

**SYNTHESE UND EIGENSCHAFTEN
NEUER NUKLEOSID-
UND
NUKLEOTID-REZEPTOR-LIGANDEN
MIT URIDIN-PARTIALSTRUKTUR**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Till Schumacher

aus

Essen

Bonn 2005

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert

1. Referent: Prof. Dr. Christa E. Müller

2. Referent: PD Dr. Daniela Gündisch

Tag der Promotion: 24. Februar 2005

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1999 bis September 2003 am Pharmazeutischen Institut Bonn-Poppelsdorf unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Christa E. Müller durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. C. E. Müller für ihre Unterstützung, ihre Diskussionsbereitschaft und ihre Anregungen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ebenso bedanke ich mich an dieser Stelle bei Frau PD Dr. D. Gündisch für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Für Esther,
die mir durch ihre Unterstützung
die Anfertigung dieser Arbeit
ermöglicht hat.

Inhaltsverzeichnis

1.	Vorwort.....	12
1.1.	Rezeptoren – Definition und Funktionsprinzip.....	12
1.2.	Rezeptortheorien.....	13
1.2.1.	Die Okkupationstheorie	13
1.2.2.	Die Allosterische Theorie	13
1.2.3.	Die Induced-Fit-Theorie.....	14
1.3.	Rezeptorarten	17
1.3.1.	Intrazelluläre Rezeptoren	17
1.3.2.	Membranständige Rezeptoren	18
1.3.2.1.	Einfach-membrangängige Rezeptoren.....	18
1.3.2.2.	Ligand-gesteuerte Ionenkanäle.....	18
1.3.2.3.	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren	19
2.	Synthese N3-substituierter Uridinderivate.....	24
2.1.	Einleitung.....	24
2.1.1.	Bedeutung des Schlafs	24
2.1.2.	Schlafstörungen	27
2.1.3.	Therapie der Schlafstörungen	31
2.1.4.	Der postulierte Uridin-Rezeptor.....	38
2.1.4.1.	Eine kurze Geschichte der Nukleinsäuren	38
2.1.4.2.	Das Nukleosid Uridin.....	40
2.1.4.3.	Der Weg zum Postulat	42
2.2.	Projekt.....	51
2.3.	Synthesen	52
2.3.1.	N3-Alkylierung von Uridin.....	52
2.3.2.	Bromierung von Acetophenonen	55
2.3.3.	Synthese von [³ H]-N3-Phenacyluridin	59
2.3.3.1.	Darstellung von N3-(2,3,4-Trichlorphenacyl)uridin	59
2.3.3.2.	Hydrierung von N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin	62
2.3.4.	Synthese von N3-(Hydroxyphenacyl)uridinen	65
2.3.4.1.	Bromierung der Hydroxyacetophenone und anschließende Alkylierung	65
2.3.4.2.	Phenoleterspaltung von N3-(Methoxyphenacyl)uridinen.....	66
2.3.4.3.	Phenoleterspaltung von Methoxyphenacylbromiden und anschließende Alkylierung	70
2.3.4.4.	Synthese von Benzyloxyacetophenonen und anschließende Bromierung und Alkylierung	73
2.3.5.	Synthese von N3-(4-Aminophenacyl)uridin	79

2.3.6.	Synthese von N3-Styryluridin	84
3.	Synthese von Uridin-5'-estern	87
3.1.	Einleitung	87
3.1.1.	Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren	87
3.1.1.1.	Historische Entwicklung und Einteilung	87
3.1.1.2.	Adenosin-Rezeptoren	95
3.1.1.3.	P2X-Rezeptoren	99
3.1.1.4.	P2Y-Rezeptoren	103
3.2.	Projekt	113
3.3.	Synthesen	116
3.3.1.	Veresterung	116
3.3.1.1.	Allgemeines	116
3.3.1.2.	Die Carbodiimid-Methode	120
3.3.1.3.	Die Imidazolid-Methode	124
3.3.2.	Schutz der 2'- und 3'-Hydroxygruppe von Uridin	126
3.3.2.1.	Die Isopropyliden-Gruppe	126
3.3.2.2.	Die Benzylidengruppe	131
3.3.3.	Veresterungsversuche mit Citronensäure und Uridin	135
3.3.4.	Veresterungsversuche mit Citronensäure und 5-Alkyluridinen	140
3.3.5.	Veresterungsversuche mit Oxoglutarsäuren	149
3.3.5.1.	2-Oxoglutarsäure	149
3.3.5.2.	3-Oxoglutarsäure	152
3.3.6.	Veresterungsversuche mit Ethylendiamintetraessigsäure	154
3.3.7.	Veresterungsversuche mit Propionsäure	156
3.3.8.	Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]-acrylsäure	158
3.3.8.1.	Synthese von 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol	159
3.3.8.2.	Synthese von O ² -Methyluridin	161
3.3.8.3.	Synthese des Azinitroesters	166
3.3.8.4.	Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure	168
3.3.9.	Ausblick	172
4.	Zusammenfassung	174
5.	Experimenteller Teil	178
5.1.	Allgemeine Angaben	178
5.1.1.	Chemikalien	178
5.1.2.	Materialien und Geräte	178
5.2.	N3-substituierte Uridine	179

5.3.	Bromierungen und Veretherungen	207
5.4.	Uridin-5'-ylester	220

Anhang

Verzeichnis der Abbildungen

Verzeichnis der Schemata

Verzeichnis der Tabellen

Abkürzungsverzeichnis

Lebenslauf

1. Vorwort

1.1. Rezeptoren – Definition und Funktionsprinzip

Ein Großteil der Arzneistoffe entfaltet seine Wirkung im Körper über die Wechselwirkung mit Rezeptoren. In der Physiologie bezeichnet man mit diesem Begriff spezielle Zellen oder Zellbestandteile, die in der Lage sind, äußere physikalische oder chemische Reize zu empfangen und eine entsprechende Erregung auszulösen, die im Gehirn zu einem entsprechenden Sinneseindruck führt (physiologische Rezeptoren, Sinnesrezeptoren). Unter pharmakologischen Rezeptoren versteht man hingegen intrazelluläre oder membranständige Proteine, die nach Bindung eines für sie spezifischen Liganden an eine für diesen wiederum spezifische Bindungsstelle einen physiologischen Effekt auslösen. Den Rezeptoren kommt somit eine duale Funktion zu, einerseits die Signalerkennung durch die Wechselwirkung mit dem Liganden und Bildung des Ligand-Rezeptor-Komplexes, andererseits die Signalweiterleitung (Signaltransduktion) bzw. -verarbeitung und damit die Auslösung des physiologischen Effekts.¹

Anstelle der physiologischen Liganden sind auch Arzneistoffe in der Lage, mit Rezeptoren zu interagieren. In diesem Fall spricht man von der Bildung eines Pharmakon-Rezeptor-Komplexes. In welchem Ausmaß dieser Komplex gebildet wird, hängt von der sogenannten Affinität des Arzneistoffes zum Rezeptor ab. Je größer diese ist, desto wahrscheinlicher ist die Bildung des Komplexes.

Weiterhin wird die Pharmakonwirkung mit dem Begriff der intrinsischen Aktivität beschrieben. Diese liegt vor, wenn der Arzneistoff durch die Interaktion mit einem Rezeptor den entsprechenden physiologischen Effekt hervorrufen kann. In diesem Fall fungiert der Arzneistoff als Agonist. Im Gegensatz dazu bilden Antagonisten zwar den Pharmakon-Rezeptor-Komplex, der Effekt wird aber nicht ausgelöst, der Rezeptor also blockiert. Häufig wird von Arzneistoffen nicht die maximale agonistische Wirkung ausgeübt, sondern nur eine teilweise. In diesem Fall spricht

¹ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart **1996**.

man von partiellen Agonisten. Im Lauf der wissenschaftlichen Forschung sind dazu verschiedene Theorien entwickelt worden.

1.2. Rezeptortheorien

Die Entwicklung von Rezeptortheorien zu Beginn des 20. Jahrhunderts basiert auf der Erkenntnis von Emil Fischer², daß die Struktur von Liganden die Wirkung von Enzymen beeinflußt, sowie der Definition der Rezeptoren als Wirkorte chemischer Substanzen durch Paul Ehrlich³. Sie eröffneten damit der Pharmazeutischen Chemie den Weg zur gezielten Wirkstoffsynthese.

1.2.1. Die Okkupationstheorie

Nach dieser von Clark⁴ und Gaddum⁵ in den dreißiger Jahren des letzten Jahrhunderts aufgestellten Theorie ist die biologische Wirkung direkt abhängig von der Zahl der vom Liganden besetzten (okkupierten) Rezeptoren. Damit ist auch der Maximaleffekt proportional zur Gesamtzahl der Rezeptoren. Es gelang ihnen, mit Hilfe des Massenwirkungsgesetzes die Interaktion zwischen Ligand und Rezeptor zu quantifizieren. Dazu setzten sie die Anzahl freier Liganden und Rezeptoren in Beziehung zur Anzahl der Rezeptor-Ligand-Komplexe.

Auf Grund dieser Theorie ist die Auswertung von Radioligand-Bindungsstudien und Dosis-Wirkungs-Kurven möglich.

1.2.2. Die Allosterische Theorie

Die Okkupationstheorie ist nur bei agonistischen Liganden anwendbar. Es gibt aber bekanntermaßen auch antagonistisch wirkende Liganden, die zwar an einen Rezeptor binden, aber keinen Effekt auslösen. Der Rezeptor wird lediglich blockiert. Um diese zwei verschiedenen Arten von Liganden unterscheiden zu können,

² Fischer, E. Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, 27, 2985-2993.

³ Ehrlich, P. Chemotherapeutics: Scientific Principles, Methods and Results. *Lancet* **1913**, 2, 445-451.

⁴ Clark, A. J. *The Mode of Action of Drugs on Cells*, Arnold: London **1933**, 298.

⁵ Gaddum, J. H. The Quantitative Effects of Antagonistic Drugs. *J. Physiol.* **1937**, 89, 7-9.

entwickelten Monod⁶ und Koshland⁷ Mitte der sechziger Jahre die allosterische Theorie. Danach können Rezeptoren unterschiedliche Konformationen annehmen, die sich in ihrer Fähigkeit, einen biologischen Effekt auslösen zu können, unterscheiden. Zwischen diesen Konformationen herrscht ein Gleichgewicht.

Monod ging nun davon aus, daß ein Ligand auf Grund seiner höheren Affinität zu der einen oder der anderen Konformation als Agonist bzw. Antagonist wirkt.

Im Gegensatz dazu postulierte Koshland, daß ein Ligand in der Lage ist, die Konformation des Rezeptors zu beeinflussen. Dementsprechend ist ein Ligand dann ein Agonist, wenn er die aktive Konformation des Rezeptors induziert, dagegen ein Antagonist, wenn der Rezeptor in der inaktiven Konformation stabilisiert wird.

1.2.3. Die Induced-Fit-Theorie

Dies ist die derzeit gültige und als gesichert anzunehmende Theorie zur Wechselwirkung zwischen Rezeptoren und ihren Liganden. Sie beruht im Wesentlichen auf der allosterischen Theorie.⁸ Das Gleichgewicht zwischen verschiedenen Konformationen von Rezeptoren wird durch die Bindung von Liganden beeinflusst, da diese entweder eine Konformation stabilisieren können oder die Umwandlung in eine andere induzieren können. Außerdem wird zur Unterscheidung der Liganden deren intrinsische Aktivität betrachtet, also ob und in welchem Maße ein biologischer Effekt ausgelöst wird.

Dementsprechend ist ein Ligand dann ein Agonist, wenn er sowohl Affinität zur aktiven Konformation hat bzw. diese induzieren kann, als auch intrinsische Aktivität besitzt. Das Ausmaß der letzteren bestimmt, ob es sich um einen vollen oder einen partiellen Agonisten handelt.

⁶ Monod, J.; Wyman, J.; Changeux, J. P. On the Nature of Allosteric Transitions: A Plausible Model. *J. Mol. Biol.* **1965**, *12*, 88-118.

⁷ Koshland, D. E.; Nemethy, G.; Filmer, D. Comparison of Experimental Data and Theoretical Models in Proteins Containing Subunits. *Biochemistry* **1966**, *5*, 365-368.

⁸ Mutschler, E. *Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart **2001**.

Antagonisten besitzen hingegen in der Regel keine intrinsische Aktivität, wohl aber Affinität. Sie bewirken eine Verringerung eines agonistischen Effekts oder lassen einen solchen gar nicht erst zu. Dem Mechanismus entsprechend, der dieser Hemmung zu Grunde liegt, werden verschiedene Typen unterschieden, von denen auch Mischformen existieren:

- ◆ Kompetitiver Antagonismus, der Antagonist konkurriert mit dem Agonisten um die gleiche Bindungsstelle.
- ◆ Nicht-kompetitiver Antagonismus, der Antagonist bindet nicht an der Agonisten-Bindungsstelle des Rezeptors, sondern an einer anderen Stelle. Dadurch wird die Wirkung eines Agonisten abgeschwächt oder ganz verhindert, zum Beispiel, weil er die aktive Konformation nicht mehr induzieren kann. Dieser Mechanismus wird auch als allosterische Inhibition bezeichnet.
- ◆ Funktioneller und physiologischer Antagonismus. Antagonisten dieses Typs sind eigentlich Agonisten, die an anderen Rezeptoren des gleichen (funktioneller A.) oder eines anderen (physiologischer A.) Zellsystems einen dem vom Agonisten ausgelösten entgegengesetzten Effekt bewirken.
- ◆ Chemischer Antagonismus, der Agonist wird auf chemischem Wege und unabhängig von einer Rezeptorwirkung inaktiviert. Dieser Typ ist vor allem bei der Behandlung von Überdosierungen und Vergiftungen anzutreffen.

Zur Quantifizierung wird die intrinsische Aktivität eines vollen Agonisten gleich Eins gesetzt, die eines Antagonisten gleich Null. Für partielle Agonisten ergeben sich Werte zwischen Null und Eins.

Anfang der neunziger Jahre wurde ein weiterer Ligand-Typ entdeckt, der des inversen Agonisten. Ihm liegt die Beobachtung zu Grunde, daß Rezeptorsysteme

auch in Abwesenheit eines Agonisten aktiv sein können.⁹ Dies wird dadurch erklärt, daß in einer Rezeptorpopulation immer ein Gleichgewicht herrscht zwischen aktiven und inaktiven Rezeptoren. Inverse Agonisten haben eine Affinität zu Letzterer und können diese bei den aktiven Rezeptoren auch induzieren. Dadurch wird der biologische Effekt verringert. Von außen betrachtet entsteht der Eindruck, daß der Ligand eine der normalen Sekundärreaktion entgegengesetzte Wirkung hat.

Damit erfüllt ein inverser Agonist beide Voraussetzungen für einen Agonisten – Affinität zum Rezeptor und Auslösen eines biologischen Effekts – weshalb man ihm eine negative intrinsische Aktivität zuspricht, die definitionsgemäß gleich minus Eins gesetzt wird.

Man hat mittlerweile festgestellt, daß ein Großteil der bislang als antagonistisch wirkend bezeichneten Substanzen eigentlich inverse oder partiell inverse Agonisten sind.

⁹ Strange, P. G. Mechanisms of inverse agonism at G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, 23, 89-95.

1.3. Rezeptorarten

Die Rezeptoren werden zunächst nach ihrer Lokalisation innerhalb der Zelle in die zwei großen Gruppen der intrazellulären Rezeptoren und der membranständigen Rezeptoren unterteilt.

1.3.1. Intrazelluläre Rezeptoren

Die intrazellulären Rezeptoren sind entwicklungsgeschichtlich gesehen die ältere Rezeptorfamilie. Sie weisen alle den gleichen Aufbau auf, dessen wichtigste Elemente die Hormon-bindende Domäne und die DNA-bindende Domäne darstellen.

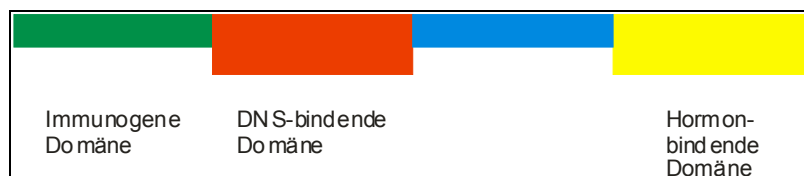


Abb. 1: Schematische Darstellung eines intrazellulären Rezeptors

Aus diesen Bezeichnungen lässt sich einerseits die Art der physiologischen Liganden – nämlich die Hormone – und andererseits die Funktion dieser Rezeptoren ablesen: Sie beeinflussen die Aktivität der DNA und damit indirekt die Synthese von Proteinen bzw. Enzymen. Aus diesem Grund werden sie auch als Transkriptionsfaktoren oder – da sie immer ihre Funktion im Zellkern ausüben – als nukleäre Rezeptoren bezeichnet. Zu ihren Vertretern gehören solch wichtige wie die Steroid-Rezeptoren und die Schilddrüsenhormon-Rezeptoren.

Innerhalb der intrazellulären Rezeptoren können zwei als Klassen bezeichnete Typen unterschieden werden. Nukleäre Rezeptoren der Klasse eins befinden sich im inaktiven Zustand im Cytosol der Zelle. Bindet das entsprechende Hormon an seine Domäne, wandert der so entstandene Rezeptor-Ligand-Komplex in den Zellkern und bindet mit seiner zweiten Domäne an die DNA, um dort die Transkriptionsrate zu verändern. Dies kann grundsätzlich in beide Richtungen geschehen.

Bei den Vertretern der Klasse zwei ist der Rezeptor immer an die DNA gebunden, allerdings ohne die Transkriptionsrate zu beeinflussen. Dies ist ihm erst möglich, wenn er vom Hormon in die aktive Konformation überführt worden ist.

1.3.2. Membranständige Rezeptoren

Diese Gruppe umfaßt die meisten der bekannten Rezeptoren. Wie ihre Bezeichnung schon deutlich macht, befinden sie sich in der Zellmembran bzw. durchdringen diese. Auch innerhalb dieser Gruppe kann man verschiedene Typen unterscheiden:

- ◆ Einfach-membrangängige Rezeptoren
- ◆ Ligand-gesteuerte Ionenkanäle (ionotrope Rezeptoren)
- ◆ G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR's, metabotrope Rezeptoren)

1.3.2.1. Einfach-membrangängige Rezeptoren

Diese Rezeptoren weisen – wie ihr Name schon vermuten läßt – nur eine transmembranäre Domäne auf, bestehen also nicht – wie die anderen Rezeptortypen dieser Gruppe – aus mehreren Domänen oder Untereinheiten. Die Ligand-Bindungsstelle befindet sich im Extrazellulärraum, während der cytosolische Teil eine Phosphorylierungsdomäne mit Tyrosinkinase-Eigenschaften besitzt. Diese Strukturen stellen also in gewisser Weise Zwitterwesen dar, da sie neben ihrer Rezeptorfunktion auch die eines Enzyms ausüben. Vertreter dieses Rezeptortyps sind Insulinrezeptoren, LDL-Rezeptoren und Zytokin-Rezeptoren.

1.3.2.2. Ligand-gesteuerte Ionenkanäle

Die Zellmembran für Ionen durchlässig zu machen ist die Hauptaufgabe der Ligand-gesteuerten Ionenkanäle, weshalb man sie auch ionotrope Rezeptoren nennt. Sie bestehen aus mehreren Untereinheiten, die jeweils für sich die Zellmembran durchdringen und sich zusammenlagern. Auf diese Weise wird eine Pore gebildet, die durch Konformationsänderungen der Untereinheiten geöffnet und geschlossen

werden kann. Die Selektivität für bestimmte Ionen wird durch unterschiedliche Geometrie und Ladungsverteilung erreicht.

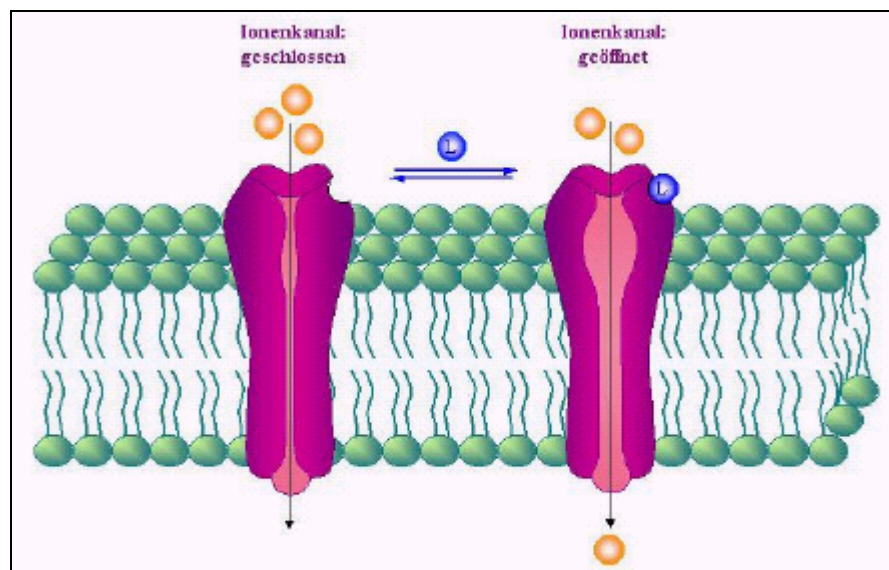


Abb. 2: Ligand-gesteuerter Ionenkanal

Durch die Existenz verschiedener Untereinheiten, die stöchiometrisch auch noch variabel zusammengesetzt sein können, ergibt sich eine Vielzahl an unterschiedlichen Rezeptorsubtypen mit eindeutigen Charakteristika und eigenen pharmakologischen Profilen. Allen gemeinsam ist aber der schnelle Wirkungseintritt nach der Ligand-Bindung im Vergleich zu den G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Unter anderen zählen die nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren und die GABA_A-Rezeptoren zu dieser Gruppe.

Diesen Rezeptoren prinzipiell ähnlich sind die spannungsabhängigen Ionenkanäle, bei denen das Öffnen und Schließen des Kanals durch Änderungen im Membranpotential der Zelle erreicht wird.

1.3.2.3. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

Diese, auch metabotrope Rezeptoren genannten Rezeptoren stellen die größte und für die medikamentöse Therapie wichtigste Gruppe dar. Im menschlichen Genom werden ca. 380 verschiedene Rezeptorfamilien vermutet mit insgesamt mehreren Tausend Mitgliedern, deren Codes drei Prozent unseres Erbguts ausmachen. Bisher ist allerdings nur ungefähr die Hälfte bekannt, für die restlichen, deren Struktur,

Funktion und physiologische Liganden man nicht kennt, hat sich der Begriff "orphan receptors – Waisenrezeptoren" in der Literatur durchgesetzt.

Beispiele für dieser Gruppe zugehörige Rezeptoren sind die Adenosin-, Serotonin-, Adrenalin-, Dopamin-, Opioid- und Histamin-Rezeptoren. Als Liganden findet man sowohl Neurotransmitter als auch Hormone, Enzyme, Nukleoside, Nukleotide und sogar – im weitesten Sinne – Photonen.

Der Aufbau ist immer gleich: Sieben α -helikale transmembranäre Domänen durchdringen die Zellmembran, welche durch drei intrazelluläre und drei extrazelluläre Schleifen (loops) verbunden sind. Durch Zusammenlagerung bilden sie eine vom Extrazellulärraum aus erreichbare Tasche, die die Ligandbindungsstelle enthält. Der N-Terminus ist ebenfalls extrazellulär gelegen, während der intrazelluläre C-Terminus die Phosphorylierungsstelle darstellt. An die dritte intrazelluläre Schleife zwischen den transmembranären Domänen fünf und sechs kann ein G-Protein gebunden werden.

Über diese erfolgt die Signaltransduktion auf unterschiedliche Second-messenger-Systeme, die letztendlich den gewünschten Effekt auf den Zellstoffwechsel auslösen. Auch der Aufbau der G-Proteine ist immer gleich. Sie bestehen aus drei Untereinheiten α , β und γ , von denen die α -Untereinheit eine Bindungsstelle für Guanosindi- (GDP) bzw. -triphosphat (GTP) enthält, während die anderen beiden Untereinheiten für die Verankerung in der Zellmembran sorgen. Verschieden ist dagegen der Effekt der G-Proteine auf das Second-messenger-System. Dieser hängt ab von der Art der α -Untereinheit, für die ca. zwanzig verschiedene Gene codieren. Je nach Gewebe können an den gleichen Rezeptorsubtyp unterschiedliche G-Proteine assoziiert sein, wodurch sich entgegengesetzte Effekte auf das gleiche Effektorsystem durch ein und den selben Rezeptorsubtyp in den verschiedenen Geweben ergeben können.

Hierin ist der große Vorteil dieser Rezeptoren mit ihrem doch recht komplizierten Signaltransduktionsweg zu sehen. Durch diese Diversivität ist es dem Körper möglich, mit einem einzigen Liganden die in allen nötigen Geweben gewünschte

Änderung an Zellaktivität herbeizuführen, um eine bestimmte Stoffwechsellage zu erreichen.

Anhand ihrer Wirkung unterscheidet man vier verschiedene Familien an G-Proteinen:

- ◆ G_s stimulierender Effekt (auf Adenylatcyclase)
- ◆ G_i inhibitorischer Effekt (auf Adenylatcyclase)
- ◆ G_0 Aktivierung/Hemmung spannungsabhängiger Ionenkanäle, u. a.
- ◆ G_q Aktivierung der Phospholipase C

Die Adenylatcyclase (AC) ist verantwortlich für die Bildung von cyclischem Adenosinmonophosphat, cAMP. Dies ist einer der wichtigsten Botenstoffe innerhalb des Zellstoffwechsels. Durch ihn wird die Proteinkinase A (PKA) aktiviert, die Enzyme phosphorylieren und damit ihrerseits aktivieren kann. Je nachdem, ob ein stimulierendes oder inhibitorisches G-Protein mit dem Rezeptor assoziiert ist, kann also ein bestimmter

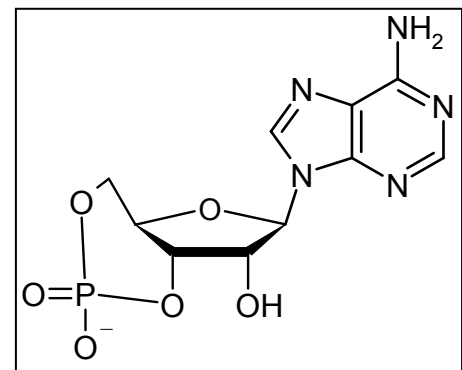


Abb. 3: Der sekundäre Botenstoff **cyclo-Adenosinmonophosphat**

Stoffwechselprozeß gefördert oder gehemmt werden. Durch eine Erhöhung des cAMP-Spiegels nimmt zum Beispiel der Tonus der glatten Muskulatur zu, die Kontraktionskraft des Herzens steigt, ebenso Glykogenolyse und Lipolyse.

Neben der Beeinflussung des cAMP-Spiegels ist die Auslösung der Phosphoinositol-Kaskade (Inositol-3-phosphat-Weg) einer der Haupt-Signaltransduktionswege. Durch Aktivierung der Phospholipase C (PLC) wird das Membranphospholipid Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) gespalten in die beiden Botenstoffe Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG). Diese lösen dann weitere Effekte in der Zelle aus.

IP_3 fördert die Freisetzung von Calcium aus intrazellulären Speichern, wodurch zum Beispiel die Kontraktion glatter Muskelzellen, der Glykogenabbau oder eine Exozytose in Gang gesetzt werden können.¹⁰

¹⁰ Lüllmann, H.; Mohr, K.; Ziegler, A. Taschenatlas der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag: Stuttgart ³1996.

Diacylglycerol aktiviert eine Proteinkinase, nämlich die Proteinkinase C, welche bestimmte Serin- und Threonin-haltige Enzyme phosphoryliert und damit aktiviert.

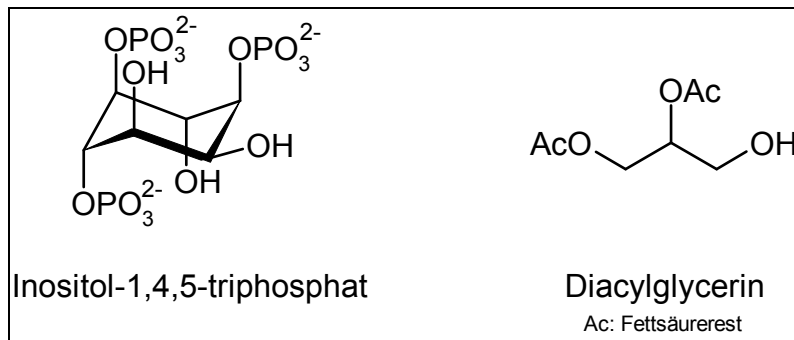


Abb. 4: Die sekundären Botenstoffe Inositol-1,4,5-trisphosphat und Diacylglycerol

Die biologischen Effekte werden also in mehreren Schritten ausgehend von der Agonist-Bindung an den Rezeptor ausgelöst. Diese führt zu einer Konformationsänderung der gesamten Rezeptorstruktur, die sich bis auf die im Zellinneren gelegenen Teile auswirkt. Das G-Protein ist nun in der Lage, mit dem Rezeptor zu interagieren, wodurch es selbst das gebundene GDP gegen GTP austauschen kann.

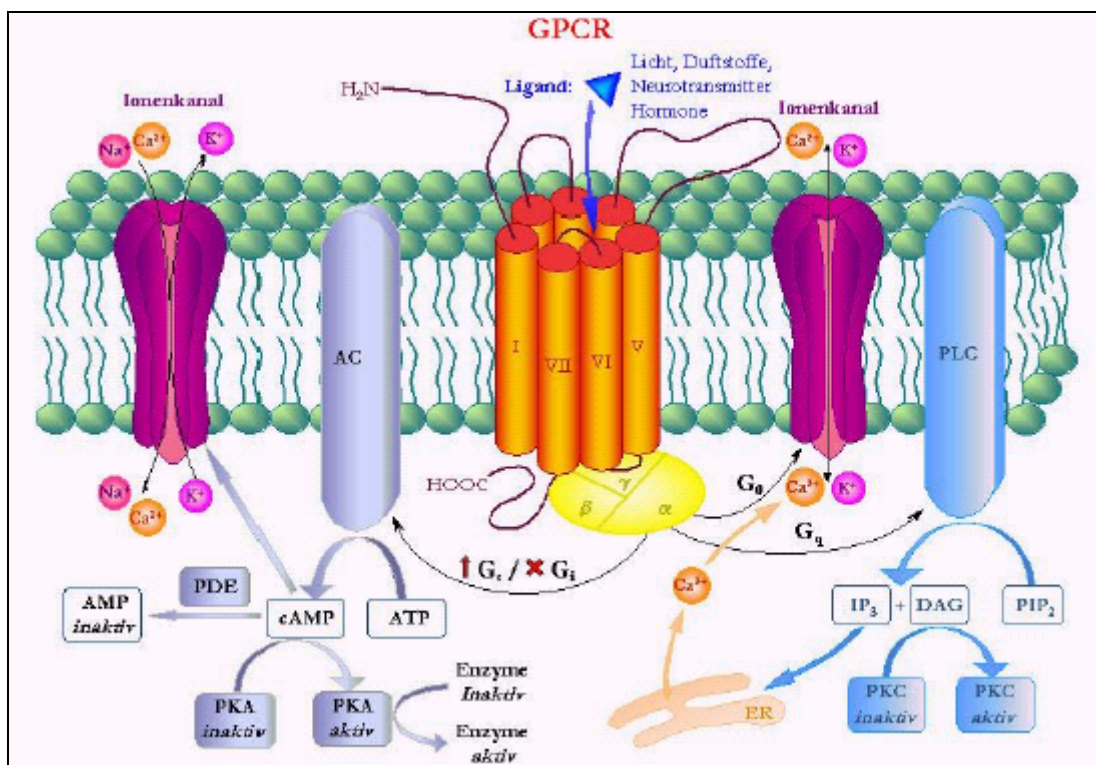


Abb. 5: Funktionsweise und Signaltransduktionswege von GPCRs

Die auf diese Weise aktivierte α -Untereinheit trennt sich vom restlichen G-Protein und wandert entlang der Zellmembran zum Effektorprotein. Hier werden nun die dem G-Protein-Typ entsprechenden Effekte ausgelöst mit den daraus resultierenden Wirkungen auf den Zellstoffwechsel.

Da die α -Untereinheit relativ lange aktiv bleibt, können in einem Zyklus mehrere sekundäre Botenstoffe gebildet werden. Dadurch ergibt sich eine Vervielfältigung des ausgelösten Effekts, ein weiterer Vorteil dieses Rezeptorsystems.

Durch die Dissoziation der α -Untereinheit verliert der Rezeptor seine Affinität für Agonisten, so daß er für eine erneute Auslösung eines Effekts dem Körper nicht zur Verfügung steht. Zur Regeneration des Rezeptors muß zunächst das an der aktivierten α -Untereinheit gebundene GTP durch GTPasen zu GDP hydrolysiert werden. In Folge dessen reassoziert das G-Protein wieder, löst sich vom Rezeptor und ist, ebenso wie dieser, bereit für einen neuen Zyklus.

Die Halbwertszeit eines Zyklus liegt zwischen zehn und zwanzig Sekunden. Die Wirkdauer liegt deshalb im Bereich mehrerer Sekunden bis Minuten. Da sich die Wirkung durch die Signaltransduktion in mehreren Schritten auch etwas zeitverzögert bemerkbar macht, unterscheiden sich die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren in dieser Hinsicht deutlich von den Ligand-gesteuerten Ionenkanälen.

2. Synthese N3-substituierter Uridinderivate

2.1. Einleitung

2.1.1. Bedeutung des Schlafs

Wie fast alles in der Natur, so unterliegt auch die gesamte Physiologie des Menschen einem ausgeprägtem zirkadianen Rhythmus. Am offensichtlichsten zeigt sich dies am Schlaf-Wach-Rhythmus, der wiederum vom alle Vorgänge beherrschenden Tag-Nacht-Rhythmus abhängt. Doch nicht nur unsere bewußte Aktivität, auch die unserer Organe und deren Funktionen gehorchen tagesrhythmischen Schwankungen. Dazu gehören zum Beispiel Herzfrequenz, Blutdruck, Körpertemperatur, aber auch Hormonspiegel wie, als prominentestes Beispiel, der Cortisonspiegel.¹¹ Der Tag-Nacht-Rhythmus als äußerer Zeitgeber sorgt dafür, daß diese endogenen Rhythmen dem 24-Stunden-Rhythmus des Tages angeglichen werden. Daneben spielen auch die sozialen Umstände wie Arbeits- und Freizeitdauer bzw. -periodik eine wichtige Rolle.^{12,13}

Trotz des großen Einflusses von Tag und Nacht besitzt der menschliche Körper eine innere biologische Uhr, die über endogene Mechanismen unsere Körperfunktionen steuert. Dies zeigt sich daran, daß selbst bei Ausschaltung aller Umwelteinflüsse diese endogen gesteuerte Periodik der Kreislauf- und Stoffwechselfunktionen und der Gehirnaktivität erhalten bleibt. Lediglich die Synchronisation mit dem 24 h-Rhythmus wird aufgehoben und die reine endogen gesteuerte Periodik setzt sich durch, deren Dauer geringfügig länger als 24 h ist.^{14,15}

Bei näherer Betrachtung ist der zirkadiane Rhythmus geprägt durch Wendestunden (gegen 3 bzw. 15 Uhr) mit stärkstem Parasympathiko- bzw. Sympathikotonus, vormittäglichem Aufwärmungsaffekt (Frische- u. Wachheitsgefühl; mit Anstieg der Kern- u. Absinken der Gliedmaßen-temperatur) und abendlichem Entwärmungsaffekt

¹¹ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁷1996, S. 174.

¹² Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁵1999, S. 666.

¹³ Mistlberger, R. E.; Skene, D. J. Social influence on mammalian circadian rhythms: animal and human studies. *Biol. Rev.* **2004**, 533-556.

¹⁴ Schmidt, R. F.; Thews, G. Physiologie des Menschen. Springer-Verlag; Berlin ²⁵1993.

¹⁵ Silbernagl, S.; Despopoulos, A. Taschenatlas der Physiologie. Georg Thieme Verlag: Stuttgart ⁴1991.

(Gefühl wohliger Behaglichkeit u. Schläfrigkeit; mit Sinken der Kerntemperatur).¹⁶ Letzterer mündet schließlich in den Schlaf.

Für den Körper ist der Schlaf eine absolute Notwendigkeit. Im Pschyrembel wird der Schlaf definiert als "vor allem nachts regelmäßig wiederkehrender *physiologischer Erholungszustand* mit Veränderungen der Bewußtseinslage [...] und Körperfunktionen [...]".¹⁷ Mutschler weist explizit darauf hin, daß der Schlaf ein *aktiver* Prozeß ist. Damit ist gemeint, daß während des Schlafens einerseits wichtige Regenerations- und Abbauprozesse ablaufen, andererseits die Ansprechbarkeit auf äußere Reize stark reduziert ist bei gleichzeitiger Erhaltung von Schutzreflexen (zum Beispiel Hustenreflex) und jederzeit möglicher Weckbarkeit. In dieser Hinsicht unterscheidet sich also der Schlaf deutlich von der Narkose, bei der ebenfalls die Bewußtseinslage verändert ist, allerdings ohne die beiden letztgenannten Eigenschaften.¹⁸

Die Schlafphysiologen unterteilen den Schlaf in zwei verschiedene Arten, den *orthodoxen* Schlaf, auch synchronisierter oder Non-REM-Schlaf (NREM), und den *paradoxen* bzw. REM-Schlaf (*Rapid Eye Movement*). Grundlage für diese Einteilung ist das Elektroenzephalogramm, das deutliche Unterschiede bei den einzelnen Arten zeigt. Auf der gleichen Basis kann der orthodoxe Schlaf weiter unterteilt werden in verschiedene Stadien, die bei Übertragung in die Praxis die Schlaftiefe repräsentieren. Dementsprechend werden die Stadien auch bezeichnet als *Einschlafstadium* (Stadium I), *Leichtschlafstadium* (Stadium II), *mitteltiefes Schlafstadium* (Stadium III) und *Tiefschlafstadium* (Stadium IV). Diese Stadien werden mehrmals während der Nacht wellenförmig durchlaufen.¹⁹

Die REM-Phasen zeichnen sich durch eine hohe elektrische Aktivität aus, während die Weckschwelle dieser Phase eher dem Stadium IV vergleichbar ist.²⁰ Während dieser Zeiten träumen wir besonders intensiv. Für einen erholsamen Schlaf ist der normale Ablauf dieser verschiedenen Phasen unerläßlich, wobei den REM-Phasen besondere Bedeutung zukommt. Eine über einen längeren Zeitraum verringerte

¹⁶ Reiche, D. Roche Lexikon Medizin. Urban & Fischer: München ⁵2003.

¹⁷ Pschyrembel, W. Klinisches Wörterbuch. Walter de Gruyter: Berlin ²⁵⁷1994, Hervorhebungen durch Autor.

¹⁸ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁷1996, S. 174.

¹⁹ ebd. S. 175.

²⁰ Schmidt, R. F.; Thews, G. Physiologie des Menschen. Springer-Verlag; Berlin ²⁵1993.

Dauer bzw. Intensität oder gar Aufhebung des REM-Schlafs kann zu schweren Schäden führen.²¹

Im Laufe des Lebens verkürzt sich sowohl die Schlafdauer insgesamt als auch die Dauer der REM-Phasen. Während ein Säugling durchschnittlich sechzehn Stunden am Tag schläft, benötigt ein Erwachsener ab ca. dem 30igsten Lebensjahr 7-8 Stunden. Die REM-Phasen-Dauer verändert sich nicht über die gesamte Lebenszeit in gleichem Maße, sondern hauptsächlich in den ersten 5 Jahren, wo sie sich von ca. 50 % auf ca. 30 % der Schlafzeit verringert und sich bis zur Pubertät bei ca. 20 % einpendelt. Von da an bleibt sie bis ins hohe Alter annähernd gleich.²² Neben der Dauer der Schlafphasen ändert sich mit zunehmendem Alter auch das Schlafverhalten. Der Anteil der Tiefschlafstadien 3 und 4 an der Gesamtschlafzeit verringert sich – bei den 50- bis 60jährigen sind häufig bereits keine Tiefschlafanteile mehr nachweisbar – und es kommt zu häufigerem nächtlichen Erwachen. Häufig entwickelt sich in dieser Altersgruppe auch wieder ein biphasisches Schlafverhalten durch die Wiederaufnahme des Mittagsschlafs.²³

Diese Punkte, weniger Tiefschlafphasen, häufigeres nächtliches Erwachen und der wiederaufgenommene Mittagsschlaf, tragen wohl wesentlich dazu bei, daß vor allem ältere Menschen ihren Schlaf im Vergleich zu früher oberflächlich und unerholsam empfinden. Aus Unkenntnis der Zusammenhänge interpretieren sie das veränderte Schlafverhalten als (angebliche) Schlafstörungen und wollen diese vom Arzt behandelt wissen. Zunächst wird aber meist versucht, durch Einnahme von frei erhältlichen Schlafmitteln aus der Apotheke sich selbst zu helfen.

²¹ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁷1996, S. 175.

²² Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁵1999, S. 667.

²³ Berger, M.; Hecht, H. (Hrsg.) Psychische Erkrankungen. Klinik und Therapie. Urban & Fischer: München ²2004, S. 817.

2.1.2. Schlafstörungen

In unserer heutigen Gesellschaft sind Schlafstörungen mit die am häufigsten auftretenden Beschwerden, unter denen die Menschen leiden. Während früher meist nur ältere Leute davon betroffen waren – auch in den Augen der Gesellschaft – nimmt der Anteil an Jüngeren mittlerweile immer mehr zu. In den westlichen Industrienationen leiden ca. 20 % der Erwachsenen an gelegentlichen oder ständigen Schlafstörungen. Weit mehr als die Hälfte leidet an Insomnien, während die Hypersomnie mit ca. 4 % relativ selten auftritt.²⁴ Bezüglich des Geschlechts sind Frauen häufiger betroffen, soziodemographisch betrachtet Verheiratete mit Kindern.^{25,26} Unter letzterem Aspekt ist aber auch der Bildungsgrad und das Einkommen insofern ausschlaggebend, als daß ein hoher Bildungsgrad und ein hohes Einkommen tendenziell vor Ein- und Durchschlafstörungen schützen.²⁷

Die International Classification of Sleep Disorders (ICSD) teilt die Schlafstörungen in vier große Klassen ein:²⁸

1. Dyssomnien

Hierbei handelt es sich um Beeinträchtigungen hinsichtlich der Dauer, Qualität und zirkadianer Periodik. Sie werden auf Grund der unterschiedlichen Symptomatik weiter unterteilt in die Insomnien und Hypersomnien.

2. Parasomnien

Hierunter versteht man störende und krankhafte Begleitsymptome, wie zum Beispiel Schlafwandeln, Alpträume, nächtliches Zähneknirschen.

²⁴ Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁵1999, S. 699.

²⁵ Krystal, A. D. Insomnia in Women. *Clin. Cornerstone* **2003**, 5, 41-48.

²⁶ Allaert, F.-A.; Urbinelli, R. Sociodemographic Profile of Insomniac Patients across National Surveys. *CNS Drugs* **2004**, 18 Suppl. 1, 3-7.

²⁷ Meier, U. Das Schlafverhalten der deutschen Bevölkerung – eine repräsentative Studie. *Somnologie* **2004**, 8, 87-94.

²⁸ *ICSD - International classification of sleep disorders: Diagnostic and coding manual*. Diagnostic Classification Steering Committee, Thorpy, M. J., Chairman. Rochester, Minnesota: American Sleep Disorders Association, **1990**.

3. Schlafstörungen bei

- neurologischen Erkrankungen (degenerative Hirnerkrankungen, dementielle Syndrome, Epilepsie, Polyneuropathien),
- psychiatrischen Erkrankungen (Psychosen, Depressionen, Angstzustände)
- internistischen Erkrankungen (Schmerzzustände, Krankheiten des Bewegungsapparats, Atmungsstörungen)

4. Schlafstörungen unterschiedlicher Genese

Der Begriff Insomnie meint nicht etwa eine komplette Schlaflosigkeit, sondern ist in erster Linie durch einen Mangel an Schlafqualität gekennzeichnet. Je nach zeitlichem Auftreten des Schlafverlusts unterscheidet man drei Formen der Insomnie, nämlich Einschlafstörungen, Durchschlafstörungen und das morgendliche Früherwachen. Alle drei Formen gemeinsam haben zur Folge, daß die Erholungsfunktion des Schlafs nicht mehr gewährleistet ist, wodurch häufig auch die Leistungsfähigkeit am nächsten Tag negativ beeinflusst wird.²⁹

Ein weiteres Unterscheidungskriterium ist die Ursache für die Insomnie. Danach gibt es die primären Insomnien, bei denen keine physiologischen bzw. pathophysiologischen Gründe für die Beschwerden vorliegen, und die organisch und psychiatrisch bedingten (auch sekundär bezeichneten) Insomnien. Dabei sind die letzteren den primären Insomnien gegenüber keineswegs zu vernachlässigen, sie machen im Gegenteil einen ebenso großen, wenn nicht gar den größeren Anteil aus.³⁰

Die Hypersomnien sind durch eine exzessive Einschlafneigung während des Tages gekennzeichnet. Die Betroffenen erleiden sowohl in körperlicher Ruhe als auch am Arbeitsplatz ungewollte Schlafattacken. Die große Gefahr ist dabei das Auftreten solcher Ereignisse während des Autofahrens, beim Bedienen von Maschinen oder sonstiger Tätigkeiten dieser Art. Ein besonderes Risiko besteht beim Vorliegen einer Narkolepsie, einer Sonderform der Hypersomnie. Sie geht mit einem

²⁹ Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart **1999**, S. 700.

³⁰ Roth, T.; Drake, Ch. Evolution of Insomnia: current status and future direction. *Sleep Med.* **2004**, 5 Suppl. 1, S23-S30.

kompletten Tonusverlust der Skelettmuskulatur (Kataplexie) einher. Diese tritt auch nicht nur kurzzeitig auf, eine Attacke dauert zwischen 10 und 20 Minuten, nach denen der Patient erfrischt erwacht. Im EEG erkennt man bei diesen Patienten gleich zu Beginn des Schlafs bereits REM-Phasen.³¹

Neben diesen relativ häufigen Schlafstörungen kennt man noch die seltener auftretenden motorischen Schlafstörungen. Dazu zählen in erster Linie das Restless-legs-Syndrom (RLS; *Anxietas tibiaram*) und das Periodic-limb-movement-Syndrom (PLMS). Bei ersterem leiden die Betroffenen unter äußerst unangenehmem Kribbeln in den Beinen während des Einschlafens oder auch schon früher am Abend in Ruhe. Besserung erreicht man durch Bewegen der Beine und Umhergehen. PLMS ist gekennzeichnet durch wiederholte ruckartige Kontraktionen der Beinmuskulatur vor allem während der Leichtschlafphasen. Eine Kontraktion dauert ungefähr 0,5-5 Sekunden mit einem Abstand zwischen den einzelnen Ereignissen von 20-40 Sekunden. Dieses Zucken der Beine kann häufig zu Weckreaktionen führen, woraus letztendlich eine Insomnie (beeinträchtigte Schlafqualität) und Hypersomnie (Übermüdung) resultiert. Als Ursache für das Syndrom wird eine Störung des dopaminergen Systems vermutet.³²

Wesentlich häufiger als die motorischen Schlafstörungen sind die atmungsbedingten Schlafstörungen, die meistens auf einer Obstruktion der oberen Atemwege beruhen. Dadurch kommt es zu obstruktivem Schnarchen und Schlafapnoen. Eine solche Obstruktion kann zum Beispiel durch eine Verengung im Pharynxbereich oder ein Zurückfallen der Zunge in Rückenlage bei vermindertem Tonus der Mund- und Kehlkopfmuskulatur zu Stande kommen. Entscheidend für die Diagnose einer Apnoe ist die Dauer und Häufigkeit der Atempausen, da solche auch beim Gesunden auftreten. Deshalb spricht man erst von einer Apnoe, wenn der Atemstrom für mindestens 10 Sekunden und häufiger als 5 mal pro Stunde aussetzt. Durch diese Ereignisse entsteht eine arterielle Hypoxie, welche eine zentralnervöse Alarmreaktion auslösen kann, die sich in einer Weckreaktion äußert. Unter diesen häufigen Schlafunterbrechungen leidet die Schlafqualität, es stellt sich keine Erholung ein, was am Folgetag zu einer Hypersomnie führt. Ebenfalls mit einer

³¹ Thews, G.; Mutschler, E.; Vaupel, P. *Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie des Menschen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁵1999, S. 700.

³² ebd.

Schlafapnoe assoziiert ist ein Ansteigen der Herzfrequenz, des arteriellen und des pulmonalen Blutdrucks, wodurch es langfristig zu pulmonaler Hypertonie, Rechtsherzinsuffizienz und kardialen Arrhythmien kommen kann.³³

Ebenfalls zu den Dyssomnien zählt man auch die Dysrhythmien, worunter man in diesem Zusammenhang Störungen des zirkadianen Rhythmus versteht. Diese können durch kurzzeitige oder länger andauernde Veränderungen des Schlaf-Wach-Rhythmus entstehen, entweder durch die berufliche Tätigkeit erzwungen oder auf persönlicher Entscheidung basierend. Auch hier ergibt sich wieder als Konsequenz, daß der Erholungswert des Schlafs beeinträchtigt ist. Allgemein bekannt ist das Jet-lag-Syndrom nach langen Flügen, mit denen man innerhalb kurzer Zeit mehrere Zeitzonen überspringt. Dadurch kommt man in einen völlig neuen Tag-Nacht-Rhythmus, an den der Körper sich erst gewöhnen muß. Hierdurch bedingte Insomnien sind aber nach einigen Tagen völlig verschwunden. Anders sieht es bei Schichtarbeitern aus. Je nach Dauer der anomalen Arbeitszeiten können mehr oder weniger ausgeprägte, aber immer länger andauernde Anpassungsschwierigkeiten resultieren. Neben dem Schlafentzug und damit verbundenen Hypersomnien kann eine Abnahme der Leistungsbereitschaft und der sozialen Kontakte die Folge sein.³⁴

Schließlich und endlich können Schlafstörungen auch durch den Mißbrauch von Alkohol oder Medikamenten bzw. als Nebenwirkungen letzterer verursacht sein.

³³ ebd.

³⁴ ebd.

2.1.3. Therapie der Schlafstörungen

Entsprechend der Häufigkeit von Schlafstörungen sind die Schlafmittel eine der am meisten gebrauchten Arzneistoffgruppen. Dies hat sicherlich nicht nur in dem großen Bedarf seinen Grund, sondern auch von Seiten der Anbieter aus in dem immensen Markt und seinen entsprechenden Verdienstmöglichkeiten. Bei objektiver Betrachtung aber fällt auf, daß die Auswahl an verschiedenartigen Arzneistoffen trotz allem eher beschränkt ist. Die Gruppe der Benzodiazepine, die am häufigsten eingesetzt werden und als Mittel der Wahl gelten, glänzt zwar durch eine große Anzahl, ansonsten aber sehr gleichartiger Substanzen. In der Online-Ausgabe der Roten Liste 2003 sind 14 verschiedene Benzodiazepine aufgeführt, die sich auf 43 Präparate verteilen (Hauptgruppe Hypnotika/Sedativa). Der Roth/Fenner kennt sogar 28 Benzodiazepine.³⁵

Der Einsatz von Schlafmitteln ist entgegen der vorherrschenden Praxis, nach der man mit solchen Mitteln schnell bei der Hand ist – auch von seiten der Ärzte – nicht trivial und erfordert ein gewisses Fingerspitzengefühl den Patienten gegenüber. Zunächst sollte versucht werden, die Ursache der Schlafstörung zu finden, um das Übel bei der Wurzel packen zu können. Wenn irgend möglich, sollte der kausalen Therapie immer der Vorzug gegeben werden gegenüber einer symptomatischen. Erst, wenn die Ursache nicht erkannt oder nicht behoben werden kann, ist der Einsatz eines Schlafmittels erwägenswert. Aber auch dann ist eine Kombination aus pharmakologischer und nicht-pharmakologischer Therapie empfehlenswert.³⁶ Wichtig für die konkrete Auswahl ist die richtige Diagnose der vorliegenden Schlafstörung. Doch sollte von Anfang an immer berücksichtigt werden, daß eine Einnahme nur kurzfristig erfolgen sollte, um keine Abhängigkeit entstehen zu lassen. Darüber und ebenso über die Eigenschaften der gegebenen Substanz im Zusammenhang einer Abhängigkeit sollte der Patient sorgfältig aufgeklärt werden.

³⁵ Roth, H. J.; Fenner, H. Pharmazeutische Chemie III – Arzneistoffe. Georg Thieme Verlag: Stuttgart ²1994.

³⁶ Neubauer, D. N. Pharmacologic Approaches for the Treatment of Chronic Insomnia. *Clin. Cornerstone* **2003**, *5*, 16-27.

Idealerweise sollte ein Schlafmittel folgende Eigenschaften aufweisen:

- Es sollte einen dem physiologischen Schlaf entsprechenden Zustand erzeugen, also das Schlafprofil nicht verändern.
- andere ZNS- und Organfunktionen sollten nicht beeinflusst werden, auch nicht bei Überdosierung
- keine Kumulation im Organismus
- keine negativen Nachwirkungen am nächsten Morgen (kein Hang-over)
- kein Wirksamkeitsverlust bei längerer Anwendung
- keine Abhängigkeit bzw. Sucht

Bei Betrachtung der tatsächliche Eigenschaften der derzeit zur Verfügung stehenden Schlafmittel fällt auf, daß keines (!) diese Forderungen erfüllt, ein ideales Schlafmittel also nicht existiert.³⁷

Selbst die wichtigste Forderung – wenn eine solche Gewichtung überhaupt vorgenommen werden kann – leistet keiner der verwendeten Arzneistoffe: Alle hypnotisch wirkenden Substanzen verändern das Schlafprofil, wovon insbesondere das Tiefschlafstadium und die REM-Phasen betroffen sind. Aber auch die anderen Phasen werden beeinflusst, wohingegen die REM-Latenz, die Zeit bis zur ersten REM-Phase, nur von den Barbituraten verändert wird.³⁸

Die Beeinträchtigung der REM-Phasen führt beim plötzlichen Absetzen – vor allem nach längerer Anwendung – zum sogenannten REM-rebound. Damit ist ein REM-Überschuß gemeint im Sinne einer Verlängerung der REM-Phasen. Dies kommt zustande, weil der Körper die von den Schlafmitteln verursachte Verkürzung der REM-Phasen ausgleicht, so daß das Verhältnis der Schlafphasen wieder normal ist. Wird das Schlafmittel abrupt abgesetzt, nimmt der Anteil der REM-Phasen plötzlich zu. Der Betroffene träumt länger und intensiver bis hin zu Alpträumen und empfindet den Schlaf insgesamt als weniger erholsam als bei Einnahme des Schlafmittels. Dies ist der erste Schritt in Richtung Abhängigkeit, da bei ungenügender Aufklärung des

³⁷ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart ⁷1996, S. 176.

³⁸ ebd.

Patienten der erneute Griff zum Schlafmittel sehr leicht und häufig geschieht.³⁹ Im Zusammenhang mit dem Wirkverlust, den alle Substanzen bei längerer Anwendung erleiden und der damit verbundenen Dosiserhöhung verstärken sich aber die Wirkungen auf das Schlafprofil und damit auf den Schlaf nach erneuter Absetzung des Medikaments. Der Patient kommt schließlich zu der Überzeugung, daß er ohne Schlafmittel gar nicht mehr schlafen kann. Durch ein ausschleichendes Absetzen kann der REM-rebound vermieden werden, deshalb sollten Schlafmittel grundsätzlich auf diese Weise abgesetzt werden.

Eine weitere negative Auswirkung der Schlafmittel ist der sogenannte hang-over. Dieser macht sich vor allem bei Substanzen mit langer Wirkdauer bzw. Halbwertszeit bemerkbar. Diese sind auch am nächsten Morgen noch in so hoher Konzentration im Organismus, daß sie ihre Wirkung weiter entfalten und so zu Müdigkeit und Abgeschlagenheit am Tag führen. Bei solchen Substanzen besteht außerdem die Gefahr einer Kumulation.

Zur Behandlung von Schlafstörungen stehen folgende Arzneistoffe bzw. Arzneistoffgruppen zur Verfügung:

1. Pflanzliche Schlafmittel
2. H₁-Antihistaminika
3. Barbiturate
4. Chloralhydrat
5. Benzodiazepine
6. Benzodiazepin-ähnliche Verbindungen

³⁹ Lüllmann, H.; Mohr, K.; Ziegler, A. Taschenatlas der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag: Stuttgart ³1996, S. 220.



Abb. 6: Hopfenzapfen und seine Inhaltsstoffe⁴⁰

Als pflanzliche Schlafmittel werden vor allem Baldrian- und Hopfenpräparate bzw. Kombinationen dieser beiden verwendet. Ihre Wirkung gilt allerdings als begrenzt, weshalb sie nur bei leichten, nervösbedingten Einschlafstörungen zum Einsatz kommen. Es gibt aber auch Hinweise, daß Baldrian eine ähnlich gute Wirkung wie Oxazepam entfaltet.⁴¹ Nebenwirkungen und Gegenanzeigen werden nicht beschrieben, die Gefahr einer Abhängigkeit ist von daher nicht gegeben.⁴² Neuere Untersuchungen haben ergeben, daß die Wirkung des Baldrian nicht bzw. nicht nur durch die Hauptinhaltsstoffe der Pflanze – die Valepotriate – vermittelt wird, sondern auch andere Inhaltsstoffe Bedeutung besitzen. An der Vermittlung der Wirkung könnte der A₁-Adenosin-Rezeptor beteiligt sein.⁴³

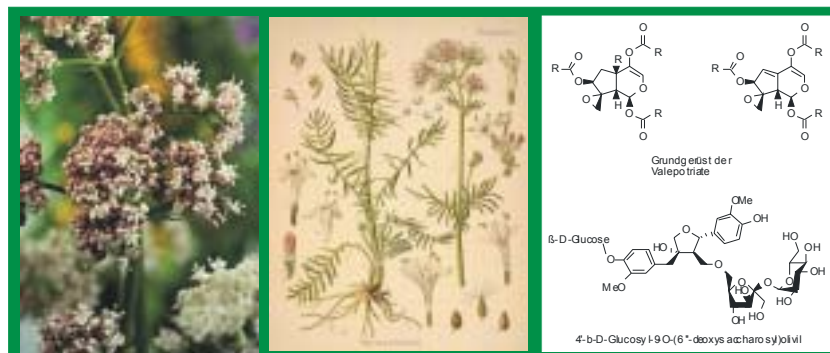


Abb. 7: Baldrian und seine Inhaltsstoffe⁴⁴

⁴⁰ Photo: www.netgarden.de; Zeichnung aus Köhler, F. E. Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte: Atlas zur Pharmacopoea germanica, Pabst, G., Hrsg.; Gera-Untermhaus: Gera, 1887.

⁴¹ Dorn, M. Wirksamkeit und Verträglichkeit von Baldrian versus Oxazepam bei nichtorganischen und nichtpsychiatrischen Insomnien: Eine randomisierte, doppelblinde, klinische Vergleichsstudie. *Forsch. Komplementärmed. Klass. Naturheilkd.* 2000, 7, 79-84.

⁴² Füssel, A.; Wolf, A.; Brattström, A. Effect of a Fixed Valerian-Hop Extract Combination (ZE 91019) on Sleep Polygraphy in Patients with Non-organic Insomnia: A Pilot Study. *Eur. J. Med. Res.* 2000, 5, 385-390.

⁴³ Schumacher, B.; Scholle, S.; Hölzl, J.; Khudeir, N.; Hess, S.; Müller, C. E. Lignans Isolated from Valerian: Identification and Characterization of a New Olivil Derivative with Partial Agonistic Activity at A₁ Adenosine Receptors. *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 1479-1485.

⁴⁴ Zeichnung aus Köhler, F. E. Köhler's Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte: Atlas zur Pharmacopoea germanica, Pabst, G., Hrsg.; Gera-Untermhaus: Gera, 1887; Photo: Dr. Willmar Schwabe Arzneimittel, Karlsruhe.

Die H₁-Antihistaminika der ersten Generation sind in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und entfalten über die Blockade zentraler H₁-Rezeptoren einen sedierenden, hypnotischen Effekt. Durch Umdefinieren dieser eigentlichen Nebenwirkung zur Hauptwirkung sind die Arzneistoffe Diphenhydramin und Doxylamin als Schlafmittel eingeführt worden. Ihre Wirkstärke ist gegenüber den pflanzlichen Präparaten meist höher, erreicht aber nicht ganz diejenige von Benzodiazepinen. Gleich sind dagegen die Nachteile, deshalb ist ihr unkritischer Einsatz in der Selbstmedikation – diese Arzneistoffe unterliegen nicht der Verschreibungspflicht – entschieden abzulehnen.⁴⁵

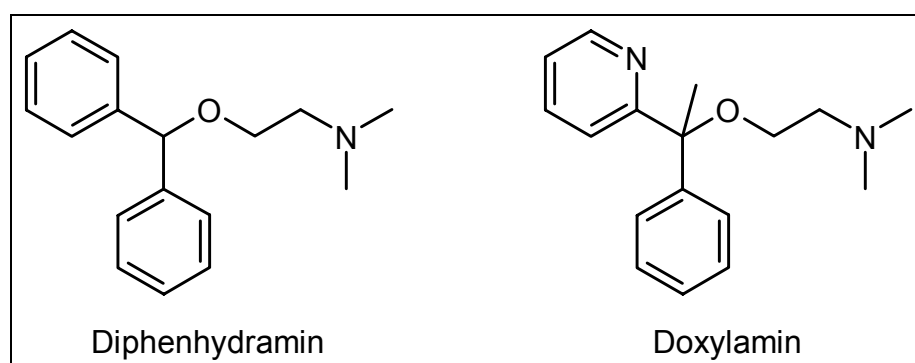


Abb. 8: Strukturformeln von als Sedativa gebrauchten H₁-Antihistaminika

Der Einsatz von Barbituraten als Schlafmittel ist mittlerweile, besonders wegen der hohen Suizidgefahr, obsolet. Dementsprechend sind in der Roten Liste unter Hypnotica/Sedativa keine Präparate mit Barbituraten mehr aufgeführt.

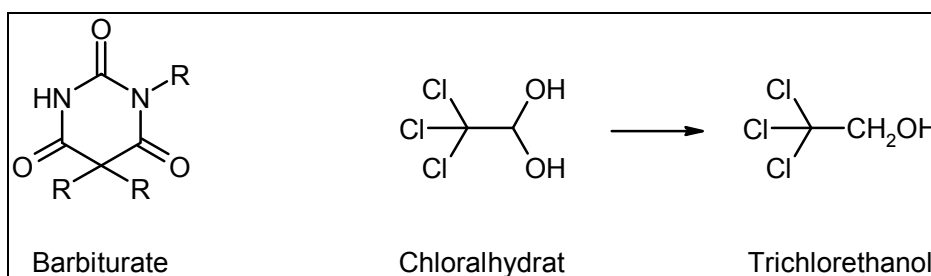


Abb. 9: Grundgerüst der Barbiturate und Strukturformel von Chloralhydrat

Chloralhydrat ist das älteste synthetische Schlafmittel und kann auf eine über 100jährige Geschichte zurückblicken. Justus von Liebig stellte die Substanz 1832 zum ersten mal dar, 1869 wurde sie als Schlafmittel in Deutschland eingeführt. Obwohl es den Vorteil hat, den REM-Schlaf nicht zu beeinflussen, wird es heute nur noch selten eingesetzt, da es eine geringe therapeutische Breite hat. Außerdem

⁴⁵ Balogh, A. Arzneimittel in der Therapie von Schlafstörungen – Übersicht. *Z. ärztl. Fortbild. Qual.sich.* **2001**, 95, 11-16.

sensibilisiert die Substanz als halogenierter Kohlenwasserstoff das Herz gegenüber Katecholaminen, was zu Problemen bei kardiovaskulären Risikopatienten führen kann.⁴⁵ Zur Behandlung von Durchschlafstörungen muß Chloralhydrat in retardierter Form eingesetzt werden. Nach Aufnahme in den Körper wird es schnell zu Trichlorethanol reduziert, der eigentlichen Wirkform. Die Wirkung selbst kommt vermutlich über eine unspezifische Membranwechselwirkung zustande, vergleichbar der Wirkung von Alkohol.

Die Benzodiazepine sind innerhalb der Schlafmittel die wichtigste und am häufigsten eingesetzte Substanzgruppe. Wie oben auch schon erwähnt, gleichen sich alle Vertreter hinsichtlich ihrer Wirkqualität. Neben der sedierenden besitzen alle Benzodiazepine noch anxiolytische, antikonvulsive und myotonolytische Wirkung. Welche davon im Vordergrund steht, hängt von der Substanz und teilweise auch von der Dosierung ab. Dies muß bei der Auswahl einer Substanz für einen

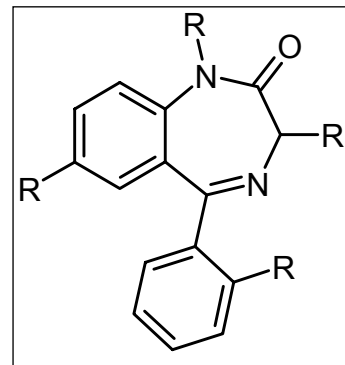


Abb. 10: Grundgerüst der Benzodiazepine

bestimmten Patienten berücksichtigt werden. Zum Beispiel kann es hinsichtlich der muskelrelaxierenden Wirkung vor allem bei älteren Menschen oder zusätzlich vorliegenden Erkrankungen des Bewegungsapparats leicht zu Gangunsicherheiten kommen.⁴⁶

Das wichtigste Unterscheidungskriterium für die Benzodiazepine ist die Wirkdauer. Anhand der Halbwertszeiten teilt man sie ein in kurzwirksame, mittellang wirksame und langwirksame Substanzen. Typische Vertreter dieser Gruppen sind Oxazepam ($t_{1/2}$ 5-12 h), Lorazepam ($t_{1/2}$ 12-24 h) und Diazepam ($t_{1/2}$ 24-36 h). Für die Behandlung von Schlafstörungen sollten generell nur die kurzwirksamen verwendet werden, um eine Kumulation und einen hang-over-Effekt zu vermeiden.³⁶

Wirkort für die hypnotische Wirkung der Benzodiazepine ist der GABA_A-Rezeptor im ZNS. Dort erhöhen sie durch allosterische Modulation die Affinität des endogenen Liganden GABA zu dessen Bindungsstelle, indem sie an die sogenannte Benzodiazepin-Bindungsstelle binden. Da die GABAergen Neurone eine ZNS-

⁴⁶ Mutschler, E. Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart 1996, S. 162.

hemmende Wirkung ausüben, wird durch diese Modulation der Effekt verstärkt. Bis vor einigen Jahren unterschied man beim GABA_A-Rezeptor zwei Subtypen A1 und A2. Mittlerweile ist bekannt, daß der Rezeptor genauso wie die nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren aus fünf verschiedenen Untereinheiten zusammengesetzt ist, die sich in mehrere Gruppen von Isoformen einteilen lassen.⁴⁷ Für den sedativen Effekt ist die Anwesenheit einer α_1 -Untereinheit nötig, Rezeptoren, die eine solche enthalten, repräsentieren den alten Subtyp A1. Dahingegen wird die anxiolytische Wirkung wohl über Rezeptoren mit der α_2 -Untereinheit vermittelt.^{48,49}

Zu den Benzodiazepin-ähnlichen Schlafmitteln gehören die Substanzen Zolpidem, Zopiclon und Zaleplon. Die Bezeichnung kommt nicht etwa von ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit den Benzodiazepinen, sondern weil sie den gleichen Wirkungsmechanismus besitzen. Während die Benzodiazepine aber in der Regel an alle α -Untereinheiten binden, bevorzugen diese Substanzen die α_1 -Untereinheit mit gar keiner oder nur geringer Affinität zu Rezeptoren mit anderen α -Untereinheiten.⁵⁰ Diese Selektivität ist bei Zolpidem am ausgeprägtesten, bei Zaleplon etwas weniger. Zopiclon zeigt interessanterweise keine Selektivität, trotzdem scheint dessen Wirkung nicht mit dem der Benzodiazepine identisch zu sein.⁵¹ Insgesamt gleichen sich die Eigenschaften sehr, wobei die Abhängigkeitsgefahr geringer sein soll als bei den Benzodiazepinen.

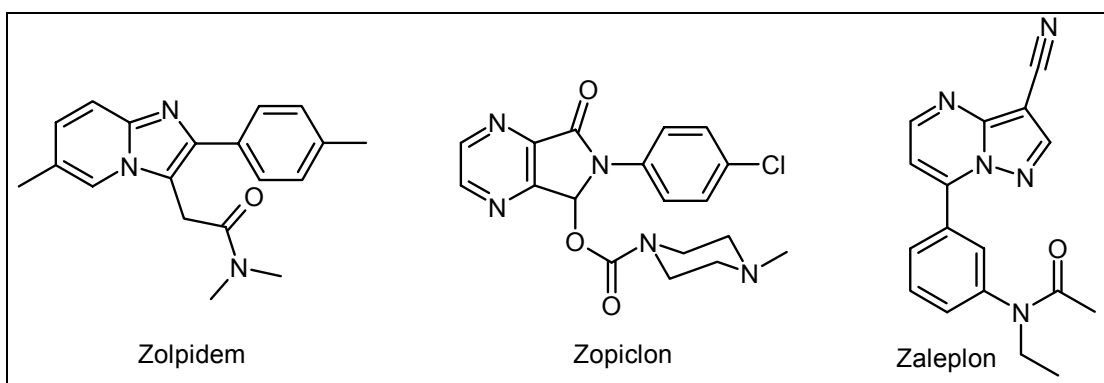


Abb. 11: Strukturformeln der neuen Benzodiazepin-ähnlichen Hypnotika

⁴⁷ Mohler, H.; Fritschy, J. M.; Rudolph, U. A New Benzodiazepine Pharmacology. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *300*, 2-8.

⁴⁸ Sanger, D. J. The Pharmacology and Mechanisms of action of New Generation, Non-Benzodiazepine Hypnotic Agents. *CNS Drugs* **2004**, *18 Suppl. 1*, 9-15.

⁴⁹ Low, K.; Crestani, F.; Keist, R. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science* **2000**, *290*, 131-133.

⁵⁰ Graham, D.; Faure, C.; Besnard, F. Pharmacological profile of benzodiazepine site ligands with recombinant GABAA receptor subtypes. *Eur. Neuropsychopharm.* **1996**, *6*, 119-125.

⁵¹ Doble, A. New insights into the Mechanism of action of hypnotics. *J. Psychopharmacol.* **1999**, *13*, S11-20.

2.1.4. Der postulierte Uridin-Rezeptor

2.1.4.1. Eine kurze Geschichte der Nucleinsäuren

Die Geschichte der Nucleinsäuren begann 1869 mit ihrer Entdeckung durch Friedrich Miescher (veröffentlicht erst 1871⁵²) in Tübingen. Als Assistent des damals hoch angesehenen Wissenschaftlers Hoppe-Seyler arbeitete er an der chemischen Zusammensetzung der Zelle. Als Quelle dienten ihm die eitrigen Verbände der chirurgischen Klinik. Aus diesen Eiterzellen isolierte er das von ihm selbst so genannte „Nuclein“.

Zunächst nahm die Fachwelt kaum Notiz davon, nur Miescher selber forschte weiter. In den folgenden Jahren gelang es ihm, aus den Spermien verschiedener Wirbeltiere ebenfalls das Nuclein zu isolieren. 1874 veröffentlichte er erneut in einem Artikel seine Ergebnisse, die diesmal einiges Aufsehen erregten.⁵³ Zu dieser Zeit entwickelte sich gerade das Interesse der Wissenschaft an der Vererbung von Merkmalen und Eigenschaften. Miescher selbst äußerte zwar in seinem Artikel, daß das Nuclein an der Vererbung beteiligt sein könnte, verwarf diese Idee aber sofort wieder.

Während sich Miescher deshalb nicht weiter mit seiner (im nachhinein erst) spektakulären Entdeckung beschäftigte, war es vor allem Albrecht Kossel, der wesentlich zum Erkenntnisgewinn über die Nucleinsäuren beitrug. Von ihm bzw. seinen Mitarbeitern wurden zwischen 1883 und 1900 die am Aufbau beteiligten Basen Guanin⁵⁴ (bereits 1846 von Unger aus Guano isoliert⁵⁵) Adenin⁵⁶, Thymin⁵⁷, Cytosin⁵⁸ und Uracil⁵⁹ entdeckt bzw. als Bestandteile des Nucleins identifiziert.

⁵² Miescher, F. Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. *Med. Chem. Unters.* **1871**, 441-462.

⁵³ Miescher, F. Das Protamin, eine neue organische Base aus den Samenfäden des Rheinlachs. *Chem. Ber.* **1874**, *7*, 376-379.

⁵⁴ Kossel, A. Zur Chemie des Zellkerns. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1883**, *7*, 7-22.

⁵⁵ Unger, B. Bemerkungen zu obiger Notiz. *Ann. Chem. Pharm.* **1846**, *58*, 18-20.

⁵⁶ Kossel, A. Ueber eine neue Base aus dem Tierkörper. *Chem. Ber.* **1885**, *18*, 79-81.

⁵⁷ Kossel, A.; Neumann, A. Ueber das Thymin, ein Spaltungsprodukt der Nucleinsäure (Adenylsäure). *Chem. Ber.* **1893**, *26*, 2753-2756.

⁵⁸ Kossel, A.; Neumann, A. Darstellung und Spaltungsprodukte der Nucleinsäure (Adenylsäure). *Chem. Ber.* **1894**, *27*, 2215-2222.

⁵⁹ Ascoli, A. Über ein neues Spaltungsprodukt des Hefenucleins. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1900**, *31*, 161-164.

Außerdem beschrieb er bereits 1893 einen Kohlehydratbestandteil.⁶⁰ Für diese Leistungen erhielt er 1910 den Nobelpreis für Medizin.

Der enthaltene Zucker wurde erst 10 Jahre später von Levene identifiziert und als Ribose bezeichnet.^{61,62,63} Der Begriff Nukleosid (und auch Nukleotid) wurde ebenfalls von Levene und Mandel geprägt.⁶⁴ Sie bezeichneten damit die Produkte bei der sauren Hydrolyse von Nukleinsäuren, wobei die Nukleotide die Verbindung aller drei Komponenten der Nukleinsäure – Base, Zucker, Phosphorsäure – darstellen, die Nukleoside hingegen lediglich die Verbindungen der Basen mit dem Zucker. Sie waren somit auch die ersten, die die Verknüpfungen zwischen den einzelnen Bausteinen – Base, Zucker, Phosphatrest – beschrieben. Als dritten bedeutenden Beitrag bei der Erforschung der Nukleinsäuren fanden Levene und seine Mitarbeiter wiederum 10 Jahre später die Desoxyribose.⁶⁵ Seit dieser Zeit sind die zwei Arten der Nukleinsäuren – RNA und DNA – bekannt.

Obwohl sich die Erkenntnis, daß die Nukleinsäuren irgendwie in die Vererbung involviert sind, in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts etabliert hatte, wurden als Träger und Vermittler der genetischen Informationen die Proteine angesehen. Deren Aufbau aus 20 verschiedenen Aminosäuren wurde hierfür als geeigneter angesehen als die vergleichsweise simpel, nur aus 4 Basen zusammengesetzte Nukleinsäure. Erst Anfang der vierziger Jahre gelang es Oswald Avery und seinen Kollegen, einwandfrei die DNA als Träger der Erbinformationen nachzuweisen.⁶⁶ Damit hatte der langsame Prozeß für die Bedeutung der DNA innerhalb der Vererbung einen ersten Höhepunkt erreicht. Allerdings dauerte es noch einige Jahre, bis Averys Erkenntnis von der wissenschaftlichen Welt akzeptiert wurde.

⁶⁰ Kossel, A.; Neumann, A. Darstellung und Spaltung der Nucleinsäure (Adenylsäure). *Chem. Ber.*, **1894**, *27*, 2215-2222.

⁶¹ Levene, P. A., Jacobs, W. A. Über die Pentose in den Nucleinsäuren I. Mitteilung. *Chem. Ber.* **1909**, *42*, 2102-2106.

⁶² Levene, P. A., Jacobs, W. A. Über die Hefe-Nucleinsäure. *Chem. Ber.* **1909**, *42*, 2474-2478.

⁶³ Levene, P. A., Jacobs, W. A. Über die Pentose in den Nucleinsäuren II. Mitteilung. *Chem. Ber.* **1909**, *42*, 3247-3251.

⁶⁴ Levene, P. A.; Mandel, J. A. Über die Konstitution der Thymo-nucleinsäure. *Chem. Ber.* **1908**, *41*, 1905-1909.

⁶⁵ Levene, P. A.; London, E. S. The Structure of Thymonucleic Acid. *J. Biol. Chem.* **1929**, *83*, 793-802.

⁶⁶ Avery, O. T.; MacLeod, C. M.; McCarty, M. Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. *J. Experim. Med.* **1944**, *79*, 137-159.

Nicht besser erging es Watson und Crick, denen es Anfang der fünfziger Jahre gelang, die räumliche Struktur der DNA aufzuklären – nicht ohne die tatkräftige Mithilfe von Rosalind Franklin – und damit einen weiteren Meilenstein in der Geschichte zu markieren. Ihr Artikel dazu in der Fachzeitschrift *Nature* von 1953, gerade einmal eine Seite lang, fand anfangs kaum Beachtung.⁶⁷

Immer noch unklar war, wie es der DNA mit nur vier unterschiedlichen "Buchstaben" möglich war, die komplexen Informationen für die Vererbung weiterzugeben. Die Entschlüsselung dieses sogenannten genetischen Codes gelang 1965 Nirenberg und Khorana, wofür 1968 der Medizinnobelpreis an sie vergeben wurde.^{68,69}

Der bisherige Gipfel in der Erforschung der Nukleinsäure ist die Entschlüsselung des gesamten menschlichen Genoms durch das Human-Genom-Projekt im Jahre 2003.

2.1.4.2. Das Nukleosid Uridin

Uridin gehört als Nukleosid zu den essentiellen Bausteinen von lebenden Organismen. Seine vordergründigste Aufgabe ist von daher die Beteiligung am Aufbau der RNA nach der Phosphorylierung durch Uridinkinasen zu den entsprechenden Nucleotiden. Aber auch in die DNA kann es nach entsprechender Modifikation eingebaut werden. Entdeckt wurde es zusammen mit seinem Monophosphat UMP 1919 von Levene, und die erste Synthese gelang ihm und seinem Kollegen 1934.^{70,71}

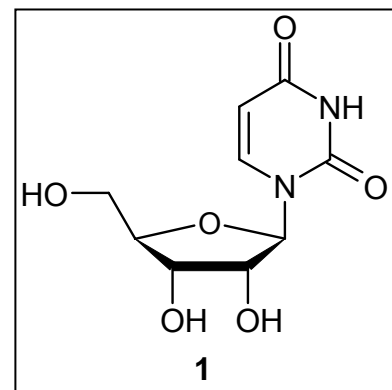


Abb. 12: Das Nukleosid Uridin

⁶⁷ Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids. *Nature* **1953**, *171*, 738-739.

⁶⁸ Nirenberg, M. W.; Leder, P.; Bernfield, M.; Brimacombe, R.; Trupin, J.; Rottman, F.; O'Neal, C. RNA Codewords and Protein Synthesis, VII. On the General Nature of the RNA Code. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1965**, *53*, 1161-1168.

⁶⁹ Söll, D.; Ohtsuka, E.; Jones, D. S.; Lohrmann, R.; Hayatsu, H.; Nishimura, S.; Khorana, H. G. Studies on Polynucleosides, XLIX. Stimulation of the Binding of Aminoacyl-sRNA's to Ribosomes by Ribotrinucleotides and a Survey of Codon Assignments for 20 Amino Acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1965**, *54*, 1378-1385.

⁷⁰ Levene, P. A. The structure of yeast nucleic acid. IV. Ammonia hydrolysis. *J. Biol. Chem.* **1919**, *40*, 415-424.

⁷¹ Levene, P. A.; Tipson, R. S. The partial synthesis of ribose nucleotides. I. Uridine 5-phosphoric acid. *J. Biol. Chem.* **1934**, *106*, 113-124.

Außer für die Beteiligung am Aufbau der RNA und DNA kannte man lange Zeit keine weitere physiologische Bedeutung oder pharmakologische Wirkung des Uridin. Erst mit der Zeit erkannte man, daß die Nukleoside bzw. vor allem die Nukleotide nicht nur innerhalb des Zellkerns als Bestandteile des Erbguts eine wichtige Rolle spielen, sondern auch innerhalb der Zelle z. B. als Energielieferanten und schließlich – mit Entdeckung der Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren (letztere durch Burnstock⁷²) – auch außerhalb der Zelle wichtige Aufgaben als Neurotransmitter bzw. Neuromodulatoren erfüllen.

So wies 1973 eine Arbeitsgruppe nach, daß Uridin einen antikonvulsiven Effekt bei Metrazol- und Penicillin-induzierten epileptischen Anfällen aufweist.⁷³ Aufhänger dieser Untersuchung war, daß radioaktiv markiertes Uridin üblicherweise als Precursor für den RNA-Stoffwechsel verwendet wurde und es zu dieser Zeit viele Untersuchungen dazu gab, ob der RNA-Metabolismus in irgendeiner Weise in die Entstehung von epileptischen Foci involviert ist.

Roberts kritisierte, daß keine Arbeitsgruppe bis zu diesem Zeitpunkt den Effekt dieses radioaktiv markierten Uridins selbst auf die Aktivität der epileptischen Anfälle untersucht hatte. Dies tat er nun selbst und kam so zu einem der ersten Hinweise auf eine pharmakologische Wirkung des Uridins.

Aus heutiger Sicht übt Uridin folgende pharmakologische Wirkungen aus:

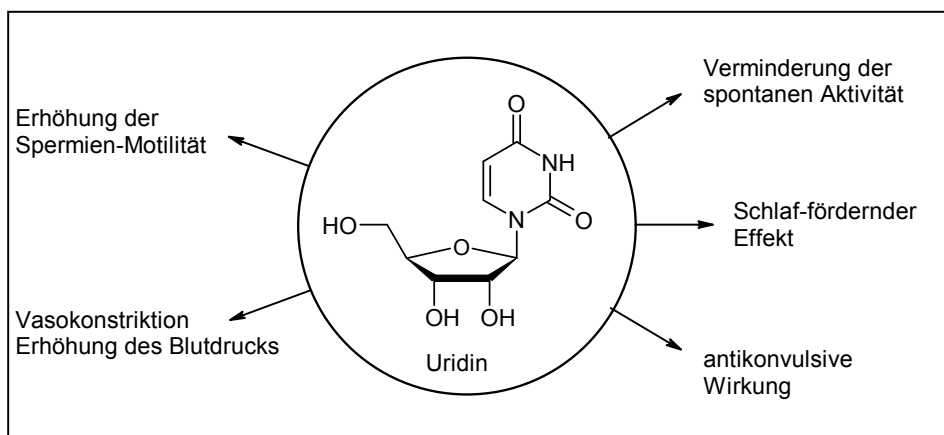


Abb. 13: Pharmakologische Wirkungen von Uridin

⁷² Burnstock, G. A Basis for Distinguishing Two Types of Purinergic Receptor. In *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones*, Bolis, L., Hrsg.; Raven-Press: New-York, **1978**, 107-118.

⁷³ Roberts, C. A. Anticonvulsant Effects of Uridine: Comparative Analysis of Metrazol and Penicillin Induces Foci. *Brain. Res.* **1973**, 55, 291-308.

2.1.4.3. Der Weg zum Postulat

Zwei Jahrzehnte vor Roberts' Ergebnissen zum Uridin wurde im Journal of the American Pharmaceutical Association ein Artikel veröffentlicht, in dem der ZNS-dämpfende Effekt von Uracil und drei weiteren Oxypyrimidinen beschrieben wird.⁷⁴ Ausgangspunkt für diese Untersuchung war die Beobachtung, daß Barbitursäure einige Uracil-abhängige Bakterien hemmt. Auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit zwischen Barbitursäure und Uracil wurde dieser Effekt erklärt, indem man ersterer die Rolle eines Antimetaboliten zuschrieb. Bis dato gab es allerdings keine Berichte über eine pharmakologische Wirkung von Uracil oder auch Thymin als zweitem Oxypyrimidin. Die Überlegung, die die Autoren anstellten, war – da Barbitursäure bei Bakterien einen antimetabolischen und bei höheren Organismen einen hypnotischen Effekt ausübt – ob Uracil dementsprechend ebenfalls bei Tieren oder Menschen ZNS-dämpfende oder hypnotische Eigenschaften besitzt.

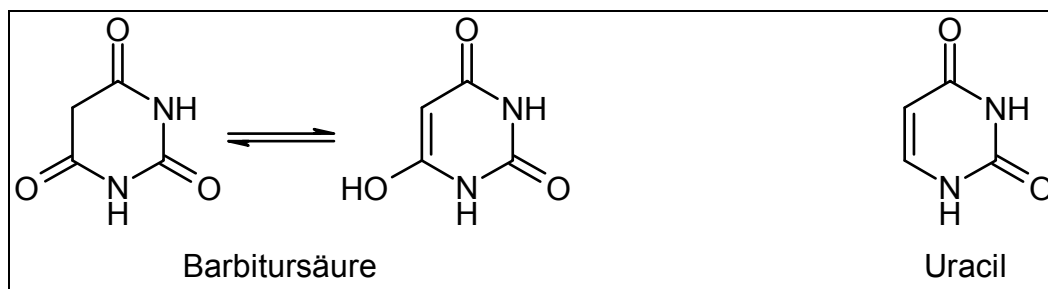


Abb. 14: Oxypyrimidine mit ZNS-dämpfenden Eigenschaften

Der Test an Mäusen zeigte, daß Uracil allein keinen Effekt hatte, somit nicht hypnotisch wirkt. Die ZNS-dämpfende Eigenschaft wurde daraufhin nachgewiesen, indem bei den Tieren mit Hexobarbital der Schlaf induziert wurde, der bei zusätzlicher Gabe von Uracil deutlich verlängert wurde, ebenso durch die anderen getesteten Substanzen 6-Methyluracil, Thiouracil und Thymin.

Außerdem zeigte sich eine protektive Wirkung gegenüber Elektroschock-induzierten Anfällen und – in einem weiteren Artikel der Autoren aus dem gleichen Jahr – ein antikonvulsiver Effekt.⁷⁵

⁷⁴ Wenzel, D. G.; Keplinger, M. L. Central Depressant Properties of Uracil and Related Oxypyrimidines. *J. Amer. Pharm. Ass.* **1955**, *44/1*, 56-59.

⁷⁵ Wenzel, D. G. Anticonvulsant Activity of Some Uracils and Related Compounds. *J. Amer. Pharm. Ass.* **1955**, *44/9*, 550-553.

In den folgenden Jahren wurden die für Uracil gefundenen pharmakologischen Wirkungen – Schlaf-fördernder Effekt, antikonvulsive Eigenschaft, ZNS-Dämpfung – von verschiedenen Arbeitsgruppen auch für das Nucleosid von Uracil, nämlich Uridin beschrieben. Dazu zählen die Ergebnisse von Bonavita⁷⁶ und Roberts⁷³. Am meisten versprach man sich zu dieser Zeit wohl von der Anwendung als Antikonvulsivum, da die meisten Veröffentlichungen sich mit diesem Teilaspekt beschäftigen.

Eine der ungelösten Fragen – nachdem die Uridin-Wirkungen mittlerweile als sicher angenommen werden konnten – mit der man sich zunehmend zu beschäftigen begann, war der Mechanismus, über den die Effekte zustande kommen. Am naheliegendsten, da von der chemischen Struktur und von den Wirkungen her sehr verwandt, erschien eine Wechselwirkung mit dem GABA-System, wie sie die Barbiturate und Benzodiazepine ausüben. Die Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Letzteren führte 1977 zur Entdeckung und Lokalisation der Benzodiazepin-Rezeptoren.

Einen ersten Hinweis auf eine Interaktion zwischen Uridin und dem GABAergen System gab eine italienische Arbeitsgruppe Anfang der achtziger Jahre.⁷⁷ Sie untersuchte die Verdrängung von radioaktiv markierter GABA durch Uridin an Kleinhirn-Membranen der Ratte. Das Ergebnis war eine kompetitive und konzentrationsabhängige Hemmung der GABA-Bindung durch Uridin mit einem K_i -Wert von 0,5 mM, wobei die Zahl der im Scatchard-Plot zu erkennenden Bindungsstellen unverändert blieb.

Im gleichen Jahr – 1983 – isolierte eine japanische Arbeitsgruppe aus den Gehirnstämmen von Ratten, denen über 24 Stunden der Schlaf entzogen worden war, drei Fraktionen, die Schlaf-fördernde Eigenschaften aufwiesen.⁷⁸ Getestet wurde dies durch Versuche an Mäusen, denen die Extrakte intraperitoneal injiziert wurden. Anschließend wurde die tägliche Schlafdauer gemessen. Beide Schlafarten,

⁷⁶ Bonavita, V.; Zito, M. Analisi dell'azioni di nucleosidi pirimidinici sull'elettroencefalogramma umano attivato con megimide. *Riv. Neurol.* **1968**, *38*, 1-6.

⁷⁷ Guarneri, P.; Guarneri, R.; Mocciano, C.; Piccoli, F. Interaction of Uridine with GABA Binding Sites in Cerebellar Membranes of the Rat. *Neurochem. Res.* **1983**, *8*, 1537-1545.

⁷⁸ Komoda, Y.; Ishikawa, M.; Nagasaki, H.; Iriki, M.; Honda, K.; Inoue, S.; Higashi, A.; Uchizono, K. Uridine, a Sleep-Promoting Substance from Brainstems of Sleep-Deprived Rats. *Biomed. Res.* **1983**, *4*, 223-228.

paradoxe und nicht-paradoxe, wurden deutlich verlängert. Der Schlaf selber wurde aber durch die Extrakte nicht ausgelöst.

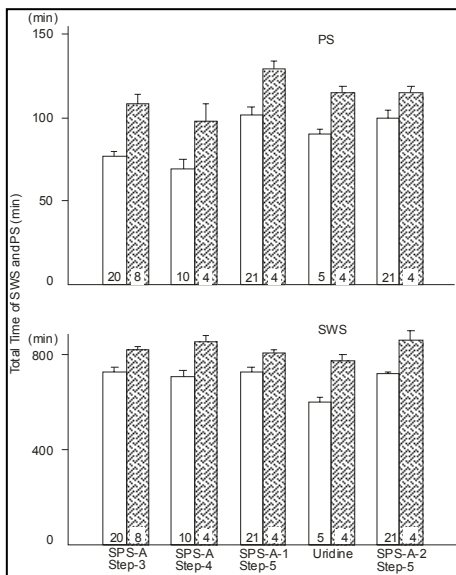


Abb. 15: Effekt auf paradoxen und slow-wave-Schlaf von Mäusen durch verschiedene Gehirnstamm-extrakte und Uridin nach intraperitonealer Injektion im Vergleich zur Kontrollgruppe (unschraffierte Säulen).⁷⁸

Eine der Fraktionen zeigte im HPL-Chromatogramm lediglich einen Hauptpeak. Die dazugehörige Substanz wurde nach massenspektrometrischen Untersuchungen als Uridin identifiziert. Tatsächlich zeigte die Gabe von 1 pmol Uridin pro Maus die gleichen Effekte auf das Schlafverhalten wie der entsprechende Extrakt.

Aus ihren Versuchen stellten die Autoren die Hypothese auf, daß die Uridin-Konzentration im Gehirn auf einem bestimmten Level gehalten wird, und daß eine äußerst geringe Erhöhung oder Abnahme dieser Konzentration ausreicht, um den Schlaf- bzw. Wachstatus auszulösen.

Um dieses Ergebnis und die daraus aufgestellte Hypothese zu überprüfen, untersuchten die Autoren den Einfluß von kontinuierlichen (über 10 h) Uridin-infusionen unterschiedlicher Konzentrationen während der Dunkelperiode – die Zeit, in der Ratten aktiv sind – auf den Schlaf-Wach-Rhythmus und die Schlafzusammensetzung von Ratten.⁷⁹ Die Ergebnisse der ersten Untersuchung bestätigten sich hierbei insoweit, als die Gabe von 1 pmol Uridin pro Maus innerhalb einer Stunde die Schlafdauer deutlich erhöhte. Dies wirkt sich auch auf den ersten Tag nach der Infusion aus, erst am darauf folgenden Tag werden die ursprünglichen Werte wieder erreicht. Sowohl niedrigere als auch höhere Uridinkonzentrationen als 1 pmol haben nur einen geringen, nicht signifikanten Effekt. Weiterhin ist bemerkenswert, daß der durch Uridin verlängerte Schlaf dem natürlichen gleicht. Damit würde Uridin als "Schlafmittel" einen deutlichen Vorteil gegenüber allen anderen derzeit gebräuchlichen Substanzen besitzen.

⁷⁹ Honda, K.; Komoda, Y.; Nishida, S.; Nagasaki, H.; Higashi, A.; Uchizono, K.; Inoue, S. Uridine as an Active Component of Sleep-Promoting Substance: its Effects on Nocturnal Sleep in Rats. *Neurosci. Res.* **1984**, *1*, 243-252.

Im Gegensatz dazu führt eine während der natürlichen Schlafzeit der Ratten – also tagsüber – gegebene Uridininfusion der gleichen Konzentration nicht zu einer erhöhten Schlafzeit, weder während der Hell- noch während der Dunkelperiode.⁸⁰ Nach Meinung der Autoren kann daraus geschlossen werden, daß eine endogene Schlaf-fördernde Substanz charakterisiert werden sollte durch die Eigenschaft, bei exogener Gabe keinen Schlaf zu fördern oder auszulösen, wenn dies zur Zeit der physiologischen Schlafzeit geschieht.

Inzwischen hatte die italienische Arbeitsgruppe erneut eine kompetitive Hemmung von [³H]GABA durch Uridin an Membranen der vorderen Großhirnrinde, des Hippocampus und des Thalamus aus dem Gehirn der Ratte nachgewiesen (signifikante Erhöhung der Dissoziationskonstanten im Scatchard Plot).⁸¹ Weiterhin konnten sie erneut die antikonvulsive Eigenschaft von Uridin zeigen, diesmal bei Bicucullin-induzierten Anfällen. Damit wurde ein zusätzlicher Beweis für die Richtigkeit der GABAergen Interaktion erbracht, da Bicucullin den Übertragungsweg dieses Neurotransmitters blockiert.

