurde mit einem Gemisch aus H<sub>2</sub>O / gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (10 mL, 1:1) versetzt und dreimal mit EtOAc (je 5 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 9:1) gereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 249 mg, 0.381 mmol, (M = 653.59 g/mol), 98 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.42 (EtOAc / MeOH, 9:1);

$[\alpha]_D^{22} = +2.9$  (c = 1.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 10.05 (s, 1H, NH), 7.73 (s, 1H, CH<sub>Triazol</sub>), 6.96 (s, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.15 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.6 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 5.40 (d, <sup>3</sup>J = 3.4 Hz, 1H, H<sub>4</sub><sub>gal</sub>), 5.18

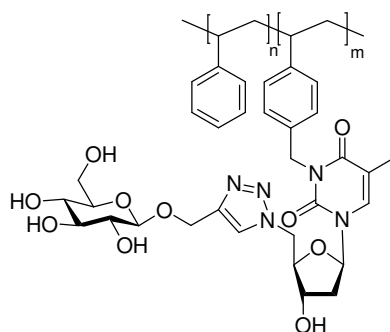
(dd,  $^3J = 8.0$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz, 1H, H<sub>2gal</sub>), 5.05 (dd,  $^3J = 3.4$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz, 1H, H<sub>3gal</sub>), 4.96 (d,  $^2J = 12.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>C=C), 4.94 (s, 1H, C<sub>3ribo</sub>-OH), 4.78 (d,  $^2J = 12.5$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>C=C), 4.80-4.74 (m, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.71-4.65 (m, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 4.67 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 1H, H<sub>1gal</sub>), 4.49 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.23 (dt,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^3J = 4.8$  Hz, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 4.17 (dd,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^3J = 11.3$  Hz, 1H, H<sub>6gal</sub>), 4.13 (dd,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^2J = 11.3$  Hz, 1H, H<sub>6gal</sub>), 4.00 (t,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, H<sub>5gal</sub>), 2.41-2.34 (m, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.28 (ddd~dt,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^3J = 6.8$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.16 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.99 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.98 (s, 1H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.90 (s, 3H, C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, 300 K, CDCl<sub>3</sub>, TMS): 170.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.3 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.2 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 164.2 (C<sub>4thy</sub>) 150.6 (C<sub>2thy</sub>), 144.2 (C<sub>q, triazol</sub>), 136.6 (C<sub>6thy</sub>), 124.7 (CH<sub>triazol</sub>), 111.4 (C<sub>5thy</sub>), 100.5 (C<sub>1gal</sub>), 86.2 (C<sub>1ribo</sub>), 84.0 (C<sub>4ribo</sub>), 71.2 (C<sub>3ribo</sub>), 70.8 (C<sub>3gal</sub>, C<sub>5gal</sub>), 68.9 (C<sub>2gal</sub>), 67.1 (C<sub>4gal</sub>), 62.8 (OCH<sub>2</sub>C=C), 61.3 (C<sub>6gal</sub>), 51.3 (C<sub>5ribo</sub>), 38.6 (C<sub>2ribo</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.6 (C(O)CH<sub>3</sub>), 12.4 (C<sub>5thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>:  $m/z = 676.2073$  [M+Na]<sup>+</sup>; gef.:  $m/z = 676.2049$  [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR (ATR-IR):**  $\tilde{\nu} = 2925, 1745, 1661, 1467, 1368, 1217, 1173, 1132, 1042, 956, 907, 728, 660, 590$  cm<sup>-1</sup>.

### Glucosylthymidin-Kolloide (131)

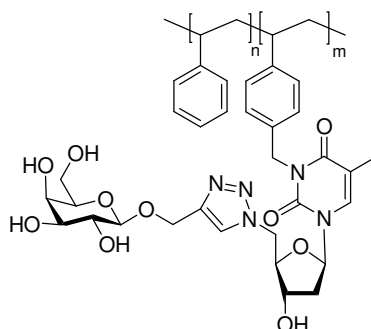


Die Glucothymidin-Kolloide **133** wurden analog zu **126** dargestellt. Das acetylierte Zwischenprodukt wurde nicht aufgearbeitet.

**Rückgewinnung:** 230 mg;

**IR (ATR-IR):**  $\tilde{\nu} = 3344, 3061, 3026, 2921, 1668, 1602, 1493, 1453, 1373, 1069, 1029, 907, 757, 697, 539$  cm<sup>-1</sup>;

**EA:** gef.: C 86.79, H 7.46, N 0.67.

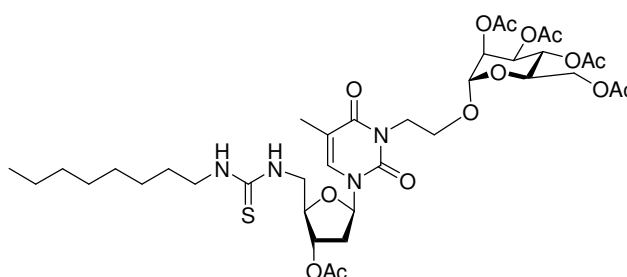
**Galactosylthymidin-Kolloide (132)**

Die Galactothymidin-Kolloide **132** wurden analog zu **126** dargestellt. Das acetylierte Zwischenprodukt wurde nicht aufgearbeitet.

**Rückgewinnung:** 285 mg;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3385, 3060, 3026, 2921, 2849, 1868, 1801, 1705, 1668, 1645, 1602, 1494, 1453, 1349, 1270, 1182, 1154, 1070, 1029, 907, 844, 756, 697, 615, 538  $\text{cm}^{-1}$ ;

**EA:** gef.: C 82.77, H 7.28, N 2.42.

***N*<sup>3</sup>-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-3'-*O*-acetyl-5'-(octylthioureido)-2',5'-dideoxythymidin (134)**

Octylamin (19.3  $\mu\text{l}$ , 0.15 mmol, 1.5 Äquiv.) wurde in abs. DMF (5 mL) gelöst und bei 0 °C mit Isothiocyanatoglycothymidinderivat **92** (69.9 mg, 0.10 mmol, 1.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 68.2 mg (0.082 mmol, M = 828.92 g/mol), 82 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.48 (EtOAc) ;

**Schmp.:** 79 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 7.17 (br s, 1H, H6<sub>thy</sub>), 6.60-6.40 (br s, NH), 6.40-6.15 (br s, NH), 6.24 (dd, <sup>3</sup>J = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.25 (dd~t, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H4<sub>man</sub>), 5.21 (dd, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 1H, H3<sub>man</sub>), 5.18 (dd, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, <sup>3</sup>J = 3.3 Hz, 1H, H2<sub>man</sub>), 5.15 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.89 (d, <sup>3</sup>J = 1.7 Hz, 1H, H1<sub>man</sub>), 4.36 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.26 (dd, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 4.16-4.11 (m, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 4.10 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.5 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.06 (dd, <sup>3</sup>J = 2.4 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, 1H, H6<sub>man</sub>), 3.98-3.81 (m, 3H, 2x H5<sub>ribo</sub>, H5<sub>man</sub>), 3.91 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>2</sup>J = 10.6 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.75 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.60-3.25 (m, br, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 2.47 (ddd, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, <sup>2</sup>J = 14.2 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.38 (ddd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>2</sup>J = 14.7 Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.15 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.12 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.99 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, CH<sub>3,thy</sub>); 1.96 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.57 (dddd~pent., <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.36-1.20 (m, 10H, CH<sub>2,alkyl</sub>), 0.88 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm;

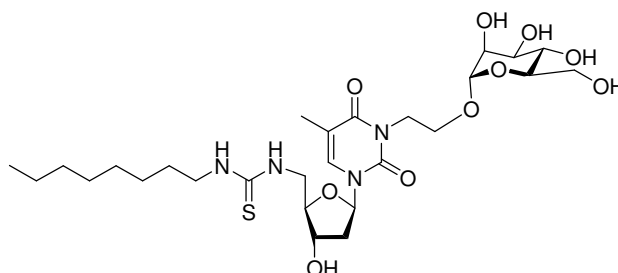
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300K, TMS): δ = 171.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 170.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 169.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 162.9 (C4<sub>thy</sub>), 151.0 (C2<sub>thy</sub>), 133.7 (C6<sub>thy</sub>), 111.3 (C5<sub>thy</sub>), 96.7 (C1<sub>man</sub>), 86.1 (C1<sub>ribo</sub>), 82.7 (C4<sub>ribo</sub>), 74.6 (C3<sub>ribo</sub>), 69.3 (C2<sub>man</sub>), 69.1 (C3<sub>man</sub>), 68.6 (C5<sub>man</sub>), 65.9 (C4<sub>man</sub>), 63.5 (OCH<sub>2</sub>), 62.4 (C6<sub>man</sub>), 46.8 (C5<sub>ribo</sub>), 44.5 (C(S)NHCH<sub>2</sub>), 39.6 (NCH<sub>2</sub>), 36.2 (C2<sub>ribo</sub>), 31.8 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 29.2 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 29.2 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 28.9 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 26.9 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 22.6 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 21.0 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.9 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.8 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 20.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub> 13.3 (C5<sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. Für C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>N<sub>4</sub>O<sub>15</sub>S.: *m/z* 851.3355 [M+Na]<sup>+</sup>; gef.: *m/z* 851.3269 [M+Na]<sup>+</sup>;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 3352, 2928, 1772, 1705, 1644, 1548, 1466, 1366, 1218, 1136, 1082, 1042, 977, 897, 768 cm<sup>-1</sup>;



***N*<sup>3</sup>-[2-( $\alpha$ -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-5'-(octylthioureido)-2',5'-dideoxythymidin  
(135)**



