

Verena Schenk

# Synthese der $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C

DIPLOMARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades  
einer Diplom-Ingenieurin

der Studienrichtung Technische Chemie  
erreicht an der

**Technischen Universität Graz**

Dipl.-Ing. Dr.techn. Assoc.Prof. Tanja Wrodnigg

Institut für Organische Chemie

Technische Universität Graz

2010

## **Meinen Eltern**

Deutsche Fassung:  
Beschluss der Curricula-Kommission für Bachelor-, Master- und Diplomstudien vom 10.11.2008  
Genehmigung des Senates am 1.12.2008

## EIDESSTÄTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am .....

.....  
(Unterschrift)

Englische Fassung:

## STATUTORY DECLARATION

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources / resources, and that I have explicitly marked all material which has been quoted either literally or by content from the used sources.

.....  
date

.....  
(signature)

## Danksagung

In erster Linie möchte ich Frau Professor Tanja Wrodnigg und Herrn Professor Arnold Stütz für die Aufnahme in die Glyco-Group, in der ich sehr viel lernen konnte und ein tolle Zeit verbracht habe, danken. Weiters danke ich ihnen für die jahrelange Unterstützung. Sie standen mir jeder Zeit bei chemischen Fragen mit Rat und Tat zur Seite, kümmerten sich aber auch um meine gelegentlichen Motivationstiefs während der Diplomarbeit, wenn wieder von vorne begonnen werden musste. Ganz besonders dankbar bin ich Frau Professor Tanja Wrodnigg für die großartige Betreuung.

Ich möchte mich auch herzlich bei den anderen Mitgliedern der Glyco Group, Katharina Gallas, Uwe Groß, Gerit Pototschnigg, Florian Adanitsch, Georg Schitter, Martin Thonhofer und Patrick Kosmos, für die gute Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung bedanken. Besonderer Dank kommt hier meiner Laborkollegin und Freundin Kathi zu, die mich immer wieder geduldig zur Weiterarbeit ermunterte und mit der ich trotz einiger „chemischer“ Rückschläge sehr viel Spaß im Labor hatte.

Weiters danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Organische Chemie unter der Leitung von Professor Rolf Breinbauer für die schöne Zeit und besonders Carina Illaszewicz-Trattner und Professor Jörg Weber für die Aufnahme der NMR-Spektren, und Dipl.-Ing. Harald Stecher für analytische Hilfestellungen.

Herrn Professor Peter Macheroux danke ich für die Themenstellung und die Finanzierung und Dipl. Ing. Alexandra Binter für die hilfreichen Diskussionen.

Vor allem möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, bei meinen Eltern für die finanzielle und moralische Unterstützung sowie ihre Liebe und Geduld und bei Alexander und Dorith für die anregenden Gespräche, ihre Freundschaft und Unterstützung.

## Abstract

Nikkomycins belong to the group of peptidyl nucleosides and have been isolated from *Streptomyces tendae* strains. These structures are known as potent competitive inhibitors of chitin synthase, a key enzyme in the chitin biosynthesis pathway of fungi and insects. Chitin synthases are absent in mammals and therefore are attractive targets for potential antibiotics<sup>1</sup>.

Genomic approaches as well as the elucidation of biosynthetic pathways of natural antibiotics accelerate the progress of designing potential antibacterial agents. In the case of nikkomycins, however, only a few steps of their biosynthesis have been identified thus far<sup>2, 3</sup>.

In this Diploma thesis the synthesis of the 5'-oxo derivative of uracil polyoxin C will be developed. This  $\alpha$ -keto acid will be employed for the elucidation of the role of aminotransferase NikK.

---

<sup>1</sup> Cohen, E. *Ann. Rev. Entomol.* **1987**, *32*, 71-93.

<sup>2</sup> Lauer, B.; Süssmuth, R.; Kaiser, D.; Jung, G.; Bormann, C. *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 385-392.