Während sich die italienische Arbeitsgruppe nach wie vor mit den antikonvulsiven Eigenschaften beschäftigte, hatte sich eine weitere japanische Arbeitsgruppe mit der Schlaf-fördernden Wirkung befaßt. Sie veröffentlichte 1985 einen Artikel, in dem N³-Benzyluridin als eine Substanz mit nicht nur ZNS-dämpfender, sondern hypnotischer Wirkung beschrieben wird.⁸² Außerdem zeigte die Verbindung eine deutliche Verlängerung der durch Pentobarbital induzierten Schlafzeit. Diese Eigenschaft teilt sie nach Angaben der Autoren mit der Muttersubstanz Uridin.

⁸⁰ Inoue, S.; Honda, K.; Komoda, Y.; Uchizono, K.; Ueno, R.; Hayaishi, O. Little Sleep-Promoting Effect of Three Sleep Substances Diurnally Infused in Unrestrained Rats. *Neurosci. Letters* **1984**, *49*, 207-211.

⁸¹ Guarneri, P.; Guarneri, R.; La Bella, V.; Piccoli, F. Interaction Between Uridine and GABA-Mediated Inhibitory Transmission: Studies In Vivo and In Vitro. *Epilepsia* **1985**, *26*, 666-671.

⁸² Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. N³-Benzyluridine Exerts Hypnotic Activity in Mice. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33/9*, 4088-4090.

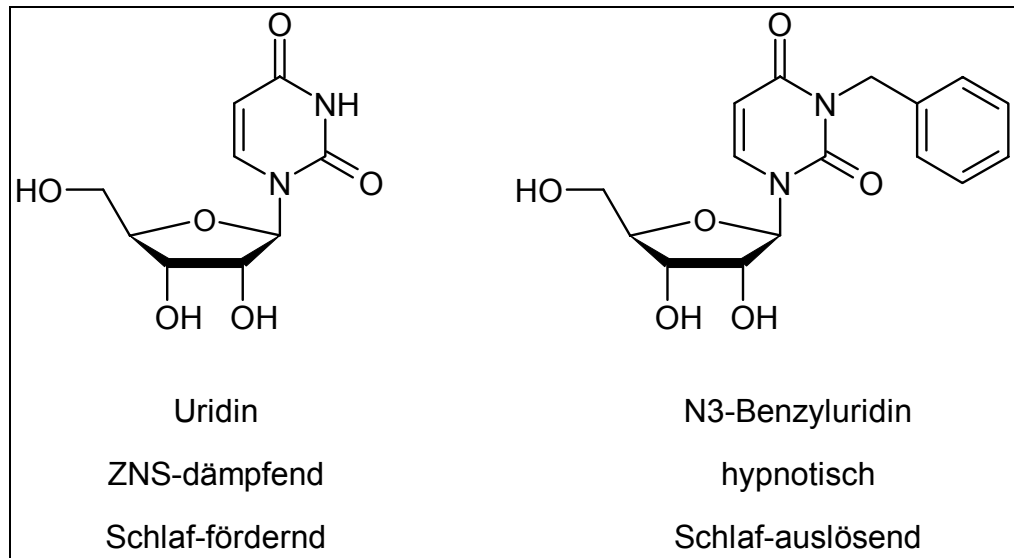


Abb. 16: Strukturformeln und Eigenschaften von Uridin und N3-Benzyluridin

Zwei Jahre später veröffentlichte diese Arbeitsgruppe weitere Erkenntnisse zu Struktur-Wirkungsbeziehungen.⁸³ Danach wirkt sich eine Veränderung der Ribose nachteilig aus, wohingegen die Substitution am N3-Stickstoff eine Schlüsselrolle spielt. Vor allem aromatische Reste erhöhen die hypnotische Wirkung, im Gegensatz zu Alkylresten, die in der Regel unwirksam sind. Lediglich N3-Allyluridin zeigt ZNS-dämpfende Eigenschaften, wohl wegen der Ähnlichkeit zum aromatischen System, in dem man ebenfalls die Allylstruktur erkennen kann.⁸⁴ Alle anderen getesteten Verbindungen zeigen nur synergistische Effekte zusammen mit bestimmten Barbituraten oder Benzodiazepinen.

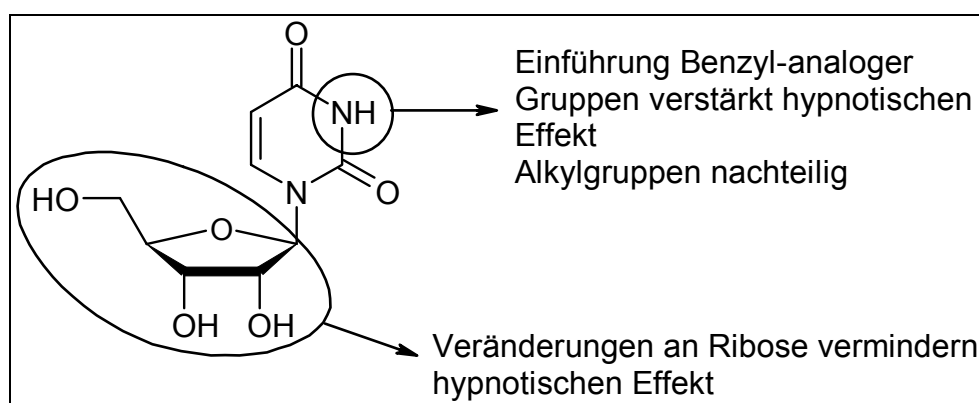


Abb. 17: Struktur-Wirkungsbeziehungen von Uridin für die hypnotische Wirkung

⁸³ Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. N-Substituted Oxypyrimidines and Nucleosides: Structure-Activity Relationship for Hypnotic Activity as Central Nervous System Depressant. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 2227-2231.

⁸⁴ Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. Central Depressant Activities of N³-Allyluridine and N³-Allylthymidine. *Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol.* **1986**, *52*, 321-332.

Bis auf wenige Ausnahmen zeigen sich die Effekte allerdings nur bei intracerebroventriculärer, nicht aber nach intravenöser Injektion. Hier macht sich eventuell die durch den Zucker – der für die Wirkung eigentlich essentiell ist – verursachte Hydrophilie bemerkbar, wodurch das Molekül möglicherweise nicht in der Lage ist, die Blut-Hirnschranke zu überwinden. In Frage kommt aber auch ein zu schneller Abbau der Verbindungen. Deshalb untersuchte die Gruppe um Yamamoto auch Uridin-Derivate, bei denen zusätzlich zur N3-Benzylsubstitution die Hydroxylgruppen der Ribose verethert (Methylether) bzw. verestert (Acetyl ester) sind. Dadurch konnte in der Tat eine hypnotische Wirkung auch bei intravenöser Applikation erreicht werden.

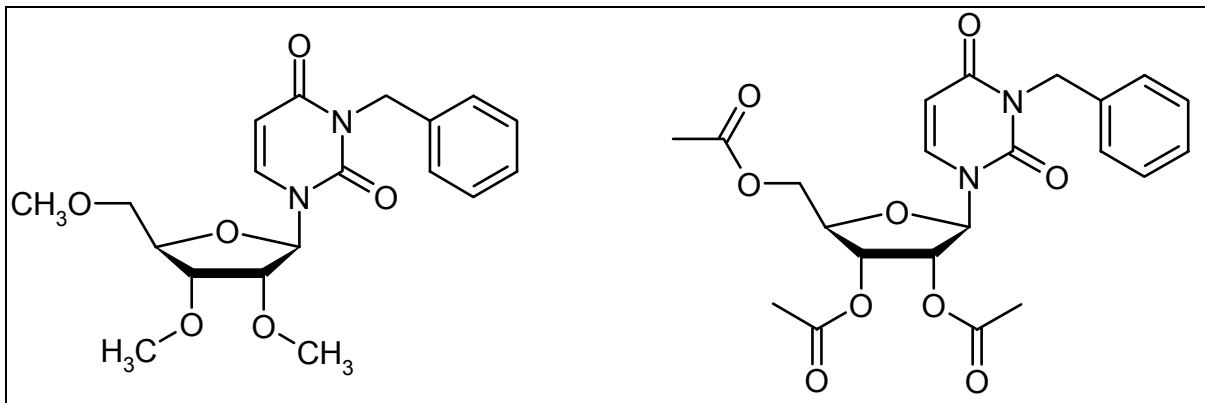


Abb. 18: Bei iv-Applikation hypnotisch wirkende Uridin-Derivate nach ⁸³

Weiterhin wurde N3-Benzyluridin mit N3-Benzylthymidin verglichen.⁸⁵ Hier zeigte sich eine Überlegenheit des Thymidin-Derivates in der hypnotischen Aktivität und beim Ausmaß der motorischen Inkoordination, während die Pentobarbital-induzierte Schlafzeit bei beiden im gleichen Ausmaß verlängert wurde. Ebenso zeigte sich beim Test der spontanen Aktivität kein Unterschied. Nach diesen Ergebnissen kann Uridin als geringfügig geeigneter zur Schlafförderung eingestuft werden als Thymidin, da die größere motorische Inkoordination eher in den Bereich unerwünschter Wirkungen einzuordnen ist.

Um nachzuweisen, daß der hypnotische Effekt von der Substanz N3-Benzyluridin selbst verursacht wird, untersuchte die japanische Arbeitsgruppe um Ho den

⁸⁵ Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoke, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. Hypnotic Activity of N³-Benzylthymidine on Mice. *Life Sci.* **1987**, *41*, 2791-2797.

Metabolismus und die hypnotische Potenz der Metabolite.⁸⁶ Von den möglichen Metaboliten Uridin, Uracil, N3-Benzyluracil und Ribose wurde lediglich die deribosylierte Verbindung mit intakter N3-Substitution im Urin gefunden. Trotzdem wurden auch die anderen möglichen Substanzen getestet. Für keine dieser Verbindungen konnte die Arbeitsgruppe eine hypnotische Aktivität feststellen.

Im Rahmen der Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurde auch 6-Azuridin und verschiedene N3-substituierte Derivate untersucht.⁸⁷ Diese sind zwar auch teilweise hypnotisch aktiv, allerdings nicht in dem Maße wie die vergleichbaren Uridin-Derivate.

Thymidin wurde ebenfalls mit den gleichen N3-Substituenten untersucht.⁸⁸ Das erhaltene Bild gleicht im Wesentlichen dem der Uridin- und 6-Azuridin-Derivate. Alkyl-Substituenten bewirken keine hypnotische Aktivität im Gegensatz zu benzylischen. Lediglich die Reihenfolge in der Wirkstärke unterscheidet sich. So ist im Falle von Thymidin das *o*-Xylyl-Derivat schwächer wirksam als die Benzylverbindung, während es bei den anderen Nucleosiden umgekehrt ist. Allerdings gibt es auch deutliche strukturelle Unterschiede, die zusätzliche Methylgruppe in Position 5 und die fehlende Alkoholgruppe in Position 2 der Ribose.

Mitte der neunziger Jahre fand die japanische Arbeitsgruppe dann N3-Phenacyluridin als bislang wirksamstes Derivat.^{89,90} Bei gleicher Dosierung löst N3-Phenacyluridin einen 20fach längeren Schlaf aus als N3-Benzyluridin. Die Pentobarbital-induzierte Schlafdauer ist doppelt so lang, bei Diazepam als Schlaf-

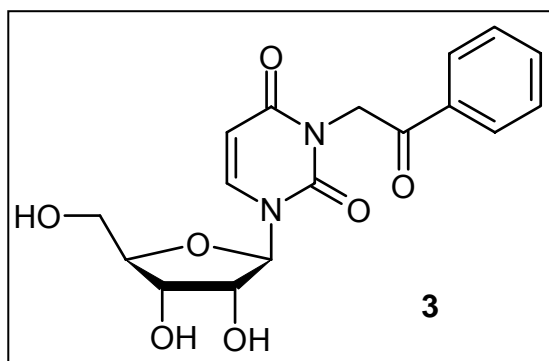


Abb. 19: N3-Phenacyluridin

⁸⁶ Kimura, T.; Yamamoto, I.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Ho, I. K. In Vivo and In Vitro Metabolic Studies of N³-Benzyluridine which exhibits Hypnotic Activity in Mice. *Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol.* **1991**, 71, 27-48.

⁸⁷ Koshigami, M.; Watanabe, K.; Kimura, T.; Yamamoto, I. Central Depressant Effects of N³-Substituted 6-Azuridines in Mice. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 2597-2599.

⁸⁸ Kimura, T.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. Preparation and Pharmacological Evaluation of N³-Substituted Thymidine Derivatives as Central Depressants. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, 41, 1180-1182.

⁸⁹ Yamamoto, I.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K. Receptors of Uridine and Its Derivatives. *Sleep Res.* **1993**, 22, 512.

⁹⁰ Yamamoto, I.; Kuze, J.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K. The Potent Depressant Effects of N³-Phenacyluridine in Mice. *Biol. Pharm. Bull.* **1994**, 17/4, 514-516.

induzierende Substanz wird sie um den Faktor 20 verlängert.

Nach wie vor unklar war allerdings der Mechanismus, der der hypnotischen Aktivität zu Grunde liegt. Die naheliegendste Erklärung auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit mit den Barbituraten und Benzodiazepinen ist die Interaktion von N3-Phenacyluridin mit dem GABA-Rezeptorsystem, wie es von verschiedenen Arbeitsgruppen bereits für Uridin und N3-Benzyluridin beschrieben worden ist, wenn auch erst in sehr hohen Dosen.^{81,91} Dabei ist auch erwähnenswert, daß der schlaffördernde Effekt auf den Pentobarbital-induzierten Schlaf deutlich verschieden ist vom Diazepam-induzierten. Weiterhin ist bekannt, daß einige Barbiturate – zum Beispiel Pentobarbital – die Membranbindung von Diazepam erhöhen.^{92,93} Da N3-Phenacyluridin vor allem strukturelle Ähnlichkeit mit den Barbituraten hat, vermuteten die Autoren, daß die Substanz ebenfalls am GABA_A-Rezeptorkomplex wirkt, und zwar an der Barbiturat-Bindungsstelle.

Um diese Hypothese zu überprüfen, führten Yamamoto *et al.* verschiedene Radioligand-Bindungs-Studien durch.⁹⁴ Als Radioliganden verwendeten sie [³H]Flunitrazepam, dessen Membranbindung einmal in Gegenwart von N3-Phenacyluridin und einmal mit diesem plus dem Benzodiazepin-Antagonisten Flumazenil (Ro15-1788) bestimmt wurde. Die Ergebnisse widersprechen allerdings der oben geäußerten Hypothese, da N3-Phenacyluridin durchaus in der Lage ist, [³H]Flunitrazepam von seiner Bindungsstelle zu verdrängen (IC₅₀ = 129 µM). Eine Konzentration von 1 mM N3-Phenacyluridin vermag die [³H]Flunitrazepam-Bindung komplett aufzuheben. Die durch Flumazenil gehemmte spezifische Bindung des Radioliganden wird durch 250 µM N3-Phenacyluridin nochmals um 50 % verringert. Das bedeutet, daß N3-Phenacyluridin sehr wahrscheinlich als Agonist an der Benzodiazepin-Bindungsstelle wirkt, und nicht, wie auf Grund der strukturellen Ähnlichkeit vermutet, an der Barbiturat-Bindungsstelle.

⁹¹ Yamamoto, I.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Ho, I. K. Action mechanism for hypnotic activity of N³-benzyluridine and related compounds. In *Endogenous Sleep Factors*, Inoue, S.; Krueger, J. M. (Hrsg.), SPB Academic Publishing B. V. **1990**, 133-142.

⁹² Olsen, R. W. GABA-Benzodiazepine-Barbiturate Receptor Interactions. *J. Neurochem.* **1981**, *37*, 1-13.

⁹³ Willow, M.; Johnston, G. A. R. Dual Action of Pentobarbitone on GABA Binding: Role of Binding Site Integrity. *J. Neurochem.* **1981**, *37*, 1291-1294.

⁹⁴ Kimura, T.; Kuze, J.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. N³-Phenacyluridine, a novel hypnotic compound, interacts with the benzodiazepine receptor. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *311*, 265-269.

Obwohl die Ergebnisse der verschiedenen Bindungsstudien bezüglich einer Uridin-GABA-Rezeptor-Interaktion recht eindeutig und zuverlässig ein solche erkennen lassen, fällt doch auf, daß dazu recht hohe Konzentrationen an Uridin bzw. seinen Derivaten nötig sind.

Weitere Aufschlüsse über den Wirkungsmechanismus versprach sich die Arbeitsgruppe um Yamamoto mit der Untersuchung der Pharmakokinetik von Phenacyluridin. Sie konnten schließlich zeigen, daß N3-Phenacyluridin, vergleichbar mit anderen Arzneistoffen, die eine Ketogruppe besitzen, zu N3- α -Hydroxy- β -phenethyluridin verstoffwechselt wird, und zwar in erster Linie zum (S)-(+)-Enantiomer.⁹⁵ Dieses Enantiomer erwies sich in Testungen auch als noch deutlich aktiv, im Gegensatz zum (R)-(-)-Enantiomer. außerdem wurde in Radioligand-Bindungsstudien gezeigt, daß N3-Phenacyluridin und der aktive Metabolit den Radioliganden ($[^3\text{H}]$ N3-Phenacyluridin) verdrängen können, das andere Enantiomer aber selbst in hohen Konzentrationen von bis zu 10^{-3} M nicht.⁹⁶

Diese hohe Stereospezifität hinsichtlich der Wirkung legt die Vermutung nahe, daß Uridin seine Wirkung über einen Rezeptor entfaltet. Deshalb postulierte die Arbeitsgruppe um Kimura, Yamamoto und Ho die Existenz eines solchen Uridin-Rezeptors und führte als Beweis zwei Argumente an.⁹⁶ Einerseits die hohe Stereospezifität der Wirkung gegenüber den Metaboliten, und andererseits die fehlenden Interaktionen von N3-Phenacyluridin mit bereits bekannten Rezeptoren in pharmakologisch wirksamen Konzentrationen. Der naheliegendste Rezeptor nach Wirkungsart, aber auch der Struktur nach (Uridin enthält einen Oxopyrimidin-Ring wie die Barbiturate), der GABA-Rezeptor, interagiert zwar mit N3-Phenacyluridin, allerdings sind dafür sehr hohe Konzentrationen nötig. Um eine Wirkung über andere Rezeptoren auszuschließen, wurde außerdem die Wirkung auf Adenosin- und Serotonin-Rezeptoren überprüft, hier zeigt N3-Phenacyluridin nur sehr geringe bzw. keine Bindungsaffinität.

⁹⁵ Kimura, T.; Miki, M.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. Metabolism of a novel hypnotic, N³-phenacyluridine, and hypnotic and sedative activities of its enantiomer metabolites in mouse. *Xenobiotica* **2000**, *30/6*, 643-653.

⁹⁶ Kimura, T.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. Uridine Receptor: Discovery and Its Involvement in Sleep Mechanism. *Sleep* **2001**, *24/3*, 251-260.

2.2. Projekt

In diesem Projekt sollte zunächst radioaktiv markiertes Phenacyluridin synthetisiert werden bzw. eine Vorschrift dafür entwickelt werden, um Radioligand-Bindungsstudien durchführen zu können. Am vorteilhaftesten sollte Tritium erst im letzten Reaktionsschritt in das Molekül eingeführt werden.

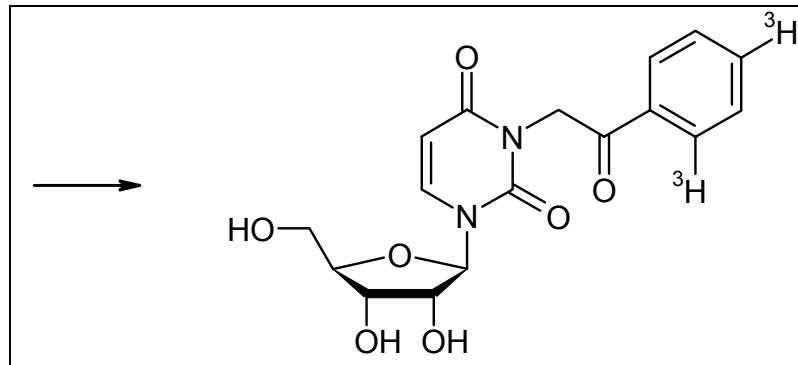


Abb. 21: Geplanter Radioligand [^3H]N3-Phenacyluridin

Weiterhin sollten neue mögliche Agonisten für den postulierten Uridinrezeptor auf der Basis von N3-Phenacyluridin synthetisiert werden, um Erkenntnisse über die Struktur-Wirkungsbeziehungen zu erhalten. Folgende modifizierte Phenacyluridine sollten dargestellt werden:

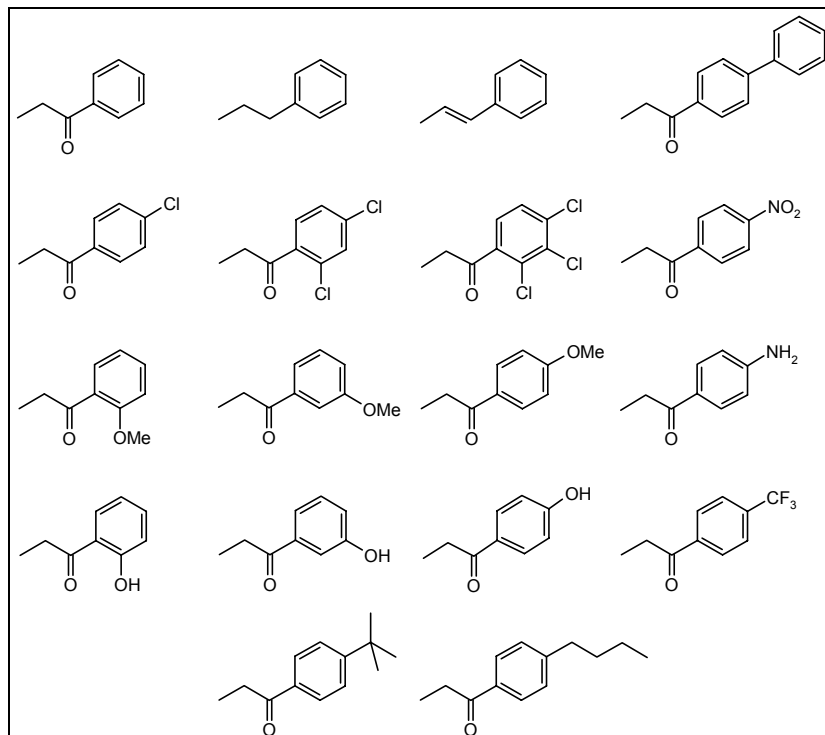
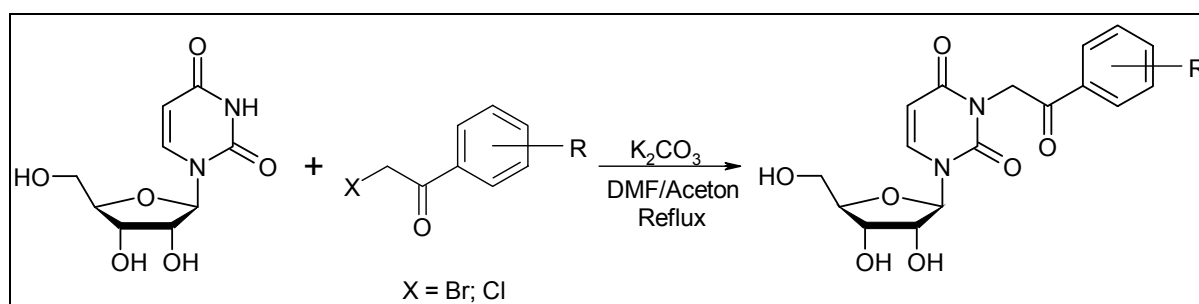


Abb. 20: Geplante N3-Substituenten

2.3. Synthesen

2.3.1. N3-Alkylierung von Uridin

Die Synthese der N3-substituierten Uridinderivate orientiert sich an der sogenannten Sasaki-Methode.⁹⁷ Danach wird Uridin zusammen mit dem gewünschten halogenierten Rest und Kaliumcarbonat – beides in geringem Überschuß – in einer Mischung aus Dimethylformamid (DMF) und Aceton (1:1) unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionsdauer richtet sich nach dem jeweiligen Rest und variiert zwischen 4 und 12 Stunden. Dabei muß ein Kompromiß eingegangen werden zwischen noch nicht umgesetzten Edukten und dem Auftreten von Nebenprodukten.



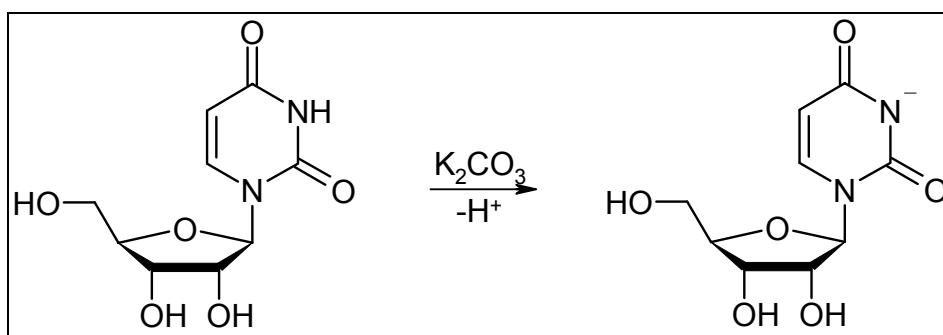
Schema 1: Reaktionsschema der N3-Alkylierung von Uridin mit Phenacylbromiden

In der Regel verfärbt sich die anfangs helle Suspension während der Reaktionszeit mehr oder weniger dunkelbraun bis schwarz, je nach vorliegender Substitution am Phenylring des verwendeten Acetophenon-Derivats. Zur Isolierung wird der Reaktionsansatz, nachdem das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen worden ist, mit Eiswasser versetzt und anschließend mit Ethylacetat extrahiert. Dabei verbleibt nicht umgesetztes Uridin im Wasser, während das zweite Edukt zusammen mit dem Hauptprodukt und den braunen Nebenprodukten in der organischen Phase anfällt. Teilweise sind zur Extraktion erhebliche Mengen an Ethylacetat nötig. Zur Isolierung des gewünschten Uridinderivats wird der Extrakt aus den vereinigten organischen Phasen, nachdem sie über Natriumsulfat getrocknet wurden, über eine Kieselgelsäule mit einem geeigneten Fließmittel chromatographiert. Das am häufigsten verwendete Fließmittel ist ein Gemisch aus 20 Teilen Dichlormethan und einem Teil Methanol. Dieses relativ elutionsschwache Solvens sollte auch dann verwendet werden, wenn theoretisch ein stärkeres (zum Beispiel

⁹⁷ Sasaki, T.; Minamoto, K.; Suzuki, H. Elimination Reactions on the Di- and Trimesylated Derivatives of N³-Benzyluridine. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 598-607.

Dichlormethan:Methanol 9:1) zur Trennung ausreichend wäre. Dadurch wird es möglich, das noch in erheblicher Menge im Extrakt vorhandene DMF sicher abzutrennen, welches sonst zusammen mit dem Produkt von der Säule eluiert würde. Die in diesem Fall nötige nachfolgende Entfernung des DMF ist bekanntermaßen schwierig. Ein Abdestillieren ist, bedingt durch den hohen Siedepunkt, selbst im Hochvakuum nicht möglich ohne die Gefahr, durch zu starkes Erhitzen die Substanz zu gefährden. Aber selbst, wenn diese Gefahr nicht besteht, ist es in den meisten Fällen auf diese Weise nicht möglich, das DMF restlos zu entfernen. Auch das Umkristallisieren wird durch die Anwesenheit von DMF erschwert bzw. ganz unmöglich gemacht. Deshalb sollte man die etwas längere Zeit für die Chromatographie mit dem elutionsschwächeren Fließmittel in Kauf nehmen. Die letzte Reinigung erfolgt entweder durch sorgfältiges Waschen oder Umkristallisieren aus einem geeigneten Lösungsmittel.

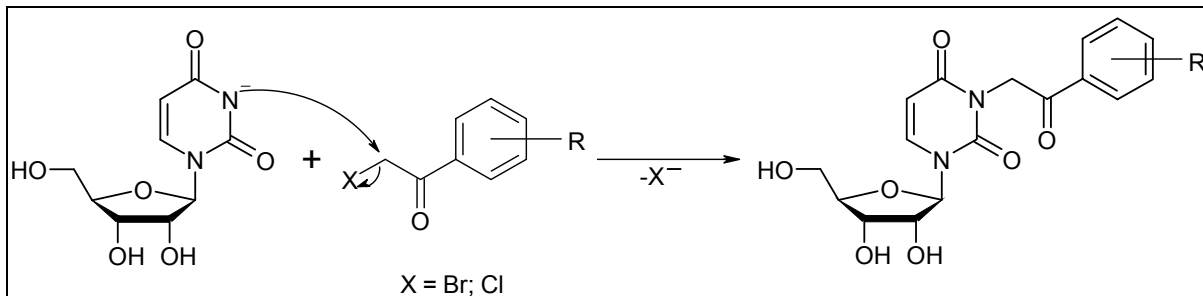
Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Basen-katalysierte Alkylierungsreaktion, bei der im ersten Schritt die verwendete Base das zu alkylierende Substrat deprotoniert.



Schema 2: Teilschritt 1 – N3-Deprotonierung

Durch die Wahl der Base kann also der Ort der Alkylierung beeinflusst werden. In diesem Fall ist das relativ milde Kaliumcarbonat nur in der Lage, das durch die beiden benachbarten Carbonylgruppen acide Proton des Stickstoffs in Position 3 abzuspalten. Die aliphatischen Alkoholfunktionen des Zuckers hingegen bleiben unverändert. Auf die Verwendung von Schutzgruppen kann deshalb verzichtet werden. Lediglich in einem einzigen Fall, nämlich bei der Synthese von N3-(4-Methoxyphenacyl)uridin entstand neben dem gewünschten N3-substituierten Produkt auch das N3,O3'-di-substituierte Derivat.

An diesem auf diese Weise aktivierten Substrat greift nun im zweiten Schritt das halogenierte Reagenz unter Abspaltung des Chlorid- bzw. Bromid-Ions elektrophil an.



Schema 3: Teilschritt 2 – N3-Alkylierung

Anders betrachtet wird das Acetophenon-Halogenid vom Uridin-Anion in einer S_N -Reaktion nukleophil substituiert. Die Entscheidung zwischen S_N1 - und S_N2 -Mechanismus kann hier nicht eindeutig getroffen werden, am wahrscheinlichsten läuft die Reaktion nach einem gemischten Typ ab mit einer Tendenz zum S_N2 -Typ. Für den S_N2 -Mechanismus sprechen die verwendeten Lösungsmittel: Aceton und DMF sind beides dipolar aprotische Lösungsmittel. Sie sind nicht in der Lage, Wasserstoffbrücken auszubilden und solvatisieren deshalb das vorliegende Uridin-Anion nur schlecht. Dadurch besitzt dieses eine größere effektive Nucleophilie, wodurch die Substitution schneller ablaufen kann. Ebenfalls auf einen S_N2 -Mechanismus läßt die Art des Carbeniumions bzw. – genauer – Carbokations schließen, das sich durch die Bromabspaltung aus dem Phenacylbromid-Derivat bildet. Dieses ist nicht in der Lage, die positive Ladung durch Verschiebung von Elektronen aus anderen Bereichen des Moleküls zu kompensieren, da sowohl die Carbonylgruppe als auch der Phenylring einen -I- und -M-Effekt ausüben. Die durch die positive Ladung sowieso schon ungünstige energetische Situation wird also noch weiter verstärkt, weshalb die Tendenz zur Bildung des Carbokations als eher gering zu betrachten ist.

Die sterische Situation läßt dagegen eher einen Ablauf nach dem S_N1 -Mechanismus vermuten. Beim Substrat handelt es sich zwar nur um primäre Alkyl-Halogenide, die üblicherweise nach dem S_N2 -Mechanismus reagieren, während der S_N1 -Mechanismus erst bei sekundären und tertiären Alkylverbindungen zum Tragen kommt. Bedenkt man aber die Größe des Uridins und den auch noch recht nah stehenden Phenylring vom Acetophenon, so ist offensichtlich, daß für den penta-

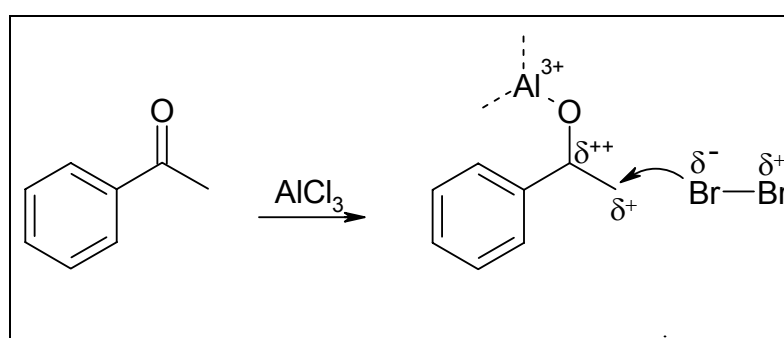
valenten Übergangszustand recht wenig Platz am relevanten Kohlenstoffatom zur Verfügung steht und die Reaktionspartner nur in sehr engen räumlichen Verhältnissen zueinander stehen können.

2.3.2. Bromierung von Acetophenonen

Für die Alkylierung müssen die Acetophenon-Derivate an der endständigen Methylgruppe halogeniert sein. In Frage kommt die Chlorierung oder die Bromierung, wobei letzterer der Vorzug zu geben ist, da Brom die bessere Abgangsgruppe darstellt. Außerdem gestaltet sich der Umgang mit elementarem Brom einfacher als der mit elementarem Chlor.

Um Ketone in der α -Stellung zu halogenieren, muß diese Position entsprechend aktiviert sein. Eine solche Aktivierung kann erreicht werden, indem man die Effekte der benachbarten Carbonylgruppe bzw. genauer des Carbonylsauerstoffs nutzt. Durch geeignete Substanzen oder Lösungsmittel kann dieser so koordiniert werden, daß die Bindungen stark polarisiert und dadurch ein Angriff des Halogens ermöglicht wird. Prinzipiell gibt es dazu zwei Möglichkeiten.

Im ersten Fall wird der Carbonylsauerstoff so koordiniert, daß dem die negative Partialladung tragenden Atom des Halogenmoleküls der Angriff ermöglicht wird. Eine hierfür häufig verwendete Substanz ist Aluminiumtrichlorid.



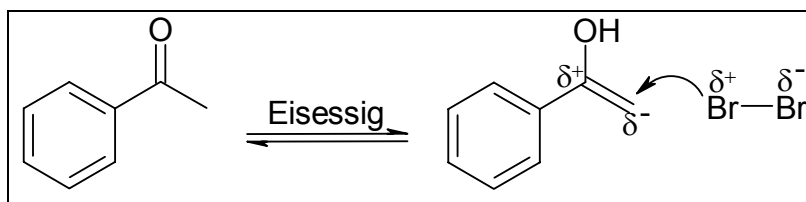
Schema 4: Polarisierung der Carbonylgruppe durch AlCl_3

Diese Art der Bromierung wird in der Regel in inerten Lösungsmitteln wie absolutem Ether, Dimethylformamid oder Chloroform durchgeführt.⁹⁸

Im zweiten Fall wird durch ein geeignetes Lösungsmittel, in der Regel Eisessig, das Keton in seine tautomere Form des Enols überführt. Dadurch kann nun das „positive“

⁹⁸ z. B. Cowper, R. M.; Davidson, L. H. Phenacylbromide. *Org. Synth.* **1943**, *Coll. Vol. II*, 480-481.

Atom des Halogenmoleküls von der endständigen Methylengruppe angegriffen werden.

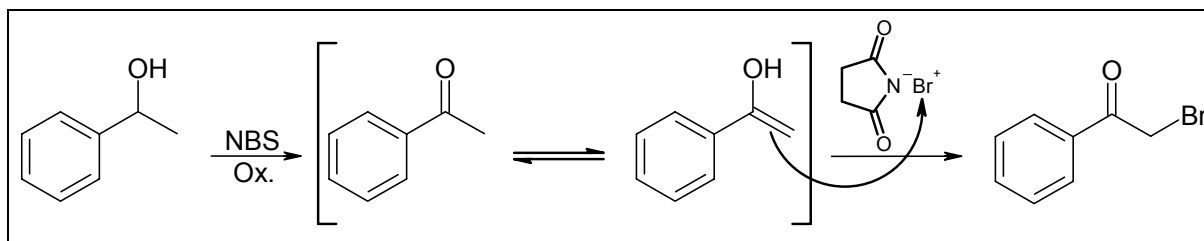


Schema 5: Keto-Enol-Tautomerie von Acetophenon

Mit dieser Methode kann auch der Ort der Bromierung beeinflusst werden. Die Anwesenheit von Wasser entscheidet hier über die Kern- oder Seitenkettenbromierung. Wird die Reaktion in Eisessig durchgeführt, wird nur letztere bromiert. In wässriger Essigsäure hingegen wird auch der aromatische Kern halogeniert.⁹⁹

Neben diesen Möglichkeiten der Bromierung mit elementarem Brom gibt es noch weitere Methoden, die den Umgang mit diesem doch recht aggressiven und aus Sicht des Gesundheits- und Umweltschutzes problematischen Element vermeiden.

Eine dieser Möglichkeiten ist die Verwendung von N-Bromsuccinimid (NBS), einem Reagenz, das eigentlich hauptsächlich für die Bromierung von olefinischen Verbindungen eingesetzt wird. Eine amerikanische Arbeitsgruppe konnte allerdings erfolgreich Phenacylbromid aus Phenylmethylcarbinol darstellen.¹⁰⁰ Dabei wird das Oxidationspotential von NBS ausgenutzt. Dementsprechend verläuft diese Reaktion in zwei Schritten. Zuerst wird der Alkohol zur Carbonylfunktion oxidiert und die endständige Methylgruppe bromiert.



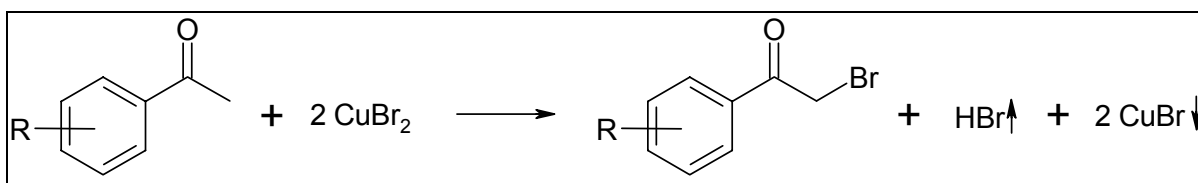
Schema 6: Synthese von Phenacylbromid aus Phenylmethylcarbinol mit NBS

⁹⁹ Buu-Hoï, Ph.; Xuong, D.; Lavit, D. Halogenated o- and p-Phenolic Ketones. *J. Chem. Soc.* **1954**, 1034-1038.

¹⁰⁰ Kruse, P. F.; Geurkink, N.; Grist, K. L. Studies with N-Halo Reagents. II. New Syntheses of β -Bromo- α -keto Esters, Ethyl Phenylglyoxylate and Phenacyl Phenacylbromid Using N-Bromosuccinimid. *J. Amer. Chem. Soc.* **1974**, *76*, 5796-5797.

Durchgeführt wird diese Reaktion in Tetrachlorkohlenstoff, also in einem inerten Lösungsmittel, entsprechend des ersten Prinzips der Halogenierung. Das Bromierungspotential von NBS ist offensichtlich stark genug, so daß hier kein Katalysator wie Aluminiumtrichlorid nötig ist.

Neben solchen organischen Bromierungsreagenzien können auch anorganische Verbindungen verwendet werden. King *et al.* fanden zum Beispiel Kupfer(II)bromid als selektives Reagenz zur Seitenkettenbromierung von Acetophenonderivaten.¹⁰¹ Vorteile dieser Methode sind hohe Ausbeuten und die Einfachheit, mit der das Reagenz wieder entfernt werden kann. Durch die Reaktion entsteht nämlich einerseits Bromwasserstoff, das als Gas von selbst das Reaktionsgemisch verläßt, andererseits unlösliches Kupfer(I)bromid, das einfach abfiltriert werden kann. Als Lösungsmittel wird ein Gemisch aus Ethylacetat und Chloroform verwendet.



Schema 7: Synthese von Phenacylbromiden aus Acetophenonen mit Kupfer(II)bromid

Ebenfalls vorteilhaft ist die hohe Regioselektivität, eine Kernbromierung erfolgt unter diesen Bedingungen nicht.

Die in dieser Arbeit verwendete Methode war die Bromierung mit elementarem Brom in Eisessig. Sie folgt der Methode einer italienischen Arbeitsgruppe zur Bromierung von 4-Acetamidoacetophenon.¹⁰² Dazu wird die zu bromierende Substanz in Eisessig, dem einige Milliliter Acetanhydrid zugesetzt wurden, gelöst bzw. suspendiert. Das Brom, von dem ein geringer Überschuß eingesetzt wird (in der Regel 1,2fach), wird ebenfalls in Eisessig gelöst. Zu Beginn werden nur einige Tropfen Brom der Lösung bzw. Suspension zugesetzt, um zu sehen, ob die Reaktion von allein in Gang kommt. Ist dies nicht der Fall, wird der Ansatz auf 50°C (Innentemperatur!) erhitzt. Dadurch erreicht man einerseits im Falle einer Suspension eine klare Lösung, andererseits wird die Bromierung gestartet. Dies erkennt man leicht an der Entfärbung der Lösung. Bevor nun das restliche Brom langsam

¹⁰¹ King, L. C.; Ostrum, G. K. Selective Bromination with Copper(II) Bromide. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 3459-3461.

¹⁰² Massarani, E.; Nardi, D.; Pozzi, R. Sulla Bromurazione Di 4(3)-Aminoacetofenoni. *Boll. Chim. Farm.* **1969**, 108, 255-261.

zugetropft wird, läßt man wieder auf Raumtemperatur abkühlen. Bei der weiteren Bromzugabe behält in einigen Fällen die Lösung nach einiger Zeit wieder die Bromfarbe. Es wird dann so lange bei Raumtemperatur gerührt, bis die Lösung wieder komplett entfärbt ist. Ansonsten wird nach der Bromzugabe noch ca. eine Stunde gewartet, bevor mit der Aufarbeitung begonnen wird.

Dazu wird der Reaktionsansatz mit Wasser versetzt, was mit einer mehr oder weniger starken Gasentwicklung (HBr) einhergeht. Im Falle von festen Produkten können diese nach Ende der HBr-Entweichung abgesaugt und getrocknet werden. In der Regel reicht die Reinheit für die folgenden Umsetzungen aus, so daß keine weitere Aufreinigung, zum Beispiel durch Umkristallisieren, nötig ist.

Fällt das bromierte Produkt ölig an, wird der mit Wasser versetzte Ansatz mit Dichlormethan extrahiert. Da damit aber auch nicht umgesetztes Edukt und eventuelle Nebenprodukte erfaßt werden, muß aus dem Extrakt das gewünschte Produkt isoliert werden. Dies kann entweder durch Destillation oder durch Säulenchromatographie erfolgen. Einige Produkte bleiben auch nach der Reinigung ölig, in einigen Fällen ergeben sich Feststoffe, die eventuell noch einmal umkristallisiert werden können.

2.3.3. Synthese von [³H]-N3-Phenacyluridin

2.3.3.1. Darstellung von N3-(2,3,4-Trichlorphenacyl)uridin

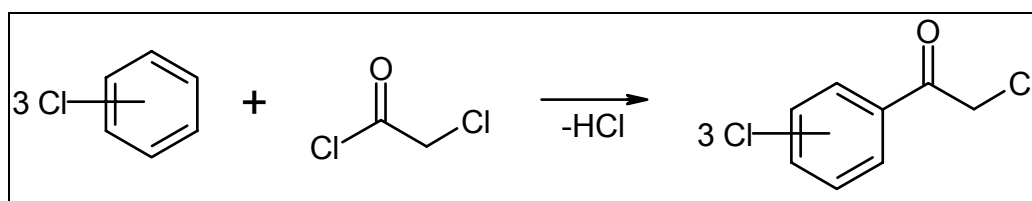
Bei den bisherigen Untersuchungen zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen hatte sich N³-Phenacyluridin als der wirksamste Agonist erwiesen.¹⁰³ Deshalb ist es naheliegend, N³-Phenacyluridin radioaktiv zu markieren, um einen Radioligand-Bindungsassay zur Testung von anderen Verbindungen aufbauen zu können. Dabei ist zu beachten, daß sich der Radioligand so wenig wie möglich vom Kaltliganden unterscheiden sollte, um unerwünschte pharmakologische Effekte hinsichtlich der Aktivität und Selektivität des Radioliganden zu vermeiden. Weiterhin muß die Markierung ausreichend stabil sein, damit die Aktivität auch über längere Zeit erhalten bleibt und nicht durch Radiolyse zerstört wird. Hier hat sich die radioaktive Markierung mit Tritium bewährt, da sich die Strukturen der beiden Moleküle quasi nicht unterscheiden. Weiterhin ist die Einführung der Radioaktivität über die vielfältigen Möglichkeiten der Hydrierung relativ einfach möglich.

Yamamoto *et al.* verwendeten bei ihren Untersuchungen [³H]-N3-Phenacyluridin, bei dem die Radioaktivität an den Positionen 5 und 6 des Basenteils lokalisiert war. Die Synthese erfolgte aus dem entsprechenden kommerziellen [³H]Uridin (42.7 Ci/mmol, 97.8 % Reinheit) durch N3-Alkylierung.

Wir beschlossen, die Markierung über den reduktiven Austausch von Chloratomen am Aromaten des Substituenten durch Tritiumgas einzuführen. Dies hat den Vorteil, daß zuerst die Verbindung komplett synthetisiert werden kann, bevor im letzten Schritt die radioaktiven Tritiumatome eingeführt werden. Zuerst muß also ein entsprechend am Aromaten chlorierter Precursor dargestellt werden. Da man bei der Markierung mit Verlusten bezüglich der Gesamtaktivität rechnen muß, sollte der Aromat mindestens zwei, besser drei Chloratome aufweisen, um nach der Hydrierung mit Tritium eine ausreichend hohe spezifische Radioaktivität aufzuweisen.

¹⁰³ Kimura, T.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. Uridine Receptor: Discovery and Its Involvement in Sleep Mechanism. *Sleep* **2001**, 24/3, 251-260.

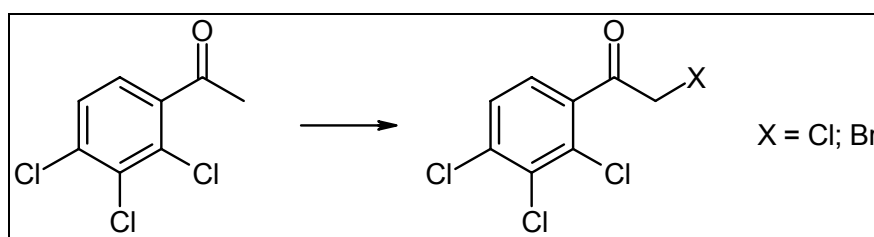
Die Darstellung des zweifach chlorierten Precursors gestaltete sich recht einfach, da das entsprechende Phenacylderivat käuflich zu erwerben ist und direkt auf die übliche Art und Weise mit Uridin zum gewünschten Endprodukt umgesetzt werden kann. Das am Aromaten dreifach chlorierte und zusätzlich an der Methylgruppe halogenierte Acetophenon mußte hingegen dargestellt werden. Dies wurde auf zwei Wegen versucht. Der erste geht von Trichlorbenzol aus, das nach Friedel-Crafts mit Chloracetylchlorid acyliert werden und so das Tetrachloracetophenon liefern sollte.



Schema 8: Friedel-Crafts-Acylierung von Trichlorbenzol mit Chloracetylchlorid

Hier ergibt sich die Schwierigkeit, daß der Aromat durch die drei Chloratome in seiner Aktivität sehr stark herabgesetzt ist, wodurch die Acylierung erschwert wird. Außerdem kann die Acylierung gegenüber der prinzipiell auch möglichen Alkylierung nicht wirksam bevorzugt werden. Die durchgeführten Syntheseversuche ergaben diesen Überlegungen entsprechend schlechte Ergebnisse, weshalb dieser Weg verworfen wurde.

Die zweite Möglichkeit geht vom Trichloracetophenon aus, das an der Methylgruppe chloriert bzw. besser bromiert wird.

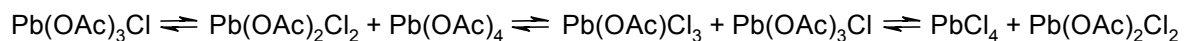


Schema 9: Halogenierung von Trichloracetophenon

Um den Umgang mit elementarem Chlor als Gas zu vermeiden, wurde die Chlorierung nach einer Vorschrift von Zbiral *et al.* versucht, die das Chlor *in situ* aus Acetylchlorid und Blei(IV)acetat darstellten.¹⁰⁴ Aus dem Umsatz dieser beiden Reagenzien bilden sich Chlor-haltige Bleispezies mit – in Abhängigkeit von der

¹⁰⁴ Zbiral, E.; Kischa, K. Chlorierungsreaktionen mit den Systemen Pb-IV-acetat-(CH₃)₃SiCl und Pb-IV-acetat-CH₃COCl. *Tetrahedron* **1969**, 25, 1545-1555.

verwendeten Menge Acetylchlorid – unterschiedlichem Chlorgehalt. Alle Spezies haben die Eigenschaft, ihre Chloratome gerne abzugeben, wodurch sie sich zu Chlorierungsreaktionen sowohl von olefinischen Verbindungen als auch von Carbonylverbindungen verwenden lassen. Beim Umsatz von einem Äquivalent Bleiacetat mit vier Äquivalenten Acetylchlorid erhält man Lösungen, die bei Raumtemperatur bereits nach 30 Minuten Chlorgas zu entwickeln beginnen.



Schema 10: Reaktionsprodukte des Systems Acetylchlorid/Blei(IV)acetat

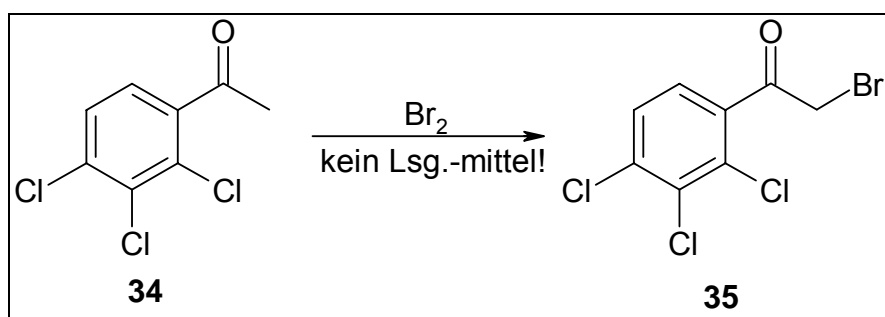
Die Schwierigkeit bei dieser Methode liegt im Blei(IV)acetat selbst begründet, da dieses sehr anfällig gegenüber Licht und Luft ist. Deshalb ist es nur mit Essigsäure stabilisiert zu erwerben. Die Vorschrift verlangt aber ausdrücklich getrocknetes Blei(IV)acetat und feuchtigkeitsfreie Bedingungen. Hierbei eine Zersetzung zu vermeiden, gestaltet sich als schwierig. Da die nach dieser Vorschrift durchgeführten Syntheseveruche dementsprechend unbefriedigend verliefen, wurde die Chlorierung endgültig zugunsten der Bromierung fallengelassen. Dies hat neben der einfacheren Handhabung des Ausgangshalogens (flüssig statt gasförmig) den weiteren Vorteil, daß Bromid später die bessere Abgangsgruppe darstellt.

Die Bromierung wurde zunächst nach der Vorschrift aus den *Organic Syntheses* versucht, mit elementarem Brom und Aluminiumtrichlorid als Katalysator.¹⁰⁵ Obwohl dies eine der gängigsten Methoden zur Bromierung von Acetophenon-Derivaten ist, konnte auf diesem Weg kein Erfolg erzielt werden. Allerdings wurde nur ein Äquivalent Aluminiumtrichlorid eingesetzt. Angesichts der drei Chlorsubstituenten am Phenylring ist dies eventuell nicht ausreichend gewesen, da diese auch in der Lage sind, einen Komplex mit dem Katalysator zu bilden. Dadurch würde er für die Aktivierung des Carbonylsauerstoffs nicht mehr zur Verfügung stehen. Da aber ausreichend andere Methoden zur Bromierung zur Verfügung stehen, wurde auf eine nähere Untersuchung dieser Methode verzichtet.

¹⁰⁵ Cowper, R. M.; Davidson, L. H. Phenacylbromide. *Org. Synth.* **1943**, *Coll. Vol. II*, 480-481.

Leider führten diese alternativen Methoden (siehe Kapitel 2.3.2 Bromierung) ebenfalls nicht zum Erfolg, weder die Umsetzung in Eisessig, noch die Bromierung mit N-Bromsuccinimid.

Schließlich wurde eine Vorschrift gefunden, in der 2,4,6-Trichloracetophenon mit elementarem Brom ohne Verwendung eines Lösungsmittels halogeniert wurde^{106,107}. Auf diese Weise konnte in der Tat auch hier 2,3,4-Trichloracetophenon an der endständigen Methylgruppe erfolgreich bromiert werden.



Schema 11: Bromierung von 2,3,4-Trichlorbenzol

Mit dem so dargestellten 2,3,4-Trichlorphenacylbromid wurde nach dem üblichen Verfahren N3-(2,3,4-Trichlorphenacyl)uridin synthetisiert.

2.3.3.2. Hydrierung von N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin

Obwohl die dreifache Chlorsubstitution für die reduktive Hydrierung mit Tritiumgas zur Darstellung eines Radioliganden auf Grund der damit erreichbaren höheren spezifischen Aktivität der zweifachen vorzuziehen ist, wurde aus Zeitgründen und angesichts der anfänglichen Schwierigkeiten bei der Darstellung des 2,3,4-Trichlorphenacylbromids das Dichlor-Derivat verwendet.

Die Hydrierung von N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin orientierte sich zunächst an der von Mark Thorand im Arbeitskreis entwickelten Vorschrift zur reduktiven Hydrierung eines ebenfalls am Phenylring Chlor-substituierten Phenyl-Imidazopurinon-

¹⁰⁶ Baker, J. W.; Tweed, W. T. Mechanism of Aromatic Side-chain Reactions, with Special Reference to the Polar Effects of Substituents. Part X. Physical and Chemical Evidence relating to the Polar Effect of o-Methyl Substituents in Derivatives of the Type C₆H₂Me₃•CO•CH₂R. *J. Chem. Soc.* **1941**, 796-802.

¹⁰⁷ Im Gegensatz dazu wurde 2,4,5-Trichloracetophenon in Petrolether erfolgreich bromiert!

Derivats.¹⁰⁸ Danach wird die Substanz in einem Ethanol:Ethylacetat-Gemisch (1:2) suspendiert, mit 10 %iger Palladium-Kohle versetzt und 3,5 Stunden bei 4,5 bar Wasserstoff-Überdruck geschüttelt. Diese doch recht drastischen Bedingungen wurden gewählt, da die anfangs probierten Standardbedingungen zum reduktiven Austausch von aromatischen Halogenen unter Verwendung von Palladium auf Bariumsulfat (vergifteter Katalysator) in alkalischem Milieu nicht erfolgreich waren.

Zur Hydrierung des N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin wurden Dauer und Wasserstoffdruck zunächst etwas milder gewählt, um das Zersetzungsrisiko vor allem der nukleosidischen Bindung zu minimieren. Allerdings konnte damit kein Erfolg erzielt werden, außer in der Hinsicht, daß eine Zersetzung nicht stattfand, das Edukt blieb unversehrt. Deshalb wurden die Bedingungen verschärft. Zunächst wurde der Wasserstoffdruck erhöht auf letztendlich 4,5 bar Überdruck, was aber leider ebenfalls nicht den gewünschten Effekt hatte. Bei den nächsten Versuchen wurde deshalb zusätzlich die Hydrierdauer auf 24 Stunden verlängert. Allerdings konnte dadurch ebenfalls keine Hydrierung erreicht werden, wohl aber trat Zersetzung auf.

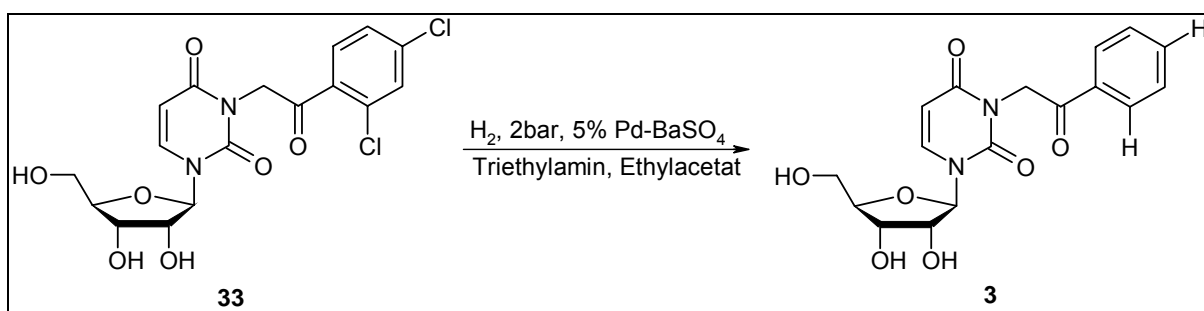
Da diese Methode offensichtlich nicht zum Erfolg führte, wurden im folgenden die Versuche doch nach den Standardbedingungen für die Hydrierung von halogenierten Aromaten durchgeführt.¹⁰⁹ Danach erfolgt die Hydrierung solcher Verbindungen nur im basischen Milieu. Als Katalysator kann Palladium-Kohle oder Palladium an Bariumsulfat bzw. Calciumcarbonat verwendet werden. Diesen Bedingungen entsprechend wurde die Hydrierung in Methanol unter Zusatz von Kaliumhydroxid und 10 %iger Palladium-Kohle bei einem Wasserstoffüberdruck von 2 bar über 4 Stunden versucht. Hier zeigte sich allerdings eine komplette Zersetzung, wie bei diesem stark alkalischen Milieu allerdings auch zu befürchten war.

Deshalb wurde bei einem neuen Versuch mit Natriumhydrogencarbonat ein pH-Wert von ca. 8-9 eingestellt und die Hydrierung unter ansonsten identischen Bedingungen wiederholt. Hiermit konnte ein Erfolg erzielt werden hinsichtlich kompletter Hydrierung, allerdings zeigt das DC neben dem erwarteten Fleck einen zweiten. Das

¹⁰⁸ Thorand, M. Darstellung und Charakterisierung neuer Imidazo[2,1-i]purin-5-on-Derivate und Analoga als pharmakologische Werkzeuge für humane A3-Adenosin-Rezeptoren. Dissertation Bonn **2004**.

¹⁰⁹ Augustine, R. L. Catalytic Hydrogenation. Marcel Dekker: New York **1965**.

Molekül ist also nicht unversehrt geblieben. Eine denkbare nur teilweise Hydrierung kann auf Grund der R_f -Werte ausgeschlossen werden.¹¹⁰ Worum es sich bei diesem zweiten Produkt handelt, wurde nicht aufgeklärt. Weitere Variationen betrafen zunächst die Verminderung des Wasserstoffdruckes, einen Wechsel des Lösungsmittels zu einem 1:1-Gemisch aus Ethanol und Ethylacetat bzw. reinem Ethylacetat und Wechsel der Base zur pH-Werteinstellung, wozu letztendlich Triethylamin verwendet wurde. Ein Erfolg hinsichtlich kompletter Hydrierung ohne jegliche Zersetzung konnte allerdings mit all diesen Veränderungen nicht erreicht werden. Erst der Wechsel des Katalysators von reiner Palladiumkohle zu mit Bariumsulfat vergifteter Palladiumkohle brachte den gewünschten Erfolg. Die Hydrierung erfolgte schließlich in Ethylacetat als Lösungsmittel unter Zusatz von Triethylamin mit 5 %iger Palladiumkohle auf Bariumsulfat bei einem Wasserstoffüberdruck von 2 bar über einen Zeitraum von 2 Stunden.



Schema 12: Hydrierung von N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin

Bei wiederholten Versuchen zeigte sich, daß die Menge an Katalysator der kritische Punkt bei der Hydrierung ist. Bei zu geringer Menge erfolgt auch bei längerer Reaktionszeit keine vollständige Hydrierung, wohl aber treten schließlich doch Nebenprodukte auf. Wenn zu viel Katalysator verwendet wird, kann die Entstehung von Nebenprodukten nicht vermieden werden.

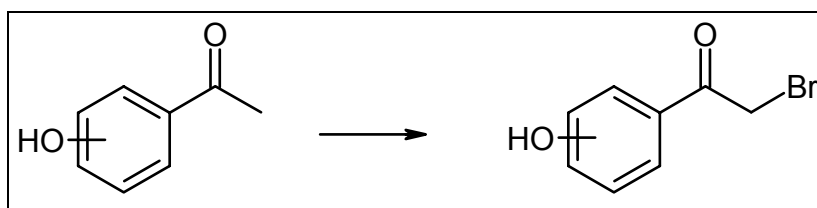
Die Hydrierung mit Tritiumgas wurde von der Firma Amersham Bioscience durchgeführt. Die Isolierung und Reinheitsbestimmung des radioaktiven Produkts erfolgte mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie. Danach ergab sich eine Reinheit von 98,3%. Die spezifische Aktivität beträgt 43 Ci/mmol (1,59 TBq/mmol). Die Struktur wurde durch Massenspektrometrie bestätigt.

¹¹⁰ Das Dichlorderivat läuft höher als Phenacyluridin, das zweite Produkt aber tiefer als dieses. Bei nur teilweiser Hydrierung müßte man den Fleck aber zwischen Dichlorphenacyluridin und Phenacyluridin erwarten.

2.3.4. Synthese von N3-(Hydroxyphenacyl)uridinen

2.3.4.1. Bromierung der Hydroxyacetophenone und anschließende Alkylierung

Zur Synthese der am Phenylring para-, meta- und ortho-hydroxylierten Phenacyl-Derivate müssen die entsprechenden Hydroxyphenacylbromide erst dargestellt werden. Begonnen wurde mit dem 4-Hydroxyphenacylbromid mit dem Ziel, eine auch für die beiden anderen Derivate verwendbare Synthesemethode zu finden.



Schema 13: Bromierung von Hydroxyacetophenonen

Die Bromierung von 4-Hydroxyacetophenon wurde als erstes nach einer Vorschrift von Buu-Hoï *et al.* aus dem Jahr 1954 versucht.¹¹¹ Sie entspricht im Wesentlichen der im Kapitel Bromierung beschriebenen allgemein verwendeten Methode. Nach Umsatz mit elementarem Brom in Eisessig entsteht ein Öl, das, nachdem es in Wasser gegossen wird, in der Kälte erstarrt und aus Benzol umkristallisiert wird. Die Ausbeute ist allerdings mit 19 % relativ gering, ebenso ist die Reinheit unbefriedigend. Auch nach mehrmaligem Umkristallisieren war das Ergebnis nicht zufriedenstellend. Deshalb wurden andere Lösungsmittel ausprobiert und mit Ethanol ein geeignetes gefunden. Da aber die Ausbeute nach wie vor gering blieb, wurden andere Bromierungsmethoden versucht.

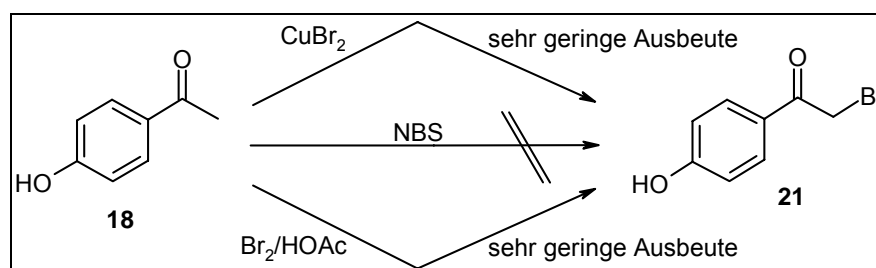


Abb. 22: Ergebnisse der Syntheseversuche von 4-Hydroxyphenacylbromid aus 4-Hydroxyacetophenon

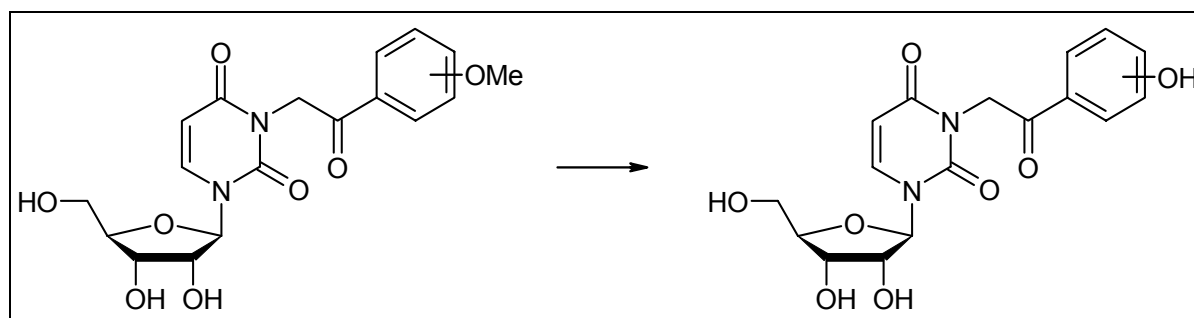
¹¹¹ Buu-Hoï, Ph.; Xuong, D.; Lavit, D. Halogenated o- and p-Phenolic Ketones. *J. Chem. Soc.* **1954**, 1034-1038.

Die Bromierung mit N-Bromsuccinimid blieb erfolglos. Mit der Kupferbromid-Methode¹¹² konnte ein Erfolg erzielt werden, allerdings nicht in dem Maße, wie es von der Arbeitsgruppe beschrieben wird. Danach soll die Ausbeute bei nahezu 100 % liegen. Obwohl am Ende der Reaktion kein schwarzes Kupfer(II)bromid mehr vorlag, sondern statt dessen nur das weiße Kupfer(I)bromid, lagen am Ende der Aufarbeitung Produkt und nicht umgesetztes Edukt ungefähr im Verhältnis 2:1 (nach NMR) vor. Durch Umkristallisation konnte keine Aufreinigung erreicht werden, deshalb wurde eine säulenchromatographische Trennung der beiden Verbindungen durchgeführt und das Produkt am Ende aus Dichlormethan umkristallisiert. Durch diese Schritte reduzierte sich die von vornherein relativ schlechte Ausbeute nochmals erheblich.

Die Bromierung der Hydroxyacetophenone erwies sich also nach diesen Versuchen als nicht geeignet zur Synthese. Deshalb wurde dieser Weg verworfen und nach Alternativen gesucht.

2.3.4.2. Phenoleterspaltung von N3-(Methoxyphenacyl)uridinen

Eine naheliegende Möglichkeit ist die Umwandlung der Methoxy-substituierten Phenacylbromide in die Hydroxy-Derivate. Dies wurde zunächst direkt mit den (zu diesem Zeitpunkt bereits vorliegenden) Methoxyphenacyluridinen versucht.



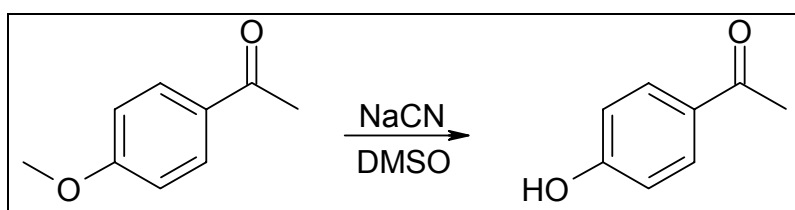
Schema 14: Phenoleterspaltung von N3-(Methoxyphenacyl)uridinen zu N3-(Hydroxyphenacyl)uridinen

Für diese Art der Reaktion sind zahlreiche Methoden entwickelt worden, handelt es sich doch bei der Methoxygruppe um eine häufig gebrauchte Schutzgruppe für

¹¹² King, L. C.; Ostrum, G. K. Selective Bromination with Copper(II) Bromide. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3459-3461.

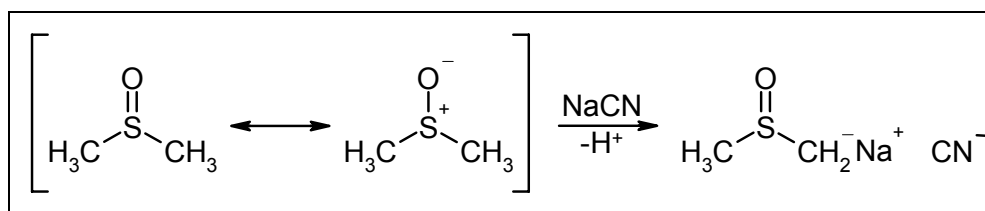
Phenole.¹¹³ Sehr beliebt ist der Einsatz von Lewissäuren zur Wiederherstellung der originären Funktion. Sie haben den Vorteil, relativ regioselektiv zu sein und man vermeidet in der Regel stark saure bzw. alkalische Bedingungen, die unter Umständen negative Auswirkung auf die zu entschützende Verbindung haben. Dies trifft hier gleich in zweifacher Hinsicht zu, einmal muß bei den Uridinderivaten auf den Erhalt der nukleosidischen Bindung geachtet werden, zum anderen darf das endständige Halogen bei der Reaktion nicht abgespalten werden.

McCarthy *et al.* entwickelten 1978 eine Methode zur Phenoleterspaltung in Verbindungen, die gleichzeitig noch Cyanogruppen, Amid- und Ketofunktionen enthalten.¹¹⁴ Verwendet wird das ansonsten doch eher selten eingesetzte Natriumcyanid in Dimethylsulfoxid. Auch 4-Methoxyacetophenon konnte von den Autoren erfolgreich in das Hydroxy-Derivat umgewandelt werden.



Schema 15: Phenoleterspaltung mit Natriumcyanid

Der Reaktionsmechanismus läuft wahrscheinlich über die Bildung eines Methylsulfinylcarbanions. Natriumcyanid ist nach der HSAB-Theorie die Verbindung der harten Säure Natrium mit der weichen Base Cyanid, und bildet dementsprechend nur eine schwache kovalente Bindung aus. Dimethylsulfoxid weist eine hohe Nucleophilie auf und ist deshalb in der Lage, Kationen sehr gut zu solvatisieren. Durch das Zusammenwirken dieser beiden Stoffe bildet sich ein Methylsulfinylcarbanion.

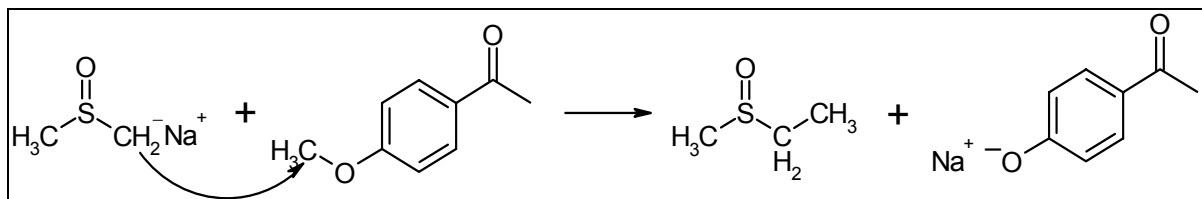


Schema 16: Entstehung des Methylsulfinylcarbanions

¹¹³ für einen Überblick siehe Green, T. W.; Wutts, P. G. M. *Protective Groups In Organic Syntheses*. John Wiley & Sons: Chichester **1999**.

¹¹⁴ McCarthy, J. R.; Moore, J. L.; Cregge, R. J. A Convenient New Method for Converting Aromatic Methyl Ethers to Phenols with Sodium Cyanide-Dimethyl Sulfoxide. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 52, 5183-5186.

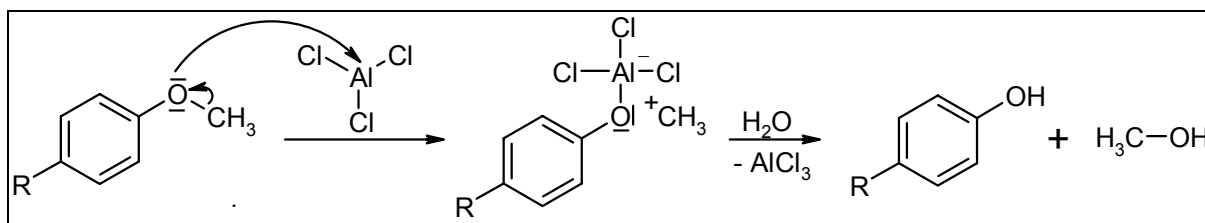
Dieses Methylsulfinylcarbanion ist als nukleophiles Reagens in der Lage, Carbonsäureester unter Verdrängung der Alkoholatgruppe anzugreifen.^{115,116} Obwohl hier ein Ether und kein Ester vorliegt, besteht die Vermutung, daß sich ein äquivalentes Produkt bildet.



Schema 17: Phenotherspaltung mit dem Methylsulfinylcarbanion

Bei der anschließenden wäßrigen Aufarbeitung und Acidifizierung bildet sich das freie Phenol. Die Reaktion wurde mit 4-Methoxyphenacyluridin versucht, womit allerdings leider kein Erfolg erzielt werden konnte.

Deshalb wurde der nächste Versuch mit einer der am häufigsten verwendeten Lewissäuren, Aluminiumtrichlorid, durchgeführt. Dieses ist eine Verbindung mit einer Elektronenlücke und von daher in der Lage – neben seiner Eigenschaft, Carbeniumionen aus bzw. mit einem zweiten Molekül zu bilden – mit Ethern eine relativ stabile Verbindung einzugehen. In diesem Fall verdrängt also das Aluminiumtrichlorid die Methylgruppe vom Sauerstoff und hinterläßt sie als Carbokation. Auf Grund der nun vorliegenden Ladungen liegt diese wohl noch in enger räumlicher Nähe der neuen Verbindung, erst bei der folgenden wäßrigen Aufarbeitung wird der Komplex aufgebrochen und es entstehen die beiden Alkohole.



Schema 18: Phenotherspaltung mit Aluminiumtrichlorid

Diese Reaktion ist in den unterschiedlichsten Lösungsmitteln und bei verschiedenen Temperaturen beschrieben, ebenso differiert die Menge an zugegebenem

¹¹⁵ Durst, T. Dimethylsulfoxide (DMSO) in Organic Synthesis. *Adv. Org. Chem.* **1969**, 6, 285-388.

¹¹⁶ Krapcho, A. P.; Weimaster, J. F.; Eldridge, J. M.; Jahngen, E. G. E.; Lovey, A. J.; Stephens, W. P. Synthetic applications and mechanism studies of the decarbalkoxylation of geminal diesters and related systems effected in dimethyl sulfoxide and/or water with added salts. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 138-147.

Aluminiumtrichlorid, welches allerdings immer im Überschuß eingesetzt wird.¹¹³ Entsprechend wurden verschiedene Versuche gemacht, 4-Methoxyphenacyluridin in das Hydroxy-Derivat zu überführen. An Lösungsmitteln wurden Dichlormethan und Toluol (die am häufigsten verwendeten) gewählt, mit denen die Reaktion jeweils bei Raumtemperatur und bei 70°C durchgeführt wurde. Aluminiumtrichlorid wurde in 2-10fachem Überschuß eingesetzt. Lediglich in Toluol bei 70°C konnte ein Umsatz erzielt werden, der allerdings äußerst schwach war und somit weit hinter den Erwartungen zurückblieb. Um das Ergebnis zu verbessern, wurde deshalb statt Aluminiumtrichlorid das Bromid eingesetzt, welchem eine deutlich höhere Reaktivität zugesprochen wird. Dies wurde bestätigt durch eine komplette Zersetzung des Edukts. Somit war auch diese Möglichkeit ungeeignet.

Als Letztes wurde die auch wiederum eher selten verwendete Lewisäure Lithiumchlorid versucht, nach einer Vorschrift von Bernard *et al.*¹¹⁷ Den Autoren zufolge ist es besonders für die Methyletherspaltung an Aromaten geeignet, die zusätzlich eine Aldehydfunktion oder eine Nitrogruppe tragen, also Elektronenziehende Reste. Auch wenn die durch die hier vorliegende Ketogruppe verursachten Effekte auf den Aromaten (deutlich) schwächer sind, bestand die Hoffnung, daß sie doch stark genug wären, um mit dem vergleichsweise schwachen Lithiumchlorid einen Erfolg zu erzielen. Leider bestätigte sich dies nicht, das eingesetzte Methoxyphenacylbromid blieb unverändert.

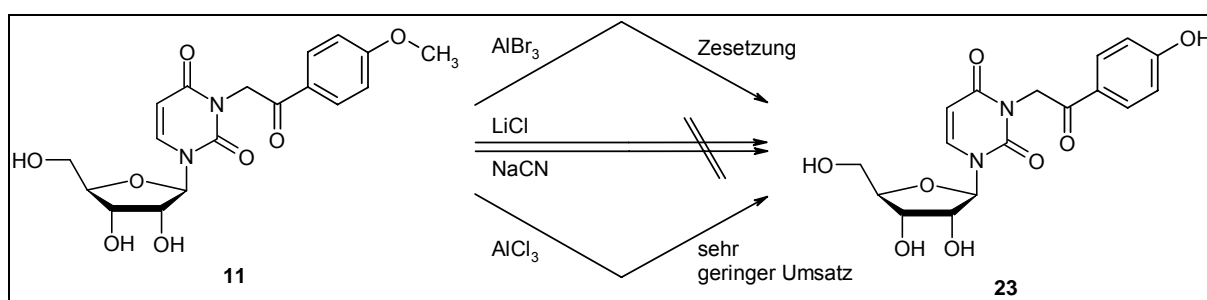
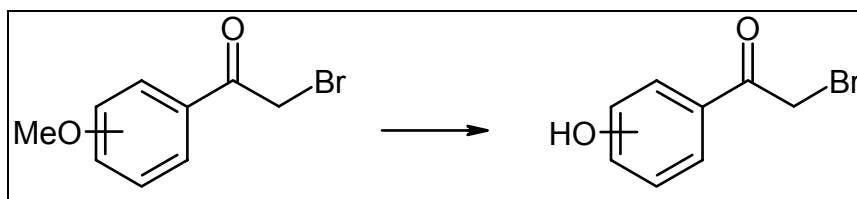


Abb. 23: Ergebnisse der Phenoleterspaltungsversuche von N3-(4-Methoxyphenacyl)uridin

¹¹⁷ Bernard, A. M.; Ghiani, M. R.; Piras, P. P.; Rivoldini, A. Dealkylation of Activated Alkyl Aryl Ethers Using Lithium Chloride in Dimethylformamide. *Synthesis* **1989**, 287-288.

2.3.4.3. Phenoleterspaltung von Methoxyphenacylbromiden und anschließende Alkylierung

Da die Phenoleterspaltung der Methoxyphenacyluridine offensichtlich nicht zum Erfolg führte, wurde doch wieder der zuerst eingeschlagene Weg versucht, nämlich die Hydroxyphenacylbromide darzustellen, um mit diesen dann Uridin zu alkylieren, diesmal durch Phenoleterspaltung der Methoxyphenacylbromide.



Schema 19: Phenoleterspaltung von Methoxyphenacylbromiden

Aus den oben genannten Gründen sollten wieder Lewissäuren zum Einsatz kommen. Der erste Versuch wurde mit dem System Natriumcyanid/Dimethylsulfoxid durchgeführt, womit laut Autorenangaben 4-Methoxyacetophenon erfolgreich in das Hydroxy-Derivat überführt werden konnte.¹¹⁴ Obwohl die zusätzliche Bromsubstitution an der Seitenkette die Eigenschaften des Moleküls an der entscheidenden Stelle nicht sonderlich groß verändern sollte und deshalb ein Erfolg sehr sicher erschien, blieb dieser leider aus.

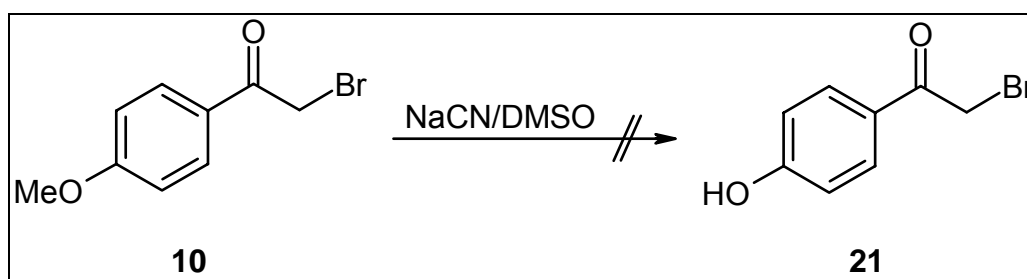
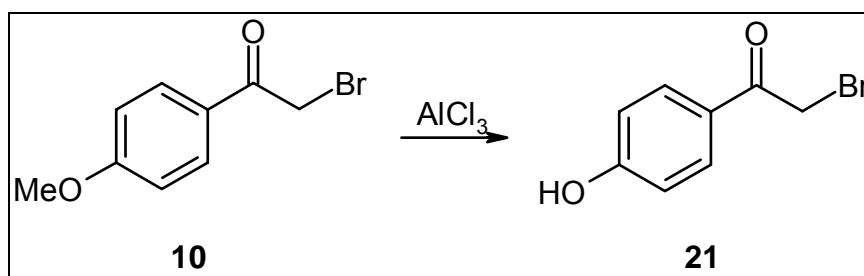


Abb. 24: Ergebnis des Phenoleterspaltungsversuchs mit Natriumcyanid

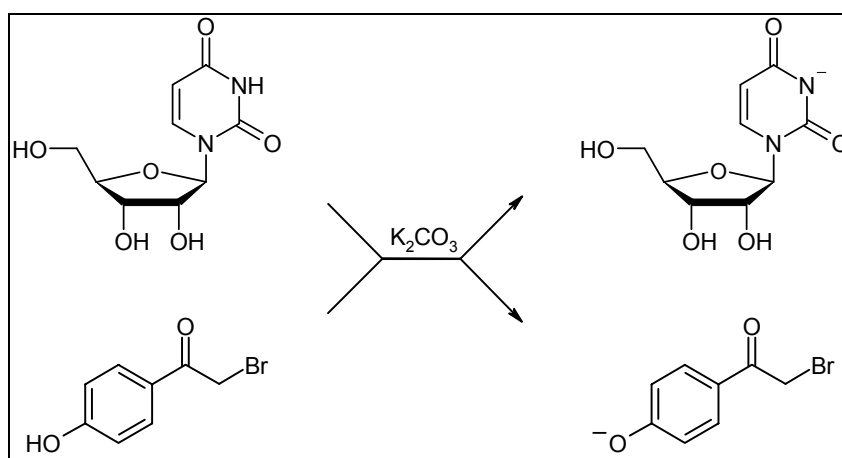
Deshalb wurde als nächstes das häufig verwendete Aluminiumtrichlorid ausgewählt. Tatsächlich konnte damit erfolgreich 4-Hydroxyphenacylbromid dargestellt werden. Die Reaktion verläuft äußerst glatt, das Produkt fällt bei der Aufbereitung als Niederschlag an und lässt sich einfach abfiltrieren. Nach Waschen mit Dichlormethan ist die Substanz ausreichend sauber, so daß auf ein Umkristallisieren verzichtet werden kann. Interessanterweise erhält man ein weißes Pulver und nicht, wie in der

Literatur zur Bromierung von 4-Hydroxyacetophenon beschrieben und auch selbst beobachtet, lilafarbene Kristalle.



Schema 20: Phenotherspaltung mit Aluminiumtrichlorid

Nachdem nun also erfolgreich das gewünschte Reagenz vorlag, konnte die N3-Alkylierung des Uridins angegangen werden. Diese muß gegenüber dem sonst üblichen Ablauf leicht verändert werden auf Grund der veränderten physikochemischen Eigenschaften des 4-Hydroxyphenacylbromids. Durch das Phenol ist die Verbindung kein Neutralstoff mehr wie die anderen verwendeten Reste, sondern eine saure Verbindung, die dementsprechend pH-Wert-abhängig dissoziieren kann. Der pKs-Wert dürfte zwischen 9 und 10 liegen. Damit liegt das Problem für die Alkylierung auf der Hand: Die Reaktion wird im Basischen in Gegenwart von Kaliumcarbonat durchgeführt, welches Uridin am N3 deprotonieren soll, dessen pKs-Wert sich in der gleichen Größenordnung bewegen dürfte. Es ist aber auch in der Lage, 4-Hydroxyphenacylbromid zu deprotonieren. Die beiden Stoffe konkurrieren also um die Base.



Schema 21: Konkurrenzreaktion zwischen Uridin und 4-Hydroxyphenacylbromid mit Kaliumcarbonat

Dadurch ist keine vollständige Aktivierung des Uridins für die Alkylierung gewährleistet. Außerdem besteht die Gefahr, daß das 4-Hydroxyphenacylbromid an

der deprotonierten Stelle reagiert und somit nicht das gewünschte Produkt entsteht. Ein erster Versuch mit herkömmlicher Durchführung der Reaktion verlief in der Tat nicht erfolgreich.

Für die Durchführung der Reaktion ergeben sich aus diesen Überlegungen zwei Konsequenzen. Einerseits muß die Base in größerer Menge eingesetzt werden, damit Uridin vollständig am N3 deprotoniert wird. Andererseits sollte das 4-Hydroxyphenacylbromid langsam in kleinen Portionen oder tropfenweise als Lösung der Reaktion zugeführt werden, um einen ständigen großen Überschuß an Uridin vorliegen zu haben. Dadurch können mögliche Nebenreaktionen eventuell zurückgedrängt werden. Beim nächsten Syntheseversuch wurde dementsprechend eine der Menge an eingesetztem Uridin plus 4-Hydroxyphenacylbromid äquivalente Menge an Kaliumcarbonat (plus ein leichter Überschuß) verwendet. Außerdem wurde das Halogenid in einer kleinen Menge Lösungsmittel gelöst und dem Reaktionsansatz langsam über einen längeren Zeitraum zugetropft. Doch trotz dieser veränderten Reaktionsbedingungen konnte das gewünschte Produkt nicht dargestellt werden.

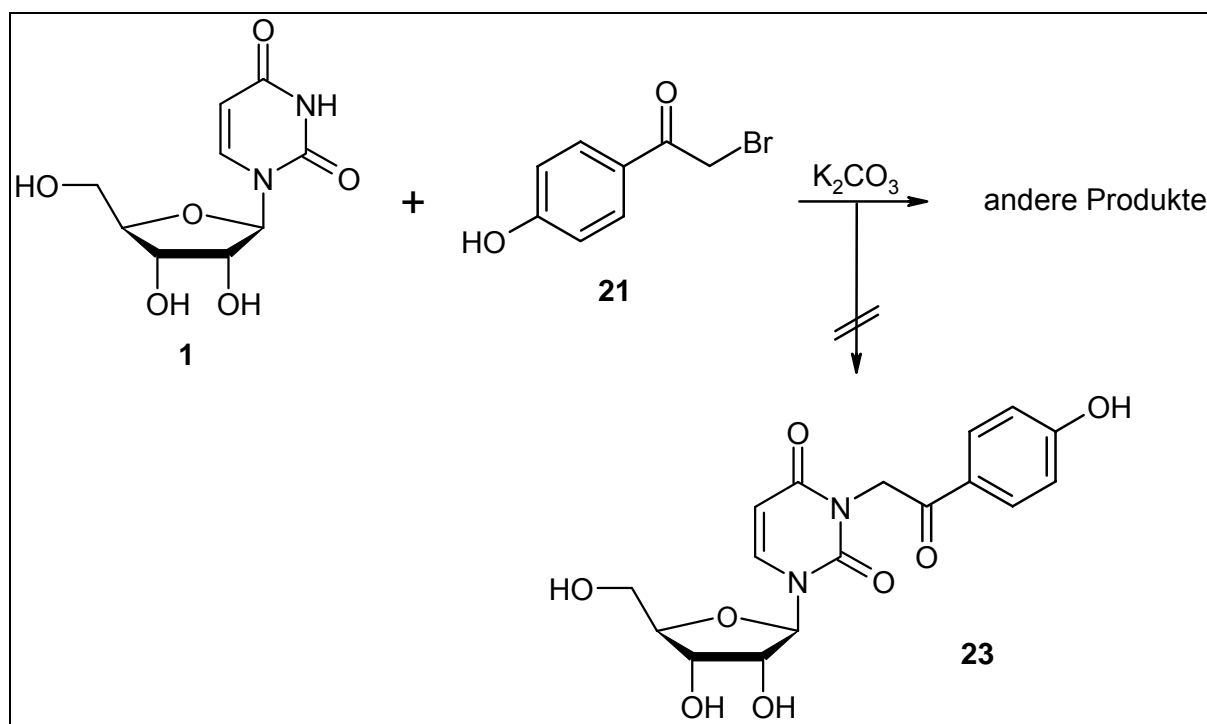
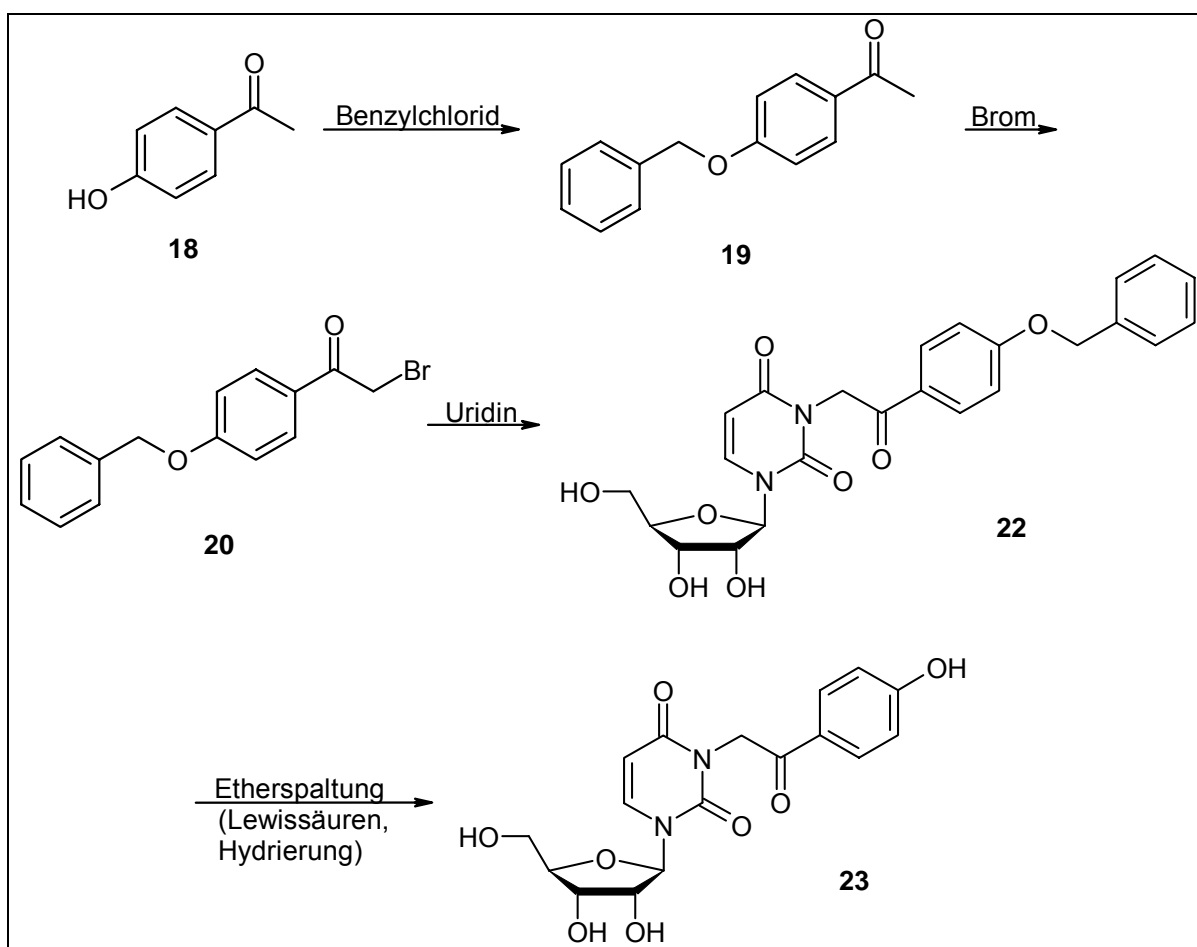


Abb. 25: Ergebnis des Alkylierungsversuchs von Uridin mit 4-Hydroxyphenacylbromid

2.3.4.4. Synthese von Benzyloxyacetophenonen und anschließende Bromierung und Alkylierung

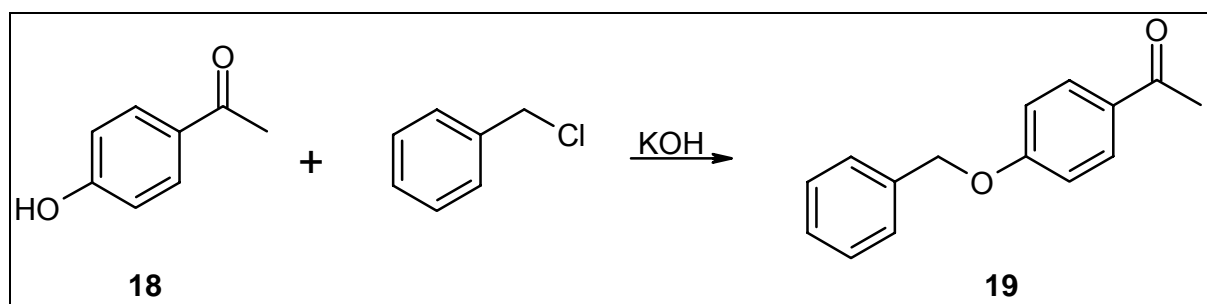
Da die Hydroxyphenacyl-Derivate offensichtlich auf direktem Wege nicht zugänglich sind, wurde nun eine andere Synthesestrategie entwickelt. Die bisher gemachten Versuche hatten gezeigt, daß die phenolische Hydroxygruppe auf jeden Fall geschützt sein muß, sowohl für eine Bromierung als auch für die Alkylierung. Der Methylether hat sich dafür als nicht geeignet herausgestellt. Bei der Suche nach einer Alternative fiel die Wahl letztendlich auf den Benzylether. Er läßt sich einfach darstellen und kann nicht nur mit Lewissäuren, sondern auch durch Hydrierung wieder abgespalten werden. Damit steht eine zusätzliche, ebenfalls einfach und vor allem sauber durchzuführende Möglichkeit zur Verfügung, falls die Etherspaltung mit den Lewissäuren wiederum erfolglos sein sollte. Insgesamt stellt sich der Syntheseweg folgendermaßen dar (am Beispiel des para-substituierten, ortho- und meta-Derivate entsprechend):



Schema 22: Syntheseroute zu N³-(Hydroxyphenacyl)uridinen über die Benzylether der Acetophenone

Synthese der Benzylether

Die Synthese der Benzyloxyacetophenone erfolgt nach der üblichen Williamson'schen Ethersynthese für Phenoether. Danach wird das Phenol zusammen mit dem Alkylhalogenid und einer Base in ethanolischer Lösung erhitzt.¹¹⁸ Auf feuchtigkeitsausschließende Bedingungen kann hier verzichtet werden, da das Phenol ausreichend sauer bzw. das Phenolat zu schwach basisch ist, als daß durch Wasser das Gleichgewicht wieder auf die Seite der Säure gedrängt würde.

