

Diss. ETH Nr. 18488

**Amidartig Verknüpfte Oligonukleotidanaloge  
mit im Rückgrat Integrierten Nucleobasen  
(ONIBs)**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

Doktor der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von

**Manuel Peifer**

Diplom-Chemiker, Philipps-Universität Marburg

geboren am 7. April 1980

aus Deutschland

Angenommen im Auftrag von

Prof. Dr. Andrea Vasella, Referent

Prof. Dr. Donald Hilvert, Korreferent

Zürich 2009



*Meiner Familie  
in Liebe und Dankbarkeit gewidmet*



Mein Dank gilt

*Prof. Andrea Vasella* für die interessante Aufgabenstellung, für seine stetige Förderung, im Besonderen bzgl. der Bewerbung um eine Post-Doktorandenstelle und einem Stipendium und für seine intensive aber lehrreiche Kritik.

*Prof. Donald Hilvert* für die Übernahme des Korreferats.

*Dr. Bruno Bernet* für die Korrektur der experimentellen Daten, seine Ratschläge bzgl. der Konformationsanalysen und seine Hilfe bei den Modellierungen.

*Nina May Haydon, Dr. Regula Merz* und *Thomas Mäder* für ihre geduldige Hilfe bei administrativen und technischen Problemen.

*Rolf Häflinger* und *Louis Bertschi* für das rasche Messen der MS-Spektren. *Dr. Marc-Oliver Ebert, Philipp Zumbrunnen* und *Rainer Frankenstein* für das Messen eines Teils der NMR-Spektren.

meinem Kollegen *Fabio De Giacomo*. Obgleich wir zwei sehr unterschiedliche Charaktere sind, haben wir uns gegenseitig akzeptiert und einander geholfen. An ihn richte ich meine ausdrückliche Wertschätzung und wünsche ihm alles erdenklich Gute für seinen weiteren Lebensweg.

*Martin Schandl* und *Zrinka Rajic* für ihren Einsatz und ihre wertvollen Beiträge zu dieser Arbeit. *Martin Schandl* danke ich zudem für seine geschätzte Freundschaft und wünsche ihm auch in Zukunft ein gutes Blatt beim „Texas Hold'em“.

meinen Laborkollegen *Dr. Jagan Mohan Rao Narayanam, Dr. Fangli Zhang, Zhen Sun, Sumantha Sumantha, Katja Chiesa* und *Dr. Yoshikazu Suzuki*, die meine emotionalen Ausbrüche tapfer überstanden haben. Ein Labor mit mir zu teilen war gewiss nicht immer einfach und daher danke ich ihnen vielmals für ihre Akzeptanz und ihr Verständnis.

meinen anderen Kollegen, im Speziellen *Lorenz Herdeis, Thomas Steinlin, Martina Adams, Dr. Marie-Pierre Collin, Daniel Egli, Dr. Maria del Carmen Riuz Riuz, Claudia Bich, Laila Hossain* und *Rossana Ferrara* für ihre Unterstützung und ihre Freundschaft. Ich wünsche den letzten Mohikanern der Vasella Gruppe einen baldigen und erfolgreichen Abschluss und freue mich auf die letzten Aperos in J343.

meinen alten und treuen Freunden *Friederike Tewes* und *Manuel Ellermann* für ihr offenes Ohr und das unbekümmerte Beisammensein bei gutem Wein in der raren chemiefreien Zeit. Ich lasse euch nur sehr ungern in Zürich zurück und wünsche euch eine glückliche restliche Zeit in der Schweiz und einen erfolgreichen Abschluss. Auf ein baldiges Wiedersehen.

zu guter Letzt meiner Mutter für ihren Beistand in allen Lebenslagen, für ihre Aufmunterung und ihre wohlgemeinten Ratschläge. Ohne dich wäre ich nicht bis hierher gekommen.



*Ein Abschied schmerzt immer, auch wenn man sich schon lange darauf freut.*  
Arthur Schnitzler (1862-1931)

**Ein Teil dieser Arbeit wurde bereits veröffentlicht:**

M. Peifer, F. De Giacomo, M. Schandl, A. Vasella\*

‘Oligonucleotide Analogues with Integrated Bases and Backbone – Hydrazide- and Amide-Linked Analogues – 1. Design and Synthesis of the Monomeric Building Blocks.’  
*Helv. Chim. Acta*, **2009**, 92, 1134.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen</b>	<b>i</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>v</b>
<b>Abstract</b>	<b>viii</b>
<b>1. Ziel der Doktorarbeit</b>	<b>1</b>
<b>2. Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Die Struktur der natürlichen Nukleinsäuren</b>	<b>3</b>
2.1.1. DNA-Duplexe: A-, B- und Z-DNA	3
2.1.2. DNA-Triplexe	6
2.1.3. DNA-Quadruplexe: G-Quadruplex und i-Motif	8
2.1.4. RNA·DNA-Duplexe und RNA-Duplexe: A- und A'-RNA	10
<b>2.2. Die Struktur der peptidischen Nukleinsäureanaloge</b>	<b>11</b>
2.2.1. Bekannte peptidisch verknüpfte Nukleinsäureanaloge	11
2.2.2. Die Konformation der PNA	14
2.2.3. PNA·PNA-Duplexe	15
2.2.4. PNA·DNA- und PNA·RNA-Duplexe	16
2.2.5. (PNA) <sub>2</sub> ·DNA-, (PNA) <sub>2</sub> ·RNA- und Bis(PNA)·DNA-Triplexe	18
<b>2.3. Die Methode der Peptid-Festphasensynthese</b>	<b>20</b>
2.3.1. Der polymere Träger und seine Beladung	22
2.3.2. Die Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe	25
2.3.3. Die Kopplungsreaktion	25
2.3.4. Die Abspaltung vom polymeren Träger	29
2.3.5. Kritischer Vergleich von Lösungs- und Festphasensynthese	30
<b>2.4. mi- und si-RNAs</b>	<b>31</b>
<b>2.5. Untersuchung wasserlöslicher Nukleinsäuren</b>	<b>33</b>
2.5.1. Temperaturabhängige UV-Spektroskopie	33
2.5.2. Temperaturabhängige CD-Spektroskopie	36
<b>3. Der Strukturentwurf amidartig verknüpfter ONIBs</b>	<b>38</b>
3.1. Hydrazid-Analoge	38
3.2. Amid-Analoge	42
3.3. Thioether/Amid-Analoge	44
<b>4. Synthese</b>	<b>50</b>
<b>4.1. Synthese der Monomeren</b>	<b>50</b>
<b>4.1.1. Hydrazid-Analoge</b>	<b>50</b>
4.1.1.1. Synthese der Purin-Monomeren	51
<b>4.1.2. Amid-Analoge</b>	<b>54</b>
4.1.2.1. Synthese der Pyrimidin-Monomeren	54
4.1.2.2. Synthese der Purin-Monomeren	56
<b>4.1.3. Thioether/Amid-Analoge</b>	<b>58</b>

4.1.3.1. Synthese der Pyrimidin-Monomeren	58
4.1.3.2. Synthese der Purin-Monomeren	60
<b>4.2. Synthese der Oligomeren</b>	<b>61</b>
<b>4.2.1. Hydrazid-Analogue</b>	<b>61</b>
4.2.1.1. Festphasensynthese von $(A_2U_2)_2$ , $U_4A_4$ und $U_{10}$	61
4.2.1.2. Versuche zur Festphasensynthese der von Cytosin und Guanin abgeleiteten Oktameren	65
<b>4.2.2. Amid-Analogue</b>	<b>67</b>
4.2.2.1. Festphasensynthese der von Uracil, Cytosin, Adenin und Guanin abgeleiteten Oktameren	67
<b>4.2.3. Thioether/Amid-Analogue</b>	<b>69</b>
4.2.3.1. Versuche zur Festphasensynthese	69
4.2.3.2. Lösungssynthese der Oktameren $U_2C_2G_2A_2$ und $U_2C_2U_2C_2$	70
4.2.3.3. Lösungssynthese des <i>i</i> -butyrylgeschützten Oktameren $U_2C_2G_2A_2$ und die Probleme bei der Entfernung der Schutzgruppen	77
<b>5. Analyse der Assoziation und Interpretation der Ergebnisse</b>	<b>81</b>
<b>5.1. Hydrazid-Analogue</b>	<b>81</b>
5.1.1. Homoassoziation	81
5.1.2. Heteroassoziation mit DNA und RNA	82
<b>5.2. Thioether/Amid-Analogue</b>	<b>83</b>
5.2.1. Homoassoziation	83
5.2.2. Heteroassoziation mit DNA und RNA	88
<b>6. Ausblick</b>	<b>90</b>
<b>7. Experimentaltteil</b>	<b>93</b>
7.1. Allgemeine Bemerkungen	93
7.2. Synthesen	95
7.3. NMR-Tabellen	183
<b>8. Referenzen</b>	<b>200</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>208</b>

## Abkürzungen

$[\alpha]_D^{25}$	Spezifische Rotation bei der Natrium D Linie bei 25°
°	Grad
°C	Grad Celsius
$\lambda$	Wellenlänge
$\theta$	Elliptizität
$\theta$	Folded Fraction (Assoziierter Anteil)
A	Adenin
Å	Ångström (1 Å = 10 <sup>-10</sup> m)
Ac	Acetyl
anal.	Analytisch
Äqu.	Äquivalente
Asp	Asparaginsäure
<i>ap</i>	<i>Antiperiplanar</i>
ber.	Berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium Hexafluorphosphat
Bn	Benzyl
br.	Breit
Bu	Butyl
<i>c</i>	Concentration (Konzentration)
c	Centi
C	Cytosin
<i>ca.</i>	Circa
cal	Calorie (Kalorie)
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CD	Circular Dichroism (Cirkulardichroismus)
6-ClOBt	6-Chlor-1-hydroxybenzotriazol
COSY	Homo-Nuclear Shift Correlated Spectroscopy (Homonukleare Korrelationspektroskopie)
CPG	Controlled Porous Glass (poröses Glas definierter Grösse)
CSD	Cambridge Structural Database (Cambridge Strukturdatenbank)
Cyst	Cystein
<i>d</i>	Dublett
d	Deci
DBF	Dibenzofulven
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCU	Dicyclohexylurea (Dicyclohexylharnstoff)
Dhbt	3,4-Dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3yl
DIPCDI	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
DQF	Double Quantum Coherence Filter (Doppelquantum Kohärenzfilter)

DSC	Differential Scanning Calorimetry (Dynamische Differenzkalorimetrie)
DTA	Differentialthermoanalyse
EI	Electron Impact
ESI	Elektronenspray-Ionisation
Et	Ethyl
EDC	3-((Ethylimino)methylenamino)- <i>N,N,N</i> -trimethylpropan-1-ammoniumchlorid
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid (Ethyldiamintetraessigsäure)
FC	Flash Chromatography (Blitzchromatographie)
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FT	Fourier Transformed (Fouriertransformiert)
<i>g</i>	<i>Gauche</i>
ges.	Gesättigt
g	Gramm
G	Guanin
G	Freie Enthalpie
GNA	Glucopyranosyl Nucleic Amide (Glucopyranosylnukleinsäure)
GPC	Gelpermatationschromatographie
h	Hour (Stunde)
H	Enthalpie
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N,N'</i> -tetramethyluronium Hexafluorophosphat
HBTU	<i>N,N,N,N'</i> -Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium Hexafluorophosphat
HCTU	O-(6-Chlorbenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N,N'</i> -tetramethyluronium Hexafluorophosphat
HMBC	Heteronuclear Multiple Bonds Correlation (Heteronukleare Korrelation über mehrere Bindungen)
HOBt	1-Hydroxy-1H-benzotriazol
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigchromatographie)
HR	High Resolution (Hochauflösung)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence (Heteronukleare Einfachquantenkohärenz)
Hz	Hertz
<i>i</i>	Iso
IR	Infrarot
<i>J</i>	Kopplungskonstante
k	Kilo
K	Kelvin
LCMS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry (Flüssigkeitschromatographie–Massenspektrometrie)
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lsg.	Lösung
Lys	Lysin
<i>m</i>	Multipllett
m	Milli

MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation (Matrixunterstützte Laser Desorption/Ionisation)
Me	Methyl
min	Minute
Mmt	4-Methoxytrityl
mRNA	Messenger RNA (Boten-RNS)
M	Molar
MBHA	4-Methylbenzhydrylamin
miRNA	Micro RNA
MS	Massenspektrometrie
MSNT	1-(Mesitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazol
n	Nano
NMP	1-Methylpyrrolidin-2-on
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernspinresonanz)
ONIB	Oligonukleotidanalogue mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen
org.	Organisch
PA	Polyacrylamid
PDB	Protein Data Bank (Proteindatenbank)
PEG	Polyethylenglykol
PEGA	Polyethylenglykol-Polyacrylamid
PG	Protecting Group (Schutzgruppe)
Ph	Phenyl
PNA	Peptide Nucleic Acid (Peptidnukleinsäure)
ppm	Parts Per Million (Teile von einer Million)
PPOA	4-Propionylphenoxyacetamid
Pr	Propyl
PS	Polystyrol
PyBOP	Benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium Hexafluorosphat
PyBrOP	Brom-tris-pyrrolidino-phosphonium Hexafluorosphat
Pyr	Pyridin
<i>q</i>	Quartett
$R_f$	Retentionszeit
RISC	RNA-Induced Silencing Complex
RNA	Ribonucleic Acid (Ribonukleinsäure)
RP	Reverse Phase (Umkehrphase)
rpm	Revolutions Per Minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
<i>s</i>	Singulett
S	Entropie
<i>sc</i>	<i>Synclinal (Synklinal)</i>
shRNA	Short Hairpin RNA (kurze Haarnadel RNS)
siRNA	Short Interfering RNA (kurze interferierende RNS)
Smp.	Schmelzpunkt
<i>t</i>	Triplett
<i>t(r)</i>	Trans
<i>t(ert)</i>	Tert
T	Thymin
$T_m$	Schmelztemperatur
TBAF	Tetrabutylammonium Fluorid

TBTU	O-(1H-Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N,N</i> -tetramethyluronium Tetrafluorborat
TFA	Trifluoroacetic acid (Trifluoressigsäure)
TFE	Trifluorethanol
TFFH	Tetramethylfluorformamidinium Hexafluorphosphat
TOF	Time of Flight (Flugzeit)
tRNA	Transfer RNA (Transfer RNS)
THF	Tetrahydrofuran
U	Uracil
UV	Ultraviolett
VPO	Vapour Pressure Osmometry (Dampfdruckosmose)
<i>vgl.</i>	Vergleiche
wässr.	Wässrig

## Zusammenfassung

Die bislang in unserer Gruppe synthetisierten, partiell geschützten, dimeren oxymethylen-, thiomethylen-, (Z)-ethylen-, ethinyl- und ethylenverknüpften Oligonukleotidanalogen mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs) schliessen alle eine geschützte Riboseeinheit in ihr Verknüpfungselement ein. Für diese ONIBs konnte, mit Ausnahme der ethylenverknüpften Vertreter, die Bildung von zyklischen Duplexen in organischen Lösungsmitteln nachgewiesen werden. In dieser Doktorarbeit galt es zwei Fragen zu beantworten. Zum Ersten: Ist die Paarung von ONIBs an die Gegenwart der Riboseeinheiten gebunden, oder bleiben die Paarungseigenschaften durch Einsatz ribosefreier Verknüpfungselemente erhalten? Zum Zweiten: Ist die Paarung von ONIBs in Wasser möglich? Die Beantwortung der zweiten Frage setzt die Löslichkeit der Oligomeren in wässrigen Medien voraus und erfordert die idealerweise rasche Zugänglichkeit zu längerem Oligomeren. Wir entschieden uns folglich, die bisherigen, von Ribose abgeleiteten Verknüpfungselemente durch ein amidartiges Verknüpfungselement zu ersetzen, was die Synthese der Oligomeren an der festen Phase erlaubt. Eine polare Seitenkette sollte die Wasserlöslichkeit der Oligomeren gewährleisten und gleichzeitig als dirigierende Gruppe eine Konformation begünstigen, die zur Bildung eines zyklischen Duplexes über Basenstapelung und Wasserstoffbrückenbindungen im *Watson-Crick*- bzw. *Hoogsteen*-Modus führt. Neben der autonomen Paarung sollte die Paarung der amidartig verknüpften ONIBs mit komplementärer DNA und RNA getestet werden. Auf der Basis einer Konformationsanalyse entwarf *Fabio de Giacomo* die Strukturen der Hydrazid- und Amidanalogen; ich selbst die Struktur der Thioether/Amidanalogen.

Die Hydrazidanalogen zeichnen sich durch ein kurzes, konformationell vororientiertes Verknüpfungselement aus. Die zwei für eine Assoziation in einem zyklischen Duplex erforderlichen *synklinalen* Konformationen gedachte *Fabio de Giacomo* zum Einen über die Vorzugskonformation um die *N,N*-Bindung und zum Anderen über die an den tetragonalen Stickstoff des Hydrazids gebundene polare Seitenkette zu erreichen. Kleinere, zur Assoziation in einem zyklischen Duplex notwendige, konformationelle Anpassungen sollten vom Energiegewinn durch Wasserstoffbrückenbindungen und Basenstapelung überkompensiert werden. Ein über das *Amber\**-Kraftfeld modelliertes Oktamerer zeichnete sich durch eine doppelhelikale Struktur mit einer kleinen helikalen Windung und einem etwas zu grossen Basenabstand aus.

Die Amidanalogen sollten die Frage beantworten, ob die Seitenkette der Hydrazide zur Bildung eines zyklischen Duplexes notwendig ist. Dazu ersetzte *Fabio de Giacomo* das *N*-unsubstituierte Hydrazid durch eine isostere Peptideinheit. Die Löslichkeit in Wasser sollte, wenn nötig, durch *N*- und *C*-terminale Modifizierungen der Oligomeren mit polaren Aminosäuren gewährleistet werden.

Das Verknüpfungselement der Thioether/Amidanalogen ist länger und flexibler als jenes der Hydrazid- und die Amidanalogen, aber ebenfalls vororientiert. Die Einführung eines Schwefelatoms sollte eine erste *synklinale* Konformation induzieren und zudem energetisch wenig benachteiligte Abweichungen von den Vorzugskonformationen der C(1)–C(2)–S–C(3)- und C(2)–S–C(3)–C(4)-Fragmente zulassen. Die zweite für eine Paarung erforderliche *synklinale* Konformation gedachte ich durch eine an den Schwefel gebundene C(1)-Carboxy-

aminoethylengruppe erreichen zu können. Das aus L-Cystein abgeleitete und somit chirale Verknüpfungselement ermöglicht die Untersuchung der Thioether/Amidanalogen durch CD-Spektroskopie. Ein mit dem *Amber\**-Kraftfeld modelliertes Oktamerer zeichnete sich durch eine linksgängige, doppelhelikale Form und eine grosse helikale Windung aus.

Bei allen drei Klassen der peptidischen ONIBs zeigten Modellstudien eine Abhängigkeit der Basenüberlappung der Oligomeren mit der Basensequenz auf. Diese sollte experimentell durch die Analyse von Oligomeren mit verschiedenen Basensequenzen untersucht werden.

Die für die Festphasensynthese benötigten, von Uracil, Cytosin und Adenin abgeleiteten monomeren Carbonsäuren wurden bei allen drei Projekten aus den an C(6) (Pyrimidine) oder C(8) (Purine) formylierten oder hydroxymethylierten und an N(1) (Pyrimidine) oder N(9) (Purine) alkylierten Vorstufen synthetisiert. Die von Guanin abgeleiteten Monomeren wurden aus 5-Nitroso-6-acylaminopyrimidinen durch einen reduktiven Ringschluss gewonnen. Für die Synthese der Hydrazidanalogen wurden die an C(6) bzw. C(8) hydroxymethylierten Monomeren bromiert, mit Fmoc-Hydrazinoessigsäureethylester substituiert und die Schutzgruppe am C-Terminus entfernt. Die Monomeren der Amidanalogen wurden durch eine *Wittig*-Reaktion der formylierten Vorläufer, Reduktion der erhaltenen Acrylate, Spaltung der terminalen Benzyloxy/Methoxycarbonylgruppen und *Curtius*-Abbau, gefolgt von der Abspaltung der Schutzgruppe des C-Terminus gewonnen. Für die Synthese der Thioether/Amidanalogen substituierte ich die an C(6) bzw. C(8) chlormethylierten Vorläufer mit *N*-Fmoc-L-Cysteinmethylester. Aufgrund der fehlgeschlagenen Festphasensynthese wurden neben den monomeren Carbonsäuren auch die für eine Synthese der Oligomeren in Lösung notwendigen monomeren Amine synthetisiert.

Die wasserlöslichen, selbstkomplementären, hydrazidverknüpften Oktameren  $U_4A_4$ ,  $(A_2U_2)_2$ , die mit einem Essigsäureamid-, bzw. mit einem Essigsäurerest substituierten Analogon zu  $(A_2U_2)_2$  und das nicht-selbstkomplementäre Dekamere  $U_{10}$  gewann ich durch eine Synthese an der festen Phase. Die teilweise geschützten, amidverknüpften Oktameren  $U_4A_4$  und  $C_4G_4$  erhielt ich durch Verknüpfung der *N*- und *C*-Termini mit Lysin- und Asparaginsäureeinheiten partiell geschützt. Aufgrund ihrer Unlöslichkeit in wässrigen Medien konnte ich die vollständig entschützten, amidverknüpften Oktameren nicht isolieren. Die Festphasensynthese der Thioether/Amid-Oktameren gelang nicht. In Lösung liefen die Acylierungsreaktionen dagegen vollständig ab, so dass ich das selbstkomplementäre Oktamere  $U_2C_2G_2A_2$  und das nicht-selbstkomplementäre Oktamere  $U_2C_2U_2C_2$  über eine konvergente Synthese in Lösung synthetisierte.

Die Paarung der wasserlöslichen Hydrazid- und Thioether/Amidanalogen untersuchte ich durch temperaturabhängige UV- und CD-Spektroskopie. Die selbstkomplementären, hydrazidverknüpften Oktameren zeigten keine Stapelung in Wasser und in gepufferten wässrigen Medien. Auch das nicht-selbstkomplementäre Hydrazid-Dekamere zeigte keine Stapelung mit komplementärer DNA und RNA. Für diesen Befund dürften ungünstige konformationelle Eigenschaften, die Starrheit des Verknüpfungselements, und ein grosser Basenabstand verantwortlich sein. Das selbstkomplementäre, thioether/amidverknüpfte Oktamere  $U_2C_2G_2A_2$  dagegen paart in gepufferten wässrigen Medien, und zwar gemäss der Schmelztemperatur ( $T_m = 46.8^\circ$ ) und der freien Enthalpie ( $\Delta G_{298} = -13.4$  kcal/mol) ausserordentlich stark, stärker als die sequenzanalogen DNA- ( $T_m = 31.4^\circ$ ,  $\Delta G_{298} = -8.0$  kcal/mol) und RNA-Oktameren ( $T_m =$



44.9°,  $\Delta G_{298} = -9.8$  kcal/mol). Das nicht-selbstkomplementäre Oktamere  $U_2C_2U_2C_2$  zeigt dagegen keine spezifische Basenpaarung. Die bathochrome Verschiebung der UV-Spektren des selbstkomplementären Oktamers  $U_2C_2G_2A_2$  bei 4° und 80° schreibe ich einer ausgeprägteren Basenstapelung des inneren  $C_2G_2$ -Fragments und einer schwächeren Basenstapelung der C-terminalen  $U_2$ - und N-terminalen  $A_2$ -Fragmente zu. Die temperaturabhängigen CD-Spektren untermauern die Ergebnisse der UV-Analysen, da der starke *Cotton*-Effekt von  $U_2C_2G_2A_2$  bei der Schmelztemperatur abrupt abfällt. Die thermodynamischen Daten und die Selbsterkennung von  $U_2C_2G_2A_2$  lassen auf die Stabilisierung des Assoziats über Wasserstoffbrücken und Basenstapelung schliessen. Mono-, tri- und tetramolekulare Gleichgewichte konnten auf der Basis einer Reihe von UV-Experimenten nahezu sicher ausgeschlossen werden. Das Oktamere  $U_2C_2G_2A_2$  paart demnach in einer doppelhelikalen Form, welche der modellierten Struktur ähnlich sein sollte. Die CD-Daten weisen dabei auf eine grössere Ähnlichkeit mit der A-Form der RNA als mit der B-Form der DNA hin. Aufgrund der Unfähigkeit der (*R*)-konfigurierten Thioether/Amidanalogen in einer rechtsgängigen Helix zu assoziieren, überrascht die fehlende Paarung des nicht-selbstkomplementären Oktamers  $U_2C_2U_2C_2$  mit parallel- und antiparallelkomplementärer DNA und RNA nicht.

Ich zeigte somit in dieser Doktorarbeit, dass die grundlegende Änderung der Architektur von Oligonukleotiden, welche die ONIBs charakterisiert, eine starke Paarung in wässrigen Medien erlaubt.

## Abstract

All partially protected, dimeric oxymethylene-, thiomethylene-, (Z)-ethenylene-, ethynylene-, and ethylene-bridged oligonucleotide analogues with integrated bases and backbone (ONIBs) possess a protected ribose unit in the linking element. With the exception of ethylene-linked analogues, all these ONIBs are capable of forming cyclic duplexes in organic solvents. In this thesis, we aimed at answering two questions: Firstly, does pairing of ONIBs depend on the presence of the ribose units, or do ONIBs still pair when the linker is exchanged for bridging elements that are devoid of the ribose moiety? Secondly, can we design analogues that pair in aqueous solution? To answer the second question requires that the oligomers be soluble in aqueous solution and (ideally) rapid access to longer oligomers. We thus replaced the ribose containing linking elements by amide-type linkers that allow the synthesis of oligomers on the solid phase. A polar side chain was employed to ensure water solubility of the oligomers and to favour a conformation that allows for their association to form a cyclic duplex *via* base stacking and hydrogen-bonding in the *Watson-Crick*- or *Hoogsteen*-mode. Besides targeting autonomous pairing, we wished to test whether the amide-type linked ONIBs pair with complementary DNA and RNA. On the basis of a conformational analysis, *Fabio de Giacomo* designed the structures of hydrazide- and amide-linked ONIBs, whereas I devised the structure of thioether/amide-linked analogues.

The hydrazide linked analogues are characterized by a short, conformationally preorganised linker. Association in a cyclic duplex requires two *synclinal* conformations that *Fabio de Giacomo* assumed to result from the preferred conformation about the *N,N*-bond and the directing effect of a polar side chain, attached to the tetragonal N-atom. Association in a cyclic duplex requires small conformational changes, and we supposed that the energetic cost for these would be overcompensated by the energy gained by base stacking and hydrogen bonding. An energetically minimized octamer (*Amber\**-force field) is characterized by a double helical shape, a small twist angle, and a somewhat too large distance between the planes of the aromatic rings.

The amide-linked analogues were designed to answer the question whether the side chain of the hydrazide-linker is required for pairing and water solubility. *Fabio de Giacomo* thus replaced the *N*-unsubstituted hydrazide by an isosteric peptide-moiety. Water solubility of the oligomers was supposed to be provided by attaching polar amino acids to the *N*- and the *C*-terminus.

The thioether/amide-linker is longer and more flexible than the hydrazide- and amide-linker, but nonetheless preorganized. A sulphur atom was meant to induce a first *synclinal* conformation, and to allow for small conformational changes of the C(1)–C(2)–S–C(3)- und C(2)–S–C(3)–C(4)-fragments. I considered introducing the second *synclinal* conformation *via* a C(1)-carboxy-aminoethylene-group, connected to the sulphur atom. The L-cysteine derived and thus chiral linker allows for the analysis of the association of thioether/amide-analogues by CD-spectroscopy. An energetically minimized octamer (*Amber\**-force field) is characterized by a left-handed, double helical shape and a large twist angle.

Molecular modelling of several dimers suggested a dependence of base stacking on the base sequence for all three classes of amide-type-linked ONIBs. We aimed at experimentally testing this hypothesis by analyzing oligomers with different base sequences.

The uracil-, cytosine-, and adenine-derived monomeric carboxylic acids, required for the solid phase synthesis of oligomers were obtained from the C(6) (pyrimidines) and C(8) (purines) formylated or hydroxymethylated and at N(1) (pyrimidines) and N(9) (purines) alkylated precursors. The guanine-derived monomers were obtained by reductive cyclisation of 5-nitroso-6-acylaminopyrimidines. To access the monomers for the hydrazide-linked analogues, the C(6) or C(8) hydroxymethylated bases were brominated, substituted by Fmoc-hydrazinoacetic acid ethylester and deprotected at the *C*-terminus. The monomers of the amide-linked analogues were obtained by *Wittig* reaction of the formylated precursors, reduction of the acrylates, cleavage of the terminal benzyloxy/methoxycarbonyl-groups, and *Curtius*-degradation, followed by deprotection of the *C*-terminus. For the synthesis of the thioether/amide-analogues, I substituted the C(6) or C(8) chloromethylated precursors with *N*-Fmoc-L-cysteine methylester. Since the solid phase synthesis of oligomers failed under a variety of conditions, I synthesized both the monomeric carboxylic acids and the monomeric amines required for the synthesis of oligomers in solution.

I synthesized the water-soluble, self-complementary, hydrazide-linked octamers  $U_4A_4$ ,  $(A_2U_2)_2$ , its analogues, *N*-substituted by acetic acid amide and acetic residues, and the non-self-complementary decamer  $U_{10}$  on a solid phase. I obtained the partially protected, amide-linked octamers  $U_4A_4$  and  $C_4G_4$  attaching lysine and aspartic acid residues at the *N*- and *C*-terminus. Due to their insolubility in aqueous solution, the fully deprotected octamers, however, could not be isolated in their neutral form. The solid phase synthesis of the thioether/amide-analogues failed. Acylation in solution, however, proceeded rapidly under mild conditions, so that I synthesized the self-complementary octamer  $U_2C_2G_2A_2$  and the non-self-complementary octamer  $U_2C_2U_2C_2$  by a convergent approach in solution.

I tested for pairing of the water soluble, hydrazide- and thioether/amide-linked analogues by temperature dependent UV- and CD-spectroscopy. The self-complementary, hydrazide-linked octamers did not stack in water or buffered aqueous media, and the non-self-complementary decamer did not stack with complementary DNA and RNA. I explain these findings by unfavourable conformational properties, the rigidity of the linker, and the large distance between the aromatic planes. The self-complementary thioether/amide-linked octamer  $U_2C_2G_2A_2$ , however, pairs in buffered, aqueous solution ( $T_m = 46.8^\circ$ ,  $\Delta G_{298} = -13.4$  kcal/mol), and this even more strong than its DNA ( $T_m = 31.4^\circ$ ,  $\Delta G_{298} = -8.0$  kcal/mol) and RNA ( $T_m = 44.9^\circ$ ,  $\Delta G_{298} = -9.8$  kcal/mol) analogues of the same sequence. In contrast, the non-self-complementary thioether/amide-linked octamer  $U_2C_2U_2C_2$  shows no specific pairing. The bathochromic shift of the UV-spectra of the self-complementary octamer  $U_2C_2G_2A_2$  at  $4^\circ$  and at  $80^\circ$  results from a pronounced stacking of the inner  $C_2G_2$ -fragment, and a somewhat weaker stacking of the *C*-terminal  $U_2$ - and the *N*-terminal  $A_2$ -fragments. Temperature dependent CD-spectra confirm the results obtained by UV-analysis, since the strong *Cotton* effect for  $U_2C_2G_2A_2$  disappears instantly at the melting temperature. The thermodynamic data and the self-recognition of  $U_2C_2G_2A_2$  evidence association *via* hydrogen bonding and base pairing. Mono-, tri-, and tetramolecular equilibria can be excluded on the basis of a series of UV-experiments. The oc-

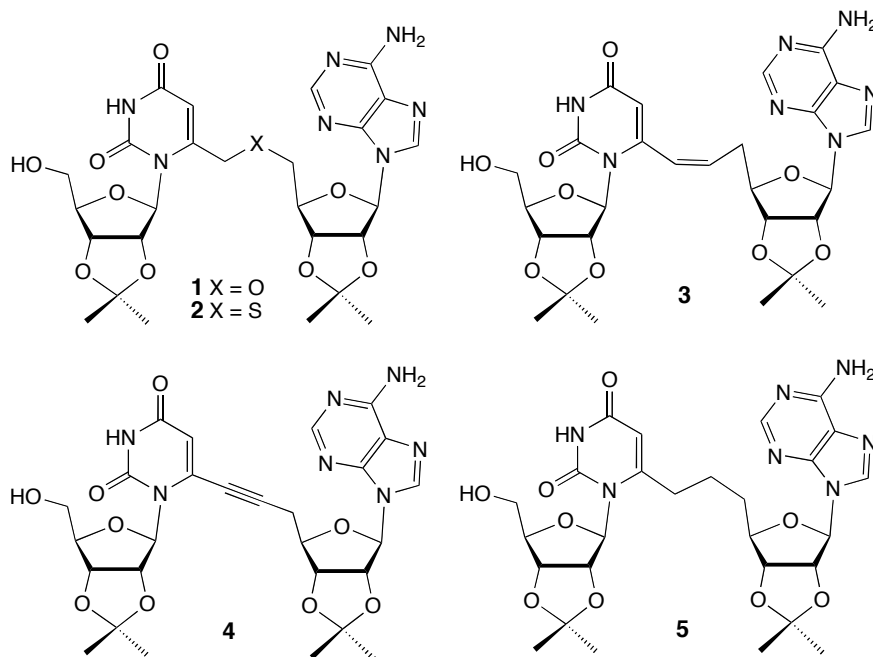
tamer  $U_2C_2G_2A_2$  should thus pair, forming a double helical structure, similar to the one suggested by molecular modelling. The CD-data indicate a closer similarity with the A-form of RNA than with the B-Form of DNA. Due to the inability to associate in a right-handed helix, the absence of pairing of the non-self-complementary octamer  $U_2C_2U_2C_2$  with complementary parallel and antiparallel DNA and RNA is not surprising.

In this doctoral thesis I showed that efficient pairing of oligonucleotides in aqueous solution is compatible with changes in the architecture as embodied in the ONIBs.

## 1. Ziel der Doktorarbeit

Diese Doktorarbeit beschäftigt sich mit der Planung, Synthese und Analyse neuartiger Oligonukleotidanalogue mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs). Die Konstitution der ONIBs unterscheidet sich von derjenigen der natürlichen Nukleinsäuren und deren bekannten Analogen durch die Dedifferenzierung von Nukleobasen und Rückgrat. Beim Strukturentwurf der bisher bekannten ONIBs ging man von Mononukleosiden als Bausteine aus und führte analog zu den Phosphodiesterseinheiten der Nukleinsäuren Elemente ein, die nun aber C(5') des Ribosylrestes mit C(6) der Pyrimidinbasen bzw. C(8) der Purinbasen verknüpfen [1] [2]. Partiiell geschützte, selbstkomplementäre, oxymethylen- [3], thiomethylen- [4], (Z)-ethylen- [5], ethinylen- [6] und ethylenverknüpfte Dimere wurden synthetisiert und in organischen Lösungsmitteln auf ihre Assoziation untersucht (*Abbildung 1*). Mit Ausnahme der von Adenosin und Uridin abgeleiteten ethylenverknüpften Dinukleoside des Typs **5** [7], liess sich durch eine eingehende Konformationsanalyse die Assoziation der Dinukleoside vom Typ **1–4** in organischen Medien unter Bildung zyklischer Duplexe – also ihre Paarung – nachweisen [4].

**Abbildung 1:** Strukturen der bisher untersuchten dimeren ONIBs



In dieser Doktorarbeit galt es die Frage zu beantworten, ob die Ribosylreste, die kein zwingend erforderlicher Bestandteil des Verknüpfungselementes sind, durch andersartige Strukturelemente ersetzt werden können. Des Weiteren soll die Frage beantwortet werden, ob die Architektur der ONIBs, bei geeigneter Wahl des Verknüpfungselements, kompatibel mit einer Paarung in wässrigen Medien ist. Da dies die Zugänglichkeit zu längeren Oligomeren voraussetzt, entschieden wir uns, in Anlehnung an die Strukturen der peptidisch verknüpften Peptidnukleinsäuren (PNAs) [8 – 11], für die Einführung eines amidartigen Verknüpfungselements, was die rasche Synthese von Oligomeren an der festen Phase erlauben sollte. Die Wasserlöslichkeit der Oligomeren war durch die Einführung einer polaren Seitengruppe zu erreichen, die gleichzeitig eine günstige Konformation zur Bildung eines zyklischen Duplexes

herbeiführen sollte. Die Löslichkeit in gepufferten wässrigen Medien ist nicht zuletzt deswegen erwünscht, weil sie die Untersuchung einer Wechselwirkung der peptidisch verknüpften ONIBs mit komplementärer DNA und RNA ermöglicht. Damit galt es mit Hilfe einer Konformationsanalyse die strukturellen Voraussetzungen für die Paarung der peptidischen ONIBs über Basenstapelung und Wasserstoffbrückenbindung im *Watson-Crick*-, oder allenfalls auch im *Hoogsteen*-Modus zu finden. Es sollte auch die Frage beantwortet werden, ob ein eher kurzes, vororientiertes, oder ein eher längeres und flexibles Verknüpfungselement vorteilhaft ist und in welchen Grenzen die Struktur des Verknüpfungselements variiert werden kann. Es galt ausserdem auszuloten, in welcher Weise die Bindungsstärke und die Struktur des Assoziats von der Sequenz abhängt.

Damit setzte sich diese Doktorarbeit das Ziel, wasserlösliche Okta- und Dekamere zu synthetisieren und deren Assoziation zu untersuchen. Auf die Synthese kürzerer Oligomere und deren Analyse in organischen Lösungsmitteln sollte verzichtet werden. Die peptidisch verknüpften ONIB's haben mit den bislang synthetisierten Analogen wohl die grundsätzliche Art der Verknüpfung gemein, ihre Sekundärstrukturen sollten jedoch als Folge ihrer Länge und wegen den strukturegebenden Stapelwechselwirkungen in wässrigen Medien grössere Ähnlichkeit mit den Strukturen der DNA, RNA und PNA aufweisen. Aus diesem Grund werde ich mich in der Einleitung zum grossen Teil mit den Konformationen und Sekundärstrukturen von DNA, RNA und PNA beschäftigen (Kapitel 2.1. und 2.2.). Die in der Einleitung vermittelten Informationen werden sich zur Diskussion der Ergebnisse als unabdingbar erweisen. Ein weiteres Kapitel der Einleitung gilt der Peptid-Festphasensynthese, also der Schlüsselmethode zur Synthese längerer Oligomere (Kapitel 2.3.). Im Falle einer Paarung mit DNA und RNA könnten peptidische ONIBs, ähnlich den PNAs, von biologischem Interesse sein. Das Ende der Einleitung wird sich somit mit den Strukturen und Wirkmechanismen der kurzen *micro-RNAs* (miRNAs) und der kurzen, interferierenden RNAs (siRNAs) beschäftigen (Kapitel 2.4.), gefolgt von einer Beschreibung geeigneter Methoden zur Untersuchung der Paarungseigenschaften von Oligonukleotiden in wässrigen Medien (Kapitel 2.5.). Mein Kollege *Fabio de Giacomo* konzentrierte sich in seiner parallel durchgeführten Doktorarbeit auf die Synthese und Analyse peptidischer Di- und Tetramere und deren Analyse in organischen Medien [12]. Seine Einleitung wird sich daher ausführlich mit der Beschreibung der früher hergestellten di- und tetrameren ONIBs und mit ihren Assoziationseigenschaften in organischen Medien beschäftigen.

## 2. Einleitung

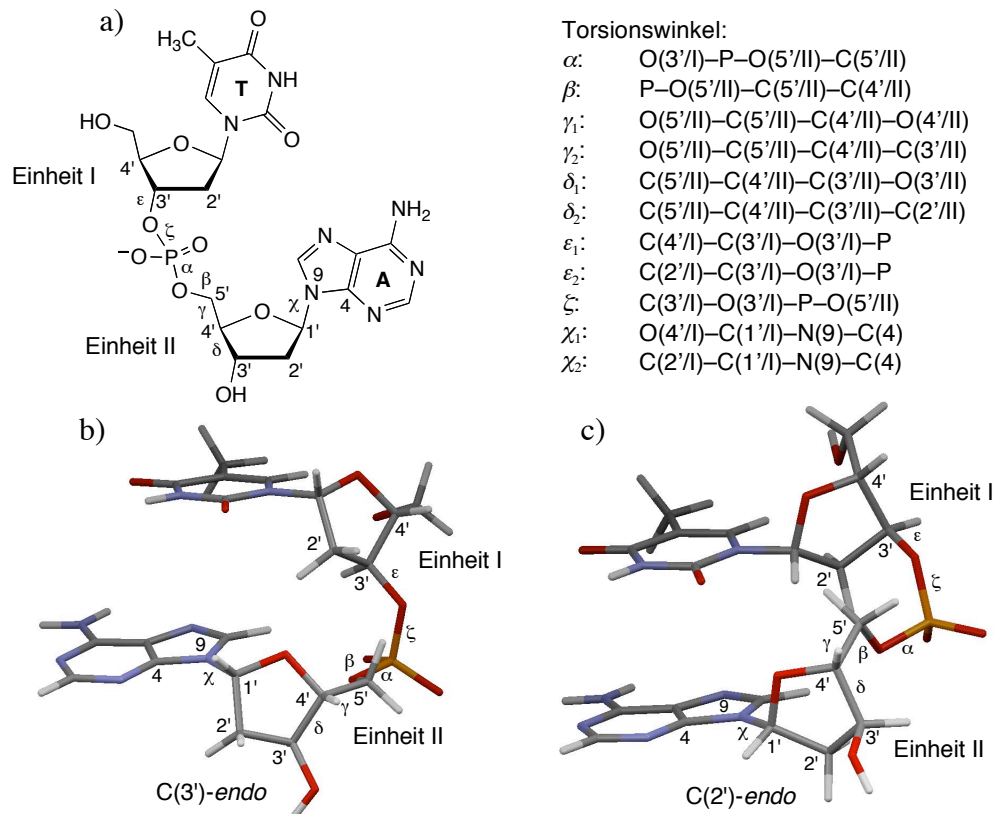
### 2.1. Die Struktur der natürlichen Nucleinsäuren

DNA liegt in Abhängigkeit von der Nucleotidsequenz, der Salzkonzentration, dem Phosphat-Gegenion und dem pH-Wert vorwiegend in der A-, B- oder der Z-Form vor [13] [14]. Neben diesen am häufigsten vorliegenden Strukturen kann DNA ausserdem die Formen A',  $\alpha$ -B',  $\beta$ -B', C, C', D, E und T annehmen. Alle diese Polymorphe haben eine doppelhelikale, antiparallele Anordnung zweier Nucleotidstränge gemein, die durch Stapelung der Nucleobasen und Wasserstoffbrücken im *Watson-Crick*-Modus stabilisiert sind. Eine Doppelhelix kann in der grossen Furche einen durch eine *Hoogsteen*- oder *Inverse-Hoogsteen*-Basenpaarung bindenden dritten Nucleotidstrang einlagern und einen Triplex bilden [15]. Die höchste bekannte Molekularität von DNA wird in Quadruplexen erreicht, welche aus schichtweise angeordneten G-Quartetten (G-Quadruplex) oder interkalierenden Cytidin-Einheiten (i-Motif) aufgebaut sind [14] [16].

#### 2.1.1. DNA-Duplexe: A-, B- und Z-DNA

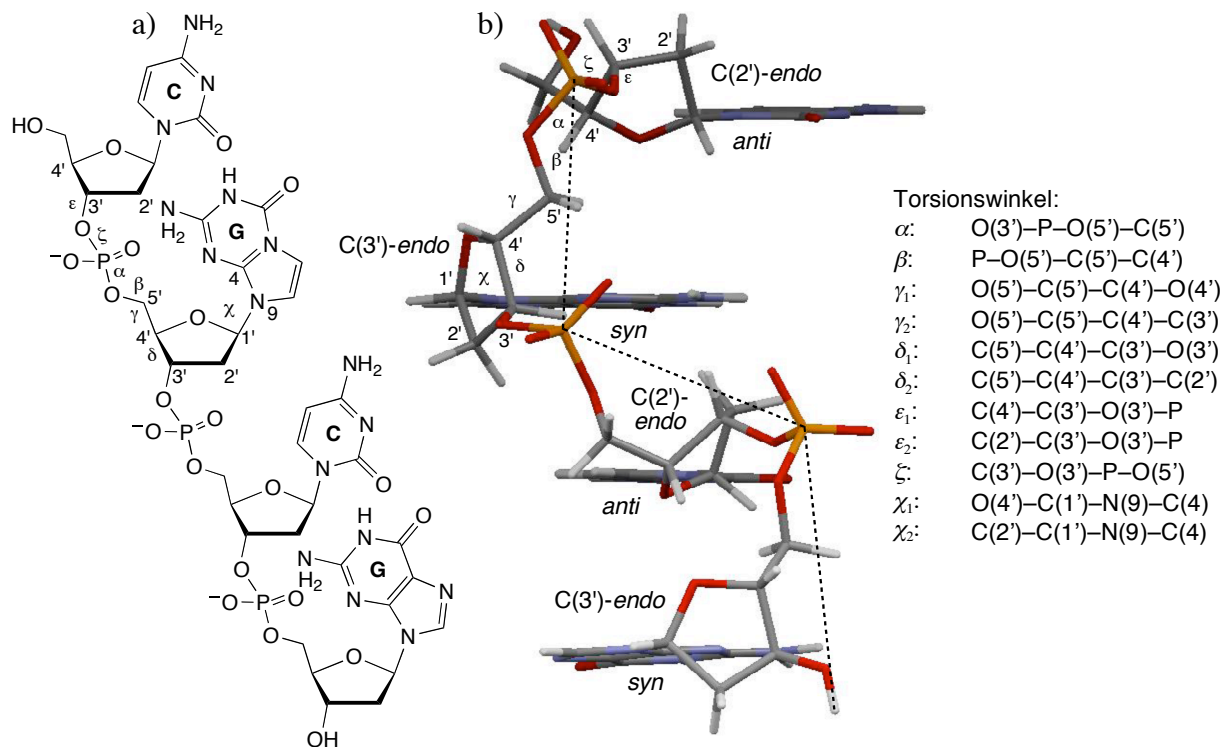
Bei hoher Salzkonzentration ist die hochkristalline, rechtsgängige A-Form bevorzugt. Betrachtet man die Konformationen des Fragments P-O(5'/II)-C(5'/II)-C(4'/II) (Torsionswinkel  $\beta$ ), so steht C(4'/II) *antiperiplanar* zum P-Atom (*Abbildung 2 b*). Die Furanose-Einheiten nehmen eine C(3')-*endo*-, die Nucleobasen eine *anti*-Konformation an. Die Fragmente O(5'/II)-C(5'/II)-C(4'/II)-O(4'/II) und O(5'/II)-C(5'/II)-C(4'/II)-C(3'/II) weisen beide eine *g*-Konformation auf (Torsionswinkel  $\gamma_1$  und  $\gamma_2$ ).

**Abbildung 2:** a) Lokanten und Bezeichnung der Torsionswinkel in einem DNA (TA)-Dinucleotid b) Struktur des Dinucleotids in der A-Form senkrecht zur Helixachse c) Struktur des Dinucleotids in der B-Form senkrecht zur Helixachse



Bei niedrigen Salzkonzentrationen ist die rechtsgängige B-Form bevorzugt. Sie ist die unter physiologischen Bedingungen bevorzugte Sekundärstruktur der DNA. Im Gegensatz zur A-DNA nimmt der Desoxyribose ring eine  $C(2')\text{-endo}$  Konformation ein (Abbildung 2 c). Obgleich die A-DNA und die B-DNA die *anti*-Konformation gemeinsam haben, unterscheiden sich deren Torsionswinkel  $\chi_2$  deutlich voneinander (vgl. A-DNA:  $-170^\circ$  zu B-DNA:  $-95^\circ$ ). Die Z-Form der DNA wird bevorzugt von Oligomeren mit alternierenden  $d(\text{GC})_n$  Sequenzen und bei hohen Salzkonzentrationen angenommen. Der grundlegendste Unterschied zu der A- und der B-Form ist ihre Linksgängigkeit. Die dazu nötige *syn*-Konformation der Nukleobasen kann aufgrund der destabilisierenden sterischen Wechselwirkungen zwischen  $\text{O}=\text{C}(2)$  der Pyrimidine und dem Furanosering nur von den Purinen angenommen werden, was eine Zick-Zack Anordnung des Rückgrats zur Folge hat (Abbildung 3 b).

**Abbildung 3:** a) Lokanten und Torsionswinkel in einem DNA (CGCG)-Tetranukleotid b) Struktur des Tetranukleotids in der Z-Form (Zick-Zack-Anordnung) senkrecht zur Helixachse

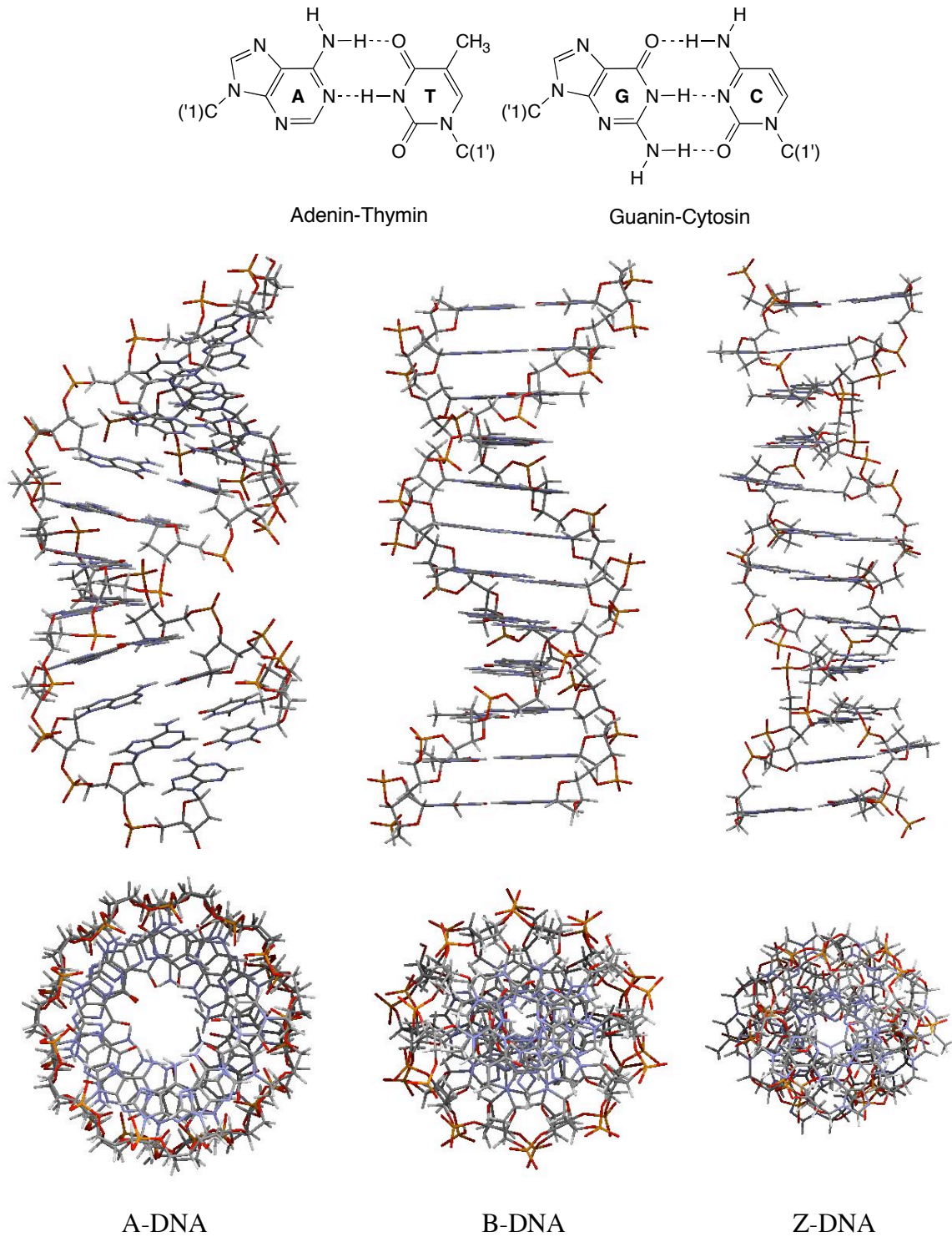


Die Fragmente  $\text{O}(5')\text{-C}(5')\text{-C}(4')\text{-O}(4')$  und  $\text{O}(5')\text{-C}(5')\text{-C}(4')\text{-C}(3')$  der Pyrimidinbasen weisen beide eine *g*-Konformation auf ( $\gamma_1$  und  $\gamma_2$ ), die analogen Fragmente der Purinbasen, im Gegensatz zu A- und B-DNA, eine *g* und eine *t*-Konformation. Die Desoxyribose der Pyrimidine liegt in der  $C(2')\text{-endo}$  Konformation vor; die der Purine in der  $C(3')\text{-endo}$  Konformation. Betrachtet man das Fragment  $\text{P-O}(5')\text{-C}(5')\text{-C}(4')$  (Torsionswinkel  $\beta$ ), so steht  $\text{C}(4')$  annähernd *antiperiplanar* zum P-Atom. Die  $d(\text{GC})$  Einheiten sind um  $-51^\circ$ , die  $d(\text{CG})$  Einheiten um  $-9^\circ$  gegeneinander verdreht ( $-60^\circ$  pro Dimeres). Als Folge davon zeigt  $d(\text{GC})$  reguläre intramolekulare Stapelung, die Cytidineinheit von  $d(\text{CG})$  dagegen eine ungewöhnliche intermolekulare Stapelung, während die Guanidineinheit von  $d(\text{CG})$  gar keine Stapelwechselwirkungen zeigt [13].



Die beschriebenen Konformationen der A-, B- und der Z-Form prägen die helikale Struktur eines Oligonukleotids, wie es sich am Beispiel eines  $U_3(T_3)C_3G_3A_3$  Dodekameren zeigen lässt (Abbildung 4).

**Abbildung 4:** Watson-Crick-Basenpaarung und Struktur der A-, B- und Z-DNA am Beispiel des Dodekameren  $U_3(T_3)C_3G_3A_3$  senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt<sup>1)</sup>



<sup>1)</sup> Modelliert mit Hilfe der Vorlagen in *Macromodel 7.0*.

Die grosse Furche der A-DNA ist eng und tief, die kleine Furche breit und flach. Die Desoxyribose-Einheiten sind parallel zur Helixachse angeordnet und die Phosphat-Gruppen bilden das Rückgrat eines hydrophoben Zylinders. Die Basen sind 4.4–4.9 Å von der Helixachse entfernt. Über eine helikale Windung (*twist angle*) von 31° stapeln 11–12 Basenpaare pro Umdrehung mit einem vertikalen Anstieg pro Basenpaar (*axial rise per residue*), der Ganghöhe, von 2.8 Å. Um den optimalen van der Waals Abstand von 3.4 Å zu erreichen sind die Basen um 16–19° seitwärts geneigt.

Die grosse Furche der B-DNA ist breit und tief, die kleine Furche eng und tief. Die Basen stehen senkrecht zur Helixachse und sind im Gegensatz zur A-DNA nur –0.2 bis 1.8 Å von der Helixachse entfernt (Neigung: –6°). Über eine helikale Windung von 36° vollenden 10–10.4 Basenpaare eine Umdrehung, mit einem vertikalen Anstieg von 3.4 Å pro Basenpaar.

Die grosse Furche der Z-DNA ist flach, die kleine Furche eng und tief. Die Basen sind –2 bis –3 Å von der Helixachse entfernt und, ähnlich wie in der B-DNA, nur leicht geneigt (–7°). Eine vollständige Umdrehung ist bei einer helikalen Windung von 60° pro Basenpaar, nach 12 Basenpaaren erreicht, wobei der vertikale Anstieg 3.7 Å beträgt (7.4 Å pro Dimeres).

Die wichtigsten Helixparameter der A-, B- und Z-DNA sind in der *Tabelle 1* zusammengefasst.

**Tabelle 1:** Wichtigste Helixparameter der A-, B- und Z-DNA [13]

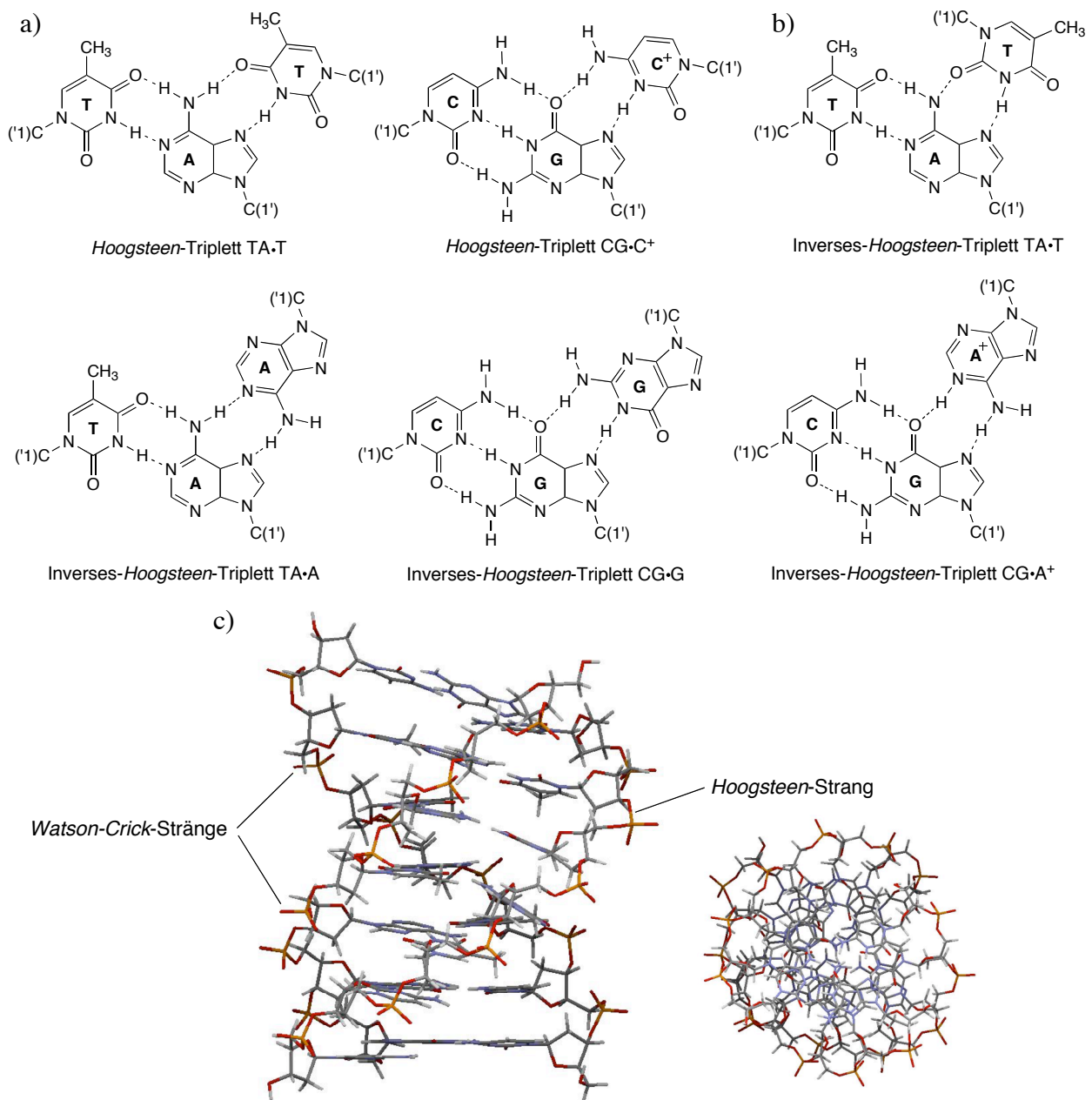
Eigenschaft	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Helikaler Drehsinn	rechts	rechts	links
Basenpaare pro helikaler Windung	11–12	10–10.4	12 (6 Dimere)
Ganghöhe pro Windung	34 Å	34 Å	44 Å
Helikale Windung pro Basenpaar	31°	36°	60° (pro Dimeres)
Ganghöhe pro Nukleotid	2.8 Å	3.4 Å	7.4 Å (pro Dimeres)
Neigung der Basenpaare relativ zur Helixachse	16–19°	–6°	–7°
Konformation des 2-Desoxyribosylrestes	C(3')-endo	C(2')-endo	C(2')-endo (für Pyrimidinnukleotide) C(3')-endo (für Purinnukleotide)
Konformation um die glykosidische Bindung	<i>anti</i>	<i>anti</i>	<i>anti</i> (für Pyrimidinnukleotide) <i>syn</i> (für Purinnukleotide)
Abstand der Basenpaare von der Helixachse	4.4 bis 4.9 Å	–0.2 bis –1.8 Å	–2 bis –3 Å
Abstände benachbarter Phosphate	5.9 Å	7.0 Å	6.4 Å (für Pyrimidinnukleotide) 6.1 Å (für Purinnukleotide)

### 2.1.2. DNA-Triplexe

DNA-Triplexe werden bevorzugt von Polyhomopyrimidin- und Polyhomopurinsträngen gebildet. Ein dritter Homopyrimidinstrang bindet dabei über *Hoogsteen*-Wasserstoffbrücken pa-

rall (Abbildung 5 a), ein dritter Homopurinstrang (mit Ausnahme des TA·T-Tripletts; siehe unten) über Inverse-Hoogsteen-Wasserstoffbrücken antiparallel an einen Homopurinstrang (Abbildung 5 b) eines Watson-Crick gepaarten Homopurin·Homopyrimidin Duplexes [14]. Dabei werden Triplette gebildet, die den Kern einer Tripelhelix bilden (Abbildung 5 c). CG·C<sup>+</sup> und CG·A<sup>+</sup> Triplette bilden sich unter leicht sauren Bedingungen, XY·Y Triplette benötigen zu ihrer Stabilisierung bivalente Metallkationen [15].

**Abbildung 5:** a) Hoogsteen-Triplette XY·X and b) Inverse-Hoogsteen-Triplette XY·Y mit X = Pyrimidinbase und Y = Purinbase c) Ansicht der NMR-Struktur des Triplexes d(CCTATTC)·d(GAATAGG)·d(CTTGTCC) senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt [17]



Ein Triplex kann durch modifizierte Nukleotide zusätzlich stabilisiert werden. 5-Methylcytosin stabilisiert einen Triplex bei neutralem pH, 5-Bromuracil kann anstatt Thymin verwendet werden. Oligoribonukleotide binden stärker als Desoxyribonukleotide an eine B-DNA

Helix; 2'-O-Methylribonukleotide binden nochmals stärker. Neben intermolekularen Triplexen bilden lange Oligonukleotide ausserdem stabile intramolekulare Triplexe [15]. Die wichtigsten Helixparameter von XY·X- und XY·Y-Triplexen im Vergleich zu den DNA-Duplexen der A- und der B-Form sind in der *Tabelle 2* zusammengefasst.

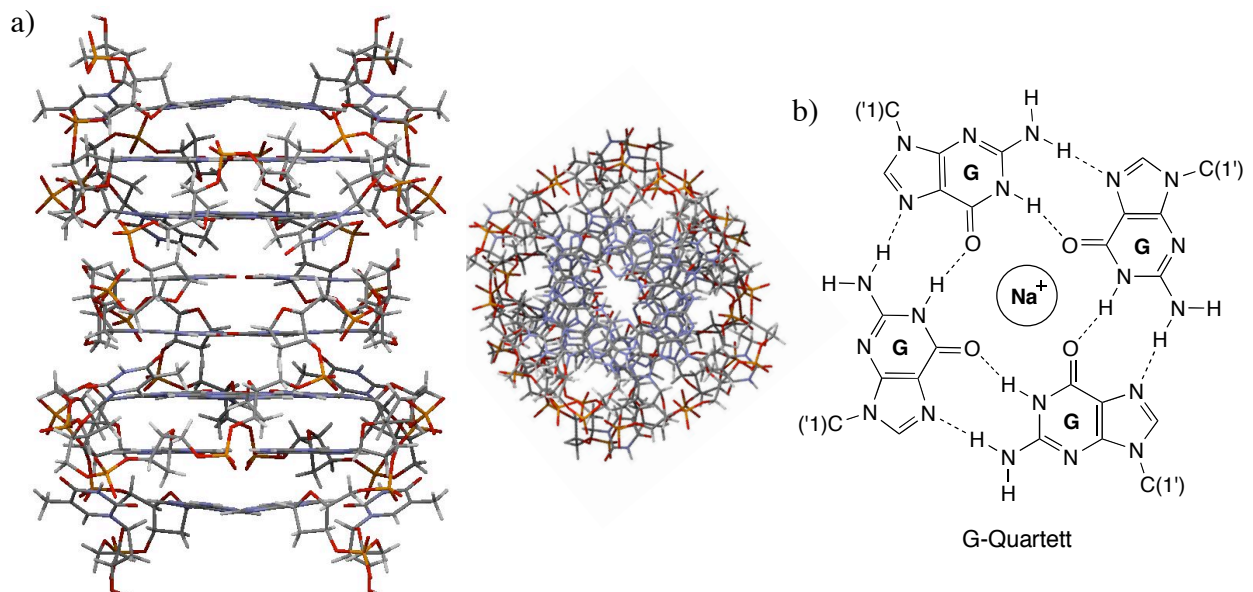
**Tabelle 2:** Wichtigste Helixparameter von XY·X- und XY·Y-Triplexen (bestimmt durch NMR-Spektroskopie) [15]

Eigenschaft	A-DNA	B-DNA	XY·X	XY·Y
Helikaler Drehsinn	rechts	rechts	rechts	rechts
Helikale Windung pro Basenpaar	33°	36°	31°	30°
Ganghöhe pro Nukleotid	2.8 Å	3.4 Å	3.4 Å	3.6 Å
Konformation des 2-Desoxyribosylrestes	C(3')-endo	C(2')-endo	C(2')-endo	C(2')-endo
Konformation um die glykosidische Bindung	<i>anti</i>	<i>anti</i>	<i>anti</i>	<i>anti</i>

### 2.1.3. DNA-Quadruplexe: G-Quadruplex und i-Motif

In guanidinreichen DNA-Sequenzen können sich vier Guanine zu einem planaren, zyklischen G-Quartett zusammenfinden (*Abbildung 6*). Jede Guanineinheit ist dabei über ihre *Watson-Crick-Donor-* und *Hoogsteen-Akzeptorseiten* an vier Wasserstoffbrücken beteiligt. Die O=C(6)-Gruppen der Guanine sind zur Mitte des Quartetts gerichtet und binden koordinativ an ein im Zentrum eingelagertes Kation (*Abbildung 6 b*).

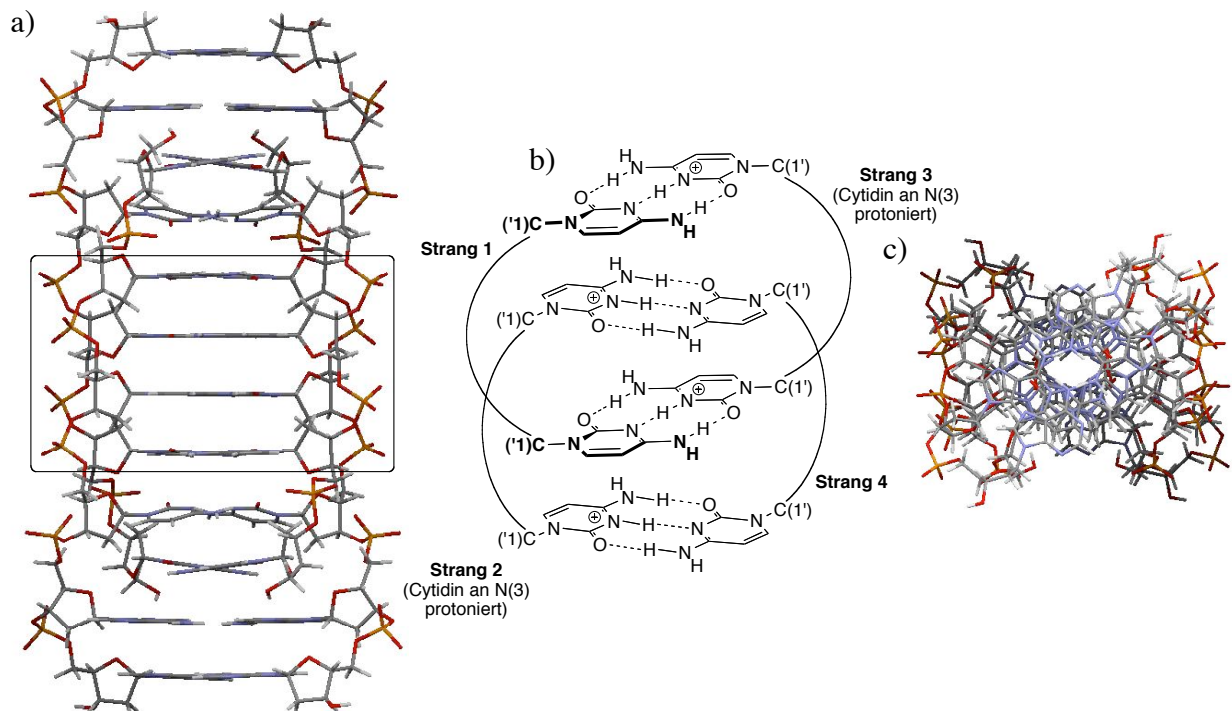
**Abbildung 6:** a) Ansicht eines G-Quadruplexes gezeigt an der NMR-Struktur des Oligonukleotids *d(GCGGTGGT)* in Gegenwart von Na<sup>+</sup>-Ionen senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt [18] b) G-Quartett mit zentral, koordinativ gebundenem Na<sup>+</sup>-Ion



G-Quartette können sich schichtweise zu einem G-Quadruplex zusammenlagern (stapeln), dessen Stabilität von der Gegenwart mono- oder bivalenter Kationen abhängt (K<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, oder

$\text{Na}^+$  (150 mM – 1 M) oder  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ , oder  $\text{Sr}^{2+}$  (> 10 mM) [16]. Es werden alle Strukturen als G-Quadruplexe bezeichnet die aus schichtweise angeordneten G-Quartetten bestehen, also auch mono-, bi-, und trimolekulare Komplexe. Das Oktamere  $d(\text{GCGGTGGT})$  (bimolekular,  $\text{Na}^+$ ) assoziiert in Form eines Quadruplexes mit parallel orientierten Strängen (*Abbildung 6 a*), genauso wie das Hexamere  $d(\text{TG}_4\text{T})$  (tetramolekular,  $\text{Na}^+$ ), das Dodekamere  $d(\text{TAG}_3\text{T}_2\text{AG}_3\text{T})$  (bimolekular,  $\text{K}^+$ ) oder das 22mere  $d(\text{AG}_3(\text{T}_2\text{AG}_3)_3)$  (monomolekular;  $\text{K}^+$ ) [19]. Die meisten der Desoxyribosyl-Einheiten nehmen dabei eine  $\text{C}(2')$ -endo Konformation ein; die Konformation der Nukleobasen ist *anti*. Die Stränge sind rechtsgängig orientiert, mit einer helikalen Windung pro Basenpaar von  $30^\circ$  und einem Anstieg von  $3.1 \text{ \AA}$  zwischen den Ebenen der G-Quartette. Ein Quadruplex ist hauptsächlich über Stapelwechselwirkungen zwischen den G-Quartetten und die interkalierten Kationen stabilisiert, die  $2.7 \text{ \AA}$  von jedem der acht chelatisierenden  $\text{O}=\text{C}(6)$ -Gruppen entfernt sind. Quadruplexe findet man vermehrt an den telomeren Enden der Chromosomen. Sie sind von grosser Bedeutung, da sie die Zelle vor Rekombination und das Erbgut vor dem Abbau durch Nukleasen schützen. Die Telomeren werden bei jeder Zellteilung verkürzt und damit die Lebensdauer einer Zelle beschränkt. Entartete Zellen, die dieser Verkürzung der Telomeren nicht unterliegen, besitzen dagegen eine weitaus längere Lebensdauer, was zu unkontrolliertem Zellwachstum, also einer Krebserkrankung führen kann. Damit stellen die Telomeren ein wichtiges Ziel in der Krebstherapie dar. Ein anderer Quadruplex wird von Cytidin-reichen Sequenzen gebildet und als *i*-Motif bezeichnet (*Abbildung 7*). Im Gegensatz zu den G-Quadruplexen ist diese aus vier DNA-Strängen aufgebaute Struktur nur bei saurem pH-Wert, unter Protonierung jeder zweiten Cytosineinheit stabil [14].

**Abbildung 7:** Ansicht eines *i*-Motifs zeigt an der NMR-Struktur von  $d(\text{CCCCAA})$  a) Struktur senkrecht zur Helixachse b) Schematische Ansicht einer Vergrößerung des *i*-Motifs c) Ansicht des *i*-Motifs von  $d(\text{CCCCAA})$  im Querschnitt [20]



Ein i-Motif besteht aus zwei, antiparallel zueinander angeordneten parallelen Duplexen (**Strang 1-Strang 3** und **Strang 2-Strang 4**), deren Cytosineinheiten gegenseitig interkalieren (*Abbildung 7 b*). In jeweils einem Strang eines parallelen Duplexes sind alle Cytosin-Einheiten protoniert (**Strang 2** und **Strang 3**) wobei ungewöhnliche C·C<sup>+</sup> Basenpaare mit dem jeweils nichtprotonierten, antiparallel verlaufenden Strang des zweiten parallelen Duplexes gebildet werden (**Strang 1** und **Strang 4**). Als Folge davon beobachtet man keine intramolekulare Basenstapelung. Auch die intermolekulare Stapelung ist aufgrund des *ca.* 90°-Winkels zwischen den  $\pi$ -Flächen minimal. Das i-Motiv besitzt eine leichte, rechtsgängige helikale Windung von 12°–20° pro Basenpaar und eine Ganghöhe von etwa 6.2 Å pro kovalent verknüpftem Nukleotid. Die Struktur weist zwei breite und zwei enge Furchen auf. Die Konformation der Desoxyribosylringe ist C(2')-*endo*; die Nukleobasen liegen in der *anti*-Konformation vor.

#### 2.1.4. RNA·DNA-Duplexe und RNA-Duplexe: A- und A'-RNA

Aufgrund des sterischen Anspruchs der C(2')-Hydroxylgruppe und dem ausgeprägteren „anomeren Effekt“ (bevorzugte axiale Lage von N(1/9)) [25] der RNA in der C(3')-*endo* Konformation, ist die A- und die A'-Form für die RNA bevorzugt, während die Z-Form nur sehr selten und die B-Form gar nicht gefunden wird. Die A-Form wird zudem über die Bildung einer H-Brücke zwischen der 2'-Hydroxygruppe und einem Wassermolekül stabilisiert, welches über ein weiteres Wassermolekül eine H-Brücke zu N(3) einer Purinbase bzw. O=C(2) einer Pyrimidinbase eines komplementären RNA- oder DNA-Strangs bildet und damit die kleine Furche der A-Helix überbrückt. Auch aufgrund des grösseren energetischen Beitrags des „*gauche* Effekts“ [21 – 24] ist der Zuckeranteil der RNA wesentlich rigider als jener der DNA.

Bei niedriger Ionenstärke liegt RNA hauptsächlich als rechtsgängige, antiparallele A-RNA Doppelhelix mit 11 Basenpaaren pro Windung vor. Die Riboseeinheiten nehmen eine C(3')-*endo*-; die Nukleobasen eine *anti*-Konformation an. Auch alle anderen Helixparameter sind denen der A-DNA sehr ähnlich (Kapitel 2.1.1., *Tabelle 1*). Bei hoher Salzkonzentration liegt RNA in der A'-Form mit 12 Basenpaaren pro Windung vor. Beide Strukturen zeigen Basenpaarung im *Watson-Crick*-Modus mit einem Abstand der Basenpaare von der Helixachse von 4.4 Å. Die grosse Furche ist eng und tief, die kleine Furche breit und flach.

RNA weist eine weit grössere strukturelle Vielfalt auf als DNA. Natürliche RNA kann lange, doppelsträngige Abschnitte, globuläre Assoziate aus kurzen, doppelsträngigen Fragmenten mit Ausstülpungen und Knicken, oder Haarnadeln bilden [14]. tRNA besitzt ausserdem eine Vielzahl ungewöhnlicher Basenpaare und posttranskriptionell modifizierter Nukleobasen und bildet zudem oftmals Triplexe aus [26].

Heteroassoziate von RNA und DNA nehmen fast ausschliesslich die ihnen gemeinsame A- oder A'-Form an [14]. Bereits der Einbau einer einzigen Ribofuranosylnukleotideinheit in einen 2'-Desoxyribonukleotidstrang kann bewirken, dass der gesamte Duplex die A-Form annimmt. Poly(rA)·Poly(dT) bildet eine A-Helix mit 11 Basenpaaren- und Poly(rI)·Poly(dC) eine A'-Helix mit 12 Basenpaaren pro Windung [27]. Je höher der Desoxypyrimidinanteil im DNA Strang ist, desto stabiler ist das Heteroassoziat mit RNA im Vergleich zum analogen DNA·DNA Duplex. Die grössere Stabilität mancher RNA·DNA Duplexe im Vergleich zu

DNA·DNA Duplexen ist die Basis des „*Antisense DNA*“-Ansatzes, bei dem die mRNA gebunden und damit ihre Translation unterdrückt werden kann (siehe auch Kapitel 2.4.).

## 2.2. Die Struktur der peptidischen Nucleinsäureanaloge

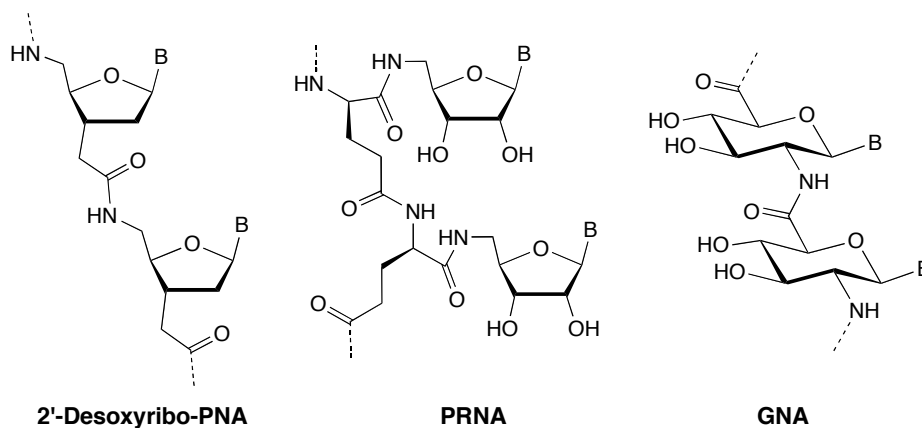
### 2.2.1. Bekannte peptidisch verknüpfte Nucleinsäureanaloge

Dieses Kapitel der Einleitung beschäftigt sich mit vollmodifizierten, peptidisch verknüpften Nucleinsäureanaloge (PNAs); im Speziellen mit deren Sekundärstrukturen. Wie schon im Kapitel 1. erwähnt wurde, werden sich diese Informationen im Rahmen der Diskussion der thioether/amidverknüpften Analoge im Kapitel 5.2.1. als wichtig erweisen. Auf die Beschreibung teilmodifizierter Analoge und DNA- bzw. RNA-Chimären wird aufgrund der Vielzahl untersuchter Strukturen nicht eingegangen.

Vollmodifizierte, peptidische Nucleinsäureanaloge können entsprechend dem Grad der strukturellen Abwandlung ihres Rückgrats in zwei Klassen eingeteilt werden. Die erste Klasse umfasst Analoge, die durch den Austausch der Phosphordiester-Einheiten natürlicher Nucleinsäuren gegen amidartige Strukturelemente erhalten werden oder einen andersartigen Glycosylrest besitzen (**Klasse 1**); die zweite ist durch den Ersatz des gesamten Rückgrats, also der Phosphodiester *und* der Glycosylreste durch ein peptidisches Verknüpfungselement charakterisiert (**Klasse 2**).

Zur **Klasse 1** der vollmodifizierten peptidisch verknüpften Nucleinsäureanaloge zählen die 2'-Desoxyribopolymidnucleinsäuren (*2'-desoxyribo polyamide nucleic acids*, **2'-Desoxyribo-PNAs**), die Peptidribonucleinsäuren (*peptide ribonucleic acids*, **PRNAs**) und die Glycopyranosylnucleinsäuren (*glucopyranosyl nucleic acids*, **GNA**) (*Abbildung 8*).

**Abbildung 8:** Struktur vollmodifizierter peptidisch verknüpfter Nucleinsäureanaloge der **Klasse 1**: **2'-Desoxyribo-PNA**, **PRNA** und **GNA**



Die ersten Arbeiten mit **2'-Desoxyribo-PNA** wurden von *De Mesmaeker et al.* durchgeführt [28]. Er fügte Thymidindimere mit verschiedenen angeordneten Amidgruppen im Ribosyl-Verknüpfungselement durch Phosphoramidit-Festphasensynthese in Oligonucleotidstränge ein und untersuchte deren Paarung mit komplementären Strängen von DNA und RNA. Sowohl die in der *Abbildung 8* abgebildeten 2'-Desoxyribo-PNAs als auch das Analoge mit invertierter Amidbindung [29], zeigten eine ähnlich starke Bindung an komplementäre DNA und RNA wie sie die entsprechenden DNA·DNA- und DNA·RNA-Duplexe kennzeichnet.

Daraufhin synthetisierten *Matt* und *De Mesmaeker et al.* von den Pyrimidinen abgeleitete vollmodifizierte Nukleosidanalogue der 2'-Desoxyribo-PNA [30]. *Matt* und *De Mesmaeker* stellten, im Vergleich zu reinen DNA·DNA- und DNA·RNA-Duplexen, vergleichbare Bindungsaffinitäten eines 2'-Desoxyribo-PNA T<sub>5</sub>(CT)<sub>5</sub> 15meren mit den komplementären Strängen von DNA und RNA fest. Der Unterschied der Schmelztemperaturen von 2'-Desoxyribo-PNA·DNA im Vergleich zu DNA·DNA ( $\Delta T_m$ ) beträgt  $-3^\circ$ , der von 2'-Desoxyribo-PNA·RNA im Vergleich zu RNA·RNA  $-6^\circ$ . Die Fehlpaarung eines Basenpaars resultierte in einer Schmelztemperatureniedrigung von  $11.4^\circ$ , sehr ähnlich zu jener eines entsprechenden DNA·DNA-Duplexes ( $10.4^\circ$ ).

*Wada, Inoue et al.* untersuchten die Eigenschaften der **PRNAs** [31]. Diese Gruppe zeigte, dass ein U<sub>8</sub> und ein (UC)<sub>4</sub> Oktamer von PRNA in einem Na-Phosphatpuffer stärker mit komplementärer DNA paart als die entsprechende sequenzanalogue RNA mit DNA ( $\Delta T_m = 8^\circ$ ). Wurde allerdings anstatt des Na-Phosphatpuffers ein Boratpuffer verwendet, beobachteten sie keine Paarung der PRNA mit DNA, während die Schmelztemperatur des DNA·RNA-Assoziats in Gegenwart des Boratpuffers sogar leicht anstieg. Die Autoren wiesen NMR-spektroskopisch nach, dass die 2',3'-Glykoleinheiten des PRNA-Oktameren in cyclische Boratester übergeführt wurden. Die dadurch induzierte Konformation begünstigt eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen H-N(5') und O=C(2) von Uracil bzw. Cytosin, wodurch die von den Pyrimidinen abgeleiteten Nukleobasen von der *anti*- in die *syn*-Konformation gezwungen werden und folglich eine Basenstapelung verhindert wird.

*Goodnow et al.* beschäftigten sich mit der **GNA** [32]. Die Struktur weist anstatt einer Furanosyl- eine Glucopyranosyl-Einheit auf und zeichnet sich durch ihre Vororientierung und konformationelle Starrheit aus. Dekamere und 13mere unterschiedlicher Sequenz binden im Vergleich zu den entsprechenden DNA·DNA- und DNA·RNA-Duplexen in paralleler und in antiparalleler Anordnung mit ähnlicher oder leicht erhöhter Affinität an komplementäre DNA und RNA. Eine einzelne Fehlpaarung resultiert in einer Schmelztemperatureniedrigung von  $4.6\text{--}10.9^\circ$ , womit die GNA-Analogen eine vergleichbare Selektivität wie DNA und RNA aufweisen. Aufgrund ihrer im Vergleich zur PNA (siehe weiter unten) besseren Löslicheitseigenschaften, ist eine Anwendung der GNAs im Bereich der „Antigen“- oder „Antisense-Therapie“ möglich.

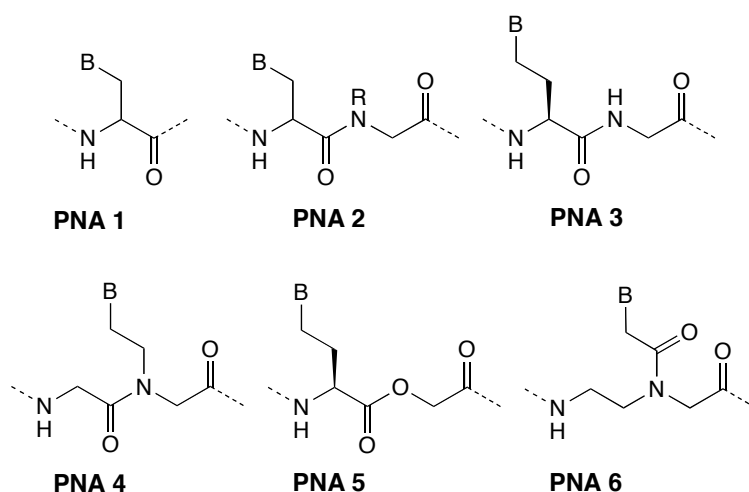
Die ersten Untersuchungen von Nukleinsäureanalogen der **Klasse 2**, den Peptidnukleinsäuren (PNAs), reichen über 30 Jahre zurück. *Jones et al.* untersuchten Oligomere des Strukturtyps der **PNA 1** (*Abbildung 9*) in welchen die Nukleobasen an die  $\beta$ -Position von Alanin gebunden sind (B = Thymin, 9-20mere) [33] [34]. *Jones* beobachtete jedoch weder Selbstassoziation der PNA 1, noch Wechselwirkungen mit Desoxyribonukleinsäure. *Weller et al.* schlugen auf der Basis von Modellierungen vor, dass **PNA 2** eher geeignet sein sollte mit DNA zu paaren [35]. Jedoch zeigte die PNA 2 mit B = Uracil und R = H oder R = Me keine Wechselwirkung mit Oligodesoxyadenosylsäure [34]. Mit dem Ziel einer Erhöhung der konformationellen Flexibilität der PNAs verlängerten *Taddei et al.* die an das N-Atom der Amidgruppe geknüpfte Methylengruppe um eine weitere Methyleneinheit (**PNA 3**). Es wurden jedoch keine Bindungsstudien der resultierenden,  $\gamma$ -substituierten Oligohomoalanine veröffentlicht [36]. Auch Oligomere des Typs **PNA 4** von *Almarsson et al.* zeigten keine Stapelwechselwirkungen mit DNA [37]. Die Untersuchung der Depsipeptide des Typs **PNA 5** war aufgrund der schnellen



Hydrolyse der Estergruppen in wässrigen Medien nicht möglich [34]. Die negativen Ergebnisse der Bindungsstudien der PNAs 1–5 werden auf mangelnde Flexibilität des jeweiligen Polypeptidrückgrats zurückgeführt. Die Idee zur Synthese und Analyse des ersten assoziierenden, vollständig modifizierten, peptidischen Nukleosidanalogen stammt vom organischen Chemiker *Ole Buchardt* und dem Biochemiker *Peter Nielsen*. Erste Oligopyrimidin-Oligomere des Strukturtyps **PNA 6** wurden erstmals 1991 von *Nielsen et al.* [38] untersucht. Bei diesen Analogon ist das natürliche Desoxyribosylphosphat-Rückgrat von DNA durch N-(2-Aminoethyl)glycin-Einheiten ersetzt. Die Nukleobasen sind über Methylencarbonyl-Gruppen an den Stickstoff des Glycins gebunden.

Die aussergewöhnlichen Eigenschaften der PNA (siehe weiter unten) machte sie zum Ziel extensiver struktureller Modifikationen. Aufgrund der sehr grossen Vielfalt der inzwischen untersuchten PNA-Analogen mit alternativem Rückgrat, modifizierten Basen, sowie der Synthese und Analyse von PNA·DNA-, PNA·RNA- und PNA·Peptid-Chimären [39] [11] wird sich diese Einleitung fast ausschliesslich auf die Beschreibung der Sekundärstrukturen von **PNAs** des Strukturtyps **6** beschränken müssen.

**Abbildung 9:** Struktur vollmodifizierter peptidisch verknüpfte Nukleosidanalogue der *Klasse 2*



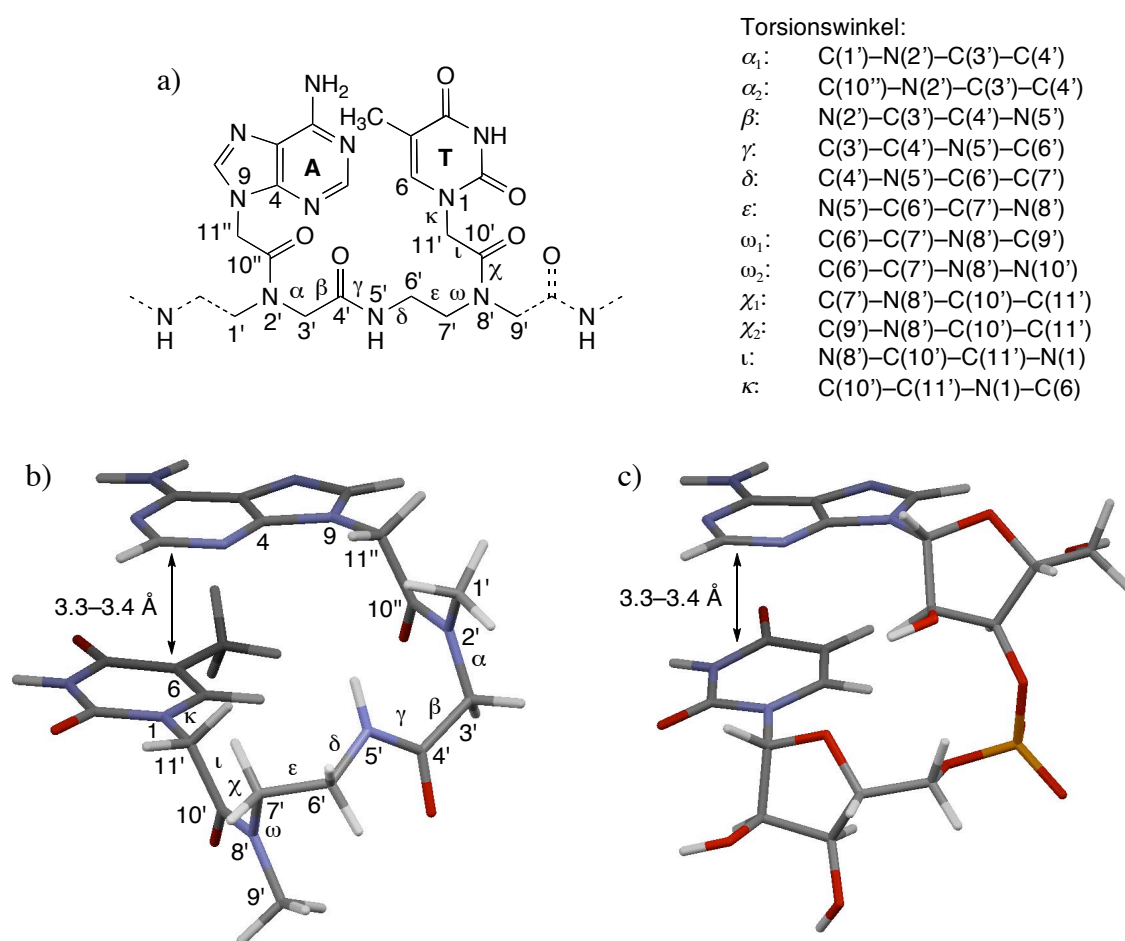
Der Austausch des Desoxyribosylphosphat- durch ein Pseudopeptid-Rückgrat bringt einige Vorteile mit sich. PNAs können, genauso wie DNA und RNA, mittels zeitsparender automatisierter Festphasensynthese hergestellt werden. PNA ist neutral, wodurch eine elektrostatische Abstossung zweier assoziierter Stränge vermieden wird. Des Weiteren ist PNA achiral, was die Synthese vereinfacht und die Heteroassoziation mit der linksgängigen Z-DNA erlaubt. Sowohl unter stark sauren als auch unter basischen Bedingungen und bei hohen Temperaturen bleibt die Struktur der PNA intakt. Ihr Peptidrückgrat verleiht der PNA zudem Stabilität gegen Nukleasen. Auch Proteasen bauen PNA nicht ab [40]. PNA assoziiert sequenzspezifischer als DNA und RNA, d.h. ihre Schmelztemperatur sinkt bei einer Fehlpaarung im Vergleich zu DNA und RNA stärker. Die Bindungsstärke von PNA ist zudem nur wenig abhängig von der Ionenkonzentration, während die thermische Stabilität von DNA- und RNA-Duplexen mit steigender Salzkonzentration steigt [41]. Als Nachteil ist die schlechte Wasserlöslichkeit von PNA-Oligomeren zu benennen, die mit steigender Länge und steigendem Purin/Pyrimidin-

Verhältnis weiter sinkt [10]. Die C-terminale Einführung einer polaren Gruppe kann die Löslichkeit erhöhen [42] ( $T_{10}$ -Lys ist bis zu einer Konzentration von 1.5 mM wasserlöslich). Der Ersatz von Glycin im PNA-Rückgrat durch Aminosäuren mit polaren Seitenketten (z.B. Lysin) [43] führt, ohne Verlust der Bindungsstärke, ebenfalls zu besseren Lösungseigenschaften. In PNA-DNA-Chimären wird eine erhöhte Löslichkeit durch die negative Ladung der Phosphat-Gruppen des DNA-Strangs bewirkt [44]. PNAs können Zellmembranen schlecht durchdringen, was ihren Einsatz als „Antigen“- oder „Antisense-Wirkstoffe“ stark einschränkt [45 – 47]. Terminal modifizierte PNAs werden zwar schneller von Zellen aufgenommen, allerdings hängt die Aufnahme stark von der Zelllinie und von der PNA-Sequenz ab [48]. In natürlichen Systemen ist zudem die Bildung von Triplexen mit DNA·DNA Duplexen (Kapitel 2.2.5.) gemäss dem „Antigen-Ansatz“ [44] auf guanidinarme Sequenzen beschränkt, da unter physiologischen Bedingungen die notwendige Protonierung von Cytidin nicht erfolgt (Kapitel 2.1.2.). PNA bildet bemerkenswert starke helikale PNA·PNA-Assoziate. Sie assoziiert ausserdem stark mit DNA und noch stärker mit RNA. Aufgrund ihrer Neutralität und der günstigen Vororientierung und Flexibilität ihres Rückgrats bildet PNA ausserdem stabile Triplexe vom Typ  $(PNA)_2 \cdot DNA$  und in seltenen Fällen vom Typ  $PNA \cdot (DNA)_2$ . In allen Fällen befolgt PNA dabei die *Watson-Crick*-Basenpaarregeln; in Triplexen komplettiert der dritte Strang über *Hoogsteen*- oder *Inverse-Hoogsteen*-Basenpaarung das Triplet. Das *N*-terminale Ende der PNA entspricht dabei definitionsgemäss dem 5'-Ende der DNA, das *C*-terminale dem 3'-Ende.

### 2.2.2. Die Konformation der PNA

Beim Strukturentwurf der PNA wurde die Konformation der natürlichen Nucleinsäuren nachgeahmt (vgl. *Abbildung 10 b*) mit *c*). Eine dimere Einheit der PNA weist im Rückgrat eine *N*-monosubstituierte Amidgruppe in der (*Z*)-Konformation und zwei *N,N*-disubstituierte Amidgruppen auf, wobei letztere die Verknüpfung des Rückgrats mit den Nucleobasen herstellen (*Abbildung 10 a*). Jede der drei Amidgruppen des Dimeren induziert über die angrenzende  $CH_2-NH$ -Bindung einen  $90^\circ$ -Knick (Torsionswinkel  $\alpha$ ,  $\delta$  und  $\omega$ ), welche zusammen mit der *synklinalen* Anordnung der Substituenten  $N(5')$  und  $N(8')$  (Torsionswinkel  $\epsilon$ ) die Basen in einen optimalen Abstand (3.4–3.3 Å) voneinander und in die richtige Anordnung für die Wasserstoffbrückenbindungen vom *Watson-Crick*-Typ bringen. Die Torsionswinkel  $\kappa$  und  $\iota$  nehmen bevorzugt Werte von  $\pm 90$  und  $180^\circ$  an. Die Carbonylgruppen der Amidbindungen  $N(2')-CO(10'')$  und  $N(8')-CO(10')$  zeigen in Richtung der Nucleobasen. Konformationelle Anpassungen durch Drehung um die C–N-Bindungen ( $N(2')-C(3')$ ,  $N(5')-C(6')$  und  $N(7')-C(8')$ ) sind nur wenig energieaufwendig und verleihen dem Rückgrat der PNA, in Kombination mit dessen Länge (11 Atome) ausreichende Flexibilität. PNA kann aus diesem Grund verschiedene Strukturen bilden und, je nach Bedarf, 12–18 Basenpaare pro Windung in eine Helix einschliessen (Kapitel 2.2.3–2.2.5)

**Abbildung 10:** a) Lokanten und Bezeichnung<sup>2)</sup> der Torsionswinkel in einem PNA (AT)-Dimeren b) Struktur des Dimeren senkrecht zur Helixachse c) Struktur eines RNA (AU)-Dimeren in der A-Form senkrecht zur Helixachse



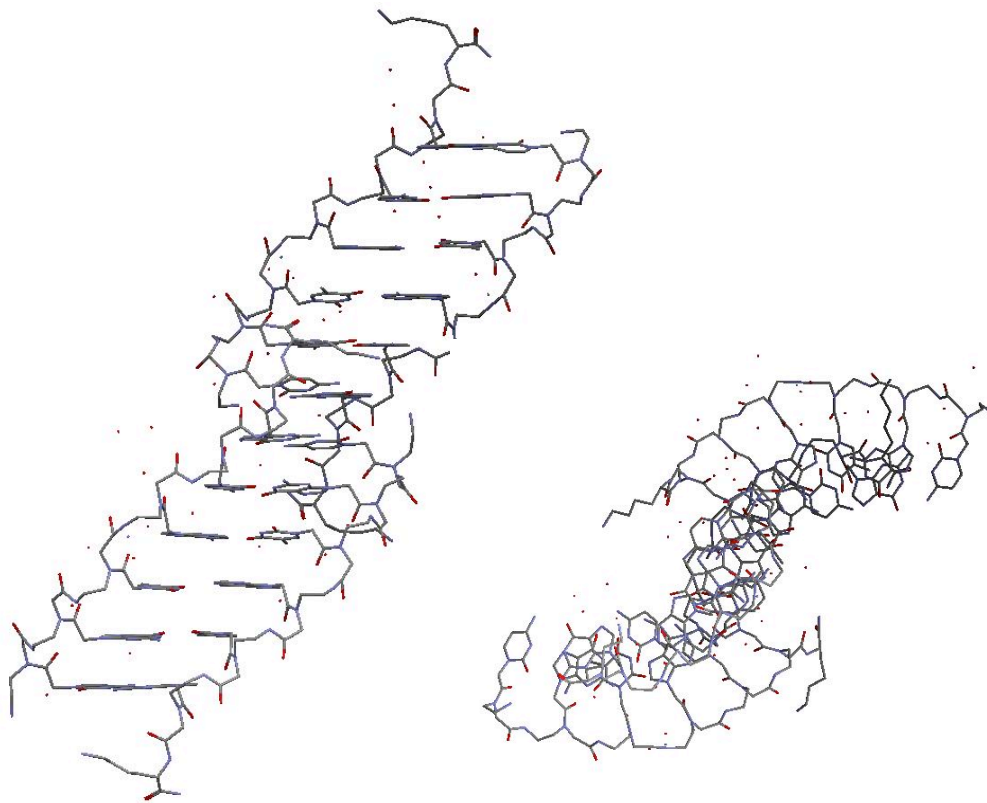
### 2.2.3. PNA·PNA-Duplexe

Komplementäre PNA bildet stabile PNA·PNA-Duplexe, wobei solche mit antiparalleler Anordnung der Stränge stabiler sind als solche mit paralleler Anordnung. Der Duplex aus dem PNA-Dekameren GTAGTCACT-(L)-Lys und seinem komplementären, antiparallelen PNA-Dekameren AGTGATCTAC-(L)-Lys schmilzt bei 67°, wogegen die Schmelztemperatur des entsprechenden parallelen PNA·PNA-Duplexes bei 46° liegt. Der sequenzgleiche, antiparallele PNA·DNA-Duplex schmilzt bei 51°; der antiparallele DNA·DNA-Duplex bei 34° [49]. Das chirale, terminale L-Lysin erlaubt die Untersuchung der PNA-Duplexe durch CD-Spektroskopie. Das CD-Spektrum des antiparallelen PNA·PNA-Duplexes zeigt dabei Ähnlichkeit mit dem des antiparallelen DNA·DNA-Duplexes und gibt somit einen Hinweis auf die Assoziation des PNA·PNA-Duplexes in der B-Form. Durch den Ersatz von L-Lysin durch D-Lysin wird die Helizität des Duplexes umgekehrt, was zu einem spiegelbildlich verkehrten CD-Spektrum führt [49].

<sup>2)</sup> Die willkürliche Nummerierung und Benennung der Torsionswinkel des PNA-Verknüpfungselements soll die Diskussion vereinfachen.

Im Kristall des Hexameren CGTACG-(L)-Lys wird eine Mischung von rechts- und linksgängigen Helices beobachtet, die jeweils *N*- und *C*-terminal miteinander stapeln und so kontinuierliche Pseudohelices bilden [50] (*Abbildung 11*). Die Kristallstruktur ähnelt dabei jener von nicht modifizierten PNA·PNA-Duplexen [51]. Die komplementären Nukleobasen paaren im *Watson-Crick*-Modus und sind mit einem Abstand von 3.4 Å senkrecht zur Helixachse angeordnet. Eine Windung umfasst 18 Basenpaare (vgl. A-DNA: 11-, B-DNA: 10 Basenpaare). Die Helix besitzt eine weite und tiefe grosse- und eine enge und flache kleine Furche. Die Aminogruppen der Lysin-Seitenketten bilden keine Wasserstoffbrücken (ausser zu Wasser). Die Konformation des Rückgrats entspricht derjenigen der *Abbildung 10 b*). Die Struktur zeigt damit Ähnlichkeit mit der P-Form eines (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexes (siehe unten) [52].

**Abbildung 11:** Kristallstruktur eines PNA·PNA-Duplexes [50] senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt



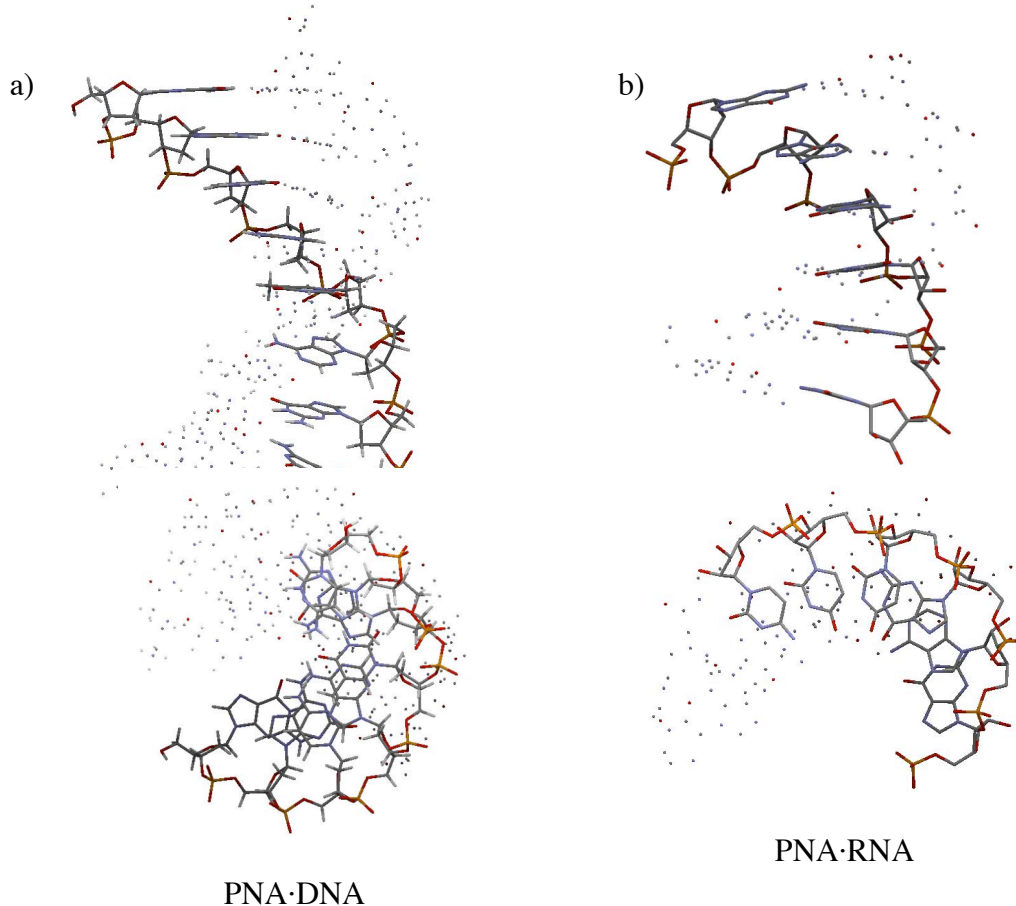
#### 2.2.4. PNA·DNA- und PNA·RNA-Duplexe

PNA bildet unter Einhaltung der *Watson-Crick*-Regeln starke Duplexe mit komplementärer DNA und RNA. Im Gegensatz zu DNA-Duplexen kann PNA sowohl parallel als auch antiparallel an komplementäre DNA oder RNA binden [53] [44], wobei antiparallele Duplexe stabiler sind. Das 15mere TGTACGTCACA ACTA weist in einem DNA·DNA-Duplex mit seinem komplementären antiparallelen Strang einen  $T_m$ -Wert von 53.3° auf; der analoge RNA·RNA Duplex schmilzt bei 50.6°. Die entsprechenden antiparallelen PNA·DNA- und PNA·RNA-Duplexe schmelzen bei 69.5° bzw. 72.3°, die parallelen bei 56.1° bzw. 51.2°. Im Durchschnitt sind die Schmelztemperaturen der Heteroassoziate von PNA und DNA um etwa 1°, die von PNA und RNA um etwa 1.5° pro Basenpaar höher als jene der entsprechenden DNA·DNA- und RNA·RNA-Assoziante. Kinetische Untersuchungen zeigen, dass sich antiparallele Duplexe

in weniger als 30 s zusammenfinden, wohingegen sich parallele Duplexe erst im Verlaufe von einigen Stunden bilden [54]. Die Schmelztemperatur von DNA·DNA-Duplexen steigt mit zunehmender Salzkonzentration (0.01 → 0.5 M:  $\Delta T = 20^\circ$  für ein Dekamer) [41], jene von PNA·DNA-Duplexen sinkt dagegen leicht ( $\Delta T = 8^\circ$  für ein Dekamer) [55]. Die steigende thermische Stabilität von DNA·DNA Duplexen mit steigender Salzkonzentration wird mit der Abschirmung der negativen Ladungen der Phosphat-Anionen und der daraus resultierenden verminderten elektrostatischen Abstoßung der assoziierten Stränge erklärt [41]. Aufgrund attraktiver Wechselwirkungen des negativ geladenen Phosphatrückgrats der DNA oder der RNA mit der positiv geladenen Ammoniumgruppe der Seitenkette stabilisiert der Ersatz von Glycin durch D-Lysin im PNA-Rückgrat den Duplex, wohingegen Aminosäuren mit negativ geladenen Seitenketten, wie D-Glutaminsäure, den Duplex aufgrund von repulsiven Wechselwirkungen destabilisieren. Die Substitution des Glycins mit ungeladenen Aminosäuren, wie D-Alanin oder D-Serin, lässt die Bindungsstärke unverändert [56].

Das PNA-Oktamere GCTATGTC bildet mit komplementärer DNA einen antiparallelen PNA·DNA-Duplex [57] (*Abbildung 12 a*).

**Abbildung 12:** a) NMR-Struktur eines PNA·DNA-Duplexes [59] b) NMR-Struktur eines PNA·RNA-Duplexes [60] senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt



Eine NMR-Struktur dieses Oktameren zeigt gleichzeitig Elemente einer A-Helix (seitlich geneigte Basen) und einer B-Helix (Form der Helix, Ganghöhe pro Nukleotid) und schliesst 13 Basenpaare pro Windung ein. Die grosse Furche ist tief, die kleine eng und flach. Die Basen-

stapelung ist nicht homogen und variiert mit der Sequenz. Die *N*-monosubstituierten Amidgruppen des PNA-Rückgrats liegen in der (*Z*)-Konformation vor. Die Carbonylgruppen O=C(4') zeigen, mit wenigen Ausnahmen, in Richtung des Lösungsmittels; O=C(10') und O=C(10'') in Richtung des *C*-Terminus. Es werden keine Wasserstoffbrücken zwischen Carbonyl- und Aminogruppen im Rückgrat beobachtet. Die Desoxyribose-Einheiten des DNA-Strangs liegen, ähnlich wie in der B-Form, in der C(2')-*endo*, die Nukleobasen in der *anti*-Konformation vor. Auch andere NMR-spektroskopisch untersuchte PNA·DNA-Duplexe sind der B-Form sehr ähnlich [58]. Auch die CD-Daten von antiparallelen PNA·DNA-Duplexen geben Hinweise auf rechtsgängige Helices der A- oder der B-Form [58] [53]; die CD-Daten paralleler PNA·DNA-Duplexe sind dagegen von jenen der A- und der B-Form grundlegend verschieden.

Strukturelle Informationen über PNA·RNA-Duplexe wurden ebenfalls durch NMR-spektroskopische Methoden erhalten [60] (*Abbildung 12 b*). Neben *Watson-Crick* Wasserstoffbrücken wurde im RNA-Strang eine *anti*-Konformation der Nukleobasen und eine 3'-*endo*-Konformation der Ribose nachgewiesen, was auf eine A-Form des RNA-Strangs hindeutet. Die *N*-monosubstituierten Amidgruppen des PNA-Strangs liegen in der (*Z*)-Konformation vor und es werden keine Wasserstoffbrücken der *N,N*-disubstituierten Amide (ausser mit Wasser) beobachtet. CD-Spektren antiparalleler PNA·RNA-Duplexe weisen auf rechtsgängige Helices in der A-Form hin.