<sup>3</sup> Ginj, C.; Rügger, H.; Amrhein, N.; Macheroux, P. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1974-1976.

## Kurzfassung

Nikkomycine werden von *Streptomyces tendae* und *Streptomyces ansochromogenes* produziert und zählen zu den Peptidnukleosiden. Diese Strukturen sind starke Inhibitoren von Chitinsynthase, einem Schlüsselenzym bei der Chitinbiosynthese von Pilzen und Insekten. Die Chitinsynthase kommt in Säugetieren nicht vor und bietet deshalb eine gute Angriffsposition für mögliche Antibiotika<sup>1</sup>.

Für die Synthese neuer antibakterieller Reagenzien ist es wichtig, den Biosyntheseweg der natürlichen Antibiotika zu kennen, allerdings sind im Fall der Nikkomycine bis jetzt nur wenige Details der Biosynthese aufgeklärt<sup>2, 3</sup>.

In dieser Diplomarbeit soll ein Syntheseweg für die  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C erarbeitet werden. Diese  $\alpha$ -Ketosäure wird zur Aufklärung der Rolle von NikK, einer Aminotransferase, bei der Nikkomycin-Biosynthese eingesetzt werden.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>8</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1 Kohlenhydrate	9
1.2 Nukleobasen	10
1.3 Nukleotide	11
1.4 Nukleoside	12
1.5 Nukleosid-Antibiotika	13
1.6 Polyoxine	14
1.7 Nikkomycine	21
<b>2 Problemstellung</b>	<b>27</b>
<b>3 Durchführung und Diskussion</b>	<b>29</b>
<b>4 Zusammenfassung</b>	<b>40</b>
<b>5 Experimenteller Teil</b>	<b>42</b>
5.1 Analytik	42
5.2 Darstellung der Produkte	44
5.2.1 2',3'-O-Isopropylidenuridin ( <b>2</b> )	44
5.2.2 5'-Oxa-2',3'-O- isopropylidenuridin ( <b>3</b> )	44
5.2.3 5'-O- <i>t</i> -Butyldimethylsilyl-6'-cyano-2',3'-O-isopropylidenuridin ( <b>19</b> )	45
5.2.4 6'-Oxa-5'-O- <i>t</i> -butyldimethylsilyl-2',3'-O-isopropylidenuridin ( <b>20</b> )	47
5.2.5 6'-Carboxy-5'-O- <i>t</i> -butyldimethylsilyl-2',3'-O-isopropylidenuridin ( <b>21</b> )	48
5.2.6 6'-Carboxy-5'-hydroxy-2',3'-O-isopropylidenuridin ( <b>22</b> )	49
5.2.7 6'-Carboxy-5'-oxo-2',3'-O-isopropylidenuridin ( <b>6</b> )	50
5.2.8 6'-Carboxy-5'-oxouridin ( <b>12</b> )	51
<b>6 NMR-Spektren</b>	<b>52</b>
<b>7 Publikationsliste</b>	<b>59</b>
<b>8 Curriculum vitae</b>	<b>60</b>