Das Glycothymidinderivat **134** (38 mg, 0.046 mmol) wurden in abs. Methanol (1 mL) gelöst. Natriummethanolat (13.3 mg, 0.246 mmol) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wurde mit saurem Ionenaustauscher IR-120 neutralisiert. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 16.1 mg, 0.026 mmol (M = 618.74 g/mol), 57 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.26 (EtOAc / MeOH, 5:1);

$[\alpha]_D^{22} = +64.5$  (c = 0.45, MeOH);

**Schmp.:** 92 °C;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300 K):  $\delta = 7.54$  (s, br, 1H, H<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 6.23 (dd~t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 4.80 (d, <sup>3</sup>J = 1.9 Hz, 1H, H<sub>1</sub><sub>man</sub>), 4.37-4.33 (m, 1H, H<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 4.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.05 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>2</sup>J = 13.4 Hz, 1H, NCH<sub>2</sub>), 4.04-3.98 (m, 1H, H<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 4.12-3.20 (br m, 4H, C(S)NHCH<sub>2</sub>), 2x H<sub>5</sub><sub>ribo</sub>), 3.89 (ddd, <sup>3</sup>J = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>), 3.75 (dd, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.73 (dd, <sup>3</sup>J = 1.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.7 Hz, 1H, H<sub>2</sub><sub>man</sub>), 3.69 (ddd~dt, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, <sup>2</sup>J = 10.5 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.68 (dd, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 1H, H<sub>6</sub><sub>man</sub>), 3.61-3.59 (m, 2H, H<sub>3</sub><sub>man</sub>, H<sub>4</sub><sub>man</sub>), 3.35 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>5</sub><sub>man</sub>), 2.31 (ddd, <sup>3</sup>J = 4.3 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>2</sup>J = 13.9 Hz, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 2.31-2.25 (m, 1H, H<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 1.94 (d, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 3H, C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.59-1.52 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.35-1.26 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>), 0.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1H, (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>) ppm;

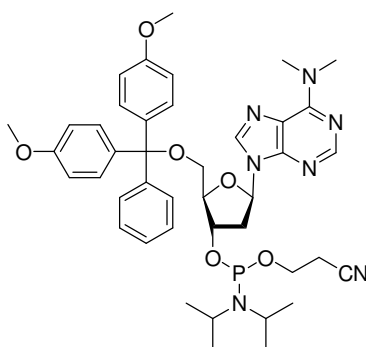
**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD, 300K):  $\delta = 165.4$  (C<sub>4</sub><sub>thy</sub>), 152.4 (C<sub>2</sub><sub>thy</sub>), 136.7 (C<sub>6</sub><sub>thy</sub>), 111.1 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>), 101.0 (C<sub>1</sub><sub>man</sub>), 87.9 (C<sub>1</sub><sub>ribo</sub>), 86.7 (C<sub>4</sub><sub>ribo</sub>), 74.8 (C<sub>5</sub><sub>man</sub>), 72.9 (C<sub>3</sub><sub>ribo</sub>), 72.5 (C<sub>3</sub><sub>man</sub>), 72.1 (C<sub>2</sub><sub>man</sub>), 68.4 (C<sub>4</sub><sub>man</sub>), 64.4 (OCH<sub>2</sub>), 62.8 (C<sub>6</sub><sub>man</sub>), 41.3 (NCH<sub>2</sub>), 40.2 (C<sub>2</sub><sub>ribo</sub>), 33.0 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 30.5 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 30.4 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 30.2 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 28.0 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 23.8 (CH<sub>2,alkyl</sub>), 14.5 (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>) 13.3 (C<sub>5</sub><sub>thy</sub>-CH<sub>3</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für  $C_{27}H_{46}N_4O_{10}S$ :  $m/z = 641.2827 [M+Na]^+$ ; gef.:  $m/z = 641.2827 [M+Na]^+$ ;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3319, 2925, 2855, 1696, 1628, 1551, 1466, 1339, 1269, 1225, 1188, 1131, 1049, 1028, 975, 768 \text{ cm}^{-1}$ ;

**EA**  $C_{27}H_{46}N_4O_{10}$  ( $M = 618.7399 \text{ g/mol}$ ): ber.: C 52.41, H 7.49, N 9.05, S 5.18; gef.: C 50.86, H 7.95, N 8.72, S 4.83.

**5'-O-(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-2'-desoxy- $N^6,N^6$ -dimethyladenosin-3'-O-( $N,N$ -diisopropyl-2-cyanoethyl-phosphoramidit) (136)**



Unter Argonatmosphäre wurde Dimethyladenosinderivat **142** (11 mg, 18.9  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) in abs. Acetonitril (0.6 mL) gelöst und mit 2-Cyanoethyl- $N,N,N',N'$ -tetraisopropylphosphordiamidit (12.8  $\mu\text{L}$ , 40.3  $\mu\text{mol}$ , 2.1 Äquiv.) und Dicyanodiimidazol (3.6 mg, 30.5  $\mu\text{mol}$ , 1.6 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Essigsäureethylester (5 mL) aufgenommen. Die organische Lösung wurde mit gesättigter wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (2 mL) und gesättigter wässriger  $\text{NaCl}$ -Lösung (2 mL) gewaschen und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / Cy 3:1, 1 %  $\text{Et}_3\text{N}$ ) gereinigt. Anschließend wurde das Produkt über eine semipräparative HPLC (MeCN) weiter aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff in zwei diastereomeren Formen im Verhältnis 5:9 erhalten.

**Ausbeute:** 14 mg 17.9  $\mu\text{mol}$  ( $M = 781.88 \text{ g/mol}$ ), 95 %.

**1. Diastereomer:**

**R<sub>f</sub>:** 0.5 (EtOAc:Cy 3:1).

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K, TMS):  $\delta = 8.29$  (s, 1H,  $\text{H}_{2\text{ade}}$ ), 7.89 (s, 1H,  $\text{H}_{8\text{ade}}$ ), 7.40-7.39 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.30-7.17 (m, 7H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.79-6.76 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 6.45 (dd,  $^3J = 5.9 \text{ Hz}$ ,

$^3J = 7.5$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.71 (ddt,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 9.5$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.26 (m<sub>c</sub>, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.84 (ddt,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^2J = 10.3$  Hz, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 3.79-3.74 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 3.77 (s, 6H, 2x OCH<sub>3</sub>), 3.59 (sept,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.57 (sept,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.52 (br s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.37 (dd,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^2J = 10.2$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.30 (dd,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^2J = 10.2$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.79 (ddd,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 7.4$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.65 (ddd,  $^3J = 3.0$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^2J = 13.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.61 (t,  $^3J = 6.4$  Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 1.17 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.10 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 158.6$  (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 155.0 (C6<sub>ade</sub>), 152.4 (C2<sub>ade</sub>), 150.3 (C4<sub>ade</sub>), 144.6 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 136.4 (C8<sub>ade</sub>), 135.8 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 128.2 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 127.8 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 126.8 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 120.7 (C5<sub>ade</sub>), 117.6 (CN), 113.2 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 86.4 (C<sub>q,DMT</sub>), 85.5 (C4<sub>ribo</sub>), 84.1 (C1<sub>ribo</sub>), 74.2 (d,  $J_{C,P} = 17$  Hz, C3<sub>ribo</sub>), 63.6 (C5<sub>ribo</sub>), 58.4 (d,  $J_{C,P} = 19$  Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 55.2 (2x OCH<sub>3</sub>), 43.3 (d,  $J_{C,P} = 13$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 39.6 (C2<sub>ribo</sub>), 38.5 (br, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 24.6 (d,  $J_{C,P} = 7$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 24.5 (d,  $J_{C,P} = 8$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 20.4 (d,  $J_{C,P} = 8$  Hz, CH<sub>2</sub>CN) ppm;

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>):  $\delta = 149.24$ ; ppm

**ESI-MS**: ber. für C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>P m/z 782.3789 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 782.3709 [M+H]<sup>+</sup>

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2961, 2361, 2045, 1593, 1508, 1422, 1334, 1298, 1248, 1176, 1033, 976, 827, 791, 702, 648, 582, 523, 467$  cm<sup>-1</sup>.

## 2. Diastereomer:

**R<sub>f</sub>**: 0.5 (EtOAc:Cy 3:1);

**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 8.29$  (s, 1H, H2<sub>ade</sub>), 7.91 (s, 1H, H8<sub>ade</sub>), 7.41-7.39 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.31-7.18 (m, 7H, H<sub>Ar</sub>), 6.80-6.78 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>), 6.44 (dd,  $^3J = 6.3$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.73 (m<sub>c</sub>, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.27 (m<sub>c</sub>, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.78 (s, 6H, 2x OCH<sub>3</sub>), 3.70-3.63 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 3.61 (sept,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.59 (sept,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.52 (br s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.42 (dd,  $^3J = 4.2$  Hz,  $^2J = 10.3$  Hz, 1H, H5'), 3.30 (dd,  $^3J = 4.5$  Hz,  $^2J = 10.3$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 2.81 (ddd,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.57 (ddd,  $^3J = 3.5$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.44 (t,  $^3J = 6.5$  Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 1.18 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.16 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

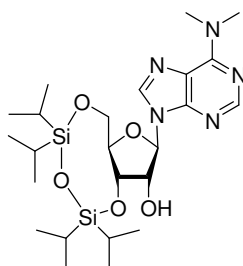
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 158.6$  (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 155.0 (C6<sub>ade</sub>), 152.4 (C2<sub>ade</sub>), 150.3 (C4<sub>ade</sub>), 144.6 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 136.4 (C8<sub>ade</sub>), 135.8 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 130.1 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 128.3 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 127.8 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 126.9 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 120.7 (C5<sub>ade</sub>), 117.4 (CN), 113.2