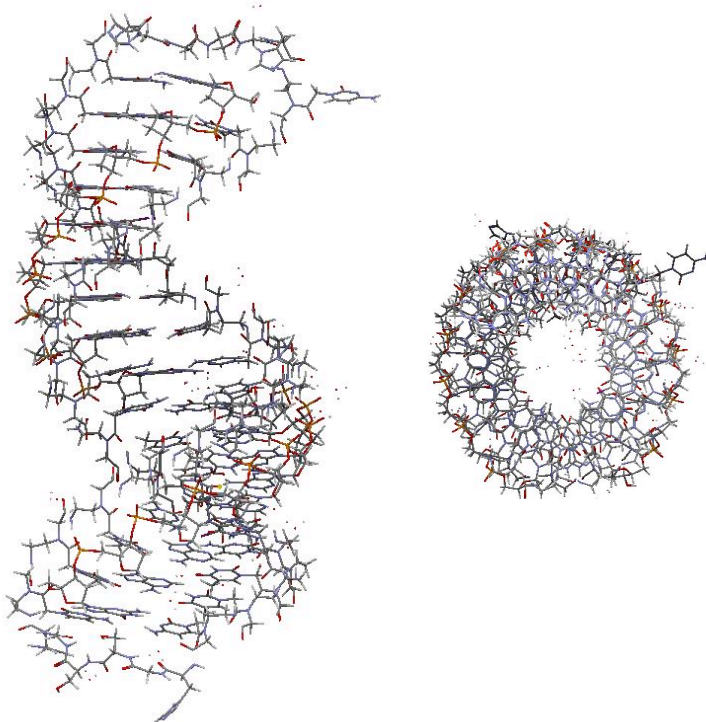
### 2.2.5. (PNA)<sub>2</sub>·DNA-, (PNA)<sub>2</sub>·RNA- und Bis(PNA)·DNA-Triplexe

PNA-Oligomere mit hohem Pyrimidin/Purin-Verhältnis bilden mit komplementärer DNA ungewöhnlich stabile (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexe [38]. Nur im Falle Cytosin-reicher PNAs und Guanidin-reicher DNAs beobachtet man auch PNA·(DNA)<sub>2</sub>-Triplexe. Im Gegensatz zu (DNA)<sub>3</sub>-Triplexen werden (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexe nicht mit Homopurin-PNAs gebildet [61]. Als Beispiel für die Stabilität von (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexen sei ((T)<sub>10</sub>)<sub>2</sub>·(dA)<sub>10</sub> genannt. Dieser Triplex schmilzt bei 73°, wohingegen der DNA-Duplex (dT)<sub>10</sub>·(dA)<sub>10</sub>, unter denselben Bedingungen bei 23° schmilzt. Für (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexe werden charakteristisch grosse Hysteresen von bis zu 30° in den UV-Schmelzprofilen beobachtet, was einen Hinweis auf die langsame Kinetik der Triplexbildung gibt [62]. Ein Fehlpaarung resultiert in einer Erniedrigung der Schmelztemperatur um 14–25° [9]. Kinetische Untersuchungen zeigen, dass sowohl die Bindungsstärke, als auch die Sequenzspezifität kinetisch kontrolliert sind und die Selektivität hauptsächlich vom *Watson-Crick* gepaarten PNA·DNA Duplex bestimmt wird [63]. Die Schmelztemperatur von Cytosin-haltigen Triplexen ist pH abhängig [9] (Kapitel 2.1.2.; *Abbildung 5*; CG·C<sup>+</sup> Triplet) und besitzt bei pH 5 die grösste Stabilität. Beim Austausch von Cytosin durch Pseudoisocytosin bleibt die Stabilität des Triplexes aufgrund der nicht erforderlichen Protonierung pH-unabhängig [64]. Wenn zwei identische Homopyrimidin-Stränge für die Bildung eines (PNA)<sub>2</sub>·DNA-Triplexes verwendet werden, sind die PNA Stränge entweder parallel oder antiparallel angeordnet, wobei die antiparallele Orientierung bevorzugt ist. Wenn zwei unterschiedliche Homopyrimidin-PNA-Sequenzen verwendet werden, ist derjenige Strang, der den stärkeren *Watson-Crick*-Duplex bildet antiparallel und der zweite PNA-Strang parallel zum DNA-Purinstrang angeordnet [64].

(PNA)<sub>2</sub>-RNA-Triplexe sind ähnlich stabil wie (PNA)<sub>2</sub>-DNA-Triplexe [65 – 67]. „Bis(PNAs<sup>3</sup>)“ bilden dagegen etwas stabilere Triplexe mit DNA oder RNA und es werden kleinere Hysteresen in den UV-Schmelzprofilen beobachtet. Die Neigung von Homopyrimidin-PNAs zur Bildung von Triplexen wird durch ihre Fähigkeit zur Verdrängung eines DNA-Stranges aus einem DNA·DNA-Duplex verdeutlicht [38] [63] [68 – 70]. Der aufzuspaltende DNA·DNA-Duplex darf allerdings nicht zu stark paaren und sollte durch erniedrigte Salzkonzentration geschwächt sein (< 50 mM NaCl) [71] [68].

Die Kristallstruktur eines Bis(PNA)-DNA-Triplexes zeigt *Watson-Crick*- und *Hoogsteen*-Basenpaarung des DNA-Strangs mit jeweils einem Einzelstrang der Bis(PNA) [52] (*Abbildung 13*). Der Triplex bildet eine P-Helix, die sich mit 16 Basenpaaren pro Windung klar von den A- und B-Formen der DNA unterscheidet. Die Helix ist geweitet und die Basenpaare besitzen einen Abstand von 6.8 Å von der Helixachse. Die Desoxyribose liegt analog zur A-DNA in der C(3')-*endo*-, die Nukleobasen in der *anti*-Konformation vor. Die Basen sind dagegen fast senkrecht zur Helixachse angeordnet, was wiederum charakteristisch für die B-Form der DNA ist. Die Phosphatgruppen der DNA bilden Wasserstoffbrücken zu H–N(CO) der (Z)-konfigurierten, N-monosubstituierten Amidgruppen im Rückgrat des *Hoogsteen*-PNA-Strangs. Diese Wasserstoffbrücken, zusammen mit den regulären *Watson-Crick*- und *Hoogsteen*-Basenpaaren, den Stapelwechselwirkungen und der verminderten elektrostatischen Abstoßung der Stränge, machen Bis(PNA)-DNA-, (PNA)<sub>2</sub>-DNA- und (PNA)<sub>2</sub>-RNA-Triplexe so aussergewöhnlich stabil. Die CD-Spektren einer Reihe von (PNA)<sub>2</sub>-DNA-Triplexen sind denen von rechtsgängigen (DNA)<sub>3</sub>-Triplexen sehr ähnlich.

**Abbildung 13:** Kristallstruktur eines Bis(PNA)-DNA-Triplexes [52] senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt



<sup>3</sup>) In BisPNAs sind die beiden PNA-Stränge über eine Peptid-, oder eine DNA-Schleife kovalent miteinander verbunden.

### 2.3. Die Methode der Peptid-Festphasensynthese

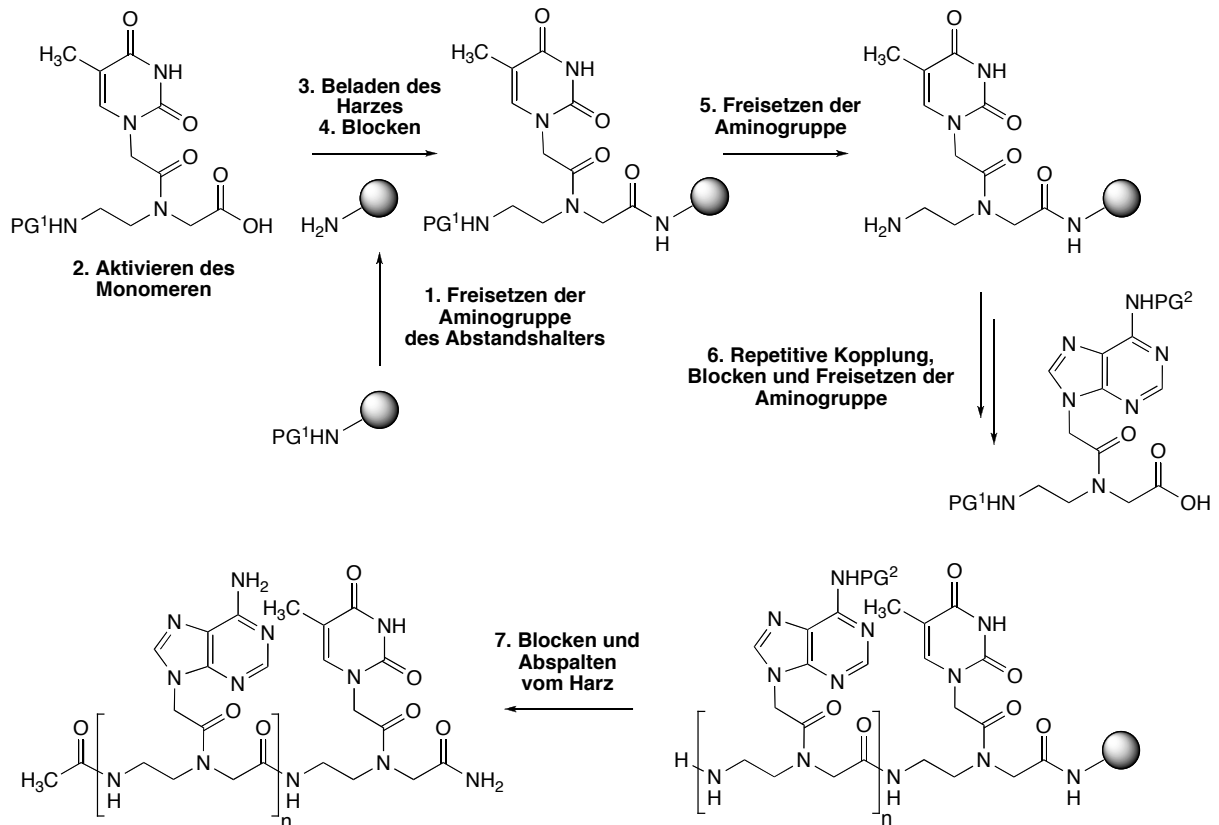
Die Festphasensynthese hat sich für zwei wichtige, biologisch aktive Substanzklassen bewährt; für die Peptide [72] und die Nukleinsäuren [73]. Das Anwendungsgebiet wurde wegen der Nützlichkeit der Methode auf die Synthese der PNA [8] [74], zuckerverknüpfter Nukleosidanalogue [75] [76] und kleiner organischer Moleküle ausgeweitet [73] [77 – 82]. Im Folgenden wird die Methode der Peptid-Festphasensynthese näher beleuchtet. Da die peptidisch verknüpften ONIBs grössere strukturelle Verwandtschaft mit den PNAs als mit den natürlichen Peptiden aufweisen, werden in den entsprechenden Unterkapiteln Quervergleiche mit den Ergebnissen der Festphasensynthese von PNA-Oligomeren angestellt.

Bei der Peptid-Festphasensynthese wird das Oligomere vom C- zum N-Ende an einem unlöslichen polymeren Träger synthetisiert. Dieser ist mit Abstandshaltern versehen, welche terminal funktionalisierte Kopfgruppen, wie Carbamoyl-geschützte Aminogruppen tragen. Wie am Beispiel der Festphasensynthese eines PNA-Oligomeren gezeigt ist (*Schema 1*) wird die Aminogruppe des Abstandshalters unter Abspaltung der Schutzgruppe PG<sup>1</sup> freigesetzt (**Schritt 1**), die Carboxylgruppe des ersten Monomeren aktiviert (**Schritt 2**) und die Aminogruppen am Harz mit dem aktivierten Monomeren zur Reaktion gebracht (**Schritt 3**). Nach dieser Beladung des Harzes werden freie Aminogruppen – das Ergebnis einer unvollständigen Beladung mit dem ersten Monomeren – mit einem besonders reaktiven Acylierungsreagenz, z.B. mit Essigsäureanhydrid in Kombination mit *Hünig's* Base, geblockt (**Schritt 4**). Nach dem Freisetzen der Aminogruppe des ersten gebundenen Monomeren (**Schritt 5**) wird das Oligomere durch wiederholte Kopplung, Blocken und Freisetzung der Aminogruppe am festen Träger synthetisiert (**Schritt 6**). Das Blocken nach einer jeden Kopplung dient dazu, Abbruchfragmente (Fehlsequenzen), die aus unvollständigen Kopplungen entstammen, so kurz wie möglich zu halten, um eine im Allgemeinen erforderliche chromatographische Reinigung des Rohprodukts zu vereinfachen. Ist das Oligomere der gewünschten Länge und Sequenz synthetisiert, wird es N-terminal geblockt und anschliessend (meist unter stark sauren Bedingungen) vom festen Träger abgespalten (**Schritt 7**). Bei der Festphasensynthese von PNA-Oligomeren geht dieser Schritt in der Regel mit der Abspaltung der N-Schutzgruppen der Nukleobasen (PG<sup>2</sup>) einher. Partiiell geschützte PNA- oder Peptidfragmente können über sogenannte „hypermäurelabile“ Trägerarme erhalten werden, womit die Voraussetzungen für weitere, selektive Umwandlungen, wie der Verknüpfung verschiedener durch Festphasensynthese erhaltener Fragmente, erfüllt sind. Die Festphasensynthese kann durch Kopplung einzelner monomerer Einheiten linear, oder durch Kopplung di- oder oligomerer Einheiten konvergent durchgeführt werden. Die lineare Strategie bietet sich bei hohen Kopplungsausbeuten und sauberen Kopplungsreaktionen an; das konvergente Vorgehen empfiehlt sich für die Synthese längerer Oligomerer, wobei die erforderlichen di- oder oligomere Bausteine in Lösung hergestellt werden. Der Erfolg der Festphasensynthese erfordert saubere, vollständige und enantioselektive Kopplungs- und Entschützungs-schritte. Um diese Voraussetzungen zu gewährleisten wurde die Festphasensynthese der Peptide optimiert. Die Boc-Strategie [72] wurde zunehmend von der Fmoc-Strategie [83] abgelöst, welche N-terminale Entschützungen unter mildereren Bedingungen erlaubt. Die Fmoc-Strategie ist zudem nicht an die Abspaltung des Oligomeren mit wasserfreier HF gebunden – welche die Boc-Strategie kennzeichnet – wodurch Gesundheitsrisiken und die Verwendung von oft teuren Kunststoffapparaturen vermieden werden kann



[84]. Dessen ungeachtet ist die Boc-Strategie auch heute noch nützlich und wird häufig als Alternative zur Fmoc-Strategie verwendet.

**Schema 1:** Peptid-Festphasensynthese am Beispiel eines PNA  $U(A)_n$ -Oligomeren



Eine Festphasensynthese kann über einen stufenweisen oder einen kontinuierlich verlaufenden Prozess entweder semi- oder vollautomatisch durchgeführt werden. Der stufenweise Prozess erfordert nur einfache Instrumente, wohingegen der kontinuierlich verlaufende Prozess teure Einrichtungen erfordert. Der kontinuierliche Ansatz erlaubt die spektroskopische Echtzeitaufzeichnung der Kopplung und vor allem der Entschützung [85]. Wird die Fmoc-Strategie verwendet, kann der Verlauf der *N*Fmoc-Entschützung über die UV-Absorption des Eliminierungsproduktes DBF (Dibenzofulven) verfolgt werden. Auch das über die *N*Mmt-Entschützung (siehe unten) gebildete Carbeniumion kann aufgrund seiner spektroskopischen Eigenschaften detektiert werden [86]. Eine manuelle, stufenweise Festphasensynthese bietet sich aufgrund der Möglichkeit der Analyse intermediärer Stufen an. Das Ergebnis der Synthese kann in den meisten Fällen auf ein automatisiertes Verfahren übertragen und dabei weiter verbessert werden. Neben konventionellen Methoden wie dem Schwenken des Harzes in der Reaktionsmischung oder dem Verwirbeln des Harzes mittels eines Stickstoffstroms, wird oftmals auf Mikrowellen zurückgegriffen. Peptide [87], Peptoide [88] und Glycopeptide [89] wurden auf diese Weise in besseren Ausbeuten gewonnen.

PNA wurde erfolgreich gemäss der Boc- [8] [9] [90 – 93], wie auch der Fmoc-Strategie [74] [94] [95] an der Festphase synthetisiert. Auch andere *N*-terminale Schutzgruppen, wie die phosphoramiditkompatible Mmt ((4-Methoxyphenyl)diphenylmethyl)-Gruppe [96] [97], fin-

den Verwendung, was die Synthese von PNA·DNA-Chimären über kombinierte Phosphoramidit/Peptid-Festphasensynthese ermöglicht [94]. DNA-, RNA- und PNA-Monomere sind kommerziell erhältlich (zum Beispiel von *Millipore*) so dass PNA-, RNA- und DNA-Analoga und deren Chimären mit den genannten *N*-terminalen Schutzgruppenstrategien verhältnismässig einfach zugänglich sind. Im Folgenden gehe ich auf die einzelnen Aspekte der Festphasensynthese näher ein.

### 2.3.1. Der polymere Träger und seine Beladung

Der polymere Träger besteht aus Harzkügelchen, die über einen Abstandshalter mit einem Trägerarm funktionalisiert sind. Die Kügelchen sollten von praktikabler Grösse, mechanisch robust und chemisch inert sein [98]. Gute Quelleigenschaften des Polymeren sind essenziell, um dem wachsenden Oligomeren den Kontakt mit dem Lösungsmittel und den darin gelösten Reagenzien zu ermöglichen. Das Harz sollte zudem in keiner Weise mit dem Oligomeren wechselwirken. Polymere Träger sind mit einer Vielzahl verschiedener Abstandshalter und Trägerarme erhältlich [99].

In der Festphasensynthese der Peptide werden hauptsächlich drei Arten von Harzen verwendet: Polystyrol- (PS), Poly(dimethyl)acrylamid- (PA) und Polyethylenglykol- (PEG) Harze. Das älteste und auch heute noch am häufigsten eingesetzte Harz besteht aus vernetztem Polystyrol. Es wird durch Copolymerisation von Styrol und etwa 1% Divinylbenzol hergestellt und kann mittels *Friedel-Crafts* Chlormethylierung funktionalisiert werden [100]. Hydrolyse, oder Substitution mit Natriumacetat gefolgt von einer Hydrazinolyse resultiert in einer hydroxymethylierten Polymeroberfläche [101] [102]; eine *Gabriel* Synthese führt nach Hydrazinolyse des Phthalimids zu einem aminomethylierten Polymeren [103]. Polystyrolharze quellen am besten in apolaren Lösungsmitteln wie Dichlormethan (bis zu 8 ml/g) [104] und sind mit Beladungen von 0.1-1.3 mmol/g mit verschiedensten Abstandshaltern und Trägerarmen erhältlich (siehe unten). Um das Zurückfallen des Oligomeren auf das Polymer zu verhindern, werden oftmals Polyethylenglykolabstandshalter verwendet. Die Funktionalisierung des Harzes kann über das Anbringen von Polyethylenglykolketten an ein aminofunktionalisiertes Polystyrolharz [105] oder durch anionische Copolymerisation von Ethylenglykol mit Polystyrolkügelchen erreicht werden [106]. Polystyrolharze werden aufgrund ihrer mechanischen Stabilität oftmals in kontinuierlich verlaufenden Synthesen verwendet.

Der zweite nützliche Träger ist vernetztes Polydimethylacrylamid (PA) [107] [108]. Das Polymere kann mit Sarcosinmethylestergruppen funktionalisiert und anschliessend unter Aminolyse der Estergruppen mit Ethylendiamin umgesetzt werden [109]. Auch hier werden als Abstandshalter oftmals Polyethylenglykolketten verwendet. Polydimethylacrylamid quillt am besten in dipolar aprotischen Lösungsmitteln wie DMF, NMP oder DMSO und ist aufgrund seiner mechanischen Stabilität besonders gut für die kontinuierliche Peptidsynthese geeignet [110] [111].

Der dritte häufig verwendete polymere Träger ist polystyrolfreies Polyethylenglykol (PEG) [112]. Das Polymere quillt im Vergleich zu Polystyrol um ein Vielfaches besser in einem weiten Bereich an Lösungsmitteln, einschliesslich den am häufigsten verwendeten dipolar aprotischen Lösungsmitteln DMF, NMP und DMSO [112]. Aus diesem Grund werden Polyethy-

lenglykolharze oftmals zur Synthese langer Oligomere verwendet. Eine niedrige Beladung minimiert dabei eine intermolekulare Verwicklung der Oligomerenstränge.

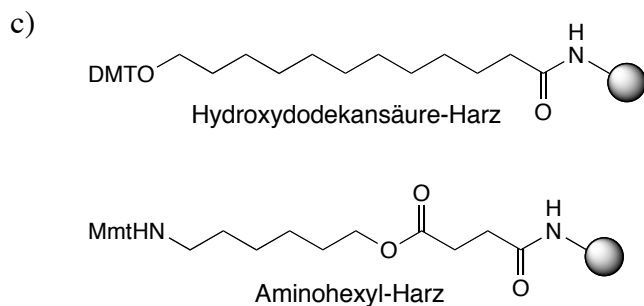
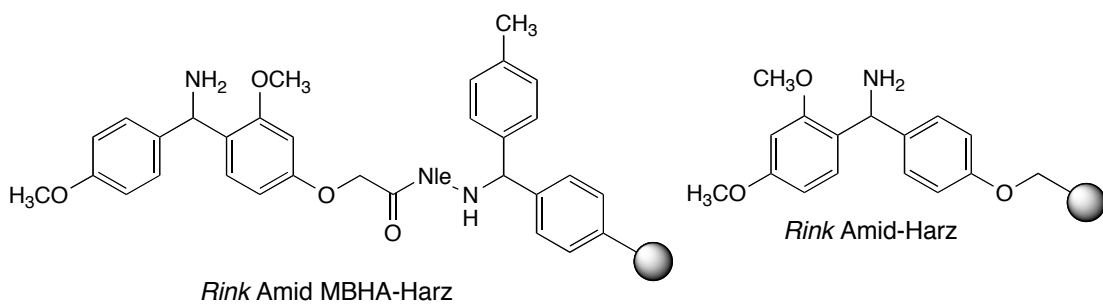
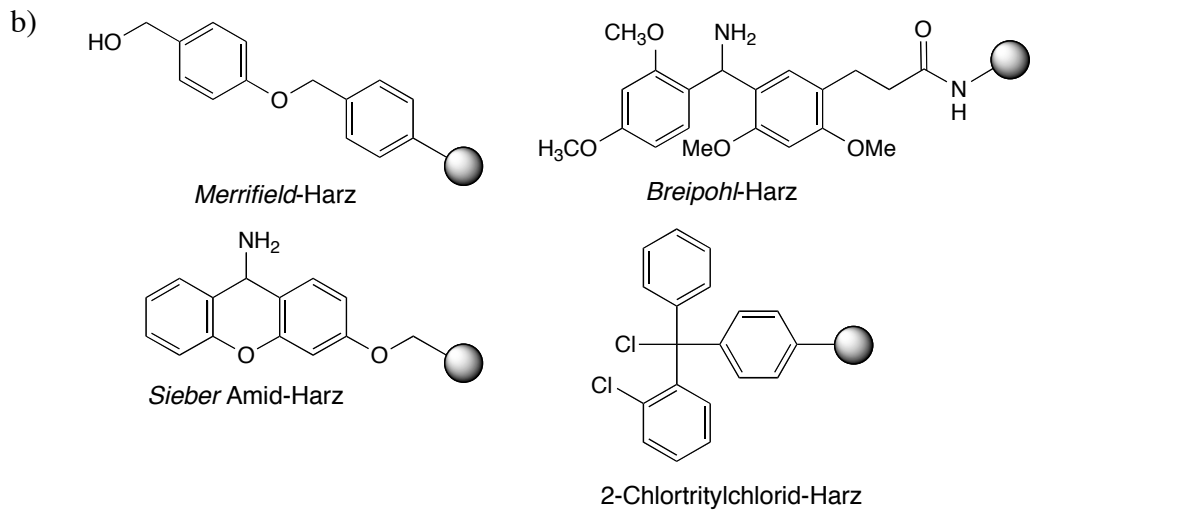
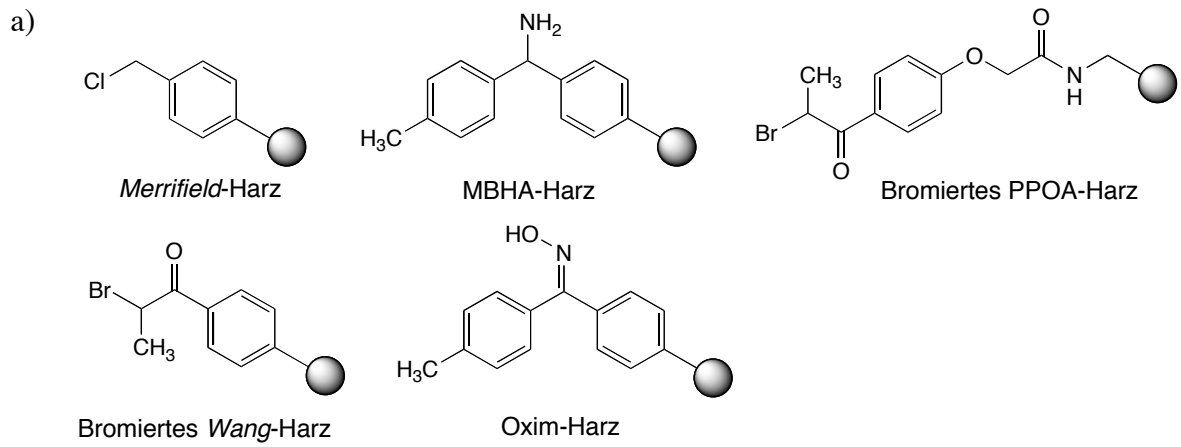
Polyethylenglykol-Polyacrylamid- (PEGA) Harz ist ein Hybrid aus den oben genannten Polymeren und besitzt ausserordentlich gute Quelleigenschaften über den gesamten Bereich an organischen Lösungsmitteln [113]. Der Nachteil dieses Polymeren bezieht sich darauf, dass es ein fließendes Harz ist, d.h. keine Kügelchen definierter Grösse bildet, wodurch der Umgang mit dem Material erschwert wird.

Auch andere polymere Träger werden eingesetzt, die hier jedoch nicht weiter beschrieben werden. Dazu gehören Membranen [114], Baumwolle [115], Kohlenhydrate [116] [117], CPG (*controlled pore glass*) [94 – 95] [118], Polystyrol/Kel-F [119] [120], oder Polyethylenschichten [121].

Die polymeren Kügelchen werden nach ihrer Synthese mit einem Trägerarm versehen. Man unterscheidet zwischen Trägerarmen, die bei der Abspaltung des Oligomeren eine C-terminale Carboxyl- oder eine Aminocarbonylgruppe freisetzen, wobei das stabile Kation des Trägerarms dem Gleichgewicht mit einem Abfangreagenz entzogen wird. Für Festphasensynthesen gemäss der Boc-Strategie werden für die Synthese C-terminaler Carbonsäuren zumeist *Merrifield*- (Chlormethylpolystyrol) Harze [122] [123] verwendet, C-terminale Amide werden über MBHA- (4-Methylbenzhydrylamin) Harze [124] gewonnen (*Abbildung 14 a*). Geschützte C-terminale Carbonsäuren und Amide werden an bromierten PPOA- (4-Propionylphenoxyacetamid) [125], bromierten *Wang*- (4-Benzyloxybenzylalkohol) [126], oder Oximharzen [127] [128] synthetisiert. Das am häufigsten verwendete Harz zur Synthese C-terminaler Carbonsäuren gemäss der Fmoc-Strategie ist das *Wang*-Harz [129]; zur Synthese C-terminaler Amide werden zumeist *Rink* Amid- (4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxy) oder *Rink* Amid MBHA- (4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxyacetamido-norleucyl) Harze [130] verwendet (*Abbildung 14 b*). Geschützte C-terminale Carbonsäuren oder Amide werden an 2-Chlortritylchlorid- [131] [132] oder *Sieber* Amid- (9-Fmoc-aminoxanthen-3-yloxy) Harzen [133 – 135] synthetisiert.

Aminofunktionalisierte Harze können über Standardkopplungsmethoden beladen werden (Kapitel 2.3.1.3.). Hydroxyfunktionalisierte Harze, einschliesslich der Oximharze, werden dagegen mit symmetrischen Anhydriden, vorgefertigten Aktivestern (in Gegenwart von DMAP), oder gemäss der MSNT- (1-(Mesitylen-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazol) Methode [136] [137] beladen. Letztere zeichnet sich selbst bei wenig reaktiven Trägerarmen durch hohe Kopplungsausbeuten und minimale Racemisierung aus [113] [138]. Chloralkyl- und bromalkyl-substituierte Harze lassen sich durch Substitution mit den entsprechenden Aminosäurecäsiumsalzen in Gegenwart von Kaliumiodid beladen [122]; Chlortritylharze können unter milden Bedingungen, oftmals in Gegenwart von Hünig's Base [139], funktionalisiert werden.

**Abbildung 14:** Häufig verwendete Trägerarme für a) Boc-, b) Fmoc- und c) Mmt-Festphasensynthese. Das Harz ist durch den ausgefüllten Kreis dargestellt und kann von unterschiedlicher polymerer Zusammensetzung sein.



PNA-Oligomere wurden gemäss der Boc-Strategie an MBHA-Polystyrol- [8] [9] [90] [92] [93] und gemäss der Fmoc-Strategie an *Rink* Amid MBHA-Polystyrol- [74], Breipohl-Polystyrolharzen [95], Aminohexyl-GPC- und Hydroxydodekansäure-CPG-Trägern [94] synthetisiert. Für die Synthese von PNAs gemäss der Mmt-Strategie wurden Aminohexylsuccinyl-CPG-Träger oder -Tentagel<sup>4</sup>) verwendet [96]. Alle diese Harze haben den Vorteil, dass sie durch Standardkopplungen beladen werden können [130] [140 – 142] und dass die Oligomeren nach ihrer Abspaltung vom Träger C-terminale Amide anstatt Carbonsäuren ergeben, die weniger polar und deshalb oft leichter zu reinigen sind.

### 2.3.2. Die Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe

Die N-terminalen Fmoc-Schutzgruppen werden für gewöhnlich durch Behandlung des trägergebundenen Mono- oder Oligomeren mit konzentrierten Piperidinlösungen abgespalten [143]. Die Methode hat sich auch bei der Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe von geschützten Hydrazinen bewährt [144] [145]. Bei unvollständiger Abspaltung werden bei der kontinuierlich verlaufenden Methode oftmals schwach konzentrierte Lösungen der Amidinbase DBU verwendet [146]. Das Amyloid- $\beta$  Protein wurde auf diese Weise in erheblich besseren Ausbeuten synthetisiert [147]. Bei der stufenweisen Methode ergibt sich das Problem der Addition des N-Terminus an das Eliminierungsprodukt Dibenzofulven (DBF), da DBU im Gegensatz zu Piperidin als nicht-nukleophile Base nicht imstande ist DBF abzufangen. Durch die Verwendung von Piperidin/DBU-Mischungen bei kurzen Entschützungszeiten oder der Verwendung eines Abfangreagenzes, wie des geruchsneutralen Oktanthiols, kann dieses Problem umgangen werden. Alternativ können Lösungen von Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) [148] in Kombination mit einem Thiol verwendet werden. Wird der Überschuss an Thiol mittels Bis(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl)disulfid unter gleichzeitiger Desaktivierung von TBAF oxidiert [149], ist mit dieser Reagenzienkombination ein Eintopf-Verfahren von Kopplung und Entschützung möglich. Nebenreaktionen in der Peptidchemie, wie die Bildung von Diketopiperazinen [150] oder von Aspartimiden [151] [152] sind stark von den Entschützungsbedingungen abhängig und unter stark basischen und stark sauren Bedingungen begünstigt [148] [151]. N-Terminale Boc-Gruppen werden für gewöhnlich mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Mischungen abgespalten; die Spaltung der MMmt-Gruppe erfolgt unter mild sauren Bedingungen (Cl<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>H/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Mischungen). Die Spaltung der MMmt-Gruppe verursacht im Gegensatz zur NBoc-Spaltung nur wenig Depurinierung von DNA. Die Schutzgruppe erhöht zudem die Löslichkeit der Monomeren in organischen Lösungsmitteln.

PNAs wurden gemäss der Fmoc-Strategie unter Standard-Piperidinentschützung synthetisiert [74] [94] [95]. Die Boc-Schutzgruppe wurde durch Behandlung des Harzes mit TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1 [8] [9] [90 – 93]; die Mmt-Gruppe mit Cl<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>H/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/3:97 abgespalten.

### 2.3.3. Die Kopplungsreaktion

*Säurehalogenide.* Zwei Arten von Säurehalogeniden haben sich in der Festphasensynthese als nützlich erwiesen, die Säurechloride und die Säurefluoride. Säurechloride werden nur selten verwendet, obwohl sie, verglichen zu Aktivestern, aus elektronischen wie auch aus sterischen

---

<sup>4</sup>) Niedrig vernetztes Polystyrol mit Polyethylenglycol-Abstandshaltern und einer funktionalisierten Kopfgruppe.

Gründen reaktivere Acylierungsreagenzien sind. Säurechloride wurden erstmals 1901 von *Fischer et al.* synthetisiert und analysiert [153] und von *Carpino et al.* erfolgreich bei der Festphasensynthese von Peptiden eingesetzt [154]. Trotz des Potentials von Säurechloriden ist ihre Synthese inkompatibel mit säurelabilen Schutzgruppen. Des Weiteren setzen sich Säurechloride natürlicher Aminosäuren schnell zu den wenig reaktiven Oxazolonen um, was zu langsamem Umsatz und Racemisierung an der festen Phase führt [155]. Im Gegensatz zu den Säurechloriden sind Säurefluoride relativ stabil gegenüber Sauerstoffnukleophilen. Die oftmals kristallinen Säurefluoride sind häufig einfach herstellbar, z.B. durch Umsetzung einer Carbonsäure mit Cyanurfluorid [156] und dies auch in Gegenwart einer grossen Anzahl an unterschiedlichen festphasenkompatiblen Schutzgruppen. Auch eine *in situ* Synthese mit dem Kopplungsreagenz Tetramethylfluorformamidinium Hexafluorphosphat (TFFH) ist möglich (*Abbildung 15 a*). Acylierungen mit Säurefluoriden sind schnell und verlaufen ohne, oder mit nur sehr wenig Racemisierung [157] [158], so dass sich diese Verbindungen als nützlich für die Kopplung sterisch anspruchsvoller Substrate erwiesen haben [159].

*Symmetrische Anhydride.* Symmetrische Anhydride sind weniger reaktiv als Säurehalogenide aber immer noch äusserst wirkungsvolle Acylierungsreagenzien. Sie sind leicht über Kondensation der entsprechenden Carbonsäuren, z.B. mittels DCC- oder EDC-Aktivierung (siehe unten), herzustellen [124] [160 – 162]. Der Einsatz von symmetrischen Anhydriden ist mit Nachteilen verbunden, da zwei Äquivalente der Carbonsäure für die Synthese eines Äquivalents symmetrischen Anhydrids verwendet werden müssen, aber nur ein Acylrest auf das Amin übertragen wird. Dieser Umstand macht den Einsatz von symmetrischen Anhydriden in der Festphasensynthese von der kommerziellen Erhältlichkeit und dem Preis der Monomeren abhängig. Auch die schlechte Löslichkeit der symmetrischen Anhydride in Dichlormethan wurde als Nachteil erkannt [163]. Eine erwähnenswerte Nebenreaktion ist der Umsatz sterisch anspruchsloser symmetrischer Anhydride mit Carbamat-Schutzgruppen zu Dipeptiden [164].

*Vorgefertigte Aktivester.* Die *in situ* Aktivierung von Carbonsäuren zu Aktivestern erfreut sich in der Festphasensynthese wegen des einfachen Vorgehens grosser Beliebtheit. Vorgefertigte Aktivester werden dagegen seltener verwendet, hauptsächlich aufgrund ihrer verminderten Reaktivität im Vergleich zu jener von *in situ* erzeugten Aktivestern. Als vorteilhaft erweisen sich ihre Stabilität bei RT, ihre kristallinen Eigenschaften und dass ihr Einsatz oft unter milderen Bedingungen erfolgt und zu saubereren Umsetzungen führt. Pentafluorphenyl-, p-Nitrophenyl- and 2,4,5-Trichlorphenyl-Ester (*Abbildung 15 b*) sind meist einfach aus *N*-terminal geschützten Aminosäuren herzustellen, z.B. durch die Umsetzung der mit DCC aktivierten Carbonsäuren mit den entsprechenden Phenolen [165] [166]. Auch vorgefertigte Dhbt-(3,4-Dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-yl)- und *N*-Hydroxysuccinimidester haben sich als nützlich erwiesen und werden in der Regel durch Umsetzung der Carbonsäuren mit den *N*-Hydroxyverbindungen in Gegenwart von DCC gewonnen [167] [168]. Die Reaktivität der genannten vorgefertigten Aktivester führt meist zu befriedigend schnellen Umsetzungen in der Festphasensynthese von Oligomeren, die aus natürlichen Aminosäuren aufgebaut sind [169] [170]. Die Zugabe von 1-Hydroxybenzotiazol (HOBt) zu Pentafluorphenylestern erhöht über das *in situ* gebildete *O*-Acyl-*N*-Hydroxyamin die Reaktivität des Acylierungsmittels [171] [172]. Vorgefertigte Aktivester sind für das racemisierungsfreie Beladen von hydroxy-

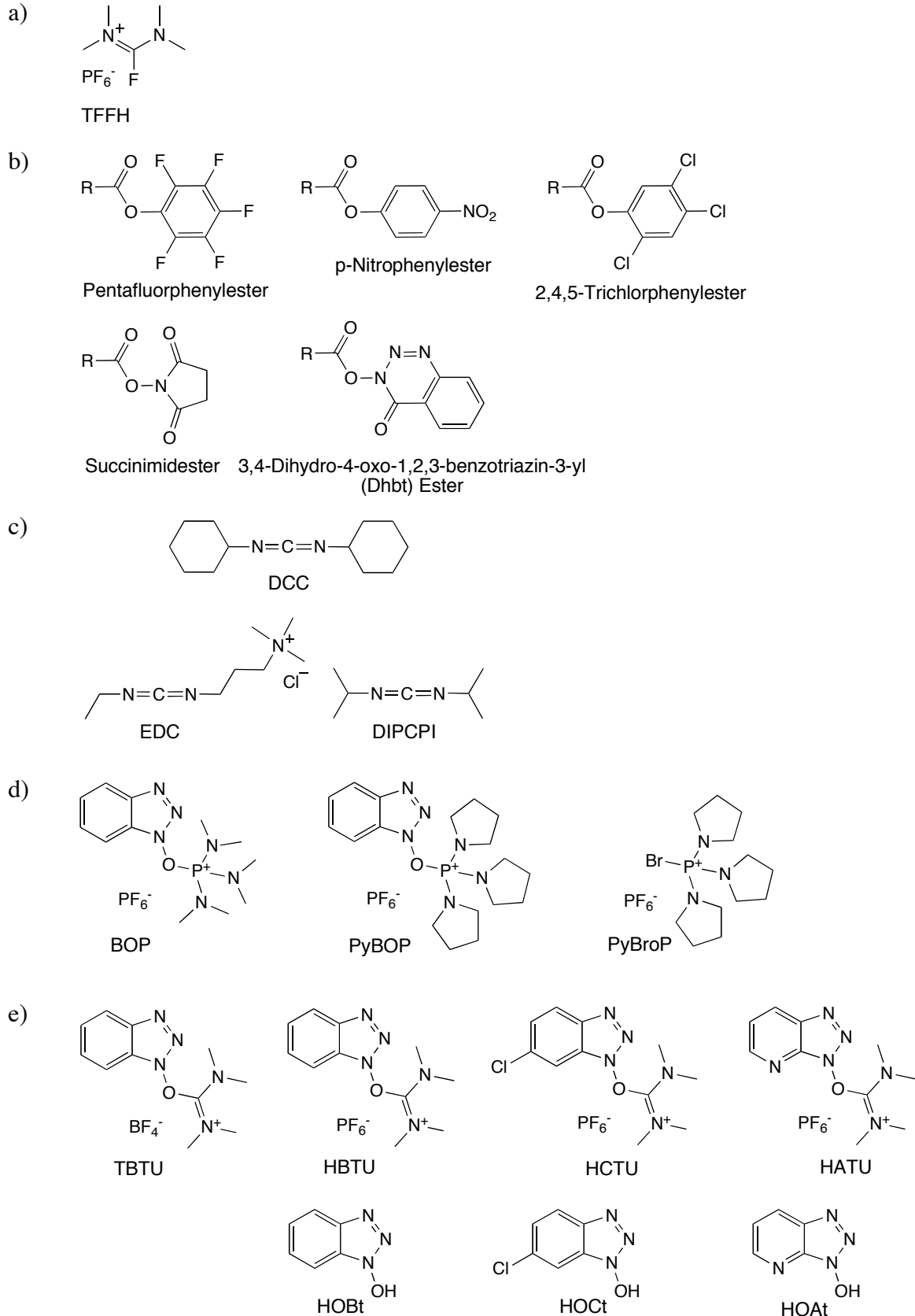
funktionaliserten Harzen besonders nützlich [173] [174] und stellen somit eine Klasse von Aktivierungsreagenzien moderater Reaktivität für Amine *und* Alkohole dar.

*In situ Aktivierung mit Carbodiimiden.* Die beliebteste Methode zur Herstellung von Amidien ist die *in situ* Aktivierung der Carbonsäure. Neben den sehr beliebten Uronium- und Phosphoniumkopplungsreagenzien (siehe unten) werden Carbodiimide noch immer häufig bei der Lösungs- und Festphasensynthese von Peptiden verwendet (*Abbildung 15 c*). Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) ist der bekannteste Vertreter dieser Verbindungsklasse [175] und wird aufgrund seiner hohen Reaktivität in Dichlormethan häufig in Kombination mit Polystyrolharzen verwendet, die exzellente Quelleigenschaften in unpolaren, organischen Lösungsmitteln besitzen. Der *in situ* als Nebenprodukt der Acylierung gebildete Dicyclohexylharnstoff (DCU) ist jedoch nur schlecht in Dichlormethan löslich, was intermediäre Waschvorgänge des Harzes mit polar aprotischen Lösungsmitteln notwendig macht. Alternativ zu DCC wird dessen Analoges Diisopropylcarbodiimid (DIPCDI) verwendet, dessen entsprechender Harnstoff gut in Dichlormethan löslich ist [176]. Durch Zugabe von HOBt [177] [178] oder 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt) [179] kann die Bildung typischer Carbodiimidnebenprodukte (wie *N*-Acyloharnstoffe [180] oder Oxazolone [181]) vermieden werden, indem die intermediären *O*-Acyliharnstoffe in Benzotriazole übergeführt werden.

*In situ Aktivierung mit Phosphonium- und Uroniumkopplungsreagenzien.* Für die *in situ* Aktivierung von Carbonsäuren steht eine breite Palette an Reagenzien zur Verfügung, die im Normalfall zu schnellen und sauberen Umsetzungen führen [182]. Man unterscheidet zwischen Phosphonium- und Uroniumkopplungsreagenzien, die in Kombination mit einer nicht-nukleophilen, schwachen Stickstoffbase wie 2,6-Lutidin oder dem stärker basischen Diisopropylethylamin (*Hünig's Base*) verwendet werden. Die bekanntesten Vertreter der Phosphoniumreagenzien sind Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)phosphonium Hexafluorphosphat (BOP) [183] und Brom-tris-pyrrolidino-phosphonium Hexafluorphosphat (PyBOP) [184] (*Abbildung 15 d*); die bekanntesten Uroniumreagenzien sind *O*-(1*H*-Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium Tetrafluorborat (TBTU) [185] und *N,N,N,N*-Tetramethyl-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-yl)uronium Hexafluorphosphat (HBTU) [186] (*Abbildung 15 e*). Alle diese Reagenzien überführen die Carbonsäure in Benzotriazolester (OBt-Ester), deren Reaktivität durch die Bildung der analogen 6-Chlorbenzotriazol- (6-CIOBt-) und Azabenzotriazol- (OAt-) Derivate (Aktivierung der Carbonsäure mit *O*-(6-Chlorbenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium Hexafluorphosphat (HCTU) [187] bzw. *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium Hexafluorphosphat (HATU)) [179, 188] noch gesteigert werden kann (*Abbildung 15 e*). Es ist darauf zu achten, einen Unterschuss an Uroniumkopplungsreagenz zu verwenden, um die Addition des zu koppelnden Amins an das Uroniumreagenz zu vermeiden [183] [186] [189]. Sterisch anspruchsvolle Aminosäuren wurden erfolgreich nach ihrer Aktivierung als *N*-Hydroxybenzotriazol-Aktivester gekoppelt [190 – 192]; in schwierigen Fällen führt oft die Verwendung von Brom-tris-pyrrolidino-phosphonium Hexafluorphosphat (PyBrOP) zum Erfolg.

Nach der Beladung des Harzes und nach den Kopplungen zurückbleibende freie Aminogruppen werden in der Regel durch Acetylierung mit  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Hünig's Base}$  in NMP oder DMF geblockt [74] [94].

**Abbildung 15:** Zusammenstellung der am häufigsten eingesetzten Aktivester und Kopplungsreagenzien in der Festphasensynthese. a) Kopplungsreagenz zur Synthese von Säurefluoriden b) Vorgefertigte Aktivester c) Carbodiimidkopplungsreagenzien d) Phosphoniumkopplungsreagenzien e) Uroniumkopplungsreagenzien.





Auch die Wahl des geeigneten Lösungsmittels ist von grundlegender Bedeutung. Dabei gibt es zwei wichtige Faktoren zu beachten. Der erste Faktor betrifft die Solvataion des Harzes und des Oligomeren. Gute Solvataion verhindert eine Inter- und Intrastrangassoziation und ermöglicht den Kontakt des Oligomeren mit den Reagenzien. Erwartungsgemäss können sowohl polare, aprotische Lösungsmittel wie DMF, NMP oder DMSO als auch Lösungsmittelgemische wie THF/NMP 45:55 oder TFE/DCM 20:80 eine Aggregation verhindern, oder zumindest unterdrücken [193]. Der Einsatz eines polaren, aprotischen Lösungsmittels erlaubt zudem Kopplungen bei hohen Konzentrationen der Monomeren, wodurch meist bessere Kopplungsausbeuten erzielt werden. Im Speziellen führt die Verwendung von DMSO [194], chaotropen Salzlösungen [195] [196] oder löslichen Harnstoffen [195] [197] bei den Entschützungen- und Kopplungen zu besseren Ergebnissen als die Verwendung des am häufigsten verwendeten DMF.

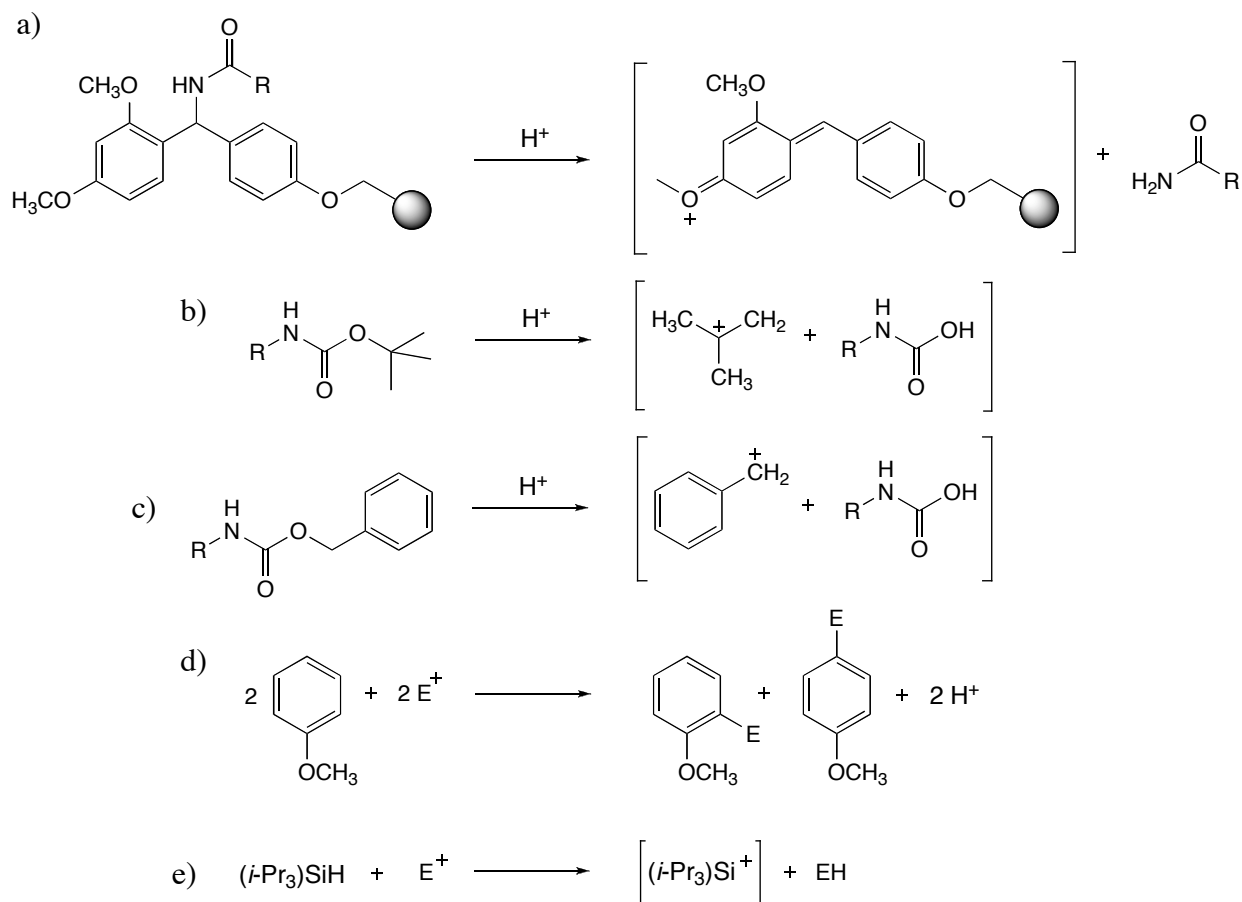
Der zweite Faktor, der bei der Wahl eines angemessenen Lösungsmittels beachtet werden sollte, bezieht sich auf die Quelleigenschaften des Harzes. Je stärker das Harz quillt, desto besser ist das Oligomere den Reagenzien ausgesetzt und umso schneller verlaufen die Kopplungen. Polystyrolharze etwa quellen am besten in apolaren Lösungsmitteln wie Dichlormethan, aber Dichlormethan verhindert keine Inter- und Intrastrangassoziation von Peptiden und Nukleinsäuren. Wie schon im Kapitel 2.3.1.1. erwähnt, nimmt die Assoziation mit zunehmender Länge des Oligomeren an Bedeutung zu [198] [194]. Als Folge davon muss in schwierigen Fällen die polymere Zusammensetzung des Harzes dem Lösungsmittel angepasst werden.

PNA wurde über *in situ* Aktivierung mit HBTU/HOBt [74], HATU [90] [94] [96], PyBOP [95] [96] und DCC [9] [92] synthetisiert. Auch vorgefertigte Pentafluorphenylester [9] [56] [74] wurden mit Erfolg eingesetzt. Dabei wurde als Lösungsmittel DMF [94 – 96], DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 3.3:1 [8] [56], DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1 [9], DMSO/NMP 5:1 [74], oder NMP/Pyridin 1:1 [90] verwendet.

#### 2.3.4. Die Abspaltung vom polymeren Träger

Für die Abspaltung des Oligomeren vom polymeren Träger kann im Rahmen der Fmoc- und der Boc-Strategie auf eine breite Palette an Entschützungsbedingungen zurückgegriffen werden [199] [200]. Auch für die Abspaltung von kleinen organischen Molekülen von ihrem festen Träger steht eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung [99]. Beim Einsatz der Fmoc-Festphasensynthese wird das Oligomere mit starken Säuren in Kombination mit einem Abfangreagenz vom Harz gespalten, wobei das Abfangreagenz mit reaktiven Teilchen resultierend aus der Abspaltung des Oligomeren vom Trägerarm [141] und dem Entfernen der Schutzgruppen [201] reagiert (*Schema 2*). Nach der Synthese an einem hypersäurelabilen Harz lässt sich das Oligomere durch wiederholte Behandlungen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA-Mischungen vom Harz ablösen. Die Abspaltung des Oligomeren gemäss der Boc-Strategie erfolgt meist mit wasserfreier HF; im Rahmen der Mmt-Strategie häufig über Aminolyse [39].

**Schema 2:** Aus der sauren Abspaltung eines Oligomeren vom festen Träger entstehende Kationen aus a) einem Rink Amid-Harz (es ist nur eine Grenzstruktur gezeigt) b) einer Boc-Gruppe c) einer Cbz-Gruppe. Abfangen des Elektrophilen  $E^+$  durch d) Anisol und e) Triisopropylsilan.



PNAs, die gemäss der Fmoc-Strategie an MBHA- oder *Rink*-Amid-Harzen synthetisiert wurden, liessen sich durch Behandlung mit HF/Anisol vom Träger abspalten [74], was mit einer Abspaltung der *NCbz*-Schutzgruppen der Nucleobasen einherging. PNAs, die an einem Aminohexyl- oder Hydroxydodekansäure-Trägerarm synthetisiert wurden, spaltete man mit  $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$  (EtOH) vom Harz, was mit der Entfernung der Mmt-, Benzoyl-, *t*-Butylbenzoyl und *i*-Butyrylschutzgruppen der Nucleobasen einherging [94] [96]. PNAs, die an einem MBHA-Harz gewonnen wurden, spaltete man mit TFA/Trifluormethansulfonsäure unter gleichzeitiger Entfernung der *Cbz*-Schutzgruppen der Nucleobasen vom polymeren Träger [90].

### 2.3.5. Kritischer Vergleich von Lösungs- und Festphasensynthese

Die Anwendungsbreite der Festphasensynthese ist beschränkt. Wenn grössere Mengen an Oligomeren benötigt werden und wenn die benötigten Monomeren teuer oder schwierig herzustellen sind, macht der erforderliche grosse Überschuss an Monomeren die Festphasensynthese zunehmend unwirtschaftlich. Die Methode der Festphasensynthese wurde zudem für Peptide optimiert und ist nicht ohne weiteres auf andersartige peptidisch verknüpfte Verbindungen übertragbar. *N,N*-disubstituierte Amine oder aromatische Amine und Carbonsäuren

ergeben auf der Festphase als Folge der sterischen Unzugänglichkeit und wegen ungünstigen elektronischen Wechselwirkungen oft schlechte Ergebnisse. Im Bereich der Nukleosidchemie spielt die inter- und intramolekulare Assoziation der Oligomeren und Wechselwirkungen mit dem polymeren Träger und dem Trägerarm eine grössere Rolle als bei der Synthese von Peptiden. Zeit- und materialintensive Optimierungen sind in vielen Fällen unvermeidbar. Wenn nur eine einzige oder eine beschränkte Zahl an Verbindungen erforderlich ist, um eine gestellte Frage zu beantworten, wenn Kristalle dieser Substanz/en erwünscht sind oder wenn die analytischen Methoden grössere Mengen an Material erfordern, kann eine konvergente Synthese in Lösung vorteilhaft sein. Die dabei anfallenden Intermediate der Kopplungen und Entschützungen können zudem charakterisiert und untersucht werden. Nebenreaktionen oder unvollständige Kopplungen und Entschützungen können durch einfache Chromatographie oder durch LCMS detektiert werden, was eine rasche Änderung der Reaktionsbedingungen erlaubt. Dessen ungeachtet ist eine Synthese in Lösung im Vergleich zur Festphasensynthese um ein Vielfaches zeitintensiver. Des Weiteren erfordert die Lösungssynthese die Reinigung anfallender Intermediate, häufig durch Säulenchromatographie, was die Zugänglichkeit der erwünschten Oligomeren auf lösliche Vorläufer beschränkt.

Die Festphasensynthese eignet sich demzufolge für die rasche Synthese kleiner Mengen an Oligomerem; die Lösungssynthese bietet sich für die Synthese grösserer Mengen, allerdings auf Kosten eines grösseren Zeitaufwands an.

#### 2.4. mi- und si-RNAs

In eukaryotischen Zellen werden kleine RNAs von 21–23 Basenpaaren Länge zur Kontrolle der Proteinexpression und der Abwehr von Viren und endogenen Transposonen herangezogen [14]. Dabei unterscheidet man zwischen den *micro-RNAs* (miRNAs) und den kurzen interferierenden RNAs (siRNAs). Im sogenannten „*Antisense-Ansatz*“ versucht man, die Wirkmechanismen der mi- und siRNAs nachzuahmen, indem man über chemisch modifizierte Oligonukleotide die Translation spezifischer mRNAs zu hemmen versucht. Im Folgenden wird kurz auf die natürlichen Wirkmechanismen der siRNAs und miRNAs eingegangen und es werden einige chemische Modifikationen natürlicher Oligonukleotide vorgestellt, die im Rahmen des „*Antisense-Ansatzes*“ Verwendung finden.

Im Zellkern werden hunderte endogener, komplexer RNAs transkribiert, die fehlerhaft gepaarte Haarnadeln bilden. Diese RNAs werden vom Nuklearkomplex Drosha gebunden, der über seine RNaseIII-Aktivität Haarnadeln von 70 Nukleotiden Länge abspaltet (*pre-microRNAs*). Nach deren Transport ins Cytosol werden die *pre-micro-RNAs* über den Enzymkomplex Dicer (Dcr-1) wiederum über eine RNaseIII-Aktivität zu fehlerhaft gepaarten Haarnadeln von 21–23 Basenpaaren Länge gespalten, den miRNAs. Diese werden vom *RNA-induced silencing complex* (RISC) erkannt, der in der Folge einen der beiden Stränge an ein komplementäres C(3')-Ende einer mRNA überträgt, dem miRNA Erkennungsfragment. Durch die irreversible Assoziation der mRNA und der miRNA wird die Translation der mRNA unterdrückt [14].

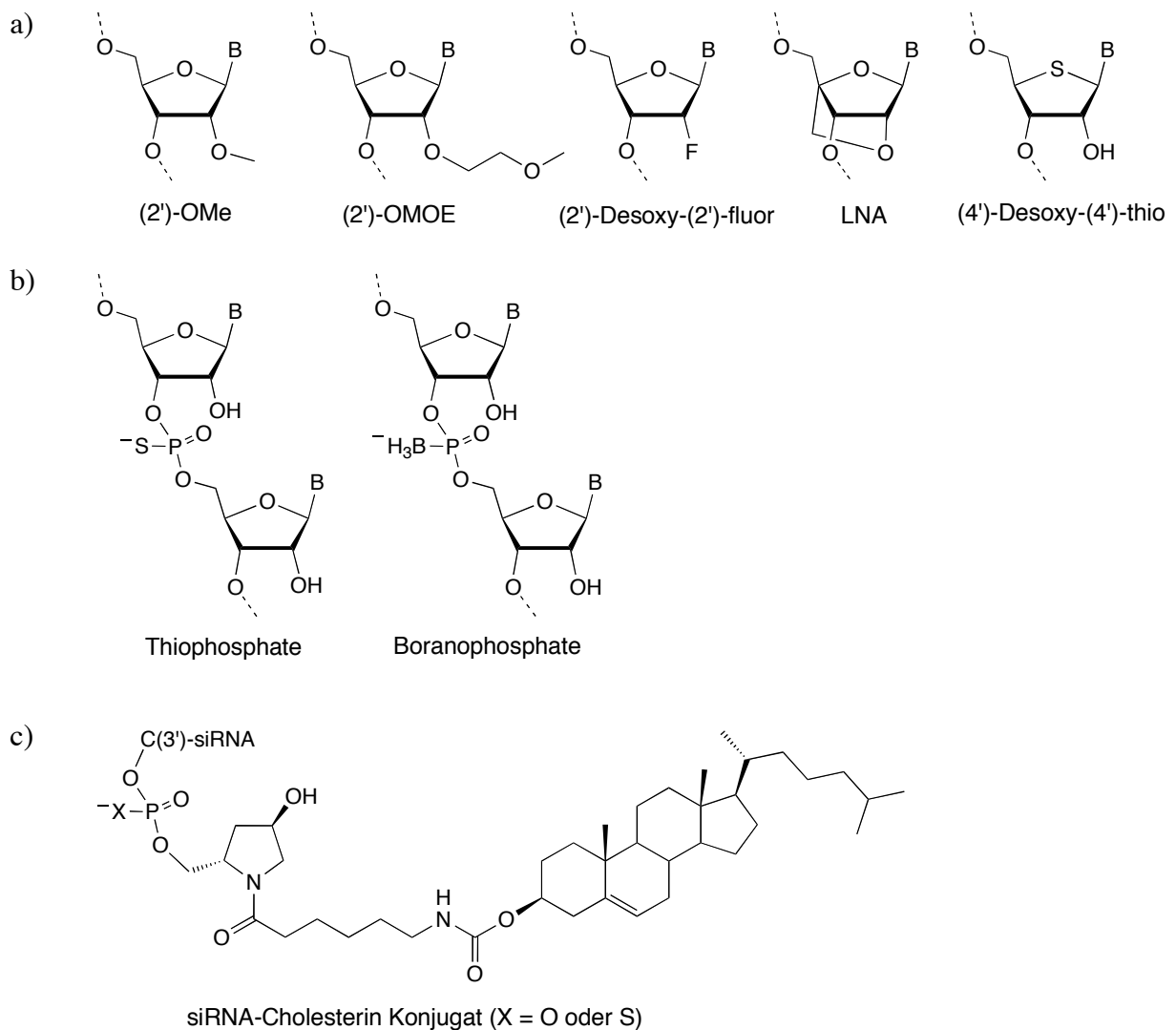
Ein weiterer Weg zur Unterdrückung der Translation führt über die Spaltung einer doppelsträngigen, viralen RNA durch eine zweite Dicer-Form, Dcr-2, zu den 21–23 Basenpaaren langen siRNAs. Der RISC-Komplex überträgt einen der beiden Stränge der siRNA unter Bil-

dung eines Duplexes auf eine exakt komplementäre Sequenz einer mRNA. RISC spaltet daraufhin über die Endonuklease Ago2 genau zwischen dem zehnten und elften Nukleotid eine Phosphordiesterbindung der mRNA. Der zweite Strang der siRNA wird abgebaut.

Über einen dritten Weg können sowohl mi-, als auch siRNAs über kurze virale Haarnadel-RNAs (shRNAs) erhalten werden. Die etwa 29 Basenpaare lange shRNA wird nach ihrem Transport in die Zelle von Dicer erkannt und zu si- und/oder miRNA gespalten, welche wiederum über die geschilderten Mechanismen die Transkription der mRNA hemmen [14].

In den letzten Jahren wurde intensiv auf dem Gebiet der si- und miRNAs geforscht. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der chemischen Modifizierung von Nucleosiden mit dem Ziel, eine erhöhte und spezifische Bindungsaffinität zur mRNA zu erreichen, Stabilität gegenüber Endo- und Exonukleasen zu erzielen und die Zellpermeabilität zu erhöhen. Einige wenige, verheissungsvolle Nucleinsäureanaloge sind in der *Abbildung 16* zusammengestellt [202].

**Abbildung 16:** Strukturen abgewandelter Nucleotide von siRNA. a) Basenmodifikationen b) Rückgratmodifikationen c) C(3')-Modifikation.



C(2')-Modifizierungen vermindern den Abbau durch Endonukleasen (*Abbildung 16 a*). Stabilität gegenüber Exonukleasen wurde über C(3')-terminale Thio- und Boranophosphatverknüpfungen erreicht (*Abbildung 16 b*). Die Aktivität und Biostabilität der siRNAs hängt vom modifizierten Strang (Leit- oder Folgestrang), der Menge und der Stellung der modifizierten Nukleotide ab. Durch Modifikation an C(3') der terminalen Nukleotideinheit, z.B. durch Einführung eines Cholesterinrestes (*Abbildung 16 c*), kann die Zellpermeabilität erhöht werden.

Eine künstliche siRNA sollte demzufolge starke und selektive Affinität gegenüber ihrer Ziel-mRNA besitzen, sie sollte keiner unspezifischen Selbstassoziation unterliegen, gute Zellpermeabilität besitzen und Biostabilität gegenüber Exo- und Endonukleasen (gegebenenfalls auch gegen Proteasen) aufweisen. All diese Aspekte in einer siRNA zu vereinigen ist keineswegs trivial und wird weitere Optimierungen erfordern.

## 2.5. Untersuchung wasserlöslicher Nukleinsäuren

Die vollständige Bestimmung der Struktur einer Nukleinsäure oder eines Nukleinsäureanalogens in ihrem assoziierten Zustand erfordert die Zuhilfenahme einer Reihe analytischer Methoden. Durch UV- und CD-Spektroskopie kann die Stabilität eines Assoziats bestimmt werden [203 – 205]. Thermodynamische Parameter werden zudem oftmals durch dynamische Differenzkalorimetrie (DSC), isotherme Titrationskalorimetrie, oder Differentialthermoanalyse (DTA) bestimmt [13]. Die Stöchiometrie eines Assoziats kann entweder durch UV-Spektroskopie, oder durch eine VPO (Dampfdruckkosmose) bestimmt werden [206]. Eine kernresonanzspektroskopische Analyse erlaubt es, auf die Struktur und insbesondere auf die Konformation des Assoziats zu schließen [52] [57] [60] und die Kristallstrukturanalyse ergibt ein direktes dreidimensionales Bild des Assoziats im festen Zustand. Die Struktur eines Moleküls im festen Zustand muss allerdings nicht zwingend mit seiner Struktur in Lösung identisch sein.

Im Folgenden wird auf zwei der wichtigsten analytischen Methoden zur Untersuchung der Paarung von Oligonukleotiden in wässrigen Medien eingegangen; auf die temperaturabhängige UV- und die temperaturabhängige CD-Spektroskopie.

### 2.5.1. Temperaturabhängige UV-Spektroskopie

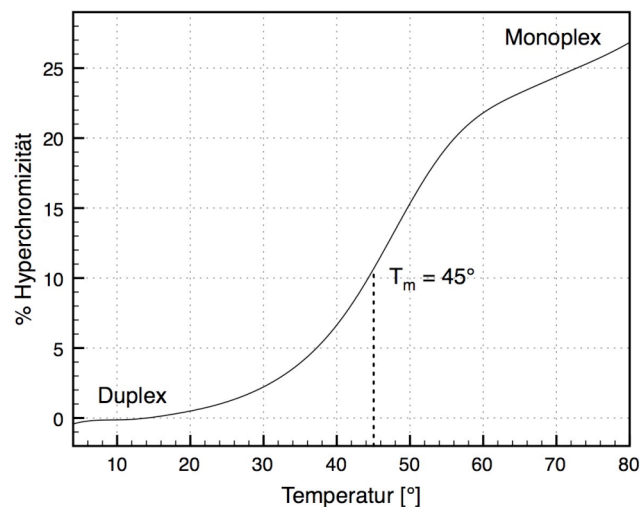
Die Paarungseigenschaften der Nukleinsäuren und ihrer Analogier können mithilfe einer „Denaturierung“ durch Erwärmen einer Lösung der Nukleinsäuren bestimmt werden. Die am häufigsten verwendete Methode ist die temperaturabhängige UV-Spektroskopie. Aromatische Verbindungen erfahren aufgrund der Stapelung ihrer hydrophoben Flächen beim Übergang von einem geordneten zu einem ungeordneten Zustand eine Absorptionsänderung. Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei isolierten Aromaten verläuft eine solche Absorptionsänderung bei Verbindungen mit verknüpften Arylresten, wie DNA oder RNA es sind, kooperativ. Eine lineare Temperaturänderung geht daher mit einer nichtlinearen Absorptionsänderung einher, wobei selbstkomplementäre oder heterokomplementäre Oligomere ein weitaus stärkeres kooperatives Verhalten zeigen als nicht-selbstkomplementäre Oligomere. Die treibenden Kräfte sind dabei Dipol/Dipol-,  $\pi$ -Elektronen- und Dipol-induzierte Wechselwirkungen (*van der Waals*-Kräfte) sowie der hydrophobe Effekt [13]. In einer UV-Schmelzkurve, die sich aus

dem Übergang eines Duplexes (bei niedriger Temperatur) in einen Monoplex (bei hoher Temperatur) ergibt, wird der prozentuelle Anteil an Hyperchromizität (%H), definiert gemäss Gleichung 1, gegen die Temperatur ( $T$  [°]) aufgetragen (Abbildung 17).

$$1) \%H = (A_{(T)} - A_{(T_{\min})}) \cdot 100 / A_{(T_{\max})}$$

[ $A_{(T)}$ : Absorption bei der betrachteten Temperatur;  $A_{(T_{\min})}$ : Absorption bei der niedrigsten Temperatur;  $A_{(T_{\max})}$ : Absorption bei der höchsten Temperatur]

**Abbildung 17:** UV-Schmelzkurve der selbstkomplementären RNA  $U_2C_2G_2A_2$



Die spektroskopische Untersuchung kann mit kleinsten Mengen an Material durchgeführt werden und liefert eine Vielzahl wertvoller Informationen. Die Schmelztemperatur ( $T_m$ ) ist als jene Temperatur definiert, bei der die Hälfte des Duplexes in die Einzelstränge zerfallen ist. Sie kann graphisch oder über das basislinienkorrigierte Maximum der ersten Ableitung der UV-Schmelzkurve ermittelt werden [204] [205]. Die Berechnung der thermodynamischen Daten erfordert die Kenntnis der Stöchiometrie des Assoziats. Diese kann über einen *Job-Plot* ebenfalls UV-spektroskopisch ermittelt werden, der jedoch zwei zueinander komplementäre Oligomere erfordert und damit die Bestimmung der Stöchiometrie selbstkomplementärer Oligomere ausschliesst. Ist die Stöchiometrie ermittelt, können sämtliche thermodynamischen Parameter wie die Entropie ( $\Delta S$ ), oft ausgedrückt als Produkt  $-T\Delta S$  [kcal/mol], die Enthalpie ( $\Delta H$  [kcal/mol]) und die freie Enthalpie ( $\Delta G_{298}$  [kcal/mol]) mit einer *van't Hoff* Analyse berechnet werden [204] [205]. Dabei gilt für ein bimolekulares Gleichgewicht eines selbstkomplementären Oligomeren die Gleichung 2.

$$2) \ln(K) = -\Delta H/R \cdot (1/T) + \Delta S/R$$

$$3) \Delta G_{298} = \Delta H - T\Delta S$$

[ $K$  [ $M^{-1}$ ]: Assoziationskonstante;  $R$ : Gaskonstante =  $1.99 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ ]

Wird  $\ln(K)$  gegen  $1/T$  aufgetragen, kann aus der Steigung der Geraden von  $-\Delta H/R$  die Enthalpie und aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse ( $\Delta S/R$ ) die Entropie berechnet werden. Die freie Enthalpie ist über die Gleichung **3** zugänglich. Alternativ können die thermodynamischen Daten über die Temperaturabhängigkeit von  $T_m$  bei unterschiedlichen Oligonukleotidkonzentrationen ( $c_T$  [M]) berechnet werden. Auch diese Methode erfordert die Kenntnis der Molekularität. Es gilt für ein bimolekulares Gleichgewicht eines selbstkomplementären Oligomeren die Formel **4**.

$$4) 1/T_m = (R/\Delta H) \cdot \ln(c_T) + \Delta S/\Delta H$$

Wird  $1/T_m$  gegen  $\ln(c_T)$  aufgetragen, kann aus der Steigung der Geraden von  $R/\Delta H$  die Enthalpie und aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse ( $\Delta S/\Delta H$ ) die Entropie berechnet werden. Die freie Enthalpie ist wiederum über die Gleichung **3** zugänglich.

Die Stabilität des Duplexes (ausgedrückt durch  $\Delta G_{298}$ ) korreliert dabei nicht zwangsläufig mit der Höhe der Schmelztemperatur des Assoziats. Die Schmelztemperatur sagt lediglich aus, dass ein Oligomeres unterhalb dieser Temperatur hauptsächlich assoziiert und überhalb dieser Temperatur hauptsächlich dissoziiert vorliegt. Schmilzt ein Oligoplex über einen kleinen Temperaturbereich (ist die UV-Schmelzkurve steil), hängt  $\Delta G_{298}$  stärker von der Temperatur ab, als  $\Delta G_{298}$  eines Oligoplexes, der über einen grossen Temperaturbereich schmilzt (eine flache UV-Schmelzkurve aufweist) [204] [205]. Obwohl der erstgenannte Oligoplex stabiler ist ( $\Delta G_{298}$  tiefer ist) kann seine Schmelztemperatur niedriger sein als diejenige des letztgenannten, weniger stabilen Oligoplexes. Die Stabilität eines Oligoplexes lediglich an seiner Schmelztemperatur festzumachen, wie es für DNA, RNA und deren Analogen fast ausschliesslich getan wird, ist deshalb nicht zulässig.

Jedes Monoplex-Oligoplex Gleichgewicht zeichnet sich durch eine charakteristische Abhängigkeit der UV-Absorption von der Temperatur aus. Der Denaturierungsprozess muss nicht zwangsläufig mit einem Anstieg der Absorption einhergehen. Oftmals beobachtet man bei einer bestimmten Wellenlänge einen Anstieg der Absorption mit steigender Temperatur (Hyperchromizität) und bei einer anderen Wellenlänge eine Abnahme der Absorption mit steigender Temperatur (Hypochochromizität). Die aus diesen Kurven berechneten Schmelztemperaturen und die thermodynamischen Daten sind allerdings identisch. Kleine Absorptionsänderungen können scharfe Schmelztemperaturen ergeben und grosse Absorptionsänderungen können linear an- oder absteigend verlaufen. Im letzteren Fall interpretiert man die Absorptionsänderung als das Ergebnis einer unspezifischen, intramolekularen Basenstapelung eines Einzelstrangs.

Im Gegensatz zu den Proteinen ist der Übergang von einem Monoplex zu einem Oligoplex bei Nukleinsäuren reversibel, so dass die dissoziierten Stränge durch Abkühlen der Lösung wieder assoziieren (paaren). Bestimmte Sekundärstrukturen wie z.B. trimolekulare Triplete oder tetramolekulare Quadruplexe, zeigen dabei als Folge einer Assoziation unter (teilweise) kinetischer Kontrolle eine charakteristische Hysterese [205]. Die UV-Schmelzkurve, resultierend aus dem Übergang eines Monoplexes zu einem Triplex oder einem Quadruplex, ist oft durch einen kontinuierlichen Kurvenverlauf mit einem einzigen Übergang (einem einzigen Wendepunkt) gekennzeichnet [15].

Die Schmelztemperatur eines DNA- oder RNA-Oligoplexes steigt aufgrund des kooperativen Verhaltens linear mit dessen zunehmender Länge, mit steigender Konzentration des/der Oligomeren (ausgenommen intramolekulare Assoziate), dem Salzgehalt (Kapitel 2.2.4.) und einem ansteigenden GC/AT-Verhältnis. Auch der pH-Wert kann einen Einfluss auf die Assoziation haben (siehe Triplex und i-Motif im Kapitel 2.1.2. bzw. 2.1.3.). Die Schmelztemperatur eines Oligonukleotids kann mit Hilfe der *Nearest-Neighbour* Methode mit der Basensequenz korreliert werden. Die Stabilität eines DNA- oder RNA-Duplexes in wässrigen Medien wird hauptsächlich von den Stapelwechselwirkungen und nicht von den Wasserstoffbrücken dominiert [207].

### 2.5.2. Temperaturabhängige CD-Spektroskopie

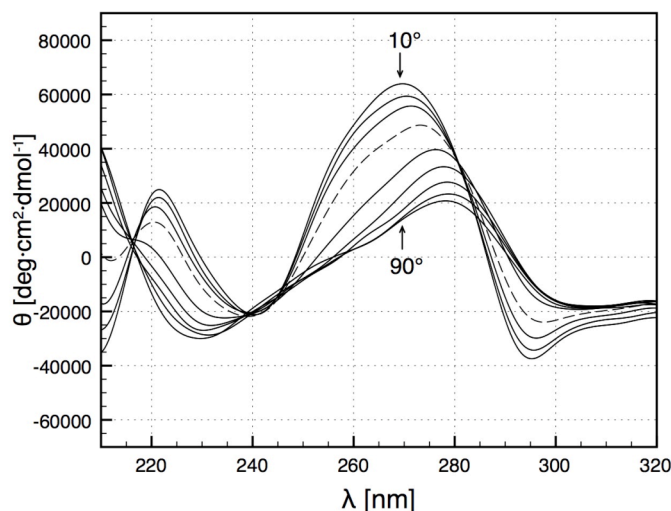
Die temperaturabhängige CD-Spektroskopie wird oftmals parallel zur temperaturabhängigen UV-Spektroskopie eingesetzt [203]. Sie setzt voraus, dass die Nukleinsäure oder das Nukleinsäureanaloge chiral und nicht-racemisch ist und macht sich deren physikalische Eigenschaft zu Nutze, linear polarisiertes Licht, beziehungsweise eine seiner links- und rechtszirkular polarisierten Komponenten gleicher Amplituden, unterschiedlich stark zu absorbieren. Der Zirkulardichroismus (CD) entspricht der Differenz der Absorption der links- und der rechtszirkular polarisierten Komponente ( $D_l - D_r$ ). Bei Nukleinsäuren übt der Torsionswinkel  $\chi$  (Drehung um die glycosidische Bindung) und die Art der Basenstapelung den grössten Einfluss auf das CD-Spektrum aus. In einem CD-Spektrum wird die molare Elliptizität ( $\theta_\lambda$  [ $\text{deg}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{dmol}^{-1}$ ]), definiert durch die Formel **5**, gegen die Wellenlänge ( $\lambda$  [nm]) aufgetragen (*Abbildung 18*) und das CD-Spektrum anhand der Angabe der molaren Elliptizität seiner Extrema  $[\theta]_\lambda$  beschrieben (Formel **6**).

$$\mathbf{5)} \theta_\lambda = \ln 10 \cdot 180 (D_l - D_r) / 4\pi$$

$$\mathbf{6)} [\theta]_\lambda = 100 \cdot \theta_\lambda / (c \cdot l)$$

[Schichtdicke; c: Konzentration des Chromophoren]

**Abbildung 18:** Temperaturabhängige CD-Spektren der selbstkomplementären RNA  $U_2C_2G_2A_2$  (Temperaturänderung in  $10^\circ$ -Schritten). Die gestrichelte Linie entspricht dem CD-Spektrum bei  $40^\circ$ .



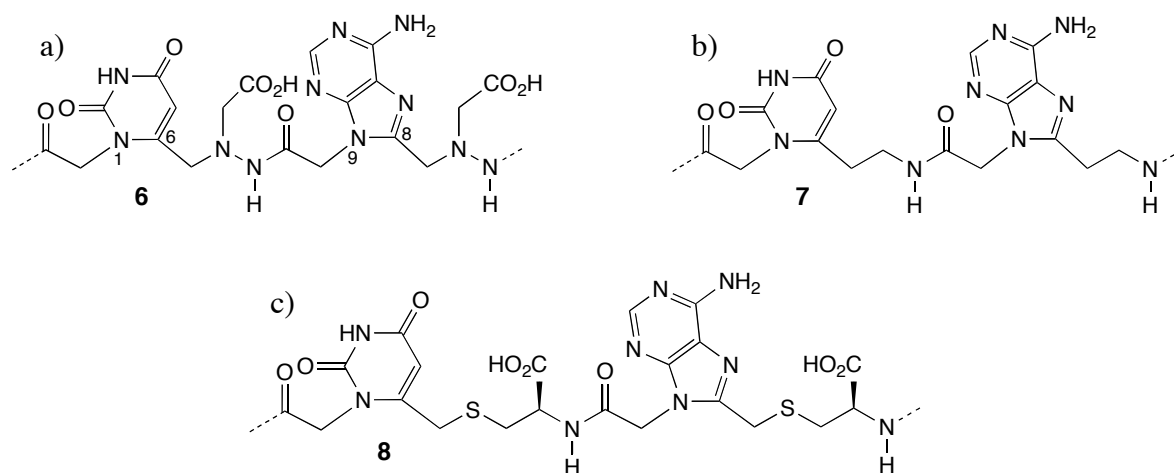


Die CD-Spektren des Oktameren  $U_2C_2G_2A_2$  zeigen zwischen  $10^\circ$  und  $40^\circ$  (gestrichelte Linie) eine grosse  $\theta$ , und dessen stetige Abnahme mit steigender Temperatur. Bei der Schmelztemperatur des Oligonukleotids von *ca.*  $45^\circ$  fällt das CD-Signal abrupt ab, worauf oberhalb von  $T_m$  ein weniger starker Abfall von  $\theta$  zu beobachten ist. Das CD-Spektrum spiegelt damit die Charakteristika der UV-Schmelzkurve wieder und bestätigt die Annahme, dass die Temperaturabhängigkeit eines CD-Spektrums hauptsächlich durch die Stapelwechselwirkungen eines Oligomeren bestimmt wird. Da die A-, B- und Z-Formen der DNA charakteristische Unterschiede in ihren CD-Spektren aufweisen, werden sie oft als Referenz für einen Analogieschluss zur Bestimmung der Sekundärstruktur anderer Oligonukleotide verwendet [208]. Auch in der Verbindungsklasse der Proteine werden charakteristische CD-Spektren von *beta*-Faltblättern oder *beta*-Schleifen zu Vergleichen herangezogen [209]. Da ein CD-Spektrum nicht berechnet werden kann sind diese Analogien jedoch rein empirisch und erreichen damit bei Weitem nicht die Genauigkeit einer Konformationsanalyse, wie sie etwa mit Hilfe der NMR-Spektroskopie zu erzielen ist.

### 3. Der Strukturentwurf amidartig verknüpfter ONIBs

Wie schon im Kapitel 1. erwähnt wurde, war es unser Ziel, Verknüpfungselemente zu entwerfen, die den konformationellen Anforderungen zur Assoziation von amidartig verknüpften ONIBs unter Bildung zyklischer Duplexe (Paarung) über Basenstapelung und Wasserstoffbrückenbindungen, bevorzugt im „Watson-Crick-Modus“ genügen. Die drei in dieser Doktorarbeit untersuchten Klassen peptidisch verknüpfter ONIBs sind in der *Abbildung 19* am Beispiel von Pyrimidin/Purin-Dimeren (UA) zusammengestellt (**6**, **7** und **8**). Die Verknüpfungselemente variieren in Länge, Konstitution und Konformation, haben aber allesamt eine Carbonylmethylengruppe an N(1/9)<sup>5</sup> gemein.

**Abbildung 19:** Strukturen der a) Hydrazid- b) Amid- und c) Thioether/Amid-verknüpften ONIBs



Die peptidischen ONIBs werden in Analogie zu vormals synthetisierten ONIBs vom C- (Verknüpfung mit C(6/8)<sup>5</sup>) zum N-Terminus (Verknüpfung mit N(1/9)) gezeichnet und abgekürzt (*Abbildung 19*). Die Benennung der Verbindungen im Experimentaltteil erfolgt in Analogie zu den Peptiden und zu PNA vom N- zum C-Terminus.

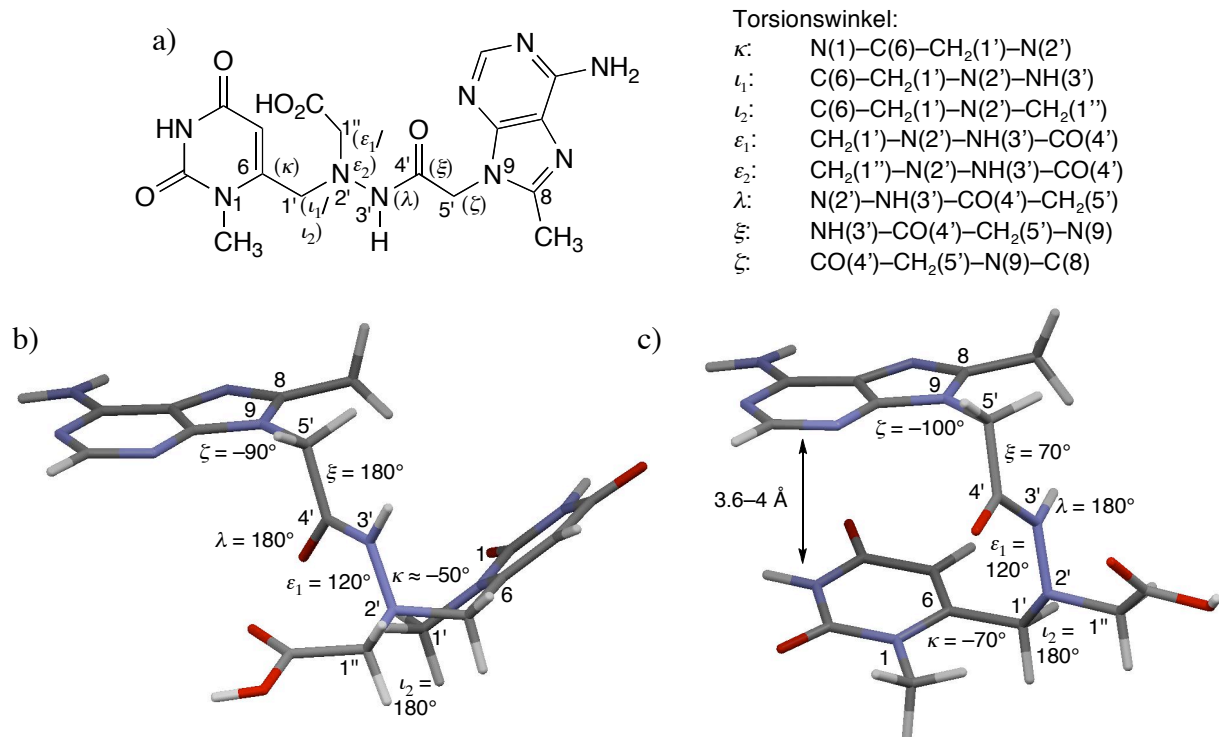
Die Strukturen der Hydrazid- und Amid-verknüpften ONIBs wurden im Rahmen einer parallel durchgeführten Doktorarbeit von *Fabio De Giacomo* entworfen [12], die Thioether/Amid-verknüpften ONIBs von mir selbst. Da ich einen Beitrag zur Konformationsanalyse der Hydrazid- und Amid-verknüpften ONIBs leistete und es für die Verständlichkeit und die Interpretation der Ergebnisse von Bedeutung ist, wird in der Folge auf die Planung aller drei Projekte eingegangen. Die Thioether/Amid-verknüpften Analogen werden dabei aufgrund der eigenständigen Planung näher beleuchtet.

#### 3.1. Hydrazid-Analoge

*Fabio de Giacomo* wählte ein möglichst kurzes, aus 5 Atomen aufgebautes (vgl: DNA und RNA: 10 Atome; PNA: 11 Atome), konformationell vororientiertes Verknüpfungselement [12] (*Abbildung 20 a*).

<sup>5</sup>) N(1/9) und C(6/8) werden als Bezeichnungen für N(1) bzw. N(9) und C(6) bzw. C(8) einer Pyrimidin- bzw. einer Purinbase verwendet.

**Abbildung 20:** a) Lokanten und Bezeichnung der Torsionswinkel<sup>6)</sup> eines hydrazidverknüpften Pyrimidin-Purin (UA) Dimeren b) Konformation des Dimeren mit den energetisch bevorzugten Torsionswinkeln  $\kappa$ - $\xi$  c) Konformation des Dimeren in einem zyklischen Duplex mit den passenden Torsionswinkeln  $\kappa$ - $\xi$



Die Carbonylmethylengruppe an N(1/9) übernahm *Fabio de Giacomo* aus der Struktur der PNA. Er erkannte, dass die Einführung einer Seitengruppe mit einer polaren Kopfgruppe eine günstige Konformation im Verknüpfungselement induzieren und gleichzeitig die Wasserlöslichkeit der Oligomeren gewährleisten könnte. Um ein Chiralitätszentrum zu vermeiden, knüpfte er diese Seitengruppe an einen zweiten Stickstoff, den er über eine weitere Methylengruppe mit C(6/8) verknüpfte. Seine Überlegungen führten ihn zur Struktur eines *N*-Acyl-*N'*-carboxymethylhydrazins, das in der *Abbildung 20 b*) am Beispiel des Pyrimidin/Purin-Dimeren (UA) dargestellt ist. Die Seitenkette erlaubt eine *synklinale* Anordnung von C(6) und N(3'), was über eine zweite *synklinale* Anordnung der Substituenten CH<sub>2</sub>(1') und H-N(3') um die *N,N*-Bindung zum Konformeren b) in der *Abbildung 20* führt. Er verglich die Konformation dieses Konformerens mit derjenigen, die für die Bildung eines zyklischen Duplexes über *Watson-Crick*-Basenpaarung und Basenstapelung erfordert ist (Konformerer c) in der *Abbildung 20*). Der Abstand der  $\pi$ -Flächen in diesem Konformeren beträgt 3.6–4 Å und ist somit etwas grösser als der von B-DNA und A-RNA (3.3–3.4 Å) [13].

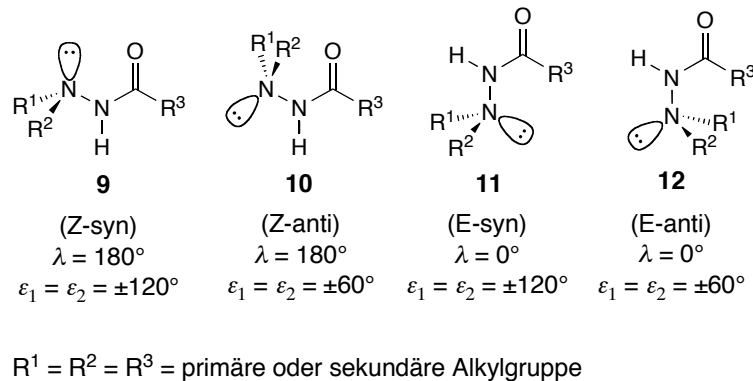
In der Folge wird die Konformation des Hydrazid-Verknüpfungselements betrachtet. Soweit es uns möglich war, bezogen wir uns auf experimentelle Daten, hauptsächlich auf Kristall- und NMR-Strukturen von der *Cambridge Strukturdatenbank (CSD)* und der *Proteindatenbank (PDB)*. Energiedifferenzen zwischen verschiedenen Konformeren wurden mit *Spartan'06* be-

<sup>6)</sup> Die willkürliche Nummerierung und die Benennung der Torsionswinkel des Hydrazid-Verknüpfungselements soll die Diskussion im Rahmen der Konformationsanalyse vereinfachen.

rechnet; die Kompatibilität der Konformation des zyklischen Duplexes mit der eines längeren Oligomeren wurde mit dem Programm *Macromodel 7.0* überprüft. Alle Berechnungen wurden in der Gasphase durchgeführt.

Die Elektronenpaare des tetraedrischen und des trigonalen *N*-Atoms eines Hydrazids stehen bevorzugt orthogonal zueinander [210 – 212], was zu den vier energetisch bevorzugten Konformeren **9–12** führt (*Abbildung 21*).

**Abbildung 21:** Die vier energetisch bevorzugten Konformere substituierter Hydrazide



Die *N*–*C*(*O*)-Gruppe ist dabei entweder (*E*)- oder (*Z*)- konfiguriert und das nichtbindende, doppelt besetzte Orbital des tetraedrischen *N*-Atoms steht entweder *syn* oder *anti* zur Acylgruppe. Die (*Z*)-Konfiguration ist in polaren Lösungsmitteln und mit zunehmender Grösse von *R*<sup>3</sup> und die *syn*-Konformation mit zunehmender Grösse von *R*<sup>1</sup> und *R*<sup>2</sup> bevorzugt [212] [213]. Für *R*<sup>3</sup> = *H* werden in der Regel *E/Z*-Mischungen beobachtet [210] [214]. Eine Suche nach Kristalldaten für disubstituierte Hydrazide in der *CSD* (*R*<sup>1</sup> = beliebiger C-Substituent mit mindestens einem  $\alpha$ H-Atom; *R*<sup>2</sup> = *H*; *R*<sup>3</sup> = beliebiger C-Substituent) ergab sieben Strukturen mit einem (*E*)-*syn*-, drei (*Z*)-*syn*-, und drei (*Z*)-*anti*-Konformeren. Eine Suche nach trisubstituierten Hydraziden (*R*<sup>1</sup>, *R*<sup>2</sup> = beliebiger C-Substituent mit mindestens einem  $\alpha$ H-Atom; *R*<sup>3</sup> = beliebiger C-Substituent) lieferte 14 Strukturen mit 13 (*Z*)-*syn*- und einem (*E*)-*syn*-Konformeren. Trisubstituierte Hydrazide nehmen also (wenigstens im Kristall) bevorzugt die in der *Abbildung 20 b*) und *c*) gezeigte (*Z*)-*syn*-Konformation an, mit Durchschnittswerten von  $\pm 172 \pm 5^\circ$  und  $\pm 117 \pm 11^\circ$  für  $\lambda$  bzw.  $\epsilon_1$ .

Eine *antiperiplanare* Anordnung von *C*(6) und entweder *N*(3') oder *CH*<sub>2</sub>(1'') resultiert in zwei energetisch bevorzugten Konformationen um die *CH*<sub>2</sub>(1')–*N*(2')-Bindung; einer mit  $\iota_2 = 60^\circ$  und einer weiteren mit  $\iota_2 = 180^\circ$ . Von 12 Kristallstrukturen trisubstituierter Hydrazide (*CSD*) (*R*<sup>1</sup> = beliebiger substituierter Phenylsubstituent, *R*<sup>2</sup> = beliebiger C-Substituent mit mindestens einem  $\alpha$ H-Atom; *R*<sup>3</sup> = beliebiger C-Substituent) weisen deren drei Werte für  $\iota_2$  von  $\pm 75 \pm 1$  und deren neun Werte für  $\iota_2$  von  $\pm 171 \pm 5^\circ$  auf. Die Präferenz für  $\iota_2 \approx 180^\circ$  kann mit einer weniger destabilisierenden *synklinalen* Wechselwirkung zwischen *C*(6) und dem *sp*<sup>2</sup>-hybridisierten *N*(3') im Vergleich zu einer *synklinalen* Wechselwirkung zwischen *C*(6) und dem *sp*<sup>3</sup>-hybridisierten *CH*<sub>2</sub>(1') erklärt werden. Der Durchschnittswert für  $\kappa$  (Definition gemäss der *Abbildung 20 a*) beträgt  $\pm 44 \pm 13^\circ$ , wobei konformationelle Anpassungen über Drehung um die *C*(6)–*CH*<sub>2</sub>(1')-Bindung wenig Energie kosten sollten [4].

Um die energetisch bevorzugten Werte für die Torsionswinkel  $\xi$  und  $\zeta$  zu ermitteln, bezogen wir uns auf 8 PNA-Strukturen mit einer Acetamidogruppe an N(1/9). 2D-NMR- [59] [60] und Kristallstrukturen [50 – 52] [215 – 217] (*PDB*) ergaben Durchschnittswerte von  $180^\circ$  bzw.  $\pm 90^\circ$ . Zusätzlich betrachteten wir 36 Kristallstrukturen kleinerer Moleküle (*CSD*) und ermittelten einen Durchschnittswert von  $\zeta = \pm 90 \pm 25^\circ$  für N(1/9)-Carbonylmethyl-substituierte Nucleobasen und  $\xi = \pm 162 \pm 18^\circ$  für N(1/9)-Acetamido-substituierte Nucleobasen, was einer *antiperiplanaren* Anordnung der Substituenten NH(3') und N(9) entspricht.

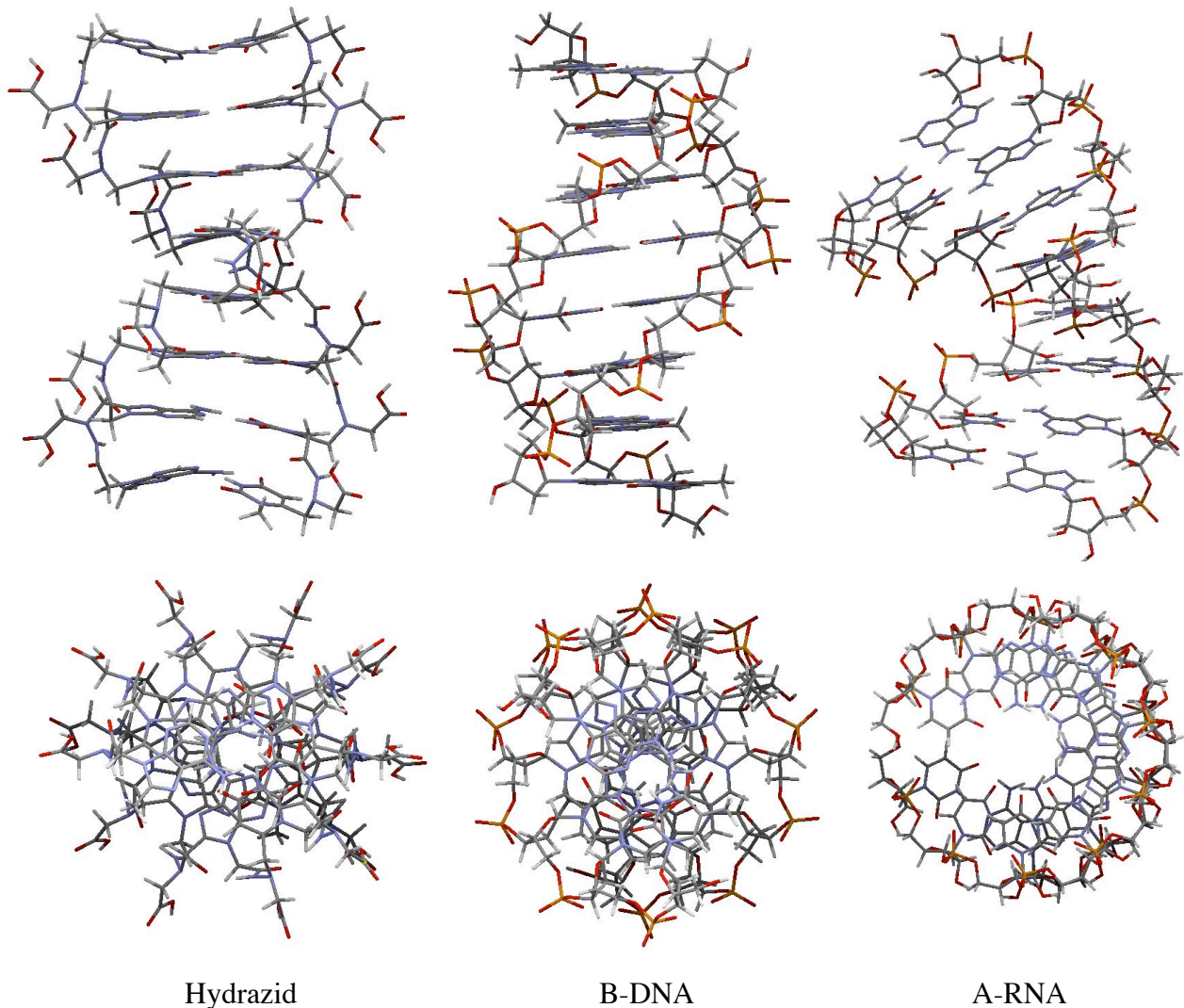
Basenstapelung und die richtige Geometrie der Wasserstoffbrückenbindung im *Watson-Crick*-Modus kann durch Änderung der Torsionswinkel  $\kappa = -50^\circ$ ,  $\xi = 180^\circ$  und  $\zeta = -90^\circ$  zu  $\kappa = -70^\circ$ ,  $\xi = +70^\circ$  und  $\zeta = -100^\circ$  erreicht werden (*Abbildung 20 a*)  $\rightarrow$  *b*). Wir nahmen an, dass die Abweichungen von  $\kappa$  und  $\zeta$  von ihren bevorzugten Werten nur wenig Torsionsspannung zur Folge haben würde und dass die aufzuwendende Energie durch den Beitrag der H-Brücken [13] [218 – 220] und der Basenstapelung [207] [221] [222] überkompensiert würde. Berechnungen zur Abschätzung der aufzuwendenden Energie für die Konformationsänderung des Torsionswinkels  $\xi$  von  $180^\circ$  auf  $+70^\circ$  ergaben widersprüchliche Resultate<sup>7)</sup>. Es war uns daher nicht möglich, die für den Übergang des Konformeren *b*) zum Konformeren *c*) (*Abbildung 20*) aufzuwendende Gesamtenergie zu berechnen.

Modellstudien einiger Dimeren unter Verwendung von *Maruzen*-Modellen und *Macromodel 7.0* zeigten aufgrund unterschiedlicher helikaler Windungen der Basenpaare eine Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz in der Reihenfolge Pyr·Pur  $\approx$  Pyr·Pyr  $\approx$  Pur·Pur  $>$  Pur·Pyr, mit Pyr = Pyrimidinbase und Pur = Purinbase. Aus diesem Grund sollten einige selbstkomplementäre Oktamere mit unterschiedlicher Sequenz synthetisiert und die Stabilitäten der Duplexe miteinander verglichen werden. *Fabio De Giacomo* setzte sich die Synthese der Oktameren **147** ((U<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) und **158** ((UA)<sub>4</sub>) zum Ziel [12]; ich selbst diejenigen der Oligomeren **91** (U<sub>4</sub>A<sub>4</sub>) (aufgrund der ausgeprägten Stapelwechselwirkungen die verheissungsvollste Sequenz), **92** (U<sub>10</sub>) und **94** ((A<sub>2</sub>U<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), wobei **92** auf seine Paarungseigenschaften mit DNA und RNA getestet werden sollte. Wir planten ausserdem, analoge, von Cytosin und Guanin abgeleitete Oligomere zu synthetisieren. Um die konformationellen Voraussetzungen für die Assoziation längerer Oligomere abzuschätzen, minimierte *Fabio De Giacomo* die Konformationsenergie des Oktameren U<sub>4</sub>A<sub>4</sub><sup>8)</sup> und verglich seine Sekundärstruktur mit jener von B-DNA und A-RNA (*Abbildung 22*). In der energetisch minimierten Struktur von U<sub>4</sub>A<sub>4</sub> sind die Nucleobasen über Wasserstoffbindungen im *Watson-Crick*-Modus gepaart, wobei die Konformation des Hydrazid-Verknüpfungselementes jener im zyklischen Duplex (*Abbildung 20 c*) entspricht. Die resultierende Doppelhelix (racemische Mischung von links- und rechtsgängigen Helices) zeichnet sich durch einen Anstieg von 3.6–4 Å pro Base (vgl. B-DNA: 3.4 Å; A-RNA: 2.8 Å), eine Ganghöhe von ca. 39 Å pro Windung (vgl. B-DNA und A-RNA: 34 Å) und eine helikale Windung von ca. 28° pro Basenpaar (vgl. B-DNA: 36°; A-RNA: 31°) aus.

<sup>7)</sup> *Ab initio* Rechnung mit *Spartan '06* unter Verwendung des 6-31G\* Basissatzes.

<sup>8)</sup> *Amber\**-Kraftfeldberechnung mit *Macromodel 7.0* mit vorgegebenen Torsionswinkeln und Abständen der Wasserstoffbrücken zwischen den Nucleobasen.

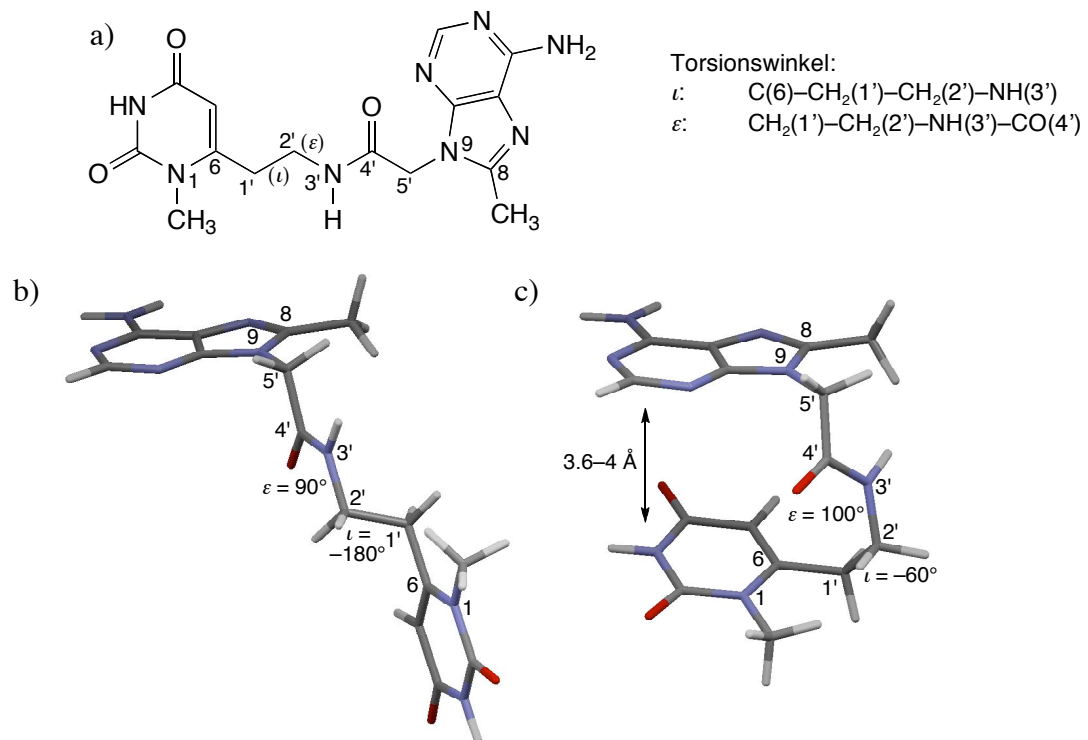
**Abbildung 22:** Modellierte Struktur des hydrazidverknüpften Oktameren **91** ( $U_4A_4$ ) im Vergleich zu der Struktur von B-DNA und A-RNA (Ansicht senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt)



### 3.2. Amid-Analoge

In einem zweiten Projekt führte *Fabio de Giacomo* eine Konformationsanalyse des Amid-Verknüpfungselements durch [12]. Er ersetzte das *N*-unsubstituierte Hydrazid-Verknüpfungselement durch eine isostere Peptideinheit. Es galt damit zu testen, ob die Löslichkeit der Oligomeren und die notwendige Konformation von  $\tau = 60^\circ$  auch ohne den Einfluss der polaren Seitenkette erreicht werden kann. *Fabio de Giacomo* nahm an, dass die energetisch bevorzugten Werte für die Torsionswinkel  $\kappa$ ,  $\lambda$ ,  $\xi$  und  $\zeta$  denjenigen eines De(carboxymethyl)-hydrazid-Verknüpfungselementes entsprechen und beschränkte seine Konformationsanalyse auf die Torsionswinkel  $\iota$  und  $\epsilon$  (Abbildung 23 a) [12].

**Abbildung 23:** a) Lokanten und Bezeichnung der Torsionswinkel<sup>9)</sup> eines amidverknüpften Pyrimidin-Purin (UA) Dimeren b) Konformation des Dimeren mit den energetisch bevorzugten Torsionswinkeln  $\epsilon$  and  $\iota$  c) Konformation des Dimeren in einem zyklischen Duplex mit den passenden Torsionswinkeln  $\epsilon$  and  $\iota$



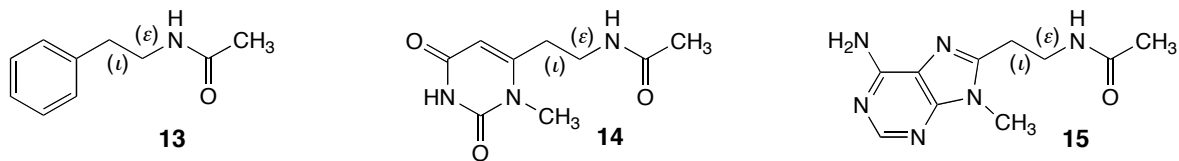
Im Gegensatz zu den hydrazidverknüpften Analogen sollte das Fragment C(6)–CH<sub>2</sub>(1')–CH<sub>2</sub>(2')–NH(3') bevorzugt in einer *antiperiplanaren* Konformation vorliegen ( $\iota = 180^\circ$ ). Um den energetisch bevorzugten Wert für den Torsionswinkel  $\epsilon$  zu ermitteln, betrachteten wir abermals 8 PNA-Strukturen (*PDB*) [50 – 52] [59] [60] [215 – 217]. Zusätzlich berechneten wir die bevorzugte Konformation von *N*-Ethylacetamid<sup>10)</sup>. Sowohl die *PDB*-Daten, als auch die Berechnung ergaben  $\epsilon = \pm 90^\circ$  als den energetisch bevorzugten Wert für  $\epsilon$ . Die resultierende bevorzugte Konformation eines UA-Dinukleosids ist in der *Abbildung 23* am Konformeren b) gezeigt.

Die Bildung eines zyklischen Duplexes erfordert eine *synklinale* Anordnung von C(6) und NH(3') ( $\iota = -60^\circ$ ) und eine Änderung von  $\epsilon = +90^\circ$  zu  $\epsilon = +100^\circ$  (*Abbildung 23 b*) $\rightarrow$ c). Die erforderlichen Änderungen der anderen Torsionswinkel sollten denjenigen im Hydrazid-Verknüpfungselement (*Abbildung 20 b*) $\rightarrow$ c) sehr ähnlich sein. Eine Berechnung der Konformation von *N*-Acetyl-2-phenylethylamin **13**<sup>10)</sup> (*Abbildung 24*) ergab einen kleinen Energieunterschied von 0.25 kcal/mol zwischen dem *antiperiplanaren* und dem *synklinalen* Konformeren ( $\iota = 180^\circ$  und  $\iota = -60^\circ$ ). Analoge Berechnungen mit den von Uracil und Adenin abgeleiteten Acetamiden **14** und **15**<sup>10)</sup> (*Abbildung 24*) ergaben Energiedifferenzen von 1.1, bzw. 0.23 kcal/mol.

<sup>9)</sup> Die willkürliche Nummerierung und die Benennung der Torsionswinkel des Amid-Verknüpfungselements soll die Diskussion im Rahmen der Konformationsanalyse vereinfachen.

<sup>10)</sup> *Ab initio* Rechnung mit *Spartan '06* unter Verwendung des 6-31G\* Basissatzes.

**Abbildung 24:** Modellverbindungen zur Berechnung des Energieunterschieds zwischen  $\tau = 180^\circ$  und  $\tau = -60^\circ$



Wir nahmen an, dass die Stabilisierung durch Wasserstoffbrückenbindungen und Basenstapelung in einem zyklischen Duplex die Destabilisierung durch die *synklinale* Konformation von C(6) und NH(3') überkompensieren würde. Die Wasserlöslichkeit der Oligomeren gedachten wir, wenn nötig, durch die Einführung C- und/oder N-terminaler Aminosäuren mit polaren Seitenketten zu erreichen, ähnlich wie es für die löslichkeitsfördernde Wirkung von L-Lysin-Einheiten in PNAs bekannt ist [42]. Wie bei den Hydrazidanalogen liegt auch bei den Amidanalogen eine Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz vor (Pyr·Pur  $\approx$  Pyr·Pyr  $\approx$  Pur·Pur > Pur·Pyr, mit Pyr = Pyrimidinbase und Pur = Purinbase). Aus diesem Grund nahmen wir uns die Festphasensynthese der Oligomeren **156** (U<sub>4</sub>A<sub>4</sub>) und **157** (C<sub>4</sub>G<sub>4</sub>) vor, die keinen Purin·Pyrimidin-Übergang aufweisen.

### 3.3. Thioether/Amid-Analoge

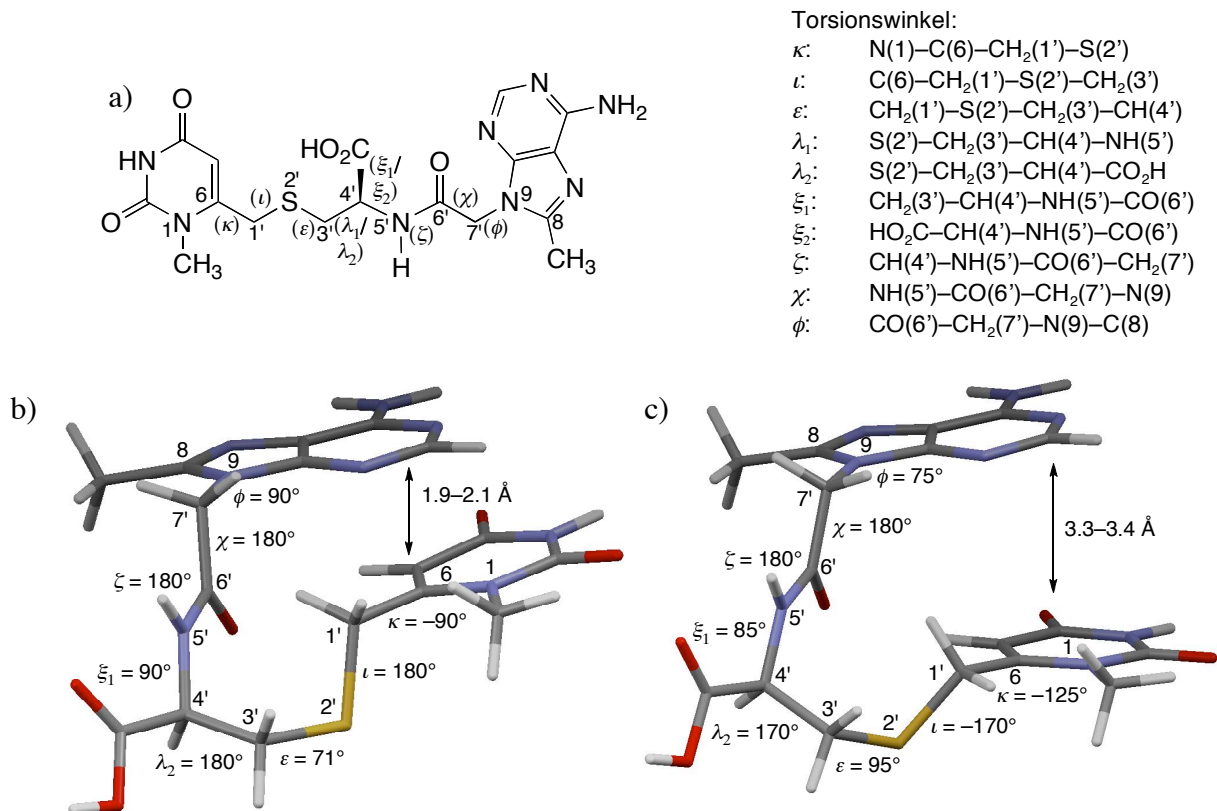
Ich betrachtete Flexibilität und Vororientierung des Verknüpfungselements als die wichtigsten Kriterien für den Strukturentwurf einer dritten Klasse peptidisch verknüpfter ONIBs. Zu diesem Zweck verlängerte ich das Verknüpfungselement um ein Kohlenstoff- und ein Schwefelatom (vgl: Hydrazid und Amid: 5 Atome; Thioether/Amid: 7 Atome; DNA und RNA: 10 Atome; PNA: 11 Atome). Konformationelle Änderungen um C–S-Bindungen sind energetisch wenig aufwendig [4] [223], was allenfalls erforderte konformationelle Änderungen zulassen sollte. Wie bei den Hydrazidanalogen übernahm ich das lineare Acetamidfragment an N(1/9) aus der Struktur der PNA und verknüpfte den Schwefel einerseits über eine Ethylenbrücke mit dem Amid-Stickstoff und andererseits über eine Methylengruppe mit C(6/8). In Analogie zum Hydrazid-Verknüpfungselement führte ich eine polare Seitenkette ein, um die Löslichkeit der Oligomeren bei neutralem oder leicht basischem pH zu gewährleisten. Die Seitenkette wurde in *beta*-Stellung zum Schwefel angebracht; dies führte zu einem Stereozentrum, welches die Analyse der Oligomeren durch temperaturabhängige CD-Spektroskopie erlaubt. Das resultierende Thioether/Amid-Verknüpfungselement ist in der *Abbildung 25 a*) am Beispiel eines Pyrimidin-Purin (UA) Dimeren dargestellt; das eingeschlossene Cystein sollte die Synthese erleichtern.