## Abkürzungsverzeichnis

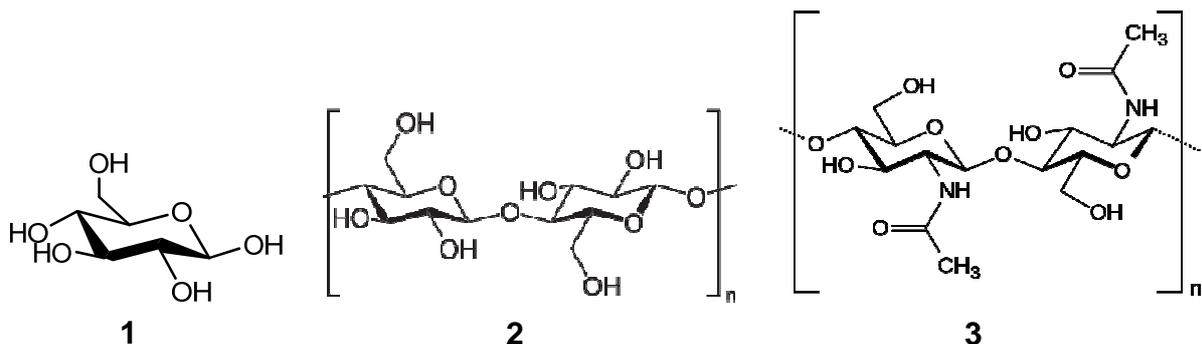
abs.	absolut
$[\alpha]_D^{20}$	spezifischer Drehwert
AZT	Azidothymidin (Zidovudin)
Bu <sub>4</sub> NF	Tetrabutylammoniumfluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dess-Martin-Periodinan
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EE	Essigester
eq	Äquivalent
Et <sub>3</sub> N	Triethylamin
HIV	human immunodeficiency virus
HMPA	Hexamethylphosphoramid
HPLC	High performance liquid chromatography
HSV	Herpes simplex Virus
LM	Laufmittel
NMR	Kern-Magnet-Resonanz
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
<i>p</i> -mtrityl-Cl	<i>para</i> -Methoxytritylchlorid
<i>p</i> TSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
Pyr.	Pyridin
RNA	Ribonukleinsäure
TBDMS-Cl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -Butanol
THF	Tetrahydrofuran
TMSCN	Trimethylsilylcyanid
UDP-GlcNAc	Uridindiphosphat- <i>N</i> -acetylglucosamin
UMP	Uridinmonophosphat
UPOC	Uracil Polyoxin C

# 1 Einleitung

## 1.1 Kohlenhydrate

Der Begriff Kohlenhydrate bedeutet in seiner ursprünglichen Form „Hydrate des Kohlenstoffs“, da man dachte, dass alle Saccharide aus den Elementen C, O und H mit der Bruttoformel  $C_n(H_2O)_m$  aufgebaut sind, wie beispielsweise D-Glucose. Jedoch trifft diese Formel auf die meisten heute als Kohlenhydrat bezeichneten Verbindungen nicht zu, da auch andere Heteroatome, wie Stickstoff oder Schwefel, und mehrere funktionelle Gruppen enthalten sein können. Im Allgemeinen versteht man unter Kohlenhydraten Polyhydroxyaldehyde (Aldosen) oder Polyhydroxyketone (Ketosen) mit, üblicherweise, drei bis neun Kohlenstoffatomen.

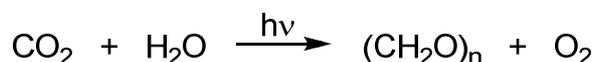
Kohlenhydrate stellen die wohl größte Gruppe von Naturprodukten neben DNA, Proteinen und Lipiden dar, und kommen als Monosaccharide, Disaccharide, Oligosaccharide und Polysaccharide vor. Nach Anzahl ihrer Kohlenstoffatome werden Monosaccharide als Triosen (C3), Tetrosen (C4), Pentosen (C5), Hexosen (C6), Heptosen (C7), etc. bezeichnet. Sie stellen die Bausteine von Oligo- und Polysacchariden dar, und werden über eine glykosidische Bindung miteinander verknüpft.



**Abbildung 1:** Bekannte Vertreter von Kohlenhydraten: D-Glucose (1), Cellulose (2), Chitin (3).

Neben Lipiden und Eiweiß bilden Kohlenhydrate den Hauptbestandteil der menschlichen Nahrung und spielen eine wichtige Rolle als Energielieferant. Der Großteil der Biomasse besteht aus Kohlenhydraten, denn jährlich werden von Pflanzen, Algen und verschiedenen Bakteriengruppen Milliarden Tonnen durch Photosynthese produziert. Dabei handelt es sich um einen biochemischen Vorgang,

bei dem zuerst Lichtenergie in chemische Energie umgewandelt wird. Dies geschieht mittels lichtabsorbierender Farbstoffe (Chlorophyllen). Die daraus entstehende chemische Energie wird dann zur Fixierung von Kohlenstoffdioxid genutzt. Dieser Schritt wird „Calvin Cycle“ genannt. Kohlendioxid und Wasser werden reduziert und ergeben so Kohlenhydrate und Sauerstoff.