(CH<sub>Ar,DMT</sub>), 86.4 (C<sub>q,DMT</sub>), 85.7 (C<sub>4\_ribo</sub>), 84.2 (C<sub>1\_ribo</sub>), 73.5 (d,  $J_{C,P} = 17$  Hz, C<sub>3\_ribo</sub>), 63.4 (C<sub>5\_ribo</sub>), 58.4 (d,  $J_{C,P} = 19$  Hz, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN), 55.2 (2x OCH<sub>3</sub>), 43.4 (d,  $J_{C,P} = 13$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 39.6 (C<sub>2\_ribo</sub>), 38.5 (br, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 24.7, (d,  $J_{C,P} = 8$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 24.6, (d,  $J_{C,P} = 7$  Hz, NCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 20.2 (d,  $J_{C,P} = 7$  Hz, CH<sub>2</sub>CN) ppm;

<sup>31</sup>P-NMR (81 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>): δ = 149.40 ppm;

ESI-MS: ber. für C<sub>42</sub>H<sub>53</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>P m/z 782.3789 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 782.4104 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dimethyladenosin (138)



Zu einer Suspension von N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-Dimethyladenosin (**137**, 434 mg, 1.47 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Pyridin (15 mL) wurde 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan (607 mg, 1.91 mmol, 1.3 Äquiv.) gegeben und die Reaktion 5 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Methanol (1 mL) beendet. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand mit Toluol (40 mL) codestilliert und anschließend in Dichlormethan (15 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde mit wässriger Zitronensäure (5% in Wasser), Wasser und gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 5 mL) gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 100:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 404 mg, 0.750 mmol, (M = 537.80 g/mol) 51 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.20 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 94:6);

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 8.27 (s, 1H, H<sub>2\_ade</sub>), 7.83 (s, 1H, H<sub>8\_ade</sub>), 5.95 (d, <sup>3</sup>J = 1.5 Hz, 1H, H<sub>1\_ribo</sub>), 5.17 (dd, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1H, H<sub>3\_ribo</sub>), 4.57 (ddd~dt <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, <sup>2</sup>J = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J = 5.6 Hz, 1H, H<sub>2\_ribo</sub>), 4.14-4.02 (m, 3H, H<sub>4\_ribo</sub>, H<sub>5\_ribo</sub>, OH), 3.52 (br s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.22 (br s, 1H, OH), 1.20-1.00 (m, 28H, 2x Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS): δ = 155.0 (C<sub>q,ade</sub>), 152.4 (C<sub>2\_ade</sub>), 149.8 (C<sub>q,ade</sub>), 137.2 (C<sub>8\_ade</sub>), 121.0 (C<sub>q,ade</sub>), 89.7 (C<sub>1\_ribo</sub>), 82.4 (C<sub>4\_ribo</sub>), 75.2 (C<sub>2\_ribo</sub>), 71.5 (C<sub>3\_ribo</sub>), 62.4

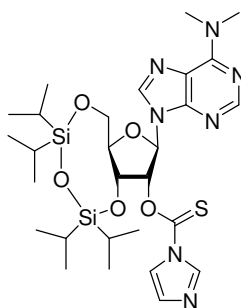
(C5<sub>ribo</sub>), 38.6 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 17.5 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.3 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.2 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.1 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.0 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.0 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.0 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.3 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.1 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.8 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.7 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu}$  = 2943, 2867, 1593, 1464, 1424, 1405, 1381, 1336, 1296, 1269, 1214, 1160, 1119, 1061, 1031, 991, 906, 883, 859, 819, 792, 768, 693, 647, 600, 514, 483, 454, 406 cm<sup>-1</sup>;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>24</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> m/z 538.2876 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 538.2821 [M+H]<sup>+</sup>;

**EA** C<sub>24</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>2</sub> (M = 537.7997 g/mol): ber.: C 53.60, H 8.06, N 13.02, Si 10.44; gef.: C 55.21, H 8.20, N 13.25.

**3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)-2'-O-[(imidazol-1-yl)-thiocarbonyl]-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dimethyladenosin (139)**



Unter Argonatmosphäre wurde das Dimethyladenosinderivat **138** (383 mg, 0.711 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. DMF (7 mL) gelöst und mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol (136 mg, 0.763 mmol, 1.1 Äquiv.) versetzt und 5 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und der Rückstand mit Dichlormethan (10 mL) aufgenommen. Die Lösung wurde mit Wasser (5 mL) gewaschen und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan (5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Produkt ohne weitere Aufreinigung als gelblicher Feststoff erhalten. Für analytische Messungen wurde das Produkt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 100:1) gereinigt.

**Ausbeute**: 350 mg, 0.540 mmol (M = 647.94 g/mol), 76 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.55 (EtOAc:MeOH, 100:1).

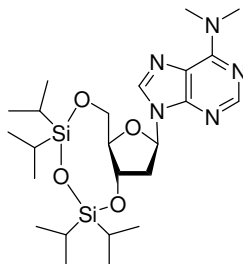
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta$  = 8.39 (m<sub>c</sub>, 1H, N=CH-N<sub>im</sub>), 8.26 (s, 1H, H<sub>2ade</sub>), 7.81 (s, 1H, H<sub>8ade</sub>), 7.67 (m<sub>c</sub>, 1H, NCH=CHN), 7.08 (m<sub>c</sub>, 1H, NCH=CHN), 6.42 (dd,

$^3J = 0.9$  Hz,  $^3J = 5.6$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>) 6.11 (d,  $^3J = 1.1$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 5.17 (dd,  $^3J = 5.7$  Hz,  $^3J = 8.7$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.17 (dd,  $^3J = 4.1$  Hz,  $^2J = 12.8$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 4.12-4.07 (m, 2H, H4<sub>ribo</sub>, 1x H5<sub>ribo</sub>), 3.53 (br s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1.16-0.94 (m, 28H, 2x Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 183.1$  (C=S), 155.1 (C<sub>q,ade</sub>), 152.6 (C<sub>2,ade</sub>), 149.9 (C<sub>q,ade</sub>), 137.3 (C<sub>8,ade</sub>), 136.9 (NCHN), 131.2 (NCH=CH-N), 120.8 (C<sub>q,ade</sub>), 118.1 (NCH=CH-N), 87.3 (C1<sub>ribo</sub>), 83.9 (C2<sub>ribo</sub>), 82.5 (C4<sub>ribo</sub>), 70.2 (C3<sub>ribo</sub>), 61.2 (C5<sub>ribo</sub>), 38.6 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 17.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.3 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.3 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.2 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.1 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 16.9 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 16.9 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.2 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.0 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.8 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.7 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>SSi<sub>2</sub> m/z 648.2814 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 648.2763 [M+H]<sup>+</sup>.

### 3',5'-O-(1,1,3,3-Tetraisopropylidisloxan-1,3-diyl)-2'-desoxy-*N*<sup>6</sup>,*N*<sup>6</sup>-dimethyladenosin (140)



Das Dimethyladenosinderivat **139** (210 mg, 0.324 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in abs. Toluol (9 mL) gelöst und mit AIBN (10 mg, 0.061 mmol, 0.2 Äquiv.) und *n*-Bu<sub>3</sub>SnH (130  $\mu$ L, 0.448 mmol, 1.5 Äquiv.) versetzt. Die Lösung wurde für 20 min mit Stickstoff entgast und anschließend für 3 h auf 75 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 100:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 130 mg, 0.250 mmol (M = 521.80 g/mol), 77 %.

**R<sub>f</sub>:** 0.56 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH, 94:6);

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 8.30$  (s, 1H, H8<sub>ade</sub>), 7.89 (s, 1H, H2<sub>ade</sub>), 6.29 (dd,  $^3J = 2.8$  Hz,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, H1<sub>ribo</sub>), 4.95 (ddd~dt,  $^3J = 7.4$  Hz,  $^3J = 8.4$  Hz, 1H, H3<sub>ribo</sub>), 4.05 (dd,  $^3J = 3.8$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 4.02 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^2J = 12.3$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.90 (ddd,  $^3J = 3.8$  Hz,  $^3J = 5.2$  Hz,  $^3J = 7.1$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.52 (br s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),

2.70 (ddd,  $^3J = 2.9$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^2J = 13.3$  Hz, 1H, H<sub>2\_ribo</sub>), 2.62 (ddd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^3J = 8.5$  Hz,  $^2J = 13.4$  Hz, 1H, H<sub>2\_ribo</sub>), 1.13-1.03 (m, 28H, 2x Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

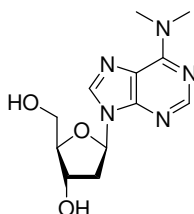
**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 155.0$  (C<sub>q,ade</sub>), 152.4 (C<sub>2,ade</sub>), 149.8 (C<sub>q,ade</sub>), 136.4 (C<sub>8,ade</sub>), 120.8 (C<sub>q,ade</sub>), 85.2 (C<sub>4\_ribo</sub>), 82.9 (C<sub>1\_ribo</sub>), 70.7 (C<sub>3\_ribo</sub>), 62.4 (C<sub>5\_ribo</sub>), 40.3 (C<sub>2\_ribo</sub>), 38.6 (2xC, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 17.5 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.2 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.1 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 17.0 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 16.9 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.4 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 13.2 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.9 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 12.6 (Si(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 2944, 2868, 1763, 1594, 1571, 1465, 1440, 1423, 1383, 1338, 1256, 1144, 1093, 1060, 1033, 989, 938, 920, 884, 862, 828, 783, 691, 649, 598, 557, 483, 452, 419, 409$  cm<sup>-1</sup>;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>24</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub> m/z 522.2926 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 522.2954 [M+H]<sup>+</sup>;

**EA** C<sub>24</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub> (M = 521.8003 g/mol): ber.: C 55.24, H 8.31, N 13.42, Si 10.76; gef.: C 52.89, H 7.72, N 11.56.