Auch bei dem Strukturentwurf dieses Verknüpfungselements machte ich mir den Einfluss der Seitengruppe zu Nutze, welche eine *synklinale* Anordnung der Substituenten S(2') und NH(5') begünstigen sollte. Der Schwefel induziert die notwendige zweite *synklinale* Anordnung der Substituenten CH<sub>2</sub>(1') und CH(4') (siehe unten). Kleinere konformationelle Anpassungen sind erforderlich, um vom Konformeren b) in *Abbildung 25* (gekennzeichnet durch einen energetisch ungünstigen Basenabstand), zum Konformeren c) (gekennzeichnet durch einen energetisch günstigen Basenabstand) zu gelangen und damit die Paarung zu ermöglichen. Im Konformeren c) weisen die Nucleobasen eine optimale Distanz für Basenstapelung auf (essentiell



für eine Paarung in Wasser) und besitzen die richtige Geometrie für Wasserstoffbrückenbindung im *Watson-Crick*-Modus.

**Abbildung 25:** a) Lokanten und Bezeichnung der Torsionswinkel<sup>11)</sup> eines thioether/amidverknüpften Pyrimidin-Purin (UA) Dimeren b) Konformation des Dimeren mit den energetisch bevorzugten Torsionswinkeln  $\kappa$ - $\phi$  c) Konformation des Dimeren in einem zyklischen Duplex mit den angepassten Torsionswinkeln  $\kappa$ - $\phi$



Mit einer Konformationsanalyse ermittelte ich die energetisch bevorzugten Werte für die Torsionswinkel  $\kappa$ - $\phi$  (Konformer b) in der *Abbildung 25*) und verglich sie mit jenen, die für die Bildung eines zyklischen Duplexes notwendig sind (Konformer c) in der *Abbildung 25*). In Anlehnung an die Planung der hydrazidverknüpften Analogen bezog ich mich, soweit wie möglich, auf experimentelle Daten und führte nur im Zweifelsfall Berechnungen durch. Die wichtigste Informationsquelle stellten dabei Kristallstrukturen von *N*-acylierten Methioninderivaten dar (*CSD*), die ich mit den Konformationen ähnlicher Fragmente in Lösung verglich. In Übereinstimmung mit der Konformation des Fragments N(1)–C(6)–CH<sub>2</sub>–S eines Thioribofuranosyl-Verknüpfungselements [4] ist die stabilste Konformation des Fragments N(1)–C(6)–CH<sub>2</sub>(1')–S(2') (4-Thioethanolamin) durch den Torsionswinkel  $\kappa = -90^\circ$  gekennzeichnet. Betrachtet man ein Fragment C(1)–C(2)–X–C(3)–C(4), so sind in Ethern (X = O) sowohl C(1) und C(3), als auch C(2) und C(4) *antiperiplanar* angeordnet [224], wohingegen in Thioethern (X = S) eines dieser Kohlenstoffpaare eine *antiperiplanare* und das andere eine *synkli-*

<sup>11)</sup> Die willkürliche Nummerierung und die Benennung der Torsionswinkel des Thioether/Amid-Verknüpfungselements soll die Diskussion im Rahmen der Konformationsanalyse vereinfachen.

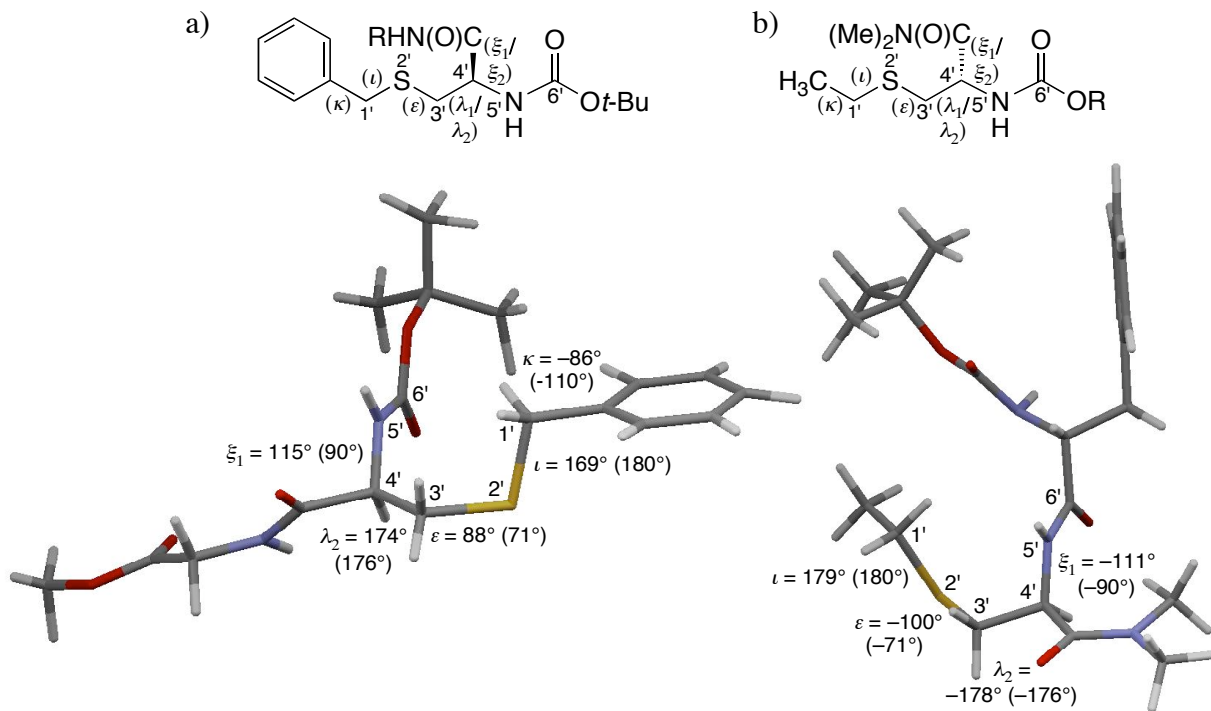
nale Konformation annimmt [4] [223] [225]. In Anlehnung an das Rotationsspektrum von Diethylsulfid ordnete ich daher den Torsionswinkeln  $\iota$  und  $\varepsilon$  des Thioether/Amid-Verknüpfungselements, definiert durch die Fragmente  $C(6)-CH_2(1')-S(2')-CH_2(3')$  und  $CH_2(1')-S(2')-CH_2(3')-CH(4')$ , Werte von  $180^\circ$  bzw.  $+71^\circ$  zu [223]. Ich verglich diese Torsionswinkel mit Kristalldaten von *N*-acylierten Methioninderivaten (*CSD*, 10 nicht-metallkomplexierte oder zyklische Strukturen). Für die vier *S*-phenylsubstituierten Derivate fand ich Werte von  $\kappa = \pm 89 \pm 15^\circ$ . Für drei von fünf *S*-benzyl- oder *S*-ethylsubstituierte *N*-acylierte Methioninderivate wurden die erwarteten Werte von  $\pm 169 \pm 6^\circ$  (*ap*) für  $\iota$  und  $\pm 92 \pm 6^\circ$  (*sc*) für  $\varepsilon$  gefunden. Die anderen beiden Strukturen lieferten Werte von  $\pm 58^\circ$  (*sc*) für  $\iota$  und  $\pm 81 \pm 8^\circ$  ( $\sim sc$ ) für  $\varepsilon$ .

Als Nächstes ermittelte ich die bevorzugten Werte für die Torsionswinkel  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$ , die durch die Fragmente  $S(2')-CH_2(3')-CH(4')-NH(5')$  ( $\lambda_1$ ) und  $S(2')-CH_2(3')-CH(4')-CO_2H$  ( $\lambda_2$ ) definiert sind.  $X-C-C-X$ -Fragmente in denen *X* einem elektronegativen Atom der ersten Periode entspricht (z.B. O oder F), bevorzugen aufgrund der Stabilisierung über den klassischen *gauche* Effekt [4] [22] [24] [226 – 231] eine *synklinale* Konformation. Wenn *X* allerdings ein Element der zweiten oder einer höheren Periode repräsentiert (z.B. S, Cl, oder Br), nehmen  $X-C-C-X$ -Fragmente aufgrund der Abstossung der nichtbindenden Elektronenpaare der Heteroatome, dem *repulsiven gauche* Effekt [231 – 233], bevorzugt eine antiperiplanare Konformation an. Im Falle des Thioether/Amid-Verknüpfungselements fließt ein dritter Faktor, nämlich die Wirkung der Seitenkette **R** in die Überlegungen ein. Es lässt sich nur schwer abschätzen, welcher der drei Faktoren, der *gauche* Effekt, der *repulsive gauche* Effekt, oder die Wirkung der Seitenkette (**R** =  $CO_2H$ ) für die Konformation des substituierten  $S(2')-CH_2(3')-CH(4')\mathbf{R}-NH(5')$ -Fragments ausschlaggebend ist. Eine *antiperiplanare* Konformation von  $S(2')$  und entweder  $NH(5')$  oder  $CO_2H$  führt zu zwei energetisch bevorzugten Anordnungen um die  $CH_2(3')-CH(4')$ -Bindung; eine mit  $\lambda_2 = +60^\circ$  und die andere mit  $\lambda_2 = 180^\circ$  (erfordert für die Bildung eines zyklischen Duplexes). Ich nahm an, dass die in wässrigen Medien bei neutralem oder leicht basischem pH partiell deprotonierte Carboxylgruppe zur Vermeidung einer elektrostatischen Abstossung die grösste Distanz zum Schwefel einnehmen und somit die gewünschte Konformation mit  $\lambda_2 = 180^\circ$  begünstigen würde. Unter 10 kristallinen *N*-acylierten Methioninderivaten (*CSD*) fanden sich für sieben Strukturen Werte von  $\pm 176 \pm 1^\circ$  und für drei Strukturen Werte von  $\pm 63 \pm 10^\circ$  für  $\lambda_2$ . Betrachtet man die Kombination der Fragmente  $CH_2(1')-S(2')-CH_2(3')-CH(4')/S(2')-CH_2(3')-CH(4')-NH(5')$  ( $\varepsilon/\lambda_1$ ) so findet man für sechs von 10 Kristallstrukturen die benötigte *sc/sc*- und für vier Strukturen eine *ap/sc*-Konformation. In vier der sechs *sc/sc*-Konformeren zeigt  $H-N(5')$  der Amidgruppe (*Z*-Konformation) in Richtung des Schwefelatoms und in zwei Strukturen zeigt  $H-N(5')$  von diesem weg, wobei die letztere Anordnung für die Assoziation in einem zyklischen Duplex notwendig ist. Diese beiden Kristallstrukturen sind in der *Abbildung 26* gezeigt und ihre Konformation wird nachfolgend näher diskutiert.

In den beiden Kristallstrukturen in *Abbildung 26* nimmt der Torsionswinkel  $\varepsilon$  einen Durchschnittswert von  $\pm 94 \pm 6^\circ$  an (Summe von  $\varepsilon$  in *BUSCGL* und *FAXLUL* geteilt durch zwei) und weicht damit um  $23^\circ$  vom Idealwert von  $\pm 71^\circ$  ab. Der Grund dafür könnte sich in der Abstossung der nichtbindenden Elektronenpaare von  $S(2')$  mit den nichtbindenden Elektronenpaaren von  $O=C(6')$  (Abstand zwischen  $S(2')$  und  $O=C(6')$ : 3.70–3.97 Å) und der Abstossung der nichtbindenden Elektronenpaare von  $S(2')$  mit dem nichtbindenden Elektronenpaar von  $N(5')$

(Abstand zwischen S(2') und N(5'): 3.22–3.28 Å) finden, wobei die letztere Wechselwirkung der Abstoßung gemäss dem *repulsiven gauche Effekt* entspricht. Auch die Vergrößerung des Torsionswinkels  $\xi$  von  $\pm 90$  auf  $\pm 113 \pm 2^\circ$  (Summe von  $\xi$  in *BUSCGL* und *FAXLUL* geteilt durch zwei) lässt sich so erklären.

**Abbildung 26:** Kristallstrukturen von a) *BUSCGL* [234] und b) *FAXLUL* [235] mit den Werten für die Torsionswinkel  $\kappa$ - $\xi$ . Die Werte für die Torsionswinkel  $\kappa$ - $\xi$  die zur Bildung eines zyklischen Duplexes notwendig sind, sind in Klammern angegeben.



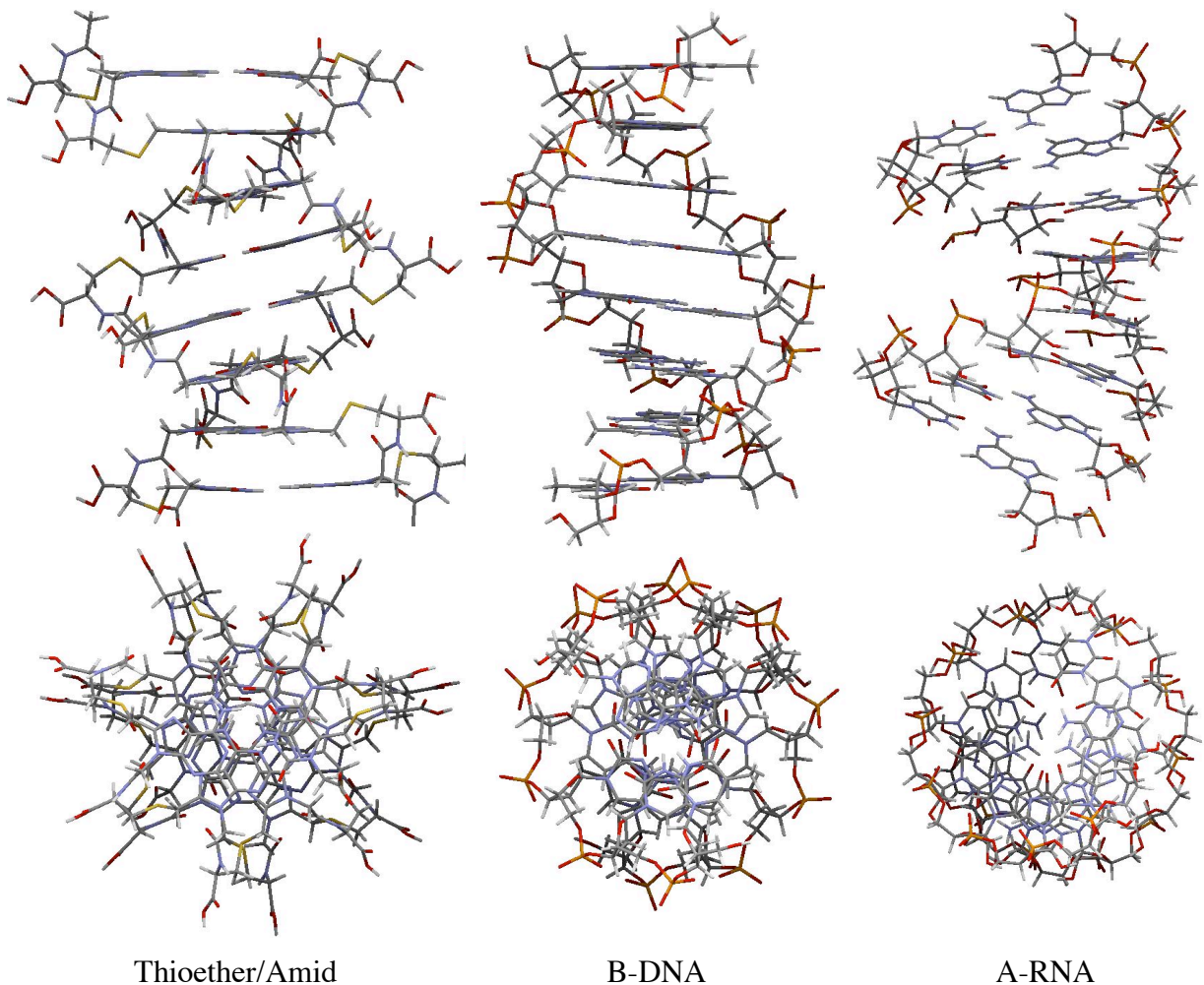
Um den Energieunterschied zwischen den Konformeren mit  $\lambda_2 = +60^\circ$  und  $\lambda_2 = 180^\circ$  zu ermitteln, minimierte ich die Energie von *N*-Acetylmethionin<sup>12)</sup>. Die Berechnung ergab einen Energieunterschied von 1.4 kcal/mol zu Ungunsten des Konformeren mit  $\lambda_2 = 180^\circ$ , der für die Bildung eines zyklischen Duplexes erforderlich ist. Da diese Berechnung in der Gasphase durchgeführt wurde und das Ergebnis im Widerspruch zu den Kristalldaten steht, sollte es mit einiger Skepsis bewertet werden. Nichtsdestoweniger zeigt im berechneten Konformeren mit  $\lambda_2 = 180^\circ$ , in Einklang mit den in der *Abbildung 26* gezeigten Kristallstrukturen, *H*-N(5') der Amidgruppe in Richtung von S(2') und der Torsionswinkel  $\epsilon$  ist, ebenfalls in Übereinstimmung mit den Kristallstrukturen, von  $+71^\circ$  auf  $+89^\circ$  vergrößert. Gemäss der Berechnung ist die aufzuwendende Energie für die Konformationänderung von  $\lambda_2 = 180^\circ$  zu  $\lambda_2 = +170^\circ$  mit weniger als 0.1 kcal/mol vernachlässigbar klein.

Bei der Betrachtung von 8 PNA-Strukturen (*PDB*) fanden sich Werte von  $+90^\circ$ ,  $180^\circ$ ,  $180^\circ$  und  $+90^\circ$  für die Torsionswinkel  $\xi_1$ ,  $\zeta$ ,  $\chi$  und  $\phi$ , wobei die Abweichung von diesen Idealwerten vernachlässigbar klein ist [50 – 52] [59] [60] [215 – 217]. Die Torsionswinkel sind definiert durch die Fragmente CH<sub>2</sub>(3')–CH(4')–NH(5')–CO(6'), CH(4')–NH(5')–CO(6')–CH<sub>2</sub>(7'), NH(5')–CO(6')–CH<sub>2</sub>(7')–N(9) und C(O)–CH<sub>2</sub>–N(9)–C(8) (*Abbildung 25*).

<sup>12)</sup> DFT Rechnung mit *Spartan '06* unter Verwendung des 6-311G\* Basissatzes.

Basenstapelung und die richtige Geometrie für Wasserstoffbrückenbindung im *Watson-Crick*-Modus kann durch Änderung der Torsionswinkel von  $\kappa = -90^\circ$ ,  $\iota = 180^\circ$ ,  $\varepsilon = +71^\circ$ ,  $\lambda_2 = 180^\circ$  (oder evt.  $\lambda_2 = 60^\circ$ ),  $\xi_1 = +90^\circ$  und  $\phi = +90^\circ$  zu  $\kappa = -125^\circ$ ,  $\iota = -170^\circ$ ,  $\varepsilon = +95^\circ$ ,  $\lambda_2 = +170^\circ$ ,  $\xi_1 = +85^\circ$  und  $\phi = +75^\circ$  erreicht werden (*Abbildung 25 b*) $\rightarrow$ *c*). Aufgrund der vielen kleinen konformationellen Anpassungen und der stark unterschiedlichen, oder in Widerspruch mit den experimentellen Daten stehenden Ergebnisse der Berechnungen (als Beispiel siehe Berechnung für  $\lambda_2$  weiter oben) unter Verwendung verschiedener Methoden und Basissätzen, muss ich auf die Abschätzung der aufzuwendenden Gesamtenergie, die für die Überführung des Konformeren b) in das Konformere c) in *Abbildung 20* aufzuwenden ist verzichtet. Aufgrund der Erkenntnisse die sich aus der Konformationsanalyse ergeben war ich zuversichtlich, dass der erforderte Energieaufwand für die Überführung des Konformeren b) in das Konformere c) (*Abbildung 25*) vom Energiegewinn der Wasserstoffbrücken und der Basenstapelung im zyklischen Duplex überkompensiert wird [207] [218 – 222].

**Abbildung 27:** *Modellierte Struktur des thioether/amidverknüpften Oktameren 137 ( $U_2C_2G_2A_2$ ) im Vergleich zu der Struktur von B-DNA und A-RNA (Ansicht senkrecht zur Helixachse und im Querschnitt)*



Wie für die Hydrazid- und Amidanalogen ist auch für die Thioether/Amidanalogen eine Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz zu erwarten ( $\text{Pyr}\cdot\text{Pur} \approx \text{Pyr}\cdot\text{Pyr} \approx \text{Pur}\cdot\text{Pur} > \text{Pur}\cdot\text{Pyr}$ , mit Pyr = Pyrimidinbase und Pur = Purinbase). Aus diesem Grunde zielte ich auf die Synthese der Oligomeren **135** ( $\text{U}_2\text{C}_2\text{G}_2\text{A}_2$ ) und **137** ( $\text{U}_2\text{C}_2\text{U}_2\text{C}_2$ ), die keinen Purin·Pyrimidin-Übergang aufweisen. Das Oktamere **135** sollte auf seine Selbstassoziation und das Sequenzisomere **137** auf seine Paarungseigenschaften mit parallel- und antiparallel-komplementärer DNA und RNA getestet werden. Die Minimierung der Konformationsenergie von **135**<sup>13)</sup> führte zu einer Sekundärstruktur, die ich mit jener von B-DNA und von A-RNA verglich (*Abbildung 27*). In Analogie zu DNA und RNA sind die Nukleobasen von **135** unter Basenpaarung im *Watson-Crick*-Modus gepaart, wobei das Thioether/Amid-Verknüpfungselement dieselbe Konformation aufweist, wie sie im zyklischen Duplex in der *Abbildung 25 c*) angegeben ist. Die resultierende linksgängige Doppelhelix zeichnet sich durch einen Anstieg von 3.3–3.4 Å pro Basenpaar (vgl. B-DNA: 3.4 Å; A-RNA: 2.8 Å), eine Ganghöhe von *ca.* 26 Å pro Windung (vgl. B-DNA und A-RNA: 34 Å) und eine helikale Windung von *ca.* 42° pro Basenpaar (vgl. B-DNA: 36°; A-RNA: 31°) aus.

---

<sup>13)</sup> *Amber\**Kraftfeldberechnung mit *Macromodel 7.0* mit vorgegebenen Torsionswinkeln und Abständen der Wasserstoffbrücken zwischen den Nukleobasen und vorgegebenem Torsionswinkel  $\chi$ .

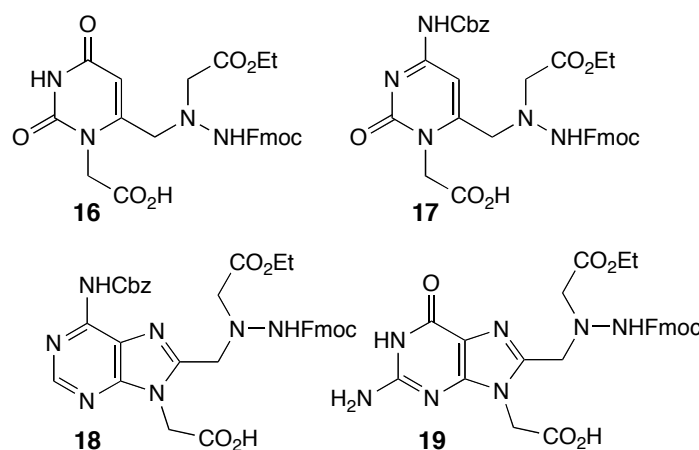
## 4. Synthese

### 4.1. Synthese der Monomeren

#### 4.1.1. Hydrazid-Analoga

Die Festphasensynthese zu hydrazidverknüpften Oligomeren erfordert die von Uracil, Cytosin, Adenin und Guanin abgeleiteten monomeren Carbonsäuren **16**, **17**, **18** und **19** (Abbildung 28). Die von den Pyrimidinen abgeleiteten Monomeren **16** und **17** wurden von *Fabio de Giacomo* synthetisiert [12]; die von den Purinen abgeleiteten Monomeren **18** und **19** von mir selbst. Im Folgenden wird die Synthese von **18** und **19** eingehend beschrieben; die detaillierte Beschreibung der Synthese von **16** und **17** findet sich in der Dissertation von *Fabio de Giacomo* [12].

**Abbildung 28:** Die Carbonsäuren **16**, **17**, **18** und **19**, Bausteine für die Festphasensynthese der Oligomeren **91** ( $U_4A_4$ ), **92** ( $U_{10}$ ), **94** ( $(A_2U_2)_2$ ) und **101** ( $(CG)_4$ )



Wir schützten die *N*- und *C*-Termini der Monomeren temporär als Fluorenylmethyl- (Fmoc) carbamat, bzw. als *tert*-Butylester; die von Guanin abgeleiteten Monomeren wurden an O=C(6) temporär durch *O*-Benzilyerung geschützt. Als dauerhafte Schutzgruppen wählten wir für die exozyklischen Aminogruppen von Cytosin und Adenin die Benzyloxycarbamat- (Cbz) Schutzgruppe; die Carboxylgruppen der Seitenketten wurden zum Schutz in Ethoxycarbonylgruppen übergeführt. Die exozyklischen Amino- und Imidgruppen der von Guanin bzw. Uracil abgeleiteten Monomeren erforderten keinen Schutz.

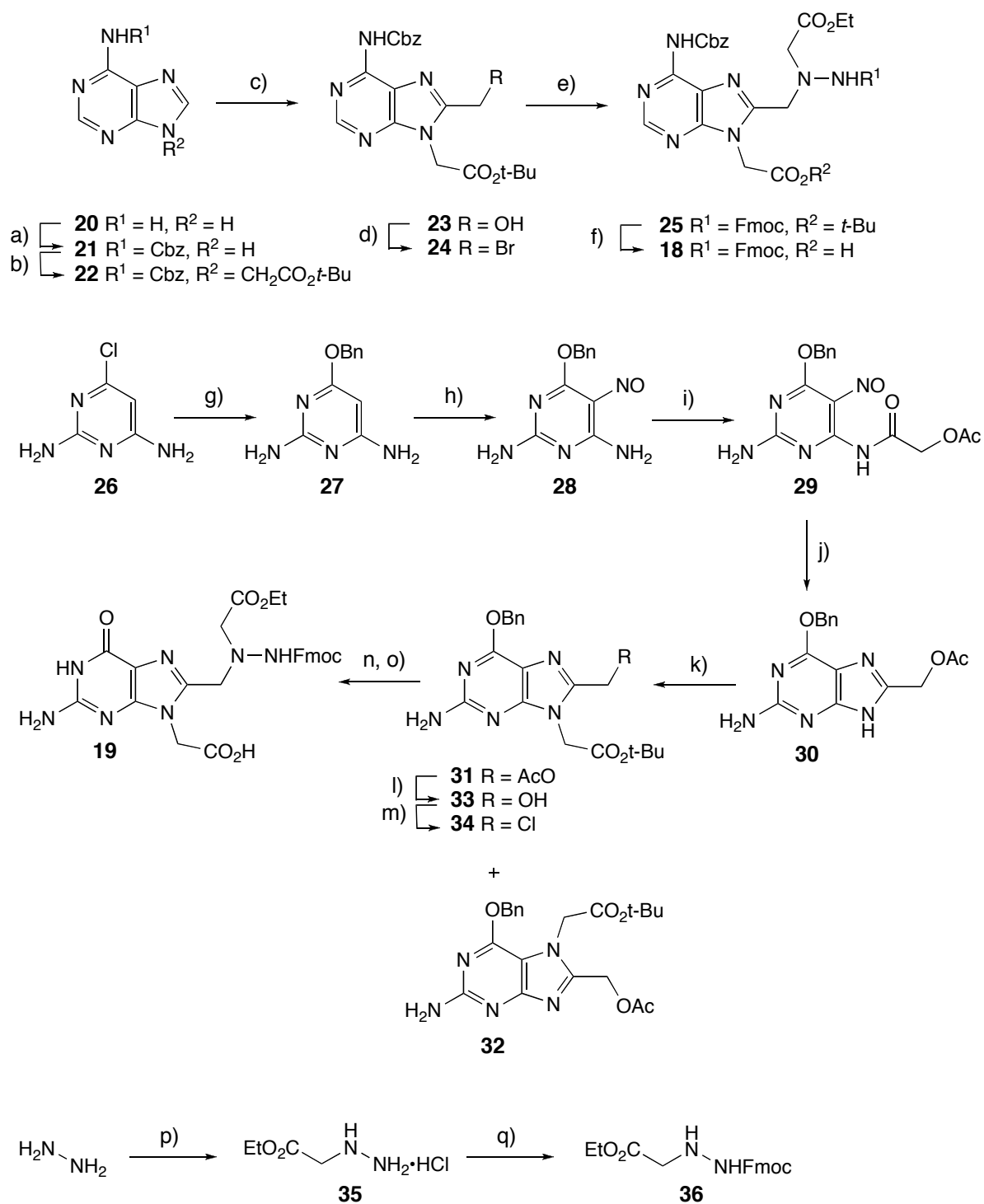
Für die Synthese der von Uracil, Cytosin und Adenin abgeleiteten Monomeren wurden die natürlichen Nucleobasen als Startmaterial gewählt. Die von den Pyrimidinen abgeleiteten Monomeren **16** und **17** wurden durch Hydroxymethylierung an C(6), das von Adenin abgeleitete Monomere **18** über die analoge Funktionalisierung an C(8), anschließende Halogenierung, Substitution mit Fmoc-Hydrazinoessigsäureethylester und Spaltung der *tert*-Butylester gewonnen. Der C(8)-hydroxymethylierte Vorläufer von **19** wurde durch reduktive Cyclisierung eines 5-Nitroso-6-acylaminopyrimidins erhalten.

#### 4.1.1.1. Synthese der Purin-Monomeren

Zur Synthese der von Adenin abgeleiteten Carbonsäure **18** modifizierte ich die Vorschrift von Thomson *et al.* [74] zur Einführung der Cbz-Gruppe in Adenin (**20**) unter Bildung von **21** (Schema 3). Ich deprotonierte Adenin mit NaH und verwendete an Stelle der vorgeschlagenen 2.2 Äquivalente Benzylchlorformiat nur die Hälfte, was zu einer Steigerung der Ausbeute von **21** von 44% auf 76% führte (Ansatzgrösse 5-80 g). Die Alkylierung von **21** mit *tert*-Butylchloracetat [74] ergab 78% an **22**. Zur Hydroxymethylierung von **22** an C(8) bewährte sich die Deprotonierung mit Lithiumdiisopropylamid (LDA), Formylierung mit DMF, Hydrolyse des Substitutionsproduktes und Reduktion des daraus entstandenen Aldehyds mit NaBH<sub>4</sub>, was neben kleinen Mengen an Startmaterial 76% an **23** ergab. Zur Einführung einer Abgangsgruppe mesylierte ich **23** mit Methansulfonsäureanhydrid (Ms<sub>2</sub>O) in Kombination mit Hünig's Base und versetzte das Reaktionsprodukt mit einer Lösung von LiBr in DMF. Dieses Verfahren führte in 85% zum Bromid **24**, welches nach einer Substitution mit dem Hydrazinacetat **36** in DMF, ohne Zugabe zusätzlicher Base, 85% des vollständig geschützten Adenin-Monomeren **25** ergab. Die Verwendung von Hünig's Base, oder von Kaliumcarbonat beschleunigte zwar die Substitution, resultierte jedoch in teilweiser Abspaltung der Fmoc-Gruppe. Die Verwendung des an C(8) chlormethylierten Analogens von **24**, das durch Umsetzung von **23** mit Mesylchlorid (MsCl) und Hünig's Base in Dichlormethan oder DMF erhalten wurde, führte zu keiner Umsetzung mit dem Hydrazin **36**; das Chlormethylderivat liess sich durch eine Behandlung mit LiBr in DMF oder DMSO, bei Temperaturen zwischen 25 und 100°, nicht in das Bromid **24** überführen. Die Spaltung des *tert*-Butylesters **25** mit TFA in Dichlormethan ergab in 98% Ausbeute die Carbonsäure **18**, wobei sich durch Verwendung eines grossen Überschusses an Triethylsilan die teilweise Abspaltung der Cbz-Schutzgruppe vermeiden liess [74].

Das zur Einführung des Hydrazinsubstituenten benötigte Hydrazin **36** wurde über den bekannten Hydrazinoessigsäureester **35** aus Hydrazin erhalten. Das alkylierte Hydrazin **35** wurde gemäss den Angaben der Literatur [236] durch Alkylierung von Hydrazin mit Chloressigsäure in EtOH unter Rückfluss, anschliessende Sättigung der auf 0° abgekühlten Lösung mit HCl-Gas und anschliessende Fischer-Veresterung gewonnen. Die Veresterung stellte sich im grossen Maßstab (70 g) als schwierig heraus, da eine Übersättigung der ethanolischen Lösung mit HCl nötig war und dieses beim Erwärmen der Lösung rasch entwich. Eine Hochdruckapparatur für eine Reaktion dieser Ansatzgrösse stand mir nicht zur Verfügung. Als weiteres Problem stellte sich die Kristallisation von **35** heraus. Wenn die Reaktion im grossen Maßstab durchgeführt wurde, schied sich beim Erkalten der sauren Ethanollösung ein Öl ab, das nur mit Hilfe eines Impfkristall von **35** zur Kristallisation gebracht werden konnte. Die Einführung der Fmoc-Gruppe durch Umsetzung von **35** mit Fmoc-Succinimidester und NMM in THF ergab 78% an **36**.

Zur Synthese der von Guanin abgeleiteten Carbonsäure **19** setzte ich das kommerziell erhältliche 2,6-Diamino-4-chlorpyrimidin (**26**) mit Benzylalkohol und NaH in DMSO um und erhielt das bekannte 2,6-Diamino-4-(benzyloxy)-pyrimidin (**27**) in einer Ausbeute von 79% (Schema 3) [237].

**Schema 3: Synthese der Adenin- und Guanin-Carbonsäuren 18 und 19**


a) 1. NaH, DMF. 2. ClCO<sub>2</sub>Bn; 76%. b) ClCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>t-Bu, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF; 78%. c) 1. LDA, THF, -76°. 2. DMF, -76°. 3. AcOH, EtOH. 4. NaBH<sub>4</sub>; 76%. d) 1. Ms<sub>2</sub>O, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. 2. LiBr, DMF; 85%. e) **36**, DMF; 85%. f) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 98%. g) NaH, BnOH, DMSO, 80°; 79%. h) NaNO<sub>2</sub>, AcOH, H<sub>2</sub>O; 96%. i) ClCOCH<sub>2</sub>OAc, THF; 84%. j) PPh<sub>3</sub>, *o*-Xylol, 120°; 99%. k) ClCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>t-Bu, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF; 69% an **31**. l) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH/H<sub>2</sub>O; 94%. m) 1. MsCl, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF. 2. LiCl; 47%. n) **36**, Bu<sub>4</sub>NBr, 2,6-Lutidin, DMSO. o) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 91% aus **34**. p) 1. ClCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, EtOH, 78°. 2. HCl, 78°; 39%. q) Fmoc-OSu, NMM, THF; 78%.



Nitrosierung an C(5) gemäss der Vorschrift von *Pfleiderer et al.* ergab 96% des bekannten 2,6-Diamino-4-(benzyloxy)-5-nitrosopyrimidins (**28**) [237], dessen C(6)-Aminogruppe mit Acetoxyacetylchlorid in THF acyliert wurde. Dies ergab das 5-Nitroso-6-acylaminopyrimidin **29** in einer Ausbeute von 84%. Den Fortschritt der heterogenen Reaktion verfolgte ich über den Farbumschlag von violett (**28**) nach blau (**29**). Die Verwendung einer Base, wie *Hünig's* Base oder 2,6-Lutidin beschleunigte zwar die Reaktion, ergab jedoch eine weniger saubere Umsetzung. Das 5-Nitroso-6-acylaminopyrimidin **29** wurde über reduktive Cyclisierung mit Triphenylphosphin in *o*-Xylol bei 120° [238 – 240] in annähernd quantitativer Ausbeute zum 8-Acetoxyethylpurin **30** umgesetzt. Wiederum wurde der Fortschritt der Reaktion über den Farbumschlag, in diesem Fall von blau (**29**) nach gelb verfolgt. Die Alkylierung von **30** mit *tert*-Butylchloracetat ergab ein 3:1-Gemisch der an N(9) und N(7) alkylierten Produkte **31** und **32**. Die Regioselektivität der Reaktion ist damit vergleichbar mit jener der Alkylierung von 2-Amino-6-chlorpurin [56] [74], welches aufgrund seines hohen Preises nicht als Startmaterial verwendet wurde. Das benötigte, an N(9) alkylierte Regioisomere **31** wurde in 59% Ausbeute durch chromatographische Trennung des Rohprodukts gewonnen, und seine Konstitution anhand des Kreuzsignals zwischen C(8) und CH<sub>2</sub>-N(9) in einem HMBC-Spektrum nachgewiesen. Die Entacetylierung von **31** ergab in 94% Ausbeute den Alkohol **33**, der mit Mesylchlorid/LiCl in sein Chlormethylderivat **34** übergeführt wurde. Die Ausbeute von 76%, die bei der Reaktionsfolge im Maßstab von 0.6 g erzielt wurde, sank bei einer Umsetzung im Maßstab von 16 g auf 47%. Die Reaktion im grösseren Maßstab war weniger sauber und die Reinigung von **34** durch Säulenchromatographie erwies sich aufgrund der schlechten Löslichkeit von **34** in organischen Lösungsmitteln und seiner Zersetzung an Kieselgel bei Verwendung von Methanol als Teil des Laufmittelgemisches als schwierig. Die Synthese des Chlorids **34**, oder des entsprechenden Mesylats oder Bromids durch Mesylierung von **33** mit MsCl/LiCl oder MsCl/LiBr in Dichlormethan, DMF oder Pyridin, aber auch die Umsetzung von **33** unter *Appel*-Bedingungen mit PPh<sub>3</sub> und CBr<sub>4</sub> in Pyridin, führten zu keinen besseren Ergebnissen. Die Alkylierung des geschützten Ethylhydrazinacetats **36** mit **34** unter den Bedingungen der Synthese von **25** schlug fehl, da **36** ohne einen Zusatz von Base nicht mit **34** reagierte. Die Zugabe von *Hünig's* Base führte zu einer teilweisen Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe, wohingegen die Zugabe von 2,6-Lutidin die Reaktion nur leicht beschleunigte. Durch die Kombination von Tetrabutylammoniumbromid und 2,6-Lutidin und der Verwendung von DMSO lies sich **36** mit **34** innerhalb von drei Tagen vollständig umsetzen. Eine säulenchromatographische Reinigung lieferte ein Gemisch aus **36** und dem vollständig geschützten, von Guanin abgeleiteten Monomeren, welches mit TFA und Triethylsilan in Dichlormethan unter gleichzeitiger Spaltung des Benzylethers [56] in 91% Ausbeute (bezogen auf **34**) in die Carbonsäure **19** übergeführt wurde, wobei das Hydrazin **36** wurde über einen Waschvorgang von **19** getrennt wurde.

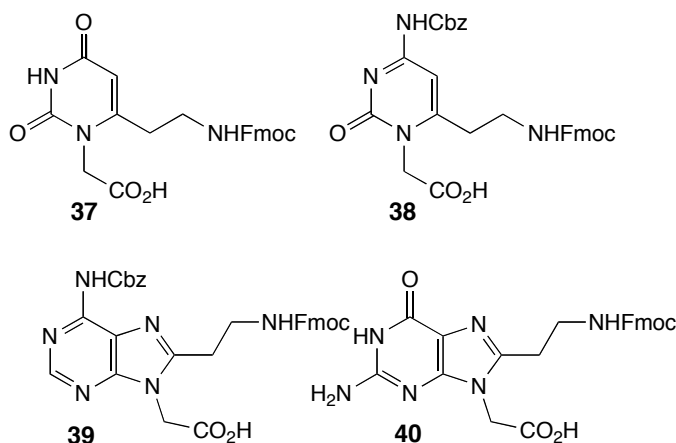
Ursprünglich plante ich, C(2)-NH<sub>2</sub> des Guanin-Monomeren **19** durch Benzyloxycarbonylierung zu schützen, um die unerwünschte Acylierung der Aminogruppe bei der Hydrazidkopplung und dem Blocken zu verhindern. Versuche, um **29**, **31** und **19** zu schützen scheiterten allerdings unter einer Reihe von Bedingungen, wie denjenigen die zur Schützung von Adenin verwendet wurden (siehe oben), der Verwendung des *Rapoport* Reagenzes (1-Benzyloxycarbonyl-2-ethylimidazoliumtetrafluorborat) [241] [242], oder der Verwendung

von Benzylchlorformiat in Gegenwart von KH und 18-Krone-6 [74] [243]. Es stellte sich jedoch heraus, dass sich der Schutz von C(2)-NH<sub>2</sub> erübrigte. Im Einklang mit den Beobachtungen der Literatur für Guanin-Monomere zur Synthese von PNAs [93] [56] [244], reagierte das Guanin **31** weder mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart von *Hünig's* Base (den Bedingungen für das Blocken; vgl. Kapitel 4.2.1.1.), noch mit **16** oder **18** in Kombination mit HATU und *Hünig's* Base (den Bedingungen für die Hydrazidkopplung; vgl. Kapitel 4.2.1.1.).

#### 4.1.2. Amid-Analoge

Die Festphasensynthese zu amidverknüpften Oligomeren erfordert die von Uracil, Cytosin, Adenin und Guanin abgeleiteten monomeren Carbonsäuren **37**, **38**, **39** und **40** (Abbildung 29). Das von Uracil abgeleitete Monomere **37** wurde vom Diplomanden *Martin Schandl* (April 2008 – September 2008), unter der Leitung von *Fabio de Giacomo* synthetisiert; die Monomeren **38**, **39** und **40** von mir selbst. Die Synthese aller Monomeren wird im Folgenden beschrieben.

**Abbildung 29:** Die Carbonsäuren **37**, **38**, **39** und **40**, Bausteine für die Festphasensynthese der Oktameren **156** (U<sub>4</sub>A<sub>4</sub>) und **157** (C<sub>4</sub>G<sub>4</sub>)



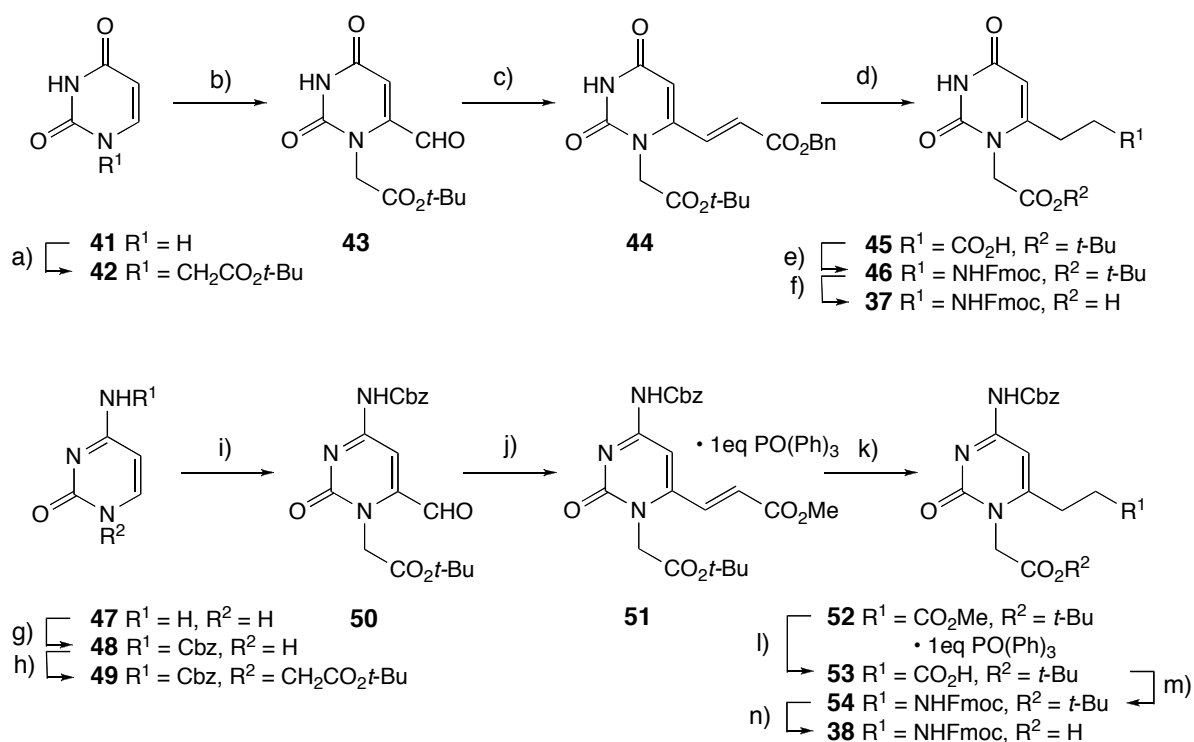
In Analogie zu den Monomeren der hydrazidverknüpften Analogen wurden, ausser für das von Guanin abgeleitete Monomere, die natürlichen Nukleobasen als Startmaterial gewählt. Die Carbonsäuren **37**, **38** und **39** wurden durch *Wittig*-Reaktion der an C(6/8) formylierten Vorläufer, Reduktion der erhaltenen Acrylate, Spaltung der Benzyl- oder Methoxycarbonylgruppen und *Curtius*-Abbau, gefolgt von einer Spaltung des *tert*-Butylesters erhalten. Das Guanin-Monomere **40** wurde durch reduktive Cyclisierung, Austausch der Phthaloyl- gegen die Fmoc-Gruppe und anschliessende Spaltung des *tert*-Butylesters gewonnen.

##### 4.1.2.1. Synthese der Pyrimidin-Monomeren

Zur Synthese der von Uracil abgeleiteten Carbonsäure **40** alkylierte *Martin Schandl* Uracil (**41**) gemäss einer bekannten Vorschrift [245] mit *tert*-Butylbromacetat an N(1) und erhielt das *tert*-Butyluracil-1-acetat (**42**) in einer Ausbeute von 74% (Schema 4). Formylierung von **42** mit LDA und DMF führte neben Startmaterial in 37% Ausbeute zum Aldehyd **43**. Angaben zur Optimierung dieser Reaktion finden sich in der Dissertation von *Fabio de Giacomo*

[12]. Aufgrund der schlechten Löslichkeitseigenschaften des amorphen **43** in organischen Lösungsmitteln erwies sich seine chromatographische Reinigung als schwierig, was mehrere Trennvorgänge nötig machte. Der Aldehyd **43** wurde in einer *Wittig*-Reaktion mit Benzyl(triphenylphosphoranyliden)acetat in THF in 76% Ausbeute zum Benzylacrylat **44** umgesetzt. Die Hydrierung der Doppelbindung von **44** mit Pd/C in THF/MeOH ging mit der hydrogenolytischen Spaltung des Benzylesters einher und ergab die Carbonsäure **45** in annähernd quantitativer Ausbeute. Diese Carbonsäure wurde mit Ethylchloroformiat in THF in ihr gemischtes Anhydrid übergeführt, mit Natriumazid zum Acylazid umgesetzt und nach wässriger Aufarbeitung in trockenem Dioxan in Gegenwart von 9-Fluorenylmethanol über einen *Curtius*-Abbau thermolytisch in das vollständig geschützte Uracil-Monomere **46** umgewandelt (90%). Durch die Spaltung des *tert*-Butylesters **46** mit TFA erhielt *Martin Schandl* die Carbonsäure **37** in einer Ausbeute von 72%.

**Schema 4: Synthese der Uracil- und Cytosin-Carbonsäuren **37** und **38****



a)  $\text{BrCH}_2\text{CO}_2t\text{-Bu}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF; 74%. b) 1. LDA, THF,  $-76^\circ$ . 2. DMF,  $-76^\circ$ . 3. AcOH; 37%. c)  $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Bn}$ , THF; 76%. d)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ , MeOH/THF; 100%. e) 1.  $\text{ClCO}_2\text{Et}$ , *i*- $\text{Pr}_2\text{NEt}$ , THF. 2.  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ . 3. 9-Fluorenylmethanol, Dioxan,  $100^\circ$ ; 90%. f) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 72%. g) 1. NaH, DMF. 2.  $\text{ClCO}_2\text{Bn}$ ; 82%. h)  $\text{ClCH}_2\text{CO}_2t\text{-Bu}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , DMF; 68%. i) 1. LDA, THF,  $-76^\circ$ . 2. DMF,  $-76^\circ$ . 3. AcOH, EtOH; 64%. j)  $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Me}$ , THF; 97%. k)  $\text{NaBH}_4$ , MeOH; 98%. l) LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ ; 83%. m) 1.  $\text{ClCO}_2\text{Et}$ , *i*- $\text{Pr}_2\text{NEt}$ , THF/Aceton. 2.  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ . 3. 9-Fluorenylmethanol, Dioxan,  $80^\circ$ ; 57%. n) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%.

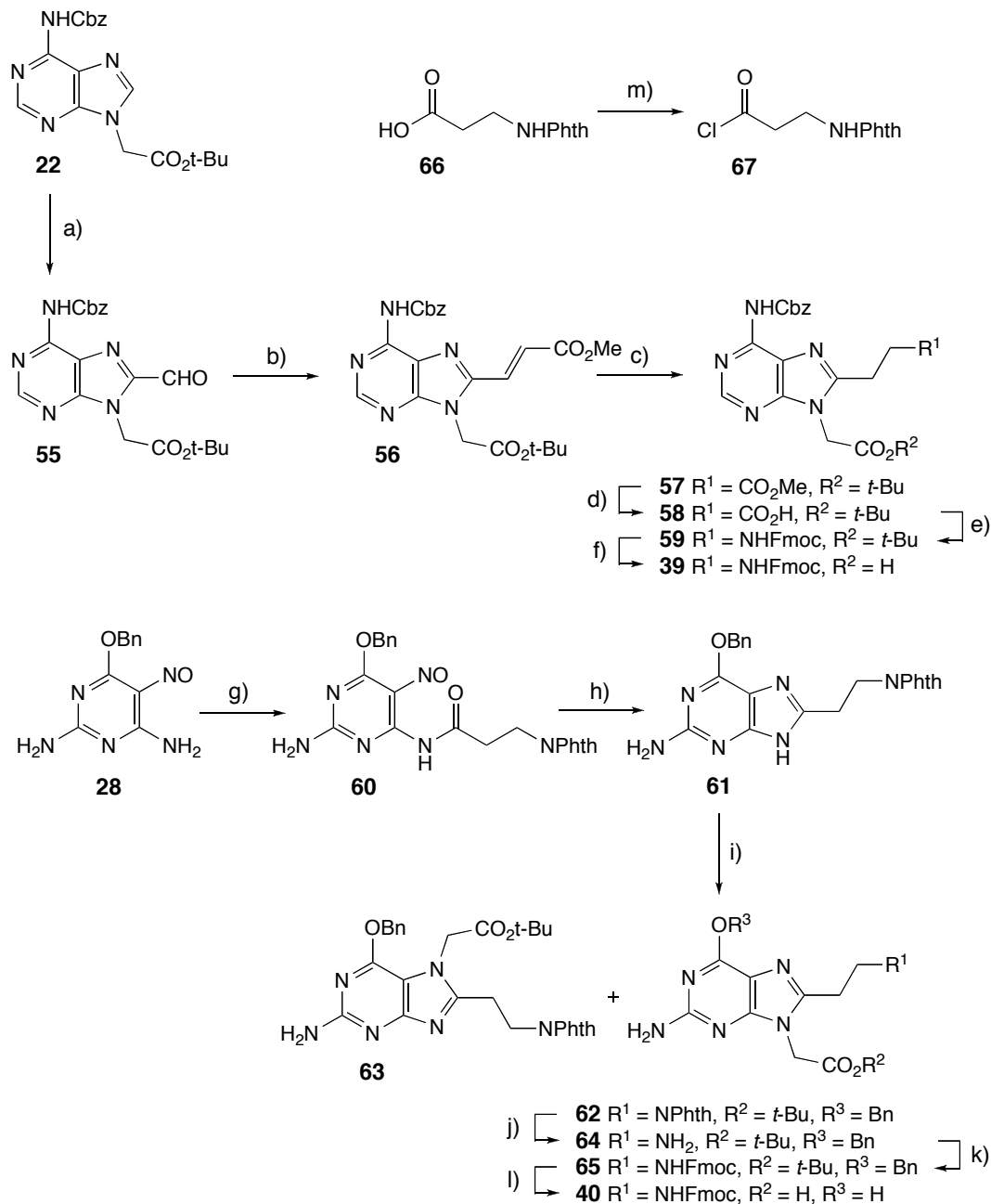
Für die Synthese der von Cytosin abgeleiteten Carbonsäure **38** schützte ich Cytosin (**47**) durch Carbobenzoylierung (*Schema 4*). Dazu modifizierte ich die Vorschrift von *Dueholm et al.* [56] [74] indem ich eine Suspension von Cytosin in DMF mit NaH deprotonierte und die Suspension mit einem leichten Überschuss an Benzylchloroformiat versetzte, während die Vor-

schrift von *Dueholm* Pyridin als Lösungsmittel vorsieht (*Schema 4*). Dadurch konnte ich die Ausbeute von **48** von 43–56% auf 82% steigern (Ansatzgrösse 4 bis 40 g). Das carbobenzoxylierte *tert*-Butylcytosin-1-acetat **49** wurde durch Alkylierung von **48** mit *tert*-Butylchloracetat in 68% Ausbeute gewonnen [74]. Die Umsetzung von **49** mit LDA und DMF ergab neben Startmaterial den Aldehyd **50** in 64% Ausbeute. Eine Wittig-Reaktion von **50** mit Methyl(triphenylphosphoranyliden)acetat ergab das Methylacrylat **51**, das in einem Maßstab von 7 g nicht vollständig vom Triphenylphosphinoxid getrennt werden konnte. Die olefinische Doppelbindung von **51**-Ph<sub>3</sub>PO wurde mit NaBH<sub>4</sub> in MeOH zu **52**-Ph<sub>3</sub>PO reduziert. Diese Reduktion, wie auch die Reduktion anderer C(6/8)-Nukleinsäureacrylate ist unbekannt und für die Synthese von **38** und **39** (siehe unten) von Bedeutung, da eine palladiumkatalysierte Hydrierung der Doppelbindung mit H<sub>2</sub> die gleichzeitige Abspaltung der Cbz-Gruppe bewirkt und damit eine andere Schutzgruppenstrategie erfordert hätte. Die Verseifung von **52** mit LiOH in H<sub>2</sub>O/THF lieferte die Carbonsäure **53**, die durch Säulenchromatographie vom Triphenylphosphinoxid getrennt wurde. Das vollständig geschützte Cytosin-Monomere **54** wurde in 57% Ausbeute über einen *Curtius*-Abbau und das Abfangen des Isocyanats mit 9-Fluorenylmethanol erhalten, wobei 29% des Startmaterials **53** (das einer unvollständigen Reaktion zum intermediären Acylazid oder seiner partiellen Hydrolyse während der Aufarbeitung entstammt) durch Ansäuern und Ausschütteln der wässrigen Phase mit Dichlormethan zurückgewonnen wurde. Der *tert*-Butylester **54** wurde mit TFA und einem grossen Überschuss von Triethylsilan gespalten und ergab die Carbonsäure **38** in annähernd quantitativer Ausbeute.

#### 4.1.2.2. Synthese der Purin-Monomeren

Zur Synthese der von Adenin abgeleiteten Carbonsäure **39** (*Schema 5*) formylierte ich das carbobenzoxylierte *tert*-Butyladenin-9-acetat **22** [74] und erhielt den Aldehyd **55** in 58% Ausbeute. Eine Wittig-Reaktion unter ähnlichen Bedingungen, wie sie zur Synthese von **51** diente, lieferte das Methylacrylat **56** (90%). Die Reduktion der olefinischen Doppelbindung von **56** mit NaBH<sub>4</sub> in MeOH ergab **57** (73%), das durch Verseifung mit LiOH in H<sub>2</sub>O/THF 4:1 in 81% Ausbeute in die Carbonsäure **58** übergeführt wurde. Diese Carbonsäure wurde in das entsprechende Acylazid umgewandelt und dieses über einen *Curtius*-Abbau und Abfangen des Isocyanats mit 9-Fluorenylmethanol in einer Ausbeute von 52% zum vollständig geschützten Adenin-Monomeren **59** umgesetzt, wobei 13% des Startmaterials **58** aus der wässrigen Phase der Aufarbeitung zurückgewonnen wurde. Die Spaltung des *tert*-Butylesters mit TFA in Gegenwart eines grossen Überschusses an Triethylsilan ergab die Carbonsäure **39** in 98% Ausbeute.

Zur Synthese der von Guanin abgeleiteten Carbonsäure **40** acylierte ich 2,6-Diamino-4-(benzyloxy)-5-nitrosopyrimidin (**28**) [237] mit *N*-Phthaloyl- $\beta$ -alanylchlorid (**67**) und erhielt das Nitrosoamid **60** in einer Ausbeute von 94% (*Schema 5*). Das Säurechlorid **67** wurde gemäss der Vorschrift von *Seebach et al.* [246] in 98% Ausbeute durch Umsetzung des kommerziell erhältlichen *N*-Phthaloyl- $\beta$ -alanin mit Oxalylchlorid gewonnen.

**Schema 5: Synthese der Adenin- und Guanin-Carbonsäuren 39 und 40**


a) 1. LDA, THF,  $-76^\circ$ . 2. DMF,  $-76^\circ$ . 3. AcOH, EtOH; 58%. b)  $\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Me}$ , THF; 90%.  
 c)  $\text{NaBH}_4$ , MeOH; 73%. d) LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ ; 81%. e) 1.  $\text{ClCO}_2\text{Et}$ ,  $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ , THF/Aceton. 2.  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ . 3. 9-Fluorenylmethanol, Dioxan,  $80^\circ$ ; 52%. f) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%. g) **67**, THF; 94%.  
 h)  $\text{PMe}_3$ , Toluol,  $60^\circ$ . i)  $\text{ClCH}_2\text{CO}_2t\text{-Bu}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , DMF; 51% an **62**. j)  $\text{N}_2\text{H}_4$ , EtOH; 86%.  
 k) Fmoc-OSu, THF; 86%. l) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%. m)  $(\text{COCl})_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%.

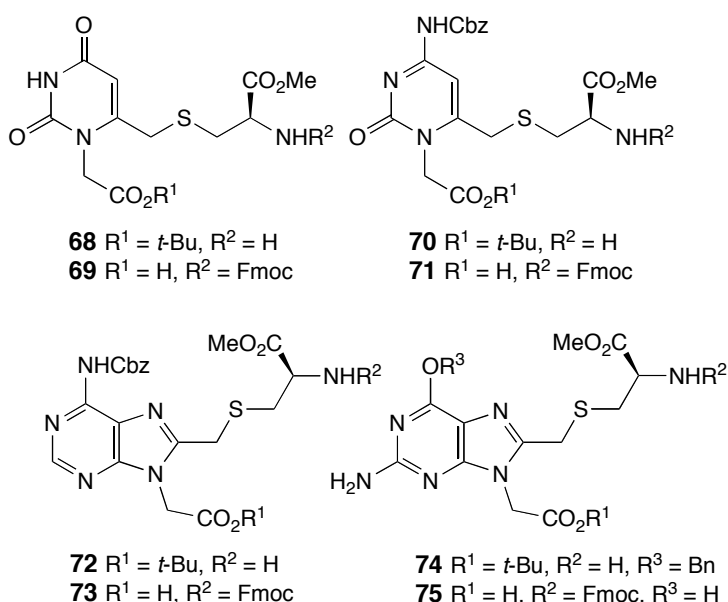
Die reduktive Cyclisierung von **60** zum 8-(Phthalimidoethyl)purin **61** musste aufgrund der teilweisen Zersetzung von **60** bei der Umsetzung mit  $\text{Ph}_3\text{P}$  bei  $120^\circ$  mit  $\text{Me}_3\text{P}$  durchgeführt werden, was die Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf  $60^\circ$  erlaubte. Das an C(8) substituierte Rohprodukt **61** wurde mit *tert*-Butylchloracetat alkyliert, was zu den beiden, an N(9)- bzw. N(7)-alkylierten Regioisomeren **62** und **63** führte (ca. 3:1 Gemisch), deren Struktur nach

der chromatographischen Trennung über die Kreuzsignale von C(8) und  $CH_2-N(9)$  in einem HMBC-Spektrum nachgewiesen wurde. Das gewünschte Regioisomere **62** wurde in einer Ausbeute von 51% (bezogen auf **60**) erhalten. Eine hydrazinolytische Dephthaloylierung in EtOH ergab daraus das Amin **64** in 86% Ausbeute, das durch Einführen der Fmoc-Schutzgruppe in einer Ausbeute von 86% zum vollständig geschützten Guanin-Monomeren **65** umgesetzt wurde. Der *tert*-Butylester **65** wurde mit TFA/ $Et_3SiH$  gespalten, wobei unter gleichzeitiger Debenzylierung die Carbonsäure **40** in 98% Ausbeute gewonnen wurden.

#### 4.1.3. Thioether/Amid-Analogue

Die Synthese der thioether/amidverknüpften Oktameren musste in Lösung durchgeführt werden (Kapitel 4.2.3.2.) was zusätzlich zu der Synthese der von Uracil-, Cytosin-, Adenin- und Guanin abgeleiteten monomeren Carbonsäuren **69**, **71**, **73** und **75** die Synthese der monomeren Amine **68**, **70**, **72** und **74** erforderte (Abbildung 30).

**Abbildung 30:** Die Amine **68**, **70**, **72** und **74** und die Carbonsäuren **69**, **71**, **73** und **75**, Bausteine für die Synthese der Oktameren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) und **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ )



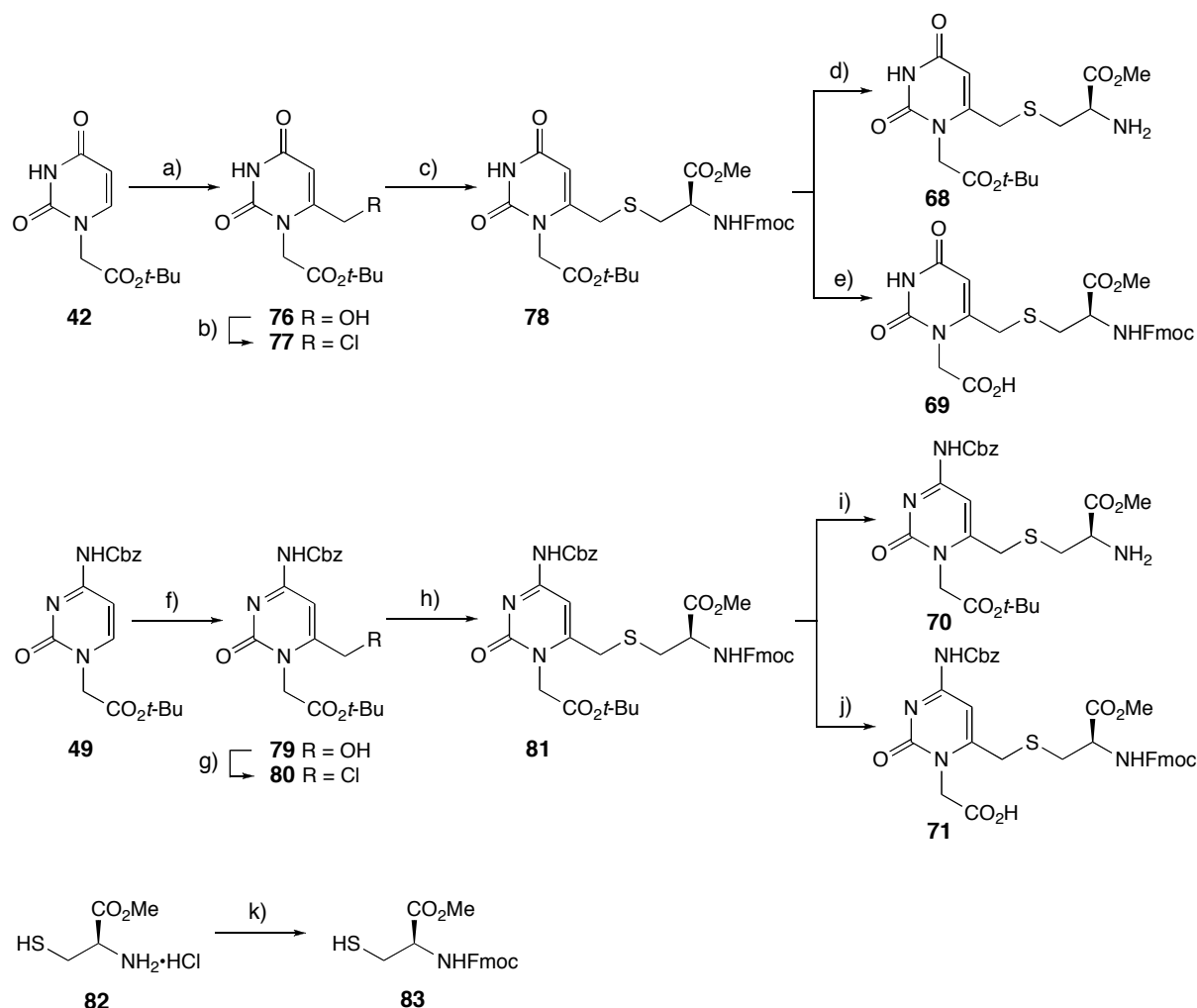
Wie bei den Monomeren der hydrazid- und amidverknüpften Analogen wurden, ausser für das von Guanin abgeleitete Monomere, die natürlichen Nucleobasen als Startmaterial gewählt. Die Amine **68**, **70**, **72** und **74** und die Carbonsäuren **69**, **71**, **73** und **75** wurden durch Hydroxymethylierung an C(6/8), Chlorierung, Substitution mit *N*-Fmoc-L-Cysteinmethylester und anschliessende Spaltung der *N*Fmoc-Gruppe bzw. des *tert*-Butylesters gewonnen. Der an C(8) hydroxymethylierte Vorläufer **34** der Guanin-Monomeren **74** und **75** wurde in Analogie zur Synthese des Hydrazidmonomeren **19** über Ringaufbau erhalten (Kapitel 4.1.1.1.).

##### 4.1.3.1. Synthese der Pyrimidin-Monomeren

Zur Synthese der von den Pyrimidinen abgeleiteten Aminen **68** und **70** und der Carbonsäuren **69** und **71** hydroxymethylierte ich das Uracilderivat **42** und das Cytosinderivat **49** an C(6) (Schema 6). Deprotonierung von **42** und **49** mit LDA, Formylierung mit DMF, Hydrolyse und

Reduktion des erhaltenen Aldehyds mit  $\text{NaBH}_4$ , ergaben neben Startmaterial 35% an **76** und 56% an **79**. Die Chlorierung von **76** und **79** erfolgte mit Mesylchlorid in Gegenwart von *Hünig*'s Base und Behandeln der Reaktionsmischung mit einer Lösung von LiCl in DMF. Die Chlormethyl-derivate **77** und **80** wurden in einer Ausbeute von 75% bzw. 86% erhalten. *N*-Fmoc-L-Cysteinmethylester (**83**) wurde in 91% Ausbeute durch Umsetzung von L-Cysteinmethylester-hydrochlorid (**82**) mit Fmoc-Succinimidester in Gegenwart von 2,6-Lutidin in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewonnen. Im Gegensatz zum Hydrazinacetat **36** (Kapitel 4.1.1.1.) unterlag **83** in Gegenwart von *Hünig*'s Base keiner *N*Fmoc-Entschützung.

**Schema 6:** Synthese der Uracil- und Cytosin-Amine **68** und **70** und der Carbonsäuren **69** und **71**



a) 1. LDA, THF,  $-70^\circ$ . 2. DMF,  $-70^\circ$ . 3. AcOH, EtOH. 4.  $\text{NaBH}_4$ ; 35%. b) 1. MsCl, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF. 2. LiCl, DMF; 75%. c) **83**, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, entgastes THF/DMF 5:1; 98%. d) Piperidin, DMF; 94%. e) TFA, Et<sub>3</sub>SiH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%. f) 1. LDA, THF,  $-70^\circ$ . 2. DMF,  $-70^\circ$ . 3. AcOH, EtOH. 4.  $\text{NaBH}_4$ ; 56%. g) 1. MsCl, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF. 2. LiCl, DMF; 86%. h) **83**, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, entgastes THF; 98%. i) Piperidin, DMF; 89%. j) TFA, Et<sub>3</sub>SiH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 98%. k) Fmoc-OSu, 2,6-Lutidin,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 91%.

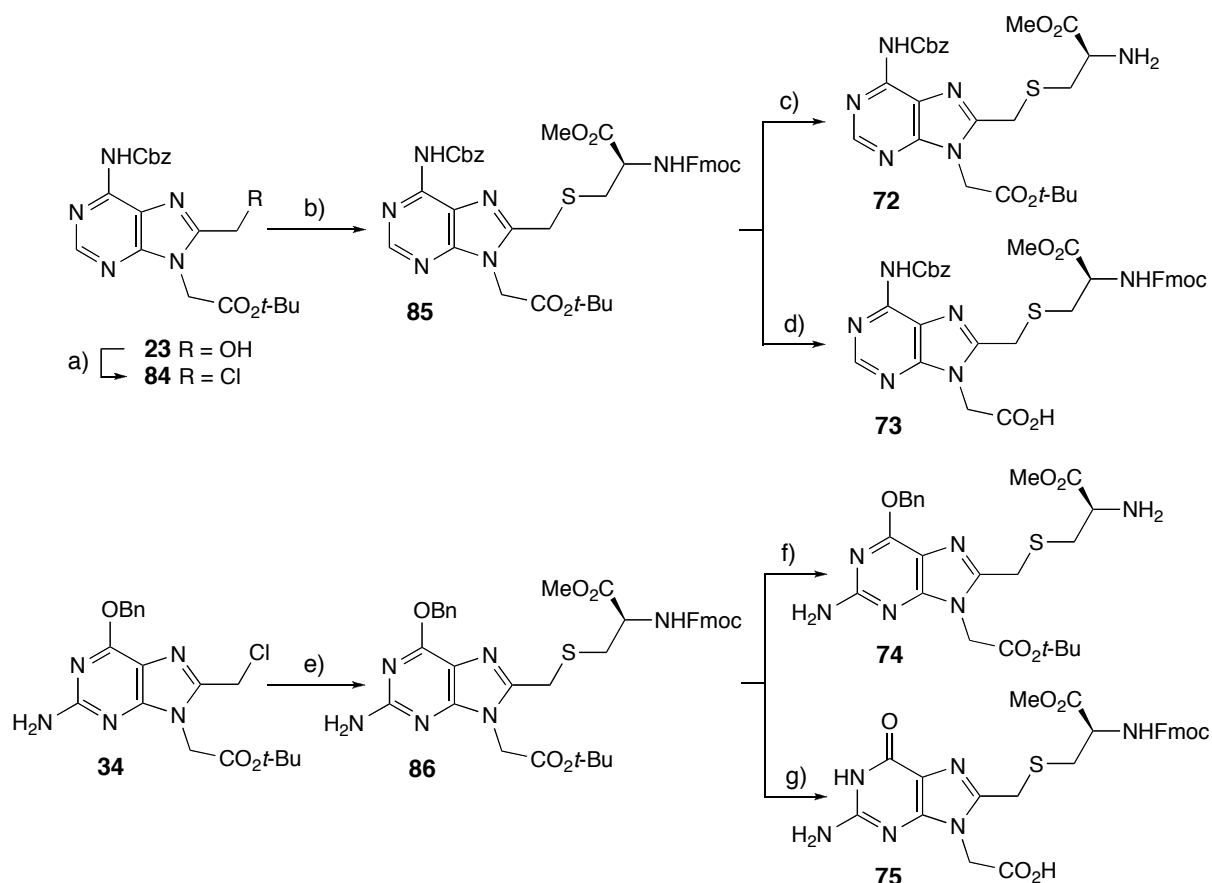
Die Substitution der Chlormethyl-derivate **77** und **80** mit **83** konnte demzufolge in einer Mischung von entgastem THF/DMF (**77**) bzw. reinem THF (**80**) in Gegenwart von *Hünig*'s Base durchgeführt werden und machte die Synthese der entsprechenden Brommethyl-derivate über-

flüssig. Dies ergab das vollständig geschützte Uracil-Monomere **78** und das Cytosin-Monomere **81**, beide in einer Ausbeute von 98%. Die Fmoc-Schutzgruppen von **78** und **81** wurden durch Behandlung mit Piperidin in DMF entfernt; die *tert*-Butylester wurden mit TFA in Gegenwart von Triethylsilan gespalten. Damit liessen sich die Amine **68** und **70** in 94 bzw. 89% und die Carbonsäuren **69** und **71** in einer Ausbeute von 98% erhalten.

#### 4.1.3.2. Synthese der Purin-Monomeren

Die von den Purinen abgeleiteten Amine **72** und **74** und die Carbonsäuren **73** und **75** wurden auf ganz ähnliche Art und Weise erhalten wie die von den Pyrimidinen abgeleiteten Analogen **68–71** (Kapitel 4.1.3.1.). Das hydroxymethylierte Adeninderivat **23** wurde mit Mesylchlorid in Gegenwart von *Hünig's* Base und nachfolgende Behandlung des Rohprodukts mit einer Lösung von LiCl in DMF in einer Ausbeute von 85% in das Chlormethylderivat **84** übergeführt (Schema 7).

**Schema 7: Synthese der Adenin- und Guanin-Amine **72** und **74** und der Carbonsäuren **73** und **75****



a) 1. MsCl, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF. 2. LiCl, DMF; 85%. b) **83**, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, entgastes THF; 94%. c) Piperidin, DMF; 87%. d) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 99%. e) **83**, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, entgastes THF/DMF 1:1; 92%. f) Piperidin, DMF; 96%. g) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 99%.

Das Adeninderivat **84** und das Guaninderivat **34** (Kapitel 4.1.1.1.) wurden in entgastem THF (**84**) bzw. in THF/DMF 1:1 (**34**) mit *N*-Fmoc-L-Cysteinmethyl ester (**83**) in Gegenwart von



*Hünig's* Base in 98% bzw. 92% Ausbeute zu den vollständig geschützten Adenin- und Guanin-Monomeren **85** und **86** umgesetzt. Die Entfernung der Fmoc-Schutzgruppen ergab die Amine **72** und **74** in 87% bzw. 96% Ausbeute; die Spaltung der *tert*-Butylester ergab, unter gleichzeitiger Spaltung des Benzylethers in **86**, die Carbonsäuren **73** und **75** in annähernd quantitativer Ausbeute.

## 4.2. Synthese der Oligomeren

### 4.2.1. Hydrazid-Analoge

#### 4.2.1.1. Festphasensynthese von $(A_2U_2)_2$ , $U_4A_4$ und $U_{10}$

Wie ich es schon im Strukturentwurf (Kapitel 3.1.) erwähnte, war es unser Ziel, einige von Uracil und Adenin abgeleitete, selbstkomplementäre Oligomere zu synthetisieren und ihre Assoziation im Hinblick auf die erwartete Sequenzabhängigkeit zu untersuchen. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob ein nicht-selbstkomplementäres Dekameres mit DNA und/oder RNA wechselwirken würde. Ich hatte mir dabei die Synthese der Oktameren **91** ( $U_4A_4$ ) und **94** ( $(A_2U_2)_2$ ) vorgenommen. Das Dekamere **92** ( $U_{10}$ ) stellte ich in Zusammenarbeit mit *Zrinka Rajic*<sup>14</sup> her.

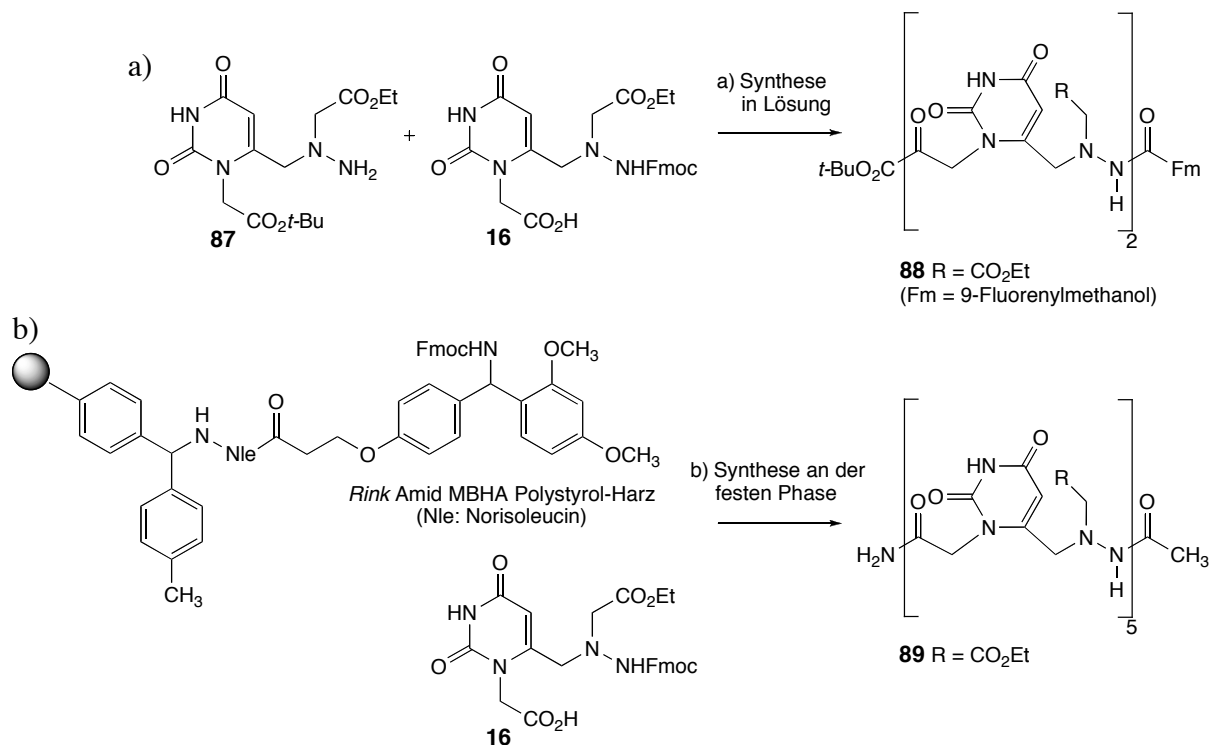
Um die besten Kopplungsbedingungen zu ermitteln führte *Fabio de Giacomo* Testkopplungen mit dem von Uracil abgeleiteten monomeren Amin **87** [12] und der monomeren Carbonsäure **16** in Lösung durch, indem er **16** entweder mit HBTU [186], HATU [179] [188], HCTU [187], oder mit PyBOP [184] in Kombination mit *Hünig's* Base aktivierte und DMF, NMP, oder DMSO als Lösungsmittel einsetzte (*Schema 8 a*). Er beobachtete die sauberste und schnellste Umsetzung zum Dimeren **88** mit HATU und DMSO.

Ich führte daraufhin Testsynthesen eines  $U_5$ -Pentameren (**89**) über Aktivierung von **16** mit HATU, *Hünig's* Base und der Verwendung verschiedener Lösungsmittel an einem *Rink* Amid MBHA Polystyrol-Harz [130] durch (*Schema 8 b*). Von den getesteten Lösungsmitteln DMF, NMP/DMSO 8:2 [193], 0.8 M LiCl in DMF [195] [196] und DMSO [247] lieferte letzteres, wohl aufgrund seiner guten Antiaggregationseigenschaften, die besten Ergebnisse. Die *N*Fmoc-Spaltung mit verdünnten DBU-Lösungen führte im Vergleich zur *N*Fmoc-Spaltung mit Piperidin-Lösungen an der festen Phase zu schnelleren und saubereren Umsetzungen. Durch kurze Entschützungszeiten und Waschvorgänge wurde die Addition der terminalen Hydrazinogruppe an Dibenzofulven (DBF), auch ohne die Verwendung eines Abfangreagenzes, verhindert. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von *Hünig's* Base in DMSO blockte ich freie Aminogruppen am Harz durch Acetylierung mit  $Ac_2O$  in Gegenwart von *Hünig's* Base in NMP [74].

---

<sup>14</sup> *Zrinka Rajic* verbrachte im Rahmen ihrer Doktorarbeit in Zagreb ein halbes Jahr an der ETH (September 2007 – Februar 2008) und arbeitete hauptsächlich an der Festphasensynthese der amidverknüpften Oktameren (Kapitel 4.2.2.).

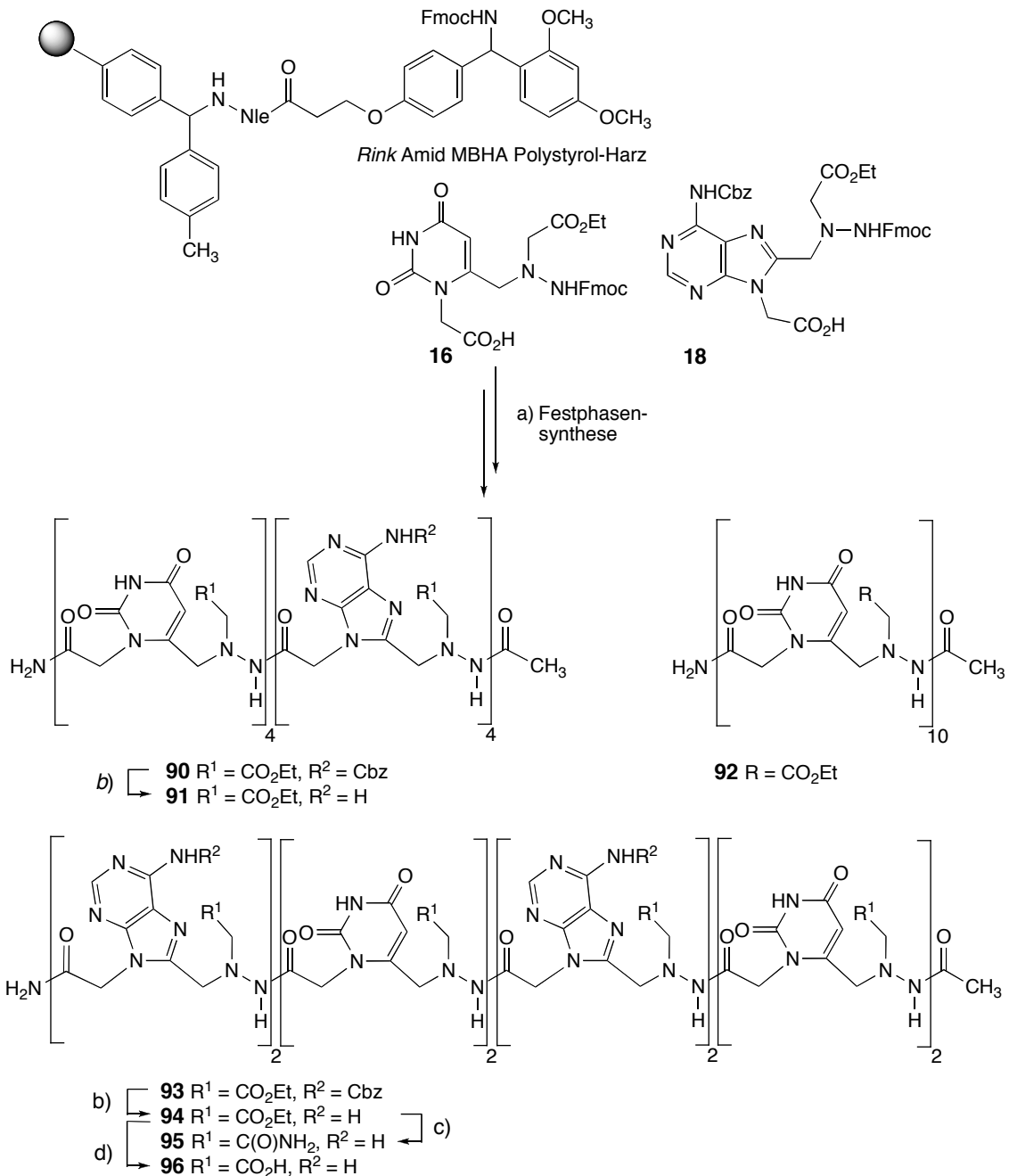
**Schema 8:** Synthesen von a) **88** ( $U_2$ ) in Lösung und b) **89** ( $U_5$ ) an der festen Phase zur Bestimmung der besten Kopplungsbedingungen für die Festphasensynthese der Oligomeren **91** ( $(U_4A_4)$ ), **92** ( $U_5$ ) und **94** ( $(A_2U_2)_2$ )



a) HBTU, HATU, HCTU, oder PyBOP, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt und DMF, NMP, oder DMSO. b) Beladung und Kopplung: Rink Amid MBHA Polystyrol-Harz, **16**, HATU, Hünig's Base und DMF, NMP/DMSO 8:2, 0.8 M LiCl in DMF, oder DMSO. Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken: Ac<sub>2</sub>O, Hünig's Base, NMP. Abspalten vom Harz: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3.

Ich synthetisierte die Oligomeren **91** ( $(U_4A_4)$ ), **92** ( $U_{10}$ ) und **94** ( $(A_2U_2)_2$ ) durch Kopplung der von Uracil und Adenin abgeleiteten Carbonsäuren **16** und **18** mit HATU und Hünig's Base in DMSO an einem Rink Amid MBHA Polystyrol-Harz (0.72 mmol/g an freien Aminogruppen) [130] (Schema 9). Die Fmoc-Gruppen wurden durch Behandlung des Harzes mit DBU in DMSO entfernt. Eine hohe Konzentration von 0.5 M der aktivierten Carbonsäure erwies sich als entscheidend, um die Kopplungen vollständig durchzuführen. Die Kopplungen mit **16** verliefen sauber und waren nach vier Stunden beendet. Im Gegensatz dazu verliefen die Kopplungen mit **18**, selbst bei Doppelkopplungen und einer Verlängerung der Kopplungsdauer auf 8–10 h, langsam und ich detektierte nach der Synthese der Oktameren beachtliche Mengen an Abbruchfragmenten. Auch die von Guanin abgeleitete Carbonsäure **19** (Kapitel 4.2.1.2.) koppelte im Vergleich zu der von Cytosin abgeleiteten Carbonsäure **17** langsam. Die von den Purinen abgeleiteten Carbonsäuren scheinen demzufolge aus sterischen und/oder elektronischen Gründen weniger gute Acylierungsreagenzien zu sein. Als Vergleich seien PNA-Monomere genannt, die in der Regel bei der Kopplung von 2–4 Äquivalenten und bei einer Konzentration von nicht mehr als 0.3 M innerhalb von 30 min vollständig reagieren (Kapitel 2.3.3.). Die Kopplungsausbeuten von **18** und **19** liessen sich auch durch Verwendung eines Harzes mit niedriger Beladung (0.1 mmol/g an freien Aminogruppen) oder durch Erhitzen der Reaktionslösung auf 35–40° nicht steigern.

**Schema 9:** Das durch Festphasensynthese gewonnene Oktamere **91** ( $U_4A_4$ ), das Dekamere **92** ( $U_{10}$ ) und das Oktamere **94** ( $(A_2U_2)_2$ ) und dessen Seitenketten-Amid- und Carboxylanalogen **95** und **96**



a) Beladung und Kopplung: *Rink* Amid MBHA Polystyrol-Harz, **16** oder **18**, HATU, *Hünig's* Base, DMSO. Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken:  $Ac_2O$ , *Hünig's* Base, NMP. Abspalten vom Harz: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3. b) 1. TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3, 80°. 2. *Amberlite* IRA-68, MeCN/H<sub>2</sub>O 1:1; 5% Gesamtausbeute von **91** und **94** aus **16** und **18**; 2% Gesamtausbeute von **92** aus **16**. c) NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O; quant. d) 1. LiOH, H<sub>2</sub>O. 2. *Amberlite* IRA-120; quant.

Wenn ich den *N*-Terminus nach der Synthese der Oktameren nicht blockte, erhielt ich nach der Abspaltung vom Harz mit TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 eine komplexe Mischung an kürzeren und

längeren Oligomeren<sup>15)</sup>. Ich nehme an, dass diese Oligomeren über Umhydrazidierungen, in Analogie zu den bekannten Umamidierungen, gebildet werden. Hydrazide scheinen besonders anfällig gegenüber Substitution am Carbonylkohlenstoff zu sein, da die unter basischen Bedingungen unreaktive C(2)-NH<sub>2</sub>-Gruppe des Guanins durch Aminolyse des Hydrazids ebenfalls die Spaltung von Hydrazidbindungen bewirkt, wenn auch in einem wesentlich geringeren Ausmass (Kapitel 4.2.1.2.). Im Gegensatz dazu beobachtete ich bei der Synthese der amidverknüpften Oligomeren keine Umamidierungen (Kapitel 4.2.2.). Wir erklären uns diesen Unterschied der Reaktivität durch eine Protonierung des tetragonalen N-Atoms des Hydrazids unter den stark sauren Abspaltungsbedingungen, was eine erhöhte Elektrophilie der Carbonylgruppe des Hydrazids zur Folge hat und damit die Addition freier Amine oder Hydrazine begünstigt. Das im zweiten Teilschritt der Umhydrazidierung bzw. der Aminolyse des Hydrazids eliminierte Hydrazin kann sich ein weiteres Mal an einer Umhydrazidierung beteiligen.

Nicht unerwarteterweise beobachtete ich unter den stark sauren Bedingungen der Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger teilweise Spaltung der NCbz-Gruppe. Die Oktamer-Rohprodukte **90** und **93** wurden deshalb ohne intermediäre Reinigung entschützt (*Schema 9*). Ich beobachtete keine Benzylierung durch Addition des entstehenden Benzylkations an H<sub>2</sub>N-C(6) der Adeninreste, wie es unter ähnlichen Bedingungen für nichtaromatische Amine beschrieben ist [248], detektierte jedoch kleine Mengen an C-terminalen Trifluoracetamiden, die in der Regel unter stark sauren Bedingungen durch die Umsetzung von Amidien mit elektrophilen Acylierungsreagenzien (z.B. Anhydriden) entstehen [249].

Die Rohprodukte **91** und **94** reinigte ich durch präparative HPLC an einer Aminophase, das Rohprodukt **92** durch präparative HPLC an einer Umkehrphase. Die niedrigen Ausbeuten von 5% an **91** und **94** führe ich, zumindest zum Teil, auf unvollständige Kopplungen von **18** zurück. Abbruchfragmente der Oktameren, als Ergebnis unvollständiger Kopplungen von **18**, wurden mit LCMS-Analyse nachgewiesen. Eine unvollständige Abspaltung der Oligomeren vom Harz oder eine unvollständige Ausfällung der Rohprodukte aus Et<sub>2</sub>O nach deren Abspaltung vom polymeren Träger könnten weitere Gründe für die niedrigen Ausbeuten sein, insbesondere wenn man die schlechte Massenbilanz, also das Verhältnis der Rohprodukte zur Beladung des Harzes betrachtet (40–50%). Die noch niedrigere Ausbeute von 2% an **92** ist auf zusätzliche Verluste während der chromatographischen Isolierung zurückzuführen. Ich sah mich somit mit den im Kapitel 2.3.5. diskutierten Nachteilen der Festphasensynthese konfrontiert. Die kleinen Mengen der Oligomeren waren für deren Analyse durch temperaturabhängige UV-Spektroskopie [204] [205] [250] ausreichend. Versuche um **91**, **92** und **94** zu kristallisieren gestalteten sich allerdings schwierig und waren fruchtlos und eine NMR-Analyse der Abhängigkeit der chemischen Verschiebung der Imino- und/oder der Aminoprotonen der Nukleobasen von der Konzentration [3 – 7] [251] war nicht möglich.

Die Oligomeren **91**, **92** und **94** waren genügend wasserlöslich, um sie auf ihre Assoziation in wässrigen Medien durch temperaturabhängige UV-Spektroskopie zu untersuchen [204] [205] [250]. Nichtdestoweniger führte ich die Ethoxycarbonylgruppen von **94** in Aminocarbonyl- und in Carboxylgruppen über (*Schema 9*). Die Aminolyse von **94** zu **95** und die Hydrolyse

---

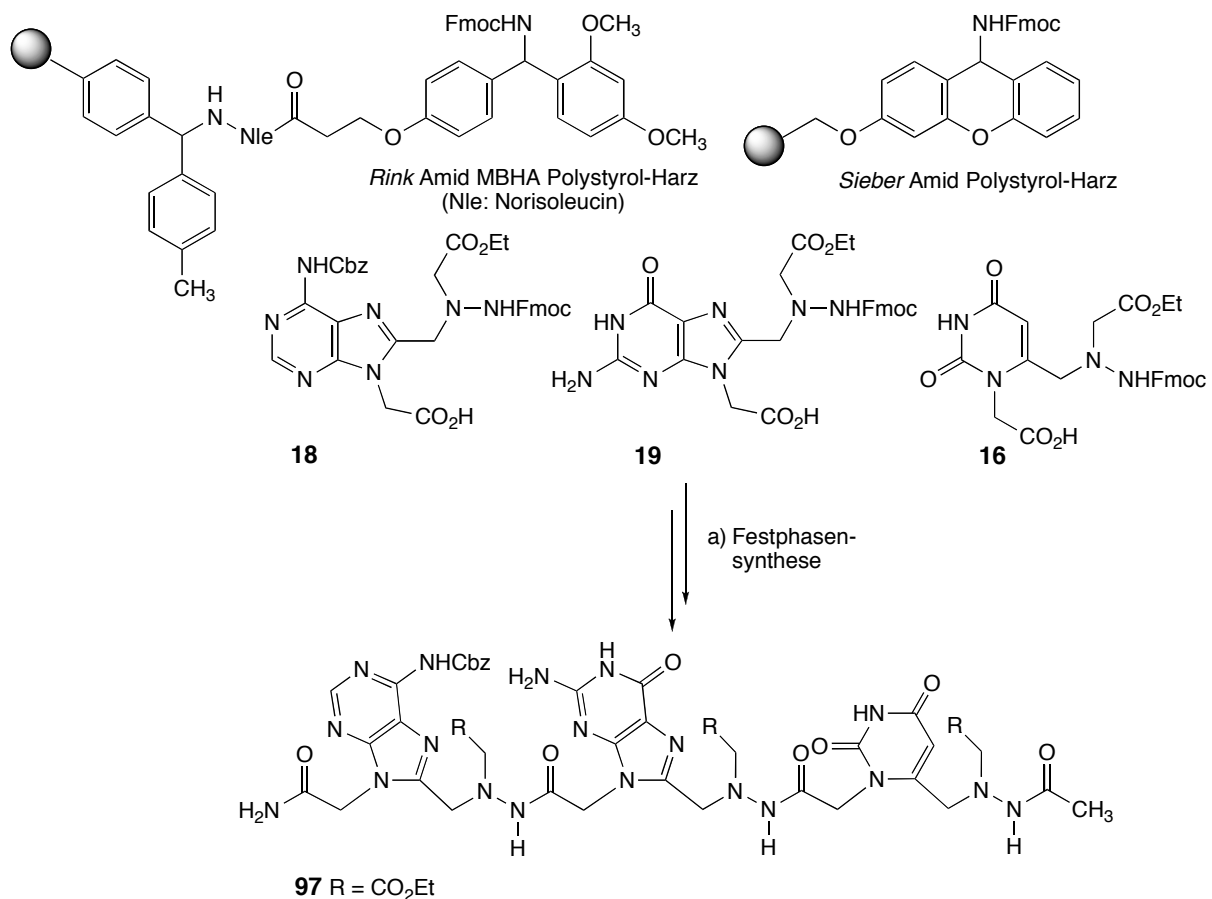
<sup>15)</sup> Sowohl diese, als auch die nachfolgend diskutierten Beobachtungen beziehen sich ausschliesslich auf die Analyse kleiner Mengen der Oligomeren mit LCMS-Analyse.

von **94** zu **96** verliefen glatt und erforderten keine Reinigung der Produkte. Anhand der Oligomeren **94**, **95** und **96** untersuchte ich den Einfluss der Polarität der Seitenkette auf die Assoziation (Kapitel 5.1.1.).

#### 4.2.1.2. Versuche zur Festphasensynthese der von Cytosin und Guanin abgeleiteten Oktameren

Vor der Synthese des von Cytosin und Guanin abgeleiteten, carbobenzylierten Oktameren **101** ((CG)<sub>4</sub>) galt es zu testen, ob die H<sub>2</sub>N-C(2)-Gruppen der Guaninreste bei der Abspaltung des Oktameren **101** vom Harz eine Aminolyse einer Hydrazidbindung bewirken würde (Kapitel 4.2.1.2.). Dazu synthetisierte ich das carbobenzylierte Trimere **97** (AGU) an zwei unterschiedlichen Trägern, indem ich die mit HATU aktivierten Carbonsäuren **18**, **19** und **16** in Gegenwart von *Hünig's* Base in DMSO koppelte und die Fmoc-Gruppen mit einer verdünnten Lösung von DBU in DMSO entfernte, ähnlich wie es für die Synthese der von Uracil und Adenin abgeleiteten Oktameren im Kapitel 4.2.1.1. beschrieben ist (*Schema 10*).

**Schema 10:** Das durch Festphasensynthese gewonnene carbobenzylierte Trimere **97** (AGU)

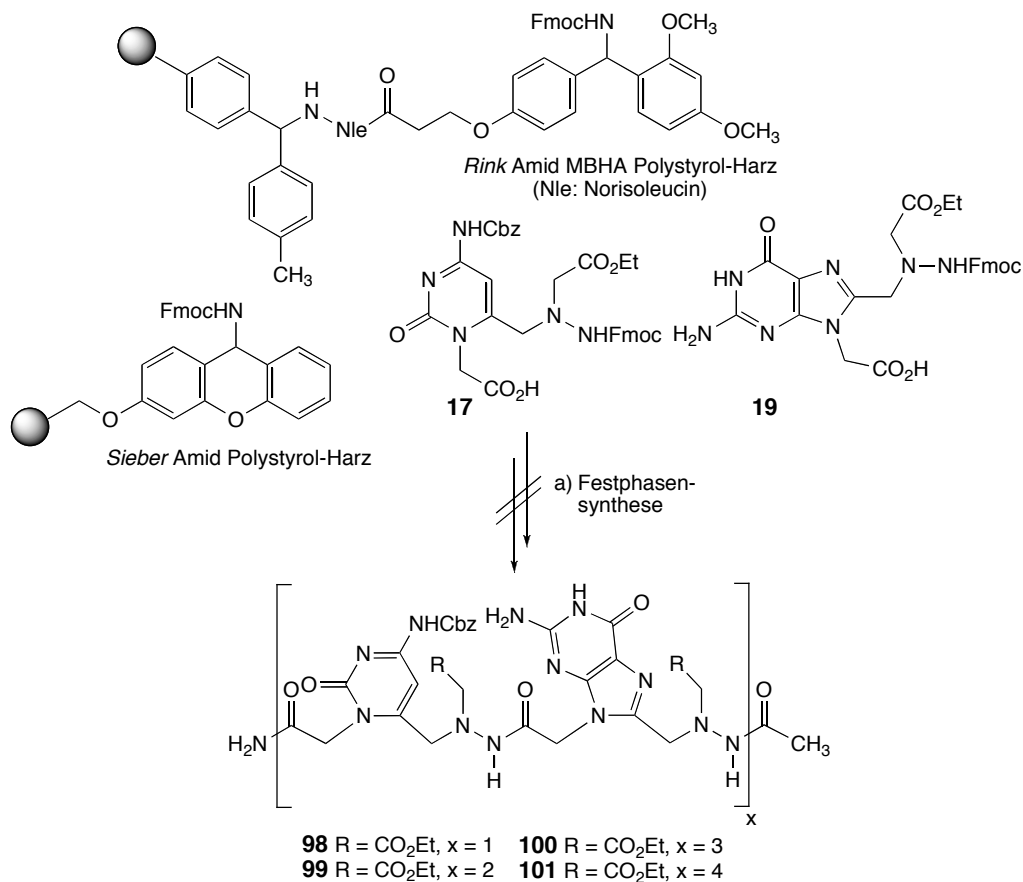


a) Beladung und Kopplung: *Rink* Amid MBHA- oder *Sieber* Amid-Polystyrol Harz, **18**, **19**, oder **16**, HATU, *Hünig's* Base, DMSO. Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken: Ac<sub>2</sub>O, *Hünig's* Base, NMP. Abspalten vom Harz: *Rink* Amid: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3; *Sieber* Amid: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 99:1.

Die Synthese des am *N*-Terminus geblockten Trimeren **97** an einem *Rink* Amid MBHA Polystyrol-Harz (Abspaltung mit TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3) ergab neben dem Produkt kleine Mengen an kürzeren und längeren Oligomeren, vermutlich aufgrund der Aminolyse einer Hydrazidbindung durch die H<sub>2</sub>N–C(2)-Gruppe des Guaninrests und einer nachfolgenden Umhydrazidierung durch das gebildete Hydrazin. Die analoge Synthese an einem *Sieber* Amid Polystyrol-Harz (Abspaltung mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 99:1) zeigte dagegen im LCMS-Spektrum neben dem Signal des Trimeren **97** keine Verunreinigungen. Die angenommene Aminolyse und Hydrazinolyse von Hydraziden kann demzufolge durch mildere Abspaltung der Oligomeren vom Harz vermieden werden. Die Acetylierung von C(2)–NH<sub>2</sub> des Guanins während des Blockens, wie es für die Synthese von PNA-Oligomeren unter ähnlichen Bedingungen beschrieben ist [56], beobachtete ich nicht.

Ich führte die Synthese des teilgeschützten Oktameren **101** ((CG)<sub>4</sub>) sowohl am *Rink* Amid- [130] als auch am *Sieber* Amid-Polystyrol Harz [133 – 135] durch, indem ich die Carbonsäuren **17** und **19**, wie es im Kapitel 4.2.1.1. beschrieben ist, durch Aktivierung mit HATU und *Hünig*'s Base in DMSO koppelte und die Fmoc-Gruppen mit einer verdünnten Lösung von DBU in DMSO entfernte (Schema 11).

**Schema 11:** Versuche zur Festphasensynthese des carbobenzoxylierten Oktameren **101** ((CG)<sub>4</sub>)



a) Beladung und Kopplung: *Rink* Amid MBHA Polystyrol- oder *Sieber* Amid Polystyrol-Harz, **17** oder **19**, HATU, *Hünig*'s Base, DMSO. Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken: Ac<sub>2</sub>O, *Hünig*'s Base, NMP. Abspalten vom Harz: *Rink* Amid: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3; *Sieber* Amid: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 99:1.

Die Untersuchung der Produkte der geplanten Synthese am *Rink* Amid MBHA Polystyrol-Harz ergab keinerlei Anzeichen für das Vorliegen von **101**. Bei der Synthese von **101** am *Sieber* Amid Polystyrol-Harz überprüfte ich den Fortgang der Kopplungen nach jedem zweiten Schritt. Das Dimere **98** und des Tetramere **99** konnten neben Spuren leichter Verunreinigungen durch LCMS-Analyse nachgewiesen werden. Das Hexamere **100** wurde bereits von einer erheblichen Menge an Verunreinigungen begleitet, und das Oktamere **101** konnte nicht mehr nachgewiesen werden. Ich erhielt zudem nach der Abspaltung der Produkte von der festen Phase nur winzige Mengen an Material (Massenbilanz etwa 5% in Bezug auf die Beladung des Harzes). Ich vermutete, dass das Oligomere in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 99:1 nicht ausreichend löslich ist und wusch deshalb das Harz mit Wasser, Methanol, Ethanol und DMSO, konnte aber das Oktamere **101** wiederum nicht nachweisen. Auch die Unlöslichkeit des Oktameren bei hohem CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O-Anteil ist denkbar, in welchem Fall eine LCMS-Analyse mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O als Laufmittel ungeeignet wäre.

## 4.2.2. Amid-Analoga

### 4.2.2.1. Festphasensynthese der von Uracil, Cytosin, Adenin und Guanin abgeleiteten Oktameren

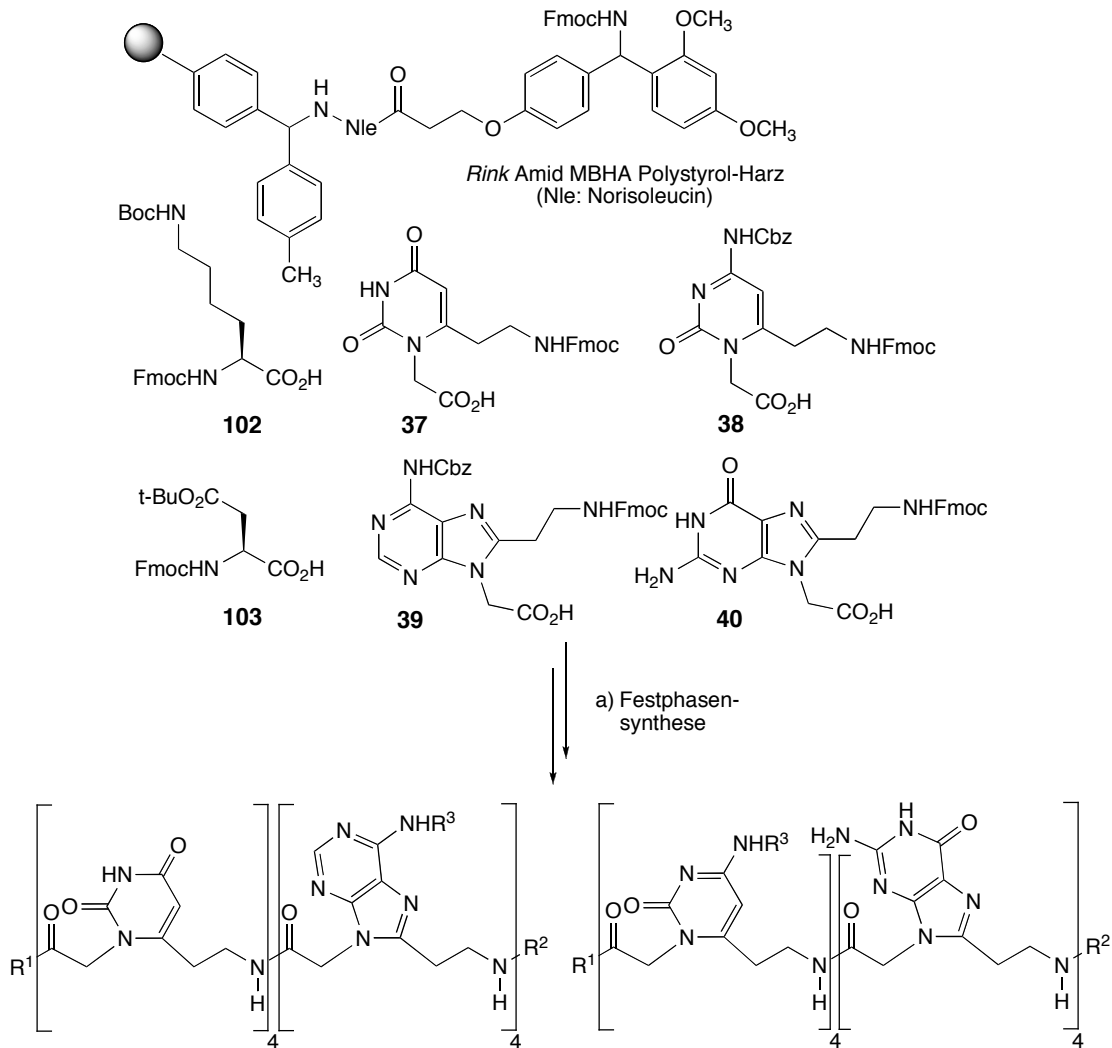
Ich führte die Synthese des amidverknüpften Oktameren **104** (U<sub>4</sub>A<sub>4</sub>) unter ähnlichen Bedingungen durch, wie sie für die Synthese der hydrazidverknüpften Oligomeren (Kapitel 4.2.1.1.) beschrieben sind, wenngleich Doppelkopplungen der Carbonsäuren **37** und **38** während 8–10 h bei 35° nötig waren, um befriedigende Kopplungsausbeuten zu erzielen (*Schema 12*).

Nach der Abspaltung der Syntheseprodukte vom polymeren Träger konnte das Oktamere **104** nicht nachgewiesen werden, was ich auf die schlechte Wasserlöslichkeit von **104** zurückführte. Wie im Kapitel 3.2. erwähnt, sollte die schlechte Wasserlöslichkeit der amidverknüpften Oligomeren im Austausch der carboxymethyl-funktionalisierten Aminogruppe der Hydrazide durch eine Methylengruppe begründet liegen. In Anlehnung an die wasserlöslichkeitsfördernde Wirkung von Lysin auf PNA-Oligomere [42], führte *Zrinka Rajic* am *N*- und am *C*-Terminus Lysin- und Asparaginsäureeinheiten ein (Oktamere **105–110** in *Schema 12*). Die Aminosäuren verwendete sie in einem grossen Überschuss und koppelte sie für jeweils 30 min doppelt.

Die carbobenzoxylierten, selbstkomplementären Oktameren **105–110** wurden zusammen mit erheblichen Mengen an Abbruchsequenzen (unvollständige Purinkopplungen) und weiteren, weniger ins Gewicht fallenden Verunreinigungen als Hauptprodukte der Synthese erhalten (Analyse durch LCMS). Da die sehr kurze Retentionszeit des Oktameren **111** (erhalten durch *NCbz*-Spaltung durch Behandlung von **105** mit TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 unter Rückfluss) darauf deutete, dass die N<sup>ε</sup>-Gruppen der Lysine protoniert vorlagen, neutralisierte *Zrinka Rajic* das Oktamere an *Amberlite* IRA-68. Sie verlor nahezu das gesamte Material auf dem Ionenaustauscher und konnte das Oktamere **111** nicht mehr nachweisen. Auch die Oktameren **106–110** wurden decarbenzoxyliert und **112**, **114** und **115** an *Amberlite* IRA-68, **113** und **116** mit 1 M wässriger LiOH neutralisiert. Auch in diesen Fällen konnten die Oktameren **112–116** nicht nachgewiesen werden. Wenn *Zrinka Rajic* die *NCbz*-Schutzgruppe hydrogenolytisch spaltete, verlor sie nahezu das gesamte Material bei der Filtration durch *Celite*. Das Waschen des Ionenaustauschers und des *Celites* mit einer Reihe von Lösungsmitteln führten nicht zum

Erfolg; es fanden sich keine Hinweise auf das Vorhandensein der Produkte. *Zrinka Rajic* und ich waren nicht im Stande, die komplexen Rohproduktgemische in ihrem protonierten Zustand chromatographisch zu trennen.

**Schema 12:** Die N- und C-terminal modifizierte und im neutralen Zustand wasserunlöslichen Oktameren **111–116**



**104**  $R^1 = \text{NH}_2$ ,  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$  (nicht nachgewiesen)

**105**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**106**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Lys})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**107**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Asp})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**111**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^3 = \text{H}$

**112**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Lys})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{H}$

**113**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Asp})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{H}$

**108**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**109**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Lys})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**110**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Asp})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{Cbz}$

**114**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = \text{Ac}$ ,  $R^3 = \text{H}$

**115**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Lys})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{H}$

**116**  $R^1 = (\text{NH}_2)\text{OC}-(\text{Lys})_2$ ,  $R^2 = (\text{Asp})_2\text{-NHAc}$ ,  $R^3 = \text{H}$

a) Beladung und Kopplung: Rink Amid MBHA Polystyrol-Harz, **37**, **38**, **39**, **40**, **102** or **103**, HATU, Hünig's Base, DMSO. Abspaltung der N-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken:  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Hünig's Base, NMP. Abspalten vom Harz: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 oder Pd(OAc)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH.