Neben ihrer Funktion als Energiequelle spielen Kohlenhydrate auch noch eine große Rolle als Gerüstsubstanzen von Pflanzen (Cellulose) und Insekten (Chitin), siehe Abbildung 1. Außerdem sind sie an vielen biologischen Prozessen, wie der Zellerkennung und der Zell-Zell-Kommunikation, beteiligt und sind die Strukturerkennung der Blutgruppenderterminanten.

Zu der Familie der Kohlenhydrate zählen außer den heterocyclischen Fünf- und Sechsringen beispielsweise auch Aldite, Aldarsäuren, *N*-Glykoside, *C*-Glykoside, Aldonsäuren, Aldonolactone, Uronsäuren, Inositole, Iminozucker, Carbazucker und Glykoside<sup>4</sup>.

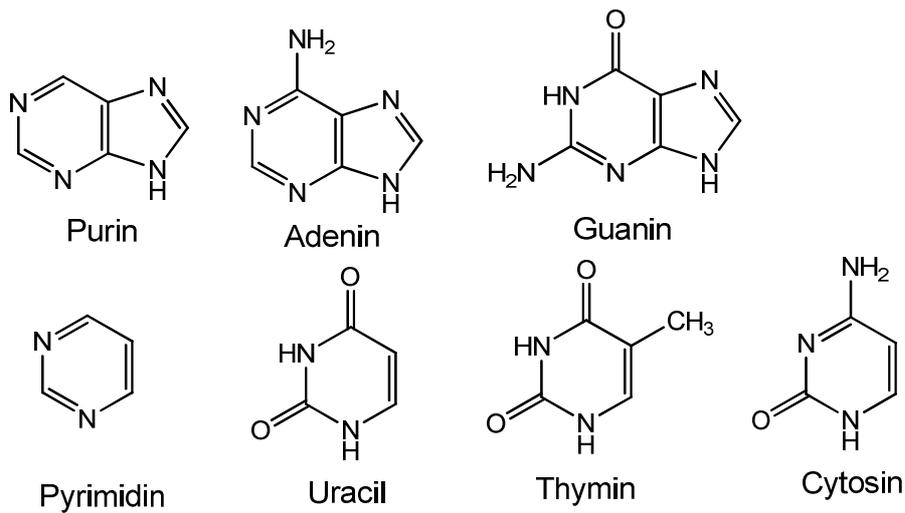
## 1.2 Nukleobasen

Nukleinbasen sind Bestandteile der Nukleotide und Nukleoside. Man unterscheidet die Pyrimidin-Derivate (Uracil, Thymin und Cytosin), die als Grundgerüst einen Pyrimidinring besitzen, und die Purin-Derivate (Adenin und Guanin), hier ist der Grundstoff Purin. Die in der DNA vorkommenden Nukleobasen Adenin (A), Guanin (G), Thymin (T) und Cytosin (C) werden auch DNA-Basen genannt. Adenin (A), Guanin (G), Uracil (U) und Cytosin (C) werden, da sie in der RNA vorkommen, auch als RNA-Basen bezeichnet.

Zu den Nukleobasen zählen noch viele andere Basen, wie Xanthin und Hypoxanthin, doch bauen diese nicht die DNA oder RNA auf<sup>5</sup>. In Abbildung 2 sieht man die häufigsten Nukleobasen.

---

<sup>4</sup> Lindhorst, T. K. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2007.