## 2'-Desoxy-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dimethyladenosin (141)



Das geschützte Dimethyladenosinderivat **140** (80 mg 0.15 mmol, 1.0 Äquiv.) wurde in Toluol (2 mL) gelöst und mit „polymer supported fluoride“ (304 mg, 0.924 mmol, 6.0 Äquiv.) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 5 h unter Rückfluss erhitzt. Das Polymer wurde durch Filtration abgetrennt und das Lösungsmittel verworfen. Anschließend wurde das Polymer mit Methanol (20 mL) gewaschen und die methanolische Lösung eingeeengt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 42.7 mg, 0.153 mmol (M = 279.29 g/mol), quant.

**R<sub>f</sub>**: 0.35 (EtOAc / MeOH, 4:1);

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 300 K):  $\delta = 8.43$  (s, 1H, H<sub>8,ade</sub>), 8.21 (s, 1H, H<sub>2,ade</sub>), 6.37 (dd,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H<sub>1\_ribo</sub>), 5.28 (d,  $^3J = 4.1$  Hz, 1H, C<sub>3\_ribo</sub>OH), 5.16 (dd,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz, 1H, C<sub>5\_ribo</sub>-OH), 4.41 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>3\_ribo</sub>), 3.88 (ddd,  $^3J = 2.7$  Hz,

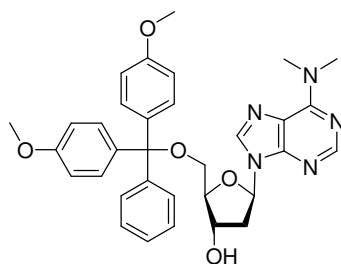
$^3J = 4.2$  Hz,  $^3J = 4.2$  Hz, 1H, H4<sub>ribo</sub>), 3.62 (ddd~dt,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.53 (ddd,  $^3J = 4.3$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz, 1H, H5<sub>ribo</sub>), 3.46 (br s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.69 (ddd,  $^3J = 5.8$  Hz,  $^3J = 7.7$  Hz,  $^2J = 13.2$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>), 2.27 (ddd,  $^3J = 3.1$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^2J = 13.2$  Hz, 1H, H2<sub>ribo</sub>) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, 300 K):  $\delta = 154.2$  (C<sub>ade,q</sub>), 151.6 (C<sub>2ade</sub>), 149.7 (C<sub>ade,q</sub>), 138.1 (C<sub>8ade</sub>), 119.7 (C<sub>ade,q</sub>), 87.9 (C<sub>4ribo</sub>), 83.7 (C<sub>1ribo</sub>), 70.8 (C<sub>3ribo</sub>), 61.8 (C<sub>5ribo</sub>), 40.1 (C<sub>2ribo</sub>), 37.8 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**IR** (ATR-IR):  $\tilde{\nu} = 3402, 3203, 2896, 1594, 1571, 1533, 1474, 1424, 1400, 1377, 1340, 1304, 1293, 1281, 1228, 1174, 1160, 1124, 1094, 1057, 1012, 959, 935, 866, 838, 789, 728, 689, 675, 646, 621, 604, 521, 453$  cm<sup>-1</sup>;

**ESI-MS**: ber. für C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> m/z 302.1229 [M+Na]<sup>+</sup>, gef.: m/z 302.1102 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 5'-O-(4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl)-2'-desoxy-N<sup>6</sup>,N<sup>6</sup>-dimethyladenosin (142)



Zu einer Lösung von Dimethyladenosinderivat **141** (25 mg, 0.090 mmol, 1.0 Äquiv.) in abs. Pyridin (2 mL) wurde unter Stickstoffatmosphäre portionsweise 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (28 mg, 0.091 mmol, 1.0 Äquiv.) gegeben und die Reaktionsmischung 5 h bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol (1 mL) beendet und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (EtOAc / MeOH, 8:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

**Ausbeute**: 16.2 mg, 0.028 mmol (M = 581.66 g/mol), 31 %.

**R<sub>f</sub>**: 0.64 (EtOAc / MeOH, 8:1);

$^1\text{H-NMR}$ : (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 8.29$  (s, 1H, H<sub>2ade</sub>), 7.85 (s, 1H, H<sub>8ade</sub>), 7.41-7.39 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.31-7.20 (m, 7H, H<sub>Ar</sub>), 6.81-6.79 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>), 6.44 (dd~t,  $^3J = 6.4$  Hz, 1H, H<sub>1ribo</sub>), 4.63 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>3ribo</sub>), 4.09 (m<sub>c</sub>, 1H, H<sub>4ribo</sub>), 3.78 (s, 6H, 2x OCH<sub>3</sub>), 3.52 (br s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.42 (dd,  $^3J = 4.6$  Hz,  $^2J = 10.1$  Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 3.37 (dd,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^2J = 10.1$  Hz, 1H, H<sub>5ribo</sub>), 2.76 (ddd~dt,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H, H<sub>2ribo</sub>), 2.51



(ddd,  $^3J = 4.5$  Hz,  $^3J = 6.4$  Hz,  $^2J = 13.5$  Hz, 1H, H<sub>2,ribo</sub>), 1.99 (d,  $^3J = 3.6$  Hz, 1H, C<sub>3,ribo</sub>-OH) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K, TMS):  $\delta = 158.6$  (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 155.0 (C<sub>6,ade</sub>), 152.4 (C<sub>2,ade</sub>), 150.1 (C<sub>4,ade</sub>), 144.6 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 136.3 (C<sub>8</sub>), 135.8 (C<sub>q,Ar,DMT</sub>), 130.0 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 128.1 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 127.9 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 126.9 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 120.6 (C<sub>5,ade</sub>), 113.2 (CH<sub>Ar,DMT</sub>), 86.6 (C<sub>q,DMT</sub>), 85.7 (C<sub>4,ribo</sub>), 83.9 (C<sub>1,ribo</sub>), 72.7 (C<sub>3,ribo</sub>), 63.9 (C<sub>5,ribo</sub>), 55.2 (2x OCH<sub>3</sub>), 40.3 (C<sub>2,ribo</sub>), 38.5 (br, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ppm;

**ESI-MS:** ber. für C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> m/z 582.2716 [M+H]<sup>+</sup>, gef.: m/z 582.2346 [M+H]<sup>+</sup>.

## 6.3 Bakterielle Adhäsionstests

### Protokoll der Adhäsionstests

#### Lösungen

**LB-Medium:** 10.0 g Trypton, 10.0 g Natriumchlorid und 5.00 g Hefe-Extrakt wurden in 1.00 L bidest. Wasser gelöst und der pH-Wert auf 7.0 eingestellt. Nach Sterilisation im Autoklaven wurden 100 mg Ampicillin bzw. 100 mg Ampicillin und 50 mg Chloramphenicol zugegeben.

**Carbonatpuffer** (pH 9.5): 1.59 g Natriumcarbonat und 2.52 g Natriumhydrogencarbonat wurden in 1.00 L bidest. Wasser gelöst.

**Carbonatpuffer 100 mM** (pH 9.6): 10.6 g Natriumcarbonat und 8.40 g Natriumhydrogencarbonat wurden in 1.00 L bidest. Wasser gelöst.

**PBS-Puffer** (pH 7.2): 8.00 g Natriumchlorid, 200 mg Kaliumchlorid, 1.44 g Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat und 200 mg Kaliumdihydrogenphosphat wurden in 1.00 L bidest. Wasser gelöst.

**PBST-Puffer** (pH 7.2): PBS-Puffer + 0.05 % v/v Tween® 20.

pH-Werte wurden mit 0.1 M HCl oder 0.1 M NaOH eingestellt.

**Mannan-Lösung:** 1.2 mg oder 1.5 mg Mannan aus *Saccharomyces cerevisiae* wurden in 1.00 mL Carbonatpuffer (pH 9.5) gelöst.

## Kultivierung der Bakterien

200  $\mu\text{L}$  einer homogenen Bakteriensuspension in PBS wurden in LB-Medium gegeben und bei  $37^\circ\text{C}$  über Nacht im Inkubator bei 80-130 UpM inkubiert. Für die GFP-exprimierenden Bakterien des Stammes *E. coli* (pKL1162) wurde das Medium mit den Antibiotika Ampecillin und Chloramphenicol verwendet für die Bakterien des Stammes *E. coli* HB101 pPKL4 wurde das Medium mit Ampecillin verwendet. Die Bakterien wurden am nächsten Tag geerntet. Dazu wurde die Bakteriensuspension 15 min bei 4000 UpM zentrifugiert, der Überstand abdekantiert und das Pellet getrocknet. Das trockene Pellet wurde in PBS-Puffer mit einer Konzentration von 2 mg/mL resuspendiert.

## Bakterieller Adhäsionsassay in Lösung

Um die inhibitorischen Potenzen der Glycothymidine zu bestimmen wurden sie als Inhibitoren der Typ-Fimbrien vermittelten Adhäsion von *E. coli* getestet. Schwarze 96 Well Polystyrol Mikrotiterplatten wurden mit Mannan beschichtet (100  $\mu\text{L}$  pro Well) und über Nacht bei  $37^\circ\text{C}$  im Inkubator getrocknet. Die Wells wurden dreimal mit PBST (150  $\mu\text{L}$ ) gewaschen. Die Wells wurden durch Inkubation mit 5 % BSA (bovine serum albumine) in PBS für 2 h bei  $37^\circ\text{C}$  blockiert. Anschließend wurden die Wells erneut dreimal mit PBST (150  $\mu\text{L}$ ) gewaschen. PBS (50  $\mu\text{L}$ ) wurde in alle Wells vorgelegt und die Inhibitorlösungen (50  $\mu\text{L}$ ) wurden in die ersten Wells gegeben und seriell verdünnt (1 : 2 für die Glycothymidine, 1 : 4 für den Standardinhibitor MeMan). Die Bakteriensuspension *E. coli* (pKL1162) (2 mg/mL in PBS) wurde zugegeben und die Platte wurde im Schüttelinkubator (80 UpM) bei  $37^\circ\text{C}$  für 45 min inkubiert. Die Wells wurden dreimal mit PBS (150  $\mu\text{L}$ ) gewaschen. PBS (120  $\mu\text{L}$ ) wurde in alle Wells gegeben und die Oberflächen-gebundenen Bakterien durch Fluoreszenz-Readout detektiert (Excitationswellenlänge: 485 nm, Emissionswellenlänge: 535 nm).