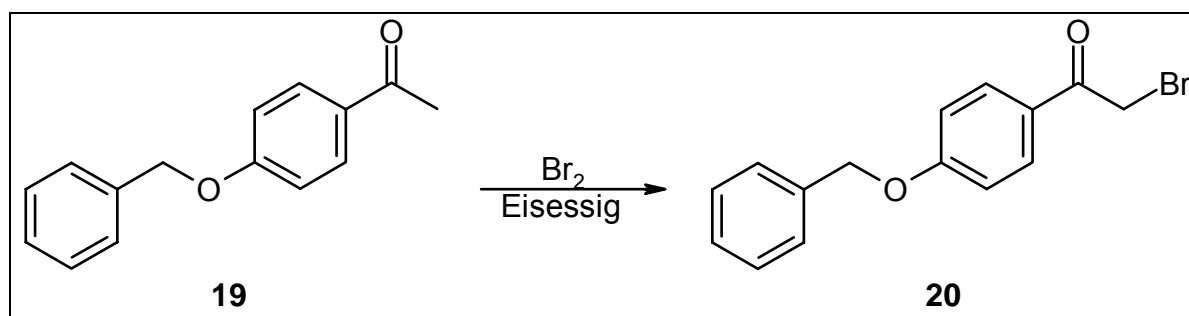


Schema 23: Benzylierung von Acetophenonen (beispielhaft mit p-OH-Acetophenon dargestellt)

Auf diese Weise gelingt die Darstellung in guter Ausbeute als Öl im Falle der ortho- und meta-Derivate bzw. als Feststoff bei para-Substitution.

Bromierung

Die Bromierung der Benzyloxyacetophenone erfolgte in allen Fällen nach der üblichen Methode mit elementarem Brom in Eisessig.



Schema 24: Bromierung der Benzyloxyacetophenone

¹¹⁸ konkrete Vorschriften finden sich z. B. in Dominguez, X. A.; Gomez, B.; Homberg, E.; Slim, J. Studies on Bis-(benzylisoquinolines). I. Synthesis of dl-N-(4-Hydroxyphenylacetyl)-5-iodo-4-acetoxy-3-methoxyphenylalanine Methyl Ester. *J. Amer. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1288-1290; Neidlein, R.; Gehringer, C. Untersuchungen zur Synthese des schwefelisosteren Psilocins und einiger 4-Hydroxybenzo(b)thiophenderivate. *Tetrahedron* **1977**, *33*, 3203-3232.

Auch hier erhält man in guter Ausbeute einen Feststoff im Falle des para-Derivats und Öle bei der meta- und ortho-Substitution. Diese müssen säulen-chromatographisch gereinigt werden. Die Bromierung des an Position 4 substituierten Acetophenons wurde auch nach einer anderen Vorschrift versucht. Nach Brossi *et al.* kann 4-Benzyloxyacetophenon in Ethanol mit elementarem Brom unter Zusatz einiger Tropfen konzentrierter Schwefelsäure in das gewünschte Produkt überführt werden.¹¹⁹ Dies konnte jedoch nicht bestätigt werden.

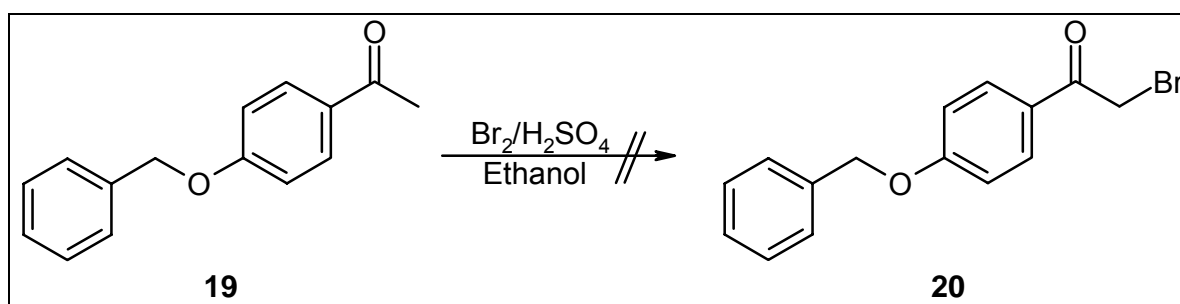
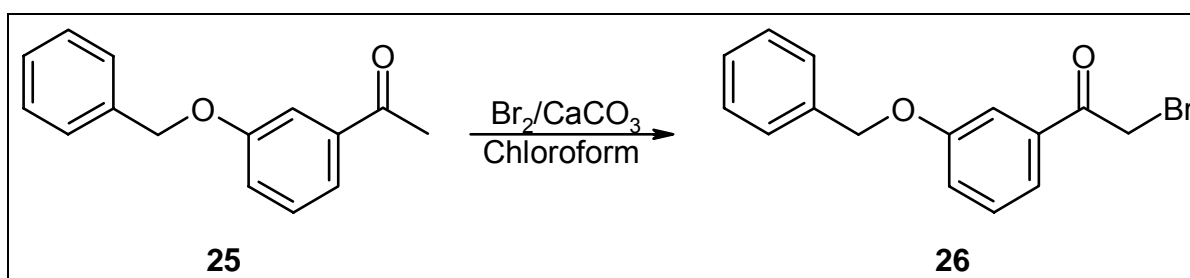


Abb. 26: Ergebnis des Bromierungsversuchs mit Brom und Schwefelsäure

3-Benzyloxyacetophenon wurde ebenfalls noch nach einer weiteren Vorschrift (erfolgreich) dargestellt, nämlich in Chloroform in Gegenwart von Calciumcarbonat.¹²⁰ Letzteres dient hier dazu, die Enolform zu deprotonieren und somit die Bromierung zu erleichtern.



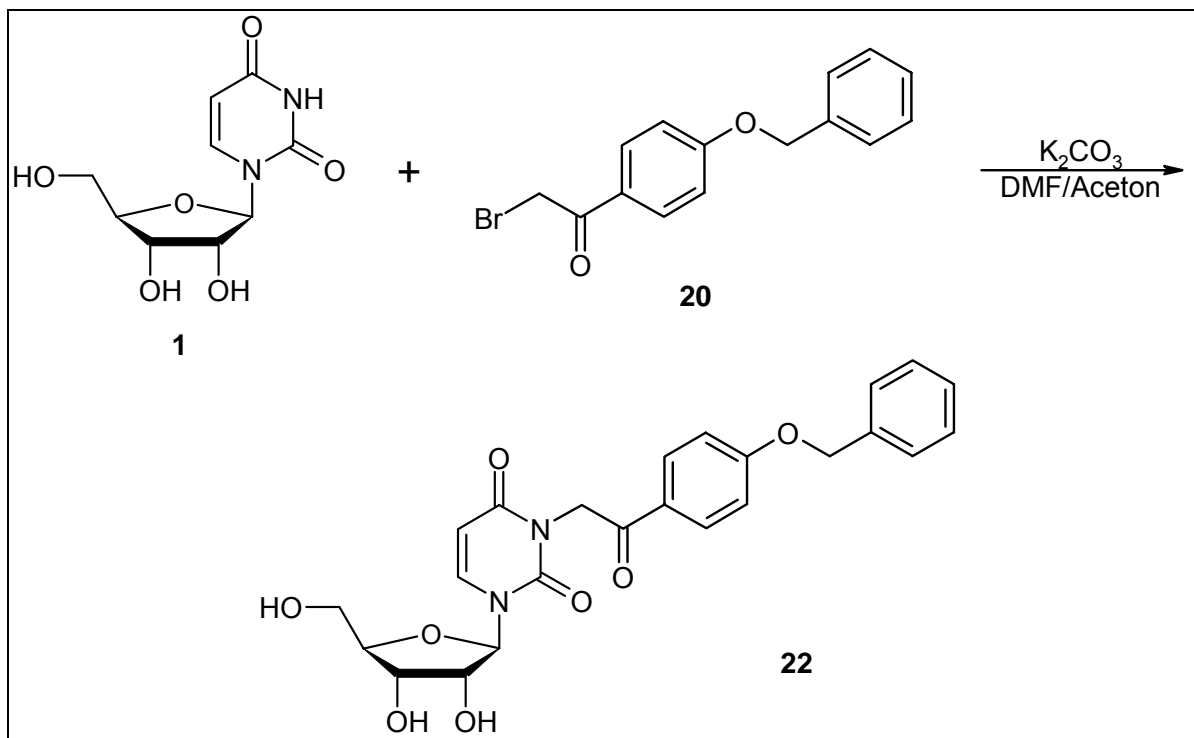
Schema 25: Bromierung von 3-Benzyloxyacetophenon

¹¹⁹ Brossi, A.; Wenis, E. Syntheses of Various 2,5-Disubstituted Oxazole Derivatives Related to Natural Products. *J. Heterocycl. Chem.* **1965**, 2, 310-312.

¹²⁰ Sakuraba, S.; Takahashi, H.; Takeda, H.; Achiwa, K. Efficient Asymmetric Hydrogenation of α -Amino Ketone Derivatives. A Highly Enantioselective Synthesis of Phenylephrine, Levamisole, Carnitine and Propranolol. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, 43/5, 738-747.

Alkylierung

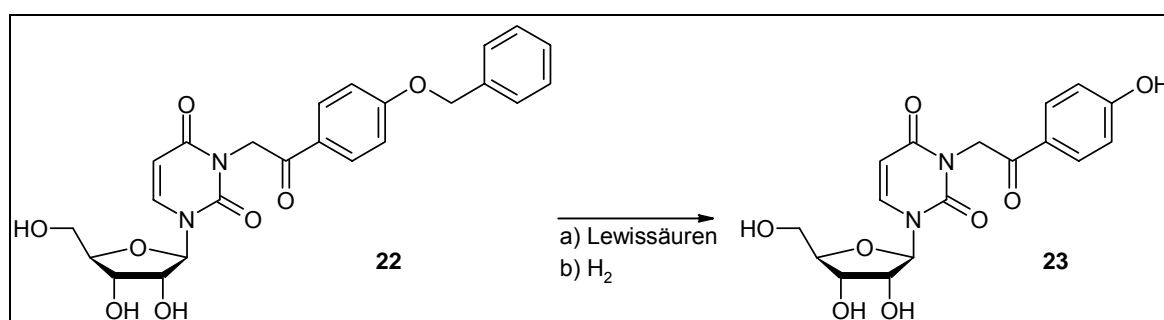
Mit den auf diese Art und Weise dargestellten Benzyloxyphenacylbromiden konnte Uridin erfolgreich am N3 nach der üblichen Methode alkyliert werden.



Schema 26: N3-Alkylierung von Uridin mit den Benzyloxyphenacylbromiden

Abspaltung der Benzylschutzgruppe

Die Benzylschutzgruppe ist ebenso wie der Methylether eine häufig verwendete Möglichkeit, Hydroxygruppen von Alkoholen und Phenolen zu schützen. Dementsprechend vielfältig sind die Methoden sowohl zur Darstellung als auch zur Wiederherstellung der originären Funktion.¹¹³ Letzteres gleicht im Wesentlichen der Spaltung des Methylethers, wird aber ergänzt durch die Möglichkeit, den Benzylether durch Hydrierung zu entfernen.



Schema 27: Abspaltung der Benzylschutzgruppe

Zunächst wurde jedoch versucht, mit Aluminiumtrichlorid beim para-substituierten Derivat eine Etherspaltung herbeizuführen. Als Lösungsmittel wurde über Calciumchlorid getrocknetes Dichlormethan verwendet, die Lewissäure wurde in 5fachem Überschuß zugesetzt. Mit diesen Bedingungen konnte ein Umsatz zum ungeschützten Produkt erhalten werden, allerdings nicht vollständig, sondern nur zu circa 50 Prozent (nach Dünnschichtchromatogramm).

In der Hoffnung auf ein besseres Resultat wurde nun von der zusätzlichen Möglichkeit – der Hydrierung – Gebrauch gemacht. Diese wird in der meisten beschriebenen Methoden mit 10prozentiger Palladiumkohle als Katalysator durchgeführt. Obwohl diese als einer der stärksten Katalysatoren gilt, besteht hiermit trotzdem keine Gefahr, die isolierte Doppelbindung des Uracilrings zu reduzieren. Bezüglich des nötigen Wasserstoffdruckes kann auf das Arbeiten in einer Hydrierapparatur verzichtet werden, da die Reaktion bereits unter Normaldruck abläuft. Als Lösungsmittel fiel die Wahl auf Ethylacetat, da in diesem aprotischen Medium die Gefahr weiter sinkt, die Uracil-Doppelbindung abzusättigen.

Unter diesen Bedingungen – 10prozentige Palladiumkohle, Ethylacetat als Lösungsmittel, Reaktion bei Normaldruck – konnte ein dem Versuch mit Aluminiumtrichlorid vergleichbarer Umsatz erzielt werden. In der Hoffnung, diesen weiter erhöhen zu können, wurde dem Reaktionsansatz neuer Katalysator zugegeben, wie es auch häufig in der Literatur beschrieben wird. Im Falle des para-Derivats blieb dies leider ohne Erfolg, nach wie vor konnte kein quantitativer Umsatz erzielt werden. Trotzdem wird die Hydrierung der Lewissäuren-Methode eindeutig vorgezogen, da die Reaktion deutlich sauberer abläuft und damit einfacherer aufzuarbeiten ist. Das meta-Derivat konnte durch Zusatz von neuem Katalysator erfolgreich quantitativ in die Hydroxyverbindung umgewandelt werden.

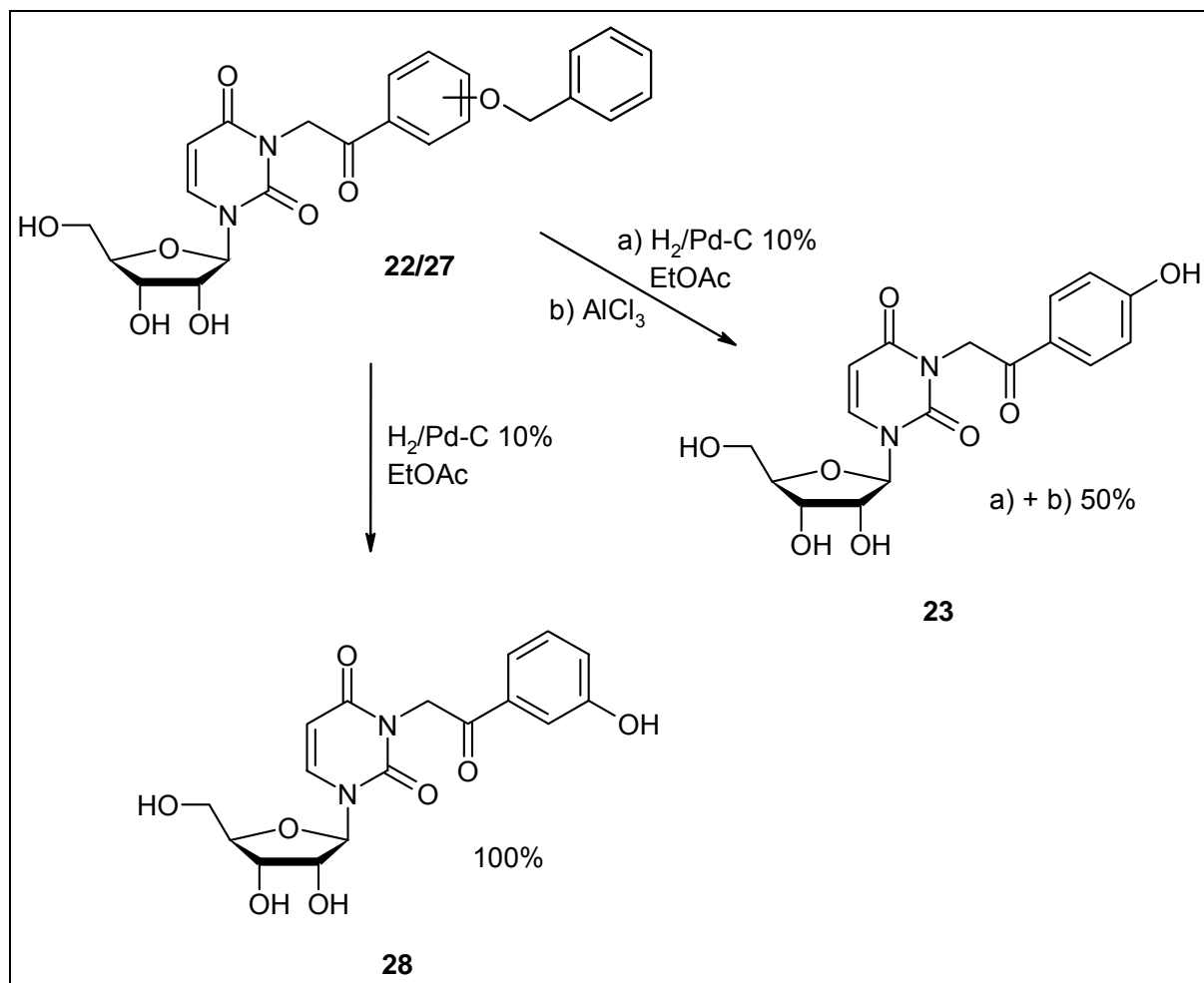


Abb. 27: Ergebnisse der Benzyletherspaltungsversuche

Fazit

Die N3-Hydroxyphenacyluridine können nicht durch Alkylierung von Uridin mit den entsprechenden Hydroxyphenacylbromiden dargestellt werden. Vielmehr muß die Phenolgruppe mit einer geeigneten Schutzgruppe blockiert werden, wozu der Benzylether sich als geeignet erwiesen hat. Insgesamt stellt sich die Synthese folgendermaßen dar:

- 1) Darstellung der Benzylether aus den Acetophenonen,
- 2) Bromierung der geschützten Acetophenone an der Seitenkette,
- 3) Alkylierung von Uridin mit den so erhaltenen Benzylxyphenacylbromiden,
- 4) Abspaltung der Benzyletherfunktion durch Hydrierung.

2.3.5. Synthese von N3-(4-Aminophenacyl)uridin

Der einfachste Weg zum N3-(4-Aminophenacyl)uridin führt ebenso wie bei den Hydroxy-Derivaten über die Darstellung des 4-Aminophenacylbromids und anschließende Alkylierung.

In gleicher Analogie gibt es für die Darstellung des 4-Aminophenacylbromids mehrere Möglichkeiten. Einmal kann versucht werden, 4-Aminoacetophenon auf die übliche Art und Weise an der Seitenkette zu bromieren. Andererseits ist zu überlegen, ob ein bereits bromiertes Derivat mit einer funktionellen Gruppe versehen ist, welche man in eine Aminogruppe umwandeln kann. Hierfür bietet sich das 4-Nitrophenacylbromid an.

Wie im Kapitel Bromierung bereits erwähnt, bromierte eine italienische Arbeitsgruppe erfolgreich 4-Acetamidoacetophenon.¹²¹ Versuche entsprechend dieser Methode, 4-Aminoacetophenon zu bromieren, scheiterten allerdings. Neben diesem Umweg über das acetylierte Derivat sollte aber auch versucht werden, das 4-Nitrophenacylbromid durch Reduktion in das Amino-Derivat zu überführen.

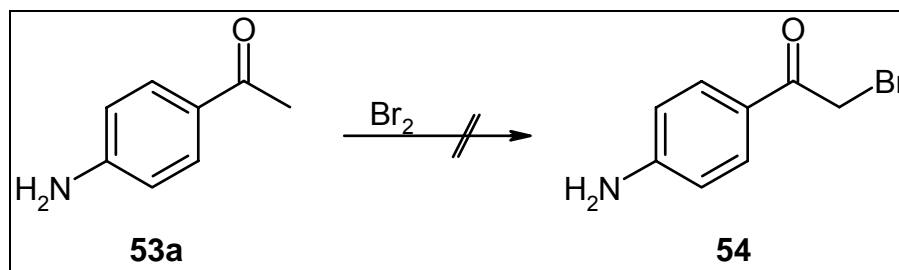
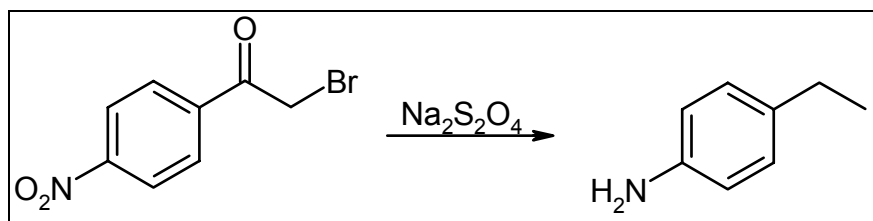


Abb. 28: Bromierungsversuch von 4-Aminoacetophenon

Der erste Versuch wurde mit Natriumdithionit durchgeführt, ein durchaus gängiges Reduktionsmittel für Nitroverbindungen. Mit ihm gelingt auch die partielle Reduktion von Polynitroverbindungen.¹²² Allerdings ist es auch ein sehr starkes Reduktionsmittel, das dementsprechend die Gefahr in sich birgt, auch andere Molekülstrukturen zu verändern. In diesem Fall kommen dafür gleich zwei Möglichkeiten in Betracht, zum einen das endständige Halogen, zum anderen die Ketogruppe. Der trotz dieser Überlegungen gemachte Versuch bestätigte die Reduktionsstärke von Natriumdithionit in beiden Punkten.

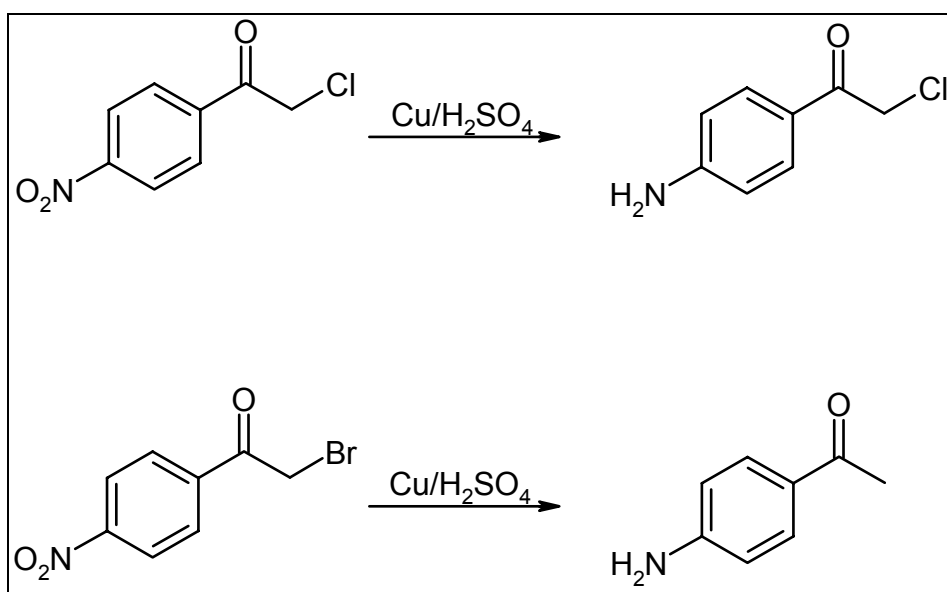
¹²¹ Massarani, E.; Nardi, D.; Pozzi, R. Sulla Bromurazione Di 4(3)-Aminoacetofenoni. *Boll. Chim. Farm.* **1969**, *108*, 255-261.

¹²² Becker, H. G. O.; Berger, W.; Domschke, G. Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum. J. A. Barth: Leipzig ¹⁹1993; S. 555.



Schema 28: Reduktion von 4-Nitrophenylbromid mit Natriumdithionit

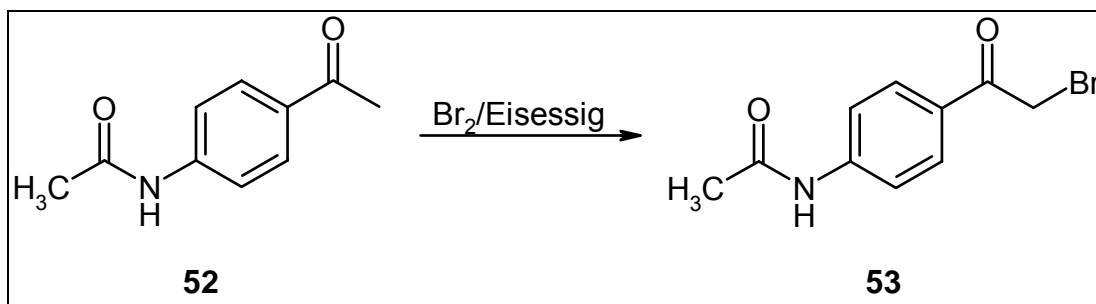
Deshalb wurde in der Literatur nach Alternativen gesucht und in einem Artikel aus dem Jahre 1949 gefunden. Danach gelang es der Arbeitsgruppe, 4-Nitrophenylchlorid mit Kupferpulver in lauwarmer konzentrierter Schwefelsäure in das Amino-Derivat zu überführen¹²³. Diese Methode schien mild genug zu sein, um sowohl die Carbonylfunktion als auch das endständige Halogen zu erhalten. Versuche, auf diese Weise das Bromderivat zu reduzieren zeigten leider, daß in diesem Fall das Halogen nicht erhalten bleibt.



Schema 29: Reduktion von halogenierten 4-Nitroacetophenonen mit Kupfer/Schwefelsäure

Während die Reduktion bis dahin nicht erfolgreich war, verlief die Bromierung des 4-Acetamidoacetophenon erwartungsgemäß gut.

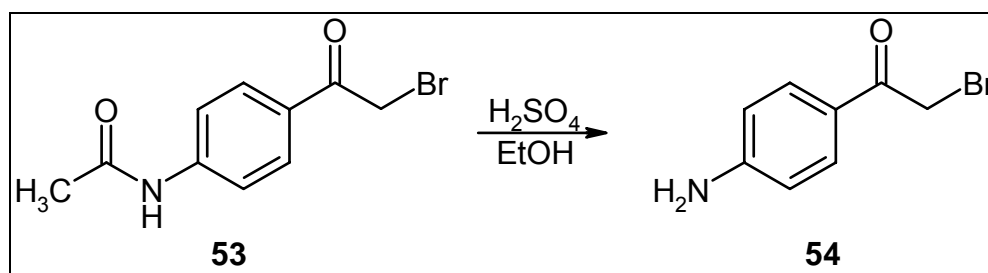
¹²³ Catch, J. R.; Elliott, D. F.; Hey, D. H.; Jones, E. R. H. Halogenated Ketones. Part V. Some Derivatives of ω -Chloroacetophenone. *J. Chem. Soc.* **1949**, 552-555.



Schema 30: Bromierung von 4-Acetamidoacetophenon

Prinzipiell gäbe es nun die Möglichkeit, diese Verbindung zur Alkylierung zu verwenden und am Schluß den Acetylrest abzuspalten, um das Amin zu erhalten. Hiervon wurde jedoch Abstand genommen, da die Acetamidogruppe eine sehr stabile Schutzgruppe darstellt. Die Herstellung der originären Funktion ist nur mit relativ drastischen Mitteln zu erreichen.¹²⁴ Dabei eine Zerstörung des Nucleosids zu vermeiden, ist äußerst unwahrscheinlich. Deshalb ist die bessere Alternative, zuerst die Schutzgruppe zu entfernen und die Alkylierung mit dem freien Amin durchzuführen.

Die Entschützung wurde ebenfalls von der Arbeitsgruppe um Massarani durchgeführt, sowohl mit konzentrierter Salzsäure als auch mit konzentrierter Schwefelsäure, jeweils in Ethanol unter Rückfluß.¹²⁵ Bei Verwendung ersterer wird das endständige Bromatom gegen Chlor ausgetauscht, bei letzterer bleibt es erhalten. Da für die Alkylierung die Bromsubstitution günstiger ist, wurde die Abspaltung auf die zweite Weise durchgeführt.



Schema 31: Abspaltung der Acetamidenschutzgruppe

Mit dem so erhaltenen 4-Aminophenacylbromid wurde nun auf die herkömmliche Weise die Alkylierung ausprobiert, die aber leider nicht von Erfolg gekrönt war. Unter

¹²⁴ siehe dazu Greene, T. W.; Wutts, P. G. M. Protective Groups in Organic Chemistry. John Wiley & Sons: Chichester **1999**.

¹²⁵ Massarani, E.; Nardi, D.; Pozzi, R. Sulla Bromurazione di 4(3)-Aminoacetofenoni. Boll. Chim. Farm. **1969**, *108*, 255-261.

Umständen stört die aggressiv-reaktive Anilinstruktur die Reaktion an der richtigen Stelle. Vor allem im Zusammenwirken mit dem als Lösungsmittel verwendeten Aceton ist eine Beeinträchtigung des normalen Reaktionsablaufs denkbar. Da die Verwendung von Aceton bei Alkylierungen nicht zwingend für das Gelingen der Reaktion notwendig, sondern im Gegenteil eher ungewöhnlich ist, wurde ein neuer Versuch in reinem Dimethylformamid durchgeführt. Auch dieser brachte nicht den gewünschten Erfolg. Offensichtlich verhindert die Anilinstruktur massiv die erfolgreiche Alkylierung.

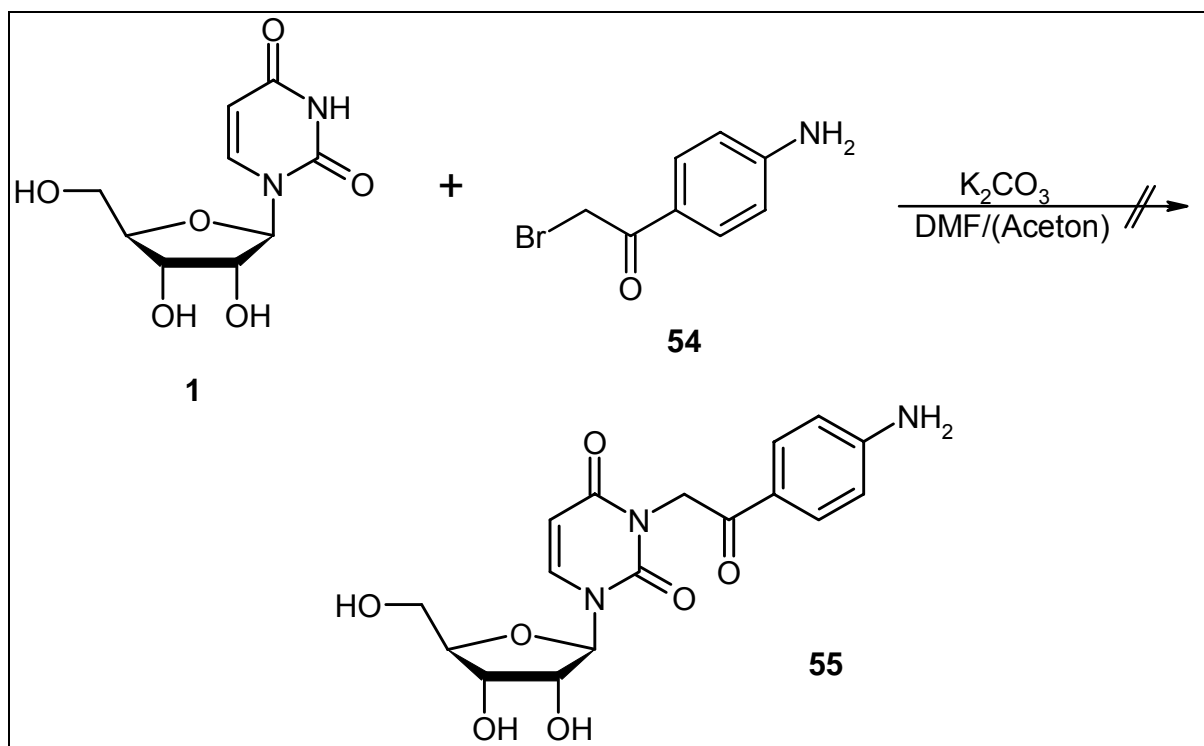
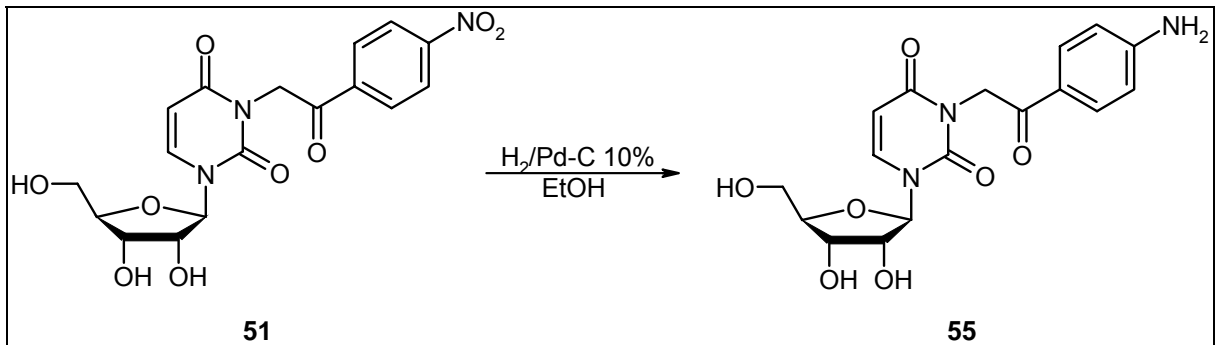


Abb. 29: Syntheseversuch von N3-(4-Aminophenacyl)uridin mit 4-Aminophenacylbromid

Als letzte Möglichkeit zur Darstellung des N3-(4-Aminophenacyl)uridin bleibt die Umwandlung des – mittlerweile vorliegenden – N3-(4-Nitrophenacyl)uridin in das gewünschte Produkt. Auf Grund der empfindlichen Nukleosidstruktur bietet sich hierzu die katalytische Reduzierung mit elementarem Wasserstoff an. Für diese Art der Reaktion gibt es eine Fülle verschiedenster Methoden, die sich hinsichtlich des verwendeten Lösungsmittels und des Katalysators unterscheiden.¹²⁴ Wie immer bei katalytischen Reaktionen haben Auswahl der Reagenzien und die Reaktionsbedingungen großen Einfluß auf den Ort und die Selektivität der Hydrierung. Weiterhin spielen die Handhabbarkeit des Katalysators und dessen Kosten eine Rolle. Deshalb – unter Berücksichtigung all dieser Aspekte – wurde nicht der für die

katalytische Reduzierung von aromatischen Nitroverbindungen übliche Raney-Nickel eingesetzt, sondern die erheblich angenehmere und sicherere Palladiumkohle verwendet. Als Lösungsmittel wurde Ethanol verwendet, durchgeführt wurde die Reaktion unter Normaldruck bei Raumtemperatur. Mit diesen Bedingungen konnte die Nitroverbindung glatt mit zufriedenstellender Ausbeute in N3-(4-Aminophenacyl)uridin überführt werden.



Schema 32: Reduktion von N3-(4-Nitrophenacyluridin) zu N3-(4-Aminophenacyl)uridin

2.3.6. Synthese von N3-Styryluridin

Im Rahmen der Strukturvariation zur Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Uridin-Derivaten fiel die Wahl auch auf das N3-Styrylderivat. Zusammen mit der N3-Phenethylverbindung kann damit festgestellt werden, ob die Carbonylfunktion im Abstand von zwei C-Atomen (vom Ringstickstoff aus gesehen) essentiell ist, oder ob eine elektronenreiche Gruppierung mit zwei C-Atomen ausreichend ist.

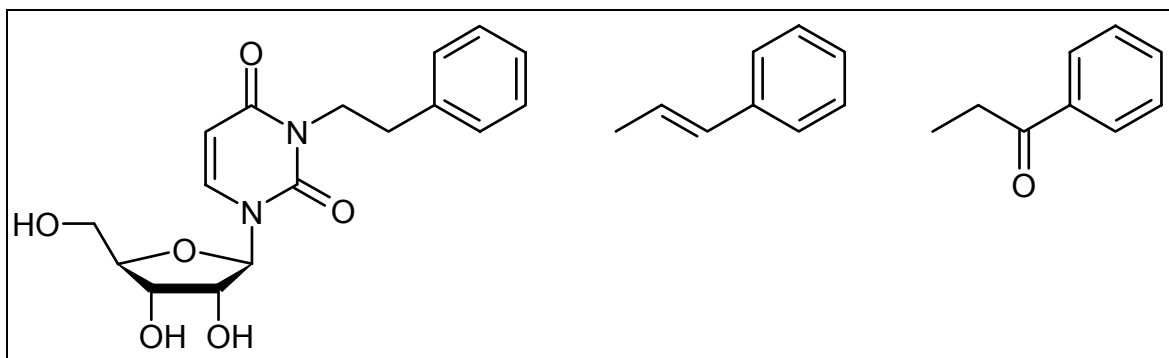
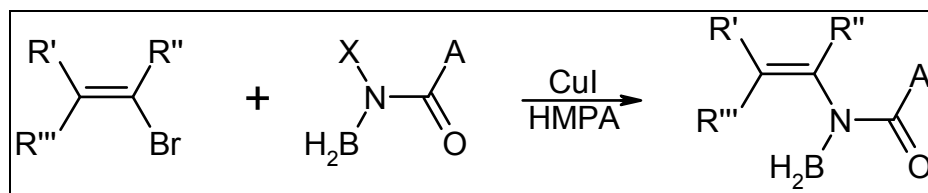


Abb. 30: N3-Phenethyl-, N3-Styryl- und N3-Phenacyluridin

Die Eigenschaften der um ein C-Atom kürzeren Verbindungen, N3-Benzyl- bzw. N3-Benzoyluridin, sind aus der Literatur bereits bekannt.

Zur Darstellung muß β -Bromstyrol verwendet werden, eine recht reaktionsfreudige Verbindung. Ein Versuch nach der herkömmlichen Sasaki-Methode ergab nicht das gewünschte Produkt, dafür aber eine Fülle von unerwünschten Nebenprodukten. Deshalb wurde in der Literatur nach alternativen Methoden für die Addition von Bromstyrol an Amide gesucht. Als am vielversprechendsten erwies sich die Arbeit einer japanischen Arbeitsgruppe aus dem Jahr 1991.¹²⁶ Darin wird die Reaktion von Vinylbromiden mit cyclischen und acyclischen Amiden zu Enamiden bzw. Enimiden in Gegenwart von Kupfer(I)iodid beschrieben.

¹²⁶ Ogawa, T.; Kiji, T.; Hayami, K.; Suzuki, H. Stereospecific One-pot Synthesis of Enamides and Enimides by the Copper Iodide Promoted Vinylic Substitution. *Chem. Lett.* **1991**, *8*, 1443-1446.



Schema 33: Reaktionsschema der Styrylsubstitution von Enamiden und Imiden mit Kupferiodid

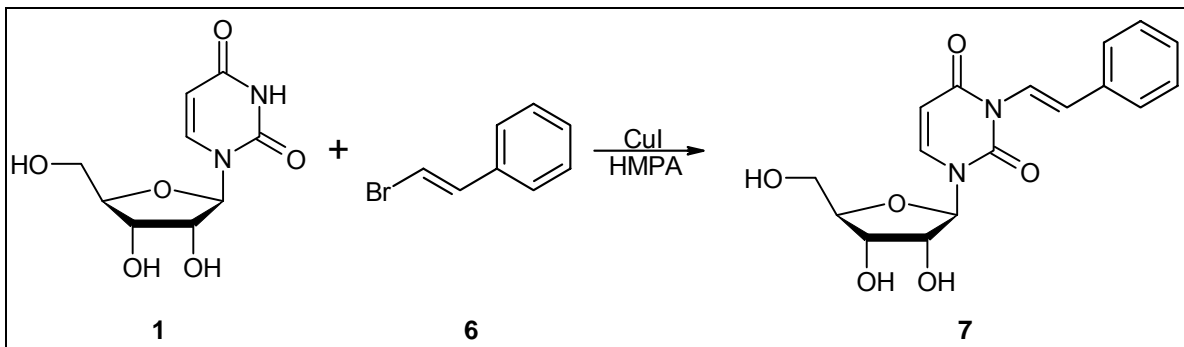
Die Reaktion hat gegenüber den sonst üblichen Methoden den Vorteil, daß sie einfach durchzuführen ist (Eintopfsynthese) und in hohem Maße stereospezifisch verläuft. Lediglich in einem von 23 dokumentierten Fällen änderte sich das Verhältnis der E/Z-Isomere wesentlich (26:74 bzw. 52:48).

Die Amide (bzw. Imide) werden als Kaliumsalze eingesetzt, das im Falle der nur schwach aciden Verbindungen am besten *in situ* durch Zusatz von Kaliumhydrid gebildet wird. Für die Durchführung werden also das gewünschte Amid, Kaliumhydrid, Vinylbromid und Kupfer(I)iodid in einem trockenen aprotischen Lösungsmittel unter Feuchtigkeitsausschluß bei 130°C zur Reaktion gebracht. Als Lösungsmittel werden von den Autoren verschiedene vorgeschlagen, die auch miteinander verglichen wurden hinsichtlich der Reaktionszeit und den Ausbeuten. Daraus leiten die Autoren die Empfehlung ab, 1,3-Dimethyl-2-imidazolin (DMIZ) oder Tetramethylharnstoff (TMU) zu verwenden. Bei den aufgeführten Beispielreaktionen wurde allerdings in allen Fällen Hexamethylphosphortriamid (HMPA) von den Autoren verwendet.

Der Mechanismus dieser Reaktion ist nicht geklärt. Auf Grund der hohen Stereospezifität scheidet ein Eliminations-Additions-Mechanismus aus. Ebenso ist ein Elektronen-Transfer-Mechanismus unwahrscheinlich, da es keine Korrelation zwischen den Halbstufenpotentialen $E_{1/2}$ der Kaliumsalze von Amiden und Imiden in HMPA und der beobachteten Reaktivität gibt. Vorstellbar wäre die Bildung eines Kupfer-Imidats *in situ*. Dem widerspricht aber das Voltammogram einer Mischung von Kupfer(I)iodid und Kaliumphthalimid in HMPA, das ausschließlich den Kupfer(I)iodid-Peak zeigt und keine andere Kupferspezies.

Am wahrscheinlichsten ist eine Aktivierung des Vinylbromids durch Koordination des Kupfers an das Bromatom, wie es auch für die Kupfer-vermittelte nukleophile

aromatische Substitution diskutiert wird. Mit dieser Methode konnte N3-Styryluridin erfolgreich dargestellt werden.



Schema 34: Synthese von N3-Styryluridin

3. Synthese von Uridin-5'-estern

3.1. Einleitung

3.1.1. Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren

3.1.1.1. Historische Entwicklung und Einteilung

Die ersten Hinweise, daß Purine auch extrazellulär als Neurotransmitter fungieren, fanden 1929 Drury und Szent-Györgyi.¹²⁷ Sie zeigten, daß Adenosin und Adenosin-5'-monophosphat, aus dem Herzmuskel extrahiert, verschiedene biologische Effekte ausüben können, wie Herzblockade, arterielle Dilatation, Blutdrucksenkung und Hemmung der intestinalen Kontraktion. Gillespie postulierte 1934 die ersten Strukturwirkungs-Beziehungen, wonach die Desaminierung zum Verlust der pharmakologischen Effekte führt, und die Anzahl der Phosphatgruppen die Art des Effekts bestimmt.¹²⁸ Dies kann auch als erster Hinweis auf die Existenz verschiedener Rezeptor-Subtypen gewertet werden.

Obwohl in den folgenden Jahren die pharmakologischen Effekte an vielen verschiedenen Geweben untersucht wurden, lag das Hauptaugenmerk auf den Wirkungen auf das Herz- und Gefäßsystem.^{129,130,131,132} Erste Untersuchungen, ob auch Uridin-Nukleotide pharmakologische Wirkung haben, wurden erst in den sechziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts durchgeführt, und auch hier zunächst am Herzen.^{133,134} Ebenfalls zu dieser Zeit wurde erstmals die Wirkung von Nukleotiden auf die Blutplättchenaggregation untersucht.¹³⁵

¹²⁷ Drury, A. N.; Szent-Györgyi, A. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart. *J. Physiol. (Lond.)*, **1929**, *68*, 213-237.

¹²⁸ Gillespie, J. H. The biological significance of the linkages in adenosine triphosphoric acid. *J. Physiol. (Lond.)* **1934**, *80*, 345-349.

¹²⁹ Gaddum, J. H., Holtz, P. The localization of the action of drugs on the pulmonary vessels of dogs and cats. *J. Physiol. (Lond.)* **1933**, *77*, 139-158.

¹³⁰ Emmelin, N.; Feldberg, W. Systemic effects of adenosine triphosphate. *Br. J. Pharmacol.* **1948**, *3*, 273-284.

¹³¹ Folkow, B. The vasodilator action of adenosine triphosphate. *Acta Physiol. Scand.* **1949**, *17*, 311-316.

¹³² Green, H. N.; Stoner, H. B. Biological Actions of Adenine Nucleotides. H. K. Lewis & Co. Ltd.: London **1950**.

¹³³ Hashimoto, K.; Kumakura, S.; Tanemura, I. Mode of action of adenine, uridine and cytidine nucleotides and 2,6-bis(diethanolamino)-4,8-dipiperidinopyrimido-(5,4-d) pyrimidine on the coronary, renal and femoral arteries. *Arzneim-Forsch.*, **1964**, *14*, 1252-1254.

¹³⁴ Boyd, I. A.; Forrester, T. The release of adenosine triphosphate from frog skeletal muscle in vitro. *J. Physiol. (Lond.)* **1968**, *199*, 115-135.

¹³⁵ Born, G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature (Lond.)* **1962**, *194*, 927-928.

Mittlerweile sind vielfältige pharmakologische Effekte durch extrazelluläre Purin- und Pyrimidin-Nukleotide in fast allen Geweben dokumentiert, die sich sowohl auf einzelne Zellen als auch auf Organe und Organismen beziehen. Dazu zählen Modulation der Herzfunktionen, Schmerz- und Entzündungsmodulation, Blutplättchenaggregation, Kontraktion glatter Muskelzellen, Neurotransmitter-Funktionen im peripheren und zentralen Nervensystem, exokrine und endokrine Sekretion.

An der großen Zahl der biologischen und pharmakologischen Effekte kann die herausragende Bedeutung der Nukleoside (v. a. Adenosin) und Nukleotide als extrazelluläre Neurotransmitter abgelesen werden. Dabei wurde zu Beginn diese Erkenntnis mit großer Skepsis betrachtet.¹³⁶

Einblick in die physiologische Rolle der extrazellulären Nukleoside und Nukleotide bekam man durch die Untersuchung ihrer biologischen Quellen und der Bedingungen, unter denen sie ausgeschüttet werden. Eine der wichtigsten Untersuchungen im Hinblick auf diese Fragen dokumentierte die Ausschüttung von Adenosin während einer Herz-Mangeldurchblutung.^{137,138}

Als Quelle für Nukleoside und Nukleotide sind mittlerweile eine Vielzahl von Zellen bekannt. Dazu zählen die chromaffinen Granula der Nebenniere¹³⁹, Thrombozyten^{140,141}, Mastzellen und basophile Leukozyten¹⁴², Erythrozyten^{143,144},

¹³⁶ Barnard, E. A.; Burnstock, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In *P2 Purinoceptors: Localization, Function and Transduction Mechanisms*, CIBA Foundation Symposium, Wiley, Chichester: **1996**, 262-265.

¹³⁷ Berne, R. M. Cardiac nucleotides in hypoxia: Possible role in regulation of coronary blood flow. *Am. J. Physiol.* **1963**, *204*, 317-322.

¹³⁸ Gerlach, E.; Deuticke, B.; Dreisbach, R. H. Der Nucleotid-Abbau im Herzmuskel bei Sauerstoffmangel und seine mögliche Bedeutung für die Coronardurchblutung. *Naturwissenschaften* **1963**, *50*, 228-229.

¹³⁹ Cena, V.; Rojas, E. Kinetic characterization of calcium-dependent, cholinergic receptor-controlled ATP secretion from adrenal medullary chromaffin cells. *Biochim. Biophys. Acta.* **1990**, *1023*, 213-222.

¹⁴⁰ Born, G. V. R.; Kratzer, M. A. A. Source and concentration of extracellular adenosine triphosphate during hemostasis in rats, rabbits and man. *J. Physiol. (Lond)* **1984**, *354*, 419-429.

¹⁴¹ Gordon, J. L. Extracellular ATP: Effects, sources and fate. *Biochem. J.* **1986**, *233*, 309-319.

¹⁴² Osipchuk, Y.; Cahalan, M. Cell-to-cell spread of calcium signals mediated by ATP receptors in mast cells. *Nature (Lond.)* **1992**, *359*, 241-244.

¹⁴³ Forrester, T. Release of ATP from heart: Presentation of a release model using human erythrocyte. *Ann. N Y Acad. Sci.* **1990**, *603*, 335-352.

¹⁴⁴ Ellsworth, M. L.; Forrester, T.; Ellis, C. G.; Dietrich, H. H. The erythrocyte as a regulator of vascular tone. *Am. J. Physiol.* **1995**, *269*, H2155-H2161.

Fibroblasten¹⁴⁵, Herzmuskelzellen¹⁴³, Endothel-^{146,147} und Epithelzellen¹⁴⁸. Aus diesen Speicherorten können die Substanzen sowohl unter physiologischen als auch unter pathophysiologischen Bedingungen ausgeschüttet werden.

Die meisten dieser Erkenntnisse beziehen sich auf die Purin-Nukleotide. Der Kenntnisstand über die Quellen und die Ausschüttungs-Bedingungen für die Pyrimidin-Nukleotide ist bislang nicht so weit fortgeschritten.

Die biologischen Effekte der Nukleoside und Nukleotide werden durch die nach ihnen benannten Rezeptoren vermittelt. Die Ergebnisse der vielfältigen Untersuchungen legten ihre Existenz nahe. Dazu zählt auch die Arbeit von Sattin und Rall, die den spezifischen Antagonismus der Methylxanthine gegenüber der Adenosin-vermittelten cAMP-Akkumulation in Rattenhirnzellen beschreibt.¹⁴⁹

Einen ersten Überblick über die Rolle von ATP als Neurotransmitter gab 1972 Geoffrey Burnstock.¹⁵⁰ Dieser kann als Basis für seine einige Jahre später veröffentlichte Arbeit gelten, in der er die Existenz zwei verschiedener Klassen von – wie sie von ihm genannt wurden – purinergen Rezeptoren postuliert.¹⁵¹ Die Hauptkriterien für seine Theorie waren die unterschiedlichen Wirkstärken von Adenosin und seiner Phosphate, der erwähnte spezifische Antagonismus der Methylxanthine gegenüber Adenosin, die Aktivierung von cAMP durch Adenosin und die Stimulation der Prostaglandinsynthese durch ATP und ADP. Seine Einteilung wurde in den folgenden Jahren bestätigt und ist nach wie vor Grundlage der Nomenklatur, nach der die Rezeptoren benannt werden.

¹⁴⁵ Grierson, J. P.; Meldolesi, J. Shear stress-induced $[Ca^{2+}]_i$ transients and oscillations in mouse fibroblasts are mediated by endogenously released ATP. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 4451-4456.

¹⁴⁶ Ralevic, V.; Lincoln, J.; Burnstock, G. Release of vasoactive substance from endothelial cells. in *Endothelial Regulation of Vascular Tone*. Marcel Dekker, New York: **1991**, 297-328.

¹⁴⁷ Bodin, P.; Milner, P.; Winter, R.; Burnstock, G. Chronic hypoxia changes the ratio of endothelin to ATP release from rat aortic endothelial cells exposed to high flow. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **1992**, *247*, 131-135.

¹⁴⁸ Enemoto, K.; Furya, K.; Yamagishi, S.; Oka, T.; Maeno, T. The increase in the intracellular Ca^{2+} concentration induced by mechanical stimulation is propagated via release of pyrophosphorylated nucleotides in mammary epithelial cells. *Pflüeg. Arch. Eur. J. Physiol.* **1994**, *427*, 533-542.

¹⁴⁹ Sattin, A.; Rall, T. W. The effect of adenosine and adenine nucleotides on the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate content of guinea pig cerebral cortex slices. *Mol. Pharmacol.* **1970**, *6*, 13-23.

¹⁵⁰ Burnstock, G. Purinergic nerves. *Pharmacol. Rev.* **1972**, *24*, 509-581.

¹⁵¹ Burnstock, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor. In *Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones*, Raven, New York: **1978**, 107-118.

Die erste Klasse wird als P1-Rezeptoren bezeichnet, als Synonyme werden die Begriffe Adenosin- und Nukleosid-Rezeptoren verwendet, da das Nukleosid Adenosin der einzige physiologische Ligand ist. Durch die Entdeckung der Xanthine als Antagonisten in den siebziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurden hier als erstes konkrete Ergebnisse erzielt, lange vor der ersten erfolgreichen Klonierung eines Vertreters.¹⁵² Zur Zeit sind vier verschiedene Subtypen, A₁, A_{2A}, A_{2B} und A₃, bekannt.

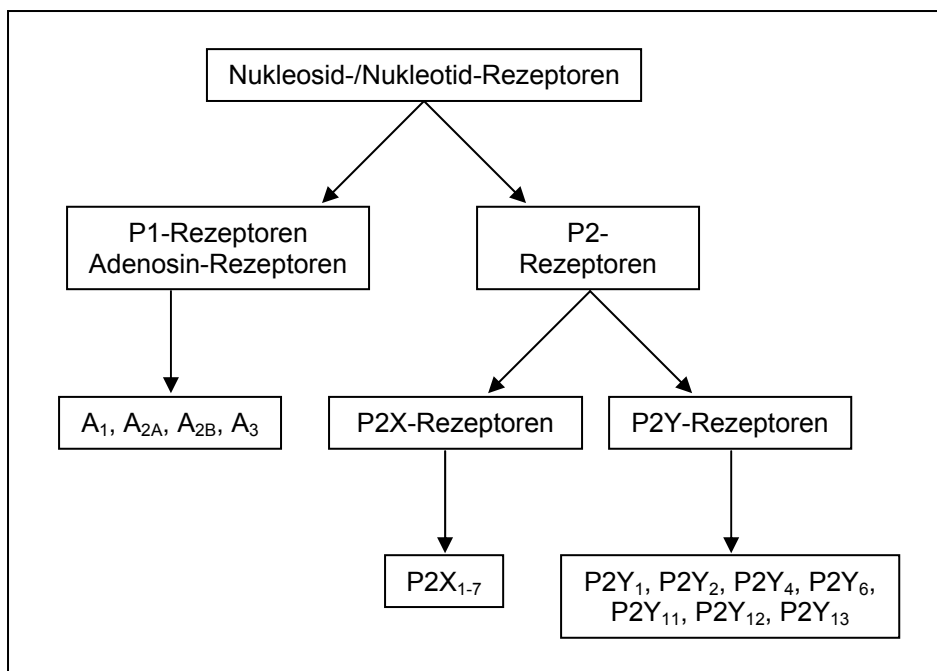


Abb. 31: Einteilung und Subtypen der Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren

Bei den P2-Rezeptoren wird zwischen den P2X- und den P2Y-Rezeptoren unterschieden, da es sich hierbei um verschiedene Rezeptortypen handelt. Erstere stellen Ligand-gesteuerte Ionenkanäle dar¹⁵³, während letztere G-Protein-gekoppelte Rezeptoren sind¹⁵⁴.

Bevor dies erkannt wurde, unterschied man die beiden Gruppen anhand der Affinitäten verschiedener ATP-Bioisostere, wobei zunächst nur von zwei einzelnen Rezeptoren ausgegangen wurde. Wiederum von Burnstock wurden die

¹⁵² Daly, J. W. Alkylxanthines as research tools. *J. Auton. Nerv. Syst.* **2000**, *81*, 44-52.

¹⁵³ Benham, C. D.; Tsien, R. W. A novel receptor-operated Ca²⁺-permeable channel activated by ATP in smooth muscle. *Nature (Lond.)*, **1987**, *238*, 275-278.

¹⁵⁴ Dubyak, G. R. Signal transduction by P₂-purinergic receptors for extracellular ATP. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, **1991**, *4*, 295-300.

Bezeichnungen P2X- und P2Y-Rezeptor dafür geprägt.¹⁵⁵ Ersterer wird durch die hydrolyse-stabileren Derivate α,β -Methylen-ATP und β,γ -Methylen-ATP aktiviert. Diese sind am P2Y-Rezeptor nicht wirksam, dafür ist dort 2-Methylthio-ATP der wirksamste Agonist.

Etwa zur gleichen Zeit ergaben sich die ersten pharmakologischen Hinweise auf die Existenz eines P2-Rezeptors auf den Thrombozyten – zunächst als P_{2T}-Rezeptor bezeichnet, heute P2Y₁₂-Rezeptor (daneben exprimieren Thrombozyten P2X₁- und P2Y₁-Rezeptoren) – und des UTP-sensitiven P_{2U}-Rezeptors.¹⁵⁶

Schließlich postulierte Burnstock 1994, daß es sich bei dem P2X- und P2Y-Rezeptor nicht um einzelne, sondern um eine Gruppe von Rezeptoren handelt.¹⁵⁷ Basis dafür war die Arbeit von Dubyak über die Signaltransduktion von extrazellulären Nukleotiden über die P2-Rezeptoren.¹⁵⁸

Mittlerweile sind in beiden Gruppen jeweils sieben verschiedene Subtypen bekannt. Darüber hinaus sind weitere Rezeptoren postuliert worden, zum Beispiel ein UDP-Glucose-sensitiver Rezeptor (P2Y₁₄)¹⁵⁹, ein durch Dinukleotide aktivierter Rezeptor (P_{2D}/P2Y_{Ap4A})¹⁶⁰ und ein P3-Rezeptor, an dem sowohl Nukleoside als auch Nukleotide wirksam sind¹⁶¹.

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal der P2-Rezeptoren sind ihre physiologischen Agonisten. Die P2X-Rezeptoren werden nur durch Adenosin triphosphat aktiviert, P2Y-Rezeptoren können sowohl durch Adenosin- als auch durch Uridin-Nukleotide aktiviert werden, und zwar durch Diphosphate oder Triphosphate. Die von ihnen

¹⁵⁵ Burnstock, G.; Kennedy, C. Is there a basis for distinguishing two types of P₂-purinoceptor? *Gen. Pharmacol.* **1985**, *16*, 433-440.

¹⁵⁶ Gordon, J. L. Extracellular ATP: Effects, sources and fate. *Biochem. J.* **1986**, *233*, 309-319.

¹⁵⁷ Abbracchio, M. P.; Burnstock, G. Are there families of P_{2X} and P_{2Y} purinoceptors. *Pharmacol. Ther.* **1994**, *64*, 445-475.

¹⁵⁸ Dubyak, G. R.; El Moatassim, C. Signal transduction via P₂-purinergic receptors for extracellular ATP and other nucleotides. *Am. J. Physiol.* **1993**, *265*, C577-C606.

¹⁵⁹ Chambers, J. K.; Macdonald, L. E.; Sarau, H. M.; Ames, R. S.; Freeman, K.; Foley, J. J.; Zhu, Y.; McLaughlin, M. M.; Murdock, P.; McMillan, L.; Trill, J.; Swift, A.; Aiyar, N.; Taylor, P.; Vawter, L.; Naheed, S.; Szekeres, P.; Hervieu, G.; Scott, C.; Watson, J. M.; Murphy, A. J.; Duzic, E.; Klein, C.; Bergsma, D. J.; Wilson, S.; Livi, G. P. A G Protein-coupled Receptor for UDP-glucose. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 10767-10771.

¹⁶⁰ Pintor, J.; Miras Portugal, M. T. Receptors for diadenosine polyphosphates P_{2D}, P2Y_{Ap4A}, P4 and dinucleotide receptors: are there too many? *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 135.

¹⁶¹ Shinozuka, K.; Bjur, R. A.; Westfall, D. P. Characterization of prejunctional purinoceptors on adrenergic nerves of the rat caudal artery. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1988**, *338*, 221-227.

ausgelösten Effekte sind stark von der Spezies und vom vorliegenden Gewebe abhängig.

Zusätzlich wird in der Regel in einem Gewebe bzw. von einer Zelle nie nur ein Rezeptortyp exprimiert, sondern sowohl P1- als auch P2-Rezeptoren und zusätzlich auch mehrere Subtypen. Diese liegen meist in sehr großer örtlicher Nähe in der Zellmembran. Durch die ubiquitär vorkommenden Ecto- und Endonukleotidasen werden weiterhin die Triphosphate schnell in die Di- und Monophosphate und letztere durch Phosphatasen weiter zu den Nucleosiden abgebaut. Dadurch entsteht eine purinerge Kaskade, da mehr oder weniger gleichzeitig für jeden vorliegenden Rezeptorsubtyp der entsprechende Ligand vorliegt.¹⁶²

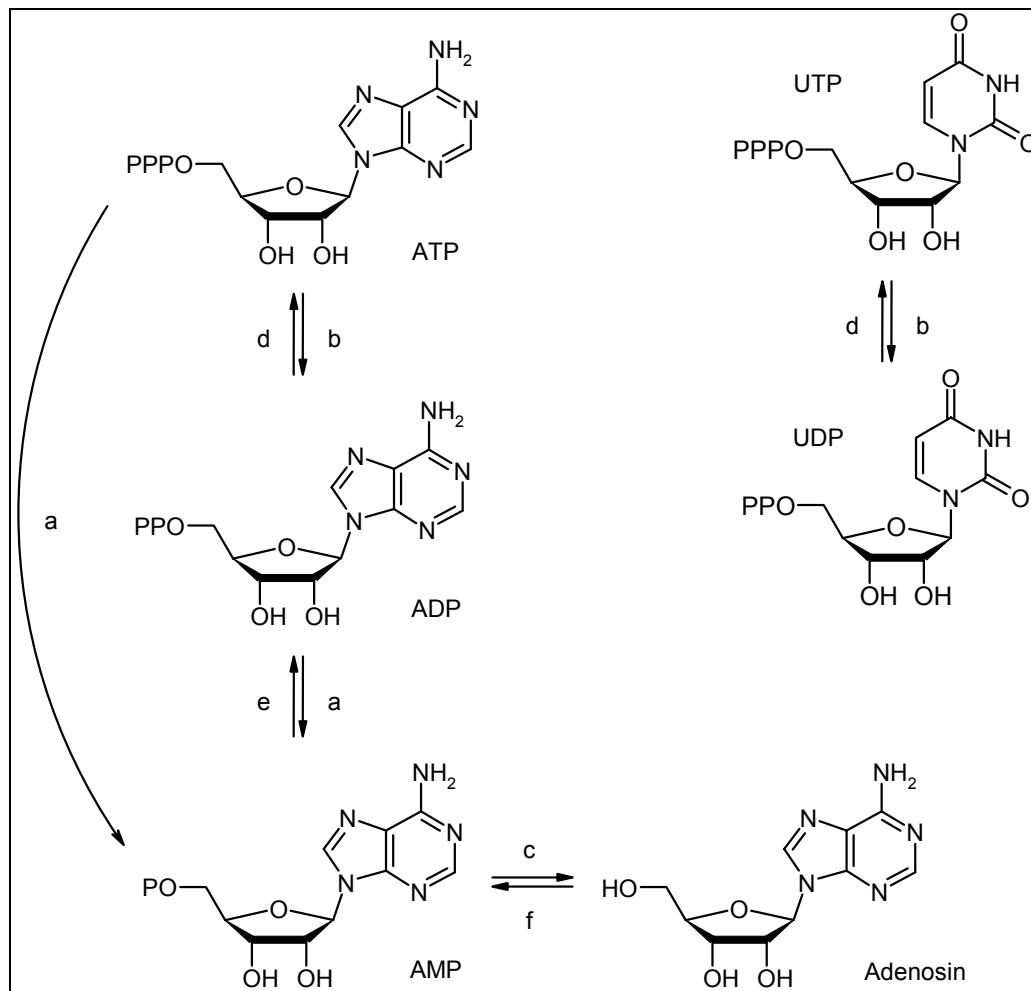


Abb. 32: Metabolische Umwandlung natürlich vorkommender Nucleotide mit extrazellulärer Wirkung. P bezeichnet eine Phosphatgruppe. (a) Ectoapyrase, NTPDase 1, (b) Ecto-ADPase, NTPDase 2, (c) 5'-Nucleotidase, (d) Nucleosid-diphosphokinase, (e) AMP-Kinase, (f) Adenosin-Kinase¹⁶³

¹⁶² Williams, M.; Jarvis, M. F. Purinergic and pyrimidinerge receptors as potential drug targets. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59*, 1173-1185.

¹⁶³ Jacobson, K. A.; Jarvis, M. F.; Williams, M. Purine and Pyrimidine (P2) Receptors as Drug Targets. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4057-4093.

Die Erforschung der biologischen Funktionen und der pharmakologischen Eigenschaften der P2-Rezeptoren ist mit einigen Schwierigkeiten behaftet. Dazu zählt vor allem ein Mangel an potenten und Subtyp-selektiven Agonisten und Antagonisten. Die derzeit verwendeten Substanzen sind teilweise noch nicht einmal selektiv für P2-Rezeptoren, sondern interagieren auch mit anderen Systemen.

Problematisch ist häufig auch die Reinheit der verwendeten Substanzen. So wurde in vielen der früheren Studien Reactive Blue 2 als Antagonist verwendet, das nur ca. 40-50 % dieser Substanz enthielt, und der Rest von der Zusammensetzung her unbekannt bzw. uncharakterisiert war.¹⁶³ Ebenfalls häufig problematisch ist die Reinheit der kommerziell erhältlichen Nukleotide, vor allem der Diphosphate, die in der Regel auch die Tri- und Monophosphate enthalten können.

Gerade bei den P2X-Rezeptoren ist entscheidend, welche Untereinheiten in welchem Maße von der Zelle exprimiert werden, hängt davon doch die Zusammensetzung der funktionsfähigen Kanäle ab. Hier können große Unterschiede zwischen den rekombinaten und natürlichen Rezeptoren auftreten. Die mit einem System erhaltenen Daten können also nicht ohne weiteres auf andere extrapoliert werden.

Der schnelle Abbau der Nukleotide durch die große Familie der Ectonucleotidasen ist ein weiteres Problem. Selbst die stabileren Derivate, bei denen meist der Brückensauerstoff ersetzt ist, in der Regel durch eine (halogenierte) Methylengruppe, können durch diese Enzyme abgebaut werden, wenn auch deutlich langsamer.¹⁶⁴ Die Geschwindigkeit hängt aber nicht nur von der Struktur des Substrats ab, sondern auch vom vorliegenden Gewebe und dessen funktionellem Status.¹⁶⁵ Dies kann zu einer Rezeptorcharakterisierung führen, die mehr von der Labilität des verwendeten Agonisten abhängt, als von den intrinsischen Eigenschaften dieses Agonisten für den Rezeptor.

¹⁶⁴ Zimmermann, H. Ectonucleotidasen. In *Purinergic and Pyrimidinergetic Signalling*. Abbracchio, M. P.; Williams, M. Eds.; *Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 51, Part 1. Molecular Aspects, Central and Peripheral Nervous System Function*; Springer Verlag: Heidelberg, 2001; 209-250.

¹⁶⁵ Clifford, E. E.; Martin, K. A.; Dalal, P.; Thomas, R.; Dubyak, G. R. Stage specific expression of P2Y receptors, ecto-ATPase and ecto-5'-nucleotidase in myeloid leukocytes. *Am. J. Physiol.* **2000**, *273 (Cell Physiol. 42)*, C973-C987.

Schließlich können die Nucleoside und deren Mono- und Diphosphate im natürlichen Gewebe von entsprechenden Enzymen phosphoryliert werden, wodurch sich wiederum das pharmakologische Profil verändert.¹⁶⁶ Ein weiteres Phänomen zeigen einige P2-Antagonisten wie z. B. ARL 66096, die in der Lage sind, das Enzym Ectonucleosid-triphosphat-diphosphohydrolase CD39 zu hemmen. Dadurch kommt es zu einer Verstärkung der endogenen ATP- bzw. UTP-Effekte und eine solche Verbindung erscheint dann insgesamt als Agonist.¹⁶⁷

Tab. 1: IC₅₀-Werte (nM) ausgewählter P2-Rezeptor-Antagonisten (h: human, r: Ratte, t: Truthahn)¹⁶³; ^a Hemmung in Prozent bei 100 µM.¹⁶⁸

	P2X ₁	P2X ₂	P2X ₃	P2X ₄	P2X ₅	P2X ₆	P2X ₇
Suramin	1000 (r)	10400 (r)	14900(h)	>100000 (r)	4000 (r)	>100000 (r)	92000 (h)
R. Blue 2		360 (r)		128000 (h)			
PPADS	99 (r)	1200 (r)	1700 (h)	10000 (h)	2600 (r)	>100000 (r)	62000 (h)
	P2Y ₁	P2Y ₂	P2Y ₄	P2Y ₆	P2Y ₁₁	P2Y ₁₂	
Suramin	>10000 (t)	48000 (h)	>100000 (h)	27 % ^a	16000 (h)	4000 (r)	
R. Blue 2	>10000 (t)	>100000 (h)	33 % ^a	87 % ^a	>100000 (h)	25 (r)	
PPADS	1000 (h)	>10000 (h)	>10000 (h)	69 % ^a		>100000 (r)	

¹⁶⁶ Lazarowski, E. R.; Boucher, R. C.; Harden, T. K. Constitutive release of ATP and evidence for major contribution of ecto-nucleotide pyrophosphatase and nucleoside diphosphokinase to extracellular nucleotide concentrations. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 31061-31068.

¹⁶⁷ Crack, B. E.; Beukers, M. W.; McKenchie, K. C. W.; IJzerman, A. P.; Leff, P. Pharmacological analysis of ecto-ATPase inhibition: evidence for combined enzyme inhibition and receptor antagonism in P_{2X}-purinoceptor ligands. *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *113*, 1432-1438.

¹⁶⁸ Nguyen, T.; Erb, L.; Weismann, G. A.; Marchese, A.; Heng, H. H.; Garrad, R. C.; George, S. R.; Turner, J. T.; O'Dowd, B. F. Cloning, expression, and chromosomal-localization of the human uridine nucleotide receptor gene. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 30845-30848.

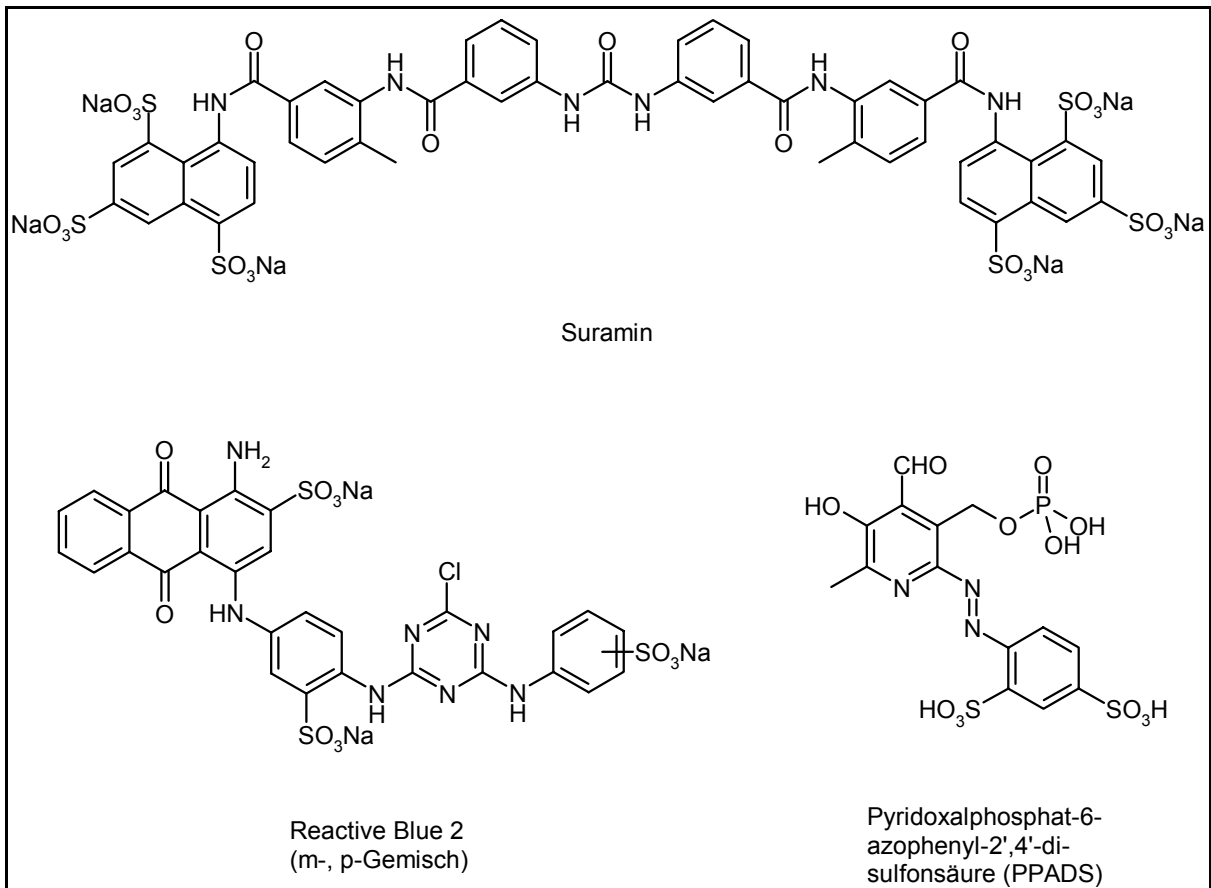


Abb. 33: ausgewählte P2-Rezeptor-Antagonisten

3.1.1.2. Adenosin-Rezeptoren

Für die G-Protein-gekoppelten Adenosin-Rezeptoren ist, ihrem Namen entsprechend, das Nucleosid Adenosin der einzige physiologische Ligand, weshalb man sie auch als Nucleosid-Rezeptoren bezeichnet. Es existieren vier verschiedene Subtypen, die sich hinsichtlich ihrer Affinität für Adenosin, ihrer Gewebeverteilung und ihres pharmakologischen Profils unterscheiden. Ebenso zeigen sich Unterschiede in Spezifität und Selektivität für andere Agonisten und Antagonisten.

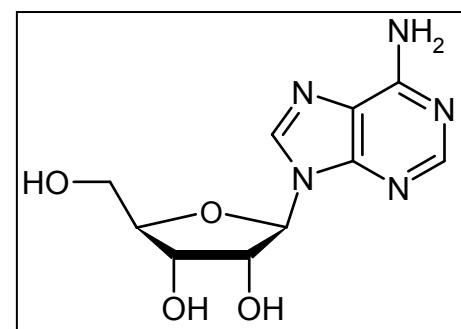


Abb. 34: Das Nucleosid Adenosin

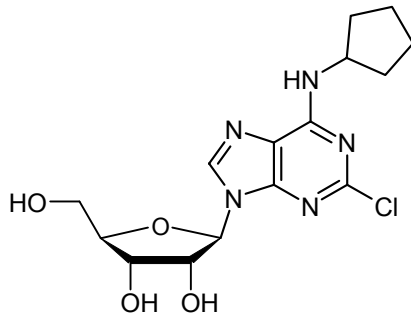
Das Gebiet der Adenosin-Rezeptoren ist im Vergleich zu den P2-Rezeptoren zum gegenwärtigen Zeitpunkt deutlich weiter fortgeschritten. Mittlerweile ist es gelungen, für jeden Subtyp hoch selektive Agonisten (außer für den A_{2B}-Rezeptor) und Antagonisten zu synthetisieren. Damit wird eine therapeutische Anwendung immer

wahrscheinlicher, da man nun nicht mehr mit allen Effekten rechnen muß, die durch eine unselektive Anregung oder Blockade aller Subtypen auftreten können. So werden bereits jetzt z. B. A_{2A}-Antagonisten als vielversprechende Therapeutika bei Morbus Parkinson entwickelt.¹⁶⁹

Durch die zur Verfügung stehenden Subtyp-selektiven Substanzen zusammen mit der Kenntnis der Aminosäuresequenzen der Rezeptoren hat man durch die Anwendung von Molecular-modelling-Verfahren eine recht genaue Vorstellung, wie die Bindungstasche gestaltet ist und welche Aminosäuren für die Ligand-Bindung wichtig sind. Dies erlaubt das noch gezieltere Design von neuen, verbesserten Liganden.

¹⁶⁹ Richardson, P. J.; Kase, H.; Jenner, P. G. Adenosine A_{2A} Antagonists as New Agents for the Treatment of Parkinson's Disease. *Trends Pharmacol. Sci.* **1997**, *19*, 148-153.

Beispiele für potente und selektive Adenosin-Rezeptor-Agonisten



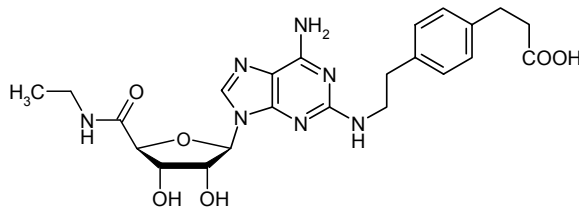
CCPA (A₁-selektiv)

$$K_i (A_1) = 0.8^{170, a}$$

$$K_i (A_{2A}) = 2270^{170, b}$$

$$K_i (A_{2B}) = 40100^{171, c}$$

$$K_i (A_3) = 42^{170, b}$$



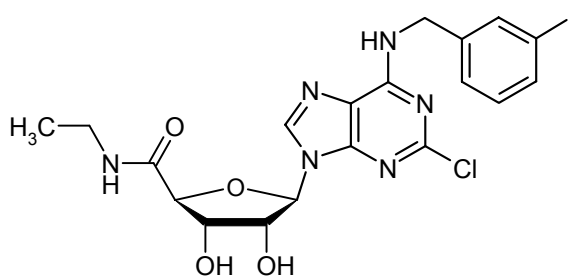
CGS-21680 (A_{2A}-selektiv)

$$K_i (A_1) = 289^{170, a}$$

$$K_i (A_{2A}) = 27^{170, b}$$

$$K_i (A_{2B}) = 361000^{171, c}$$

$$K_i (A_3) = 67^{170, b}$$



CI-IB-MECA (A₃-selektiv)

$$K_i (A_1) = 115^{172, d}$$

$$K_i (A_{2A}) = 2100^{172, b}$$

$$EC_{50} (A_{2B}) = > 100000^{172, e}$$

$$K_i (A_3) = 11.1^{172, b}$$

^a[³H]DPCPX; ^b[³H]NECA; ^c[¹²⁵I]ABOPX; ^d[³H]CCPA; ^e AC-Assay; ^f[³H]PSB-11; ^g[³H]CGS-21680; ^h[³H]ZM-241385

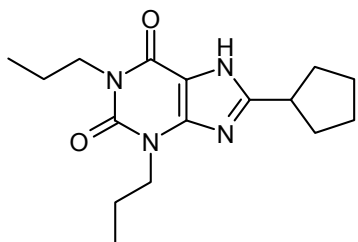
Abb. 35: Beispiele für potente und selektive Adenosin-Rezeptor-Agonisten

¹⁷⁰ Klotz, K. N.; Hessling, J.; Hegler, J.; Owman, C.; Kull, B.; Fredholm, B. B.; Lohse, M. J. Comparative Pharmacology of Human Adenosine Receptor Subtypes – Characterization of Stably Transfected Receptors in CHO Cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1998**, 357, 1-9.

¹⁷¹ Linden, J.; Thai, T.; Figler, H.; Jin, X.; Robeva, A. S. Characterization of Human A(2B) Adenosine Receptors: Radioligand Binding, Western Blotting and Coupling to G(q) in Human Embryonic Kidney 293 cells and HMC-1 Mast Cells. *Mol. Pharmacol.* **1999**, 56, 705-713.

¹⁷² Klotz, K. N.; Camaioni, E.; Volpini, R.; Kachler, S.; Vittori, S.; Cristalli, G. 2-Substituted N-Ethylcarboxymidoadenosine derivatives as high-affinity agonists at human A₃ adenosine receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1999**, 360, 103-108.

Beispiele für potente und selektive Adenosin-Antagonisten



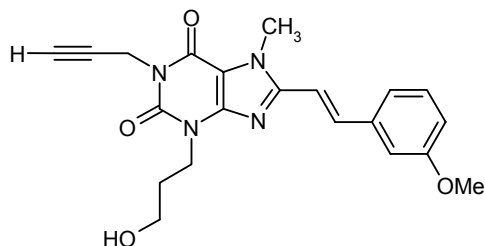
DPCPX (A₁-selektiv)

$$K_i (A_1) = 3^{173, d}$$

$$K_i (A_{2A}) = 129^{173, b}$$

$$K_i (A_{2B}) = 51^{173}$$

$$K_i (A_3) = 3960^{173, b}$$



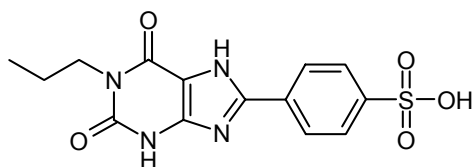
MSX-2 (A_{2A}-selektiv)

$$K_i (A_1) = 2500^{174, d}$$

$$K_i (A_{2A}) = 5^{174, d}$$

$$K_i (A_{2B}) = > 10000^{175}$$

$$K_i (A_3) = > 10000^{176, f}$$



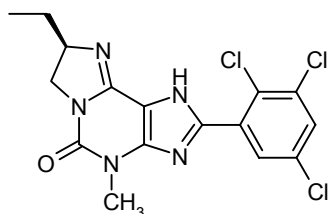
PSB-1115 (A_{2B}-selektiv)

$$K_i (A_1) = 7400^{176, d}$$

$$K_i (A_{2A}) = 4700^{176, g}$$

$$K_i (A_{2B}) = 53.4^{177, h}$$

$$K_i (A_3) = 9200^{176, f}$$



PSB-10 (A₃-selektiv)

$$K_i (A_1) = 1700^{178, d}$$

$$K_i (A_{2A}) = 2700^{178, g}$$

$$K_i (A_{2B}) = 30000^{176, h}$$

$$K_i (A_3) = 0.43^{178, b}$$

^a[³H]DPCPX; ^b[³H]NECA; ^c[¹²⁵I]ABOPX; ^d[³H]CCPA; ^e AC-Assay; ^f[³H]PSB-11; ^g[³H]CS-21680; ^h[³H]ZM-241385

Abb. 36: Beispiele für potente und selektive Adenosin-Rezeptor-Antagonisten

¹⁷³ Müller, C. E. A₁ Adenosine Receptors and Their Ligands: Overview and Recent Developments. *Farmacol.* **2001**, *56*, 77-80.

¹⁷⁴ Sauer, R.; Maurinsh, J.; Reith, U.; Fülle, F.; Klotz, K. N.; Müller, C. E. Water-soluble Phosphate Prodrugs of 1-Propargyl-8-styrylxanthine Derivatives, A_{2A}-Selective Adenosine Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 440-448.

¹⁷⁵ Müller, C. E.; Sauer, R.; Maurinsh, Y.; Huertas, R.; Fülle, F.; Klotz, K. N.; Nagel, J.; Hauber, W. A_{2A}-selective Adenosine Receptor Antagonists: Development of Water-Soluble Prodrugs and a new Tritiated Radioligand. *Drug Dev. Res.* **1998**, *45*, 190-197.

¹⁷⁶ Diekmann, M. Charakterisierung neuer Radioliganden als pharmakologische Werkzeuge für A_{2B}- und A₃-Adenosin-Rezeptoren, Identifizierung neuer Leitstrukturen & Analyse von Struktur-Wirkungs-Beziehungen durch Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien. Dissertation Bonn **2003**.

¹⁷⁷ Hayallah, A. M.; Sandoval-Ramirez, J.; Reith, U.; Schobert, U.; Preiss, B.; Schumacher, B.; Daly, J. W.; Müller, C. E. 1,8-Disubstituted Xanthine Derivatives: Synthesis of potent A_{2B}-selective Adenosine Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1500-1510.

¹⁷⁸ Ozola, V.; Thorand, M.; Diekmann, M.; Qurishi, R.; Schumacher, B.; Jacobson, K. A.; Müller, C. E. 2-Phenylimidazo-[2,1-i]purin-5-ones: Structure-Activity Relationships and Characterization of Potent and Selective Antagonists at Human A₃ Adenosine Receptors. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 347-356.

3.1.1.3. P2X-Rezeptoren

Die P2X-Rezeptoren sind Ligand-gesteuerte Ionenkanäle, deren physiologischer Agonist das Nucleotid Adenosin-triphosphat (ATP) ist. Die Zeit, die von der Bildung des Ligand-Rezeptor-Komplexes bis zum

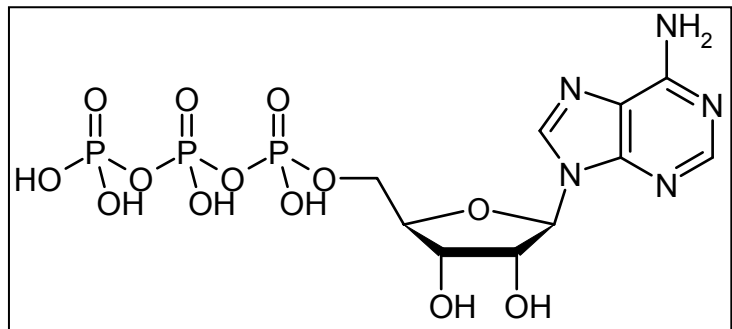


Abb. 37: Das Nucleotid Adenosin-triphosphat

physiologischen Effekt vergeht, liegt im Bereich von 10 msec. Damit zählen sie zu den mittel-schnellen Ionenkanälen.¹⁷⁹ Bis heute sind sieben verschiedene Subtypen, P2X₁ - P2X₇, kloniert, pharmakologisch charakterisiert und als Mitglieder der P2X-Familie anerkannt.

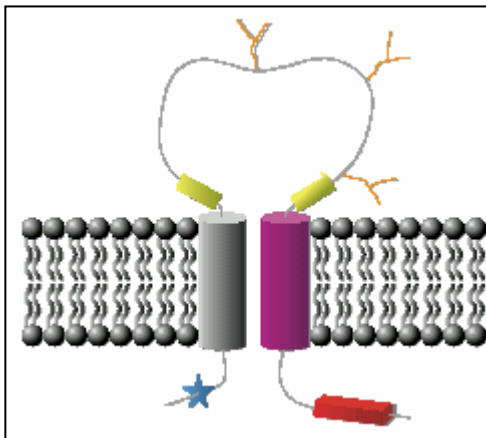


Abb. 38: Schematische Darstellung eines P2X-Rezeptors¹⁸¹

Die Rezeptoren werden aus lediglich zwei transmembranären Domänen gebildet, die über eine große extrazelluläre Schleife miteinander verbunden sind. Diese macht den größten Teil des Rezeptors aus und enthält die ATP-Bindungsstelle. N- und C-Terminus sind im Zellinneren lokalisiert.¹⁸⁰

Da zwei transmembranäre Domänen noch keine Pore in der Zellmembran bilden können, sind immer mehrere Rezeptorproteine an der Kanalbildung beteiligt. Dabei können sowohl gleichartig zusammengesetzte, also Homomere, als auch verschieden zusammengesetzte, i. e. Heteromere, gebildet werden. Letztere bestehen aus maximal zwei verschiedenen Untereinheiten.¹⁸² Interessanterweise findet man die P2X₆-Untereinheit nur in Heteromeren¹⁸³, Die

¹⁷⁹ Ralevic, V.; Burnstock, G. Receptors for Purines and Pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 415-492.

¹⁸⁰ Jiang, L.-H.; Kim, M.; Spelta, V.; Bo, X.; Surprenant, A.; North, R. A. Subunit Arrangement in P2X Receptors. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 8903-8910.

¹⁸¹ Abbildung aus: Robertson, S. J.; Ennion, S. J.; Evans, R. J.; Edwards, F. A. Synaptic P2X receptors. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2001**, *11*, 378-386.

¹⁸² North, R. A. Molecular Physiology of P2X Receptors. *Physiol. Rev.* **2002**, *82*, 1013-1067.

¹⁸³ North, R. A.; Surprenant, A. Pharmacology of P2X Receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2000**, *40*, 563-580.

P2X₇-Untereinheit nur in Homomeren¹⁸⁴. Die stöchiometrische Zusammensetzung der gebildeten Poren ist bisher allerdings unklar. Man geht jedoch davon aus, daß mindestens drei Untereinheiten sich zusammenfinden, so daß der Ionenkanal wahrscheinlich ein Trimer darstellt.¹⁸⁴

Tab. 2: Mögliche Heteromere von P2X-Rezeptoren¹⁸²

	P2X ₁	P2X ₂	P2X ₃	P2X ₄	P2X ₅	P2X ₆	P2X ₇
P2X ₁	+	+	+	-	+	+	-
P2X ₂		+	+	-	+	+	-
P2X ₃			+	-	+	-	-
P2X ₄				+	+	+	-
P2X ₅					+	+	-
P2X ₆						-	-
P2X ₇							+

Der Begriff P2X-Rezeptor-Subtyp für die einzelne Einheit ist also nicht ganz korrekt oder zumindest verwirrend, geht man doch dabei davon aus, daß mit der Bezeichnung Rezeptor-Subtyp ein einzelnes, vollständiges und eigenständig funktionierendes Protein gemeint ist. Da dies hier nicht zutrifft, spricht man besser von P2X-Untereinheiten und spezifiziert einen bestimmten Rezeptor durch Nennung der beteiligten Typen, ähnlich wie bei den nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren.

Innerhalb der P2X-Rezeptoren kann man drei Untergruppen bilden, die sich hinsichtlich der Desensibilisierungs-Geschwindigkeit nach ATP-Stimulation unterscheiden. Die Untereinheiten P2X₁ und P2X₃ reagieren schnell, innerhalb von Millisekunden nach der ATP-Bindung, P2X₂ und P2X₅ innerhalb von einigen

¹⁸⁴ Khakh; Burnstock; Kennedy; King; North; Séguéla; Voigt; Humphrey International Union of Pharmacology. XXIV. Current Status of the Nomenclature and Properties of P2X Receptors and their Subunits. *Pharmacol. Rev.* **2001**, 53, 170-118.

Sekunden, und die restlichen Untereinheiten, P2X₄, P2X₆ und P2X₇ zeigen eine schnelle und eine langsame Desensibilisierungsphase.¹⁸⁵

Tab. 3: Gewebeverteilung und Signaltransduktion von P2X-Rezeptoren¹⁸⁵

	Gewebeverteilung	Signaltransduktion
P2X ₁	Glatte Muskulatur, Plättchen	I _{Na/K/Ca}
P2X ₂	Sensorische Neuronen, Gehirn, Pankreas	I _{Na/K}
P2X ₃	Nozizeptive, sensorische Neuronen	I _{Na/K/Ca}
P2X ₄	Gehirn, Hoden, Dickdarm	I _{Na/K}
P2X ₅	Herz, Medulla	I _{Na/K/Ca}
P2X ₆	Gehirn	I _{Na/K/Ca}
P2X ₇	Macrophagen, Mastzellen, Microglia	I _{Na/K}

Tab. 4: EC₅₀-Werte (nM) von ausgewählten Agonisten an P2X-Rezeptoren (h: human, r: Ratte, Strukturen siehe Abb. 39)¹⁸⁵

	P2X ₁	P2X ₂	P2X ₃	P2X ₄	P2X ₅	P2X ₆	P2X ₇
ATP _γ S	2300 (h)	1500 (r)	690 (h)	2300 (r)	600 (r)	1300 (r)	
α,β-meATP	200 (h)	100000 (r)	740 (h)	33000 (r)	>7000 (r)	>8000 (r)	>100000 (h)
2-MeSATP	54 (h)	1500 (r)	350 (h)	7400 (r)	1000 (r)	600 (r)	
HT-AMP	840 (r)	180000 (r)	350 (r)	20000 (r)			
PAPET-ATP	98 (r)	10000 (r)	17 (r)	15000 (r)			
Bz-ATP	2 (h)	5500 (h)	80 (h)	490 (h)	40000 (h)	25000 (h)	52000 (h)
Ap ₄ A	182 (h)	15000 (h)	500 (h)	1000 (h)			

¹⁸⁵ Jacobson, K. A.; Jarvis, M. F.; Williams, M. Purine and Pyrimidine (P2) Receptors as Drug Targets *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4057-4093.