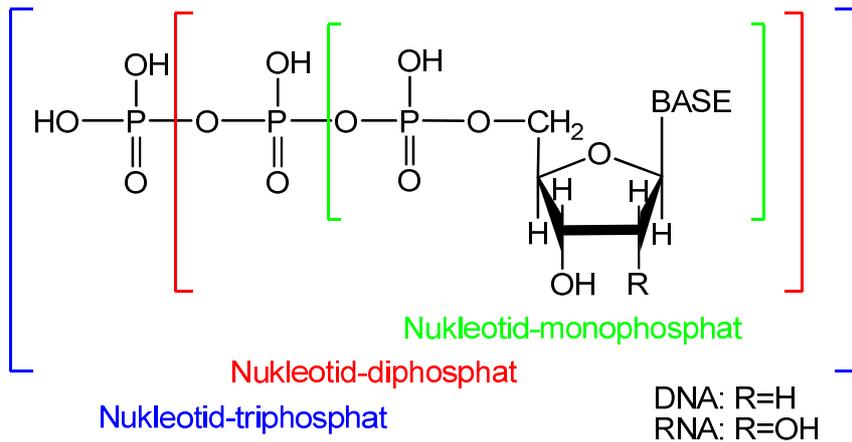


**Abbildung 2:** Struktur der Nucleobasen.

### 1.3 Nucleotide

Nucleotide sind die monomeren Einheiten, die Grundbausteine, aus denen die Nucleinsäuren aufgebaut werden. Nucleotide besitzen drei charakteristische Bestandteile, eine Nucleobase, eine Pentose und eine Phosphorsäure. In Abbildung 3 ist der Aufbau von Nucleotiden schematisch dargestellt. Im Falle der DNA ist der Zucker die *2-Desoxy-D-ribose* und bei der RNA handelt es sich um die *D-Ribose*. Nach der Pentoseeinheit benannt, spricht man bei der DNA von Desoxyribonucleotiden und bei der RNA von Ribonucleotiden. Die Nucleotide unterscheiden sich weiters durch die stickstoffhaltigen Basen Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin (nur in DNA) und Uracil (nur in RNA), den sogenannten Nucleobasen. Diese sind mit dem Zucker über eine N-Glykosidbindung verbunden. Zusätzlich ist die Pentose bei Nucleotiden mit ein bis drei Phosphatgruppen verestert. Sie kommen also als Monophosphate, Diphosphate und Triphosphate vor. Die Nucleotide dienen zur Codierung der DNA und der RNA. Die kleinste Informationseinheit, das Codon, setzt sich aus drei miteinander verknüpften Nucleotiden zusammen<sup>5</sup>.

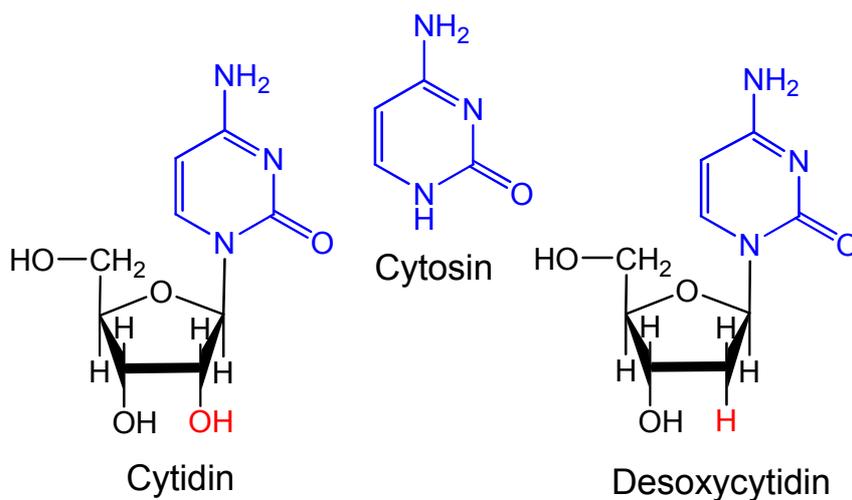
<sup>5</sup> Lehninger, A. *Biochemie*, Verlag Chemie, Weinheim, New York, 1977, 249-268.