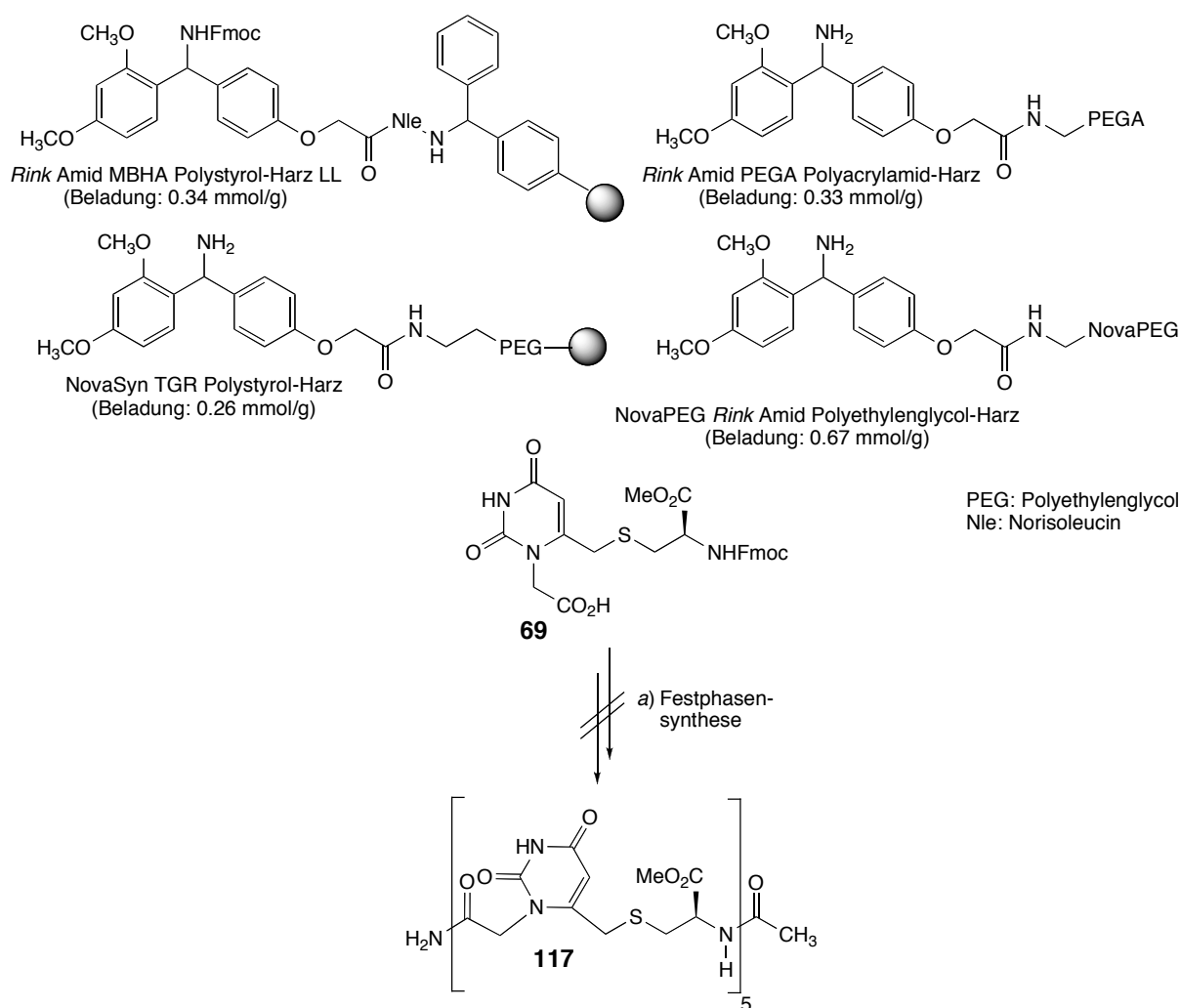


### 4.2.3. Thioether/Amid-Analogue

#### 4.2.3.1. Versuche zur Festphasensynthese

Mein Ziel war die Synthese der thioether/amidverknüpften Oligomeren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) und **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ ), die ich im Kapitel 3.3. vorgestellt habe. Auch in diesem Fall strebte ich nach einer Synthese dieser Oligomeren an der festen Phase. Während der Synthese der amid- und hydrazidverknüpften Analogen zeigte sich, dass die Pyrimidinkopplungen weitaus schneller verliefen als die Purinkopplungen (Kapitel 4.2.1. und 4.2.2.). Zur Ausarbeitung der besten Bedingungen wählte ich deshalb als Testverbindung das Pentamere **117** ( $U_5$ ) (Schema 13).

**Schema 13:** Versuche zur Festphasensynthese des Pentameren **117** ( $(U)_5$ )



a) Beladung und Kopplung: *Rink* Amid MBHA Polystyrol-, NovaPEG *Rink* Amid Polyethylenglykol-, *Rink* Amid PEGA Polyacrylamid-, oder NovaSyn TGR Polystyrol-Harz, **69**, HATU, *Hünig's* Base, DMSO. Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe: DBU, DMSO. Blocken:  $Ac_2O$ , *Hünig's* Base, NMP. Abspalten vom Harz: TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 97:3.

Ich synthetisierte **117** an einem *Rink* Amid MBHA Polystyrol-Harz (0.72 mmol/g an freien Aminogruppen) indem ich die Carbonsäure **69** mit HATU und *Hünig's* Base in DMSO kopplte und die Fmoc-Gruppen mit einer verdünnten Lösung von DBU in DMSO entfernte, ähn-

lich wie es für die Synthese der hydrazid- und der amidverknüpften Oligomeren beschrieben ist (Kapitel 4.2.1. und 4.2.2.). Ich erhielt das Trimere als Hauptprodukt der Synthese und detektierte lediglich Spuren des Pentameren durch LCMS-Analyse. Da DMSO Assoziationsphänomene in Lösung und an der festen Phase effizient verhindern sollte [193] [247] (Kapitel 2.3.3.) sah ich von einer Optimierung des Lösungsmittels ab und wendete mich statt dessen festen Trägern mit niedrigeren Beladungen, anderen polymeren Zusammensetzungen, Trägerarmen und Abstandshaltern zu (*Schema 13*). Die Erniedrigung der Beladung des Harzes sollte Interstrangassoziation verhindern oder mindestens ihr Ausmass verringern [194] [198] (Kapitel 2.3.1.). Polyethylenglykol- [112] und Polyacrylamidharze [113] besitzen bessere Quelleigenschaften in DMSO als Polystyrolharze [104] (Kapitel 2.3.1.), was eine Interstrangassoziation verhindern und die Aminogruppen am polymeren Träger in besseren Kontakt mit dem Lösungsmittel bringen sollte. Polyethylenglykolabstandshalter sollten die Bindung des wachsenden Oligomeren an das Harz verhindern (Kapitel 2.3.1.).

Wiederum erhielt ich anstelle des Pentameren **117** das Trimere als Hauptprodukt der Synthese, selbst wenn ich Doppelkopplungen durchführte, die Temperatur auf 50° erhöhte, oder Mikrowellen einsetzte (2 x 15 min, 10 Watt, 55°) [87 – 89] [252] [253]. Eine Erhöhung der Leistung, der Temperatur, oder der Kopplungszeit während der Mikrowellenbestrahlung führte zur Zersetzung des 7-Azabenzotriazol-1-yl-Esters von **69**, angezeigt durch den Farbumschlag der Lösung von gelb nach schwarz. Die Verwendung von Piperidin [143] oder TBAF [148] anstelle von DBU [146] zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe und die Verlängerung der Dauer der Einwirkung dieser Reagenzien führten zu keinen besseren Ergebnissen.

Ich kann mir die schlechten Kopplungsausbeuten nur schwer erklären. Unter Umständen unterliegt das wachsende Oligomere am Harz aufgrund einer „günstigen“ Vororientierung des Verknüpfungselements einer Intrastrangassoziation über Wasserstoffbrücken und/oder Stapelwechselwirkungen. Wenn die zu acylierende Aminogruppe aufgrund einer ungünstigen Sekundärstruktur des Oligomeren unzugänglich sein sollte, würde die Acylierung bedeutend verlangsamt sein. Diese Vermutung erscheint sinnvoll, wenn man die Schnelligkeit der Acylierung der Thioether/Amid Mono- und Oligomeren in Lösung betrachtet (Kapitel 4.2.3.2.). Da ich weit von anwendbaren Bedingungen für die Festphasensynthese entfernt war, entschloss ich mich zu einer konvergenten Synthese der Oligomeren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) und **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ ) in Lösung.

#### 4.2.3.2. Lösungssynthese der Oktameren $U_2C_2G_2A_2$ und $U_2C_2U_2C_2$

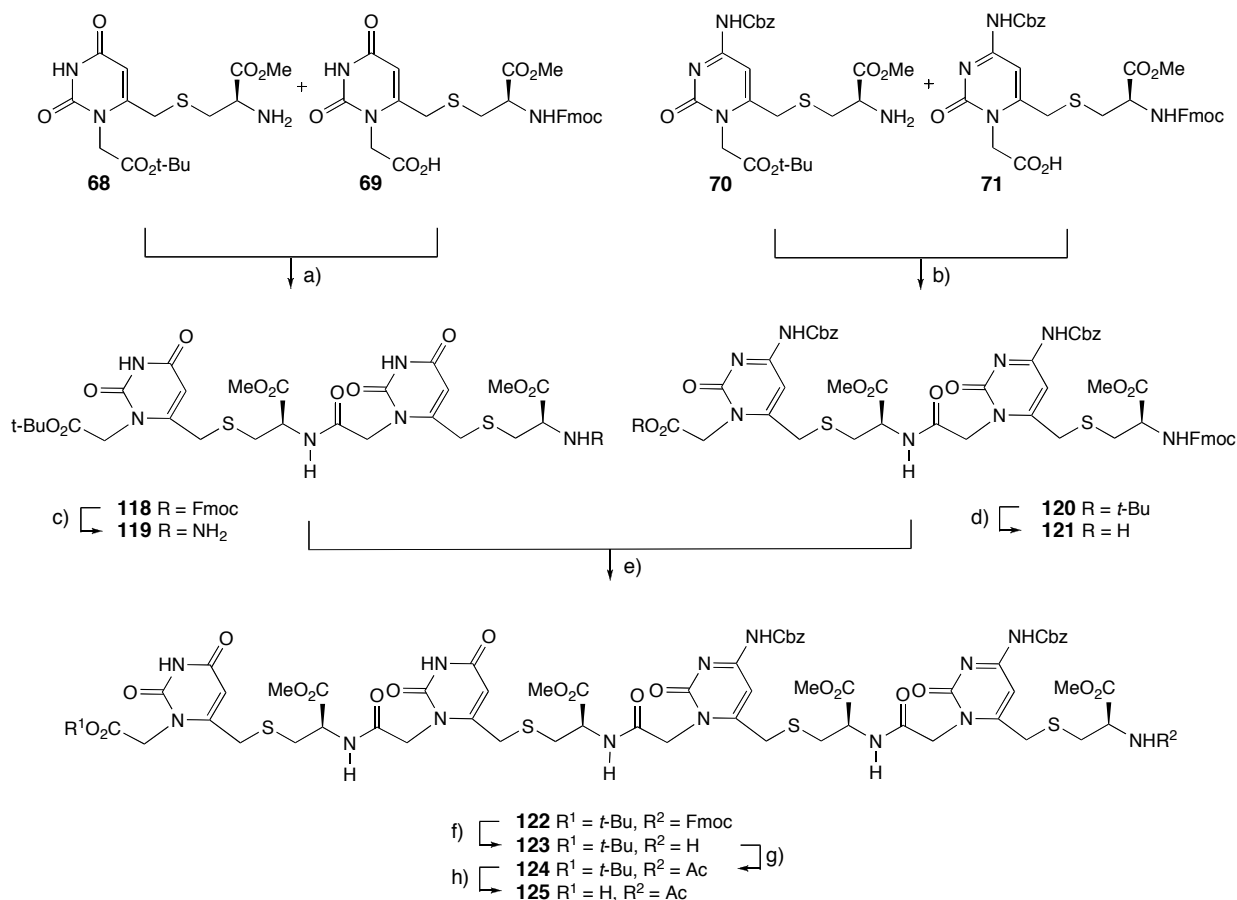
Im Gegensatz zu den Acylierungen an der festen Phase verliefen die Kopplungsreaktionen in Lösung bei 0° während 1–2 h vollständig ab. Um die chromatographische Trennung der Rohprodukte zu erleichtern, setzte ich die Carbonsäurekomponente in einem kleinen Überschuss ein. Die Aktivierung der Carbonsäuren mit dem teuren Azabenzotriazol-Kopplungsreagenz HATU [179] [188] war nicht erforderlich; die Aktivierung mit dem Benzotriazol-Kopplungsreagenz HBTU [186] in Kombination mit einem Überschuss an *Hünig's* Base in DMF bewährte sich. Bei schlechter Löslichkeit der Substrate griff ich auf DMF/DMSO-Mischungen zurück. Die Fmoc-Schutzgruppen entfernte ich bei 0–25° durch einstündige Behandlung des Oligomeren mit einer 20%-tigen Piperidinlösung in DMF. Die *tert*-Butylester wurden mit TFA in Gegenwart von Triethylsilan in Dichlormethan während 12–16 h gespal-

ten. Die Acetylierung des *N*-Terminus erfolgte bei 0° während 4 h mit Ac<sub>2</sub>O in Gegenwart von 2,6-Lutidin in DMF.

Die Mono- und Oligomeren der thioether/amidverknüpften Analogen bilden in organischen und in wässrigen Lösungsmitteln schwerlösliche Gele. Thioverknüpfte Nukleoside scheinen zur Assoziation unter Gelbildung zu neigen, da die thioverknüpften ONIBs vom Typ 2 (Kapitel 1.) ebenfalls Organo- und Hydrogele bilden [254]. Ein Gel kann nicht durch Kristallisation gereinigt werden, da es erhebliche Mengen an Lösungsmittel und Verunreinigungen einschliesst. Eine säulenchromatographische Reinigung der Zwischenstufen war daher unvermeidlich, erwies sich aber als mühsam. Das Gel musste auf der beladenen Säule mit Mischungen von CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH oder CHCl<sub>3</sub>/MeOH im Verlauf eines ganzen Tages in Lösung gebracht werden, was eine erhebliche Bandenverbreiterung zur Folge hatte. Die Adsorption der Rohprodukte an Kieselgel führte nur sehr begrenzt zu einer besseren Trennung. Besonders die von Uracil und Guanin abgeleiteten Oligomeren konnten nach ihrer Gelierung nur noch sehr schwer gelöst werden. Bei den von Guanin abgeleiteten Oligomeren war in manchen Fällen die Verwendung von CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/DMSO-Mischungen erforderlich, um das Gel zu eluieren; diese Oligomere gelierten auch DMF. Die Acylierung der C(2)-NH<sub>2</sub>-Gruppe des Guanins mit Isobutyrylchlorid in Pyridin verbesserte die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln erheblich. Aufgrund von Problemen bei der Abspaltung der Schutzgruppe erwies sich diese Strategie allerdings als nicht anwendbar (Kapitel 4.2.3.2.). Wie schon im Kapitel 4.1.1. erwähnt wurde, scheiterten zudem alle Versuche zur Einführung der Cbz-Gruppe. Ich führte die Synthese des Oktameren **135** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) folglich durch, ohne die C(2)-NH<sub>2</sub>-Gruppe zu schützen. Aufgrund der starken Neigung des für eine konvergente Synthese erforderlichen G<sub>2</sub>-Dimeren zur Gelierung von organischen Lösungsmitteln, musste das monomere, von Guanin abgeleitete Amin **74** linear gekoppelt werden.

Das für die Synthese des selbstkomplementären Oktameren **135** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) und des nicht-selbstkomplementären Oktameren **137** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) erforderte, von Uracil und Cytosin abgeleitete, tetramere Amin **123** und die tetramere Carbonsäure **125** synthetisierte ich gemäss dem *Schema 14*. Die von Uracil abgeleiteten Monomeren **68** und **69** wurden in 85% Ausbeute zum Dimeren **118** gekoppelt. Die Spaltung der *N*Fmoc-Gruppe führte zum dimeren Amin **119** (85%). Die Kopplung der von Cytosin abgeleiteten Monomeren **70** und **71** ergab in 90% Ausbeute das Dimere **120**, welches durch die Spaltung des *tert*-Butylesters nahezu quantitativ in die dimere Carbonsäure **121** übergeführt wurde. Die Kopplung von **119** und **121** ergab in 72% Ausbeute das Tetramere **122**, welches in 80% Ausbeute durch Abspaltung der Fmoc-Gruppe in das tetramere Amin **123** umgewandelt wurde. Die Acetylierung von **123** ergab 90% an **124**, das durch die Spaltung des *tert*-Butylesters in annähernd quantitativer Ausbeute in die tetramere Carbonsäure **125** übergeführt wurde.

**Schema 14:** Synthese des tetramerenamins **123** ( $U_2C_2-NH_2$ ) und der tetrameren Carbonsäure **125** ( $HO_2C-U_2C_2$ )

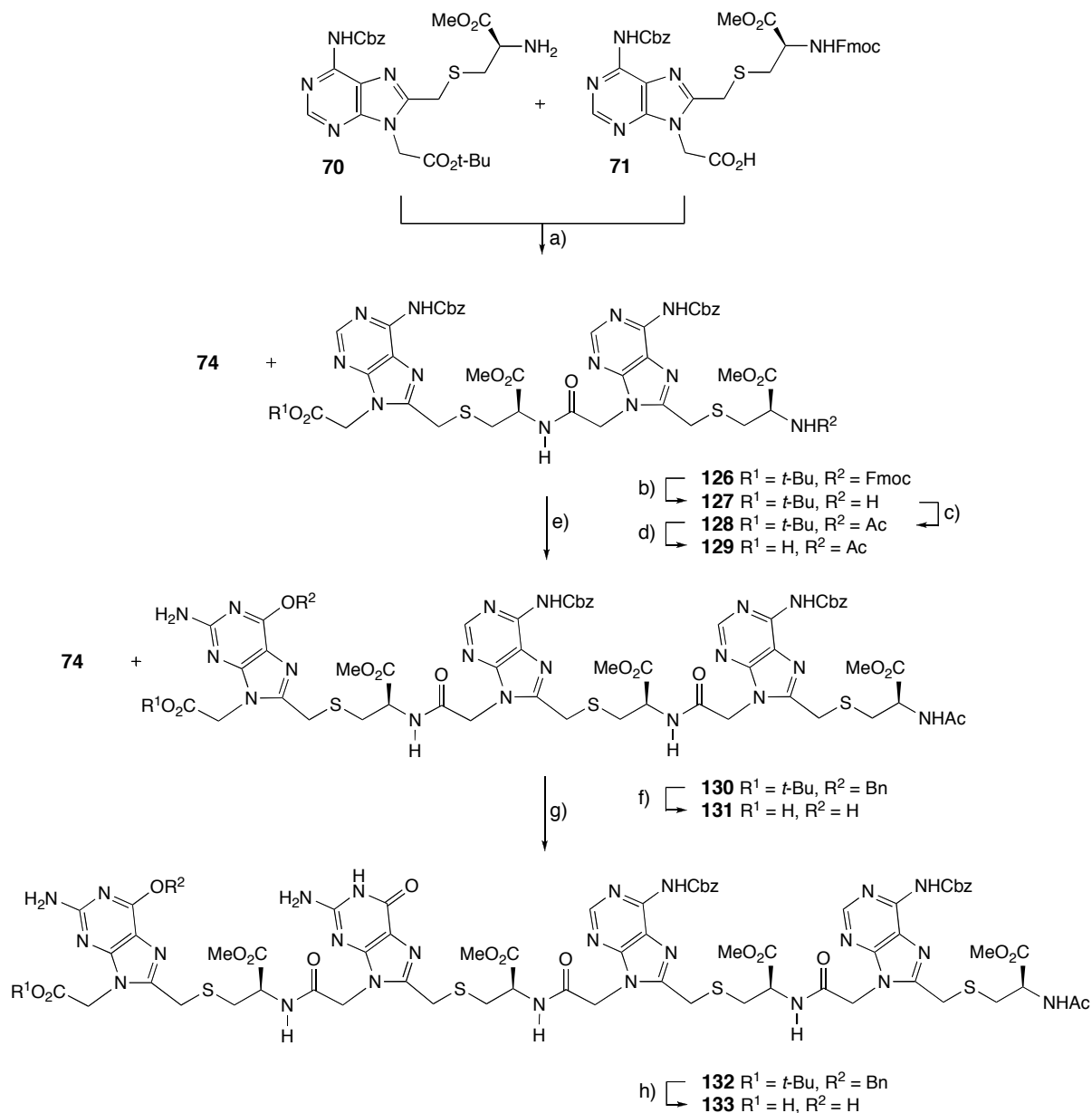


a) HBTU,  $i-Pr_2NEt$ , DMF; 85%. b) HBTU,  $i-Pr_2NEt$ , DMF; 90%. c) Piperidin, DMF; 85%. d) TFA,  $Et_3SiH$ ,  $CH_2Cl_2$ ; 99%. e) HBTU,  $i-Pr_2NEt$ , DMF; 72%. f) Piperidin, DMF; 80%. g)  $Ac_2O$ , 2,6-Lutidin, DMF; 90%. h) TFA,  $Et_3SiH$ ,  $CH_2Cl_2$ ; 98%.

Die für die Synthese des selbstkomplementären Oktameren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) erforderliche, von Adenin und Guanin abgeleitete, tetramere Carbonsäure **133** synthetisierte ich gemäss dem *Schema 15*. Die von Adenin abgeleiteten Monomeren **70** und **71** wurden in 97% Ausbeute in das Dimere **126** übergeführt, das durch Abspaltung der Fmoc-Gruppe in 84% Ausbeute das dimere Amin **127** ergab. Acetylierung von **127** führte in 80% Ausbeute zu **128**, das durch die Spaltung des *tert*-Butylesters in nahezu quantitativer Ausbeute in die dimere Carbonsäure **129** übergeführt wurde. Die Carbonsäure **129** wurde mit dem von Guanin abgeleiteten monomeren Amin **74** in 73% Ausbeute zum Trimeren **130** umgesetzt, welches durch Spaltung des *tert*-Butylesters und der Benzyloxygruppe in nahezu quantitativer Ausbeute in die trimere Carbonsäure **131** übergeführt wurde. Eine weitere Kopplung von **131** mit **74** ergab das Tetramere **132** in 84% Ausbeute, das durch Spaltung des *tert*-Butylesters und der Benzyloxygruppe in die tetramere Carbonsäure **133** umgewandelt wurde (97%). Aufgrund der Eigenschaft von **132**, organische Lösungsmittel zu gelieren, wurde die Ausbeute von 84% nur bei kleinen Ansätzen (20–50 mg) erzielt. Bei Ansätzen von 300 mg musste das Gel mit  $CH_2Cl_2/DMSO$  3:7 von der

Säule gewaschen werden, gefolgt vom Abdampfen des  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und dem Ausfällen von **132** mit Wasser. Dadurch sank die Ausbeute auf 40%.

**Schema 15:** Synthese der tetrameren Carbonsäure **133** ( $\text{HO}_2\text{C-G}_2\text{A}_2$ )

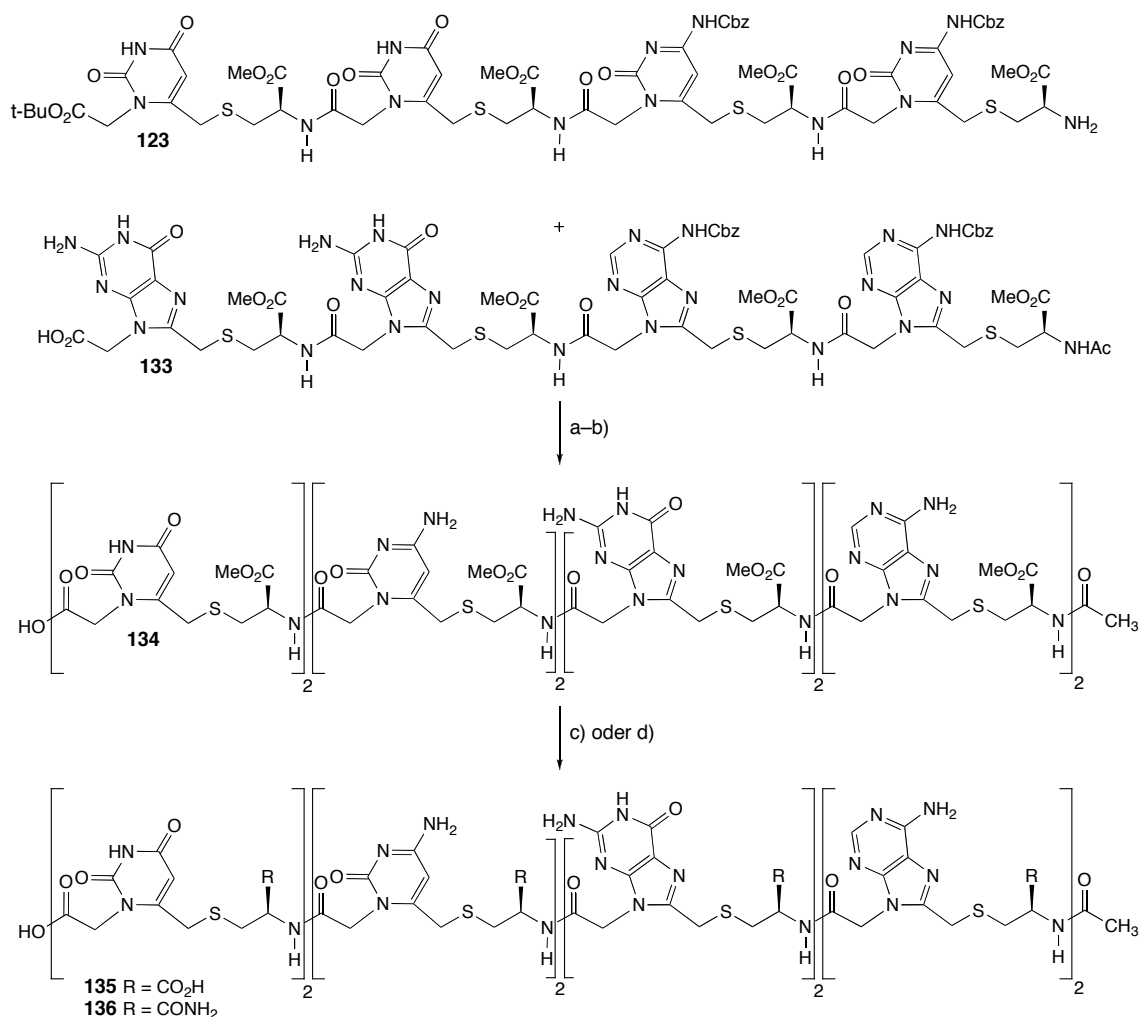


a) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF; 97%. b) Piperidin, DMF; 84%. c) Ac<sub>2</sub>O, 2,6-Lutidin, DMF; 80%. d) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 98%. e) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF; 73%. f) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 98%. g) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF; 84%. h) TFA, Et<sub>3</sub>SiH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 97%.

Zur Synthese des selbstkomplementären Oktameren **135** ( $\text{U}_2\text{C}_2\text{G}_2\text{A}_2$ ) koppelte ich das tetramere Amin **123** mit der tetrameren Carbonsäure **133** (Schema 16). Die Carbonsäure **133** bildete in DMF ein Organogel, sodass die Reaktion in einer 4:1 Mischung von DMF/DMSO durchgeführt wurde. Da das Kopplungsprodukt nicht kristallisierte und sich weder in einer Reihe von organischen Lösungsmitteln, noch in Wasser löste, war eine Reinigung auf dieser

Stufe nicht möglich. Da ich für die Decarbobenzoylierung kein Palladium verwenden konnte, erhitze ich das Oktamere während 4 h in TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 9:1 auf 72°. Auch das decarbobenzoylierte Oktamere war weder in organischen Lösungsmitteln, noch in Wasser löslich, so dass ich die Methylcarbonylgruppen der Seitenketten bei 2° mit einer wässrigen 1 M LiOH-Lösung verseifte und das Rohprodukt an *Amberlite* IR-120 neutralisierte. Die Gelpermeations-Chromatographie des Rohprodukts an *Sephadex G25* mit 2 M wässrigem NH<sub>3</sub> ergab das vollständig entschützte Oktamere **135** (83% aus **123** und **133**). Ein MALDI-TOF-Massenspektrum zeigte neben dem Molekülpeak für **135** keinen Peak für nicht umgesetzte Tetramere oder für *N*-benzilylierte Nebenprodukte [248]. Im NMR-Spektrum waren aufgrund einer Vielzahl von Signalen diastereotoper Gruppen Spuren der Tetrameren nicht nachweisbar. Das Aminocarbonylanaloge zu **135** (**136**) wurde auf ähnliche Weise durch Umsetzung von **134** mit konz. wässrigem NH<sub>3</sub> bei 2° erhalten (*Schema 16*). Die beiden Oktameren zeigten sich in 10 mM Na-Phosphatpuffer (100 mM NaCl) bei pH-7 bis 8.8 genügend wasserlöslich, um ihre Assoziation durch temperaturabhängige UV- und CD-Spektroskopie zu untersuchen.

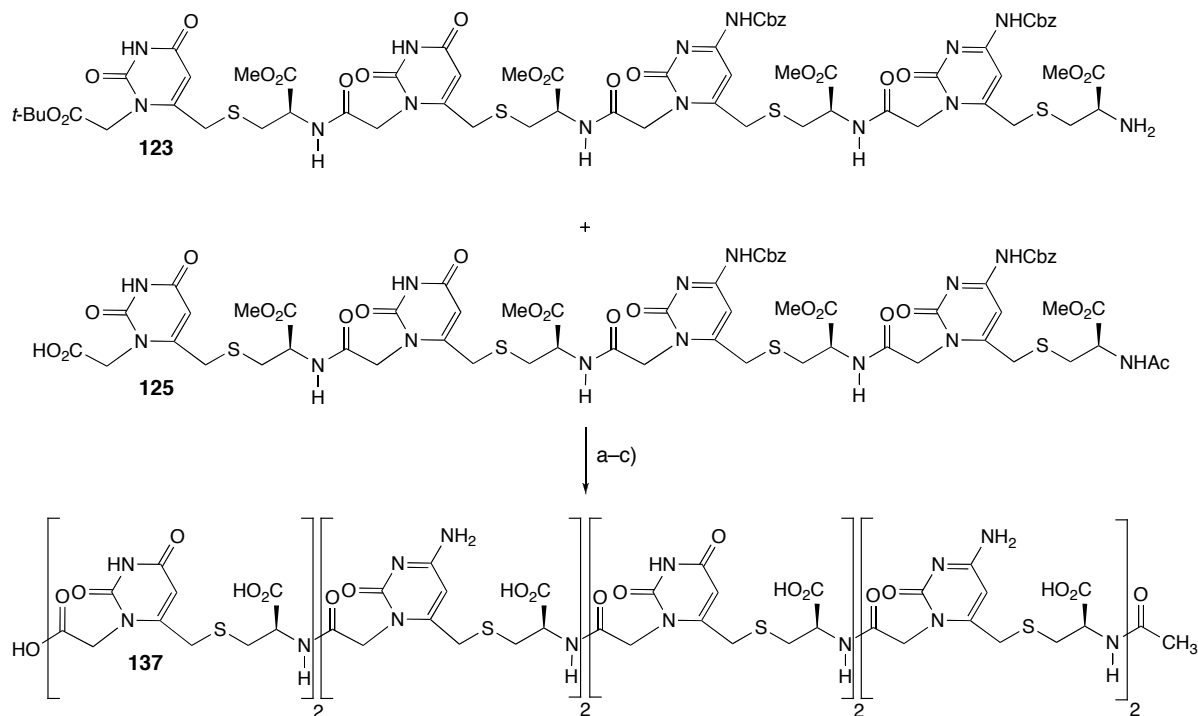
**Schema 16:** *Synthese der selbstkomplementären Oktameren 135 und 136 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)*



a) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF/DMSO 4:1. b) 1. TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 9:1, 72°. c) 1. LiOH, H<sub>2</sub>O. 2. *Amberlite* IR-120; 83% an **135** aus **123** und **133**. d) 1. NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O. 2. *Amberlite* IR-120; 99% an **136** aus **134**.

Das nicht-selbstkomplementäre Oktamere **137** erhielt ich auf ähnliche Art wie **135** und **136** (Schema 17). Die Kopplung des tetrameren Amins **123** und der tetrameren Carbonsäure **125** in einer 2:1 Mischung von DMF/DMSO, Decarbobenzoylierung mit TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 9:1 bei 72° und Verseifung der Seitenketten mit LiOH ergab nach Gelpermeations-Chromatographie an *Sephadex G15* das vollständig entschützte Oktamere **137** in einer Ausbeute von 93% aus **123** und **125**. Auch dieses Oktamere war in 10 mM Na-Phosphatpuffer genügend löslich, um die Assoziation durch temperaturabhängige UV- und CD-Spektroskopie zu untersuchen.

**Schema 17:** Synthese des nicht-selbstkomplementären Oktameren **137** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)

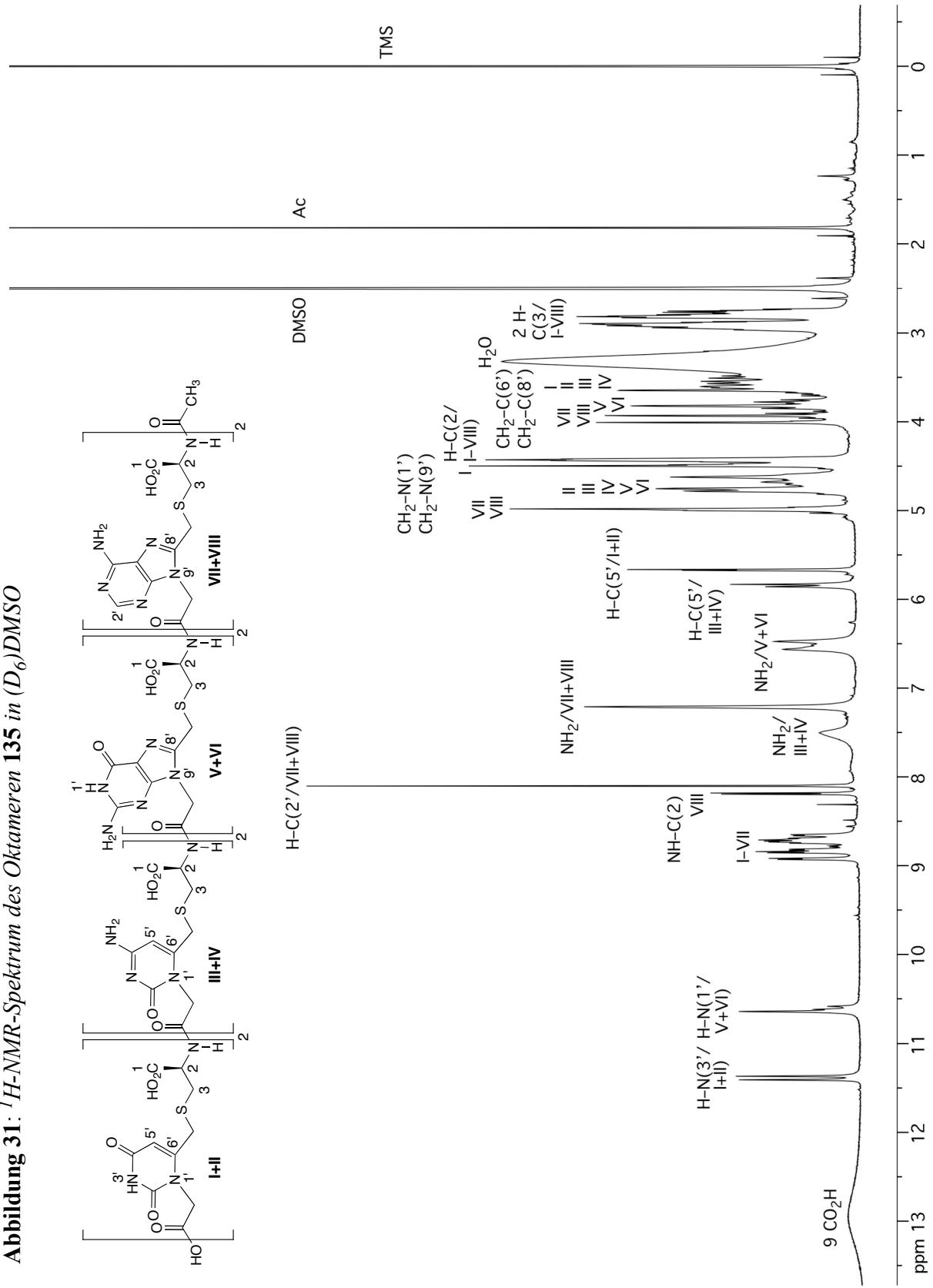


a) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF/DMSO 2:1. b) 1. TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 9:1, 72°. c) 1. LiOH, H<sub>2</sub>O. 2. Amberlite IR-120; 93% aus **123** und **125**.

Aufgrund der Bildung von stabilen Organogelen war mir die Strukturaufklärung der Thioether/Amidanalogen in Chloroform nicht möglich. Im Gegensatz dazu sind alle Oligomeren genügend löslich in (D<sub>6</sub>)DMSO, um <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren ausreichender Qualität zu erhalten und die Signale zuordnen zu können.

Das S-CH<sub>2</sub>-CH-NHC(O) am Chiralitätszentrum (das „α-Proton“) erschien als ein Triplet von Dubletts, mit Kopplungskonstanten von *ca.* 8.3 und 5.2 Hz und einer chemischen Verschiebung von 4.7–4.3 ppm, sehr ähnlich den Kopplungskonstanten und chemischen Verschiebungen von α-Protonen in Peptiden. Das diastereotope S-CH<sub>2</sub>-CH-NHC(O) (δ = 3.0–2.6 ppm) spaltete in ein Dublett von Dubletts mit einer charakteristischen geminalen Kopplungskonstanten von *ca.* 14.0 Hz und einer vicinalen Kopplungskonstanten von 4.5–6.0 und 6.5–10.0 Hz auf. Aufgrund seiner grösseren Distanz zum Stereozentrum erschien das C(6/8)-CH<sub>2</sub>-S-Signal entweder als ein Singulett oder als ein Dublett von Dubletts, in welchem Fall eine typische geminale Kopplungskonstante von *ca.* 15.0 Hz beobachtet wurde.

Abbildung 31:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Oktameren **135** in  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$





Das C(6)–CH<sub>2</sub>-Signal zeigte eine chemische Verschiebung von 3.8–3.4; C(8)–CH<sub>2</sub> eine solche von 4.2–3.7 ppm. Auch das CH<sub>2</sub>–N(1/9)-Signal zeigte nur in einzelnen Fällen eine Aufspaltung (geminale Kopplungskonstanten von *ca.* 18.0 Hz) mit einer chemischen Verschiebung von H<sub>2</sub>C–N(1) von 4.8–4.5, und von H<sub>2</sub>C–N(9) von 5.1–4.7 ppm. Die Signale der Oxymethylengruppen, der Benzyl- und der Carbobenzoxyreste erschienen als Singulette bei 5.5 und 5.2 ppm; wie erwartet fand sich auch das Signal der Methoxycarbonylgruppe als Singulett bei 3.6 ppm. Die Amidprotonen der Thioether/Amid-Oligomeren erschienen, in Analogie zu den Amidprotonen von Peptiden, als Dublette ( $J \approx 7.8$  Hz) bei einer chemischen Verschiebung von 9.2–8.8 ppm. Die <sup>13</sup>C-NMR-Spektren zeigten jeweils einen einzigen Signalsatz und keine ungewöhnlichen chemischen Verschiebungen.

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des vollständig entschützten Oktameren **135** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) in (D<sub>6</sub>)DMSO beobachtete ich H–N(3) der Uracilnucleobasen als Singulett bei 11.4 ppm, wohingegen ein H–N(1) der Guaninnucleobasen als Singulett, das andere als zwei Singulett bei 10.6 ppm erschien (*Abbildung 31*). Die exozyklischen Aminogruppen der Cytosin- und Adennucleobasen erschienen als breite Singulett bei 7.5 bzw. 7.2 und die Aminogruppen der Guaninnucleobasen als breite Singulett bei 6.6 und 6.5 ppm. Da ich die Aufklärung der Sekundärstruktur von **135** in wässriger Lösung auf der Grundlage von 2D-NMR-Methoden beabsichtigte, nahm ich <sup>1</sup>H-NMR-Spektren unter assoziierenden Bedingungen auf (10 mM N-Phosphatpuffer mit 100 mM NaCl bei pH-7 und 8.8 bei Unterdrückung des Wassersignals). Die Signale waren ausreichend scharf, mit Ausnahme jener von H–N(3) und H–N(1) der Uracil- bzw. Guaninnucleobasen, die im Gegensatz zu den Signalen von H–N(3) und H–N(1) in (D<sub>6</sub>)DMSO aufgrund ihrer Breite keine Zuordnung zuließen. Das Oktamere **135** ist in schwach sauren, wässrigen Medien unlöslich, sodass seine Analyse unter diesen Bedingungen, bei denen ein langsamerer Austausch von H–N(3) und H–N(1) zu erwarten gewesen wäre, nicht möglich war. Da die Signale von H–N(3) und H–N(1) für die Bestimmung des Typs der H-Brücken entscheidend sind, musste ich von der NMR-spektroskopischen Analyse der Assoziation von **135** absehen. Aufgrund ihrer fehlenden Paarung (Kapitel 5.2.1.) war die NMR-spektroskopische Untersuchung der Oktameren **136** und **137** nicht von Interesse.

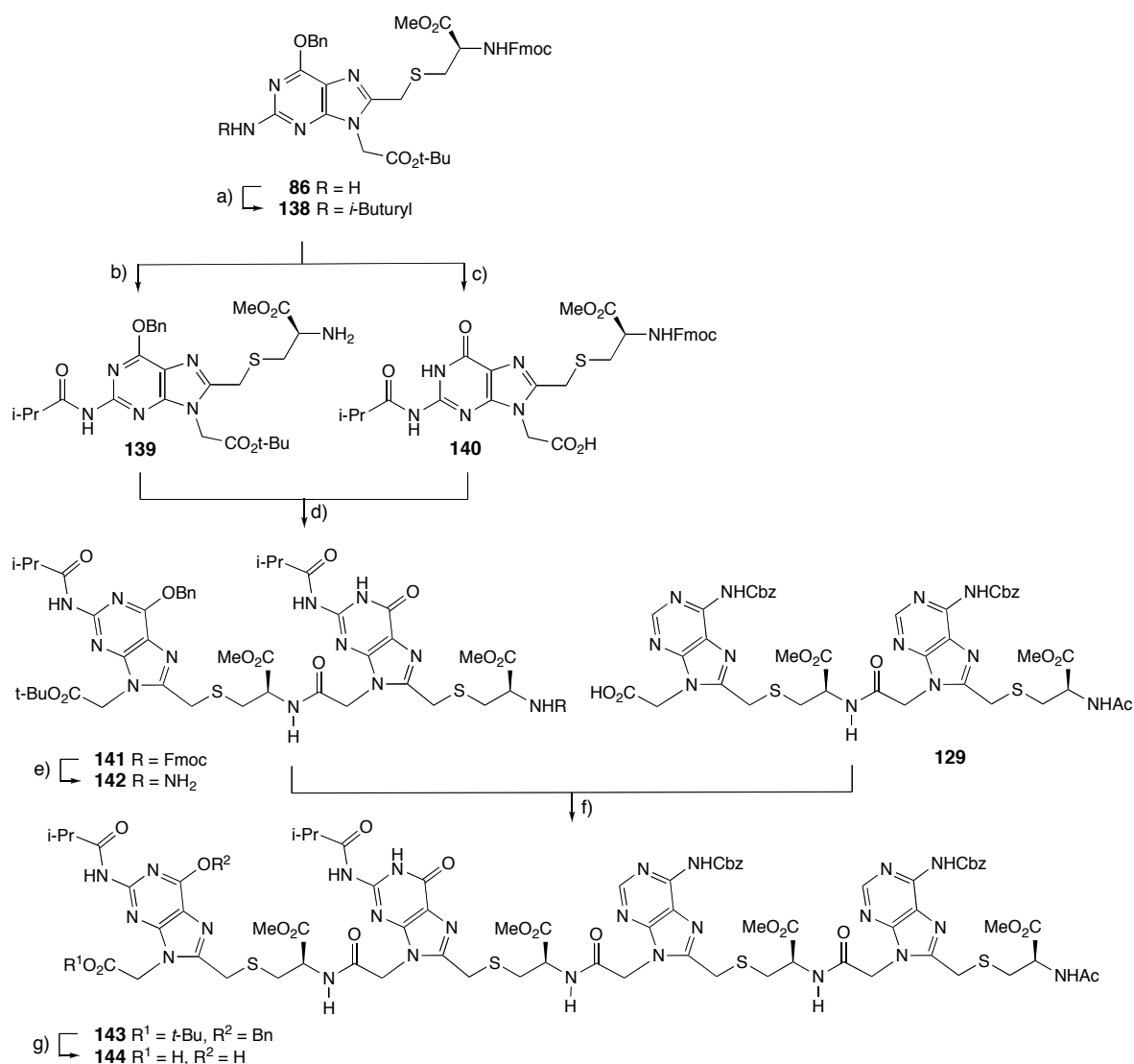
Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten ausgewählter <sup>1</sup>H-NMR-Signale und die chemischen Verschiebungen ausgewählter <sup>13</sup>C-NMR-Signale der vollständig geschützten Monomeren **78**, **81**, **85** und **86**, der Dimeren **118**, **120** und **126**, des Trimeren **130** und der Tetrameren **122** und **132** in (D<sub>6</sub>)DMSO sind in der *Tabelle 5* und in der *Tabelle 6* im Kapitel 7.3 zusammengestellt. Viele <sup>1</sup>H-NMR-Signale der vollständig entschützten Oktameren **135**, **136** und **137** in (D<sub>6</sub>)DMSO erlaubten wegen ihrer diastereotopen Aufspaltungen und der Überlappung mit anderen Signalen keine eindeutige Zuordnung. Nichtdestoweniger sind die NMR-Daten der vollständig entschützten Oktameren **135** und **137** in der *Tabelle 7* und in der *Tabelle 8* im Kapitel 7.3 zusammengestellt.

#### 4.2.3.3. Lösungssynthese des *i*-butyrylgeschützten Oktameren U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub> und die Probleme bei der Entfernung der Schutzgruppen

Aufgrund der verbesserten Löslichkeit der *i*-butyrylgeschützten, von Guanin abgeleiteten Oligomeren in organischen Lösungsmitteln plante ich ursprünglich die Synthese des selbstkomplementären Oktameren **135** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) mit Guaninderivaten, deren H<sub>2</sub>N–C(2)-Gruppe durch

eine *i*-Butyrylgruppe geschützt ist (Schema 18). Dazu wurde das von Guanin abgeleitete Monomere **86** mit *i*-Butyrylchlorid in Pyridin in nahezu quantitativer Ausbeute in **138** übergeführt. Die Spaltung der *N*Fmoc-Gruppe von **138** lieferte in 95% Ausbeute das monomere Amin **139**; die Spaltung des *tert*-Butylesters ergab die monomere Carbonsäure **140** in nahezu quantitativer Ausbeute. Die Kopplung von **139** und **140** führte in 94% zum Dimeren **141**, welches durch Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe in einer Ausbeute von 85% in das dimere Amin **142** übergeführt wurde. Kopplung von **142** mit der von Adenin abgeleiteten dimeren Carbonsäure **129** ergab in 88% Ausbeute das Tetramere **143**, welches durch Spaltung des *tert*-Butylesters in 70% Ausbeute zur tetrameren Carbonsäure **144** umgesetzt wurde. Die niedrige Ausbeute von **144** resultierte aus der chromatographischen Abtrennung geringerer Mengen an Verunreinigungen.

**Schema 18:** Synthese der *i*-butyrylgeschützten, tetrameren Carbonsäure **144** ( $\text{HO}_2\text{C-G}_2\text{A}_2$ )

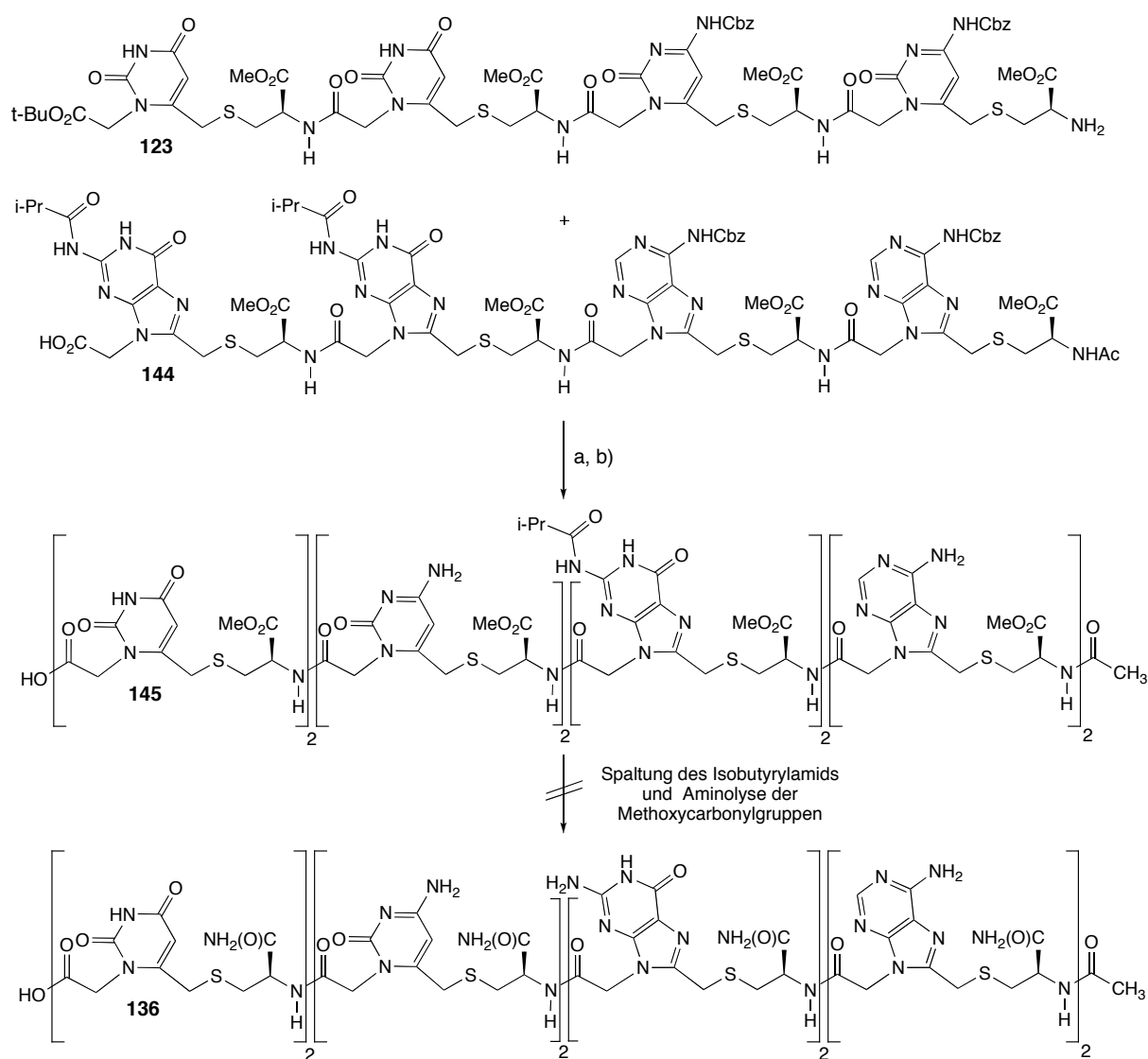


a) *i*-Butyrylchlorid, Pyridin; 99%. b) Piperidin, DMF; 95%. c) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 99%. d) HBTU,  $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ , DMF; 94%. e) Piperidin, DMF; 85%. f) HBTU,  $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ , DMF; 88%. g) TFA,  $\text{Et}_3\text{SiH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 70%.

Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten ausgewählter  $^1\text{H}$ -NMR Signale und die chemischen Verschiebungen ausgewählter  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale des *i*-Butyryl-geschützten Monomeren **138**, des Monomeren **85**, der *i*-Butyryl-geschützten Di- und Tetrameren **141** und **143** und des Dimeren **126** in  $(\text{D}_6)$ DMSO sind in der *Tabelle 9* und in der *Tabelle 10* im Kapitel 7.3 zusammengestellt.

Die Kopplung des tetrameren Amins **123** mit der tetrameren Carbonsäure **144** und die anschließende Decarbobenzoylierung zum Oktameren **145** verlief ohne Probleme (*Schema 19*).

**Schema 19:** Versuch zur Synthese des selbstkomplementären Oktameren **136** ( $\text{U}_2\text{C}_2\text{G}_2\text{A}_2$ ) durch Spaltung des Isobutyrylamids **145**



a) HBTU, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, DMF. b) 1. TFA/*i*-Pr<sub>3</sub>SiH 9:1, 80°.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit von **145** war seine chromatographische Reinigung nicht möglich. Anstatt dessen versuchte ich, das Isobutyrylamid durch Aminolyse mit konz. wässr. NH<sub>3</sub> zu spalten, analog zur Spaltung der entsprechenden Amidgruppen von PNA-Oligomeren

[96]. Die Aminolyse sollte mit der Umwandlung der Methoxycarbonylgruppen in Aminocarbonylgruppen einhergehen. Die Umsetzung fand unter heterogenen Bedingungen statt, wobei die ursprüngliche Suspension bei Raumtemperatur erst nach zwei Tagen (bei 55° nach einem Tag) in eine Lösung überging. Anstelle des Oktameren **136** detektierte ich ein komplexes Gemisch an kürzeren Fragmenten (LCMS- und MALDI-TOF-Analyse). Wenn ich die Reaktion bei einer Temperatur von 2° durchführte, erhielt ich nach fünf Tagen eine Lösung des *i*-Butyryl-geschützten Analogens von **136** als Hauptprodukt. Wenn ich die Reaktion in konz. methanolischem NH<sub>3</sub> durchführte, erzielte ich aufgrund der Unlöslichkeit von **145** und/oder des *i*-Butyryl-geschützten Analogens von **136** auch bei erhöhten Temperaturen keinen Umsatz. Die Verwendung von 0.1 M NaOMe in MeOH, 0.1 M DBU in MeOH, oder 1 M wässr. LiOH führte zur Zersetzung des Startmaterials. Auch saure Bedingungen, wie konz. wässr. HCl oder 1.25 M methanolische HCl ergaben unter Rückfluss komplexe Produktgemische. Die Rohprodukte lösten sich nur sehr schlecht in Gemischen aus Wasser und Acetonitril, THF, Dioxan, oder Methanol. Ich war nicht imstande diese Rohprodukte chromatographisch zu reinigen und genauer zu untersuchen.

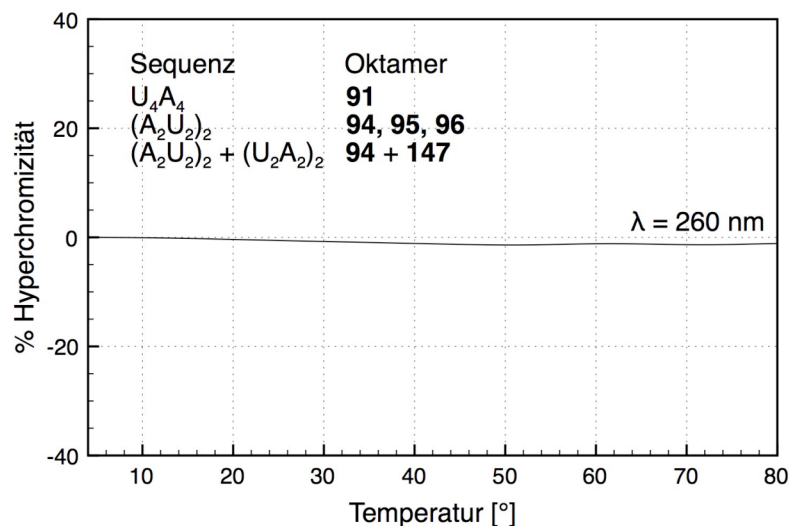
## 5. Analyse der Assoziation und Interpretation der Ergebnisse

### 5.1. Hydrazid-Analoga

#### 5.1.1. Homoassoziation

Wie in der Einleitung (Kapitel 2.5.1.) erläutert wurde, ist die temperaturabhängige UV-Spektroskopie [204] [205] [250] die am häufigsten eingesetzte Methode, um die Stabilität eines Assoziats von DNA, RNA und dessen Analogon in wässrigen Medien zu untersuchen. Zu diesem Zweck erwärmte ich 10  $\mu\text{M}$  Lösungen der selbstkomplementären Oktameren **91** ( $\text{U}_4\text{A}_4$ ) und **94**, **95** und **96** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$ ) in Wasser oder in 10 mM Na-Phosphatpuffer (100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH-7) von 4° auf 80° (Gradient: 0.1°/min) und kühlte anschliessend diese Lösungen wieder auf 4°, wobei ich die UV-Absorption bei einer Wellenlänge von 260 nm mass. Zusätzlich zeichnete ich eine Schmelzkurve eines Gemisches von **94** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$ ) und **147** ( $(\text{U}_2\text{A}_2)_2$ )<sup>16</sup> ( $c = 5 + 5 \mu\text{M}$ ) auf, das im Gegensatz zu **91**, **94**, **95** und **96** eine Assoziation über parallele Anordnung der Stränge erlaubt. Sowohl beim Erwärmen, als auch beim Abkühlen erhielt ich die in der *Abbildung 32* gezeigte Gerade. Die UV-Spektren von **94**, **95** und **96** bei 4° und bei 80° (nicht gezeigt) sind annähernd deckungsgleich und zeigen auch bei anderen Wellenlängen keine Abhängigkeit der UV-Absorption von der Temperatur. Aufgrund der fehlenden Stapelwechselwirkungen ist eine Assoziation der Hydrazidanaloga in den helikalen Formen von DNA oder RNA in wässrigen Medien mit grosser Wahrscheinlichkeit auszuschliessen.

**Abbildung 32:** UV-Schmelzkurven der selbstkomplementären Hydrazid Oktameren **91** ( $\text{U}_4\text{A}_4$ ), **94** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$  mit Methoxycarbonylmethyl-Seitenketten), **95** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$  mit Aminocarbonylmethyl-Seitenketten) und **96** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$  mit Carboxymethyl-Seitenketten) ( $c = 10 \mu\text{M}$ ) und **94** ( $(\text{A}_2\text{U}_2)_2$ ) + **147** ( $(\text{U}_2\text{A}_2)_2$ ) ( $c = 5 + 5 \mu\text{M}$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$  oder 10 mM Na-Phosphatpuffer mit 100 mM NaCl und 0.1 mM EDTA (1 cm Küvette)



Auch eine Analyse mit ESI-Spektrometrie lieferte keinen Hinweis auf eine Assoziation der selbstkomplementären Oktameren **91**, **94**, **95** und **96**. Ihre Spektren zeigten bei einer Konzentration von  $c = 1 \text{ mM}$  lediglich die einfach und doppelt geladenen Monoplex-Peaks. Eine dampfdruck-osmometrische Analyse zur Bestimmung der Stöchiometrie ergab aufgrund der

<sup>16</sup> Das Oktamere **147** ( $(\text{U}_2\text{A}_2)_2$ ) wurde von *Fabio de Giacomo* synthetisiert [12].

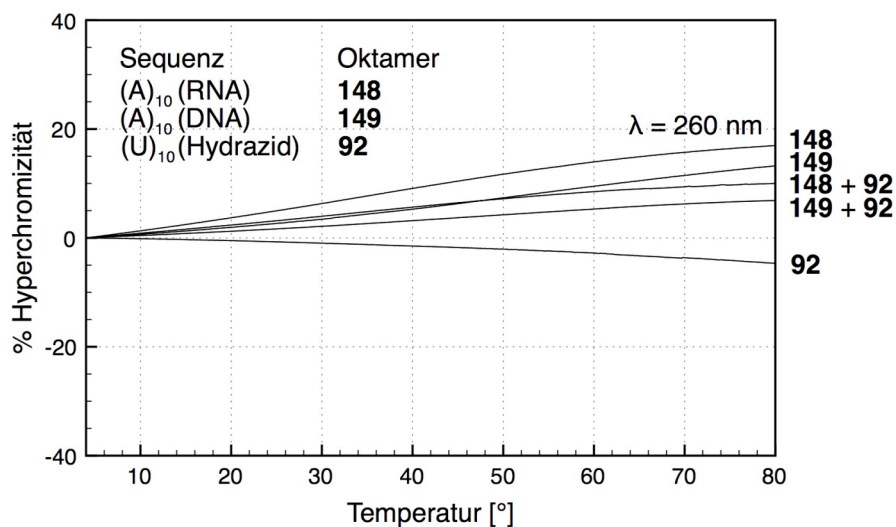
moderaten Löslichkeit der Oktameren und dem geringen Dampfdruck von Wasser keine zuverlässigen Ergebnisse. Auch ein Job-Plot fiel wegen der Selbstkomplementarität der Oktameren und wegen der fehlenden Abhängigkeit der UV-Absorption von der Temperatur ausser Betracht.

Ich kann mir das Fehlen von Stapelwechselwirkungen mit zwei Argumenten erklären. Zum ersten könnte die notwendige Konformationsänderung von  $\xi = 180^\circ$  nach  $\xi = +70^\circ$  scheitern (*Abbildung 20, b*)  $\rightarrow$  *c*) im Kapitel 3.1.). Ohne diese Konformationsänderung ist keine Assoziation unter Bildung eines zyklischen Duplexes und somit auch keine intramolekulare Basenpaarung möglich. Zum zweiten kann der relativ grosse Basenabstand von 3.6–4 Å einer effizienten Stapelung im Wege stehen (vgl. B-DNA und A-RNA: 3.3–3.4 Å). Wie in der *Abbildung 22* im Kapitel 3.1. zu sehen ist, reagiert das Oktamere darauf mit einem *buckle twist* ( $23^\circ$ ), dem Einknicken der äusseren Basenpaare in Richtung des Helixkerns. Das kurze und starre Hydrazid-Verknüpfungselement könnte die daraus resultierende Destabilisierung der Helix möglicherweise nicht kompensieren und/oder andere Verzerrungen der Helix nicht ausgleichen.

### 5.1.2. Heteroassoziation mit DNA und RNA

Neben der Homoassoziation der selbstkomplementären Oktameren testeten wir zusätzlich die Heteroassoziation des nicht-selbstkomplementären hydrazidverknüpften Oktameren **92** ( $U_{10}$ ) mit der komplementären RNA **148** ( $(A)_{10}$ ) und DNA **149** ( $(A)_{10}$ ), was eine parallele und eine antiparallele Paarung erlaubt. Wir gingen gleich vor, wie es im Kapitel 5.1.1. beschrieben ist, indem wir Gemische von **92** ( $U_{10}$ ) und RNA **148** ( $(A)_{10}$ ) bzw. **92** ( $U_{10}$ ) und DNA **149** ( $(A)_{10}$ ) ( $c = 5 + 5 \mu\text{M}$ ) erwärmten und wieder abkühlten. Als Negativkontrollen führten wir diese De- und Renaturierungsexperimente mit  $5 \mu\text{M}$  Lösungen der Einzelstränge durch (*Abbildung 33*).

**Abbildung 33:** UV-Schmelzkurven des nicht-selbstkomplementären Hydrazid Dekameren **92** ( $U_{10}$ ) + **148** (RNA  $A_{10}$ ) bzw. **149** (DNA  $A_{10}$ ) ( $c = 5 + 5 \mu\text{M}$ ) in 10 mM Na-Phosphatpuffer mit 100 mM NaCl und 0.1 mM EDTA (1 cm Küvette)



Die UV-Absorption von **92** sank mit steigender Temperatur leicht (hypochrom), wohingegen die UV-Absorption von **148** und **149** beim Erwärmen zunahm (hyperchrom). Der annähernd

lineare Abfall bzw. Anstieg der UV-Absorption von **92**, **148** und **149** kann über nichtkooperative, intramolekulare und damit unspezifische Stapelwechselwirkungen erklärt werden. Die beiden UV-Schmelzkurven der Mischungen von **92** mit **148** bzw. **149** zeigen lediglich eine Überlagerung der UV-Schmelzkurven der Einzelstränge und belegen fehlende Stapelwechselwirkungen der Hydrazidanalogen mit DNA und RNA.

Auch wenn die helikale Windung der Hydrazidanalogen jener von B-DNA und besonders jener von A-RNA mit 28° recht ähnlich sein dürfte (vgl. B-DNA: 36 Å; A-DNA: 31 Å) und der DNA- bzw. RNA-Strang als Templat für die Assoziation dienen könnte, ist aufgrund der Starrheit des Hydrazid-Verknüpfungselements die Unfähigkeit zu einer Anpassung der Konformation und die damit verbundene fehlende Stapelung nicht allzu erstaunlich. Diese Überlagerungen werden von den Beobachtungen von *Eschenmoser et al.* an den Verbindungsklassen der Pentapyranosyl- und der Threofuranosyl-RNA-Analogen gestützt. Die günstig vororientierten Pentapyranosylanalogen stellen ein starkes Paarungssystem dar, paaren aber aufgrund ihrer Starrheit nicht mit DNA und RNA. Aufgrund ihrer Flexibilität paaren die Threofuranosylanalogen dagegen mit sich selbst *und* mit den natürlichen Nukleinsäuren [75] [76].

## 5.2. Thioether/Amid-Analoge

### 5.2.1. Homoassoziation

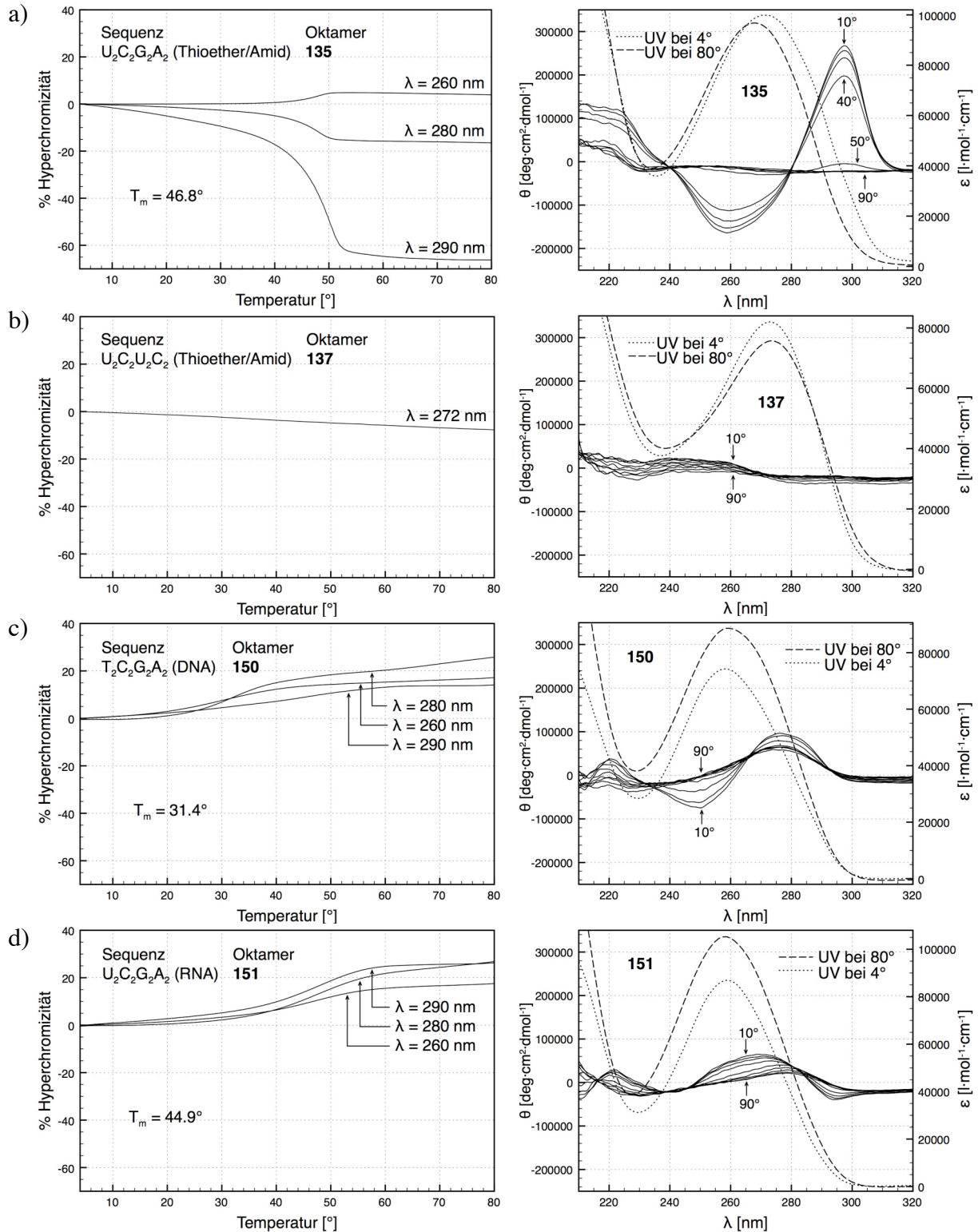
Ich mass UV-Schmelzkurven der Thioether/Amid-Oktameren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) und **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ ) (10  $\mu$ M-Lösungen) in 10 mM Na-Phosphatpuffer (100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH-7) bei verschiedenen Wellenlängen und verglich sie mit den Schmelzkurven, die ich unter den gleichen Bedingungen mit dem sequenzanalogen DNA-Oktameren **150** ( $T_2C_2G_2A_2$ ) und dem RNA-Oktameren **151** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) erhielt. Dieselben Lösungen wurden zur Messung von temperaturabhängigen CD- und UV-Spektren verwendet (*Abbildung 34 a)–d*).

Im Gegensatz zu **150**, **151** und **137** zeigt das UV-Spektrum des selbstkomplementären Oktameren **135** bei 4°, im Vergleich zu dem UV-Spektrum bei 80° (*Abbildung 34 a*), rechts), eine bathochrome Verschiebung ( $\lambda_{\max}$  von 268 nach 272 nm). Würden alle Basenpaare gleichermaßen stapeln, sollte dieser Effekt nicht zu beobachten sein. Da G·C-Basenpaare von DNA bei höheren Wellenlängen absorbieren als A·T-Basenpaare (*ca.* 280 bzw. *ca.* 260 nm) [255], schreibe ich die bathochrome Verschiebung des UV-Spektrums von **135** einer ausgeprägteren Basenstapelung des inneren  $C_2G_2$ -Fragments und einer schwächeren Basenstapelung der C-terminalen  $U_2$ - und N-terminalen  $A_2$ -Fragmente zu.

Die UV-Schmelzkurven der Heiz- (Denaturierungs-) und Kühl- (Renaturierungs-) Experimente waren in allen Fällen nahezu deckungsgleich, was die Einstellung eines Gleichgewichtes annehmen lässt. Aufgrund einer kooperativen Basenpaarung zeigen die selbstkomplementären Oktameren **135**, **150** und **151** eine nichtlineare Änderung der UV-Absorption mit linear steigender Temperatur (*Abbildung 34 a*), *c*) und *d*), links). Im Gegensatz dazu ändert sich die Absorption des nichtselbstkomplementären Oktameren **137** lediglich linear, was auf eine unspezifische Basenstapelung hinweist (*Abbildung 34 b*), links).

**Abbildung 34:** UV-Schmelzkurven (linke Seite) und temperaturabhängige CD-Spektren (rechte Seite, durchgezogene Linien, 10°-Schritte von 10° auf 90°) und UV-Spektren (rechte Seite, gepunktete Linie bei 4°, gestrichelte Linie bei 80°)

a) **135** (Thioether/Amid  $U_2C_2G_2A_2$ ) b) **137** (Thioether/Amid  $U_2C_2U_2C_2$ ) c) **150** (DNA  $T_2C_2G_2A_2$ ) und d) **151** (RNA  $U_2C_2G_2A_2$ ) in 10 mM Na-Phosphatpuffer mit 100 mM NaCl und 0.1 mM EDTA ( $c = 10 \mu M$ , 1 cm Küvette)





Als Konsequenz der bathochromen Verschiebung seines UV-Maximums zeigt **135** bei der Wellenlänge von  $\lambda = 260$  nm nur eine kleine hyperchrome Verschiebung im UV-Schmelzprofil (5%), wohingegen bei  $\lambda = 280$  nm und besonders bei  $\lambda = 290$  nm eine beachtliche hypochrome Verschiebung beobachtet wird (17% bzw. 66%) (*Abbildung 34 a*), links). Die Schmelzpunkte und die thermodynamischen Parameter, die ich aus diesen Kurven berechnete, sind nahezu identisch (vgl.  $T_m$  für **135** bei  $\lambda = 260$  nm:  $46.8^\circ$ ; bei  $\lambda = 290$  nm:  $47.5^\circ$ ).

Das CD-Spektrum des DNA-Oktameren **150** ( $T_2C_2G_2A_2$ ) spiegelt dasjenige der B-Form; das CD-Spektrum des RNA-Oktameren **151** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) jenes der A-Form wieder (Kapitel 2.1.1.). Die CD-Spektren von **135** zeigen im Vergleich zu denjenigen von **150** und **151** einen weitaus stärkeren Cotton-Effekt, wobei die CD-Spektren von **135** nur sehr schwache Elliptizitäten aufweisen.

Ich ermittelte die thermodynamischen Daten unter Annahme eines bimolekularen Gleichgewichts (Diskussion zur Molekularität siehe weiter unten), auf der Grundlage einer *van't Hoff* Analyse [205] (*Tabelle 3*).

**Tabelle 3:** Aus den basislinienkorrigierten Kurven des assoziierten Anteils ( $\theta$ ) berechnete Schmelztemperaturen ( $T_m$ ) [205] von **135** (Thioether/Amid  $U_2C_2G_2A_2$ ), **150** (DNA  $T_2C_2G_2A_2$ ) und **151** (RNA  $U_2C_2G_2A_2$ ) und die auf der Grundlage einer *van't Hoff* Analyse berechneten thermodynamischen Parameter ( $c = 10 \mu\text{M}$  Lösungen in  $10 \text{ mM}$  Na-Phosphatpuffer mit  $100 \text{ mM}$  NaCl und  $0.1 \text{ mM}$  EDTA)

Oktamer	$T_m$ [ $^\circ$ ]	$-\Delta G_{298}$ [kcal/mol]	$-\Delta H$ [kcal/mol]	$-\Delta S$ [kcal/mol]
<b>135</b>	46.8	13.4	89.1	75.7
<b>150</b>	31.4	8.0	55.4	47.4
<b>151</b>	44.9	9.8	48.1	38.3

Das thioether/amidverknüpfte Oktamere **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) besitzt sowohl eine höhere Schmelztemperatur, als auch eine niedrigere freie Enthalpie ( $\Delta G_{298}$ ) als das sequenzanalogue DNA-Oktamere **150** ( $T_2C_2G_2A_2$ ) und das RNA-Oktamere **151** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) (*Tabelle 3*). Der Übergang von **135** im UV-Schmelzprofil ist schärfer als jener der sequenzanalogen DNA- und RNA-Oktameren, was auch durch den unmittelbaren Abfall des CD-Signals von **135** bei seiner Schmelztemperatur von  $47^\circ$  widergespiegelt wird (*Abbildung 34 a*), rechts) und auf eine schnelle Paarung der Thioether/Amidanalogen schliessen lässt. Oberhalb ihrer Schmelztemperaturen zeigen die DNA- und RNA-Oktameren eine lineare Abhängigkeit der UV-Absorption von der Temperatur, wohingegen die UV-Absorption von **135** nach dem Schmelzvorgang annähernd konstant bleibt. Dies bedeutet, dass die DNA- und RNA-Analogen nach dem Schmelzvorgang weiterhin unspezifisch stapeln, wohingegen das Thioether/Amid-Oktamere dies nicht tut. Die Interpretation der Schmelzkurve von **135** als Ausdruck seiner Paarung wird auch von der Beobachtung gestützt, dass das nicht-selbstkomplementäre Oktamere  $U_2C_2U_2C_2$  (**137**) weder eine Schmelzkurve, noch einen temperaturabhängigen Cotton-Effekt zeigt.

Der grosse Wert für die Entropie ( $\Delta S$ ) von **135** zeigt auf, dass die Freiheitsgrade des Oktameren im Duplex im Vergleich zu den Freiheitsgraden des Monoplexes, stark eingeschränkt werden. Diese Beobachtung könnte, wie im Strukturentwurf der Thioether/Amidanalogen

diskutiert, mit Konformationsgleichgewichten im Monoplex von  $\lambda_1 = 60^\circ$  und  $\lambda_1 = 180^\circ$  und/oder von  $\xi_1 = +90^\circ$  und  $\xi_1 = -90^\circ$  in Zusammenhang stehen (*Abbildung 25* im Kapitel 3.3.), wohingegen diese Gleichgewichte bei einer Assoziation in einem Duplex „eingefroren“ werden (Torsionswinkel von  $\lambda_1 = 60^\circ$  und  $\xi_1 = +90^\circ$ ). Auch der Beitrag des hydrophoben Effekts könnte für **135** stärker ins Gewicht fallen als für **150** und **151**; also **135** könnte bei seiner Assoziation mehr Hydratwasser freisetzen.

Der Wert der Enthalpie ( $\Delta H$ ) spiegelt die Summe der stabilisierenden und der destabilisierenden Wechselwirkungen des Mono- und des Duplexes wider. Die Stapelung und die H-Brücken eines RNA Duplexes wirken stabilisierend, wohingegen die Ladungsabstossung zwischen den assoziierten Strängen, sterische Wechselwirkungen, wie auch konformationelle Änderungen beim Übergang vom Monoplex zum Duplex einen destabilisierenden Einfluss ausüben. Obwohl die natürlichen Nukleinsäuren seit Jahrzehnten untersucht werden ist der separate energetische Beitrag der Wasserstoffbrücken und der Stapelung zur Stabilität eines Duplexes unbekannt [222] [256] [257].

Der Beitrag der freien Enthalpie ( $\Delta G_{298}$ ) pro Basenpaar zur Bildung eines RNA-Duplexes in Wasser wird, in Abhängigkeit von der Salzkonzentration, mit *ca.* 1.5 kcal pro Basenpaar beziffert [207] [222] [256] [257]. Für das Thioether/Amid-Oktamere **135** ergibt sich ein Beitrag von 1.7 kcal, für das DNA-Oktamere **150** ein solcher von 1.0 kcal und für das RNA-Oktamere **151** ein Beitrag von 1.2 kcal/mol pro Basenpaar (8 *Watson-Crick*-Basenpaare, 7 Stapelwechselwirkungen). Der Grossteil dieser Energie wird dabei der Basenstapelung; ein kleinerer Beitrag den Wasserstoffbrücken zugeschrieben [207] [222] [256] [257]. Diese Betrachtungen stehen im Gegensatz zu jenen in organischen Medien (z.B. Chloroform), in denen die Stabilität eines Assoziats fast ausschliesslich durch den energetischen Beitrag der Wasserstoffbrücken bestimmt wird. Wenn also der Beitrag der Stapelung einen solch grossen Einfluss auf die Stabilisierung des Assoziats hat, dann sollte das Ausmass der Stapelung von **135** dem von DNA und RNA ähnlich, oder sogar überlegen sein. Das wiederum würde bedeuten, dass die helikale Windung pro Basenpaar von **135** kleiner sein sollte als jene, die für den Duplex berechnet wurde (Kapitel 3.3.; vgl. Thioether/Amid:  $42^\circ$ , B-DNA:  $36^\circ$ , A-RNA:  $33^\circ$ ). Die grössere Stabilität von **135** im Vergleich zu **150** und **151** könnte aber auch in einer weniger destabilisierenden Strangabstossung und einer besseren Vororientierung von **135** begründet liegen. Mono-, tri-, und tetramolekulare Gleichgewichte sind anhand der in *Tabelle 4* zusammengefassten Experimente äusserst unwahrscheinlich. Ich kann ein intramolekulares Assoziat (monomolekulares Gleichgewicht), aufgrund der Konzentrationsabhängigkeit der Schmelztemperatur von **135** ausschliessen [205] (vgl. Einträge 1–3 in der *Tabelle 4*). Die Assoziation unter Bildung eines Triplexes (trimolekulares Gleichgewicht) über XY·X- und/oder XY·Y-Triplette (X = Pyrimidin- und Y = Purinbase) setzt einen Homopyrimidin- und einen Homopurinstrang voraus. CG·C<sup>+</sup> und TA·T<sup>+</sup> Triplette erfordern zu ihrer Bildung ausreichend saure Bedingungen, während die Stabilität von XY·Y-Tripletten stark von der Gegenwart bivalenter Kationen abhängig ist [15] (Kapitel 2.1.2.). Weder beinhaltet **135** eine reine Homopyrimidin- oder eine reine Homopurinsequenz, noch ist seine Fähigkeit zur Assoziation an die Gegenwart von bivalenten Kationen gebunden, oder seine Schmelztemperatur bei steigendem pH-Wert erniedrigt (vgl. Einträge 4–6 und 11–13 in der *Tabelle 4*). Von allen möglichen Kombinationen an XY·X- und XY·Y-Tripletten fand ich lediglich zwei UA·U-Triplette, die weder die erforderli-

che Strangorientierung verletzen, noch bivalente Kationen oder einen sauren pH voraussetzen [15]. Die Assoziation zu einem Triplex würde sich somit auf zwei terminale Triplette beschränken und ein sechs Basenpaare langes *dangling end* des *Hoogsteen*-gepaarten Strangs zur Folge haben. Eine solche Assoziation von **135** ist somit höchst unwahrscheinlich.

**Tabelle 4:** Aus den basislinienkorrigierten Kurven des assoziierten Anteils ( $\theta$ ) berechnete Schmelztemperaturen ( $T_m$ ) [205] des Thioether/Amid-Oktameren **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) bei unterschiedlichen Bedingungen

Nr.	Puffer (c [mM])	Salz (c [mM])	pH	c [ $\mu$ M]	$T_m$ [ $^\circ$ ]
1				<b>5</b>	44.7
2	Na-Phosphat (10)	NaCl (100)	7.0	<b>10</b>	46.8
3				<b>100</b>	55.4
4	Li-Phosphat (10)	LiCl (100)			50.9
5	Na-Phosphat (10)	NaCl (100)	7.0	10	46.8
6	K-Phosphat (10)	KCl (100)			46.6
7	TRIS (10)	–	8.0		20.9
8		–			24.9
8	Na-Phosphat (10)	NaCl ( <b>10</b> )	7.0	10	30.2
9		NaCl ( <b>100</b> )			46.8
10		NaCl ( <b>1000</b> )			63.7
11			<b>7.0</b>		46.8
12	Na-Phosphat (10)	NaCl (100)	<b>8.0</b>	10	47.5
13			<b>8.8</b>		47.0

Die Bildung eines G-Quadruplexes oder eines i-Motifs (tetramolekulare Gleichgewichte) setzt eine CG-reiche Sequenz und eine Stabilisierung durch mono- oder bivalente Kationen (vorzugsweise  $K^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Na^+$  (150 mM–1 M) oder  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$  (> 10 mM) [16]), bzw. eine Cytosin-reiche Sequenz und einen sauren pH-Wert voraus (Kapitel 2.1.3.). Das Oktamere **135** assoziiert jedoch stärker in Gegenwart des schlechten G-Quadruplexinitiators  $Li^+$  [258 – 260] und, wenn auch erwartungsgemäss schwächer (siehe unten), in Abwesenheit eines metallischen Kations (vgl. Einträge 4–7 in *Tabelle 4*), als auch bei basischem pH-Wert (vgl. Einträge 11 und 13 in *Tabelle 4*). Auch die für tetramolekulare G-Quadruplexe charakteristische Hysterese [258] und die oft beobachteten mehrstufigen Übergänge im UV-Schmelzprofil wurden für **135** nicht beobachtet.

Der stetige Anstieg der Schmelztemperatur von **135** mit steigender NaCl-Konzentration (vgl. Einträge 7–10 in *Tabelle 4*) stimmt mit den Beobachtungen für DNA- und RNA-Duplexe überein [41]. Für die neutralen PNAs wurde der entgegengesetzte Effekt beobachtet [55]. Wie schon im Kapitel 2.2.4. erwähnt, wird die steigende Schmelztemperatur von DNA- und RNA-Duplexen mit steigender NaCl-Konzentration mit der Abschirmung der negativen Ladungen des Phosphodiesterückgrats durch  $Na^+$  und der daraus resultierenden verminderten Strangabstossung erklärt. Da ich keine Erniedrigung des Schmelzpunkts von **135** mit steigender Strangpolarität beobachtete (vgl. Einträge 11–13 in *Tabelle 4*) vermute ich, dass die Erhöhung der Schmelztemperatur des assoziierten **135** mit steigender Salzkonzentration zum Teil der erhöhten Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels und dem damit verbundenen grösseren

energetischen Beitrag der Basenstapelung zur Stabilisierung des Assoziats zugeschrieben werden kann [207].

Die analytisch direkt nachgewiesene Basenstapelung, die Paarung durch Wasserstoffbrückenbindungen (angezeigt durch den grossen Wert für  $\Delta H$  und die Selbsterkennung) und die Überlegungen bezüglich der Stöchiometrie weist auf eine Assoziation von **135** in einer doppelhelikalen Struktur hin, welche der in *Abbildung 27* im Kapitel 3.3 modellierten Struktur ähnlich sein dürfte.

Um die CD-Spektren von **135**, **150** und **151** miteinander vergleichen zu können, muss das CD-Spektrum von **135** aufgrund der umgekehrten Helicität des Duplexes an der Abszisse gespiegelt werden. Das resultierende CD-Spektrum weist eine negative Elliptizität (negatives Extremum) bei 298 nm und eine positive Elliptizität (positives Extremum) bei *ca.* 260 nm auf. Es besitzt damit grössere Ähnlichkeit mit dem CD-Spektrum der A-RNA, das ein negatives Extremum bei 294 nm und ein positives Extremum bei *ca.* 265 nm aufweist. Das CD-Spektrum der B-DNA und das gespiegelte CD-Spektrum von **135** unterscheiden sich durch die Vorzeichen ihrer Extrema, die im CD-Spektrum der B-DNA zudem deutlich hypsochrom verschoben sind (277 und 250 nm). Da die Form des CD-Spektrums unter anderem von der helikalen Windung pro Basenpaar abhängig ist [203], die bei den Thioether/Amidanalogen etwas grösser sein sollte als bei DNA und RNA, ist der Unterschied zwischen dem CD-Spektrum von **135** von jenen der DNA und RNA nicht verwunderlich.

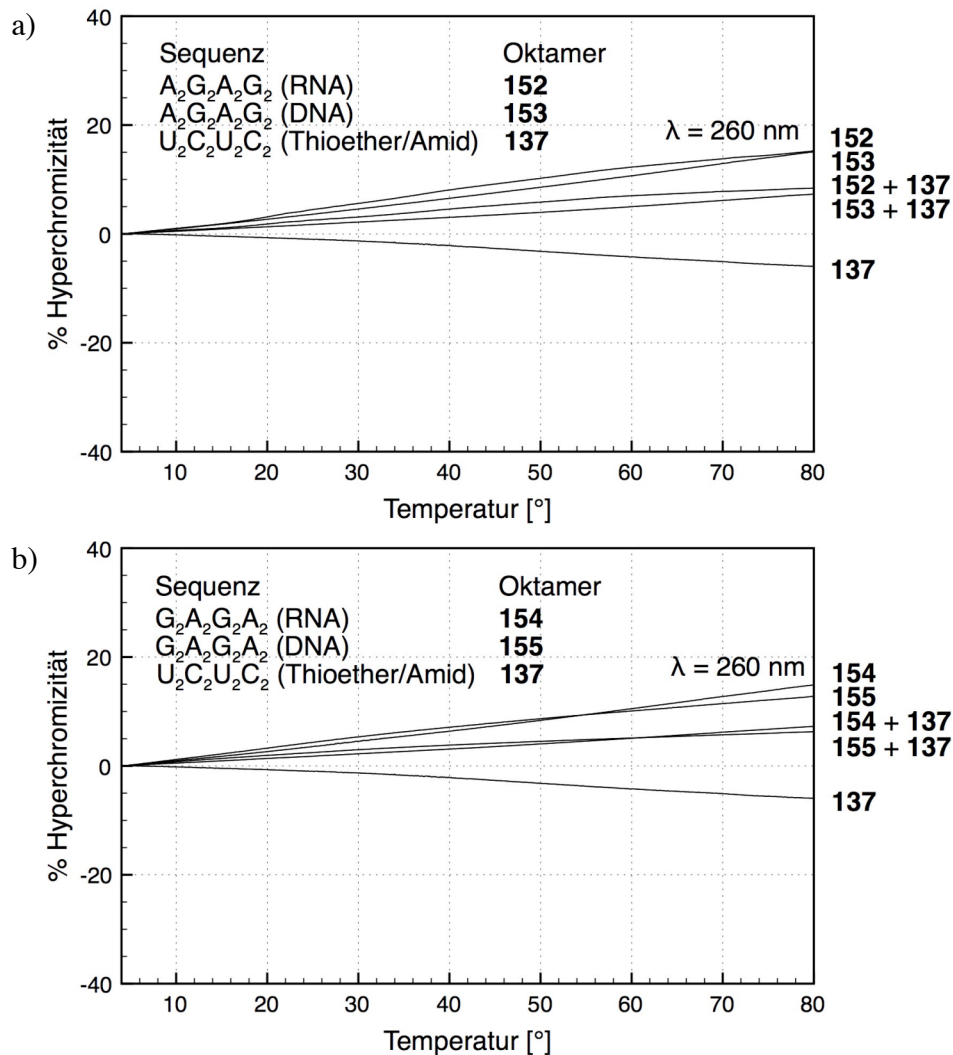
Interessanterweise zeigt das Aminocarbonylanalogue von **135**, das Oktamere **136**, keine bathochrome Verschiebung der UV-Spektren bei 4° und bei 80°. Die lineare Abnahme der UV-Absorption mit linear steigender Temperatur lässt zudem auf eine unspezifische Basenstapelung schliessen. Das Aminocarbonylanalogue **136** könnte in einem konformationellen Gleichgewicht vorliegen, wobei sich die im Gleichgewicht stehenden Konformeren durch die Drehung um die C(3')–C(4')-Bindung (*ap*- vs. *sc*-Anordnung, entsprechend  $\lambda_1 = 180^\circ$  und  $\lambda_1 = +60^\circ$ ; *Abbildung 25* im Kapitel 3.3.) voneinander unterscheiden. Die Carboxylatgruppen von **135** könnten dagegen zwecks Vermeidung elektrostatischer Abstossung mit den freien, nichtbindenden Elektronenpaaren des Schwefelatoms eine Abgrenzung zwischen dem hydrophilen Helixäusseren und dem hydrophoben Helixinneren bewirken und damit eine Vorzugskonformation um die C(3')–C(4')-Bindung mit  $\lambda_1 \approx +60^\circ$  induzieren (Kapitel 3.3.).

### 5.2.2. Heteroassoziation mit DNA und RNA

RNA sollte aufgrund ihrer Unfähigkeit zur Bildung einer linksgängigen Helix (Kapitel 2.1.1.) nicht in der Lage sein, mit dem linksgängigen Thioether/Amid-Oktameren **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ ) zu paaren. DNA hingegen könnte über ihre linksgängige Z-Form mit **137** assoziieren. Die Z-Form von DNA wird bevorzugt von Guanin- und Cytosin-reichen Sequenzen gebildet (Kapitel 2.1.1.); allerdings weist die zu **137** komplementäre DNA keine Cytosineinheiten auf. Diese Überlegungen machen eine Heteroassoziation von **137** mit DNA und RNA sehr unwahrscheinlich. Nichtsdestoweniger testete ich das nicht-selbstkomplementäre Oktamere **137** auf seine Paarung mit den entsprechenden parallel komplementären RNA- und DNA-Oktameren **152** und **153** ( $A_2G_2A_2G_2$ ) (*Abbildung 35 a*) und den entsprechenden antiparallel komplementären RNA- und DNA-Oktameren **154** und **155** ( $G_2A_2G_2A_2$ ) (*Abbildung 35 b*). Die Mischungen von **137** mit komplementärer DNA und RNA zeigen lediglich eine Überlagerung der sich li-

near mit der Temperatur ändernden UV-Absorption der Einzelstränge, und damit unspezifische Basenpaarung.

**Abbildung 35:** UV-Schmelzkurven des Thioether/Amid-Oktameren **137** ( $U_2C_2U_2C_2$ ) in Gegenwart von a) parallelen Strängen von RNA und DNA (**152** und **153** ( $A_2G_2A_2G_2$ )) und b) antiparallelen Strängen von RNA und DNA (**154** und **155** ( $G_2A_2G_2A_2$ )) in 10 mM Na-Phosphatpuffer mit 100 mM NaCl und 0.1 mM EDTA ( $c = 5 + 5 \mu\text{M}$ , 1 cm Küvette)



Der Austausch von L-Cystein im Verknüpfungselement durch D-Cystein würde eine Assoziation der Thioether/Amidanalogen mit DNA und RNA in der rechtsgängigen A- oder der B-Form ermöglichen. Zusätzlich ist die helikale Windung der Thioether/Amidanalogen der von B-DNA ähnlicher als der von Z-DNA, was eine ausgeprägtere Basenstapelung von **137** mit der B-DNA erlauben sollte (vgl. Thioether/Amid:  $42^\circ$ ; B-DNA:  $36^\circ$ ; Z-DNA:  $30^\circ$ ). Die Synthese des Entantiomeren zu **137** ist also von Interesse.

Dessen ungeachtet lässt sich durch die Synthese und Untersuchung der Thioether/Amidanalogen zeigen, dass die grundlegende Änderung der Architektur von Oligonukleotiden, welche die ONIBs charakterisiert, kompatibel mit deren Paarung in wässrigen Medien ist.

## 6. Ausblick

Ein erstrebenswertes Ziel ist der Strukturentwurf neuer peptidisch verknüpfter ONIBs, die eine spezifische Wechselwirkung mit DNA und RNA ermöglichen. Nachdem die grundsätzliche Möglichkeit der autonomen Paarung in wässriger Lösung nachgewiesen wurde, stellt sich also die Frage nach den Voraussetzungen, die zum Erreichen dieses Ziels erfüllt sein müssten.

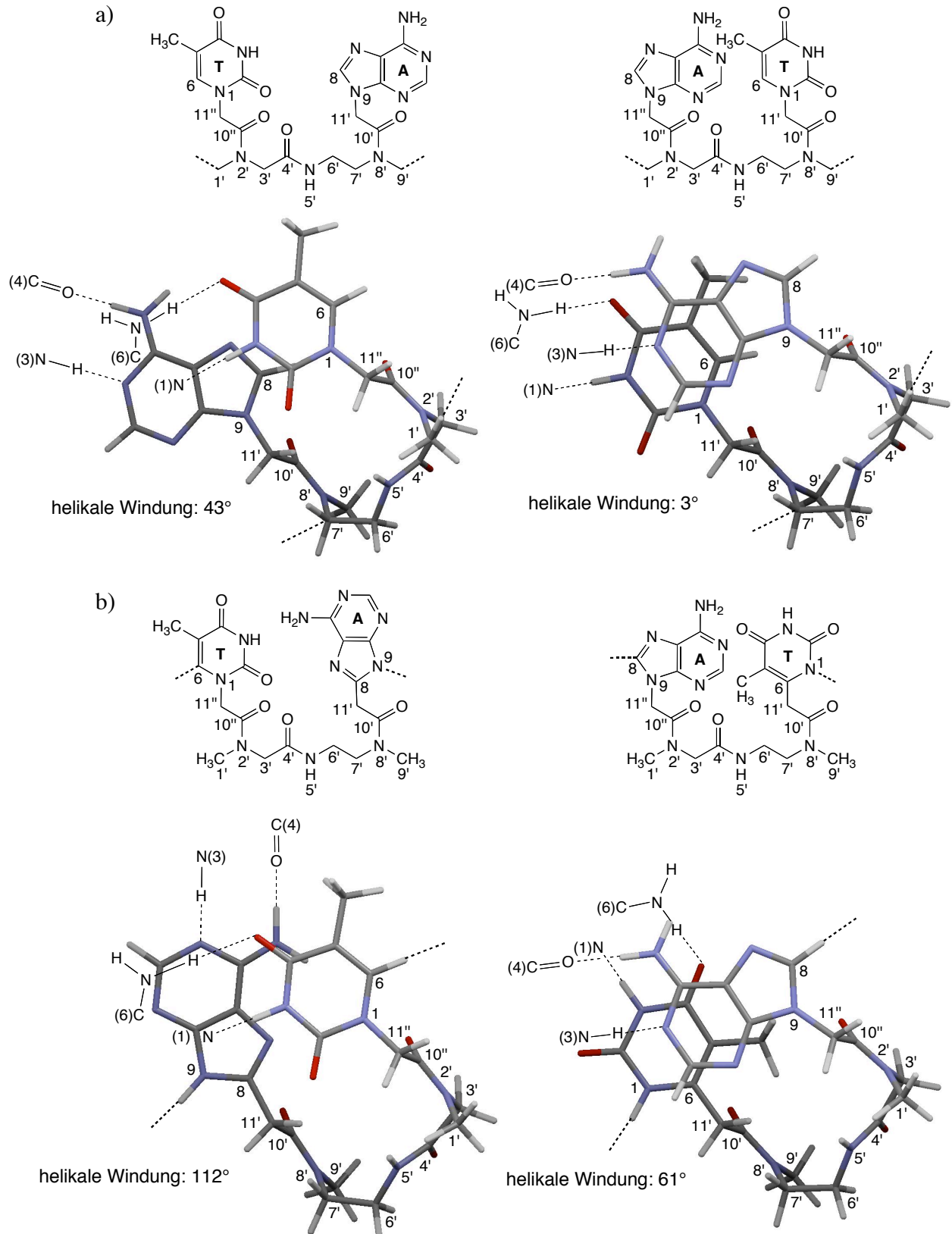
Die Grundvoraussetzung für eine Paarung der amidartig verknüpften ONIBs mit DNA und RNA ist neben der günstigen Vororientierung eine ausreichende Flexibilität des Verknüpfungselements, welche durch dessen Verlängerung erreicht werden sollte. Eine solche Verlängerung führt aber, als Konsequenz der Verknüpfung der ONIBs, zu einer grösseren helikalen Windung, die eine Assoziation der peptidischen ONIBs mit DNA und RNA erschweren dürfte.

Der Sachverhalt wird durch die Strukturen der PNA-Dimeren UA und AU (*Abbildung 36 a*) und den Strukturen der Analogen dieser Dimeren mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (*Abbildung 36 b*) illustriert. Die Konformation des PNA-Verknüpfungselements entspricht dabei jener eines AC-Dimeren aus der Kristallstruktur des PNA·PNA-Duplexes von CGTACG-(L)-Lys [50] (Kapitel 2.2.3.). Die PNA-Dimeren UA und AU (*Abbildung 36 a*) zeigen mit helikalen Windungen von 43 bzw. 3° eine Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz. Die Flexibilität des PNA-Rückgrats erlaubt jedoch das Angleichen dieser helikalen Windungen, wodurch eine annähernd homogene Stapelung erreicht wird (die durchschnittliche helikale Windung von CGTACG-(L)-Lys beträgt 20°). Auch das Angleichen an die helikalen Windungen von B-DNA (36°) und A-RNA (31°) ist möglich (Kapitel 2.2.4.). Die helikalen Windungen der analogen, mit dem PNA-Verknüpfungselement versehenen Dimeren AU und UA<sup>17)</sup> mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (*Abbildung 36 b*) sind mit 112 bzw. 61° deutlich grösser als jene der PNA-Dimeren und zeigen zudem eine ausgeprägtere Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz. Die für eine Assoziation dieser Analogen mit B-DNA oder A-RNA notwendige Angleichung der helikalen Windungen ist nicht zu erreichen. Die Verkleinerung der helikalen Windung amidartig verknüpfter ONIBs wäre durch die Verkürzung des PNA-Verknüpfungselements zu erreichen, ähnlich wie es für die Thioether/Amid-Analogen getan wurde (helikale Windung von UA: 42°). Da das Thioether/Amid-Verknüpfungselement immer noch recht flexibel ist (Kapitel 3.3.), ist eine Heteroassoziation des Enantiomeren des nicht-selbstkomplementären Oktameren **137** (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>) mit komplementärer DNA oder RNA (A<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>G<sub>2</sub> oder G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>) durchaus denkbar. Eine Assoziation der Thioether/Amidanalogen mit komplementärer DNA in der B-Form sollte dabei als Folge der ähnlichen helikalen Windungen wahrscheinlicher sein als eine mit A-RNA (vgl. A-RNA: 31°; B-DNA: 36°; Thioether/Amid: 42°).

---

<sup>17)</sup> Die PNA wird vom *N*- zum *C*-, die peptidischen ONIBs in Analogie zu vormalig synthetisierten ONIBs vom *C*- (Verknüpfung mit C(6/8)) zum *N*-Terminus (Verknüpfung mit N(1/9)) abgekürzt (Kapitel 3.).

**Abbildung 36:** a) Struktur eines PNA (UA)- und eines PNA (AU)-Dimeren im Querschnitt b) Struktur der Analogen dieser Dimeren mit im Rückgrat integrierten Nucleobasen im Querschnitt. Die Konformation des Verknüpfungselements entspricht jener eines AC-Dimeren aus der Kristallstruktur des PNA·PNA-Duplexes von CGTACG-(L)-Lys [50].



Eine weitere Verkleinerung der helikalen Windung (ausgehend von den Thioether/Amid-Analogen) unter gleichzeitiger Beibehaltung der Flexibilität des Verknüpfungselements ist nur sehr schwer zu erreichen. Das Entfernen der Methylengruppe zwischen dem Schwefelatom und C(6/8) ergibt, auch nach konformationellen Anpassungen, eine für die Paarung sehr ungünstige Konformation. Das Entfernen der Methylengruppe zwischen N(1/9) und dem Carbonyl-Kohlenstoffatom führt dazu, dass die Amidgruppe aufgrund von Konjugation bevorzugt in der Ebene der Nukleobase steht, was wiederum eine Paarung verhindert. Kürzere Verknüpfungselemente, wie das Hydrazid-Verknüpfungselement, sind wiederum zu starr, um eine konformationelle Anpassung an die helikalen Windungen von B-DNA und A-RNA zu erlauben (Kapitel 5.1.2.).

Eine geladene Seitenkette im Verknüpfungselement der Thioether/Amidanalogen erwies sich für die Paarung als essentiell (vgl. das Oktamere  $U_2C_2G_2A_2$  mit Carboxyl- (**135**) und Aminocarbonyl-Seitenketten (**136**) in Kapitel 5.2.1.). Der Austausch der Carboxylgruppe gegen andersartige, geladene Gruppen erscheint also möglich. Der Austausch der Carboxylgruppe gegen eine Ammoniumgruppe sollte aufgrund attraktiver Wechselwirkung mit dem negativ geladenen Phosphatrückgrat der DNA und RNA die Wahrscheinlichkeit einer Heteroassoziation erhöhen. Diese Analogen sollten zudem aufgrund der zu erwartenden guten Löslichkeit in leicht sauren, wässrigen Medien die Möglichkeit einer NMR-spektroskopischen Bestimmung ihrer Sekundärstruktur erlauben, da die Signale für H-N(3) der Uracil- und H-N(1) der Guanineinheiten unter diesen Bedingungen langsamer austauschen und somit genügend scharfe Signale für eine Zuordnung ergeben sollten. In Analogie zu den Hydrazidanalogen sollte sich auch die Einführung einer Methylengruppe zwischen der Carboxylgruppe der Seitenkette und C(4') des Thioether/Amid-Verknüpfungselements als vorteilhaft erweisen, da dadurch eine *synklinale* Anordnung der Substituenten  $CH_2(3')$  und  $NH(5')$  begünstigt sein sollte (siehe Argumentation im Rahmen des Strukturentwurfs der Hydrazidanalogen in Kapitel 3.1.).

In der Gruppe von *Nenad Ban* wird derzeit versucht, das selbstkomplementäre Thioether/Amid-Oktamere **135** ( $U_2C_2G_2A_2$ ) zu kristallisieren. Sollte einer dieser Versuche erfolgreich verlaufen, so würden die aus der Kristallstruktur erhaltenen Informationen wohl wichtige Hinweise auf allenfalls notwendige strukturelle Änderungen des Thioether/Amid-Verknüpfungselements geben, welche den konformationellen Voraussetzungen der amidartig verknüpften ONIBs für eine Paarung mit DNA und RNA genügen sollten.

Es lässt sich zusammenfassend sagen, dass der Entwurf eines geeigneten Verknüpfungselements für amidartig verknüpfte ONIBs, welches deren Paarung mit DNA und RNA erlaubt, alles andere als trivial ist. Im Gegensatz zu den Entwürfen alternativer Rückgrate für DNA und RNA muss ein Kompromiss zwischen der Länge des Verknüpfungselements und der daraus resultierenden helikalen Windung gefunden werden, wobei eine günstige Vororientierung die Grundvoraussetzung für eine Paarung darstellt.

Auch wenn eine Paarung der amidartig verknüpften ONIBs mit DNA oder RNA erreicht werden könnte, erschwert die ausgeprägte Sequenzabhängigkeit der Stapelungseffizienz dieser Analogen deren Einsatz in der „*Antisense*“- oder der „*Antigen*-Therapie“. Ob die amidartig verknüpften ONIBs die Nachteile der PNAs, nämlich die schlechte Zellpermeabilität, die schlechte Wasserlöslichkeit und die unspezifische Selbstassoziation (Kapitel 2.2.1.) vermeiden würden sind Fragen, die sich zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht beantworten lassen.



## 7. Experimentalteil

### 7.1. Allgemeine Bemerkungen

Falls nicht anders vermerkt wurden alle Reaktionen in getrockneten Kolben und in einer N<sub>2</sub>-Atmosphäre durchgeführt, wobei Reagenzien höchster Qualität (*p.a.* oder > 99%) von *Fluka*, *Sigma-Aldrich* oder *VWR* ohne weitere Reinigung eingesetzt wurden. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DMF, MeCN, MeOH und Pyridin wurden vor Gebrauch über CaH<sub>2</sub>, THF und Toluol über Na/Benzophenon, unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre destilliert.

Für die Extraktionen und Chromatographien wurden destillierte Lösungsmittel technischer Qualität eingesetzt, wobei AcOEt, Cyclohexan und CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> über K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und Et<sub>2</sub>O über FeSO<sub>4</sub> destilliert wurden.

#### *Chromatographie*

Dünnschichtchromatographie: *Merck* DC-Fertigplatten (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.25 mm); *Machery-Nagel Nano-SIL-NH<sub>2</sub>* (-CN, -RP18) Fertigplatten (Nano-Kieselgel/UV<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.20 nm). Visualisierung und Entwicklung: UV Lampe oder durch Eintauchen in eine Ammoniummolybdat-Cersulfatlösung (*Mostain*) (20 g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MoO<sub>24</sub>·4 H<sub>2</sub>O, 0.4 g Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), 400 ml 10% wässr. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) oder Ninhydrinlösung (0.3 g Ninhydrin, 100 ml EtOH, 1 ml AcOH) und anschliessendes Erhitzen auf *ca.* 200°.

Säulenchromatographie: *Fluka* Kieselgel 60 (Korngrösse 40–63 nm, 230–400 mesh). Alle chromatographischen Reinigungen wurden unter Druck (*ca.* 0.2–0.5 bar) durchgeführt.

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC): *Merck-Hitachi-Anlage* (L6200A Intelligent Pump, L4000 UV Detector (Detektion bei 260 nm), D2500A Chromato-Integrator, *Knauer* Degaser, Dynamische Mischkammer H.S. Valve 7000E, manueller Injektor). Präparative Säulen: *LiChrosphere 100 NH<sub>2</sub>*, 5 μm, 250 x 25 mm und *Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm.

#### *Schmelzpunkte*

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Schmelzpunktapparat *Büchi Melting Point D-540* in offenen Kapillaren gemessen und wurden nicht korrigiert.

#### *Optische Drehung*

Die optische Drehung ( $[\alpha]_D^{25}$ ) wurde auf einem *JASCO P-1030* Polarimeter (1 cm Zelle bei 589 nm und 25°, Konzentration (*c*) in g/100 ml) gemessen.

### *Infrarotspektroskopie*

Die IR-Spektren der Reinsubstanzen wurden auf einem *Perkin Elmer Spectrum-One 1600 FT-IR*-Spektrometer im ATR-Modus aufgenommen. Die Wellenzahlen werden in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben. Die Intensitäten der IR-Banden beziehen sich auf die stärkste Absorption und werden durch folgende Abkürzungen charakterisiert: *s* = stark, *m* = mittel, *w* = schwach. Breite Banden werden mit (br.) bezeichnet.

### *UV/VIS-Spektroskopie*

UV-Spektren wurden auf einem *Cary 100Bio UV/VIS-Spektrometer* der Firma *Varian* mit *Cary Temperature Controller*, *Sample Transport Accessory* und *Multi Cell Block* aufgenommen. Schmelzkurven wurden unter Spülen des Probenraums mit  $\text{N}_2$  und einem Temperaturgradienten von  $0.1^\circ/\text{min}$  aufgenommen. Die Messungen wurden in Küvetten mit 4 mm Innendurchmesser und 1 cm Strahlengang (Messvolumen *ca.* 1 ml) von *Hellma* durchgeführt. Die für eine Konzentration von 5–10  $\mu\text{M}$  erforderliche UV-Absorption der Nukleoside wurde über das *Lambert Beer'sche* Gesetz mit den Extinktionskoeffizienten der Oligomeren berechnet, die wiederum aus der Summe der Extinktionskoeffizienten der Monomeren erhalten wurden (*U(T)*: 8.7, *C*: 7.4, *A*: 15.4, *G*:  $11.5 \text{ ml}/\mu\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

### *CD-Spektroskopie*

Die temperaturabhängigen CD-Spektren wurden auf einem *JASCO J-710* Spektropolarimeter aufgenommen. Temperaturgradient:  $3^\circ/\text{min}$ , Abstand der Messpunkte: 0.1 nm, Messbereich: 210–320 nm, Bandbreite: 10 nm, Empfindlichkeit: 100 mdeg, Geschwindigkeit: 50 nm/min, 15 Akkumulationen. Die Messungen wurden in Küvetten mit 4 mm Innendurchmesser und 10 mm Strahlengang (Messvolumen *ca.* 1 ml) von *Hellma* durchgeführt.

### *Kernresonanzspektroskopie*

Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurden im angegebenen Lösungsmittel auf einem *Mercury-vx-300* (300 MHz), einem *Bruker-DRX-400* (400 MHz), einem *Bruker-AV-400* (400 MHz), einem *Bruker-DRX-500* (500 MHz), oder einem *Bruker-AV-600* (600 MHz) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm relativ zum Tetramethylsilan als externen Standard angegeben. Die Multiplizitäten der Signale sind mit *s* (Singulett), *d* (Dublett), *t* (Triplett), *q* (Quartett) und *m* (Multipllett), breite Signale mit (br.) bezeichnet. Die Kopplungskonstanten *J* sind in Hertz angegeben. Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden im angegebenen Lösungsmittel auf den oben genannten Instrumenten bei 75–150 MHz Protonen-Breitband-entkoppelt aufgenommen.

### *Massenspektrometrie*

Die Massenspektren wurden vom Servicedienst der ETH Zürich aufgenommen. Die Signale werden in *m/z*-Einheiten mit der prozentuellen Intensität bezüglich des Basissignals in Klammern

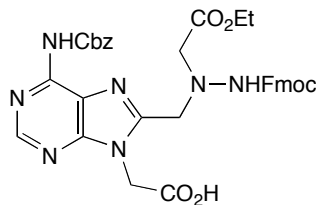
mern angegeben. Die MALDI-TOF-Massenspektren wurden auf einem *Bruker-Reflex* Massenspektrometer mit  $N_2$ -Laser aufgenommen. Als Matrix wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DBH) verwendet. Die EI-Spektren wurden bei einer Ionisationsenergie von 70 eV auf einem *VG-TRIBRID* Massenspektrometer; die ESI-Massenspektren auf einem *Finnigan-TSQ-7000* Massenspektrometer aufgenommen.

### Elementaranalyse

Die Proben wurden bei einem Restdruck von  $< 10^{-4}$  mbar mindestens 24 h getrocknet. Die Analyse wurde vom mikroanalytischen Laboratorium der ETH Zürich durchgeführt.

## 7.2. Synthesen

$N^6$ -(Benzyloxycarbonyl)-8-{{1-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl]hydrazino}methyl}adenin-9-essigsäure (**18**).



Eine Lösung aus **25** (10.0 g, 13.6 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (140 ml) wurden mit  $Et_3SiH$  (21.7 ml, 136 mmol) und  $CF_3CO_2H$  (41.9 ml, 544 mmol) versetzt und 20 h bei RT gerührt. Nach Eindampfen bei  $30^\circ$  wurde der Rückstand mit  $^iPr_2O$  (250 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben, und mehrmals mit  $^iPr_2O$  gewaschen. Trocknen ergab **18** (9.05 g, 98%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  3:2) 0.54.

Smp. 117.1–118.3°.

UV (MeOH): 230 (4740), 266 (31100), 211 (50020).