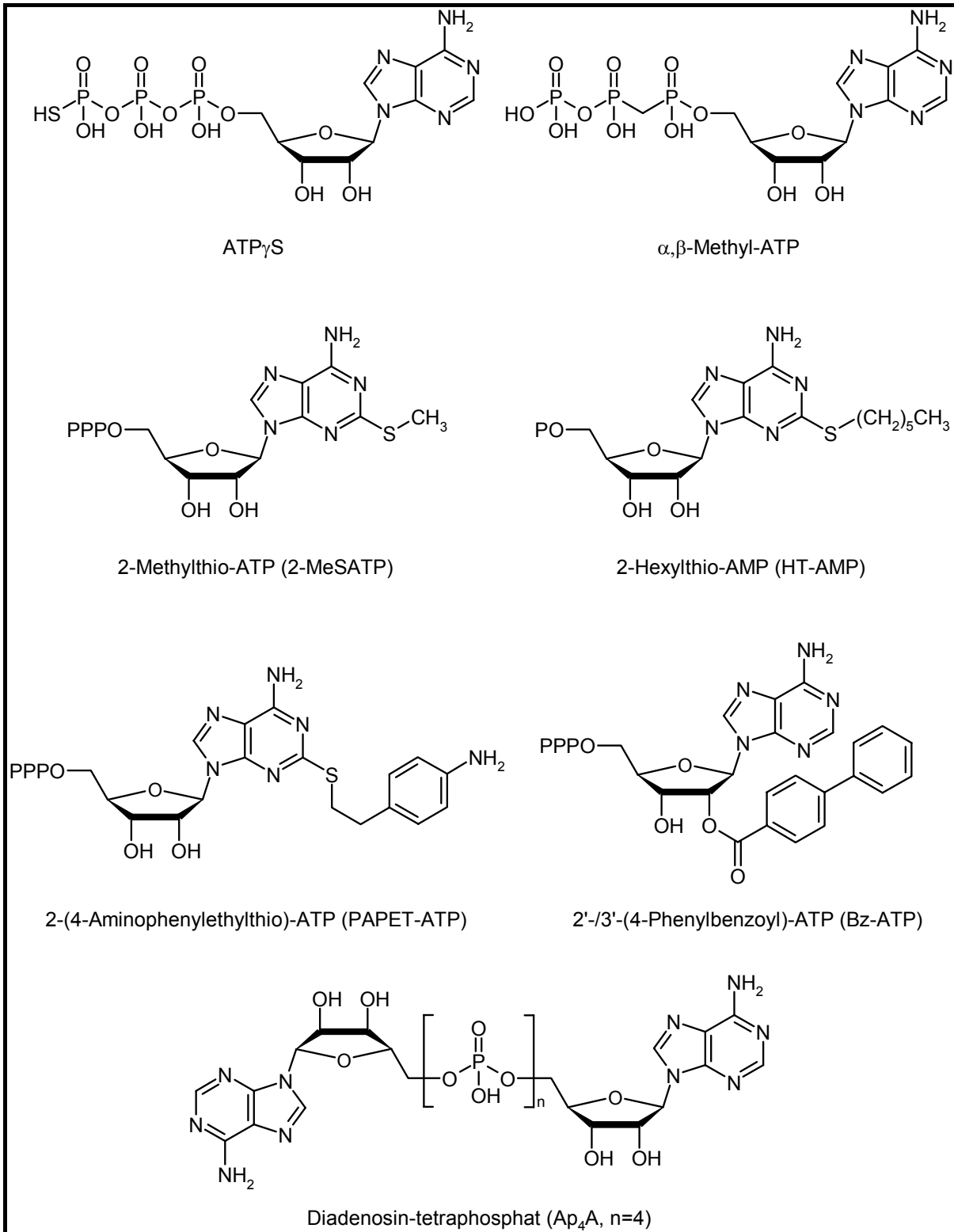


Abb. 39: Beispiele für P2-Rezeptoragonisten (P = Phosphatgruppe)

3.1.1.4. P2Y-Rezeptoren

Bei den zu der großen Gruppe der G-Protein-gekoppelten gehörenden P2Y-Rezeptoren sind sowohl Adenin- als auch Uracil-Nukleotide als Agonisten wirksam. Allerdings gilt dies nicht pauschal für alle Subtypen. Die derzeit sieben bekannten können eingeteilt werden in nur Adenin-Nukleotid-sensitive, nur Uracil-Nukleotid-sensitive, und für beide sensitive Rezeptoren. Daneben existiert noch ein Subtyp, für den UDP-Glucose als physiologischer Ligand gefunden wurde.¹⁸⁶

Im Laufe der Forschung sind wiederholt Rezeptoren als zur Gruppe der P2-Familie gehörig postuliert worden, was sich später als falsch herausgestellt hat. Außerdem sind bei anderen Spezies P2Y-Rezeptoren beschrieben worden, für die man kein humanes Homologes gefunden hat. Dadurch hat sich eine unregelmäßige Zählung der Subtypen ergeben.

Tab. 5: Charakteristika der P2Y-Rezeptoren

	Physiologischer Ligand	Signaltransduktion	Gewebeverteilung
P2Y ₁	ADP	PLC ↑ (G _{q/11}) cAMP ↓ (G _i)	Thrombozyten, Herz, Skelettmuskel, u. a.
P2Y ₂	UTP, ATP	PLC ↑ (G _{q/11}) cAMP ↓ (G _i)	Lunge, Herz, Skelettmuskel, Milz, Nieren, Gehirn, u. a.
P2Y ₄	UTP	PLC ↑ (G _{q/11}) cAMP ↓ (G _i)	Placenta, Lunge, glatte Gefäßmuskulatur
P2Y ₆	UDP	PLC ↑ (G _{q/11})	Lunge, Herz, Milz, Placenta, Gehirn, u.a.
P2Y ₁₁	ATP, UTP	PLC ↑ (G _q) cAMP ↑ (G _s)	Milz
P2Y ₁₂	ADP	cAMP ↓ (G _{i2})	Thrombozyten, Gehirn
P2Y ₁₃	ADP	cAMP ↓ (G _i)	Milz, Gehirn, Lymphknoten

¹⁸⁶ Chambers, J. K.; Macdonald, L. E.; Sarau, H. M.; Ames, R. S.; Freeman, K.; Foley, J. J.; Zhu, Y.; McLaughlin, M. M.; Murdock, P.; McMillan, L.; Trill, J.; Swift, A.; Aiyar, N.; Taylor, P.; Vawter, L.; Naheed, S.; Szekeres, P.; Hervieu, G.; Scott, C.; Watson, J. M.; Murphy, A. J.; Duzic, E.; Klein, C.; Bergsma, D. J.; Wilson, S.; Livi, G. P. A G Protein-coupled Receptor for UDP-glucose. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 10767-10771.

Auf Grund von strukturellen Ähnlichkeiten kann man zwei Gruppen von P2Y-Rezeptoren unterscheiden. Zur ersten gehören die ersten fünf Subtypen P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ und P2Y₁₁, während die Rezeptoren P2Y₁₂, P2Y₁₃ und P2Y₁₄ die zweite Gruppe bilden. Letzterer ist bislang nur ein möglicher Vertreter und seine Bezeichnung ist auch noch nicht offiziell von der IUPHAR zugelassen.¹⁸⁵

Entsprechend dieser Einteilung sind die jeweiligen Rezeptoren in unterschiedliche Signaltransduktionswege involviert. Die Mitglieder der ersten Gruppe üben ihre hauptsächlich biologischen Effekte über die Aktivierung der Phospholipase C aus. Wie im Kapitel „Rezeptorarten“ bereits geschildert, führt dies zur Bildung von Inositoltrisphosphat und Diacylglycerol. Dadurch werden weitere intrazelluläre Effekte ausgelöst. Das dabei involvierte G-Protein ist in der Regel G_{q/11}.^{187,188} Der P2Y₁₁-Rezeptor bildet eine Ausnahme insofern, als daß er zusätzlich zur Interaktion mit G_{q/11} einen stimulierenden Effekt auf die Adenylatcyclase über ein G_s-Protein ausübt.¹⁸⁵ Die Empfindlichkeit gegenüber Pertussistoxin variiert von Typ zu Typ, was darauf hindeutet, daß auch noch andere G-Proteine in die Signaltransduktion involviert sind.¹⁸⁹ Die übrigen Rezeptor-Subtypen bewirken ausschließlich eine Änderung des cAMP-Spiegels in der Zelle. Die dabei involvierten G-Proteine gehören zur Familie der G_i-Proteine.¹⁹⁰ Zusätzlich können alle Rezeptoren weitere Signaltransduktionswege aktivieren und entsprechende Effekte hervorrufen.

Wie bereits erwähnt, existieren bis heute für die einzelnen P2-Rezeptoren weder ausreichend selektive und potente Agonisten noch Antagonisten. Dies stellt ein großes Problem dar für die Erforschung der einzelnen Rezeptoren, deren Signaltransduktionswege sowie der physiologischen und pharmakologischen Effekte. Die verwendeten Substanzen sind größtenteils noch nicht einmal für die P2Y-Rezeptoren selektiv, sondern wirken genauso an den P2X-Rezeptoren. Aber auch ganz andere Rezeptorsysteme können beeinflusst werden.

¹⁸⁷ Guile, S. D.; Ince, F.; Ingall, A. H.; Kindon, N. D.; Meghani, P.; Mortimore, M. P. The Medicinal Chemistry of the P2 Receptor Family. *Prog. Med. Chem.* **2001**, *38*, 115-187.

¹⁸⁸ Communi, D.; Motte, S.; Boeynaems, J.-M.; Piroton, S. Pharmacological characterization of the human P2Y₄ receptor. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *317*, 383-389.

¹⁸⁹ Communi, D.; Janssens, R.; Suarez-Huerta, N.; Robaye, B.; Boeynaems, J.-M. Advances in signalling by extracellular nucleotides: the role and transduction mechanisms of P2Y receptors *Cell. Signal.* **2000**, *12*, 351-360.

¹⁹⁰ Müller, C. E. P2-Pyrimidinergic Receptors and Their Ligands. *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 2353-2369.

Ein Grund für die bislang nur mäßig erfolgreiche Suche nach besseren Liganden liegt in der geringen Toleranz der Rezeptoren gegenüber strukturellen Veränderungen von Agonisten und Antagonisten. Ein gutes Beispiel dafür bieten die bisher gefundenen Struktur-Wirkungs-Beziehungen für Agonisten auf Nukleotidbasis, bei deren Betrachtung sich kaum Möglichkeiten zur Strukturvariation eröffnen. Eine Leitstruktur nicht nukleotidischen Ursprungs für Agonisten ist bis heute allerdings noch nicht gefunden. Bei der Entwicklung von Antagonisten sieht es kaum besser aus.

Gängige Agonisten sind die im vorigen Kapitel abgebildeten Substanzen und zusätzlich Uridin-Nukleotide (UTP, UDP) sowie einige Adenosindiphosphate (ADP, 2-MeS-ADP).

P2Y₁-Rezeptor

Der P2Y₁-Rezeptor war der erste P2-Rezeptor, der kloniert wurde.¹⁹¹ Er ist ein reiner Adenosin-Nukleotid-sensitiver Rezeptor mit einer eindeutigen Bevorzugung des Dinukleotids.¹⁹² Je nach Untersuchungsbedingungen und wahrscheinlich auch der Rezeptordichte kann ATP als Agonist, partieller Agonist oder als Antagonist charakterisiert werden.^{193,194,195} Die Methylenbrücken-haltigen ATP-Derivate α,β -MeATP und β,γ -MeATP sowie UTP sind inaktiv, was nützlich bei der Charakterisierung und Abgrenzung gegenüber anderen Rezeptoren ist.¹⁹⁶ Einer der potentesten Antagonisten für den P2Y₁-Rezeptor ist MRS 2279 mit einem IC₅₀-Wert von 52 nM.¹⁹⁷

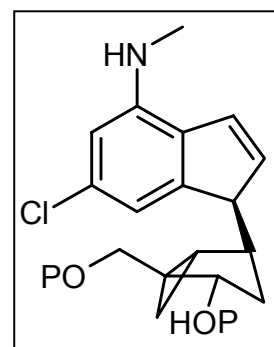


Abb. 40: Der P2Y₁-Antagonist MRS 2279 (P = Phosphatgruppe)

¹⁹¹ Webb, T. E.; Simon, J.; Krishek, B. J.; Bateson, A. N.; Smart, T. G.; King, B. F.; Burnstock, G.; Barnard, E. A. Cloning and functional expression of a brain G-coupled ATP receptor. *FEBS Lett.* **1993**, *324*, 219-225.

¹⁹² Kügelgen, I. v.; Wetter, A. Molecular pharmacology of P2Y-receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2000**, *362*, 310-323.

¹⁹³ Leon, C.; Helcher, B.; Vial, C.; Leray, C.; Cazenave, J. P.; Gachet, C. The P2Y₁ receptor is an ADP receptor antagonized by ATP and expressed in platelets and megakaryoblastic cells. *FEBS Lett.* **1997**, *403*, 26-30.

¹⁹⁴ Hechler, B.; Vigne, P.; Leon, C.; Breittmayer, J. P.; Gachet, C.; Frelin, C. ATP derivatives are antagonists of the P2Y₁-receptors: similarities to the platelet ADP receptor. *Mol. Pharmacol.* **1998**, *53*, 727-733.

¹⁹⁵ Palmer, R. K.; Boyer, J. L.; Schachter, J. B.; Nicholas, R. A.; Harden, T. K. Agonist action of adenosine triphosphates at the human P2Y₁ receptor. *Mol. Pharmacol.* **1998**, *54*, 1118-1123.

¹⁹⁶ Ralevic, V.; Burnstock, G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 413-492.

¹⁹⁷ Jacobson, K. A.; Jarvis, M. F.; Williams, M. Purine and Pyrimidine (P2) Receptors as Drug Targets *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4057-4093.

Neben der Aktivierung der Phospholipase C wird die Adenylatcyclase über eine G_i -Untereinheit gehemmt. Diese beiden Signaltransduktionswege sind komplett unabhängig voneinander. Als drittes beeinflusst die Aktivierung des $P2Y_1$ -Rezeptors über die $\beta\gamma$ -Untereinheit eines G-Proteins einen Kaliumkanal.¹⁹⁸ Zusammen mit dem $P2X_1$ - und $P2Y_{12}$ -Rezeptor ist er an der Induktion der Thrombozytenaggregation beteiligt.

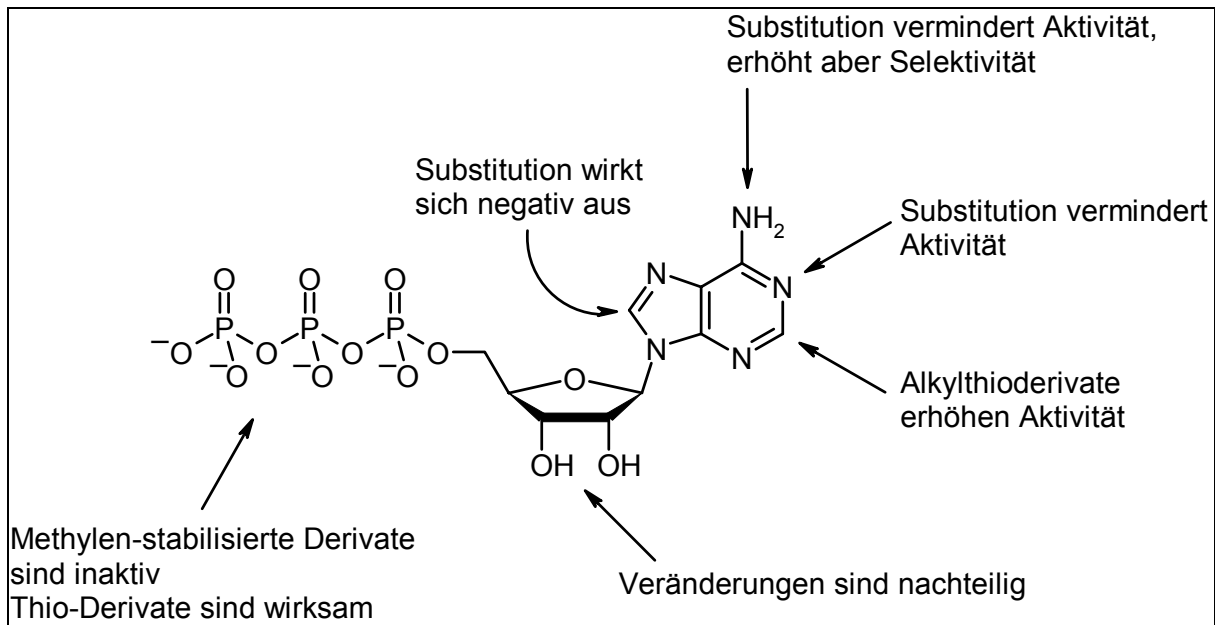


Abb. 41: Struktur-Wirkungs-Beziehungen für den $P2Y_1$ -Rezeptor

$P2Y_2$ -Rezeptor

An diesem Rezeptor sind ATP und UTP gleichermaßen aktiv, während die entsprechenden Diphosphate kaum oder gar keine Aktivität besitzen, ebenso wie 2-Methylthio-ATP und α,β -Methyl-ATP. Dagegen ist $UTP\gamma S$ nahezu genauso wirksam wie UTP.¹⁹⁰ Bis jetzt existiert kein selektiver Antagonist für diesen Rezeptor, einer der potentesten ist Reactive Blue 2.

¹⁹⁸ O'Grady, S. M.; Elmquist, E.; Filtz, T. M.; Nicholas, R. A.; Harden, T. K. A guanine nucleotide-independent inwardly rectifying cation permeability is associated with $P2Y_1$ receptor expression in *Xenopus* oocytes. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 29080-29087.

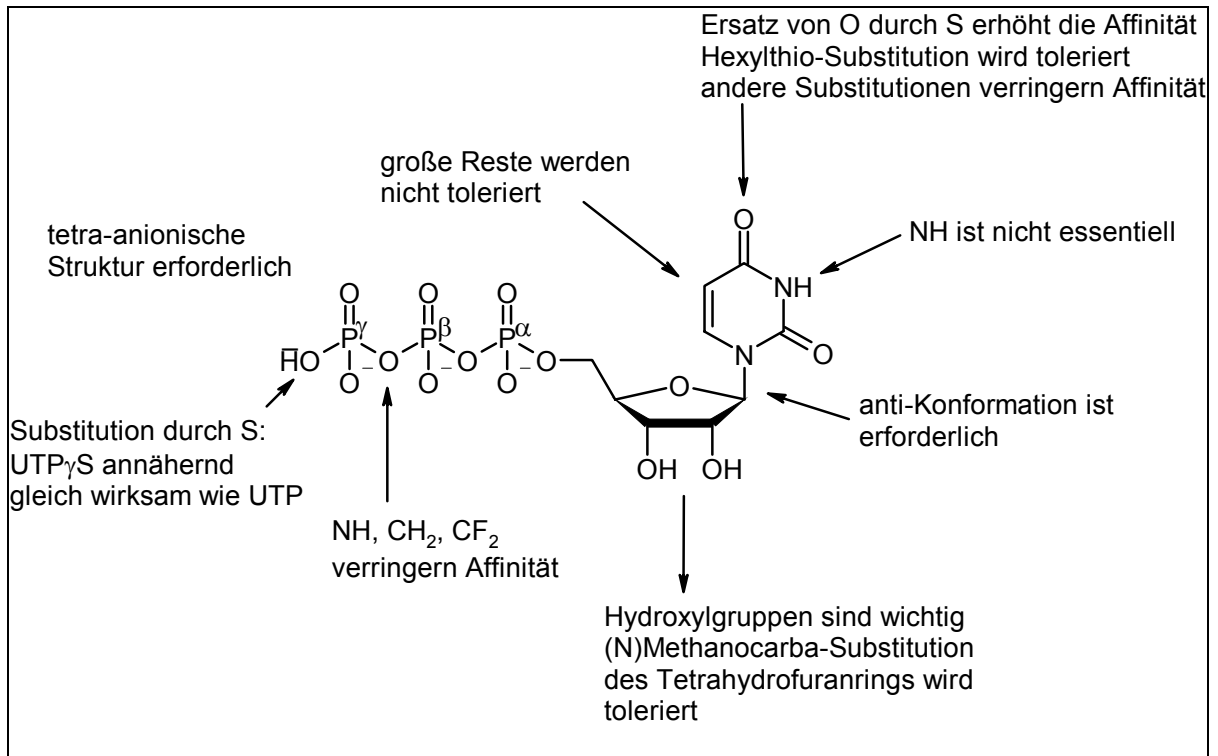


Abb. 42: Struktur-Wirkungsbeziehungen für den P2Y₂-Rezeptor¹⁹⁰

Im Epithel der Atemwege führt die P2Y₂-Aktivierung zur Beeinflussung Calciumsensitiver Chlorid-Kanäle, wodurch die Schleimsekretion beeinflusst wird. Ein möglicher Einsatz von P2Y₂-Agonisten ist deshalb die cystische Fibrose (Mukoviszidose).

P2Y₄-Rezeptor

An diesem Rezeptor ist UTP deutlich wirksamer als ATP, weshalb er als Uridinnukleotid-sensitiver Rezeptor bezeichnet wird. Er zeigt keine Empfindlichkeit gegenüber UDP und ADP. PPADS ist nur ein schwacher Antagonist, während Suramin nicht wirksam ist. Im Gegensatz zu den meisten anderen P2Y-Rezeptoren findet man den P2Y₄-Rezeptor vor allem in der Plazenta und im Pankreas. Möglicherweise spielt er auch im Immunsystem eine Rolle.¹⁹⁹

P2Y₆-Rezeptor

Genauso wie beim P2Y₄-Rezeptor handelt es sich hier um einen Uridinnukleotid-spezifischen Rezeptor, allerdings mit einer eindeutigen Bevorzugung des

¹⁹⁹ Communi, D.; Boeynaems, J. M. Receptors Responsive to extracellular pyrimidine nucleotides. *Trends Pharmacol. Sci.* **1997**, *18*, 83-86.

Dinukleotids. Weder Suramin noch PPADS sind wirksame Antagonisten. In der Lunge tritt der Rezeptor zusammen mit dem P2Y₂-Rezeptor auf. Somers *et al.* haben gezeigt, daß er bei entzündlichen Darmerkrankungen exprimiert wird, allerdings nicht in nicht-infizierten Zellen.²⁰⁰ Die Aktivierung des Rezeptors auf Monozyten führt zur Interleukin-8-Produktion, was auf eine Beteiligung am Immunsystem hindeutet.²⁰¹ Der Effekt kommt sehr langsam zustande, hält dann aber bis zu einer Stunde an.²⁰²

P2Y₁₁-Rezeptor

Dieser Rezeptor ist sowohl ATP- als auch UTP-sensitiv, während die Dinukleotide nur schwach wirksam sind.²⁰³ Suramin selber ist ein schwach wirksamer Antagonist, ein von Kassack *et al.* entwickeltes Suramin-Derivat zeigt dagegen mit einem K_i-Wert von 39.3 nM eine 1000fache Selektivität gegenüber P2Y₁ und P2Y₂.²⁰⁴ Als einziger Rezeptor dieser Gruppe beeinflusst er sowohl den Phospholipase C-Weg als auch den cyclo-AMP-Spiegel.²⁰⁵ Zusammen mit dem A_{2A}-Rezeptor auf den Lymphozyten beeinflusst er deren Schicksal.²⁰⁶

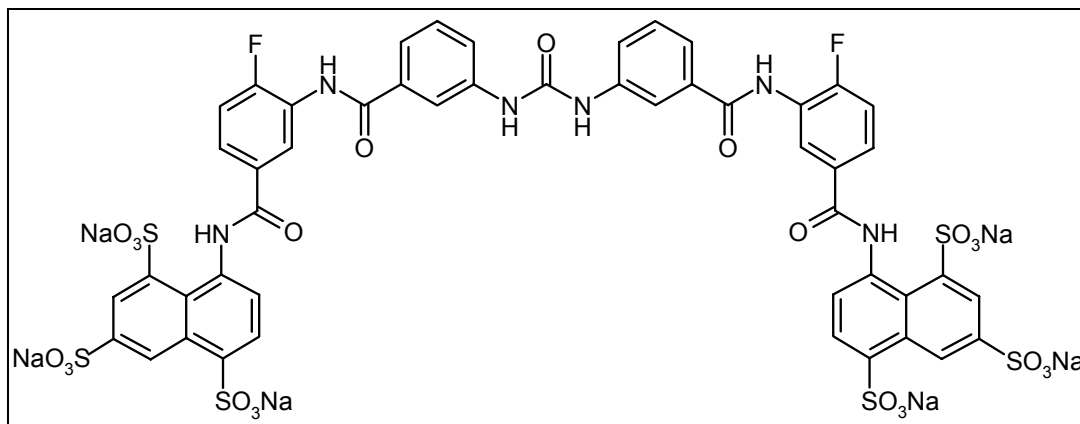


Abb. 43: Der selektive P2Y₁₁-Antagonist NF157

²⁰⁰ Somers, G. R.; Hammet, F. M.; Trute, L.; Southey, M. C.; Venter, D. J. Expression of the P2Y₆ Purinergic Receptor in Human T Cells Infiltration Inflammatory Bowel Disease. *Lab. Invest.* **1998**, *78*, 1375-1394.

²⁰¹ Warny, M.; Aboudola, S.; Robson, S. C.; Sevigny, J.; Communi, D.; Soltoff, S. P. P2Y₆ Nucleotide Receptor Mediates Monocyte Interleukin-8 Production in Response to UDP or Lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 26051-26056.

²⁰² Guile, S. D.; Ince, F.; Ingall, A. H.; Kindon, N. D.; Meghani, P.; Mortimore, M. P. The Medicinal Chemistry of the P2 Receptor Family. *Prog. Med. Chem.* **2001**, *38*, 115-187.

²⁰³ White, P. J.; Webb, T. E.; Boarder, M. R. Characterization of a Ca²⁺ Response to Both UTP and ATP at Human P2Y₁₁ Receptors: Evidence for Agonist-Specific Signalling. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 1356-1363.

²⁰⁴ Meis, S.; Ullmann, H.; Nickel, P.; Communi, D.; Boeynaems, J.-M.; Kassack, M. U. The suramin analogue NF157 is the first selective and potent P2Y₁₁ receptor antagonist. Poster. Purines 2004. Chapel Hill, USA.

²⁰⁵ Communi, D.; Robaye, B.; Boeynaems, J.-M. Pharmacological characterization of the human P2Y₁₁ Receptor. *Br. J. Pharmacol.* **1999**, *128*, 1199-1206.

²⁰⁶ Conigrave, A. D.; Fernando, K. C.; Gu, B.; Tasevski, V.; Zhang, W.; Luttrell, B. M.; Wiley, J. S. P2Y₁₁ receptor expression by human lymphocytes: evidence for two cAMP-linked purinoceptors. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *426*, 157-163.

P2Y₁₂-Rezeptor

Die Klonierung des vormals als P_{2T}-, P_{2Y}_{ADP}- oder P_{2Y}_T-bezeichneten Rezeptors war nicht auf normalem Wege möglich, da er bevorzugt auf den Blutplättchen zu finden ist. Da diese kernlos sind, mußte die Klonierung mit Hilfe von DNA-Bibliotheken erfolgen, was 2001 verschiedenen Arbeitsgruppen gelang.^{207,208} Zusammen mit dem P_{2X}₁- und dem P_{2Y}₁-Rezeptor – für dessen Subtyp er auch gehalten wurde²⁰⁹ – ist er entscheidend an der Plättchenaggregation beteiligt. ADP ist ein voller Agonist am Rezeptor, während ATP und seine Bioisostere Antagonisten sind.^{210,211} Außerdem sind die Thienopyridine Ticlopidin und Clopidogrel entwickelt worden, die die derzeit einzigen für die Anwendung am Menschen zugelassenen Arzneistoffe aus der Gruppe der die P₂-Rezeptoren beeinflussenden Verbindungen darstellen (Tiklyd[®], Iscover[®]). Dabei handelt es sich um Prodrugs, die erst im Körper durch Öffnung des Thiophenrings in die eigentlich wirksame Form metabolisiert werden. Die Wirkung wird über den Mechanismus der allosterischen Modulation vermittelt. Ein weiterer reversibler Antagonist ist das tricyclische Benzothiazolo[2,3-c]thiadiazin-Derivat CT 50547 mit einem IC₅₀-Wert von 40 nM mit einer geringfügigen funktionalen Aktivität am P_{2Y}₁-Rezeptor (IC₅₀ > 100 µM).²¹²

²⁰⁷ Hollopeter, J.; Jantzen, H. M.; Vincent, D.; Li, G.; England, L.; Ramakrishnan, V.; Yang, R. B. Nurden, P.; Nurden, A.; Julius, D. J.; Conley, P. B. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* **2001**, *409*, 202-207.

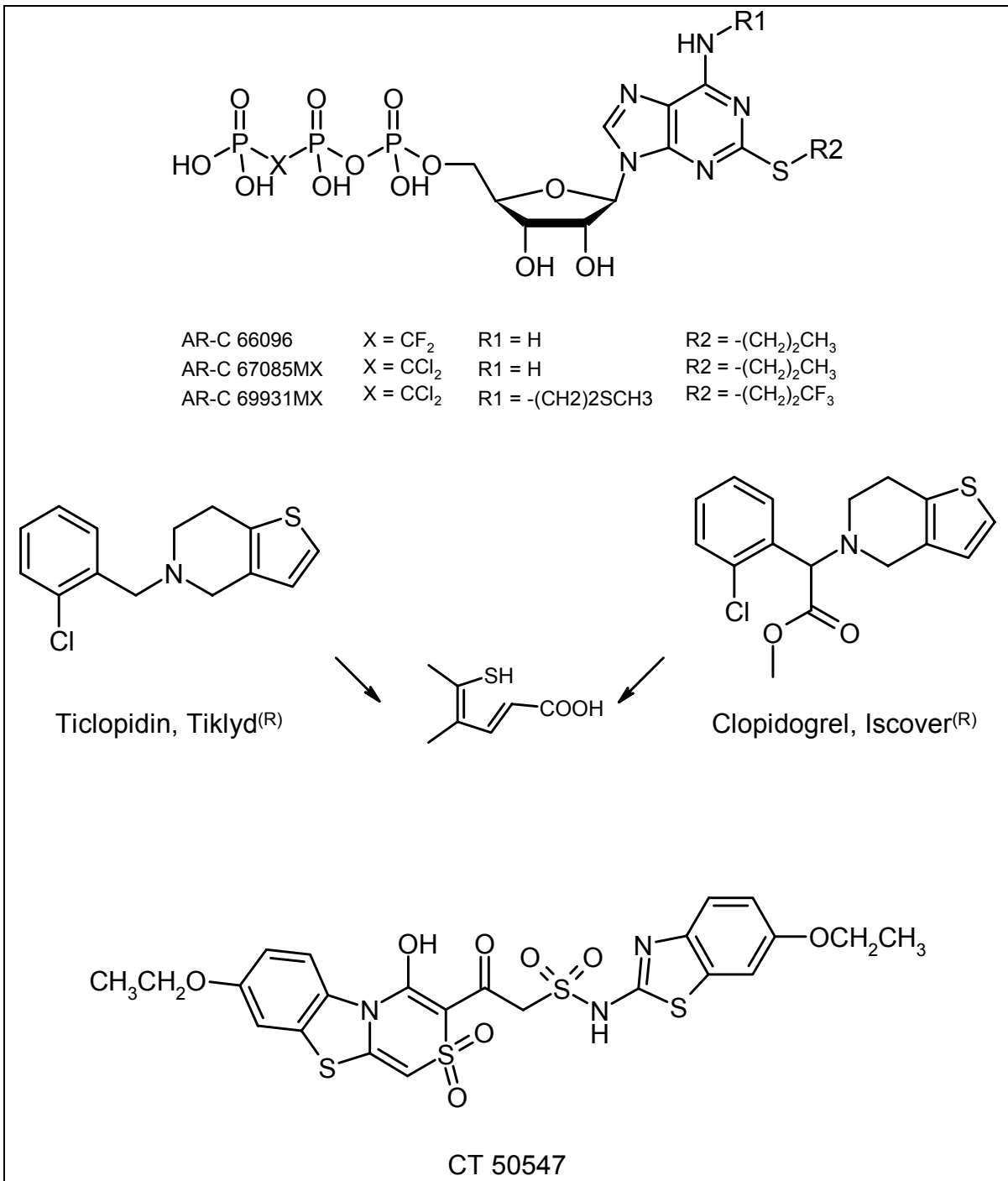
²⁰⁸ Foster, C. J.; Prosser, D. M.; Agans, J. M.; Zhai, Y.; Smith, M. D.; Lachowitz, J. E.; Zhang, F. L.; Gustafson, E.; Monsma, F. J.; Wiekowski, M. T.; Abbondanzo, S. J.; Cook, D. N.; Bayne, M. L.; Lira, S. A.; Chintala, M. S. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs. *J. Clin. Invest.* **2001**, *107*, 1591-1598.

²⁰⁹ Zhang, F. L.; Luo, L.; Gustafson, E.; Laschowicz, J.; Smith, M.; Qiao, X.; Liu, Y.-H.; Chen, G.; Prammanik, B.; Laz, T. M.; Palmer, K.; Bayne, M.; Monsma, F. J. ADP is the cognate ligand for the orphan G protein-coupled receptor SP1999. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 8608-8615.

²¹⁰ Kunapuli, S. P.; Dorsam, R. T.; Kim, S.; Quinton, T. M. Platelet purinergic receptors. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2003**, *3*, 175-180.

²¹¹ Ingall, A. H.; Dixon, J.; Bailey, A.; Coombs, M. E.; Cox, D.; McNally, J. I.; Hunt, S. F.; Kindon, N. D.; Teobald, B. J.; Willis, P. A.; Humphries, R. G.; Leff, P.; Clegg, J. A.; Smith, J. A.; Tomlinson, W. Antagonists of the platelet P_{2T} receptor: a novel approach to antithrombotic therapy. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 213-220.

²¹² Scarbrough, R. M.; Laibelman, A. M.; Lizbe, L. A.; Fretto, L. J.; Conley, P. B.; Reynolds, E. E.; Sedlock, D. M.; Jantzen, H.-M. Novel tricyclic benzothiazolo[2,3c]thiadiazine antagonists of the platelet ADP receptor (P_{2Y}₁₂). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1805-1808.

Abb. 44: P2Y₁₂-Antagonisten

Durch Untersuchungen mit entsprechenden knock-out-Mäusen konnte gezeigt werden, daß die Wirkung des Rezeptors auf die Adenylatcyclase über das G-Protein G α_{i2} vermittelt wird.²¹³ Daneben kann der P2Y₁₂-Rezeptor den Fibrinogen-vermittelten Effekt auf dessen Rezeptor über die daran beteiligten

²¹³ Jantzen, H. M.; Milstone, D. S.; Gousset, L.; Conley, P. B.; Mortensen, R. M. Impaired activation of murine platelets lacking Galpha(i2). *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 477-483.

Signaltransduktionswege (Proteinkinase C, Calcium) verstärken.²¹⁴ Dies geschieht nicht auf indirektem Wege durch die Inhibierung der Adenylatcyclase, sondern durch die Aktivierung der gamma-Isoform der Phosphatidylinositol-3-Kinase durch die $\beta\gamma$ -Untereinheit, die nach der P2Y₁₂-Rezeptor-Aktivierung vom G α_i -Protein freigesetzt wird.²¹⁰ Grobbsen *et al.* schließlich wiesen nach, daß in C6-Zellen der Ratte P2Y₁₂-Rezeptor-Agonisten eine MAP-Kinase über einen ras-unabhängigen Weg aktivieren.²¹⁵

P2Y₁₃-Rezeptor

Unter den von der IUPHAR (The International Union of Pharmacology) offiziell anerkannten P2Y-Rezeptoren ist der P2Y₁₃-Rezeptor der jüngste. Er weist eine hohe Homologie zum P2Y₁₂-Rezeptor auf und unterscheidet sich damit mit diesem zusammen von den anderen Rezeptoren dieser Gruppe. Ebenfalls gemeinsam ist die Aktivierung durch ADP, während ATP inaktiv ist, und die Kopplung an ein G α_i -Protein. Insgesamt gleicht sein pharmakologisches Profil dem seines Verwandten.²¹⁶ Der durch Agonisten hervorgerufene Effekt auf die Adenylatcyclase ist in CHO-K1-Zellen interessanterweise zweiphasisch. Durch nanomolare Konzentrationen wird die Enzymaktivität inhibiert, während sie durch mikromolare gesteigert wird. In den gleichen Zellen wird außerdem die Phosphorylierung von ERK1 und ERK2 gefördert. In 1321N1-Zellen wird der Phospholipase C-Weg aktiviert, allerdings nur bei gleichzeitiger Expression von G α_{16} .²¹⁷ Auf Grund seiner Gewebeverteilung wird seine biologische Funktion im Immunsystem gesehen, speziell in der T-Zellreifung.²¹⁸

²¹⁴ Quinton, T. M.; Kim, S.; Dangelmaier, C.; Dorsam, R. T.; Jin, J.; Daniel, J. L.; Kunapuli, S. P. Protein kinase C- and calcium-regulated pathways independently synergize with Gi pathways in agonist-induced fibrinogen receptor activation. *Biochem. J.* **2002**, *368*, 535-543.

²¹⁵ Grobbsen, B.; Claes, P.; Van Kolen, K.; Roymans, D.; Fransen, P.; Sys, S. U.; Slegers, H. Agonists of the P2Y_{AC}-receptor activate MAP kinase by a ras-independent pathway in rat C6 glioma. *J. Neurochem.* **2001**, *78*, 1325-1338.

²¹⁶ Zhang, F. L.; Luo, L.; Gustafson, E.; Palmer, K.; Qiao, X.; Fan, X.; Yang, S.; Laz, T. M.; Bayne, M.; Monsma, F. P2Y₁₃: Identification and Characterization of a Novel G α_i -Coupled ADP Receptor from Human and Mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *301*, 705-713.

²¹⁷ Communi, D.; Gonzalez, N. S.; Dethoux, M.; Brézillon, S.; Lannoy, V.; Parmentier, M.; Boeynaems, J.-M. Identification of a Novel Human ADP Receptor coupled to G_i. *J. Bio. Chem.* **2001**, *276*, 41479-41485.

²¹⁸ Jacobson, K. A.; Jarvis, M. F.; Williams, M. Purine and Pyrimidine (P2) Receptors as Drug Targets *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4057-4093.

P2Y₁₄-Rezeptor (UDP-Glucose-Rezeptor)²¹⁹

Die Bezeichnung P2Y₁₄ ist bis jetzt noch nicht von der IUPHAR bestätigt worden.²²⁰ Wie der alternative Name zeigt, ist UDP-Glucose der physiologische Ligand. Daneben ist aber auch mit anderen Zuckern verknüpftes UDP wirksam. Nicht glykosylierte Nukleotide sind nicht wirksam, ebenso wie glykosylierte Nukleotid-Diphosphate von anderen Basen. Strukturell weist der Rezeptor eine größere Verwandtschaft mit dem P2Y₁₂- und P2Y₁₃-Rezeptor auf als mit den anderen P2Y-Rezeptoren. Er ist weit im Körper verbreitet und scheint eine Rolle bei neuroimmunologischen Funktionen zu spielen. Sein Effekt wird über ein G_{i/o}-Protein vermittelt, er inhibiert also die Adenylatcyclase und senkt somit den cAMP-Spiegel der Zelle.

²¹⁹ Chambers, J. K.; Macdonald, L. E.; Sarau, H. M.; Ames, R. S.; Freeman, K.; Foley, J. J.; Zhu, Y.; McLaughlin, M. M.; Murdock, P.; McMillan, L.; Trill, J.; Swift, A.; Aiyar, N.; Taylor, P.; Vawter, L.; Naheed, S.; Szekeres, P.; Hervieu, G.; Scott, C.; Watson, J. M.; Murphy, A. J.; Duzic, E.; Klein, C.; Bergsma, D. J.; Wilson, S.; Livi, G. P. A G Protein-coupled Receptor for UDP-glucose. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 10767-10771.

²²⁰ <http://www.iuphar-db.org/iuphar-rd/list/ListP.htm>.

3.2. Projekt

Wie im vorigen Kapitel dargelegt, haben die bisherigen Untersuchungen zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei den P2Y-Rezeptoren ergeben, daß Veränderungen an Base und Zucker einen Wirkungsverlust mit sich bringen, genauso wie der Wegfall des Phosphatrestes. Veränderungen an letzterem sind nur in geringem Maße tolerabel. Speziell die negativen Ladungen sind für die Affinität zur Bindungstasche offensichtlich essentiell.

Eine naheliegende Möglichkeit zur Darstellung stabilerer Rezeptorliganden ist von daher der Ersatz des Phosphatrestes durch Strukturen, die diesen imitieren, also die Darstellung von Phosphatomimetika. Für die Auswahl geeigneter Substituenten sollten einerseits die sterischen und elektronischen Eigenschaften des Phosphatrestes als Kriterien herangezogen werden, andererseits die Stabilität gegenüber den Ectonukleosidasen.

Verbindungen, die diesen Kriterien genügen, sind mehrwertige, nicht oder möglichst wenig verzweigte Carbonsäuren wie zum Beispiel Glutarsäure oder Citronensäure. Ein Ziel dieses Projektes war es deshalb, Uridin am 5'-Ende mit solchen Verbindungen zu verestern.

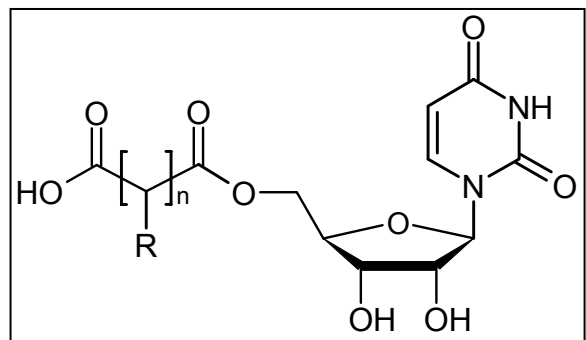


Abb. 45: Zielstruktur 1

Prinzipiell mögliche Carbonsäuren sind zum Beispiel:

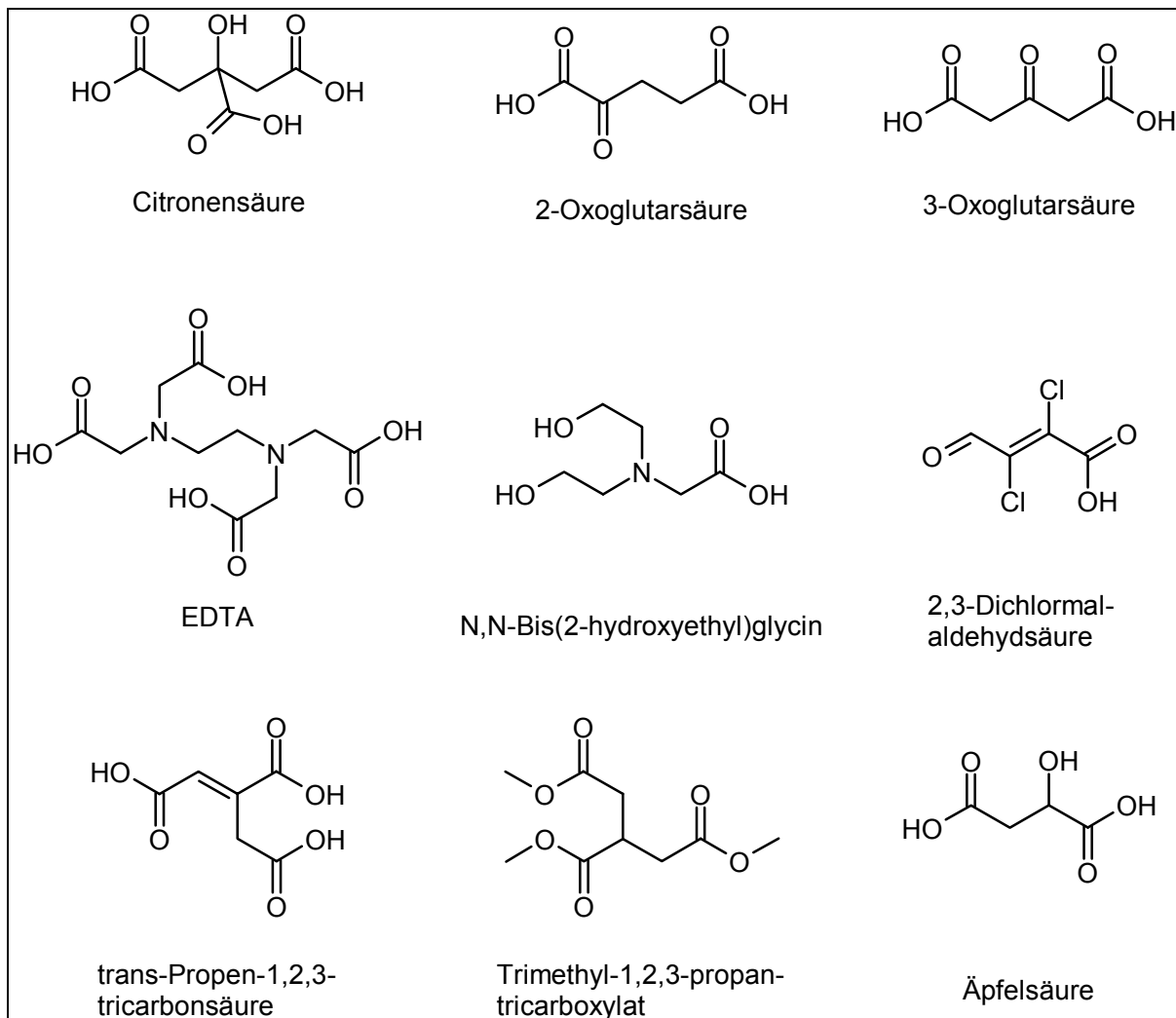


Abb. 46: Für die 5'-Veresterung verwendbare Oligocarbonsäuren

1998 patentierten Cox *et al.* ein Adenosinderivat, bei dem die am C4-Atom der Ribose befindliche Hydroxymethylgruppe durch eine 3-Acrylsäureethylestergruppe ersetzt wurde.²²¹ Diese endständige Säuregruppe wurde anschließend mit einer mehrwertigen Aminosäure wie Asparaginsäure oder Glutaminsäure in ein Säureamid verwandelt. Als weiteres Ziel sollte von dieser Verbindung das entsprechende Uridin-Derivat synthetisiert werden.

²²¹ Cox, D.; Ingall, A., Willis, P. Inhibitors of Platelet Aggregation. US Patent 5,747,496 1998.

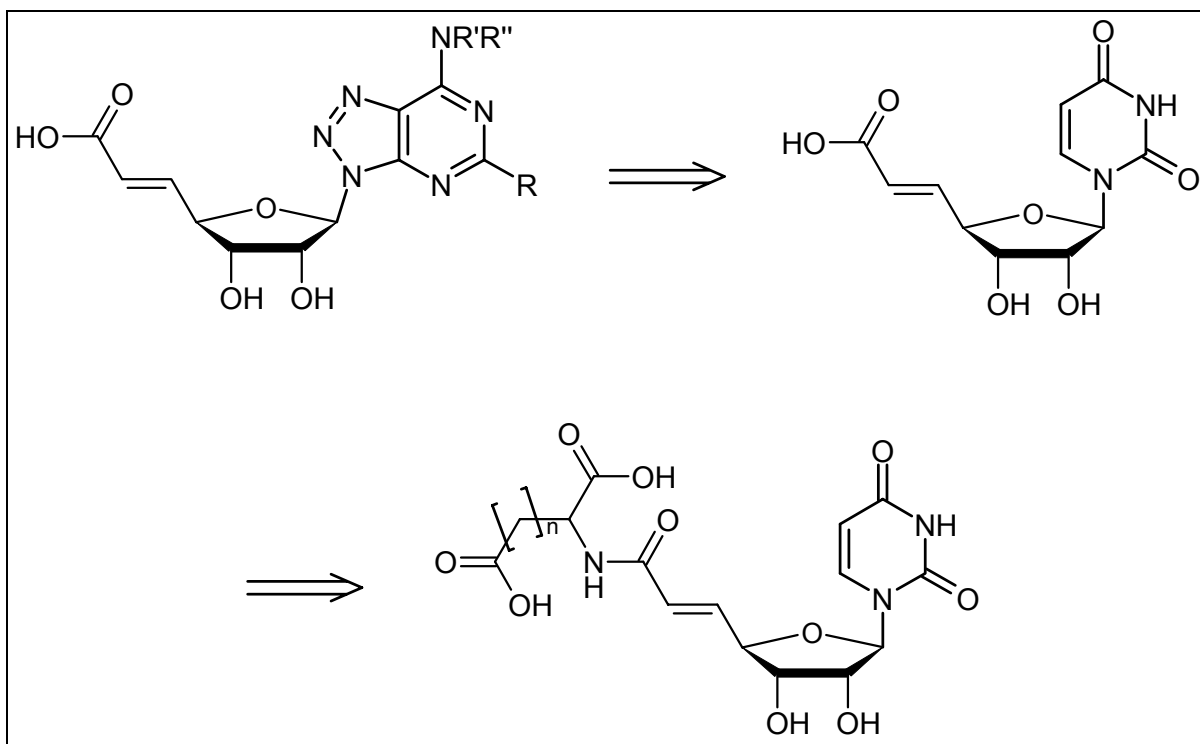


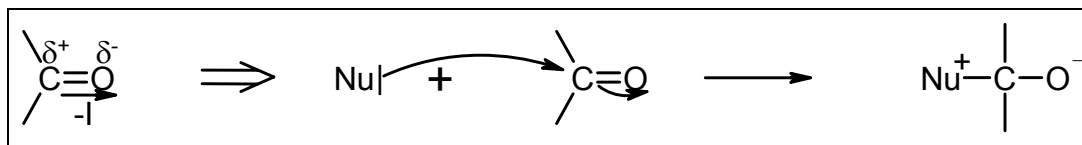
Abb. 47: Zielstruktur 2

3.3. Synthesen

3.3.1. Veresterung

3.3.1.1. Allgemeines

Die Veresterung ist eine der Hauptreaktionen der organischen Chemie. Systematisch gesehen ist sie die Reaktion einer Carbonsäure bzw. eines ihrer Derivate mit einer Base, hier einem Alkohol. Grundlage für die Reaktion ist die elektrophile Eigenschaft des Carbonyl-Kohlenstoffs, bedingt durch den $-I$ -Effekt des Sauerstoffs, wodurch die gesamte Carbonylgruppe polarisiert wird.²²² Dies ermöglicht den Angriff eines Nucleophils am Kohlenstoff:



Schema 35: Reaktionsprinzip der Veresterung

Die Geschwindigkeit der Reaktion hängt in offensichtlicher Weise von der Nucleophilie der Base und der Elektrophilie des Carbonyl-Kohlenstoffs ab. Außerdem ist es entscheidend, wie leicht der nun überzählige Substituent – die Abgangsgruppe – im stabilisierenden Schritt austreten kann.²²³

Dementsprechend können die Carbonsäure-Derivate in folgende Reihe mit abfallender Reaktivität eingeordnet werden:

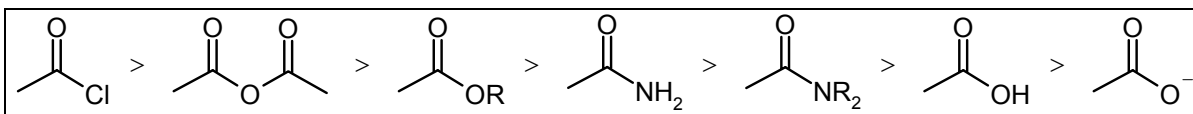


Abb. 48: Reaktivitätsreihe der Carbonylverbindungen

Die geringe Reaktivität der Carbonsäure selbst läßt sich zusätzlich leicht erklären, wenn man bedenkt, daß das Hydroxy-Proton sauer reagiert und dementsprechend von den in der Regel basischen Nucleophilen angegriffen werden kann. Dadurch

²²² Becker, H. G. O.; Berger, W.; Domschke, G. Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum. J. A. Barth: Leipzig ¹⁹1993, S. 417.

²²³ Sykes, P. Reaktionsmechanismen der organischen Chemie. VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim ⁹1988, S. 276.

entsteht eine Säure-Base-Reaktion als Konkurrenz zum nukleophilen Angriff.²²⁴ Das dadurch entstandene Carboxylat-Ion ist gegenüber einem Nukleophil nahezu inert.

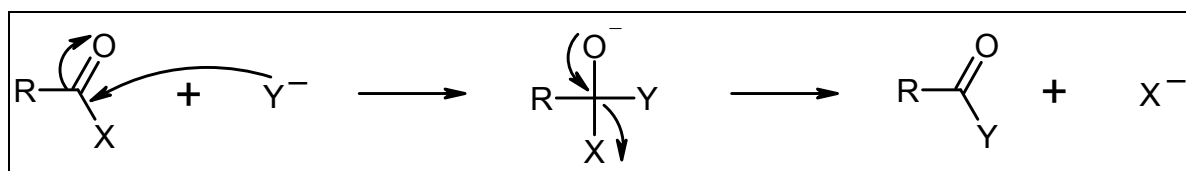
Die Estersynthese wird deshalb bevorzugt mit den Carbonsäurechloriden oder -anhydriden durchgeführt.

Ebenfalls entscheidend sind die sterischen Verhältnisse und die elektronischen Eigenschaften der Carbonylverbindung.

Die Veresterung ist eine typische Gleichgewichtsreaktion. Um befriedigende Ausbeuten zu erhalten, muß deshalb versucht werden, mit geeigneten Maßnahmen das Gleichgewicht auf die Produktseite zu verschieben. Aus den oben gemachten Ausführungen wird deutlich, daß sich dazu prinzipiell saure Katalysatoren eignen, da diese die Polarität der Carbonylgruppe erhöhen. Dies ist um so nötiger, je schwächer nukleophil das angreifende Teilchen ist. Der übliche Weg der Veresterung ist deshalb die Säurekatalyse zusammen mit der Verwendung eines (großen) Überschusses an Alkohol.

Eine weiterer Effekt der in der Regel verwendeten Schwefelsäure ist die Bindung des bei der Reaktion entstehenden Wassers, wodurch das Gleichgewicht zusätzlich auf die Produktseite verschoben wird. Hierzu sind auch noch andere Methoden entwickelt worden, zum Beispiel der Zusatz eines geeigneten organischen Lösungsmittels (Benzol, Toluol) und azeotrope Destillation.²²⁵

Der Reaktionsmechanismus verläuft nach dem Additions-Eliminierungs-Mechanismus, einer Form der nukleophilen Substitution.²²⁴



Schema 36: prinzipieller Reaktionsmechanismus der Veresterung

Im ersten Schritt wird das angreifende Nukleophil addiert und es bildet sich ein tetraedrisches bzw. tetragonales Zwischenprodukt. Die Hybridisierung des Carbonylkohlenstoffs ändert sich dabei von sp^2 zu sp^3 . Anschließend wird die

²²⁴ Vollhardt, K. P. C. Organische Chemie. VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim ¹1990, S. 762.

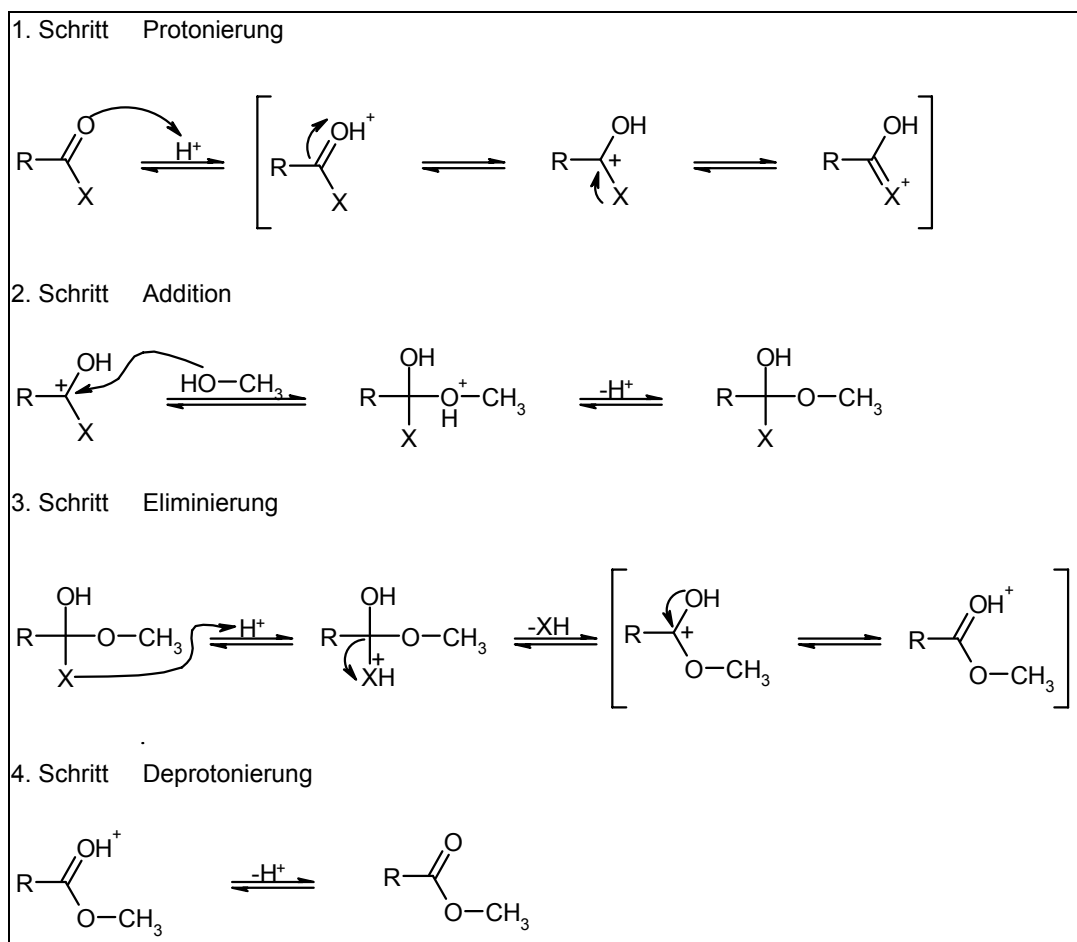
²²⁵ Beyer, H.; Walter, W. Lehrbuch der organischen Chemie. S. Hirzel Verlag: Stuttgart ²²1991, S. 259.

Abgangsgruppe eliminiert. Somit ist letztere durch das nukleophile Teilchen substituiert worden.

Betrachtet man den Mechanismus genauer, können drei verschiedene Formen unterschieden werden.

- A_{AC2} -Mechanismus
- A_{AL1} -Mechanismus
- A_{AC1} -Mechanismus

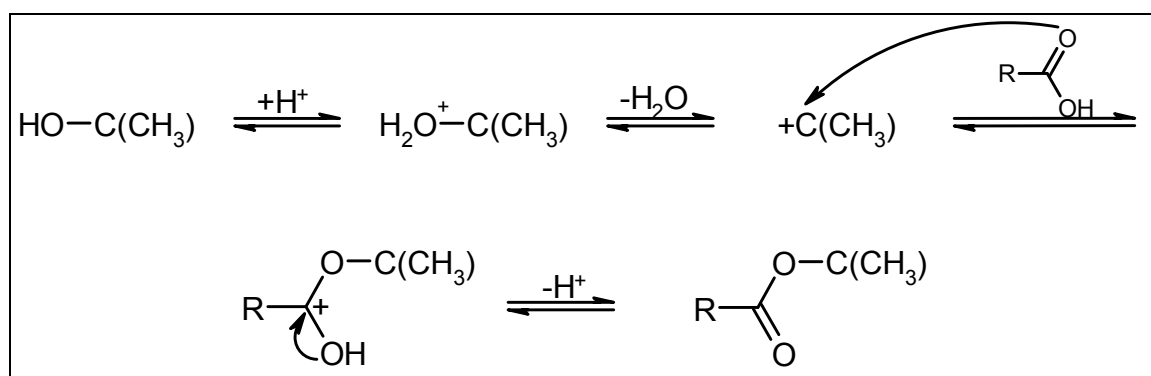
Die Bezeichnung A_{AC2} bedeutet, daß der Mechanismus Säure-katalysiert ist (acid), unter Acyl-Sauerstoff-Spaltung (wenn die Ausgangscarbonylverbindung eine Carbonsäure ist) und *bimolekular* verläuft. Er stellt den üblicherweise verfolgten Weg der Säure-katalysierten Veresterung dar und läuft in vier Einzelschritten ab:



Schema 37: Der A_{AC2} -Mechanismus

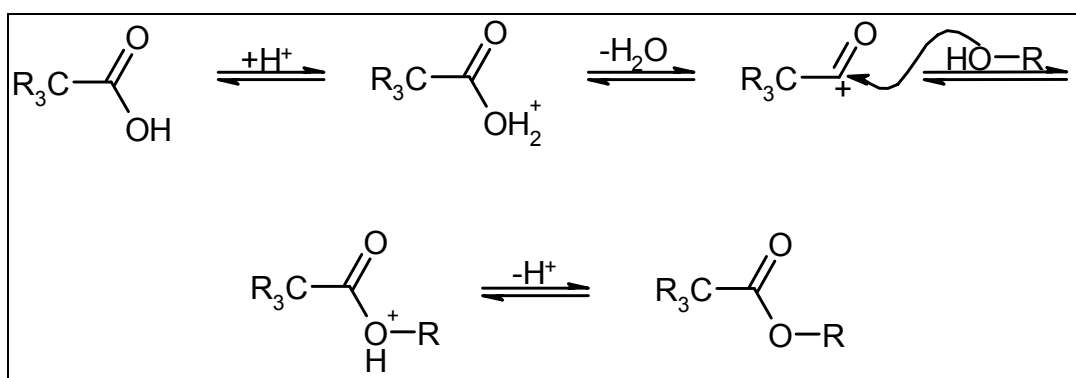
Dies ist auch der Mechanismus, nach dem Umesterungen ablaufen.

Die Veresterung mit tertiären Alkoholen verläuft nach einem anderen Mechanismus, da diese Verbindungen in der Lage sind, stabile Carbokationen zu bilden. Dadurch bleibt der Acyl-Sauerstoff erhalten, während die Alkyl-Sauerstoff-Bindung gespalten wird. Ansonsten werden auch hier die auch oben genannten vier Einzelschritte durchlaufen. Wie die meisten Mechanismen, in deren Verlauf ein Carbokation gebildet wird, verläuft dieser Reaktionsmechanismus unimolekular, weshalb er die Bezeichnung $A_{AL}1$ trägt (Säure-katalysiert [acid], Alkyl-Sauerstoff-Spaltung, unimolekular).²²⁶



Schema 38: Der $A_{AL}1$ -Mechanismus

Der dritte Reaktionsmechanismus mit der Bezeichnung $A_{AC}1$ (Säure-katalysiert, Acyl-Sauerstoff-Spaltung, unimolekular) wird bei der Veresterung von Carbonsäuren mit voluminösen Resten besprochen. Ihnen ist es nicht möglich, das tetraedrische Zwischenprodukt mit dem angreifenden Alkohol zu bilden. Deshalb wird zuerst Wasser eliminiert, indem das Hydroxysauerstoffatom durch die Säure protoniert wird.



Schema 39: Der $A_{AC}1$ -Mechanismus

²²⁶ Sykes, P. a. a. O., S. 282.

Die säurekatalysierte Veresterung ist auf Grund der recht drastischen Bedingungen nicht universell einsetzbar. Aber auch, wenn eine Carbonsäure dem stark sauren Milieu standhält, führt diese Methode nicht immer zum Ziel. Die Darstellung aktiverer Carbonsäurederivate wie Säurechloride oder -anhydride nach den herkömmlichen Methoden ist ebenfalls nicht immer möglich. Deshalb wurden Alternativen entwickelt, um auch empfindliche Substanzen verestern zu können bzw. schwer zugängliche Ester zu erhalten.

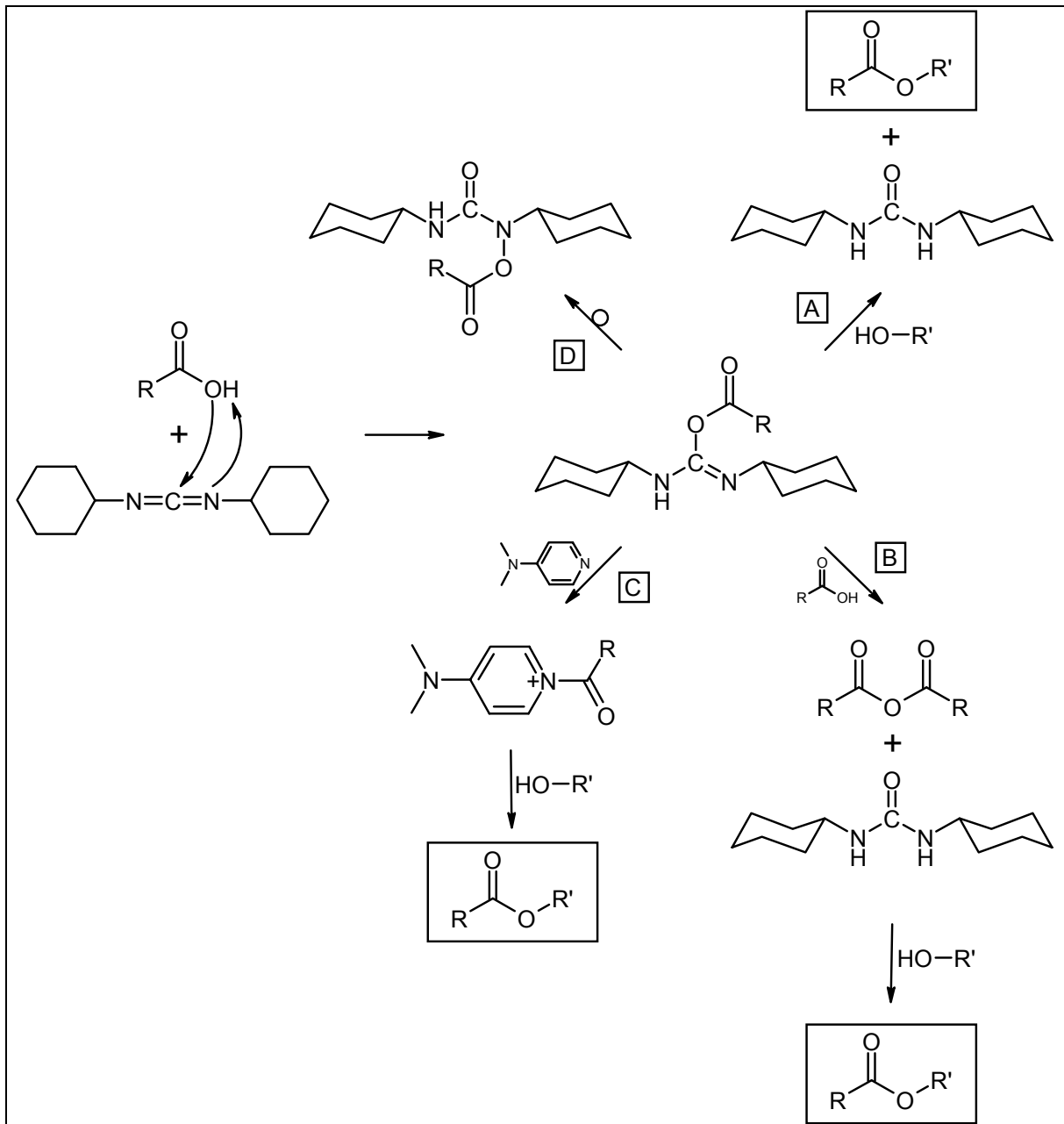
Eine naheliegende Möglichkeit ist der Versuch, aktivere Carbonsäure-Derivate auf anderem Wege – meist *in situ* – darzustellen. Hierfür existiert mittlerweile eine ganze Reihe an Reagenzien, die teilweise auch in breiterem Rahmen sehr erfolgreich eingesetzt werden.

3.3.1.2. Die Carbodiimid-Methode

Eine der am häufigst angewendeten Methoden ist die Carbodiimid-Methode. Ursprünglich für die Peptidsynthese entwickelt – die auch nach wie vor das Haupteinsatzgebiet ist – findet sie mittlerweile breiten Einsatz sowohl bei der Synthese von Amidinen als auch von Estern.

Sinn und Zweck der Verwendung von Carbodiimiden ist deren Fähigkeit, Carbonsäuren in Derivate mit höherer Reaktivität zu überführen. Dadurch gelingt die Synthese von ansonsten nicht zugänglichen Estern vor allem empfindlicher Carbonsäuren.

Im einem ersten Schritt reagiert das Carbodiimid mit der Carbonsäure zu einem O-Acylnharnstoff. Dieser kann nun auf verschiedene Weise weiterreagieren, die bis auf einen alle zum gewünschten Produkt, dem Ester, führen. Welcher Weg bevorzugt eingeschlagen wird, hängt von den weiteren Reaktionsbedingungen ab, und davon, in welchen Verhältnissen die Edukte eingesetzt werden. Grundsätzlich aber werden in der Regel alle Wege bei der Reaktion durchschritten.

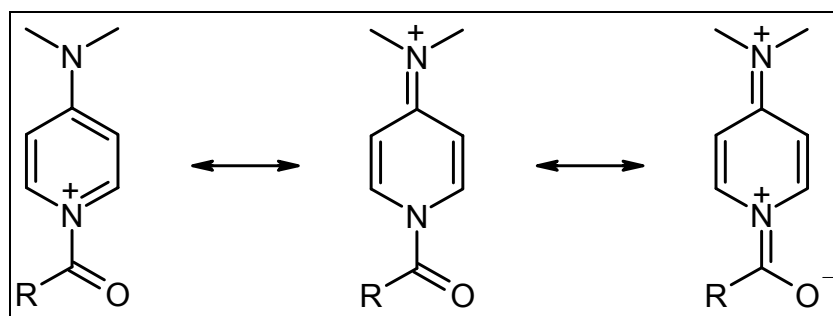


Schema 40: Mögliche Reaktionswege bei der Veresterung mit DCC

Der direkteste Weg zum gewünschten Ester ist die Reaktion des Intermediats mit dem Alkohol (Weg A). Als Nebenprodukt entsteht dabei Dicyclohexylharnstoff. Dieser entsteht ebenfalls, wenn die Zwischenstufe mit einem weiteren Molekül der Carbonsäure reagiert, wodurch deren Anhydrid entsteht (Weg B). Aus diesem kann in einer Folgereaktion wiederum der gewünschte Ester entstehen. Die Anhydridbildung vollzieht sich aber nur in Abwesenheit des Alkohols oder wenn dessen Reaktion mit dem O-Acyloharnstoff sehr langsam ist. Außerdem müssen Carbonsäure und DCC im Verhältnis 2:1 eingesetzt werden.

Der letzte Weg zum Ester wird nur dann von den Reaktionspartnern genommen, wenn als zweites Reagens Pyridin oder besser Dimethylaminpyridin (DMAP) eingesetzt wird (Weg C). Der Einsatz von DMAP ist ursprünglich entwickelt worden, um die Acylierung von Hydroxyverbindungen mit Acetanhydrid/Pyridin zu verbessern.²²⁷ Die Geschwindigkeit der Veresterung kann damit erheblich beschleunigt werden, was vor allem bei der Verwendung von aliphatischen Carbonsäuren vorteilhaft ist. Häufig wird in solchen Fällen eine Reaktion überhaupt erst möglich. Die Darstellung von Carbonsäureamiden verläuft dagegen in der Regel glatt und ohne weitere Zusätze.

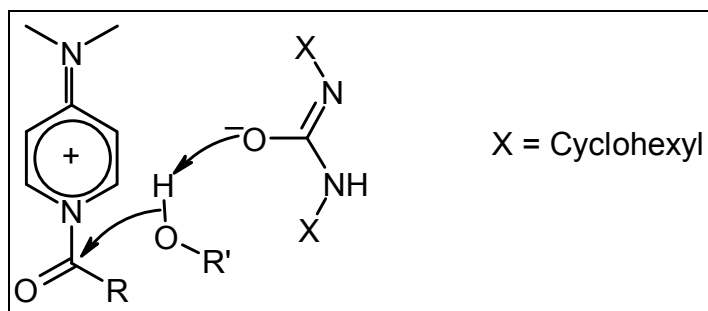
Im Zuge dieser Reaktion bildet sich aus Pyridin bzw. DMAP und der Carbonylverbindung – am vorteilhaftesten als Säurechlorid oder -anhydrid oder anderweitig aktivierte Form der Carbonsäure wie eben der O-Acylharnstoff – das entsprechend acylierte Produkt. Der Vorteil der mit DMAP gebildeten Verbindung liegt in der besseren Mesomeriestabilisierung.



Schema 41: Mesomeriestabilisierung des N1-Acyl-DMAP

Dadurch bildet sich zum einen das Produkt schneller, zum anderen ergibt sich eine größere Ionenbeweglichkeit. Dies erleichtert in der anschließenden Reaktion den Angriff des Carbonylsauerstoffs am Alkohol, wodurch dessen Reaktivität für die eigentliche Veresterung erhöht wird.

²²⁷ Höfle, G; Steglich, W.; Vorbrüggen, H. 4-Dialkylaminopyridine als hochwirksame Acylierungskatalysatoren. *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 602-615.



Schema 42: Letzter Schritt der Veresterung mit DCC/DMAP

Durch diesen Schritt bildet sich wieder das ursprüngliche DMAP. Die Substanz kann also in katalytischen Mengen verwendet werden. Daneben entsteht wie auch bei den anderen Reaktionswegen Dicyclohexylharnstoff.

Zu diesen drei Reaktionswegen, die alle zum gewünschten Ester führen, tritt die letzte Möglichkeit, nach der die Zwischenstufe abreagieren kann, in Konkurrenz (Weg D). Durch eine Umlagerungsreaktion entsteht aus dem O-Acyloharnstoff ein inaktiver N-Acyloharnstoff, wodurch die eigentlich zu veresternde Carbonsäure der Reaktion entzogen wird. Die Gesamtausbeute hängt also vom Verhältnis dieser vier möglichen Reaktionswege ab.

In der Praxis kommt nicht nur Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zum Einsatz, das der Methode ihren Namen gegeben hat, sondern eine Vielzahl von weiteren Carbodiimiden, wie zum Beispiel das EDC (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid) oder Diisopropylcarbodiimid. Diese Alternativen wurden entwickelt, um einige Nachteile, die die Verwendung von DCC mit sich bringt, zu vermeiden.

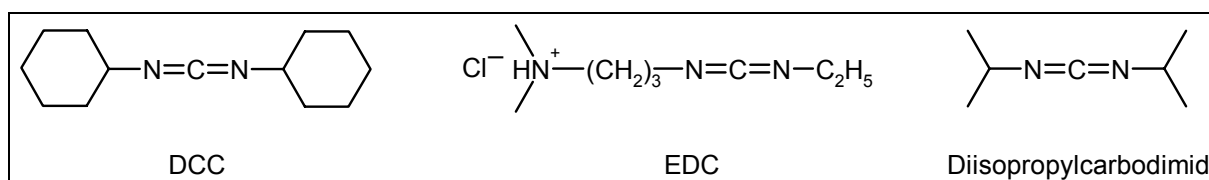


Abb. 49: Häufig verwendete Carbodiimide

In erster Linie ist das die Wasserempfindlichkeit von DCC, die es erforderlich macht, die Reaktionen unter Ausschluß von Feuchtigkeit durchzuführen. Das bedeutet einerseits größeren apparativen und experimentellen Aufwand, andererseits können nur bestimmte Lösungsmittel verwendet werden. Dies kann wiederum bedeuten, daß

die Reaktion mit den gewünschten Edukten nicht gelingt, weil diese nicht oder in zu geringem Maße im verwendeten Solvens löslich sind.

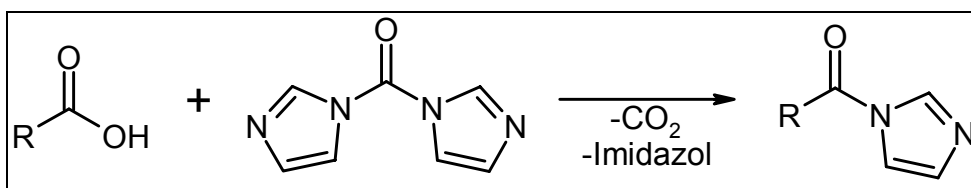
Ein weiterer Nachteil ist das bei der Reaktion aus dem DCC entstehende Nebenprodukt Dicyclohexylharnstoff. Obwohl er in fast allen Lösungsmitteln nur sehr schwer löslich ist und deshalb die weitere Reaktion theoretisch nicht stören sollte, ist es meistens zweckmäßiger und für die weitere Durchführung praktikabler, ihn zu entfernen. Um den Feuchtigkeitsausschluß aber auch weiterhin zu gewährleisten, erfordert die Abtrennung des Niederschlags einen erneuten großen apparativen Aufwand. Da dies auch immer eine Quelle für Fehler ist, besteht die erhöhte Gefahr, daß die Reaktion mißlingt.

Weiterhin hat die Praxis gezeigt, daß Dicyclohexylharnstoff in geringer Menge sehr wohl löslich ist. Die Abtrennung über Filtration ist also nicht vollständig, weshalb sich meist für eine saubere Analytik zu große Rückstände im Produkt finden. Eine nachträgliche Abtrennung erweist sich häufig als schwierig und verlustbehaftet.

3.3.1.3. Die Imidazolid-Methode

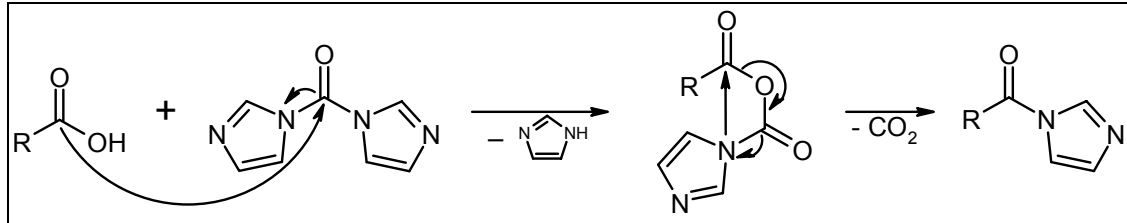
Diese Methode beruht auf dem gleichen Prinzip wie die DCC-Methode, nämlich die Carbonsäure in eine aktivere Form zu überführen, um so die Veresterung zu erleichtern oder sogar erst zu ermöglichen.

In diesem Fall wird die Carbonsäure mit N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI) in einem aprotischen Lösungsmittel – in der Regel Tetrahydrofuran – umgesetzt. Dadurch entsteht ein Carbonsäureimidazolid unter Abspaltung von Imidazol und Kohlendioxid.



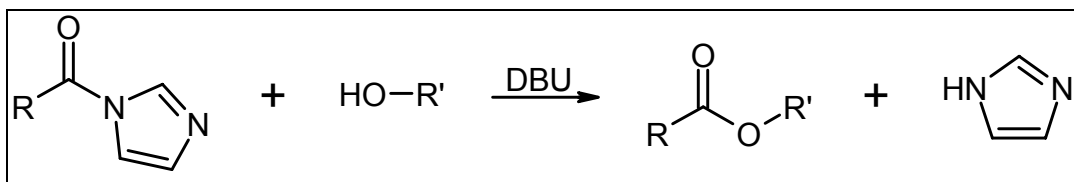
Schema 43: Veresterung mit CDI

Bei der Reaktion entsteht in einem ersten Teilschritt das gemischte Anhydrid aus der Carbonsäure und dem CDI. Durch intramolekulare nukleophile Substitution entsteht im zweiten Teilschritt das Carbonsäureimidazolid unter Kohlendioxidabspaltung.



Schema 44: Teilschritt 1 der Veresterung mit CDI

Dies ist der erste Schritt der Reaktion. Im zweiten wird das Imidazolid mit dem Alkohol in Gegenwart einer Base zum Ester umgesetzt. Als Base wird hier häufig 1,8-Diazabicyclo[5.4.0.]7-undecen (DBU) eingesetzt. Als Nebenprodukt entsteht hier ebenfalls wie im ersten Schritt Imidazol.



Schema 45: Teilschritt 2 der Veresterung mit CDI

Auch diese Reaktion wird in leicht veränderter Form erfolgreich bei der Synthese von Peptiden eingesetzt.

3.3.2. Schutz der 2'- und 3'-Hydroxygruppe von Uridin

3.3.2.1. Die Isopropyliden-Gruppe

Einführung der Schutzgruppe

Zwischen der 5'-OH-Gruppe als primärem aliphatischen Alkohol und den sekundären Alkoholgruppen an den Positionen 2 und 3 der Ribose sollte ein deutlicher Unterschied im Reaktionsverhalten bezüglich einer Veresterung bestehen. Dies zeigt sich auch an annähernd gleichen Ausbeuten bzw. qualitativ und quantitativ gleichem Auftreten von Nebenprodukten bei der Synthese des Azinitroesters (s. Kap. 2.2.8).²²⁸ Trotzdem sollten diese beiden OH-Gruppen geschützt werden. Der Aufwand hierfür sollte relativ gering sein, und im Gegenzug dazu im Zweifelsfall Nebenprodukte vermieden und bessere Ausbeuten erhalten werden.

Die am meisten verwendete Schutzgruppe für die 1,2-Diole ist die Isopropyliden-Gruppe. Besonders in der Kohlenhydratchemie benutzt man sie, um selektiv bestimmte Hydroxygruppen von Zuckern zu schützen.²²⁹ Sie ist besonders geeignet, um sekundäre Alkoholgruppen neben primären zu maskieren, da erstere eine größere Tendenz zur cyclischen Acetalbildung besitzen, allerdings nur bei cis-ständigen Diolen.^{230,231} Ihre Einführung ist über verschiedene Methoden in guten Ausbeuten möglich, ebenso einfach soll ihre Entfernung sein, vor allem ohne Beeinträchtigung der nukleosidischen Bindung.²³²

Die klassische Methode zur Darstellung von Acetoniden ist die Umsetzung in Aceton in Anwesenheit eines Säurekatalysators, in der Regel konzentrierter

²²⁸ Kimura, J.; Kobayashi, H.; Miyahara, O.; Mitsunobu, O. Studies on Nucleosides and Nucleotides. XII. Carbon-Chain Extension at 5'-Position of Ribonucleosides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 869-874.

²²⁹ für einen Überblick siehe Clode, D. M. Carbohydrate cyclic acetal formation and migration. *Chem. Rev.* **1979**, *79*, 491-513.

²³⁰ Angyal, S. J.; Beveridge, R. J. Intramolecular Acetal Formation by Primary versus Secondary Hydroxyl Groups. *Carbohydr. Res.*, **1978**, *65*, 229-234.

²³¹ Grieco, P. A.; Yokoyama, Y.; Withers, G. P.; Okuniewicz, F. J.; Wang, C.-L. J. C-12 Substituted Prostaglandines: Synthesis and Biological Evaluation of (±)-12-Hydroxyprostaglandin F_{2α} Methyl Ester. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4178-4182.

²³² Christensen, J. E.; Goodman, L. A mild method for the hydrolysis of acetal groups attached to sugars and nucleosides. *Carbohydr. Res.* **1968**, *7*, 510-512.

Schwefelsäure.²³³ Da Uridin diesen Bedingungen allerdings nicht standhält, sondern in Ribose und Uracil gespalten wird, ist diese Methode ungeeignet.

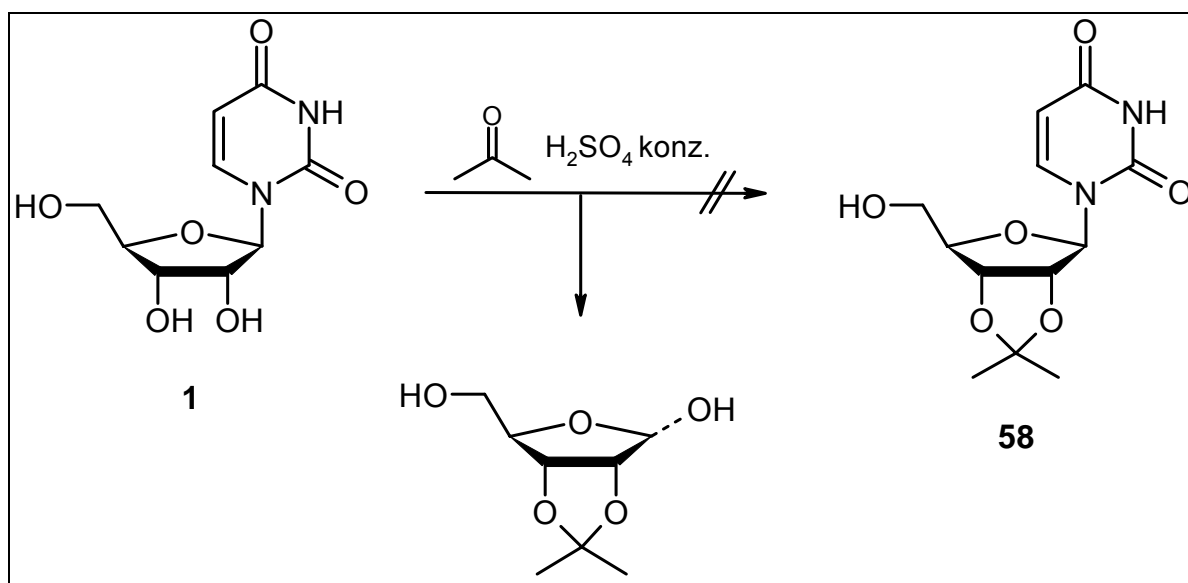


Abb. 50: Ergebnis des Syntheseversuchs von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Aceton/Schwefelsäure

Nach Hampton *et al.* kann als Säurekatalysator Toluolsulfonsäure bzw. auch deren Monohydrat eingesetzt werden.²³⁴ Hiermit konnte allerdings keine Umsetzung erreicht werden.

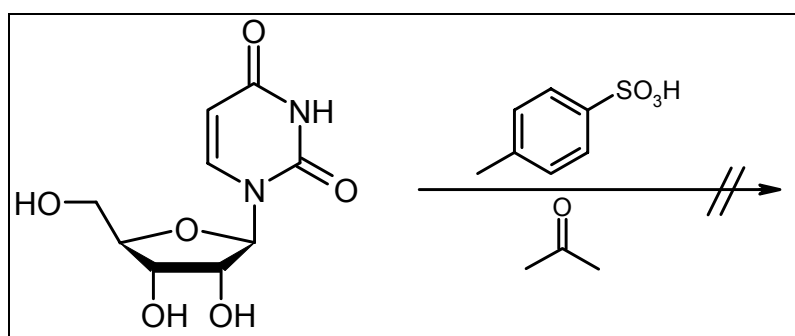


Abb. 51: Ergebnis des Syntheseversuchs von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Aceton/Toluolsulfonsäure

Schließlich konnte das Isopropylidenacetal erfolgreich hergestellt werden nach einer Vorschrift aus dem Arbeitskreis Herdeis.²³⁵ Danach wird das Nucleosid in Aceton mit

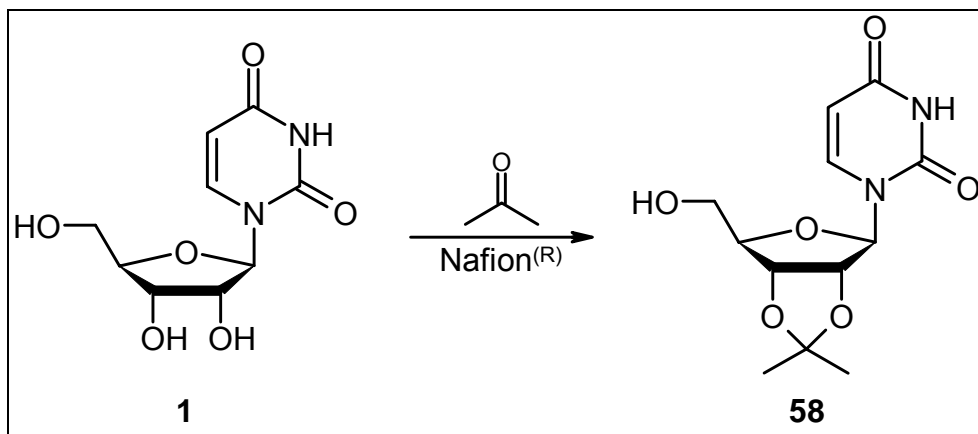
²³³ z.B. Kaskar, B.; Heise, G. L.; Michalak, R. S.; Vishnuvajjala, B. R. Convenient Large Scale Synthesis of Protected D-Ribonolactone From D-Ribose. *Synthesis* **1990**, 1031-1032.

²³⁴ Hampton, A.; Magrath, D. I. Synthesis of an Isopropylidene Derivative of an Alkali-labile Nucleoside: 2',3'-O-Isopropylidene-9- β -D-ribofuranosylpurine. *J. Amer. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3250-3251.

²³⁵ Heller, E. Synthese von chiralen, nicht racemischen cis-5-Hydroxypicolinsäuren und von Desoxyazatalose über die Methylierung von geschützten 5-Hydroxy-2-piperidinonen mit Dimethyltitanocen. Dissertation, Würzburg, **1995**.

Nafion[®], einem superaciden, perfluorierten Ionenaustauscherharz bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man das Produkt, welches zur Reinigung noch einmal umkristallisiert wird, in zufriedenstellender Ausbeute (50-60 %).

Der Vorteil dieser Methode ist die Tatsache, daß die Reaktion durch Spuren von Wasser katalysiert wird. Hierzu ist der Wassergehalt des Acetons ausreichend, womit das in diesem Fall relativ unangenehme Absolutieren des Lösungsmittels entfällt.



Schema 46: Synthese von 2',3'-O-Isopropylideneuridin mit Aceton/Nafion[®]

Entfernung der Schutzgruppe

Zur Abspaltung der Schutzgruppe stehen ebenfalls verschiedene Methoden zur Verfügung. Die klassische ist die saure Hydrolyse, wobei auch hier verschiedene Säuren zum Einsatz kommen können. Die am häufigsten verwendeten sind Salzsäure, in der Regel in einmolarer Konzentration, sowie Trifluoressigsäure (TFA). In Anbetracht der empfindlichen nukleosidischen Bindung muß die gewählte Methode entsprechend milde sein. Deshalb wurde in einem ersten Versuch die Hydrolyse zunächst mit 0,1-N HCl versucht. Hiermit konnte das Acetonid nach zwei Tagen erfolgreich unter Erhalt des Nucleosids abgespalten werden. Bei einem Versuch, Propionsäure-(2',3'-O-isopropylidene)uridin-5'-ylester zu entschützen, zeigte das Dünnschichtchromatogramm jedoch bereits nach 24 Stunden deutlich das freie Nucleosid. Die neue Esterbindung ist also offensichtlich unter diesen Bedingungen nicht stabil, so daß diese Methode nicht geeignet ist.

Die Verwendung von Trifluoressigsäure gilt ebenfalls als milde Methode zur Acetonidspaltung. Nach Christensen *et al.* können mit 90 %iger wässriger TFA auch Nucleoside unter Erhaltung der nucleosidischen Bindung entschützt werden, wie sie am Beispiel von Adenosin gezeigt haben.²³² Im Fall von Uridin ist diese Konzentration allerdings offenbar zu hoch, da bereits nach kurzer Zeit Uracil entsteht, die nucleosidische Bindung also ebenfalls gespalten wird. Auch bei der deutlich schwächeren Konzentration von 50 % TFA zeigt sich das gleiche Bild. Noch geringere Säurekonzentrationen reichen hingegen nicht aus, um das Acetonid zu spalten. Eine „ideale“ Konzentration, bei der zwar die Schutzgruppe abgespalten wird, das Nucleosid aber intakt bleibt, konnte nicht gefunden werden.

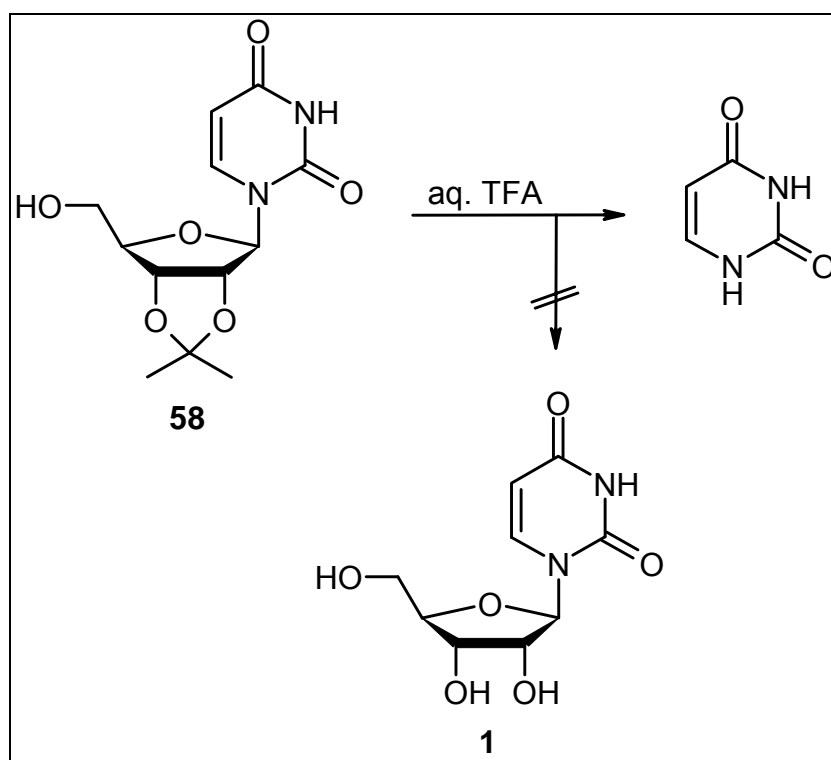


Abb. 52: Ergebnis der 2',3'-Isopropylidengruppen-Entfernung mit TFA

In der Literatur findet man auch die Verwendung von Trifluoressigsäure in organischen Lösungsmitteln.²³⁶ Dies brachte ebenfalls nicht den gewünschten Erfolg. In einem Fall wurde ein Gemisch aus Tetrahydrofuran/Wasser (4:1) verwendet mit 4 % TFA. Hier konnte zwar nach 2 Tagen eine komplette Umsetzung des Edukts dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen werden, allerdings traten neben dem ungeschützten Produkt mehrere Nebenprodukte auf, mit nur äußerst geringen

²³⁶ z.B. Leblanc, Y.; Fitzsimmons, B. J.; Adams, J.; Perez, F.; Rokach, J. The Total Synthesis of 12-HETE and 12,20-DiHETE. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 789-793.

Unterschieden im R_{f} -Wert. Auf eine Aufreinigung und Isolierung, die entsprechend aufwendig und verlustreich zu sein drohte, wurde deshalb angesichts der noch zur Verfügung stehenden Alternativen verzichtet.

Manfredini *et al.* konnten ein Ethoxyethyliden-Adenosin-Derivat unter Verwendung von 4 %iger Trifluoressigsäure in einem Gemisch aus Chloroform und Methanol (1:1) entschützen.²³⁷ In unserem Fall blieb diese Methode jedoch erfolglos, selbst nach mehreren Tagen konnte keine Entschützung erzielt werden. Auch höhere Konzentrationen an TFA brachten nicht den gewünschten Erfolg. Insgesamt erweist sich also Trifluoressigsäure als nicht geeignet zur Entfernung der Schutzgruppe.

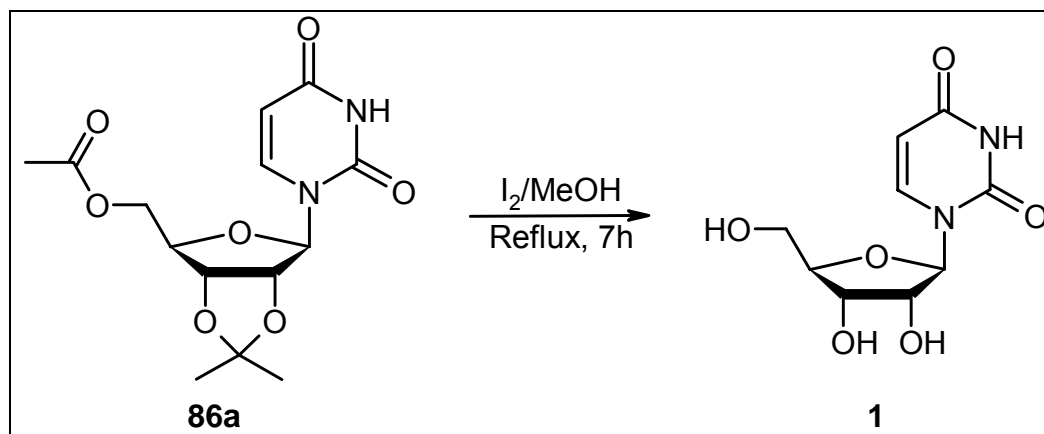
In Anbetracht der Tatsache, daß unter den Abspaltungsbedingungen zusätzlich zur nukleosidischen Bindung der gebildete Ester stabil bleiben muß, was unter den üblichen, sauren Bedingungen nicht sicher ist, wurde nach anderen Methoden zur Abspaltung der Schutzgruppe gesucht.