Als Kontrolle wurde die bakterielle Adhäsion an blockierte, unbeschichtete Wells bestimmt und als vernachlässigbar festgestellt. Die prozentuale Inhibition wurde wie folgt berechnet:  $[(I_0)-(I)]/(I_0) \times 100$  mit  $I_0$ : Fluoreszenzintensität ohne Inhibitor; I: Fluoreszenzintensität mit Inhibitor.  $\text{IC}_{50}$ -Werte sind Mittelwerte von mindestens Triplicaten. Relative inhibitorische Potenzen (RIPs) basieren auf den  $\text{IC}_{50}$ -Werten von Methyl- $\alpha$ -D-mannosid (MeMan) oder *p*-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-mannosid (*p*NPMan) auf derselben Mikrotiterplatte mit  $\text{IP}(\text{MeMan}) \equiv 1$ , bzw.  $\text{IP}(\text{pNPMan}) \equiv 1$ .

### **Bakterieller Adhäsionsassay auf der Oberfläche**

Um die Glycothymidine kovalent an die Mikrotiteroberfläche (96 Well Black Immobilizer Amino<sup>TM</sup> F96 Microwell<sup>TM</sup>) zu binden wurde Carbonatpuffer 100 mM, pH 9.6 (120  $\mu$ L) in alle Wells vorgelegt und das Amin in serieller Verdünnung zugegeben. Die Beschichtung wurde über Nacht bei RT unter leichter Agitation durchgeführt. Anschließend wurden die Wells dreimal mit PBST (150  $\mu$ L) gewaschen. Die Wells wurden durch Inkubation mit Ethanolamin-Lösung (10 mM in Carbonatpuffer, 100 mM, pH 9.6) für 1 h bei RT unter stetiger Agitation blockiert. Anschließend wurden die Wells erneut dreimal mit PBST (150  $\mu$ L) gewaschen. PBS (50  $\mu$ L) und eine Bakteriensuspension *E. coli* (pKL1162) (50  $\mu$ L, 1.5 mg/mL in PBS) wurde in alle Wells gegeben und die Platte wurde 90 min im Schüttelinkubator (80 UpM) bei 37°C inkubiert. Die Wells wurden dreimal mit PBS (150  $\mu$ L) gewaschen. PBS (120  $\mu$ L) wurde in alle Wells gegeben und die Oberflächen-gebundenen Bakterien durch Fluoreszenz-Readout detektiert (Exitationswellenlänge: 485 nm, Emissionswellenlänge: 535 nm).

### **[2+2]-Cycloaddition auf der Mikrotiterplatte**

Die Aminoglycothymidine wurden wie oben beschrieben kovalent auf den Mikrotiterplatten immobilisiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBST (150  $\mu$ L) wurde PBS (50  $\mu$ L) in alle Wells gegeben. Die Hälfte der Platte wurde mit Aluminiumfolie bedeckt und die andere Hälfte wurde 3 h mit  $\lambda > 295$  nm mit einer Quecksilberlampe (150 W) unter Benutzung eines Cut-Off-Filters bestrahlt. Die Wells wurden dreimal mit PBST (150  $\mu$ L) gewaschen und alle wells wurden durch Inkubation mit Ethanolamin-Lösung (10 mM in Carbonatpuffer, 100 mM, pH 9.6) für 1 h bei RT unter stetiger Agitation blockiert. Der Bakterielle Adhäsionsassay auf der Oberfläche wurde dann nach dem oben beschriebenen Standardprotokoll weiter fortgeführt werden.

### **Filtrationsassay**

PBS (200  $\mu$ L) wurde in einem Eppendorf-Cup vorgelegt. Eine Disperion der Kolloide (20  $\mu$ L, 2 mg/mL in PBS) und eine Bakteriensuspension *E. coli* (pKL1162) (2 mg/mL in PBS) zugegeben. Es wurde für 1.5 h bei 37 °C im Schüttelinkubator (80 UpM) inkubiert. Anschließend wurde durch einen Spritzenfilter (Porengröße 4.5  $\mu$ m) filtriert. Für die Fluoreszenzmessung wurden in einer Mikrotiterplatte (96 Well, Polystyrol, schwarz) PBS (100  $\mu$ L) vorgelegt und das Filtrat (50 $\mu$ L) zugegeben. Die ungebundenen Bakterien wurden

durch Fluoreszenz-Readout detektiert (Exitationswellenlänge: 485 nm, Emissionswellenlänge: 535 nm).

### **Sandwichassay**

Schwarze 96 Well Polystyrol Mikrotiterplatten wurden mit Mannan beschichtet (100  $\mu$ L pro Well) und über Nacht bei 37°C im Inkubator getrocknet. Die Wells wurden dreimal mit PBST (150  $\mu$ L) gewaschen und anschließend durch Inkubation mit 5 % BSA (bovine serum albumine) in PBS für 2 h bei 37 °C blockiert. Die Wells wurden erneut dreimal mit PBST (150  $\mu$ L) gewaschen. Es wurde eine Bakteriensuspension *E. coli* (HB101pPLK4) (100  $\mu$ L, 2.2 mg/mL in PBS) in alle Wells gegeben und 2 h im Schüttelinkubator (80 UpM) bei 37 °C inkubiert. Die Wells wurden dreimal mit PBS (150  $\mu$ L) gewaschen. PBS (50  $\mu$ L) wurde in alle Wells vorgelegt und die Kolloidlösungen (50  $\mu$ L) wurden in die ersten Wells gegeben und seriell verdünnt (1 : 2). Die Platte wurde im Schüttelinkubator (80 UpM) bei 37 °C für 1 h inkubiert. Die Wells wurden dreimal mit PBS (150  $\mu$ L) gewaschen. Eine Bakteriensuspension *E. coli* (pKL1162) (2 mg/mL in PBS) wurde zugegeben und die Platte wurde im Schüttelinkubator (80 UpM) bei 37 °C für 1 h inkubiert. Die Wells wurden dreimal mit PBS (150  $\mu$ L) gewaschen. PBS (120  $\mu$ L) wurde in alle Wells gegeben und die Oberflächen-gebundenen fluoreszierenden *E. coli*-Bakterien (pKL1162) durch Fluoreszenz-Readout detektiert (Exitationswellenlänge: 485 nm, Emissionswellenlänge: 535 nm).

## 7 Literatur

- [1] G. Krauss, *Biochemie der Regulation und Signaltransduktion*, Wiley-VCH, Weinheim, **1997**.
- [2] D. J. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Lehrbuch der Biochemie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [3] P. H. Seeberger, W. C. Haase, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4349-4393.
- [4] H. R. Bourne, E. C. Meng, *Science* **2000**, *289*, 733-734.
- [5] W. M. Oldham, H. E. Hamm, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 60-71.
- [6] K. D. Ridge, K. Palczewski, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 9297-9301.
- [7] D. Nelson, M. Cox, *Lehninger Biochemie*, Springer, Berlin, **2008**.
- [8] A. Musnier, B. Blanchot, E. Reiter, P. Crépieux, *Cell. Signalling*, *22*, 707-716.
- [9] J. C. Sacchettini, L. G. Baum, C. F. Brewer, *Biochemistry* **2001**, *40*, 3009-3015.
- [10] S. Hakomori, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **2002**, *99*, 225-232.
- [11] M. Demetriou, M. Granovsky, S. Quaggin, J. W. Dennis, *Nature* **2001**, *409*, 733-739.
- [12] S. Mayor, H. Riezman, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, *5*, 110-120.
- [13] D. B. Werz, R. Ranzinger, S. Herget, A. Adibekian, C. W. von der Lieth, P. H. Seeberger, *ACS Chem. Biol.* **2007**, *2*, 685-691.
- [14] T. K. Lindhorst, *Chem. unserer Zeit* **2000**, *34*, 38-52.
- [15] N. M. Varki, A. Varki, *Lab. Invest.* **2007**, *87*, 851-857.
- [16] D. C. Kilpatrick, *Biochem. Soc. Trans.* **2008**, *36*, 1453-1456.
- [17] E. Fan, E. A. Merritt, C. L. M. J. Verlinde, W. G. J. Hol, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2000**, *10*, 680-686.
- [18] A. L. Kau, D. A. Hunstad, S. J. Hultgren, *Curr. Opin. Microbiol.* **2005**, *8*, 54-59.
- [19] M. Virji in *Glycoscience and Microbial Adhesion*, 288, Springer, Berlin, **2009**.
- [20] M. Dubber, O. Sperling, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3901-3912.
- [21] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908-2953; M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794.
- [22] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2408-2429; L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2348-2368.
- [23] Y. M. Chabre, R. Roy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2010**, *63*, 165-393.