IR (ATR): 3123 $w$ , 3065 $w$ , 3036 $w$ , 2975 $w$ , 2902 $w$ , 1733 $s$ , 1716 $s$ , 1647 $m$ , 1619 $m$ , 1585 $m$ , 1551 $w$ , 1479 $w$ , 1398 $w$ , 1377 $m$ , 1288 $m$ , 1255 $m$ , 1200 $s$ , 1162 $s$ , 1082 $m$ , 1043 $m$ , 1030 $m$ , 981 $w$ , 962 $w$ , 797 $w$ , 785 $w$ , 758 $m$ , 742 $s$ , 719 $m$ , 698 $m$ .

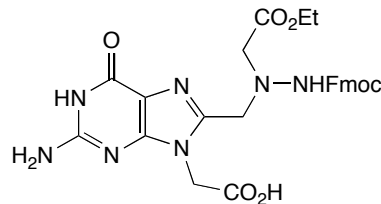
$^1H$ -NMR (300 MHz,  $(D_6)DMSO$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.80 (br. s, NH-C(6)); 8.85 (br. s, NNH); 8.61 (s, H-C(2)); 7.85–7.18 (m, 13 arom. H); 5.48 (br. s,  $CH_2$ -N(9)); 5.21 (s,  $PhCH_2$ ); 4.35 (br. s,  $CH_2$ -C(8)); 4.21 (d,  $J = 6.9$ ,  $CH_2$ -C(9')); 4.13–4.06 (m,  $MeCH_2O$ , H-C(9')); 3.77 (br. s,  $NCH_2CO_2Et$ ); 1.18 (t,  $J = 7.2$ ,  $MeCH_2O$ ).

$^{13}C$ -NMR (75 MHz,  $(D_6)DMSO$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 169.09 (s,  $CO_2H$ ); 168.81 (s,  $CO_2Et$ ); 155.03 (br. s,  $NNHCO_2$ ); 154.81 (s, C(4)); 153.16 (s,  $NHCO_2Bn$ ); 151.87 (s, C(8)); 150.69 (d, C(2)); 148.25 (s, C(6)); 143.30 (2s); 140.43 (2s); 136.01 (s); 128.16–124.81 (11d); 121.43 (s, C(5)); 119.84 (2d); 66.31 (t,  $PhCH_2$ );

65.42 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9')); 60.32 (*t*, MeCH<sub>2</sub>O); 57.46, 53.50 (2*t*, CH<sub>2</sub>-C(8), NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 46.47 (*d*, C(9')); 44.01 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 14.00 (*q*, MeCH<sub>2</sub>O).

HR-MALDI-MS: 702.2240 (37, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 702.2288), 680.2452 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 680.2469), 572.1867 (19, [M - BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 572.1894).

8-{{1-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl]hydrazino}methyl}guanin-9-essigsäure (**19**).



Eine Lösung aus **34** (7.50 g, 18.5 mmol), **36** (12.6 g, 37.0 mmol) und Bu<sub>4</sub>NBr (17.9 g, 55.4 mmol) in DMSO (92 ml) wurde mit 2,6-Lutidin (6.46 ml, 55.4 mmol) versetzt, für 72 h bei RT gerührt und auf H<sub>2</sub>O gegossen. Nach dem Ausschütteln mit AcOEt (5 x) wurden die vereinigten org. Phasen mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt) ergab ein mit **36** verunreinigtes Rohprodukt (*tert*-Butylacetat) das in der nächsten Reaktion weiter umgesetzt wurde.

Eine Lösung des *tert*-Butylacetat-Rohprodukts in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (180 ml) wurde mit Et<sub>3</sub>SiH (14.8 ml, 92.4 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (137 ml, 1.85 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Nach dem Eindampfen bei 30° wurde der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben, und mehrmals mit Et<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen ergab **19** (9.45 g, 91% aus **34**). Weisses Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:2) 0.54.

Smp. 186.3–192.5°.

UV (MeOH): 299 (6120), 262 (35920), 210 (51200).

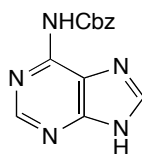
IR (ATR): 3318<sub>w</sub>, 3215<sub>w</sub>, 3165<sub>w</sub>, 3066<sub>w</sub>, 2983<sub>w</sub>, 2942<sub>w</sub>, 1724<sub>m</sub>, 1688<sub>s</sub>, 1641<sub>s</sub>, 1582<sub>s</sub>, 1511<sub>w</sub>, 1494<sub>w</sub>, 1478<sub>w</sub>, 1450<sub>m</sub>, 1394<sub>w</sub>, 1373<sub>m</sub>, 1357<sub>m</sub>, 1288<sub>w</sub>, 1203<sub>s</sub>, 1159<sub>m</sub>, 1054<sub>w</sub>, 1025<sub>m</sub>, 976<sub>w</sub>, 961<sub>w</sub>, 894<sub>w</sub>, 854<sub>w</sub>, 782<sub>w</sub>, 759<sub>m</sub>, 739<sub>s</sub>, 695<sub>w</sub>, 659<sub>w</sub>, 620<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 13.10 (br. s, CO<sub>2</sub>H); 10.60 (br. s, H-N(1)); 8.76 (*s*, NNH); 7.88–7.18 (*m*, 8 arom. H); 6.53 (br. s, NH<sub>2</sub>); 5.14 (br. s, CH<sub>2</sub>-N(9)); 5.23–3.99 (*m*, CH<sub>2</sub>-C(8), MeCH<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>-C(9'), H-C(9')); 3.64 (br. s, NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 1.17 (*t*, *J* = 7.2, MeCH<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 169.47, 168.85 (2*s*, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>Et); 156.16 (*s*, C(6)); 154.82 (*s*, NNHCO<sub>2</sub>); 153.57, 152.46 (2*s*, C(4), C(2)); 143.42 (2*s*); 142.94 (*s*, C(8)); 140.47 (2*s*); 127.43–119.91 (8*d*); 114.59 (*s*, C(5)); 65.42 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9')); 60.23 (*t*, MeCH<sub>2</sub>O); 57.13 (*t*, NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 53.60 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8)); 46.54 (*d*, C(9')); 43.52 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 14.03 (*q*, MeCH<sub>2</sub>O).

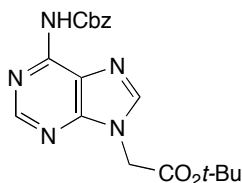
HR-MALDI-MS: 584.1869 (44, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 584.1870), 562.2050 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 562.2050).

$N^6$ -(Benzyloxycarbonyl)adenin (**21**).



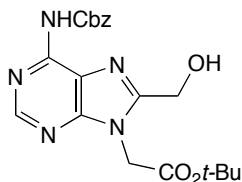
Natriumhydrid (60% in Mineralöl, 94.7 g, 2.37 mol) wurde mit trockenem Et<sub>2</sub>O gewaschen (3 x) und auf 0° gekühlt. Nach der Zugabe von DMF (1.5 l) wurde die Suspension portionsweise mit Adenin (80 g, 592 mmol) versetzt. Die Suspension wurde für 45 min bei 0° gerührt und anschliessend Benzylchloroformat (88.7 ml, 622 mmol) während 1 h zugetropft. Die Mischung wurde auf RT aufgewärmt und weitere 16 h gerührt. Die gelbe Suspension wurde auf Eiswasser gegossen (2 l), mit konz. wässr. HCl (145 ml) neutralisiert und filtriert. Waschen des Niederschlags mit H<sub>2</sub>O und Et<sub>2</sub>O und Trocknen bei 75° am Ölpumpenvakuum ergab **21** (121 g, 76%). Weisses Pulver. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [74].

*tert*-Butyl- $N^6$ -(benzyloxycarbonyl)adenin-9-acetat (**22**).



Eine Suspension aus **21** (62.3 g, 231 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (40.0 g, 231 mmol) und CsCO<sub>3</sub> (7.54 g, 23.1 mmol) in DMF (500 ml) wurde tropfenweise mit *tert*-Butylchloroacetat (36.4 ml, 255 mmol) versetzt und 14 h bei RT gerührt. Die gelbe Suspension wurde auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (4 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und filtriert. Eindampfen des Filtrats und Umkristallisation aus AcOEt/Cyclohexan ergab **22** (59.0 g, 78%). Farblose Kristalle. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [74].

*tert*-Butyl- $N^6$ -(benzyloxycarbonyl)-8-(hydroxymethyl)adenin-9-acetat (**23**).



Eine Lösung aus <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NH (119 ml, 908 mmol) in THF (750 ml) wurde auf -76° gekühlt, tropfenweise mit 1.6 M BuLi in Hexan (567 ml, 908 mmol) versetzt, auf 0° aufgewärmt, für 1 h gerührt und 13 h bei 4° gelagert. Die Lösung wurde auf -76° gekühlt und tropfenweise während 1 h mit einer Lösung aus **22** (58.0 g, 151 mmol) in THF (500 ml) versetzt. Nach zwei-

stündigem Rühren bei  $-76^\circ$  wurde tropfenweise während 30 min DMF zugefügt (567 ml, 3.03 mol) und weitere 2 h bei  $-76^\circ$  gerührt. Die Lösung wurde mit AcOH (113 ml, 1.97 mol) versetzt, auf RT aufgewärmt, mit EtOH (1.5 l) verdünnt, portionsweise mit  $\text{NaBH}_4$  versetzt (22.9 g, 605 mmol) und 1.5 h gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen und getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ). Eindampfen und FC (AcOEt/Cyclohexan 3:1) ergab **23** (49 g, 78%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.20.

UV (MeOH): 269 (21000), 212 (34080).

IR (ATR): 3195 $w$ , 2979 $w$ , 2937 $w$ , 1740 $s$ , 1614 $m$ , 1590 $m$ , 1538 $w$ , 1498 $w$ , 1453 $m$ , 1391 $w$ , 1367 $m$ , 1322 $w$ , 1303 $w$ , 1281 $w$ , 1208 $s$ , 1159 $s$ , 1104 $m$ , 1039 $m$ , 971 $w$ , 859 $w$ , 844 $w$ , 799 $w$ , 764 $w$ , 743 $m$ , 696 $m$ , 667 $m$ .

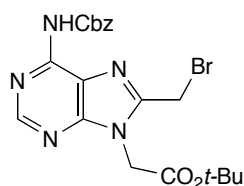
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 9.66 (*s*, NH); 8.60 (*s*, H-C(2)); 7.29–7.24 (*m*, 5 arom. H); 5.24 (*br. s*, OH); 5.13 (*s*,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.91 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N(9)}$ ); 4.74 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C(8)}$ ); 1.40 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.02 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 153.90 (*s*, C(8)); 152.47 (*s*, C(4)); 152.30 (*d*, C(2)); 151.32 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 148.59 (*s*, C(6)); 135.25 (*s*); 128.38 (2*d*), 128.27 (3*d*); 120.11 (*s*, C(5)); 83.57 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.56 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 57.74 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C(8)}$ ); 44.31 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N(9)}$ ); 27.98 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 452.1329 (4,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{KN}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 452.1336), 436.1589 (16,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 436.1597), 414.1766 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 414.1777), 396.0702 (2,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{KN}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 396.0710), 380.0963 (5,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 380.0971), 358.1143 (79,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 358.1151).

Anal. ber. für  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5$  (413.43): C 58.10, H 5.61, N 16.94; gef.: C 58.09, H 5.52, N 16.73.

tert-Butyl-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(bromomethyl)adenin-9-acetat (**24**).



Eine Lösung aus **23** (13.5 g, 32.7 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung aus  $\text{Ms}_2\text{O}$  (8.54 g, 49 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 ml) versetzt und das Gemisch für 1.5 h gerührt. Eine Lösung aus LiBr (14.2 g, 163 mmol) in DMF (70 ml) wurde zugegeben, und das Gemisch für eine weitere Stunde gerührt. Die Mischung wurde auf RT aufgewärmt, für 2 h gerührt und auf ges. wässr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung gegossen. Die wässr. Phase wurde mit AcOEt (3 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 2:1) ergab **24** (13.3 g, 85%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.33.

Smp. 135.6–136.5°.

UV (MeOH): 278 (23540), 212 (28940).

IR (ATR): 3180w, 3117w, 2978w, 2935w, 1772m, 1732s, 1599m, 1581m, 1542m, 1463w, 1455w, 1391w, 1367m, 1335w, 1299w, 1258m, 1240m, 1198s, 1152s, 1102m, 1046m, 1028m, 973w, 940w, 905w, 892w, 860w, 840w, 799m, 743m, 696m, 661w, 613w.

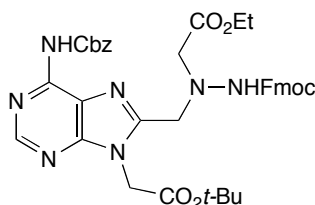
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 9.28 (br. s, NH); 8.70 (s, H–C(2)); 7.33–7.31 (m, 5 arom. H); 5.23 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.97 (s, CH<sub>2</sub>–N(9)); 4.56 (s, CH<sub>2</sub>–C(8)); 1.43 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 165.32 (s, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 153.05 (d, C(2)); 152.78 (s, C(4)); 151.00 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 149.34 (s, C(8)); 149.20 (s, C(6)); 135.20 (s); 128.42 (3d); 128.30 (2d); 120.98 (s, C(5)); 83.89 (s, Me<sub>3</sub>C); 67.75 (t, PhCH<sub>2</sub>); 44.63 (t, CH<sub>2</sub>–N(9)); 28.01 (q, Me<sub>3</sub>C); 21.68 (t, CH<sub>2</sub>–C(8)).

HR-MALDI-MS: 498.0769 (6, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub><sup>79</sup>BrN<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 498.0753), 500.0753 (6, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub><sup>81</sup>BrN<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 500.0732), 476.0931 (86, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>23</sub><sup>79</sup>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 476.0933), 478.0915 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>23</sub><sup>81</sup>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 478.0913), 420.0302 (35, [M – <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>15</sub><sup>79</sup>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 420.0307), 422.0287 (33, [M – <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>15</sub><sup>81</sup>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 422.0287), 398.1823 (23, [M – Br + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 398.1828), 342.1210 (6, [M – Br – <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 342.1202).

Anal. ber. für C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (476.32): C 50.43, H 4.66, N 14.70; gef.: C 50.52, H 4.75, N 14.53.

tert-Butyl-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-{{1-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl]hydrazino}methyl}adenin-9-acetat (**25**).



Eine Lösung aus **36** (7.15 g, 21.0 mmol) in DMF (200 ml) wurde tropfenweise mit einer Lösung aus **24** (9.1 g, 21.0 mmol) in DMF (70 ml) versetzt und für 16 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde auf ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und mit AcOEt (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 1:1) ergab **25** (12.0 g, 85%). Weisser Schaum.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.38.

UV (MeOH): 230 (5740), 266 (37620), 212 (54720).

IR (ATR): 3191w, 3063w, 3033w, 2979w, 2942w, 2903w, 1733m, 1613m, 1590m, 1538w, 1497w, 1477w, 1450m, 1392w, 1368m, 1321w, 1299w, 1237m, 1201s, 1151s, 1102m, 1041m, 1029m, 1006w, 972w, 847w, 758m, 739s, 697m.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.65 (br. s, NH–C(6)); 8.83 (br. s, NHFmoc); 8.59 (s, H–C(2)); 7.85–7.15 (m,

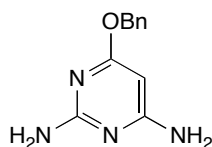
13 arom. H); 5.48 (br. *s*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 5.20 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.31 (br. *s*, CH<sub>2</sub>-C(8)); 4.22 (*d*, *J* = 6.5, CH<sub>2</sub>-C(9')); 4.15–4.05 (*m*, MeCH<sub>2</sub>O, H-C(9')); 3.73 (br. *s*, NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 1.41 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 1.19 (*t*, *J* = 7.1, MeCH<sub>2</sub>O).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 168.97 (*s*, CO<sub>2</sub>Et); 167.05 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 154.97 (*s*, NNHCO<sub>2</sub>); 153.67 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 151.96 (*s*, C(4)); 151.48 (*s*, C(8)); 150.50 (*d*, C(2)); 148.81 (*s*, C(6)); 143.48 (*2s*); 140.60 (*2s*); 136.30 (*s*); 128.28–124.90 (*11d*); 121.92 (*s*, C(5)); 119.96 (*2d*); 82.10 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.17 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 65.49 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9')); 60.27 (*t*, MeCH<sub>2</sub>O); 57.52, 53.79 (*2t*, CH<sub>2</sub>-C(8), NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et); 46.49 (*d*, C(9')); 44.42 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 27.55 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 13.91 (*q*, MeCH<sub>2</sub>O).

HR-MALDI-MS: 774.2650 (8, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>41</sub>KN<sub>7</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 774.2654), 758.2927 (61, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>41</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 758.2914), 736.3075 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>42</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 736.3095), 702.2270 (18, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 702.2288), 680.2442 (22, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>; ber. 680.2469), 628.2511 (14, [M - BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 628.2520), 594.1703 (2, [M - BnOH - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>25</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 594.1713), 572.1875 (9, [M - BnOH - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>26</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 572.1894).

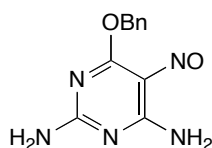
Anal. ber. für C<sub>39</sub>H<sub>41</sub>N<sub>7</sub>O<sub>8</sub> (735.78): C 63.66, H 5.62, N 13.33; gef.: C 63.43, H 5.67, N 13.16.

#### 2,6-Diamino-4-(benzyloxy)-pyrimidin (**27**).



Eine Suspension aus NaH (60% in Mineralöl, 7.19 g, 180 mmol) in DMSO (280 ml), wurde auf 0° gekühlt, BnOH (28.6 ml, 277 mmol) während 5 min zugetropft und die Mischung für 15 min bei 0° gerührt. Nach Zugabe von 2,6-Diamino-4-chlorpyrimidin (20 g, 138 mmol) wurde 3 h bei 80° gerührt. Die Lösung wurde auf RT abgekühlt und auf Eis/H<sub>2</sub>O (500 ml) gegossen. Der pH wurde mittels wässr. 1 M HCl auf 7.0 eingestellt und die Suspension mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und eingedampft. Der ölige Rückstand wurde mit einem Kristall von **27** geimpft woraufhin Kristallisation eintrat. Abfiltrieren und Waschen mit Cyclohexan ergab **27** (23.5 g, 79%). Farblose Kristalle. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [237].

#### 2,6-Diamino-4-(benzyloxy)-5-nitrosopyrimidin (**28**).

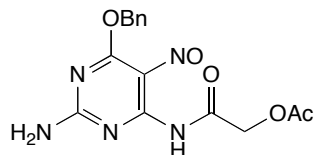


Eine Lösung aus **27** (30.0 g, 139 mmol) in 30% wässriger AcOH (470 ml) wurde auf 75° erhitzt und tropfenweise mit einer Lösung von NaNO<sub>2</sub> (10.5 g, 153 mmol) in H<sub>2</sub>O (48 ml) ver-



setzt. Der violette Feststoff wurde abfiltriert und mit ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung,  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen des Feststoffs ergab **28** (32.5 g, 96%). Violette Kristalle. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [237].

2- $\{[2\text{-Amino-6-(benzyloxy)-5-nitrosopyrimidin-4-yl]amino\}$ 2-oxoethyl-acetat (**29**).



Eine Suspension aus **28** (21.2 g, 86.6 mmol) in THF (430 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, während 30 min mit Acetoxycetylchlorid (11.2 ml, 104 mmol) versetzt, 3 h gerührt und eingedampft. Der Rückstand wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt. Abfiltrieren des Feststoffs, Waschen mit  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Et}_2\text{O}$  und Trocknen ergab **29** (25.1 g, 84%). Blauer Feststoff.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.35.

Smp.  $177.4\text{--}178.5^\circ$ .

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 349 (26420), 255 (19120).

IR (ATR):  $3437m$ ,  $3291w$ ,  $3198w$ ,  $3143w$ ,  $2960w$ ,  $1746m$ ,  $1718m$ ,  $1640m$ ,  $1584s$ ,  $1546s$ ,  $1520m$ ,  $1500m$ ,  $1469s$ ,  $1448s$ ,  $1387s$ ,  $1336s$ ,  $1293s$ ,  $1276m$ ,  $1243m$ ,  $1207s$ ,  $1155s$ ,  $1083m$ ,  $1065s$ ,  $1048s$ ,  $942m$ ,  $912m$ ,  $857m$ ,  $846m$ ,  $827m$ ,  $792w$ ,  $763m$ ,  $748w$ ,  $728s$ ,  $695s$ .

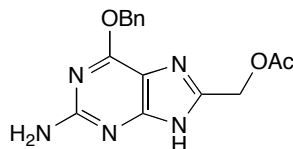
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums):  $12.33$  (s, NH);  $8.82\text{--}8.80$  (m,  $\text{NH}_2$ );  $7.60\text{--}7.37$  (m, 5 arom. H);  $5.65$  (s,  $\text{PhCH}_2$ );  $5.09$  (s,  $\text{AcOCH}_2$ );  $2.18$  (s, AcO).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums):  $169.88$ ,  $169.82$  (2s,  $\text{MeC=O}$ ,  $\text{NHC=O}$ );  $163.30$  (s, C(6));  $138.70$  (s, C(4));  $135.60$  (s);  $128.51$  (2d);  $128.49$  (2d);  $128.33$  (d);  $68.64$  (t,  $\text{PhCH}_2$ );  $65.08$  (t,  $\text{AcOCH}_2$ );  $20.34$  (q,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS:  $384.0697$  (12,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{KN}_5\text{O}_5^+$ ; ber.  $384.0710$ ),  $368.0959$  (100,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber.  $368.0971$ ).

Anal. ber. für  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5$  (345.31): C 52.17, H 4.38, N 20.28; gef.: C 52.08, H 4.35, N 20.09.

$\text{O}^6$ -Benzyl-8(acetoxymethyl)guanin (**30**).



Eine Suspension aus **29** (30.2 g, 87.5 mmol) und  $\text{PPh}_3$  (55.0 g, 210 mmol) in *o*-Xylol (580 ml) wurde 4 h am Rückfluss gekocht, worauf die Farbe von blau nach gelb umschlug. Die Lösung wurde auf  $4^\circ$  abgekühlt und die resultierende Suspension für 36 h bei  $4^\circ$  gehalten und filtriert. Der gelbe Feststoff wurde zerrieben und mit Toluol gewaschen. Umkristallisation aus MeOH ergab **30** (27.1 g, 99%). Farblose Nadeln.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.15.

Smp. 193.1–194.2°.

UV (MeOH): 286 (10280), 246 (7700), 209 (31780).

IR (ATR): 3485 $w$ , 3387 $m$ , 3277 $w$ , 3089 $w$ , 3009 $w$ , 3000 $w$ , 2932 $w$ , 2809 $w$ , 2690 $w$ , 1739 $s$ , 1640 $m$ , 1624 $m$ , 1592 $s$ , 1537 $w$ , 1486 $m$ , 1450 $m$ , 1417 $s$ , 1373 $m$ , 1352 $s$ , 1336 $m$ , 1264 $s$ , 1224 $s$ , 1203 $m$ , 1167 $m$ , 1100 $m$ , 1036 $s$ , 1022 $m$ , 995 $s$ , 973 $m$ , 836 $m$ , 789 $m$ , 762 $w$ , 731 $s$ , 693 $m$ , 670 $w$ .

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 12.60 ( $s$ , NH); 7.51–7.31 ( $m$ , 5 arom. H); 6.37 ( $s$ , NH<sub>2</sub>); 5.47 ( $s$ , PhCH<sub>2</sub>); 5.08 ( $s$ , CH<sub>2</sub>–C(8)); 2.08 ( $s$ , AcO).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 169.67 ( $s$ , MeC=O); 159.52 (2 $s$ , C(6), C(2)); 155.77 ( $s$ , C(4)); 144.49 ( $s$ , C(8)); 136.48 ( $s$ ); 128.21 (4 $d$ ); 127.83 ( $d$ , 6 arom. C, Ph); 113.33 ( $s$ , C((5))); 66.68 ( $t$ , OCH<sub>2</sub>Ph); 59.22 ( $t$ , CH<sub>2</sub>–C(8)); 20.59 ( $q$ , MeC=O).

HR-MALDI-MS: 352.0809 (12, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>KN<sub>5</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 352.0812), 336.1062 (32, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 336.1073), 314.1244 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 314.1253), 254.1029 (38, [M – AcO]<sup>+</sup>, C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sup>+</sup>; ber. 254.1036).

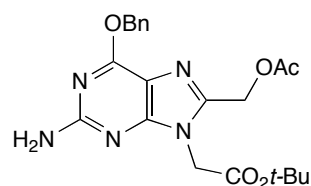
Anal. ber. für C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (313.31): C 57.50, H 4.83, N 22.35; gef.: C 57.23, H 4.88, N 22.20.

### Alkylierung von **30**.

Eine Suspension aus **30** (27.2 g, 86.9 mmol) und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (36.0 g, 261 mmol) in DMF (175 ml) wurde tropfenweise während 5 min mit *tert*-Butylchloracetat (18.6 ml, 130 mmol) versetzt. Die Suspension wurde für 8 h gerührt, mit AcOEt (300 ml) verdünnt und filtriert. Das Filtrat wurde mit ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung und H<sub>2</sub>O verdünnt und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und filtriert. Eindampfen und FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 9:1) ergaben **31** (25.8 g, 69%) und **32**.

### Spektroskopische Daten von *tert*-Butyl-O<sup>6</sup>-(benzyl)-8(acetoxymethyl)guanin-9-acetat (**31**).

Weisses Pulver.



$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.35.

Smp. 148.0–148.5°.

UV (MeOH): 261 (29760), 209 (48400).

IR (ATR): 3486 $m$ , 3292 $w$ , 3178 $w$ , 3119 $w$ , 3011 $w$ , 2981 $w$ , 2937 $w$ , 1740 $s$ , 1627 $m$ , 1615 $s$ , 1583 $s$ , 1530 $m$ , 1494 $m$ , 1467 $m$ , 1454 $m$ , 1438 $m$ , 1413 $m$ , 1384 $m$ , 1368 $m$ , 1350 $s$ , 1317 $m$ , 1260 $s$ , 1235 $s$ , 1222 $s$ , 1212 $s$ , 1162 $s$ , 1154 $s$ , 1112 $m$ , 1069 $m$ , 1021 $s$ , 1005 $w$ , 967 $m$ , 947 $m$ , 916 $m$ , 861 $m$ , 854 $m$ , 842 $w$ , 790 $m$ , 771 $w$ , 752 $s$ , 708 $m$ , 700 $m$ , 676 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.81–7.27 (*m*, 5 arom. H); 5.55 (*s*,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.22 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8)$ ); 4.89 (*s*,  $\text{NH}_2$ ); 4.80 ( $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 2.09 (*s*,  $\text{AcO}$ ); 1.46 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

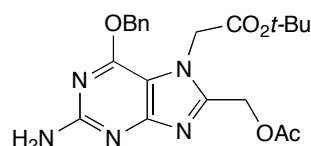
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 170.24 (*s*,  $\text{MeC=O}$ ); 166.38 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 161.04 (*s*,  $\text{C}(6)$ ); 159.47 (*s*,  $\text{C}(2)$ ); 155.34 (*s*,  $\text{C}(4)$ ); 145.12 (*s*,  $\text{C}(8)$ ); 136.35 (*s*); 128.46 (*2d*); 128.38 (*2d*); 128.03 (*d*); 114.60 (*s*,  $\text{C}(5)$ ); 83.23 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 68.19 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 58.66 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8)$ ); 44.29 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 28.00 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 20.65 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 466.1492 (2,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{KN}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 466.1493), 450.1754 (12,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 450.1753), 428.1931 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 428.1934), 394.1119 (5,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 394.1127), 372.1293 (93,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 372.1308), 312.1083 (52,  $[M - ^t\text{Bu} - \text{AcO} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_3^+$ ; ber. 312.1091).

Anal. ber. für  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_5$  (427.45): C, 59.01, H 5.90, N 16.38; gef.: C 58.81, H 5.93, N 16.09.

*Spektroskopische Daten von tert-Butyl O<sup>6</sup>-Benzyl-8(acetoxymethyl)guanin-7-acetat (32).*

Gelbes Pulver.



$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.05.

Smp. 149.4–152.6°.

UV (MeOH): 301 (8640), 213 (38220).

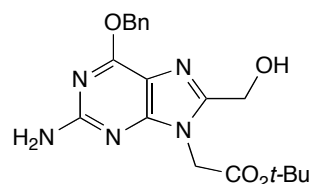
IR (ATR): 3482*w*, 3296*w*, 3172*w*, 2979*w*, 1740*s*, 1632*s*, 1572*s*, 1511*w*, 1482*m*, 1454*m*, 1432*m*, 1390*m*, 1369*m*, 1326*s*, 1305*w*, 1226*s*, 1175*s*, 1150*s*, 1084*w*, 1065*m*, 1032*m*, 970*w*, 955*w*, 919*w*, 895*w*, 849*m*, 790*m*, 743*m*, 698*m*, 680*w*, 655*w*, 629*w*.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.52–7.32 (*m*, 5 arom. H); 6.27 (*s*,  $\text{NH}_2$ ); 5.43 (*s*,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.23 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8)$ ); 5.00 ( $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 2.01 (*s*,  $\text{AcO}$ ); 1.24 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 169.53 (*s*,  $\text{MeC=O}$ ); 166.70 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.08 (*s*,  $\text{C}(2)$ ); 159.74 (*s*,  $\text{C}(4)$ ); 156.37 (*s*,  $\text{C}(6)$ ); 150.56 (*s*,  $\text{C}(8)$ ); 136.20 (*s*); 128.34 (*2d*); 127.96 (*d*); 127.83 (*2d*); 107.40 (*s*,  $\text{C}(5)$ ); 81.80 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.17 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 57.31 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8)$ ); 47.38 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(7)$ ); 27.35 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 20.34 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 466.1494 (12,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{KN}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 466.1493), 450.1752 (11,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 450.1753), 428.1933 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 428.1934), 394.1127 (2,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 394.1127), 372.1305 (31,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 372.1308).

tert-Butyl-O<sup>6</sup>-benzyl-8-(hydroxymethyl)guanin-9-acetat (**33**).



Eine Suspension aus **31** (14.1 g, 33 mmol) und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4.79 g, 34.7 mmol) in MeOH/H<sub>2</sub>O 3:1 (330 ml) wurde 5 h bei RT gerührt. Eindampfen von MeOH, Verdünnen mit ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung, Abfiltrieren des Feststoffs, Waschen des Feststoffs mit H<sub>2</sub>O und Trocknen ergab **33** (12.0 g, 94%). Weisses Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.26.

Smp. 216.2° (Zers.).

UV (MeOH): 285 (13380), 252 (10780), 211 (32360).

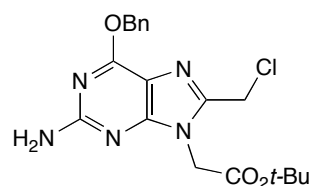
IR (ATR): 3482w, 3287w, 3160w, 3110w, 3060w, 2981w, 2931w, 1746s, 1624s, 1587s, 1490m, 1471m, 1445s, 1406m, 1390m, 1363m, 1346m, 1315m, 1253s, 1223s, 1152s, 1115m, 1070s, 1030m, 982m, 937m, 915w, 874m, 841m, 785m, 757m, 749m, 739w, 705s, 666w.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 7.51–7.34 (m, 5 arom. H); 6.52 (s, NH<sub>2</sub>); 5.60 (t, J = 5.3, OH); 5.50 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.82 (s, CH<sub>2</sub>-N(9)); 4.54 (d, J = 4.7, CH<sub>2</sub>-C(8)); 1.41 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 166.61 (s, CO<sub>2</sub>t-Bu); 159.52, 159.45 (2s, C(6), C(2)); 155.67 (s, C(4)); 149.35 (s, C(8)); 136.52 (s); 128.21 (2d); 128.10 (2d); 127.81 (d); 111.85 (s, C((5))); 81.78 (s, Me<sub>3</sub>C); 66.77 (t, PhCH<sub>2</sub>); 56.92 (t, CH<sub>2</sub>-C(8)); 43.83 (t, CH<sub>2</sub>-N(9)); 27.64 (q, Me<sub>3</sub>C).  
HR-MALDI-MS: 424.1386 (3, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>KN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 424.1387), 408.1654 (5, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 408.1648), 386.1827 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 386.1828), 352.1022 (1, [M - t-Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 352.1022), 330.1192 (54, [M - t-Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 330.1202).

Anal. ber. für C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (385.42): C, 59.21, H 6.01, N 18.17; gef.: C 59.28, H 6.07, N 18.18.

tert-Butyl-O<sup>6</sup>-benzyl-8-(chlormethyl)guanin-9-acetat (**34**).



Eine Lösung aus **33** (16 g, 41.5 mmol) in DMF (400 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (10.9 ml, 62.3 mmol) versetzt. Die Lösung wurde während 10 min tropfenweise mit MsCl (4.82 ml, 62.3 mmol) versetzt und eine 1 h bei 0° gerührt. Nach Zugabe von LiCl (8.80 g, 208 mmol) wurde die Suspension für 30 min gerührt und auf H<sub>2</sub>O gegossen. Die Suspension wurde mit CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95:5 (1 x) geschüttelt und das Zwei-Phasensystem filtriert. Das Filtrat wurde mit CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95:5 (4 x) ausgeschüttelt, die vereinigten org. Phasen mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und eingedampft. Der Rückstand wurde

mit dem Feststoff der Zwei-Phasenfiltration vereinigt, mit H<sub>2</sub>O gewaschen und getrocknet. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99.75:0.25 → 99.5:0.5) ergab **34** (7.90g, 47%). Weisses Pulver.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.41.

Smp. 210° (Zers.).

UV (MeOH): 291 (15600), 255 (10020), 211 (32640).

IR (ATR): 3479<sub>w</sub>, 3279<sub>w</sub>, 3161<sub>w</sub>, 3109<sub>w</sub>, 3058<sub>w</sub>, 3033<sub>w</sub>, 2975<sub>w</sub>, 2938<sub>w</sub>, 1753<sub>s</sub>, 1621<sub>s</sub>, 1586<sub>s</sub>, 1518<sub>m</sub>, 1493<sub>m</sub>, 1471<sub>m</sub>, 1452<sub>m</sub>, 1439<sub>m</sub>, 1407<sub>w</sub>, 1379<sub>m</sub>, 1367<sub>m</sub>, 1357<sub>m</sub>, 1344<sub>m</sub>, 1318<sub>m</sub>, 1258<sub>s</sub>, 1225<sub>s</sub>, 1151<sub>s</sub>, 1108<sub>m</sub>, 1066<sub>m</sub>, 1030<sub>w</sub>, 987<sub>w</sub>, 965<sub>w</sub>, 937<sub>m</sub>, 913<sub>w</sub>, 866<sub>m</sub>, 858<sub>m</sub>, 839<sub>m</sub>, 788<sub>m</sub>, 771<sub>m</sub>, 758<sub>m</sub>, 747<sub>m</sub>, 732<sub>m</sub>, 718<sub>m</sub>, 699<sub>s</sub>, 684<sub>m</sub>, 629<sub>m</sub>.

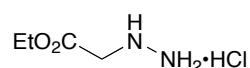
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD): 7.45–7.25 (*m*, 5 arom. H); 5.48 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 5.17 (*s*, NH<sub>2</sub>); 4.80 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 4.67 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(8)); 1.43 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD): 166.04 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 160.87 (*s*, C(6)); 159.54 (*s*, C(2)); 155.06 (*s*, C(4)); 145.27 (*s*, C(8)); 135.94 (*s*); 128.30 (*2d*); 128.19 (*2d*); 128.00 (*d*); 113.85 (*s*, C(5)); 83.58 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 68.31 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 44.35 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 37.25 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8)); 27.97 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 426.1332 (3, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 426.1309), 404.1491 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 404.1489), 370.1884 (21, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 370.0683), 348.0860 (76, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 348.0863).

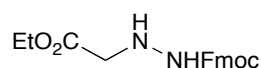
Anal. ber. für C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (403.86): C, 56.51, H 5.49, N 17.34; gef.: C 56.75, H 5.62, N 17.26.

*Ethyl-2-hydrazinoacetat-hydrochlorid (35).*



Zu einer kochenden Lösung von NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (144 ml, 2.96 mol) in EtOH (860 ml) wurde während 2 h eine Lösung von ClCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H (70.0 g, 741 mmol) in EtOH (500 ml) zugegeben und das Gemisch für eine weitere Stunde bei Rückfluss erhitzt. Die trübe Lösung wurde auf 0° gekühlt, während 3 h mit HCl gesättigt (erhalten aus konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und NaCl), 2 h am Rückfluss gekocht, und filtriert. Verbindung **35** kristallisierte in Folge der Abkühlung auf RT aus (45 g, 39%). Glitzernde farblose Plättchen. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [236].

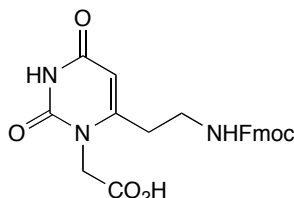
*Ethyl-2-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl]hydrazin}acetat (36).*



Eine Suspension aus **35** (30.0 g, 194 mmol) in THF (1 l) wurde auf 0° gekühlt und tropfenweise mit 4-Methylmorpholin (21.3 ml, 194 mmol) versetzt, gefolgt von einer Lösung aus Fmoc-OSu (59.5 g, 176 mmol) in THF (500 ml) während 2.5 h. Die Suspension wurde 3 h gerührt, filtriert und der Feststoff mit THF gewaschen. Nach dem Eindampfen des Filtrats wurde

der Rückstand auf H<sub>2</sub>O gegossen. Ausschütteln mit AcOEt (3 x), Waschen der vereinigten org. Phasen mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x), Trocknen (MgSO<sub>4</sub>), Eindampfen und Umkristallisation aus AcOEt/Cyclohexan ergaben **36** (46.7 g, 78%). Farblose Nadeln.

6-{2-[(9H-Fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}uracil-1-essigsäure (**37**).



Eine Lösung aus **46** (3.4 g, 6.91 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 ml) wurde mit <sup>i</sup>Pr<sub>3</sub>SiH (7.1 ml, 34.55 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (15.4 ml, 6.91 mmol) versetzt und 8 h bei RT gerührt. Nach dem Abfiltrieren wurde der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O (30 ml) versetzt. Abfiltrieren des Niederschlags, Waschen mit Et<sub>2</sub>O und Trocknen ergab **37** (2.35 g, 78%). Weisses Pulver.

*R*<sub>f</sub> (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 3:2) 0.31.

Smp. 147–151°.

UV (MeOH): 265 (24000), 300 (5000).

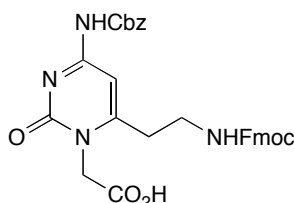
IR (ATR): 2973<sub>w</sub> (br.), 1672<sub>s</sub> (br.), 1524<sub>m</sub>, 1449<sub>m</sub>, 1412<sub>m</sub>, 1396<sub>m</sub>, 1335<sub>w</sub>, 1246<sub>m</sub>, 1199<sub>m</sub>, 1148<sub>m</sub>, 1101<sub>w</sub>, 1086<sub>w</sub>, 995<sub>w</sub>, 931<sub>w</sub>, 880<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 13.19 (br. *s*, CO<sub>2</sub>H); 11.35 (*s*, H–N(3)); 7.92–7.65 (*m*, 4 arom. H); 7.48 (*t*, *J* = 5.7, NHFmoc); 7.42–7.31 (*m*, 4 arom. H); 5.50 (*s*, H–C(5)); 4.51 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 4.32 (*d*, *J* = 6.9, CH<sub>2</sub>–C(9''))); 4.21 (*t*, *J* = 6.9, H–C(9''))); 3.18 (*q*, *J* = 6.0, 2 H–C(2'))); 2.55 (*t*, *J* = 6.0, 2 H–C(1')).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 169.82 (*s*, CO<sub>2</sub>H); 162.49 (*s*, C(4)); 156.19 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 154.30 (*s*, C(6)); 151.75 (*s*, C(2)); 143.86 (2*s*), 140.77 (2*s*), 127.62–120.13 (8*d*); 100.87 (*d*, C(5)); 65.54 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(9''))); 46.73 (*d*, C(9''))); 44.67 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 38.03 (*t*, C(2'))); 31.79 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 474.1091 (5, [*M* + K]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 474.1067), 458.1319 (100, [*M* + Na]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 458.1323), 436.1509 (17, [*M* + H]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 436.1509).

N<sup>4</sup>-[(Benzyloxy)carbonyl]-6-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}cytosin-1-essigsäure (**38**).



Eine Lösung aus **54** (4.38 g, 7.01 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 ml) wurde mit Et<sub>3</sub>SiH (11.2 ml, 70.1 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (21.6 ml, 280 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Nach Eindamp-

fen bei 30° wurde der Rückstand mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O (80 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen ergab **38** (3.91 g, 98%). Weisses Pulver. *R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:2) 0.37.

Smp. 121.7–122.3°.

UV (MeOH): 230 (12700), 265 (17500), 209 (50400).

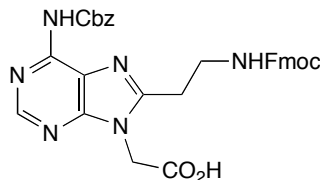
IR (ATR): 2953*w*, 1719*m*, 1666*m*, 1602*m*, 1569*m*, 1507*m*, 1449*m*, 1414*m*, 1391*m*, 1209*s*, 1191*s*, 1139*m*, 1087*m*, 1066*m*, 1002*m*, 908*w*, 826*w*, 758*m*, 739*s*, 695*m*, 620*w*.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 11.20 (br. *s*, NH–C(4)); 7.89–7.28 (*m*, 13 arom. H, NHFmoc); 6.97 (*s*, H–C(5)); 5.10 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.65 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 4.31 (*d*, *J* = 6.9, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 4.20 (*t*, *J* = 6.5, H–C(9'')); 3.23 (*q*, *J* = 6.2, 2 H–(2'')); 2.75 (*t*, *J* = 6.5, 2 H–(1')).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 169.19 (*s*, CO<sub>2</sub>H); 161.84 (*s*, C(4)); 159.06 (*s*, C(6)); 155.92 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 155.63 (*s*, C(2)); 152.81 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 143.61 (2*s*); 140.51 (2*s*); 135.68 (*s*); 128.23–119.92 (13*d*); 94.38 (*d*, C(5)); 66.33 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 65.39 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 46.66 (*d*, C(9'')); 46.06 (*t*, C(2'')); 38.44 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 32.83 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 607.1608 (8, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>KN<sub>4</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 607.1595), 591.1861 (27, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 591.1856), 569.2036 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 569.2036).

N<sup>6</sup>-[(Benzyloxy)carbonyl]-8-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}adenin-9-essigsäure (**39**).



Eine Lösung aus **59** (1.50 g, 2.31 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (23 ml) wurde mit HSiEt<sub>3</sub> (3.69 ml, 23.1 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (7.13 ml, 10.6 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Nach dem Eindampfen bei 30° wurde die Lösung mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O (50 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen des Feststoffs ergab **39** (1.36 g, 98%). Weisses Pulver.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:2) 0.50.

Smp. 110.8–115.1°.

UV (MeOH): 210 (49340), 266 (26500), 300 (4240).

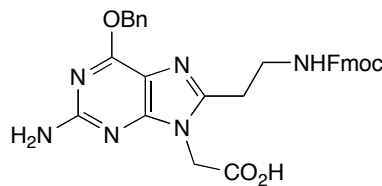
IR (ATR): 3435–2765*w* (br.), 3036*w*, 3032*w*, 2950*w*, 1713*m* (br.), 1658*m*, 1615*m*, 1529*m*, 1498*w*, 1450*m*, 1414*w*, 1366*w*, 1322*w*, 1207*s*, 1171*s*, 1137*s*, 1106*m*, 1078*w*, 1034*w*, 968*w*, 900*w*, 796*w*, 758*m*, 739*s*, 696*m*, 663*w*, 620*w*.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 13.48 (br. *s*, CO<sub>2</sub>H); 10.64 (br. *s*, NH–C(6)); 8.58 (*s*, H–C(2)); 7.88–7.28 (*m*, 13 arom. H, NHFmoc); 5.22 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 5.04 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(9)); 4.32 (*d*, *J* = 6.8, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 4.21 (*t*, *J* = 6.6, H–C(9'')); 3.48 (*q*, *J* = 6.4, 2 H–C(2'')); 3.01 (*t*, *J* = 7.0, 2 H–C(1')).

$^{13}\text{C}$ -NMR (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 167.04 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 154.23 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 152.01 (*d*, C(2)); 151.22 (*s*, C(8)); 150.33 (*s*, C(4)); 149.08 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 146.23 (*s*, C(6)); 142.00 (*2s*), 138.89 (*2s*), 134.47 (*s*), 126.53–123.25 (*11d*); 120.40 (*s*, C(5)); 118.24 (*2d*); 64.45 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 63.54 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 44.87 (*d*,  $\text{C}(9'')$ ); 41.43 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 36.09 (*t*, C(2')); 25.45 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 615.1972 (44,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{32}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{NaO}_6^+$ ; ber. 615.1968), 593.2143 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{32}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_6^+$ ; ber. 593.2149), 549.2227 (14,  $[M - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_4^+$ ; ber. 549.2250), 485.1569 (30,  $[M - \text{BnO}]^+$ ,  $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 485.1573).

8-{2-[(9H-Fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}guanin-9-essigsäure (**40**).



Eine Suspension aus **65** (7.80 g, 12.6 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (130 ml) wurde mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (10.0 ml, 62.8 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (93.3 ml, 1.26 mol) versetzt. Die Lösung wurde für 18 h bei RT gerührt und bei  $30^\circ$  eingedampft. Der Rückstand wurde mit  $\text{Et}_2\text{O}$  (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **40** (5.84 g, 98%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  3:2) 0.14.

Smp. 183.3–194.2°.

UV (MeOH): 287 (14800), 254 (11580), 211 (35320).

IR (ATR): 3324 $w$ , 3207 $w$ , 3162 $w$ , 3064 $w$ , 2945 $w$ , 2737 $w$ , 1692 $s$ , 1632 $s$ , 1592 $s$ , 1541 $m$ , 1449 $m$ , 1368 $m$ , 1248 $m$ , 1196 $m$ , 1186 $m$ , 1137 $m$ , 1075 $w$ , 1059 $w$ , 1005 $w$ , 862 $w$ , 828 $w$ , 797 $w$ , 772 $w$ , 759 $m$ , 739 $s$ , 698 $w$ , 647 $w$ , 620 $w$ .

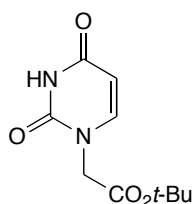
$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 13.35 (br. *s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 10.82 (*s*, H-N(1)); 7.90–7.25 (*m*, 5 arom. H,  $\text{NHfmoc}$ ); 6.67 (*s*,  $\text{NH}_2$ ); 4.77 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 4.32 (*d*,  $J = 6.5$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.22 (*t*,  $J = 6.4$ , H-C(9'')); 3.38 (*q*,  $J = 6.5$ , 2 H-(2')); 2.85 (*t*,  $J = 7.2$ , 2 H-(1')).

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 168.68 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 155.86 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 155.44, 153.71 (*2s*, C(2), C(6)); 151.52 (*s*, C(4)); 146.07 (*s*, C(8)); 143.66 (*2s*); 140.53 (*2s*); 128.49–119.95 (*8d*); 112.90 (*s*, C(5)); 65.35 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 46.67 (*d*,  $\text{C}(9'')$ ); 43.11 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 38.04 (*t*, C(2')); 26.70 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 513.1287 (14,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{KN}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 513.1289), 497.1545 (29,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{NaO}_5^+$ ; ber. 497.1549), 475.1728 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 475.1730).



tert-Butyl-uracil-1-acetat (**42**).



Eine Suspension von Uracil (20 g, 178 mmol) und  $K_2CO_3$  (24.6 g, 178 mmol) in DMF (100 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung von *t*-Butylbromoacetat (28.7 ml, 178 mmol) in DMF (75 ml) versetzt, für 16 h bei RT gerührt und filtriert. Nach dem Eindampfen des Filtrats, wurde der Rückstand in AcOEt gelöst und auf  $H_2O$  gegossen. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässr. Phase mit AcOEt (5 x) ausgeschüttelt. Trocknen der vereinigten org. Phasen ( $MgSO_4$ ), Filtration, Eindampfen und Umkristallisation aus MeOH ergab **42** (29.5 g, 74%). Farblose Kristalle.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  20:1) 0.23.

Smp.  $169-170^\circ$ .

UV ( $CHCl_3$ ): 263 (9906).

IR (ATR): 3169 $w$ , 3048 $m$ , 2986 $w$ , 2888 $w$ , 2848 $w$ , 1742 $m$ , 1673 $s$ , 1636 $s$ , 1482 $w$ , 1458 $s$ , 1430 $m$ , 1423 $m$ , 1391 $m$ , 1366 $m$ , 1353 $s$ , 1249 $m$ , 1233 $m$ , 1210 $m$ , 1147 $s$ , 1107 $m$ , 1042 $w$ , 997 $w$ , 958 $m$ , 936 $w$ , 865 $m$ .

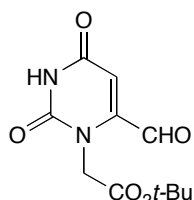
$^1H$ -NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.75 (br.  $s$ , NH); 7.10 ( $d$ ,  $J = 7.8$ , H-C(6)); 5.74 ( $dd$ ,  $J = 7.8$ , 2.1, H-C(5)); 4.36 ( $s$ ,  $NCH_2$ ); 1.48 ( $s$ ,  $Me_3C$ ).

$^{13}C$ -NMR (75 MHz,  $CDCl_3$ ): 166.32 ( $s$ ,  $CO_2$ ); 163.53 ( $s$ , C(4)); 150.77 ( $s$ , C(2)); 144.53 ( $d$ , C(6)); 102.59 ( $d$ , C(5)); 83.74 ( $s$ ,  $Me_3C$ ); 49.53 ( $t$ ,  $NCH_2$ ); 28.22 ( $q$ ,  $Me_3C$ ).

HR-EI-MS: 226.0984 (6,  $M^+$ ,  $C_{10}H_{14}N_2O_4^+$ ; ber. 226.0954), 153.0302 (32,  $[M - 'BuO]^+$ ,  $C_6H_5N_2O_3^+$ ; ber. 153.0300), 126.0431 (41,  $[M - CO_2'Bu + H]^+$ ), 125.0350 (26,  $[M - CO_2'Bu]^+$ ,  $C_5H_5N_2O_2^+$ ; ber. 125.0351), 82.0289 (41), 57.0709 (100,  $'Bu^+$ ).

Anal. ber. für  $C_{10}H_{14}N_2O_4$  (226.23): C 53.09, H 6.24, N 12.38; gef.: C 53.16, H 6.18, N 12.39.

tert-Butyl-6-formyluracil-1-acetat (**43**).



Eine Lösung von  $iPr_2NH$  (35 ml, 265 mmol) in THF (150 ml) wurde auf  $-76^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung von 1.6 M BuLi in Hexan (166 ml, 265 mmol) versetzt, für 20 min gerührt, auf  $0^\circ$  aufgewärmt, für 15 min gerührt, auf  $-76^\circ$  abgekühlt, tropfenweise mit einer Lösung von **42** (10 g, 44.2 mmol) in THF (200 ml) versetzt und 2 h bei  $-76^\circ$  gerührt. Der Lösung wurde tropfenweise DMF (68 ml, 884 mmol) zugefügt. Das Gemisch wurde weitere 2.5 h bei  $-76^\circ$  gerührt, auf RT aufgewärmt, mit AcOH (32 ml) und ges. wässr.  $NH_4Cl$ -Lösung

(150 ml) versetzt und mit  $\text{CHCl}_3$  (4 x 50 ml) ausgeschüttelt. Trocknen der vereinigten org. Phasen ( $\text{MgSO}_4$ ), Eindampfen und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  99:1  $\rightarrow$  9:1) ergab **43** (4.15 g, 37%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.18.

Smp. 182.5–183.5°.

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 306 (68800).

IR (ATR): 3196 $w$ , 3066 $w$ , 2982 $w$ , 1736 $m$ , 1697 $s$ , 1674 $s$ , 1615 $m$ , 1467 $m$ , 1418 $m$ , 1384 $s$ , 1367 $s$ , 1291 $w$ , 1232 $s$ , 1156 $s$ , 1076 $m$ , 973 $m$ , 920 $m$ , 867 $w$ .

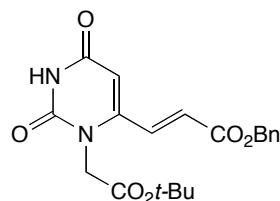
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 9.48 ( $s$ , CHO); 8.69 (br.  $s$ , NH); 6.29 ( $d$ ,  $J = 2.1$ , H–C(5)); 4.94 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{–N}(1)$ ); 1.47 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 188.13 ( $d$ , CHO); 167.09 ( $s$ ,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.43 ( $s$ , C(4)); 150.94 ( $s$ , C(2)); 146.19 ( $s$ , C(6)); 113.39 ( $d$ , C(5)); 81.62 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 44.44 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{–N}(1)$ ); 27.44 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-EI-MS: 254.0899 (0.6,  $M^+$ ,  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 254.0903), 181.0253 (14,  $[M - ^t\text{BuO}]^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_4^+$ ; ber. 181.0249), 57.0697 (100,  $^t\text{Bu}^+$ ).

Anal. ber. für  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$  (254.09): C 51.97, H 5.55, N 11.02; gef.: C 51.89, H 5.56, N 10.85.

*Benzyl (E)-3-{1-[(tert-Butyloxy)carbonylmethyl]juracil-6-yl}-acrylat (44).*



Eine Lösung aus **43** (3.10 g, 12.19 mmol) und Benzyl(triphenylphosphoranyliden)acetat (5.51 g, 13.41 mmol) in THF (32 ml) wurde für 5 h bei RT gerührt, mit  $\text{H}_2\text{O}$  (80 ml) verdünnt und mit  $\text{CHCl}_3$  (4 x 25 ml) ausgeschüttelt. Trocknen der vereinigten org. Phasen ( $\text{MgSO}_4$ ), Eindampfen und FC ( $\text{AcOEt}/\text{Cyclohexan}$  1:1) ergab **44** (3.58 g, 76%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{Cyclohexan}/\text{AcOEt}$  1:2) 0.58.

Smp. 176–177°.

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 241 (8790), 304 (6370).

IR (ATR): 3182 $w$ , 3058 $w$ , 2985 $w$ , 2815 $w$ , 1740 $m$ , 1720 $m$ , 1681 $s$ , 1611 $s$ , 1496 $w$ , 1450 $m$ , 1412 $m$ , 1393 $m$ , 1367 $m$ , 1311 $m$ , 1281 $m$ , 1236 $s$ , 1202 $m$ , 1168 $s$ , 1152 $s$ , 1041 $w$ , 1007 $m$ , 995 $m$ , 972 $m$ , 944 $w$ , 922 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 9.72 (br.  $s$ , NH); 7.37 (br.  $s$ , 5 arom. H); 7.26 ( $dd$ ,  $J = 11.6, 0.5$ , H–C(3)); 6.48 ( $d$ ,  $J = 11.6$ , H–C(2)); 5.87 ( $d$ ,  $J = 0.5$ , H–C(5')); 5.24 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.50 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{–N}(1')$ ); 1.43 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

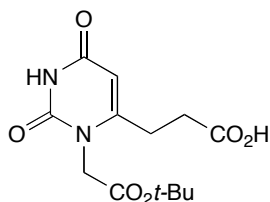
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.32 ( $s$ ,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 164.31 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Bn}$ ); 162.42 ( $s$ , C(4')); 151.12 ( $d$ , C(2')); 150.72 ( $s$ , C(6')); 135.03 ( $s$ ); 134.34 ( $d$ , C(3)); 128.71 ( $2d$ ); 128.67 ( $d$ , C(2)); 128.51 ( $2d$ ); 128.40 ( $d$ ); 102.08 ( $d$ , C(5')); 83.66 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.38 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 45.98 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{–N}(1)$ ); 27.88 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-EI-MS: 386.1476 (15,  $M^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6^+$ ; ber. 386.1478), 330.0843 (47,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6^+$ ; ber. 330.0846), 313.0819 (56,  $[M - ^t\text{BuO}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 313.0824),

285.0870 (21,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu}]^+$ ,  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4^+$ ; ber. 285.0875), 224.0428 (34,  $[M - ^t\text{Bu} - \text{OBn} + 2\text{H}]^+$ ,  $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 224.0422), 195.0404 (40,  $[M - ^t\text{Bu} - \text{CO}_2\text{Bn} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_4^+$ ; ber. 195.0400), 180.0502 (19,  $[M - \text{O}^t\text{Bu} - \text{CO}_2\text{Bn} + 2\text{H}]^+$ ,  $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3^+$ ; ber. 180.0524), 151.0507 (25,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu} - \text{CO}_2\text{Bn} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_2^+$ ; ber. 151.0502), 91.0538 (48,  $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ), 57.0715 (100,  $^t\text{Bu}^+$ ), 41.0452 (12,  $[\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2]^+$ ).

Anal. ber. für  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$  (386.40): C 62.17, H 5.74, N 7.25; gef.: C 62.04, H 5.75, N 7.13.

*3-{1-[tert-Butyloxy]carbonylmethyl}uracil-6-yl}propionsäure (45).*



Eine Suspension aus  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (173 mg, 0.77 mmol) in MeOH (30 ml) wurde für 1 h bei RT unter  $\text{H}_2$  Atmosphäre gerührt, mit einer Lösung von **44** (2.98 g, 7.73 mmol) in THF (50 ml) versetzt und für 14 h gerührt. Filtration über *Celite* und Eindampfen ergab **45** (2.30 g, 100%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  3:1) 0.26.

Smp. 169–170°.

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 265 (9587).

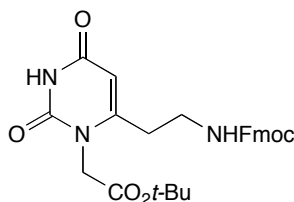
IR (ATR): 3116w, 2982w, 2931w, 2870w, 2694w, 2550w, 1745m, 1697s, 1635s, 1472m, 1443m, 1421s, 1393m, 1368s, 1314w, 1288w, 1237s, 1217s, 1191m, 1155s, 1064w, 1037w, 1022w, 1006w, 927m, 862m.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ): 10.11 (br. s, NH); 5.53 (s, H-C(5')); 4.62 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(1')$ ); 2.84–2.76 (m, 2 H-C(2)); 2.72–2.65 (m, 2 H-C(3)); 1.46 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ): 172.57 (s,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 167.18 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.21 (s, C(4')); 155.74 (s, C(6')); 151.41 (s, C(2')); 99.72 (d, C(5')); 81.92 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 45.16 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1')$ ); 30.95 (t, C(2)); 27.62 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 26.65 (t, C(3)).

HR-EI-MS: 298.1160 (3,  $M^+$ ,  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6^+$ ; ber. 298.1165), 225.0501 (11,  $[M - ^t\text{BuO}]^+$ ,  $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 225.0511), 198.0638 (21,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4^+$ ; ber. 198.0635), 153.0661 (24,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu} - \text{CO}_2]^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2^+$ ; ber. 153.0659), 57.0715 (100,  $^t\text{Bu}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_4^+$ ).

*tert-Butyl-6-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}uracil-1-acetat (46).*



Eine Lösung aus **45** (2.2 g, 7.48 mmol) in THF (60 ml) wurde auf  $-2^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (1.43 ml, 8.23 mmol) versetzt, für 30 min gerührt,  $\text{ClCO}_2\text{Et}$  (1.1 ml, 11.23 mmol)

zugetropft, für 1 h gerührt, eine Lösung von  $\text{NaN}_3$  (983 mg, 14.97 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (3 ml) zugeben und für eine weitere Stunde bei  $-2^\circ$  gerührt. Die Lösung wurde auf Eiswasser gegossen und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 x 50 ml) ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen ( $\text{MgSO}_4$ ) der vereinigten org. Phasen und dem Eindampfen bei RT wurde der Rückstand zu einer Lösung von 9-Fluorenylmethanol (7.35 g, 37.43 mmol) in Dioxan (30 ml) gegeben. Rühren für 1.5 h bei  $100^\circ$ , Eindampfen und FC ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  99:1) ergab **46** (3.31 g, 90%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  9:1) 0.58.

Smp.  $90\text{--}93^\circ$ .

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 267 (30627), 301 (5577).

IR (ATR): 2979w (br.), 1674s (br.), 1619m, 1521w, 1449m, 1414m, 1392m, 1368m, 1235s, 1200w, 1151s, 1085w, 996w, 944w.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO,  $80^\circ$ ): 11.05 (br. s, H-N(3)); 7.84–7.30 (m, 8 arom. H); 7.23 (br. s, *NHFmoc*); 5.47 (s, H-C(5)); 4.46 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(1)$ ); 4.34 (d,  $J = 6.6$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.19 (t,  $J = 6.6$ , H-C(9'')); 3.22 (q,  $J = 6.9$ , 2 H-C(2')); 2.53 (t,  $J = 6.9$ , 2 H-C(1')); 1.41 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

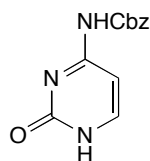
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 9.69 (br. s, H-N(3)); 7.76–7.29 (m, 8 arom. H); 5.62 (s, H-C(5)); 5.53 (t,  $J = 5.9$ , *NHFmoc*); 4.54 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(1)$ ); 4.40 (d,  $J = 6.8$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.19 (t,  $J = 6.8$ , H-C(9'')); 3.37 (q,  $J = 6.3$ , 2 H-C(2')); 2.60 (t,  $J = 6.7$ , 2 H-C(1')); 1.46 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 167.03 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.87 (s, C(4)); 156.46 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 154.07 (s, C(6)); 151.66 (s, C(2)); 143.76 (2s), 141.32 (2s), 127.75–120.00 (8d); 101.99 (d, C(5)); 83.44 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.89 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 47.18 (d, C(9'')); 45.48 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1)$ ); 38.54 (t, C(2')); 32.62 (t, C(1')); 27.97 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 530.1695 (51,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{KO}_3^+$ ; ber. 530.1688), 514.1952 (100,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{NaO}_6^+$ ; ber. 514.1949), 492.2134 (14,  $[M + H]^+$ ,  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6^+$ ; ber. 492.2129).

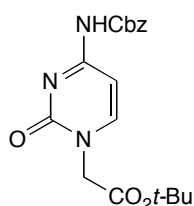
Anal. ber. für  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_6$  (491.54): C 65.97, H 5.95, N 8.55; gef.: C 65.56, H 5.95, N 8.42.

$\text{N}^4$ -[(Benzyloxy)carbonyl]cytosin (**48**).



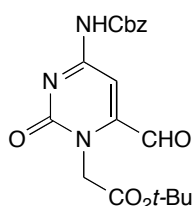
Natriumhydrid (60% in Mineralöl, 28.8 g, 720 mol) wurde mit trockenem  $\text{Et}_2\text{O}$  (3 x) gewaschen, getrocknet und auf  $0^\circ$  gekühlt. Nach der Zugabe von DMF (300 ml) wurde Cytosin als Feststoff in kleinen Portionen (20 g, 180 mmol) zugegeben. Die Suspension wurde 10 min bei  $0^\circ$  gerührt, tropfenweise während 30 min mit Benzylchloroformat (27.0 ml, 189 mmol) versetzt, auf RT aufgewärmt und 20 h gerührt. Die gelbe Lösung wurde auf Eiswasser gegossen (200 ml) und mit wässr. konz.  $\text{HCl}$  (27 ml) neutralisiert. Der weisse Niederschlag wurde abfiltriert und mit  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen am Ölvakuum bei  $75^\circ$  ergab **48** (36.5 g, 83%). Weisses Pulver. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [74].

*tert*-Butyl- $N^4$ -[(benzyloxy)carbonyl]cytosin-1-acetat (**49**).



Eine Suspension aus **48** (35.4 g, 144 mmol) in DMF (290 ml) wurde mit  $K_2CO_3$  (20.0 g, 144 mmol) und  $CsCO_3$  (4.70 g, 14.4 mmol) versetzt, tropfenweise mit *tert*-Butylchloracetat (21.7 ml, 152 mmol) versetzt und 14 h bei RT gerührt. Die gelbe Suspension wurde auf  $H_2O$  gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (4 x) gewaschen, getrocknet ( $MgSO_4$ ) und filtriert. Eindampfen des Filtrats und Umkristallisation aus AcOEt/Cyclohexan ergab **49** (40.5 g, 78%). Weisses Pulver. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [74].

*tert*-Butyl- $N^4$ -[(benzyloxy)carbonyl]-6-formylcytosin-1-acetat (**50**).



Eine Lösung aus  $iPr_2NH$  (24.1 ml, 184 mmol) in THF (100 ml) wurde auf  $-76^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung von 1.6 M BuLi in Hexan (115 ml, 184 mmol) versetzt, auf  $0^\circ$  aufgewärmt, für 30 min gerührt, auf  $-76^\circ$  gekühlt, tropfenweise während 30 min mit einer Lösung aus **49** (11.0 g, 30.6 mmol) in THF (50 ml) versetzt und 2 h gerührt. Die Lösung wurde tropfenweise während 30 min mit DMF (47.4 ml, 612 mmol) versetzt und für weitere 2 h bei  $-76^\circ$  gerührt. Es wurde AcOH (22.8 ml, 398 mmol) zugegeben, auf RT aufgewärmt und eingedampft. Der Rückstand wurde mit  $H_2O$  verdünnt und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet ( $MgSO_4$ ) und eingedampft. FC ( $CH_2Cl_2/MeOH$  97:3  $\rightarrow$  9:1) ergab **50** (7.60 g, 64%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  19:1) 0.21.

UV (MeOH): 297 (8560), 244 (16320), 209 (26880).

IR (ATR): 3115 $w$ , 2997 $w$ , 2976 $w$ , 2937 $w$ , 1740 $s$ , 1706 $m$ , 1657 $s$ , 1612 $s$ , 1563 $m$ , 1511 $m$ , 1455 $w$ , 1417 $m$ , 1407 $w$ , 1379 $s$ , 1369 $m$ , 1290 $w$ , 1226 $s$ , 1151 $s$ , 1084 $w$ , 1064 $m$ , 1028 $w$ , 994 $w$ , 968 $w$ , 947 $w$ , 927 $m$ , 867 $w$ , 840 $m$ , 781 $m$ , 769 $w$ , 740 $s$ , 715 $m$ , 697 $m$ , 664 $w$ .

$^1H$ -NMR (300 MHz,  $(D_6)DMSO$ ): 11.27 ( $s$ , NH); 9.68 ( $s$ , H-C(5)); 7.70–7.34 ( $m$ , 5 arom. H); 5.24 ( $s$ ,  $PhCH_2$ ); 4.85 ( $s$ ,  $CH_2-N(1)$ ); 1.41 ( $s$ ,  $Me_3C$ ).

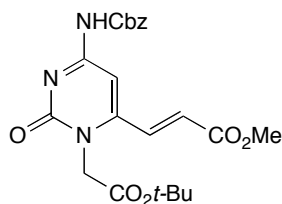
$^{13}C$ -NMR (75 MHz,  $(D_6)DMSO$ ): 187.67 ( $d$ , CHO); 166.94 ( $s$ ,  $CO_2^tBu$ ); 163.19 ( $s$ , C(4)); 155.01 ( $s$ , C(6)); 152.93 ( $s$ ,  $NHCO_2Bn$ ); 148.91 ( $s$ , C(2)); 135.56 ( $s$ ); 128.33 ( $2d$ ); 128.09

(2*d*); 127.90 (*d*); 102.81 (*d*, C(5)); 81.69 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.72 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 45.55 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(1)); 27.44 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 458.1346 (6, [M + MeOH + K]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 458.1330), 444.1184 (7, [M + H<sub>2</sub>O + K]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 444.1173), 442.1599 (14, [M + MeOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 442.1590), 428.1440 (15, [M + H<sub>2</sub>O + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 428.1434), 420.1778 (96, [M + MeOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 420.1771), 410.1345 (9, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 410.1328), 406.1614 (100, [M + H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 406.1614), 388.1508 (34, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 388.1509), 386.0974 (7, [M + MeOH - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 386.0964), 372.0814 (7, [M + H<sub>2</sub>O - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 372.0808), 364.1142 (53, [M + MeOH - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 364.1145), 354.0708 (8, [M - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 354.0702), 350.0982 (74, [M + H<sub>2</sub>O - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 350.0988), 332.0882 (31, [M - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 332.0883).

Anal. ber. für C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (387.39): C 58.91, H 5.46, N 10.85; gef.: C 58.63, H 5.53, N 10.55.

*Methyl-(E)-3-{N<sup>4</sup>-[(Benzyloxy)carbonyl]-1-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]cytosin-6-yl}acrylat (51).*



Eine Lösung von **50** (6.80 g, 17.6 mmol) und Methyl(triphenylphosphoranyliden)acetat (6.16 g, 18.4 mmol) in THF (88 ml) wurde 3 h bei RT gerührt und eingedampft. Es wurde eine 1:1-Gemisch aus **51** und Ph<sub>3</sub>PO (12.5 g, 97%) erhalten. Eine kleine Menge wurde zerrieben und mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O gewaschen. Filtration und Trocknen ergab reines **51**. Gelbes Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.28.

Smp. 71.1–76.1°.

UV (MeOH): 314 (6960), 239 (13760), 207 (37740).

IR (ATR): 2978w, 2954w, 1736m, 1729m, 1669m, 1602m, 1562m, 1496m, 1454w, 1432w, 1423m, 1387m, 1369m, 1311m, 1276m, 1259m, 1197s, 1175s, 1149s, 1052m, 971w, 947w, 911w, 858w, 819w, 785m, 744m, 696m.

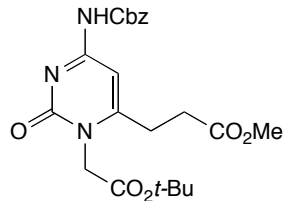
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.93 (br. *s*, NH); 7.39–7.26 (*m*, 5 arom. H, H-C(3), H-C(5')); 6.58 (*d*, *J* = 15.7, H-C(2)); 5.20 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.67 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1')); 3.82 (*s*, MeO); 1.45 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.13 (*s*, CO<sub>2</sub>'Bu); 164.91 (*s*, CO<sub>2</sub>Me); 161.79 (*s*, C(4')); 155.74 (*s*, C(2')); 154.48 (*s*, C(6')); 152.21 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 134.81 (*s*); 134.09 (*d*, C(3)); 128.83 (*d*); 128.61 (2*d*); 128.27 (2*d*); 93.93 (2*d*, C(2) und C(5')); 83.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 67.98 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 52.40 (*q*, MeO); 47.02 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(1')); 27.81 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 482.1327 (24, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 482.1330), 466.1484 (64, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 466.1590), 444.1758 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 444.1771),

426.0699 (10,  $[M - 'Bu + H + K]^+$ ,  $C_{18}H_{17}KN_3O_7^+$ ; ber. 426.0704), 410.0955 (46,  $[M - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{18}H_{17}N_3NaO_7^+$ ; ber. 410.0964), 388.1127 (82,  $[M - 'Bu + 2 H]^+$ ,  $C_{18}H_{18}N_3O_7^+$ ; ber. 388.1145).

*Methyl-3-{N<sup>4</sup>-[(benzyloxy)carbonyl]-1-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]cytosin-6-yl}propionat (52).*



Eine Lösung aus **51**/Ph<sub>3</sub>PO 1:1 (7.60 g, 17.1 mmol von **51**) in MeOH (115 ml) wurde auf 0° gekühlt, während 20 min mit kleinen Portionen NaBH<sub>4</sub> versetzt (973 mg, 25.7 mmol) und 1.5 h bei 0° gerührt. Die Lösung wurde auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Trocknen des Rückstands ergab eine 1:1-Gemisch aus **52** und Ph<sub>3</sub>PO (12.3 g, 98%). Eine kleine Menge wurde zerrieben und mit iPr<sub>2</sub>O gewaschen. Filtration ergab reines **52**. Gelbes Pulver.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.25.

Smp. 55.3–56.1°.

UV (MeOH): 296 (9460), 241 (16500), 211 (28640).

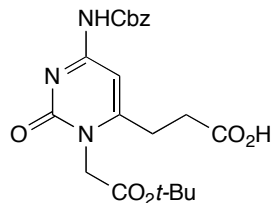
IR (ATR): 2978w, 2953w, 1733s, 1665m, 1607m, 1564m, 1498m, 1453w, 1437w, 1411m, 1389m, 1368s, 1291w, 1207s, 1192s, 1149s, 1061m, 1029w, 984w, 949w, 923w, 896w, 856w, 821w, 787m, 770w, 744m, 735m, 695m.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.05 (s, NH); 7.35–7.26 (m, 5 arom. H); 7.09 (s, H–C(5')); 5.17 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.67 (s, CH<sub>2</sub>–N(1')); 3.69 (s, MeO); 2.82 (t,  $J = 7.7$ , 2 H–(3)); 2.68 (t,  $J = 7.7$ , 2 H–(2)); 1.43 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 171.55 (s, CO<sub>2</sub>Et); 166.52 (s, CO<sub>2</sub>'Bu); 161.67 (s, C(4')); 160.27 (s, C(6')); 156.31 (s, C(2')); 152.32 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 135.00 (s); 128.53 (2d); 128.47 (d); 128.16 (2d); 93.51 (d, C(5')); 83.07 (s, Me<sub>3</sub>C); 67.69 (t, PhCH<sub>2</sub>); 52.10 (q, MeO); 46.45 (t, CH<sub>2</sub>–N(1)); 31.07 (t, C(2')), 27.82 (q, Me<sub>3</sub>C); 27.66 (t, C(3')).

HR-MALDI-MS: 484.1498 (8,  $[M + K]^+$ ,  $C_{22}H_{27}KN_3O_7^+$ ; ber. 484.1486), 468.1748 (32,  $[M + Na]^+$ ,  $C_{22}H_{27}N_3NaO_7^+$ ; ber. 468.1747), 446.1928 (100,  $[M + H]^+$ ,  $C_{22}H_{28}N_3O_7^+$ ; ber. 446.1927), 412.1119 (6,  $[M - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{18}H_{19}N_3NaO_7^+$ ; ber. 412.1121), 390.1291 (45,  $[M - 'Bu + 2 H]^+$ ,  $C_{18}H_{20}N_3O_7^+$ ; ber. 390.1301).

3-{N<sup>4</sup>-[(Benzoyloxy)carbonyl]-1-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]cytosin-6-yl}propionsäure  
(**53**).



a) Eine Lösung aus **52** (156 mg, 350  $\mu$ mol) in THF/H<sub>2</sub>O 4:1 (3.5 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit LiOH·H<sub>2</sub>O (147 mg, 3.5 mmol) versetzt und 2 h bei 0° gerührt. Neutralisation mit *Amberlite IR-120* (gewaschen mit MeOH und THF), Filtration, Eindampfen und FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 → 9:1) ergab **53** (125 mg, 83%). Weisses Pulver.

b) Eine Lösung aus **52**/Ph<sub>3</sub>PO 1:1 (7.41 g, 16.6 mmol von **52**) in THF/H<sub>2</sub>O 4:1 (130 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit LiOH·H<sub>2</sub>O (6.98 g, 166 mmol) versetzt und 3.5 h bei 0° gerührt. Neutralisation mit *Amberlite IR-120* (gewaschen mit MeOH und THF), Filtration, Eindampfen, FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 → 9:1) und Waschen des Rückstands nach dem Eindampfen der **53** enthaltenden Fraktionen mit AcOEt ergab **53** (2.15 g, 30%). Weisses Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 4:1) 0.56.

Smp. 155.6–163.1°.

UV (MeOH): 297 (9200), 240 (14960), 211 (24000).

IR (ATR): 2980<sub>w</sub>, 2933<sub>w</sub>, 1754<sub>m</sub>, 1744<sub>m</sub>, 1698<sub>m</sub>, 1602<sub>m</sub>, 1587<sub>m</sub>, 1511<sub>m</sub>, 1412<sub>m</sub>, 1391<sub>m</sub>, 1373<sub>m</sub>, 1367<sub>m</sub>, 1298<sub>w</sub>, 1213<sub>s</sub>, 1193<sub>s</sub>, 1151<sub>s</sub>, 1067<sub>m</sub>, 1035<sub>w</sub>, 982<sub>w</sub>, 970<sub>w</sub>, 906<sub>w</sub>, 862<sub>w</sub>, 821<sub>m</sub>, 776<sub>m</sub>, 768<sub>m</sub>, 746<sub>m</sub>, 728<sub>m</sub>, 697<sub>m</sub>, 672<sub>w</sub>.

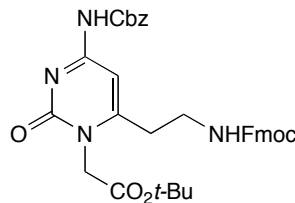
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.90 (br. s, NH); 7.41–7.36 (m, 5 arom. H); 6.99 (s, H–C(5')), 5.18 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.64 (s, CH<sub>2</sub>–N(1')); 2.81 (t, J = 6.9, 2 H–(3)); 2.55 (t, J = 6.9, 2 H–(2)); 1.41 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 172.60 (s, CO<sub>2</sub>H); 166.96 (s, CO<sub>2</sub>t-Bu); 162.077 (s, C(4')); 161.08 (s, C(6')); 155.68 (s, C(2')); 152.92 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 135.79 (s); 128.30 (2d); 127.97 (d); 127.75 (2d); 92.95 (d, C(5')); 81.65 (s, Me<sub>3</sub>C); 66.29 (t, PhCH<sub>2</sub>); 46.38 (t, CH<sub>2</sub>–N(1')); 30.98 (t, C(2)); 27.41 (q und t, Me<sub>3</sub>C und C(3)).

HR-MALDI-MS: 470.1334 (11, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 470.1330), 454.1592 (25, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 454.1590), 432.1769 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 432.1771), 414.0701 (2, [M – t-Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 414.0704), 398.0955 (6, [M – t-Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 398.0964), 376.1131 (46, [M – t-Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub><sup>+</sup>; ber. 376.1145).



tert-Butyl-N<sup>4</sup>-[(benzyloxy)carbonyl]-6-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl} cytosin-1-acetat (**54**).



Eine Suspension aus **53** (1.80 g, 4.17 mmol) in THF/Aceton 1:1 (83 ml) wurde auf  $-10^{\circ}$  gekühlt, tropfenweise mit  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (800  $\mu\text{l}$ , 4.59 mmol) und  $\text{ClCO}_2\text{Et}$  (599  $\mu\text{l}$ , 6.26 mmol) versetzt und 1 h gerührt. Die orange Lösung wurde mit einer Lösung von  $\text{NaN}_3$  (553 mg, 8.35 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (17 ml) versetzt und 1 h bei  $-10^{\circ}$  gerührt. Die rote Lösung wurde auf Eiswasser und ges. wässr.  $\text{NaCl}$ -Lösung gegossen und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ) und bei RT eingedampft. Eine Lösung des Rückstands in Dioxan (17 ml) wurde mit 9-Fluorenylmethanol (8.19 g, 41.8 mmol) versetzt und 1 h auf  $80^{\circ}$  erhitzt. Eindampfen und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  99:1  $\rightarrow$  98:2) ergab **54** (2.37 g, 57%). Gelber Schaum.

Die wässr. Phase der Aufarbeitung wurde mit wässr. 1 M  $\text{HCl}$  angesäuert und mit  $\text{CHCl}_3$  (5 x) ausgeschüttelt. Trocknen ( $\text{MgSO}_4$ ), Filtration und Eindampfen ergab **53** (528 mg, 29%).

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.24.

UV (MeOH): 299 (15300), 247 (24300), 208 (71100).

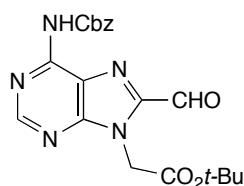
IR (ATR): 3229w, 2972w, 1739m, 1707m, 1665m, 1607m, 1566m, 1497m, 1450m, 1412m, 1389m, 1368m, 1210s, 1194s, 1151s, 1082m, 1061m, 1003w, 946w, 916w, 858w, 820w, 788w, 758m, 739s, 696m, 620w.

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO,  $80^{\circ}$ ): 10.38 (br. s,  $\text{NH-C}(4)$ ); 7.87–7.29 (m, 13 arom. H); 7.18 (br. s,  $\text{NHFmoc}$ ); 6.92 (s,  $\text{H-C}(5)$ ), 5.16 (s,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.61 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(1)$ ); 4.35 (d,  $J = 6.5$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.22 (t,  $J = 6.5$ ,  $\text{H-C}(9'')$ ); 3.25 (q,  $J = 6.5$ , 2 H-(2')); 2.73 (t,  $J = 6.2$ , 2 H-(1')), 1.42 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO): 166.88 (s,  $\text{CO}_2\text{'Bu}$ ); 161.94 (s,  $\text{C}(4)$ ); 159.00 (s,  $\text{C}(6)$ ); 155.92 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 155.66 (s,  $\text{C}(2)$ ); 152.82 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 143.63 (2s); 140.53 (2s); 135.70 (s); 128.26–119.96 (13d); 94.41 (d,  $\text{C}(5)$ ); 81.67 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.36 (t,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.38 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 46.68 (d und t,  $\text{C}(9'')$  und  $\text{C}(2')$ ); 38.49 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1)$ ); 32.88 (t,  $\text{C}(1')$ ); 27.62 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 663.2217 (12,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{KN}_4\text{O}_7^+$ ; ber. 663.2221), 647.2487 (21,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{NaO}_7^+$ ; ber. 647.2482), 625.2661 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_7^+$ ; ber. 625.2662), 607.1611 (3,  $[M - \text{'Bu} + \text{H} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{KN}_4\text{O}_7^+$ ; ber. 607.1595), 591.1850 (9,  $[M - \text{'Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{NaO}_7^+$ ; ber. 591.1856), 569.2030 (39,  $[M - \text{'Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_7^+$ ; ber. 569.2036).

tert-Butyl-N<sup>6</sup>-[(benzyloxy)carbonyl]-8-formyladenin-9-acetat (**55**).



Eine Lösung aus  $\text{Pr}_2\text{NH}$  (14.77 ml, 113 mmol) in THF (80 ml) wurde auf  $-76^\circ$  gekühlt, tropfenweise mit einer Lösung von 1.6 M BuLi in Hexan (70.42 ml, 113 mmol) versetzt, für 20 min gerührt, auf  $0^\circ$  aufgewärmt, für 1 h gerührt und bei  $4^\circ$  für 16 h gelagert. Die Lösung wurde auf  $-76^\circ$  gekühlt, mit einer Lösung von **22** (7.20 g, 18.8 mmol) in THF (30 ml) versetzt, 2 h gerührt, tropfenweise mit DMF (29.08 ml, 376 mmol) versetzt und für weitere 2 h gerührt. Die Lösung wurde mit AcOH (6.45 ml) versetzt und auf RT aufgewärmt. Nach Eindampfen wurde der Rückstand auf  $\text{H}_2\text{O}$  gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit  $\text{H}_2\text{O}$  und ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 3:1) ergab **55** (4.50 g, 58%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  95:5) 0.28.

UV (MeOH): 212 (33160), 269 (21080).

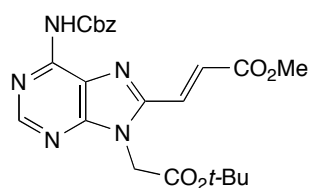
IR (ATR): 3239 $w$  (br.), 3189 $w$  (br.), 2979 $w$ , 1742 $s$ , 1697 $m$  (br.), 1604 $s$ , 1583 $m$ , 1522 $w$ , 1499 $w$ , 1454 $s$ , 1414 $w$ , 1391 $m$ , 1367 $m$ , 1322 $w$ , 1290 $m$ , 1282 $m$ , 1249 $m$ , 1229 $m$ , 1198 $s$ , 1150 $s$ , 1106 $m$ , 1029 $m$ , 973 $w$ , 943 $w$ , 897 $w$ , 850  $m$ , 801  $w$ , 743 $m$ , 696 $m$ , 664 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 9.97 ( $s$ , CHO); 8.84 ( $s$ , H-C(2)); 8.78 ( $s$ , NH); 7.44–7.34 ( $m$ , 5 arom. H); 5.30 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.23 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N(9)}$ ); 1.46 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 183.68 ( $d$ , CHO); 165.58 ( $s$ ,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 155.70 ( $d$ , C(2)); 152.03 ( $s$ , C(4)); 151.63 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 150.40 ( $s$ , C(6)); 145.43 ( $s$ , C(8)); 134.95 ( $s$ ); 128.67 ( $3d$ ); 128.60 ( $2d$ ); 121.78 ( $s$ , C(5)); 83.68 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 68.23 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 45.51 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N(9)}$ ); 28.07 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 434.1428 (22,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 434.1440), 412.1609 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 412.1621), 384.1660 (14,  $[M - \text{CHO} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_4^+$ ; ber. 384.1672), 378.0807 (9,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{Na} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{NaO}_5^+$ ; ber. 378.0814), 356.0980 (57,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_5^+$ ; ber. 356.0995).

Methyl-(E)-3-{N<sup>6</sup>-[(Benzyloxy)carbonyl]-9-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]adenin-8-yl} acrylat (**56**).



Eine Lösung aus **55** (7.50 g, 18.2 mmol) und Methyl(triphenylphosphoranyliden)acetat (6.40 g, 19.1 mmol) in THF (90 ml) wurde für 3 h bei RT gerührt und eingedampft. Mehrmaliges Waschen des Rückstands mit heissem Cyclohexan ergab **56** (7.70 g, 90%). Gelber Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) 0.38.

UV (MeOH): 205 (26480), 238 (22280), 318 (21760).

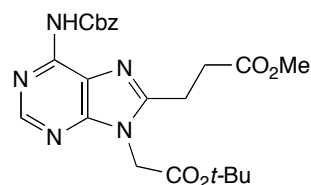
IR (ATR): 3245w (br.), 3181w (br.), 2980w, 2951w, 1740m, 1719s (br.), 1648w, 1606m, 1586m, 1519w, 1449m, 1437m, 1388w, 1367m, 1295m, 1272m, 1207s, 1150s, 1103m, 1037m, 967m, 951w, 897w, 848w, 800w, 746m, 696m, 617w.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 8.72 (s, H-C(2')); 8.62 (s, NH); 7.43 (d,  $J = 15.4$ , H-C(3)); 7.45–7.31 (m, 5 arom. H); 7.06 (d,  $J = 15.7$ , H-C(2)); 5.23 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.93 (s, CH<sub>2</sub>-N(9')); 3.79 (s, MeO); 1.43 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 165.80 (s, CO<sub>2</sub>Me); 165.37 (s, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 153.32 (d, C(2')); 152.08 (s, C(4')); 150.53 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 149.27 (s, C(6')); 148.00 (s, C(8')); 135.19 (s); 128.54 (2d); 128.49 (2d); 128.43 (d); 127.84 (d, C(3)); 126.80 (d, C(2)); 121.79 (s, C(5')); 84.04 (s, Me<sub>3</sub>C); 67.69 (t, PhCH<sub>2</sub>); 52.16 (q, MeO); 43.94 (t, CH<sub>2</sub>-N(9')); 27.78 (q, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 506.1459 (4, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 506.1442), 490.1716 (13, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 490.1703), 468.1881 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 468.1883), 434.1072 (5, [M - <sup>t</sup>Bu + Na + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 434.1077), 412.1246 (96, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 412.1257), 368.1344 (13, [M - CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 368.1359).

*Methyl-3-{N<sup>6</sup>-[(benzyloxy)carbonyl]-9-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]adenin-8-yl} propionat* (**57**).



Eine Suspension aus **55** (7.34 g, 15.7 mmol) in MeOH (105 ml) wurde mit einem Minimum an THF versetzt, um eine Lösung zu erhalten, auf 0° abgekühlt, während 20 min in kleinen Portionen mit NaBH<sub>4</sub> (5.94 g, 157 mmol) versetzt und 3 h bei 0° gerührt. Die Lösung wurde auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Trocknen des Rückstands ergab **57** (5.41 g, 73%). Weisser Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) 0.31.

UV (MeOH): 211 (35620), 270 (19820).

IR (ATR): 3279w (br.), 2980w, 2952w, 1732s, 1609m, 1590m, 1520w, 1497w, 1451m, 1393w, 1366m, 1338w, 1321w, 1301m, 1204s, 1149s, 1102m, 1026m, 971w, 941w, 911w, 894w, 844w, 799w, 737m, 696m, 649w, 619w.

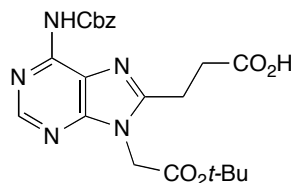
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 8.69 (*s*, H-C(2')); 8.41 (*s*, NH); 7.42–7.32 (*m*, 5 arom. H); 5.26 (*s*,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.90 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 3.66 (*s*,  $\text{MeO}_2\text{C}$ ); 3.06–3.01 (*m*, 2 H-C(3)); 2.98–2.93 (*m*, 2 H-C(2)); 1.45 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 172.53 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 165.80 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 154.09 (*d*, C(2')); 152.36 (*s*, C(4')); 152.14 (*s*, C(8')); 150.70 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 147.97 (*s*, C(6')); 135.37 (*s*); 128.57 (*2d*); 128.52 (*2d*); 128.41 (*d*); 120.76 (*s*, C(5')); 83.74 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.67 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 52.07 (*q*, MeO); 43.99 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 30.56 (*t*, C(2)); 28.06 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 22.54 (*t*, C(3)).

HR-MALDI-MS: 508.1603 (6,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{KN}_5\text{O}_6^+$ ; ber. 508.1598), 492.1855 (37,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{NaO}_6^+$ ; ber. 492.1859), 470.2031 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_6^+$ ; ber. 470.2040), 436.1225 (12,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{NaO}_6^+$ ; ber. 436.1233), 414.1394 (98,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_6^+$ ; ber. 414.1414), 370.1503 (7,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_4^+$ ; ber. 370.1515).

Anal. ber. für  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_6$  (469.49): C 58.84, H 5.80, N 14.92; found C 58.55, H 5.71, N 14.75.

3-{ $\text{N}^6$ -[(Benzoyloxy)carbonyl]-9-[(tert-butyloxy)carbonylmethyl]adenin-8-yl}propionsäure  
(58).



Eine Lösung aus **57** (5.05 g, 10.8 mmol) in THF/ $\text{H}_2\text{O}$  4:1 (110 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (1.35 g, 32.3 mmol) versetzt und 2 h bei  $0^\circ$  gerührt. Die weisse Suspension wurde mit *Amberlite IR-120* (gewaschen mit MeOH und THF) neutralisiert und filtriert. Eindampfen des Filtrats, FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  97:3  $\rightarrow$  80:20) und Waschen des gelben Feststoffs mit kleinen Mengen an AcOEt ergab **58** (3.98 g, 81%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  4:1) 0.55.

Smp. 64.3–66.7°.

UV (MeOH): 212 (35740), 271 (21020).

IR (ATR): 3394-2778 $w$  (br.), 3192 $w$  (br.), 2979 $w$ , 2938 $w$ , 1738 $s$  (br.), 1613 $m$ , 1595 $m$ , 1536 $w$ , 1496 $w$ , 1453 $m$ , 1392 $w$ , 1367 $m$ , 1323 $w$ , 1298 $w$ , 1279 $w$ , 1207 $s$ , 1149 $s$ , 1105 $w$ , 1022 $m$ , 970 $w$ , 943 $w$ , 848 $w$ , 798 $w$ , 744 $m$ , 696 $m$ , 619 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 12.35 (br. *s*, OH); 10.54 (br. *s*, NH); 8.57 (*s*, H-C(2')); 7.47–7.33 (*m*, 5 arom. H), 5.22 (*s*,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.09 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 3.07 (*t*,  $J = 7.2$ , 2 H-C(3)); 2.82 (*t*,  $J = 7.2$ , 2 H-C(2)); 1.42 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

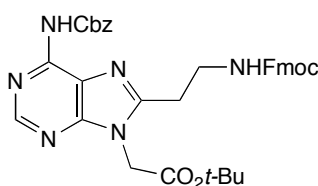
$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 173.03 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 166.42 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 154.91 (*s*, C(8')); 153.05 (*s*, C(4')); 152.06 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 150.79 (*d*, C(2')); 147.90 (*s*, C(6')); 136.22 (*s*); 128.18 (*2d*); 127.76

(2*d*); 127.65 (*d*); 122.22 (*s*, C(5')); 82.42 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.15 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 43.78 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 38.65 (*t*, C(2)); 27.57 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 22.13 (*t*, C(3)).

HR-MALDI-MS: 494.1450 (3, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 494.1442), 478.1700 (24, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 478.1703), 456.1880 (91, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 456.1883), 422.1070 (10, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 422.1077), 400.1252 (100, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 400.1257). 356.1356 (13, [M - CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 356.1359).

Anal. ber. für C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (455.46): C 58.02, H 5.53, N 15.38; found: C 57.99, H 5.45, N 15.15.

tert-Butyl-N<sup>6</sup>-[(benzyloxy)carbonyl]-8-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl} adenin-9-acetat (**59**).



Eine Suspension aus **58** (2.50 g, 5.49 mmol) in THF/Aceton 1:1 (110 ml) wurde auf -10° abgekühlt, tropfenweise mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (1.05 ml, 6.04 mmol) und ClCO<sub>2</sub>Et (787 μl, 8.23 mmol) versetzt und 1 h gerührt. Die gelbe Lösung wurde tropfenweise mit einer Lösung von NaN<sub>3</sub> (714 mg, 10.98 mmol) in H<sub>2</sub>O (22 ml) versetzt und für eine weitere Stunde bei -10° gerührt. Die grüne Lösung wurde auf Eiswasser und ges. wässr. NaCl-Lösung gegossen und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und bei RT eingedampft. Eine Lösung des Rückstands in Dioxan (22 ml) wurde mit 9-Fluorenylmethanol (10.8 g, 45.9 mmol) versetzt, 1 h bei 80° erhitzt und eingedampft. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 99:1 → 98:2) ergab **59** (2.87 g, 52%). Weisser Schaum.

Die wässr. Phase der Aufarbeitung wurde mit wässr. 1 M HCl angesäuert und mit CHCl<sub>3</sub> (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>) und filtriert. Eindampfen ergab **58** (344 mg, 13%).

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) 0.29.

Smp. 94.2–95.5°.

UV (CH<sub>3</sub>OH): 211 (55740), 266 (38540), 300 (6120).

IR (ATR): 3338w (br.), 3064w, 3037w, 2980w, 1757m, 1739m, 1713s, 1616s, 1524m, 1491m, 1479m, 1452s, 1426w, 1391m, 1367m, 1322m, 1264m, 1236s, 1206s, 1151s, 1101m, 1070w, 1035m, 987w, 969m, 939w, 896w, 858w, 796w, 741s, 699m, 653w, 630w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.57 (*s*, NH-C(6)); 8.57 (*s*, H-C(2)); 7.88–7.28 (*m*, 13 arom. H, NHFmoc); 5.22 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 5.02 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 4.33 (*d*, *J* = 6.8, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 4.21 (*t*, *J* = 6.6, H-C(9'')); 3.47 (*q*, *J* = 6.4, 2 H-C(2'')); 2.99 (*t*, *J* = 7.1, 2 H-C(1'')); 1.40 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

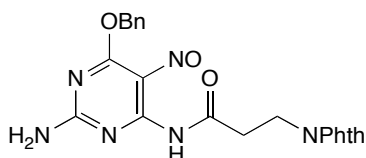
<sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.56 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 156.05 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 153.67 (*s*, C(8)); 153.07 (*s*, C(4)); 152.07 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 151.10 (*d*, C(2)); 148.21 (*s*, C(6)); 143.82 (2*s*), 140.71 (2*s*), 136.34 (*s*),

128.35–125.05 (11*d*); 122.38 (*s*, C(5)); 120.08 (2*d*); 82.52 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.22 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 65.35 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 46.69 (*d*, C(9'')); 43.82 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(9)); 37.94 (*t*, C(2')); 27.54 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 27.29 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 687.2337 (9, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 687.2333), 671.2588 (58, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 671.2594), 649.2774 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>36</sub>H<sub>37</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 649.2775), 615.1965 (9, [M – 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 615.1968), 593.2142 (16, [M – 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 593.2149), 541.2192 (15, [M – BnO]<sup>+</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 541.2199).

Anal. ber. für C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub> (648.71): C 66.65, H 5.59, N 12.95; found C 66.36, H 5.57, N 12.80.

N-[2-Amino-6-(benzyloxy)-5-nitrosopyrimidin-4-yl]-3-(phthalimido)propionamid (**60**).



Eine Suspension aus **28** (17.2 g, 70.2 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (700 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit **67** (19.6 g, 77.2 mmol) versetzt, für 5 min gerührt, auf RT aufgewärmt, für weitere 2 h gerührt und abfiltriert. Das Filtrat wurde mit 0.1 M NaOH (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Trocknen der vereinigten Feststoffe der ersten Filtration und des Eindampfens ergab **60** (29.3 g, 94%). Grünes Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.44.

Smp. 170.0–175.1°.

UV (MeOH): 348 (13060), 242 (12760).

IR (ATR): 3326w, 3241w, 1771w, 1706s, 1643m, 1593s, 1544s, 1468s, 1449m, 1394s, 1344s, 1309m, 1267m, 1206s, 1190s, 1170s, 1152s, 1111m, 1073m, 1003m, 985w, 972w, 912w, 884w, 870m, 847w, 793m, 774w, 745w, 714s, 699m, 672w, 639w.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 12.19 (*s*, NH); 8.74, 8.65 (2*s*, NH<sub>2</sub>); 7.88–7.80 (*m*, 4 arom. H); 7.56–7.36 (*m*, 5 arom. H); 5.61 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 3.89 (*t*, *J* = 6.9, 2 H–C(3)); 3.24 (*t*, *J* = 6.9, 2 H–C(2)).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 172.76 (*s*, C(1)); 167.38 (2*s*, 2 C=O); 163.13 (*s*, C(6')); 138.40 (*s*, C(4')); 135.44 (*s*); 134.21 (2*d*); 131.41 (2*s*); 128.64–122.87 (7*d*); 68.52 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 37.59 (*t*, C(3)); 33.25 (*t*, C(2)); signals of C(2') und C(5') hidden due to coalescence.

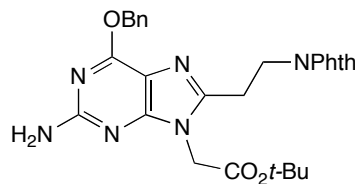
HR-MALDI-MS: 485.0961 (16, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 485.0976), 469.1211 (52, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 469.1236), 447.1403 (73, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 447.1417), 433.1592 (100, [M – O + 3H]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 433.1624), 416.1339 (100, [M – NO]<sup>+</sup>, C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 416.1353), 379.0735 (8, [M – Tol + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 379.0767), 357.0931 (55, [M – Tol + 2H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 357.0947).

Alkylierung von **60**.

Eine Suspension von **60** (18.6 g, 41.7 mmol) und 1 M  $\text{PMe}_3$  in THF (100 ml, 100 mmol) in Toluol (280 ml) wurde 4 h bei  $60^\circ$  im Ultraschallbad behandelt, worauf ein Farbumschlag von blau über grün nach gelb eintrat. Die Suspension wurde auf  $4^\circ$  abgekühlt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mit Toluol,  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab das Rohproduct des 8-alkylierten Guanins (13.7 g, 33.0 mmol).

Eine Suspension des 8-alkylierten guanins (13 g, 31.4 mmol),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (13.0 g, 94.1 mmol) und  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1.02 g, 3.14 mmol) in DMF (63 ml) wurde tropfenweise während 5 min mit *tert*-Butylchloracetat (5.83 ml, 40.8 mmol) versetzt, für 14 h bei RT gerührt und auf  $\text{H}_2\text{O}$  gegossen. Die Mischung wurde mit wässr. 1 M HCl neutralisiert und mit AcOEt (5 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 1:1) ergab **62** (10.63 g, 51% aus **60**) und **63** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1).

*Spektroskopische Daten von tert-Butyl-O<sup>6</sup>-(benzyl)-8-(phthalimidoethyl)guanin-9-acetat (62)*.  
Weisses Pulver.



$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.40.

Smp.  $176.7\text{--}176.9^\circ$ .

UV (MeOH): 286 (15280), 217 (59340).

IR (ATR): 3490 $w$ , 3317 $w$ , 3189 $w$ , 2968 $w$ , 2942 $w$ , 1771 $w$ , 1744 $m$ , 1717 $s$ , 1635 $m$ , 1591 $s$ , 1527 $w$ , 1492 $w$ , 1470 $m$ , 1438 $m$ , 1396 $s$ , 1378 $m$ , 1363 $s$ , 1330 $m$ , 1288 $w$ , 1255 $m$ , 1235 $s$ , 1214 $m$ , 1188 $w$ , 1153 $s$ , 1084 $w$ , 1065 $m$ , 1000 $m$ , 863 $m$ , 791 $m$ , 777 $w$ , 736 $m$ , 718 $s$ , 692 $m$ , 669 $m$ , 607 $w$ .

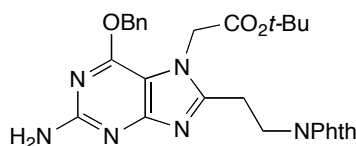
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.89–7.80 ( $m$ , 4 arom. H); 7.48–7.31 ( $m$ , 5 arom. H); 6.46 ( $s$ ,  $\text{NH}_2$ ); 5.46 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.80 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 3.98 ( $t$ ,  $J = 7.7$ , 2 H-(2')); 3.02 ( $t$ ,  $J = 7.7$ , 2 H-(1')); 1.41 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 167.59 (2 $s$ , 2 C=O); 166.85 ( $s$ ,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 159.42 ( $s$ , C(2)); 159.19 ( $s$ , C(6)); 155.45 ( $s$ , C(4)); 147.66 ( $s$ , C(8)); 136.62 ( $s$ ); 134.30 (2 $d$ ); 131.66 (2 $s$ ); 128.33–122.97 (7 $d$ ); 112.36 ( $s$ , C(5)); 82.28 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.82 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 43.42 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 34.94 ( $t$ , C(2')); 27.57 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 25.26 ( $t$ , C(1')).

HR-MALDI-MS: 567.1748 (7,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{KN}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 567.1758), 551.2016 (16,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{NaO}_5^+$ ; ber. 551.2019), 529.2203 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 529.2199), 495.1390 (2,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{NaO}_5^+$ ; ber. 495.1393), 473.1560 (30,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 473.1573).

Anal. ber. für  $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_5$  (528.56): C, 63.63, H 5.34, N 15.90; gef.: C 63.65, H 5.33, N 15.53.

*Spektroskopische Daten von tert-Butyl-O<sup>6</sup>-(benzyl)-8-(phthalimidoethyl)guanin-7-acetat (63).*  
Gelbes Pulver.



$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.16.

Smp. 215.8–216.2°.

UV (MeOH): 297 (11700), 219 (60360).

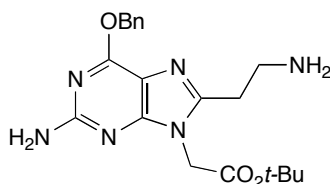
IR (ATR): 3459 $w$ , 3293 $w$ , 3171 $w$ , 3066 $w$ , 2981 $w$ , 1768 $w$ , 1737 $m$ , 1704 $s$ , 1624 $s$ , 1582 $s$ , 1504 $m$ , 1482 $m$ , 1446 $m$ , 1424 $m$ , 1409 $m$ , 1394 $s$ , 1364 $s$ , 1337 $m$ , 1329 $m$ , 1289 $w$ , 1252 $m$ , 1240 $s$ , 1221 $s$ , 1173 $s$ , 1150 $s$ , 1100 $m$ , 1086 $w$ , 1063 $m$ , 1010 $m$ , 988 $m$ , 942 $w$ , 906 $w$ , 868 $w$ , 851 $m$ , 790 $s$ , 744 $m$ , 721 $s$ , 695 $s$ , 666 $m$ , 623 $w$ .

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.90–7.81 ( $m$ , 4 arom. H); 7.49–7.34 ( $m$ , 5 arom. H); 6.15 ( $s$ , NH<sub>2</sub>); 5.43 ( $s$ , PhCH<sub>2</sub>); 4.97 ( $s$ , CH<sub>2</sub>-N(7)); 3.96 ( $t$ ,  $J = 7.5$ , 2 H-(2')); 3.09 ( $t$ ,  $J = 7.5$ , 2 H-(1')); 1.25 ( $s$ , Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 167.54 (2 $s$ , 2 C=O, Phth); 166.88 ( $s$ , CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 162.68 ( $s$ , C(4)); 159.41 ( $s$ , C(2)); 155.71 ( $s$ , C(6)); 154.15 ( $s$ , C(8)); 136.30 ( $s$ ); 134.28 (2 $d$ ); 131.62 (2 $s$ ); 128.30–122.96 (7 $d$ ); 106.59 ( $s$ , C(5)); 81.88 ( $s$ , Me<sub>3</sub>C); 66.90 ( $t$ , PhCH<sub>2</sub>); 46.80 ( $t$ , CH<sub>2</sub>-N(7)); 35.24 ( $t$ , C(2')); 27.32 ( $q$ , Me<sub>3</sub>C); 24.79 ( $t$ , C(1')).

HR-MALDI-MS: 567.1745 (10, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 567.1758), 551.2010 (30, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 551.2019), 529.2185 (98, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 529.2199), 511.1129 (6, [M - <sup>t</sup>Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 511.1132), 495.1383 (9, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 495.1393), 473.1568 (100, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 473.1573).

*tert-Butyl-8-(2-aminoethyl)O<sup>6</sup>-(benzyl)guanine-9-acetat (64).*



Eine Suspension aus **62** (10.0 g, 18.9 mmol) in EtOH (190 ml) wurde mit N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (18.4 ml, 378 mmol) versetzt und 3 h bei RT gerührt. Nach 15 min wandelte sich die Suspension in eine Lösung um, danach wieder in eine Suspension. Diese Suspension wurde filtriert, der Feststoff mit AcOEt gewaschen und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit AcOEt (3 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit wässr. 0.1 M



NaOH-Lösung (3 x) und ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Trocknen ergab **64** (6.52g, 86%). Weisses Pulver.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:2) 0.20.

Smp. 120.1–121.5°.

UV (MeOH): 285 (13160), 251 (11940), 210 (34560).

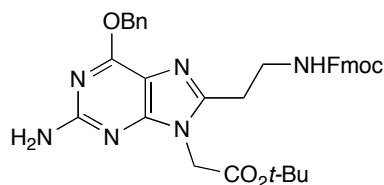
IR (ATR): 3481w, 3316w, 3192w, 2976w, 2935w, 2876w, 1738m, 1612s, 1587s, 1483m, 1428m, 1355m, 1311m, 1232s, 1149s, 1082m, 1062m, 1029w, 988w, 941w, 910w, 861w, 844w, 789m, 737m, 697m.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.53–7.34 (*m*, 5 arom); 6.43 (*s*, NH<sub>2</sub>); 5.48 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.79 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 2.89 (*t*, *J* = 6.6), 2.71 (*t*, *J* = 6.7) (2 H-(1'), 2 H-(2')); 1.41 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.89 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 159.11 (*s*, C(6)); 158.90 (*s*, C(2)); 155.33 (*s*, C(4)); 149.73 (*s*, C(8)); 136.55 (*s*); 128.34 (*2d*); 128.22 (*2d*); 127.86 (*d*); 112.12 (*s*, C((5))); 81.97 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.63 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 43.31 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 39.41 (*t*, C(2')); 30.56 (*t*, C(1')); 27.43 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 437.1718 (4, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 437.1703), 421.1969 (11, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 421.1964), 399.2136 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 399.2145), 365.1330 (2, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 365.1338), 343.1505 (77, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>; ber. 343.1519).

tert-Butyl-O<sup>6</sup>-benzyl-8-{2-[(9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonylamino]ethyl}guanin-9-acetat (**65**).



Eine Lösung aus **64** (6.20 g, 15.6 mmol) in THF (100 ml) wurde auf 0° gekühlt, tropfenweise während 10 min mit einer kalten (0°) Lösung von Fmoc-OSu (5.77 g, 17.1 mmol) in THF (60 ml) versetzt und 30 min gerührt. Eindampfen und FC (AcOEt/Cyclohexan 1:1) ergab **65** (8.35 g, 86%). Weisses Pulver.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.39.

Smp. 139.2–141.1°.

UV (MeOH): 255 (27140), 211 (54660).

IR (ATR): 3483w, 3411w, 3312w, 3184w, 2971w, 2943w, 1745m, 1729s, 1635m, 1593s, 1530m, 1489m, 1470m, 1449m, 1436m, 1426m, 1392m, 1377m, 1367m, 1351m, 1331m, 1297m, 1233s, 1195m, 1157m, 1144s, 1098w, 1078m, 1064m, 1042m, 1006m, 980m, 935w, 913w, 878w, 867w, 846m, 832w, 792m, 756s, 738s, 727m, 700m, 669w, 620w.

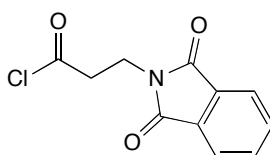
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO, 100°): 7.85–7.26 (*m*, 13 arom. H); 6.97 (*s*, NHFmoc); 6.02 (*s*, NH<sub>2</sub>); 5.53 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.74 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9)); 4.32 (*d*, *J* = 6.5, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 4.21 (*t*, *J* = 6.7, H-C(9'')); 3.43 (*q*, *J* = 6.2, 2 H-(2'')); 2.84 (*t*, *J* = 7.3, 2 H-(1'')); 1.42 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

$^{13}\text{C}$ -NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 166.28 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 159.96 (*s*, C(6)); 158.69 (*s*, C(2)); 156.39 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 155.32 (*s*, C(4)); 149.30 (*s*, C(8)); 143.86 (2*s*); 141.14 (2*s*); 136.53 (*s*); 128.34–119.85 (13*d*); 114.14 (*s*, C(5)); 83.36 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 68.10 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 66.83 (*t*,  $\text{PhCH}_2$ ); 47.25 (*d*, C(9'')); 43.79 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9)$ ); 37.76 (*t*, C(2')); 28.11 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.69 (*t*, C(1')).

HR-MALDI-MS: 659.2344 (7,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{KN}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 659.2384), 643.2633 (14,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{NaO}_5^+$ ; ber. 643.2645), 621.2817 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 621.2825), 603.1751 (1,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{KN}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 603.1758), 587.1990 (2,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{NaO}_5^+$ ; ber. 587.2019), 565.2167 (30,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_5^+$ ; ber. 565.2199).

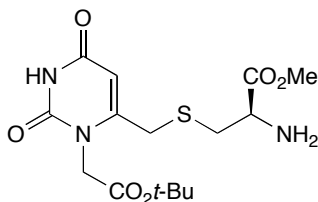
Anal. ber. für  $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5$  (620.70): C, 67.73, H 5.85, N 13.54; gef.: C 67.91, H 5.69, N 13.44.

*N*-Phthaloyl- $\beta$ -alanylchlorid (**67**).



Eine Suspension von *N*-Phthaloyl- $\beta$ -alanin (20 g, 81.6 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (370 ml) wurde mit 2 M Oxalylchlorid in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (91.2 ml, 182 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Eindampfen der farblosen Lösung ergab **67** (22.7 g, 98%). Weisses Pulver. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [246].

*S*-{1-[(*tert*-Butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl}-L-cystein-methylester (**68**).



Eine Lösung aus **78** (3.00 g, 5.04 mmol) in DMF (33.6 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit Piperidin (4.97 ml, 50.4 mmol) versetzt und 1 h bei  $0^\circ$  gerührt. Eindampfen, Adsorbieren des Rohprodukts an Kieselgel und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98:2  $\rightarrow$  9:1) ergab **68** (4.53 mg, 90%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) 0.36.

Smp. 46.2–47.1 $^\circ$ .

$[\alpha]_D^{25} = +8.9$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

UV (MeOH): 267 (10140), 207 (9760).

IR (ATR): 3367 $w$ , 3286 $w$ , 3184 $w$ , 3087 $w$ , 2979 $w$ , 2949 $w$ , 2876 $w$ , 2803 $w$ , 1735 $s$ , 1680 $s$ , 1615 $m$ , 1454 $m$ , 1434 $m$ , 1416 $m$ , 1386 $m$ , 1368 $m$ , 1231 $s$ , 1200 $m$ , 1150 $s$ , 1063 $w$ , 1006 $w$ , 993 $w$ , 943 $w$ , 925 $m$ , 858 $m$ , 819 $m$ , 767 $m$ , 744 $m$ , 716 $w$ , 673 $w$ , 637 $w$ .

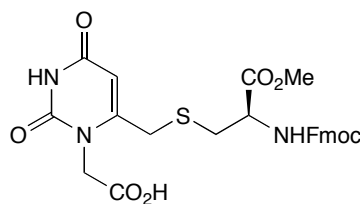
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 5.59 (*s*, H-C(5')); 4.66, 4.61 (2*d*,  $J = 17.9$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(1')$ ); 3.74 (*s*, MeO); 3.72 (*dd*,  $J = 6.9, 4.7$ ,

H-C(2)); 3.51, 3.46 (2d,  $J = 14.6$ , CH<sub>2</sub>-C(6')); 2.89 (dd,  $J = 13.8$ , 4.7, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.78 (dd,  $J = 13.8$ , 6.9, H<sub>b</sub>-C(3)); 1.46 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 174.04 (s, CO<sub>2</sub>Me); 166.98 (s, CO<sub>2</sub>'Bu); 162.26 (s, C(4')); 151.79 (s, C(2')), 151.49 (s, C(6')); 103.80 (d, C(5')); 83.46 (s, Me<sub>3</sub>C); 54.73 (d, C(2)); 52.63 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 45.34 (t, CH<sub>2</sub>-N(1')); 35.55 (t, C(3)); 31.49 (t, CH<sub>2</sub>-C(6')); 28.13 (q, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 412.0946 (3, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 412.0945), 396.1205 (15, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 396.1205), 374.1383 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 374.1386), 340.0575 (8, [M - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 340.0579), 318.0754 (77, [M - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 318.0760).