Die Verwendung einer methanolischen Iodlösung zur Abspaltung von acetalischen Schutzgruppen, nicht nur von Isopropyliden-, sondern auch von Benzyliden- und Ethylidengruppen wurde beschrieben.²³⁸ Dabei bildet sich zunächst ein Komplex eines der beiden Acetal-Sauerstoffatome mit dem Iod. Bei der sich anschließenden Reaktion mit Methanol entsteht der freie Alkohol. Die Reaktion kann bei Raumtemperatur oder unter Reflux durchgeführt werden, in Abhängigkeit von der Ausgangsverbindung. Laut Angaben der Autoren sind unter diesen Bedingungen Acetylgruppen, also Ester, stabil. Allerdings wurden von der Arbeitsgruppe ausschließlich Zucker untersucht.

Im Fall des Isopropyliden-geschützten Uridins kann die Acetalspaltung mit einer 1 %igen Iodlösung unter Reflux innerhalb von 7 Stunden erreicht werden. Bei Raumtemperatur erfolgt keine Entschützung. Bei der Wiederholung mit Essigsäure-uridin-5'-ylester zeigte sich jedoch, daß in diesem Fall die Esterbindung nicht stabil ist, sondern Uridin als einziges Produkt entsteht. Demnach ist diese Methode also ebenfalls nicht zur Abspaltung der Schutzgruppe geeignet.

²³⁷ Poster Bologna 2000.

²³⁸ Szarek, W. A.; Zamojski, A.; Tiwari, K. N.; Ison, E. R. A New Facile Method for Cleavage of Acetals and Dithioacetals. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3827-3830.



Schema 47: Entfernung der 2',3'-O-Isopropylidengruppe mit Iod/Methanol

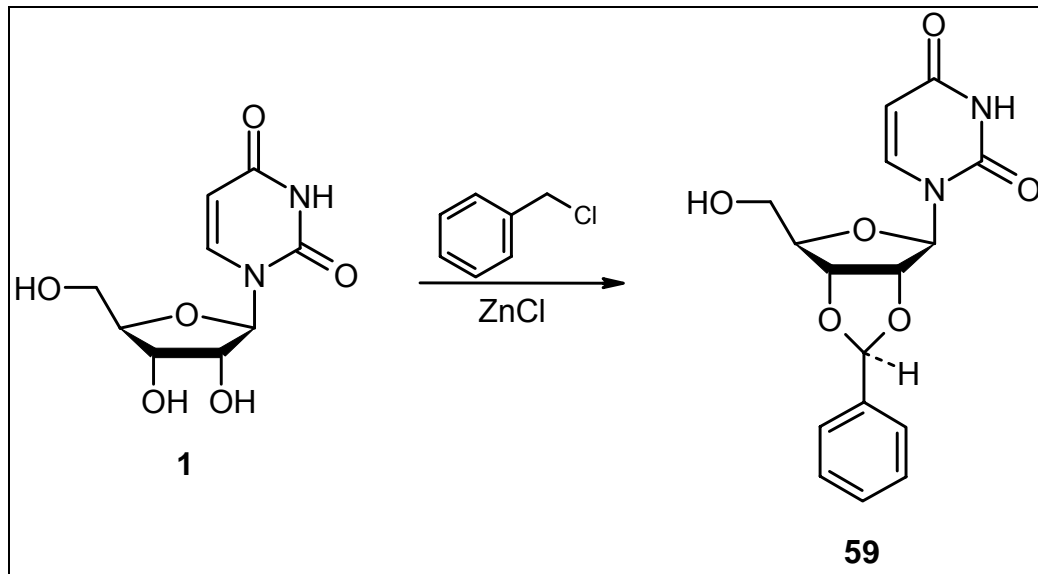
Da sich die Abspaltung der Isopropylidengruppe unter Erhalt der Ester- und Nucleosidbindung offensichtlich schwierig bzw. vielleicht sogar als unmöglich gestaltet, wurde nach einer alternativen Schutzgruppe gesucht.

3.3.2.2. Die Benzylidengruppe

Eine weitere sehr häufig neben der Isopropylidengruppe verwendete Schutzgruppe ist das Benzylidenacetal. Zusätzlich zu den auch beim Isopropylidenacetal möglichen Abspaltungsmethoden kann diese Schutzgruppe auch abhydriert werden.

Die Synthese erfolgt nicht wie beim Isopropylidenacetal mit Mineral- bzw. organischen Säuren als Katalysatoren, sondern mit Lewissäuren. Die hier verwendete Methode ist die von Ponpipom *et al.* beschriebene, bei der Uridin in frisch destilliertem Benzaldehyd in Gegenwart von wasserfreiem Zinkchlorid umgesetzt wird.²³⁹ Wichtig hierbei ist das richtige Verhältnis der Edukte zueinander, da ansonsten nicht der optimale Umsatz erreicht wird bzw. die Isolierung sich als schwierig erweist. Die Synthese analog der Methode zur Darstellung des Isopropylidenacetals mit Nafion ist prinzipiell auch möglich, führt aber nicht zu befriedigenden Ausbeuten.

²³⁹ Ponpipom, M. M.; Hanessian, S. The Reaction of *O*-Benzylidene Sugars with *N*-Bromsuccinimide. VI. A New Synthesis of 2'-Deoxyuridine and some of its Selectively Substituted Derivatives. *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 246-252.



Schema 48: Synthese von 2',3'-O-Benzylidenuridin

Als Produkt erhält man ein 1:2-Gemisch der beiden möglichen Diastereomere, wie man im NMR-Spektrum deutlich erkennen kann.²⁴⁰

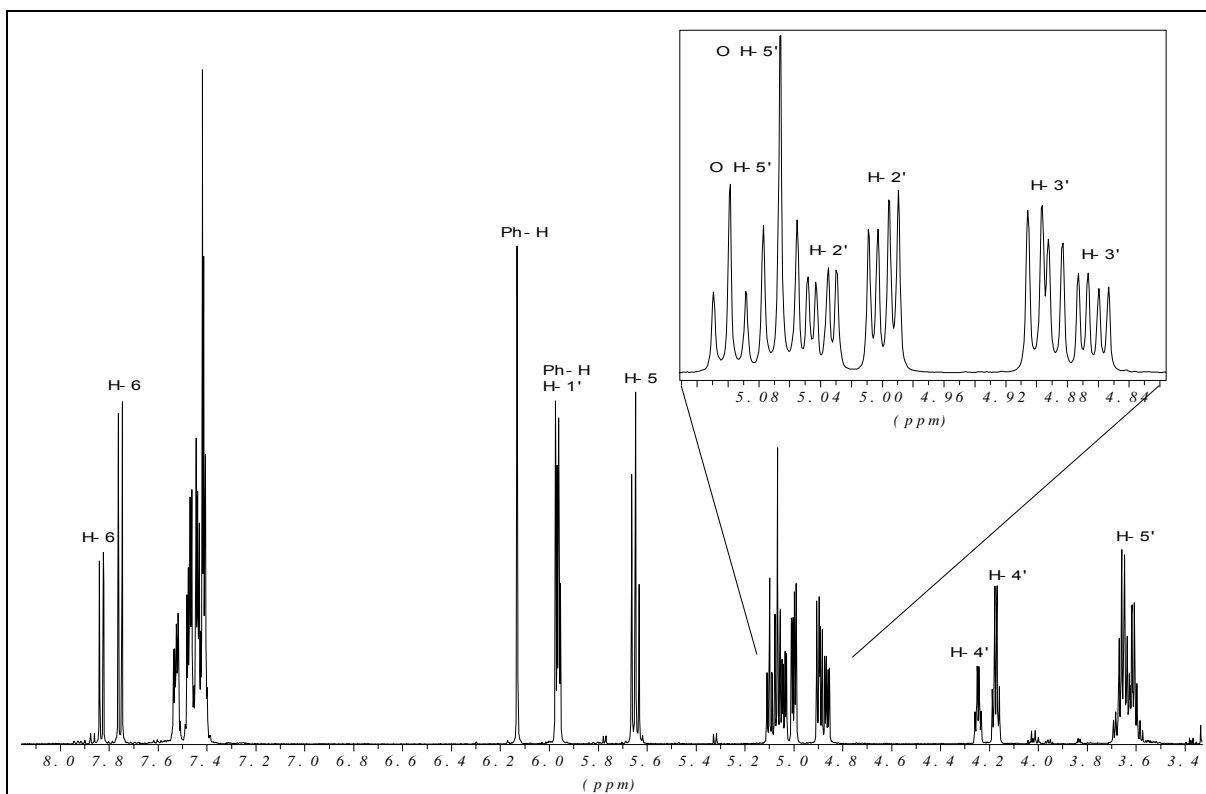


Abb. 53: ¹H-NMR von 2',3'-O-Benzylidenuridin

Während im ¹H-NMR-Spektrum die beiden jeweiligen Signale eines Protons direkt nebeneinander liegen, sind im ¹³C-NMR-Spektrum die beiden Signale für das

²⁴⁰ Li, Ch.; Vasella, A. 14. A New Synthesis of Benzylidene Acetals. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 211-221.

C4-Atom der Ribose und die für das C2-Atom alternierend angeordnet. Durch mehrfaches Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen kann das eine Diastereomer angereichert bzw. rein erhalten werden.²⁴⁰

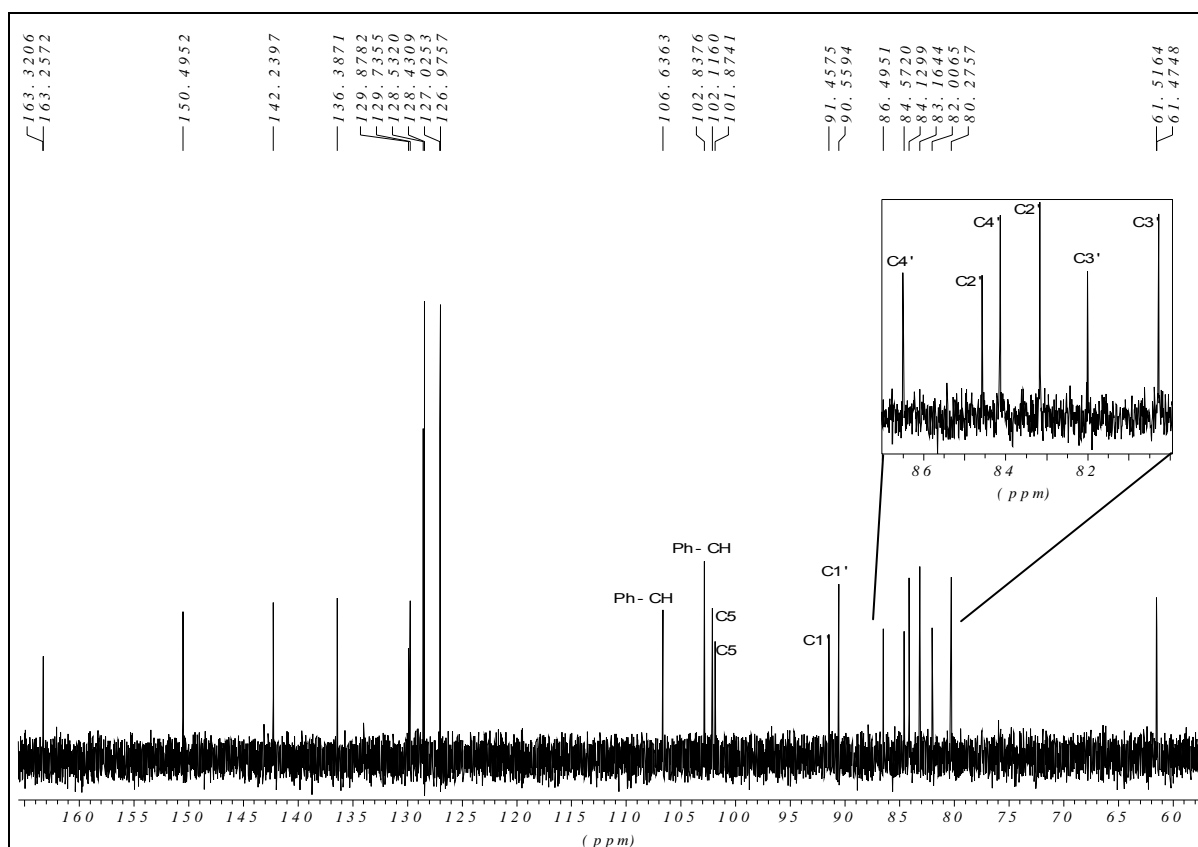


Abb. 54: ^{13}C -NMR von 2',3'-O-Benzylidenuridin

Die Benzylidenschutzgruppe kann, wie oben bereits erwähnt, abhydriert werden. Der dazu nötige Wasserstoff wird häufig auch *in situ* generiert. Als Wasserstoffquelle sind in der Literatur verschiedene Verbindungen beschrieben worden, zum Beispiel Ameisensäure, Ammoniumformiat, Cyclohexen, Cyclohexadien und andere.

Zunächst wurden die Versuche mit Benzylidenuridin durchgeführt, um eine geeignete Methode zu finden. Die Wahl fiel auf solche, bei denen die Wahrscheinlichkeit groß ist, daß sowohl die nukleosidische als auch die neu geknüpfte Esterbindung erhalten bleiben. Die Aussagen der Autoren sind dabei mit einer gewissen Vorsicht zu genießen, da die katalytische Hydrierung äußerst empfindlich auf kleinste Veränderungen bei der Durchführung, wie Reinheit und Beschaffenheit der verwendeten Lösungsmittel, Qualität und Aktivität des verwendeten Katalysators, Reaktionstemperatur u. a. reagiert.

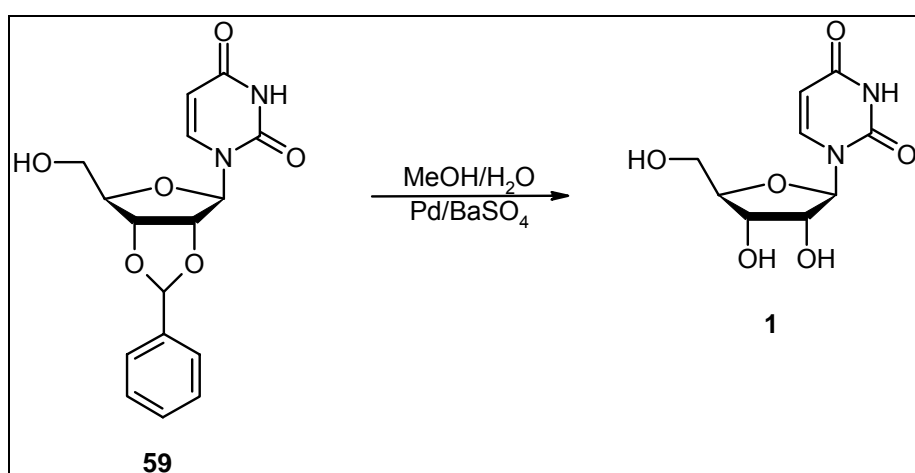
Folgende Reaktionssysteme wurden ausprobiert:

- Eisen(III)chlorid an Kieselgel absorbiert; Chloroform²⁴¹
- Eisen(III)chlorid wasserfrei; Dichlormethan²⁴²
- Ammoniumformiat; Methanol; Palladiumkohle²⁴³

Neben diesen wurde die Hydrierung mit elementarem Wasserstoff in der Hydrierapparatur unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

- Ethylacetat; Palladiumkohle; 1 bar Überdruck
- Ethanol; Palladiumkohle; 1 bar Überdruck
- Ethanol/Toluol (1:1); Palladiumkohle; 1 bar Überdruck
- Methanol; Palladiumkohle; 3,5 bar Überdruck; 40 °C
- Essigsäure; Palladiumkohle; Normaldruck
- Methanol/Wasser (1:1); Palladium auf Bariumsulfat; Normaldruck

Lediglich mit dem letzten dieser Systeme konnte ein befriedigender Reaktionsverlauf hinsichtlich eines kompletten Umsatzes erreicht werden. Dies ist insofern erstaunlich, als ein vergifteter Katalysator verwendet wird, dessen Aktivität eigentlich schwächer als die von reiner Palladiumkohle ist.



Schema 49: Entfernung der 2',3'-O-Benzylidenschutzgruppe mit Palladium/Bariumsulfat

²⁴¹ Kim, K. S.; Song, Y. H.; Lee, B. H.; Hahn, C. S. Efficient and Selective Cleavage of Acetals and Ketals Using Ferric Chloride Adsorbed on Silica Gel. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 404-407.

²⁴² Park, M. H.; Takeda, R.; Nakanishi, K. Microscale Cleavage Reaction of (Phenyl)benzyl Ethers by Ferric Chloride. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3823-3824.

²⁴³ Bieg, T.; Szeja, W. Catalytic transfer hydrogenation of 1,3-dioxolanes. *Carbohydr. Res.* **1985**, *140*, C7-C8.

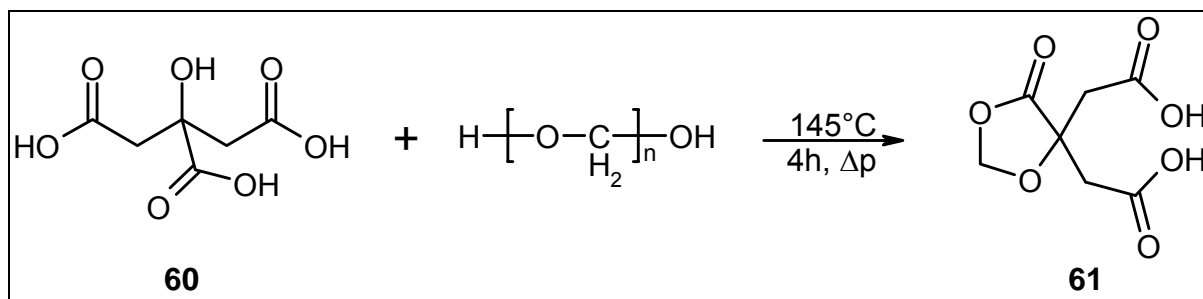
3.3.3. Veresterungsversuche mit Citronensäure und Uridin

Um eine kontrollierte Veresterung der mehrwertigen Carbonsäure Citronensäure mit nur einer ihrer Säurefunktionen und Uridin zu erreichen, ist es nötig, die verbleibenden zwei selektiv zu schützen. Ansonsten ist die Wahrscheinlichkeit groß, ein Produktgemisch aus Mono-, Di- und Triestern sowie nicht umgesetzter Edukte zu erhalten.

Gelingt die selektive Blockierung, so dürfte der dadurch erreichte Vorteil – ein einziges Veresterungsprodukt und somit eine deutlich vereinfachte Isolierung und Reinigung im Gegensatz zu einem Gemisch aus mehreren, vom Verhalten ähnlicher Produkte – den notwendigen Mehraufwand mehr als rechtfertigen.

Diese Strategie wurde von Weaver *et al.* erfolgreich bei der Veresterung von 2',3'-Dideoxy-2',3'-dideoxythymidin (d4T) mit Citronensäure durchgeführt. Deshalb wurde dieser Syntheseweg übernommen.²⁴⁴

Zunächst wird die zusammen mit der Hydroxygruppe am C3-Atom gebundene Säurefunktion blockiert. Dazu wird die Citronensäure mit Paraformaldehyd in einem Druckgefäß geschmolzen. In einer Kondensationsreaktion, die ganz entfernt an die Chromotropsäurereaktion erinnert, bildet sich intermolekular aus den beiden Sauerstoffatomen und dem C-Atom des Paraformaldehyds ein 5-Oxo-1,3-dioxolanring.

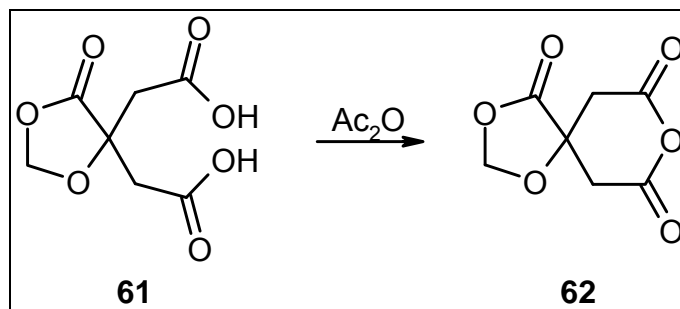


Schema 50: Synthese von 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäure

²⁴⁴ Weaver, R.; Gilbert, I. H. The Design and Synthesis of Nucleoside Triphosphate Isosteres as Potential Inhibitors of HIV Reverse Transcriptase. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5537-5562.

Das Produkt erhält man durch Behandeln des Reaktionsansatzes im Ultraschallbad mit Wasser in zufriedenstellender Ausbeute und sehr guter Reinheit.

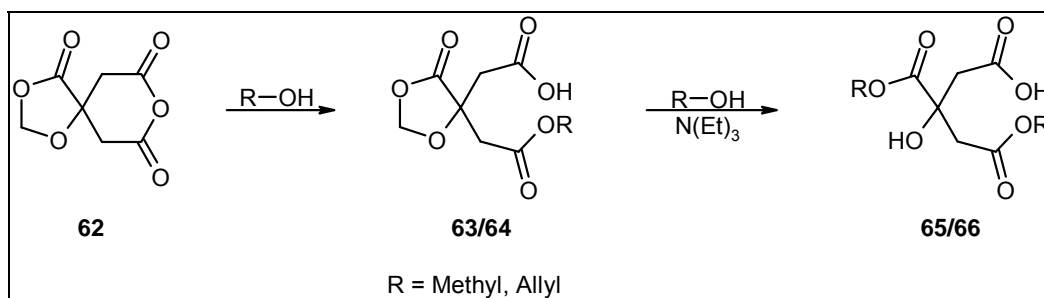
Um die zweite Säuregruppe zu schützen, wird nun das innere Anhydrid durch Refluxieren in Acetanhydrid dargestellt. Die Umsetzung ist vollständig und das erhaltene Produkt kann ohne weitere Reinigung für den nächsten Schritt verwendet werden.



Schema 51: Synthese von 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureanhydrid

Wird das so dargestellte Anhydrid mit absolutem Alkohol (Methanol oder Allylalkohol) unter Rückfluß erhitzt, bilden sich die entsprechenden Monoalkylester. Auch diese Reaktion verläuft glatt und die erhaltenen Produkte können ohne Reinigung weiter eingesetzt werden.

Im letzten vorbereitenden Schritt wird der Dioxolanring mit dem gleichen Alkohol, der zur Öffnung des Anhydrids verwendet wurde, ebenfalls wieder geöffnet. Damit hat man an beiden Stellen die gleiche Schutzgruppe, was für die abschließende Entschützung von Vorteil ist. Diese Reaktion muß unter Basenkatalyse durchgeführt werden, verwendet wird frisch destilliertes Triethylamin.²⁴⁵



Schema 52: Synthese von 3-Alkyloxy-3-hydroxyglutarsäure-1-alkylester

²⁴⁵ Lee, B. H.; Miller, M. J. Natural ferric ionophores: total synthesis of schizokinen, schizokinen A, and arthrobactin. *J. Org. Chem.*; 48 (1983); 24-31.

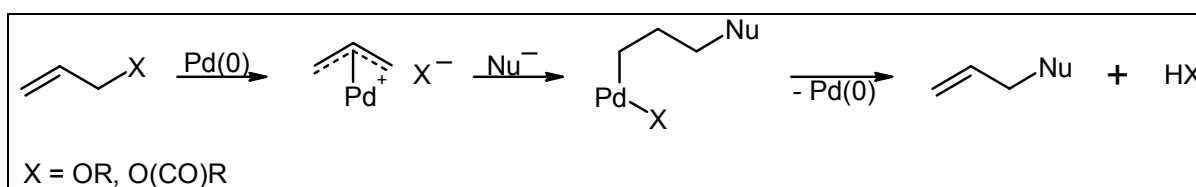
Nachdem auf diese Art und Weise zwei der drei Säurefunktionen der Citronensäure geschützt und damit einer Veresterungsreaktion entzogen wurden, kann nun diese an der verbliebenen freien Säuregruppe durchgeführt werden.

Die Veresterung wurde nach der Carbodiimid-Methode mit DCC und DMAP in absolutem Tetrahydrofuran durchgeführt. Im Gegensatz zum normalerweise nur katalytischen Einsatz der Pyridinverbindung verwenden die Autoren äquimolare Mengen und führen die Reaktion als Eintopfsynthese durch. Für die Syntheseveruche mit Uridin wurde dieses Vorgehen übernommen (Methode A). Zusätzlich wurde die Reaktion in zwei Schritten und mit katalytischen Mengen DMAP versucht (Methode B). Dazu wird in einem ersten Schritt die geschützte Citronensäure mit DCC umgesetzt. Nach Abschluß der Reaktion werden für den zweiten Schritt Uridin und DMAP (10 %) zugegeben. Soll der im ersten Schritt entstandene Harnstoff abgetrennt werden, muß zur Gewährleistung des Feuchtigkeitsausschlusses eine belüftbare Umkehrfritte verwendet werden.

Bezüglich des Umsatzes zeigte sich Methode B der Eintopfmethodede deutlich unterlegen, deshalb ist Methode A eindeutig die Methode der Wahl für die Veresterung von Uridin mit Citronensäure. Die Isolierung und Reinigung des Produkts erfolgt säulenchromatographisch.

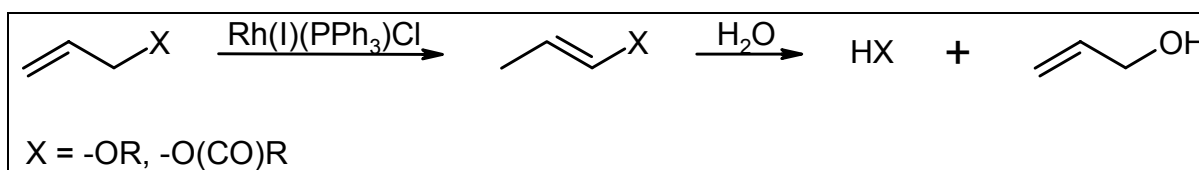
Esterschutzgruppe auf die Peptidsynthese.²⁴⁸ Ihre Entfernung kann prinzipiell auf zwei Wegen durchgeführt werden.

Einerseits ist dies die Komplexbildung mit Palladium(0) und Übertragung des Allylrestes auf ein Nukleophil (Allylfänger). Als Palladiumkatalysator wird Tetrakis(triphenylphosphin)palladium verwendet. Als Allylfänger haben sich Dimedon, N,N-Dimethylbarbitursäure, Morpholin und Methylanilin bewährt.²⁴⁹



Schema 54: Reaktionsmechanismus der Deallylierung mit Palladium(0)

Das andere Prinzip ist die Isomerisierung zum Propenylrest mit Hilfe von Rhodium(I)-Komplexen (Wilkinsons Katalysator, Tris(triphenylphosphin)rhodium(I)-chlorid) und anschließende Hydrolyse dieser instabilen Gruppe.



Schema 55: Reaktionsmechanismus der Deallylierung mit Rhodiumkomplexen

Die Autoren der zu Grunde gelegten Vorschrift²⁴⁴ benutzten die letztere Methode unter Verwendung des Wilkinson-Katalysators, weshalb dieses Vorgehen übernommen wurde. Dazu wird die Verbindung in 90ig-prozentigem Ethanol gelöst bzw. suspendiert, mit 10 % des Katalysators versetzt und ca. 5 Stunden auf 70 °C erhitzt. Die Isolierung und Aufreinigung erfolgt säulenchromatographisch.

²⁴⁸ Waldmann, H.; Kunz, H. Allylester als selektiv abspaltbare Carboxyschutzgruppen in der Peptid- und N-Glycopeptidsynthese. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1712-1725.

²⁴⁹ Shapiro, G.; Buechler, D. Mild and Rapid Azide-Mediated, Palladium Catalyzed Cleavage of Allylester Based Protecting Groups. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 5421-5424.

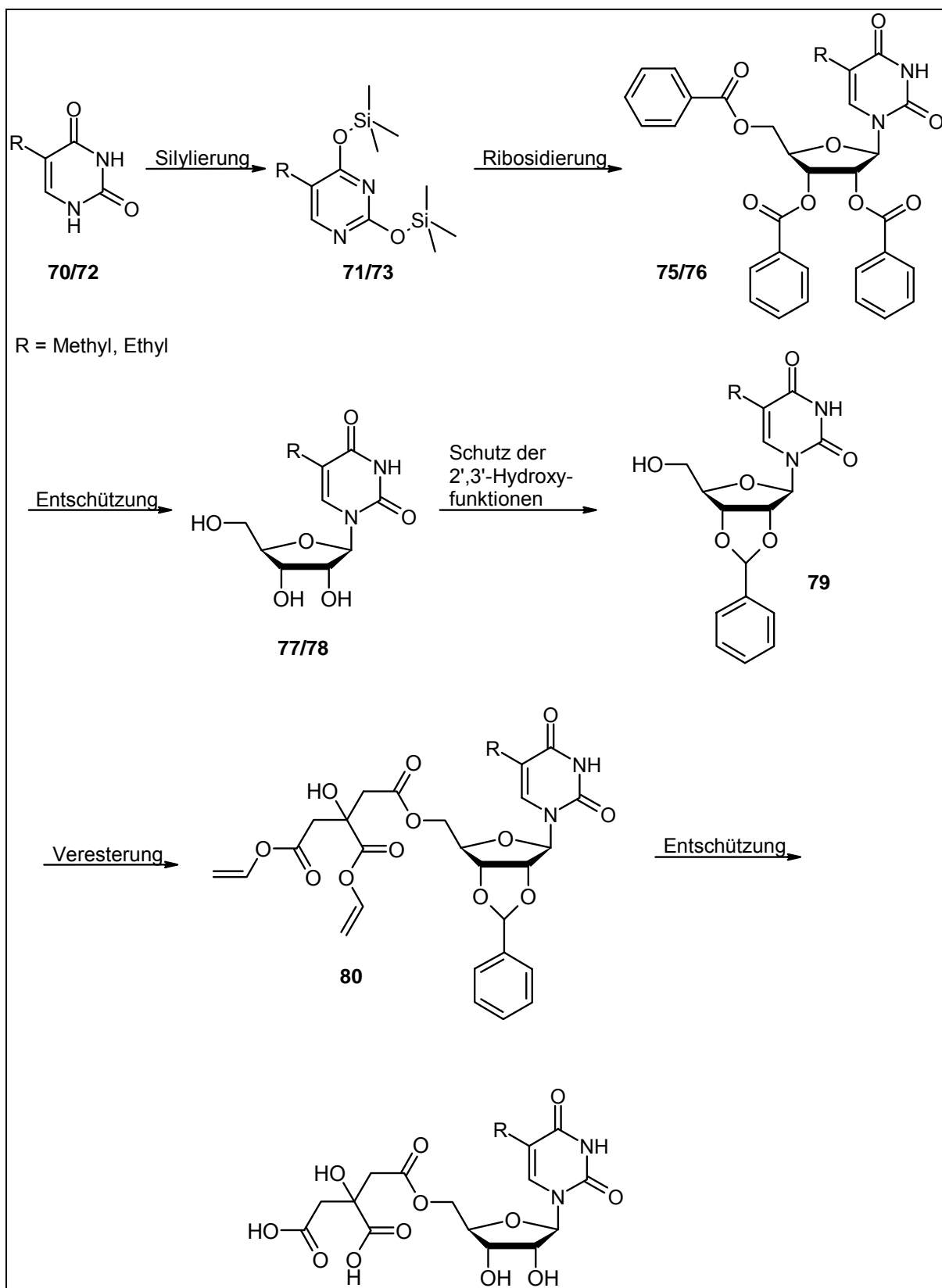
3.3.4. Veresterungsversuche mit Citronensäure und 5-Alkyluridinen

Die Synthese der in der Überschrift genannten Verbindungen beginnt mit der Darstellung der 5-Alkyluridine, da diese kommerziell nicht erhältlich sind. Dazu wird in der Regel erst das entsprechende Uracil-Derivat hergestellt, das in der nachfolgenden Reaktion zum Uridin ribosidiert wird. Dieser erste Schritt konnte entfallen, da die gewünschten 5-Alkyluracile in ausreichender Menge im Arbeitskreis vorhanden waren.

Deshalb konnte sofort mit der Darstellung der Uridine begonnen werden. Die dazu übliche Methode ist die sogenannte Hilbert-Johnson-Methode in ihrer Silyl-Variante. Danach wird das Uracil-Derivat zunächst mit Hexamethyldisilazan (HMDS) silyliert. Anschließend folgt die Ribosidierung mit Benzoyl-geschützter Ribose unter Zinn(IV)chlorid-Katalyse. Die Entfernung der verbliebenen Silylgruppe erfolgt durch Hydrolyse mit einer Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat-Lösung. Die Entschützung des Zuckers wird mit Natriummethanolat durchgeführt, wodurch man die entsprechenden Natriumsalze der 5-Alkyluridine erhält. Zur Darstellung der freien Form wird ein Ionenaustauscherharz verwendet.

Bei den auf diese Weise dargestellten 5-Alkyluridinen wurden anschließend die sekundären Hydroxyfunktionen der Ribose nach der in Kapitel 2.3.2 dargestellten Methode für die folgende Veresterung geschützt. Letztere erfolgte wie im vorherigen Kapitel beschrieben nach der DCC/DMAP-Methode mit der geschützten Citronensäure. Als letztes werden die Schutzgruppen wieder entfernt.

Insgesamt stellt sich der Syntheseweg also folgendermaßen dar:



Schema 56: Syntheseroute zu 3-Alkoxycarbonyl-3-hydroxy-glutar säure-alkylester-(5-alkyluridin-5'-yl)ester

Die Hilbert-Johnson-Methode

Die Hilbert-Johnson-Methode wurde ursprünglich von den Namensgebern zur Einführung von Alkylsubstituenten an den Stickstoffatomen des Uracils entwickelt.²⁵⁰ Die Reaktion besteht aus zwei Teilschritten, von denen der erste – die Veretherung der Sauerstoffatome – eine Vorbereitung des zweiten – der nukleophilen Substitution an dem bzw. den Stickstoffatomen – ist, der die eigentliche Hilbert-Johnson-Reaktion darstellt. Von hier aus ist die Methode auf die Synthese von Nucleosiden übertragen worden.²⁵¹ In den sechziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts ist die Methode unabhängig von verschiedenen Autoren um die Silylvariante ergänzt worden.^{252,253,254,255} Zunächst wurden die Synthesen noch ohne Promotoren durchgeführt. Erst 1974 führten Niedballa und Vorbrüggen Lewisäuren als Reaktionsbeschleuniger ein, wodurch die Methode eine entscheidende Verbesserung erfuhr.²⁵⁶

Die gängigsten heute eingesetzten Zucker sind 1-O-Acetyl-2,3,5-tribenzoylribose und 1,2,3,5-Tetra-O-acetylribose. Erstere zeichnet eine höhere chemische Stabilität aus, ihre Verwendung ist aber wegen der bei der Reaktion entstehenden Benzoesäure eine größere Umweltbelastung. Dieses Problem besteht bei der vierfach Acetylgeschützten Ribose nicht, dafür ist sie gegenüber Säuren und Basen deutlich empfindlicher. Ebenfalls als umweltproblematisch ist die Verwendung von 1,2-Dichlorethan und Acetonitril als Lösungsmittel einzustufen, in denen die Reaktion nach wie vor durchgeführt wird.

Trotzdem hat sich die Methode in dieser Form mit leichten Modifikationen als universell einsetzbare Synthese zur Darstellung von Nucleosiden etabliert.

²⁵⁰ Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. Research on pyrimidines CXV. Alkylation on nitrogen of the pyrimidine cycle by application of a new technique involving molecular rearrangement. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, 2001-2007.

²⁵¹ Hilbert, G. E.; Johnson, T. B. Research on pyrimidines CXVII. A Method for the synthesis of nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, 4489-4494.

²⁵² Birkhofer, L.; Richter, P.; Ritter, A. „Aktivierung“ N-haltiger Heterocyclen durch Silylierung. *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 2804-2809.

²⁵³ Nishimura, T.; Shimizu, B.; Iwai, I. A new synthetic method of nucleosides. *Chem. Pharm. Bull.* **1963**, *11*, 1471-1472.

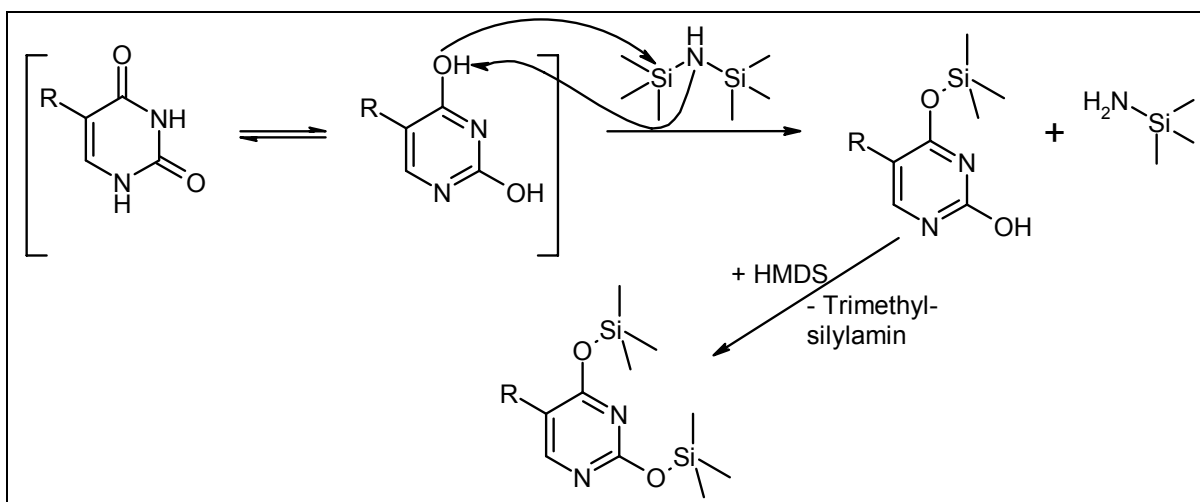
²⁵⁴ Wittenburg, E. Eine neue Synthese von Nucleosiden. *Z. Chem.* **1964**, *4*, 303-304.

²⁵⁵ Wittenburg, E. Synthese von Pyrimidin-Nucleosiden über Silylderivate. Bericht von der GDCh-Hauptversammlung, Bonn 1965. in *Angew. Chem.* **1965**, *77*, 1043.

²⁵⁶ Niedballa, U.; Vorbrüggen, H. A General synthesis of N-glycosides III. A simple synthesis of pyrimidine Disaccharide Nucleosides. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654-3674.

Die Silylierung

Durch die Silylierung wird das normalerweise in der Ketoform vorliegende Uracil in seine Enolform überführt und in dieser Form stabilisiert. Möglich ist diese Veretherung durch die hohe Affinität des Siliciums zu Sauerstoff. Als Silylierungsmittel hat sich Hexamethyldisilazan bewährt, da es Reagenz und Solvens in einem ist. Seine Reaktivität ist aber eher gering, wodurch lange Reaktionszeiten und hohe Temperaturen nötig werden. Deshalb setzt man der Reaktion einen Promotor zu, um den Ablauf zu beschleunigen. Ammoniumsulfat, Trimethylsilylchlorid (TMSCl) und andere Siliciumverbindungen haben sich bewährt. Das bei der Synthese entstehende Trimethylsilylamin ist flüchtig und entzieht sich deshalb selbst der Reaktion.



Schema 57: Reaktionsmechanismus der Silylierung von 5-Alkyluracilen

Für die Synthese wird das entsprechende 5-Alkyluridin-Derivat unter Feuchtigkeitsausschluß in HMDS suspendiert und mit einem Zusatz von TMSCl refluxiert. Die Reaktion ist vollständig, wenn die Suspension in eine klare Lösung übergegangen ist. Ist dies der Fall, läßt man zum Abbruch der Reaktion abkühlen und destilliert anschließend das überschüssige HMDS schonend ab. Dadurch fallen die silylierten Verbindungen als gelbliche Öle oder wachsartige Feststoffe an. Der Grad der Silylierung kann mittels NMR-Spektroskopie bestimmt werden.

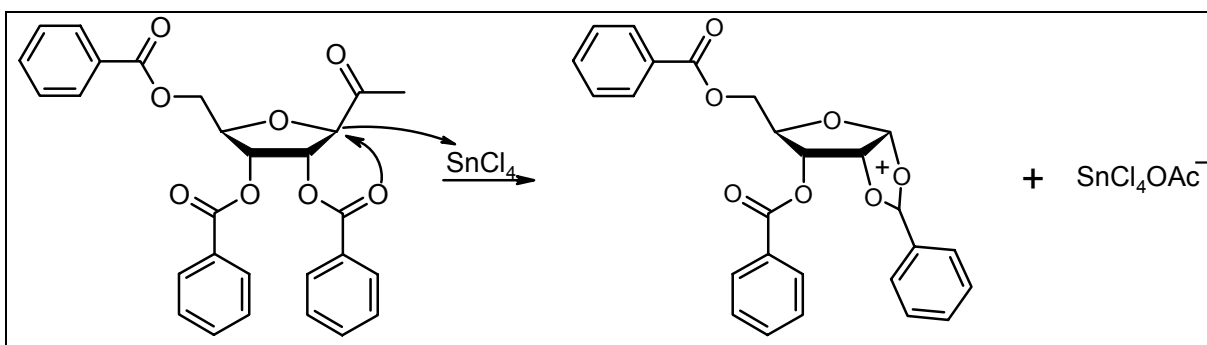
Die Ribosidierung

Wie oben bereits erwähnt, ist die Ribosidierung die eigentliche Hilbert-Johnson-Reaktion, während die Silylierung nur der vorbereitende Schritt ist. Die Reaktion selber besteht wiederum aus drei Schritten, die teilweise parallel ablaufen können:²⁵⁷

- Bildung eines elektrophilen Ribose-Acyl-Kations
- Bildung eines σ -Komplexes zwischen der silylierten Base und dem Promotor
- Reaktion des elektrophilen Zuckerkations mit der silylierten Base zum Nukleosid

Die Teilschritte 1 und 3 sind entscheidend für die Bildung des Nukleosids und dessen Stereochemie. In der Summe handelt es sich um eine doppelte nukleosidische Substitution nach S_N1 am Kohlenstoff 1 des Zuckers.²⁵⁷ Teilschritt 2 bestimmt die Isomerisierung und Regiochemie am Heterozyklus.

Durch die zugesetzte Lewisäure wird die Acetylenschutzgruppe am Kohlenstoff 1 der Ribose abgespalten. Die räumliche Nähe erlaubt es nun dem Sauerstoff der Benzoylschutzgruppe am Kohlenstoff 2 am freigewordenen Kohlenstoff anzugreifen. Dadurch bildet sich unter Konfigurationsumkehr ein 1,2-Acyloxonium-Ion, das durch die Delokalisation der positiven Ladung stabilisiert wird.



Schema 58: Bildung des Ribose-Acyl-Kations

In der die nukleosidische Bindung knüpfenden Reaktion kann nun die silylierte Base nur von oben am Kohlenstoff 1 der Ribose angreifen. Dadurch kommt es erneut zur Konfigurationsumkehr, sodaß insgesamt die β -Konfiguration erhalten bleibt.

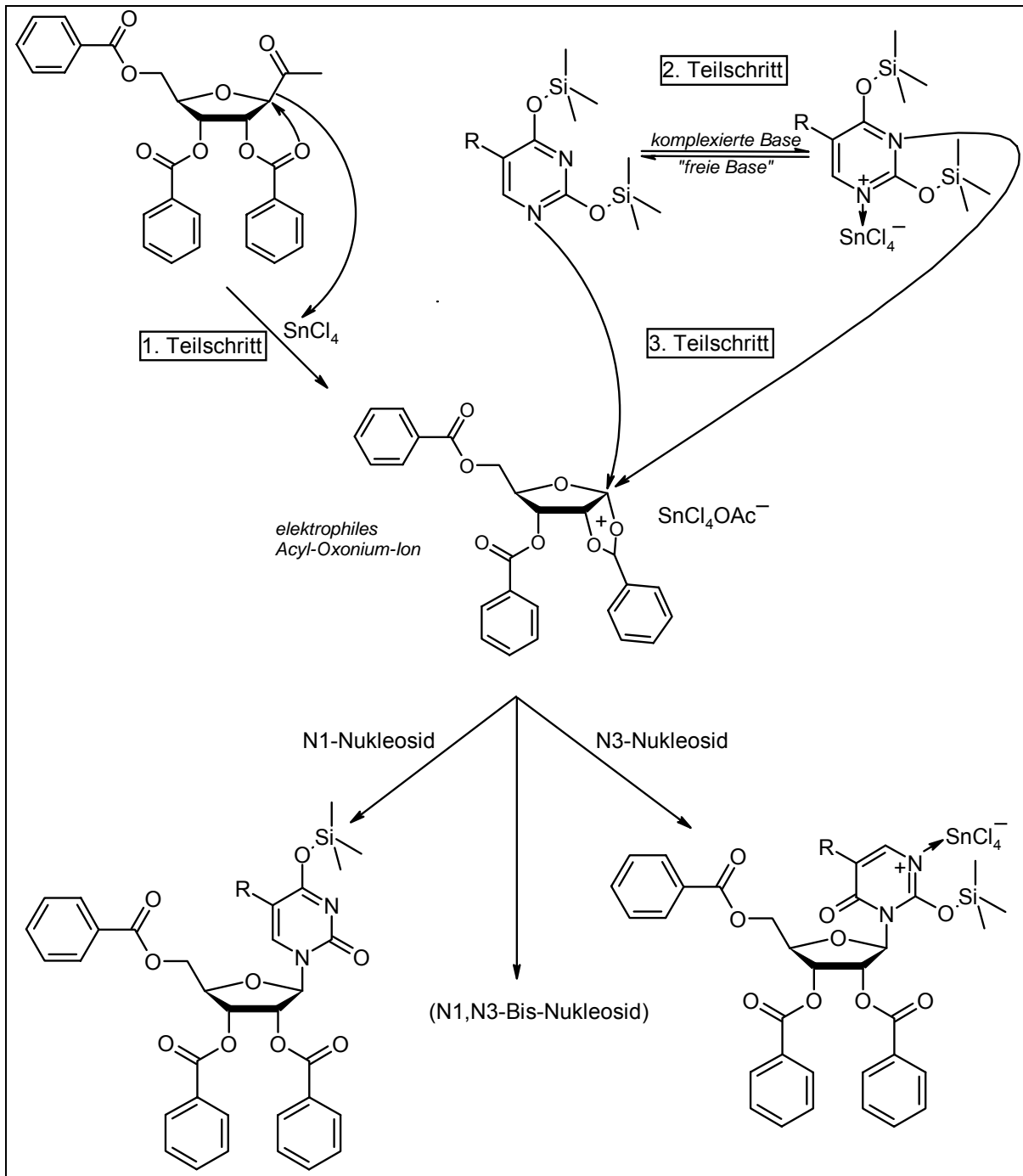
²⁵⁷ Vorbrüggen, H.; Höfle, G. On the mechanism of nucleoside synthesis. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1256-1268.

Letztendlich ist der oben geschilderte Nachbargruppeneffekt hierfür entscheidend verantwortlich. Verwendet man dahingegen 2-Desoxyzucker, so erhält man ein Gemisch aus α - und β -konfigurierten Nukleosiden.²⁵⁸

Parallel zu diesen gewünschten Reaktionen zur Bildung des Nukleosids kann die als Promotor eingesetzte Lewissäure mit der silylierten Base einen σ -Komplex bilden. Sie übt also nicht nur ihre Promotoreigenschaft aus, sondern fungiert auch als Donor-Akzeptor-Komplexbildner. Dabei koordiniert ein Molekül Lewissäure mit dem basischeren N1-Stickstoff des Uracil. Dadurch wird dieser blockiert und dementsprechend entsteht das N3-Nukleosid.

Mit der Wahl der Lewissäure und auch des verwendeten Lösungsmittel kann das Maß der Komplexbildung und damit die Entstehung der N3-Nukleoside beeinflusst werden. Auch die Substitution der Base hat Auswirkung auf die Regiochemie.

²⁵⁸ Kotick, M. P.; Szantay, T. J.; Bardos, T. J. Synthesis of 5-S-substituted 2'-deoxyuridines. Study of the factors influencing the stereoselectivity of silyl modification of the Hilbert-Johnson-Reaction. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 3806-3813.



Schema 59: Reaktionsmechanismus der Hilbert-Johnson-Reaktion

Für die Darstellung der Benzoyl-geschützten 5-Alkyluridine wird das entsprechende silylierte 5-Alkyluracil unter Feuchtigkeitsausschluß in 1,2-Dichlorethan gelöst und mit einem 1,2fachen Überschuß Zinn(IV)chlorid versetzt. Zu dieser Lösung wird 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-O-benzoylribose, ebenfalls in 1,2-Dichlorethan gelöst und in 0,9fachem Unterschluß, innerhalb von ca. 15 min zugegeben.²⁵⁹ Das Gemisch wird

²⁵⁹ Szemő, A.; Szabolcs, A.; Sági, J.; Ötvös, L. Unnatural nucleosides and nucleotides. IV. Preparation of 5-alkyluridines and their 5'-mono- and triphosphates. *J. Carbohydr. Nucleosides Nucleotides* **1980**, 7, 365-379.

bei Raumtemperatur bis zum Ende der Reaktion, das mittels Dünnschichtchromatographie bestimmt wird, gerührt.

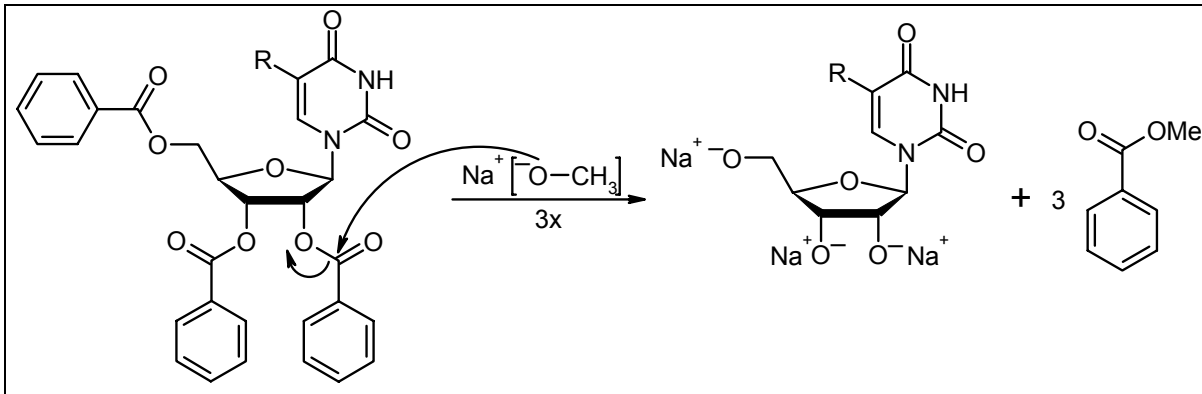
Abschließend müssen die silylierten Sauerstoffatome wieder in ihre originäre Funktion überführt werden. Dies geschieht durch Hydrolyse mit einer gesättigten Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat-Lösung. In der Regel erhält man dadurch eine Emulsion bzw. Suspension, die sich nur schlecht wieder trennen läßt. Dies kann teilweise vermieden werden, indem man ein großes Volumen der Lösung schnell bei Raumtemperatur in die Reaktionslösung gibt. Weiterhin hat dies den Vorteil, daß durch die Pufferkapazität das neutrale Milieu erhalten bleibt. Das bei dem Vorgang entstehende amphotere Zinnoxid wird somit vollständig gefällt und kann quantitativ entfernt werden.

Zur Isolierung des Reaktionsprodukts wird der Reaktionsansatz über eine mit Kieselgel gefüllte Fritte gegeben. Die organische Phase und der Zinnstein bleiben darin zurück. Anschließend wird das Nukleosid durch sorgfältiges Waschen mit Dichlormethan und Ethylacetat herausgelöst.

Abspaltung der Schutzgruppen

Nach der Darstellung der Benzoyl-geschützten Nukleoside müssen im letzten Schritt die Hydroxyfunktionen der Ribose wieder entschützt werden. Da es sich bei den Schutzgruppen um Ester handelt, kann dies prinzipiell sauer oder alkalisch geschehen. In diesem Fall sollte der alkalischen Variante der Vorzug gegeben werden, da die nukleosidische Bindung nur eine geringe Säurestabilität aufweist.

Eine einfache und deshalb häufig angewendete Methode zur Abspaltung von Esterschutzgruppen ist die Umesterung durch nukleophile Substitution am Carbonylkohlenstoff der Carbonsäure. Als Reagenzien stehen dafür methanolischer Ammoniak und methanolische Natriummethanolat-Lösung zur Verfügung. Hier wurde letztere verwendet, da diese leichter darstellbar und auch einfacher in der Handhabung ist.



Schema 60: Abspaltung der Ribose-Schutzgruppen

Zur Abspaltung wird das geschützte Nucleosid unter Feuchtigkeitsausschluß in Methanol gelöst und mit einem geringen Überschuß an 5 %iger methanolischer Natriummethanolatlösung versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsende kann leicht über dünn-schichtchromatographische Kontrollen bestimmt werden. Jede abgespaltene Schutzgruppe erhöht die Hydrophilie des Nucleosids und führt somit zu einer Verringerung seines R_f -Werts. Am Ende zeigt das DC einen Fleck auf oder in unmittelbarer Nähe der Startlinie (ungeschütztes Nucleosid) sowie den Fleck des entstandenen Benzoesäuremethylesters in der Nähe der Fließmittelfront (Fließmittel Dichlormethan:Methanol 9:1, Kieselgel-beschichtete Aluminiumplatten 60 F₂₅₄).

Als Produkt erhält man also das Natriumsalz des Nucleosids und den Benzoesäuremethylester. Um die freien Nucleoside zu erhalten, wird der Reaktionslösung der saure, protonierte Ionenaustauscher Dowex WX50 zugesetzt. Dies hat den weiteren Vorteil, daß der als Methylester einer starken Säure besonders hydrolyseempfindliche Benzoesäuremethylester stabil bleibt und leicht mit Ether extrahiert werden kann. Auch hier sollte man auf den Ausschluß von Feuchtigkeit bei der Reaktion achten, um die Entstehung von Benzoesäure zu vermeiden. Ansonsten ist eine säulenchromatographische Abtrennung nötig, alternativ kann die Benzoesäure auch in der Kälte ausgefällt werden.

Auf diese Weise wurden 5-Methyluridin und 5-Ethyluridin erfolgreich hergestellt.

3.3.5. Veresterungsversuche mit Oxoglutarsäuren

3.3.5.1. 2-Oxoglutarsäure

2-Oxoglutarsäure ist eine natürlich vorkommende Dicarbonsäure, die Bestandteil des Citronensäurezyklus ist. In wässriger Lösung isomerisiert sie reversibel zu 2-Hydroxy-5-oxo-tetrahydrofuran-2-carbonsäure.

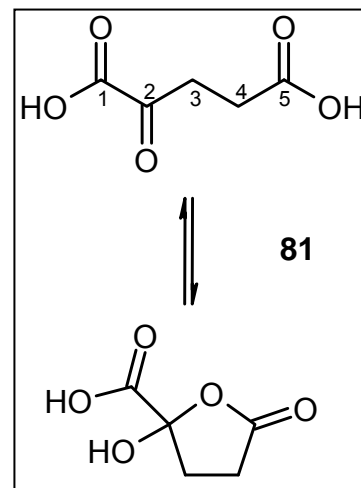


Abb. 55: 2-Oxoglutarsäure

Da die Verbindung nicht symmetrisch ist, sollte bei einer Veresterung eine der beiden Carboxylgruppen bevorzugt werden, nämlich die in Position 1 auf Grund des -I/-M-Effekts der benachbarten Carbonylgruppe. Deshalb wurde zunächst versucht, die ungeschützte Verbindung mit Uridin zu verestern. Wie bei den vorherigen Versuchen wurde auch hier mit der DCC/DMAP-Methode gearbeitet. In den ersten Versuchen wurde statt des empfindlichen DCC's das robustere N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid verwendet. Damit konnte jedoch kein Umsatz erzielt werden. Deshalb wurden die folgenden Versuche wieder mit DCC durchgeführt.

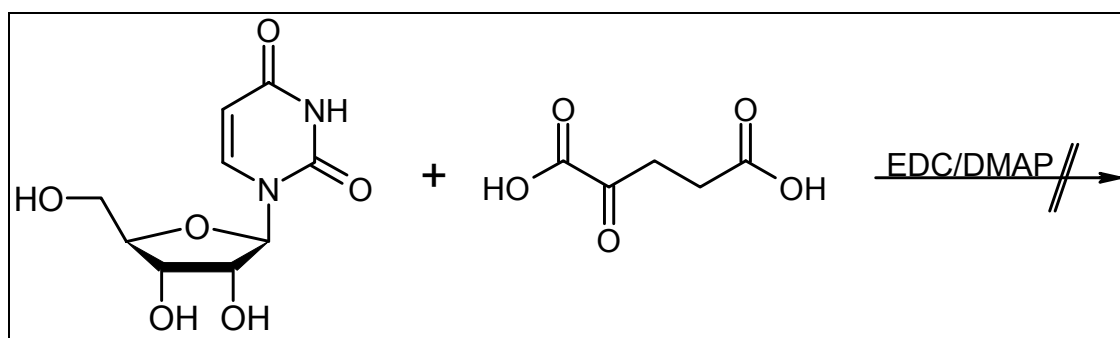
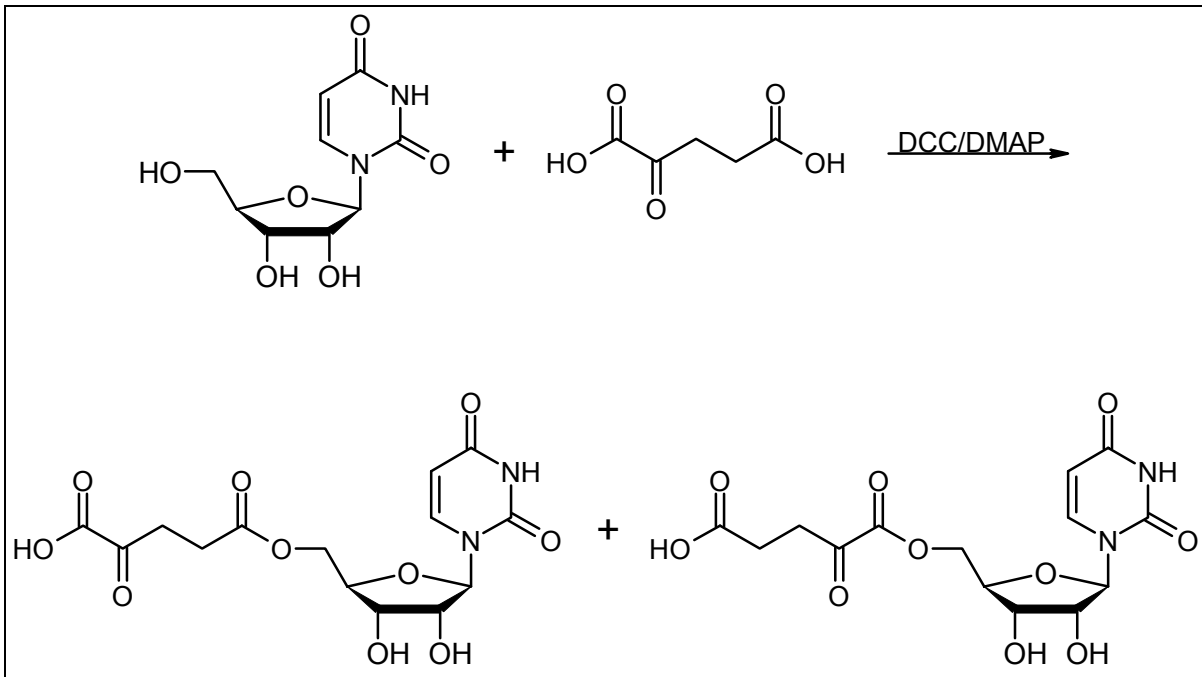


Abb. 56: Ergebnis des Veresterungsversuchs mit EDC/DMAP

Mit DCC ist nach zwei Tagen Reaktionszeit ein Umsatz im Dünnschichtchromatogramm zu erkennen, allerdings äußerst schwach. Außerdem sind entgegen der Erwartung zwei Produkte entstanden, die sich nur geringfügig in ihrem R_f -Wert unterscheiden. Aller Wahrscheinlichkeit nach sind beide möglichen Monoester entstanden. Ein Diester kann ziemlich sicher ausgeschlossen werden, da

er sich von seinem Fließverhalten bei der Dünnschichtchromatographie deutlicher von den Monoestern unterscheiden müßte.



Schema 61: Veresterung von Uridin und 2-Oxoglutarinsäure mit DCC/DMAP

Auf Grund des äußerst geringen Umsatzes versprach eine herkömmliche Isolierung und Reinigung mit den üblichen Methoden Ausschütteln und/oder Säulenchromatographie wenig Erfolg. Tatsächlich konnten die Produkte auf diese Art und Weise nicht isoliert werden. Deshalb wurde die Trennung mittels HPLC versucht. Aber auch mit diesem Verfahren konnte kein Erfolg erzielt werden.

In der Absicht, bessere Ausbeuten zu erhalten, wurde die Synthese nach anderen Methoden versucht. Als erstes fiel die Wahl auf die CDI-Methode. Diese wurde in verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt, nämlich in Dichlormethan, Dimethylformamid und Tetrahydrofuran. Nur im letzten konnte bei 70°C Reaktionstemperatur ein Umsatz erzielt werden, allerdings auch nur ein sehr geringer. Außerdem entstand mit zunehmender Reaktionszeit aus dem eingesetzten Benzoyl-geschützten Nukleosid wieder Uridin.

Eine weitere Möglichkeit, eine reaktivere Spezies der Carbonsäure darzustellen, ist die Verwendung von Tosylchlorid als Promotor.²⁶⁰ Dieses ist in der Lage, *in situ* sowohl gemischte als auch symmetrische Anhydride aus der eingesetzten Carbonsäure zu bilden, und zwar in Gegenwart des Alkohols. Dadurch ergibt sich laut Aussage der Autoren eine nahezu quantitative Umsetzung zum gewünschten Ester. Als Protonenfänger dient Pyridin, das auch als Lösungsmittel fungiert. Versuche, nach dieser Methode 2-Oxocarbonsäure mit Uridin zu kondensieren, schlugen jedoch fehl.

Als letztes wurde eine weitere Variante der DCC-Methode versucht, die eine andere Reihenfolge bei der Zugabe der Edukte zum Reaktionsmedium vorsieht.²⁶¹ Während normalerweise das Carbodiimid zur Lösung/Suspension von Säure, Alkohol und DMAP gegeben wird, lösen die Autoren zunächst den Alkohol zusammen mit DCC und DMAP im Lösungsmittel (hier DMF) und geben als letztes die Säure dazu. Wie mit der zuerst durchgeführten Variante konnte hiermit ein Umsatz erzielt werden, der sich allerdings vom Ausmaß her nicht vom zuvor erzielten unterschied. Auch hier konnten die Produkte nicht isoliert werden.

Da auf diese Weise, der In-situ-Herstellung eines für die Veresterung reaktiveren Derivats, offensichtlich kein Erfolg erzielt werden konnte, wurde versucht, eine solche Verbindung in einer vorgeschalteten Reaktion darzustellen. Dadurch ergäbe sich gleichzeitig die Möglichkeit, einen der Veresterung mit Citronensäure vergleichbaren Weg einzuschlagen, nämlich eine der beiden vorliegenden Säuregruppe für die Veresterung zu blockieren.

In diesem Sinne wurde versucht, das Anhydrid darzustellen. Dies kann entweder direkt eingesetzt werden oder mit einem geeigneten Alkohol wieder zum entsprechenden Monoester wieder geöffnet werden. Dieser kann anschließend zum Beispiel an der noch freien Säuregruppe in ein Säurechlorid überführt werden. Die Darstellung analog zur Citronensäure durch Refluxieren in Acetanhydrid erwies sich

²⁶⁰ Brewster, J. H.; Ciotti, C. J. Dehydrations with Aromatic Sulfonyl Halides in Pyridine. A Convenient Method for the Preparation of Esters. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 6214-6215.

²⁶¹ Manfredini, St.; Baraldi, P. G.; Porcu, L.; Durini, E.; Vertuani, S.; Solaroli, N.; Verri, A.; Spadari, S.; Focher, F.; De Clercq, E.; Balzarini, J. Design, Synthesis and Activity of Phosphonoacetic Acid (PPA) Ester and Amide Bioisosters of Ribofuranosylnucleoside Diphosphates as Potential Ribonucleotide Reductase Inhibitors. unveröffentlicht.

als zu drastisch. Deshalb wurde die Reaktion in der Kälte durchgeführt, analog der Synthese von 3-Oxoglutar säureanhydrid.^{262,263} Damit ist 2-Oxoglutar säureanhydrid zugänglich, wie man im ¹H-NMR eindeutig erkennen kann. Das Produkt fällt jedoch ölig an und es gelingt nicht, es vom überschüssigen Acetanhydrid abzutrennen. Die Weiterverarbeitung zu einem Monoester, entweder direkt mit dem Alkohol Uridin oder mit einem als Schutzgruppe zu verwendenden Alkohol, ist damit nicht möglich, da das Acetanhydrid bzw. die aus ihm entstehende Essigsäure mit großer Wahrscheinlichkeit der bevorzugtere Reaktionspartner ist.

Zu diesem Zeitpunkt wurde die Veresterung von 2-Oxoglutar säure mit Uridin als gescheitert betrachtet und nicht weiter verfolgt.

3.3.5.2. 3-Oxoglutar säure

Im Gegensatz zu ihrem Stellungsisomer ist die 3-Oxoglutar säure keine natürlich vorkommende Verbindung. Als β -Ketosäure ist sie anfällig gegenüber einer Decarboxylierung unter Kohlendioxid-Abspaltung.

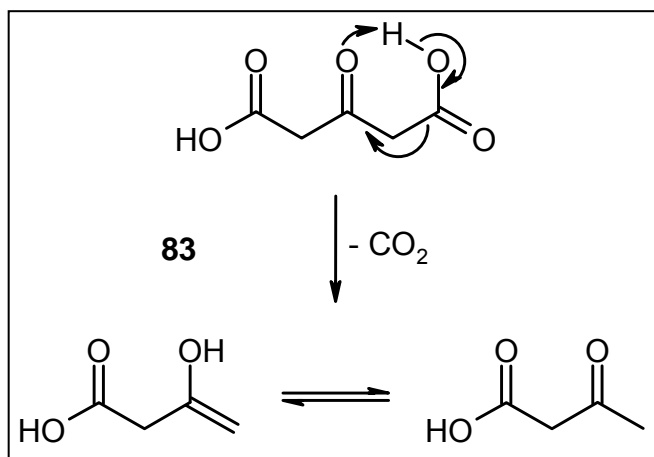


Abb. 57: 3-Oxoglutar säure

Anders als bei den Veresterungsversuchen mit 2-Oxoglutar säure ist der Umsatz mit der DCC-Methode nach dem Dünnschichtchromatogramm zufriedenstellend. Dies gilt sowohl für die Eintopfmethod (Methode A) als auch für die in zwei Schritten (Methode B). Trotzdem gelang es auch hier nicht, das Produkt zu isolieren, was seine Ursache vermutlich in der geringen Stabilität der Säure hat. Weder durch Ausschütteln, durch Säulen chromatographie – auch HPLC – noch durch präparative Schicht chromatographie konnte ein Erfolg erzielt werden.

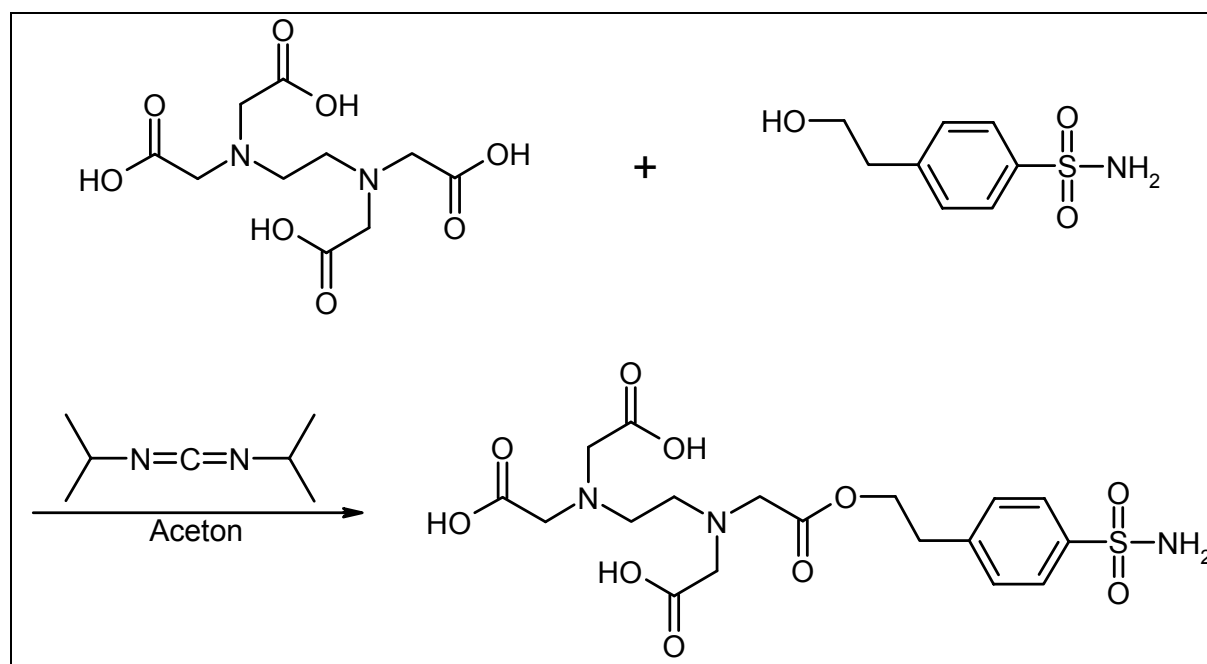
²⁶² Findlay, S. P. Concerning 2-Carbomethoxytropinone. *J. Org. Chem.* **1957**, 22, 1385-1391.

²⁶³ Kiang, A. K.; Tan, S. F.; Wong, W. S. Reactions of Acetondicarboxylic Anhydride (Tetrahydropyrantrione) and its Mono- and Di-acetyl-Derivatives with Amines. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2721-2726.

Interessanterweise ist die Synthese mit dem zuvor dargestellten Anhydrid nicht erfolgreich. Eine Öffnung zum Monoester ist hier nicht unbedingt nötig, da es sich um eine symmetrische Verbindung handelt.

3.3.6. Veresterungsversuche mit Ethylendiamintetraessigsäure

Die Veresterungsversuche mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) wurden mit Diisopropylcarbodiimid und absolutem Aceton als Lösungsmittel probiert. Damit gelang Scozzafava *et al.* erfolgreich die Veresterung verschiedener Polyamino-polycarbonsäuren mit Sulfonamiden.²⁶⁴ Unter anderen verwendeten die Autoren EDTA und 4-(2-Hydroxyethyl)benzonsulfonamid, also einen primären aliphatischen Alkohol, wie er auch im Uridin vorliegt.



Schema 62: Veresterung von EDTA und 4-(2-Hydroxy-ethyl)-benzonsulfonamid mit Diisopropylcarbodiimid

Die Umsetzung erfolgte bei einer Reaktionstemperatur von 4°C. Unter diesen Bedingungen konnte mit EDTA und Uridin kein Erfolg erzielt werden. Auch bei Raumtemperatur erfolgte kein Umsatz. Erst bei Zusatz von DMAP zum Reaktionsansatz zeigte das Kontroll-DC einen neuen Fleck. Die Isolierung der neu entstandenen Verbindung ist durch Ausschütteln aus einem Dichlormethan-Wasser-Gemisch nur teilweise möglich, rein visuell ist eine Verunreinigung mit DMAP zu sehen, die nur unvollkommen durch Waschen mit Chloroform entfernt werden kann. Das ¹H-NMR zeigt dementsprechend einen immer noch hohen Anteil an DMAP und

²⁶⁴ Scozzafava, A.; Menabuoni, L.; Mincione, F.; Supuran, C. T. Carbonic Anhydrase Inhibitors. A General Approach for the Preparation of Water-Soluble Sulfonamides Incorporating Polyamino-Polycarboxylate Tails and of Their Metal Complexes Possessing Long-Lasting, Topical Intraocular Pressure-Lowering Properties. *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 1466-1476.

zusätzlich – im Verhältnis 1:2 zum DMAP – EDTA. Das Nucleosid ist ebenfalls erkennbar, liegt aber nur in sehr geringer Konzentration vor. Ob dieses als EDTA-Ester vorliegt, ist nicht festzustellen. Eine weitere Aufreinigung, für die sich die HPLC angesichts der hohen Hydrophilie der Substanzen anbietet, wurde auf Grund des sehr geringen Umsatzes nicht unternommen.

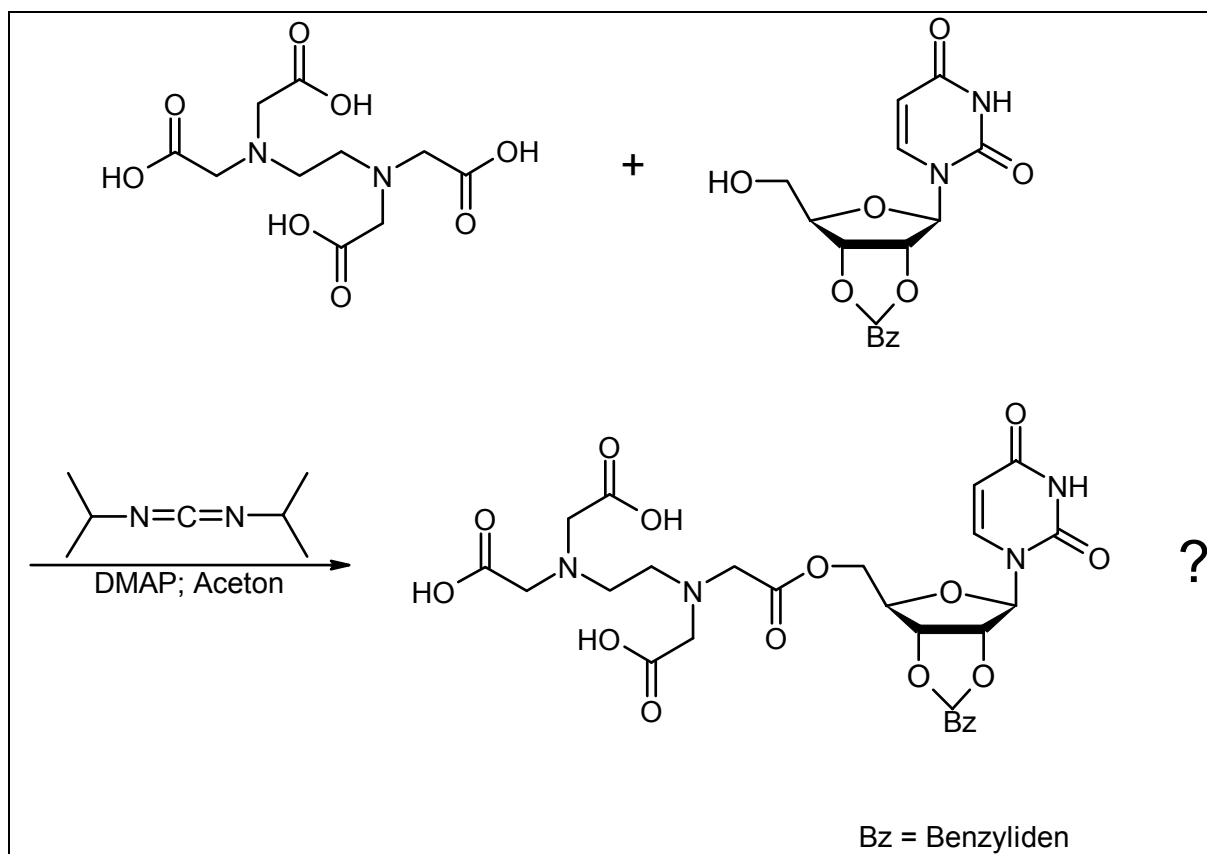


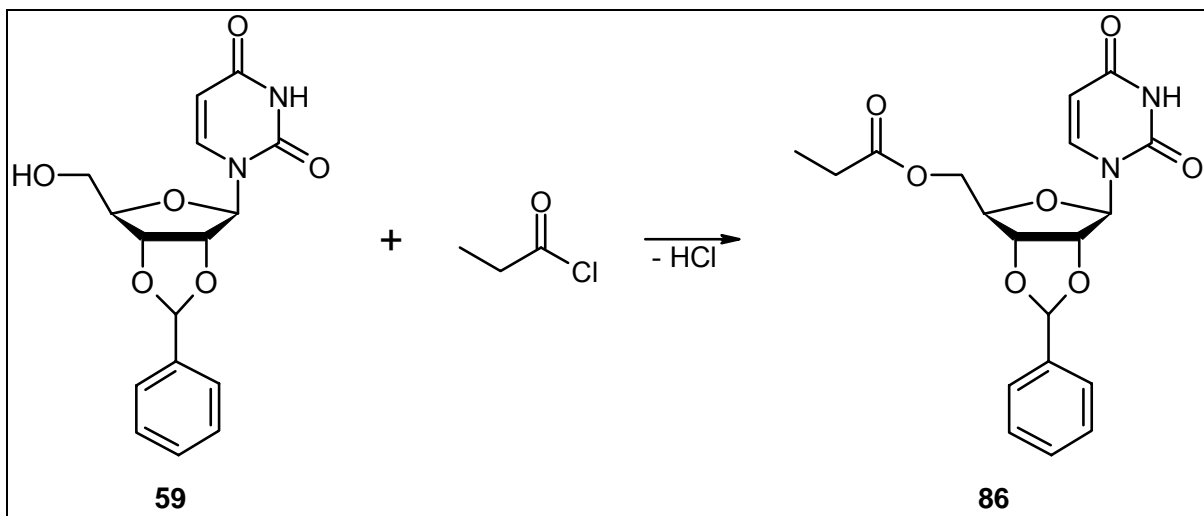
Abb. 58: Veresterungsversuch von EDTA und 2',3'-O-Benzylidenuridin mit Diisopropylcarbodiimid/DMAP

Außer dieser Methode wurde die Synthese mit Toluolsulfonylchlorid als Promotor versucht (siehe Kap. 2.3.5.1), leider ebenfalls ohne Erfolg.

3.3.7. Veresterungsversuche mit Propionsäure

Die Veresterung mit Propionsäure wurde in erster Linie durchgeführt, um eine Modellsubstanz für die Versuche zur Schutzgruppenstrategie zur Verfügung zu haben (siehe Kapitel 2.3.2). Gleichzeitig bot sich damit aber auch eine Gelegenheit, die DCC-Methode zu testen.

Damit ist die Synthese der Zielverbindung in zwar nicht guter, aber zufriedenstellender Ausbeute möglich. Um aber ausreichend Material für den eigentlichen Zweck zur Verfügung zu haben – die Schutzgruppenversuche, wurde der Ester auch nach der Einhornvariante dargestellt.²⁶⁵ Dazu wird das geschützte Nukleosid mit Propionylchlorid in einem Gemisch aus Dichlormethan aus Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluß mehrere Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die Reinigung und Isolierung erfolgt säulenchromatographisch.



Schema 63: Synthese von Propionsäure-(2',3'-O-benzylidenuridin-5'-yl)ester

Die Schutzgruppenabspaltung gelingt hier – im Gegensatz zum Benzylidenuridin – in Essigsäure mit Palladiumkohle innerhalb von zwei Tagen bei Raumtemperatur und bei Normaldruck. Dahingegen hat die Hydrolyse mit 0.1 N-HCl gezeigt, daß die Esterbindung diesen Bedingungen nicht standhält, wohl aber die nukleosidische.

²⁶⁵ Z. B. Becker, H. G. O.; Berger, W.; Domschke, G. Organikum. Organisch-chemisches Grundpraktikum. J. A. Barth: Leipzig ¹⁹1993, S. 424.

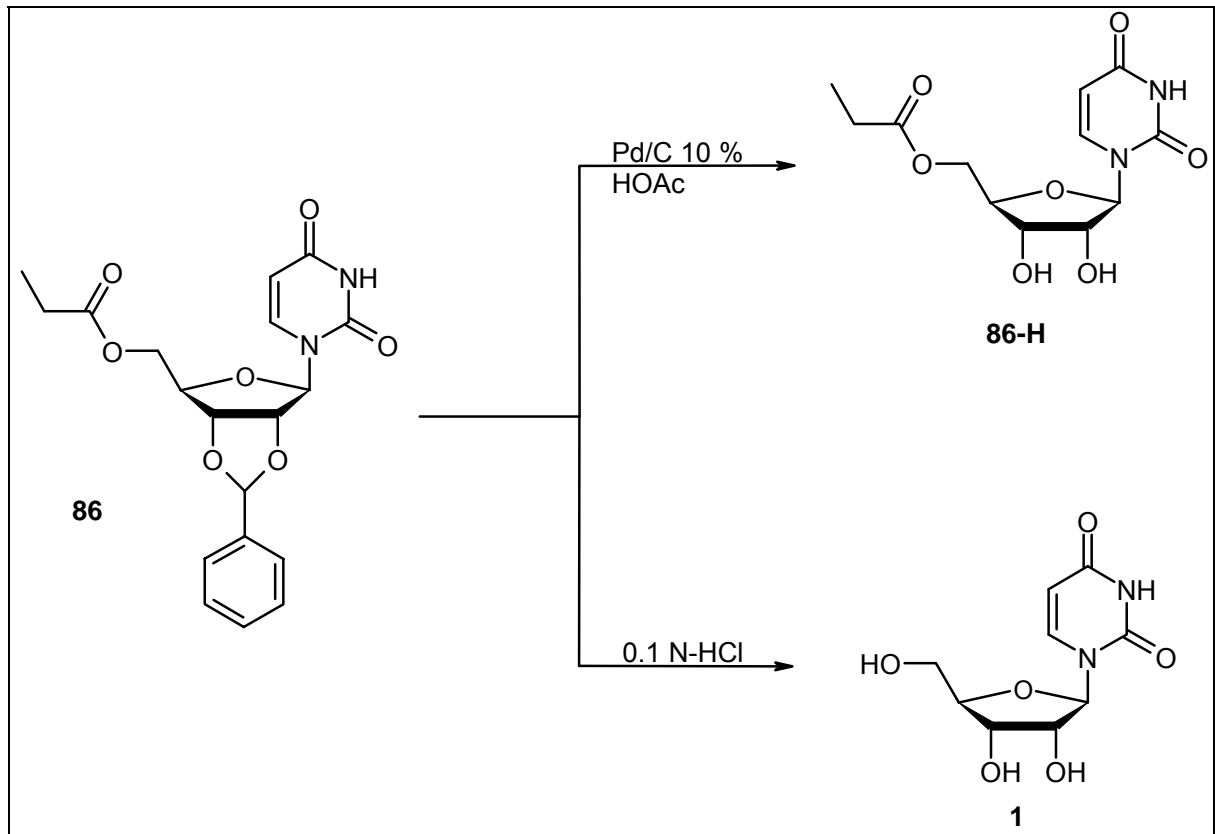


Abb. 59: Ergebnisse der 2',3'-O-Benzylidenabspaltungsversuche

3.3.8. Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure

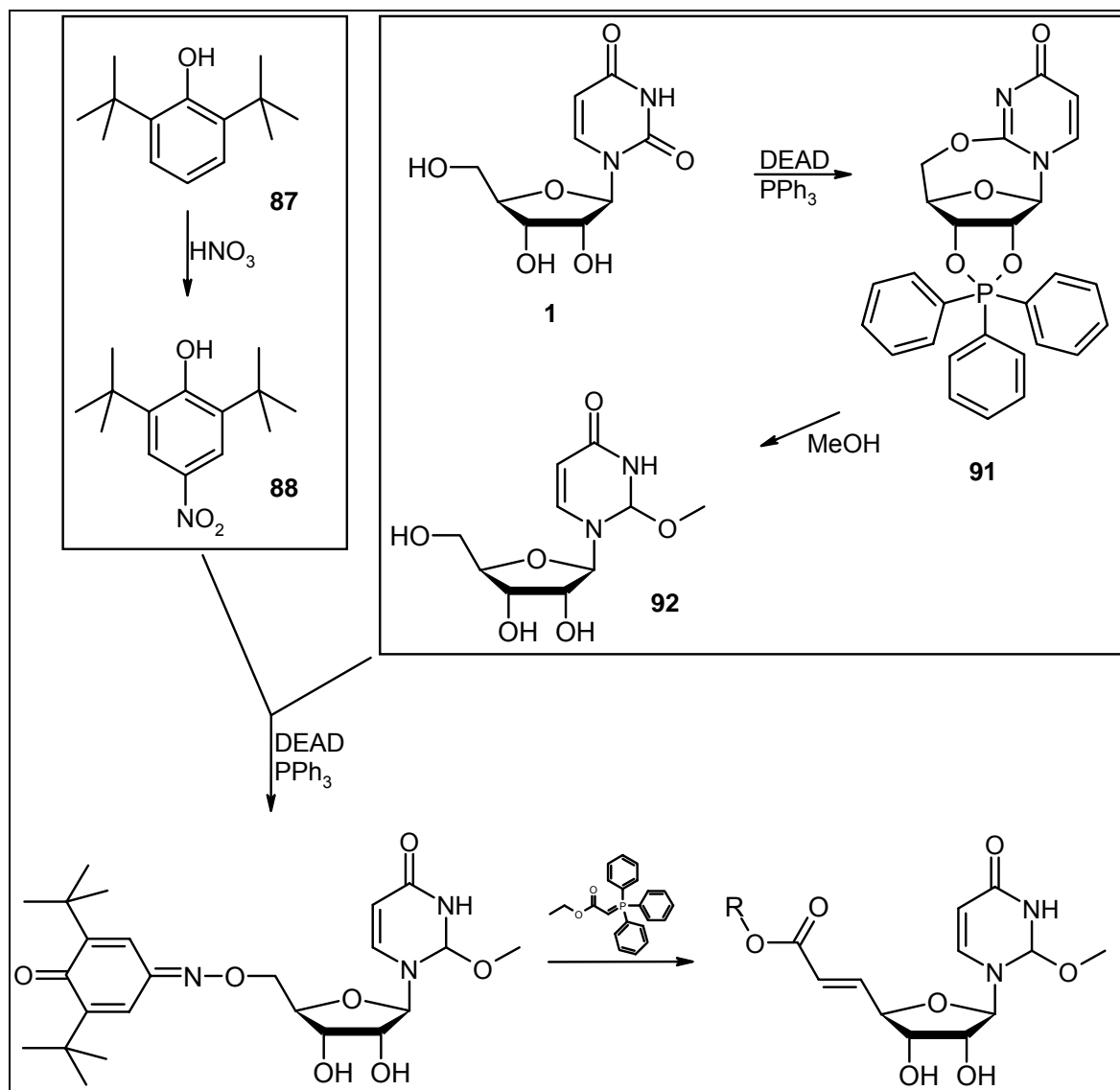
Wie im Kapitel Projekt (2.2) beschrieben, ist die Titelsubstanz mit Adenin als Base anstelle von Uracil in einem US-Patent beschrieben. Da dieses aber zu Beginn der Syntheseversuche nicht zur Verfügung stand, mußte zunächst ein Syntheseweg entwickelt werden.

Bei einer Literaturrecherche fand sich zunächst nur ein Artikel aus dem Jahr 1986, in dem die Synthese der Uridinverbindung von den Autoren beschrieben wird.²⁶⁶ Die Kettenverlängerung erfolgt dabei über die Zwischenstufe eines Azinitroesters durch eine Mitsunobu-Reaktion, der mit dem entsprechenden Wittig-Reagenz zur Zielverbindung umgesetzt wird. Um diese Reaktion erfolgreich durchführen zu können, muß der Sauerstoff in Position 2 oder der Stickstoff in Position 3 der Base geschützt sein, andernfalls ist die Bildung von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-Cyclouridin durch die Einwirkung der Mitsunobu-Reagenzien bevorzugt. Dies kann aber direkt zur Einführung einer Schutzgruppe ausgenutzt werden, indem das ringgeschlossene Produkt mit Methanol wieder geöffnet wird zum O²-Methyluridin. Anschließend erfolgt die Umsetzung zum Azinitroester mit 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol, eine Substanz, die kommerziell nicht erhältlich ist und daher hergestellt werden muß.

Die gesamte Synthese besteht also aus folgenden Einzelschritten:

- Darstellung von 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol
- Ringschluß des Nukleosids zum 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-Cyclouridin
- Öffnung des ringgeschlossenen Uridins zum O²-Methyluridin
- Umsetzung zum Azinitroester
- Kettenverlängerung mit dem gewünschten Wittig-Reagenz

²⁶⁶ Kimura, J.; Kobayashi, H.; Miyahara, O.; Mitsunobu, O. Studies on Nucleosides and Nucleotides. XII. Carbon-Chain Extension at 5'-Position of Ribonucleosides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, 59, 869-874.



Schema 64: Syntheseroute zur Darstellung von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure

3.3.8.1. Synthese von 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol

Eine Vorschrift zur Synthese der Titelsubstanz findet sich bei Ellington *et al.*²⁶⁷ Es handelt sich um eine einfache Nitrierung mit 30 %iger Salpetersäure nach dem Mechanismus der elektrophilen Substitution am Aromaten. Eine verlässliche Aussage, welche der noch freien Positionen am Ring auf Grund der elektronischen Verhältnisse bevorzugt nitriert wird, ist schwierig, da die vorhandenen Substituenten beide einen +I- bzw. +M-Effekt ausüben und somit Substituenten erster Ordnung sind. Formuliert man den σ -Komplex in seinen mesomeren Grenzstrukturen für beide

²⁶⁷ Ellington, J. C.; Arnett, E. M. Kinetics and Thermodynamics of Phenolate Silylation and Alkylation. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7778-7785.

möglichen Produkte, so erscheint das 4-substituierte energetisch etwas günstiger, da die phenolische Hydroxygruppe durch ihren +M-Effekt einen besseren Ladungsausgleich erreicht.

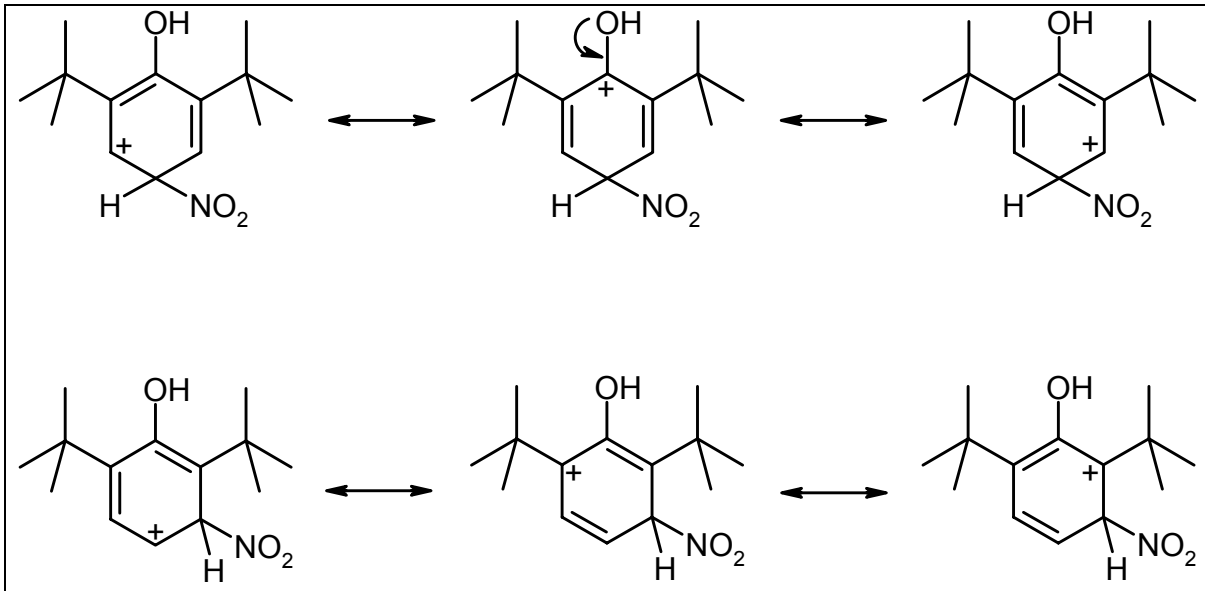


Abb. 60: σ -Komplexe von 4- und 3-Nitro-2,6-di-tert-butylphenol

Zusammen mit den sterischen Verhältnissen – die voluminösen tert-Butylreste schirmen die Positionen 3 und 5 für eine Zweitsubstitution ab – sollte sich eine eindeutige Bevorzugung des 4-substituierten Produkts ergeben. Bei der Durchführung der Reaktion sind dennoch beide Isomere, meta- und para-substituiert, entstanden, wie man anhand unterschiedlicher Farben und auch im NMR eindeutig erkennen kann.

Um eine Oxidation des Phenols und damit die Bildung eines weiteren Nebenprodukts zu verhindern, darf die Reaktionstemperatur nicht zu hoch sein (max. 50°C). Dadurch kann die Entstehung bzw. das Nichtentstehen des Oxidationsprodukts in der Regel wirksam kontrolliert werden.

Die Reaktion wird in n-Hexan durchgeführt, in dem das Edukt gelöst wird. Die Salpetersäure wird tropfenweise langsam über einen Zeitraum von einer Stunde zugegeben. Auf diese Weise ist die Wahrscheinlichkeit eines schnellen und überraschenden Temperaturanstiegs kleiner. Im Zweifelsfall muß mit einem Eis-/Wasserbad gekühlt werden, bevor die Salpetersäure weiter zugegeben wird. Der Ansatz wird über Nacht gerührt, während der sich das p-Produkt als feines gelbes

und das m-Produkt als grobes bis körniges lila farbenes Präzipitat abscheidet und abfiltriert werden kann. Um das gewünschte Isomer zu erhalten, wird der Niederschlag zunächst in viel n-Hexan gerührt, in dem das meta-Derivat löslich ist. Damit kann der größte Teil abgetrennt werden. Zuletzt wird aus n-Hexan umkristallisiert, wodurch man die gewünschte Verbindung als feine hellgelbe Nadeln erhält.