- [24] J. Huskens, A. Mulder, T. Auletta, C. A. Nijhuis, M. J. W. Ludden, D. N. Reinhoudt, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 6784-6797.
- [25] J. D. Badjic, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723-732.
- [26] A. Varki, R. Cummings, J. Esko, H. Freeze, P. Stanley, C. Bertozzi, G. Hart, M. Etzler, *Essentials of glycobiology*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, **2008**.
- [27] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357-2364.
- [28] P. M. Rudd, T. Elliott, P. Cresswell, I. A. Wilson, R. A. Dwek, *Science* **2001**, *291*, 2370-2376.
- [29] U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann, *Bioorganic Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- [30] H. J. Gabius, H. C. Siebert, S. Andre, J. Jimenez-Barbero, H. Rudiger, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 741-764.
- [31] ursprünglich: <http://med.tn.tudelft.nl/~hadley/nanoscience/week4/membrane.jpg>
- [32] T. D. Butters, R. A. Dwek, F. M. Platt, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4683-4696.
- [33] Y. D. Vankar, R. R. Schmidt, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 201-216.
- [34] S. Degroote, J. Wolthoorn, G. van Meer, *Semin. Cell Dev. Biol.* **2004**, *15*, 375-387.
- [35] M. G. Paulick, C. R. Bertozzi, *Biochemistry* **2008**, *47*, 6991-7000.
- [36] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696-703.
- [37] R. Kornfeld, S. Kornfeld, *Ann. Rev. Biochem.* **1985**, *54*, 631-664.
- [38] W. T. J. Morgan, W. M. Watkins, *Brit. Med. Bull.* **1969**, *25*, 30-&.
- [39] N. Sharon, H. Lis, *Science* **1989**, *246*, 227-234.
- [40] P. R. Crocker, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, *12*, 609-615.
- [41] T. B. H. Geijtenbeek, S. J. van Vliet, A. Engering, B. A. t Hart, Y. van Kooyk, *Ann. Rev. Immun.* **2004**, *22*, 33-54.
- [42] D. C. Kilpatrick, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2002**, *1572*, 187-197.
- [43] R. U. Lemieux, *Chem. Soc. Rev.* **1989**, *18*, 347-374.
- [44] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674.
- [45] R. P. McEver, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2002**, *14*, 581-586.
- [46] E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.
- [47] W. I. Weis, K. Drickamer, *Structure* **1994**, *2*, 1227-1240.
- [48] C. F. Brewer, M. C. Miceli, L. G. Baum, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, *12*, 616-623.

- [49] R. T. Lee, Y. C. Lee, *Glycoconj. J.* **2000**, *17*, 543-551.
- [50] C. Sisu, A. J. Baron, H. M. Branderhorst, S. D. Connel, C. Weijers, R. de Vries, E. D. Hayes, A. V. Pukin, M. Gilbert, R. J. Pieters, H. Zuilhof, G. M. Visser, W. B. Turnbull, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 329-337.
- [51] Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 509-514.
- [52] T. K. Dam, T. A. Gerken, C. F. Brewer, *Biochem.* **2009**, *48*, 3822-3827.
- [53] J. C. Sacchettini, L. G. Baum, C. F. Brewer, *Biochem.* **2001**, *40*, 3009-3015.
- [54] A. Koglin, M. R. Mofid, F. Lohr, B. Schafer, V. V. Rogov, M.-M. Blum, T. Mittag, M. A. Marahiel, F. Bernhard, V. Dotsch, *Science* **2006**, *312*, 273-276.
- [55] S. H. Gerber, J.-C. Rah, S.-W. Min, X. Liu, H. de Wit, I. Dulubova, A. C. Meyer, J. Rizo, M. Arancillo, R. E. Hammer, M. Verhage, C. Rosenmund, T. C. Sudhof, *Science* **2008**, *321*, 1507-1510.
- [56] P. D. Boyer, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 39045-39061.
- [57] X. Zhang, C. Schaffitzel, N. Ban, S.-o. Shan, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **2009**, *106*, 1754-1759.
- [58] P. Bach, M. Bols, A. Damsgård, S. U. Hansen, A. Lohse in *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology, III*, Springer, Berlin, **2001**.
- [59] N. Kaila, B. E. T. IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, *22*, 566-601.
- [60] A. Titz, J. Patton, M. Smiesko, Z. Radic, O. Schwardt, J. L. Magnani, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 19-27.
- [61] M. Wiegand, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 4841-4851.
- [62] O. Srinivas, N. Mitra, A. Surolia, N. Jayaraman, *Glycobiol.* **2005**, *15*, 861-873.
- [63] O. Srinivas, N. Mitra, A. Surolia, N. Jayaraman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2124-2125.
- [64] Y. Liu, A. S. Palma, T. Feizi, *Biol. Chem.* **2009**, *390*, 647-656.
- [65] K. Ohlsen, T. A. Oelschlaeger, J. Hacker, A. S. Khan, *Top. Curr. Chem.* **2009**, *288*, 109-120.
- [66] P. Klemm, M. A. Schembri, *Int. J. Med. Microbiol.* **2000**, *290*, 27-35.
- [67] O. Sperling, A. Fuchs, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3913-3922.
- [68] S. D. Knight, J. Bouckaert, *Top. Curr. Chem.* **2009**, *288*, 67-107.
- [69] D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* **1999**, *285*, 1061-1066.
- [70] G. E. Soto, S. J. Hultgren, *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 1059-1071.
- [71] S. D. Knight, J. Berglund, D. Choudhury, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 653-660.

- [72] J. D. Schilling, M. A. Mulvey, S. J. Hultgren, *J. Inf. Dis.* **2001**, *183*, S36-S40.
- [73] M. Vetsch, C. Puorger, T. Spirig, U. Grauschopf, E. U. Weber-Ban, R. Glockshuber, *Nature* **2004**, *431*, 329-333.
- [74] J. Bouckaert, J. Berglund, M. Schembri, E. D. Genst, L. Cools, M. Wuhrer, C.-S. Hung, J. Pinkner, R. Slättegård, A. Zavialov, D. Choudhury, S. Langermann, S. J. Hultgren, L. Wyns, P. Klemm, S. Oscarson, S. D. Knight, H. D. Greve, *Mol. Microbiol.* **2005**, *55*, 441-455.
- [75] C.-S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. DeFusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.* **2002**, *44*, 903-915.
- [76] A. Wellens, C. Garofalo, H. Nguyen, N. Van Gerven, R. Slättegård, J.-P. Hernalsteens, L. Wyns, S. Oscarson, H. De Greve, S. Hultgren, J. Bouckaert, *PLoS One* **2008**, *3*, e2040.
- [77] A. Fuchs, Dissertation, Kiel, **2005**.
- [78] T. K. Lindhorst, C. Kieburg, U. Krallmann-Wenzel, *Glycoconj. J.* **1998**, *15*, 605-613.
- [79] S. Kötter, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, T. K. Lindhorst, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 2193 - 2200.
- [80] M. Hartmann, A. K. Horst, P. Klemm, T. K. Lindhorst, *Chem. Commun.* **2010**, 330-332.
- [81] T. Hirose, K. Matsuda, M. Irie, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 7499-7508.
- [82] J. Auernheimer, C. Dahmen, U. Hersel, A. Bausch, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16107-16110.
- [83] M. Irie, M. Kato, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1024-1028.
- [84] A. Nayak, H. Liu, G. Belfort, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4200-4204; A. Nayak, H. Liu, G. Belfort, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4094-4098..
- [85] I. Willner, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 347-356.
- [86] M. Irie, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1685-1716.
- [87] R. H. Mitchell, S. Bandyopadhyay, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1729-1732.
- [88] R. Behrendt, C. Renner, M. Schenk, F. Wang, J. Wachtveitl, D. Oesterhelt, L. Moroder, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2941-2943; R. Behrendt, C. Renner, M. Schenk, F. Wang, J. Wachtveitl, D. Oesterhelt, L. Moroder, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2771-2774.
- [89] E. C. Friedberg, *Nature* **2003**, *421*, 436-440.
- [90] L.-O. Essen, T. Klar, *Cell. Mol. Life Sci.* **2006**, *63*, 1266-1277.



- [91] T. Carell, L. T. Burgdorf, L. M. Kundu, M. Cichon, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 491-498.
- [92] M. G. Friedel, M. Cichon, T. Carell in *Organic Photochemistry and Photobiology*, *141*, CRC Press LCC, Boca Raton, **2004**.
- [93] R. Iwaura, T. Shimizu, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4717-4720; R. Iwaura, T. Shimizu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4601-4604.
- [94] S. Abbott, J. Ralston, G. Reynolds, R. Hayes, *Langmuir* **1999** *15*, 8923-8928.
- [95] Y. Inaki, H. Hiratsuka, *J. Photopolym. Sci. Technol.* **2000**, *13*, 739-744.
- [96] H. Itoh, A. Tahara, K. Naka, Y. Chujo, *Langmuir* **2004**, *20*, 1972-1976.
- [97] Y. Inaki in *Organic Photochemistry and Photobiology*, *104*, CRC Press LCC, Boca Raton, **2004**.
- [98] P. Chirakul, S. T. Sigurdsson, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 917-919.
- [99] J. C. Wu, Z. Xi, C. Gioeli, J. Chattopadhyaya, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2237-2254.
- [100] K. Seio, T. Terada, M. Mizuta, A. Ohkubo, H. Taguchi, M. Sekine, *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 1946-1965.
- [101] I. Le Clezio, H. Gornitzka, J.-M. Escudier, A. Vigroux, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1620-1629.
- [102] M. Montebault, N. Bourgoignon, J. Lebreton, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8091-8094.
- [103] O. Mitsunobu, M. Yamada, *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1967**, *40*, 2380-2382.
- [104] O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [105] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213-236; R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, *25*, 212-235.
- [106] J. Zhang, P. Kováč, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 461 - 469.
- [107] T. K. Lindhorst, *Essentials in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [108] A. Vervoort, C. K. De Bruyne, *Carbohydr. Res.* **1970**, *12*, 277-280.
- [109] A. Wohl, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1919**, *52*, 51-63.
- [110] J. C. Briggs, A. H. Haines, R. J. K. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 27-32.
- [111] A. Schierholt, M. Hartmann, K. Schwekendiek, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3120-3128.
- [112] A. Gossauer, *Struktur und Reaktivität der Biomoleküle - Eine Einführung in die Organische Chemie*, Helvetica Chimica Acta, Wiley-VCH, Zürich, **2006**.