*S*-[1-(Carboxymethyl)uracil-6-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester (**69**).



Eine Lösung aus **78** (6.33 g, 10.6 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (106 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit Et<sub>3</sub>SiH (3.39 ml, 21.3 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (32.8 ml, 425 mmol) versetzt und 13 h bei RT gerührt. Nach Eindampfen bei 30° wurde der Rückstand mit iPr<sub>2</sub>O (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit iPr<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen ergab **69** (5.63 g, 98%). Weisses Pulver.

*R*<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:2) 0.32.

Smp. 116.0–121.1°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -33.8 (*c* = 1.0, DMSO).

UV (MeOH): 300 (5980), 265 (25820), 208 (44240).

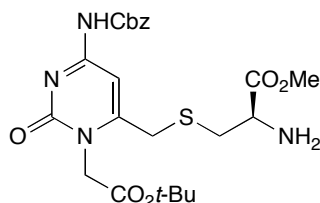
IR (ATR): 3324w, 3019w, 2974w, 2952w, 1712s, 1680s, 1621m, 1523m, 1466w, 1448m, 1417m, 1389m, 1352m, 1324w, 1249m, 1211m, 1167m, 1155m, 1104w, 1088w, 1058w, 1021w, 1000w, 931w, 891w, 834w, 758m, 737s, 669w, 637w, 620w.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 13.19 (br. s, CO<sub>2</sub>H); 11.44 (s, H-N(3')); 7.94–7.30 (m, 8 arom. H, NH-C(2)); 5.70 (s, H-C(5')); 4.50 (s, CH<sub>2</sub>-N(1')); 4.34–4.23 (m, CH<sub>2</sub>-C(9''), H-C(9''), H-C(2)); 3.67 (s, CH<sub>2</sub>-C(6')); 3.62 (s, MeO); 2.92 (dd,  $J = 13.7$ , 4.7, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.75 (dd,  $J = 13.7$ , 9.7, H<sub>b</sub>-C(3)).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO): 170.86 (s, CO<sub>2</sub>Me); 169.20 (s, CO<sub>2</sub>H); 161.94 (s, C(4')); 155.67 (s, NHCO<sub>2</sub>Fm); 151.54 (s, C(2')), 151.43 (s, C(6')); 143.55 (s); 143.48 (s); 140.51 (2s); 127.45–119.95 (8d); 102.52 (d, C(5')); 65.71 (t, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 53.39 (d, C(2)); 52.18 (q, MeO); 46.55 (d, C(9'')); 44.73 (t, CH<sub>2</sub>-N(1')); 31.92 (t, CH<sub>2</sub>-C(6')); 31.51 (t, C(3)).

HR-MALDI-MS: 578.0990 (17, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 578.0999), 562.1262 (76, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 562.1260), 540.1440 (42, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 540.1441).

*S*-[ $N^4$ -(Benzyloxycarbonyl)-*l*-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]cytosin-6-methyl]-*L*-cystein-methylester (**70**).



Eine Lösung aus **81** (500 mg, 686  $\mu$ mol) in DMF (4.6 ml) wurde mit Piperidin (678  $\mu$ l, 6.86 mmol) versetzt und für 1 h bei RT gerührt. Eindampfen, Adsorption des Rohprodukts an Kieselgel und FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2  $\rightarrow$  9:1) ergab **70** (311 mg, 89%). Gelber Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.44.

$[\alpha]_D^{25} = +13.5$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeOH): 300 (10100), 245 (16360), 207 (28820).

IR (ATR): 3462 $w$ , 3369 $w$ , 3281 $w$ , 3130 $w$ , 3092 $w$ , 3062 $w$ , 3029 $w$ , 2980 $w$ , 2970 $w$ , 2952 $w$ , 1736 $s$ , 1663 $m$ , 1609 $s$ , 1564 $m$ , 1498 $m$ , 1454 $w$ , 1410 $m$ , 1383 $s$ , 1370 $s$ , 1208 $s$ , 1192 $s$ , 1150 $s$ , 1069 $m$ , 1048 $m$ , 1028 $w$ , 1008 $w$ , 974 $w$ , 947 $w$ , 912 $w$ , 857 $w$ , 827 $w$ , 786 $m$ , 768 $w$ , 744 $m$ , 697 $m$ .

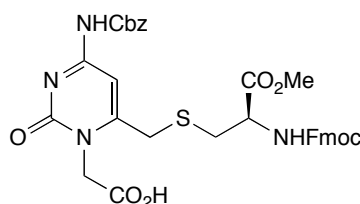
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.45–7.30 ( $m$ , 5 arom. H); 7.20 ( $s$ , H–C(5')); 5.20 ( $s$ , PhCH<sub>2</sub>); 4.80 ( $s$ , CH<sub>2</sub>–N(1')); 3.73–3.69 ( $m$ , MeO, H–C(2)); 3.64, 3.60 ( $2d$ ,  $J = 14.4$ , CH<sub>2</sub>–C(6')); 2.88 ( $dd$ ,  $J = 13.8$ , 4.7, H<sub>a</sub>–C(3)); 2.78 ( $dd$ ,  $J = 13.8$ , 6.8, H<sub>b</sub>–C(3)); 1.46 ( $s$ , Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 174.05 ( $s$ , CO<sub>2</sub>Me); 166.78 ( $s$ , CO<sub>2</sub>t-Bu); 161.60 ( $s$ , C(4')); 156.73 ( $s$ , C(2')); 156.62 ( $s$ , C(6')); 152.42 ( $s$ , NHCO<sub>2</sub>Bn); 135.13 ( $s$ ); 128.82 ( $2d$ ); 128.42 ( $3d$ ); 96.28 ( $d$ , C(5')); 83.25 ( $s$ , Me<sub>3</sub>C); 68.07 ( $t$ , PhCH<sub>2</sub>); 54.82 ( $d$ , C(2)); 52.53 ( $q$ , MeO); 46.55 ( $t$ , CH<sub>2</sub>–N(1')); 35.92 ( $t$ , C(3)); 34.22 ( $t$ , CH<sub>2</sub>–C(6')); 28.13 ( $q$ , Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 545.1468 (11, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>KN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 545.1472), 529.1724 (19, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 529.1733), 507.1912 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 507.1913), 489.8040 (2, [M – t-Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>KN<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 489.0846), 473.1104 (3, [M – t-Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 473.1107), 451.1282 (58, [M – t-Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 451.1287).

Anal. ber. für C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S (506.57): C 54.53, H 5.97, N 11.06; gef.: C 54.37, H 6.00, N 10.94.

*S*-[ $N^4$ -(Benzyloxycarbonyl)-*l*-(carboxymethyl)cytosin-6-methyl]-*N*-Fmoc-*L*-cystein-methylester (**71**).



Eine Lösung aus **81** (5.00 g, 6.86 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (69 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (11.0 ml, 68.6 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (21.1 ml, 274 mmol) versetzt und 22 h bei RT gerührt. Nach Eindampfen wurde der Rückstand mit  $^1\text{Pr}_2\text{O}$  (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $^1\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **71** (4.52 g, 98%). Gelbes Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  3:1) 0.33.

Smp. 116.9–124.2°.

$[\alpha]_D^{25} = -26.9$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

UV (MeOH): 300 (11400), 255 (19200), 209 (47280).

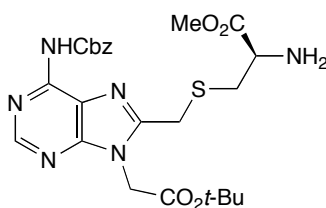
IR (ATR): 3334 $w$ , 3217 $w$ , 3131 $w$ , 2958 $w$ , 2880 $w$ , 2709 $w$ , 2600 $w$ , 1724 $s$ , 1605 $m$ , 1579 $m$ , 1510 $m$ , 1478 $w$ , 1449 $w$ , 1416 $m$ , 1389 $m$ , 1342 $w$ , 1327 $w$ , 1209 $s$ , 1191 $s$ , 1143 $m$ , 1107 $w$ , 1081 $m$ , 1051 $m$ , 1031 $w$ , 1010 $w$ , 933 $w$ , 907 $w$ , 831 $w$ , 760 $m$ , 740 $s$ , 697 $m$ , 667 $w$ , 620 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.70 (br.  $s$ ,  $\text{NH-C}(4')$ ); 7.92–7.29 ( $m$ , 13 arom. H,  $\text{NH-C}(2)$ ); 7.15 ( $s$ ,  $\text{H-C}(5')$ ); 5.17 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.64 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(1')$ ); 4.33–4.22 ( $m$ ,  $\text{H-C}(2)$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ,  $\text{H-C}(9''')$ ); 3.84 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6')$ ); 3.60 ( $s$ , MeO); 2.97 ( $dd$ ,  $J = 13.9, 4.7$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.78 ( $dd$ ,  $J = 13.8, 9.8$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.39 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 171.03 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 169.11 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 162.13 ( $s$ ,  $\text{C}(4')$ ); 156.97 ( $s$ ,  $\text{C}(6')$ ); 155.93 ( $s$ ,  $\text{C}(2')$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 153.03 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 143.76, 143.72 ( $2s$ ); 140.72 ( $2s$ ); 135.93 ( $s$ ); 128.43–120.08 ( $13d$ ); 95.51 ( $d$ ,  $\text{C}(5')$ ); 66.46 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.81 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.40 ( $d$ ,  $\text{C}(2)$ ); 52.10 ( $q$ , MeO); 46.60 ( $d$ ,  $\text{C}(9''')$ ); 46.04 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(1')$ ); 32.63 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6')$ ); 32.16 ( $d$ ,  $\text{C}(3)$ ).

HR-MALDI-MS: 711.1547 (6,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{KN}_4\text{O}_9\text{S}^+$ ; ber. 711.1527), 695.1788 (32,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{NaO}_9\text{S}^+$ ; ber. 695.1788), 673.1973 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}^+$ ; ber. 673.1968), 565.1395 (32,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 565.1393).

*S*-{ $\text{N}^6$ -(Benzyloxycarbonyl)-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]adenin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**72**).



Eine Lösung aus **85** (2.37 g, 3.15 mmol) in DMF (21.0 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit Piperidin versetzt (3.11 ml, 31.5 mmol) und 1 h bei  $0^\circ$  gerührt. Eindampfen, Adsorption des Rohprodukts an Kieselgel und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98:2  $\rightarrow$  9:1) ergab **72** (1.45 mg, 87%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) 0.47.

$[\alpha]_D^{25} = +14.7$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

UV (MeOH): 274 (23340), 213 (36120).

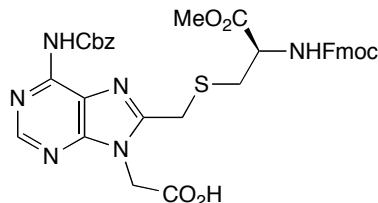
IR (ATR): 3367 $w$ , 3269 $w$ , 3180 $w$ , 3058 $w$ , 3026 $w$ , 2971 $w$ , 2949 $w$ , 1737 $s$ , 1610 $m$ , 1588 $m$ , 1533 $w$ , 1496 $w$ , 1452 $m$ , 1409 $w$ , 1386 $m$ , 1366 $m$ , 1338 $w$ , 1320 $m$ , 1301 $w$ , 1279 $w$ , 1251 $m$ , 1203 $s$ , 1149 $s$ , 1100 $m$ , 1028 $m$ , 970 $w$ , 941 $w$ , 895 $w$ , 844 $w$ , 800 $w$ , 742 $m$ , 697 $m$ , 658 $w$ , 614 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 8.72 ( $s$ , H-C(2')); 8.42 ( $s$ , NH-C(6')); 7.50–7.27 ( $m$ , 5 arom. H); 5.28 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.98 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 3.97 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 3.68–3.65 ( $m$ , H-C(2), MeO); 2.82 ( $dd$ ,  $J = 13.8, 5.0$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.69 ( $dd$ ,  $J = 13.8, 7.3$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.45 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 174.16 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 165.96 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Bu}$ ); 153.11 ( $s$ , C(4')); 152.89 ( $d$ , C(2')); 151.10 ( $s$ , C(8')); 150.93 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 148.63 ( $s$ , C(6')); 135.57 ( $s$ ); 128.74 ( $2d$ ); 128.72 ( $2d$ ); 128.62 ( $d$ ); 120.85 ( $s$ , C(5')); 83.80 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.85 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 54.43 ( $d$ , C(2)); 52.39 ( $q$ , MeO); 44.54 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 36.04 ( $t$ , C(3)); 28.71 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 28.09 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 569.1575 (4,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{KN}_6\text{O}_6\text{S}^+$ ; ber. 569.1585), 553.1846 (29,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{NaO}_6\text{S}^+$ ; ber. 553.1845), 531.2024 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}^+$ ; ber. 531.2026), 497.1210 (7,  $[M - \text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{NaO}_6\text{S}^+$ ; ber. 497.1219), 475.1399 (22,  $[M - \text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}^+$ ; ber. 475.1400); 461.1007 (5,  $[M - \text{BnOH} + K]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{KN}_6\text{O}_5\text{S}^+$ ; ber. 461.1009), 445.1254 (2,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{NaO}_5\text{S}^+$ ; ber. 445.1270), 423.1440 (57,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}^+$ ; ber. 423.1451); 367.0814 (44,  $[M - \text{BnOH} - \text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}^+$ ; ber. 367.0825).

*S*-[ $\text{N}^6$ -(Benzyloxycarbonyl)-9-(carboxymethyl)adenin-8-methyl]-*N*-Fmoc-L-cystein-methylester (**73**).



Eine Lösung aus **85** (8.00 g, 10.6 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (106 ml) wurde auf  $0^\circ$  abgekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (17.0 ml, 106 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (40.9 ml, 531 mmol) versetzt und 22 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde bei  $30^\circ$  eingedampft und der Rückstand mit  $^i\text{Pr}_2\text{O}$  (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $^i\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **73** (7.59 g, 99%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  3:2) 0.49.

Smp. 153.9–155.2°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -26.9$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 266 (33000), 211 (55400).

IR (ATR): 3331 $w$ , 3235 $w$ , 2953 $w$ , 2529 $w$ , 1733 $s$ , 1721 $s$ , 1688 $m$ , 1612 $m$ , 1583 $m$ , 1526 $s$ , 1449 $m$ , 1435 $m$ , 1409 $w$ , 1382 $w$ , 1341 $m$ , 1262 $m$ , 1214 $s$ , 1172 $s$ , 1143 $m$ , 1097 $m$ , 1083 $m$ , 1049 $m$ , 1017 $m$ , 901 $w$ , 808 $w$ , 780 $w$ , 757 $m$ , 738 $s$ , 731 $m$ , 697 $m$ , 672 $w$ , 653 $w$ , 636 $w$ , 615 $w$ .

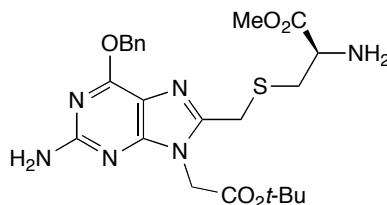
$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 10.70 (br.  $s$ , NH-C(6')); 8.60 ( $s$ , H-C(2')); 7.92–7.28 ( $m$ , 13 arom. H, NH-C(2)); 5.20 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 5.06 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 4.38–4.30 ( $m$ , H-C(2)); 4.30 ( $d$ ,

$J = 7.2$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.21 ( $t$ ,  $J = 6.2$ ,  $\text{H-C}(9'')$ ); 4.16 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'')$ ); 3.59 ( $s$ ,  $\text{MeO}$ ); 2.92 ( $dd$ ,  $J = 14.0, 5.0$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.77 ( $dd$ ,  $J = 13.7, 9.7$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO): 170.91 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 168.41 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 155.71 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 153.19 ( $s$ ,  $\text{C}(4')$ ); 151.95 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}$ ); 151.49 ( $s$ ,  $\text{C}(8')$ ); 151.06 ( $d$ ,  $\text{C}(2')$ ); 148.23 ( $s$ ,  $\text{C}(6')$ ); 143.51 ( $2s$ ); 140.50 ( $2s$ ); 136.08 ( $s$ ); 128.18–125.04 ( $11d$ ); 122.02 ( $s$ ,  $\text{C}(5')$ ); 119.93 ( $2d$ ); 66.22 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.71 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.05 ( $d$ ,  $\text{C}(2)$ ); 52.05 ( $q$ ,  $\text{MeO}$ ); 46.54 ( $d$ ,  $\text{C}(9'')$ ); 43.77 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'')$ ); 32.16 ( $t$ ,  $\text{C}(3)$ ); 26.92 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'')$ ).

HR-MALDI-MS: 735.1639 (5,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{KN}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 735.1639), 719.1923 (47,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{NaO}_8\text{S}^+$ ; ber. 719.1900), 697.2078 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 697.2081), 653.2189 (20,  $[M - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}^+$ ; ber. 653.2182), 627.1073 (1,  $[M - \text{BnOH} + K]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{KN}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 627.1064), 611.1331 (10,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{NaO}_7\text{S}^+$ ; ber. 611.1325), 589.1513 (32,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 589.1505).

*S*-{*O*<sup>6</sup>-Benzyl-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**74**).



Eine Lösung aus **86** (500 mg, 690  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (4.6 ml) wurde mit Piperidin versetzt (681  $\mu\text{l}$ , 6.9 mmol) und für 1 h bei RT gerührt. Eindampfen, Adsorption des Rohprodukts an Kieselgel und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98:2  $\rightarrow$  9:1) ergab **74** (333 mg, 96%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1) 0.44.

$[\alpha]_D^{25} = +16.3$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

UV (MeOH): 288 (16140), 255 (11760), 211 (33000).

IR (ATR): 3499 $w$ , 3385 $w$ , 3347 $w$ , 3201 $w$ , 3034 $w$ , 2982 $w$ , 2971 $w$ , 2937 $w$ , 2883 $w$ , 1727 $s$ , 1611 $s$ , 1592 $s$ , 1519 $w$ , 1481 $w$ , 1462 $w$ , 1444 $s$ , 1431 $s$ , 1410 $m$ , 1395 $w$ , 1354 $s$ , 1320 $m$ , 1293 $w$ , 1248 $s$ , 1234 $s$ , 1217 $m$ , 1199 $m$ , 1155 $s$ , 1108 $m$ , 1075 $s$ , 1028 $w$ , 1008 $w$ , 992 $w$ , 952 $w$ , 936 $w$ , 918 $w$ , 855 $m$ , 843 $m$ , 825 $w$ , 788 $m$ , 766 $m$ , 754 $m$ , 733 $m$ , 696 $m$ , 681 $m$ , 655 $w$ , 634 $w$ , 619 $w$ .

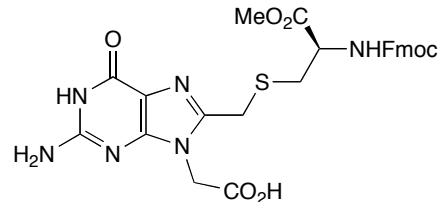
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.50–7.25 ( $m$ , 5 arom. H); 5.54 ( $s$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.88 ( $s$ ,  $\text{NH}_2\text{-C}(2')$ ); 4.83 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'')$ ); 3.90 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'')$ ); 3.64 ( $s$ ,  $\text{MeO}$ ); 3.62 ( $dd$ ,  $J = 7.5, 5.0$ ,  $\text{H-C}(2)$ ); 2.86 ( $dd$ ,  $J = 13.6, 5.0$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.68 ( $dd$ ,  $J = 13.6, 7.5$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.46 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 174.28 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 166.56 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{tBu}$ ); 160.56 ( $s$ ,  $\text{C}(2')$ ); 159.26 ( $s$ ,  $\text{C}(6')$ ); 155.99 ( $s$ ,  $\text{C}(4')$ ); 146.78 ( $s$ ,  $\text{C}(8')$ ); 136.64 ( $s$ ); 128.61 ( $2d$ ); 128.47 ( $2d$ ); 128.11 ( $d$ ); 114.23 ( $s$ ,  $\text{C}(5')$ ); 83.23 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 68.21 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 54.20 ( $d$ ,  $\text{C}(2)$ ); 52.30 ( $q$ ,  $\text{MeO}$ ); 44.41 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'')$ ); 36.24 ( $t$ ,  $\text{C}(3)$ ); 28.99 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'')$ ); 28.14 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 541.1631 (9,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{KN}_6\text{O}_5\text{S}^+$ ; ber. 541.1635), 525.1890 (17,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{NaO}_5\text{S}^+$ ; ber. 525.1896), 503.2072 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_5\text{S}^+$ ; ber.

503.2077), 485.1005 (1,  $[M - 'Bu + H + K]^+$ ,  $C_{19}H_{22}KN_6O_5S^+$ ; ber. 485.1009), 469.1263 (3,  $[M - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{19}H_{22}N_6NaO_5S^+$ ; ber. 469.1270), 447.1441 (52,  $[M - 'Bu + 2 H]^+$ ,  $C_{19}H_{23}N_6O_5S^+$ ; ber. 447.1451).

*S*-[9-(Carboxymethyl)guanin-8-methyl]-*N*-Fmoc-L-cytein-methylester (**75**).



Eine Lösung aus **86** (5.00 g, 6.9 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (69 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $Et_3SiH$  (5.51 ml, 34.5 mmol) und  $CF_3CO_2H$  (53.1 ml, 690 mmol) versetzt und 22 h bei RT gerührt. Nach Eindampfen wurde der Rückstand mit  $iPr_2O$  (200 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $iPr_2O$  gewaschen. Trocknen ergab **75** (3.95 g, 99%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  3:2) 0.27.

Smp.  $197.2\text{--}203.1^\circ$ .

$[\alpha]_D^{25} = -33.8$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 265 (32760), 210 (46340).

IR (ATR): 3327w, 3213w, 3160w, 2968w, 2953w, 2733w, 2610w, 1687s, 1632s, 1590s, 1538m, 1509m, 1448m, 1437m, 1409w, 1390m, 1344m, 1283m, 1195s, 1140s, 1106w, 1080m, 1051m, 1009w, 981w, 841w, 796w, 773w, 759m, 739s, 696w, 680w, 644w, 621w.

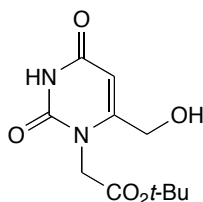
$^1H$ -NMR (400 MHz,  $(D_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 13.30 (br. s,  $CO_2H$ ); 10.73 (s, H-N(1')); 7.90–7.24 (m, 8 arom. H, NH-C(2)); 6.61 (s,  $NH_2$ ); 4.78 (s,  $CH_2-N(9')$ ); 4.33–4.21 (m, H-C(2),  $CH_2-C(9'')$ , H-C(9'')); 3.93 (s,  $CH_2-C(8')$ ); 3.63 (s, MeO); 2.86 (dd,  $J = 14.0, 5.5$ ,  $H_a-C(3)$ ); 2.73 (dd,  $J = 13.8, 9.7$ ,  $H_b-C(3)$ ).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $(D_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 171.20 (s,  $CO_2Me$ ); 168.71 (s,  $CO_2H$ ); 155.91 (s,  $NHCO_2Fm$ ); 156.10, 153.96 (2s, C(2'), C(6')); 152.39 (s, C(4')); 143.98 (s, C(8')); 143.76, 143.70 (2s); 140.70 (2s); 127.61–120.08 (8d); 65.81 (t,  $CH_2-C(9'')$ ); 53.16 (d, C(2)); 52.11 (q, MeO); 46.59 (d, C(9'')); 43.53 (t,  $CH_2-N(9')$ ); 31.93 (t, C(3)); 26.71 (t,  $CH_2-C(8')$ ).

HR-MALDI-MS: 617.1219 (12,  $[M + K]^+$ ,  $C_{27}H_{26}KN_6O_7S^+$ ; ber. 617.1221), 601.1477 (100,  $[M + Na]^+$ ,  $C_{27}H_{26}N_6NaO_7S^+$ ; ber. 601.1481), 579.1660 (51,  $[M + H]^+$ ,  $C_{27}H_{27}N_6O_7S^+$ ; ber. 579.1662).



tert-Butyl-6-(hydroxymethyl)uracil-1-acetat (**76**).



Eine Lösung aus  $^i\text{Pr}_2\text{NH}$  (57.9 ml, 442 mmol) in THF (200 ml) wurde auf  $-76^\circ$  gekühlt, tropfenweise während 30 min mit einer Lösung von 1.6 M BuLi in Hexan (276 ml, 442 mmol) versetzt, auf  $0^\circ$  aufgewärmt, für 15 min gerührt, auf  $-76^\circ$  gekühlt und tropfenweise während 30 min mit einer Lösung von **42** (20.0 g, 88.4 mmol) in THF (500 ml) versetzt. Nach 1.5 stündigem Rühren bei  $-76^\circ$  wurde DMF (68.5 ml, 884 mmol) zugegeben und weitere 1.5 h bei  $-76^\circ$  gerührt. Die Lösung wurde mit AcOH (55.7 ml, 972 mmol) versetzt, auf RT aufgewärmt, mit EtOH (600 ml) verdünnt, in kleinen Portionen mit  $\text{NaBH}_4$  (10.0 g, 265 mmol) versetzt und 30 min gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde auf ges. wässr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung/ $\text{H}_2\text{O}$  gegossen und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 x) ausgeschüttelt. Trocknen der vereinigten org. Phasen ( $\text{MgSO}_4$ ), Filtration, mehrmaliges azeotropes Eindampfen mit Toluol und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  99:1  $\rightarrow$  96.5:3.5  $\rightarrow$  94:6) ergab **76** (7.92 g, 35%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  90:10) 0.40.

Smp.  $174\text{--}175^\circ$ .

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 264 (9500).

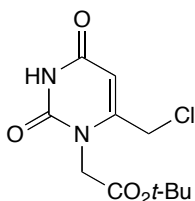
IR (ATR):  $3461_w$ ,  $3090_w$ ,  $2978_w$ ,  $2808_w$ ,  $1745_m$ ,  $1689_s$ ,  $1656_m$ ,  $1617_w$ ,  $1476_m$ ,  $1427_m$ ,  $1397_m$ ,  $1378_m$ ,  $1367_m$ ,  $1232_m$ ,  $1206_m$ ,  $1158_s$ ,  $1078_w$ ,  $1044_m$ ,  $994_m$ ,  $980_w$ ,  $930_w$ ,  $871_m$ ,  $851_m$ ,  $823_w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 11.36 (s, NH); 5.77 (t,  $J = 5.6$ , OH); 5.65 (s, H-C(5)); 4.44 (s,  $\text{CH}_2\text{-N(1)}$ ); 4.21 (d,  $J = 5.1$ ,  $\text{CH}_2\text{-C(6)}$ ); 1.41 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 167.29 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.84 (s, C(4)); 156.39 (s, C(2)); 151.65 (s, C(6)); 98.89 (d, C(5)); 81.86 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 59.00 (t,  $\text{CH}_2\text{-C(6)}$ ); 44.54 (t,  $\text{CH}_2\text{-N(1)}$ ); 27.63 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-EI-MS: 256.1055 (3,  $M^+$ ,  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 256.1059), 200.0430 (2,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_5^+$ ; ber. 200.0433), 183.0399 (15,  $[M - ^t\text{BuO}]^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_4^+$ ; ber. 183.0400), 156.0530 (34,  $[M - \text{CO}_2^t\text{Bu} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3^+$ ; ber. 156.0535), 57.0719 (100,  $^t\text{Bu}^+$ ,  $\text{C}_4\text{H}_9^+$ ; ber. 57.0699).  
Anal. ber. für  $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$  (256.26): C 51.56, H 6.29, N 10.93; gef.: C 51.66, H 6.30, N 10.80.

tert-Butyl-6-(chlormethyl)uracil-1-acetat (**77**).



Eine Lösung aus **76** (10.5 g, 41.1 mmol) in DMF (410 ml) wurde auf 0° gekühlt, während 10 min mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (14.3 ml, 82.3 mmol) und MsCl (4.14 ml, 53.5 mmol) versetzt und 30 min bei 0° gerührt. Die Lösung wurde mit LiCl (8.72 g, 206 mmol) versetzt, auf RT aufgewärmt und 3 h gerührt. Die gelbe Lösung wurde auf Eis und ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gegossen und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Waschen des festen Rückstands mit MeOH ergab **77** (8.46 g, 75%). Weisses Pulver.

*R*<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.33.

Smp. 189.3–190.1°.

UV (MeOH): 270 (9780), 206 (7160).

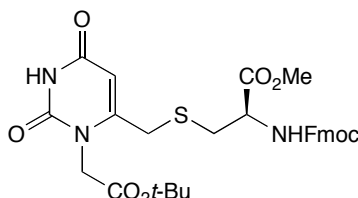
IR (ATR): 3066<sub>w</sub>, 3033<sub>w</sub>, 2999<sub>w</sub>, 2986<sub>w</sub>, 2969<sub>w</sub>, 2931<sub>w</sub>, 2873<sub>w</sub>, 2817<sub>w</sub>, 2802<sub>w</sub>, 1738<sub>m</sub>, 1719<sub>s</sub>, 1696<sub>s</sub>, 1611<sub>m</sub>, 1472<sub>m</sub>, 1416<sub>s</sub>, 1387<sub>m</sub>, 1372<sub>m</sub>, 1365<sub>s</sub>, 1281<sub>w</sub>, 1234<sub>m</sub>, 1200<sub>w</sub>, 1163<sub>s</sub>, 991<sub>m</sub>, 921<sub>m</sub>, 885<sub>m</sub>, 866<sub>m</sub>, 822<sub>w</sub>, 764<sub>m</sub>, 749<sub>m</sub>, 740<sub>m</sub>, 732<sub>m</sub>, 716<sub>m</sub>, 675<sub>w</sub>, 637<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.11 (br. *s*, NH); 5.82 (*d*, *J* = 2.2, H–C(5)); 4.64 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 4.19 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(6)); 1.49 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 166.54 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 161.78 (*s*, C(4)); 151.07, 150.24 (2*s*, C(2), C(6)); 104.31 (*d*, C(5)); 83.72 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 45.29 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1)); 41.27 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(5)); 28.05 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 297.0613 (100, [*M* + Na]<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 297.0618), 275.0796 (12, [*M* + H]<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 275.0799), 240.9986 (91, [*M* – <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClN<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 240.9992), 219.0167 (34, [*M* – <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 219.0173).

*S*-{1-[(*tert*-Butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl}-*N*-Fmoc-L-cystein-methylester (**78**).



Eine Lösung aus **77** (4.00 g, 14.6 mmol) und **83** (7.29 g, 20.4 mmol) in entgastem THF/DMF 5:1 (75 ml) wurde tropfenweise mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (3.55 ml, 20.4 mmol) versetzt und 44 h bei RT gerührt. Eindampfen der Lösung und Waschen des festen Rückstands mit AcOEt ergab **78** (8.50 g, 98%). Weisses Pulver.

*R*<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.33.

Smp. 145.8–155.3°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –7.4 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeOH): 300 (5520), 265 (27340), 208 (44340).

IR (ATR): 3342<sub>w</sub>, 3166<sub>w</sub>, 3040<sub>w</sub>, 2984<sub>w</sub>, 2953<sub>w</sub>, 2879<sub>w</sub>, 2825<sub>w</sub>, 1728<sub>m</sub>, 1714<sub>s</sub>, 1684<sub>s</sub>, 1620<sub>w</sub>, 1515<sub>m</sub>, 1447<sub>m</sub>, 1419<sub>m</sub>, 1390<sub>m</sub>, 1366<sub>m</sub>, 1349<sub>m</sub>, 1242<sub>m</sub>, 1214<sub>m</sub>, 1161<sub>s</sub>, 1103<sub>w</sub>, 1075<sub>m</sub>, 1056<sub>w</sub>, 1018<sub>m</sub>, 1008<sub>w</sub>, 928<sub>w</sub>, 918<sub>w</sub>, 864<sub>w</sub>, 837<sub>w</sub>, 760<sub>m</sub>, 735<sub>s</sub>, 669<sub>w</sub>, 634<sub>w</sub>, 620<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 11.44 (*s*, H–N(3′)); 7.93–7.30 (*m*, 8 arom. H, NH–C(2)); 5.70 (*s*, H–C(5′)); 4.46

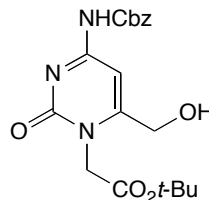
(*s*, CH<sub>2</sub>-N(1'')); 4.34–4.23 (*m*, CH<sub>2</sub>-C(9''), H-C(9''), H-C(2)); 3.68–3.62 (*m*, CH<sub>2</sub>-C(6'), MeO); 2.90 (*dd*, *J* = 14.0, 4.7, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.74 (*dd*, *J* = 14.0, 9.7, H<sub>b</sub>-C(3)); 1.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 170.86 (*s*, CO<sub>2</sub>Me); 166.75 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 161.92 (*s*, C(4'')); 155.70 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 151.49 (*s*, C(2'')), 151.20 (*s*, C(6'')); 143.52 (*2s*); 140.51 (*2s*); 127.45–119.95 (*8d*); 102.68 (*d*, C(5'')); 81.54 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 65.72 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 53.32 (*d*, C(2)); 52.18 (*q*, MeO); 46.54 (*d*, C(9'')); 45.36 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(1'')); 31.90 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(6'')); 31.49 (*t*, C(3)); 27.60 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 634.1641 (26, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 634.1625), 618.1901 (100, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 618.1886), 596.2079 (37, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 596.2067), 578.1003 (8, [M - <sup>t</sup>Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 578.0999), 562.1274 (29, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 562.1260), 540.1448 (91, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 540.1441).

Anal. ber. für C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S (595.66): C 60.49, H 5.58, N 7.05; gef.: C 60.21, H 5.74, N 7.08.

tert-Butyl-N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-6-(hydroxymethyl)cytosin-1-acetat (**79**).



Eine Lösung aus <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NH (54.7 ml, 417 mmol) in THF (230 ml) wurde auf –76° gekühlt, tropfenweise während 30 min mit 1.6 M BuLi in Hexan (261 ml, 417 mmol) versetzt, auf 0° aufgewärmt, 30 min gerührt, auf –76° gekühlt, tropfenweise während 30 min mit einer Lösung aus **49** (25.0 g, 69.6 mmol) in THF (140 ml) versetzt und 2 h gerührt. Der Lösung wurde während 20 min mit DMF (108 ml, 1.39 mol) versetzt und 2 h bei –76° gerührt. Die Lösung wurde mit AcOH (47.8 ml, 835 mmol) versetzt, auf RT aufgewärmt, mit EtOH (400 ml) verdünnt, in kleinen Portionen mit NaBH<sub>4</sub> (7.89 g, 209 mmol) versetzt und 1 h gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wurde auf ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung/H<sub>2</sub>O gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (4 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Mehrmaliges azeotropes Eindampfen mit Toluol und FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 95:5) ergab **79** (15.2 g, 56%). Gelber Schaum.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) 0.33.

UV (MeOH): 295 (7100), 242 (14200).

IR (ATR): 3253<sub>w</sub>, 2978<sub>w</sub>, 1738<sub>m</sub>, 1645<sub>m</sub>, 1610<sub>m</sub>, 1567<sub>m</sub>, 1497<sub>m</sub>, 1455<sub>m</sub>, 1414<sub>m</sub>, 1384<sub>s</sub>, 1368<sub>s</sub>, 1193<sub>s</sub>, 1150<sub>s</sub>, 1105<sub>m</sub>, 1061<sub>m</sub>, 1035<sub>m</sub>, 971<sub>w</sub>, 912<sub>w</sub>, 860<sub>w</sub>, 836<sub>w</sub>, 818<sub>w</sub>.

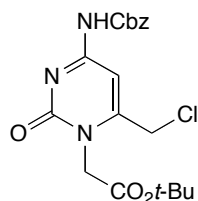
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.76 (*s*, NH-C(4)); 7.41–7.33 (*m*, 5 arom. H); 7.23 (*s*, H-C(5)); 5.89 (*t*, *J* = 4.8, OH); 5.19 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.53 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1)); 4.35 (*d*, *J* = 5.4, CH<sub>2</sub>-C(6)); 1.41 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.72 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 162.43 (*s*, C(4)); 161.84 (*s*, C(6)); 155.59 (*s*, C(2)); 152.89

(*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 135.82 (*s*); 128.31 (*2d*); 127.98 (*d*); 127.80 (*2d*); 91.67 (*d*, C(5)); 81.72 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.42 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 59.18 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(6)); 45.78 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(1)); 27.65 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 428.1224 (10, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>KN<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 428.1218), 412.1478 (18, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 412.1479), 390.1660 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 390.1660), 334.1035 (21, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>; ber. 334.1034).

tert-Butyl-N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-6-(chloromethyl)cytosin-1-acetat (**80**).



Eine Lösung aus **79** (13.6 g, 35.0 mmol) in DMF (350 ml) wurde auf 0° gekühlt, während 10 min mit Pr<sub>2</sub>NEt (9.13 ml, 52.4 mmol) und MsCl (4.06 ml, 52.3 mmol) versetzt und 1 h bei 0° gerührt. Es wurde LiCl (7.41 g, 175 mmol) zugegeben, auf RT aufgewärmt und für 1 h gerührt. Die Lösung wurde auf Eis und ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (4 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 1.5:1) ergab **80** (12.2 g, 86%). Gelber Feststoff.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.32.

Smp. 156.6–158.2°.

UV (MeOH): 301 (7860), 247 (13200), 206 (26020).

IR (ATR): 3170<sub>w</sub>, 3126<sub>w</sub>, 3093<sub>w</sub>, 3061<sub>w</sub>, 3033<sub>w</sub>, 2984<sub>w</sub>, 2971<sub>w</sub>, 2934<sub>w</sub>, 1745<sub>m</sub>, 1734<sub>m</sub>, 1668<sub>m</sub>, 1611<sub>m</sub>, 1566<sub>m</sub>, 1502<sub>m</sub>, 1453<sub>w</sub>, 1434<sub>w</sub>, 1413<sub>m</sub>, 1383<sub>m</sub>, 1367<sub>m</sub>, 1267<sub>w</sub>, 1235<sub>m</sub>, 1211<sub>s</sub>, 1200<sub>s</sub>, 1153<sub>s</sub>, 1080<sub>m</sub>, 1060<sub>m</sub>, 1032<sub>w</sub>, 990<sub>w</sub>, 945<sub>w</sub>, 930<sub>w</sub>, 916<sub>w</sub>, 907<sub>w</sub>, 866<sub>w</sub>, 830<sub>m</sub>, 816<sub>w</sub>, 783<sub>m</sub>, 769<sub>m</sub>, 747<sub>w</sub>, 731<sub>s</sub>, 694<sub>m</sub>, 626<sub>w</sub>, 618<sub>w</sub>.

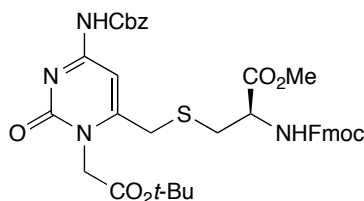
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.90 (br. *s*, NH-C(4)); 7.41–7.33 (*m*, 5 arom. H); 7.29 (*s*, H-C(5)); 5.20 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 4.82 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(6)); 4.59 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1)); 1.41 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 166.32 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 162.62 (*s*, C(4)); 155.56 (*s*, C(2), C(6)); 153.05 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 135.84 (*s*); 128.43 (*2d*); 128.13 (*d*); 127.93 (*2d*); 95.52 (*d*, C(5)); 81.67 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.62 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 46.79 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(1)); 41.24 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(6)); 27.61 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 446.0877 (11, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClKN<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 446.0885), 430.1139 (33, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 430.1146), 408.1319 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 408.1326), 396.1525 (22, [M - Cl + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 396.1535), 374.1704 (79, [M - Cl + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 374.1716), 352.0691 (55, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 352.0700), 340.0902 (4, [M - Cl - <sup>t</sup>Bu + 2 H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 340.0909), 318.1082 (25, [M - Cl - <sup>t</sup>Bu + 3 H]<sup>+</sup>, C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub><sup>+</sup>; ber. 318.1090).

Anal. ber. für C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (407.85): C 55.95, H 5.44, N 10.30; gef.: C 55.65, H 5.46, N 10.25.

S-{N<sup>4</sup>-(Benzyloxycarbonyl)-1-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]cytosin-6-methyl}-N-Fmoc-L-cystein-methylester (**81**).



Eine Lösung aus **80** (6.00 g, 14.7 mmol) und **83** (7.36 g, 20.6 mmol) in entgastem THF (74 ml) wurde tropfenweise mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (3.59 ml, 20.6 mmol) versetzt und 32 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (4 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 2:1) ergab **81** (10.53 g, 98%). Gelber Schaum.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.34.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -2.9 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeOH): 300 (14860), 255 (25900), 210 (54480).

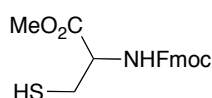
IR (ATR): 3254<sub>w</sub>, 3129<sub>w</sub>, 3091<sub>w</sub>, 3062<sub>w</sub>, 3032<sub>w</sub>, 3002<sub>w</sub>, 2978<sub>w</sub>, 2971<sub>w</sub>, 2952<sub>w</sub>, 1738<sub>s</sub>, 1668<sub>m</sub>, 1609<sub>m</sub>, 1563<sub>m</sub>, 1498<sub>m</sub>, 1450<sub>m</sub>, 1410<sub>m</sub>, 1385<sub>s</sub>, 1370<sub>m</sub>, 1207<sub>s</sub>, 1192<sub>s</sub>, 1150<sub>s</sub>, 1106<sub>w</sub>, 1070<sub>m</sub>, 1048<sub>m</sub>, 1031<sub>m</sub>, 985<sub>w</sub>, 948<sub>w</sub>, 911<sub>w</sub>, 858<sub>w</sub>, 829<sub>w</sub>, 786<sub>w</sub>, 758<sub>m</sub>, 738<sub>s</sub>, 696<sub>m</sub>, 620<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.80 (br. s, NH-C(4')); 7.90–7.21 (m, 13 arom. H, NH-C(2)); 7.14 (s, H-C(5')); 5.17 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.59 (s, CH<sub>2</sub>-N(1')); 4.32 (d, J ≈ 7.3, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 4.30–4.23 (m, H-C(2)); 4.25 (t, J = 6.2, H-C(9'')); 3.83 (s, CH<sub>2</sub>-C(6')); 3.60 (s, OMe); 2.92 (dd, J = 13.9, 4.7, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.77 (dd, J = 13.8, 9.7, H<sub>b</sub>-C(3)); 1.39 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO); Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 171.00 (s, CO<sub>2</sub>Me); 166.68 (s, CO<sub>2</sub>Bu); 162.15 (s, C(4')); 156.72 (s, C(6')); 155.93 (s, C(2'), NHCO<sub>2</sub>Fm); 152.90 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 143.71 (2s); 140.70 (2s); 135.91 (s); 128.41–120.08 (13d); 95.60 (d, C(5')); 81.54 (s, Me<sub>3</sub>C); 66.46 (t, PhCH<sub>2</sub>); 65.81 (t, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 53.29 (d, C(2)); 52.08 (q, MeO); 46.64 (d, C(9'')); 46.57 (t, CH<sub>2</sub>-N(1')); 32.62 (t, CH<sub>2</sub>-C(6')); 32.15 (t, C(3)); 27.60 (q, Me<sub>3</sub>C).

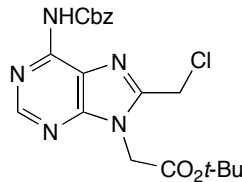
HR-MALDI-MS: 767.2148 (11, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>KN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 767.2153), 751.2392 (20, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 751.2414), 729.2590 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>38</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 729.2594), 711.1522 (2, [M - 'Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>KN<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 711.1527), 695.1774 (5, [M - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 695.1788), 673.1963 (22, [M - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>34</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S<sup>+</sup>; ber. 673.1968); 565.1388 (10, [M - BnOH - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 565.1393).

N-Fmoc-L-Cystein-methylester (**83**).



Eine Suspension von Fmoc-OSu (25 g, 74.1 mmol) und *L*-Cystein-methylester-hydrochlorid (14.0 g, 81.5 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 ml) wurde tropfenweise mit 2,6-Lutidine (17.3 ml, 148 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Die Suspension wurde mit ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung/H<sub>2</sub>O (3 x) und ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen. Trocknen (MgSO<sub>4</sub>), Filtration, Eindampfen und FC (AcOEt/Cyclohexan 1:3) ergab **83** (24.0 g, 91%). Weisses Pulver. Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Literatur [261].

tert-Butyl-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(chlormethyl)adenin-9-acetat (**84**).



Eine Lösung aus **23** (16.0 g, 38.7 mmol) in DMF (390 ml) wurde auf 0° abgekühlt, während 5 min mit <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (13.5 ml, 77.4 mmol) und MsCl (3.90 ml, 50.3 mmol) verersetzt und 30 min bei 0° gerührt. Es wurde LiCl (8.21 g, 194 mmol) zugegeben, auf RT aufgewärmt und 2 h gerührt. Die Lösung wurde auf Eis und ges. wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (5 x) gewaschen, getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 2:1) ergab **84** (14.2 g, 85%). Gelber Schaum.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.41.

UV (MeOH): 274 (23180), 212 (31680).

IR (ATR): 3247<sub>w</sub>, 3010<sub>w</sub>, 2981<sub>w</sub>, 1735<sub>s</sub>, 1714<sub>s</sub>, 1602<sub>m</sub>, 1581<sub>m</sub>, 1523<sub>s</sub>, 1462<sub>m</sub>, 1453<sub>m</sub>, 1416<sub>w</sub>, 1389<sub>m</sub>, 1367<sub>m</sub>, 1347<sub>w</sub>, 1304<sub>m</sub>, 1274<sub>m</sub>, 1253<sub>s</sub>, 1219<sub>s</sub>, 1165<sub>s</sub>, 1155<sub>s</sub>, 1101<sub>m</sub>, 1059<sub>m</sub>, 1029<sub>w</sub>, 1011<sub>w</sub>, 963<sub>w</sub>, 941<sub>w</sub>, 894<sub>m</sub>, 866<sub>m</sub>, 850<sub>w</sub>, 808<sub>w</sub>, 766<sub>m</sub>, 746<sub>m</sub>, 733<sub>m</sub>, 692<sub>m</sub>, 662<sub>m</sub>, 647<sub>m</sub>, 609<sub>w</sub>.

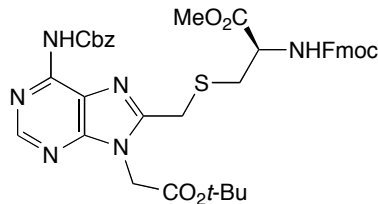
<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 9.42 (br. s, NH); 8.69 (s, H-C(2)); 7.28–7.22 (m, 5 arom. H); 5.19 (s, PhCH<sub>2</sub>); 4.96 (s, CH<sub>2</sub>-N(9)); 4.71 (s, CH<sub>2</sub>-C(8)); 1.40 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165.44 (s, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 152.97 (d, C(2)); 152.88 (s, C(4)); 151.15 (s, NHCO<sub>2</sub>Bn); 149.33 (s, C(8)); 149.23 (s, C(6)); 135.19 (s); 128.38 (3d), 128.27 (2d); 120.80 (s, C(5)); 83.79 (s, Me<sub>3</sub>C); 67.72 (t, PhCH<sub>2</sub>); 44.55 (t, CH<sub>2</sub>-N(9)); 36.88 (t, CH<sub>2</sub>-C(8)); 27.96 (q, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 470.0992 (3, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClKN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 470.0997), 454.1251 (18, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 454.1258), 432.1429 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 432.1439), 398.0626 (4, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>NaO<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 398.0632), 376.0803 (71, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 376.0813).

Anal. ber. für C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> (431.87): C 55.62, H 5.13, N 16.22; gef.: C 55.68, H 5.18, N 15.97.

*S*-{*N*<sup>6</sup>-(Benzyloxycarbonyl)-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]adenin-8-methyl}-*N*-Fmoc-*L*-cystein-methylester (**85**).



Eine Lösung aus **84** (7.00 g, 16.2 mmol) und **83** (6.95 g, 19.5 mmol) in entgastem THF (81 ml) wurde tropfenweise mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (3.39 ml, 19.5 mmol) versetzt und 20 h bei RT gerührt. Eindampfen und FC (AcOEt/Cyclohexan 2:1) ergab **85** (15.2 g, 94%). Weisser Schaum.

*R*<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19:1) 0.37.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -35.7 (*c* = 1.0, CH<sub>3</sub>OH).

UV (MeOH): 266 (33960), 211 (54400).

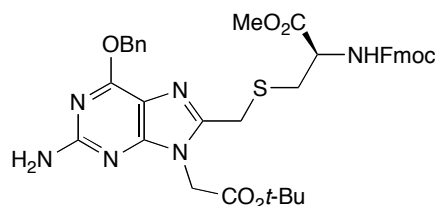
IR (ATR): 3317*w*, 3063*w*, 3033*w*, 2979*w*, 2951*w*, 1737*s*, 1720*s*, 1610*m*, 1590*m*, 1527*m*, 1500*w*, 1478*w*, 1449*m*, 1410*w*, 1390*w*, 1368*m*, 1320*m*, 1302*w*, 1240*s*, 1205*s*, 1150*s*, 1102*m*, 1081*w*, 1040*m*, 971*w*, 941*w*, 898*w*, 844*w*, 800*w*, 758*m*, 739*s*, 697*m*, 620*w*.

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.63 (*s*, NH-C(6'')); 8.60 (*s*, H-C(2'')); 7.90–7.27 (*m*, 13 arom. H, NH-C(2)); 5.20 (*s*, PhCH<sub>2</sub>); 5.06 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9'')); 4.38–4.30 (*m*, H-C(2)); 4.30 (*d*, *J* = 6.5, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 4.21 (*t*, *J* = 6.5, H-C(9'')); 4.15 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(8'')); 3.58 (*s*, MeO); 2.87 (*dd*, *J* = 14.0, 5.0, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.73 (*dd*, *J* = 13.7, 10.0, H<sub>b</sub>-C(3)); 1.38 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 170.88 (*s*, CO<sub>2</sub>Me); 166.03 (*s*, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu); 155.71 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 153.28 (*s*, C(4'')); 151.86 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn); 151.31 (*d*, C(2'')); 151.12 (*s*, C(8'')); 148.40 (*s*, C(6'')); 143.49 (2*s*); 140.51 (2*s*); 136.12 (*s*); 128.17–125.04 (11*d*); 122.10 (*s*, C(5)); 119.94 (2*d*); 82.08 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.15 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 65.72 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 52.91 (*d*, C(2)); 52.04 (*q*, OMe); 46.55 (*d*, C(9'')); 44.27 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'')); 32.09 (*t*, C(3)); 27.55 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 26.91 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'')).

HR-MALDI-MS: 791.2271 (10, [*M* + K]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>40</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 791.2265), 775.2533 (45, [*M* + Na]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>40</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 775.2526), 753.2713 (100, [*M* + H]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 753.2707), 719.1910 (3, [*M* - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 719.1900), 697.2071 (10, [*M* - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 697.2081), 667.1936 (5, [*M* - BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 667.1951), 645.2134 (11, [*M* - BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>32</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 645.2131); 589.1518 (4, [*M* - BnOH - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>S<sup>+</sup>; ber. 589.1505).

*S*-{*O*<sup>6</sup>-(Benzyl)-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-*N*-Fmoc-*L*-cystein-methylester (**86**).



Eine Lösung aus **34** (4.00 g, 9.9 mmol) und **83** (5.31 g, 14.9 mmol) in entgastem THF/DMF 1:1 (50 ml) wurde tropfenweise mit  ${}^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (2.59 ml, 14.9 mmol) versetzt und 32 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde auf  $\text{H}_2\text{O}$  gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden mit ges. wässr. NaCl-Lösung (3 x) gewaschen, getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  99:1) ergab **86** (6.60 g, 92%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.41.

Smp. 145.6–156.3°.

$[\alpha]_D^{25} = +24.1$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

UV (MeOH): 260 (27620), 211 (53520).

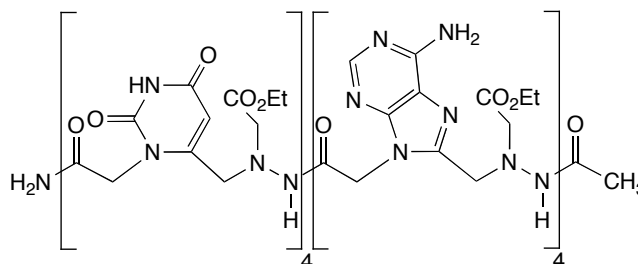
IR (ATR): 3491 $w$ , 3317 $w$ , 3189 $w$ , 2982 $w$ , 2941 $w$ , 2896 $w$ , 1741 $s$ , 1693 $m$ , 1634 $m$ , 1590 $s$ , 1518 $m$ , 1486 $w$ , 1469 $m$ , 1440 $m$ , 1415 $w$ , 1395 $w$ , 1376 $m$ , 1339 $m$ , 1325 $m$ , 1241 $s$ , 1208 $m$ , 1180 $m$ , 1157 $m$ , 1103 $m$ , 1088 $m$ , 1064 $m$ , 1011 $m$ , 985 $w$ , 952 $w$ , 937 $w$ , 896 $w$ , 863 $w$ , 838 $w$ , 825 $w$ , 790 $w$ , 774 $w$ , 754 $m$ , 734 $s$ , 713 $w$ , 692 $w$ , 644 $w$ , 622 $w$ .

${}^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.90–7.25 ( $m$ , 13 arom. H,  $\text{NH-C}(2)$ ); 6.50 ( $s$ ,  $\text{NH}_2$ ); 5.51, 5.47 ( $2d$ ,  $J = 12.5$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.79 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 4.31–4.20 ( $m$ ,  $\text{H-C}(2)$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ,  $\text{H-C}(9''')$ ); 3.93 ( $s$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 3.58 ( $s$ , MeO); 2.81 ( $dd$ ,  $J = 13.7$ , 5.2,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.68 ( $dd$ ,  $J = 13.8$ , 9.6,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.39 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

${}^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 171.18 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 166.56 ( $s$ ,  $\text{CO}_2\text{Bu}$ ); 159.65 ( $s$ ,  $\text{C}(2')$ ); 159.40 ( $s$ ,  $\text{C}(6')$ ); 155.94 ( $s$ ,  $\text{C}(4')$ ); 155.88 ( $s$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 146.12 ( $s$ ,  $\text{C}(8')$ ); 143.70 ( $2s$ ); 140.68 ( $2s$ ); 136.63 ( $s$ ); 128.33–120.06 ( $13d$ ); 112.31 ( $s$ ,  $\text{C}(5')$ ); 81.91 ( $s$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.88 ( $t$ ,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.76 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.01 ( $d$ ,  $\text{C}(2)$ ); 52.02 ( $q$ , MeO); 46.56 ( $d$ ,  $\text{C}(9''')$ ); 43.91 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 31.90 ( $t$ ,  $\text{C}(3)$ ); 27.59 ( $q$ ,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.12 ( $t$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ).

HR-MALDI-MS: 763.2318 (20,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{KN}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 763.2316), 747.2555 (42,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{NaO}_7\text{S}^+$ ; ber. 747.2577), 725.2762 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 725.2757), 707.1666 (5,  $[M - \text{tBu} + \text{H} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{KN}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 707.1690), 691.1938 (14,  $[M - \text{tBu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{NaO}_7\text{S}^+$ ; ber. 691.1951), 669.2106 (63,  $[M - \text{tBu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}^+$ ; ber. 669.2131).

8- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})\text{-2-acetylhydrazino}]\text{methyl}\}$ adenin-9-acetyl- $[(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-8-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino}]\text{methyl}\}$ adenin-9-acetyl] $_3\text{-}(9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-6-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino}]\text{methyl}\}$ uracil-1-acetyl- $[(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-6-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino}]\text{methyl}\}$ uracil-1-acetyl] $_2\text{-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-6-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino}]\text{methyl}\}$ uracil-1-acetamid (**91**).





a) *Festphasensynthese.*

1. *Quellen des Rink Amid MBHA Harzes.* Das Harz (69.4 mg, 0.05 mmol von reaktiven Gruppen, Beladung: 0.72 mmol/g) wurde für 1 h mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> behandelt (5 ml).
2. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Rink Amid MBHA Harz.* Das Harz wurde für 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt, mit DMSO (5 x 1 ml) gewaschen, für weitere 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt und nochmals mit DMSO gewaschen (10 x 2 ml).
3. *Kopplung des ersten Monomeren.* Das Harz wurde für 6 h mit einer Lösung aus **16** (65.3 mg, 0.13 mmol), HATU (46.6 mg, 0.12 mmol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44 µl, 0.25 mmol) in DMSO (0.3 ml) behandelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
4. *Acetylierung von Aminogruppen am Rink Amid MBHA Harz (Capping).* Das Harz wurde für 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt, mit NMP (10 x 2 ml) gewaschen, für weitere 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt und nochmals mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
5. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Das Harz wurde für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behadelt, mit DMSO (5 x 1 ml) gewaschen, drei weitere Male für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behadelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
6. *Kopplung des zweiten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben, aber 4 h.
7. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
8. *Kopplung des dritten Monomeren.* Wie unter 6. beschrieben.
9. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
10. *Kopplung des vierten Monomeren.* Wie unter 6. beschrieben.
11. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
12. *Kopplung des fünften Monomeren.* Das Harz wurde für 4 h mit einer Lösung von **18** (85.0 mg, 0.13 mmol), HATU (46.6 mg, 0.12 mmol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44 µl, 0.25 mmol) in DMSO (0.3 ml) behandelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
13. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
14. *Kopplung des sechsten Monomeren.* Wie unter 12. beschrieben.
15. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
16. *Kopplung des siebten Monomeren.* Wie unter 12. beschrieben.
17. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
18. *Kopplung des achten Monomeren.* Wie unter 12. beschrieben.
19. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
20. *N-Terminale Acetylierung des Oktameren.* Wie unter 4. beschrieben. Das Harz wurde mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und EtOH gewaschen und am Vakuum getrocknet.
21. *Abspalten des Oktameren vom Harz.* Eine Suspension des Harzes in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/<sup>t</sup>Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 (1.5 ml) wurde für 3 h bei RT gerührt. Das Harz wurde abfiltriert und mit CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (1 ml) gewaschen.

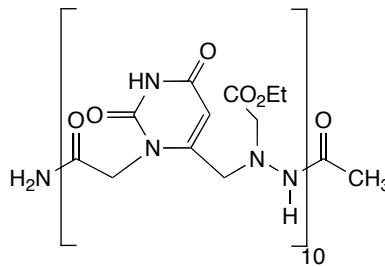
b) *Entfernen der Cbz-Schutzgruppe.*

Die Lösung des Cbz-geschützten Rohprodukts in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/<sup>t</sup>Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 (2 ml) wurde für 5 h bei 80° gerührt. Das Volumen an CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O versetzt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit Et<sub>2</sub>O gewaschen. Eine Lösung des Feststoffs in MeCN/H<sub>2</sub>O 1:1 (0.5 ml) wurde über einer Säule mit *Amberlite*

IRA-68 neutralisiert. Eindampfen und HPLC (*LiChrosphere 100 NH<sub>2</sub>*, 5  $\mu$ m, 250 x 25 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O 8:2  $\rightarrow$  1:1, Flussrate: 10 ml/min) ergab **91** (6.0 mg, 5%).

Weisses Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R$  = 24.2 min (1205 (100, [M + 2 H]<sup>2+</sup>), 804 (85, [M + 3 H]<sup>3+</sup>)).

6- $\{[1-(2-Ethoxy-2-oxoethyl)-2-acetylhydrazino]methyl\}uracil-1-acetyl-[(1^2 \rightarrow 6^3-N)-6-\{[1-(2-ethoxy-2-oxoethyl)hydrazino]methyl\}uracil-1-acetyl]_8-(1^2 \rightarrow 6^3-N)-6-\{[1-(2-ethoxy-2-oxoethyl)hydrazino]methyl\}uracil-9-acetamid$  (**92**).

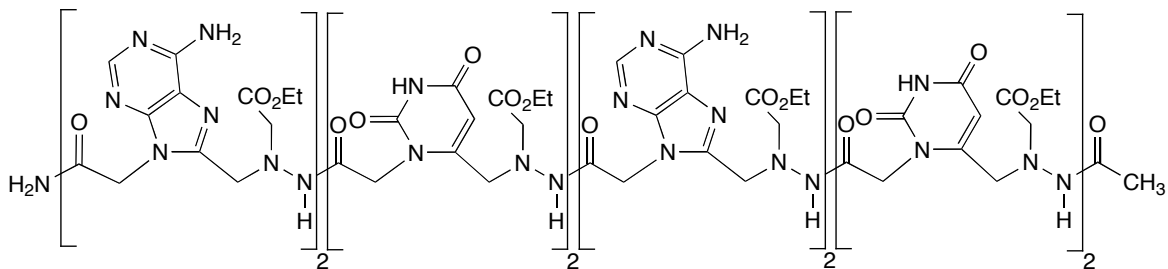


#### *Festphasensynthese.*

1. *Quellen des Rink Amid MBHA Harzes.* Das Harz (69.4 mg, 0.05 mmol von reaktiven Gruppen, Beladung: 0.72 mmol/g) wurde für 1 h mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> behandelt (5 ml).
2. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Rink Amid MBHA Harz.* Das Harz wurde für 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt, mit DMSO (5 x 1 ml) gewaschen, für weitere 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt und nochmals mit DMSO gewaschen (10 x 2 ml).
3. *Kopplung des ersten Monomeren.* Das Harz wurde für 8-10 h mit einer Lösung aus **16** (78.4 mg, 0.15 mmol), HATU (56.1 mg, 0.15 mmol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (53  $\mu$ l, 0.3 mmol) in DMSO (0.3 ml) behandelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
4. *Acetylierung von Aminogruppen am Rink Amid MBHA Harz (Capping).* Das Harz wurde für 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt, mit NMP (10 x 2 ml) gewaschen, für weitere 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt und nochmals mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
5. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Das Harz wurde für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behadelt, mit DMSO (5 x 1 ml) gewaschen, drei weitere Male für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behadelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.
6. *Kopplung des zweiten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben.
7. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
8. *Kopplung des dritten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben.
9. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
10. *Kopplung des vierten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben.
11. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
12. *Kopplung des fünften Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben.
13. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.
14. *Kopplung des sechsten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben.

15. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer. Wie unter 5. beschrieben.
16. Kopplung des siebten Monomeren. Wie unter 3. beschrieben.
17. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer. Wie unter 5. beschrieben.
18. Kopplung des achten Monomeren. Wie unter 3. beschrieben.
19. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer. Wie unter 5. beschrieben.
20. Kopplung des neunten Monomeren. Wie unter 3. beschrieben.
21. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer. Wie unter 5. beschrieben.
22. Kopplung des zehnten Monomeren. Wie unter 3. beschrieben.
23. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer. Wie unter 5. beschrieben.
24. N-Terminale Acetylierung des Oktameren. Wie unter 4. beschrieben. Das Harz wurde mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und EtOH gewaschen und am Vakuum getrocknet.
25. Abspalten des Oktameren vom Harz. Eine Suspension des Harzes in  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{Pr}_3\text{SiH}$  97:3 (1.5 ml) wurde für 3 h bei RT gerührt. Das Harz wurde abfiltriert und mit  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (1 ml) gewaschen. Das Volumen an  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit  $\text{Et}_2\text{O}$  versetzt. Der Feststoff wurde abfiltriert und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  gewaschen. Eine Lösung des Feststoffs in  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$  1:1 (0.5 ml) wurde über einer Säule mit *Amberlite IRA-68* neutralisiert. Eindampfen und HPLC (*LiChrosphere 100 RP-18*, 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 25 mm,  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$  2:8  $\rightarrow$  8:2, Flussrate: 10 ml/min) ergab **92** (2.9 mg, 2%).  
Weisses Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm,  $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}/\text{HCO}_2\text{H}$  10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R = 21.1$  min (1441 (100,  $[M + 2\text{H}]^{2+}$ )).

6- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})-2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil-1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})-6\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}uracil-1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})-8\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}adenin-9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})-8\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}adenin-9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})-6\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}uracil-1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})-6\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}uracil-1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})-8\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}adenin-9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})-8\text{-}\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}adenin-9\text{-acetamid}$  (**94**).



a) Festphasensynthese.

1. Quellen des Rink Amid MBHA Harzes. Das Harz (69.4 mg, 0.05 mmol von reaktiven Gruppen, Beladung: 0.72 mmol/g) wurde für 1 h mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  behandelt (5 ml).
2. Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Rink Amid MBHA Harz. Das Harz wurde für 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt, mit DMSO (5 x 1 ml)

gewaschen, für weitere 10 min mit einer Lösung von 20% Piperidin in DMSO (1 ml) behandelt und nochmals mit DMSO gewaschen (10 x 2 ml).

3. *Kopplung des ersten Monomeren.* Das Harz wurde für 6 h mit einer Lösung aus **18** (101.0 mg, 0.15 mmol), HATU (56.1 mg, 0.15 mmol) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (53 µl, 0.3 mmol) in DMSO (0.3 ml) behandelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.

4. *Acetylierung von Aminogruppen am Rink Amid MBHA Harz (Capping).* Das Harz wurde für 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt, mit NMP (10 x 2 ml) gewaschen, für weitere 15 min mit einer 0.5 M Lösung von Ac<sub>2</sub>O und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt in NMP (1.5 ml) behandelt und nochmals mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.

5. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Das Harz wurde für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behandelt, mit DMSO (5 x 1 ml) gewaschen, drei weitere Male für 2 min mit 4% DBU in DMSO (2 ml) behadelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.

6. *Kopplung des zweiten Monomeren.* Wie unter 3. beschrieben, aber mit **18** (85.0 mg, 0.13 mmol), HATU (46.6 mg, 0.12 mmol) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44 µl, 0.25 mmol), 4 h.

7. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

8. *Kopplung des dritten Monomeren.* Das Harz wurde für 4 h mit **16** (65.3 mg, 0.13 mmol), HATU (46.6 mg, 0.12 mmol) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44 µl, 0.25 mmol) in DMSO (0.3 ml) behandelt und mit DMSO (10 x 2 ml) gewaschen.

9. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

10. *Kopplung des vierten Monomeren.* Wie unter 8. beschrieben.

11. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

12. *Kopplung des fünften Monomeren.* Wie unter 6. beschrieben.

13. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

14. *Kopplung des sechsten Monomeren.* Wie unter 6. beschrieben.

15. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

16. *Kopplung des siebten Monomeren.* Wie unter 8. beschrieben.

17. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

18. *Kopplung des achten Monomeren.* Wie unter 8. beschrieben.

19. *Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe vom Oligomer.* Wie unter 5. beschrieben.

20. *N-Terminale Acetylierung des Oktameren.* Wie unter 4. beschrieben. Das Harz wurde mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und EtOH gewaschen und am Vakuum getrocknet.

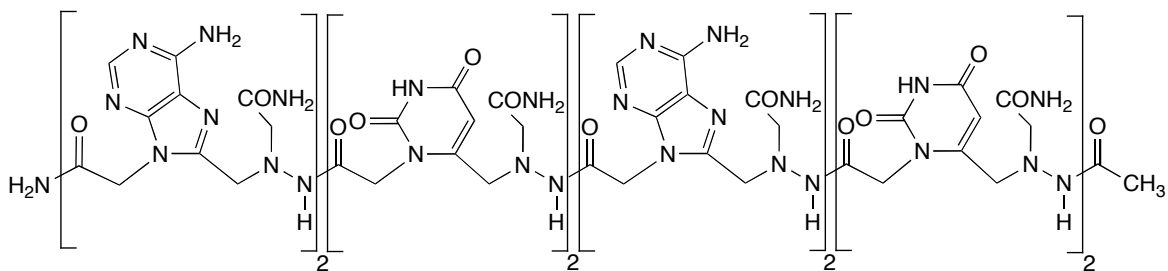
21. *Abspalten des Oktameren vom Harz.* Eine Suspension des Harzes in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/<sup>i</sup>Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 (1.5 ml) wurde für 3 h bei RT gerührt. Das Harz wurde abfiltriert und mit CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (1 ml) gewaschen. Das Volumen an CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O versetzt. Abfiltrieren des Niederschlags und Waschen mit Et<sub>2</sub>O ergab das Cbz-geschützte Rohprodukt (52 mg).

b) *Entfernen der Cbz-Schutzgruppe.*

Eine Lösung des Cbz-geschützten Rohprodukts (52 mg) in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/<sup>i</sup>Pr<sub>3</sub>SiH 97:3 (2 ml) wurde für 5 h bei 80° gerührt. Das Volumen an CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Et<sub>2</sub>O gewaschen. Eine Lösung des Feststoffs in MeCN/H<sub>2</sub>O 1:1 (0.5 ml) wurde über einer Säule mit Amberlite IRA-68 neutralisiert. Eindampfen und HPLC (LiChrosphere 100 NH<sub>2</sub>, 5 µm, 250 x 25 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O 8:2 → 1:1, Flussrate: 10 ml/min) ergaben **94** (5.5 mg, 5%).

Weisses Pulver. HPLC-MS (Waters Atlantis dC18-3, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1 → 95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, Finnigan LCQ Deca Ion Trap ESI-MS):  $t_R = 24.0$  min (1205 (100,  $[M + 2 H]^{2+}$ ), 804 (85,  $[M + 3 H]^{3+}$ )).

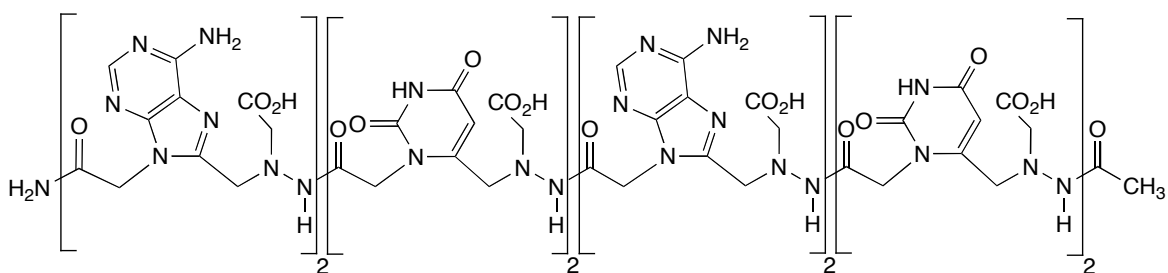
6- $\{[1-(2\text{-Amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-amino-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetamid}$  (**95**).



Eine Lösung von **94** (0.3 mg, 0.12  $\mu$ mol) in konz. wässr. NH<sub>3</sub> (100  $\mu$ l) wurde in einem Hochdruckgefäß 22 h bei r.t. gerührt. Eindampfen ergab **95**. Eine Ausbeute wurde aufgrund der kleinen Mengen und dem damit verbundenen Wägefehler nicht bestimmt.

Weisses Pulver. HPLC-MS (Waters Atlantis dC18-3, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1 → 95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, Finnigan LCQ Deca Ion Trap ESI-MS):  $t_R = 7.2$  min (1090 (100,  $[M + 2 H]^{2+}$ ), 728 (41,  $[M + 3 H]^{3+}$ )).

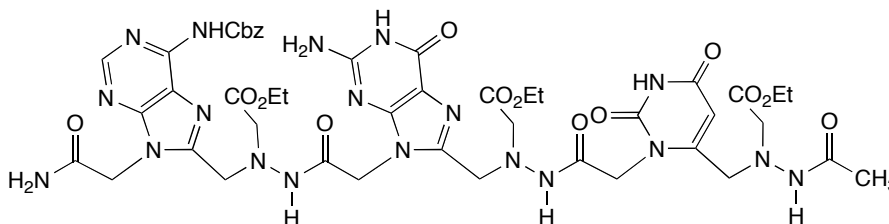
6- $\{[1-(2\text{-Hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 6^3\text{-N})\text{-}6\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}uracil\text{-}1\text{-acetyl-}(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetyl-}(9^2 \rightarrow 8^3\text{-N})\text{-}8\text{-}\{[1-(2\text{-hydroxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}adenin\text{-}9\text{-acetamid}$  (**96**).



Eine Lösung von **94** (0.5 mg, 0.21  $\mu\text{mol}$ ) in 1 M wässr. LiOH (100  $\mu\text{l}$ ) wurde 17 h bei r.t. gerührt. Neutralisation an *Amberlite IR-120* ( $\text{H}^+$ -Form), Filtration und Gefriertrocknen ergab **96**. Eine Ausbeute wurde aufgrund der kleinen Mengen und dem damit verbundenen Wäagefehler nicht bestimmt.

Weisses Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ / $\text{HCO}_2\text{H}$  5:95:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_{\text{R}} = 25.8$  min (1094 (100,  $[\text{M} + 2 \text{H}]^{2+}$ ), 730 (32,  $[\text{M} + 3 \text{H}]^{3+}$ )).

6- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})-2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}$ uracil-1-acetyl-( $1^2 \rightarrow 8^3\text{-N}$ )-8- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}$ guanin-9-acetyl-( $9^2 \rightarrow 8^3\text{-N}$ )-8- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}$ - $\text{N}^6$ -(benzyloxycarbonyl)adenin-9-acetamid (**97**).



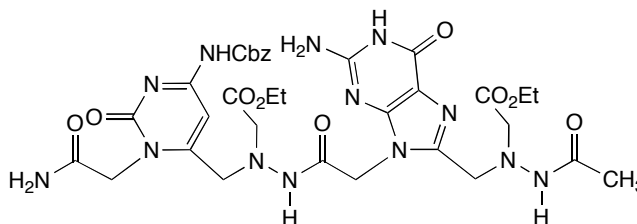
Die Festphasensynthese zu **97** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Kopplung von **18** (42.5 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ), **19** (35.1 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) und **16** (32.7 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) in Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu\text{mol}$ ) und  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (22  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) an einem *Rink* Amid MBHA- oder an einem *Sieber* Amid-Harz (34.7 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt.

*Abspalten des Trimeren vom Rink Amid MBHA Harz.* Eine Suspension des Harzes in  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{Pr}_3\text{SiH}$  97:3 (1.5 ml) wurde für 3 h bei RT gerührt. Das Harz wurde abfiltriert und mit  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (1 ml) gewaschen. Das Volumen an  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit  $\text{Et}_2\text{O}$  versetzt. Abfiltrieren des Feststoffs und Waschen mit  $\text{Et}_2\text{O}$  ergab rohes **97**.

*Abspalten des Trimeren vom Sieber Amid Harz.* Das Harz wurde für 4 x 15 min mit einer Lösung von  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  99:1 (2 ml) behandelt und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  99:1 (2 ml) und  $\text{EtOH}$  (2 ml) gewaschen. Die Lösung wurde bei RT eingedampft und der Rückstand mit  $\text{Et}_2\text{O}$  versetzt. Abfiltrieren des Feststoffs und Waschen mit  $\text{Et}_2\text{O}$  ergab rohes **97**.

Weisses Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/ $\text{H}_2\text{O}$ / $\text{HCO}_2\text{H}$  20:80:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_{\text{R}} = 22.9$  min (1102 (100,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ )).

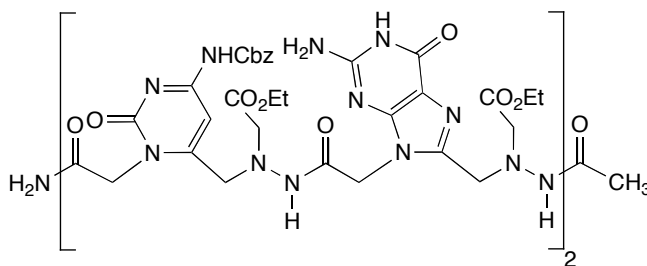
8- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino]methyl}\}$ guanin-9-acetyl-( $9^2 \rightarrow 6^3\text{-N}$ )-6- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino]methyl}\}$ -N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)cytosin-1-acetamid (**98**).



Die Festphasensynthese zu **98** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Kopplung von **17** (41.0 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) und **19** (35.1 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) in Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu\text{mol}$ ) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) an einem Sieber Amid-Harz (34.7 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Die Abspaltung von **98** vom Harz erfolgte wie für **97** beschrieben. Das erhaltene Rohprodukt wurde nicht aufgereinigt.

Weisses Pulver. HPLC-MS (Waters Atlantis dC18-3, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 20:80:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, Finnigan LCQ Deca Ion Trap ESI-MS):  $t_R = 11.8$  min (796 (100, [M + H]<sup>+</sup>)).

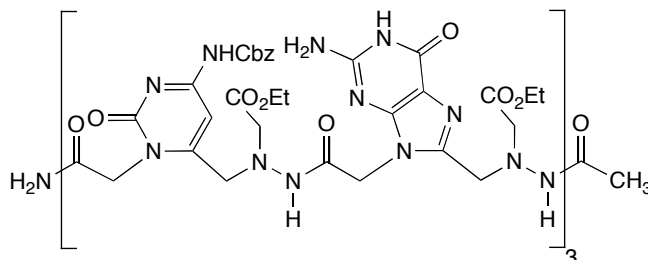
8- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})\text{-}2\text{-acetylhydrazino]methyl}\}$ guanin-9-acetyl-( $9^2 \rightarrow 6^3\text{-N}$ )-6- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino]methyl}\}$ -N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)cytosin-1-acetyl-( $1^2 \rightarrow 8^3\text{-N}$ )-8- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino]methyl}\}$ guanin-9-acetyl-( $9^2 \rightarrow 6^3\text{-N}$ )-6- $\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})\text{hydrazino]methyl}\}$ -N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)cytosin-1-acetamid (**99**).



Die Festphasensynthese zu **99** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Kopplung von 2 x **17** (41.0 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) und 2 x **19** (35.1 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) in Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu\text{mol}$ ) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) an einem Sieber Amid-Harz (34.7 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Die Abspaltung von **99** vom Harz erfolgte wie für **97** beschrieben. Das erhaltene Rohprodukt wurde nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (Waters Atlantis dC18-3, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 20:80:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, Finnigan LCQ Deca Ion Trap ESI-MS):  $t_R = 20.5$  min (1533 (100, [M + H]<sup>+</sup>)).

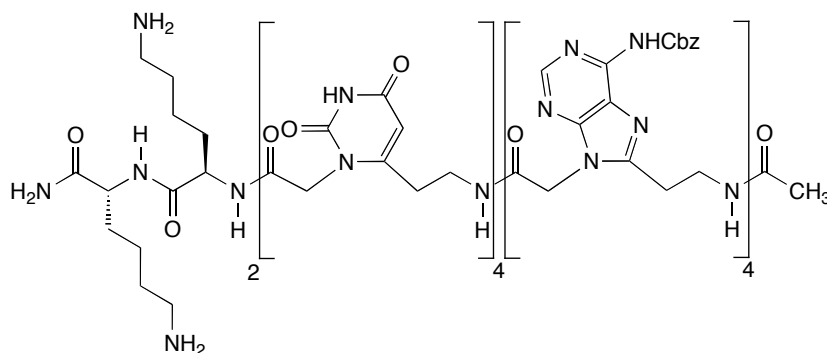
8- $\{[1-(2\text{-Ethoxy-2-oxoethyl})-2\text{-acetylhydrazino}]methyl\}guanin-9\text{-acetyl}-[(9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})-6-\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}-N^6\text{-(benzyloxycarbonyl)cytosin-1-acetyl}-(1^2 \rightarrow 8^3\text{-N})-8-\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}guanin-9\text{-acetyl}]_2-9^2 \rightarrow 6^3\text{-N})-6-\{[1-(2\text{-ethoxy-2-oxoethyl})hydrazino]methyl\}-N^6\text{-(benzyloxycarbonyl)cytosin-1-acetamid}$  (**100**).



Die Festphasensynthese zu **100** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Kopplung von 3 x **17** (41.0 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) und 3 x **19** (35.1 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) in Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu\text{mol}$ ) und  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (22  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) an einem *Sieber* Amid-Harz (34.7 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Die Abspaltung von **100** vom Harz erfolgte wie für **97** beschrieben. Das erhaltene Rohprodukt wurde nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 20:80:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R = 25.4$  min (1135 (100,  $[M + 2 H]^{2+}$ ).

$N^6\text{-(Benzyloxycarbonyl)-8-(2-acetamidoethyl)adenin-9-acetyl}-[(9^2 \rightarrow 8^2\text{-N})-N^6\text{-(benzyloxycarbonyl)-8-(2-aminoethyl)adenin-9-acetyl}]_3\text{-}(9^2 \rightarrow 6^2\text{-N})-6\text{-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl}-[(1^2 \rightarrow 6^2\text{-N})-6\text{-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl}]_3\text{-}1^2 \rightarrow \text{LysLys-NH}_2$  (**105**).



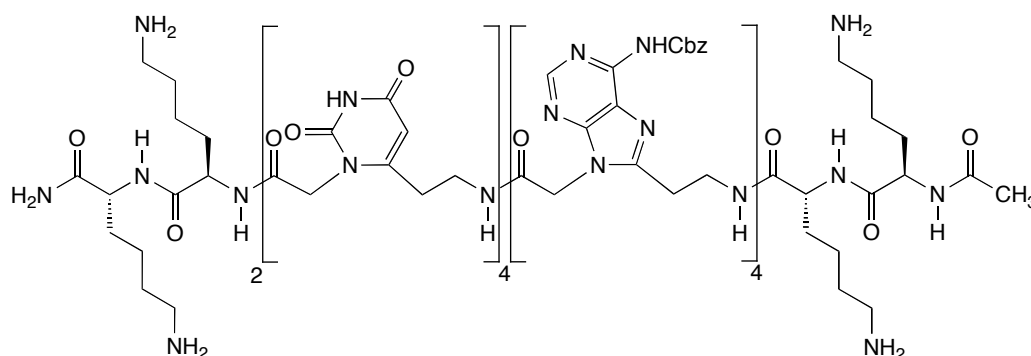
Die Festphasensynthese zu **105** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **37** (27.2 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) und 4 x **38** (37.0 mg, 62.5  $\mu\text{mol}$ ) in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu\text{mol}$ ) und  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (22  $\mu\text{l}$ , 125  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) für 8–10 h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Die Aminosäure **102** (58.6 mg, 125  $\mu\text{mol}$ ) wurde sequenziell 2 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu\text{mol}$ ) und  $i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (44  $\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{mol}$ ) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die



Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen ( $C \rightarrow N$ -Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R = 21.0$  min (1254 (100,  $[M + H]^+$ )).

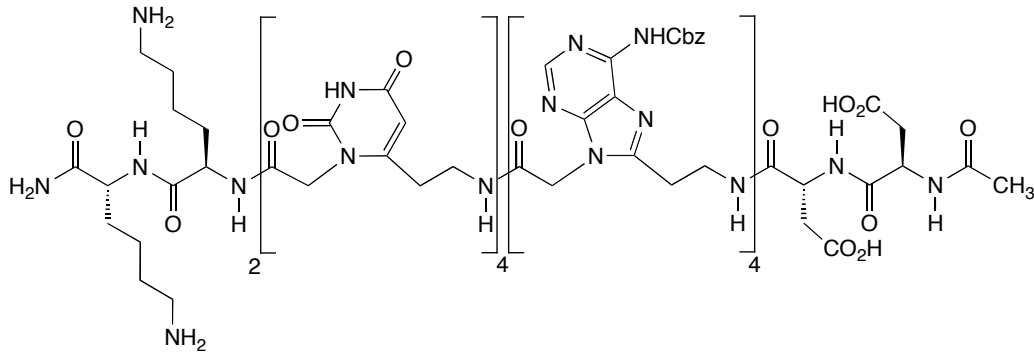
*N*-Acetyl-LysLys-( $\rightarrow 8^2$ -N)-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(2-aminoethyl)adenin-9-acetyl-[(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 8<sup>2</sup>-N)-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(2-aminoethyl)adenin-9-acetyl]<sub>3</sub>-(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl-[(1<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl]<sub>3</sub>-1<sup>2</sup> $\rightarrow$ LysLys-NH<sub>2</sub> (**106**).



Die Festphasensynthese zu **106** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **37** (27.2 mg, 62.5  $\mu$ mol) und 4 x **38** (37.0 mg, 62.5  $\mu$ mol) in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu$ mol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu$ l, 125  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) für 8–10 h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu$ mol) durchgeführt. Die Aminosäure **102** (58.6 mg, 125  $\mu$ mol) wurde sequenziell 4 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu$ mol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44  $\mu$ l, 250  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen ( $C \rightarrow N$ -Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R = 18.1$  min (922 (100,  $[M + 3 H]^3+$ )).

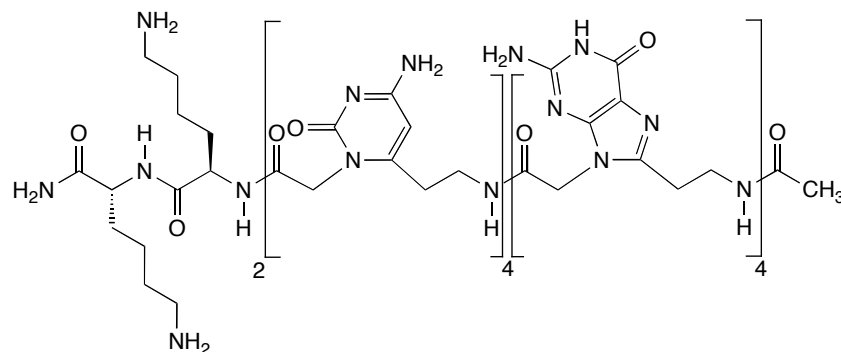
N-Acetyl-AspAsp-( $\rightarrow 8^2$ -N)-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(2-aminoethyl)adenin-9-acetyl-[( $9^2 \rightarrow 8^2$ -N)-N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-8-(2-aminoethyl)adenin-9-acetyl]<sub>3</sub>-( $9^2 \rightarrow 6^2$ -N)-6-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl-[( $1^2 \rightarrow 6^2$ -N)-6-(2-aminoethyl)uracil-1-acetyl]<sub>3</sub>-1<sup>2</sup> $\rightarrow$ LysLys-NH<sub>2</sub> (**107**).



Die Festphasensynthese zu **107** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **37** (27.2 mg, 62.5  $\mu$ mol) und 4 x **38** (37.0 mg, 62.5  $\mu$ mol) in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu$ mol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu$ l, 125  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) für 8–10 h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu$ mol) durchgeführt. Die Aminosäuren **102** (58.6 mg, 125  $\mu$ mol) und **103** (51.4 mg, 125  $\mu$ mol) wurden sequenziell jeweils 2 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu$ mol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44  $\mu$ l, 250  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R$  = 20.9 min (913 (100, [M + 3 H]<sup>3+</sup>)).

8-(2-Acetamidoethyl)guanin-9-acetyl-[( $9^2 \rightarrow 8^2$ -N)-8-(2-aminoethyl)guanin-9-acetyl]<sub>3</sub>-( $9^2 \rightarrow 6^2$ -N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl-[( $1^2 \rightarrow 6^2$ -N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl]<sub>3</sub>-1<sup>2</sup> $\rightarrow$ LysLys-NH<sub>2</sub> (**108**).

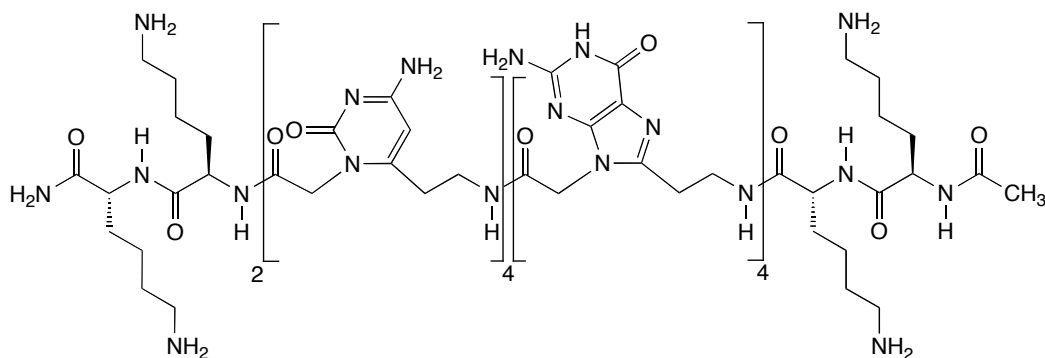


Die Festphasensynthese zu **108** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **39** (35.5 mg, 62.5  $\mu$ mol) und 4 x **40** (29.7 mg, 62.5  $\mu$ mol) in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu$ mol) und <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu$ l, 125  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) für 8–10

h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu$ mol) durchgeführt. Die Aminosäure **102** (58.6 mg, 125  $\mu$ mol) wurde sequenziell 2 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu$ mol) und  $i$ Pr<sub>2</sub>NEt (44  $\mu$ l, 250  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R$  = 19.5 min (1284 (100, [M + 2 H]<sup>2+</sup>)).

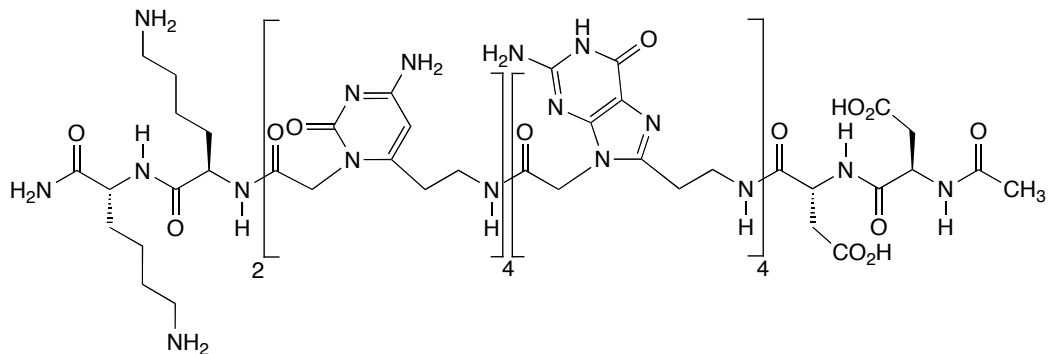
N-Acetyl-LysLys-( $\rightarrow$ 8<sup>2</sup>-N)-8-(2-aminoethyl)guanin-9-acetyl-[(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 8<sup>2</sup>-N)-8-(2-aminoethyl)guanin-9-acetyl]<sub>3</sub>-(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl-[(1<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl]<sub>3</sub>-1<sup>2</sup> $\rightarrow$ LysLys-NH<sub>2</sub> (**109**).



Die Festphasensynthese zu **109** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **39** (35.5 mg, 62.5  $\mu$ mol) und 4 x **40** in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu$ mol) und  $i$ Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu$ l, 125  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) für 8–10 h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu$ mol) durchgeführt. Die Aminosäure **102** (58.6 mg, 125  $\mu$ mol) wurde sequenziell 4 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu$ mol) und  $i$ Pr<sub>2</sub>NEt (44  $\mu$ l, 250  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R$  = 17.9 min (942 (100, [M + 3 H]<sup>3+</sup>)).

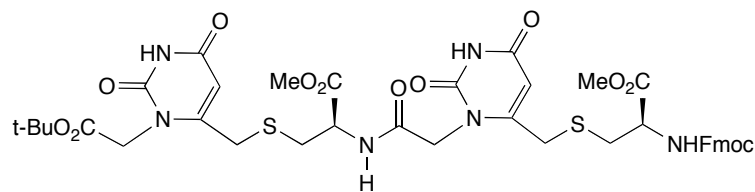
N-Acetyl-AspAsp-( $\rightarrow$ 8<sup>2</sup>-N)-8-(2-aminoethyl)guanin-9-acetyl-[(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 8<sup>2</sup>-N)-8-(2-aminoethyl)guanin-9-acetyl]<sub>3</sub>-(9<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl-[(1<sup>2</sup> $\rightarrow$ 6<sup>2</sup>-N)-6-(2-aminoethyl)cytosin-1-acetyl]<sub>3</sub>-1<sup>2</sup> $\rightarrow$ LysLys-NH<sub>2</sub> (**110**).



Die Festphasensynthese zu **110** wurde analog zu der von **94** über die sequenzielle Doppelkopplung von 4 x **39** (35.5 mg, 62.5  $\mu$ mol) und 4 x **40** (29.7 mg, 62.5  $\mu$ mol) in der Gegenwart von HATU (22.8 mg, 60.0  $\mu$ mol) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (22  $\mu$ l, 125  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) für 8–10 h bei 35° und 310 rpm an einem *Rink* Amid MBHA Harz (34.7 mg, 25  $\mu$ mol) durchgeführt. Die Aminosäuren **102** (58.6 mg, 125  $\mu$ mol) und **103** (51.4 mg, 125  $\mu$ mol) wurden sequenziell jeweils 2 x für 30 min mit HATU (46.6 mg, 122.5  $\mu$ mol) und <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (44  $\mu$ l, 250  $\mu$ mol) in DMSO (0.25 ml) doppelt gekoppelt. Die Reihenfolge der Kopplungen ist der Sequenz zu entnehmen (C  $\rightarrow$  N-Terminus). Das Rohprodukt wurde vom Harz gespalten und nicht aufgereinigt.

Gelbes Pulver. HPLC-MS (*Waters Atlantis dC18-3*, 100 x 3 mm, MeCN/H<sub>2</sub>O/HCO<sub>2</sub>H 10:90:0.1  $\rightarrow$  95:5:0.1, Flussrate: 0.2 ml/min, *Finnigan LCQ Deca Ion Trap* ESI-MS):  $t_R$  = 19.5 min (933 (100, [M + 3 H]<sup>3+</sup>)).

{S-[1-( $\omega$ -Carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester}-S-{1-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl}-L-cystein-methylester (**118**).



Eine Lösung aus **68** (1.12 g, 3.0 mmol) und **69** (1.78 g, 3.30 mmol) in DMF (20 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit <sup>i</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (768  $\mu$ l, 4.5 mmol) versetzt, gefolgt von tropfenweiser Zugabe von HBTU (1.25 g, 3.30 mmol) in DMF (10 ml) während 1 h. Die Lösung wurde für 2 h bei 0° gerührt, mit CHCl<sub>3</sub> verdünnt, auf ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und filtriert. Nach dem Trennen der Phasen wurde die wässr. Phase mit CHCl<sub>3</sub> (4 x) ausgeschüttelt. Die vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde mit dem Feststoff der Zwei-Phasen-Filtration vereinigt, in heissem CHCl<sub>3</sub>/MeOH gelöst und an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5) ergab **118** (2.56 g, 85%). Weisses Pulver.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.49.

Smp. 139.1–144.2°.

$[\alpha]_D^{25} = -39.4$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 299 (6400), 265 (40300), 207 (65000).

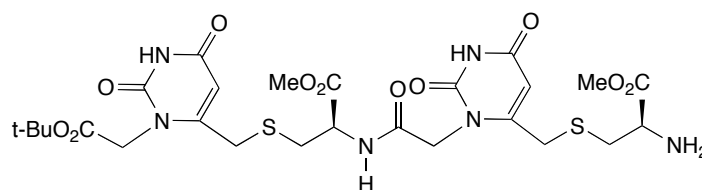
IR (ATR): 3331w, 3202w, 3168w, 3038w, 3003w, 2986w, 2952w, 2877w, 2817w, 1724m, 1681s, 1523m, 1468w, 1449m, 1386m, 1368m, 1353m, 1321w, 1247m, 1214m, 1155m, 1108w, 1088w, 1060w, 1023w, 998w, 979w, 919w, 894w, 837m, 780w, 762m, 737m, 642w, 621w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.43 (*d*,  $J = 1.9$ , H–N(3'/I)); 11.39 (*d*,  $J = 1.8$ , H–N(3'/II)); 8.82 (*d*,  $J = 7.8$ , NH–C(2/I)); 7.93–7.25 (*m*, 8 arom. H, NH–C(2/II)); 5.71 (*d*,  $J = 1.9$ , H–C(5'/II)); 5.68 (*d*,  $J = 2.0$ , H–C(5'/I)); 4.62 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1'/II)); 4.50 (*td*,  $J \approx 8.2$ , 5.5, H–C(2/I)); 4.47 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1'/I)); 4.33 (*d*,  $J = 7.4$ , CH<sub>2</sub>–C(9'')); 4.30–4.22 (*m*, H–C(9''), H–C(2/II)); 3.68, 3.64 (*2d*,  $J = 14.9$ , CH<sub>2</sub>–C(6'/I)); 3.64 (*s*, MeO/II); 3.63 (*s*, MeO/I); 3.57 (*d*,  $J = 15.1$ , CH<sub>a</sub>–C(6'/II)); 3.51 (*d*,  $J = 14.8$ , CH<sub>b</sub>–C(6'/II)); 2.96 (*dd*,  $J = 13.7$ , 5.0, H<sub>a</sub>–C(3/II)); 2.90 (*dd*,  $J = 14.1$ , 5.4, H<sub>a</sub>–C(3/I)); 2.80 (*dd*,  $J = 13.6$ , 9.6, H<sub>b</sub>–C(3/II)); 2.75 (*dd*,  $J = 13.8$ , 8.6, H<sub>b</sub>–C(3/I)); 1.40 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.05 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/II); 170.53 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/I); 167.24 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>); 166.95 (*s*, CO<sub>2</sub>'Bu); 162.20 (*s*, C(4'/II)); 162.11 (*s*, C(4'/I)); 155.91 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 151.79 (*s*, C(6'/II)); 151.69 (*s*, C(2'/I), C(2'/II)); 151.33 (*s*, C(6'/I)); 143.75, 143.69 (*2s*); 140.71 (*2s*); 127.62–120.09 (*8d*); 102.81 (*d*, C(5'/I)); 102.58 (*d*, C(5'/II)); 81.65 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 65.78 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 53.51 (*d*, C(2/II)); 52.24, 52.19 (*2q*, MeO/I, MeO/II); 51.81 (*d*, C(2/I)); 46.59 (*d*, C(9'')); 45.38 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1'/I)); 44.57 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1'/II)); 32.00 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(6'/I), CH<sub>2</sub>–C(6'/II)); 31.69 (*t*, C(3/II)); 31.51 (*t*, C(3/I)); 27.60 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 933.2220 (15,  $[M + K]^+$ , C<sub>41</sub>H<sub>46</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 933.2201), 917.2475 (100,  $[M + Na]^+$ , C<sub>41</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>13</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 917.2462), 895.2659 (15,  $[M + H]^+$ , C<sub>41</sub>H<sub>47</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 895.2643), 861.1845 (26,  $[M - 'Bu + H + Na]^+$ , C<sub>37</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>13</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 861.1836), 839.2016 (30,  $[M - 'Bu + 2 H]^+$ , C<sub>37</sub>H<sub>39</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 839.2017).

{*S*-[1-(*ω*-Carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester}-*S*-{1-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl}-L-cystein-methylester (**119**).



Eine Lösung aus **118** (1.79 g, 2.0 mmol) in DMF (13 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit Piperidin versetzt (1.98 ml, 20.0 mmol) und für 1 h bei 0° gerührt. Eindampfen, Adsorption des Rohprodukts an Kieselgel und FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 97:3 → 17:3) ergab **119** (1.15 g, 85%). Weisser Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.19.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -15.6$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 268 (25400).

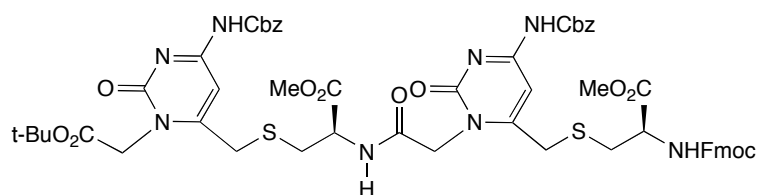
IR (ATR): 3286w, 3213w, 3086w, 3050w, 3005w, 2983w, 2956w, 2870w, 2803w, 1732m, 1675s, 1615m, 1535w, 1453m, 1438m, 1416m, 1388m, 1270m, 1308w, 1234m, 1202m, 1152s, 1061w, 992w, 949w, 925w, 839m, 767m, 744w, 716w, 670w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.35 (br. s, H-N(3'/I), H-N(3'/II)); 8.82 (*d*,  $J = 7.8$ , NH-C(2/I)); 5.69 (*s*, H-C(5'/II)); 5.67 (*s*, H-C(5'/I)); 4.62 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 4.50 (*td*,  $J = 8.3, 5.2$ , H-C(2/I)); 4.46 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 3.68, 3.64 (*2d*,  $J = 14.8$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ); 3.65 (*s*, MeO/I); 3.62 (*s*, MeO/II); 3.57 (*t*,  $J = 6.4$ , H-C(2/II)); 3.52 (*d*,  $J = 14.9$ ,  $\text{CH}_a\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 3.51 (*d*,  $J = 14.9$ ,  $\text{CH}_b\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 2.91 (*dd*,  $J = 13.9, 5.3$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{I})$ ); 2.77 (*dd*,  $J \approx 13.3, 10.3$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{I})$ ); 2.77 (*dd*,  $J \approx 13.3, 6.0$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.69 (*dd*,  $J = 13.4, 6.8$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{II})$ ); 1.40 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 174.22 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 170.53 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ); 167.20 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2$ ); 166.96 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.22 (*s*, C(4'/II)), 162.11 (*s*, C(4'/I)), 152.19 (*s*, C(6'/II)); 151.78, 151.69 (*2s*, C(2'/I), C(2'/II)); 151.34 (*s*, C(6'/I)); 102.80 (*d*, C(5'/I)); 102.40 (*d*, C(5'/II)); 81.67 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 54.35 (*d*, C(2/II)); 52.25 (*q*,  $\text{CO}_2\text{CH}_3/\text{I}$ ); 51.79 (*d*, C(2/I)); 51.66 (*q*,  $\text{CO}_2\text{CH}_3/\text{II}$ ); 45.39 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 44.55 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 35.18 (*t*, C(3/II)); 32.24 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 32.00 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ); 31.54 (*t*, C(3/I)); 27.62 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 695.1771 (94,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{NaO}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 695.1781), 673.1954 (99,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 673.1962), 639.1170 (41,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{NaO}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 639.1155), 617.1331 (100,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 617.1336).

{S-[ $\text{N}^4$ -(Benzyloxycarbonyl)-1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester}-S-{ $\text{N}^4$ -(benzyloxycarbonyl)-1-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]cytosin-6-methyl}-L-cystein-methylester (**120**).



Eine Lösung aus **70** (1.29 g, 2.55 mmol) und **71** (1.89 g, 2.8 mmol) in DMF (17 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (652  $\mu\text{l}$ , 3.82 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von of HBTU (1.07 g, 2.80 mmol) in DMF (8 ml) während 1 h. Die Lösung wurde 2 h bei 0° gerührt, mit  $\text{CHCl}_3$  verdünnt, auf ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gegossen und mit  $\text{CHCl}_3$  (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert. FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  97:3) ergab **120** (2.65 g, 90%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.32.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -41.85$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 300 (23600), 248 (37800), 209 (88500).

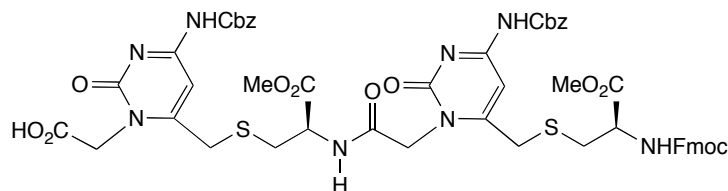
IR (ATR): 3263w, 3128w, 3090w, 3062w, 3034w, 3004w, 2978w, 2971w, 2952w, 1737m, 1662m, 1608m, 1561s, 1496s, 1451m, 1412m, 1384s, 1372m, 1316w, 1191s, 1151s, 1069m, 1047m, 979w, 911w, 840w, 785w, 759m, 739m, 696m, 620w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.79 (br. s, NH-C(4'/I), NH-C(4'/II)); 8.85 (d,  $J = 7.8$ , NH-C(2/I)); 7.85–7.24 (m, 18 arom. H, NH-C(2/II)); 7.18 (s, H-C(5'/II)); 7.14 (s, H-C(5'/I)); 5.19, 5.16 (2s,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 4.82 (d,  $J = 17.0$ ,  $\text{CH}_a\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 4.76 (d,  $J = 17.3$ ,  $\text{CH}_b\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 4.60 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 4.53 (td,  $J \approx 8.3, 5.5$ , H-C(2/I)); 4.34–4.27 (m,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ , H-C(2/II)); 4.23 (t,  $J = 6.8$ , H-C(9'')); 3.83 (s,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ); 3.75, 3.70 (2d,  $J = 15.2$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 3.60 (s, MeO/I); 3.59 (s, MeO/II); 2.96 (dd,  $J = 14.0, 4.7$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.92 (dd,  $J = 13.9, 4.9$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{I})$ ); 2.82 (dd,  $J = 14.3, 9.8$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.78 (dd,  $J = 14.2, 9.6$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{I})$ ); 1.39 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 170.98 (s,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 170.45 (s,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ); 167.98 (s,  $\text{NHCOCH}_2$ ); 166.67 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 162.16, 162.02 (2s, C(4'/I), C(4'/II)); 157.16 (s, C(6'/II)); 156.62 (s, C(6'/I)); 155.99 (s, C(2'/I), C(2'/II)); 155.90 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 153.03 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{I}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{II}$ ); 143.72, 143.68 (2s); 140.70 (2s); 135.92 (2s); 128.09–120.07 (18d); 95.58, 95.40 (2d, C(5'/I), C(5'/II)); 81.55 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.51, 66.42 (2t,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 65.80 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.47 (d, C(2/II)); 52.14, 52.09 (2q, MeO/I, MeO/II); 51.76 (d, C(2/I)); 46.65 ( $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 46.57 (d, C(9'')); 45.80 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 32.67 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 32.23 (t, C(3/I), C(3/II)); 27.61 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

HR-MALDI-MS: 1199.3291 (12,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{57}\text{H}_{60}\text{KN}_8\text{O}_{15}\text{S}_2^+$ ; ber. 1199.3257), 1183.3514 (100,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{57}\text{H}_{60}\text{N}_8\text{NaO}_{15}\text{S}_2^+$ ; ber. 1183.3517), 1161.3667 (78,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{57}\text{H}_{61}\text{N}_8\text{O}_{15}\text{S}_2^+$ ; ber. 1161.3698), 1091.2684 (14,  $[M - \text{BnOH} + K]^+$ ,  $\text{C}_{50}\text{H}_{52}\text{KN}_8\text{O}_{14}\text{S}_2^+$ ; ber. 1091.2681), 1075.2912 (75,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{50}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{NaO}_{14}\text{S}_2^+$ ; ber. 1075.2942), 1053.3125 (52,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{50}\text{H}_{53}\text{N}_8\text{O}_{14}\text{S}_2^+$ ; ber. 1053.3123), 1019.2286 (12,  $[M - \text{BnOH} - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{46}\text{H}_{44}\text{N}_8\text{NaO}_{14}\text{S}_2^+$ ; ber. 1019.2316), 945.2545 (13,  $[M - 2 \text{ BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{43}\text{H}_{45}\text{N}_8\text{O}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 945.2547), 911.1720 (8,  $[M - 2 \text{ BnOH} - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{39}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{NaO}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 911.1741), 889.1879 (17,  $[M - 2 \text{ BnOH} - ^t\text{Bu} + 2 \text{ H}]^+$ ,  $\text{C}_{39}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{O}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 889.1921).

$\{S\text{-}[N^4\text{-}(\text{Benzyloxycarbonyl})\text{-}1\text{-}(\omega\text{-carbonylmethyl})\text{cytosin-}6\text{-methyl}]\text{-N-Fmoc-L-cystein-methylester}\}\text{-}S\text{-}[N^4\text{-}(\text{Benzyloxycarbonyl})\text{-}1\text{-}(\text{carboxymethyl})\text{cytosin-}6\text{-methyl}]\text{-L-cystein-methylester}$  (**121**).



Eine Lösung aus **120** (2.14 g, 1.84 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (18 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (2.94 ml, 18.4 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (5.68 ml, 36.9 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit  $^i\text{Pr}_2\text{O}$  (150 ml) versetzt. Der

Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  ${}^i\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **121** (2.02 g, 99%). Gelbes Pulver.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  4:1) 0.41.

Smp. 135.1–137.4°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -32.9$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 301 (18400).

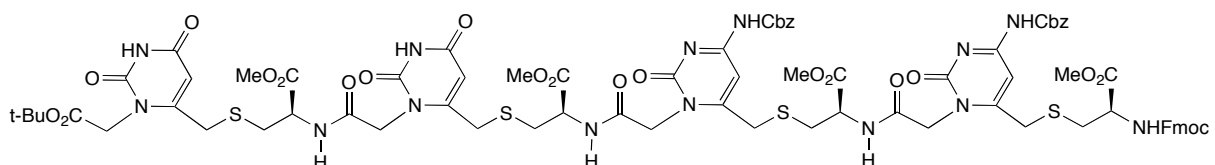
IR (ATR): 3473w, 3397w, 3316w, 3214w, 3125w, 3065w, 3033w, 2953w, 2722w, 2601w, 2518w, 1738m, 1714m, 1689m, 1651m, 1622m, 1608m, 1566m, 1535m, 1497m, 1447w, 1415m, 1389m, 1371m, 1341w, 1325w, 1191s, 1137m, 1083m, 1049m, 1028m, 973m, 953w, 927w, 907w, 885w, 828w, 788w, 757w, 736m, 695m, 675w, 647w, 621w.

${}^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.80 (br. *s*, NH–C(4'/I), NH–C(4'/II)); 8.86 (*d*,  $J = 7.3$ , NH–C(2/I)); 7.90–7.24 (*m*, 18 arom. H, NH–C(2/II)); 7.17 (*s*, H–C(5'/II)); 7.14 (*s*, H–C(5'/I)); 5.19, 5.16 (2*s*,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 4.84–4.73 (*m*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 4.64 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 4.53 (br. *dt*, H–C(2/I)); 4.31 (*d*,  $J = 6.3$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.31–4.23 (*m*, H–C(2/II)); 4.23 (*t*,  $J = 5.8$ , H–C(9'')); 3.85 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ); 3.78 (br. 2*d*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 3.60 (*s*, MeO/I); 3.59 (*s*, MeO/II); 2.98–2.92 (*m*,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{I})$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.85–2.76 (*m*,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{I})$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{II})$ ).

${}^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.00 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 170.47 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ); 169.11 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 166.99 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2$ ); 162.16, 162.03 (2*s*, C(4'/I), C(4'/II)); 157.22 (*s*, C(6'/II)); 156.86 (*s*, C(6'/I)); 156.01 (*s*, C(2'/I), C(2'/II)); 155.94 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 153.07, 153.04 (2*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{I}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{II}$ ); 143.75, 143.71 (2*s*); 140.72 (2*s*); 135.95 (2*s*); 128.11–120.08 (18*d*); 95.46, 95.43 (2*d*, C(5'/I), C(5'/II)); 66.52, 66.44 (2*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 65.79 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.50 (*d*, C(2/II)); 52.16, 52.11 (2*q*, MeO/I, MeO/II); 51.89 (*d*, C(2/I)); 46.59 (*d*, C(9'')); 46.05 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 45.87 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 32.71 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 32.27 (*t*, C(3/I), C(3/II)).

HR-MALDI-MS: 1127.2903 (18,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{53}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{NaO}_{15}\text{S}_2^+$ ; ber. 1127.2891), 1105.3068 (37,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{53}\text{H}_{53}\text{N}_8\text{O}_{15}\text{S}_2^+$ ; ber. 1105.3072), 997.2476 (21,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{46}\text{H}_{45}\text{N}_8\text{O}_{14}\text{S}_2^+$ ; ber. 997.2497).

{S-[ $\text{N}^4$ -(Benzylloxycarbonyl)-1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester}-{S-[ $\text{N}^4$ -(benzylloxycarbonyl)-1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[1-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester (**122**).



Eine Lösung aus **119** (900 mg, 1.34 mmol) und **121** (1.77 g, 1.61 mmol) in DMF (12 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit  ${}^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (343  $\mu\text{l}$ , 2.01 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (609 mg, 1.61 mmol) in DMF (1.0 ml) während 1 h. Die Lösung



wurde für 16 h bei 0° gerührt, mit CHCl<sub>3</sub> verdünnt, auf ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und mit CHCl<sub>3</sub> (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 97:3 → 94:6) ergab **122** (1.70 g, 72%). Gelber Schaum.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.42.

Smp. 159.3–164.1°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -38.2$  (*c* = 1.0, DMSO).

UV (MeOH): 301 (26000), 258 (50600).