3.3.8.2. Synthese von O²-Methyluridin

Die Mitsunobu-Reaktion

Die Synthese von O²-Methyluridin erfolgt über die Zwischenstufe des 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyloxy)-5'-cylouridin, das anschließend mit Methanol zur Zielverbindung geöffnet wird. Die Cyclisierung kann als intramolekulare Veretherung aufgefaßt werden und ist damit durch die Mitsunobu-Reaktion zugänglich. Diese ist eine breit anwendbare, milde Reaktion mit den Reagenzien Triphenylphosphin und Azodicarbonsäurediethylester (Diethylazodicarboxylat, DEAD), mit der man inter- und intramolekulare Kondensationen durchführen kann. Außer den beiden Reagenzien ist immer ein Alkohol an der Reaktion beteiligt. In der Praxis führt dies zu Ethern, Estern, der Alkylierung von Imiden u. a.²⁶⁸ Triphenylphosphin wird im Verlauf der Reaktion zu Triphenylphosphinoxid oxidiert, während DEAD reduziert wird zu Hydrazindicarbonsäurediethylester. Es handelt sich also um eine Redoxreaktion, die in ihrer einfachsten Durchführung der Oxidation von Phosphor(III)-Verbindungen zu Phosphor(V)-Verbindungen dient.²⁶⁹

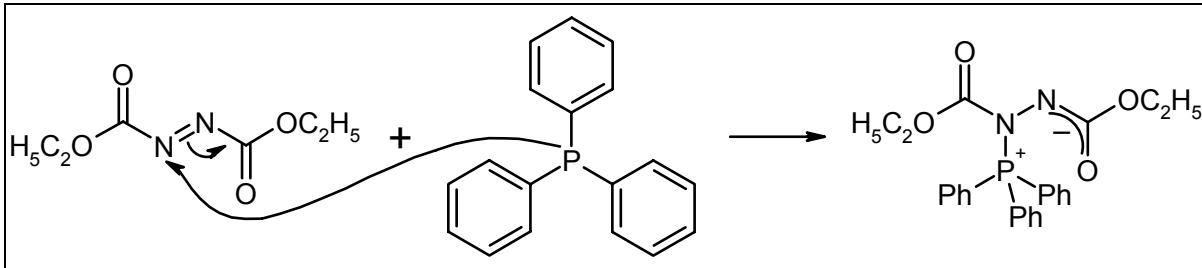
Die Mitsunobu-Reaktion besteht aus vier Teilschritten:

- Betain-Bildung aus Triphenylphosphin und DEAD
- Protonierung des Betains an einem Stickstoff
- Bildung eines Alkoxy-phosphoniumsalzes
- ◆ Knüpfung der neuen Bindung in einer S_N2-Reaktion

²⁶⁸ Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, 1-28.

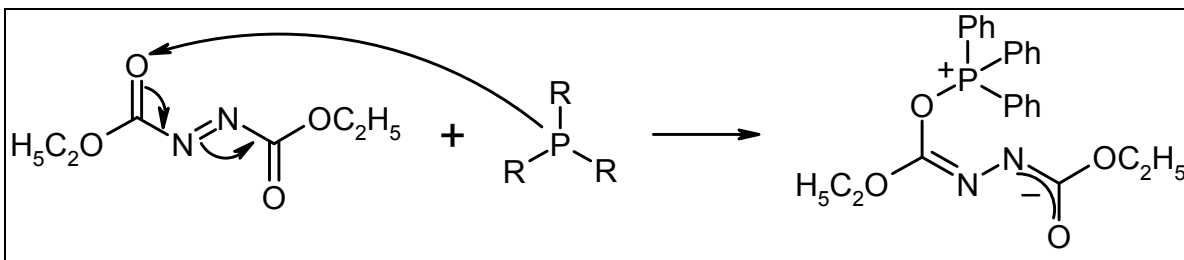
²⁶⁹ Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T. Preparation of Esters of Phosphoric Acid by the Reaction of Trivalent Phosphorus Compounds with Diethyl Azodicarboxylate in the Presence of Alcohols. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 935-939.

Die Betainbildung ist der Ausgangsschritt für alle weiteren Reaktionen und erfolgt immer in der gleichen Art und Weise, unabhängig davon, welchem Zweck die Reaktion dient.



Schema 65: Teilschritt 1 der Mitsunobu-Reaktion

Die Betainbildung zwischen DEAD und Trialkylphosphiten wurde erstmals 1958 von Morrison beschrieben.²⁷⁰ Ginsburg *et al.* postulierten eine alternative Struktur, in der der Angriff des Phosphors nicht am Stickstoff, sondern am Carbonylsauerstoff erfolgt.²⁷¹



Schema 66: Bildung des O-Phosphoniumsalzes

Für die Reaktion mit Triphenylphosphin konnten Brunn und Huisgen allerdings das N-Phosphoniumsalz bestätigen.²⁷²

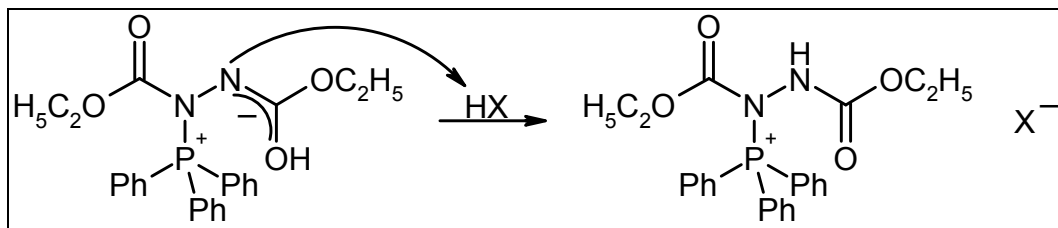
Der zweite Schritt ist der zweckbestimmende Schritt der Reaktion. Durch die Art der Verbindung, mit der das Betain protoniert wird, kann bestimmt werden, ob ein Ester oder Ether gebildet oder eine Stickstoffverbindung alkyliert wird. Für die Veresterung wird die zu veresternde Säure eingesetzt, zur Veretherung der acidere Alkohol, für

²⁷⁰ Morrison, D. C. Reactions of Alkyl Phosphites with Diethyl Azodicarboxylate. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1072-1074.

²⁷¹ Ginsburg, A.; Vasileva, M. N.; Dubov, S. S.; Yakubovich, A. Y. Reaction of phosphites with azo compounds. *Zh. Obshch. Khim.* **1960**, *30*, 2854-2863.

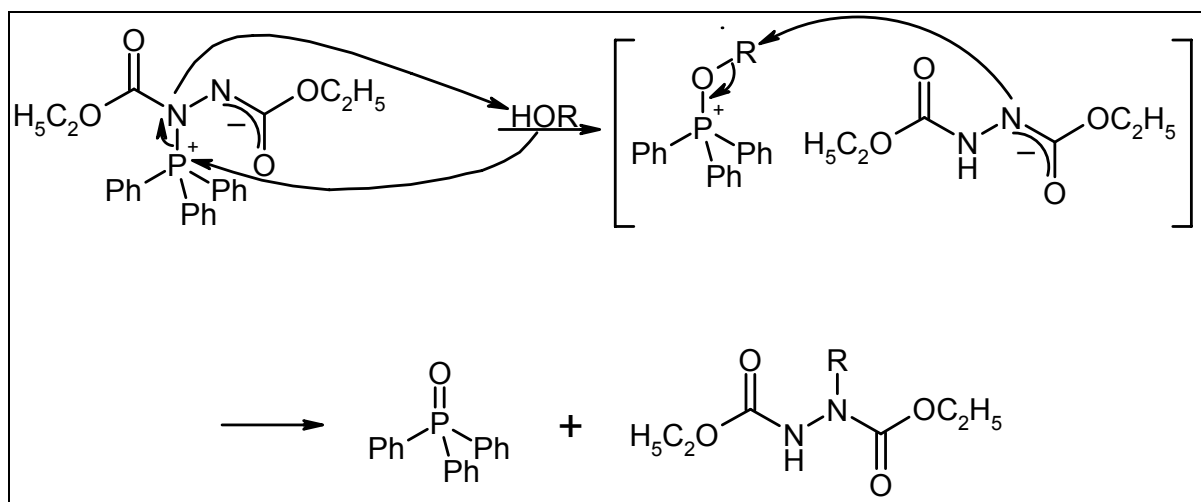
²⁷² Brunn, E.; Huisgen, R. Struktur und Reaktivität des Betains aus Triphenylphosphin und Azodicarbonsäureester. *Angew. Chem.* **1969**, *81*, 534-536.

den letzten Fall die entsprechende Stickstoffverbindung. Damit die Protonierung stattfindet, muß die eingesetzte Verbindung ausreichend acide sein ($pK_a < 11$).



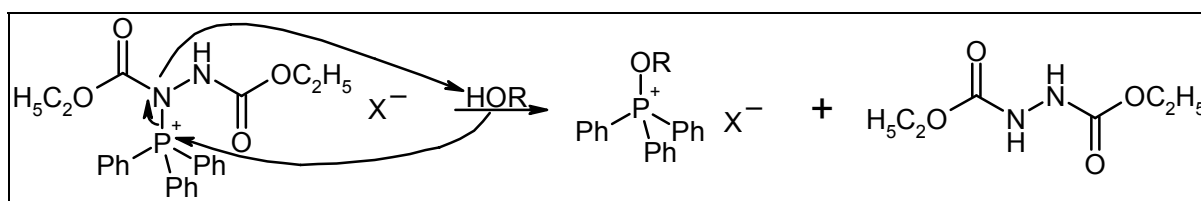
Schema 67: Teilschritt 2 der Mitsunobu-Reaktion

Wird in diesem Schritt ein nicht ausreichend acider Alkohol, z. B. Benzylalkohol ($pK_a \sim 15$), eingesetzt, entsteht direkt das Alkoxy-phosphoniumsalz mit dem deprotonierten Hydrazindicarbonsäurediethylester als Gegenion. Auf dieses wird im folgenden und in diesem Fall auch letzten Reaktionsschritt der Alkylrest übertragen, so daß man den entsprechend substituierten Hydrazindicarbonsäurediethylester und die oxidierte Phosphorverbindung erhält.



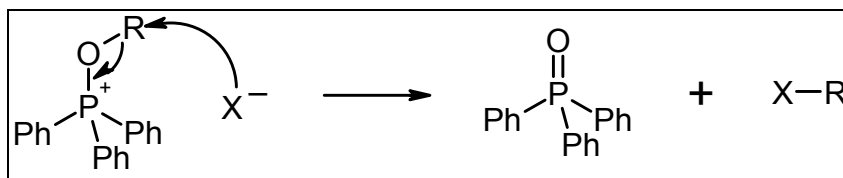
Schema 68: 1. Möglicher Teilschritt 3 der Mitsunobu-Reaktion

Ansonsten, wenn das Betain durch die eingesetzte Verbindung protoniert worden ist, kann sich im dritten Schritt mit dem nun zugegebenen Alkohol das Alkoxyphosphoniumsalz bilden. Als Nebenprodukt erhält man das unsubstituierte Hydrazin.



Schema 69: 2. Möglicher Teilschritt 3 der Mitsunobu-Reaktion

Im letzten Schritt erfolgt die Übertragung des Alkylrestes in einer S_N2 -Reaktion auf die als Gegenion fungierende Zielverbindung. Der Ablauf wird gefördert durch die Eigenschaft des Phosphorrestes als gute Abgangsgruppe.



Schema 70: Teilschritt 4 der Mitsunobu-Reaktion

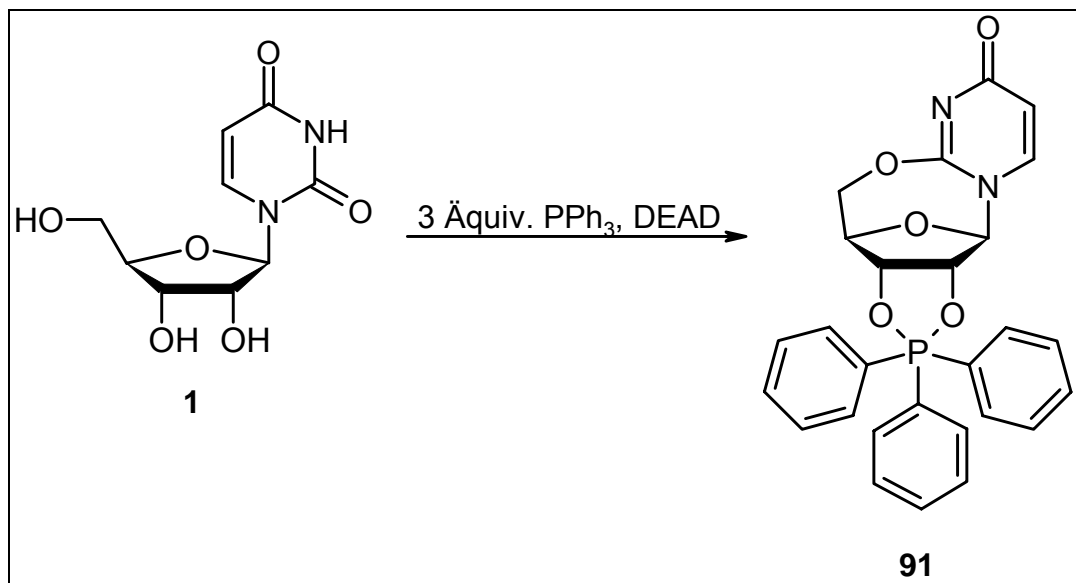
Die Reaktion wird unter strengem Feuchtigkeitsausschluß bei Raumtemperatur durchgeführt. Als Reaktionsmedium wird ein inertes aprotisches Lösungsmittel verwendet. Bewährt haben sich Tetrahydrofuran, Dioxan oder Diethylether. Darin wird die acide Komponente, der Alkohol und eines der beiden Reagenzien gelöst. Das zweite wird ebenfalls im verwendeten Solvens gelöst und zugegeben. Die orange-rote Farbe des DEAD verschwindet, wobei die Reaktionstemperatur sich leicht erhöht. Die Reihenfolge der Reagenzienzugabe hat in der Regel keinen Einfluß auf den Reaktionsverlauf. Trotzdem hat es sich in der Praxis durchgesetzt, Triphenylphosphin mit den anderen Komponenten vorzulegen und eine DEAD-Lösung zuzugeben. Ist der Alkohol nur wenig löslich, wird in jedem Fall nach dieser Variante gearbeitet und die DEAD-Lösung über einen Zeitraum von 1-1,5 Stunden zugegeben. Dadurch kann die Entstehung von unerwünschten Nebenprodukten verhindert werden.

Synthese von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-cyclouridin

Die Synthese von Cyclonucleosiden wurde nach ihrer Entdeckung von Todd *et al.* in zwei Schritten durchgeführt, indem eine der Zuckerhydroxygruppen in eine Abgangsgruppe umgewandelt wurde, die anschließend durch die intramolekulare Bindung ersetzt wurde.²⁷³ Wenn nötig, erfolgt der Schutz der verbleibenden Hydroxygruppen in einem dritten Schritt. Durch die Mitsunobu-Reaktion sind die Cyclonucleoside mit einem Syntheseschritt weniger zugänglich, wenn die Triphenylphosphorandiylgruppe den gewünschten Anforderungen bei der weiteren Umsetzung genügt, sogar in nur einem einzigen. Dazu müssen entsprechend der

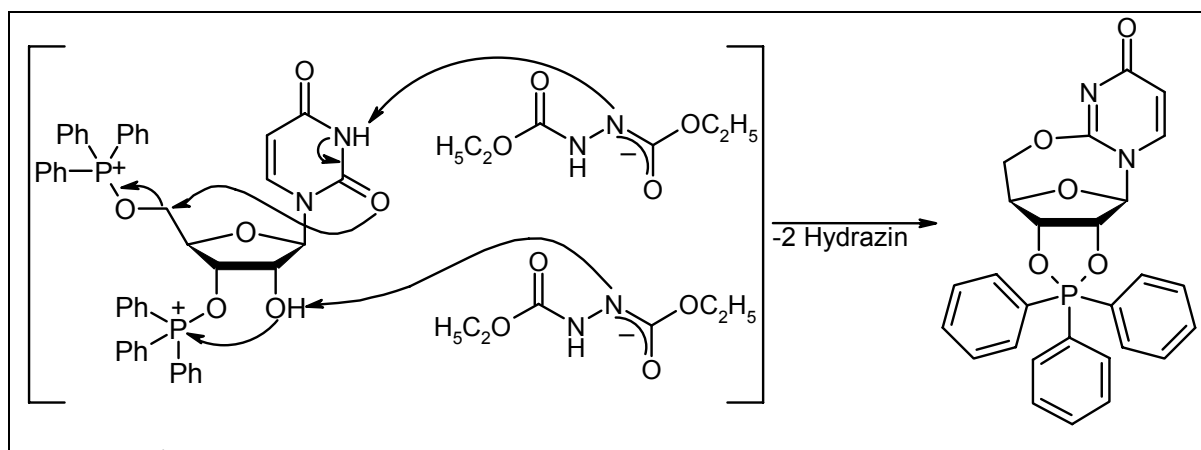
²⁷³ Clark, V. M.; Todd, A. R.; Zussmann, J. Nucleosides. Part VIII. cycloNucleoside Salts. A Novel Rearrangement of Some Toluene-p-sulphonylnucleosides. *J. Chem. Soc.* **1951**, 2952-2958.

Anzahl an freien Hydroxygruppen äquivalente Mengen an Triphenylphosphin und DEAD eingesetzt werden. Im Fall von Uridin führt der Umsatz mit drei Äquivalenten zur Entstehung von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-cyclouridin.²⁷⁴



Schema 71: Synthese von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-cyclouridin

Der Mechanismus verläuft höchstwahrscheinlich über 2'(3'),5'-O-Bis(triphenylphosphonio)uridin mit entsprechend zwei Molekülen des deprotonierten Hydrazins als Gegenionen. Diese sind in der Lage, die am Molekül verbliebenen Protonen – am N3-Stickstoff der Base und an der noch freien Hydroxygruppe der Ribose – abzuspalten und so den Ringschluß zum Cyclonucleosid zu initiieren.



Schema 72: Reaktionsmechanismus der Bildung von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O²,5'-cyclouridin

²⁷⁴ Kimura, J.; Yagi, K.; Suzuki, H.; Mitsunobu, O. Studies on Nucleosides and Nucleotides. VIII. Preparation and Reactions of Triphenylphosphorandiynucleosides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 3670-3677.

Synthese von O²-Methyluridin

Die Umwandlung des geschützten Cyclouridins zu O²-Methyluridin erfolgt durch Refluxieren in Methanol über mehrere Stunden. Bei dieser Reaktion muß nicht mehr auf den Ausschluß von Feuchtigkeit geachtet werden, da hier die Abspaltung der Schutzgruppe erwünscht ist. Die dabei entstehende Phosphorverbindung wird durch Waschen mit Aceton entfernt.

3.3.8.3. Synthese des Azinitroesters

Nachdem auf die oben beschriebene Art und Weise der Carbonylsauerstoff der Reaktion mit den Mitsunobu-Reagenzien entzogen wurde, konnte nun versucht werden, den Azinitroester darzustellen. Ein Schutz der sekundären Hydroxygruppen ist laut Aussage der Autoren nicht nötig, da der Umsatz mit Carbonsäuren ausschließlich das 5'-O-Acylnukleosid ergibt.²⁷⁵

Auch diese Umsetzung muß mit drei Äquivalenten der Mitsunobu-Reagenzien durchgeführt werden, ansonsten wird der gewünschte Azinitroester nicht oder nur wenig gebildet. Offenbar ist die Nukleophilie von 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol, das hier als acide Komponente dient, zu schwach, so daß nur eine Migration der Phosphoniogruppe von der 5'-Position zum 2',3'-O-Phosphorandiyl stattfindet. Wie bei der Cyclisierung wird deshalb ein Überschuß der Reagenzien eingesetzt, um den Schutzgruppeneffekt auszunutzen.

²⁷⁵ Shimokawa, S.; Kimura, J.; Mitsunobu, O. Studies on Nucleosides and Nucleotides. V. Selective Aroylation of 5'-Hydroxyl Group of Uridine and Adenosine. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 3357-3358.

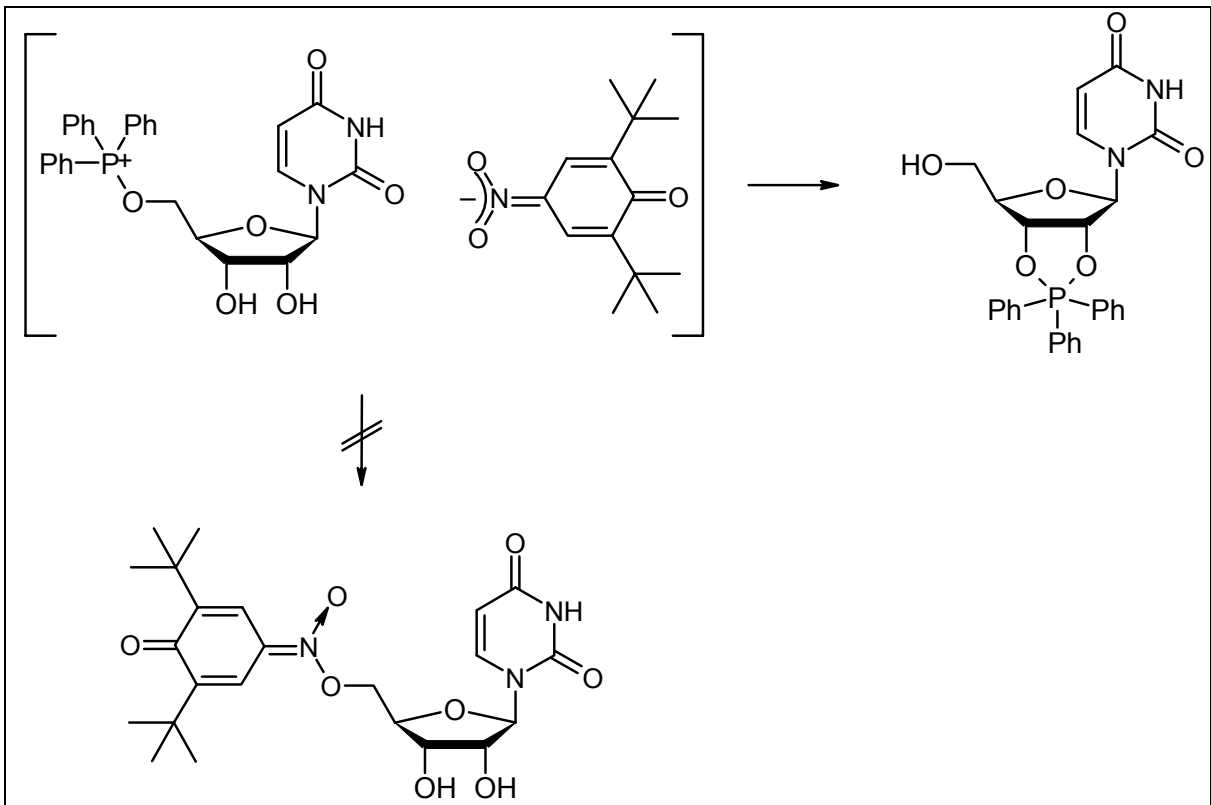
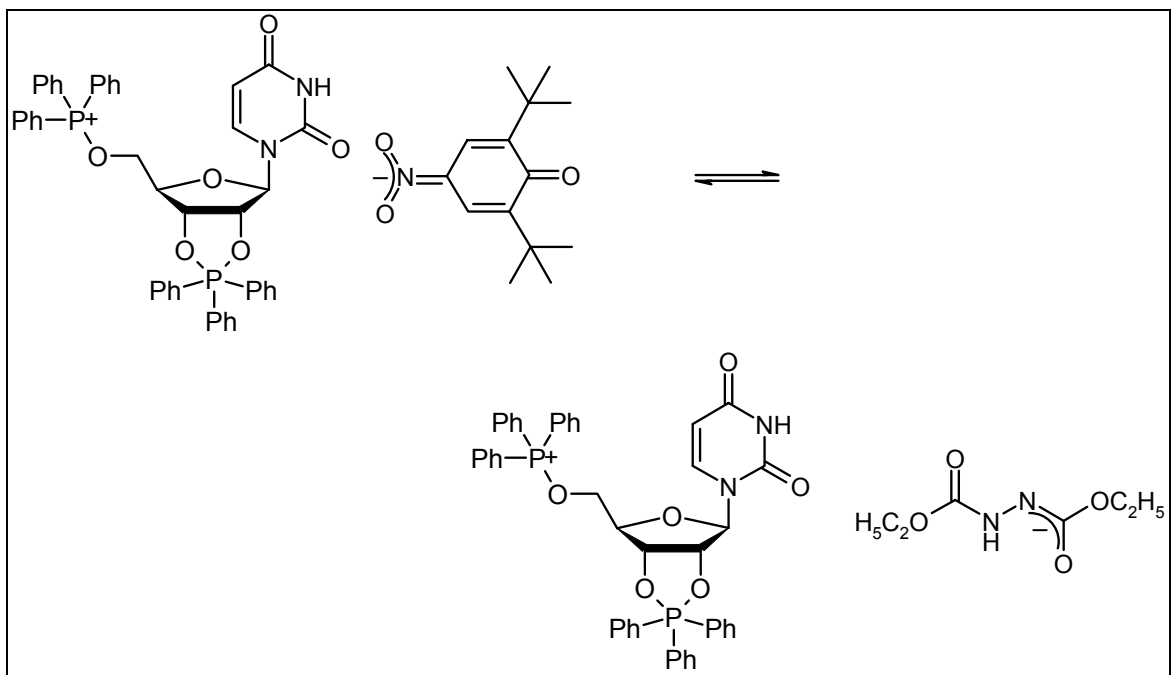


Abb. 61: Migration der 5'-O-Triphenylphosphoniogruppe

Die schwache Nukleophilie des Phenols zeigt sich auch in der Tatsache, daß das aus Uridin und DEAD gebildete Nebenprodukt zumindest in Spuren entsteht. Damit dies möglich ist, müssen die entsprechenden Ionenpaare aus Triphenylphosphoniouridin und Phenol bzw. DEAD in einem Gleichgewicht vorliegen,



Schema 73: Gleichgewichtspare des Triphenylphosphoniouridins mit 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol bzw. DEAD

Um die Bildung des unerwünschten Ionenpaares zu unterdrücken, wird die DEAD-Lösung nur sehr langsam zugetropft.

Obwohl der Azinitroester nicht isoliert werden muß, sondern in einer Eintopfreaktion direkt mit einem Wittig-Reagenz weiter zum Olefin umgesetzt werden kann, wurde zunächst versucht, nur die Synthese des Esters nachzuvollziehen. Diese Versuche, den Azinitroester darzustellen, waren leider nicht erfolgreich. Um zu testen, ob die Reaktion grundsätzlich erfolgreich ist, wurden die Syntheseversuche mit einer Modellsubstanz wiederholt. Die Wahl fiel auf 2-Phenylethanol, um den eindeutigen Charakter eines primären, aliphatischen Alkohols zu haben, der bei der Verwendung von Benzylalkohol in der Form nicht gegeben ist. Ein aromatisches System als Bestandteil wurde gewählt, um die Überwachung der Reaktion per Dünnschichtchromatographie zu ermöglichen. Auch mit dieser Modellsubstanz konnte der Azinitroester nicht erfolgreich dargestellt werden.

3.3.8.4. **Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure**

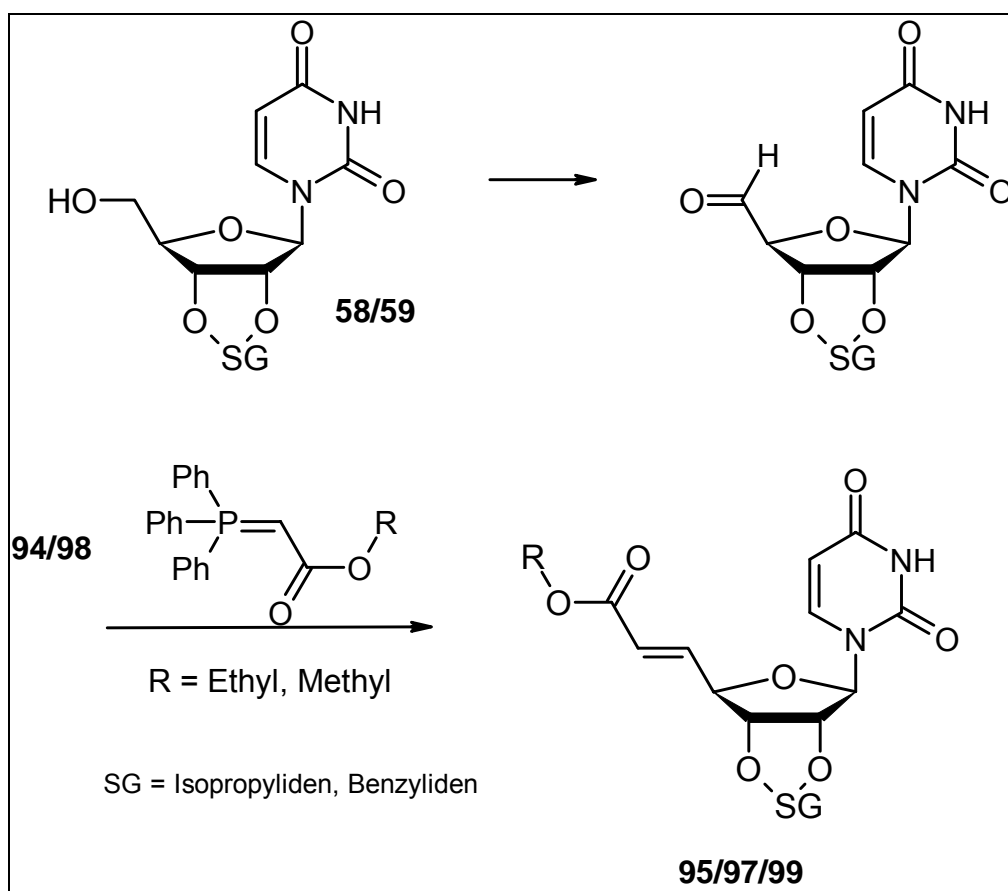
Mittlerweile wurden sowohl das US-Patent für die Adenosin-analoge Verbindung als auch eine Veröffentlichung über das Uridin-Derivat gefunden.^{221,276} Die Vorschrift des Patents orientiert sich nahezu vollständig an der von Walker *et al.* publizierten.²⁷⁷ Die Arbeit der französischen Arbeitsgruppe benutzt das gleiche Reaktionsprinzip, setzt aber teilweise andere Reagenzien ein. Insofern handelt es sich um eine Modifizierung der Vorschrift von Walker *et al.*

Während bei der Methode nach Mitsunobu das ungeschützte Uridin eingesetzt werden konnte, verwenden hier beide Arbeitsgruppen geschützte Nukleoside. Untersuchungen, ob die Reaktionen auch mit den freien Verbindungen erfolgreich sind, wurden nicht gemacht.

²⁷⁶ Tronchet, J. M. J.; Valero, M. J. Recherche d'analogues de nucléosides à activité antivirale. *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 2788-2792.

²⁷⁷ Walker, T. E.; Follmann, H.; Hogenkamp, H. P. C. The Synthesis of 5'-C-Alkyl Analogs of Adenosine. *Carbohydr. Res.* **1973**, *27*, 225-234.

Die Reaktion beruht auf der In-situ-Oxidation der 5'-Hydroxygruppe zum Aldehyd, ein Verfahren, das von Pfitzner und Moffat entwickelt wurde.²⁷⁸ Dadurch wurden völlig neue Synthesemöglichkeiten für die Darstellung von Nukleosid- und Nukleotidanaloga ermöglicht. Der auf diese Weise erhaltene Aldehyd wird in der sich anschließenden Reaktion mit einem Wittig-Reagenz, dessen Säurefunktion zunächst verestert ist, zum Olefin umgesetzt. In einem letzten Schritt wird des Ester zur freien Säure hydrolysiert.



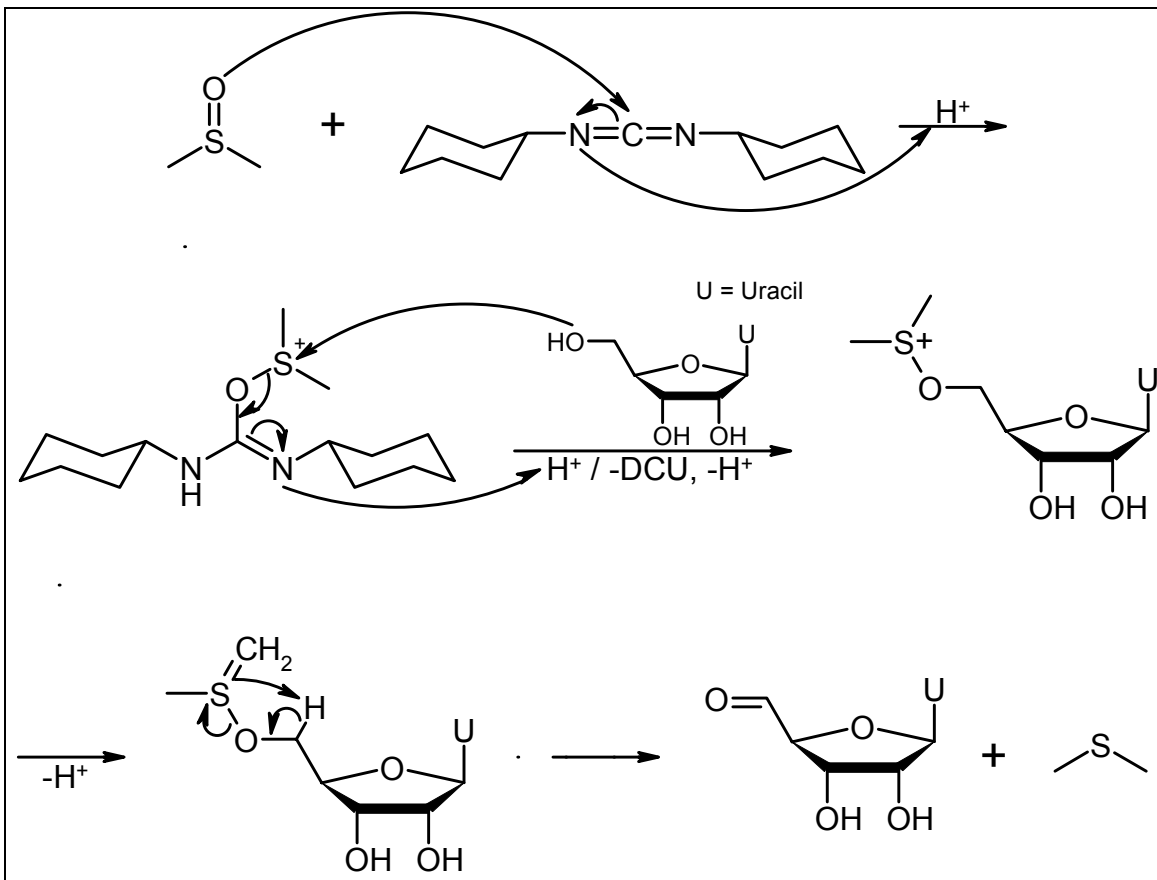
Schema 74: Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure-alkylester über die Pfitzner-Moffat-Oxidation

Der Aldehyd ist eine äußerst labile Verbindung, die nicht isoliert werden kann. Die Reaktion wird deshalb als Eintopfsynthese durchgeführt. Zunächst wird das geschützte Nukleosid mit Hilfe von Dimethylsulfoxid – das auch als Lösungsmittel dient – in Gegenwart von drei Äquivalenten DCC und Pyridiniumtrifluoroacetat oxidiert. Letzteres wird *in situ* dargestellt aus einem Äquivalent Pyridin und einem halben Äquivalent Trifluoressigsäure, bezogen auf das eingesetzte Nukleosid.

²⁷⁸ Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. Sulfoxide-Carbondiimid Reactions. I. A Facile Oxidation of Alcohols. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5661-5670.

Dadurch hat das Reaktionsmedium gleichzeitig aciden und alkalischen Charakter, was für den Fortgang der Reaktion entscheidend ist. Wie immer bei der Verwendung von DCC ist auf strengen Feuchtigkeitsausschluß zu achten.

Der Reaktionsmechanismus beinhaltet zunächst die Bildung eines Sulfoxoniumions durch den nukleophilen Angriff von DMSO am protonierten DCC. Durch den Angriff des Alkohols entsteht neben Dicyclohexylharnstoff ein weiteres Sulfoxoniumion. Dieses zerfällt durch den basischen Einfluß in den Aldehyd und Dimethylsulfid.

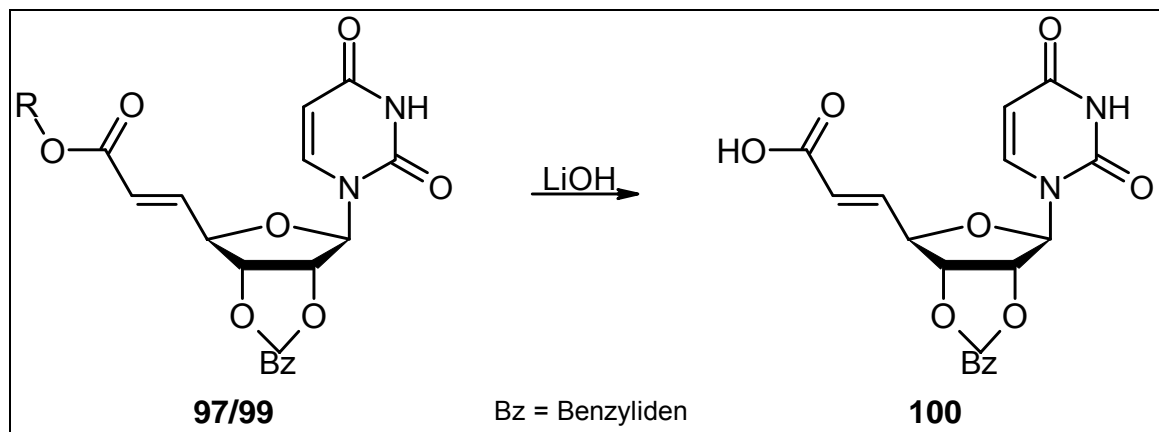


Schema 75: Reaktionsmechanismus der Pfitzner-Moffat-Oxidation

Nachdem die Lösung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird das Wittig-Reagenz zugegeben und weitere 24 Stunden, ebenfalls bei Raumtemperatur, gerührt. Zur Aufarbeitung wird zunächst der Überschuß an DCC mit Oxalsäure unter Eiskühlung zum Harnstoff umgesetzt, der danach durch Filtrieren abgetrennt werden kann. Aus dem eingengten Filtrat wird das Produkt säulenchromatographisch isoliert als durchsichtig pastöse Masse.

Die Spaltung des Ethyl- bzw. Methylesters erfolgt in THF/Wasser (1:1) mit Lithiumhydroxid. Auf dem Dünnschichtchromatogramm ist das Produkt auf der Startlinie zu sehen, was darauf hinweist, daß die deprotonierte Säure vorliegt. Da das Produkt in dieser Form eine recht hohe Hydrophilie aufweist, bietet sich die Aufreinigung per HPLC an. Als Eluent wird ein Gradient aus 1 %iger Ammoniumacetat-Lösung und Methanol von 50:50 zu 0:100 verwendet.

Durch Zugabe von Salzsäure kann man die freie Säure darstellen, die sich durch die an der Ribose vorliegende Schutzgruppe nicht mehr in Wasser löst, sondern ausreichend lipophil ist, um sich in Ethylacetat zu lösen. In diesem Fall kann auch eine säulenchromatographische Reinigung mit Kieselgel erfolgen.



Schema 76: Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid

3.3.9. Ausblick

Keine der versuchten Methoden zur Veresterung von Uridin am 5'-Ende mit aliphatischen Oligocarbonsäuren hat sich als geeignet erwiesen. Lediglich in einem Fall, der Veresterung mit Citronensäure, konnte ein Erfolg erzielt werden. Die Probleme beschränken sich dabei nicht auf die eigentliche Darstellung der Substanzen, die teilweise erfolgreich waren (Oxoglutarsäureester), sondern betreffen auch die Isolierung und Reinigung der Produkte.

Durch die aufgetretenen Probleme konnten die einzelnen Projekte nicht in der ursprünglich geplanten Form bis zu ihrem Ende durchgeführt werden. Vor allem die Entfernung der Schutzgruppen, das Ende der jeweiligen Synthese, wurde nicht in der ausreichenden Ausführlichkeit untersucht und zu einer erfolgreichen Synthesestrategie entwickelt. Dies betrifft speziell die Isolierung und Aufreinigung der Endprodukte, während für die Abspaltung selbst erfolgreiche Methoden gefunden wurden.

Die durchgeführten Versuche geben allerdings Hinweise, daß unter Umständen für die einzelnen Substanzen jeweils eigene Methoden gefunden werden müssen. So kann bei Propionsäure-(2',3'-O-benzyliden)uridin-5'-ylester die Schutzgruppe in Essigsäure mit Palladiumkohle (10 %ig) erfolgreich unter Erhalt der nukleosidischen Bindung bei komplettem Umsatz (laut DC) entfernt werden. Dies gelingt nicht bei dem unveresterten geschützten Uridin. Hier ist die Umsetzung nur mit Palladium auf Bariumsulfat in Methanol/Wasser (1:1) vollständig.

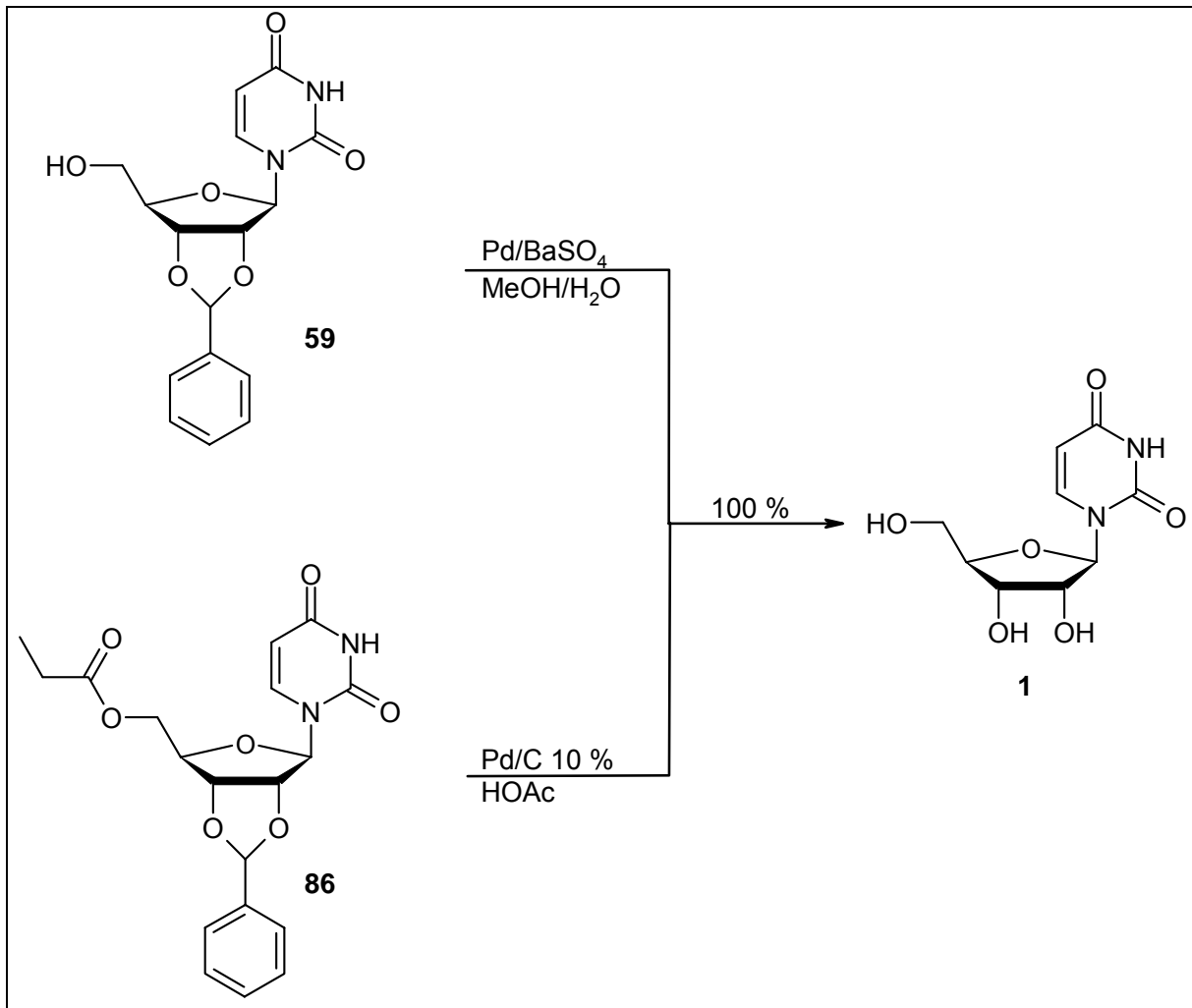


Abb. 62: Ergebnisse der 2',3'-O-Benzylidengruppen-Abspaltungsversuche

Um die gewünschten Uridinester zu erhalten, ist es also nötig, neue Methoden und Reagenzien für die Veresterung zu finden. Diese sollten idealerweise auch in polaren Lösungsmitteln oder sogar im Wäßrigen verwendbar sein, da die hohe Hydrophilie der verwendeten Carbonsäuren und die dadurch bedingte schlechte Löslichkeit in unpolaren und inerten Solventien einer der Gründe für das Mißlingen der Reaktionen sein könnte. Ansonsten muß versucht werden, eine grundsätzlich andere Synthesestrategie zu entwickeln, die dieses Problem neben den anderen Aspekten – zum Beispiel die Labilität der nukleosidischen Bindung – berücksichtigt.

4. Zusammenfassung

Das erste Projekt dieser Arbeit beschäftigt sich mit dem Nucleosid Uridin, für das ein Rezeptor postuliert worden ist, der im Schlafmechanismus eine Rolle spielen soll. In früheren Arbeiten vor allem der japanischen Arbeitsgruppe um Ho, Yamamoto und Kimura wurde N3-Phenacyluridin als potentester Agonist gefunden. Von den Autoren wurde [^3H]-markiertes N3-Phenacyluridin dargestellt durch N3-Alkylierung von [^3H]Uridin und sich anschließender dünnschichtchromatographischer Aufreinigung.

Um weitere Struktur-Wirkungsbeziehungen für Verbindungen untersuchen zu können, die am „Uridinrezeptor“ wirken sollen, wurde zunächst eine neue Synthese für [^3H]N3-Phenacyluridin entwickelt, wobei die radioaktive Markierung erst im letzten Schritt der Synthese durch katalytische Hydrierung eingeführt wird. Dies ermöglicht hohe Ausbeuten, einfache Aufreinigung und hohe Reinheit des Radioliganden. Weiterhin wurden neben N3-Phenethyl-, N3-Phenoxyethyl- und N3-Styryluridin am aromatischen Kern substituierte Derivate von N3-Phenacyluridin synthetisiert.

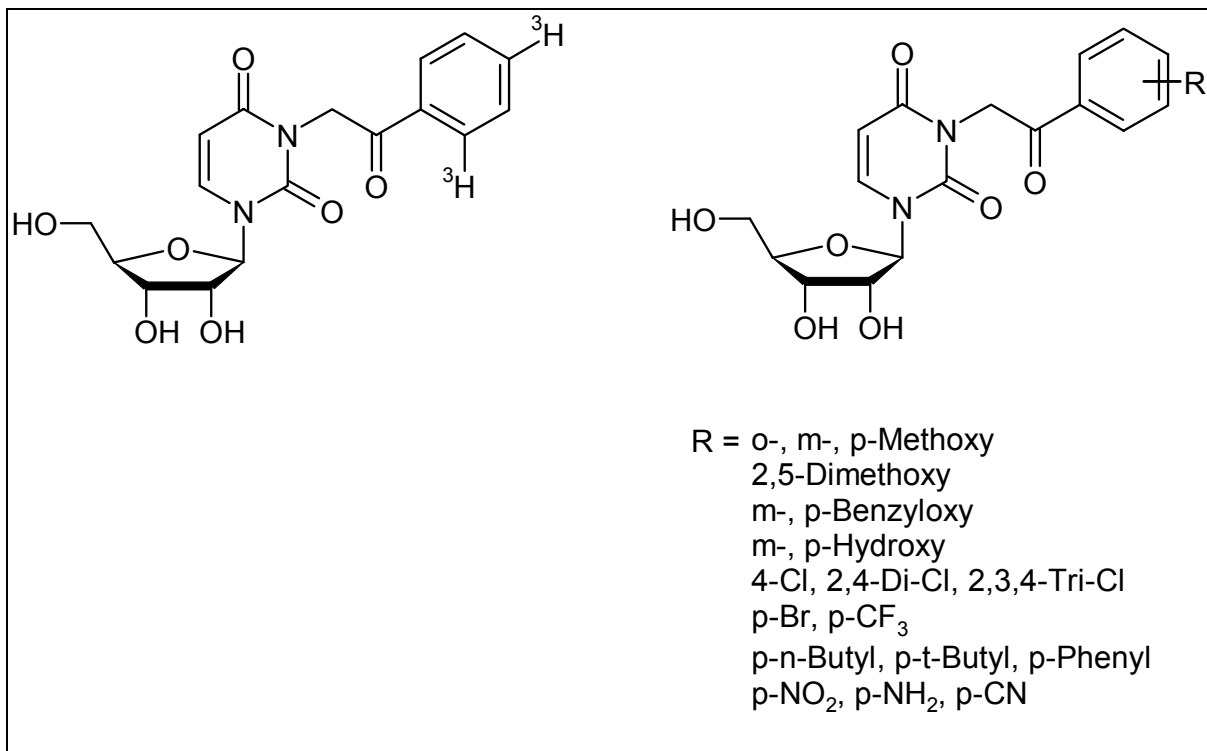


Abb. 63: Entwickelter Radioligand und synthetisierte N3-Phenacylderivate

Mit dem Radioliganden soll zukünftig ein Radioligand-Bindungsassay entwickelt werden, mit dem die synthetisierten Uridin-Derivate auf ihre Wirkung am „Uridinrezeptor“ untersucht werden können.

Im zweiten Projekt der vorliegenden Arbeit sollte Uridin an seiner 5'-OH-Gruppe mit aliphatischen Oligocarbonsäuren verestert werden. Ausgangspunkt dafür ist die Überlegung, den unter physiologischen Bedingungen äußerst labilen Di- bzw. Triphosphatrest von UDP bzw. UTP, den physiologischen P2-Rezeptor-Agonisten, durch eine Struktur zu ersetzen, die in ihren Eigenschaften ähnlich ist, aber eine größere Stabilität aufweist. Außerdem besteht dadurch die Möglichkeit, eine Verbindung mit einer größeren Selektivität für einen P2-Rezeptor-Subtyp und eventuell anderer Funktionalität (antagonistisch) zu finden. In diesem Fall hätte man ein pharmakologisches Werkzeug in Händen, mit dem man gezielt die Eigenschaften dieses Rezeptorsubtyps untersuchen könnte. Gleichzeitig kann versucht werden, die Struktur des Liganden weiter für diesen Subtyp zu optimieren.

Auf Grund der nukleosidischen Struktur kann die Veresterung nicht auf dem klassischen säurekatalysierten Weg erfolgen, sondern muß mit einer milderen Methode durchgeführt werden. Die Wahl fiel auf die DCC/DMAP-Methode, die in der Literatur häufig und erfolgreich für Veresterungen beschrieben wird. Mit den hier ausgewählten Oligocarbonsäuren konnte entgegen den Erwartungen allerdings nur mit Citronensäure eine erfolgreiche Veresterung durchgeführt werden.

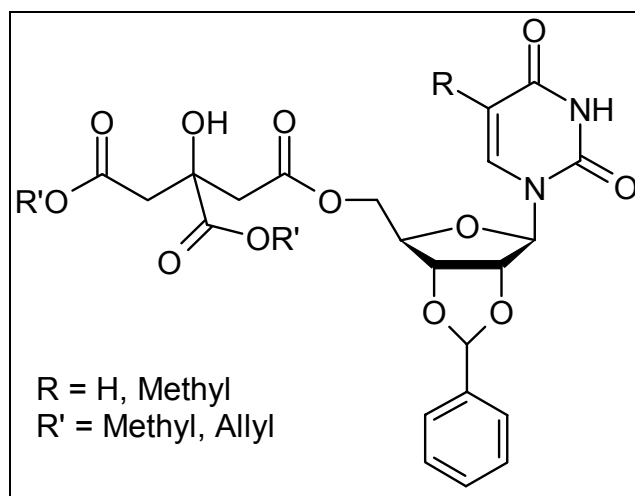


Abb. 64: 3-Alkoxy-carbonyl-3-hydroxyglutarsäure-alkylester-[(2',3'-O-benzyliden)uridin-5'-yl]ester

Ein weiteres Ziel war die Darstellung von UDP- bzw. UTP-Analogen, bei denen die Hydroxymethylgruppe am C4 der Ribose durch einen Acrylsäurerest ersetzt ist. Der zunächst eingeführte Alkylester sollte anschließend zur Carbonsäure hydrolysiert werden und im letzten Schritt mit sauren Aminosäuren, z. B. Glutaminsäure oder Asparaginsäure, in ein Säureamid überführt werden.

Zunächst wurde versucht, durch Mitsunobu-Reaktion einen Uridin-5'-azinitroester aus O²-Methyluridin und 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol darzustellen, der sich anschließend mit dem entsprechenden Wittig-Reagenz zum gewünschten Alken umgesetzt lassen sollte. Dieser Syntheseweg konnte nicht nachvollzogen werden. Letztendlich wurde die Verbindung über die In-situ-Darstellung von Uridin-5'-carbaldehyd nach Pfitzner-Moffat und anschließender Umsetzung mit den entsprechenden Wittig-Reagenzien synthetisiert. Wegen der Schwierigkeiten beim ersten Teil dieses Projekts, der Synthese von Uridin-5'-Ethern, konnte die sich anschließende Hydrolyse und Umsetzung mit Aminosäuren allerdings nicht durchgeführt werden.

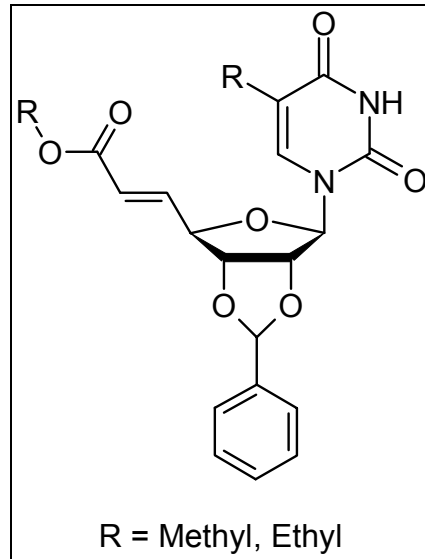


Abb. 65: 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]-acrylsäure-alkylester

Fazit

- ◆ Es konnte eine einfache Methode zur Darstellung des Radioliganden [³H]N³-Phenacyluridin entwickelt werden, der nun mit hoher Ausbeute, in hoher Reinheit und mit hoher spezifischer Radioaktivität (43 Ci/mmol) für Radioligand-Bindungsstudien und Metabolismusstudien zur Verfügung steht.
- ◆ Citronensäure konnte erfolgreich mit Uridin bzw. 5-Alkyluridinen verestert werden. Für die Darstellung von Uridin-5'-estern mit anderen Oligocarbonsäuren müssen andere Methoden entwickelt werden.
- ◆ Die Schutzgruppenstrategie für die Veresterung von Uridin muß weiter optimiert werden. Die in dieser Arbeit verwendeten Schutzgruppen (2',3'-Benzyliden für die Ribose-Partialstruktur, Allylester als Schutz der Säurefunktionen der Oligocarbonsäuren) sind prinzipiell geeignet, aber nicht optimal.
- ◆ 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]-acrylsäurealkylester konnten erfolgreich dargestellt werden. Auch die Hydrolyse zur entsprechenden Carbonsäure gelingt mit Lithiumhydroxid glatt. Allerdings muß die Aufreinigungsmethode für das Produkt weiter optimiert werden. Anschließend gilt es, eine Methode für die Umsetzung zu Säureamiden mit Aminosäuren zu entwickeln.

5. Experimenteller Teil

5.1. Allgemeine Angaben

5.1.1. Chemikalien

Die käuflich erworbenen Chemikalien und Lösungsmittel stammen von den Firmen Merck, Fluka, Aldrich bzw. Acros und wurden ohne weitere Aufreinigung verwendet. Alle anderen stammen aus den Beständen des Pharmazeutischen Instituts Bonn Poppelsdorf, wobei die Lösungsmittel vor ihrer Verwendung destilliert wurden. Tetrahydrofuran wurde zur Absolutierung über Natrium unter Zusatz von Benzophenon als Indikator destilliert, Methanol mit Magnesiumspänen.

5.1.2. Materialien und Geräte

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-beschichtete Aluminiumplatten 60 F₂₅₄ der Firma Merck verwendet, die Detektion erfolgte mit UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm. Für die Säulenchromatographie wurden mit Kieselgel 63 - 200 µm SiO₂ befüllte Säulen verschiedener Größen verwendet, z. B. Typ 1: ca. 70 g SiO₂, Durchmesser: 25 mm, Höhe: 37 cm; Typ 3: ca. 300 g SiO₂, Durchmesser: 45 mm, Höhe: 46 cm. Bei der Fließmittelzusammensetzung bedeutet die Angabe x:y immer, daß x Teile des ersten mit y Teilen des zweiten Lösungsmittels gemischt wurden.

Für die Synthese von Substanz 61 wurde ein Druckgefäß der Firma Ace Glass, Inc., USA verwendet.

Schmelzpunkte wurden an einem Büchi B-535 gemessen und sind unkorrigiert wiedergegeben.

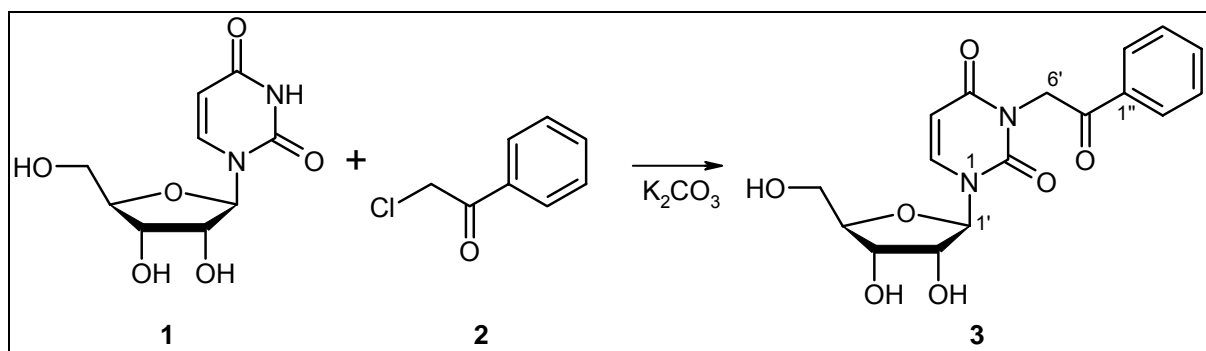
Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker 500 Spektrometer (¹H: 500 MHz, ¹³C: 125 MHz) aufgenommen. Die Signale der verbleibenden Protonen der deuterierten Lösemittel wurden als interner Standard herangezogen: ¹H: δ [ppm] DMSO-d₆ = 2.49, CDCl₃ = 7.24, MeOH-d₄ = 3.35, 4.78; Aceton-d₆ 2.05; ¹³C: DMSO-d₆ = 39.7, CDCl₃ = 77.0, MeOH-d₄ = 49.3; Aceton-d₆ = 29.92. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm WinNMR der Firma Bruker.

Elementaranalysen wurden an einem VarioEL Gerät (Elementar Analysensysteme GmbH) im Pharmazeutischen Institut Enderich durchgeführt.

5.2. N3-substituierte Uridine

- N3-Phenacyluridin

Uridin (10 mmol), Phenacylchlorid (15 mmol) und Kaliumcarbonat (17 mmol) werden in einer Mischung aus DMF und Aceton (1:1, 20 ml) gelöst und ca. 4 h unter Rückfluß erhitzt (Ölbad 120 °C). Dabei färbt sich die Lösung über gelb und orange dunkelbraun. Danach wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen, 65 ml Eiswasser zugegeben und mit insgesamt 600 ml Ethylacetat in mehreren Portionen geschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels eingeeengt. Das so erhaltene Konzentrat wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) chromatographiert. Die das Produkt enthaltenen Fraktionen werden zu einem braunen pastösen Rückstand eingeeengt. Dieser wird in viel Dichlormethan (20 ml) aufgenommen und im Ultraschallbad behandelt. Dabei fällt das Produkt als weißes Pulver aus, das abgesaugt und getrocknet wird.



Ausbeute: 33 % d. Th. (Lit.: 63 %) ²⁷⁹

Smp.: 151 °C (Lit.: 162-164 °C) ²⁷⁹

R_f: 0.28 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

²⁷⁹ Yamamoto, I.; Kuze, J.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K. The Potent Depressant Effects of N³-Phenacyluridine in Mice. *Biol. Pharm. Bull.* **1994**, *17/4*, 514-516.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 8.06 (3H, H^6 , $\text{H}^{2''}$, $6''$, m); 7.71 (1H, $\text{H}^{4''}$, t); 7.58 (2H, $\text{H}^{3''}$, $5''$, t); 5.87 (1H, H^5 , d); 5.81 (1H, H^1 , d); 5.39 (1H, OH^2 , d); 5.35 (1H, H^6 , d, $^2J_{6-6'}$ 17.34 Hz); 5.30 (1H, H^6 , d; $^2J_{6-6'}$ 17.34 Hz); 5.12 (1H, OH^5 , t); 5.09 (1H, OH^3 , d); 4.07 (1H, H^2 , dd); 3.99 (1H, H^3 , dd); 3.87 (1H, H^4 , dd); 3.66 (1H, H^5 , ddd, $^2J_{5-5'}$ 12.06 Hz); 3.57 (1H, H^5 , ddd, $^2J_{5-5'}$ 12.06 Hz)

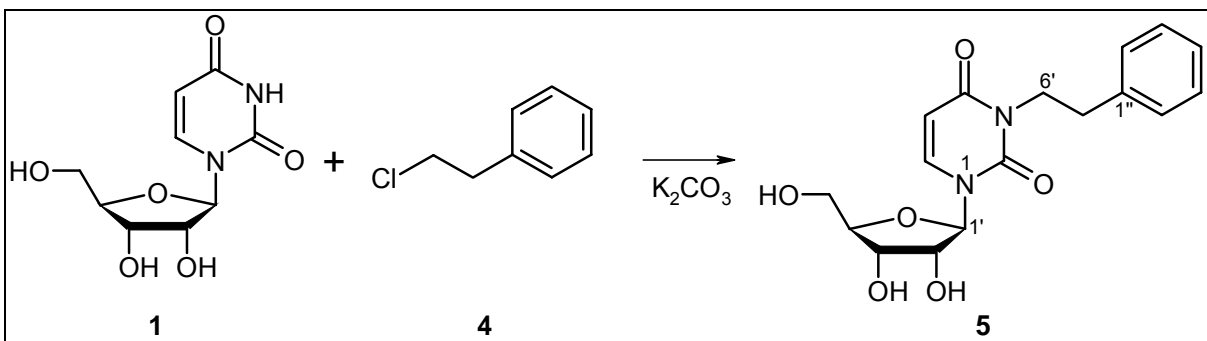
$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 192.57 ($\text{C}7'$); 161.74 ($\text{C}4$); 150.87 ($\text{C}2$); 139.92 ($\text{C}6$); 134.57; 134.20; 129.13; 128.14 (arom.); 100.94 ($\text{C}5$); 89.13 ($\text{C}1'$); 85.08 ($\text{C}4'$); 73.87 ($\text{C}2'$); 69.85 ($\text{C}3'$); 60.86 ($\text{C}5'$); 47.14 ($\text{C}6'$)

CHN: ber.: C 56.35 %; H 5.01 %; N 7.73 %

gef.: C 55.69 %; H 4.98 %; N 7.62 %

- N3-Phenethyluridin

Uridin (5 mmol), Phenethylchlorid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) über Nacht unter Rückfluß (Ölbad 120 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung gelb-braun und ist trüb. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 80 ml Eiswasser versetzt und vorsichtig (Emulsionsbildung!) mit insgesamt 400 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1 - 9:1) als Fließmittel chromatographiert. Aus den entsprechenden Fraktionen erhält man durch Abrotieren des Lösungsmittels das Produkt.



Ausbeute: 46 % d. Th.

Smp.: 163 °C

R_f: 0.26 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.96 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.25 (5H, arom., m); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.76 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.40 (1H, OH^{2'}, d); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 3.98 (4H, H^{2'}, H^{3'}, H^{6'}, m); 3.85 (1H, H^{4'}, dd); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd); 3.56 (1H, H^{5'}, ddd); 2.79 (2H, H^{7'}, t)

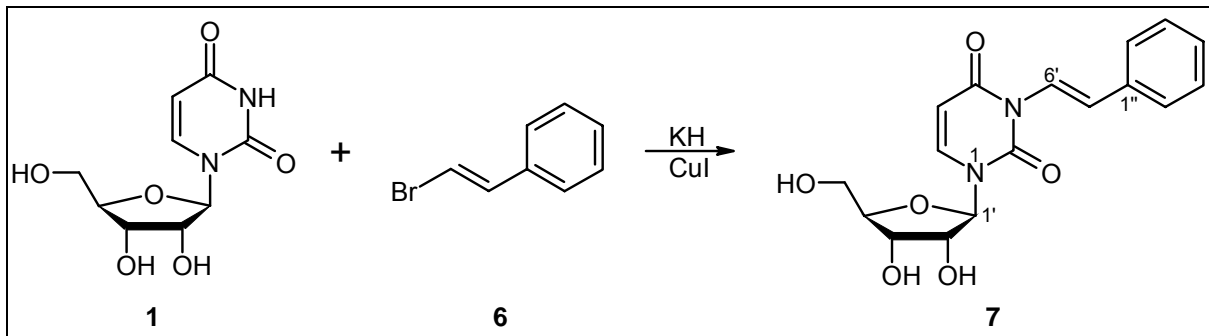
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 161.88 (C4); 150.78 (C2); 139.32 (C6); 138.64 (C1''); 128.72; 128.59 (C2'', C3'', C5'', C6''); 126.51 (C4''); 101.00 (C5); 89.13 (C1'); 84.86 (C4'); 73.93 (C2'); 69.68 (C3'); 60.71 (C5'); 41.63 (C6'); 33.14 (C7')

CHN: ber.: C 58.61 %; H 5.79 %; N 8.04 %

gef.: C 58.07 %; H 5.75 %; N 7.96 %

- N3-Styryluridin

Uridin (5 mmol), Kaliumhydrid (5 mmol), Bromstyrol (5 mmol) und Kupferiodid (5 mmol) werden in 10 ml Hexamethylphosphortriamid (HMPA) unter Feuchtigkeitsausschluß gelöst und 4 Stunden bei 130 °C gerührt. Danach werden 50 ml mit Natriumchlorid gesättigte 2 N-HCl zugegeben, wodurch sich ein weißer Niederschlag bildet. Aus dieser Lösung wird das Produkt mit Ethylacetat (100 ml) extrahiert. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels am Rotationsverdampfer eingeeengt. Aus dem Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 31 % d. Th.

Smp.: 176 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 8.02 (1H, H, d); 7.48 (2H, $\text{H}^{2''}, 6''$, d); 7.37 (2H, $\text{H}^{3''}, 5''$, t); 7.29 (1H, $\text{H}^{4''}$, tt), 7.26 (1H, $\text{H}^{6'}$, d, $^3J_{6'-7'}$ 14.82 Hz); 7.23 (1H, $\text{H}^{7'}$, d, $^3J_{7'-6'}$ 14.82 Hz); 5.84 (1H, H^5 , d); 5.83 (1H, $\text{H}^{1'}$, d), 5.40 (1H, OH^3 , d); 5.12 (1H, OH^5 , t); 5.07 (1H, OH^2 , d); 4.07 (1H, H^2 , dd); 3.99 (1H, H^3 , dd); 3.89 (1H, H^4 , dd); 3.68 (1H, H^5 , ddd); 3.58 (1H, H^5 , ddd)

$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 161.56 (C4); 150.24 (C2); 139.32 (C6); 135.59 (C1'); 128.96 (C3'', C5''); 128.03 (C6'); 127.03 (C7'); 126.39 (C2'', C6''); 121.25 (C4''); 100.96 (C5); 89.46 (C1'); 84.91 (C4'); 74.05 (C2'); 69.59 (C3'); 60.60 (C5')

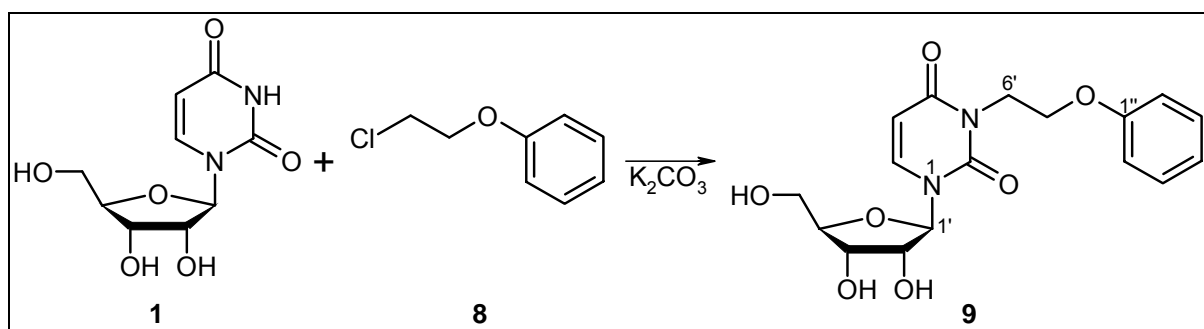
CHN: ber.: C 58.96 %; H 5.24 %; N 8.09 %

gef.: C 58.32 %; H 5.18 %; N 7.98 %

- N3-(2-Phenoxyethyl)uridin

Uridin (5 mmol), Phenoxyphenacylchlorid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) über Nacht unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (40:1

– 20:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Ethylacetat umkristallisiert.



Ausbeute: 22 % d. Th.

Smp.: 111 °C

R_f: 0.39 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.97 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 7.88 Hz); 7.26 (2H, arom., m); 6.92 (3H, arom., m); 5.81 (1H, H^{1'}, d); 5.78 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 7.88 Hz); 5.37 (1H, OH^{2'}, d); 5.08 (1H, OH^{5'}, t); 5.05 (1H, OH^{3'}, d); 4.15 (4H, H^{6',7'}, m); 4.04 (1H, H^{2'}, dd); 3.97 (1H, H^{3'}, dd); 3.86 (1H, H^{4'}, dd); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd); 3.56 (1H, H^{5''}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 162.05 (C4); 158.28 (C1''); 151.01 (C2); 139.53 (C6); 129.64 (C3'', 5''); 120.92 (C4''); 114.59 (C2'', 6''); 100.97 (C5); 89.16 (C1'); 84.91 (C4'); 73.89 (C2'); 69.70 (C3'); 63.86 (C7'); 60.72 (C5'); 39.32 (C6')

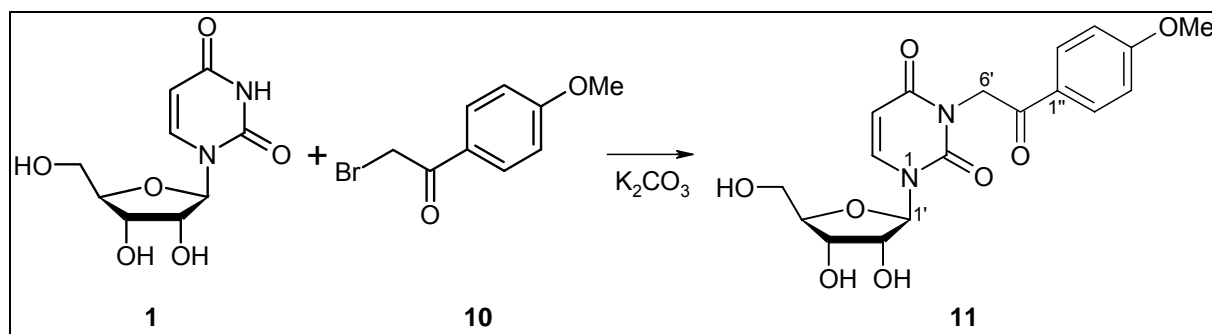
CHN: ber.: C 56.04 %; H 5.53 %; N 7.69 %

gef.: C 55.99 %; H 5.50 %; N 7.56 %

- N3-(4-Methoxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Methoxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml

Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1 - 9:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Aceton umkristallisiert.



Ausbeute: 16 % d. Th.

Smp.: 161 °C

R_f: 0.28 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

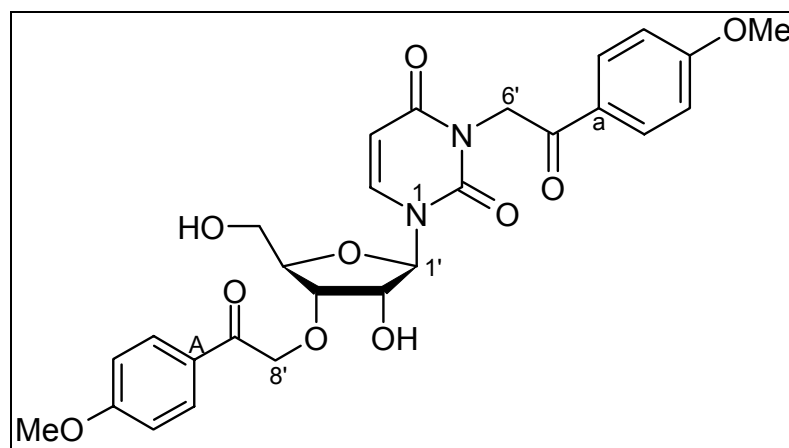
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.05 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 7.88 Hz); 8.04 (2H, H^{2'',6''}, d, ³J 9.14 Hz); 7.08 (2H, H^{3'',5''}, d, ³J 8.82 Hz); 5.86 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.39 (1H, OH^{2'}, d); 5.29 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.24 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.02 Hz); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.86 (4H, H^{4'}, OCH₃, m); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.71 (C7'); 163.88 (C4); 161.78 (C4''); 150.89 (C2); 139.85 (C6); 130.51 (C2'', C6''); 127.51 (C1''); 114.34 (C3'', C5''); 100.94 (C5); 89.12 (C1'); 85.07 (C4'); 73.87 (C2'); 69.85 (C3'); 60.87 (C5'); 55.79 (O-CH₃); 46.81 (C6')

CHN: ber.: C 55.10 %; H 5.14 %; N 7.14 %

gef.: C 54.82 %; H 5.25 %; N 7.08 %

Nebenprodukt: N3,O^{3'}-Bis(4-Methoxyphenacyl)uridin



Smp.: 155 °C

R_f: 0.44 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

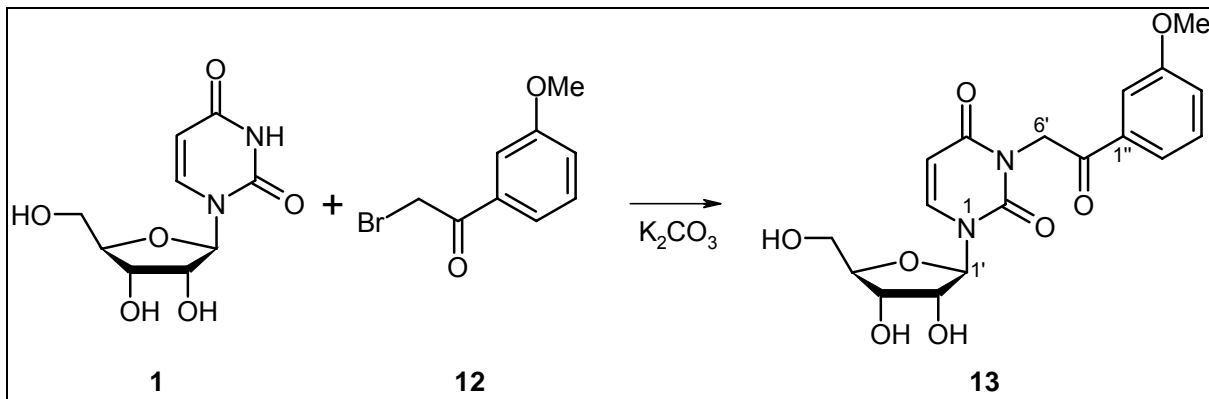
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.03 (2H, H^{b, f}, d); 8.00 (1H, H⁶, d); 7.88 (2H, H^{B, F}, d); 7.09 (2H, H^{c, e}, d); 7.01 (2H, H^{C, E}, d); 5.99 (1H, H^{1'}, d); 5.84 (1H, H⁵, d); 5.27 (1H, OH^{2'}, d); 5.27 (1H, H^{6'}, d); 5.22 (1H, H^{6'}, d); 5.14 (1H, OH^{5'}, t); 4.98 (1H, H^{8'}, d); 4.86 (1H, H^{8'}, d); 4.18 (1H, H^{2'}, dd); 4.12 (1H, H^{3'}, pt); 3.94 (1H, H^{4'}, dd); 3.86 (3H, O-CH₃, s); 3.82 (3H, O-CH₃, s); 3.63 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 195.41 (C7'); 190.75 (C9'); 163.96 (Cd); 163.68 (Cd); 161.82 (C4); 150.92 (C2); 139.71 (C6); 130.58 (Cb, Cf); 130.43 (Cb, Cf); 127.53 (Ca, CA); 114.41 (Cc, Ce); 114.15 (Cc, CE); 101.21 (C5); 87.11 (C1'); 85.78 (C4'); 81.72 (C3'); 72.67 (C8'); 68.67 (C2'); 61.00 (C5'); 55.85 (O-CH₃); 55.75 (O-CH₃); 46.90 (C6')

- N3-(3-Methoxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 3-Methoxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 600 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels

erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (40:1 - 9:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen nach Abrotieren des Fließmittels erhaltene Produkt wird aus Methanol umkristallisiert. Dabei erhält man braune Kristalle, die durch Behandeln im Ultraschallbad (in Methanol) weiß werden und abgesaugt werden können.



Ausbeute: 35 % d. Th.

Smp.: 177 °C

R_f: 0.29 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.06 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.66 (1H, H^{6''}, dt); 7.52 (1H, H^{2''}, dd); 7.50 (1H, H^{5''}, t); 7.28 (1H, H^{4''}, ddd); 5.87 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{2'}, d); 5.34 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.29 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.83 (3H, OCH₃, s); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

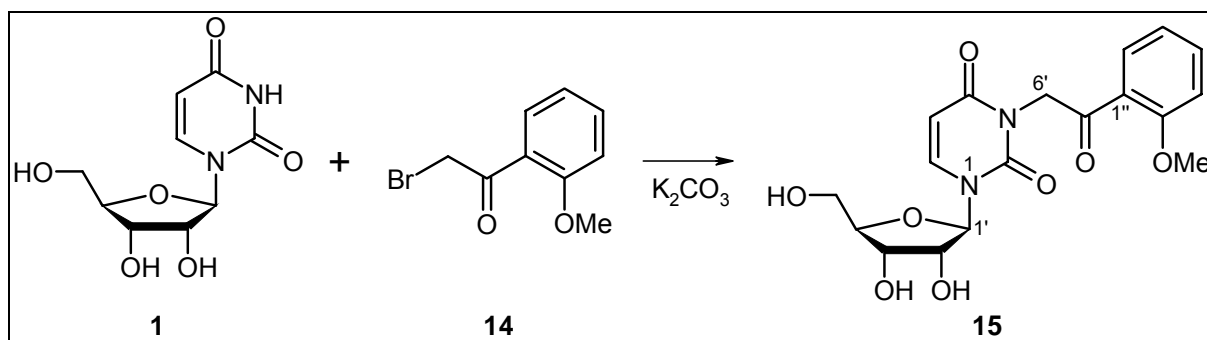
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.39 (C7'); 161.73 (C4); 159.71 (C3''); 150.85 (C2); 139.92 (C6); 135.91 (C1''); 130.32 (C5''); 120.58 (C2''); 120.31 (C6''); 112.59 (C4''); 100.93 (C5); 89.12 (C1'); 85.08 (C4'); 73.86 (C2'); 69.85 (C3'); 60.86 (C5'); 55.58 (OCH₃); 47.30 (C6')

CHN: ber.: C 55.10 %; H 5.14 %; N 7.14 %

gef.: C 54.96 %; H 5.20 %; N 7.14 %

- N3-(2-Methoxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 2-Methoxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 500 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Methanol umkristallisiert.



Ausbeute: 29 % d. Th.

Smp.: 120 °C

R_f: 0.29 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.04 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 7.88 Hz); 7.71 (1H, H^{3''}, dd); 7.63 (1H, H^{4''}, ddd); 7.25 (1H, H^{6''}, d); 7.08 (1H, H^{5''}, td); 5.84 (1H, H⁵, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{2'}, d); 5.15 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.11 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.05 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.96 (3H, OCH₃, s); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.75 (C7'); 161.79 (C4); 159.51 (C2''); 150.89 (C2); 139.82 (C6); 135.37 (C6''); 130.25 (C4''); 124.57 (C1''); 120.91 (C5''); 112.92 (C3''); 100.97 (C5); 89.12 (C1'); 85.04 (C4'); 73.88 (C2'); 69.84 (C3'); 60.86 (C5'); 56.17 (OCH₃); 50.89 (C6')

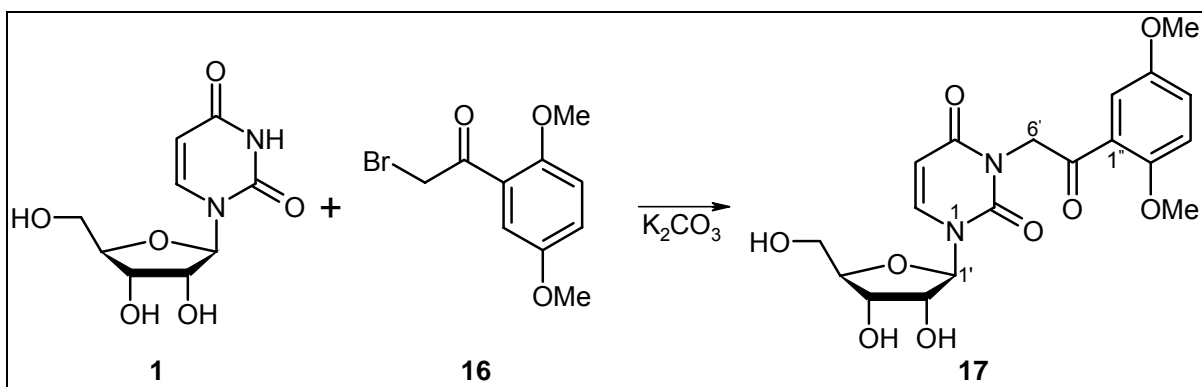
CHN: C₁₈H₂₀N₂O₈ * H₂O

ber.: 52.68 %; H 5.40 %; N 6.83 %

gef.: 52.89 %; H 5.28 %; N 6.84 %

- N3-(2,5-Dimethoxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 2,5-Dimethoxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung über rot nach dunkelbraun-schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 400 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt, das eine deutliche blaue Fluoreszenz unter langwelligem UV-Licht zeigt, wird sorgfältig mit Methanol gewaschen und getrocknet.



Ausbeute: 33 % d. Th.

Smp.: 156 °C

R_f: 0.34 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 8.03 (1H, H^6 , d, $^3J_{6-5}$ 8.20 Hz); 7.24 (1H, $\text{H}^{4''}$, dd, $^3J_{4''-3''}$ 9.14 Hz; $^4J_{4''-6''}$ 2.84 Hz); 7.21 (1H, $\text{H}^{6''}$, d, $^4J_{6''-4''}$ 2.84 Hz); 7.21 (1H, $\text{H}^{3''}$, d, $^3J_{3''-4''}$ 9.14 Hz); 5.84 (1H, H^5 , d, $^3J_{5-6}$ 8.20 Hz); 5.79 (1H, $\text{H}^{1'}$, d); 5.37 (1H, $\text{OH}^{2'}$, d); 5.14 (1H, $\text{H}^{6'}$, d, 2J 17.97 Hz); 5.11 (1H, $\text{OH}^{5'}$, t); 5.10 (1H, $\text{H}^{6'}$, 2J 17.97 Hz); 5.08 (1H, $\text{OH}^{3'}$, d); 4.05 (1H, H^2 , dd); 3.98 (1H, $\text{H}^{3'}$, dd); 3.92 (3H, $-\text{OCH}_3$, s); 3.87 (1H, $\text{H}^{4'}$, dd); 3.74 (3H, $-\text{OCH}_3$, s); 3.66 (1H, H^5 , ddd); 3.57 (1H, $\text{H}^{5'}$, ddd)

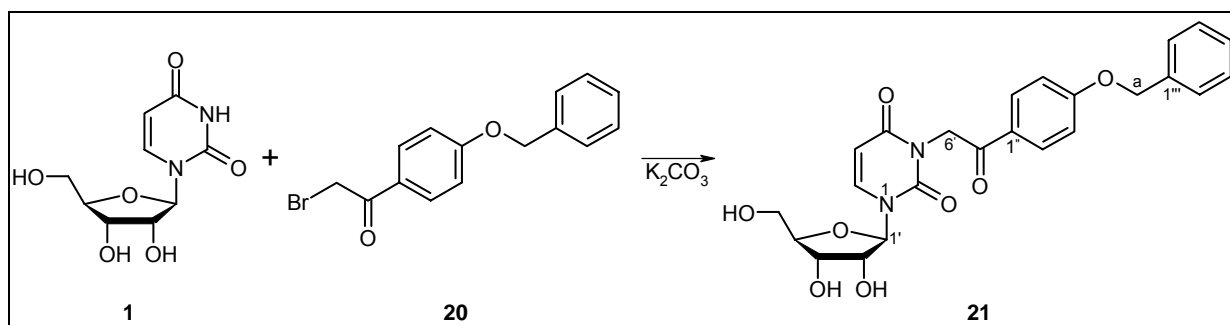
$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 192.32 ($\text{C}7'$); 161.77 ($\text{C}4$); 153.95 ($\text{C}2''$); 153.24 ($\text{C}5''$); 150.87 ($\text{C}2$); 139.81 ($\text{C}6$); 124.74 ($\text{C}1''$); 121.63 ($\text{C}4''$); 114.52 ($\text{C}3''$); 113.89 ($\text{C}6''$); 100.94 ($\text{C}5$); 89.09 ($\text{C}1'$); 85.02 ($\text{C}4'$); 73.86 ($\text{C}2'$); 69.82 ($\text{C}3'$); 60.84 ($\text{C}5'$); 56.58 ($-\text{OCH}_3$); 55.74 ($-\text{OCH}_3$), 50.88 ($\text{C}6'$)

CHN: ber.: C 54.03 %; H 5.25 %; N 6.63 %

gef.: C 54.65 %; H 5.18 %; N 6.45 %

- N3-(4-Benzyloxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Benzyloxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraunschwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 43 % d. Th.

Smp.: 163 °C

R_f: 0.33 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.05 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.16 Hz); 8.04 (2H, H^{2''}, ^{6''}, d, ³J_{2''-3''} 8.94 Hz); 7.47 (2H, H^{3'''}, ^{5'''}, m); 7.40 (2H, H^{2'''}, ^{6'''}, m); 7.34 (1H, H^{4'''}, m); 7.17 (2H, H^{3''}, ^{5''}, d, ³J_{3''-2''} 8.94 Hz); 5.85 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.16 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{2'}, d); 5.28 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.36 Hz); 5.24 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.36 Hz); 5.23 (2H, H^a, s); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.08 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.88 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

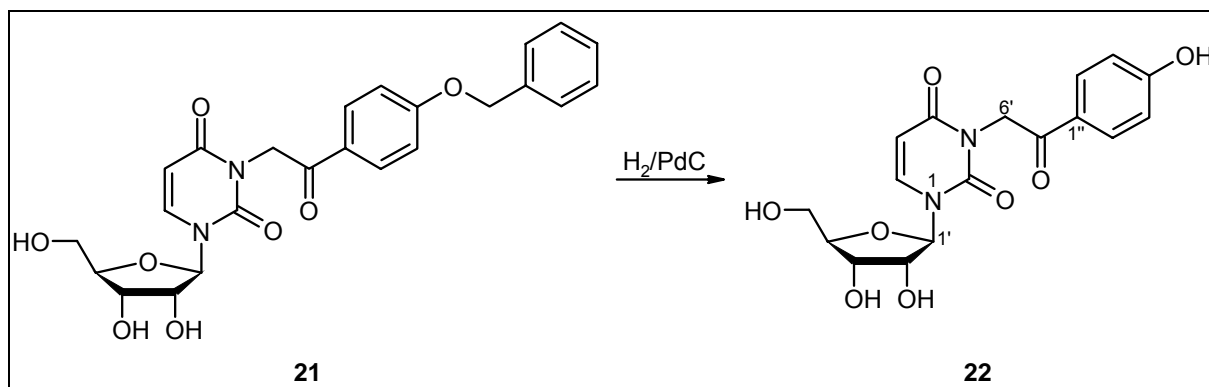
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.70 (C7'); 162.94 (C4); 161.76 (C4''); 150.87 (C2); 139.84 (C6); 136.53 (C1'''); 130.49 (C2'', C6''); 128.64 (C3''', C5'''); 128.18 (C4'''); 127.95 (C2''', C6'''); 127.65 (C1''); 115.13 (C3'', C5''); 100.93 (C5); 89.11 (C1'); 85.05 (C4'); 73.85 (C2'); 69.84 (C3'); 69.76 (Ca); 60.86 (C5'); 46.80 (C6')

CHN: ber.: C 61.53 %; H 5.16 %; N 5.98 %

gef.: C 60.92 %; H 5.11 %; N 6.02 %

- N3-(4-Hydroxyphenacyl)uridin

N3-(4-Benzyloxyphenacyl)uridin (200 mg) wird in Ethylacetat (15 ml) gelöst und mit 10prozentiger Palladiumkohle (Spatelspitze, ca. 10 mg) versetzt. Das Reaktionsgefäß wird mit elementarem Wasserstoff gefüllt (Ballon) und die Lösung über Nacht gerührt. Ist der Umsatz nicht zufriedenstellend, wird nochmals die gleiche Menge Palladiumkohle zugegeben und einige Stunden weiter gerührt, bis das Auftreten von Nebenprodukten die Reaktion limitiert. Dann wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Produkt wird aus dem Rückstand durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Methanol (9:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 48 % d. Th.

Smp.: 61 °C

R_f: 0.13 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 10.47 (1H, NH, bs); 8.04 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 7.88 Hz); 7.93 (2H, H^{2''}, ^{6''}, d, ³J_{2''-3''} 8.83 Hz); 6.87 (2H, H^{3''}, ^{5''}, d, ³J_{3''-2''} 8.83 Hz); 5.85 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 7.88 Hz); 5.79 (1H, H^{1'}, d); 5.37 (1H, OH^{2'}, bd); 5.24 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.19 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.11 (1H, OH^{5'}, bs); 5.08 (1H, OH^{3'}, bd); 4.05 (1H, H^{2'}, bd); 3.98 (1H, H^{3'}, bd); 3.86 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, bd); 3.57 (1H, H^{5'}, bd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.28 (C7'); 162.86 (C4); 161.77 (C4''); 150.88 (C2); 139.79 (C6); 130.70 (C2'', C6''); 126.15 (C1''); 115.63 (C3'', C5''); 100.92 (C5); 89.10 (C1'); 85.03 (C4'); 733.85 (C2'); 69.83 (C3'); 60.85 (C5'); 46.64 (C6')

CHN: C₁₇H₁₈N₂O₈ * 2 H₂O

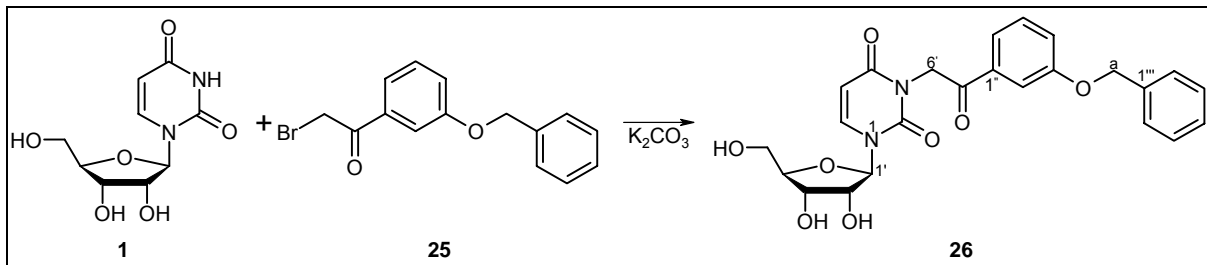
ber.: C 49.28 %; H 5.35 %; N 6.76 %

gef.: C 49.26 %; H 5.24 %; N 6.70 %

- N3-(3-Benzyloxyphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Benzyloxyphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun-

schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert und fällt als amorphe Masse an.



Ausbeute: 54 % d. Th.