- [113] V. Roy, L. Colombeau, R. Zerrouki, P. Krausz, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1829-1831.
- [114] H. Daumlechner, Diplomarbeit, Kiel, **2008**.
- [115] M. G. Friedel, J. C. Pieck, J. Klages, C. Dauth, H. Kessler, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6081-6094.
- [116] P. C. Montevecchi, A. Manetto, M. L. Navacchia, C. Chatgililoglu, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4303-4308.
- [117] A. Kawai, O. Hara, Y. Hamada, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6331-6334.
- [118] J. Dahmén, T. Frejd, G. Grönberg, T. Lave, G. Magnusson, G. Noori, *Carbohydr. Res.* **1983**, *116*, 303-307.
- [119] J. Geng, G. Mantovani, L. Tao, J. Nicolas, G. Chen, R. Wallis, D. A. Mitchell, B. R. G. Johnson, S. D. Evans, D. M. Haddleton, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15156-15163.
- [120] J. D'Onofrio, L. De Napoli, G. Di Fabio, D. Montesarchio, *Synlett* **2006**, 845-848.
- [121] I. Yamamoto, M. Sekine, T. Hata, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 306-310.
- [122] C. J. Wilds, A. M. Noronha, S. Robidoux, P. S. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9257-9265.
- [123] W. Bannwarth, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1517-1527.
- [124] B. W. Gibson, A. M. Falick, A. L. Burlingame, L. Nadasdi, C. Nguyen Ann, G. L. Kenyon, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5343-5348.
- [125] R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 742-754; R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 633-645.
- [126] Z. P. Demko, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2214-2217; Z. P. Demko, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2110-2113.
- [127] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [128] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056-2075; H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [129] C. Grabosch, M. Kleinert, T. K. Lindhorst, *Synthesis* **2010**, 828-836.
- [130] R. Roy, S. K. Das, F. Santoyo-González, F. Hernández-Mateo, T. K. Dam, C. F. Brewer, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1757-1762.
- [131] G. Zemplén, E. Pacsu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, *62*, 1613-1614.
- [132] K. Yamada, H. Taguchi, A. Ohkubo, K. Seio, M. Sekine, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5928-5932.

- [133] R. Lucas, V. Neto, A. Hadj Bouazza, R. Zerrouki, R. Granet, P. Krausz, Y. Champavier, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1004-1007.
- [134] M. Nakane, S. Ichikawa, A. Matsuda, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1842-1851.
- [135] K. Teste, L. Colombeau, A. Hadj-Bouazza, R. Lucas, R. Zerrouki, P. Krausz, Y. Champavier, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1490-1495.
- [136] C. V. Miduturu, S. K. Silverman, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5774-5777.
- [137] C. Giraud, C. Bernard, S. Ruer, S. d. Bentzmann, *Environ. Microbiol. Rep.* **2009**, *2*, 343-358.
- [138] M. Hartmann, T. K. Lindhorst, *Nachr. Chem.* **2008**, *56*, 1115-1119.
- [139] M. E. Taylor, K. Drickamer, *Glycobiol.* **2009**, *19*, 1155-1162.
- [140] J. L. de Paz, P. H. Seeberger, *QSAR Comb. Sci.* **2006**, *25*, 1027-1032.
- [141] T. Feizi, W. Chai, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, *5*, 582-588.
- [142] O. Blixt, S. Head, T. Mondala, C. Scanlan, M. E. Huflejt, R. Alvarez, M. C. Bryan, F. Fazio, D. Calarese, J. Stevens, N. Razi, D. J. Stevens, J. J. Skehel, I. van Die, D. R. Burton, I. A. Wilson, R. Cummings, N. Bovin, C. H. Wong, J. C. Paulson, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 17033-17038.
- [143] M. A. Brun, M. D. Disney, P. H. Seeberger, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 421-424.
- [144] S. Park, I. Shin, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3312-3314; S. Park, I. Shin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3180-3182.
- [145] F. Fazio, M. C. Bryan, O. Blixt, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14397-14402.
- [146] C. Maierhofer, K. Rohmer, V. Wittmann, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7661-7676.
- [147] V. Bailly, W. G. Verly, *Biochem. J.* **1987**, *242*, 565-572.
- [148] J.-R. Bertrand, J.-J. Vasseur, B. Rayner, J.-L. Imbach, J. Paoletti, C. Paoletti, C. Malvy, *Nucleic Acids Res.* **1989**, *17*, 10307-10319.
- [149] Ge, Y.-P. He, F.-E. Chen, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 2593 - 2598.
- [150] C. Treitz, K. Schwekendiek, T. K. Lindhorst, A. Tholey, *unveröffentlichte Ergebnisse*.
- [151] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *Science* **1991**, *252*, 1164-1167.
- [152] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10714-10721.
- [153] M. Kleinert, N. Röckendorf, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3931-3940.
- [154] M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2118-2132.
- [155] B. T. Houseman, M. Mrksich, *Chemistry & Biology* **2002**, *9*, 443-454.

- [156] L. Ban, M. Mrksich, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3444-3447; L. Ban, M. Mrksich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3396-3399.
- [157] S. Svedhem, L. Ohberg, S. Borrelli, R. Valiokas, M. Andersson, S. Oscarson, S. C. T. Svensson, B. Liedberg, P. Konradsson, *Langmuir* **2002**, *18*, 2848-2858.
- [158] M. Mrksich, G. B. Sigal, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1995**, *11*, 4383-4385.
- [159] J. M. Brockman, B. P. Nelson, R. M. Corn, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2000**, *51*, 41-63.
- [160] M. Lestelius, B. Liedberg, P. Tengvall, *Langmuir* **1997**, *13*, 5900-5908.
- [161] P. Tengvall, I. Lundström, B. Liedberg, *Biomater.* **1998**, *19*, 407-422.
- [162] X. Zhang, V. K. Yadavalli, *Anal. Chim. Acta* **2009**, *649*, 1-7.
- [163] R. G. Nuzzo, D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481-4483.
- [164] C. D. Bain, G. M. Whitesides, *Science* **1988**, *240*, 62-63.
- [165] C. D. Bain, E. B. Troughton, Y. T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321-335.
- [166] A. Ulman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1554.
- [167] J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1170.
- [168] B. T. Houseman, M. Mrksich, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 876-880; B. T. Houseman, M. Mrksich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 782-785.
- [169] F. Frederix, K. Bonroy, W. Laureyn, G. Reekmans, A. Campitelli, W. Dehaen, G. Maes, *Langmuir* **2003**, *19*, 4351-4357.
- [170] A. El Kasmi, J. M. Wallace, E. F. Bowden, S. M. Binet, R. J. Linderman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 225-226.
- [171] X. Chen, R. Ferrigno, J. Yang, G. M. Whitesides, *Langmuir* **2002**, *18*, 7009-7015.
- [172] S. R. Wasserman, Y. T. Tao, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1989**, *5*, 1074-1087.
- [173] Z. Sekkat, J. Wood, Y. Geerts, W. Knoll, *Langmuir* **1995**, *11*, 2856-2859.
- [174] Z. Sekkat, J. Wood, Y. Geerts, W. Knoll, *Langmuir* **1996**, *12*, 2976-2980.
- [175] K. Schwekendiek, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *unveröffentlichte Ergebnisse*.
- [176] K. Schwekendiek, M. Ried, R. Herges, T. K. Lindhorst, *unveröffentlichte Ergebnisse*.
- [177] E. W. Buhleier, W. Wehner, F. Vögtle, *Synthesis* **1978**, 155-158.
- [178] D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Polym. J.* **1985**, *17*, 117-132.
- [179] D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Macromolecules* **1986**, *19*, 2466-2468.

- [180] D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 119-157; D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1990**, *29*, 138-175.
- [181] A. R. Menjoge, R. M. Kannan, D. A. Tomalia, *Drug Discovery Today* **2010**, *15*, 171-185.
- [182] R. Benters, C. M. Niemeyer, D. Drutschmann, D. Blohm, D. Wöhrle, *Nucleic Acid Res.* **2002**, *30*, e10.
- [183] N. Röckendorf, T. Lindhorst, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *217*, 201-238.
- [184] M. M. K. Boysen, K. Elsner, O. Sperling, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4376-4386.
- [185] M. Lahmann, *Top. Curr. Chem.* **2009**, *288*, 17-65.
- [186] M. Dubber, T. K. Lindhorst, *Carbohydr. Res.* **1998**, *310*, 35-41.
- [187] A. Imberty, Y. M. Chabre, R. Roy, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7490-7499.
- [188] R. Roy, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2003**, *15*, 291-310.
- [189] S. Far, A. Kossanyi, C. Verchère-Béaur, N. Gresh, E. Taillandier, M. Perrée-Fauvet, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004*, 1781-1797.
- [190] P. Krist, L. Vannucci, M. Kuzma, P. Man, K. Sadalapure, A. Patel, K. Bezouška, M. Pospíšil, L. Petruš, T. K. Lindhorst, V. Křen, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 445-452.
- [191] J. M. Perez, F. J. Simeone, Y. Saeki, L. Josephson, R. Weissleder, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10192-10193.
- [192] D. Akin, J. Sturgis, K. Ragheb, D. Sherman, K. Burkholder, J. P. Robinson, A. K. Bhunia, S. Mohammed, R. Bashir, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 441-449.
- [193] M. Okada, *Progr. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 67-104.
- [194] P. Di Gianvincenzo, M. Marradi, O. M. Martínez-Avila, L. M. Bedoya, J. Alcamí, S. Penadés, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2718-2721.
- [195] O. Martínez-Avila, L. M. Bedoya, M. Marradi, C. Clavel, J. Alcamí, S. Penadés, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 1806-1809.
- [196] O. Martínez-Avila, K. Hijazi, M. Marradi, C. Clavel, C. Campion, C. Kelly, S. Penadés, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9874-9888.
- [197] J. K. Oh, D. I. Lee, J. M. Park, *Progr. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 1261-1282.
- [198] C. Diehl, H. Schlaad, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 11469-11472.
- [199] C.-C. Huang, C.-T. Chen, Y.-C. Shiang, Z.-H. Lin, H.-T. Chang, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 875-882.
- [200] G. Pasparakis, C. Alexander, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4925-4928; G. Pasparakis, C. Alexander, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4847-4850.