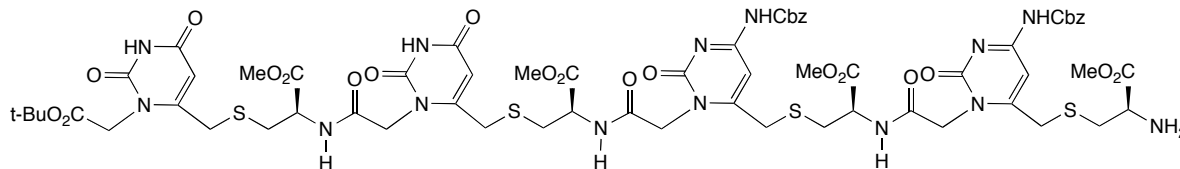
IR (ATR): 3298*w*, 3218*w*, 3133*w*, 3095*w*, 3062*w*, 3035*w*, 2953*w*, 2798*w*, 1732*m*, 1675*s*, 1609*s*, 1561*m*, 1533*m*, 1499*m*, 1450*m*, 1439*m*, 1415*m*, 1386*s*, 1339*m*, 1309*m*, 1211*s*, 1195*s*, 1157*s*, 1069*w*, 1047*m*, 1029*w*, 977*w*, 921*w*, 827*w*, 783*w*, 762*m*, 739*m*, 696*w*, 620*w*.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.44 (*s*, H–N(3'/I)); 11.39 (*s*, H–N(3'/II)); 10.78 (br. *s*, NH–C(4'/III), NH–C(4'/IV)); 8.87, 8.85 (*2d*, *J* = 8.0, NH–C(2/II), NH–C(2/III)); 8.82 (*d*, *J* = 7.8, NH–C(2/I)); 7.85–7.24 (*m*, 18 arom. H, NH–C(2/IV)); 7.17, 7.16 (*2s*, H–C(5'/III), H–C(5'/IV)); 5.69 (*d*, *J* = 1.2, H–C(5'/II)); 5.67 (*s*, H–C(5'/I)); 5.19, 5.15 (*2s*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 4.77, 4.75 (*2s*, CH<sub>2</sub>–N(1'/III), CH<sub>2</sub>–N(1'/IV)); 4.65 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1'/II)); 4.56–4.47 (*m*, H–C(2/I), H–C(2/II), H–C(2/III)); 4.46 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(1'/I)); 4.35–4.18 (*m*, H–C(2/IV), H–C(9''), CH<sub>2</sub>–C(9'')); 3.78–3.67 (*m*, CH<sub>2</sub>–C(6'/III), CH<sub>2</sub>–C(6'/IV)); 3.68 (*d*, *J* = 15.0, CH<sub>a</sub>–C(6'/I)); 3.64 (*d*, *J* = 15.0, CH<sub>b</sub>–C(6'/I)); 3.63 (6 H), 3.59 (3*s*, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 3.58 (*s*, MeO/IV); 3.54 (*d*, *J* = 15.0, CH<sub>a</sub>–C(6'/II)); 3.51 (*d*, *J* = 15.0, CH<sub>b</sub>–C(6'/II)); 2.98–2.71 (*m*, 2 H–C(3/I), 2 H–C(3/II), 2 H–C(3/III), 2 H–C(3/IV)); 1.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.03 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/IV); 170.57, 170.55, 170.47 (3*s*, CO<sub>2</sub>Me/I, CO<sub>2</sub>Me/II, CO<sub>2</sub>Me/III); 167.24 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/II); 167.01, 166.98, 166.99 (3*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/III, NHCOCH<sub>2</sub>/IV, CO<sub>2</sub>Bu); 162.24, 162.16 (*s*, C(4'/I), C(4'/II)); 162.07 (2*s*, C(4'/III), C(4'/IV)); 157.24, 156.21 (2*s*, C(6'/III), C(6'/IV)); 156.10, 156.07 (2*s*, C(2'/III), C(2'/IV)); 155.92 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 152.99 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn/III, NHCO<sub>2</sub>Bn/IV); 151.79, 151.75, 151.71 (3*s*, C(2'/I), C(2'/II), C(6'/II)); 151.36 (*s*, C(6'/I)); 143.75, 143.71 (2*s*); 140.72 (2*s*); 135.97, 135.94 (2*s*); 128.46–120.12 (18*d*); 102.84 (*d*, C(5'/I)); 102.62 (*d*, C(5'/II)); 95.43, 95.34 (2*d*, C(5'/III), C(5'/IV)); 81.67 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.52, 66.46 (2*t*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 65.80 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(9'')); 53.49 (*d*, C(2/IV)); 52.29, 52.27, 52.20, 52.14 (4*q*, MeO/I, MeO/II, MeO/III, MeO/IV); 52.07 (*d*, C(2/II)); 51.96 (*d*, C(2/III)); 51.82 (*d*, C(2/I)); 46.59 (*d*, C(9'')); 46.00, 45.85 (2*t*, CH<sub>2</sub>–N(1'/III), CH<sub>2</sub>–N(1'/IV)); 45.42 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1'/I)); 44.62 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(1'/II)); 32.77, 32.68 (2*t*, CH<sub>2</sub>–C(6'/III), CH<sub>2</sub>–C(6'/IV)); 32.29, 32.23 (2*t*, C(3/III), C(3/IV)); 32.08 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(6'/II)); 31.98 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(6'/I)); 31.59 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(3/II)); 31.45 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(3/I)); 27.63 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 1797.4273 (13, [*M* + K]<sup>+</sup>, C<sub>79</sub>H<sub>86</sub>KN<sub>14</sub>O<sub>25</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1797.4408), 1781.4661 (100, [*M* + Na]<sup>+</sup>, C<sub>79</sub>H<sub>86</sub>N<sub>14</sub>NaO<sub>25</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1781.4669), 1759.4718 (64, [*M* + H]<sup>+</sup>, C<sub>79</sub>H<sub>87</sub>N<sub>14</sub>O<sub>25</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1759.4850), 1689.3733 (4, [*M* – BnOH + K]<sup>+</sup>, C<sub>72</sub>H<sub>78</sub>KN<sub>14</sub>O<sub>24</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1689.3833), 1673.3974 (55, [*M* – BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>72</sub>H<sub>78</sub>N<sub>14</sub>NaO<sub>24</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1673.4094), 1651.4203 (41, [*M* – BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>72</sub>H<sub>79</sub>N<sub>14</sub>O<sub>24</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1651.4274).

{S-[N<sup>4</sup>-(Benzyloxycarbonyl)-1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-  
 {S-[N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-  
 {S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester}-S-{1-[(tert-butoxy)  
 carbonylmethyl]uracil-6-methyl}-L-cystein-methylester (**123**).



Eine Lösung aus **122** (1.64 g, 932  $\mu$ mol) in DMF (6.0 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit Piperidin versetzt (920  $\mu$ l, 9.32 mmol) und 1 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2  $\rightarrow$  90:10) ergab **123** (1.15 g, 80%). Gelber Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 17:3) 0.59.

$[\alpha]_D^{25} = -27.2$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (CHCl<sub>3</sub>): 303 (13900).

IR (ATR): 3277w, 3223w, 2954w, 2852w, 2800w, 2737s, 1670s, 1608s, 1563s, 1497m, 1454m, 1436m, 1415m, 1385s, 1339w, 1310w, 1193s, 1155s, 1068w, 1047w, 1029w, 978w, 951w, 922w, 838w, 828m, 784w, 765m, 742m, 697m.

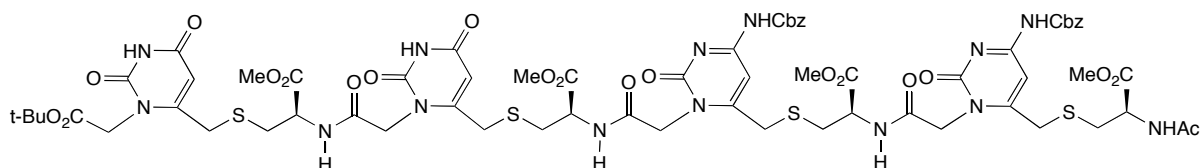
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.40 (br. s, H-N(3'/I), H-N(3'/II)); 10.78 (br. s, NH-C(4'/III), NH-C(4'/IV)); 8.86, 8.84 (2d,  $J = 7.9$ , NH-C(2'/II), NH-C(2'/III)); 8.81 (d,  $J = 7.8$ , NH-C(2'/I)); 7.44–7.31 (m, 10 arom. H); 7.16, 7.15 (2s, H-C(5'/III), H-C(5'/IV)); 5.69 (s, H-C(5'/II)); 5.67 (s, H-C(5'/I)); 5.19 (2s, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 4.78 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/IV)); 4.76 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/III)); 4.64 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/II)); 4.56–4.47 (m, H-C(2'/I), H-C(2'/II), H-C(2'/III)); 4.43 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 3.76, 3.72 (2d,  $J = 15.2$ , CH<sub>2</sub>-C(6'/III)); 3.71 (s, CH<sub>2</sub>-C(6'/IV)); 3.68, 3.64 (2d,  $J = 15.0$ , CH<sub>2</sub>-C(6'/I)); 3.64 (s, MeO/II, MeO/III); 3.61 (s, MeO/I); 3.59 (s, MeO/IV); 3.58–3.52 (m, CH<sub>2</sub>-C(6'/II), H-C(2'/IV)); 2.98–2.66 (m, 2 H-C(3'/I), 2 H-C(3'/II), 2 H-C(3'/III), 2 H-C(3'/IV)); 1.40 (s, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 174.16 (s, CO<sub>2</sub>Me/IV); 170.57, 170.55, 170.48 (3s, CO<sub>2</sub>Me/I, CO<sub>2</sub>Me/II, CO<sub>2</sub>Me/III); 167.24 (s, NHCOCH<sub>2</sub>/II); 166.99 (3s, NHCOCH<sub>2</sub>/III, NHCOCH<sub>2</sub>/IV, CO<sub>2</sub>tBu); 162.24, 162.16 (2s, C(4'/I), C(4'/II)); 162.06, 162.03 (2s, C(4'/III), C(4'/IV)); 157.60 (s, C(6'/IV)); 157.18 (s, C(6'/III)); 156.05, 156.02 (2s, C(2'/III), C(2'/IV)); 153.09 (2s, NHCO<sub>2</sub>Bn/III, NHCO<sub>2</sub>Bn/IV); 151.79, 151.76, 151.71 (3s, C(2'/I), C(2'/II), C(6'/II)); 151.36 (s, C(6'/I)); 135.98, 135.95 (2s); 128.47 (2d); 128.46 (2d); 128.15, 128.14 (2d); 127.94 (2d); 127.93 (2d); 102.84 (d, C(5'/I)); 102.62 (d, C(5'/II)); 95.37, 95.33 (2d, C(5'/III), C(5'/IV)); 81.67 (s, Me<sub>3</sub>C); 66.51 (t, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 54.32 (d, C(2'/IV)); 52.29, 52.28, 52.22 (3q, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 52.06, 51.92 (2d, C(2'/II), C(2'/III)); 51.82 (d, C(2'/I)); 51.67 (q, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>/IV); 45.99 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/III)); 45.82 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/IV)); 45.41 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 44.62 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/II)); 35.65 (t, C(3'/IV)); 32.91 (t, CH<sub>2</sub>-C(6'/IV)); 32.75 (t, CH<sub>2</sub>-

C(6'/III)); 32.31 (*t*, C(3/III)); 32.08 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(6'/II)); 31.98 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(6'/I)); 31.60 (*t*, C(3/II)); 31.45 (*t*, C(3/I)); 27.63 (*q*, Me<sub>3</sub>C).

HR-MALDI-MS: 1575.3693 (23, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>64</sub>H<sub>76</sub>KN<sub>14</sub>O<sub>23</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1575.3728), 1559.4001 (100, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>64</sub>H<sub>76</sub>N<sub>14</sub>NaO<sub>23</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1559.3988), 1537.4240 (67, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>64</sub>H<sub>77</sub>N<sub>14</sub>O<sub>23</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1537.4169).

{N-Acetyl-S-[N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-1-(ω-carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-[S-[N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-1-(ω-carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester]-[S-[1-(ω-carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester]-S-[1-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester (**124**).



Eine Lösung aus **123** (200 mg, 130 μmol) in DMF (1.1 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit 2,6-Lutidin (22.7 μl, 195 μmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe einer Lösung aus Ac<sub>2</sub>O (18.3 μl, 195 μmol) in DMF (200 μl) während 30 min. Die Lösung wurde 4 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 92:8) ergab **124** (185 mg, 90%). Gelber Schaum.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.40.

Smp. 150.9–161.4°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -33.0 (*c* = 0.5, DMSO).

UV (MeOH): 204 (76100), 248 (34800).

IR (ATR): 3280w, 3216w, 3134w, 2956w, 2853w, 2805w, 1737m, 1666s, 1608s, 1563m, 1498m, 1454m, 1438m, 1415m, 1386s, 1373s, 1338m, 1311m, 1210s, 1194s, 1156s, 1070w, 1048w, 1029w, 979w, 923w, 840s, 785w, 767m, 740m, 697m.

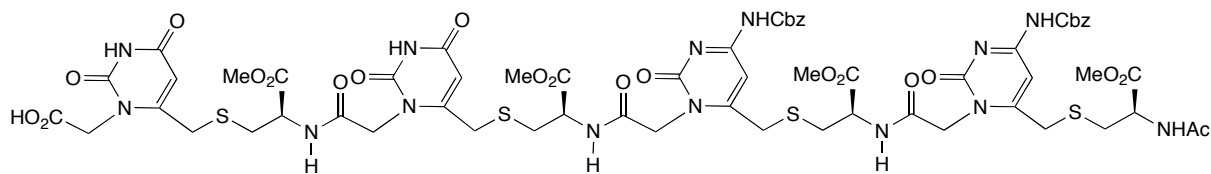
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.41 (*br. s*, H-N(3'/I)); 11.39 (*br. s*, H-N(3'/II)); 10.77 (*br. s*, NH-C(4'/III), NH-C(4'/IV)); 8.86 (*d*, *J* = 8.1, NH-C(2/II)); 8.84 (*d*, *J* = 8.1, NH-C(2/III)); 8.81 (*d*, *J* = 7.8, NH-C(2/I)); 8.36 (*d*, *J* = 7.9, NH-C(2/IV)); 7.44–7.31 (*m*, 10 arom. H); 7.16, 7.15 (*2s*, H-C(5'/III), H-C(5'/IV)); 5.69 (*s*, H-C(5'/II)); 5.67 (*s*, H-C(5'/I)); 5.19 (*s*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 4.75 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1'/III), CH<sub>2</sub>-N(1'/IV)); 4.60 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1'/II)); 4.55–4.47 (*m*, H-C(2/I), H-C(2/II), H-C(2/III)); 4.46 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 4.44 (*td*, *J* = 8.2, 5.2, H-C(2/IV)); 3.75, 3.72 (*2d*, *J* = 15.5, CH<sub>2</sub>-C(6'/III)); 3.72, 3.69 (*2d*, *J* = 15.2, CH<sub>2</sub>-C(6'/IV)); 3.67, 3.64 (*2d*, *J* = 14.8, CH<sub>2</sub>-C(6'/I)); 3.64 (*2s*, MeO/II, MeO/III); 3.61 (*s*, MeO/I); 3.58 (*s*, MeO/IV); 3.57, 3.51 (*2d*, *J* = 14.7, CH<sub>2</sub>-C(6'/II)); 2.98–2.71 (*m*, 2 H-C(3/I), 2 H-C(3/II), 2 H-C(3/III), 2 H-C(3/IV)); 1.84 (*s*, AcNH); 1.40 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 170.94 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/IV); 170.54, 170.51, 170.44 (*3s*, CO<sub>2</sub>Me/I, CO<sub>2</sub>Me/II, CO<sub>2</sub>Me/III); 169.41 (*s*, NHCOMe); 167.21 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/II); 166.98, 166.96, 166.95 (*3s*, NHCOCH<sub>2</sub>/III, NHCOCH<sub>2</sub>/IV, CO<sub>2</sub>Bu); 162.20, 162.11 (*2s*, C(4'/I), C(4'/II));

162.05 (2s, C(4'/III), C(4'/IV)); 157.21 (s, C(6'/III), C(6'/IV)); 156.05 (s, C(2'/III), C(2'/IV)); 152.97 (2s, NHCO<sub>2</sub>Bn/III, NHCO<sub>2</sub>Bn/IV); 151.76, 151.74, 151.68 (3s, C(2'/I), C(2'/II), C(6'/II)); 151.34 (s, C(6'/I)); 135.95 (2s); 128.44 (4d); 128.12, 128.11 (2d); 127.91 (2d); 127.90 (2d); 102.80 (d, C(5'/I)); 102.59 (d, C(5'/II)); 95.33 (2d, C(5'/III), C(5'/IV)); 81.65 (s, Me<sub>3</sub>C); 66.50, 66.46 (2t, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 52.26, 52.24, 52.18 (3q, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 52.05, 51.94 (2d, C(2/II), C(2/III)); 52.03 (q, MeO/IV); 51.81 (d, C(2/I)); 51.53 (d, C(2/IV)); 45.97, 45.84 (2t, CH<sub>2</sub>-N(1'/III), CH<sub>2</sub>-N(1'/IV)); 45.39 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 44.59 (t, CH<sub>2</sub>-N(1'/II)); 32.74 (t, CH<sub>2</sub>-C(6/III), CH<sub>2</sub>-C(6/IV)); 32.40 (t, C(3/IV)); 32.29 (t, C(3/III)); 32.07, 31.97 (2t, CH<sub>2</sub>-C(6/I), CH<sub>2</sub>-C(6/II)); 31.60 (t, C(3/II)); 31.45 (t, C(3/I)); 27.61 (q, Me<sub>3</sub>C); 22.21 (q, MeC=O).

HR-MALDI-MS: 1601.4101 (100, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>66</sub>H<sub>78</sub>N<sub>14</sub>NaO<sub>24</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1601.4094), 1579.4345 (63, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>66</sub>H<sub>79</sub>N<sub>14</sub>O<sub>24</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1579.4274), 1493.3753 (25, [M - BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>59</sub>H<sub>70</sub>N<sub>14</sub>NaO<sub>23</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1493.3519).

{N-Acetyl-S-[N<sup>4</sup>-(Benzyloxycarbonyl)-1-(ω-carboxymethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[N<sup>4</sup>-(benzyloxycarbonyl)-1-(ω-carboxymethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[1-(ω-carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[1-(carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-methylester (**125**).



Eine Suspension aus **124** (142 mg, 90.0 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (900 μl) wurde auf 0° gekühlt, mit Et<sub>3</sub>SiH (144 μl, 899 μmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (277 μl, 3.6 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O (30 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen ergab **125** (134 mg, 98%). Weisses Pulver.

Smp. 174.4–176.5°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -30.8 (c = 0.5, DMSO).

UV (MeOH): 204 (78500), 247 (35700).

IR (ATR): 3262w, 3226w, 3061w, 3034w, 3007w, 2970w, 2958w, 1735m, 1676s, 1610s, 1563m, 1498m, 1454m, 1436m, 1415m, 1386s, 1294w, 1209s, 1195s, 1135m, 1072w, 1049w, 1028w, 983w, 926w, 909w, 828w, 785w, 766m, 742m, 722w, 698m.

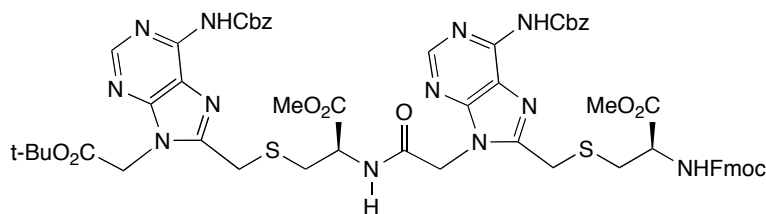
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 13.04 (br. s, CO<sub>2</sub>H); 11.42 (d, J = 2.0, H-N(3'/I)); 11.38 (d, J = 1.9, H-N(3'/II)); 10.78 (br. s, NH-C(4'/III), NH-C(4'/IV)); 8.86 (d, J = 8.5, NH-C(2/II)); 8.84 (d, J = 8.0, NH-C(2/III)); 8.81 (d, J = 7.8, NH-C(2/I)); 8.36 (d, J = 7.9, H NH-C(2/IV)); 7.44–7.31 (m, 10 arom. H); 7.15, 7.14 (2s, H-C(5'/III), H-C(5'/IV)); 5.69 (d, J = 2.2, H-C(5'/II)); 5.67 (d, J = 2.2, H-C(5'/I)); 5.19 (s, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 4.75 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/III), CH<sub>2</sub>-N(1'/IV)); 4.60 (s, CH<sub>2</sub>-N(1'/II)); 4.55–4.47 (m, H-C(2/I), H-C(2/II), H-C(2/III), CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 4.44 (td, J = 8.4, 5.0, H-C(2/IV)); 3.75, 3.73 (2d, J = 15.8, CH<sub>2</sub>-C(6'/III)); 3.73,

3.69 (*2d*,  $J = 15.3$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{IV})$ ); 3.68, 3.65 (*2d*,  $J = 15.5$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ); 3.64 (*s*,  $\text{MeO}/\text{II}$ ,  $\text{MeO}/\text{III}$ ); 3.61 (*s*,  $\text{MeO}/\text{I}$ ); 3.58 (*s*,  $\text{MeO}/\text{IV}$ ); 3.58, 3.52 (*2d*,  $J = 15.0$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 2.98–2.74 (*m*, 2  $\text{H-C}(3/\text{I})$ , 2  $\text{H-C}(3/\text{II})$ , 2  $\text{H-C}(3/\text{III})$ , 2  $\text{H-C}(3/\text{IV})$ ); 1.84 (*s*,  $\text{AcNH}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 170.94 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{IV}$ ); 170.53, 170.52, 170.44 (*3s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{III}$ ); 169.42 (*s*,  $\text{NHCOMe}$ ); 169.41 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 167.21 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II}$ ); 166.98, 166.95 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{NHCOCH}_2/\text{IV}$ ); 162.20, 162.15 (*2s*,  $\text{C}(4'/\text{I})$ ,  $\text{C}(4'/\text{II})$ ); 162.03, 162.01 (*2s*,  $\text{C}(4'/\text{III})$ ,  $\text{C}(4'/\text{IV})$ ); 157.17 (*s*,  $\text{C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{C}(6'/\text{IV})$ ); 156.00 (*2s*,  $\text{C}(2'/\text{III})$ ,  $\text{C}(2'/\text{IV})$ ); 153.06 (*2s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{III}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{IV}$ ); 151.78, 151.75, 151.73 (*3s*,  $\text{C}(2'/\text{I})$ ,  $\text{C}(2'/\text{II})$ ,  $\text{C}(6'/\text{II})$ ); 151.57 (*s*,  $\text{C}(6'/\text{I})$ ); 135.96, 135.95 (*2s*); 128.45 (*2d*); 128.44 (*2d*); 128.12, 128.11 (*2d*); 127.91 (*2d*); 127.90 (*2d*); 102.65 (*d*,  $\text{C}(5'/\text{I})$ ); 102.59 (*d*,  $\text{C}(5'/\text{II})$ ); 95.38 (*d*,  $\text{C}(5'/\text{III})$ ,  $\text{C}(5'/\text{IV})$ ); 66.50, 66.47 (*2t*,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{IV}$ ); 52.26, 52.24, 52.19 (*3q*,  $\text{MeO}/\text{I}$ ,  $\text{MeO}/\text{II}$ ,  $\text{MeO}/\text{III}$ ); 52.06, 51.94 (*2d*,  $\text{C}(2/\text{II})$ ,  $\text{C}(2/\text{III})$ ); 52.03 (*q*,  $\text{MeO}/\text{IV}$ ); 51.87 (*d*,  $\text{C}(2/\text{I})$ ); 51.53 (*d*,  $\text{C}(2/\text{IV})$ ); 45.98, 45.84 (*2t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{III})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{IV})$ ); 45.74 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 44.62 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II})$ ); 32.75 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{IV})$ ); 32.40 (*t*,  $\text{C}(3/\text{IV})$ ); 32.29 (*t*,  $\text{C}(3/\text{III})$ ); 32.08, 32.00 (*2t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ); 31.59 (*t*,  $\text{C}(3/\text{II})$ ); 31.49 (*t*,  $\text{C}(3/\text{I})$ ); 22.21 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 1545.3429 (58,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{62}\text{H}_{70}\text{N}_{14}\text{NaO}_{24}\text{S}_4^+$ ; ber. 1545.3468), 1523.3644 (41,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{62}\text{H}_{71}\text{N}_{14}\text{O}_{24}\text{S}_4^+$ ; ber. 1523.3648).

*{S-[N<sup>6</sup>-(Benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester}-S-{N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]adenin-8-methyl}-L-cystein-methylester (126).*



Eine Lösung aus **74** (1.39 g, 2.62 mmol) und **75** (2.01 g, 2.88 mmol) in DMF (18 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (671  $\mu\text{l}$ , 3.93 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von  $\text{HBTU}$  (1.09 g, 2.88 mmol) in DMF (8 ml) während 1 h. Die Lösung wurde 2 h bei 0° gerührt, mit  $\text{CHCl}_3$  verdünnt, auf ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gegossen und mit  $\text{CHCl}_3$  (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert. FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  97:3) ergab **126** (3.09 g, 97%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.33.

Smp. 108.7–111.3°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -34.8$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 301 (6300), 273 (52800).

IR (ATR): 3301w, 3061w, 3030w, 3002w, 2970w, 2950w, 1737s, 1696m, 1610m, 1586m, 1522m, 1499m, 1449m, 1409w, 1383m, 1367m, 1340m, 1320m, 1304m, 1253m, 1206s, 1153s,

1101m, 1041m, 1028m, 971w, 945w, 897w, 844w, 800w, 759m, 739m, 697m, 661w, 648w, 620w.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.60, 10.56 (2s, NH-C(6'/I, NH-C(6'/II)); 9.01 (*d*,  $J = 7.9$ , NH-C(2/I)); 8.60, 8.57 (2s, H-C(2'/I, H-C(2'/II)); 7.90–7.25 (*m*, 18 arom. H, NH-C(2/II)); 5.21, 5.20 (2s,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 5.09, 5.07 (2s,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 4.61 (*td*,  $J \approx 8.2$ , 5.4, H-C(2/I)); 4.31–4.26 (*m*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ , H-C(2/II)); 4.20 (*t*,  $J = 6.7$ , H-C(9'')); 4.17 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 4.05 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 3.58 (*s*, MeO/I, MeO/II); 2.96 (*dd*,  $J = 13.8$ , 5.0,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.89 (*dd*,  $J = 13.8$ , 5.1,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{I})$ ); 2.81 (*dd*,  $J = 13.7$ , 9.6,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.76 (*dd*,  $J = 14.0$ , 8.7,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{I})$ ); 1.38 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.12 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 170.46 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ); 166.22 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2$ ); 166.17 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 155.89 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 153.52 (*s*, C(4'/I, C(4'/II)); 152.10, 152.06 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{I}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{II}$ ); 151.88 (*s*, C(8'/II)); 151.52 (*d*, C(2'/I, C(2'/II)); 151.32 (*s*, C(8'/I)); 148.60, 148.54 (2s, C(6'/I, C(6'/II)); 143.69, 143.66 (2s); 140.68 (2s); 136.32, 136.31 (2s); 127.90–125.17 (11*d*); 122.32, 122.28 (2s, C(5'/I, C(5'/II)); 120.05 (2*d*); 82.18 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.25, 66.20 (2*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ); 65.77 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.24 (*d*, C(2/II)); 52.13, 52.02 (2*q*, MeO/I, MeO/II); 51.76 (*d*, C(2/I)); 46.56 (*d*, C(9'')); 44.31, 44.22 (2*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 32.37 (*t*, C(3/II)); 32.09 (*t*, C(3/I)); 27.54 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.38 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 26.98 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ).

HR-MALDI-MS: 1247.3338 (11,  $[M + K]^+$ ,  $\text{C}_{59}\text{H}_{60}\text{KN}_{12}\text{O}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 1247.3481), 1231.3745 (100,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{59}\text{H}_{60}\text{N}_{12}\text{NaO}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 1231.3742), 1209.3867 (20,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{59}\text{H}_{61}\text{N}_{12}\text{O}_{13}\text{S}_2^+$ ; ber. 1209.3922), 1139.2911 (15,  $[M - \text{BnOH} + K]^+$ ,  $\text{C}_{52}\text{H}_{52}\text{KN}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2^+$ ; ber. 1139.2906), 1123.3135 (91,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{52}\text{H}_{52}\text{N}_{12}\text{NaO}_{12}\text{S}_2^+$ ; ber. 1123.3167), 1101.3325 (90,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{52}\text{H}_{53}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2^+$ ; ber. 1101.3347), 1031.2295 (8,  $[M - 2 \text{BnOH} + K]^+$ ,  $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{KN}_{12}\text{O}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 1031.2331), 1015.2593 (29,  $[M - 2 \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_{12}\text{NaO}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 1015.2592), 959.1940 (12,  $[M - 2 \text{BnOH} - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{41}\text{H}_{36}\text{N}_{12}\text{NaO}_{11}\text{S}_2^+$ ; ber. 959.1966).

$\{S\text{-}[N^6\text{-}(\text{Benzyloxycarbonyl})\text{-}9\text{-}(\omega\text{-carbonylmethyl})\text{adenin}\text{-}8\text{-methyl}]\text{-L-cystein-methylester}\}\text{-S-}\{N^6\text{-}(\text{benzyloxycarbonyl})\text{-}9\text{-}[(\text{tert-butoxy})\text{carbonylmethyl}]\text{adenin}\text{-}8\text{-methyl}\}\text{-L-cystein-methylester}$  (**127**).



Eine Lösung aus **126** (7.07 g, 5.85 mmol) in DMF (39 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit Piperidin versetzt (5.77 ml, 58.5 mmol) und 1 h bei  $0^\circ$  gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98:2  $\rightarrow$  95:5) ergab **127** (4.86 g, 84%). Klebriger Feststoff.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.49.

$[\alpha]_D^{25} = +2.22$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

UV (MeOH): 275 (35900), 211 (56600).

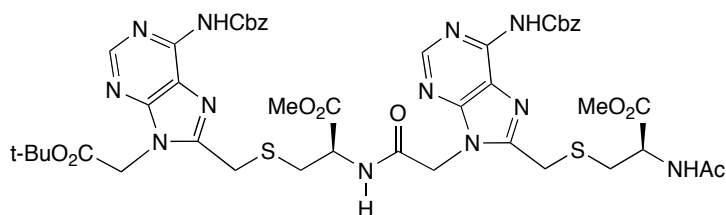
IR (ATR): 3359w, 3192w, 3114w, 3029w, 2980w, 2972w, 2951w, 1737s, 1691m, 1610s, 1587m, 1557w, 1532m, 1497w, 1452m, 1411w, 1386w, 1366m, 1338w, 1320m, 1305m, 1251m, 1204s, 1153s, 1101m, 1026s, 970m, 951w, 895w, 843w, 800w, 742m, 697m, 666w, 615w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 9.00 (*d*,  $J = 8.0$ , NH–C(2/I)); 8.57, 8.60 (2*s*, H–C(2'/I), H–C(2'/II)); 7.50–7.27 (*m*, 10 arom. H); 5.22, 5.21 (2*s*, PhCH<sub>2</sub>/I, PhCH<sub>2</sub>/II); 5.11 (*d*,  $J \approx 15.6$ , CH<sub>a</sub>–N(9'/I), CH<sub>a</sub>–N(9'/II)); 5.06 (*d*,  $J \approx 18.8$ , CH<sub>b</sub>–N(9'/I), CH<sub>b</sub>–N(9'/II)); 4.60 (*td*,  $J \approx 8.2$ , 5.1, H–C(2/I)); 4.16 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(8'/I)); 4.03 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(8'/II)); 3.60 (*s*, MeO/I); 3.55 (*s*, MeO/II); 3.52 (*t*,  $J = 6.4$ , H–C(2/II)); 2.90 (*dd*,  $J = 13.9$ , 5.0, H<sub>a</sub>–C(3/I)); 2.79 (*dd*,  $J = 13.7$ , 6.2, H<sub>a</sub>–C(3/II)); 2.76 (*dd*,  $J = 13.9$ , 8.9, H<sub>b</sub>–C(3/I)); 2.71 (*dd*,  $J = 13.4$ , 6.6, H<sub>b</sub>–C(3/II)); 1.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 170.14 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/II); 170.46 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/I); 166.23 (*s*, CO<sub>2</sub>'Bu); 166.12 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>); 153.57, 153.48 (2*s*, C(4'/I), C(4'/II)); 152.17 (*s*, C(8'/I)); 152.14, 152.11 (2*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn/I, NHCO<sub>2</sub>Bn/II); 151.51, 151.29 (2*d*, C(2'/I), C(2'/II)); 151.33 (*s*, C(8'/II)); 148.60, 148.52 (2*s*, C(6'/I), C(6'/II)); 136.36, 136.31 (2*s*); 128.34 (4*d*); 127.91 (2*d*); 127.80 (4*d*); 122.39, 122.24 (2*s*, C(5'/I), C(5'/II)); 82.19 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.24, 66.21 (2*t*, PhCH<sub>2</sub>/I, PhCH<sub>2</sub>/II); 54.21 (*d*, C(2/II)); 52.14 (*q*, MeO/I); 51.74 (*d*, C(2/I)); 51.52 (*q*, MeO); 44.32, 44.21 (2*t*, CH<sub>2</sub>–N(9'/I), CH<sub>2</sub>–N(9'/II)); 35.73 (*t*, C(3/II)); 32.10 (*t*, C(3/I)); 27.82 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(8'/II)); 27.55 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 26.99 (*t*, CH<sub>2</sub>–C(8'/I)).

HR-MALDI-MS: 1025.2832 (3,  $[M + K]^+$ , C<sub>44</sub>H<sub>50</sub>KN<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1025.2800), 1009.3044 (13,  $[M + Na]^+$ , C<sub>44</sub>H<sub>50</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1009.3061), 987.3223 (30,  $[M + H]^+$ , C<sub>44</sub>H<sub>51</sub>N<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 987.3242), 917.2209 (3,  $[M - BnOH + K]^+$ , C<sub>37</sub>H<sub>42</sub>KN<sub>12</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 917.2225), 901.2480 (30,  $[M - BnOH + Na]^+$ , C<sub>37</sub>H<sub>42</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 901.2486), 879.2661 (100,  $[M - BnOH + H]^+$ , C<sub>37</sub>H<sub>43</sub>N<sub>12</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 879.2667), 823.2042 (4,  $[M - BnOH - 'Bu + 2 H]^+$ , C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>N<sub>12</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 823.2041), 809.1665 (10,  $[M - 2 BnOH + K]^+$ , C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>KN<sub>12</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 809.1650), 793.1912 (38,  $[M - 2 BnOH + Na]^+$ , C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>9</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 793.1911), 771.2086 (42,  $[M - 2 BnOH + H]^+$ , C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>12</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 771.2091), 737.1292 (6,  $[M - 2 BnOH - 'Bu + H + Na]^+$ , C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>9</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 737.1285), 715.1452 (7,  $[M - 2 BnOH - 'Bu + 2 H]^+$ , C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>12</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 715.1465).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-{N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]adenin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**128**).



Eine Lösung aus **127** (2.80 g, 2.84 mmol) in DMF (28 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit 2,6-Lutidin (496  $\mu$ l, 4.26 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von Ac<sub>2</sub>O (293  $\mu$ l, 3.12 mmol) während 1 h und Rühren für 3 h bei 0°. Die Lösung wurde mit CHCl<sub>3</sub> verdünnt, auf H<sub>2</sub>O gegossen und mit CHCl<sub>3</sub> (5 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 96:4) ergab **128** (2.33 g, 80%). Gelber Schaum.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.48.

Smp. 147.3–149.6°.

$[\alpha]_D^{25} = -9.1$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 275 (46000), 211 (77100).

IR (ATR): 3273w, 3060w, 3031w, 2999w, 2985w, 2952w, 1732s, 1720s, 1660m, 1603m, 1581m, 1519s, 1454m, 1440m, 1403w, 1369m, 1340m, 1308m, 1256m, 1211s, 1158s, 1147s, 1100m, 1056m, 1045m, 1028m, 978w, 951w, 894w, 857w, 837w, 807w, 763w, 741m, 696m, 662w, 644w, 610w.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.59 (*s*, NH-C(6'/II), NH-C(6'/I)); 9.00 (*d*,  $J = 7.9$ , NH-C(2/I)); 8.60, 8.57 (2*s*, H-C(2'/I), H-C(2'/II)); 8.33 (*d*,  $J = 8.0$ , NH-C(2/II)); 7.50–7.27 (*m*, 10 arom. H); 5.22 (*s*, PhCH<sub>2</sub>/I, PhCH<sub>2</sub>/II); 5.08 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9'/I), CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 4.60 (*td*,  $J = 8.2, 5.3$ , H-C(2/I)); 4.49 (*td*, 8.3, 5.3, H-C(2/II)); 4.17 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I)); 4.06 (*d*,  $J = 14.9$ , CH<sub>a</sub>-C(8'/II)); 4.02 (*d*,  $J = 14.8$ , CH<sub>b</sub>-C(8'/II)); 3.59 (*s*, MeO/I); 3.57 (*s*, MeO/II); 2.92 (*dd*,  $J = 13.8, 5.2$ , H<sub>a</sub>-C(3/II)); 2.89 (*dd*,  $J = 13.7, 5.3$ , H<sub>a</sub>-C(3/I)); 2.77 (*dd*,  $J = 13.9, 8.6$ , H<sub>b</sub>-C(3/II)); 2.76 (*dd*,  $J = 13.9, 6.5$ , H<sub>b</sub>-C(3/I)); 1.82 (*s*, AcNH); 1.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

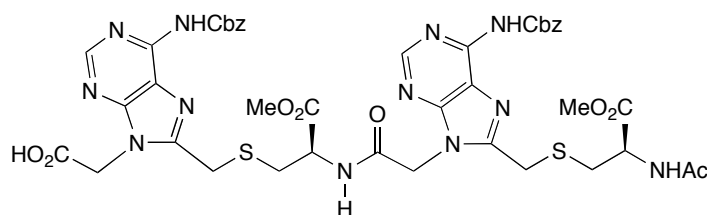
<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.03 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/II); 170.45 (*s*, CO<sub>2</sub>Me/I); 169.34 (*s*, NHC(OMe)); 166.22 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>); 166.16 (*s*, CO<sub>2</sub>tBu); 153.54, 153.52 (2*s*, C(4'/I), C(4'/II)); 152.10 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn/I, NHCO<sub>2</sub>Bn/II); 151.83 (*s*, C(8'/II)); 151.52 (*d*, C(2'/I), C(2'/II)); 151.33 (*s*, C(8'/I)); 148.59, 148.53 (*s*, C(6'/I), C(6'/II)); 136.34, 136.30 (2*s*); 128.34 (2*d*); 128.32 (2*d*); 127.91 (2*d*); 127.78 (4*d*); 122.36, 122.28 (2*s*, C(5'/I), C(5'/II)); 82.19 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.25, 66.20 (2*t*, PhCH<sub>2</sub>/I, PhCH<sub>2</sub>/II); 52.13 (*q*, MeO/I); 51.94 (*q*, MeO/II); 51.75 (*d*, C(2/I)); 51.46 (*d*, C(2/II)); 44.32, 44.22 (2*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/I), CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 32.41 (*t*, C(3/II)); 32.08 (*t*, C(3/I)); 27.55 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 27.44 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/II)); 26.97 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I)); 22.18 (*q*, MeC=O).

HR-MALDI-MS: 1051.3155 (100, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>46</sub>H<sub>52</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>12</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1051.3167), 1029.3321 (21, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>46</sub>H<sub>53</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1029.3347), 959.2359 (14, [M - BnOH + K]<sup>+</sup>,



$C_{39}H_{44}KN_{12}O_{11}S_2^+$ ; ber. 959.2331), 943.2570 (71,  $[M - BnOH + Na]^+$ ,  $C_{39}H_{44}N_{12}NaO_{11}S_2^+$ ; ber. 943.2592), 921.2745 (90,  $[M - BnOH + H]^+$ ,  $C_{39}H_{45}N_{12}O_{11}S_2^+$ ; ber. 921.2772), 887.1914 (7,  $[M - BnOH - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{35}H_{36}N_{12}NaO_{11}S_2^+$ ; ber. 887.1966), 835.1989 (18,  $[M - 2 BnOH + Na]^+$ ,  $C_{32}H_{36}N_{12}NaO_{10}S_2^+$ ; ber. 835.2016), 813.2154 (16,  $[M - 2 BnOH + H]^+$ ,  $C_{32}H_{37}N_{12}O_{10}S_2^+$ ; ber. 813.2197), 779.1379 (8,  $[M - 2 BnOH - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{28}H_{28}N_{12}NaO_{10}S_2^+$ ; ber. 779.1390).

N-Acetyl- $\{S-[N^6-(benzyloxycarbonyl)-9-(\omega\text{-carbonylmethyl})\text{adenin-8-methyl}]-L\text{-cystein-methylester}\}$ -S- $\{N^6-(benzyloxycarbonyl)-9-(\text{carboxymethyl})\text{adenin-8-methyl}]-L\text{-cystein-methylester}$  (**129**).



Eine Lösung aus **128** (2.31 g, 2.24 mmol) in  $CH_2Cl_2$  (22 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $Et_3SiH$  (3.58 ml, 22.4 mmol) und  $CF_3CO_2H$  (6.92 ml, 89.8 mmol) versetzt und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit  $^iPr_2O$  (150 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $^iPr_2O$  gewaschen. Trocknen ergab **129** (2.14 g, 98%). Weisses Pulver.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  4:1) 0.42.

Smp. 119.3–125.8°.

$[\alpha]_D^{25} = -21.6$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 275 (31900), 300 (57200).

IR (ATR): 3264w, 3068w, 3036w, 2970w, 1736m, 1670s, 1619m, 1594m, 1540m, 1495w, 1455m, 1441m, 1415w, 1368w, 1324w, 1284w, 1201s, 1174s, 1130s, 1036m, 966w, 902w, 836w, 799m, 768w, 748w, 721m, 698m, 665w, 619w.

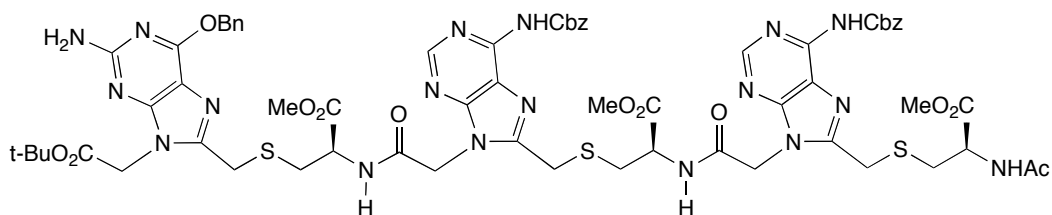
$^1H$ -NMR (400 MHz,  $(D_6)DMSO$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.60 (br. s, NH-C(6'/I), NH-C(6'/II)); 9.05 (d,  $J = 7.8$ , NH-C(2/I)); 8.59, 8.57 (2s, H-C(2'/I), H-C(2'/II)); 8.85 (d,  $J = 7.7$ , NH-C(2/II)); 7.50–7.25 (m, 10 arom. H); 5.22 (s,  $PhCH_2/I$ ,  $PhCH_2/II$ ); 5.09, 5.08 (2s,  $CH_2-N(9'/I)$ ,  $CH_2-N(9'/II)$ ); 4.59 (td,  $J = 8.2$ , 5.0, H-C(2/I)); 4.49 (td,  $J = 8.2$ , 5.1, H-C(2/II)); 4.17 (s,  $CH_2-C(8'/I)$ ); 4.03 (s,  $CH_2-C(8'/II)$ ); 3.59 (s, MeO/I); 3.56 (s, MeO/II); 2.92 (br. dd,  $J = 13.4$ , 4.4,  $H_a-C(3/I)$ ); 2.92–2.81 (m,  $H_a-C(3/II)$ ,  $H_b-C(3/II)$ ); 2.76 (dd,  $J = 14.1$ , 8.9,  $H_b-C(3/II)$ ); 1.82 (s, AcNH).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $(D_6)DMSO$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.07 (s,  $CO_2Me/II$ ); 170.50 (s,  $CO_2Me/I$ ); 169.45 (s, NHCOME); 168.62 (s,  $CO_2H$ ); 166.22 (s,  $NHCOCH_2$ ); 153.56, 153.47 (2s, C(4'/I), C(4'/II)); 152.24 (s,  $NHCO_2Bn/I$ ,  $NHCO_2Bn/II$ ); 151.94 (s, C(8'/II)); 151.65 (s, C(8'/I)); 151.49, 151.39 (2d, C(2'/I), C(2'/II)); 148.58, 148.54 (2s, C(6'/I), C(6'/II)); 136.35, 136.32 (2s); 128.39 (2d); 128.37 (2d); 127.96 (2d); 127.82 (4d); 122.32, 122.31 (2s, C(5'/I), C(5'/II)); 66.32, 66.28 (2t,  $PhCH_2/I$ ,  $PhCH_2/II$ ); 52.15 (q, MeO/I); 51.97 (q, MeO/II); 51.91 (d, C(2/I)); 51.50 (d, C(2/II));

44.27, 43.85 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/I), CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 32.46 (*t*, C(3/II)); 32.22 (*t*, C(3/I)); 27.48 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/II)); 27.09 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I)); 22.01 (*q*, Me=O).

HR-MALDI-MS: 995.2779 (28, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>42</sub>H<sub>44</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>12</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 995.2541), 973.2883 (39, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>42</sub>H<sub>45</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 973.2721), 887.2111 (46, [M - BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 887.1966), 865.2305 (100, [M - BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>N<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 865.2146), 779.1506 (30, [M - 2 BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 779.1390), 757.1704 (15, [M - 2 BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>28</sub>H<sub>29</sub>N<sub>12</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 757.1571).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-{O<sup>6</sup>-benzyl-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**130**).



Eine Lösung aus **74** (553 mg, 1.1 mmol) und **129** (1.50 g, 1.54 mmol) in DMF (9 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (282 μl, 1.65 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von of HBTU (501 mg, 1.32 mmol) in DMF (2 ml) während 1 h. Das Gemisch wurde für 6 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 95:5) ergab **130** (803 mg, 73%). Weisses Pulver.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.55.

Smp. 161.5–163.2°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -40.0 (*c* = 0.5, DMSO).

UV (CHCl<sub>3</sub>): 276 (61300).

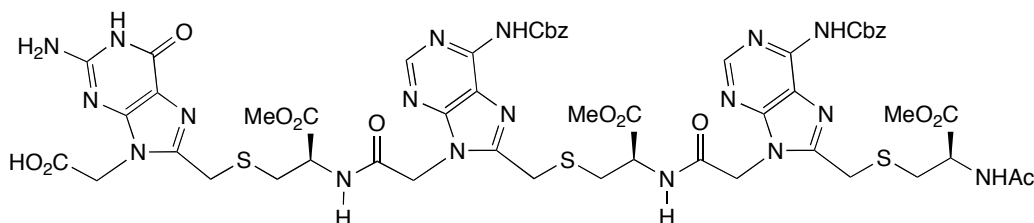
IR (ATR): 3494<sub>w</sub>, 3309<sub>w</sub>, 3196<sub>w</sub>, 3063<sub>w</sub>, 3033<sub>w</sub>, 2986<sub>w</sub>, 2951<sub>w</sub>, 1735<sub>s</sub>, 1658<sub>m</sub>, 1613<sub>s</sub>, 1590<sub>m</sub>, 1524<sub>s</sub>, 1499<sub>m</sub>, 1393<sub>w</sub>, 1371<sub>m</sub>, 1350<sub>m</sub>, 1339<sub>m</sub>, 1321<sub>m</sub>, 1215<sub>s</sub>, 1163<sub>s</sub>, 1120<sub>w</sub>, 1099<sub>m</sub>, 1052<sub>w</sub>, 1041<sub>w</sub>, 1029<sub>m</sub>, 983<sub>w</sub>, 950<sub>w</sub>, 919<sub>w</sub>, 895<sub>w</sub>, 845<sub>w</sub>, 813<sub>w</sub>, 799<sub>w</sub>, 788<sub>w</sub>, 739<sub>m</sub>, 697<sub>m</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.58, 10.56 (2<sub>s</sub>, NH-C(6'/II), NH-C(6'/III)); 9.02 (*d*, *J* = 7.9), 9.00 (*d*, *J* = 7.8) (NH-C(2/I), NH-C(2/II)); 8.56, 8.55 (2<sub>s</sub>, H-C(2'/II), H-C(2'/III)); 8.31 (*d*, *J* = 8.0, NH-C(2/III)); 7.50–7.26 (*m*, 15 arom. H); 6.51 (br. *s*, NH<sub>2</sub>); 5.50, 5.48 (2<sub>d</sub>, *J* = 12.5, PhCH<sub>2</sub>/I); 5.21 (*s*, PhCH<sub>2</sub>/II, PhCH<sub>2</sub>/III); 5.07, 5.04 (2<sub>d</sub>, *J* = 17.6, CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 5.06 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9'/III)); 4.82, 4.78 (2<sub>d</sub>, *J* = 17.9, CH<sub>2</sub>-N(9'/I)); 4.56 (*td*, *J* = 8.1, 5.4, H-C(2/II)), 4.52 (*td*, *J* = 8.0, 5.5, H-C(2/I)); 4.48 (*td*, *J* = 8.4, 5.1, H-C(2/III)); 4.08, 4.04 (2<sub>d</sub>, *J* = 14.9, CH<sub>2</sub>-C(8'/II)); 4.03, 4.00 (2<sub>d</sub>, *J* = 14.8, CH<sub>2</sub>-C(8'/III)); 3.95 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I)); 3.58, 3.57, 3.55 (3<sub>s</sub>, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 2.97 (*dd*, *J* = 13.8, 5.2), 2.82 (*dd*, *J* = 13.9, 5.3) (H<sub>a</sub>-C(3/I), H<sub>a</sub>-C(3/II)); 2.89 (*dd*, *J* = 13.7, 5.2, H<sub>a</sub>-C(3/III)); 2.83 (*dd*, *J* = 13.7, 8.9), 2.73 (*dd*, *J* = 13.8, 8.3) (H<sub>b</sub>-C(3/I), H<sub>b</sub>-C(3/II)); 2.76 (*dd*, *J* = 13.7, 8.8, H<sub>b</sub>-C(3/III)); 1.80 (*s*, AcNH); 1.38 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 170.98 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{III}$ ); 170.47, 170.39 (2*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 169.29 (*s*,  $\text{NHCOMe}$ ); 166.51 (*s*,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 166.09 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{III}$ ), 166.00 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II}$ ); 159.62 (*s*,  $\text{C}(2'/\text{I})$ ); 159.34 (*s*,  $\text{C}(6'/\text{I})$ ); 155.86 (*s*,  $\text{C}(4'/\text{I})$ ); 153.46, 153.45 (2*s*,  $\text{C}(4'/\text{II})$ ,  $\text{C}(4'/\text{III})$ ); 152.04 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{II}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{III}$ ); 151.80, 151.77 (2*s*,  $\text{C}(8'/\text{II})$ ,  $\text{C}(8'/\text{III})$ ); 151.28 (*d*,  $\text{C}(2'/\text{II})$ ,  $\text{C}(2'/\text{III})$ ); 148.44, 148.44 (2*s*,  $\text{C}(6'/\text{II})$ ,  $\text{C}(6'/\text{III})$ ); 146.12 (*s*,  $\text{C}(8'/\text{I})$ ); 136.52, 136.28, 136.27 (3*s*); 128.29 (2*d*); 128.28 (2*d*); 128.28 (2*d*); 128.26, 127.89, 127.87 (3*d*); 127.86 (*d*); 127.75 (2*d*); 127.73 (2*d*); 122.29, 122.28 (2*s*,  $\text{C}(5'/\text{II})$ ,  $\text{C}(5'/\text{III})$ ); 112.22 (*s*,  $\text{C}(5'/\text{I})$ ); 81.88 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 66.84 (*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ); 66.17, 66.14 (2*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ); 52.06, 52.05, 51.89 (3*q*,  $\text{MeO}/\text{I}$ ,  $\text{MeO}/\text{II}$ ,  $\text{MeO}/\text{III}$ ); 51.89, 51.73 (2*d*,  $\text{C}(2/\text{I})$ ,  $\text{C}(2/\text{II})$ ), 51.37 (*d*,  $\text{C}(2/\text{III})$ ); 44.14 (2*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{III})$ ); 43.86 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 32.30 (*t*,  $\text{C}(3/\text{III})$ ); 32.21 (*t*,  $\text{C}(3/\text{II})$ ); 31.89 (*t*,  $\text{C}(3/\text{I})$ ); 27.54 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.35, 27.31 (2*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ); 27.22 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 22.12 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 1479.4473 (7,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{65}\text{H}_{72}\text{N}_{18}\text{NaO}_{16}\text{S}_3^+$ ; ber. 1479.4434), 1457.4638 (19,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{65}\text{H}_{73}\text{N}_{18}\text{O}_{16}\text{S}_3^+$ ; ber. 1457.4614), 1387.3640 (10,  $[M - \text{BnOH} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{58}\text{H}_{64}\text{KN}_{18}\text{O}_{15}\text{S}_3^+$ ; ber. 1387.3598), 1371.3847 (37,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{58}\text{H}_{64}\text{N}_{18}\text{NaO}_{15}\text{S}_3^+$ ; ber. 1371.3858), 1349.4000 (83,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{58}\text{H}_{65}\text{N}_{18}\text{O}_{15}\text{S}_3^+$ ; ber. 1349.4039), 1279.2983 (54,  $[M - 2 \text{BnOH} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{51}\text{H}_{56}\text{KN}_{18}\text{O}_{14}\text{S}_3^+$ ; ber. 1279.3023), 1263.3259 (100,  $[M - 2 \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{51}\text{H}_{56}\text{N}_{18}\text{NaO}_{14}\text{S}_3^+$ ; ber. 1263.3283), 1241.3461 (91,  $[M - 2 \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{51}\text{H}_{57}\text{N}_{18}\text{O}_{14}\text{S}_3^+$ ; ber. 1241.3464).

{*N*-Acetyl-S-[*N*<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[*N*<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[9-(carboxymethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester (**131**).



Ein Organogel aus **130** (1.11 g, 780  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7.6 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (1.21 ml, 7.60 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (2.34 ml, 30.4 mmol) versetzt und 30 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit  $^i\text{Pr}_2\text{O}$  (50 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $^i\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **131** (976 mg, 98%). Weisses Pulver.

Smp. 141.2–143.3°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -29.1$  ( $c = 0.5$ , DMSO).

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 274 (46700).

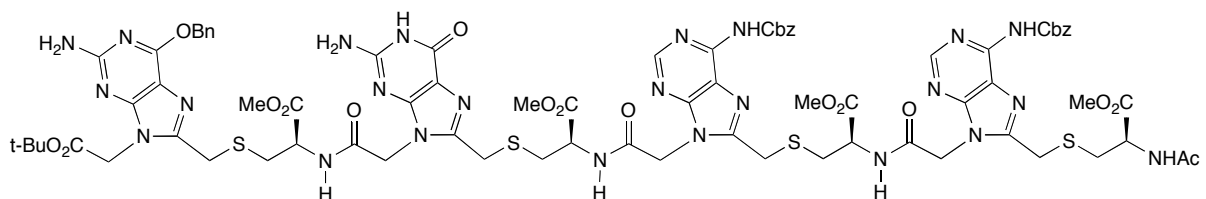
IR (ATR): 3310w, 3212w, 3046w, 2972w, 2933w, 2880w, 1739m, 1663s, 1614w, 1591m, 1536m, 1498w, 1454m, 1436m, 1414m, 1367m, 1323w, 1288m, 1201s, 1169s, 1132s, 1029m, 1013w, 972w, 903w, 830w, 797w, 783w, 745w, 719m, 697m.

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.73 (*s*, NH-C(6'/II), NH-C(6'/III)); 10.67 (*s*, H-N(1'/I)); 9.08 (*d*,  $J = 7.7$ , NH-C(2/I)); 9.00 (*d*,  $J = 7.7$ , NH-C(2/II)); 8.58, 8.56 (2*s*, H-C(2'/II), H-C(2'/III)); 8.31 (*d*,  $J = 8.0$ , NH-C(2/III)); 7.50–7.27 (*m*, 10 arom. H); 6.60 (*br. s*,  $\text{NH}_2$ ); 5.22 (*s*,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ); 5.12, 5.08 (2*d*,  $J = 18.1$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 5.08, 5.05 (2*d*,  $J = 17.5$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{III})$ ); 4.78 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 4.57 (*td*,  $J = 8.1$ , 5.4, H-C(2/II)), 4.52 (*td*,  $J = 7.9$ , 5.6, H-C(2/I)); 4.47 (*td*,  $J = 8.3$ , 5.2, H-C(2/III)); 4.12, 4.08 (2*d*,  $J = 15.0$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 4.04 (*d*,  $J = 15.0$ ), 4.00 (*d*,  $J = 14.9$ ) ( $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ); 3.96 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 3.62, 3.57 (2*s*, MeO/I, MeO/II); 3.56 (*s*, MeO/III); 2.97 (*dd*,  $J = 13.8$ , 5.2), 2.90 (*dd*,  $J = 13.7$ , 5.2) ( $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{I})$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.88 (*dd*,  $J = 13.6$ , 5.2,  $\text{H}_a\text{-C}(3/\text{III})$ ); 2.85 (*dd*,  $J = 13.7$ , 8.5), 2.81 (*dd*,  $J = 13.9$ , 8.2) ( $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{I})$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{II})$ ); 2.76 (*dd*,  $J = 13.8$ , 8.8,  $\text{H}_b\text{-C}(3/\text{III})$ ); 1.81 (*s*, AcNH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.03 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{III}$ ); 170.50, 170.45 (2*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ); 169.37 (*s*, NHCOME); 168.70 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 166.13 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{III}$ ), 166.07 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II}$ ); 155.86, 153.97 (2*s*, C(2'/I), C(6'/I)); 153.51, 153.50 (2*s*, C(4'/II), C(4'/III)); 152.38 (*s*, C(4'/I)); 152.17 (2*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{II}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{III}$ ); 152.04, 151.96 (2*s*, C(8'/II), C(8'/III)); 151.19, 151.18 (2*d*, C(2'/II), C(2'/III)); 148.38 (*s*, C(6'/II), C(6'/III)); 144.07 (*s*, C(8'/I)); 136.30, 136.28 (2*s*); 128.36 (2*d*); 128.34 (2*d*); 127.95, 127.93 (2*d*); 127.81 (2*d*); 127.80 (2*d*); 122.18 (*s*, C(5'/II), C(5'/III)); 66.30, 66.27 (2*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{II}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ); 52.18, 52.12, 51.95 (3*q*,  $\text{CO}_2\text{CH}_3/\text{I}$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3/\text{II}$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3/\text{III}$ ); 51.96, 51.93 (2*d*, C(2/I), C(2/II)); 51.43 (*d*, C(2/III)); 44.27, 44.24 (2*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{III})$ ); 43.53 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 32.39 (*t*, C(3/III)); 32.29 (*t*, C(3/II)); 31.99 (*t*, C(3/I)); 27.40 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$  or  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ); 26.88 ( $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$  or  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 22.18 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 1333.3374 (72,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{54}\text{H}_{58}\text{N}_{18}\text{NaO}_{16}\text{S}_3^+$ ; ber. 1333.3338), 1311.3537 (76,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{54}\text{H}_{59}\text{N}_{18}\text{O}_{16}\text{S}_3^+$ ; ber. 1311.3519), 1225.2775 (100,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{47}\text{H}_{50}\text{N}_{18}\text{NaO}_{15}\text{S}_3^+$ ; ber. 1225.2763), 1203.3048 (47,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{N}_{18}\text{O}_{15}\text{S}_3^+$ ; ber. 1203.2943), 1117.2224 (65,  $[M - 2 \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{N}_{18}\text{NaO}_{14}\text{S}_3^+$ ; ber. 1117.2188).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[9-(ω-carbonylmethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-{O<sup>6</sup>-benzyl-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**132**).



Eine Lösung aus **74** (20 mg, 39.8  $\mu\text{mol}$ ) und **131** (62.6 mg, 47.8  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (300  $\mu\text{l}$ ) wurde auf 0° gekühlt und mit  $^i\text{Pr}_2\text{NEt}$  (10.2  $\mu\text{l}$ , 59.7  $\mu\text{mol}$ ) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (18.1 mg, 47.8  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (100  $\mu\text{l}$ ) während 30 min. Das Gemisch wurde für 6 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt an

Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 98:2 → 9:1) ergab **132** (60.3 mg, 84%). Weisses Pulver.

*R<sub>f</sub>* (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.39.

Smp. 164.5–167.1°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = –44.6 (*c* = 0.5, DMSO).

UV (CHCl<sub>3</sub>): 276 (67100).

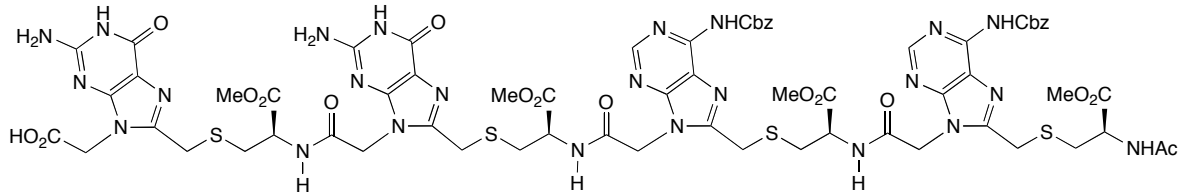
IR (ATR): 3477*w*, 3310*w*, 3204*w*, 3062*w*, 3031*w*, 3004*w*, 2984*w*, 2950*w*, 1736*s*, 1694*m*, 1660*m*, 1612*s*, 1590*s*, 1524*s*, 1447*m*, 1437*m*, 1409*m*, 1368*m*, 1342*m*, 1320*m*, 1212*s*, 1162*s*, 1108*w*, 1028*m*, 982*w*, 947*w*, 915*w*, 894*w*, 848*w*, 790*w*, 779*w*, 740*m*, 697*m*, 658.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.59 (*s*, NH–C(6'/III), NH–C(6'/IV), H–N(1'/II)); 9.14 (*d*, *J* = 7.5, NH–C(2'/II)); 9.01 (*d*, *J* = 7.7, NH–C(2'/III)); 8.84 (*d*, *J* = 7.8, NH–C(2'/I)); 8.57, 8.56 (2*s*, H–C(2'/III), H–C(2'/IV)); 8.32 (*d*, *J* = 7.9, NH–C(2'/IV)); 7.50–7.26 (*m*, 15 arom. H); 6.53 (*br. s*, NH<sub>2</sub>/I); 6.48 (*br. s*, NH<sub>2</sub>/II); 5.50, 5.47 (2*d*, *J* = 12.6, PhCH<sub>2</sub>/I); 5.21 (*s*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 5.12, 5.08 (2*d*, *J* = 18.0, CH<sub>2</sub>–N(9'/III)); 5.06 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(9'/IV)); 4.82, 4.77 (2*d*, *J* = 18.1, CH<sub>2</sub>–N(9'/I)); 4.71 (*s*, CH<sub>2</sub>–N(9'/II)); 4.60–4.43 (*m*, H–C(2'/I), H–C(2'/II), H–C(2'/III), H–C(2'/IV)); 4.11 (*d*, *J* = 15.0), 4.07 (*d*, *J* = 14.9) (CH<sub>2</sub>–C(8'/III)); 4.01 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(8'/IV)); 3.94 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(8'/I)); 3.79 (*s*, CH<sub>2</sub>–C(8'/II)); 3.60, 3.57, 3.56, 3.55 (4*s*, MeO/I, MeO/II, MeO/III, MeO/IV); 2.99–2.65 (*m*, 2 H–C(3'/I), 2 H–C(3'/II), 2 H–C(3'/III), 2 H–C(3'/IV)); 1.80 (*s*, AcNH); 1.39 (*s*, Me<sub>3</sub>C).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.07, 170.64, 170.54, 170.48 (4*s*, CO<sub>2</sub>Me/I, CO<sub>2</sub>Me/II, CO<sub>2</sub>Me/III, CO<sub>2</sub>Me/IV); 169.39 (*s*, NHCOMe); 166.60 (*s*, CO<sub>2</sub>Bu); 166.42 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/II); 166.18 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/IV); 166.11 (*s*, NHCOCH<sub>2</sub>/III); 159.70 (*s*, C(2'/I)); 159.40 (*s*, C(6'/I)); 156.44, 153.64 (2*s*, C(2'/II), C(6'/II)); 155.93 (*s*, C(4'/I)); 153.56, 153.54 (2*s*, C(4'/III), C(4'/IV)); 152.74 (*s*, C(4'/II)); 152.13 (2*s*, NHCO<sub>2</sub>Bn/III, NHCO<sub>2</sub>Bn/IV); 151.96 (*s*, C(8'/IV)); 151.87 (*s*, C(8'/III)); 151.38 (*d*, C(2'/III), C(2'/IV)); 148.52, 148.50 (2*s*, C(6'/III), C(6'/IV)); 146.17 (*s*, C(8'/I)); 144.09 (*s*, C(8'/II)); 136.60, 136.36, 136.34 (3*s*); 128.39 (2*d*); 128.38 (2*d*); 128.36 (2*d*); 128.36 (2*d*); 128.00, 127.95, 127.94 (3*d*); 127.83 (2*d*); 127.82 (2*d*); 122.35 (*s*, C(5'/III), C(5'/IV)); 114.98 (*s*, C(5'/II)); 112.27 (*s*, C(5'/I)); 81.96 (*s*, Me<sub>3</sub>C); 66.91 (*t*, PhCH<sub>2</sub>/I); 66.25, 66.21 (2*t*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 52.16, 52.15, 52.13, 51.99, 51.97, 51.62 (3*d*, 4*q*, C(2'/I), C(2'/II), C(2'/III), MeO/I, MeO/II, MeO/III, MeO/IV); 51.44 (*d*, C(2'/IV)); 44.22 (*t*, CH<sub>2</sub>–N(9'/III), CH<sub>2</sub>–N(9'/IV)); 43.95, 43.80 (2*t*, CH<sub>2</sub>–N(9'/I), CH<sub>2</sub>–N(9'/II)); 32.35 (*t*, C(3'/IV)); 32.24 (*t*, C(3'/III)); 32.00, 31.97 (2*t*, C(3'/I), C(3'/II)); 27.62 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 27.58, 27.41, 27.27 (3*t*, CH<sub>2</sub>–C(8'/I), CH<sub>2</sub>–C(8'/II), CH<sub>2</sub>–C(8'/III), CH<sub>2</sub>–C(8'/IV)); 22.20 (*q*, MeC=O).

HR-MALDI-MS: 1795.5383 (2, [*M* + H]<sup>+</sup>, C<sub>77</sub>H<sub>87</sub>N<sub>24</sub>O<sub>20</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1795.5411), 1709.4311 (14, [*M* – BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>70</sub>H<sub>78</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>19</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1709.4656), 1687.4395 (13, [*M* – BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>70</sub>H<sub>79</sub>N<sub>24</sub>O<sub>19</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1687.4836), 1617.3409 (14, [*M* – 2 BnOH + K]<sup>+</sup>, C<sub>63</sub>H<sub>70</sub>KN<sub>24</sub>O<sub>18</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1617.3820), 1601.3753 (100, [*M* – 2 BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>63</sub>H<sub>70</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>18</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1601.4080), 1579.4038 (51, [*M* – 2 BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>63</sub>H<sub>71</sub>N<sub>24</sub>O<sub>18</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1579.4261).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-[S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester]-{S-[9-( $\omega$ -carbonylmethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[9-(carboxymethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester (**133**).



Eine Suspension aus **132** (689 mg, 384  $\mu$ mol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3.8 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (613  $\mu$ l, 3.84 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (1.18 ml, 15.35 mmol) versetzt und 12 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit  $^1\text{Pr}_2\text{O}$  (50 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $^1\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Trocknen ergab **133** (614 mg, 97%). Weisses Pulver.

Smp. 157.7–161.3°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -31.7$  ( $c = 0.5$ , DMSO).

UV ( $\text{CHCl}_3$ ): 273 (42500).

IR (ATR): 3306w, 3213w, 3063w, 3036w, 2972w, 2936w, 2880w, 1738m, 1668s, 1616s, 1592s, 1538m, 1499m, 1453m, 1438m, 1415m, 1367m, 1324m, 1288m, 1200s, 1169s, 1129s, 1029m, 1013m, 975w, 903w, 830w, 797w, 782w, 768w, 745w, 719m, 697m.

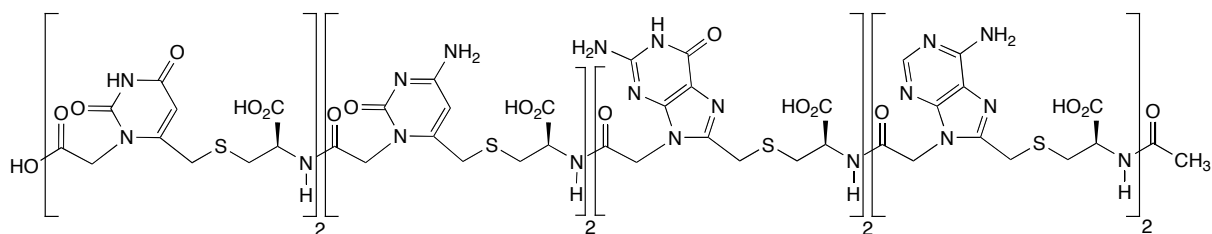
$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.73, 10.69 (2s, NH-C(6'/III), NH-C(6'/IV)), 10.68 (2s, H-N(1'/I), H-N(1'/II)); 9.11 (*d*,  $J = 7.5$ , NH-C(2'/II)); 9.00 (*d*,  $J = 7.7$ , NH-C(2'/III)); 8.94 (*d*,  $J = 7.6$ , NH-C(2'/I)); 8.58, 8.56 (2s, H-C(2'/III), H-C(2'/IV)); 8.31 (*d*,  $J = 7.9$ , NH-C(2'/IV)); 7.50–7.26 (*m*, 10 arom. H); 6.63, 6.58 (2 br. *s*,  $\text{NH}_2/\text{I}$ ,  $\text{NH}_2/\text{II}$ ); 5.24 (*s*,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{IV}$ ); 5.12 (*d*,  $J = 17.8$ ), 5.09 (*d*,  $J = 17.5$ ) ( $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{III})$ ); 5.08 (*d*,  $J = 18.1$ ), 5.05 (*d*,  $J = 17.7$ ) ( $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{IV})$ ); 4.83 (*d*,  $J = 17.7$ ), 4.78 (*d*,  $J = 17.8$ ) ( $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 4.77 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 4.59–4.49 (*m*, H-C(2'/I), H-C(2'/II), H-C(2'/III)); 4.47 (*td*,  $J = 8.4$ , 5.2, H-C(2'/IV)); 4.11 (*d*,  $J = 14.9$ ), 4.07 (*d*,  $J = 14.8$ ) ( $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ); 4.03 (*d*,  $J = 15.1$ ), 4.00 (*d*,  $J = 14.8$ ) ( $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{IV})$ ); 3.97, 3.93 (2*d*,  $J = 14.6$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 3.88 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 3.62, 3.61, 3.57 (3*s*, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 3.55 (*s*, MeO/IV); 2.99–2.72 (*m*, 2 H-C(3'/I), 2 H-C(3'/II), 2 H-C(3'/III), 2 H-C(3'/IV)); 1.80 (*s*, AcNH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 171.04 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{IV}$ ); 170.58, 170.50, 170.46 (3*s*,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{I}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{II}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me}/\text{III}$ ); 169.38 (*s*,  $\text{NHCOMe}$ ); 168.79 (*s*,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 166.14, 166.11 (2*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II}$ ,  $\text{NHCOCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{NHCOCH}_2/\text{IV}$ ); 156.05, 155.89, 153.95, 153.90 (4*s*, C(2'/I), C(2'/II), C(6'/I), C(6'/II)); 153.52, 153.50 (2*s*, C(4'/III), C(4'/IV)); 152.49, 152.47 (2*s*, C(4'/I), C(4'/II)); 152.17 (2*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{III}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn}/\text{IV}$ ); 152.04, 151.95 (2*s*, C(8'/III), C(8'/IV)); 151.22 (2*d*, C(2'/III), C(2'/IV)); 148.41, 148.39 (2*s*, C(6'/III), C(6'/IV)); 144.44 (*s*, C(8'/II)); 144.01 (*s*, C(8'/I)); 136.32, 136.29 (2*s*); 128.37 (2*d*); 128.35 (2*d*); 127.95, 127.94 (2*d*); 127.82 (2*d*); 127.81 (2*d*); 122.20 (*s*, C(5'/III), C(5'/IV)); 66.30, 66.26 (2*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{IV}$ ); 52.20, 52.17, 52.12 (3*q*, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 52.03 (*d*, C(2'/II)); 51.98 (*d*,

C(2/III)); 51.96 (*d, q*, C(2/I), MeO); 51.43 (*d*, C(2/IV)); 44.27, 44.24 (*2t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/III), CH<sub>2</sub>-N(9'/IV)); 44.01 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 43.51 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/I)); 32.38 (*t*, C(3/IV)); 32.26 (*t*, C(3/III)); 32.10 (*t*, C(3/II)); 32.03 (*t*, C(3/I)); 27.60, 27.40, 27.18, 27.11 (*4t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I), CH<sub>2</sub>-C(8'/II), CH<sub>2</sub>-C(8'/III), CH<sub>2</sub>-C(8'/IV)); 22.19 (*q*, MeC=O).

HR-MALDI-MS: 1671.4028 (35, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>66</sub>H<sub>72</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>20</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1671.4135), 1649.4272 (39, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>66</sub>H<sub>73</sub>N<sub>24</sub>O<sub>20</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1649.4316), 1563.3683 (100, [M - BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>59</sub>H<sub>64</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>19</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1563.3560), 1541.3932 (70, [M - BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>59</sub>H<sub>65</sub>N<sub>24</sub>O<sub>19</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1541.3741), 1455.3195 (100, [M - 2 BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>52</sub>H<sub>56</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>18</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1455.2985).

{N-Acetyl-S-[9-(ω-carboxymethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein}-S-[9-(ω-carboxymethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein}-S-[9-(ω-carboxymethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein}<sub>2</sub>-S-[1-(ω-carboxymethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein}<sub>2</sub>-S-[1-(ω-carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein}-S-[1-(carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein (**135**).



Eine Lösung aus **123** (200 mg, 130 μmol) und **133** (236 mg, 143 μmol) in DMF/DMSO 4:1 (1.45 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit Pr<sub>2</sub>NEt (33.3 μl, 195 μmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (54.3 mg, 143 μmol) in DMF (150 μl) während 30 min. Das Gemisch wurde für 3 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft, und das Rohprodukt mit H<sub>2</sub>O ausgefällt. Der Feststoff wurde abfiltriert, zerrieben, mehrmals mit H<sub>2</sub>O und Et<sub>2</sub>O gewaschen und getrocknet.

Eine Lösung dieses Feststoffs in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/Triisopropylsilan 9:1 wurde 4 h bei 80° erhitzt und auf RT abgekühlt. Das Volumen an CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O versetzt. Abfiltrieren des Niederschlags, Zerreiben, mehrmaliges Waschen mit Et<sub>2</sub>O und Trocknen ergab das NCbz-entschütztes Rohprodukt zusammen mit kleinen Mengen an NCbz-entschütztem **133** (322 mg, ca. 96%).

Eine wässr. 1 M Lösung aus LiOH (2.32 ml) wurde auf 2° gekühlt, mit dem NCbz-entschützten Rohprodukt (298 mg, 116 μmol) versetzt und 14 h bei 2° gerührt. Die Lösung wurde mit wässr. 1 M HCl neutralisiert und bei 30° eingedampft. GPC an *Sephadex G25* (2 M wässr. NH<sub>3</sub>-Lösung) und Eindampfen ergab das Ammoniumsalz von **135**. Neutralisation an *Amberlite IR-120* (H<sup>+</sup>-Form), Abpipettieren der Suspension von **135** vom abgesetzten Ionenaustauscher und Gefriertrocknen ergab **135** (244 mg, 86%). Gelbes Pulver.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -45.6 (*c* = 0.25, DMSO).

UV (10 mM Phosphat-Puffer pH 8, 100 mM NaCl): 202 (170000), 271 (95000).

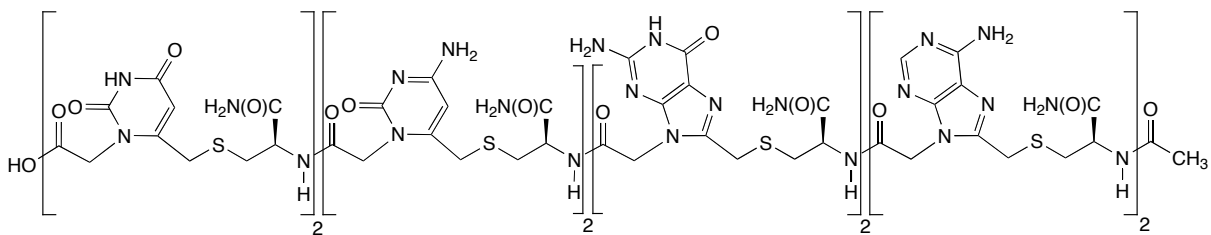
IR (ATR): 3277*m*, 3173*m*, 3070*m*, 3028*m*, 2970*m*, 2945*m*, 2867*w*, 2803*w*, 1737*m*, 1657*s*, 1584*s*, 1535*s*, 1445*m*, 1417*s*, 1380*s*, 1331*m*, 1305*m*, 1289*m*, 1228*m*, 1217*m*, 1205*m*, 1143*w*, 1106*w*, 1093*w*, 1060*w*, 978*w*, 900*w*, 836*w*, 796*w*, 779*w*, 695*w*, 681*w*, 667*w*.

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 12.94 (br. s, 9  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 11.41, 11.37 (2s,  $\text{H-N}(3'/\text{I})$ ,  $\text{H-N}(3'/\text{II})$ ); 10.64 (s,  $\text{H-N}(1'/\text{V})$  or  $\text{H-N}(1'/\text{VI})$ ); 10.62, 10.58 (2s,  $\text{H-N}(1'/\text{V})$  or  $\text{H-N}(1'/\text{VI})$ ); 8.95–8.62 (m,  $\text{NH-C}(2/\text{I-VII})$ ); 8.19 (d,  $J = 8.2$ ,  $\text{NH-C}(2/\text{VIII})$ ); 8.10 (s,  $\text{H-C}(2'/\text{VII})$ ,  $\text{H-C}(2'/\text{VIII})$ ); 7.51 (br. s,  $\text{NH}_2/\text{III}$ ,  $\text{NH}_2/\text{IV}$ ); 7.21 (br. s,  $\text{NH}_2/\text{VII}$ ,  $\text{NH}_2/\text{VIII}$ ); 6.56, 6.48 (2 br. s,  $\text{NH}_2/\text{V}$ ,  $\text{NH}_2/\text{VI}$ ); 5.86, 5.83 (2s,  $\text{H-C}(5'/\text{III})$ ,  $\text{H-C}(5'/\text{IV})$ ); 5.68 (d,  $J = 1.5$ ), 5.67 (s) ( $\text{H-C}(5'/\text{I})$ ,  $\text{H-C}(5'/\text{II})$ ); 5.02, 4.98 (2d,  $J = 17.8$ ), 4.98 (s) ( $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VII})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VIII})$ ); 4.78, 4.76 (2 br. s,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{V})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VI})$ ); 4.83–4.55 (m,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II-IV})$ ); 4.58–4.37 (m,  $\text{H-C}(2/\text{I-VIII})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 4.01 (s), 3.95, 3.92 (2d,  $J = 15.2$ ) ( $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{VII})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{VIII})$ ); 4.05–3.73 (m,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{V})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{VI})$ ); 3.72–3.50 (m,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I-IV})$ ); 2.99–2.72 (m, 2  $\text{H-C}(3/\text{I-VIII})$ ); 1.82 (s,  $\text{AcNH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 172.05 (s,  $\text{CO}_2\text{H}/\text{VIII}$ ); 171.62, 170.58, 171.55, 171.53, 171.48, (5s,  $\text{CO}_2\text{H}/\text{I-VII}$ ); 169.58 (s,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}/\text{I}$ ); 169.34 (s,  $\text{NHCOMe}$ ); 167.56, 167.14, 166.42, 166.40, 166.32 (5s,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II-VIII}$ ); 163.95, 163.26 (2 br. s,  $\text{C}(4'/\text{III})$ ,  $\text{C}(4'/\text{IV})$ ); 162.23, 162.17 (2s,  $\text{C}(4'/\text{I})$ ,  $\text{C}(4'/\text{II})$ ); 156.47, 156.43 (2s,  $\text{C}(2'/\text{III})$ ,  $\text{C}(2'/\text{IV})$ ,  $\text{C}(2'/\text{V})$ ,  $\text{C}(2'/\text{VI})$ ); 155.14, 155.09 (2s,  $\text{C}(6'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(6'/\text{VIII})$ ); 153.64 (2s,  $\text{C}(6'/\text{V})$ ,  $\text{C}(6'/\text{VI})$ ); 153.39 (s,  $\text{C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{C}(6'/\text{IV})$ ); 152.75, 152.69 (2s,  $\text{C}(4'/\text{V})$ ,  $\text{C}(4'/\text{VI})$ ); 152.15 (br. d,  $\text{C}(2'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(2'/\text{VIII})$ ); 151.93, 151.81, 151.74, 151.71 (4s,  $\text{C}(2'/\text{I})$ ,  $\text{C}(2'/\text{II})$ ,  $\text{C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{C}(6'/\text{II})$ ); 151.07, 151.05 (2s,  $\text{C}(4'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(4'/\text{VIII})$ ); 148.42, 148.29 (2s,  $\text{C}(8'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(8'/\text{VIII})$ ); 144.38, 144.33 (2s,  $\text{C}(8'/\text{V})$ ,  $\text{C}(8'/\text{VI})$ ); 117.39, 117.38 (2s,  $\text{C}(5'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(5'/\text{VIII})$ ); 114.89, 114.88 (2s,  $\text{C}(5'/\text{V})$ ,  $\text{C}(5'/\text{VI})$ ); 102.54, 102.44 (2d,  $\text{C}(5'/\text{I})$ ,  $\text{C}(5'/\text{II})$ ); 94.73 (2d,  $\text{C}(5'/\text{III})$ ,  $\text{C}(5'/\text{IV})$ ); 52.32, 52.15, 52.10, 52.05, 51.93 (5d,  $\text{C}(2/\text{I-VII})$ ); 51.36 (d,  $\text{C}(2/\text{VIII})$ ); 45.59, 45.23, 44.57 (3t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{II-IV})$ ); 44.80 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I})$ ); 44.00 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VII})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VIII})$ ); 43.90, 43.87 (2t,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{V})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{VI})$ ); 32.86, 32.61, 32.52, 32.43, 32.35, 32.27, 32.12, 32.04, 31.77 (9t,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I-IV})$ ,  $\text{C}(3/\text{I-VIII})$ ); 27.81, 27.71 (2t,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{V-VIII})$ ); 22.29 (q,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 2463.4964 ( $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{86}\text{H}_{99}\text{N}_{38}\text{O}_{34}\text{S}_8^+$ ; ber. 2463.4952).

{N-Acetyl-S-[9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-amid}- $\{S$ -[9-( $\omega$ -carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-amid}- $\{S$ -[9-( $\omega$ -carbonylmethyl)guanin-8-methyl]-L-cystein-amid} $\}_2$ - $\{S$ -[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein-amid} $\}_2$ - $\{S$ -[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-amid}- $S$ -[1-(carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein-amid (**136**).





Eine Lösung von **133** (20 mg, 7.76  $\mu$ mol) in konz. wässr.  $\text{NH}_3$  wurde 48 h bei 2° gerührt. GPC an *Sephadex G25* (2 M wässr.  $\text{NH}_3$ -Lösung), Abdampfen des  $\text{NH}_3$  und Gefriertrocknen ergab **136** (19 mg, 99%). Gelbes Pulver.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -5.6$  ( $c = 0.25$ , DMSO).

UV (10 mM Phosphat-Puffer pH 7, 100 mM NaCl): 204 (187600), 271 (105400).

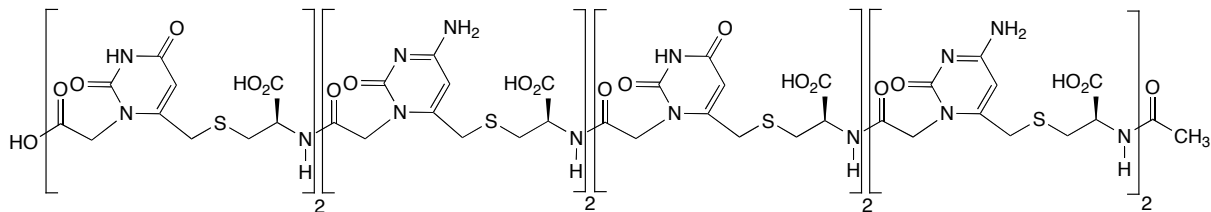
IR (ATR): 3297 $m$ , 3194 $m$ , 3063 $w$ , 2940 $w$ , 2801 $w$ , 1660 $s$ , 1603 $s$ , 1532 $m$ , 1504 $m$ , 1396 $s$ , 1329 $w$ , 1306 $w$ , 1201 $s$ , 1187 $s$ , 1130 $m$ , 1040 $m$ , 1009 $w$ , 983 $w$ , 919 $w$ , 862 $w$ , 841 $w$ , 800 $w$ , 780 $w$ , 741 $w$ , 724 $w$ , 697 $w$ .

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 12.96 (br. s,  $\text{CO}_2\text{H}$ ); 11.39, 11.34 (2s, H-N(3'/I), H-N(3'/II)); 10.63 (s, H-N(1'/V) or H-N(1'/VI)); 10.61, 10.56 (2s, H-N(1'/V) or H-N(1'/VI)); 8.90–8.45 (m, NH-C(2/I–VII)); 8.08 (s, H-C(2'/VII), H-C(2'/VIII)); 8.05 (d,  $J = 8.5$ , NH-C(2'/VIII)); 7.65–6.80 (m, 8  $\text{CONH}_2$ ,  $\text{NH}_2$ -C(4'/III),  $\text{NH}_2$ -C(4'/IV),  $\text{NH}_2$ -C(6'/VII),  $\text{NH}_2$ -C(6'/VIII)); 6.57, 6.53, 6.50, 6.44 (4s,  $\text{NH}_2$ -C(2'/V),  $\text{NH}_2$ -C(2'/VI)); 5.78 (s, H-C(5'/III), H-C(5'/IV)); 5.70 (s, H-C(5'/I), H-C(5'/II)); 4.99, 4.97 (2s,  $\text{CH}_2$ -N(9'/VII),  $\text{CH}_2$ -N(9'/VIII)); 4.78, 4.74 (2s,  $\text{CH}_2$ -N(9'/V),  $\text{CH}_2$ -N(9'/VI)); 4.62–4.59 (m,  $\text{CH}_2$ -N(1'/II–IV)); 4.58–4.32 (m, H-C(2/I–VIII),  $\text{CH}_2$ -N(1'/I)); 4.00 (s), 3.97, 3.93 (2d,  $J = 14.4$ ) ( $\text{CH}_2$ -C(8'/VII),  $\text{CH}_2$ -C(8'/VIII)); 3.91–3.51 (m,  $\text{CH}_2$ -C(8'/V),  $\text{CH}_2$ -C(8'/VI),  $\text{CH}_2$ -C(6'/I–IV)); 2.99–2.65 (m, 2 H-C(3/I–VIII)); 1.82 (s, AcNH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz, ( $\text{D}_6$ )DMSO): 172.13 (s,  $\text{CONH}_2$ /VIII); 171.70, 171.67, 171.58, 171.53 (4s,  $\text{CONH}_2$ /I–VII); 169.91 (s,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}/\text{I}$ ); 169.35 (s, NHCOME); 167.97, 167.88, 167.12, 166.37, 166.33, 166.29, 166.25 (7s,  $\text{NHCOCH}_2$ /II–VIII); 164.85 (br. s, C(4'/III), C(4'/IV)); 162.31, 162.27 (2s, C(4'/I), C(4'/II)); 157.83, 157.62, 156.51, 156.46 (4s, C(2'/III), C(2'/IV), C(2'/V), C(2'/VI)); 155.20 (s, C(6'/VII), C(6'/VIII)); 153.70, 153.65 (2s, C(6'/V), C(6'/VI)); 153.70, 153.65 (2s, C(6'/III), C(6'/IV)); 152.97, 152.78, 152.69, 152.62, 152.56, 152.24, 151.89, 151.81 (6s, 2d, C(4'/V), C(4'/VI), C(2'/I), C(2'/II), C(6'/I), C(6'/II), C(2'/VII), C(2'/VIII)); 150.98 (s, C(4'/VII), C(4'/VIII)); 148.51, 148.44 (2s, C(8'/VII), C(8'/VIII)); 144.60, 144.57 (2s, C(8'/V), C(8'/VI)); 117.41 (s, C(5'/VII), C(5'/VIII)); 114.86 (s, C(5'/V), C(5'/VI)); 102.19 (d, C(5'/I), C(5'/II)); 94.66, 94.62 (2d, C(5'/III), C(5'/IV)); 52.38, 52.30, 52.26, 52.16, 52.13 (5d, C(2/I–VII)); 51.62 (d, C(2'/VIII)); 45.75, 44.93 (2t,  $\text{CH}_2$ -N(1'/I–IV)); 44.23 (t,  $\text{CH}_2$ -N(9'/VII),  $\text{CH}_2$ -N(9'/VIII)); 43.98 (t,  $\text{CH}_2$ -N(9'/V),  $\text{CH}_2$ -N(9'/VI)); 33.76, 33.57, 33.38, 32.72, 32.43, 32.16 (6t,  $\text{CH}_2$ -C(6'/I–IV), C(3/I–VIII)); 27.66 (t,  $\text{CH}_2$ -C(8'/V–VIII)); 22.46 (q, MeC=O).

HR-MALDI-MS: 2455.6289 ( $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{86}\text{H}_{107}\text{N}_{46}\text{O}_{26}\text{S}_8^+$ ; ber. 2455.6230).

{N-Acetyl-S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein}-[S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein]-{S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein}<sub>2</sub>-{S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)cytosin-6-methyl]-L-cystein}<sub>2</sub>-{S-[1-( $\omega$ -carbonylmethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein}-S-[1-(carboxymethyl)uracil-6-methyl]-L-cystein (**137**).



Eine Lösung aus **123** (66.7 mg, 43.4  $\mu$ mol) und **125** (72.7 mg, 47.7  $\mu$ mol) in DMF/DMSO 2:1 (500  $\mu$ l) wurde auf 0° gekühlt und mit  $i$ Pr<sub>2</sub>NEt (11.1  $\mu$ l, 65.1  $\mu$ mol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (18.1 mg, 47.1  $\mu$ mol) in DMF (130  $\mu$ l) während 30 min. Das Gemisch wurde für 5 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt mit H<sub>2</sub>O ausgefällt. Der Feststoff wurde abfiltriert, zerrieben, mehrmals mit H<sub>2</sub>O gewaschen und getrocknet.

Eine Lösung dieses Feststoffs in CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H/Triisopropylsilan 9:1 wurde 4 h auf 80° erhitzt und auf RT abgekühlt. Das Volumen an CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H wurde mit einem Stickstoffstrom verkleinert und der Rückstand mit Et<sub>2</sub>O versetzt. Abfiltrieren des Niederschlags, Zerreiben, Waschen mit Et<sub>2</sub>O und Trocknen ergab das NCbz-entschütztes Rohprodukt zusammen mit kleinen Mengen an NCbz-entschütztem **125** (101 mg, ca. 95%).

Eine wässr. 1 M Lösung aus LiOH (816  $\mu$ l) wurde auf 2° gekühlt, mit dem NCbz-entschützten Rohprodukt (100 mg, 40.8  $\mu$ mol) versetzt und 14 h bei 2° gerührt. Die Lösung wurde mit wässr. 1 M HCl auf pH 8 gebracht und bei 30° eingedampft. GPC an Sephadex G15 (H<sub>2</sub>O) und Eindampfen ergab das Lithiumsalz von **137**. Neutralisation an Amberlite IR-120 (H<sup>+</sup>-Form), Abpipettieren der Suspension von **137** vom abgesetzten Ionenaustascher und Gefriertrocknen ergab **137** (93.2 mg, 98%). Gelbes Pulver.

$[\alpha]_D^{25} = -10.4$  ( $c = 0.25$ , DMSO).

UV (10 mM Phosphat-Puffer pH 7, 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA): 202 (150600), 273 (73000).

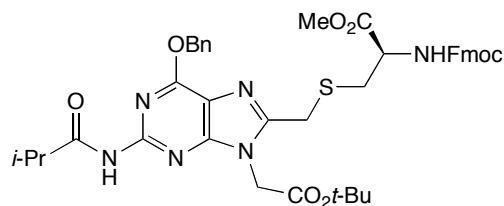
IR (ATR): 3273<sub>w</sub>, 3197<sub>w</sub>, 3075<sub>w</sub>, 2971<sub>w</sub>, 2861<sub>w</sub>, 2793<sub>w</sub>, 2642<sub>w</sub>, 1630<sub>s</sub>, 1587<sub>s</sub>, 1530<sub>s</sub>, 1481<sub>m</sub>, 1388<sub>s</sub>, 1366<sub>s</sub>, 1310<sub>m</sub>, 1258<sub>m</sub>, 1232<sub>m</sub>, 1217<sub>m</sub>, 1003<sub>w</sub>, 984<sub>w</sub>, 925<sub>w</sub>, 834<sub>w</sub>, 787<sub>w</sub>, 765<sub>w</sub>, 681<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 11.34 (br. *s*, H-N(3'/I), H-N(3'/II), H-N(3'/V), H-N(3'/VI)); 8.76–8.41 (*m*, NH-C(2/I–VII)); 8.17 (*d*,  $J = 7.7$ , NH-C(2/VIII)); 7.39, 7.28, 7.18, 7.05 (4 br. *s*, NH<sub>2</sub>/III, NH<sub>2</sub>/IV, NH<sub>2</sub>/VII, NH<sub>2</sub>/VIII); 5.82, 5.80, 5.78 (3*s*, H-C(5'/III), H-C(5'/IV), H-C(5'/VII), H-C(5'/VIII)); 5.68, 5.66 (2*s*, H-C(5'/I), H-C(5'/II), H-C(5'/V), H-C(5'/VI)); 4.80–4.54 (*m*, CH<sub>2</sub>-N(1'/II–VIII)); 4.51 (*d*,  $J = 17.6$ ), 4.46 (*d*,  $J = 18.0$ ) (CH<sub>2</sub>-N(1'/I)); 4.44–4.32 (*m*, H-C(2/I–VIII)); 3.66–3.45 (*m*, CH<sub>2</sub>-C(6'/I–VIII)); 3.04–2.69 (*m*, 2 H-C(3'/I–VIII)); 1.86 (*s*, AcNH).

$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 172.20, 171.97, 171.93, 171.75 (4s,  $\text{CO}_2\text{H/I-VIII}$ ); 169.76 (s,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H/I}$ ); 169.29 (s,  $\text{NHCOMe}$ ); 167.74, 167.61, 167.03 (3s,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II-VIII}$ ); 164.64 (s,  $\text{C}(4'/\text{III})$ ,  $\text{C}(4'/\text{IV})$ ,  $\text{C}(4'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(4'/\text{VIII})$ ); 162.29, 162.25 (2s,  $\text{C}(4'/\text{I})$ ,  $\text{C}(4'/\text{II})$ ,  $\text{C}(4'/\text{V})$ ,  $\text{C}(4'/\text{VI})$ ); 156.80, 156.63, 156.58, (3s,  $\text{C}(2'/\text{III})$ ,  $\text{C}(2'/\text{IV})$ ,  $\text{C}(2'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(2'/\text{VIII})$ ); 153.08, 152.80, 152.76 (3s,  $\text{C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{C}(6'/\text{IV})$ ,  $\text{C}(6'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(6'/\text{VIII})$ ); 152.27, 152.16 (2s,  $\text{C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{C}(6'/\text{II})$ ,  $\text{C}(6'/\text{V})$ ,  $\text{C}(6'/\text{VI})$ ); 151.89, 151.85, 151.82, 151.77 (4s,  $\text{C}(2'/\text{I})$ ,  $\text{C}(2'/\text{II})$ ,  $\text{C}(2'/\text{V})$ ,  $\text{C}(2'/\text{VI})$ ); 102.24 (d,  $\text{C}(5'/\text{I})$ ,  $\text{C}(5'/\text{II})$ ,  $\text{C}(5'/\text{V})$ ,  $\text{C}(5'/\text{VI})$ ); 94.61, 94.57, 94.52 (3d,  $\text{C}(5'/\text{III})$ ,  $\text{C}(5'/\text{IV})$ ,  $\text{C}(5'/\text{VII})$ ,  $\text{C}(5'/\text{VIII})$ ); 52.77, 52.64, 52.44, 52.22 (4d,  $\text{C}(2/\text{I-VII})$ ); 51.81 (d,  $\text{C}(2/\text{VIII})$ ); 45.36, 45.12, 45.03, 44.60, 44.56 (5t,  $\text{CH}_2\text{-N}(1'/\text{I-VIII})$ ); 33.39–32.57 (several t,  $\text{C}(3/\text{I-VIII})$ ); 32.46 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{IV})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{VII})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{VIII})$ ); 32.19, 32.13, 32.11 (3t,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{V})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(6'/\text{VI})$ ), 22.40 (q,  $\text{MeC=O}$ ).

HR-MALDI-MS: 2337.4269 ( $[M + H]^+$ ,  $\text{C}_{82}\text{H}_{97}\text{N}_{28}\text{O}_{38}\text{S}_8^+$ ; ber. 2337.4284).

*S*-{ $\text{O}^6$ -Benzyl- $\text{N}^2$ -isobutyryl-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-*N*-Fmoc-L-cystein-methylester (**138**).



Eine Lösung aus **86** (3.09 g, 4.26 mmol) in Pyridin (17 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, tropfenweise während 30 min mit Isobutyrylchlorid (770  $\mu\text{l}$ , 6.39 mmol) versetzt und für 2 h bei  $0^\circ$  gerührt. Die Suspension wurde auf  $\text{H}_2\text{O}$  gegossen und mit AcOEt (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und der Rückstand mehrmals azeotrop mit Toluol eingedampft. FC (AcOEt/Cyclohexan 1:1) ergab **138** (4.22 g, 99%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.61.

Smp. 139.8–140.1 $^\circ$ .

$[\alpha]_D^{25} = +22.3$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 266 (34920), 213 (40500).

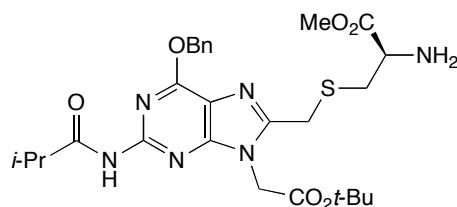
IR (ATR): 3348w, 3214w, 3144w, 3094w, 3066w, 3014w, 2999w, 2970w, 2950w, 2905w, 2871w, 1733s, 1697m, 1678m, 1606s, 1523m, 1498m, 1477w, 1444m, 1392m, 1368s, 1351s, 1309w, 1281m, 1242s, 1236s, 1218s, 1159s, 1095m, 1072w, 1054m, 1018m, 1013m, 997w, 948w, 936w, 909w, 884w, 858m, 833w, 797w, 776w, 754m, 732s, 696m, 678w, 645w, 620w.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 10.35 (s,  $\text{NH-C}(2')$ ); 7.90–7.25 (m, 13 arom. H,  $\text{NH-C}(2)$ ); 5.62 (s,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.94 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 4.30–4.19 (m,  $\text{H-C}(2)$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ,  $\text{H-C}(9''')$ ); 4.04 (s,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 3.57 (s, MeO); 2.97 (sept,  $J = 6.7$ ,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ); 2.83 (dd,  $J = 13.8, 5.1$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.70 (dd,  $J = 13.7, 9.7$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.39 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 1.09 (d,  $J = 6.6$ ,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 175.31 (s,  $\text{NHCO}^i\text{Bu}$ ); 171.12 (s,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 166.25 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 158.97 (s,  $\text{C}(6')$ ); 155.86 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 154.67 (s,  $\text{C}(4')$ ); 151.95 (s,  $\text{C}(2')$ ); 149.69 (s,  $\text{C}(8')$ ); 143.68 (2s); 140.67 (2s); 136.24 (s); 128.68–120.05 (13d); 115.72 (s,  $\text{C}(5')$ ); 82.22 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.74 (t,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.76 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 52.96 (d,  $\text{C}(2)$ ); 52.02 (q, MeO); 46.55 (d,  $\text{C}(9'')$ ); 44.27 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 34.12 (d,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ); 32.01 (t,  $\text{C}(3)$ ); 27.55 (q,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.06 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 19.26 (q,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ).

HR-MALDI-MS: 833.2718 (9,  $[M + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{KN}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 833.2735), 817.2977 (50,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{NaO}_8\text{S}^+$ ; ber. 817.2996), 795.3171 (100,  $[M + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{42}\text{H}_{47}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 795.3176), 777.2065 (3,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{K}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{KN}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 777.2109), 761.2342 (31,  $[M - ^t\text{Bu} + \text{H} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{NaO}_8\text{S}^+$ ; ber. 761.2370), 739.2522 (47,  $[M - ^t\text{Bu} + 2 \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{38}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}^+$ ; ber. 739.2550).

S- $\{O^6$ -Benzyl- $N^2$ -isobuturyl-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**139**).



Eine Lösung aus **138** (2.5 g, 3.14 mmol) in DMF (21 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit Piperidin versetzt (3.11 ml, 31.4 mmol) und für 1 h bei  $0^\circ$  gerührt. Eindampfen, Adsorption des Rohprodukts an Kieselgel und FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  98:2  $\rightarrow$  9:1) ergab **139** (2.99 g, 95%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.32.

Smp. 147.2–147.5 $^\circ$ .

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +15.0$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 279 (24620), 218 (29380).

IR (ATR): 3352w, 3290w, 3212w, 3091w, 3062w, 3031w, 2970w, 2935w, 2873w, 1731s, 1683w, 1607s, 1593s, 1514w, 1498w, 1455m, 1432s, 1381s, 1369s, 1351s, 1306w, 1278w, 1230s, 1205m, 1184m, 1152s, 1093s, 1049w, 1029w, 1008w, 959w, 938w, 912w, 859m, 825w, 792m, 771w, 740m, 696m, 678w, 664w, 648w, 619w.

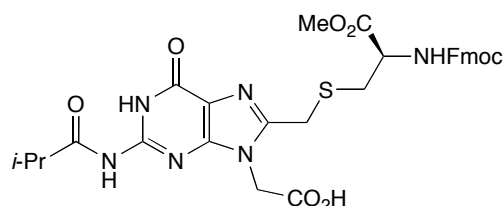
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 7.84 (s,  $\text{NH-C}(2')$ ); 7.60–7.25 (m, 5 arom. H); 5.59 (s,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.92 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(9')$ ); 3.95 (s,  $\text{CH}_2\text{-C}(8')$ ); 3.65 (s, MeO); 3.63 (dd,  $J = 7.5, 4.9$ ,  $\text{H-C}(2)$ ); 3.40–3.23 (br. s,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ); 2.85 (dd,  $J = 13.6, 4.9$ ,  $\text{H}_a\text{-C}(3)$ ); 2.68 (dd,  $J = 13.6, 7.5$ ,  $\text{H}_b\text{-C}(3)$ ); 1.46 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 1.25 (d,  $J = 6.6$ ,  $\text{Me}_2\text{CH}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 177.00 (s,  $\text{NHCO}^i\text{Bu}$ ); 174.20 (s,  $\text{CO}_2\text{Me}$ ); 166.22 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 160.22 (s,  $\text{C}(6')$ ); 155.00 (s,  $\text{C}(4')$ ); 151.91 (s,  $\text{C}(2')$ ); 149.46 (s,  $\text{C}(8')$ ); 136.07 (s); 128.66 (2d); 128.60 (2d); 128.33 (d); 116.68 (s,  $\text{C}(5')$ ); 83.56 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 68.93 (t,  $\text{PhCH}_2$ ); 54.21 (d,  $\text{C}(2)$ ); 52.35 (q,

MeO); 44.71 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9')); 36.24 (*t*, C(3)); 35.04 (*d*, CHMe<sub>2</sub>); 28.99 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8')); 28.12 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 19.26 (*q*, CHMe<sub>2</sub>).

HR-MALDI-MS: 611.2067 (10, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 611.2054), 595.2312 (30, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 595.2315), 573.2488 (49, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 573.2495), 555.1426 (6, [M - 'Bu + H + K]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 555.1428), 539.1691 (31, [M - 'Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 539.1689), 517.1868 (100, [M - 'Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S<sup>+</sup>; ber. 517.1869).

*S*-[9-(Carboxymethyl)-N<sup>2</sup>-isobutyryl-guanin-8-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester (**140**).



Eine Lösung aus **138** (500 mg, 629 μmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6.3 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit Et<sub>3</sub>SiH (500 μl, 3.14 mmol) und CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H (4.85 ml, 62.9 mmol) versetzt und 26 h bei RT gerührt. Nach Eindampfen wurde der Rückstand mit <sup>1</sup>Pr<sub>2</sub>O (50 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit iPr<sub>2</sub>O gewaschen. Trocknen ergab **140** (404 mg, 99%). Gelbes Pulver.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 3:1) 0.45.

Smp. 192.0–196.6°.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -28.4 (*c* = 1.0, DMSO).

UV (MeOH): 266 (41420), 211 (55080).

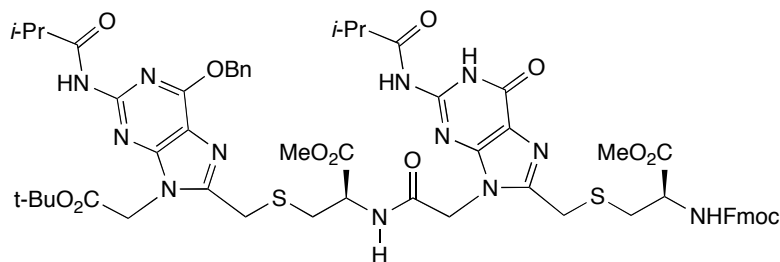
IR (ATR): 3298<sub>w</sub>, 3180<sub>w</sub>, 3065<sub>w</sub>, 3015<sub>w</sub>, 2970<sub>w</sub>, 2948<sub>w</sub>, 2890<sub>w</sub>, 2877<sub>w</sub>, 2842<sub>w</sub>, 2608<sub>w</sub>, 2494<sub>w</sub>, 1727<sub>s</sub>, 1673<sub>s</sub>, 1607<sub>m</sub>, 1564<sub>s</sub>, 1542<sub>s</sub>, 1477<sub>w</sub>, 1466<sub>m</sub>, 1446<sub>m</sub>, 1404<sub>m</sub>, 1378<sub>m</sub>, 1339<sub>w</sub>, 1282<sub>m</sub>, 1247<sub>s</sub>, 1232<sub>s</sub>, 1217<sub>s</sub>, 1197<sub>s</sub>, 1154<sub>m</sub>, 1103<sub>w</sub>, 1085<sub>m</sub>, 1049<sub>m</sub>, 1009<sub>w</sub>, 969<sub>w</sub>, 947<sub>w</sub>, 841<sub>w</sub>, 781<sub>m</sub>, 757<sub>m</sub>, 736<sub>s</sub>, 698<sub>w</sub>, 649<sub>w</sub>, 620<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 13.30 (br. *s*, CO<sub>2</sub>H); 12.08, 11.66 (2*s*, H-N(1'), NH-C(2')); 7.90–7.12 (*m*, 8 arom. H, NH-C(2)); 4.89 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9')); 4.33–4.21 (*m*, H-C(2), CH<sub>2</sub>-C(9''), H-C(9'')); 4.00 (*s*, CH<sub>2</sub>-C(8')); 3.63 (*s*, MeO); 2.89 (*dd*, *J* = 13.5, 4.8, H<sub>a</sub>-C(3)); 2.79–2.72 (*m*, H<sub>b</sub>-C(3), Me<sub>2</sub>CH); 1.11 (*d*, *J* = 5.8, Me<sub>2</sub>CH).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung mittels eines HSQC- und eines HMBC-Spektrums): 180.10 (*s*, NHCO<sup>i</sup>Bu); 171.19 (*s*, CO<sub>2</sub>Me); 168.63 (*s*, CO<sub>2</sub>H); 155.90 (*s*, NHCO<sub>2</sub>Fm); 154.37 (*s*, C(2') or C(6')); 150.16 (*s*, C(4')); 147.99 (*s*, C(2') or C(6')); 146.49 (*s*, C(8')); 143.75 (2*s*); 140.68 (2*s*); 127.60–120.06 (8*d*); 118.65 (*s*, C(5')); 65.79 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(9'')); 53.16 (*d*, C(2)); 52.11 (*q*, MeO); 46.59 (*d*, C(9'')); 43.90 (*t*, CH<sub>2</sub>-N(9')); 34.65 (*d*, Me<sub>2</sub>CH); 31.96 (*t*, C(3)); 26.98 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8')); 18.82 (*q*, Me<sub>2</sub>CH).

HR-MALDI-MS: 687.1635 (46, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>32</sub>KN<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 687.1639), 671.1889 (100, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 671.1900), 649.2074 (35, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sup>+</sup>; ber. 649.2081).

{S-[9-(*ω*-Carbonylmethyl)-N<sup>2</sup>-isobutyryl-guanin-8-methyl]-N-Fmoc-L-cystein-methylester}-S-{O<sup>6</sup>-benzyl-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]-N<sup>2</sup>-isobutyryl-guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**141**).



Eine Lösung aus **139** (220 mg, 384  $\mu\text{mol}$ ) und **140** (299 mg, 461  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (3.8 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit  $\text{Pr}_2\text{NEt}$  (98.4  $\mu\text{l}$ , 576  $\mu\text{mol}$ ) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (175 mg, 461  $\mu\text{mol}$ ) in DMF (700  $\mu\text{l}$ ) während 1 h. Die Lösung wurde für 3 h bei 0° gerührt, mit  $\text{CHCl}_3$  verdünnt, auf ges. wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gegossen und mit  $\text{CHCl}_3$  (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert. FC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  97:3) ergab **141** (435 mg, 94%). Weisser Schaum.

$R_f$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  19:1) 0.32.

Smp. 112.6–115.4°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -42.8$  ( $c = 1.0$ , DMSO).

UV (MeOH): 267 (53100), 206 (96200).

IR (ATR): 3311w, 3221w, 3063w, 3029w, 2970w, 2938w, 2875w, 1736s, 1709s, 1685s, 1663s, 1601s, 1556m, 1531m, 1448s, 1429m, 1409m, 1372s, 1351m, 1278m, 1225s, 1217s, 1152s, 1095m, 1049m, 987w, 974w, 947w, 913w, 857w, 832w, 793w, 780w, 756m, 736m, 697m, 662w, 621w.

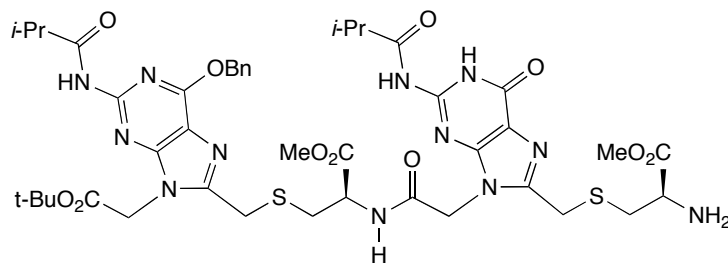
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 12.06, 11.67 (2s, H–N(1'/II), NH–C(2'/II)); 10.36 (s, NH–C(2'/I)); 8.88 (d,  $J = 7.7$ , NH–C(2/I)); 7.95–7.15 (m, 13 arom. H, NH–C(2/II)); 5.61 (s,  $\text{PhCH}_2$ ); 4.96 (d,  $J = 18.9$ ,  $\text{CH}_a\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 4.91 (d,  $J = 18.9$ ,  $\text{CH}_b\text{-N}(9'/\text{I})$ ); 4.87 (s,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 4.55 (td, 6.7, 5.7, H–C(2/I)); 4.29 (d,  $J = 7.1$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 4.23–4.13 (m, H–C(9''), H–C(2/II)); 4.05 (s,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 3.86 (s,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 3.61 (s, MeO); 3.57 (s, MeO/I); 3.10–2.60 (m,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ , 2 H–C(3/I), 2 H–C(3/II)); 1.38 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 1.10 (d,  $J = 6.7$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $(\text{D}_6)\text{DMSO}$ ; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 180.04 (s,  $\text{NHCO}^t\text{Bu/II}$ ); 175.34 (s,  $\text{NHCO}^t\text{Bu/I}$ ); 171.15 (s,  $\text{CO}_2\text{Me/II}$ ); 170.52 (s,  $\text{CO}_2\text{Me/I}$ ); 166.23 (s,  $\text{CO}_2^t\text{Bu}$ ); 165.97 (s,  $\text{NHCOCH}_2$ ); 158.97 (s, C(6'/I)); 155.86 (s,  $\text{NHCO}_2\text{Fm}$ ); 154.63 (s, C(4'/I)); 154.43 (s, C(2'/II) or C(6'/II)); 152.00 (s, C(2'/I)); 150.26 (s, C(4'/II)); 149.68 (s, C(8'/I)); 147.91 (s, C(2'/II) or C(6'/II)); 146.62 (s, C(8'/II)); 143.72 (2s); 140.66 (2s); 136.19 (s); 128.72–120.04 (13d); 118.61 (s, C(5'/II)); 115.70 (s, C(5'/I)); 82.23 (s,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.77 (t,  $\text{PhCH}_2$ ); 65.81 (t,  $\text{CH}_2\text{-C}(9'')$ ); 53.22 (d, C(2/II)); 52.14, 52.09 (2q, MeO/I, MeO/II); 51.57 (d, C(2/I)); 46.55 (d, C(9'')); 44.27 (t,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 34.67 (d,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ ); 34.15 (d,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ); 32.05 (br. t, C(3/I),

C(3/II)); 27.55 (*q*,  $Me_3C$ ); 27.34 (*t*,  $CH_2-C(8'/II)$ ); 27.12 (*t*,  $CH_2-C(8'/I)$ ); 19.27 (*q*,  $Me_2CH/I$ ); 18.80 (*q*,  $Me_2CH/II$ ).