R_f: 0.29 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.06 (1H, H⁶, d); 7.76 (1H, H^{6''}, m); 7.63 (1H, H^{2''}, m); 7.50 (1H, H^{5''}, t); 7.47 (2H, H^{3'''}, 5'''', d); 7.39 (2H, H^{2'''}, 6'''', m); 7.35 (1H, H^{4'''}, m); 7.33 (1H, H^{4''}, m); 5.87 (1H, H⁵, d); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.39 (1H, OH^{2'}, d); 5.33 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.36 Hz); 5.29 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.36 Hz); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.32 (C7'); 162.43 (C4); 158.79 (C 3''); 150.85 (C2); 139.92 (C6); 136.86 (C1'''); 135.89 (C 1''); 130.35 (C 5''); 128.61 (C3''', C5'''); 128.07 (C4'''); 127.90 (C2''', C6'''); 121.05 (C 6''); 120.76 (C 4''); 113.70 (C 2''); 100.93 (C5); 89.12 (C1'); 85.09 (C4'); 73.86 (C2'); 69.85 (C3'); 69.68 (Ca); 60.86 (C5'); 47.29 (C6')

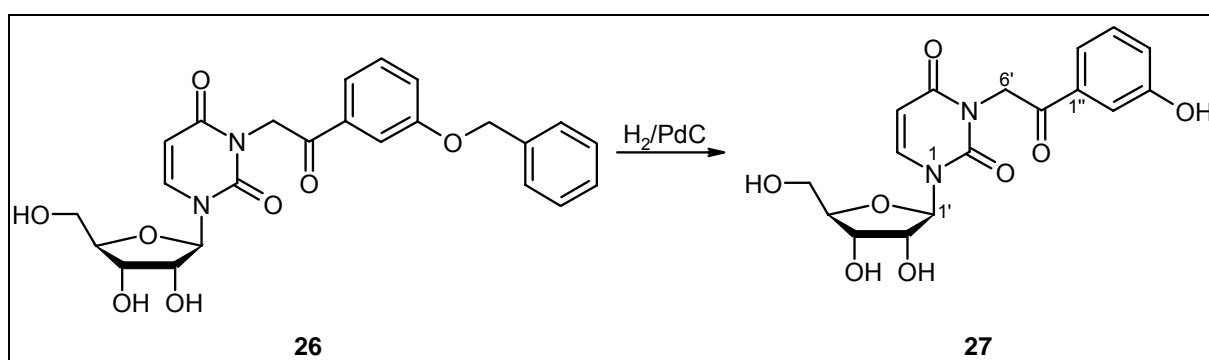
CHN: C₂₄H₂₄N₂O₈ * 2 H₂O * 2 DMF

ber.: C 55.38 %; H 6.51 %; N 8.61 %

gef.: C 55.26 %; H 6.14 %; N 8.63 %

- N3-(3-Hydroxyphenacyl)uridin

N3-(3-Benzyloxyphenacyl)uridin wird in 15 ml Ethylacetat gelöst und mit 10 mg Palladiumkohle (10 %ig) versetzt. Das Reaktionsgefäß wird mit Wasserstoff gefüllt und die Lösung über Nacht gerührt. Ist der Umsatz danach noch nicht komplett (DC-Kontrolle), werden erneut 10 mg Palladiumkohle zugesetzt und bis zum kompletten Umsatz weiter gerührt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert, wodurch das Produkt als amorphe Masse erhalten wird.



Ausbeute: 65 % d. Th.

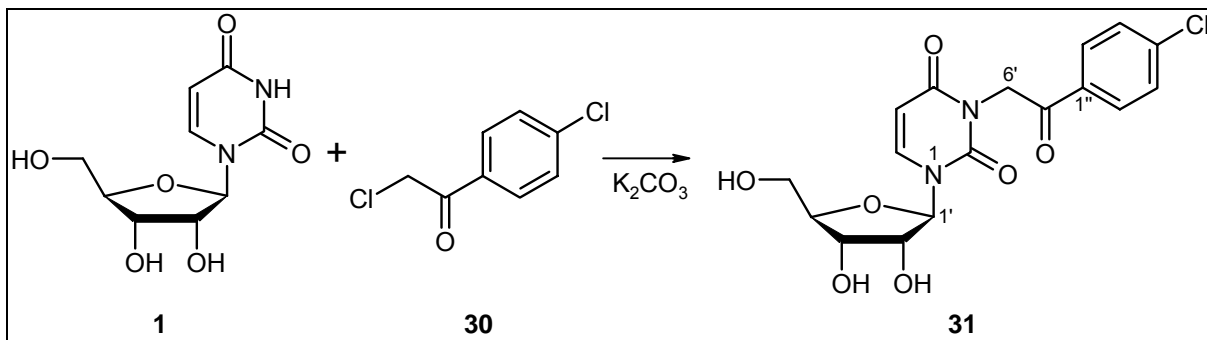
R_f: 0.11 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 9.85 (1H, NH, s); 8.05 (1H, H⁶, d); 7.53 (1H, H^{6''}, ddd); 7.38 (1H, H^{5''}, t); 7.36 (1H, H^{2''}, m); 7.09 (1H, H^{4''}, ddd); 5.86 (1H, H⁵, d); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{2'}, d); 5.27 (1H, H^{6'}, d); 5.23 (1H, H^{6'}, d); 5.11 (1H, OH^{5'}, bt); 5.08 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, m); 3.57 (1H, H^{5'}, m)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.38 (C7'); 162.43 (C4); 157.91 (C3''); 150.84 (C2); 139.88 (C6); 135.89 (C1''); 130.25 (C5''); 121.31 (C6''); 119.09 (C4''); 114.08 (C2''); 100.92 (C5); 89.10 (C1'); 85.07 (C4'); 73.85 (C2'); 69.84 (C3'); 60.85 (C5'); 47.13 (C6')

- N3-(4-Chlorphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Chlorphenacylchlorid (7,5 mmol) und Kaliumcarbonat (8 mmol) werden in einer Mischung aus DMF und Aceton (1:1, 10 ml) gelöst und ca. 4 h unter Rückfluß erhitzt (Ölbad 120 °C). Dabei färbt sich die Lösung über gelb und orange dunkelbraun. Anschließend wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen, 50 ml Eiswasser dazugegeben und zweimal mit insgesamt 300 ml Ethylacetat geschüttelt. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet, das Trocknungsmittel wird abfiltriert und die Lösung am Rotationsverdampfer eingengt. Aus dem so erhaltenen Konzentrat wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (40:1) als Fließmittel isoliert und aus Aceton umkristallisiert.



Ausbeute: 15 % d. Th.

Smp.: 164 °C

R_f: 0.31 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.07 (2H, H^{3''}, 5'', d, ³J 8.83 Hz); 8.05 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.65 (2H, H^{2''}, 6'', d, ³J 8.93 Hz); 5.87 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.79 (1H, H^{1'}, d, ³J_{1'-2'} 5.04); 5.39 (1H, OH^{2'}, d); 5.33 (1H, H^{6'}, d, ²J_{6'-6''} 17.34 Hz); 5.29 (1H, H^{6'}, d, ²J_{6'-6''} 17.34 Hz); 5.13 (1H, OH^{5'}, t); 5.10 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd, ²J_{5'-5''} 11.90 Hz); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd, ²J_{5'-5''} 12.06 Hz)

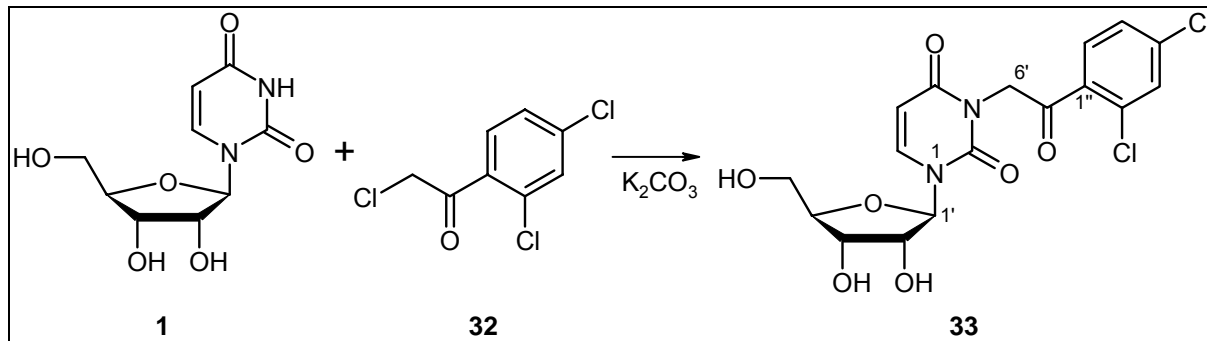
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 191.87 (C7'); 161.76 (C4); 150.88 (C2); 140.01 (C6); 139.20 (C4''); 133.27 (C1''); 130.15 (C3'', C5''); 129.32 (C2'', C6''); 100.97 (C5); 89.17 (C1'); 85.13 (C4'); 73.90 (C2'); 69.89 (C3'); 60.90 (C5'); 47.15 (C6')

CHN: ber.: C 51.46 %; H 4.32 %; N 7.06 %

gef.: C 51.51 %; H 4.39 %; N 7.04 %

- N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin

Uridin (10 mmol), 2,4-Dichlorphenacylchlorid (15 mmol) und Kaliumcarbonat (17 mmol) werden in einer Mischung aus DMF und Aceton (1:1, 20 ml) gelöst und ca. 4 h unter Rückfluß erhitzt (Ölbad 125 °C). Dabei färbt sich die Lösung über gelb und orange dunkelbraun. Anschließend wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen, mit 80 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 600 ml Ethylacetat in mehreren Portionen geschüttelt. Die organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels eingeeengt. Aus dem so erhaltenen Konzentrat wird das Produkt durch Säulenchromatographie (Kieselgel) mit einem Dichlormethan/Methanol-Gradienten (100:0 - 20:1) als Fließmittel isoliert und zum Schluß aus Methanol umkristallisiert.



Ausbeute: 17 % d. Th.

Smp.: 213 °C

R_f: 0.34 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.06 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.86 (1H, H^{6''}, d, ³J_{6''-5''} 8.51 Hz); 7.79 (1H, H^{3''}, d, ⁴J_{3''-5''} 2.21 Hz); 7.61 (1H, H^{5''}, dd); 5.87 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.39 (1H, OH^{2'}, d); 5.19 (1H, H^{6'}, d, ²J_{6'-6''} 17.65 Hz);

5.13 (1H, H^{6'}, d, ²J_{6'-6''} 17.34 Hz); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.05 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

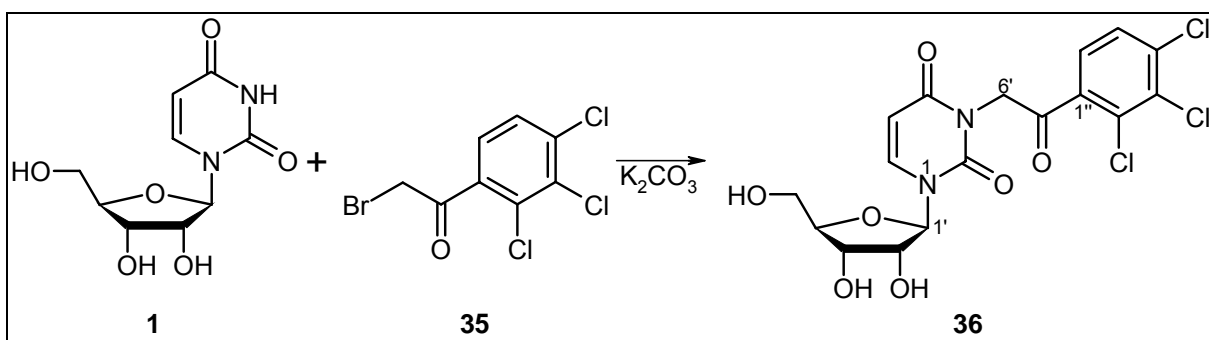
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 193.92 (C7'); 161.56 (C4); 150.75 (C2); 140.05 (C6); 137.39 (C4''); 134.43 (C2''); 131.96 (C1''); 131.44 (C6''); 130.58 (C''); 127.95 (C5''); 100.87 (C5); 89.18 (C1'); 85.08 (C4'); 73.87 (C2'); 69.80 (C3'); 60.81 (C5'); 49.16 (C6')

CHN: ber.: C 47.35 %; H 3.74 %; N 6.50 %

gef.: C 47.15 %; H 3.77 %; N 6.41 %

- N3-(2,3,4-Trichlorphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 2,3,4-Trichlorphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 5 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 600 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (40:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Methanol umkristallisiert.



Ausbeute: 11 % d. Th.

Smp.: 216 °C

R_f: 0.41 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.06 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.83 (1H, H^{3''}, d, ³J_{3''-2''} 8.20 Hz); 7.76 (1H, H^{2''}, d, ³J_{2''-3''} 8.20 Hz); 5.88 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.39 (1H, OH^{2'}, d); 5.18 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.12 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

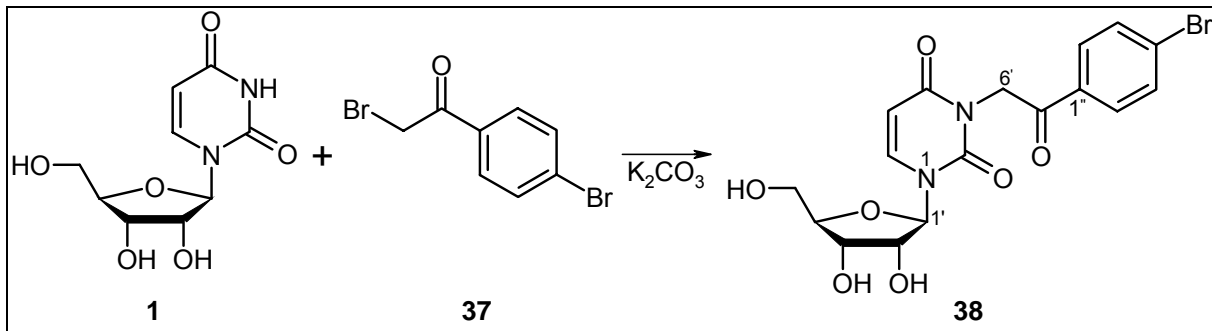
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 194.31 (C7'); 161.53 (C4); 150.73 (C2); 140.10 (C6); 136.95 (C1''); 136.09 (C4''); 132.02 (C3''); 130.44 (C2''); 129.53 (C5''); 128.28 (C6''); 100.86 (C5); 89.20 (C1'); 85.10 (C4'); 73.87 (C2'); 69.80 (C3'); 60.80 (C5'); 49.22 (C6')

CHN: ber.: C 43.85 %; H 3.25 %; N 6.02 %

gef.: C 43.68 %; H 3.68 %; N 5.89 %

- N3-(4-Bromphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Bromphenacylchlorid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun und schimmert grünlich. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 500 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird sorgfältig mit Methanol gewaschen und getrocknet.



Ausbeute: 34 % d. Th.

Smp.: 174 °C

R_f: 0.18 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8,06 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7,99 (2H, H^{2''}, 6'', d, ³J 8.51 Hz); 7,79 (2H, H^{3''}, 5'', d, ³J 8.51 Hz); 5,87 (1H, H⁵, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 5,80 (1H, H^{1'}, d); 5,38 (1H, OH^{2'}, d); 5,33 (1H, H^{6'}, ²J 17.65 Hz); 5,28 (1H, H^{6'}, ²J 17.65 Hz); 5,11 (1H, OH^{5'}, t); 5,08 (1H, OH^{3'}, d); 4,06 (1H, H^{2'}, dd); 3,98 (1H, H^{3'}, dd); 3,87 (1H, H^{4'}, dd); 3,66 (1H, H^{5'}, ddd); 3,57 (1H, H^{5'}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.03 (C7'); 161.69 (C4); 150.82 (C2); 139.95 (C6); 133.56 (C1''); 132.22 (C3'', C5''); 130.16 (C2'', C6''); 128.36 (C4''); 100.91 (C5); 89.13 (C1'); 85.09 (C4'); 73.86 (C2'); 69.84 (C3'); 60.85 (C5'); 47.06 (C6')

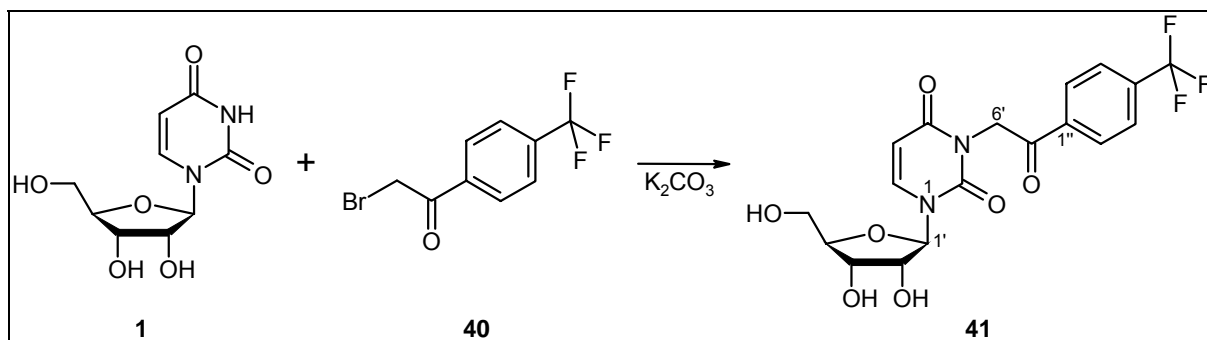
CHN: ber.: C 46.28 %; H 3.88 %; N 6.35 %

gef.: C 46.04 %; H 3.86 %; N 6.34 %

- N3-(4-Trifluormethylphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Trifluormethylphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraunschwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 400 ml Ethylacetat in

mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit einem Gradienten aus Dichlormethan/Methanol (20:1 – 9:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: % d. Th.

Smp.: 160 °C

R_f: 0.33 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.26 (2H, H^{2''}, 6'', d); 8.07 (1H, H⁶, d); 7.95 (2H, H^{3''}, 5'', d); 5.88 (1H, H⁵, d); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.40 (1H, H^{6'}, d); 5.39 (1H, OH^{3'}, d); 5.36 (1H, H^{6'}, d); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{2'}, d); 4.07 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

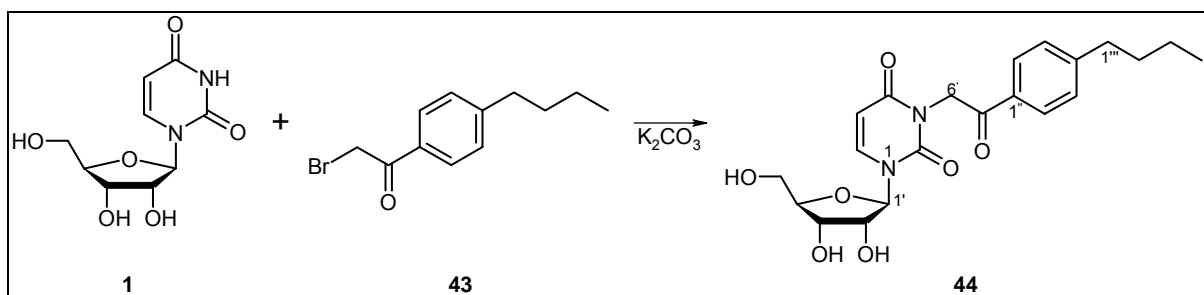
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.50 (C7'); 161.67 (C4); 150.82 (C2); 140.02 (C6); 127.75 (C1''); 133.38 (C4'', qa, ²J_{C-F} 32.16 Hz); 129.07 (C2'', C6''); 126.10 (C3'', C5'', qa, ³J_{C-F} 3.91 Hz); 123.82 (-CF₃, qa, ¹J_{C-F} 271.77 Hz); 100.92 (C5); 89.14 (C1'); 85.11 (C4'); 73.86 (C2'); 69.85 (C3'); 60.85 (C5'); 47.33 (C6')

CHN: ber.: 50.24 %; H 3.98 %; N 6.51 %

gef.: 50.57 %; H 4.02 %; N 6.42 %

- N3-(4-n-Butylphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-n-Butylphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun-schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 39 % d. Th.

Smp.: 60 °C

R_f: 0.28 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.05 (1H, H^{6'}, d); 7.97 (2H, H^{2''}, 6'', d); 7.39 (2H, H^{3''}, 5'', d); 5.86 (1H, H^{5'}, d); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{3'}, d); 5.31 (1H, H^{6'}, d); 5.27 (1H, H^{6'}, d); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.08 (1H, OH^{2'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd); 2.67 (2H, H^{1'''}, t); 1.58 (2H, H^{2'''}, qi); 1.31 (2H, H^{3'''}, sex); 0.90 (3H, H^{4'''}, t)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 191.98 (C7'); 161.73 (C4); 150.86 (C2); 149.37 (C4''); 139.87 (C6); 132.34 (C1'''); 128.99 (C2'', C6''); 128.26 (C3'', C5''); 100.93 (C5); 89.10 (C1'); 85.06 (C4'); 73.85 (C2'); 69.84 (C3'); 60.86 (C5'); 47.01 (C6'); 34.96 (C1'''); 32.79 (C2'''); 21.82 (C3'''); 13.84 (C4''')

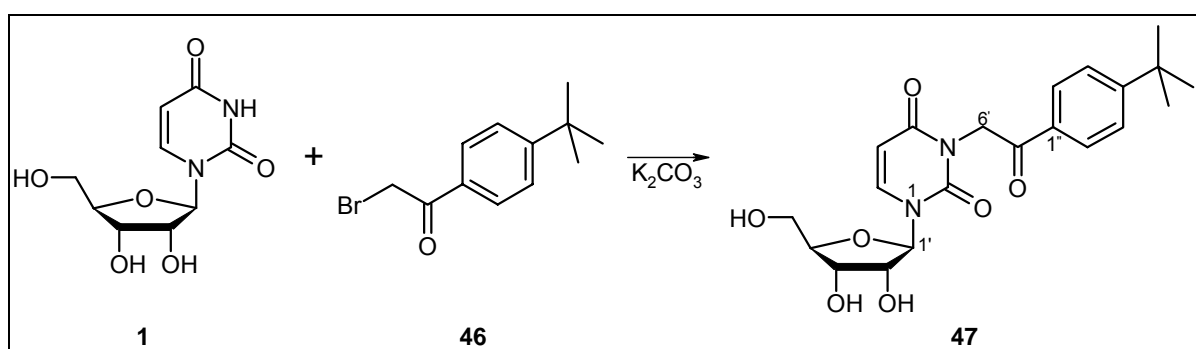
CHN: C₂₁H₂₆N₂O₇ * 1 DMF

ber.: C 59.40 %; H 6.54 %; N 7.70 %

gef.: C 59.23 %; H 6.24 %; N 7.90 %

- N3-(4-tert-Butylphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-tert-Butylphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun-schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 50 % d. Th.

Smp.: 92 °C

R_f: 0.28 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.05 (1H, H⁶, d); 7.99 (2H, H^{2''}, 6'', d); 7.59 (2H, H^{3''}, 5'', d); 5.86 (1H, H⁵, d); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{3'}, d); 5.31 (1H, H^{6'}, d); 5.27 (1H, H^{6'}, d); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.08 (1H, OH^{2'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.99 (1H, H^{3'}, dd); 3.88 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd); 1.32 (9H, C-(CH₃)₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.02 (C7'); 161.72 (C4); 157.33 (C1''); 150.85 (C2); 139.87 (C6); 132.13 (C4''); 128.09 (C2'', C6''); 125.90 (C3'', C5''); 100.92 (C5); 89.10 (C1'); 85.06 (C4'); 73.84 (C2'); 69.84 (C3'); 47.00 (C5'); 35.10 (-C-(CH₃)₃); 30.90 (-C-(CH₃)₃)

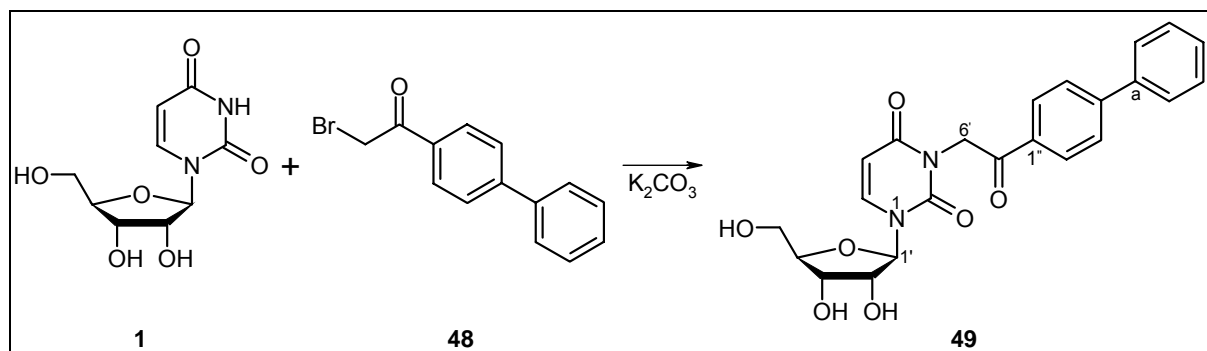
CHN: $C_{21}H_{26}N_2O_7 \cdot 1 H_2O$

ber.: C 57.79 %; H 6.47 %; N 6.69 %

gef.: C 57.37 %; H 6.15 %; N 6.12 %

- N3-(4-Phenylphenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Phenylphenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 120 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung über rot nach dunkelbraun-schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und vorsichtig mit insgesamt 300 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Dichlormethan umkristallisiert.



Ausbeute: 53 % d. Th.

Smp.: 194 °C

R_f: 0.31 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.15 (2H, H^{2''}, 6'', d, ³J_{2''-3''} 8.51 Hz); 8.07 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 7.89 (2H, H^{3''}, 5'', d, ³J_{3''-2''} 8.51 Hz); 7.77 (2H, H^{b, f}, d, ³J 7.25 Hz);

7.52 (2H, H^{c, e}, t, ³J 7.25 Hz); 7.44 (1H, H^d, t, ³J 7.25 Hz); 5.88 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.82 (1H, H^{1'}, d); 5.40 (1H, OH^{2'}, d); 5.38 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.34 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.34 Hz); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.09 (1H, OH^{3'}, d); 4.08 (1H, H^{2'}, dd); 4.00 (1H, H^{3'}, dd); 3.88 (1H, H^{4'}, dd); 3.67 (1H, H^{5'}, ddd); 3.58 (1H, H^{5'}, ddd)

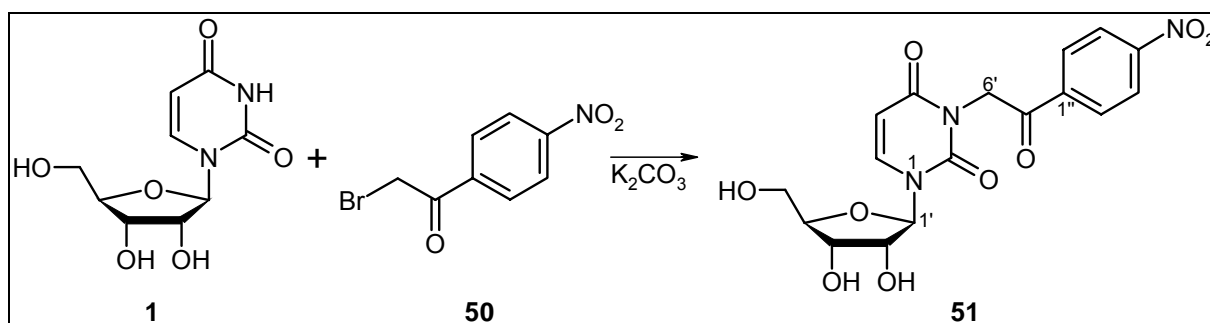
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.13 (C6'); 161.75 (C4); 150.88 (C2); 145.48 (C4''); 139.92 (C6); 138.88 (Ca); 133.39 (C1''); 129.26 (Cc, Ce); 128.89 (C2'', C6''); 128.69 (Cd); 127.26 (Cb, Cf); 127.21 (C3'', C5''); 100.95 (C5); 89.13 (C1'); 85.08 (C4'); 73.87 (C2'); 69.85 (C3'); 60.87 (C5'); 47.13 (C6')

CHN: ber.: C 63.01 %; H 5.06 %; N 6.39 %

gef.: C 62.65 %; H 5.00 %; N 6.42 %

- N3-(4-Nitrophenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Nitrophenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 4 h unter Rückfluß (Ölbad 120 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung dunkelbraun. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 700 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (40:1) als Fließmittel chromatographiert.



Ausbeute: 12 % d. Th.

Smp.: 72 °C

R_f: 0.24 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.38 (2H, H^{3''}, 5'', d, ³J 8.83 Hz); 8.30 (2H, H^{2''}, 4'', d, ³J 8.83 Hz); 8.08 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.20 Hz); 5.89 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.20 Hz); 5.80 (1H, H^{1'}, d); 5.44 (1H, OH^{2'}, d); 5.42 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.38 (1H, H^{6'}, d, ²J 17.65 Hz); 5.16 (1H, OH^{5'}, t); 5.14 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd, ²J 11.98 Hz); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd, ²J 11.98 Hz)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.45 (C7'); 161.73 (C4); 150.86 (C2); 150.62 (C4''); 140.12 (C6); 139.14 (C1''); 129.80 (C2'', C6''); 124.27 (C3'', C5''); 100.99 (C5); 89.14 (C1'); 85.16 (C4'); 73.93 (C2'); 69.90 (C3'); 60.88 (C5'); 47.53 (C6')

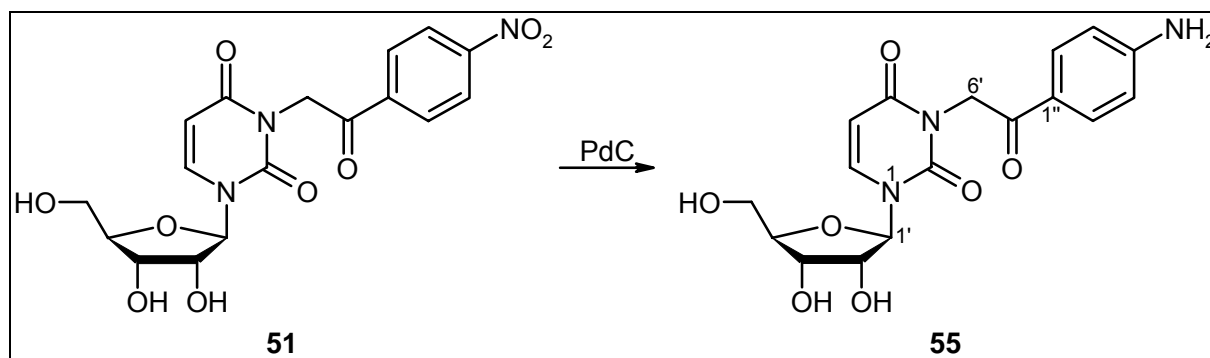
CHN: C₁₇H₁₇N₃O₉*1.5 H₂O

ber.: C 47.01 %; H 4.64 %; N 9.67 %

gef.: C 47.35 %; H 4.47 %; N 9.27 %

- N3-(4-Aminophenacyl)uridin

N3-(4-Nitrophenacyl)uridin (50 mg) wird in Ethanol (20 ml) gelöst, mit 10prozentiger Palladiumkohle (10 mg) versetzt und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert.



Ausbeute: 43 % d. Th.

R_f: 0.14 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

Smp.: 92 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.02 (1H, H⁶, d); 7.74 (2H, H^{2''}, ^{6''}, d); 6.59 (2H, H^{3''}, ^{5''}, d); 6.15 (2H, NH₂, s); 5.83 (1H, H⁵, d); 5.79 (1H, H^{1'}, d); 5.38 (1H, OH^{3'}, d); 5.15 (1H, H^{6'}, d); 5.11 (1H, OH^{5'}, t); 5.10 (1H, H^{6'}, d); 5.08 (1H, OH^{2'}, d); 4.05 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, dd); 3.86 (1H, H^{4'}, dd); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd); 3.56 (1H, H^{5'}, ddd)
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 188.84 (C7'); 161.83 (C4); 154.43 (C4''); 150.92 (C2); 139.67 (C6); 130.46 (C2'', C6''); 122.23 (C1''); 112.76 (C3'', C5''); 100.93 (C5); 89.08 (C1'); 85.00 (C4'); 73.84 (C2'); 69.82 (C4'); 60.85 (C5'); 46.25 (C6')

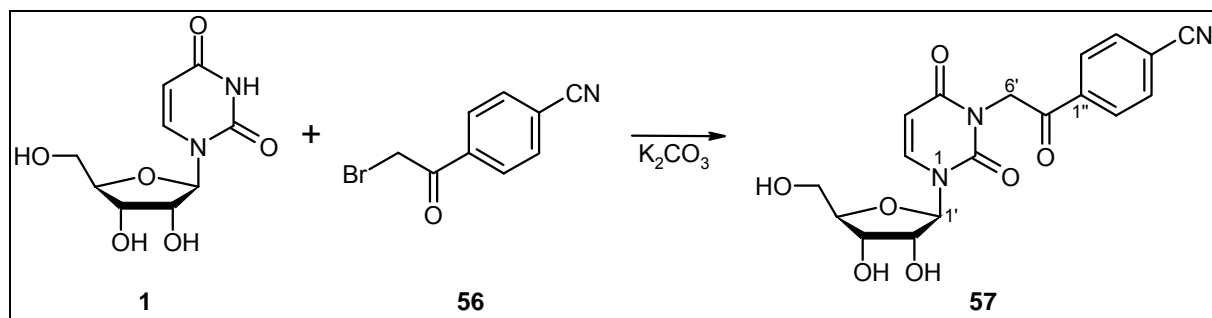
CHN: C₁₇H₁₉N₃O₇ * 1/3 H₂O

ber.: C 52.44 %; H 5.26 %; N 10.79 %

gef.: C 52.40 %; H 5.12 %; N 9.93 %

- N3-(4-Cyanophenacyl)uridin

Uridin (5 mmol), 4-Cyanophenacylbromid (7.5 mmol) und Kaliumcarbonat (8.5 mmol) werden in 10 ml einer Mischung aus DMF/Aceton (1:1) ca. 5 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Dabei verfärbt sich die Lösung über rot nach dunkelbraun-schwarz. Nach Abkühlen wird das Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 50 ml Eiswasser versetzt und mit insgesamt 500 ml Ethylacetat in mehreren Portionen extrahiert. Aus dem nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abrotieren des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 26 % d. Th.

Smp.: 114 °C

R_f: 0.28 (Ch₂Cl₂:meoh 9:1)

1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 8.21 (2H, H^{2''}, 6'', d); 8.07 (1H, H⁶, d); 8.06 (2H, H^{3''}, 5'', d); 5.88 (1H, H⁵, d); 5.79 (1H, H^{1'}, d); 5.40 (1H, OH^{3'}, d); 5.39 (1H, H^{6'}, d); 5.34 (1H, H^{6'}, d); 5.12 (1H, OH^{5'}, t); 5.10 (1H, OH^{3'}, d); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.98 (1H, H^{3'}, d); 3.87 (1H, H^{4'}, dd); 3.66 (1H, H^{5'}, ddd); 3.57 (1H, H^{5'}, ddd)

^{13}C -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 192.51 (C7'); 161.66 (C4); 150.80 (C2); 140.03 (C6); 137.69 (C1''); 133.16 (C3'', C5''); 128.85 (C2'', C6''); 118.17 (-CN); 116.11 (C4''); 100.91 (C5); 89.14 (C1'); 85.11 (C4'); 73.87 (C2'); 69.85 (C3'); 60.85 (C5'); 47.35 (C6')

CHN: C₁₈H₁₇N₃O₇ * 1 H₂O

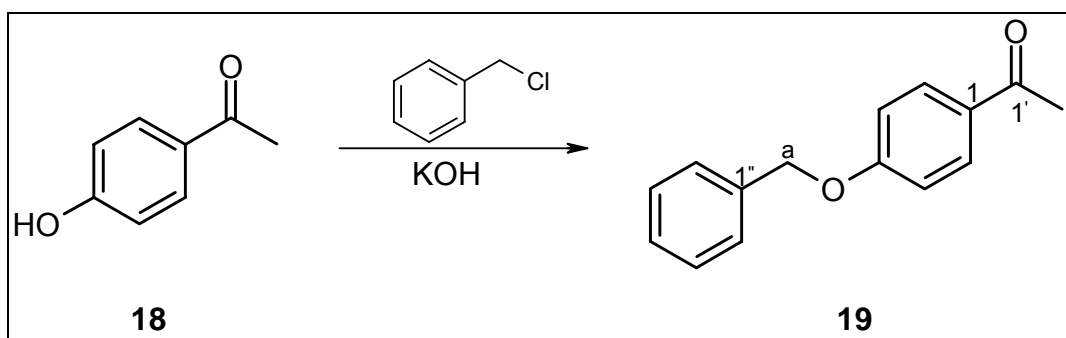
ber.: C 53.33 %; H 4.72 %; N 10.37 %

gef.: C 53.16 %; H 4.79 %; N 10.40 %

5.3. Bromierungen und Veretherungen

- 4-Benzyloxyacetophenon

4-Hydroxyacetophenon (10 g, 73,53 mmol), Benzylchlorid (8.42 ml, 73,53 mmol) und Kaliumhydroxid (5.2 g) werden in 15 ml Ethanol ca. 4 h unter Rückfluß erhitzt (Ölbad 100 °C). Anschließend wird die Lösung in 40 ml Wasser gegossen. Der erhaltene Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert.



Ausbeute: 86 % d. Th. (Lit.: 93 %) ²⁸⁰

Smp.: 93-95 °C (Lit.: 95-96 °C) ²⁸⁰

R_f: 0.76 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.93 (2H, H^{2, 6}, d, ³J 8.68 Hz); 7.46 (2H, H^{2'', 6''}, d, ³J 7.37 Hz); 7.40 (2H, H^{3'', 5''}, t, ³J 7.37 Hz); 7.34 (1H, H^{4''}, t, ³J 7.37 Hz); 7.11 (2H, H^{3, 5}, d, ³J 8.68 Hz); 5.21 (2H, H^a, s); 2.51 (3H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 196.38 (C1'); 162.30 (C4); 136.63 (C1''); 130.58 (C2, C6); 130.21 (C1); 128.61 (C3'', C5''); 128.11 (C4''); 127.87 (C2'', C6''); 114.78 (C3, C5); 69.63 (Ca); 26.51 (C2')

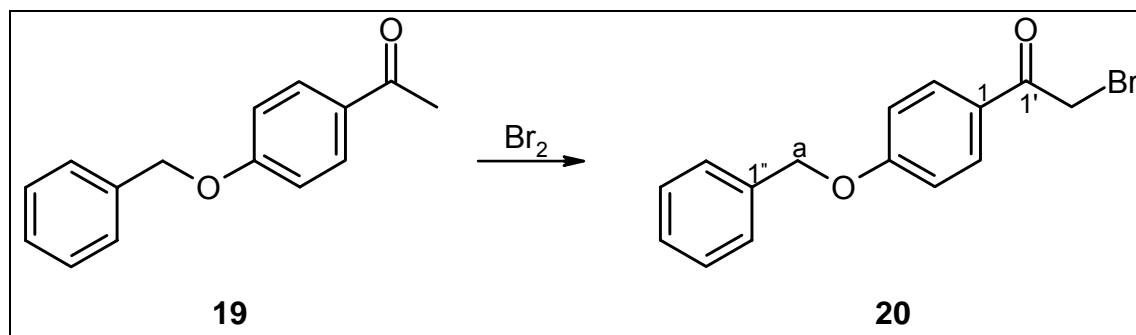
CHN: ber.: C 79.62 %; H 6.24 %

gef.: C 78.84 %; H 6.14 %

²⁸⁰ Dominguez, X. A.; Gomez, B.; Homberg, E.; Slim, J. Studies on Bis-(benzylisoquinolines). I. Synthesis of dl-N-(4-Hydroxyphenylacetyl)-5-iodo-4-acetoxy-3-methoxyphenylalanine Methyl Ester. *J. Amer. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1288-1290.

- 4-Benzyloxyphenacylbromid

4-Benzyloxyacetophenon (5 g, 22,39 mmol) wird in Eisessig (50 ml) suspendiert. Von einer Bromlösung (4,3 g in 10 ml Eisessig) werden zunächst einige Tropfen hinzugefügt. Anschließend wird milde erwärmt, dabei wird die Lösung klar und die vom Brom gefärbte Lösung entfärbt sich wieder. Das restliche Brom wird innerhalb von 30 min ohne weitere Erwärmung zugetropft und die Lösung noch ca. zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man gießt in 100 ml Wasser und rührt nochmals ca. 30 min. Der sich dadurch bildende weiße Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert.



Ausbeute: 78 % d. Th. (Lit.: 96 %) ²⁸¹

Smp.: 66-68 °C (Lit.: 83-84 °C) ²⁸¹

R_f: 0.23 (CH₂Cl₂:PE 1:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.97 (2H, H^{2, 6}, d, ³J 8.68 Hz); 7.40 (5H, H^{2''-6''}, m); 7.14 (2H, H^{3, 5}, d, ³J 8.68 Hz); 5.22 (2H, H^a, s); 4.81 (2H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.29 (C1'); 162.85 (C4); 136.51 (C1''); 132.08 (C1); 131.32 (C2, C6); 128.63 (C3'', C5''); 128.17 (C4''); 127.92 (C2'', C6''); 115.05 (C3, C5); 69.74 (Ca); 33.70 (C2')

CHN: C₁₅H₁₃BrO₂·½ H₂O

ber.: C 57.04 %; H 4.49 %

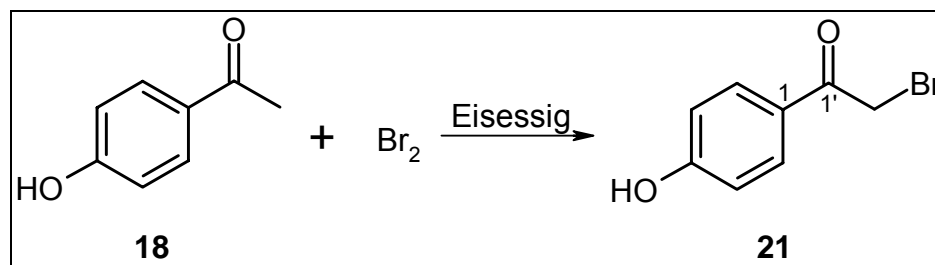
²⁸¹ Brossi, A.; Wenis, E. Synthesis of Various 2,5-Disubstituted Oxyzole Derivatives Related to Natural Products. *J. Heterocycl. Chem.* **1965**, 2, 310-312.

gef.: C 56.92 %; H 4.10 %

- 2'-Brom-4-hydroxyacetophenon (4-Hydroxyphenacylbromid)

Methode A:

4-Methoxyphenacylbromid (20 mmol) wird in trockenem Dichlormethan gelöst und portionsweise mit der dreifachen Menge wasserfreiem Aluminiumchlorid (60 mmol) versetzt. Nach zwei Tagen Rühren unter Feuchtigkeitsausschluß bei Raumtemperatur wird mit Wasser verdünnt und mit konzentrierter Salzsäure versetzt. Dabei fällt ein weißer Niederschlag. Dieser wird abfiltriert und mit Wasser und Dichlormethan gewaschen.



Ausbeute: 19 % d. Th.

Smp.: 120 °C (Lit.: 130 °C)²⁸²

R_f: 0.71 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.92 (2H, H², H⁶, d, ³J 8.83 Hz); 6.90 (2H, H³, H⁵, d, ³J 8.83 Hz); 4.38 (2H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.14 (C1'); 160.86 (C4); 131.71 (C2, C6); 127.01 (C1); 115.71 (C3, C5); 30.61 (C2')

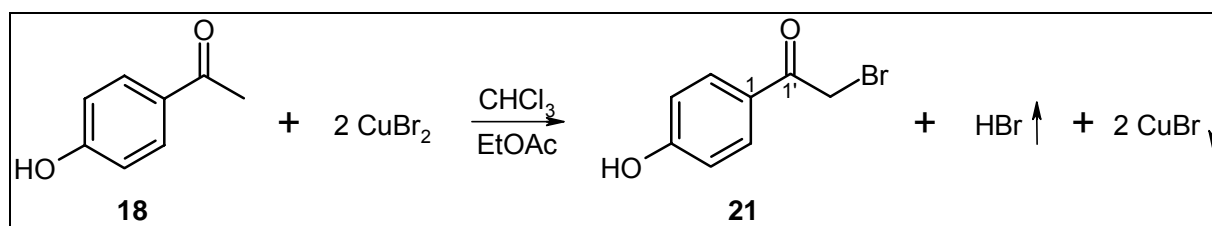
CHN: ber.: C 44.68 %; H 3.28 %

gef.: C 45.41 %; H 3.46 %

Methode B:

²⁸² Buu-Hoï, Ph.; Xuong, D.; Lavit, D. Halogenated o- and p-Phenolic Ketones. J. Chem. Soc. **1954**, 1034-1038.

Kupfer-II-bromid (33 mmol) wird in Ethylacetat suspendiert und zum Sieden erhitzt. Zu dieser Lösung wird 4-Hydroxyacetophenon, in heißem Chloroform gelöst, gegeben und eine halbe Stunde gerührt. Bei Zugabe des Acetophenon-Derivats färbt sich die Lösung grün. Mit der Zeit bildet sich ein weißer Feststoff und die Lösung verfärbt sich braun. Nach der halben Stunde wird filtriert, mit Ethylacetat nachgewaschen und schließlich das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand ist ein tief-violett gefärbtes Öl. Dieses wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/n-Hexan (7:3) als Fließmittel chromatographiert. Das aus den entsprechenden Fraktionen erhaltene Produkt wird aus Dichlormethan umkristallisiert.



Ausbeute: 31 % d. Th. (Lit.: ca. 100 %) ²⁸³

Smp.: 131 °C (Lit.: 124-126 °C) ²⁸³

R_f: 0.71 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 10.48 (1H, OH, s); 7.87 (2H, H^{2, 6}, d, ³J 8.83 Hz); 6.86 (2H, H^{3, 5}, d, ³J 8.83 Hz); 4.75 (2H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.02 (C1'), 162.83 (C4); 131.60 (C2; C6); 125.58 (C1); 115.58 (C3; C5); 33.56 (C2')

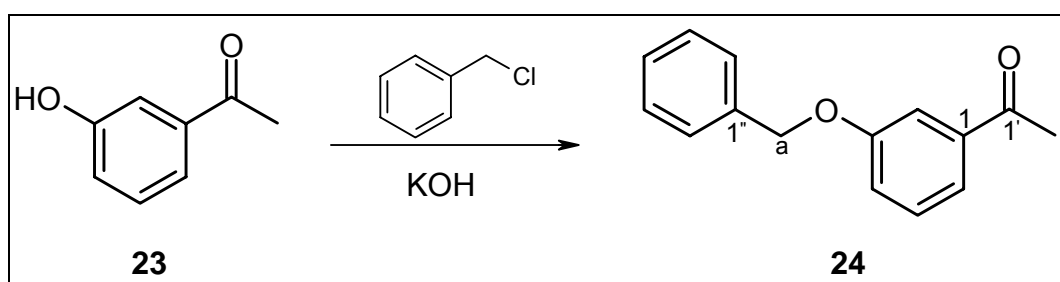
CHN: ber.: C 44.68 %; H 3.28 %

gef.: C 45.51 %; H 3.46 %

²⁸³ King, L. C.; Ostrum, G. K. Selective Bromination with Copper(II) Bromide. *J. Org. Chem.* **1964**, 29, 3459-3461.

- 3-Benzyloxyacetophenon

3-Hydroxyacetophenon (5 g), Benzylchlorid (4.3 ml) und Kaliumhydroxid (2.6 g) werden in 15 ml Ethanol ca. 5 h unter Rückfluß (Ölbad 100 °C) erhitzt. Die anfänglich grünliche Lösung wird dabei gelb. Die Lösung wird in Wasser gegeben, wobei sich das Produkt als gelbes Öl abscheidet. Dieses wird mit Ether extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase mit Natriumsulfat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Zurück bleibt das Öl, das an der Ölpumpe getrocknet wird.



Ausbeute: 85 % d. Th. (Lit.: 79 %) ²⁸⁴

R_f: 0.86 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.55 (1H, H⁶, dd); 7.52 (1H, H², dd); 7.46 (2H, H^{2''}, 6'', m); 7.44 (1H, H⁵, t); 7.39 (2H, H^{3''}, 5'', t); 7.32 (1H, H^{4''}, t); 7.28 (1H, H⁴, dd); 5.17 (2H, H^a, s); 2.55 (3H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 197.85 (C1'); 158.65 (C3); 138.43 (C1); 136.94 (C1''); 130.04 (C5); 128.61 (C3'', C5''); 128.05 (C4''); 127.86 (C2'', C6''); 121.08 (C6); 120.05 (C4); 113.91 (C2); 69.60 (Ca); 26.97 (C2')

CHN: C₁₅H₁₄O₂*¹/₃ H₂O

ber.: C 77.56 %; H 6.36 %

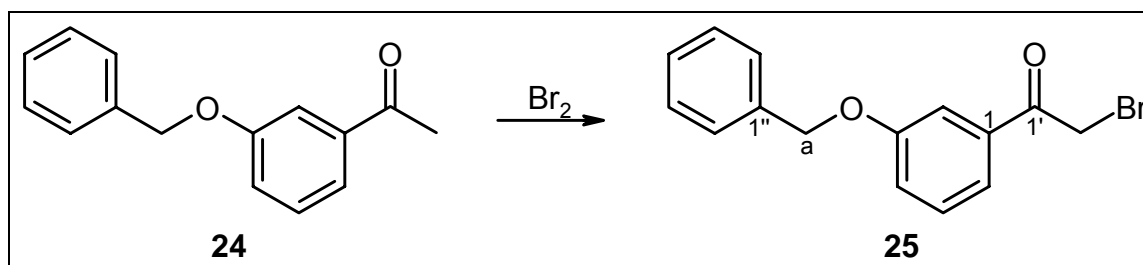
gef.: C 77.67 %; H 6.24 %

²⁸⁴ Sakuraba, S.; Takahashi, H.; Takeda, H.; Achiwa, K. Efficient Asymmetric Hydrogenation of α-Amino Ketone Derivatives. A Highly Enantioselective Synthesis of Phenylephrine, Levamisole, Carnitine and Propranolol. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 738-747.

- 3-Benzyloxyphenacylbromid

Methode A:

3-Benzyloxyacetophenon (4.55 g, 20.13 mmol) wird in 50 ml Eisessig gelöst. Um die Reaktion in Gang zu bringen, werden 10 Tropfen von der Gesamtmenge in Eisessig (10 ml) gelöstem Brom (3.87 g, 1.24 ml, 24.16 mmol) zugegeben und auf 50 °C (Innentemperatur) erwärmt. Nachdem die Lösung wieder auf unter 30 °C abgekühlt ist, wird das restliche Brom zugetropft und über Nacht gerührt. Anschließend wird der Ansatz in 70 ml Wasser gegeben, wobei sich das Produkt als gelbes Öl abscheidet. Dieses wird mit Dichlormethan extrahiert und durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Petrolether (30-50 °C) und Dichlormethan (2:1) gereinigt.



Ausbeute: 30 % d. Th.

Methode B:

Zu einer Lösung von 3-Benzyloxyacetophenon (10 mmol) und Calciumcarbonat (10 mmol) in Chloroform wird bei einer Temperatur von 5 °C Brom (10 mmol, 1.6 g, 0.51 ml) tropfenweise zugegeben. Anschließend wird bei höchstens 10 °C eine Stunde gerührt. Danach wird die Lösung in 50 ml Eiswasser gegeben und mit weiteren 20 ml Chloroform geschüttelt. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels am Rotationsverdampfer eingedunstet. Aus dem Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Petrolether (30-50 °C) und Dichlormethan (2:1) isoliert.

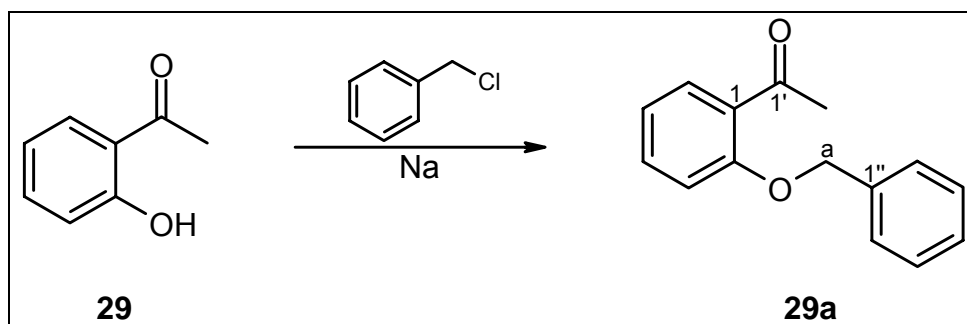
Ausbeute. 30 % d. Th. (Lit.: 69 %) ²⁸⁴

R_f: 0.25 (CH₂Cl₂/PE 1:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 7.59 (2H, $\text{H}^{6, 2}$, m); 7.46 (3H, $\text{H}^{2'', 6'', 5}$, m); 7.39 (2H, $\text{H}^{3'', 5''}$, m); 7.32 (2H, $\text{H}^{4'', 4}$, m); 5.18 (2H, H^a , s); 4.91 (2H, $\text{H}^{2'}$, s)

- 2-Benzyloxyacetophenon

500 mg elementares Natrium werden in 180 ml Ethanol gelöst und mit 2.72 g 2-Hydroxyacetophenon (20 mmol) versetzt. Zu dieser Lösung werden 2.29 ml Benzylchlorid (2.52 g, 20 mmol) langsam zugetropft. Anschließend wird der Reaktionsansatz über Nacht refluxiert. Danach wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert. Aus dem Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Petrolether (30-50 °C)/Dichlormethan (3:1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 60 % d. Th. (Lit.: 91 %) ²⁸⁵

R_f : 0.14 (CH_2Cl_2 :PE 1+1)

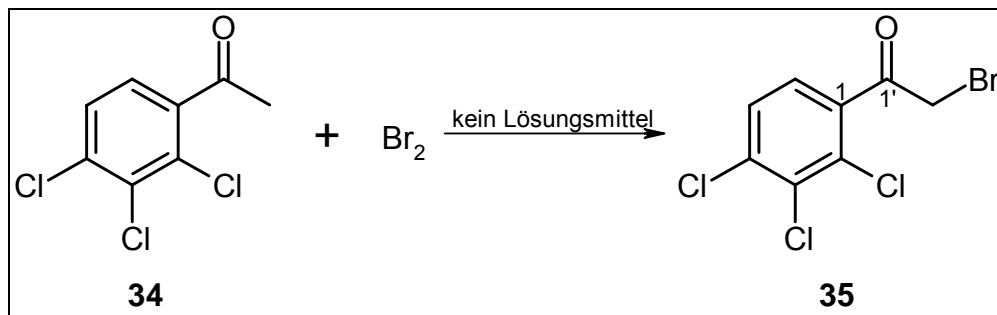
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 7.58 (1H, H^6 , dd); 7.51 (3H, H^4 , $\text{H}^{2'', 6''}$, m); 7.40 (2H, $\text{H}^{3'', 5''}$, m); 7.34 (1H, $\text{H}^{4''}$, m); 7.25 (1H, H^3 , dd); 7.02 (1H, H^5 , td); 5.23 (2H, H^a , s); 2.50 (3H, $\text{H}^{2'}$, s)

$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 199.00 ($\text{C}1'$); 157.58 ($\text{C}2$); 136.65 ($\text{C}1''$); 133.78 ($\text{C}4$); 129.66 ($\text{C}6$); 128.64 ($\text{C}3''$, $\text{C}5''$); 128.46 ($\text{C}1$); 128.14 ($\text{C}4''$); 127.97 ($\text{C}2''$, $\text{C}6''$); 120.74 ($\text{C}5$); 113.79 ($\text{C}3$); 70.19 ($\text{C}a$); 31.83 ($\text{C}2'$)

²⁸⁵ Neidlein, R.; Gehringer, C. Untersuchungen zur Synthese des schwefelisosteren Psilocins und einiger 4-Hydroxybenzo(b)thiophenderivate. *Tetrahedron* **1977**, *33*, 3203-3232.

- 2'-Brom-2,3,4-Trichloracetophenon (2,3,4-Trichlorphenacylbromid)

Zu dem trockenen 2,3,4-Trichloracetophenon wird die entsprechende Menge Brom langsam zugetropft. Nach einiger Zeit beginnt eine starke Gasentwicklung und der Ansatz verflüssigt sich. Nach Abklingen der Gasentwicklung wird mit Ether verdünnt und jeweils zweimal mit Wasser und 10 prozentiger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wird der Ether am Rotationsverdampfer abgezogen. Der flüssige Rückstand wird im Kühlschrank fest (eventuell ist ein Impfkristall nötig) und wird dann aus Ethanol umkristallisiert. Dabei erhält man orangefarbene Nadeln.



Ausbeute: 16 % d. Th.

Smp.: 45-47 °C

R_f: 0.77 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.82 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.51 Hz); 7.78 (1H, H⁵, d, ³J₅₋₆ 8.51 Hz); 4.86 (2H, H^{2'}, s)

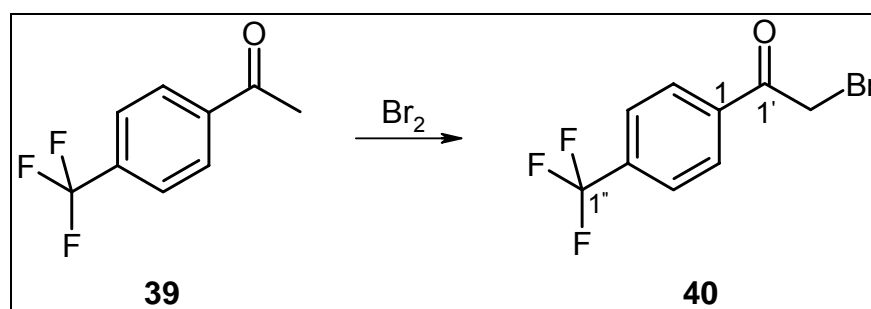
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 192.45 (C1'); 136.76 (C4); 135.86 (C1); 131.83 (C2); 130.54 (C3); 129.34 (C5); 128.15 (C6); 36.53 (C2')

CHN: ber.: C 31.78 %; H 1.33 %

gef.: C 32.29 %; H 1.43 %

- 4-Trifluormethylphenacylbromid

4-Trifluormethylacetophenon (3 g) wird in 20 ml Eisessig gelöst. Zu dieser Lösung wird in 10 ml Eisessig gelöstes Brom (2,75 g) langsam zugetropft. Anschließend wird noch ca. eine Stunde gerührt. Die Lösung wird auf Eis gegossen und mit Ether extrahiert. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat wird die Lösung so weit wie möglich eingeeengt. Das dabei erhaltene gelbliche Öl wird beim Stehenlassen fest und wird aus Petrolether umkristallisiert.



Ausbeute: 46 % d. Th. (Lit.: 98 %, nicht umkristallisiert)²⁸⁶

Smp.: 54 °C (Lit.: 54-55 °C)²⁸⁷

R_f: 0.81 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.18 (2H, H^{2, 6}, d, ³J 8.16 Hz); 7.93 (2H, H^{3, 5}, d, ³J 8.16 Hz); 5.00 (2H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 191.34 (C1'); 137.47 (C1); 133.13 (C4, qa, ²J_{C-F} 31.91 Hz); 129.66 (C2, 6); 125.96 (C3, 5, qa, ³J_{C-F} 3.82 Hz); 123.80 (C1'', qa, ¹J_{C-F} 272.68 Hz); 34.37 (C2')

CHN: ber.: C 40.48 %; H 2.26 %

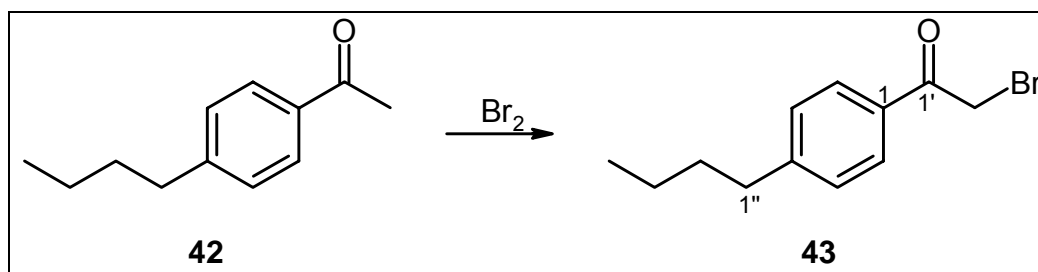
gef.: C 40.64 %; H 2.34 %

²⁸⁶ Saggiomo, A. J.; Kano, K.; Kikuchi, T.; Okubo, K.; Shinbo, M. Antimalarial potency of 2-benzoyl-4-quinolinemethanols. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 989-994.

²⁸⁷ Caldwell, W. T.; Schweiker, G. C. The Synthesis of an Analog of Chloramphenicol. *J. Amer. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 5884-5887.

- 4-n-Butylphenacylbromid

4-n-Butylacetophenon (3 g, 17.05 mmol) wird in 30 ml Eisessig gelöst und mit 2 ml frisch destilliertem Acetanhydrid versetzt. Um die Reaktion in Gang zu bringen, werden 10 Tropfen von der Gesamtmenge in Eisessig (10 ml) gelöstem Brom (3.27 g, 1.05 ml) zugegeben und auf 50 °C (Innentemperatur) erwärmt. Nachdem die Lösung wieder auf unter 30 °C abgekühlt ist, wird das restliche Brom zugetropft und über Nacht gerührt. Anschließend wird der Ansatz in 50 ml Wasser gegeben, wobei sich das Produkt als gelbes Öl abscheidet. Dieses wird mit Dichlormethan extrahiert und durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Petrolether (30-50 °C) und Dichlormethan (2:1) gereinigt.



Ausbeute: 57 % d. Th.

R_f: 0.36 (CH₂Cl₂:PE 1:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.91 (2H, H^{2, 6}, d); 7.36 (2H, H^{3, 5}, d); 4.87 (2H, H^{2'}, s); 2.65 (2H, H^{1''}, t); 1.57 (2H, H^{2''}, qi); 1.30 (2H, H^{3''}, sex); 0.89 (3H, H^{4''}, t)

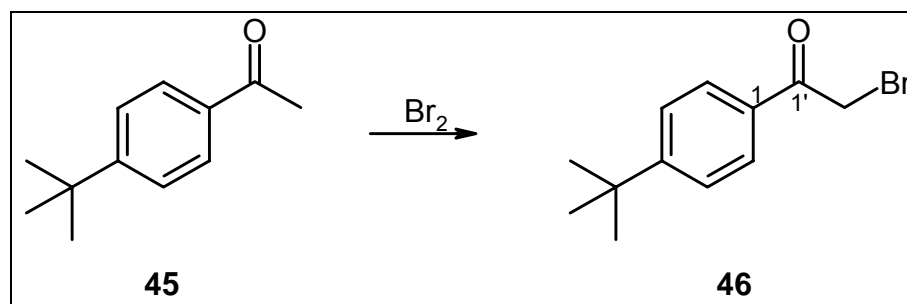
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 191.38 (C1'); 131.86 (C1); 129.02 (C2, C6); 128.88 (C3, C5); 128.26 (C4); 34.92 (C1''); 34.05 (C2'); 32.76 (C2''); 21.82 (C3''); 13.82 (C4'')

CHN: ber.: C 56.49 %; H 5.93 %

gef.: C 56.70 %; H 5.86 %

- 4-tert-Butylphenacylbromid

4-tert-Butylacetophenon (3 g, 17.05 mmol) wird in 30 ml Eisessig gelöst und mit 2 ml frisch destilliertem Acetanhydrid versetzt. Um die Reaktion in Gang zu bringen, werden 10 Tropfen von der Gesamtmenge in Eisessig (10 ml) gelöstem Brom (3.27 g, 1.05 ml) zugegeben und auf 50 °C (Innentemperatur) erwärmt. Nachdem die Lösung wieder auf unter 30 °C abgekühlt ist, wird das restliche Brom zugetropft und über Nacht gerührt. Anschließend wird der Ansatz in 50 ml Wasser gegeben, wobei sich das Produkt als gelbes Öl abscheidet. Dieses wird mit Dichlormethan extrahiert und durch Säulenchromatographie mit einem Gemisch aus Petrolether (30-50 °C) und Dichlormethan (2:1) gereinigt.



Ausbeute: 34 % d. Th.

R_f: 0.37 (CH₂Cl₂:PE 1:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.93 (2H, H^{2, 6}, d); 7.56 (2H, H^{3, 5}, d); 4.87 (2H, H^{2'}, s); 1.30 (9H, C-(CH₃)₃, s)

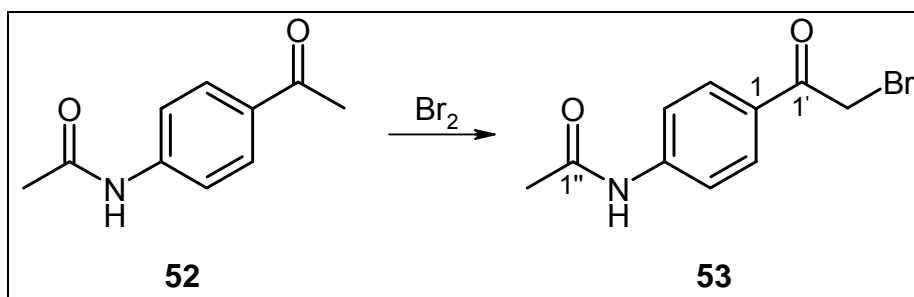
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 191.38 (C1'); 157.18 (C1); 131.62 (C4); 128.86 (C2, C6); 125.81 (C3, C5); 35.06 (C-(CH₃)₃); 34.06 (C2'); 30.88 (C-(CH₃)₃)

CHN: ber.: C 56.49 %; H 5.93 %

gef.: C 55.85 %; H 5.85 %

- 4-Acetamidophenacylbromid

4-Acetamidoacetophenon (20 mmol) wird in 50 ml Eisessig suspendiert und mit 2 ml Acetanhydrid versetzt. Zu dieser Lösung wird Brom (22 mmol), in 15 ml Eisessig gelöst, getropft, zunächst nur einige Tropfen. Um die Reaktion in Gang zu bringen, wird auf 50 °C erwärmt. Dabei verliert die Lösung ihre vom Brom verursachte Farbe und wird gelb. Außerdem löst sich das Edukt vollständig, so daß man eine klare Lösung erhält. Das restliche Brom wird bei 20 °C zugetropft. Dabei nimmt die Lösung langsam wieder eine rotbraune Farbe an. Anschließend läßt man so lange rühren, bis die Lösung wieder gelb und trüb geworden ist. Diese Lösung wird in 100 ml Wasser gegeben, der erhaltenen Niederschlag abfiltriert und getrocknet.



Ausbeute: 37 % d. Th. (Lit.: 55 %) ²⁸⁸

Smp.: 162 °C (Lit.: 194 °C) ²⁸⁸

R_f: 0.52 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 10.30 (1H, NH, s); 7.95 (2H, H^{2, 6}, d, ³J 8.68 Hz); 7.72 (2H, H^{3, 5}, d, ³J 8.68 Hz); 4.82 (2H, H^{2'}, s); 2.08 (3H, -CH₃)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 190.39 (C1'); 169.17 (C1''); 144.38 (C4); 130.29 (C2, C6); 128.58 (C1); 118.39 (C3, C5); 33.74 (C2'); 24.32 (C2'')

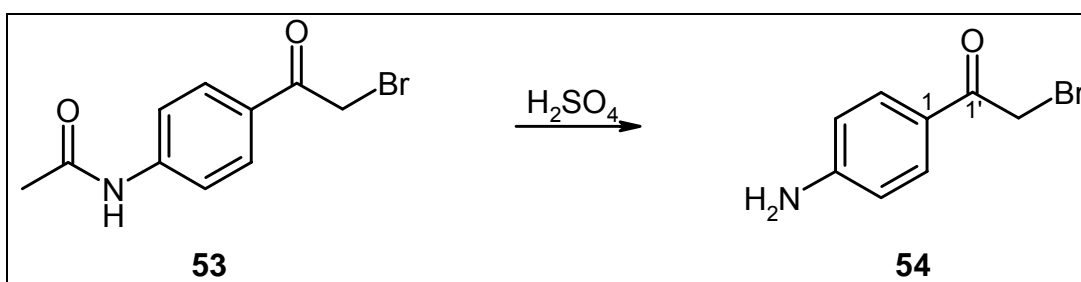
CHN: ber.: C 46.90 %; H 3.94 %; N 5.47 %

gef.: C 46.01 %; H 3.83 %; N 5.41 %

²⁸⁸ Massarani, E.; Nardi, D.; Pozzi, R. Sulla Bromurazione Di 4(3)-Aminoacetofenoni. *Boll. Chim. Farm.* **1969**, *108*, 255-261.

- 4-Aminophenacylbromid

4-Acetamidophenacylbromid (4.5 g) wird in 50 ml Ethanol suspendiert, mit 4 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 1.5 Stunden refluxiert. Am Ende liegt eine klare, braune Lösung vor. Der Ethanol wird am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand mit 50 ml Wasser versetzt. Durch Neutralisieren mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung entsteht ein feiner, hellgelber Niederschlag. Dieser wird abfiltriert und aus Benzol/Petrolether (80-110 °C) umkristallisiert.



Ausbeute: 45 % d. Th. (Lit.: 50 %) ²⁸⁸

Smp.: 94 °C (Lit.: 96-98 °C) ²⁸⁸

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.70 (2H, H^{2, 6}, d); 6.57 (2H, H^{3, 5}, d); 4.61 (2H, H^{2'}, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 188.83 (C1'); 154.44 (C4); 131.51 (C2, C6); 121.53 (C1); 112.78 (C3, C5); 33.07 (C2')

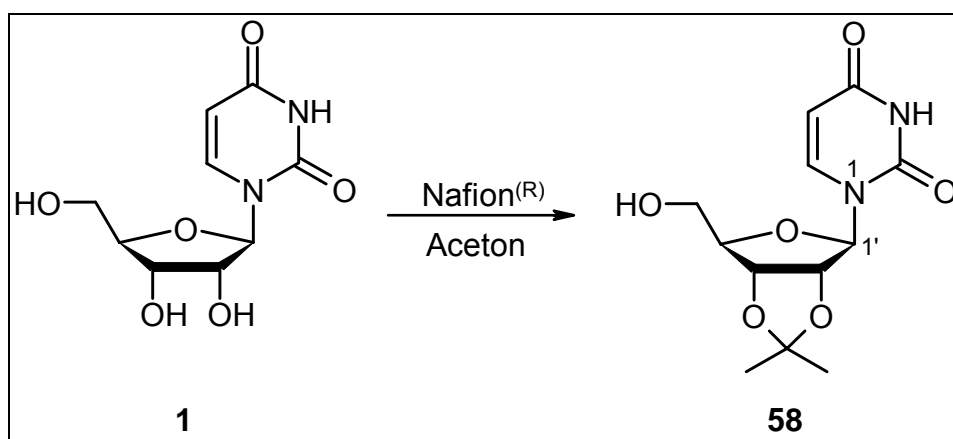
CHN: ber.: C 44.89 %; H 3.77 %; N 6.54 %

gef.: C 44.18 %, H 3.99 %, N 6.39 %

5.4. Uridin-5'-ylester

- 2',3'-O-Isopropylidenuridin

Uridin (20 mmol) wird mit Nafion[®] (superacides Ionenaustauscherharz, 2,5 g) in Aceton (300 ml) so lange gerührt, bis die Lösung klar ist, anschließend wird das Harz abfiltriert und das Lösungsmittel abrotiert. Der Rückstand wird mit Methanol und Wasser gewaschen und aus Methanol umkristallisiert.



Ausbeute: 82 % d. Th. (Lit.: 59 %) ²⁸⁹

Smp.: 148-149 °C (Lit.: 163 °C)

R_f: 0.49 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.33 (1H, NH, s); 7.77 (1H, H⁶, d, ³J 8.20 Hz); 5.82 (1H, H^{1'}, d); 5.62 (1H, H⁵, d, ³J 7.88 Hz); 5.04 (1H, OH^{5'}, s); 4.88 (1H, H^{2'}, dd, ³J 6.31 Hz); 4.73 (1H, H^{3'}, dd, ³J 6.31 Hz); 4.05 (1H, H^{4'}, dd); 3.56 (2H, H^{5'}, dd); 1.47 (3H, C-CH₃, s); 1.28 (3H, C-CH₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 163.30 (C4); 150.48 (C2); 142.02 (C6); 113.11 (O-C-O); 101.88 (C5); 91.26 (C1'); 86.65 (C4'); 83.82 (C2'); 80.62 (C3'); 61.42 (C5'); 27.19 (C-CH₃); 25.34 (C-CH₃)

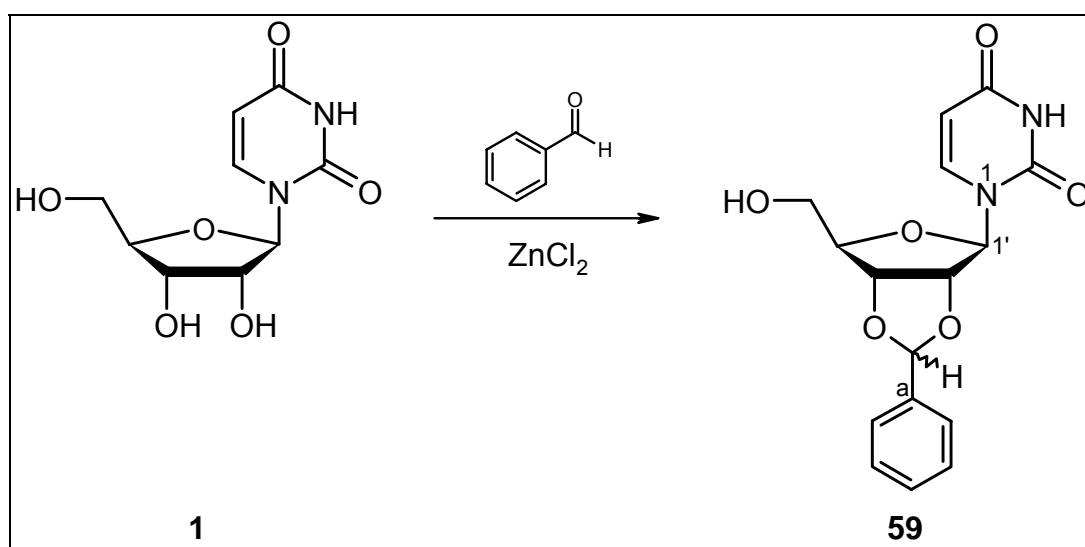
²⁸⁹ Heller, E. Synthese von chiralen, nicht racemischen cis-5-Hydroxypicolinsäuren und von Desoxyazatalose über die Methylenierung von geschützten 5-Hydroxy-2-piperidinonen mit Dimethyltitanocen. Dissertation, Würzburg, 1995.

CHN: ber.: C 50.70 %; H 5.67 %; N 9.85 %

gef.: C 50.18 %; H 5.55 %; N 9.78 %

- 2',3'-O-Benzylidenuridin

Uridin (5 g) und Zinkchlorid (wasserfrei, 7,5 g) werden in Benzaldehyd (frisch destilliert, 25 ml) gelöst und zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die anfangs trübe, am Ende klare und orange Lösung wird mit Ether verdünnt, dabei fällt ein weißer Niederschlag. Diesen läßt man absetzen und dekantiert den Überstand vorsichtig ab. Der zurückbleibende Feststoff wird in Ethylacetat suspendiert und abgesaugt. Das Filtrat wird nochmals auf die gleiche Weise aufgearbeitet. Am Schluß wird einmal mit Wasser gewaschen und das Produkt getrocknet.



Ausbeute: 55 % d. Th. (Lit.: 70 %) ²⁹⁰

Smp.: 175 °C (Lit. 193 °C) ²⁹⁰

R_f: 0.43 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

²⁹⁰ Ponpipom, M. M.; Hanessian, S. The Reaction of *O*-Benzylidene Sugars with *N*-Bromsuccinimide. VI. A New Synthesis of 2'-Deoxyuridine and some of its Selectively Substituted Derivatives. *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 246-252.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 11.37 (1H, NH , s); 7.83; 7.75 (1H, H^6 , d, $^3J_{(6-5)}$ 7.88 Hz); 7.53, 7.44 (5H, arom., m); 6.13, 5.97 (1H, Ph-CH , s); 5.964, 5.957 (1H, $\text{H}^{1'}$, d, $^3J_{(1'-2')}$ 3.15 Hz); 5.65; 5.64 (1H, H^5 , d, $^3J_{(5-6)}$ 7.88 Hz); 5.10, 5.07 (1H, $\text{OH}^{5'}$, t); 5.04; 5.00 (1H, $\text{H}^{2'}$, dd, $^3J_{(2'-3')}$ 6.62 Hz, $^3J_{(2'-1')}$ 3.15 Hz); 4.89, 4.86 (1H, $\text{H}^{3'}$, dd, $^3J_{(3'-2')}$ 6.62 Hz); 4.25, 4.17 (1H, $\text{H}^{4'}$, dd); 3.67-3.60 (2H, $\text{H}^{5'}$, m)

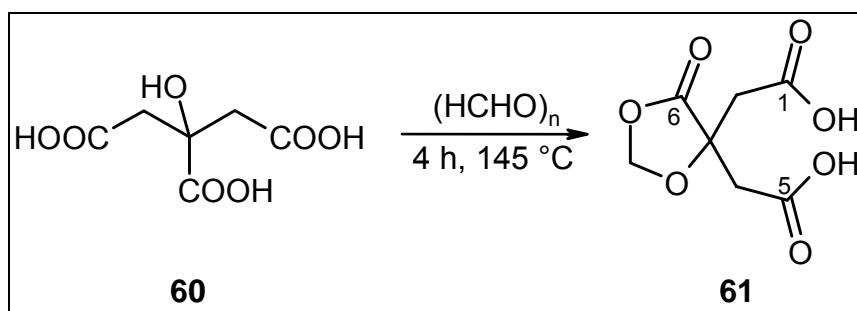
$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 163.34, 163.27 (C4); 150.51 (C2); 142.25 (C6); 136.40 (Ca); 129.89, 129.75 (Cd); 128.54, 128.44 (Cb, Cf); 127.03, 126.99 (Cc, Ce); 106.65, 102.85 (Ph-CH); 102.13, 101.88 (C5); 91.47, 90.58 (C1'); 86.51, 84.14 (C4'); 84.59, 83.18 (C2'); 82.02, 80.29 (C3'); 61.53, 61.48 (C5')

CHN: ber.: C 57.83 %; H 4.85 %; N 8.43 %

gef.: C 54.45 %; H 4.80 %; N 7.95 %

- 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäure

Citronensäure (20 g) und Paraformaldehyd (3,12 g) werden sorgfältig miteinander vermischt und in einem Druckgefäß 4 h auf 145 °C erhitzt. Nach Abkühlen wird vorsichtig geöffnet und Wasser hinzugegeben. Durch Ultraschall fällt das Produkt weiß-gelblich aus. Der Niederschlag wird abgenutscht und im Exsiccator getrocknet. Um die Ausbeute zu erhöhen, kann die verbliebene Mutterlauge einrotiert und der Rückstand aus Wasser umkristallisiert werden.



Ausbeute: 60 % d. Th. (Lit.: 50 %) ²⁹¹

²⁹¹ Weaver, R.; Gilbert, I. H. The Design and Synthesis of Nucleoside Triphosphate Isosteres as Potential Inhibitors of HIV Reverse Transcriptase. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5537-5562.

Smp.: 200 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- d_4) δ [ppm]: 5.57 (2H, O- CH_2 -O, s); 2.95 (2H, CH_2 -COOH, d, 2J 17.1 Hz); 2.91 (2H, CH_2 -COOH, d, 2J 17.1 Hz)

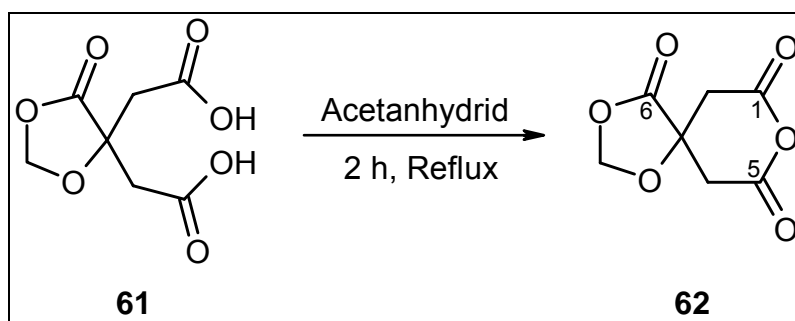
$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, MeOH- d_4) δ [ppm]: 175.85 (C6); 172.50 (C1, C5); 96.59 (C7); 77.58 (C3); 42.33 (C2, C4)

CHN: ber.: C 43.64 %; H 5.49 %

gef.: C 43.30 %; H 5.65 %

- 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureanhydrid

3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäure (10 g) wird ca. 2 h mit frisch destilliertem Acetanhydrid (25 ml) unter Reflux erhitzt. Anschließend wird das überschüssige Lösungsmittel abrotiert, wodurch das Produkt als brauner Feststoff zurückbleibt.



Ausbeute: 98 % d. Th. (Lit.: 100 %) ²⁹¹

Smp.: 149 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 5.63 (2H, O- CH_2 -O, s); 3.43 (2H, HOOC- CH_2 -, d, 2J 16.71 Hz); 3.32 (2H, HOOC- CH_2 -, d, 2J 16.71 Hz)

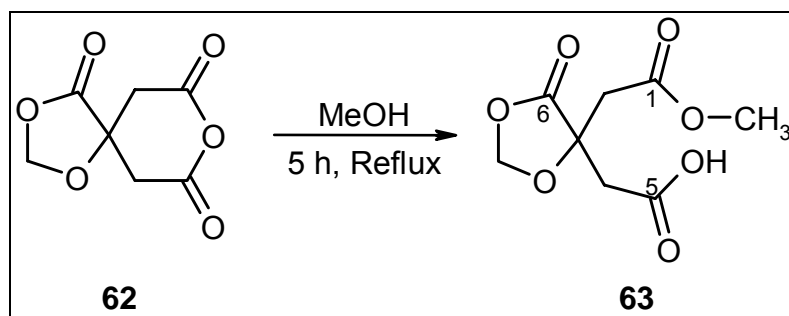
$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 170.63 (C6); 164.32 (C1, C5); 93.61 (C7); 73.39 (C3); 35.79 (C2, C4)

CHN: ber.: C 45.17 %; H 3.25 %

gef.: C 44.96 %; H 3.29 %

- 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäuremethylester

3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureanhydrid wird mit absolutem Methanol für 5 h unter Rückfluß gekocht. Anschließend wird das Lösungsmittel abrotiert, wodurch das Produkt als brauner Feststoff anfällt.



Ausbeute: 98 % d. Th. (Lit.: 99 %) ²⁹¹

Smp.: 116-117 °C

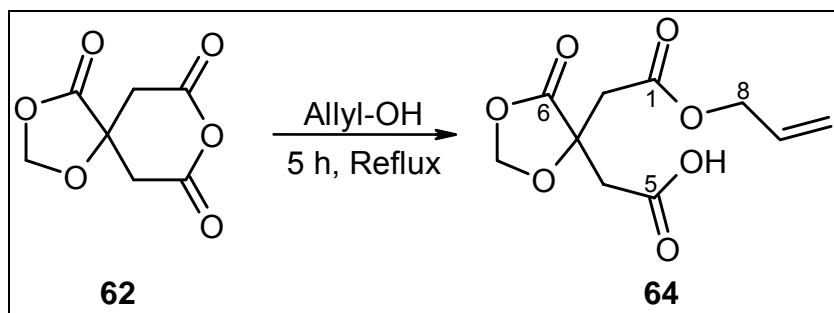
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 12.68 (1H, OH, s); 5.44 (2H, H⁷, s); 3.61 (3H, O-CH₃, s); 2.96 (2H, H², s); 2.88 (2H, H⁴, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 173.04 (C6); 170.50 (C5); 169.41 (C1); 94.50 (C7); 75.71 (C3); 51.95 (O-CH₃); 40.76 (C4); 40.49 (C2)

CHN: ber.: C 44.04 %; H 4.62 %

gef.: C 43.76 %; H 4.80 %

- 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureallylester



Ausbeute: 97 % d. Th. (Lit.: 99 %) ²⁹¹

Smp.: 100-102 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 12.69 (1H, COOH, s); 5.88 (1H, H⁹, m); 5.44 (2H, H⁷, d); 5.30 (1H, H^{10'}, ddd); 5.22 (1H, H^{10''}, ddd); 4.56 (2H, H⁸, m); 3.00 (2H, H², s); 2.89 (2H, H⁴, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 173.01 (C6); 170.51 (C5); 168.61 (C1); 132.30 (C9); 118.30 (C10); 94.50 (C7); 75.72 (C3); 65.11 (C8); 40.78 (C4); 40.62 (C2)

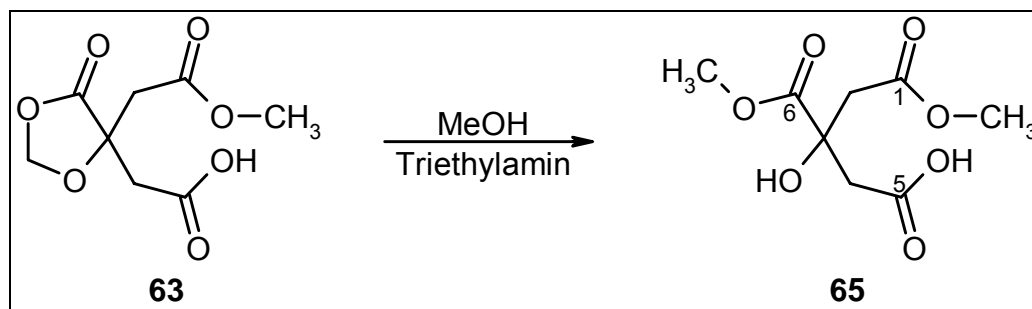
CHN: ber.: C 49.19 %; H 4.95 %

gef.: C 48.42 %; H 4.96 %

- 3-Hydroxy-3-methoxycarbonyl-glutarsäuremethylester

3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäuremethylester (1 g) wird in absolutem Methanol (100 ml) gelöst, mit 2 Äquivalenten frisch destilliertem Triethylamin versetzt und ca. 5 h auf 90 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit Wasser (100 ml) versetzt und das Triethylamin mit der entsprechenden Menge an 1N-HCl neutralisiert. Anschließend wird die Lösung viermal mit je 70 ml Ethylacetat geschüttelt. Die organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet, das Trocknungsmittel wird abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingedunstet.

Dadurch erhält man das Produkt als braunen Feststoff, der an der Ölpumpe getrocknet wird. Durch Umkristallisieren aus Dichlormethan erhält man durchsichtige Kristalle. Die Substanz kann aber auch nicht umkristallisiert weiter eingesetzt werden.



Ausbeute: 80 % d. Th. (Lit.: 54 %) ²⁹¹

Smp.: 85 °C

¹H-NMR (500 MHz, MeOD-d₄) δ [ppm]: 3.80 (3H, -CH₃, s); 3.70 (3H, -CH₃, s); 2.97 (1H, H^{4'}, d, ²J 15.13 Hz); 2.96 (1H, H^{2''}, d, ²J 15.76 Hz); 2.83 (1H, H^{4''}, d, ²J 15.13 Hz); 2.80 (1H, H^{2''}, d, ²J 15.76 Hz)

¹³C-NMR (500 MHz, MeOD-d₄) δ [ppm]: 175.62 (C6); 173.50 (C5); 172.05 (C1); 74.90 (C3); 53.40 (O-CH₃); 52.54 (O-CH₃); 44.60 (C4); 44.44 (C2)

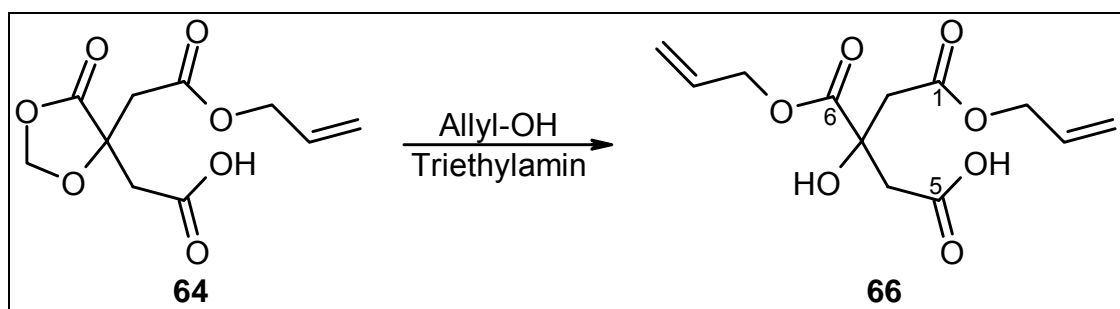
CHN: ber.: C 43.64 %; H 5.49 %

gef.: C 43.30 %; H 5.65 %

- 3-Hydroxy-3-allyloxycarbonyl-glutarsäureallylester

3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureallylester (10 g) wird in Allylalkohol (100 ml) gelöst, mit 1 Äquivalent frisch destilliertem Triethylamin versetzt und ca. 5 h auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel unter mehrmaligem Zusatz von Aceton am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit Wasser (100 ml) versetzt und das Triethylamin mit der entsprechenden Menge an 1N-HCl neutralisiert. Anschließend wird die Lösung viermal mit je 70 ml Ethylacetat geschüttelt. Die organischen Phasen werden mit

Natriumsulfat getrocknet, das Trocknungsmittel wird abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Dadurch erhält man das Produkt als braunes Öl.



Ausbeute: 94 % d. Th. (Lit.: 72 %) ²⁹¹

¹H-NMR (500 MHz, Aceton-d₆) δ [ppm]: 5.92 (2H, -CH=CH₂, m); 5.33 (2H, -CH=CH₂, m); 5.18 (2H, -CH=CH₂, m); 4.64 (2H, O-CH₂-CH=CH₂, m); 4.55 (2H, O-CH₂-CH=CH₂, m); 2.97 (2H, H⁴, m); 2.86 (2H, H², m)

¹³C-NMR (500 MHz, Aceton-d₆) δ [ppm]: 173.52 (C6); 171.56 (C5); 169.93 (C1); 133.32 (-CH=CH₂); 133.16 (-CH=CH₂); 118.17 (-CH=CH₂); 118.10 (-CH=CH₂); 74.11 (C3); 66.65 (-CH₂-CH=CH₂); 65.64 (-CH₂-CH=CH₂); 43.79 (C4); 43.29 (C2)

CHN. C₁₂H₁₆O₇ * ½ H₂O

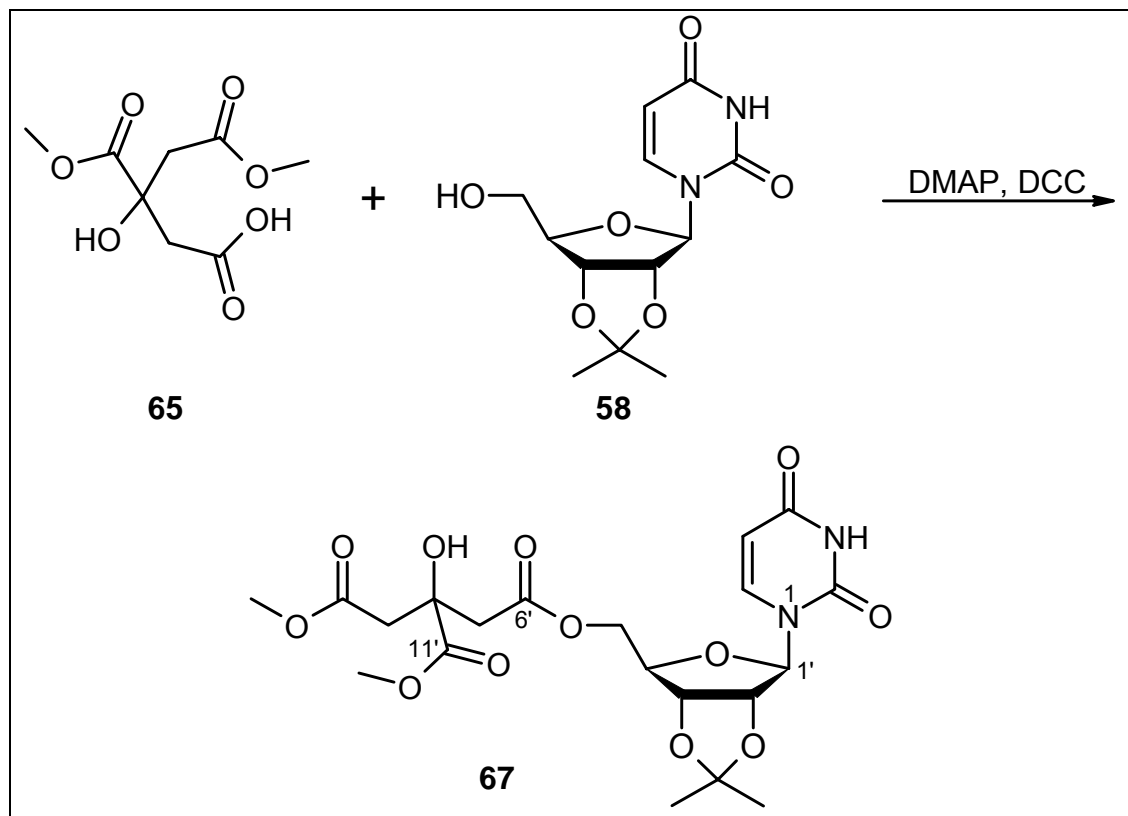
ber.: C 51,24 %; H 6.09 %

gef.: C 51.15 %; H 6.13 %

- 3-Methoxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-methylester-[(2',3'-O-isopropyliden)-uridin-5'-yl]ester

Zu einer Lösung von 3-Methoxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-methylester (1 mmol), 2',3'-O-Isopropylidenuridin (1 mmol) und DMAP (1 mmol) in absolutem THF (30 ml) werden 1,3 mmol DCC gegeben und zwei Tage lang bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Aus dem Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (100:0 - 80:1) als Fließmittel als durchscheinende Masse isoliert. Durch Aufnehmen in wenig

Dichlormethan (5 ml) und schnelles Abziehen an der Ölpumpe fällt die Substanz als amorpher Schaum an. Alternativ kann der Rückstand des Filtrats in einem Gemisch aus Wasser und Acetonitril (70:30) gelöst und das Produkt per HPLC (Fließmittel Wasser-Acetonitril-Gradient von 70:30 zu 65:35 in 7 min) isoliert werden. Das Fließmittel wird durch Lyophilisieren entfernt.



Ausbeute: 12 % d. Th.