- [201] A. Zillessen, E. Bartsch, *Langmuir* **2009**, *26*, 89-96.
- [202] A. Zillessen, Dissertation, Freiburg, **2009**.
- [203] E. Zaccarelli, *J. Phys. Condens. Mat.* **2007**, *19*, 323101.
- [204] M. E. Cates, M. Fuchs, K. Kroy, W. C. K. Poon, A. M. Puertas, *J. Phys. Condens. Mat.* **2004**, *16*, S4861.
- [205] A. M. Puertas, M. Fuchs, M. E. Cates, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 2813-2822.
- [206] D. H. Diestler, *Wässrige Polymerdispersionen*, VCH, Weinheim, **1999**.
- [207] S. Asakura, F. Oosawa, *J. Polym. Sci.* **1958**, *33*, 183-192.
- [208] A. Vrij, *Pure Appl. Chem.* **1976**, *48*, 471.
- [209] P. J. Lu, E. Zaccarelli, F. Ciulla, A. B. Schofield, F. Sciortino, D. A. Weitz, *Nature* **2008**, *453*, 499-503.
- [210] E. Zaccarelli, *J. Phys. Condens. Mat.* **2007**, *19*, 323101.
- [211] J. F. Jones, J. D. Feick, D. DImoudu, N. Chukwumah, M. Vigeant, D. Velegol, *Appl. Environ. Microbiol.* **2003**, *69*, 6516-6519.
- [212] A. Krüger, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 2445-2449.
- [213] T. K. Dam, C. F. Brewer, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 387-430.
- [214] T. K. Dam, R. Roy, D. Page, C. F. Brewer, *Biochem.* **2002**, *41*, 1351-1358.
- [215] W. D. Van Horn, H.-J. Kim, C. D. Ellis, A. Hadziselimovic, E. S. Sulistijo, M. D. Karra, C. Tian, F. D. Sönnichsen, C. R. Sanders, *Science* **2009**, *324*, 1726-1729.
- [216] E. P. Carpenter, K. Beis, A. D. Cameron, S. Iwata, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, *18*, 581-586.
- [217] D. V. Tulumello, C. M. Deber, *Biochem.* **2009**, *48*, 12096-12103.
- [218] I. Castrillo, N. A. Araujo, J. Alegre-Cebollada, J. G. Gavilanes, A. Martinez-del-Pozo, M. Bruix, *Proteins* **2010**, *78*, 1959-1970.
- [219] G. G. Privé, *Methods* **2007**, *41*, 388-397.
- [220] J. Mares, J. U. Müller, A. Skirgailiene, A. Neumoin, C. A. Bewley, R. R. Schmidt, O. Zerbe, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1764-1773.
- [221] P. V. Santacroce, A. Basu, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 99-102; P. V. Santacroce, A. Basu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 95-98.
- [222] N. J. Turro, A. Yekta, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 5951-5952.
- [223] Y. Cohen, L. Avram, L. Frish, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 524-560; Y. Cohen, L. Avram, L. Frish, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 520-554.
- [224] E. O. Stejskal, J. E. Tanner, *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288-292.

- [225] P. C. Griffiths, P. Stilbs, K. Paulsen, A. M. Howe, A. R. Pitt, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 915-918.
- [226] *Revised Release on Viscosity and Thermal Conductivity of Heavy Water Substance*, The International Association for the Properties of Water and Steam, Luzern Schweiz, **2007**.
- [227] D. Stigter, R. J. Williams, K. J. Mysels, *J. Phys. Chem.* **1955**, *59*, 330-335.
- [228] G. A. Kicska, L. Long, H. Horig, C. Fairchild, P. C. Tyler, R. H. Furneaux, V. L. Schramm, H. L. Kaufman, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **2001**, *98*, 4593-4598.
- [229] R. W. Miles, P. C. Tyler, R. H. Furneaux, C. K. Bagdassarian, V. L. Schramm, *Biochemistry* **1998**, *37*, 8615-8621.
- [230] M. J. Robins, I. Nowak, S. F. Wnuk, F. Hansske, D. Madej, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8216-8221.
- [231] I. Nowak, M. J. Robins, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8876-8883.
- [232] E. Kawashima, Y. Terui, R. Kodama, K. Yokozeki, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3161-3165.
- [233] B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6369-6375.
- [234] J. Andréasson, A. Holmén, B. Albinsson, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 9782-9789.
- [235] A. B. J. Parusel, W. Rettig, K. Rotkiewicz, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 2293-2299.
- [236] N. K. Schwalb, F. Temps, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 13113-13123.
- [237] C. E. Crespo-Hernández, B. Cohen, B. Kohler, *Nature* **2006**, *441*, E8-E8.
- [238] N. K. Schwalb, F. Temps, *Science* **2008**, *322*, 243-245.
- [239] C. T. Middleton, K. de La Harpe, C. Su, Y. K. Law, C. E. Crespo-Hernández, B. Kohler, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2009**, *60*, 217-239.
- [240] M. D. Erlacher, K. Lang, B. Wotzel, R. Rieder, R. Micura, N. Polacek, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4453-4459.
- [241] D. H. R. Barton, S. W. McCombie, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, *16*, 1574 - 1585.
- [242] R. Lucas, R. Zerrouki, R. Granet, P. Krausz, Y. Champavier, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5467-5471.
- [243] I. Van Daele, H. Munier-Lehmann, M. Froeyen, J. Balzarini, S. Van Calenbergh, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5281-5292.
- [244] A. Rosowsky, R. M. Ruprecht, V. C. Solan, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **1989**, *8*, 491-497.

- 
- [245] T. Kimura, K. Watanabe, Y. Tateoka, S. Kondo, I. K. Ho, I. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1180-1182.
- [246] R. O. Dempcy, O. Almarsson, T. C. Bruice, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 7864-7868.





## Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst für die interessante und herausfordernde Themenstellung, die Gewährung des kreativen Freiraumes, das beständige Interesse an meiner Arbeit und die Unterstützung danken.

Bei Herrn Prof. Dr. Ulrich Lüning möchte ich mich für die Übernahme der Zweitkorrektur und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Den Mitarbeitern der NMR-Abteilung Prof. Dr. Frank Sönnichsen, Gitta Kohlmeyer-Ylmaz, Marion Höftmann und Holger Franzen sowie den Mitarbeitern der massenspektrometrischen Abteilung Dirk Meyer, Ulrike Drieling und Rolf Meyer danke ich für die Aufnahme der zahlreichen Spektren und ihre Unterstützung.

Für die gute Zusammenarbeit in allen organisatorischen Dingen danke ich Christine Haug und Regina Meinschmidt.

Ein großer Dank gilt Elwira Klima-Bartczak für die gute Zusammenarbeit, die gute Atmosphäre im Labor und ihre offene und herzliche Art.

Lena Daumlechner, Alexander Schierholt, Jörn Schmidt-Lassen, Katharina Elsner, Mirja Hartmann, Bianca Kunz und Harun Shaik möchte ich für die gute Zusammenarbeit und die Freundschaft während meiner Promotion danken. Ihnen, wie auch dem gesamten Arbeitskreis Lindhorst gilt mein Dank für die zahlreichen Diskussionen, das Korrekturlesen dieser Arbeit und vor allem für die angenehme Atmosphäre im Arbeitskreis, die die Durchführung dieser Arbeit enorm erleichtert hat.

Bei meinen F3-Praktikanten Lena Daumlechner, Michelle Fernandez-Biber und Katharina Röttger möchte ich mich für die Unterstützung bei der Synthese und ihr großes Engagement danken.

Ein großer Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Otto-Diels Institutes für die angenehme Atmosphäre

Prof. Dr. Andreas Terfort danke ich für die gute Kooperation und das Stipendium der Goethe-Universität, Frankfurt am Main.

Marscha Ried und Hauke Kobarg möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken.

Ein großer Dank gilt auch Andreas Zillessen für die gute Kooperation und das Korrekturlesen.

Bei allen Assistenten des F-Paktikums, insbesondere Jens Kubitschke, Friederike Eggers und Dennis Stoltenberg möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit im Praktikum bedanken.

Den Kieler Rugby-Mädels möchte ich für die Rückendeckung und ihre Freundschaft danken.

Ein großer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung und ihren Zuspruch während der letzten Jahre.

Ein besonderer Dank gilt auch Holger Grugel für den Rückhalt und seine Unterstützung.

## Lebenslauf

### Kirsten Schwekendiek

#### Persönliche Daten

Geburtsdatum und -ort 21.04.1981 in Emden  
Familienstand ledig  
Staatsangehörigkeit deutsch

#### Promotion

05/06-07/10: Promotion an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst mit dem Titel: „Photoschaltbare Glycomimetika zur Untersuchung konformationeller Kontrolle in der Glycobiologie: Synthese und Anwendung von Glycothymidinen“  
Schwerpunkte: Organische Synthese, Adhäsionstests mit Bakterien

#### Studium

10/00-01/06 Studium an der Philipps-Universität Marburg  
Abschluss Diplom-Chemiker  
05/05-01/06 Diplomarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Frank Glorius mit dem Titel: „Neue oxidative Synthesemethode zur Darstellung von 2-Oxazolinen“  
02/04-08/04 Auslandssemester an der University of Melbourne (Australien)  
08/03-09/03 Auslandspraktikum an der Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Mexiko)

#### Schulbildung

07/00 Abitur am Gymnasium am Treckfahrtstief in Emden