HR-MALDI-MS: 1241.3941 (20,  $[M + K]^+$ ,  $C_{58}H_{66}KN_{12}O_{13}S_2^+$ ; ber. 1241.3951), 1225.4227 (100,  $[M + Na]^+$ ,  $C_{58}H_{66}N_{12}NaO_{13}S_2^+$ ; ber. 1225.4211), 1203.4398 (29,  $[M + H]^+$ ,  $C_{58}H_{67}N_{12}O_{13}S_2^+$ ; ber. 1203.4392), 1169.3579 (8,  $[M - 'Bu + H + Na]^+$ ,  $C_{54}H_{58}N_{12}NaO_{13}S_2^+$ ; ber. 1169.3585).

{S-[9-(*ω*-Carbonylmethyl)- $N^2$ -isobutyryl-guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-{O<sup>6</sup>-benzyl-9-[(*tert*-butoxy)carbonylmethyl]- $N^2$ -isobutyryl-guanin-8-methyl}-L-cystein-methylester (**142**).



Eine Lösung aus **141** (1.84 g, 1.53 mmol) in DMF (10 ml) wurde auf 0° gekühlt, mit Piperidin versetzt (1.51 ml, 15.3 mmol) und 1 h bei 0° gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der feste Rückstand an Kieselgel adsorbiert. FC ( $CH_2Cl_2/MeOH$  97:3 → 9:1) ergab **142** (1.27 g, 85%). Gelber Schaum.

$R_f$  ( $CH_2Cl_2/MeOH$  9:1) 0.37.

Smp. 111.7–113.2.

$[\alpha]_D^{25} = +30.5$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ).

UV (MeOH): 272 (41300), 205 (61400).

IR (ATR): 3214 $w$ , 3063 $w$ , 3031 $w$ , 2972 $w$ , 2937 $w$ , 2875 $w$ , 1736 $m$ , 1678 $s$ , 1603 $s$ , 1556 $s$ , 1501 $m$ , 1431 $m$ , 1371 $s$ , 1351 $s$ , 1307 $w$ , 1281 $m$ , 1229 $s$ , 1196 $s$ , 1152 $s$ , 1095 $m$ , 1052 $w$ , 1028 $w$ , 946 $w$ , 854 $w$ , 829 $w$ , 793 $m$ , 782 $w$ , 741 $m$ , 697 $m$ .

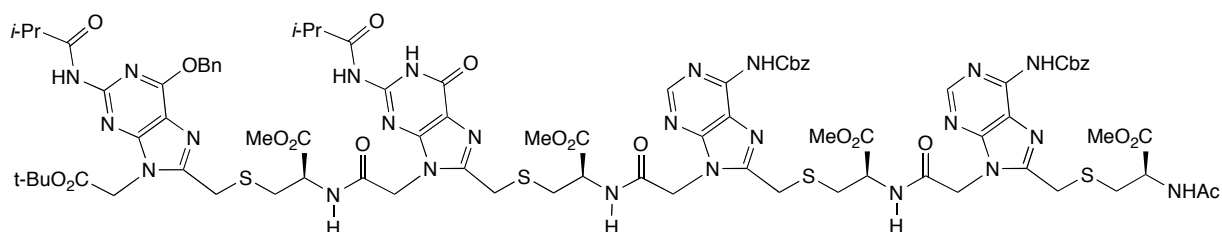
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 10.37 (*s*, NH-C(2'/I)); 8.89 (*d*,  $J = 7.9$ , NH-C(2/I)); 7.65–7.25 (*m*, 5 arom. H); 5.62 (*s*,  $PhCH_2$ ); 4.97 (*d*,  $J = 18.1$ ,  $CH_a-N(9'/I)$ ); 4.92 (*d*,  $J = 18.2$ ,  $CH_b-N(9'/I)$ ); 4.88 (*s*,  $CH_2-N(9'/II)$ ); 4.54 (*dt*,  $J = 8.0, 5.5$ , H-C(2/I)); 4.05 (*s*,  $CH_2-C(8'/I)$ ); 3.84 (*s*,  $CH_2-C(8'/II)$ ); 3.59 (2*s*,  $CO_2CH_3/I, CO_2CH_3/II$ ); 3.49 (*t*,  $J = 6.4$ , H-C(2/II)), 2.97 (*sept*,  $J = 6.8$ ,  $CHMe_2/I$ ); 2.84 (*dd*,  $J = 13.9, 5.4$ ,  $H_a-C(3/I)$ ); 2.79–2.66 (*m*,  $H_a-C(3/II), H_b-C(3/I), CHMe_2/II$ ); 2.66 (hidden by  $H_a-C(3/II), H_b-C(3/I)$  und  $CHMe_2/II$ , *dd*,  $J = 13.5, 6.8$ ,  $H_b-C(3/II)$ ); 1.40 (*s*,  $Me_3C$ ); 1.10 (3*d*,  $J = 6.7, CHMe_a/II; J = 6.8, CHMe_b/II; J = 6.8, CHMe_c/II$ ).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 180.04 (*s*,  $NHCO'Bu/II$ ); 175.33 (*s*,  $NHCO'Bu/I$ ); 174.20 (*s*,  $CO_2Me/II$ ); 170.53 (*s*,  $CO_2Me/I$ ); 166.24 (*s*,  $CO_2'Bu$ ); 165.94 (*s*,  $NHCOCH_2$ ); 158.98 (*s*,  $C(6'/I)$ ); 154.64 (*s*,  $C(4'/I)$ ); 154.44 (*s*,  $C(2'/II)$  or  $C(6'/II)$ ); 152.00 (*s*,  $C(2'/I)$ ); 150.25 (*s*,  $C(4'/II)$ ); 149.70 (*s*,  $C(8'/I)$ ); 147.92 (*s*,  $C(2'/II)$  or  $C(6'/II)$ ); 146.95 (*s*,  $C(8'/II)$ ); 136.20 (*s*); 128.72 (2*d*); 128.35 (2*d*); 128.16 (*d*); 118.53 (*s*,  $C(5'/II)$ ); 115.70 (*s*,  $C(5'/I)$ ); 81.25 (*s*,  $Me_3C$ );

67.78 (*t*, PhCH<sub>2</sub>); 54.14 (*d*, C(2/II)); 52.16, 51.57 (2*q*, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>/II, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>/I); 51.56 (*d*, C(2/I)); 44.30, 44.24 (2*t*, CH<sub>2</sub>-N(9'/I), CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 35.59 (*t*, C(3/II)); 34.68 (*d*, Me<sub>2</sub>CH/II); 34.15 (*d*, Me<sub>2</sub>CH/I); 32.07 (*t*, C(3/I)); 27.78 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/I)); 27.15 (*t*, CH<sub>2</sub>-C(8'/II)); 27.57 (*q*, Me<sub>3</sub>C); 19.27 (*q*, Me<sub>2</sub>CH/I); 18.80 (*q*, Me<sub>2</sub>CH/II).

HR-MALDI-MS: 1019.3334 (17, [M + K]<sup>+</sup>, C<sub>43</sub>H<sub>56</sub>KN<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1019.3270), 1003.3561 (42, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>43</sub>H<sub>56</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 1003.3531), 981.3723 (100, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>43</sub>H<sub>57</sub>N<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 981.3711), 947.2966 (4, [M - <sup>t</sup>Bu + H + Na]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>48</sub>N<sub>12</sub>NaO<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 947.2905), 925.3137 (6, [M - <sup>t</sup>Bu + 2 H]<sup>+</sup>, C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>N<sub>12</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>; ber. 925.3085).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-[S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carbonylmethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester]-[S-[9-(ω-carbonylmethyl)-N<sup>2</sup>-isobutyryl-guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester]-S-[O<sup>6</sup>-(benzyl)-9-[(tert-butoxy)carbonylmethyl]-N<sup>2</sup>-isobutyryl-guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester (**143**).



Eine Lösung aus **142** (1.00 g, 1.02 mmol) und **129** (1.19 g, 1.22 mmol) in DMF (9.0 ml) wurde auf 0° gekühlt und mit <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt (261 μl, 1.53 mmol) versetzt, gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von HBTU (464 mg, 1.22 mmol) in DMF (1.0 ml) während 1 h. Die Lösung wurde für 2 h bei 0° gerührt, mit CHCl<sub>3</sub> verdünnt, auf ges. wässr. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und mit CHCl<sub>3</sub> (4 x) ausgeschüttelt. The vereinigten org. Phasen wurden getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und eingedampft. Der feste Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert. FC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 94:6) ergab **143** (1.74 g, 88%). Gelber Schaum.

R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) 0.55.

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -3.3 (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

UV (CHCl<sub>3</sub>): 275 (68100).

IR (ATR): 3231<sub>w</sub>, 3062<sub>w</sub>, 3035<sub>w</sub>, 2973<sub>w</sub>, 2953<sub>w</sub>, 2936<sub>w</sub>, 2876<sub>w</sub>, 1739<sub>m</sub>, 1678<sub>s</sub>, 1606<sub>s</sub>, 1557<sub>m</sub>, 1537<sub>m</sub>, 1529<sub>m</sub>, 1508<sub>m</sub>, 1499<sub>m</sub>, 1448<sub>m</sub>, 1436<sub>m</sub>, 1370<sub>m</sub>, 1353<sub>m</sub>, 1320<sub>m</sub>, 1305<sub>m</sub>, 1280<sub>m</sub>, 1209<sub>s</sub>, 1156<sub>s</sub>, 1097<sub>m</sub>, 1028<sub>m</sub>, 980<sub>w</sub>, 968<sub>w</sub>, 948<sub>w</sub>, 849<sub>w</sub>, 794<sub>w</sub>, 783<sub>w</sub>, 739<sub>m</sub>, 697<sub>m</sub>, 615<sub>w</sub>.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 12.07 (br. *s*, H-N(1'/II)); 11.68 (br. *s*, NH-C(2'/II)); 10.58 (br. *s*, NH-C(6'/III), NH-C(6'/IV)); 10.38 (*s*, NH-C(2'/I)); 9.08 (*d*, *J* = 7.6, NH-C(2/II)); 9.00 (*d*, *J* = 7.8, NH-C(2/III)); 8.88 (*d*, *J* = 7.4, NH-C(2/I)); 8.56, 8.55 (2*s*, H-C(2'/III), H-C(2'/IV)); 8.32 (*d*, *J* = 8.0, NH-C(2/IV)); 7.65–7.25 (*m*, 15 arom. H); 5.63 (*d*, *J* = 11.9, PhCH<sub>a</sub>/I); 5.60 (*d*, *J* = 12.0, PhCH<sub>b</sub>/I); 5.21, 5.20 (2*s*, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 5.11, 5.07 (2*d*, *J* = 17.6, CH<sub>2</sub>-N(9'/III)); 5.05 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9'/IV)); 4.96 (*d*, *J* = 18.3, CH<sub>a</sub>-N(9'/I)); 4.91 (*d*, *J* = 18.0, CH<sub>b</sub>-N(9'/I)); 4.86 (*s*, CH<sub>2</sub>-N(9'/II)); 4.59–4.43 (*m*, H-C(2/I), H-C(2/II), H-C(2/III), H-C(2/IV));

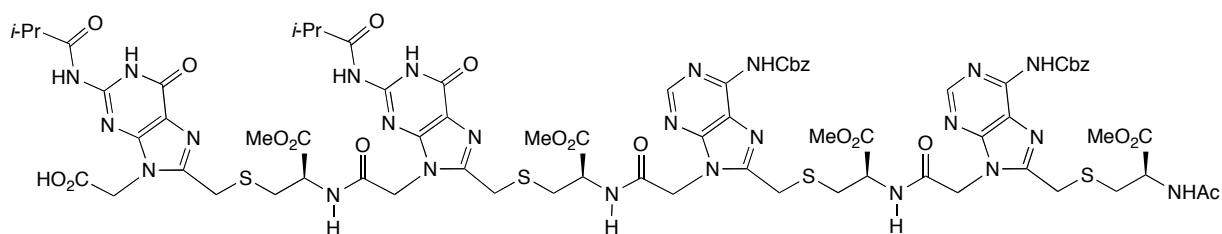


4.11, 4.06 (*2d*,  $J = 14.0$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ); 4.04 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 4.03, 4.00 (*2d*,  $J = 15.3$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{IV})$ ); 3.88 (*s*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ); 3.60, 3.57, 3.56 (*3s*, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 3.55 (*s*, MeO/IV); 3.00–2.62 (*m*,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ , 2 H–C(3/I), 2 H–C(3/II), 2 H–C(3/III), 2 H–C(3/IV)); 1.80 (*s*, AcNH); 1.38 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 1.11–1.07 (*m*,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$  und  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $(\text{D}_6)$ DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 180.09 (*s*,  $\text{NHCO}^i\text{Bu/II}$ ); 175.36 (*s*,  $\text{NHCO}^i\text{Bu/I}$ ); 171.06 (*s*,  $\text{CO}_2\text{Me/IV}$ ); 170.55, 170.53, 170.48 (*3s*,  $\text{CO}_2\text{Me/I}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me/II}$ ,  $\text{CO}_2\text{Me/III}$ ); 169.38 (*s*,  $\text{NHCOMe}$ ); 166.28 (*s*,  $\text{CO}_2^i\text{Bu}$ ); 166.18 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{IV}$ ); 166.12 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{III}$ ); 165.97 (*s*,  $\text{NHCOCH}_2/\text{II}$ ); 158.98 (*s*,  $\text{C}(6'/\text{I})$ ); 154.65 (*s*,  $\text{C}(4'/\text{I})$ ); 154.49 (*s*,  $\text{C}(2'/\text{II})$  or  $\text{C}(6'/\text{II})$ ); 153.54 (*s*,  $\text{C}(4'/\text{III})$ ,  $\text{C}(4'/\text{IV})$ ); 152.12 (*s*,  $\text{NHCO}_2\text{Bn/III}$ ,  $\text{NHCO}_2\text{Bn/IV}$ ); 152.02 (*s*,  $\text{C}(2'/\text{I})$ ); 151.93, 151.85 (*2s*,  $\text{C}(8'/\text{III})$ ,  $\text{C}(8'/\text{IV})$ ); 151.37 (*d*,  $\text{C}(2'/\text{III})$ ,  $\text{C}(2'/\text{IV})$ ); 150.27 (*s*,  $\text{C}(4'/\text{II})$ ); 149.72 (*s*,  $\text{C}(8'/\text{I})$ ); 148.52 (*s*,  $\text{C}(6'/\text{III})$ ,  $\text{C}(6'/\text{IV})$ ); 147.99 (*s*,  $\text{C}(2'/\text{II})$  or  $\text{C}(6'/\text{II})$ ); 146.75 (*s*,  $\text{C}(8'/\text{II})$ ); 136.36, 136.34, 136.20 (*3s*); 128.40 (*2d*); 128.39 (*2d*); 128.38 (*2d*); 128.36 (*2d*); 127.95, 127.94, 127.94 (*3d*); 127.95 (*2d*); 127.94 (*2d*); 122.34 (*s*,  $\text{C}(5'/\text{III})$ ,  $\text{C}(5'/\text{IV})$ ); 118.59 (*s*,  $\text{C}(5'/\text{II})$ ); 115.71 (*s*,  $\text{C}(5'/\text{I})$ ); 82.27 (*s*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 67.80 (*t*,  $\text{PhCH}_2/\text{I}$ ); 66.25, 66.21 (*2t*,  $\text{PhCH}_2/\text{III}$ ,  $\text{PhCH}_2/\text{IV}$ ); 52.20, 52.13 (*2q*, MeO/I, MeO/II, MeO/III, MeO/IV); 51.97 (*d*,  $\text{C}(2/\text{II})$ ,  $\text{C}(2/\text{III})$ ); 51.59 (*d*,  $\text{C}(2/\text{I})$ ); 51.43 (*d*,  $\text{C}(2/\text{IV})$ ); 44.31 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{I})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{II})$ ); 44.23 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{III})$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}(9'/\text{IV})$ ); 34.70, 34.19 (*2d*,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ ); 32.36 (*t*,  $\text{C}(3/\text{IV})$ ); 32.24 (*t*,  $\text{C}(3/\text{III})$ ); 32.10 (*t*,  $\text{C}(3/\text{II})$ ); 32.00 (*t*,  $\text{C}(3/\text{I})$ ); 27.58 (*q*,  $\text{Me}_3\text{C}$ ); 27.41 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{II})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{III})$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{IV})$ ); 27.13 (*t*,  $\text{CH}_2\text{-C}(8'/\text{I})$ ); 22.20 (*q*,  $\text{MeC=O}$ ); 19.31, 18.85 (*2q*,  $\text{Me}_2\text{CH/I}$ ,  $\text{Me}_2\text{CH/II}$ ).

HR-MALDI-MS: 1957.6102 (14,  $[M + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{85}\text{H}_{98}\text{N}_{24}\text{NaO}_{22}\text{S}_4^+$ ; ber. 1957.6068), 1849.5665 (28,  $[M - \text{BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{78}\text{H}_{90}\text{N}_{24}\text{NaO}_{21}\text{S}_4^+$ ; ber. 1849.5493), 1827.5892 (17,  $[M - \text{BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{78}\text{H}_{91}\text{N}_{24}\text{O}_{21}\text{S}_4^+$ ; ber. 1827.5673), 1741.4995 (31,  $[M - 2 \text{ BnOH} + \text{Na}]^+$ ,  $\text{C}_{71}\text{H}_{82}\text{N}_{24}\text{NaO}_{20}\text{S}_4^+$ ; ber. 1741.4918), 1719.5110 (22,  $[M - 2 \text{ BnOH} + \text{H}]^+$ ,  $\text{C}_{71}\text{H}_{83}\text{N}_{24}\text{O}_{20}\text{S}_4^+$ ; ber. 1719.5098).

{N-Acetyl-S-[N<sup>6</sup>-(Benzoyloxycarbonyl)-9-(ω-carboxymethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[N<sup>6</sup>-(benzyloxycarbonyl)-9-(ω-carboxymethyl)adenin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-{S-[9-(ω-carboxymethyl)-N<sup>2</sup>-isobuturyl-guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester}-S-[9-(carboxymethyl)-N<sup>2</sup>-isobuturyl-guanin-8-methyl]-L-cystein-methylester (144).



Eine Lösung aus **143** (1.38 g, 713  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (7.1 ml) wurde auf  $0^\circ$  gekühlt, mit  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (1.14 ml, 7.13 mmol) und  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (2.20 ml, 28.5 mmol) versetzt und 22 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und der Rückstand mit  $i\text{Pr}_2\text{O}$  (50 ml) versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, zerrieben und mehrmals mit  $i\text{Pr}_2\text{O}$  gewaschen. Das Rohpro-

dukt wurde an Kieselgel adsorbiert. FC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H 98:2:0.1 → 80:20:0.1) ergab **144** (893 mg, 70%). Weisses Pulver.

$R_f$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 4:1) 0.56.

Smp. 201.1–204.6°.

$[\alpha]_D^{25} = -22.5$  ( $c = 0.5$ , DMSO).

UV (MeOH): 274 (48200), 206 (78400).

IR (ATR): 3203w, 3071w, 2980w, 2960w, 2881w, 2854w, 2535w, 1732m, 1661s, 1587m, 1562m, 1498w, 1455w, 1440m, 1416w, 1370w, 1320w, 1290w, 1179s, 1132s, 1033w, 966w, 949w, 906w, 837w, 797m, 750w, 721m, 701m.

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 12.09, 12.08 (2s, H–N(1'/I), H–N(1'/II)); 11.70, 11.68 (2s, NH–C(2'/I), NH–C(2'/II)); 10.61 (br. s, NH–C(6'/III), NH–C(6'/IV)); 9.08 (d,  $J = 7.6$ , NH–C(2'/II)); 9.00 (d,  $J = 7.8$ , NH–C(2'/III)); 8.95 (d,  $J = 7.7$ , NH–C(2'/I)); 8.57, 8.55 (2s, H–C(2'/III), H–C(2'/IV)); 8.31 (d,  $J = 8.0$ , NH–C(2'/IV)); 7.49–7.25 (m, 10 arom. H); 5.21 (s, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 5.11, 5.08 (2d,  $J = 17.6$ , CH<sub>2</sub>–N(9'/III)); 5.08, 5.04 (2d,  $J = 18.4$ , CH<sub>2</sub>–N(9'/IV)); 4.89 (s, CH<sub>2</sub>–N(9'/II)); 4.87 (s, CH<sub>2</sub>–N(9'/I)); 4.56 (td,  $J = 8.0$ , 5.6, H–C(2'/I)); 4.53–4.49 (m, H–C(2'/II), H–C(2'/III)); 4.47 (td,  $J = 8.3$ , 5.3, H–C(2'/IV)); 4.11, 4.07 (2d,  $J = 14.9$ , CH<sub>2</sub>–C(8'/III)); 4.03, 4.00 (2d,  $J = 15.2$ , CH<sub>2</sub>–C(8'/IV)); 3.99 (s, CH<sub>2</sub>–C(8'/I)); 3.90 (s, CH<sub>2</sub>–C(8'/II)); 3.62, 3.61, 3.56 (3s, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 3.55 (s, MeO/IV); 2.98–2.74 (m, Me<sub>2</sub>CH/I, Me<sub>2</sub>CH/II, 2 H–C(3'/I), 2 H–C(3'/II), 2 H–C(3'/III), 2 H–C(3'/IV)); 1.80 (s, AcNH); 1.11 (d,  $J = 6.8$ , Me<sub>2</sub>CH/I und Me<sub>2</sub>CH/II).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, (D<sub>6</sub>)DMSO; Zuordnung anhand eines HSQC, eines HMBC und eines DQFCOSY Spektrums): 180.11, 180.08 (2s, NHCO<sup>t</sup>Bu/I, NHCO<sup>t</sup>Bu/II); 171.00 (s, CO<sub>2</sub>Me/IV); 170.53, 170.47, 170.42 (3s, CO<sub>2</sub>Me/I, CO<sub>2</sub>Me/II, CO<sub>2</sub>Me/III); 169.34 (s, NHCOMe); 168.56 (s, CO<sub>2</sub>H); 166.12 (s, NHCOCH<sub>2</sub>/IV); 166.06 (s, NHCOCH<sub>2</sub>/III); 165.94 (s, NHCOCH<sub>2</sub>/II); 154.45, 154.39, 148.02, 147.98 (4s, C(2'/I), C(2'/II), C(6'/I), C(6'/II)); 153.49 (s, C(4'/III), C(4'/IV)); 152.13 (2s, NHCO<sub>2</sub>Bn/III, NHCO<sub>2</sub>Bn/IV); 151.97, 151.88 (2s, C(8'/III), C(8'/IV)); 151.25 (d, C(2'/III), C(2'/IV)); 150.27, 150.14 (2s, C(4'/I), C(4'/II)); 148.43 (s, C(6'/III), C(6'/IV)); 146.78 (s, C(8'/II)); 146.53 (s, C(8'/I)); 136.31, 136.29 (2s); 128.33 (2d); 128.31 (2d); 127.91, 127.89 (2d); 127.77 (4d); 122.24 (s, C(5'/III), C(5'/IV)); 118.59, 118.54 (2s, C(5'/I), C(5'/II)); 66.25, 66.21 (2t, PhCH<sub>2</sub>/III, PhCH<sub>2</sub>/IV); 52.18, 52.14, 52.08 (3q, MeO/I, MeO/II, MeO/III); 52.02 (d, C(2'/II)); 51.97 (d, C(2'/III)); 51.91 (q, MeO/IV); 51.81 (d, C(2'/I)); 51.44 (d, C(2'/IV)); 44.23 (t, CH<sub>2</sub>–N(9'/II), CH<sub>2</sub>–N(9'/III), CH<sub>2</sub>–N(9'/IV)); 43.87 (t, CH<sub>2</sub>–N(9'/I)); 34.67, 34.65 (2d, Me<sub>2</sub>CH/I, Me<sub>2</sub>CH/II); 32.37 (t, C(3'/IV)); 32.26 (t, C(3'/III)); 32.11 (t, C(3'/II)); 31.94 (t, C(3'/I)); 27.47 (t, CH<sub>2</sub>–C(8'/II)); 27.40 (t, CH<sub>2</sub>–C(8'/III), CH<sub>2</sub>–C(8'/IV)); 27.04 (t, CH<sub>2</sub>–C(8'/I)); 22.15 (q, Me=O); 18.80, 18.79 (2q, Me<sub>2</sub>CH/I, Me<sub>2</sub>CH/II).

HR-MALDI-MS: 1811.4929 (59, [M + Na]<sup>+</sup>, C<sub>74</sub>H<sub>84</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>22</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1811.4973), 1789.5076 (17, [M + H]<sup>+</sup>, C<sub>74</sub>H<sub>85</sub>N<sub>24</sub>O<sub>22</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1789.5153), 1703.4300 (70, [M – BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>67</sub>H<sub>76</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>21</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1703.4397), 1681.4501 (13, [M – BnOH + H]<sup>+</sup>, C<sub>67</sub>H<sub>77</sub>N<sub>24</sub>O<sub>21</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1681.4578), 1595.3828 (42, [M – 2 BnOH + Na]<sup>+</sup>, C<sub>60</sub>H<sub>68</sub>N<sub>24</sub>NaO<sub>20</sub>S<sub>4</sub><sup>+</sup>; ber. 1595.3822).

## 7.3. NMR-Tabellen

**Tabelle 5:** Chemische Verschiebungen [ppm] und Kopplungskonstanten [Hz] ausgewählter  $^1\text{H}$ -NMR Signale der vollständig geschützten Thioether/Amid-Monomeren **78**, **81**, **86** und **85**, der Dimeren **118**, **120** und **126**, des Trimeren **130** und der Tetrameren **122** und **132** in ( $D_6$ )DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	Monomer	Dimer		Trimer	Tetramer	
	<b>78 (U)</b>	<b>118 (U<sub>2</sub>)</b>			<b>122 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>	
<b>Uracil</b>		<b>I</b>	<b>II</b>		<b>I</b>	<b>II</b>
H–C(2)	4.34– 4.23	4.50	4.30– 4.22		4.56– 4.47	4.56– 4.47
NH–C(2)	7.93– 7.30 <sup>b)</sup>	8.82	7.93– 7.25 <sup>b)</sup>		8.82	8.87
H <sub>a</sub> –C(3)	2.90	2.90	2.96		2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.74	2.75	2.80		2.71	2.71
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.46	4.47	4.62		4.46	4.65
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.46	4.47	4.62		4.46	4.65
H–N(3')	11.44	11.43	11.39		11.44	11.39
H–C(5')	5.70	5.68	5.71		5.67	5.69
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.68–	3.68	3.57		3.68	3.54
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.62	3.64	3.51		3.64	3.51
$J(2,\text{NH})$	<sup>c)</sup>	7.8	<sup>c)</sup>		7.8	8.0
$J(3a,3b)$	14.0	14.0	13.7		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(3a,2)$	4.7	5.4	5.0		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(3b,2)$	9.7	8.6	9.6		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(\text{CHa}-(1'),$ $\text{CHb}-\text{N}(1'))$	–	–	–		–	–
$J(3',5')$	–	2.0	1.9	<b>Es wurde kein von Uracil und Cytosin abgelei- tetes Trimeres synthetisiert</b>	–	1.2
$J(\text{CHa}-(6'),$ $\text{CHb}-\text{C}(6'))$	<sup>c)</sup>	14.9	15.0		15.0	15.0
	<b>81 (C)</b>	<b>120 (C<sub>2</sub>)</b>			<b>III</b>	<b>IV</b>
<b>Cytosin</b>		<b>I</b>	<b>II</b>			
H–C(2)	4.30–4.23	4.53	4.34– 4.27		4.56– 4.47	4.35– 4.18
NH–C(2)	7.90– 7.21 <sup>b)</sup>	8.85	7.85– 7.24 <sup>b)</sup>		8.85	7.85– 7.24 <sup>b)</sup>
H <sub>a</sub> –C(3)	2.92	2.92	2.96		2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.77	2.78	2.82		2.71	2.71
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.59	4.60	4.82		4.77 <sup>a)</sup>	4.75 <sup>a)</sup>
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.59	4.60	4.76		4.77 <sup>a)</sup>	4.75 <sup>a)</sup>
NH–C(4')	10.80	10.79	10.79		10.78	10.78
H–C(5')	7.14	7.14	7.18		7.17 <sup>a)</sup>	7.16 <sup>a)</sup>
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.83	3.83	3.75		3.78–	3.78–
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.83	3.83	3.70		3.67	3.67
$J(2,\text{NH})$	<sup>c)</sup>	7.8	<sup>c)</sup>		8.0	<sup>c)</sup>
$J(3a,3b)$	13.9	13.9	14.0		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(3a,2)$	4.7	4.9	4.7		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(3b,2)$	9.7	9.6	9.8		<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
$J(\text{CHa}-(1'),$ $\text{CHb}-\text{C}(6'))$	–	–	13.2		–	–

CHb-N(1')) <i>J</i> (CHa-(6'), CHb-C(6'))	–	–	15.2			c)	c)
<b>Guanin</b>	<b>86 (G)</b>			<b>130 (GA<sub>2</sub>)</b>		<b>132 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
				<b>I</b>		<b>I</b>	<b>II</b>
							<b>(-Bn)</b>
H-C(2)	4.31– 4.20			4.52		4.60– 4.43	4.60– 4.43
NH-C(2)	7.90– 7.25 <sup>b)</sup>			9.02		8.84	9.14
H <sub>a</sub> -C(3)	2.81			2.97		2.99–	2.99–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.68			2.83		2.65	2.65
H-N(1')	–			–		–	10.59
CH <sub>a</sub> -C(8')	3.93	<b>Es wurde kein G<sub>2</sub>-Dimeres synthetisiert</b>		3.95		3.94	3.79
CH <sub>b</sub> -C(8')	3.93		3.95		3.94	3.79	
CH <sub>a</sub> -N(9')	4.79		4.82		4.82	4.71	
CH <sub>b</sub> -N(9')	4.79		4.78		4.77	4.71	
NH <sub>2</sub>	6.50		6.51		6.53	6.48	
<i>J</i> (2,NH)	c)		7.9		7.8	7.5	
<i>J</i> (3a,3b)	13.7		13.8		c)	c)	
<i>J</i> (3a,2)	5.2		5.2		c)	c)	
<i>J</i> (3b,2)	9.6		8.9		c)	c)	
<i>J</i> (CHa-(8'), CHb-C(8'))	–		–		–	–	
<i>J</i> (CHa-(9'), CHb-N(9'))	–		17.9		18.1	–	
<b>Adenin</b>	<b>85 (A)</b>	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>					
		<b>I</b>	<b>II</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H-C(2)	4.38– 4.30	4.61	4.31– 4.26	4.56	4.48	4.60– 4.43	4.60– 4.43
NH-C(2)	7.90– 7.27 <sup>b)</sup>	9.01	7.90– 7.25 <sup>b)</sup>	9.00 <sup>a)</sup>	8.31	9.01	8.32
H <sub>a</sub> -C(3)	2.87	2.89	2.96	2.82	2.89	2.99–	2.99–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.73	2.76	2.81	2.73	2.76	2.65	2.65
H-C(2')	8.60	8.60 <sup>a)</sup>	8.57 <sup>a)</sup>	8.56 <sup>a)</sup>	8.55 <sup>a)</sup>	8.57 <sup>a)</sup>	8.56 <sup>a)</sup>
NH-C(6')	10.63	10.60	10.60	10.58 <sup>a)</sup>	10.56 <sup>a)</sup>	10.59	10.59
CH <sub>a</sub> -C(8')	4.15	4.17	4.05	4.08	4.03	4.11	4.01
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.15	4.17	4.05	4.04	4.00	4.07	4.01
CH <sub>a</sub> -N(9')	5.06	5.09 <sup>a)</sup>	5.07 <sup>a)</sup>	5.07	5.06	5.12	5.06
CH <sub>b</sub> -N(9')	5.06	5.09 <sup>a)</sup>	5.07 <sup>a)</sup>	5.04	5.06	5.08	5.06
<i>J</i> (2,NH)	c)	7.9	c)	7.8	8.0	7.7	7.9
<i>J</i> (3a,3b)	13.9	13.8	13.8	13.9	13.7	c)	c)
<i>J</i> (3a,2)	5.0	5.1	5.0	5.3	5.2	c)	c)
<i>J</i> (3b,2)	10.0	8.7	9.6	8.3	8.8	c)	c)
<i>J</i> (CHa-(8'), CHb-C(8'))	–	–	–	14.9	14.8	15.0	–
<i>J</i> (CHa-(9'), CHb-N(9'))	–	–	–	17.6	–	18.0	–

<sup>a)</sup> Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) NH–C(2) der Fmoc-Schutzgruppe.

c) Konnte aufgrund von Signalüberlappung nicht bestimmt werden.

**Tabelle 6:** Chemische Verschiebungen [ppm] ausgewählter  $^{13}\text{C}$ -NMR Signale der vollständig geschützten Thioether/Amid-Monomeren **78**, **81**, **86** und **85**, der Dimeren **118**, **120** und **126**, des Trimeren **130** und der Tetrameren **122** und **132** in ( $D_6$ )DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	Monomer	Dimer		Trimer		Tetramer		
<b>Uracil</b>	<b>78 (U)</b>	<b>118 (U<sub>2</sub>)</b>		<b>Es wurde kein von Uracil und Cytosin abgeleitetes Trimeres synthetisiert</b>		<b>122 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>		
		<b>I</b>	<b>II</b>			<b>I</b>	<b>II</b>	
	C(2)	53.32	51.81			53.51	51.82	52.07
	C(3)	31.49	31.51			31.69	31.45	31.59
	C(2')	151.49	151.69			151.69	151.79 <sup>a</sup>	151.75 <sup>a</sup>
	C(4')	161.92	162.11			162.20	162.24 <sup>a</sup>	162.16 <sup>a</sup>
	C(5')	102.68	102.81			102.58	102.84	102.62
	C(6')	151.20	151.33			151.79	151.36	151.71
	CH <sub>2</sub> –N(1')	45.36	45.38			44.57	45.42	44.62
CH <sub>2</sub> –C(6')	31.90	32.00	32.00	31.98	32.08			
<b>Cytosin</b>	<b>81 (C)</b>	<b>120 (C<sub>2</sub>)</b>		<b>Es wurde kein von Uracil und Cytosin abgeleitetes Trimeres synthetisiert</b>		<b>III</b>	<b>IV</b>	
		<b>I</b>	<b>II</b>					
	C(2)	53.29	51.76			53.47	51.96	53.49
	C(3)	32.15	32.23			32.23	32.29 <sup>a</sup>	32.23 <sup>a</sup>
	C(2')	155.93	155.99			155.99	156.10 <sup>a</sup>	156.07 <sup>a</sup>
	C(4')	162.15	162.16 <sup>a</sup>			162.02 <sup>a</sup>	162.07	162.07
	C(5')	95.60	95.58 <sup>a</sup>			95.40 <sup>a</sup>	95.43 <sup>a</sup>	95.34 <sup>a</sup>
	C(6')	156.72	156.62			157.16	157.24 <sup>a</sup>	156.21 <sup>a</sup>
	CH <sub>2</sub> –N(1')	46.57	46.65			45.80	46.00 <sup>a</sup>	45.85 <sup>a</sup>
CH <sub>2</sub> –C(6')	32.62	32.67	32.67	32.77 <sup>a</sup>	32.68 <sup>a</sup>			
<b>Guanin</b>	<b>86 (G)</b>	<b>Es wurde kein G<sub>2</sub>-Dimeres synthetisiert</b>		<b>130 (GA<sub>2</sub>)</b>		<b>132 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>		
				<b>I</b>	<b>I</b>	<b>II</b>		
	C(2)			53.01	51.89	52.16–	52.16–	
	C(3)			31.90	31.89	51.62	51.62	
	C(2')			159.65	159.62	32.00 <sup>a</sup>	31.97 <sup>a</sup>	
	C(4')			155.94	155.86	159.70	156.44	
	C(5')			112.31	112.22	155.93	152.74	
	C(6')			159.40	159.34	112.27	114.98	
	C(8')			146.12	146.12	159.40	153.64	
CH <sub>2</sub> –C(8')	27.12	27.22	146.17 <sup>a</sup>	144.09 <sup>a</sup>				
CH <sub>2</sub> –N(9')	43.91	43.86	27.58	27.41				
			43.95	43.80				
<b>Adenin</b>	<b>85 (A)</b>	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>II</b>	<b>III</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	
		<b>I</b>	<b>II</b>					
	C(2)	52.91	51.76	53.24	51.73	51.37	52.16–	51.44
	C(3)	32.09	32.09	32.37	32.21	32.30	51.62	32.35
	C(2')	151.31	151.52	151.52	151.28	151.28	32.24	32.35
	C(4')	153.28	153.52	153.52	153.46 <sup>a</sup>	153.45 <sup>a</sup>	151.38	151.38
C(5')	122.10	122.32 <sup>a</sup>	122.28 <sup>a</sup>	122.29 <sup>a</sup>	122.28 <sup>a</sup>	153.56 <sup>a</sup>	153.54 <sup>a</sup>	
						122.35	122.35	

C(6')	148.40	148.60 <sup>a)</sup>	148.54 <sup>a)</sup>	148.44 <sup>a)</sup>	148.44 <sup>a)</sup>	148.52 <sup>a)</sup>	148.50 <sup>a)</sup>
C(8')	151.12	151.32	151.88	151.80 <sup>a)</sup>	151.77 <sup>a)</sup>	151.87	151.96
CH <sub>2</sub> -C(8')	26.91	26.98	27.38	27.35 <sup>a)</sup>	27.31 <sup>a)</sup>	27.27	27.27
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.27	44.31 <sup>a)</sup>	44.22 <sup>a)</sup>	44.14	44.14	44.22	44.22

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

**Tabelle 7:** Chemische Verschiebungen [ppm] und Kopplungskonstanten [Hz] ausgewählter <sup>1</sup>H-NMR Signale der vollständig entschützten Thioether/Amid-Oktameren **135** und **137** in (D<sub>6</sub>)DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	<b>135</b> (U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> G <sub>2</sub> A <sub>2</sub> )		<b>137</b> (U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> )			
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>
<b>Uracil</b>						
H-C(2)	4.58– 4.37	4.58– 4.37	4.44– 4.32	4.44– 4.32	4.44– 4.32	4.44– 4.32
NH-C(2)	8.95– 8.62	8.95– 8.62	8.76– 8.41	8.76– 8.41	8.76– 8.41	8.76– 8.41
H <sub>a</sub> -C(3)	2.99–	2.99–	3.04–	3.04–	3.04–	3.04–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.72	2.72	2.69	2.69	2.69	2.69
CH <sub>a</sub> -N(1')	4.58–	4.83–	4.51	4.80–	4.80–	4.80–
CH <sub>b</sub> -N(1')	4.37	4.55	4.46	4.54	4.54	4.54
H-N(3')	11.41	11.37	11.34	11.34	11.34	11.34
H-C(5')	5.68 <sup>a)</sup>	5.67 <sup>a)</sup>	5.68 <sup>a)</sup>	5.68 <sup>a)</sup>	5.66 <sup>a)</sup>	5.66 <sup>a)</sup>
CH <sub>a</sub> -C(6')	3.72–	3.72–	3.66–	3.66–	3.66–	3.66–
CH <sub>b</sub> -C(6')	3.50	3.50	3.45	3.45	3.45	3.45
J(2,NH)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
J(3a,3b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
J(3a,2)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
J(3b,2)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
J(CH <sub>a</sub> -N(1'), CH <sub>b</sub> -N(1'))	b)	b)	17.8	b)	b)	b)
J(3',5')	1.5	–	–	–	–	–
J(CH <sub>a</sub> -C(6'), CH <sub>b</sub> -C(6'))	b)	b)	b)	b)	b)	b)
<b>Cytosin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>VII</b>	<b>VIII</b>
H-C(2)	4.58– 4.37	4.58– 4.37	4.44– 4.32	4.44– 4.32	4.44– 4.32	4.44– 4.32
NH-C(2)	8.95– 8.62	8.95– 8.62	8.76– 8.41	8.76– 8.41	8.76– 8.41	8.17
H <sub>a</sub> -C(3)	2.99–	2.99–	3.04–	3.04–	3.04–	3.04–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.72	2.72	2.69	2.69	2.69	2.69
CH <sub>a</sub> -N(1')	4.83–	4.83–	4.80–	4.80–	4.80–	4.80–
CH <sub>b</sub> -N(1')	4.55	4.55	4.54	4.54	4.54	4.54
H-C(5')	5.86	5.83	5.82 <sup>a)</sup>	5.82 <sup>a)</sup>	5.80 <sup>a)</sup>	5.78 <sup>a)</sup>
CH <sub>a</sub> -C(6')	3.72–	3.72–	3.66–	3.66–	3.66–	3.66–
CH <sub>b</sub> -C(6')	3.50	3.50	3.45	3.45	3.45	3.45
NH <sub>2</sub>	7.51	7.51	7.39 <sup>a)</sup>	7.28 <sup>a)</sup>	7.18 <sup>a)</sup>	7.05 <sup>a)</sup>
J(2,NH)	b)	b)	b)	b)	b)	7.7
J(3a,3b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)

<i>J</i> (3a,2)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
<i>J</i> (3b,2)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
<i>J</i> (CHa–N(1'), CHb–N(1'))	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
<i>J</i> (CHa–C(6'), CHb–C(6'))	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
<b>Guanin</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>					
H–C(2)	4.58– 4.37	4.58–4.37					
NH–C(2)	8.95– 8.62	8.95–8.62					
H <sub>a</sub> –C(3)	2.99–	2.99–					
H <sub>b</sub> –C(3)	2.72	2.72					
H–N(1')	10.64 <sup>a</sup> )	10.62 <sup>a</sup> )					
CH <sub>a</sub> –C(8')	4.05–	4.05–					
CH <sub>b</sub> –C(8')	3.73	3.73					
CH <sub>a</sub> –N(9')	4.78 <sup>a</sup> )	4.76 <sup>a</sup> )					
CH <sub>b</sub> –N(9')	4.78 <sup>a</sup> )	4.76 <sup>a</sup> )					
NH <sub>2</sub>	6.56 <sup>a</sup> )	6.48 <sup>a</sup> )					
<i>J</i> (2,NH)	b)	b)					
<i>J</i> (3a,3b)	b)	b)					
<i>J</i> (3a,2)	b)	b)					
<i>J</i> (3b,2)	b)	b)					
<i>J</i> (CHa–C(8'), CHb–C(8'))	b)	b)					
<i>J</i> (CHa–N(9'), CHb–N(9'))	–	–					
<b>Adenin</b>	<b>VII</b>	<b>VIII</b>					
H–C(2)	4.58– 4.37	4.58–4.37					
NH–C(2)	8.95– 8.62	8.19					
H <sub>a</sub> –C(3)	2.99–	2.99–					
H <sub>b</sub> –C(3)	2.72	2.72					
H–C(2')	8.10	8.10					
CH <sub>a</sub> –C(8')	4.01 <sup>a</sup> )	3.95 <sup>a</sup> )					
CH <sub>b</sub> –C(8')	4.01 <sup>a</sup> )	3.92 <sup>a</sup> )					
CH <sub>a</sub> –N(9')	5.02 <sup>a</sup> )	4.98 <sup>a</sup> )					
CH <sub>b</sub> –N(9')	4.98 <sup>a</sup> )	4.98 <sup>a</sup> )					
NH <sub>2</sub>	7.21	7.21					
<i>J</i> (2,NH)	b)	8.2					
<i>J</i> (3a,3b)	b)	b)					
<i>J</i> (3a,2)	b)	b)					
<i>J</i> (3b,2)	b)	b)					
<i>J</i> (CHa–C(8'), CHb–C(8'))	–	15.2					
<i>J</i> (CHa–N(9'), CHb–N(9'))	17.8	–					

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) Konnte aufgrund von Signalüberlappung nicht bestimmt werden.

**Tabelle 8:** Chemische Verschiebungen [ppm] ausgewählter  $^1\text{C}$ -NMR Signale der vollständig entschützten Thioether/Amid-Oktameren **135** und **137** in ( $D_6$ )DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	<b>135</b> (U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> G <sub>2</sub> A <sub>2</sub> )		<b>137</b> (U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> U <sub>2</sub> C <sub>2</sub> )			
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>
<b>Uracil</b>						
C(2)	52.32– 51.93	52.32– 51.93	52.77– 52.22	52.77– 52.22	52.77– 52.22	52.77– 52.22
C(3)	32.86– 31.77	32.86– 31.77	33.39– 32.57	33.39– 32.57	33.39– 32.57	33.39– 32.57
C(2')	151.93 <sup>c</sup>	151.81 <sup>c</sup>	151.89 <sup>a</sup>	151.85 <sup>a</sup>	151.82 <sup>a</sup>	151.77 <sup>a</sup>
C(4')	162.23 <sup>a</sup>	162.17 <sup>a</sup>	162.29 <sup>a</sup>	162.29 <sup>a</sup>	162.25 <sup>a</sup>	162.25 <sup>a</sup>
C(5')	102.54 <sup>a</sup>	102.44 <sup>a</sup>	102.24	102.24	102.24	102.24
C(6')	151.74 <sup>c</sup>	151.71 <sup>c</sup>	152.27 <sup>a</sup>	152.27 <sup>a</sup>	152.16 <sup>a</sup>	152.16 <sup>a</sup>
CH <sub>2</sub> -N(1')	44.80	45.59 <sup>d</sup>	45.36– 44.56	45.36– 44.56	45.36– 44.56	45.36– 44.56
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.86– 31.77	32.86– 31.77	32.19 <sup>a</sup>	32.19 <sup>a</sup>	32.13 <sup>a</sup>	32.11 <sup>a</sup>
<b>Cytosin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>VII</b>	<b>VIII</b>
C(2)	52.32– 51.93	52.32– 51.93	52.77– 52.22	52.77– 52.22	52.77– 52.22	51.81
C(3)	32.86– 31.77	32.86– 31.77	33.39– 32.57	33.39– 32.57	33.39– 32.57	33.39– 32.57
C(2')	156.47 <sup>b</sup>	156.43 <sup>b</sup>	156.80 <sup>a</sup>	156.80 <sup>a</sup>	156.63 <sup>a</sup>	156.58 <sup>a</sup>
C(4')	163.95 <sup>a</sup>	163.26 <sup>a</sup>	164.64	164.64	164.64	164.64
C(5')	94.73	94.73	94.61 <sup>a</sup>	94.61 <sup>a</sup>	94.57 <sup>a</sup>	94.52 <sup>a</sup>
C(6')	153.39	153.39	153.08 <sup>a</sup>	153.08 <sup>a</sup>	152.80 <sup>a</sup>	152.76 <sup>a</sup>
CH <sub>2</sub> -N(1')	45.23 <sup>d</sup>	44.57 <sup>d</sup>	45.36– 44.56	45.36– 44.56	45.36– 44.56	45.36– 44.56
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.86– 31.77	32.86– 31.77	32.46	32.46	32.46	32.46
<b>Guanin</b>	<b>V</b>	<b>VI</b>				
C(2)	52.32– 51.93	52.32– 51.93				
C(3)	32.86– 31.77	32.86– 31.77				
C(2')	156.47 <sup>b</sup>	156.43 <sup>b</sup>				
C(4')	152.75 <sup>a</sup>	152.69 <sup>a</sup>				
C(5')	114.89 <sup>a</sup>	114.88 <sup>a</sup>				
C(6')	153.64	153.64				
C(8')	144.38 <sup>a</sup>	144.33 <sup>a</sup>				
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.81 <sup>e</sup>	27.81 <sup>e</sup>				
CH <sub>2</sub> -N(9')	43.90 <sup>a</sup>	43.87 <sup>a</sup>				
<b>Adenin</b>	<b>VII</b>	<b>VIII</b>				
C(2)	52.32– 51.93	51.36				
C(3)	32.86–	32.86–				



	31.77	31.77
C(2')	152.15	152.15
C(4')	151.07 <sup>a)</sup>	151.05 <sup>a)</sup>
C(5')	117.39 <sup>a)</sup>	117.38 <sup>a)</sup>
C(6')	155.14 <sup>a)</sup>	155.09 <sup>a)</sup>
C(8')	148.42 <sup>a)</sup>	148.29 <sup>a)</sup>
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.71 <sup>e)</sup>	27.71 <sup>e)</sup>
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.00	44.00

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) c) d) e) Werte können vertauscht sein.

**Tabelle 9:** Chemische Verschiebungen [ppm] und Kopplungskonstanten [Hz] ausgewählter <sup>1</sup>H-NMR Signale des *i*-Butyryl-geschützten Monomeren **138**, des Monomeren **85**, der *i*-Butyryl-geschützten Di- und Tetrameren **141** und **143** und des Dimeren **126** in (D<sub>6</sub>)DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	Monomer	Dimer		Tetramer	
	<b>138 (G)</b>	<b>141 (G<sub>2</sub>)</b>		<b>143 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>		<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)
H–C(2)	4.30–4.19	4.55	4.23– 4.13	4.59– 4.43	4.59– 4.43
NH–C(2)	7.90–7.25 <sup>b)</sup>	8.88	7.95– 7.15 <sup>b)</sup>	8.88	9.08
H <sub>a</sub> –C(3)	2.83	3.10–	3.10–	3.00–	3.00–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.70	2.60	2.60	2.62	2.62
H–N(1')	–	–	12.06	–	12.07
NH–C(2')	10.35	10.36	12.06	10.38	11.68
CH <sub>a</sub> –C(8')	4.04	4.05	3.86	4.04	3.88
CH <sub>b</sub> –C(8')	4.04	4.05	3.86	4.04	3.88
CH <sub>a</sub> –N(9')	4.94	4.96	4.87	4.96	4.86
CH <sub>b</sub> –N(9')	4.94	4.91	4.87	4.91	4.86
<i>J</i> (2,NH)	<sup>e)</sup>	7.7	<sup>c)</sup>	7.4	7.6
<i>J</i> (3a,3b)	13.8	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
<i>J</i> (3a,2)	5.1	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
<i>J</i> (3b,2)	9.7	–	–	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> –C(8'), CH <sub>b</sub> –C(8'))	–	–	–	–	–
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> –N(9'), CH <sub>b</sub> –N(9'))	–	18.9	–	18.2	–
	<b>85 (A)</b>	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>132 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Adenin</b>		<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H–C(2)	4.38– 4.30	4.61	4.31– 4.26	4.59– 4.43	4.59– 4.43
NH–C(2)	7.90–7.27 <sup>b)</sup>	9.01	7.90– 7.25 <sup>b)</sup>	9.00	8.32
H <sub>a</sub> –C(3)	2.87	2.89	2.96	3.00–	3.00–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.73	2.76	2.81	2.62	2.62

H-C(2')	8.60	8.60 <sup>a)</sup>	8.57 <sup>a)</sup>	8.56 <sup>a)</sup>	8.55 <sup>a)</sup>
NH-C(6')	10.63	10.60	10.60	10.58	10.58
CH <sub>a</sub> -C(8')	4.15	4.17	4.05	4.11	4.03
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.15	4.17	4.05	4.06	4.00
CH <sub>a</sub> -N(9')	5.06	5.09 <sup>a)</sup>	5.07 <sup>a)</sup>	5.11	5.05
CH <sub>b</sub> -N(9')	5.06	5.09 <sup>a)</sup>	5.07 <sup>a)</sup>	5.07	5.05
J(2,NH)	<sup>c)</sup>	7.9	<sup>c)</sup>	7.8	8.0
J(3a,3b)	13.9	13.8	13.8	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
J(3a,2)	5.0	5.1	5.0	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
J(3b,2)	10.0	8.7	9.6	<sup>c)</sup>	<sup>c)</sup>
J(CH <sub>a</sub> -C(8'), CH <sub>b</sub> -C(8'))	–	–	–	14.0	15.3
J(CH <sub>a</sub> -N(9'), CH <sub>b</sub> -N(9'))	–	–	–	17.6	–

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) NH-C(2) der Fmoc-Schutzgruppe.

c) Konnte aufgrund von Signalüberlappung nicht bestimmt werden.

**Tabelle 10:** Chemische Verschiebungen [ppm] ausgewählter <sup>13</sup>C-NMR Signale des *i*-Butyryl-geschützten Monomeren **138**, des Monomeren **85**, der *i*-Butyryl-geschützten Di- und Tetrameren **141** und **143** und des Dimeren **126** in (*D*<sub>6</sub>)DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	Monomer	Dimer		Tetramer	
	<b>138 (G)</b>	<b>141 (G<sub>2</sub>)</b>		<b>143 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>		<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)
C(2)	52.96	51.57	53.22	51.59	51.97
C(3)	32.01	32.05	32.05	32.00	32.10
C(2')	151.95	152.00	147.91 <sup>b)</sup>	152.02	147.99 <sup>b)</sup>
C(4')	154.67	154.63	150.26	154.65	150.27
C(5')	115.72	115.70	118.61	115.71	118.59
C(6')	158.97	158.97	154.43 <sup>b)</sup>	158.98	154.49 <sup>b)</sup>
C(8')	149.69	149.68	146.62	149.72	146.75
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.06	27.12	27.34	27.13	27.41
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.27	44.27	44.27	44.31	44.31
	<b>85 (A)</b>	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>			
<b>Adenin</b>		<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
C(2)	52.91	51.76	53.24	51.97	51.43
C(3)	32.09	32.09	32.37	32.24	32.36
C(2')	151.31	151.52	151.52	151.37 <sup>a)</sup>	151.37 <sup>a)</sup>
C(4')	153.28	153.52	153.52	153.54	153.54
C(5')	122.10	122.32 <sup>a)</sup>	122.28 <sup>a)</sup>	122.34	122.34
C(6')	148.40	148.60 <sup>a)</sup>	148.54 <sup>a)</sup>	148.52 <sup>a)</sup>	148.52 <sup>a)</sup>
C(8')	151.12	151.32	151.88	151.93 <sup>a)</sup>	151.85 <sup>a)</sup>
CH <sub>2</sub> -C(8')	26.91	26.98	27.38	27.41	27.41
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.27	44.31 <sup>a)</sup>	44.22 <sup>a)</sup>	44.23	44.23

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) Werte können vertauscht sein.

**Tabelle 11:** Chemische Verschiebungen [ppm] und Kopplungskonstanten [Hz] ausgewählter  $^1\text{H}$ -NMR Signale der Dimeren **118–129** in ( $D_6$ )DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

Uracil	118 (U <sub>2</sub> )		119 (U <sub>2</sub> )	
	I	II	I	II
H–C(2)	4.50	4.30–4.22	4.50	3.57
NH–C(2)	8.82	7.93–7.25 <sup>b)</sup>	8.82	–
H <sub>a</sub> –C(3)	2.90	2.96	2.91	2.77
H <sub>b</sub> –C(3)	2.75	2.80	2.77	2.69
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.47	4.62	4.46	4.62
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.47	4.62	4.46	4.62
H–N(3')	11.43	11.39	11.35	11.35
H–C(5')	5.68	5.71	5.67	5.69
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.68	3.57	3.68	3.52
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.64	3.51	3.64	3.51
$J(2,\text{NH})$	7.8	°)	7.8	–
$J(3a,3b)$	14.0	13.7	13.9	13.4
$J(3a,2)$	5.4	5.0	5.3	6.0
$J(3b,2)$	8.6	9.6	10.3	6.8
$J(\text{CHa–N}(1'),$ $\text{CHb–N}(1'))$	–	–	–	–
$J(3',5')$	2.0	1.9	–	–
$J(\text{CHa–C}(6'),$ $\text{CHb–C}(6'))$	14.9	15.0	14.8	14.9
Cytosin	120 (C <sub>2</sub> )		121 (C <sub>2</sub> )	
	I	II	I	II
H–C(2)	4.53	4.34–4.27	4.53	4.31–4.23
NH–C(2)	8.85	7.85–7.24 <sup>b)</sup>	8.86	7.90– 7.24 <sup>b)</sup>
H <sub>a</sub> –C(3)	2.92	2.96	2.98–2.92	2.98–2.92
H <sub>b</sub> –C(3)	2.78	2.82	2.85–2.76	2.85–2.76
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.60	4.82	4.64	4.84–
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.60	4.76	4.64	4.73
NH–C(4')	10.79	10.79	10.80	10.80
H–C(5')	7.14	7.18	7.14	7.17
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.83	3.75	3.85	3.78
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.83	3.70	3.85	3.78
$J(2,\text{NH})$	7.8	°)	7.3	°)
$J(3a,3b)$	13.9	14.0	°)	°)
$J(3a,2)$	4.9	4.7	°)	°)
$J(3b,2)$	9.6	9.8	°)	°)
$J(\text{CHa–N}(1'),$ $\text{CHb–N}(1'))$	–	13.2	–	°)
$J(\text{CHa–C}(6'),$ $\text{CHb–C}(6'))$	–	15.2	–	°)

<b>Guanin</b>	<b>141 (G<sub>2</sub>)</b>		<b>142 (G<sub>2</sub>)</b>	
	<b>I</b>	<b>II (-Bn)</b>	<b>I</b>	<b>II (-Bn)</b>
H-C(2)	4.55	4.23–4.13	4.54	3.49
NH-C(2)	8.88	7.95–7.15 <sup>b</sup> )	8.89	–
H <sub>a</sub> -C(3)	3.10–	3.10–	2.84	2.79–2.66
H <sub>b</sub> -C(3)	2.60	2.60	2.79–2.66	2.66
H-N(1')	–	12.06	–	<sup>d</sup> )
NH-C(2')	10.36	12.06	10.37	<sup>d</sup> )
CH <sub>a</sub> -C(8')	4.05	3.86	4.05	3.84
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.05	3.86	4.05	3.84
CH <sub>a</sub> -N(9')	4.96	4.87	4.97	4.88
CH <sub>b</sub> -N(9')	4.91	4.87	4.92	4.88
<i>J</i> (2,NH)	7.7	<sup>c</sup> )	7.9	–
<i>J</i> (3a,3b)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	13.9	13.5
<i>J</i> (3a,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	5.4	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (3b,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	6.8
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -C(8'), CH <sub>b</sub> -C(8'))	–	–	–	–
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -N(9'), CH <sub>b</sub> -N(9'))	18.9	–	18.1	–
	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>127 (A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Adenin</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
H-C(2)	4.61	4.31–4.26	4.60	3.52
NH-C(2)	9.01	7.90–7.25 <sup>b</sup> )	9.00	–
H <sub>a</sub> -C(3)	2.89	2.96	2.90	2.79
H <sub>b</sub> -C(3)	2.76	2.81	2.76	2.71
H-C(2')	8.60 <sup>a</sup> )	8.57 <sup>a</sup> )	8.57 <sup>a</sup> )	8.60 <sup>a</sup> )
NH-C(6')	10.60	10.60	<sup>d</sup> )	<sup>d</sup> )
CH <sub>a</sub> -C(8')	4.17	4.05	4.16	4.03
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.17	4.05	4.16	4.03
CH <sub>a</sub> -N(9')	5.09 <sup>a</sup> )	5.07 <sup>a</sup> )	5.11	5.11
CH <sub>b</sub> -N(9')	5.09 <sup>a</sup> )	5.07 <sup>a</sup> )	5.06	5.06
<i>J</i> (2,NH)	7.9	<sup>c</sup> )	8.0	–
<i>J</i> (3a,3b)	13.8	13.8	13.9	13.7
<i>J</i> (3a,2)	5.1	5.0	5.0	6.2
<i>J</i> (3b,2)	8.7	9.6	8.9	6.6
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -C(8'), CH <sub>b</sub> -C(8'))	–	–	–	–
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -N(9'), CH <sub>b</sub> -N(9'))	–	–	18.8	18.8
	<b>128 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>129 (A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Adenin</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
H-C(2)	4.60	4.49	4.59	4.49
NH-C(2)	9.00	8.33	9.05	8.85
H <sub>a</sub> -C(3)	2.89	2.92	2.92	2.92–2.81
H <sub>b</sub> -C(3)	2.76	2.77	2.92–2.81	2.76
H-C(2')	8.60 <sup>a</sup> )	8.57 <sup>a</sup> )	8.59 <sup>a</sup> )	8.57 <sup>a</sup> )
NH-C(6')	10.59	10.59	10.60	10.60

CH <sub>a</sub> -C(8')	4.17	4.06	4.17	4.03
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.17	4.02	4.17	4.03
CH <sub>a</sub> -N(9')	5.08	5.08	5.09 <sup>a)</sup>	5.08 <sup>a)</sup>
CH <sub>b</sub> -N(9')	5.08	5.08	5.09 <sup>a)</sup>	5.08 <sup>a)</sup>
J(2,NH)	7.9	8.0	7.8	7.7
J(3a,3b)	13.7	13.8	13.4	14.1
J(3a,2)	5.3	5.2	4.4	<sup>c)</sup>
J(3b,2)	6.5	8.6	<sup>c)</sup>	8.9
J(CH <sub>a</sub> -C(8'), CH <sub>b</sub> -C(8'))	–	14.9	–	–
J(CH <sub>a</sub> -N(9'), CH <sub>b</sub> -N(9'))	–	–	–	–

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) NH-C(2) der Fmoc-Schutzgruppe.

c) Konnte aufgrund von Signalüberlappung nicht bestimmt werden.

d) Signal zu breit für eine Zuordnung.

**Tabelle 12:** Chemische Verschiebungen [ppm] ausgewählter <sup>13</sup>C-NMR Signale der Dimeren **118–129** in (D<sub>6</sub>)DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	<b>118 (U<sub>2</sub>)</b>		<b>119 (U<sub>2</sub>)</b>	
<b>Uracil</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
C(2)	51.81	53.51	51.79	54.35
C(3)	31.51	31.69	31.54	35.18
C(2')	151.69	151.69	151.78 <sup>a)</sup>	151.69 <sup>a)</sup>
C(4')	162.11	162.20	162.11	162.22
C(5')	102.81	102.58	102.80	102.40
C(6')	151.33	151.79	151.34	152.19
CH <sub>2</sub> -N(1')	45.38	44.57	45.39	44.55
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.00	32.00	32.00	32.24
	<b>120 (C<sub>2</sub>)</b>		<b>121 (C<sub>2</sub>)</b>	
<b>Cytosin</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
C(2)	51.76	53.47	51.89	53.50
C(3)	32.23	32.23	32.27	32.27
C(2')	155.99	155.99	156.01	156.01
C(4')	162.16 <sup>a)</sup>	162.02 <sup>a)</sup>	162.16 <sup>a)</sup>	162.03 <sup>a)</sup>
C(5')	95.58 <sup>a)</sup>	95.40 <sup>a)</sup>	95.46 <sup>a)</sup>	95.43 <sup>a)</sup>
C(6')	156.62	157.16	156.86	157.22
CH <sub>2</sub> -N(1')	46.65	45.80	46.05	45.87
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.67	32.67	32.71	32.71
	<b>141 (G<sub>2</sub>)</b>		<b>142 (G<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)
C(2)	51.57	53.22	51.56	54.14
C(3)	32.05	32.05	32.07	35.59
C(2')	152.00	147.91 <sup>b)</sup>	152.00	147.92 <sup>b)</sup>
C(4')	154.63	150.26	154.64	150.25

C(5')	115.70	118.61	115.70	118.53
C(6')	158.97	154.43 <sup>b)</sup>	158.98	154.44 <sup>b)</sup>
C(8')	149.68	146.62	149.70	146.95
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.12	27.34	27.78	27.15
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.27	44.27	44.30 <sup>a)</sup>	44.24 <sup>a)</sup>
	<b>126 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>127 (A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Adenin</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
C(2)	51.76	53.24	51.74	54.21
C(3)	32.09	32.37	32.10	35.73
C(2')	151.52	151.52	151.51 <sup>a)</sup>	151.29 <sup>a)</sup>
C(4')	153.52	153.52	153.57 <sup>a)</sup>	153.48 <sup>a)</sup>
C(5')	122.32 <sup>a)</sup>	122.28 <sup>a)</sup>	122.39 <sup>a)</sup>	122.24 <sup>a)</sup>
C(6')	148.60 <sup>a)</sup>	148.54 <sup>a)</sup>	148.60	148.52
C(8')	151.32	151.88	152.17	151.33
CH <sub>2</sub> -C(8')	26.98	27.38	26.99	27.82
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.31 <sup>a)</sup>	44.22 <sup>a)</sup>	44.32 <sup>a)</sup>	44.21 <sup>a)</sup>
	<b>128 (A<sub>2</sub>)</b>		<b>129 (A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Adenin</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
C(2)	51.75	51.46	51.91	51.50
C(3)	32.08	32.41	32.22	32.46
C(2')	151.52	151.52	151.49 <sup>a)</sup>	151.39 <sup>a)</sup>
C(4')	153.54 <sup>a)</sup>	153.52 <sup>a)</sup>	153.56 <sup>a)</sup>	153.47 <sup>a)</sup>
C(5')	122.36 <sup>a)</sup>	122.28 <sup>a)</sup>	122.32 <sup>a)</sup>	122.31 <sup>a)</sup>
C(6')	148.59 <sup>a)</sup>	148.53 <sup>a)</sup>	148.58 <sup>a)</sup>	148.54 <sup>a)</sup>
C(8')	151.33 <sup>a)</sup>	151.83 <sup>a)</sup>	151.65	151.94
CH <sub>2</sub> -C(8')	26.97	27.44	27.09	27.48
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.32	44.22	44.27 <sup>a)</sup>	43.85 <sup>a)</sup>

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) Werte können vertauscht sein.

**Tabelle 13:** Chemische Verschiebungen [ppm] und Kopplungskonstanten [Hz] ausgewählter <sup>1</sup>H-NMR Signale der Tetrameren **122–144** in (D<sub>6</sub>)DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

<b>Uracil</b>	<b>122 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>		<b>123 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
H-C(2)	4.56–4.47	4.56–4.47	4.56–4.47	4.56–4.47
NH-C(2)	8.82	8.87	8.81	8.84 <sup>d)</sup>
H <sub>a</sub> -C(3)	2.98–	2.98–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.71	2.71	2.66	2.66
CH <sub>a</sub> -N(1')	4.46	4.65	4.43	4.64
CH <sub>b</sub> -N(1')	4.46	4.65	4.43	4.64
H-N(3')	11.44	11.39	11.40	11.40
H-C(5')	5.67	5.69	5.67	5.69
CH <sub>a</sub> -C(6')	3.68	3.54	3.68	3.58–
CH <sub>b</sub> -C(6')	3.64	3.51	3.64	3.52
J(2,NH)	7.8	8.0	7.8	7.9
J(3a,3b)	c)	c)	c)	c)

<i>J</i> (3a,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (3b,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (CHa–N(1'), CHb–N(1'))	–	–	–	–
<i>J</i> (3',5')	–	1.2	–	–
<i>J</i> (CHa–C(6'), CHb–C(6'))	15.0	15.0	15.0	c)
<b>Cytosin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H–C(2)	4.56–4.47	4.35–4.18	4.56–4.47	3.58–3.52
NH–C(2)	8.85	7.85–7.24 <sup>b)</sup>	8.86 <sup>d)</sup>	–
H <sub>a</sub> –C(3)	2.98–	2.98–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.71	2.71	2.66	2.66
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.77 <sup>a)</sup>	4.75 <sup>a)</sup>	4.76	4.78
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.77 <sup>a)</sup>	4.75 <sup>a)</sup>	4.76	4.78
NH–C(4')	10.78	10.78	10.78	10.78
H–C(5')	7.17 <sup>a)</sup>	7.16 <sup>a)</sup>	7.16 <sup>a)</sup>	7.15 <sup>a)</sup>
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.78–	3.78–	3.76	3.71
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.67	3.67	3.72	3.71
<i>J</i> (2,NH)	8.0	c)	7.9	–
<i>J</i> (3a,3b)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (3a,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (3b,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (CHa–N(1'), CHb–N(1'))	–	–	–	–
<i>J</i> (CHa–C(6'), CHb–C(6'))	c)	c)	15.2	–
	<b>124 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>		<b>125 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>	
<b>Uracil</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
H–C(2)	4.55–4.47	4.55–4.47	4.55–4.47	4.55–4.47
NH–C(2)	8.81	8.86	8.81	8.86
H <sub>a</sub> –C(3)	2.98–	2.98–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.71	2.71	2.74	2.74
CH <sub>a</sub> –N(1')	4.46	4.60	4.55–	4.60
CH <sub>b</sub> –N(1')	4.46	4.60	4.47	4.60
H–N(3')	11.41	11.39	11.42	11.38
H–C(5')	5.67	5.69	5.67	5.69
CH <sub>a</sub> –C(6')	3.67	3.51	3.68	3.58
CH <sub>b</sub> –C(6')	3.64	3.51	3.65	3.52
<i>J</i> (2,NH)	7.8	8.1	7.8	8.5
<i>J</i> (3a,3b)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (3a,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (3b,2)	c)	c)	c)	c)
<i>J</i> (CHa–N(1'), CHb–N(1'))	–	–	–	–
<i>J</i> (3',5')	–	–	2.0	1.9
<i>J</i> (CHa–C(6'), CHb–C(6'))	14.8	14.7	15.5	15.0
<b>Cytosin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H–C(2)	4.55–4.47	4.44	4.55–4.47	4.44
NH–C(2)	8.84	8.36	8.84	8.36

H <sub>a</sub> -C(3)	2.98–	2.98–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.71	2.71	2.74	2.74
CH <sub>a</sub> -N(1')	4.75	4.75	4.75	4.75
CH <sub>b</sub> -N(1')	4.75	4.75	4.75	4.75
NH-C(4')	10.77 <sup>a</sup> )	10.77 <sup>a</sup> )	10.78	10.78
H-C(5')	7.16 <sup>a</sup> )	7.15 <sup>a</sup> )	7.15 <sup>a</sup> )	7.14 <sup>a</sup> )
CH <sub>a</sub> -C(6')	3.75	3.72	3.75	3.73
CH <sub>b</sub> -C(6')	3.72	3.69	3.73	3.69
<i>J</i> (2,NH)	8.1	7.9	8.0	7.9
<i>J</i> (3a,3b)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (3a,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (3b,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -N(1'), CH <sub>b</sub> -N(1'))	–	–	–	–
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -C(6'), CH <sub>b</sub> -C(6'))	15.5	15.2	15.8	15.3
	<b>132 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>		<b>133 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b> (–Bn)	<b>II</b> (–Bn)
H-C(2)	4.60–4.43	4.60–4.43	4.59–4.49	4.59–4.49
NH-C(2)	8.84	9.14	8.94	9.11
H <sub>a</sub> -C(3)	2.99–	2.99–	2.99–	2.99–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.65	2.65	2.72	2.72
H-N(1')	–	10.59	10.68 <sup>a</sup> )	10.68 <sup>a</sup> )
NH-C(2')	–	–	–	–
CH <sub>a</sub> -C(8')	3.94	3.79	3.97	3.88
CH <sub>b</sub> -C(8')	3.94	3.79	3.93	3.88
CH <sub>a</sub> -N(9')	4.82	4.71	4.77	4.83
CH <sub>b</sub> -N(9')	4.77	4.71	4.77	4.78
NH <sub>2</sub>	6.53	6.48	6.63 <sup>a</sup> )	6.58 <sup>a</sup> )
<i>J</i> (2,NH)	7.8	7.5	7.6	7.5
<i>J</i> (3a,3b)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (3a,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (3b,2)	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )	<sup>c</sup> )
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -C(8'), CH <sub>b</sub> -C(8'))	–	–	14.6	–
<i>J</i> (CH <sub>a</sub> -N(9'), CH <sub>b</sub> -N(9'))	18.1	–	–	17.8
<b>Adenin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H-C(2)	4.60–4.43	4.60–4.43	4.59–4.49	4.47
NH-C(2)	9.01	8.32	9.00	8.31
H <sub>a</sub> -C(3)	2.99–	2.99–	2.99–	2.99–
H <sub>b</sub> -C(3)	2.65	2.65	2.72	2.72
H-C(2')	8.57 <sup>a</sup> )	8.56 <sup>a</sup> )	8.58 <sup>a</sup> )	8.56 <sup>a</sup> )
NH-C(6')	10.59	10.59	10.73 <sup>a</sup> )	10.69 <sup>a</sup> )
CH <sub>a</sub> -C(8')	4.11	4.01	4.11	4.03
CH <sub>b</sub> -C(8')	4.07	4.01	4.07	4.00
CH <sub>a</sub> -N(9')	5.12	5.06	5.12	5.08
CH <sub>b</sub> -N(9')	5.08	5.06	5.09	5.05
<i>J</i> (2,NH)	7.7	7.9	7.7	7.9



$J(3a,3b)$	c)	c)	c)	c)
$J(3a,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(3b,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(\text{CH}_a\text{-C}(8'),$ $\text{CH}_b\text{-C}(8'))$	15.0	–	14.8	15.0
$J(\text{CH}_a\text{-N}(9'),$ $\text{CH}_b\text{-N}(9'))$	18.0	–	17.6	17.9
	<b>143 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>		<b>144 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b> (–Bn)	<b>II</b> (–Bn)
H–C(2)	4.59–4.43	4.59–4.43	4.56	4.53–4.49
NH–C(2)	8.88	9.08	8.95	9.08
H <sub>a</sub> –C(3)	3.00–	3.00–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.62	2.62	2.74	2.74
H–N(1')	–	12.07	12.09	12.08
NH–C(2')	10.38	11.68	11.70	11.68
CH <sub>a</sub> –C(8')	4.04	3.88	3.99	3.90
CH <sub>b</sub> –C(8')	4.04	3.88	3.99	3.90
CH <sub>a</sub> –N(9')	4.96	4.86	4.87	4.89
CH <sub>b</sub> –N(9')	4.91	4.86	4.87	4.89
$J(2,\text{NH})$	7.4	7.6	7.7	7.6
NH <sub>2</sub>	–	–	–	–
$J(3a,3b)$	c)	c)	c)	c)
$J(3a,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(3b,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(\text{CH}_a\text{-C}(8'),$ $\text{CH}_b\text{-C}(8'))$	–	–	–	–
$J(\text{CH}_a\text{-N}(9'),$ $\text{CH}_b\text{-N}(9'))$	18.2	–	–	–
<b>Adenin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
H–C(2)	4.59–4.43	4.59–4.43	4.53–4.49	4.47
NH–C(2)	9.00	8.32	9.00	8.31
H <sub>a</sub> –C(3)	3.00–	3.00–	2.98–	2.98–
H <sub>b</sub> –C(3)	2.62	2.62	2.74	2.74
H–C(2')	8.56 <sup>a</sup> )	8.55 <sup>a</sup> )	8.57 <sup>a</sup> )	8.55 <sup>a</sup> )
NH–C(6')	10.58	10.58	10.61	10.61
CH <sub>a</sub> –C(8')	4.11	4.03	4.11	4.03
CH <sub>b</sub> –C(8')	4.06	4.00	4.07	4.00
CH <sub>a</sub> –N(9')	5.11	5.05	5.11	5.08
CH <sub>b</sub> –N(9')	5.07	5.05	5.08	5.04
$J(2,\text{NH})$	7.8	8.0	7.8	8.0
$J(3a,3b)$	c)	c)	c)	c)
$J(3a,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(3b,2)$	c)	c)	c)	c)
$J(\text{CH}_a\text{-C}(8'),$ $\text{CH}_b\text{-C}(8'))$	14.0	15.3	14.9	15.2
$J(\text{CH}_a\text{-N}(9'),$ $\text{CH}_b\text{-N}(9'))$	17.6	–	17.6	18.4

<sup>a</sup>) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) NH-C(2) der Fmoc-Schutzgruppe.

c) Konnte aufgrund Signalüberlappung nicht bestimmt werden.

d) Werte können vertauscht sein.

**Tabelle 14:** Chemische Verschiebungen [ppm] ausgewählter  $^{13}\text{C}$ -NMR Signale der Tetrameren **122–144** in ( $D_6$ )DMSO bei 22–23°. Die Zuordnung erfolgte anhand von HSQC- und HMBC-Spektren.

	<b>122 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>		<b>123 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
<b>Uracil</b>				
C(2)	51.82	52.07	51.82	52.06 <sup>c</sup> )
C(3)	31.45	31.59	31.45	31.60
C(2')	151.79 <sup>b</sup> )	151.75 <sup>b</sup> )	151.79 <sup>d</sup> )	151.76 <sup>d</sup> )
C(4')	162.24 <sup>a</sup> )	162.16 <sup>a</sup> )	162.24 <sup>a</sup> )	162.16 <sup>a</sup> )
C(5')	102.84	102.62	102.84	102.62
C(6')	151.36	151.71 <sup>b</sup> )	151.36	151.71 <sup>d</sup> )
CH <sub>2</sub> -N(1')	45.42	44.62	45.41	44.62
CH <sub>2</sub> -C(6')	31.98	32.08	31.98	32.08
<b>Cytosin</b>				
	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
C(2)	51.96	53.49	51.92 <sup>c</sup> )	54.32
C(3)	32.29	32.23	32.31	35.65
C(2')	156.10 <sup>a</sup> )	156.07 <sup>a</sup> )	156.05 <sup>a</sup> )	156.02 <sup>a</sup> )
C(4')	162.07	162.07	162.06	162.03
C(5')	95.43 <sup>a</sup> )	95.34 <sup>a</sup> )	95.37 <sup>a</sup> )	95.33 <sup>a</sup> )
C(6')	157.24 <sup>a</sup> )	156.21 <sup>a</sup> )	157.18	157.60
CH <sub>2</sub> -N(1')	46.00	45.85	45.99	45.82
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.77 <sup>a</sup> )	32.68 <sup>a</sup> )	32.75	32.91
	<b>124 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>		<b>125 (U<sub>2</sub>C<sub>2</sub>)</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
<b>Uracil</b>				
C(2)	51.81	52.05 <sup>f</sup> )	51.87	52.06 <sup>h</sup> )
C(3)	31.45	31.60	31.49	31.59
C(2')	151.76 <sup>e</sup> )	151.74 <sup>e</sup> )	151.78 <sup>g</sup> )	151.75 <sup>g</sup> )
C(4')	162.20 <sup>a</sup> )	162.11 <sup>a</sup> )	162.20 <sup>a</sup> )	162.15 <sup>a</sup> )
C(5')	102.80	102.59	102.65	102.59
C(6')	151.34	151.68 <sup>e</sup> )	151.57	151.73 <sup>g</sup> )
CH <sub>2</sub> -N(1')	45.39	44.59	45.74	44.62
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.07 <sup>a</sup> )	31.97 <sup>a</sup> )	32.08 <sup>a</sup> )	32.00 <sup>a</sup> )
<b>Cytosin</b>				
	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
C(2)	51.94 <sup>f</sup> )	51.53	52.06 <sup>h</sup> )	51.53
C(3)	32.29	32.40	32.29	32.40
C(2')	156.05	156.05	156.00	156.00
C(4')	162.05	162.05	162.03 <sup>a</sup> )	162.01 <sup>a</sup> )
C(5')	95.33	95.33	95.38	95.38
C(6')	157.21	157.21	157.17	157.17
CH <sub>2</sub> -N(1')	45.97 <sup>a</sup> )	45.84 <sup>a</sup> )	45.98 <sup>a</sup> )	45.84 <sup>a</sup> )
CH <sub>2</sub> -C(6')	32.74 <sup>a</sup> )	32.74 <sup>a</sup> )	32.75 <sup>a</sup> )	32.75 <sup>a</sup> )
	<b>132 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>		<b>133 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>I</b>	<b>II</b>
<b>Guanin</b>				
C(2)	52.16–	52.16– (–Bn)	51.96 (–Bn)	52.03 (–Bn)

	51.62	51.62		
C(3)	32.00 <sup>a)</sup>	31.97 <sup>a)</sup>	32.03	32.10
C(2')	159.70	156.44	156.05 <sup>j)</sup>	155.89 <sup>j)</sup>
C(4')	155.93	152.74	152.49 <sup>a)</sup>	152.47 <sup>a)</sup>
C(5')	112.27	114.98	<sup>m)</sup>	<sup>m)</sup>
C(6')	159.40	153.64	153.95 <sup>j)</sup>	153.90 <sup>j)</sup>
C(8')	146.17 <sup>a)</sup>	144.09 <sup>a)</sup>	144.01	144.44
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.58	27.41	27.60 <sup>k)</sup>	27.40 <sup>k)</sup>
CH <sub>2</sub> -N(9')	43.95	43.80	43.51	44.01
<b>Adenin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
C(2)	52.16– 51.62	51.44	51.98	51.43
C(3)	32.24	32.35	32.26	32.38
C(2')	151.38	151.38	151.22	151.22
C(4')	153.56 <sup>a)</sup>	153.54 <sup>a)</sup>	153.52 <sup>a)</sup>	153.50 <sup>a)</sup>
C(5')	122.35	122.35	122.20	122.20
C(6')	148.52 <sup>a)</sup>	148.50 <sup>a)</sup>	148.41 <sup>a)</sup>	148.39 <sup>a)</sup>
C(8')	151.87	151.96	152.04 <sup>a)</sup>	151.95 <sup>a)</sup>
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.27	27.27	27.18 <sup>k)</sup>	27.11 <sup>k)</sup>
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.22	44.22	44.27 <sup>a)</sup>	44.24 <sup>a)</sup>
	<b>143 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>		<b>144 (G<sub>2</sub>A<sub>2</sub>)</b>	
<b>Guanin</b>	<b>I</b>	<b>II</b> (–Bn)	<b>I</b> (–Bn)	<b>II</b> (–Bn)
C(2)	51.59	51.97	51.81	52.02
C(3)	32.00	32.10	31.94	32.11
C(2')	152.02	154.49 <sup>i)</sup>	154.45 <sup>l)</sup>	154.39 <sup>l)</sup>
C(4')	154.65	150.27	150.27 <sup>a)</sup>	150.14 <sup>a)</sup>
C(5')	115.71	118.59	118.59 <sup>a)</sup>	118.54 <sup>a)</sup>
C(6')	158.98	147.99 <sup>i)</sup>	148.02 <sup>l)</sup>	147.98 <sup>l)</sup>
C(8')	149.72	146.75	146.53	146.78
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.13	27.41	27.04	27.47
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.31	44.31	43.87	44.23
<b>Adenin</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
C(2)	51.97	51.43	51.97	51.44
C(3)	32.24	32.36	32.26	32.37
C(2')	151.37 <sup>a)</sup>	151.37 <sup>a)</sup>	151.25	151.25
C(4')	153.54	153.54	153.49	153.49
C(5')	122.34	122.34	122.24 <sup>a)</sup>	122.24 <sup>a)</sup>
C(6')	148.52 <sup>a)</sup>	148.52 <sup>a)</sup>	148.43	148.43
C(8')	151.93 <sup>a)</sup>	151.85 <sup>a)</sup>	151.97 <sup>a)</sup>	151.88 <sup>a)</sup>
CH <sub>2</sub> -C(8')	27.41	27.41	27.40 <sup>a)</sup>	27.40 <sup>a)</sup>
CH <sub>2</sub> -N(9')	44.23	44.23	44.23	44.23

a) Werte können innerhalb derselben Reihe einer Zelle vertauscht sein.

b) c) d) e) f) g) h) i) j) k) l) Werte können vertauscht sein.

m) Signal zu breit für eine Zuordnung.

## 8. Referenzen

- [1] S. Eppacher, N. Solladie, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1311.
- [2] A. Vasella, *Chimia* **2005**, *59*, 785.
- [3] A. J. Matthews, P. K. Bhardwaj, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 2273.
- [4] A. Ritter, D. Egli, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 673.
- [5] X. Zhang, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 864.
- [6] X. Zhang, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 2861.
- [7] X. Zhang, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 891.
- [8] M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen, R. H. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1895.
- [9] M. Egholm, P. E. Nielsen, O. Buchardt, R. H. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9677.
- [10] B. Hyrup, P. E. Nielsen, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 5.
- [11] A. Porcheddu, G. Giacomelli, *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 2561.
- [12] F. De Giacomo, *Dissertation ETH Zürich* **2009**, *Diss. ETH Nr. 18533*.
- [13] W. Saenger, 'Principles of Nucleic Acid Structure', Springer Verlag, New York, **1984**.
- [14] M. Blackburn, M. Gait, D. Loakes, D. Williams, 'Nucleic Acids in Chemistry and Biology', RSCPublishing, Cambridge, **2006**.
- [15] M. D. Frankkamenetskii, M. SM, *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 65.
- [16] C. C. Hardin, A. G. Perry, K. White, *Biopolymers* **2000**, *56*, 147.
- [17] I. Radhakrishnan, D. J. Patel, *Structure* **1994**, *2*, 17.
- [18] M. W. da Silva, *Biochemistry* **2003**, *42*, 14356.
- [19] G. N. Parkinson, M. P. H. Lee, S. Neidle, *Nature* **2002**, *417*, 876.
- [20] N. Esmaili, J. L. Leroy, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 213.
- [21] S. Wolfe, A. Rauk, L. M. Tel, I. G. Csizmadi, *J. Chem. Soc. B* **1971**, 136.
- [22] S. Wolfe, *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 102.
- [23] B. Äbischer, R. Hollenstein, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 1748.
- [24] E. Juaristi, *J. Chem. Educ.* **1979**, *56*, 438.
- [25] I. Tvaroska, T. Bleha, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1989**, *47*, 45.
- [26] P. A. Limbach, P. F. Crain, J. A. McCloskey, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 2183.
- [27] A. N. Lane, S. Ebel, T. Brown, *Eur. J. Biochem.* **1993**, *215*, 297.
- [28] A. De Mesmaeker, A. Waldner, J. Lebreton, P. Hoffmann, V. Fritsch, R. M. Wolf, S. M. Freier, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1994**, *33*, 226.
- [29] J. Lebreton, A. Waldner, V. Fritsch, R. R. Wolf, A. De Mesmaeker, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5225.
- [30] P. von Matt, A. De Mesmaeker, U. Pieleles, W. Zürcher, K. H. Altmann, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2899.
- [31] T. Wada, N. Minaminoto, Y. Inaki, Y. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6900.
- [32] R. A. Goodnow, S. Tam, D. L. Pruess, W. W. McComas, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3199.
- [33] J. D. Buttrey, A. S. Jones, R. T. Walker, *Tetrahedron* **1975**, *31*, 73.
- [34] M. Kuwahara, M. Arimitsu, M. Sisido, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 10067.
- [35] D. D. Weller, D. T. Daly, W. K. Olson, J. E. Summerton, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6000.
- [36] P. Ciapetti, F. Soccolini, M. Taddei, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 1167.
- [37] O. Almarsson, T. C. Bruice, J. Kerr, R. N. Zuckermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, *90*, 7518.
- [38] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Science* **1991**, *254*, 1497.

- [39] E. Uhlmann, A. Peyman, G. Breipohl, D. W. Will, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 2797.
- [40] V. V. Demidov, V. N. Potaman, M. D. Frankkamenetskii, M. Egholm, O. Buchard, S. H. Sonnichsen, P. E. Nielsen, *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1310.
- [41] C. Schildkraut, S. Lifson, *Biopolymers* **1965**, *3*, 195.
- [42] M. Egholm, O. Buchardt, P. E. Nielsen, R. H. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1895.
- [43] G. Haaima, A. Lohse, O. Buchardt, P. E. Nielsen, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, *35*, 1939.
- [44] E. Uhlmann, D. W. Will, G. Breipohl, D. Langner, A. RYTE, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, *35*, 2632.
- [45] V. V. Demidov, V. N. Potman, M. D. Frankkamenetskii, M. Egholm, O. Buchard, S. H. Sonnichsen, P. E. Nielsen, *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1310.
- [46] P. Wittung, J. Kajanus, K. Edwards, G. Haaima, P. Nielsen, B. Norden, B. G. Malmstrom, *FEBS Lett.* **1995**, *375*, 317.
- [47] U. Koppelhus, P. E. Nielsen, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2003**, *55*, 267.
- [48] T. Ljungstrom, H. Knudsen, P. E. Nielsen, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 965.
- [49] P. Wittung, P. E. Nielsen, O. Buchardt, M. Egholm, B. Norden, *Nature* **1994**, *368*, 561.
- [50] H. Rasmussen, T. Liljefors, B. Petersson, P. E. Nielsen, J. S. Kastrup, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2004**, *21*, 495.
- [51] H. Rasmussen, J. Sandholm, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 98.
- [52] L. Betts, J. JA, J. M. Veal, S. R. Jordan, *Science* **1995**, *270*, 1838.
- [53] M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S. M. Freier, D. A. Driver, R. H. Berg, S. K. Kim, B. Norden, P. E. Nielsen, *Nature* **1993**, *365*, 566.
- [54] D. J. Rose, *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 3545.
- [55] S. Tomac, M. Sarkar, T. Ratilainen, P. Wittung, P. E. Nielsen, B. Norden, A. Graslund, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5544.
- [56] K. L. Dueholm, K. H. Petersen, D. K. Jensen, M. Egholm, P. E. Nielsen, O. Buchardt, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1077.
- [57] M. Eriksson, P. E. Nielsen, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 410.
- [58] M. Leijon, A. Graslund, P. E. Nielsen, O. Buchardt, B. Norden, S. M. Kristensen, M. Eriksson, *Biochemistry* **1994**, *33*, 9820.
- [59] M. Eriksson, P. E. Nielsen, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 410.
- [60] S. C. Brown, S. A. Thomson, J. M. Veal, D. G. Davis, *Science* **1994**, *265*, 777.
- [61] P. E. Nielsen, L. Christensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2287.
- [62] E. A. Lesnik, L. M. Risen, D. A. Driver, M. C. Griffith, K. Sprankle, S. M. Freier, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 568.
- [63] V. V. Demidov, M. V. Yavinilovich, B. P. Belotserkovskii, M. D. Frankkamenetskii, P. E. Nielsen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1995**, *92*, 2637.
- [64] M. Egholm, L. Christensen, K. L. Dueholm, O. Buchardt, J. Coull, P. E. Nielsen, *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 217.
- [65] H. Knudsen, P. E. Nielsen, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 494.
- [66] J. C. Hanvey, N. J. Peffer, J. E. Bisi, S. A. Thomson, R. Cadilla, J. A. Josey, D. J. Ricca, C. F. Hassman, M. A. Bonham, K. G. Au, S. G. Carter, D. A. Bruckenstein, A. L. Boyd, S. A. Noble, L. E. Babiss, *Science* **1992**, *258*, 1481.
- [67] M. A. Bonham, S. Brown, A. L. Boyd, P. H. Brown, D. A. Bruckenstein, J. C. Hanvey, S. A. Thomson, A. Pipe, F. Hassman, J. E. Bisi, B. C. Froehler, M. D. Matteucci, R. W. Wagner, S. A. Noble, L. E. Babiss, *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*, 1197.
- [68] P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 197.

- [69] P. E. Nielsen, M. Egholm, O. Buchardt, *Journal of Molecular Recognition* **1994**, *7*, 165.
- [70] P. Wittung, P. Nielsen, B. Norden, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7049.
- [71] D. Y. Cherny, B. P. Belotserkovskii, M. D. Frankkamenetskii, M. Egholm, O. Buchardt, R. H. Berg, P. E. Nielsen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, *90*, 1667.
- [72] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149.
- [73] R. L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3526.
- [74] S. A. Thomson, J. A. Josey, R. Cadilla, M. D. Gaul, C. F. Hassman, M. J. Luzzio, A. J. Pipe, K. L. Reed, D. J. Ricca, R. W. Wiethe, S. A. Noble, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6179.
- [75] K. U. Schoning, P. Scholz, S. Guntha, X. Wu, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Science* **2000**, *290*, 1347.
- [76] M. Beier, F. Reck, T. Wagner, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Science* **1999**, 283, 699.
- [77] S. Booth, P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15385.
- [78] P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5643.
- [79] P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4527.
- [80] C. C. Leznoff, *Acc. Chem. Res.* **1978**, *11*, 327.
- [81] J. I. Crowley, H. Rapoport, *Acc. Chem. Res.* **1976**, *9*, 135.
- [82] C. C. Leznoff, *Chem. Soc. Rev.* **1974**, *3*, 65.
- [83] G. B. Fields, R. L. Noble, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, *35*, 161.
- [84] Sakakiba.S, Shimonis.Y, Y. Kishida, M. Okada, H. Sugihara, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2164.
- [85] S. A. Salisbury, E. J. Tremeer, J. W. Davies, D. E. I. A. Owen, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 538.
- [86] D. A. Stetsenko, E. N. Lubyako, V. K. Potapov, T. L. Azhikina, E. D. Sverdlov, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3571.
- [87] M. Erdelyi, A. Gogoll, *Synthesis* **2002**, 1592.
- [88] S. Coantic, G. Subra, J. Martinez, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2008**, *14*, 143.
- [89] T. Matsushita, H. Hinou, M. Kurogochi, H. Shimizu, S. I. Nishimura, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 877.
- [90] T. Koch, H. F. Hansen, P. Andersen, T. Larsen, H. G. Batz, K. Otteson, H. Orum, *J. Pept. Res.* **1997**, *49*, 80.
- [91] P. Wittung, M. Eriksson, R. Lyng, P. E. Nielsen, B. Norden, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10167.
- [92] K. L. Dueholm, M. Egholm, C. Behrens, L. Christensen, H. F. Hansen, T. Vulpius, K. H. Petersen, R. H. Berg, P. E. Nielsen, O. Buchardt, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5767.
- [93] M. Egholm, C. Behrens, L. Christensen, R. H. Berg, P. E. Nielsen, O. Buchardt, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 800.
- [94] F. Bergmann, W. Bannwarth, S. Tam, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6823.
- [95] G. Breipohl, J. Knolle, D. Langner, G. OMalley, E. Uhlmann, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 665.
- [96] D. W. Will, D. Langner, J. Knolle, E. Uhlmann, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 12069.
- [97] A. C. vanderLaan, R. Brill, R. G. Kuimelis, E. Kuylyeheskiely, J. H. vanBoom, A. Andrus, R. Vinayak, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 2249.
- [98] D. C. Sherrington, *Chem. Commun.* **1998**, 2275.
- [99] F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091.
- [100] R. S. Feinberg, R. B. Merrifield, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3209.
- [101] B. W. Erickson, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 3757.
- [102] S. S. Wang, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1235.

- [103] A. R. Mitchell, S. B. H. Kent, B. W. Erickson, R. B. Merrifield, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 3795.
- [104] V. K. Sarin, S. B. H. Kent, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5463.
- [105] S. Zalipsky, J. L. Chang, F. Albericio, G. Barany, *React. Polym.* **1994**, *22*, 243.
- [106] E. Beyer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1991**, *30*, 113.
- [107] E. Atherton, D. L. J. Clive, R. C. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 6584.
- [108] E. Atherton, M. J. Gait, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Bioorg. Chem.* **1979**, *8*, 351.
- [109] R. Arshady, E. Atherton, D. L. J. Clive, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 529.
- [110] E. Atherton, E. Brown, R. C. Sheppard, A. Rosevear, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 1151.
- [111] P. W. Small, D. C. Sherrington, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1589.
- [112] F. Garcia-Martin, M. Quintanar-Audelo, Y. Garcia-Ramos, L. J. Cruz, C. Gravel, R. Furic, S. Cote, J. Tulla-Puche, F. Albericio, *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 213.
- [113] M. Renil, M. Ferreras, J. M. Delaisse, N. T. Foged, M. Meldal, *J. Pept. Sci.* **1998**, *4*, 195.
- [114] S. B. Daniels, M. S. Bernatowicz, J. M. Coull, H. Köster, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4345.
- [115] J. Eichler, M. Bienert, A. Stierandova, M. Lebl, *Peptide Research* **1991**, *4*, 296.
- [116] J. Eichler, M. Beyermann, M. Bienert, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1989**, *54*, 1746.
- [117] D. R. Eenglebretsen, D. R. K. Harding, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, *40*, 487.
- [118] K. Büttner, H. Zahn, W. H. Fischer, *Marshall, G. R. (Ed.). Peptides: Chemistry And Biology; Tenth American Peptide Symposium, St. Louis, Missouri, USA, May 23-28, 1987. XXXIII+690P. Escom Science Publishers B.V.: Leiden, Netherlands. Illus* **1988**, 210.
- [119] S. B. H. Kent, R. B. Merrifield, *Isr. J. Chem.* **1978**, *17*, 243.
- [120] F. Albericio, M. Ruiz-Gayo, E. Pedroso, E. Giralt, *React. Polym.* **1989**, *10*, 259.
- [121] R. H. Berg, K. Almdal, W. B. Pedersen, A. Holm, J. P. Tam, R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8024.
- [122] B. F. Gisin, *Helv. Chim. Acta* **1973**, *56*, 1476.
- [123] A. Loffet, *Int. J. Prot. Res.* **1971**, *3*, 297.
- [124] G. R. Matsueda, J. M. Stewart, *Peptides* **1981**, *2*, 45.
- [125] D. Bellof, M. Mutter, *Chimia* **1985**, *39*, 317.
- [126] S. S. Wang, *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 3258.
- [127] W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3258.
- [128] W. F. DeGrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1295.
- [129] S. S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328.
- [130] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787.
- [131] K. Barlos, D. Gatos, S. Kapolos, G. Papaphotiu, W. Schafer, W. Q. Yao, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3947.
- [132] K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiu, P. Sotiriu, W. Q. Yao, W. Schafer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3943.
- [133] P. Sieber, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 2107.
- [134] W. C. Chan, S. L. Mellor, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1475.
- [135] W. C. Chan, P. D. White, J. Beythien, R. Steinhauer, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 589.
- [136] B. Blankemeyer-Menge, M. Nimtz, R. Frank, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1701.
- [137] R. Frank, R. Doring, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 6031.
- [138] E. Harth-Fritschy, D. Cantacuzene, *Int. J. Prot. Res.* **1997**, *50*, 415.
- [139] A. Bernhardt, M. Drewello, M. Schutkowski, *Int. J. Prot. Res.* **1997**, *50*, 143.

- [140] M. S. Bernatowicz, S. B. Daniels, H. Kpster, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 4645.
- [141] F. Albericio, N. Kneibcordonier, S. Biancalana, L. Gera, R. I. Masada, D. Hudson, G. Barany, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 3730.
- [142] S. C. Story, J. V. Aldrich, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, 39, 87.
- [143] E. Atherton, C. J. Logan, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 538.
- [144] K. Bouget, S. Aubin, J. G. Delcros, Y. Arlot-Bonnemains, M. Baudy-Floch, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 4881.
- [145] D. Weber, C. Berger, P. Eickelmann, J. Antel, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 1918.
- [146] J. D. Wade, J. Bedford, R. C. Sheppard, G. W. Tregear, *Peptide Research* **1991**, 4, 194.
- [147] A. K. Tickler, C. J. Barrow, J. D. Wade, *J. Pept. Sci.* **2001**, 7, 488.
- [148] M. Ueki, M. Amemiya, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6617.
- [149] M. Ueki, N. Nishigaki, H. Aoki, T. Tsurusaki, T. Katoh, *Chem. Lett.* **1993**, 721.
- [150] E. Pedroso, A. Grandas, X. Delasheras, R. EritjaA, E. Giralt, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 743.
- [151] R. Dolling, M. Beyermann, J. Haenel, F. Kernchen, E. Krause, P. Franke, M. Brudel, M. Bienert, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 853.
- [152] J. Lauer, L., C. Fields, G., G. Fields, B., *Letters in Peptide Science* **1995**, 1, 197.
- [153] E. Fischer, E. Fourneau, *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1901**, 34, 2868.
- [154] L. A. Carpino, B. J. Cohen, K. E. Stephens, S. Y. Sadataalae, J. H. Tien, D. C. Langridge, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3732.
- [155] L. A. Carpino, H. G. Chao, M. Beyermann, M. Bienert, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2635.
- [156] J. N. Bertho, A. Loffet, C. Pinel, F. Reuther, G. Sennyey, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1303.
- [157] L. A. Carpino, D. Sadataalae, H. G. Chao, R. H. Deselms, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 9651.
- [158] L. A. Carpino, E. M. E. Mansour, D. Sadataalae, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2611.
- [159] H. Wenschuh, M. Beyermann, E. Krause, L. A. Carpino, M. Bienert, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 3733.
- [160] F. M. F. Chen, K. Kuroda, N. L. Benoiton, *Synthesis* **1978**, 928.
- [161] E. P. Heimer, C. D. Chang, T. Lambros, J. Meienhofer, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1981**, 18, 237.
- [162] C. J. A. Wallace, P. Mascagni, B. T. Chait, J. F. Collawn, Y. Paterson, A. E. I. Proudfoot, S. B. H. Kent, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 15199.
- [163] E. Brown, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1983**, 75.
- [164] R. B. Merrifield, A. R. Mitchell, J. E. Clarke, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 660.
- [165] D. F. Elliott, D. W. Russell, *Biochem. J.* **1957**, 66, P49.
- [166] L. Kisfaludy, I. Schon, *Synthesis* **1983**, 325.
- [167] E. Atherton, J. L. Holder, M. Meldal, R. C. Sheppard, R. M. Valerio, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1988**, 2887.
- [168] M. H. Jakobsen, O. Buchardt, T. Engdahl, A. Holm, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6199.
- [169] F. M. Menger, J. H. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 3824.
- [170] E. Atherton, L. R. Cameron, R. C. Sheppard, *Tetrahedron* **1988**, 44, 843.
- [171] A. Dryland, R. C. Sheppard, *Tetrahedron* **1988**, 44, 859.
- [172] D. Hudson, *Peptide Research* **1990**, 3, 51.
- [173] J. R. Spencer, V. V. Antonenko, N. G. J. Delaet, M. Goodman, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, 40, 282.
- [174] C. B. Xue, F. Naidler, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 350.
- [175] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067.



- [176] D. Sarantakis, J. Teichman, E. L. Lien, R. L. Fenichel, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1976**, 73, 336.
- [177] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber. Recl.* **1970**, 103, 788.
- [178] M. Beyermann, P. Henklein, A. Klose, R. Sohr, M. Bienert, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1991**, 37, 252.
- [179] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397.
- [180] J. C. Sheehan, M. Goodman, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 1367.
- [181] B. Bergmann, L. Zervas, *Biochemische Zeitschrift* **1928**, 203, 280.
- [182] D. Hudson, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 617.
- [183] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 1219.
- [184] J. Martinez, J. P. Bali, M. Rodriguez, B. Castro, R. Magous, J. Laur, M. F. Lignon, *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 1874.
- [185] R. F. Poulain, A. L. Tartar, B. P. Deprez, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1495.
- [186] R. Knorr, A. Trezeciak, W. Bannwarth, D. Gillissen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927.
- [187] O. Marder, Y. Shvo, F. Albericio, *Chim. Oggi - Chem. Today* **2002**, 20, 37.
- [188] F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9678.
- [189] S. C. Story, J. V. Aldrich, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, 43, 292.
- [190] J. Coste, M. N. Dufour, A. Panataloni, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 669.
- [191] J. C. H. M. Wijkmans, F. A. A. Blok, G. A. VanderMarel, J. H. VanBoom, W. Bloemhoff, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4643.
- [192] A. R. Katritzky, E. Todadze, P. Angrish, B. Draghici, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 5794.
- [193] G. B. Fields, C. G. Fields, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4202.
- [194] C. Hyde, T. Johnson, D. Owen, M. Quibell, R. C. Sheppard, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, 43, 431.
- [195] A. Thaler, D. Seebach, F. Cardinaux, *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 628.
- [196] A. Thaler, D. Seebach, F. Cardinaux, *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 617.
- [197] C. Toniolo, G. Valle, G. M. Bonora, M. Crishma, V. Maretto, J. Idebski, J. Pelka, D. Pawlak, C. H. Schneider, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1988**, 31, 77.
- [198] A. P. Valente, F. C. L. Almeida, C. R. Nakaie, S. Schreier, E. Crusca, E. M. Cilli, *J. Pept. Sci.* **2005**, 11, 556.
- [199] C. A. Guy, G. B. Fields, *Solid-Phase Pept. Synth.* **1997**, 289, 67.
- [200] J. M. Stewart, *Solid-Phase Pept. Synth.* **1997**, 289, 29.
- [201] D. S. King, C. G. Fields, G. B. Fields, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, 36, 255.
- [202] D. Bumcrot, M. Manoharan, V. Koteliansky, D. W. Y. Sah, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 711.
- [203] G. D. Fasman, 'Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules', Plenum Press, New York, **1996**.
- [204] L. A. Marky, K. J. Breslauer, *Biopolymers* **1987**, 26, 1601.
- [205] J. L. Mergny, L. Lacroix, *Oligonucleotides* **2003**, 13, 515.
- [206] I. W. Kellaway, L. Saunders, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, 210, 185.
- [207] P. Yakovchuk, E. Protozanova, M. D. Frank-Kamenetskii, *Nucleic Acids Res.* **2006**, 34, 564.
- [208] P. Richterich, F. M. Pohl, *Biopolymers* **1987**, 26, 231.
- [209] L. Whitmore, B. A. Wallace, *Biopolymers* **2008**, 89, 392.
- [210] S. Samdal, H. Mollendal, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 8845.
- [211] V. P. Feshin, M. Y. Kon'shin, A. V. Radushev, E. V. Feshina, V. Y. Gusev, A. E. Lesnov, V. I. Karmanov, *Russ. Chem. Bull.* **1996**, 2505.
- [212] W. Walter, K. J. Reubke, *Chem. Ber. Recl.* **1970**, 103, 2197.
- [213] M. J. S. Dewar, W. B. Jennings, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1562.

- [214] O. A. Gorkunenko, A. N. Vdovichenko, A. Y. Chervinskii, L. M. Kapkan, G. E. Vaiman, *Theor. Exp. Chem.* **2004**, *40*, 12.
- [215] A. B. Eldrup, B. B. Nielsen, G. Haaima, H. Rasmussen, J. S. Kastrop, C. Christensen, P. E. Nielsen, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1781.
- [216] V. Menchise, G. De Simone, T. Tedeschi, R. Corradini, S. Sforza, R. Marchelli, D. Capasso, M. Saviano, C. Pedone, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 12021.
- [217] B. Petersson, B. B. Nielsen, H. Rasmussen, I. K. Larsen, M. Gajhede, P. E. Nielsen, J. S. Kastrop, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1424.
- [218] H. A. Staab, 'Einführung in die Theoretische Organische Chemie', Verlag Chemie, Weinheim, **1962**, 270.
- [219] Y. Kyogoku, R. C. Lord, A. Rich, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 496.
- [220] R. A. Newmark, C. R. Cantor, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5010.
- [221] K. M. Guckian, B. A. Schweitzer, R. X. F. Ren, C. J. Sheils, P. L. Paris, D. C. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8182.
- [222] E. T. Kool, J. C. Morales, K. M. Guckian, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 990.
- [223] D. F. Plusquellic, R. D. Suenram, B. Mate, J. O. Jensen, A. C. Samuels, *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 3057.
- [224] I. Kanesaka, R. G. Snyder, H. L. Strauss, *J. Chem. Phys.* **1986**, *84*, 395.
- [225] P. Vansteenkiste, E. Pauwels, V. Van Speybroeck, M. Waroquier, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 9617.
- [226] J. E. Mark, P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1415.
- [227] R. G. Snyder, G. Zerbi, *Spectrochim. Acta, Part A* **1967**, *A 23*, 391.
- [228] R. Iwamoto, *Spectrochim. Acta, Part A* **1971**, *A 27*, 2385.
- [229] N. S. Zefirov, *Tetrahedron* **1977**, *33*, 3193.
- [230] Y. Ogawa, M. Ohta, M. Sakakibara, H. Matsuura, I. Harada, T. Shimanouchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 650.
- [231] R. E. Wolf, J. A. R. Hartman, J. M. E. Storey, B. M. Foxman, S. R. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4328.
- [232] I. Nakagawa, S. I. Mizushima, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 2195.
- [233] M. Hayashi, Y. Shiro, T. Oshima, H. Murata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1966**, *39*, 118.
- [234] S. Kashino, T. Ashida, M. Kakudo, *Acta Crystallogr., Sect. B: Struct. Sci.* **1974**, *B 30*, 2074.
- [235] S. Voliotis, P. Cordopatis, P. Main, V. Nastoroulos, G. Germain, *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* **1986**, *42*, 1777.
- [236] A. Darapsky, M. Prabhakar, *Ber. Dt. Chem. Ges.* **1912**, *45*, 1654.
- [237] W. Pfeleiderer, R. Lohrmann, *Chem. Ber. Recl.* **1961**, *94*, 12.
- [238] T. Steinlin, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 435.
- [239] T. G. George, P. Szolcsanyi, S. G. Koenig, D. E. Paterson, Y. Isshiki, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 1287.
- [240] M. Xu, F. De Giacomo, D. E. Paterson, T. G. George, A. Vasella, *Chem. Commun.* **2003**, 1452.
- [241] B. E. Watkins, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4471.
- [242] B. E. Watkins, J. S. Kiely, H. Rapoport, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5702.
- [243] J. McCormick, Y. B. Li, K. McCormick, H. I. Duynstee, A. K. van Engen, G. A. van der Marel, B. Ganem, J. H. van Boom, J. Meinwald, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5661.
- [244] G. Aldrian-Herrada, A. Rabie, R. Wintersteiger, J. Brugidou, *J. Pept. Sci.* **1998**, *4*, 266.
- [245] C. Schwergold, G. Depecker, C. D. Giorgio, N. Patino, F. Jossinet, B. Ehresmann, R. Terreux, D. Cabrol-Bass, R. Condom, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5675.

- [246] G. Lelais, P. Micuch, D. Josien-Lefebvre, F. Rossi, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **2004**, 87, 3131.
- [247] C. Hyde, T. Johnson, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 1573.
- [248] A. R. Mitchell, R. B. Merrifield, *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1975**, 170, 80.
- [249] K. Baburao, A. M. Costello, Petterson.RC, G. E. Sander, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2779.
- [250] R. Owczarzy, *Biophys. Chem.* **2005**, 117, 207.
- [251] A. Ritter, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2008**, 91, 1675.; X. Zhang, B. Bernet, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2007**, 90, 792.
- [252] A. L. Carenbauer, M. R. Cecil, A. Czerwinski, K. Darlak, M. Darlak, D. W. Long, F. Valenzuela, G. Barany, *Biopolymers* **2005**, 80, 530.
- [253] H. J. Olivos, P. G. Alluri, M. M. Reddy, D. Salony, T. Kodadek, *Org. Lett.* **2002**, 4, 4057.
- [254] N. Bogliotti, A. Ritter, S. Hebbe, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **2008**, 91, 2181.
- [255] J. D. Puglisi, I. Tinoco, *Methods Enzymol.* **1989**, 180, 304.
- [256] E. T. Kool, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2001**, 30, 1.
- [257] E. T. Kool, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1473.
- [258] J. L. Mergny, A. T. Phan, L. Lacroix, *Febs Lett.* **1998**, 435, 74.
- [259] D. Sen, W. Gilbert, *Nature* **1990**, 344, 410.
- [260] E. A. Venczel, D. Sen, *Biochemistry* **1993**, 32, 6220.
- [261] V. Swali, M. Matteucci, R. Elliot, M. Bradley, *Tetrahedron* **2002**, 58, 9101.

**LEBENS LAUF**

Name: Manuel Peifer  
Geburtsdatum: 07. April 1980  
Geburtsort: Koblenz  
Staatsangehörigkeit: Deutsch

---

**Ausbildung**

- 08/2000 – 10/2002 **Philipps-Universität Marburg**, Marburg, Deutschland  
Vordiplom in Chemie
- 10/2003 – 02/2004 **Eidgenössische Technische Hochschule Zürich (ETH)**, Zürich, Schweiz  
Austauschsemester (Erasmus) mit praktischen Arbeiten in den Gruppen von **Prof. Dr. E. M. Carreira** und **Prof. Dr. D. Hilvert**
- 12/2004 – 09/2005 **Philipps-Universität Marburg**, Marburg, Deutschland  
Diplomarbeit in der Gruppe von **Prof. Dr. T. Schrader**  
*Synthese neuartiger Aminopyrazolliganden zur Hemmung der Aggregation des Amyloid- $\beta$ -Proteins*
- 10/2005 – 07/2009 **Eidgenössische Technische Hochschule Zürich (ETH)**, Zürich, Schweiz  
Doktorat in der Gruppe von **Prof. Dr. A. Vasella**  
*Amidartig verknüpfte Oligonukleotidanalogue mit im Rückgrat integrierten Nukleobasen (ONIBs)*
- 

**Assistentztätigkeit**

- 10/2005 – 07/2009 Übungsassistent in der Vorlesung „Stereochemie organischer Verbindungen“ (OC I) und „Allgemeine organische Chemie“ (OC II)  
Praktikumsassistenten für Chemiker und für Bewegungswissenschaftler/Biologen