R_f: 0.55 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.39 (1H, NH, s); 7.67 (1H, H⁶, d, ³J_{6/5} 7.88 Hz); 5.79 (1H, H^{1'}, d); 5.75 (1H, OH, s); 5.63 (1H, H⁵, d, ³J_{5/6} 7.88 Hz); 5.02 (1H, H^{2'}, m); 4.76 (1H, H^{3'}, m); 4.18 (3H, H^{4'}, ^{5'}, ^{5''}, m); 3.63 (3H, O-CH₃, d); 3.56 (3H, O-CH₃, d); 2.88 (2H, H^{9'}, m); 2.74 (2H, H^{7'}, m); 1.48 (3H, C-CH₃, s); 1.29 (3H, C-CH₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 173.15, 173.13 (C10'); 169.77, 169.76 (C6'); 169.06, 169.03 (C11'); 163.33, 163.32 (C4); 150.43 (C2); 142.82 (C6); 113.46, 113.43 (O-C-O); 102.03 (C5); 92.48, 92.40 (C1'); 84.08, 84.03 (C4'); 83.67, 83.62

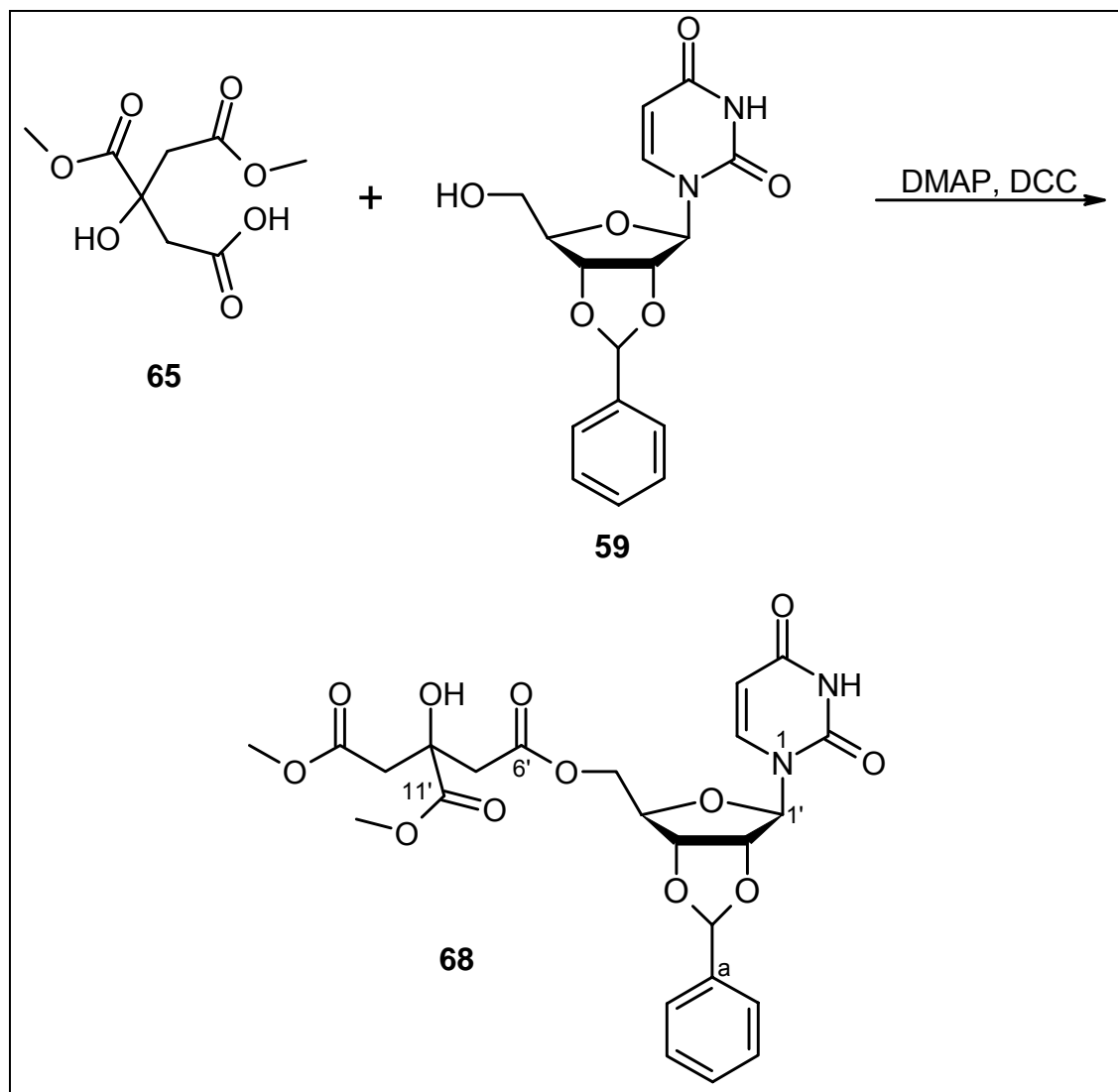
(C2'); 80.82, 80.76 (C3'); 73.17, 73.13 (C8'); 64.21, 64.19 (C5'); 52.25, 52.23 (O-CH₃); 51.58, 51.57 (O-CH₃); 43.22, 43.21 (C9'); 43.13, 43.09 (C7'); 27.08, 27.07 (C-CH₃); 25.27 (C-CH₃)

CHN: ber.: C 49.38 %; H 5.39 %; N 5.76 %

gef.: C 47.17 %; H 5.21 %; N 5.93 %

- 3-Methoxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-methylester-[(2',3'-O-benzyliden)-uridin-5'-yl]ester

Zu einer Lösung von 3-Methoxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-methylester (1,5 mmol), 2',3'-O-Benzylidenuridin (1 mmol) und DMAP (1,2 mmol) in absolutem THF (50 ml) werden 1,3 mmol DCC gegeben und zwei Tage lang bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Aus dem erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit einem Dichlormethan-Methanol-Gradienten (100:0 - 80:1) isoliert, wodurch das Produkt als amorphe Masse anfällt.



Ausbeute: 7 % d. Th.

R_f: 0.55 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.41 (1H, NH, s); 7.73, 7.71 (1H, H⁶, dd); 7.47 (5H, arom., m); 6.14, 5.98 (1H, Ph-CH, s/d); 5.95, 5.93 (1H, H^{1'}, pt/d); 5.75 (1H, OH, m); 5.66 (1H, H⁵, m); 5.19, 5.97 (1H, H^{2'}, dd); 4.95, 4.89 (1H, H^{3'}, dd); 4.28 (3H, H^{4', 5', 5''}, m); 3.63 (3H, O-CH₃, m); 3.55 (3H, O-CH₃, m); 2.89 (2H, H^{9'}, m); 2.75 (2H, H^{7'}, m)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 173.13 (C10'); 169.77 (C6'); 169.11, 169.08, 169.06, 169.04 (C11'); 163.37, 163.28 (C4); 150.50, 150.48 (C2); 143.14, 142.80 (C6); 136.13, 136.11 (Ca); 129.95, 129.82 (Cd); 128.54, 128.45 (Cb, Cf); 127.04, 127.01 (Cc, Ce); 106.79, 106.77, 102.92 (Ph-CH); 102.28, 102.26, 101.03 (C5);

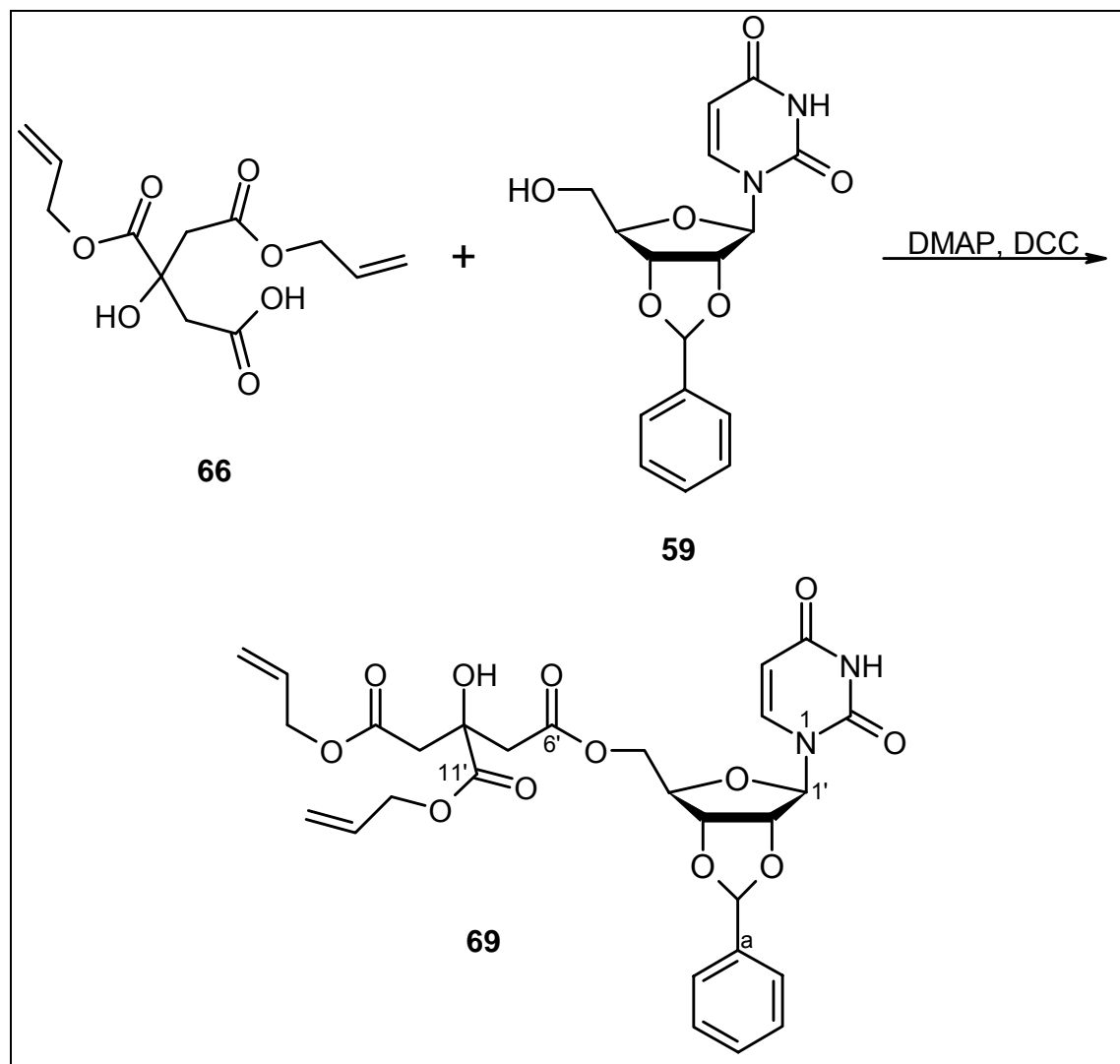
92.69, 92.63, 91.74, 91.61 (C1'); 84.66, 84.64, 82.85 (C2'); 84.18, 84.16, 81.24, 81.20 (C4'); 81.84, 81.78, 80.52, 80.46 (C3'); 73.17, 73.13 (C8'); 64.35, 64.30, 64.27, 64.25 (C5'); 52.26, 52.24 (O-CH₃); 51.57 (O-CH₃); 43.22, 43.20 (C9'); 43.14, 43.10 (C7')

CHN: ber.: C 53.93 %; H 4.90 %; N 5.24 %

gef.: C 53.39 %; H 5.02 %; N 5.13 %

- 3-Allyloxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-allylester-[(2',3'-O-benzyliden)-uridin-5'-yl]ester

Zu einer Lösung von 3-Allyloxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-allylester (1,5 mmol), 2',3'-O-Benzylidenuridin (1 mmol) und DMAP (1,2 mmol) in absolutem THF (50 ml) werden 1,3 mmol DCC gegeben und zwei Tage lang bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Aus dem erhaltenen Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit einem Dichlormethan-Ethylacetat-Methanol-Gemisch (6:1:0.1) als Fließmittel isoliert, wodurch das Produkt als amorphe Masse anfällt.



Ausbeute: 31 % d. Th

R_f: 0.66 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.41 (1H, NH, s); 7.73, 7.71 (1H, H⁶, dd); 7.47 (5H, arom., m); 6.13, 5.97 (1H, Ph-CH, s/d); 5.95, 5.93 (1H, H^{1'}, pt/d); 5.87 (2H, -CH=CH₂, m); 5.82, 5.79 (1H, OH, m); 5.66, 5.64 (1H, H⁵, m); 5.30 (2H, -CH=CH₂, m); 5.18, 5.06 (3H, -CH=CH₂, H^{2'}, m); 4.95, 4.89 (1H, H^{3'}, m); 4.56 (2H, -CH₂-CH=, m); 4.50 (2H, -CH₂-CH=, m); 4.28 (3H, H^{4', 5', 5''}, m); 2.94 (2H, H^{9'}, m); 2.80 (2H, H^{7'}, m)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 172.28, 172.26 (C10'); 169.09, 169.07, 169.04, 169.02 (C11'); 168.96 (C6'); 163.36, 163.28 (C4); 150.48, 150.47 (C2); 143.18, 143.15, 142.81 (C6); 136.13, 136.10 (Ca); 132.51, 132.38 (-CH=CH₂);

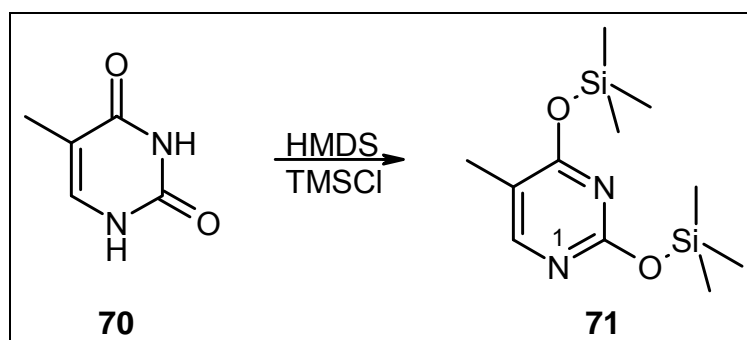
129.96, 129.83 (Cd); 128.53, 128.45 (Cb, Cf); 127.04, 127.01 (Cc, Ce); 118.01, 117.99, 117.94 (-CH=CH₂); 106.80, 106.78, 102.90 (Ph-CH); 102.28, 102.26, 102.04 (C5); 92.68, 92.60, 91.72, 91.58 (C1'); 84.65, 82.85 (C2'); 84.20, 84.16, 81.22, 81.17 (C4'); 81.83, 81.76, 80.51, 80.45 (C3'); 73.16, 73.13 (C8'); 65.50 (-CH₂-CH=); 64.73 (-CH₂-CH=); 64.40, 64.35 (C5'); 43.12, 43.04 (C7', C9')

CHN: ber.: C 57.34 %; H 5.16 %; N 4.78 %

gef.: C 57.67 %; H 5.47 %; N 4.98 %

- 2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-methyl-pyrimidin

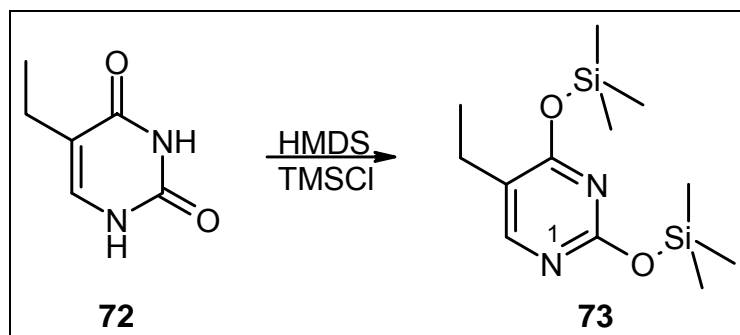
5-Methyl-pyrimidin-2,4-dion (Thymin, 20 mmol) wird in 20 ml Hexamethyldisilazan (HMDS) suspendiert, mit 1 ml Trimethylsilylchlorid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß refluxiert, bis die Lösung klar ist (ca. 5 h). Danach wird noch einige Stunden weiter erhitzt (ca. 3 h). Nach Abkühlen wird das HMDS bei einer Ölbadtemperatur von 70 °C im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung sofort weiter in der nächsten Reaktion (Ribosidierung) verarbeitet.



- 2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-ethyl-pyrimidin

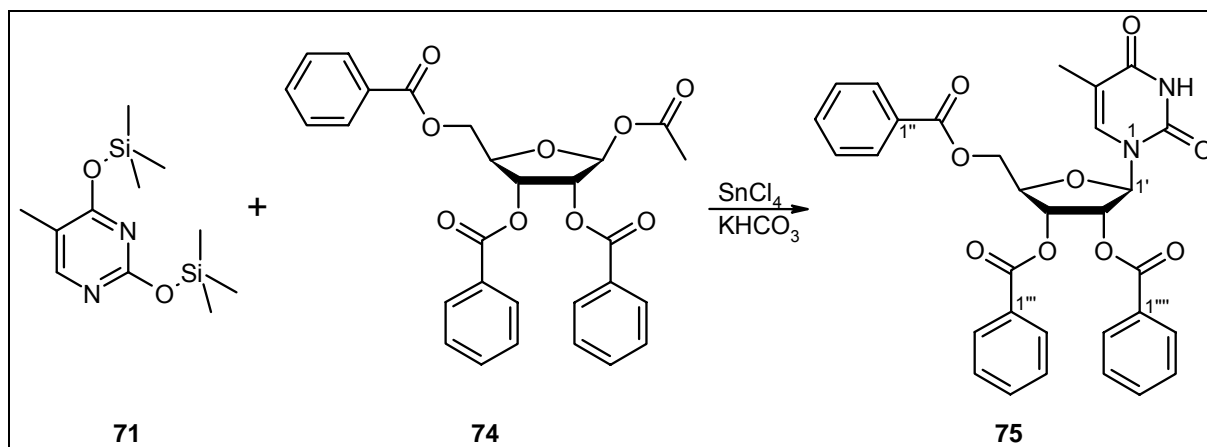
Ansatzgröße: 20 mmol

Reaktionszeit: 8 h



- 5-Methyl-(2',3',5'-O-tribenzoyl)uridin

Zu dem mit 5 ml absolutem Dichlorethan versetzten silylierten Uracilderivat (ca. 20 mmol) wird ein 1.1facher Überschuß frisch destillierten Zinn(IV)chlorids (22 mmol) gegeben. Ein Unterschluß an 1-O-Acetyl-2,3,5-O-tribenzoyl-ribose (19 mmol) wird in 20 ml absolutem Dichlorethan gelöst und langsam zugetropft und die gesamte Lösung mehrere Stunden (ca. 7 h, Endpunktkontrolle per DC) bei Raumtemperatur gerührt. Zur Hydrolyse wird der Reaktionsansatz langsam mit einer gesättigten Kaliumhydrogencarbonat-Lösung (50 ml) versetzt und die so erhaltene Emulsion noch einige Stunden weiter gerührt. Falls sich danach eine gute Phasentrennung ergibt, kann an dieser Stelle die wäßrige Phase abgetrennt werden und nur mit der organischen weitergearbeitet werden. Ansonsten wird der gesamte Reaktionsansatz über eine mit Kieselgel gefüllte Fritte gegeben und abgesaugt. Das Filtrat wird verworfen. Der Fritteninhalt wird mehrmals mit Dichlormethan und Ethylacetat gewaschen (jeweils 50 ml). Die vereinigten Phasen (nach Extraktionsmittel getrennt) werden mehrmals mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Der so erhaltene Rückstand wird mit Ethanol versetzt und einige Minuten im Ultraschallbad behandelt. Dadurch erhält man einen Niederschlag, der abfiltriert und an der Ölpumpe getrocknet wird.



Ausbeute: 52 % d. Th. (Lit.: 89 %) ²⁹²

R_f: 0.79 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.45 (1H, NH, s); 8.02 (2H, H^{2''}, 6'', m); 7.88, 7.84 (4H, H^{2'''}, 2''', 6''', 6''', m); 7.65 (3H, H^{4''}, 4''', 4''', m); 7.59 (1H, H⁶, d), 7.50 (2H, H^{3''}, 5'', m); 7.43 (4H, H^{3'''}, 5''', 3''', 5''', m); 6.16 (1H, H^{1'}, d); 5.90 (2H, H^{3'}, 2', m); 4.72 (2H, H^{5'}, 4', m); 4.61 (1H, H^{5'}, m); 1.68 (3H, -CH₃, d)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 165.91 (C5'-CO); 165.06, 165.00 (C2'-CO, C3'-CO); 164.11 (C4); 150.71 (C2); 137.46 (C6); 134.35, 134.25 (C4''', C4'''); 134.00 (C4''); 129.65 (C2'', C2''', C2''', C6'', C6''', C6'''); 129.50 (C1''); 129.18 (C3'', C5''); 129.11 (C3''', C3''', C5''', C5'''); 128.86, 128.70 (C1''', C1'''); 110.52 (C5); 88.89 (C1'); 79.11 (C4'); 73.41 (C2'); 70.94 (C3'); 63.96 (C5'); 12.17 (-CH₃)

CHN: ber.: C 65.26 %; H 4.59 %; N 4.91 %

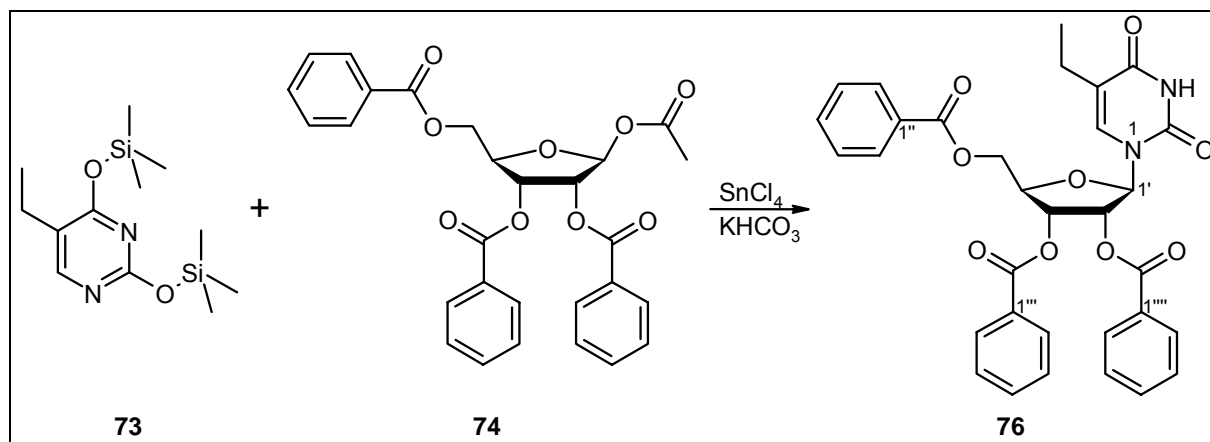
gef.: C 65.16 %; H 4.56 %; N 4.78 %

²⁹² Szemő, A.; Szabolcs, A.; Sági, J.; Ötvös, L. Unnatural nucleosides and nucleotides. IV. Preparation of 5-alkyluridines and their 5'-mono- and triphosphates. *J. Carbohydr. Nucleosides Nucleotides* **1980**, *7*, 365-379.

- 5-Ethyl-(2',3',5'-O-tribenzoyl)uridin

Ansatzgröße: 20 mmol

Reaktionszeit: 24 h



Ausbeute: 76 % d. Th. (Lit.: 85 %) ²⁹²

R_f: 0.79 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.43 (1H, NH, s); 8.01 (2H, H^{2''}, 6'', m); 7.88, 7.84 (4H, H^{2'''}, 2''', 6''', 6''', m); 7.63 (3H, H^{4''}, 4''', 4''', m); 7.50 (3H, H^{3''}, 5'', 6, m); 7.42 (4H, H^{3'''}, 3''', 5''', 5''', m); 6.16 (1H, H^{1'}, d); 5.92 (2H, H^{3'}, 2', m); 4.71 (2H, H^{5'}, 4', m); 4.60 (1H, H^{5'}, m); 2.09 (2H, -CH₂-CH₃, qa); 0.90 (3H, -CH₂-CH₃, t)

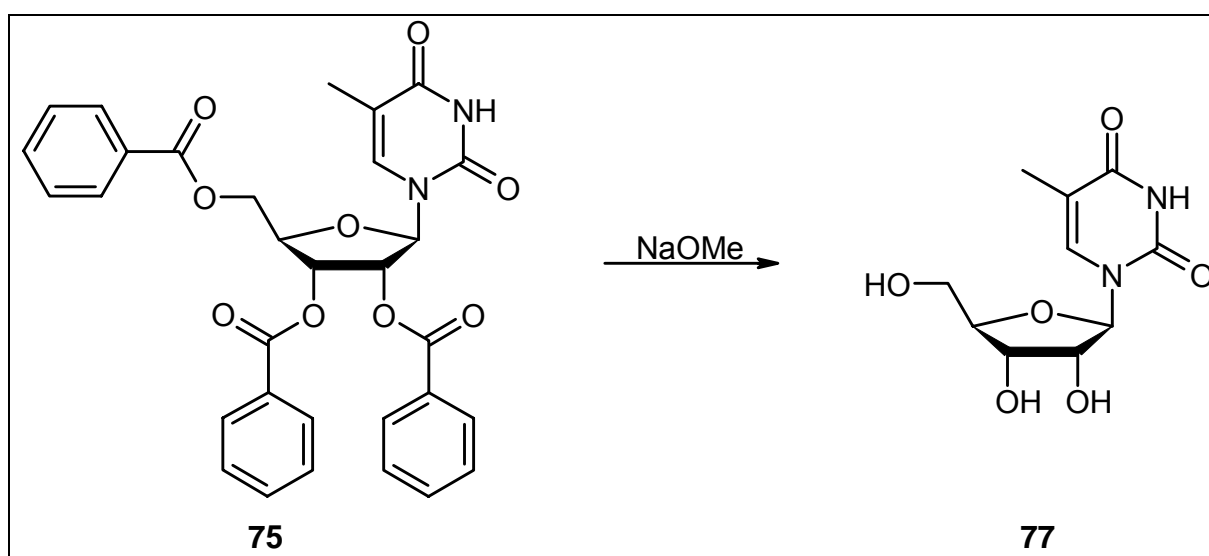
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 165.98 (C5'-CO); 165.12, 165.06 (C2'-CO, C3'-CO); 163.73 (C4); 150.64 (C2); 137.15 (C6); 134.39, 134.29 (C4''', C4'''); 134.06 (C4''); 129.71 (C2'', C6''); 129.69 (C2''', C2''', C6''', C6'''); 129.53 (C1''); 129.22 (C3'', C5''); 129.15 (C3''', C3''', C5''', C5'''); 128.91, 128.76 (C1''', C1'''); 116.26 (C5); 89.26 (C1'); 79.21 (C4'); 73.44 (C2'); 71.02 (C3'); 63.98 (C5'); 19.91 (-CH₂-CH₃); 13.27 (-CH₂-CH₃)

CHN: ber.: C 65.75 %; H 4.83 %; N 4.79 %

gef.: C 65.54 %; H 4.79 %; N 4.78 %

- 5-Methyluridin

5-Methyl-(2',3',5'-O-tribenzoyl)uridin (14 mmol) wird mit 42 ml einer 5 %igen methanolischen Natriummethanolat-Lösung (3 ml pro 1 mmol geschütztem Nukleosid) 36 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird DOWEX-50-WX-8-Ionenaustauscherharz (vorher mit Wasser und Methanol gewaschen) zugesetzt und weitere 60 min gerührt. Danach wird das Harz abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, mehrmals mit Ether geschüttelt und am Ende gefriergetrocknet.



Ausbeute: 91 % d. Th. (Lit.: 90 %) ²⁹²

Smp.: 183 °C (Lit.: 180-182 °C)

R_f: 0.13 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.24 (1H, NH, s); 7.71 (1H, H⁶, d); 5.77 (1H, H^{1'}, d); 5.27 (1H, O^{2'}H, bs); 5.05, 5.01 (2H, O^{5'}H, O^{3'}H, bm); 4.02 (1H, H^{2'}, bs); 3.96 (1H, H^{3'}, bs); 3.81 (1H, H^{4'}, dd); 3.62 (1H, H^{5'}, dd); 3.54 (1H, H^{5''}, dd); 1.76 (3H, -CH₃, d)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 163.85 (C4); 150.92 (C2); 136.50 (C6); 109.40 (C5); 87.57 (C1'); 84.89 (C4'); 73.36 (C2'); 70.01 (C3'); 61.09 (C5'); 12.30 (-CH₃)

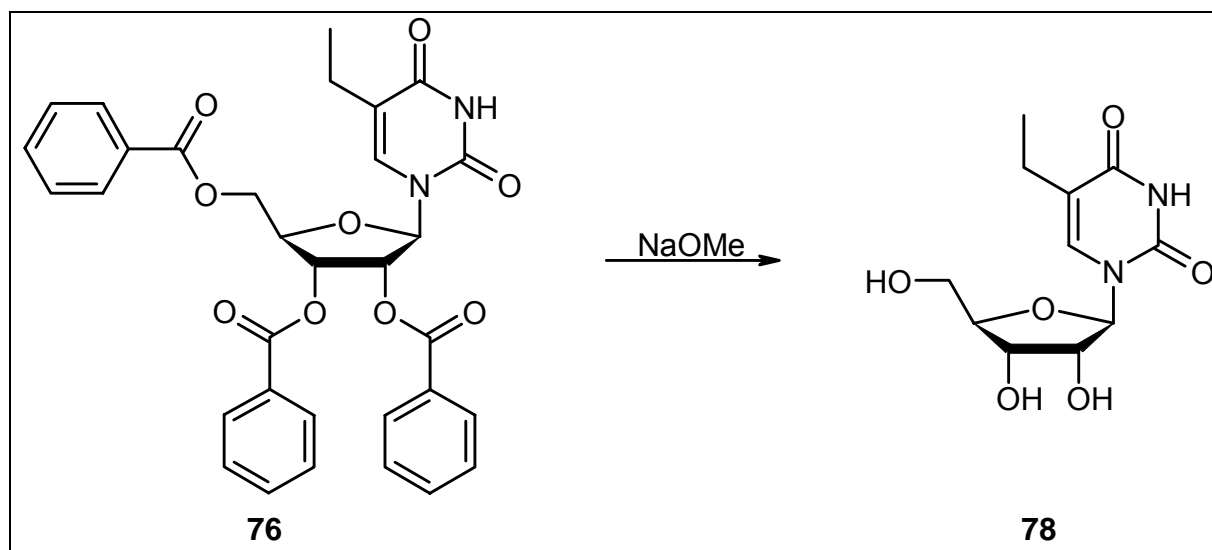
CHN: C₁₀H₁₄N₂O₆·H₂O

ber.: C 43.48 %; H 5.84 %; N 10.14 %

gef.: C 43.89 %; H 5.61 %; N 10.36 %

- 5-Ethyluridin

5-Ethyl-(2',3',5'-O-tribenzoyl)uridin (14 mmol) wird mit 42 ml einer 5 %igen methanolischen Natriummethanolat-Lösung (3 ml pro 1 mmol geschütztem Nukleosid) 2 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird DOWEX-50-WX-8-Ionenaustauscherharz (vorher mit Wasser und Methanol gewaschen) zugesetzt und weitere 60 min gerührt. Danach wird das Harz abfiltriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, mehrmals mit Ether geschüttelt und am Ende gefriergetrocknet.



Ausbeute: 90 % (Lit.: 92 %) ²⁹²

Smp.: 188 °C (Lit.: 187-188 °C) ²⁹²

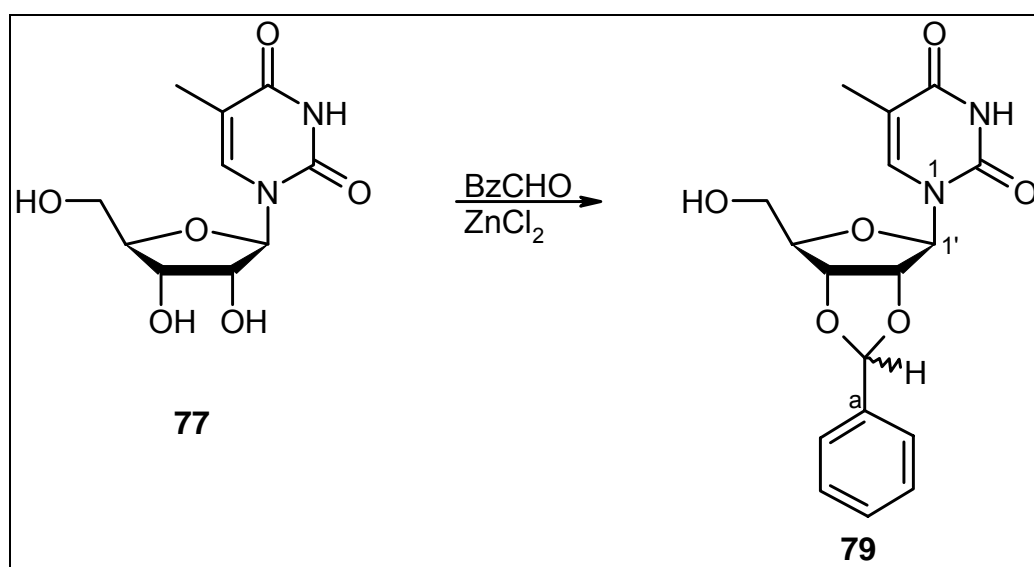
R_f: 0.13 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

$^1\text{H-NMR}$ (500 Mhz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 7.32 (1H, H^6 , s); 5.79 (1H, $\text{H}^{1'}$, d); 4.00 (1H, $\text{H}^{2'}$, pt); 3.97 (1H, $\text{H}^{3'}$, pt); 3.77 (1H, $\text{H}^{4'}$, dd); 3.61 (1H, $\text{H}^{5'}$, dd); 3.52 (1H, $\text{H}^{5''}$, dd); 2.13 (2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, qa); 0.99 (3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, t)

$^{13}\text{C-NMR}$ (500 Mhz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 170.31 (C_4); 140.28 (C_2); 134.42 (C_6); 115.08 (C_5); 89.22 ($\text{C}^{1'}$); 84.26 ($\text{C}^{4'}$); 73.72 ($\text{C}^{2'}$); 70.00 ($\text{C}^{3'}$); 61.29 ($\text{C}^{5'}$); 20.73 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 13.44 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)

- 2',3'-O-Benzyliden-5-methyluridin

Methyluridin (3 g, 11.63 mmol) wird in 15 ml frisch destilliertem Benzaldehyd suspendiert, mit 4.5 g wasserfreiem Zinkchlorid versetzt und zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Die nun klare Lösung wird so weit wie möglich am Rotationsverdampfer eingeeengt. Aus dem Rückstand wird das Produkt durch Säulenchromatographie mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel isoliert. Die entsprechenden Fraktionen ergeben nach Entfernung des Lösungsmittels eine pastöse Masse. Diese wird in Ethylacetat aufgenommen und um Ultraschallbad behandelt. Dadurch erhält man einen Niederschlag, der abfiltriert und an der Ölpumpe getrocknet wird.



Ausbeute: 33 % d. Th.

Smp.: 163 °C

R_f: 0.54 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.37 (1H, NH, s); 7.61 (1H, H⁶, d); 7.44 (5H, arom., m); 6.14 (1H, Ph-CH, s); 5.97 (1H, H^{1'}, d); 5.07 (1H, OH^{5'}, t); 4.98 (1H, H^{2'}, dd); 4.89 (1H; H^{3'}, dd); 4.14 (1H, H^{4'}, dd), 3.65 (2H, H^{5'}, 5'', m); 1.78 (3H, -CH₃, d)

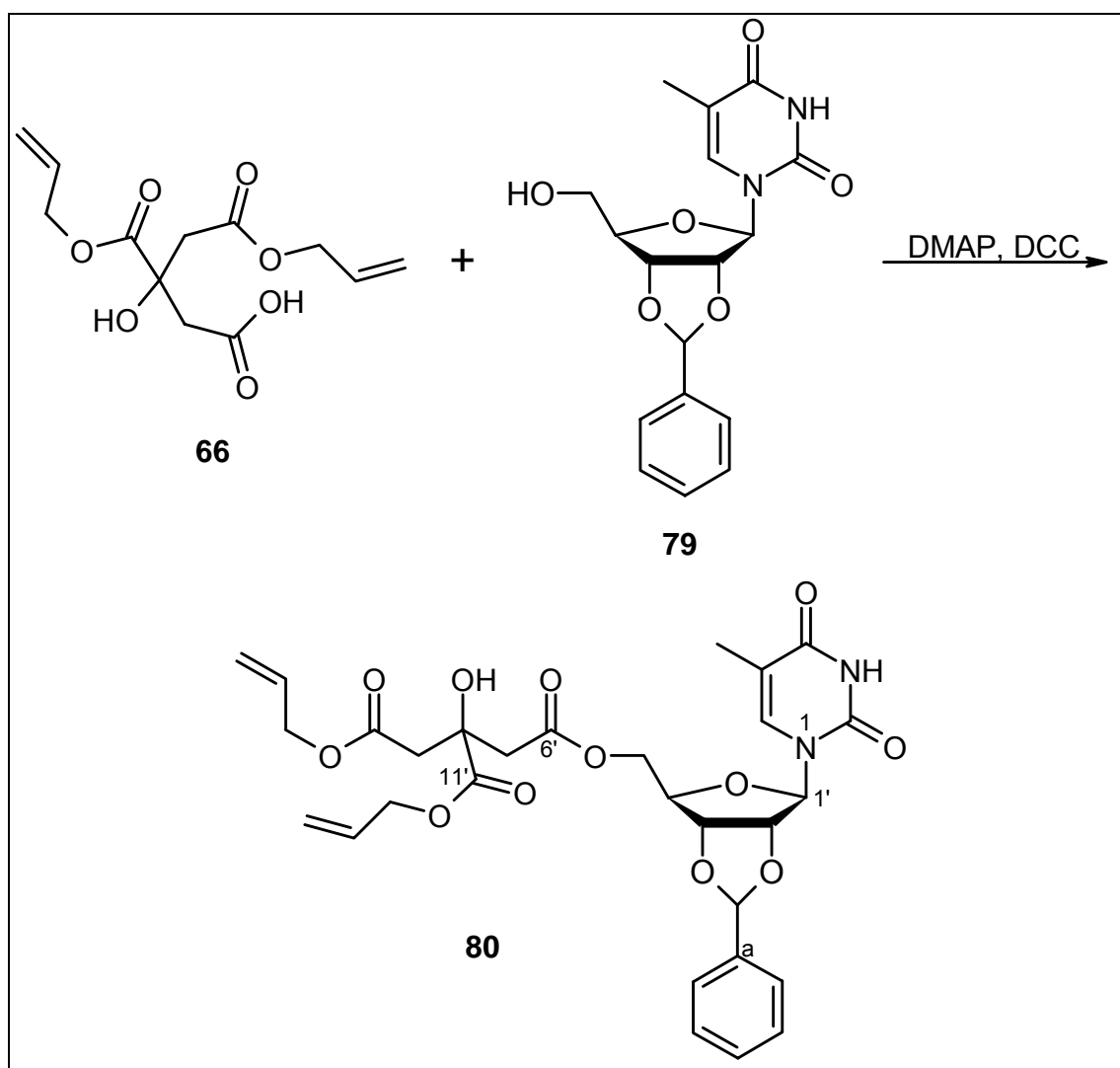
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 163.87 (C4); 150.53 (C2); 137.69 (C6); 136.39 (Ca); 129.72 (Cd); 128.43 (Cb, Cf); 126.98 (Cc, Ce); 109.85 (C5); 102.83 (Ph-CH); 89.78 (C1'); 83.69 (C4'); 82.93 (C2'); 80.14 (C3'); 61.50 (C5'); 12.18 (-CH₃)

CHN: ber.: C 58.96 %; H 5.24 %; N 8.09 %

gef.: C 58.55 %; H 5.17 %; N 7.90 %

- 3-Allyloxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-allylester-[(2'3'-O-benzyliden)-5-methyluridin-5'-yl]ester

Zu einer Lösung von 3-Allyloxycarbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-allylester (5.7 mmol), 2',3'-O-Benzylidenuridin (3.8 mmol) und DMAP (4.6 mmol) in absolutem THF (25 ml) werden 4.9 mmol DCC gegeben und zwei Tage lang bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Aus dem erhaltenen Rückstand wird das Produkt als amorphe Masse durch Säulenchromatographie mit einem Dichlormethan-Ethylacetat-Methanol-Gemisch (6:1:0.1) als Fließmittel isoliert.



Ausbeute: 12 %

R_f: 0.68 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

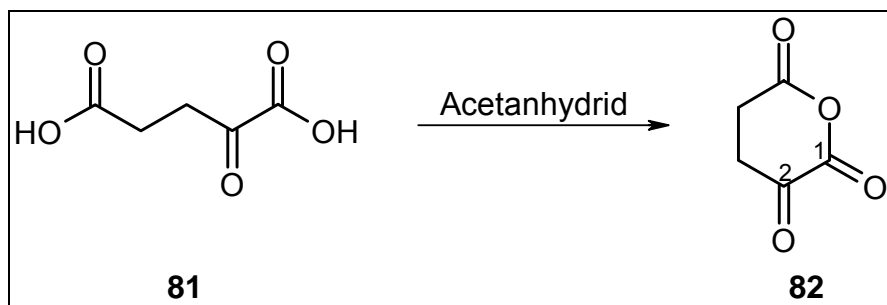
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.40 (1H, NH, s); 7.55 (1H, H⁶, s); 7.44 (5H, arom., m); 6.14 (1H, Ph-CH, s); 5.95 (1H, H^{1'}, t); 5.86 (3H, -CH=CH₂, OH, m); 5.30 (2H, -CH=CH₂, m); 5.18 (2H, -CH=CH₂, m); 5.03 (1H, H^{2'}, dd); 4.94 (1H, H^{3'}, m); 4.56 (2H, -CH₂-CH=, m); 4.50 (2H, -CH₂-CH=, m); 4.33, 4.25 (3H, H^{4'}, ^{5'}, ^{5''}, m); 2.95 (2H, H^{9'}, m); 2.80 (2H, H^{7'}, m); 1.78 (3H, -CH₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 172.30 (C10'); 169.22 (C6'); 169.11 (C11'); 163.39 (C4); 150.65 (C2); 142.74 (C6); 135.51 (Ca); 132.52, 132.40 (-CH=CH₂); 129.83 (Cd); 128.46 (Cb, Cf); 127.02 (Cc, Ce); 118.01, 117.94 (-CH=CH₂); 110.09

(Ph-CH); 102.91 (C5); 90.95 (C1'); 82.66 (C2'); 80.70 (C4'); 80.36 (C3'); 73.13 (C8'); 65.52, 65.52 (-CH₂-CH=CH₂); 64.73 (C5'); 43.16, 43.01 (C7', C9'); 12.08 (-CH₃)

- 2-Oxoglutarsäureanhydrid

5 g 2-Oxoglutarsäure werden in 15 ml frisch destilliertem Acetanhydrid zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt. Am Ende ist die Lösung klar und leicht gelblich gefärbt. Das Acetanhydrid wird am Rotationsverdampfer abgezogen, als Rückstand erhält man ein braunes Öl.

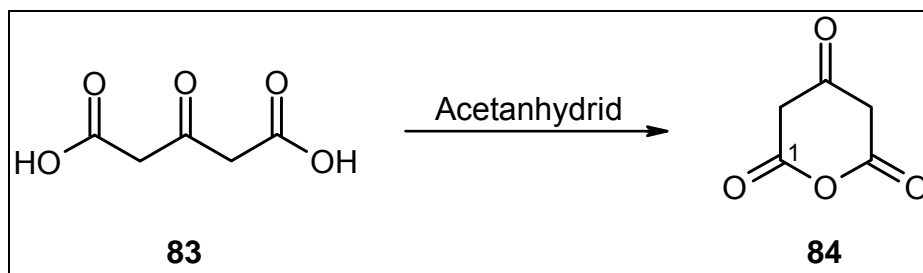


¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 2.76 (1H, H³, ddd); 2.65 (1H, H³, ddd); 2.55 (1H, H⁴, ddd); 2.45 (1H, H⁴, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 174.90 (C2); 168.81 (C1); 167.51 (C5); 30.87 (C4); 26.66 (C3)

- 3-Oxoglutarsäureanhydrid

3-Oxoglutarsäure (10 g) wird portionsweise in eine Mischung aus 15 ml Eisessig und 11 ml Acetanhydrid (frisch destilliert) bei 0 °C gegeben und bei maximal 10 °C gerührt. Dabei wird die Lösung langsam klarer, färbt sich dabei aber bräunlich. Nach ca. zwei Stunden entsteht ein weiß-bräunlicher Niederschlag. Man rührt noch eine Weile weiter, dann wird der Niederschlag abfiltriert und zuerst mit Eisessig, dann mit Benzol gewaschen. Das so erhaltene Produkt wird an der Ölpumpe getrocknet.



Ausbeute: 78 % d. Th. (Lit.: 86 %) ²⁹³

Smp.: 133 °C (Zers.) (Lit.: 137-138 °C)

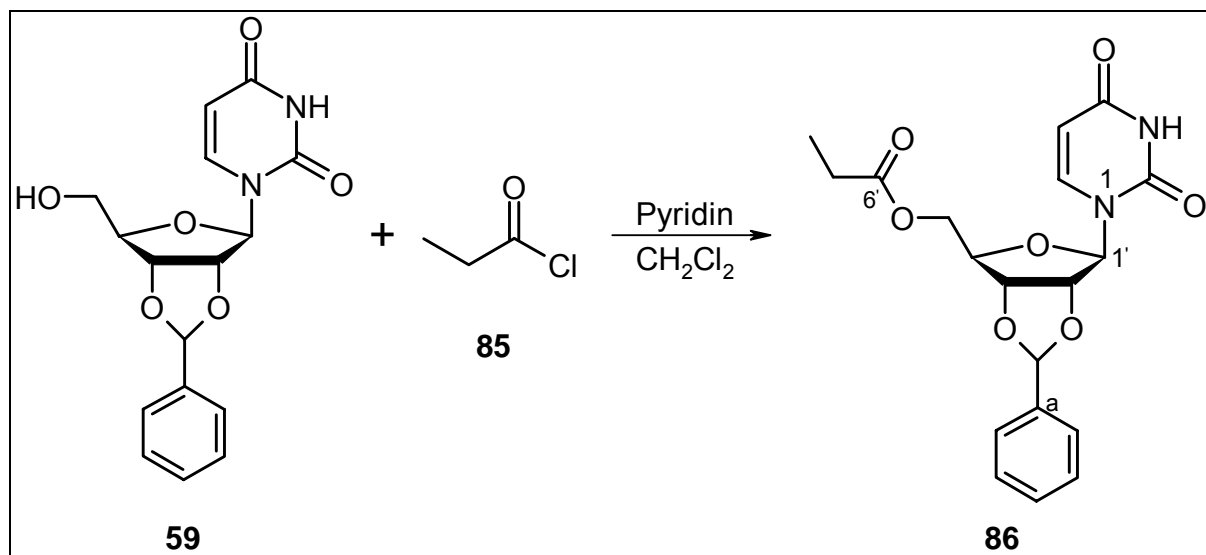
CHN: ber.: C 46.89 %; H 3.15 %

gef.: C 46.59 %; H 3.15 %

- Propionsäure-(2',3'-O-benzylidenuridin-5'-yl)ester

Benzylidenuridin (3 mmol) und Propionylchlorid (4.5 mmol) werden in 20 ml einer Mischung aus absolutem Dichlormethan und absolutem Pyridin (1:1) unter Feuchtigkeitsausschluß ca. eine Woche lang gerührt. Dabei trübt sich die anfangs klare Lösung langsam. Anschließend wird die Lösung filtriert und so weit wie möglich am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird über eine Kieselgelsäule mit Dichlormethan/Methanol (20:1) als Fließmittel chromatographiert. Nach Einengen der Produktfraktionen bleibt eine durchsichtig-klare, nicht kristalline Masse zurück. Diese wird in wenig Dichlormethan aufgenommen und schnell an der Ölpumpe abgezogen. Dadurch erhält man das Produkt in amorpher Form.

²⁹³ Meltzer, P. C.; Wang, B.; Chen, Z.; Blundell, P.; Jayaraman, M.; Gonzalez, M. D.; George, C.; Madras, B. K. Synthesis of 6- and 7-Hydroxy-8-azabicyclo[3.2.1]octanes and Their Binding Affinity for the Dopamine and Serotonin Transporters. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2619-2635.



Ausbeute: 35 % d. Th.

R_f: 0.63 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.41 (1H, NH, bs); 7.73, 7.71 (1H, H⁶, d); 7.47 (5H, arom., m); 6.14, 5.97 (1H, Ph-H, s); 5.93, 5.91 (1H, H^{1'}, d); 5.66, 5.64 (1H, H⁵, dd); 5.19, 5.07 (1H, H^{2'}, dd); 4.96, 4.91 (1H, H^{3'}, dd); 4.31 (3H, H^{4', 5'}, m); 2.33 (2H, H^{7'}, m); 1.02, 1.01 (3H, H^{8'}, t)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 173.55, 173.50 (C6'); 163.68, 163.29 (C4); 150.47, 150.46 (C2); 143.21, 142.89 (C6); 136.16, 136.12 (Ca); 129.96, 129.83 (Cd); 128.54, 128.45 (Cb, Cf); 127.07, 127.04 (Cc, Ce); 106.75, 102.89 (Ph-C); 102.19, 101.91 (C5); 92.84, 91.94 (C1'); 84.81, 84.40 (C4'); 82.85, 81.85 (C2'); 81.35, 80.65 (C3'); 64.18, 63.98 (C5'); 26.76 (C7'); 9.03, 9.01 (C8')

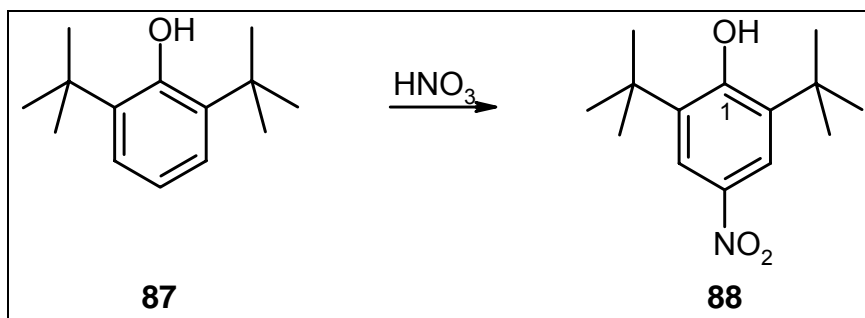
CHN: ber.: C 58.76 %; H 5.19 %; N 7.21 %

gef.: C 58.68 %; H 5.26 %; N 7.15 %

- 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol

Zu einer Lösung von 2,6-Di-tert-butyl-phenol (0.25 mmol) in 40 ml n-Hexan werden über einen Zeitraum von einer Stunde 47.25 g 30prozentige Salpetersäure zugegeben. Die Reaktionstemperatur wird dabei unter 55 °C gehalten

(Eis-/Wasserbad). Eine erste Präzipitatbildung tritt nach ca. 25 min auf. Anschließend wird der Ansatz über Nacht gerührt. Der gebildete orange bis rotbraune Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals mit n-Hexan und anschließend mit Wasser gewaschen (jeweils 50 ml/Waschvorgang). Falls das meta-Produkt (dunkel-lila Brocken) in größerer Menge entstanden ist, wird dieses sorgfältig mit n-Hexan ausgerührt. Zuletzt wird der Rückstand aus n-Hexan umkristallisiert.



Ausbeute: 56 % d. Th. (Lit.: 83 %) ²⁹⁴

Smp.: 152-154 °C (Lit.: 156 °C) ²⁹⁴

R_f: 0.86 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 8.10 (2H, arom., s); 5.91 (1H, OH, s); 1.45 (18H, -CH₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ [ppm]: 159.52 (C4); 140.70 (C2, C6); 136.61 (C1); 121.37 (C3, C5); 34.55 (-C-CH₃); 29.91 (-C-CH₃)

CHN: ber.: C 66.91 %; H 8.42 %; N 5.57 %

gef.: C 66.75 %; H 8.38 %; N 5.61 %

Nebenprodukt (meta-Substitution):

Smp.: 245 °C

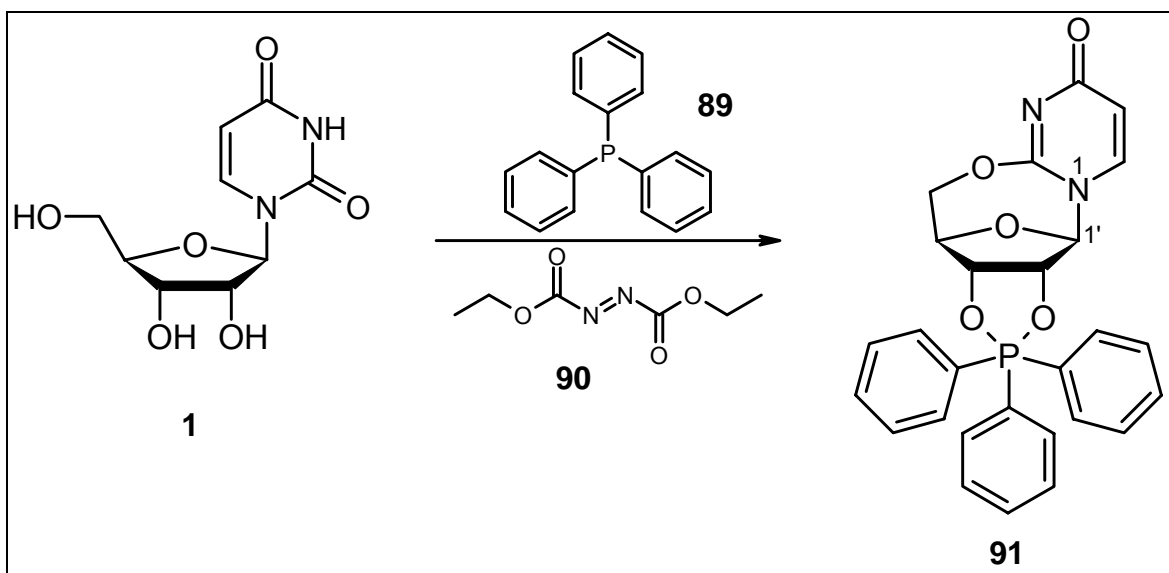
²⁹⁴ Stroh, R.; Seydel, R.; Hahn, W. Alkylierung von Phenolen mit Olefinen. In *Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie*. Foerst, W. (Hrsg.), Bd. 2, Verlag Chemie: Weinheim 1960, S. 243.

R_f: 0.86 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.45 (1H, OH, s); 8.00 (2H, H⁴, s); 7.78 (1H, H⁵, s); 1.41 (9H, C2-C(CH₃)₃, s); 1.32 (9H, C6-C(CH₃)₃, s)

- 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-5',O²-cyclouridin

Zu einer Lösung von Uridin (20 mmol) und Triphenylphosphin (60 mmol) in absolutem THF (50 ml) wird eine Lösung von Azodicarbonyldiethylester (60 mmol) ebenfalls in absolutem THF (8 ml) unter Feuchtigkeitsausschluß unter Rühren bei Raumtemperatur langsam zugetropft. Noch währenddessen wird die Lösung zunächst fast klar, bis sich ein neuer Niederschlag bildet. Nachdem der Reaktionsansatz weiter über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde, wird der Niederschlag über eine Fritte abfiltriert und mit THF und Ether gewaschen (jeweils dreimal 50 ml). Der Rückstand wird aus Dimethylformamid umkristallisiert.



Ausbeute: 60 % d. Th. (Lit.: 65 %) ²⁹⁵

Smp.: > 250 °C (Lit.: > 250 °C) ²⁹⁵

²⁹⁵ Kimura, J.; Yagi, K.; Suzuki, H.; Mitsunobu, O. Studies on Nucleosides and Nucleotides. VIII. Preparation and Reactions of Triphenylphosphorandiynucleosides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 3670-3677.

R_f: 0.10 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 8.02 (1H, H⁶, d); 7.40, 7.30 (15H, arom., m); 5.90 (1H, H⁵, d); 5.85 (1H, H^{1'}, s); 4.81 (1H, H^{2'}, dd); 4.72 (1H, H^{4'}, s); 4.54 (1H, H^{5'}, dd); 4.51 (1H, H^{3'}, pt); 4.14 (1H, H^{5''}, d)

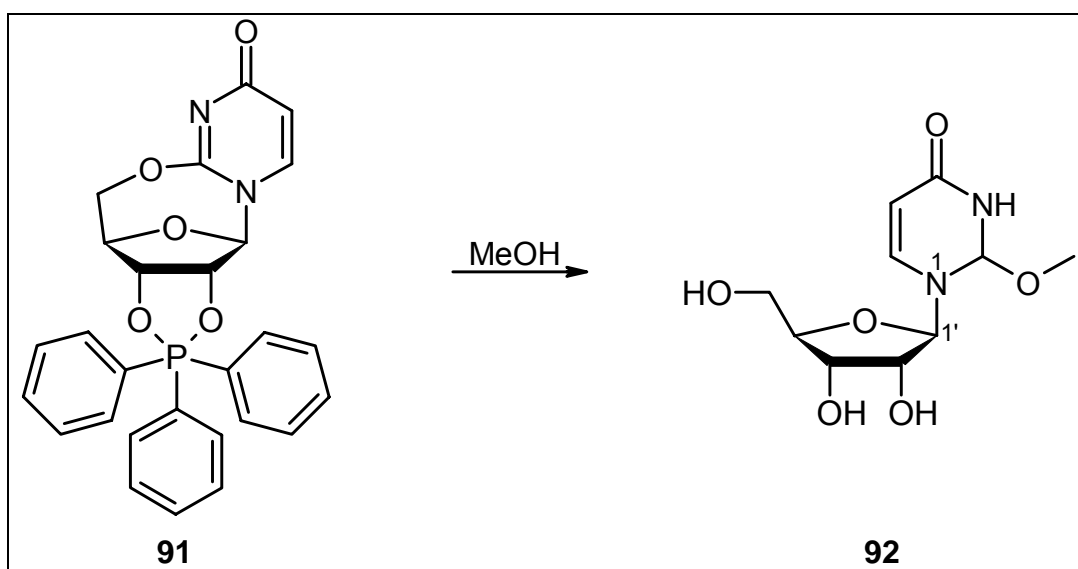
¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 170.69 (C4); 157.09 (C2); 144.77, 143.83 (Ca); 143.45 (C6); 130.88, 130.79 (Cb, Cf); 128.59, 128.57 (Cd); 127.73, 127.63 (Cc, Ce); 109.07 (C5); 97.92, 97.90 (C1'); 85.45, 85.42 (C4'); 76.98, 76.96 (C2'); 74.49 (C5'); 72.85, 72.83 (C3')

CHN: ber.: C 66.66 %; H 4.77 %; N 5.76 %

gef.: C 65.89 %; H 4.66 %; N 5.94 %

- O²-Methyluridin

2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-5',O²-cyclouridin (10 mmol) wird 10 h unter Rückfluß in absolutem Methanol (300 ml) unter Feuchtigkeitsausschluß gekocht, anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand mit trockenem Aceton (insgesamt 100 ml) gewaschen und aus Methanol umkristallisiert.



Ausbeute: 78 % d. Th. (Lit.: 80 %) ²⁹⁵

Smp: 160 °C (Lit.: 171-172 °C) ²⁹⁵

R_f: 0.08 (CH₂Cl₂:MeOH 9:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 7.98 (1H, H⁶, d); 5.85 (1H, H⁵, d); 5.70 (1H, H^{1'}, d); 5.46 (1H, OH^{3'}, d); 5.11 (2H, OH^{3', 5'}, m); 4.06 (1H, H^{2'}, dd); 3.96 (1H, H^{3'}, dd); 3,87 (4H, H^{4'}, O-CH₃, s); 3.65 (1H, H^{5'}, ddd); 3.56 (1H, H^{5''}, ddd)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 169.72 (C4); 155.93 (C2); 138.39 (C6); 108.10 (C5); 89.63 (C1'); 85.35 (C4'); 74.30 (C2'); 69,76 (C3'); 60,75 (C5'); 55.41 (O-CH₃)

¹H-NMR (500 MHz, 10 % Ethylbenzen in CDCl₃) δ [ppm]: 7.97 (1H, H⁶, d); 6.06 (1H, H⁵, d); 5.83 (1H, H^{1'}, d); 4.27 (1H, H^{2'}, dd); 4.12 (1H, H^{3'}, pt); 4.07 (1H, H^{4'}, m); 3.97 (3H, O-CH₃, s); 3.88 (1H, H^{5'}, dd); 3.75 (1H, H^{5''}, dd)

¹³C-NMR (500 MHz, 10 % Ethylbenzen in CDCl₃) δ [ppm]: 175.22 (C4); 157.43 (C2); 140.47 (C6); 107.33 (C5); 91.34 (C1'); 84.53 (C4'); 74.87 (C2'); 69.24 (C3'); 60.70 (C5'); 56.68 (O-CH₃)

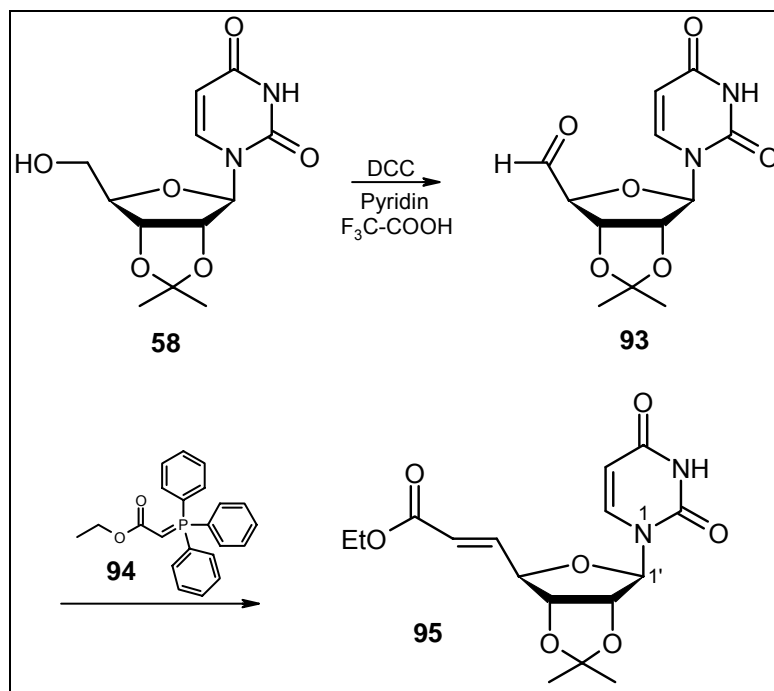
CHN: ber.: C 46.51 %; H 5.46 %; N 10.85 %

gef.: C 46.34 %; H 5.35 %; N 10.66 %

- 3-[6-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,2-dimethyl-tetrahydro-furo[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl]-acrylsäure-ethylester

Zu einer Lösung von 2',3'-O-Isopropylidenuridin (1 mmol), trockenem Pyridin (1 mmol, 0.08 ml) und Trifluoressigsäure (0.5 mmol, 0.038 ml) in trockenem DMSO (5 ml) wird Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, 3 mmol) gegeben und 24 h bei Raumtemperatur und unter Feuchtigkeitsausschuß gerührt. Anschließend wird Ethoxycarbonylmethylen-triphenylphosphoran (1.6 mmol) dazugegeben und weitere 20 h gerührt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt, mit 55 ml Ethylacetat versetzt und Oxalsäure-Monohydrat (488 mg) zugegeben. Nach 30 min wird vom Ungelösten

abfiltriert und das Filtrat mit gesättigter NaCO_3 -Lösung (insgesamt 60 ml) gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels zu einem himbeerfarbenen Konzentrat eingengt. Dieses Konzentrat wird über eine Kieselgelsäule mit einem Gemisch aus n-Hexan und Ethylacetat (3:1) als Laufmittel chromatographiert. Das Produkt fällt als glasartige, amorphe Masse an.



Ausbeute: 10 % d. Th. (Lit.: 69 %) ²⁹⁶

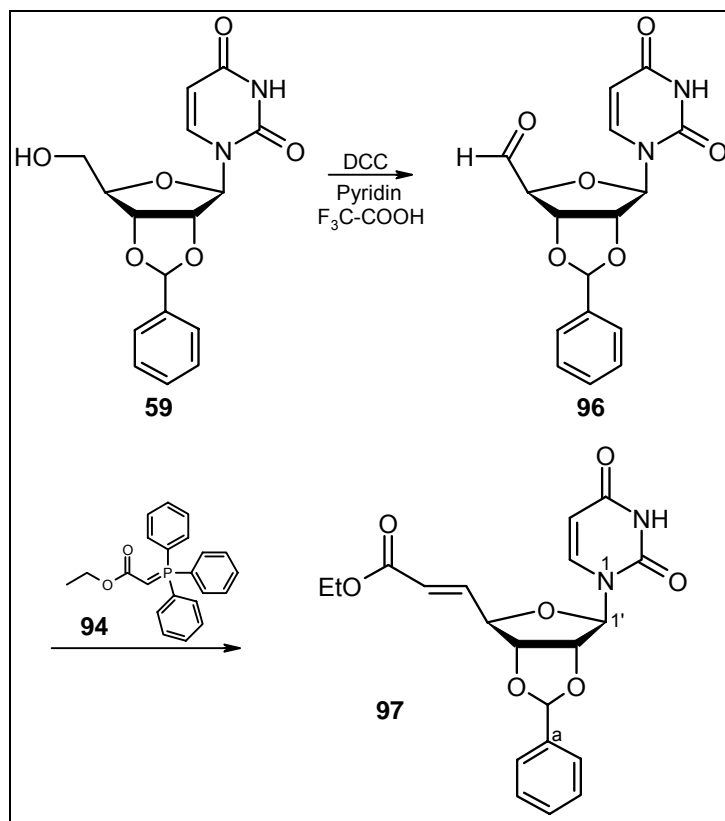
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 11.40 (1H, NH , d); 7.71 (1H, H^6 , d); 6.92 (1H, H^5 , dd, $^3J_{5-6}$ 15.61 Hz, $^3J_{5-4}$ 6.46 Hz); 6.01 (1H, H^6 , $^3J_{6-5}$ 15.61 Hz, $^4J_{6-4}$ 1.26 Hz); 5.82 (1H, $\text{H}^{1'}$, d); 5.62 (1H; H^5 , dd); 5.11 (1H; $\text{H}^{2'}$, dd); 4.84 (1H, $\text{H}^{3'}$, dd); 4.62 (1H, $\text{H}^{4'}$, ddd); 4.12 (2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, qa); 1.50 (3H, C-CH_3 , s); 1.28 (3H, C-CH_3 , s); 1.20 (3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, t)

$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm]: 165.30 ($\text{C}7'$); 163.35 ($\text{C}4$); 150.44 ($\text{C}2$); 144.80 ($\text{C}6'$); 143.66 ($\text{C}6$); 122.40 ($\text{C}5'$); 113.61 (O-C-O); 102.01 ($\text{C}5$); 92.94 ($\text{C}1'$); 85.72 (C); 83.86 (C); 83.65 (C); 60.31 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 27.07 (C-CH_3); 25.34 (C-CH_3); 14.22 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)

²⁹⁶ Tronchet, J. M. J.; Valero, M. J. Recherche d'analogues de nucléosides à activité antivirale. *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 2788-2792.

- 3-[6-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2-phenyl-tetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl]-acrylsäure-ethylester

Zu einer Lösung von 2',3'-O-Benzylidenuridin (5 mmol), trockenem Pyridin (5 mmol, 0.4 ml) und Trifluoressigsäure (2.5 mmol, 0.23 ml) in trockenem DMSO (25 ml) wird Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, 15 mmol) gegeben und 24 h bei Raumtemperatur und unter Feuchtigkeitsausschuß gerührt. Anschließend wird Ethoxycarbonylmethylen-triphenylphosporan (8 mmol) dazugegeben und weitere 20 h gerührt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt, mit 100 ml Ethylacetat versetzt und Oxalsäure-Monohydrat (2.45 g) zugegeben. Nach 30 min wird vom Ungelösten abfiltriert und das Filtrat mit gesättigter NaCO₃-Lösung (insgesamt 150 ml) gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels zu einem dunkelroten Konzentrat eingengt. Dieses Konzentrat wird über eine Kieselgelsäule mit einem Gemisch aus n-Hexan und Ethylacetat (3:1) als Laufmittel chromatographiert. Die Produktfraktionen ergeben eine klare pastöse Masse. Diese wird in wenig Ethylacetat (2 ml) aufgenommen und das Lösungsmittel schnell an der Ölpumpe abgezogen. Dadurch erhält man das Produkt als amorphen Schaum.



Ausbeute: 14 % d. Th.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 11.42 (1H, NH , s); 7.77 (1H, H^6 , d, $^3J_{6-5}$ 7.88 Hz); 7.48, 7.42 (5H, arom., m); 7.01 (1H, $\text{H}^{5'}$, dd, $^3J_{5'-6'}$ 15.61 Hz, $^3J_{5'-4'}$ 6.46 Hz); 6.17 (1H, Ph-CH , s); 6.06 (1H, $\text{H}^{6'}$, dd, $^3J_{6'-5'}$ 15.61 Hz, $^4J_{6'-4'}$ 1.42 Hz); 5.97 (1H, $\text{H}^{1'}$, d); 5.66 (1H, H^5 , dd, $^3J_{5-6}$ 7.88 Hz); 5.13 (1H, $\text{H}^{2'}$, dd); 5.04 (1H, $\text{H}^{3'}$, dd); 4.84 (1H, $\text{H}^{4'}$, ddd, $^4J_{4'-6'}$ 1.42 Hz); 4.14 (2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, qa); 1.21 (3H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, t)

$^{13}\text{C-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 165.27 (C7'); 163.29 (C4); 150.49 (C2); 144.85 (C5'); 143.44 (C6); 136.06 (Ca); 129.86 (Cd); 128.47 (Cc, e); 127.00 (Cb, f); 122.37 (C6'); 103.08 (Ph-CH); 102,21 (C5); 92.54 (C1'); 83.61 (C); 83.00 (C); 82.65 (C); 60.33 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 14.22 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)

CHN: ber.: C 60.00 %; H 5.03 %; N 7.00 %

gef.: C 61.26 %; H 5.56 %; N 6.05 %

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7 * \frac{1}{4} \text{C}_6\text{H}_{14}$ (n-Hexan)

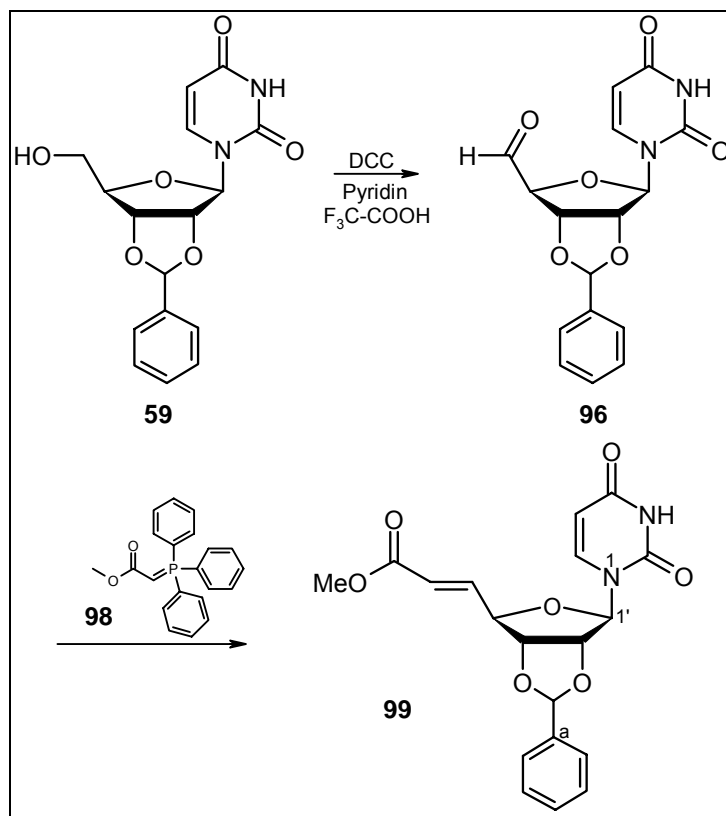
ber.: C 61.20 %; H 5.61 %; N 6.64 %

gef.: C 61.26 %; H 5.56 %; N 6.05 %

- 3-[6-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2-phenyl-tetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl]-acrylsäure-methylester

Zu einer Lösung von 2',3'-O-Benzylidenuridin (5 mmol), trockenem Pyridin (5 mmol, 0.4 ml) und Trifluoressigsäure (2.5 mmol) in trockenem DMSO (25 ml) wird Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, 15 mmol) gegeben und 24 h bei Raumtemperatur und unter Feuchtigkeitsausschuß gerührt. Anschließend wird Ethoxycarbonylmethylen-triphenylphosphoran (8 mmol) dazugegeben und weitere 20 h gerührt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt, mit 100 ml Ethylacetat versetzt und Oxalsäure-Monohydrat (2.45 g) zugegeben. Nach 30 min wird vom Ungelösten abfiltriert und das Filtrat mehrmals mit gesättigter NaCO_3 -Lösung (insgesamt 150 ml) und einmal mit Wasser (50 ml) gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abfiltrieren des Trocknungsmittels zu einem Konzentrat eingengt. Dieses Konzentrat wird über eine Kieselgelsäule mit

einem Gradienten aus Dichlormethan und Methanol (100:0 – 99:1) als Fließmittel chromatographiert. Die Produktfraktionen ergeben eine klare pastöse Masse. Diese wird in wenig Ethylacetat (2 ml) aufgenommen und das Lösungsmittel schnell an der Ölpumpe abgezogen. Dadurch erhält man das Produkt als amorphen Schaum.



Ausbeute: 50 % d. Th.

R_f: 0.62 (EtOAc:MeOH 20:1)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.44, 11.42 (1H, NH, s); 7.78, 7.77 (1H, H⁶, d, ³J₆₋₅ 8.16 Hz); 7.49 (5H, arom., m), 7.02, 6.99 (1H, H⁵, dd, ³J₅₋₆ 15.79 Hz, ³J₅₋₄ 6.31 Hz); 6.16, 5.98 (1H, Ph-CH, s); 6.08, 6.06 (1H, H⁶, dd, ³J₆₋₅ 15.79 Hz, ⁴J₆₋₄ 1.32 Hz); 5.96, 5.95 (1H, H^{1'}, d); 5.66, 5.64 (1H, H⁵, dd, ³J₅₋₆ 8.16 Hz), 5.30, 5.14 (1H, H², dd); 5.04, 4.89 (1H, H³, dd); 4.85 (1H, H⁴, m); 3.68, 3.66 (3H, O-CH₃, s)

¹³C-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 165.79, 165.75 (C7'); 163.37, 163.30 (C4); 150.51, 150.49 (C2); 145.15 (C5'); 144.07, 143.50 (C6); 136.05 (Ca); 129.98, 129.86 (Cd); 128.52, 128.47 (Cc, Ce); 127.13, 127.01 (Cb, Cf); 122.04, 122.00 (C6'); 106.70,

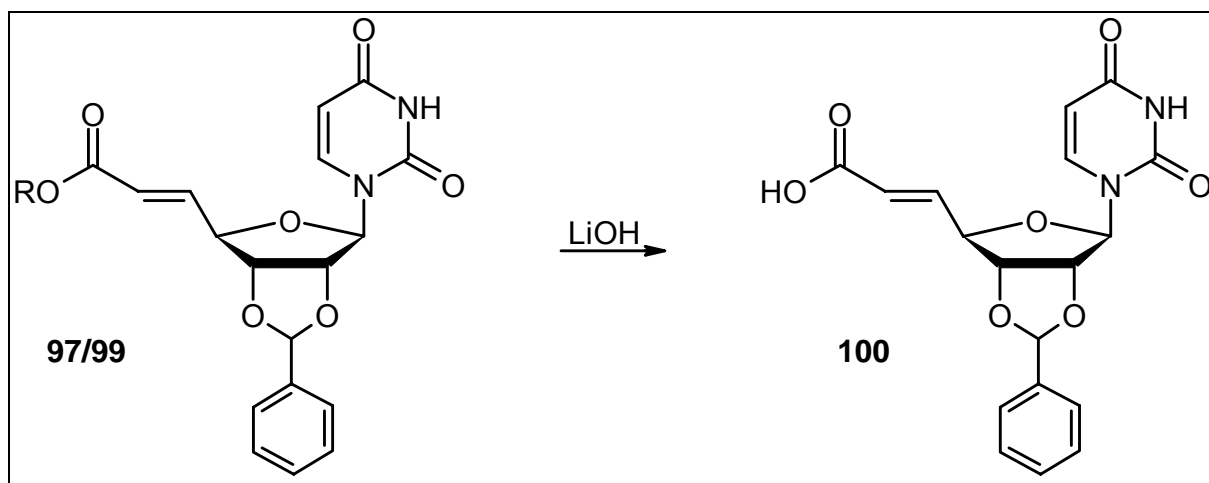
103.06 (Ph-CH); 102.18, 101.99 (C1'); 86.22, 82.80 (C4'); 85.12, 83.05 (C2'); 84.37, 83.67 (C3'); 51.71, 51.68 (O-CH₃)

CHN: ber.: C 59.07 %; H 4.70 %; N 7.25 %

gef.: C 58.47 %; H 4.94 %; N 7.00 %

- 3-[6-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2-phenyl-tetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl]-acrylsäure

Die zu hydrolysierende Verbindung wird in einem THF-Wasser-Gemisch (1:1, 15 ml) gelöst, mit zwei Äquivalenten Lithiumhydroxid (LiOH·H₂O) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird per HPLC mit einem Gradienten aus Ammoniumacetat (0.1 %) und Methanol (50:50 - 0:100 über 20 min) gereinigt.



¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 11.35 (1H, NH, s); 7.76 (1H, H⁶, d); 7.45 (5H, arom., m); 6.92 (1H, H⁵, dd); 6.16 (1H, Ph-CH, s); 5.98 (2H, H^{6'}, 1', m); 5.66 (1H, H⁵, d); 5.12 (1H, H^{2'}, dd); 5.02 (1H, H^{3'}, pt); 4.81 (1H, H^{4'}, pt)

Anhang

Verzeichnis der Abbildungen:

Abb. 1: Schematische Darstellung eines intrazellulären Rezeptors.....	17
Abb. 2: Ligand-gesteuerter Ionenkanal	19
Abb. 3: Der sekundäre Botenstoff cyclo-Adenosinmonophosphat.....	21
Abb. 4: Die sekundären Botenstoffe Inositol-1,4,5-trisphosphat und Diacylglycerol.....	22
Abb. 5: Funktionsweise und Signaltransduktionswege von GPCRs	22
Abb. 6: Hopfenzapfen und seine Inhaltsstoffe.....	34
Abb. 7: Baldrian und seine Inhaltsstoffe	34
Abb. 8: Strukturformeln von als Sedativa gebrauchten H ₁ -Antihistaminika	35
Abb. 9: Grundgerüst der Barbiturate und Strukturformel von Chloralhydrat	35
Abb. 10: Grundgerüst der Benzodiazepine	36
Abb. 11: Strukturformeln der neuen Benzodiazepin-ähnlichen Hypnotika.....	37
Abb. 12: Das Nukleosid Uridin.....	40
Abb. 13: Pharmakologische Wirkungen von Uridin	41
Abb. 14: Oxopyrimidine mit ZNS-dämpfenden Eigenschaften.....	42
Abb. 15: Effekt auf paradoxen und slow-wave-Schlaf von Mäusen	44
Abb. 16: Strukturformeln und Eigenschaften von Uridin und N3-Benzyluridin.....	46
Abb. 17: Struktur-Wirkungsbeziehungen von Uridin für die hypnotische Wirkung.....	46
Abb. 18: Bei iv-Applikation hypnotisch wirkende Uridin-Derivate.....	47
Abb. 19: N3-Phenacyluridin.....	48
Abb. 21: Geplanter Radioligand [³ H]N3-Phenacyluridin.....	51
Abb. 20: Geplante N3-Substituenten.....	51
Abb. 22: Ergebnisse der Syntheseversuche von 4-Hydroxyphen-acylbromid aus 4-Hydroxyacetophenon.....	65
Abb. 23: Ergebnisse der Phenoetherspaltungsversuche von N3-(4-Methoxyphenacyl)uridin	69
Abb. 24: Ergebnis des Phenoetherspaltungsversuchs mit Natriumcyanid.....	70
Abb. 25: Ergebnis des Alkylierungsversuchs von Uridin mit 4-Hydroxyphenacylbromid	72
Abb. 26: Ergebnis des Bromierungsversuchs mit Brom und Schwefelsäure	75
Abb. 27: Ergebnisse der Benzyletherspaltungsversuche.....	78
Abb. 28: Bromierungsversuch von 4-Aminoacetophenon	79
Abb. 29: Syntheseversuch von N3-(4-Aminophenacyl)uridin mit 4-Aminophenacylbromid.....	82
Abb. 30: N3-Phenethyl-, N3-Styryl- und N3-Phenacyluridin.....	84
Abb. 31: Einteilung und Subtypen der Nukleosid- und Nukleotid-Rezeptoren.....	90
Abb. 32: Metabolische Umwandlung natürlich vorkommender Nukleotide mit extrazellulärer Wirkung.....	92
Abb. 33: ausgewählte P2-Rezeptor-Antagonisten	95
Abb. 34: Das Nukleosid Adenosin	95
Abb. 35: Beispiele für potente und selektive Adenosin-Rezeptor-Agonisten	97
Abb. 36: Beispiele für potente und selektive Adenosin-Rezeptor-Antagonisten	98

Abb. 37: Das Nukleotid Adenosintriphosphat.....	99
Abb. 38: Schematische Darstellung eines P2X-Rezeptors.....	99
Abb. 39: Beispiele für P2-Rezeptoragonisten	102
Abb. 40: Der P2Y1-Antagonist MRS 2279	105
Abb. 41: Struktur-Wirkungs-Beziehungen für den P2Y1-Rezeptor.....	106
Abb. 42: Struktur-Wirkungsbeziehungen für den P2Y ₂ -Rezeptor	107
Abb. 43: Der selektive P2Y ₁₁ -Antagonist NF157.....	108
Abb. 44: P2Y ₁₂ -Antagonisten	110
Abb. 45: Zielstruktur 1	113
Abb. 46: Für die 5'-Veresterung verwendbare Oligocarbonsäuren.....	114
Abb. 47: Zielstruktur 2	115
Abb. 48: Reaktivitätsreihe der Carbonylverbindungen.....	116
Abb. 49: Häufig verwendete Carbodiimide.....	123
Abb. 50: Ergebnis des Syntheseversuchs von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Aceton/Schwefelsäure	127
Abb. 51: Ergebnis des Syntheseversuchs von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Aceton/Toluolsulfonsäure	127
Abb. 52: Ergebnis der 2',3'-Isopropylidengruppen-Entfernung mit TFA	129
Abb. 53: ¹ H-NMR von 2',3'-O-Benzylidenuridin	132
Abb. 54: ¹³ C-NMR von 2',3'-O-Benzylidenuridin	133
Abb. 55: 2-Oxoglutarsäure	149
Abb. 56: Ergebnis des Veresterungsversuchs mit EDC/DMAP	149
Abb. 57: 3-Oxoglutarsäure	152
Abb. 58: Veresterungsversuch von EDTA und 2',3'-O-Benzylidenuridin mit Diisopropylcarbodiimid/DMAP	155
Abb. 59: Ergebnisse der 2',3'-O-Benzylidenabspaltungsversuche	157
Abb. 60: σ-Komplexe von 4- und 3-Nitro-2,6-di-tert-butylphenol	160
Abb. 61: Migration der 5'-O-Triphenylphosphoniogruppe	167
Abb. 62: Ergebnisse der 2',3'-O-Benzylidengruppen-Abspaltungsversuche	173
Abb. 63: Entwickelter Radioligand und synthetisierte N3-Phenacylderivate	174
Abb. 64: geschützte Citronensäureuridin-5'-ylester	175
Abb. 65: 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]-acrylsäure-alkylester	176

Verzeichnis der Schemata

Schema 1: Reaktionsschema der N3-Alkylierung von Uridin mit Phenacylbromiden	52
Schema 2: Teilschritt 1 – N3-Deprotonierung	53
Schema 3: Teilschritt 2 – N3-Alkylierung.....	54
Schema 4: Polarisierung der Carbonylgruppe durch AlCl ₃	55
Schema 5: Keto-Enol-Tautomerie von Acetophenon	56
Schema 6: Synthese von Phenacylbromid aus Phenylmethylcarbinol mit NBS	56
Schema 7: Synthese von Phenacylbromiden aus Acetophenonen mit Kupfer(II)bromid	57
Schema 8: Friedel-Crafts-Acylierung von Trichlorbenzol mit Chloracetylchlorid	60
Schema 9: Halogenierung von Trichloracetophenon	60
Schema 10: Reaktionsprodukte des Systems Acetylchlorid/Blei(IV)acetat	61
Schema 11: Bromierung von 2,3,4-Trichlorbenzol	62
Schema 12: Hydrierung von N3-(2,4-Dichlorphenacyl)uridin	64
Schema 13: Bromierung von Hydroxyacetophenonen.....	65
Schema 14: Phenoetherspaltung von N3-(Methoxyphenacyl)uridinen zu N3-(Hydroxyphenacyl)uridinen	66
Schema 15: Phenoetherspaltung mit Natriumcyanid	67
Schema 16: Entstehung des Methylsulfinylcarbanions	67
Schema 17: Phenoetherspaltung mit dem Methylsulfinylcarbanion	68
Schema 18: Phenoetherspaltung mit Aluminiumtrichlorid	68
Schema 19: Phenoetherspaltung von Methoxyphenacylbromiden	70
Schema 20: Phenoetherspaltung mit Aluminiumtrichlorid	71
Schema 21: Konkurrenzreaktion zwischen Uridin und 4-Hydroxyphenacylbromid mit Kaliumcarbonat.....	71
Schema 22: Syntheseroute zu N3-(Hydroxyphenacyl)uridinen über die Benzylether der Acetophenone	73
Schema 23: Benzylierung von Acetophenonen (beispielhaft mit p-OH-Acetophenon dargestellt).....	74
Schema 24: Bromierung der Benzyloxyacetophenone	74
Schema 25: Bromierung von 3-Benzyloxyacetophenon	75
Schema 26: N3-Alkylierung von Uridin mit den Benzyloxyphenacylbromiden.....	76
Schema 27: Abspaltung der Benzylschutzgruppe.....	76
Schema 28: Reduktion von 4-Nitrophenacylbromid mit Natriumdi-thionit.....	80
Schema 29: Reduktion von halogenierten 4-Nitroacetophenonen mit Kupfer/Schwefelsäure	80
Schema 30: Bromierung von 4-Acetamidoacetophenon.....	81
Schema 31: Abspaltung der Acetamidenschutzgruppe	81
Schema 32: Reduktion von N3-(4-Nitrophenacyl)uridin zu N3-(4-Aminophenacyl)uridin	83
Schema 33: Reaktionsschema der Styrylsubstitution von Enamiden und Imiden mit Kupferiodid	85
Schema 34: Synthese von N3-Styryluridin	86
Schema 35: Reaktionsprinzip der Veresterung.....	116
Schema 36: prinzipieller Reaktionsmechanismus der Veresterung.....	117

Schema 37: Der A _{AC} 2-Mechanismus	118
Schema 38: Der A _{AL} 1-Mechanismus.....	119
Schema 39: Der A _{AC} 1-Mechanismus	119
Schema 40: Mögliche Reaktionswege bei der Veresterung mit DCC.....	121
Schema 41: Mesomeriestabilisierung des N1-Acyl-DMAP	122
Schema 42: Letzter Schritt der Veresterung mit DCC/DMAP	123
Schema 43: Veresterung mit CDI.....	124
Schema 44: Teilschritt 1 der Veresterung mit CDI.....	125
Schema 45: Teilschritt 2 der Veresterung mit CDI.....	125
Schema 46: Synthese von 2',3'-O-Isopropylidenuridin mit Aceton/Nafion®	128
Schema 47: Entfernung der 2',3'-O-Isopropylidengruppe mit Iod/Methanol.....	131
Schema 48: Synthese von 2',3'-O-Benzylidenuridin	132
Schema 49: Entfernung der 2',3'-O-Benzylidenschutzgruppe mit Palladium/Bariumsulfat	134
Schema 50: Synthese von 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäure	135
Schema 51: Synthese von 3-(1,3-Dioxolan-5-oxo-4-yl)glutarsäureanhydrid	136
Schema 52: Synthese von 3-Alkyloxy-3-hydroxyglutarsäure-1-alkylester	136
Schema 53: Synthese von 3-Alkoxy-carbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-alkylester-(2',3'-O-benzyliden- uridin-5'-yl)ester	138
Schema 54: Reaktionsmechanismus der Deallylierung mit Palladium(0)	139
Schema 55: Reaktionsmechanismus der Deallylierung mit Rhodiumkomplexen.....	139
Schema 56: Syntheseroute zu 3-Alkoxy-carbonyl-3-hydroxy-glutarsäure-alkylester-(5-alkyluridin-5'-yl)- ester	141
Schema 57: Reaktionsmechanismus der Silylierung von 5-Alkyluracilen	143
Schema 58: Bildung des Ribose-Acyl-Kations	144
Schema 59: Reaktionsmechanismus der Hilbert-Johnson-Reaktion.....	146
Schema 60: Abspaltung der Ribose-Schutzgruppen	148
Schema 61: Veresterung von Uridin und 2-Oxoglutarsäure mit DCC/DMAP	150
Schema 62: Veresterung von EDTA und 4-(2-Hydroxy-ethyl)-benzonsulfonamid mit Diisopropylcarbodiimid	154
Schema 63: Synthese von Propionsäure-(2',3'-O-benzylidenuridin-5'-yl)ester	156
Schema 64: Syntheseroute zur Darstellung von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]- acrylsäure	159
Schema 65: Teilschritt 1 der Mitsunobu-Reaktion	162
Schema 66: Bildung des O-Phosphoniumsalzes	162
Schema 67: Teilschritt 2 der Mitsunobu-Reaktion	163
Schema 68: 1. Möglicher Teilschritt 3 der Mitsunobu-Reaktion.....	163
Schema 69: 2. Möglicher Teilschritt 3 der Mitsunobu-Reaktion.....	163
Schema 70: Teilschritt 4 der Mitsunobu-Reaktion	164
Schema 71: Synthese von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O ² ,5'-cyclouridin	165
Schema 72: Reaktionsmechanismus der Bildung von 2',3'-O-(Triphenylphosphorandiyl)-O ² ,5'- cyclouridin.....	165

Schema 73: Gleichgewichtspaare des Triphenylphosphoniouridins mit 2,6-Di-tert-butyl-4-nitrophenol bzw. DEAD	167
Schema 74: Synthese von 3-[3,4-Dihydroxy-5-(uracil-1-yl)tetrahydro-furan-2-yl]acrylsäure-alkylester über die Pfitzner-Moffat-Oxidation	169
Schema 75: Reaktionsmechanismus der Pfitzner-Moffat-Oxidation	170
Schema 76: Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid	171

Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1: IC ₅₀ -Werte (nM) ausgewählter P2-Rezeptor-Antagonisten	94
Tab. 2: Mögliche Heteromere von P2X-Rezeptoren	100
Tab. 3: Gewebeverteilung und Signaltransduktion von P2X-Rezeptoren	101
Tab. 4: EC ₅₀ -Werte (nM) von ausgewählten Agonisten an P2X-Rezeptoren	101
Tab. 5: Charakteristika der P2Y-Rezeptoren	103

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABOPX	3-(3-iodo-4-aminobenzyl)-8-(4-oxyceto)phenyl-1-propylxanthin
AC	Adenylatcyclase
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
Ap ₄ A	Diadenosin-tetraphosphat
arom	aromatisch
ATP	Adenosintriphosphat
ATP _γ S	Adenosin-5'-(γ-thio)triphosphat
α,β-meATP	α,β-Methylenadenosintriphosphat
b	breit
ber	berechnet
Bz	Benzyliden
Bz-ATP	2'- o. 3'-O-(4-Phenylbenzoyl)-adenosintriphosphat
cAMP	cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat
CCPA	2-Chlor-N6-cyclopentyladenosin
CGS-21680	2-[4-(Carboxyethyl)phenylethylamino]-5'-N-ethylcarboxamidoadenosin
CHN	Elementaranalyse
CDI	N,N'-Carbonyldiimidazol
CHO	chinesische Hamsterovarien
CI-IB-MECA	2-Chlor-N6-(3-iodbenzyl)-5'-(N-methylcarbamoyl)adenosin
d	Dublett
d4T	2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin
d. Th.	der Theorie
DAG	Diacylglycerol
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0.]-7-undecen
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DEAD	Azodicarbonsäurediethylester
DMAP	N,N-Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMIZ	1,3-Dimethyl-2-imidazolin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPCPX	8-Cyclopentyl-1,3-dipropylxanthin
EC ₅₀	halbmaximale Effektivkonzentration
EDC	N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid

EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ERK	extrazellulär regulierte Kinase
EtOAc	Ethylacetat
GABA	γ -Aminobuttersäure
GDP	Guanosindiphosphat
gef	gefunden
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
GTP	Guanosintriphosphat
HMDS	Hexamethylidisilazan
HMPA	Hexamethylphosphortriamid
HOAc	Essigsäure
HPLC	High performance liquid chromatography
HT-AMP	2-Hexylthioadenosinmonophosphat
IC ₅₀	halbmaximale Hemmkonzentration
ICSD	International Classification of Sleep Disorders
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
IUPHAR	The International Union of Pharmacology
iv	intravenös
Lit.	Literatur
m	Multipllett
MAP	mitogen aktivierte Proteinkinase
2-meSATP	2-Methylthioadenosintriphosphat
MeOH	Methanol
MSX-2	3-(3-Hydroxypropyl)-7-methyl-8-(m-methoxystyryl)-1-propargylxanthin
NBS	N-Bromsuccinimid
NECA	N-Ethylcarboxamidouracil
NMR	Nuklear magnetic resonance
NREM	Non Rapid Eye Movement
p	pseudo
PAPET-ATP	2-(4-Aminophenylethylthio)-adenosintriphosphat
PE	Petrolether
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PLC	Phospholipase C
PLMS	Periodic-limb-movement-Syndrom
PPADS	Pyridoxalphosphat-6-azophenyl-2',4'-disulfonsäure
PSB	Pharmaceutical Sciences Bonn
PSB-10	2-(2',3',5'-Trichlorphenyl)-8-ethyl-4-methyl-(8R)-4,5,7,8-tetrahydro-1H-imidazo-[2,1-i]purin-5-on
PSB-11	PSB-11 2-Phenyl-8-ethyl-4-methyl-(8R)-4,5,7,8-tetrahydro-1H-imidazo[2,1-i]purin-5-on
PSB-1115	1-Propyl-8-p-sulfophenylxanthin
qa	Quartett
qi	Quintett
R	aliphatischer/aromatischer Rest
REM	Rapid Eye Movement
RLS	Restless-legs-syndrom
sex	Sextett
Smp	Schmelzpunkt
t	Tripllett
tert	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSCI	Trimethylsilylchlorid
TMU	Tetramethylharnstoff
UDP	Uridindiphosphat
UMP	Uridinmonophosphat
UTP	Uridintriphosphat
UTP γ S	Uridin-5'-(γ -thio)triphosphat
Z	Zersetzung
ZM-214385	4-[2-[[7-Amino-2-(furyl)1,2,4-triazolo[2,3-a]1,3,5-triazin-5-yl]-amino]-ethyl]phenol
ZNS	Zentralnervensystem