**Abbildung 3:** Aufbau der Nucleotide.

### 1.4 Nucleoside

Nucleoside sind ähnlich aufgebaut wie Nucleotide, nur fehlt ihnen der Phosphatrest. Sie setzen sich also aus einer Pentose, entweder *2-Desoxy-D-ribose* bei der DNA oder *D-Ribose* bei der RNA, und einer Nucleobase, Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin und Uracil, zusammen. Wieder unterscheidet man Desoxyribonucleoside (DNA) und Ribonucleoside (RNA)<sup>5</sup>. In Abbildung 4 sind Cytidin und Desoxycytidin als Beispiele für Nucleoside dargestellt. Nucleoside spielen beispielsweise eine große Rolle als Antibiotika<sup>6</sup>.



**Abbildung 4:** Aufbau der Nucleoside anhand des Beispiels mit Cytosin als Base.

<sup>6</sup> Isono, K. *The Journal of Antibiotics* **1988**, 41 (12), 1711-1739.

## 1.5 Nukleosid-Antibiotika

Nukleosid-Antibiotika werden als sekundäre Stoffwechselprodukte von einigen Mikroorganismen produziert. Sie kommen in vielen Strukturvarianten vor und sind meist sehr komplexe Moleküle mit weitreichenden biologischen Aktivitäten. Sie wirken unter anderem als Antimykotika, Herbizide, Viruzide, Insektizide und Antitumormittel, können aber auch gegen Trypanosomen-Erkrankungen eingesetzt werden und zeigen immunstimulierende, sowie immunsuppressive Eigenschaften. Viele Nukleoside und Nukleotide spielen eine wichtige Rolle bei der Veränderung von grundlegenden zellulären Stoffwechselwegen. Aufgrund dessen stellen die Synthesen von Nukleinsäuren, Proteinen, Glycanen und Glycoproteinen die Angriffspunkte von Nukleosid-Antibiotika dar. Die Nukleosid-Antibiotika besitzen großes Potential zur Regulierung der Zelldifferenzierung und des Zellwachstums. Wichtige Vertreter der Nukleosid-Antibiotika sind Polyoxine (siehe Kapitel 1.6) sowie Nikkomycine (Kapitel 1.7), beide gehören zu der Gruppe der Peptidnukleosidantibiotika<sup>6</sup>. Wichtig zu erwähnen sind hier auch die nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI), das sind Nukleosid-Analoga, die als Virostatika wirken. Sie inhibieren die Reverse Transkriptase von Retroviren. Dieses Enzym ist dafür verantwortlich, dass das virale RNA-Genom in DNA umgeschrieben wird. In Abbildung 5 sind Zidovudin (Azidothymidin, AZT), Lamivudin (3TC) und Didanosin (ddl) als Beispiele für NRTIs, die sich bei der Behandlung von HIV (human immunodeficiency virus) bewährt haben, dargestellt<sup>7</sup>. AZT war der erste Nukleosidinhibitor, bei dem anti-HIV-Aktivität entdeckt wurde<sup>8</sup>.

Außerdem zeigt Abbildung 5 die Struktur von Puromycin, einem Nukleosidantibiotikum, das von *Streptomyces alboniger*<sup>9</sup> produziert wird und eine weitreichende antibakterielle Aktivität aufweist. Puromycin hemmt die Proteinbiosynthese, ist allerdings gegenüber Tieren hoch toxisch<sup>6</sup>. Ferner ist Aciclovir abgebildet, der Wirkstoff von Zovirax. Zovirax ist wohl eines der bekanntesten Virostatika und wird als Arzneimittel gegen HSV (Herpes simplex Virus) eingesetzt<sup>10</sup>.

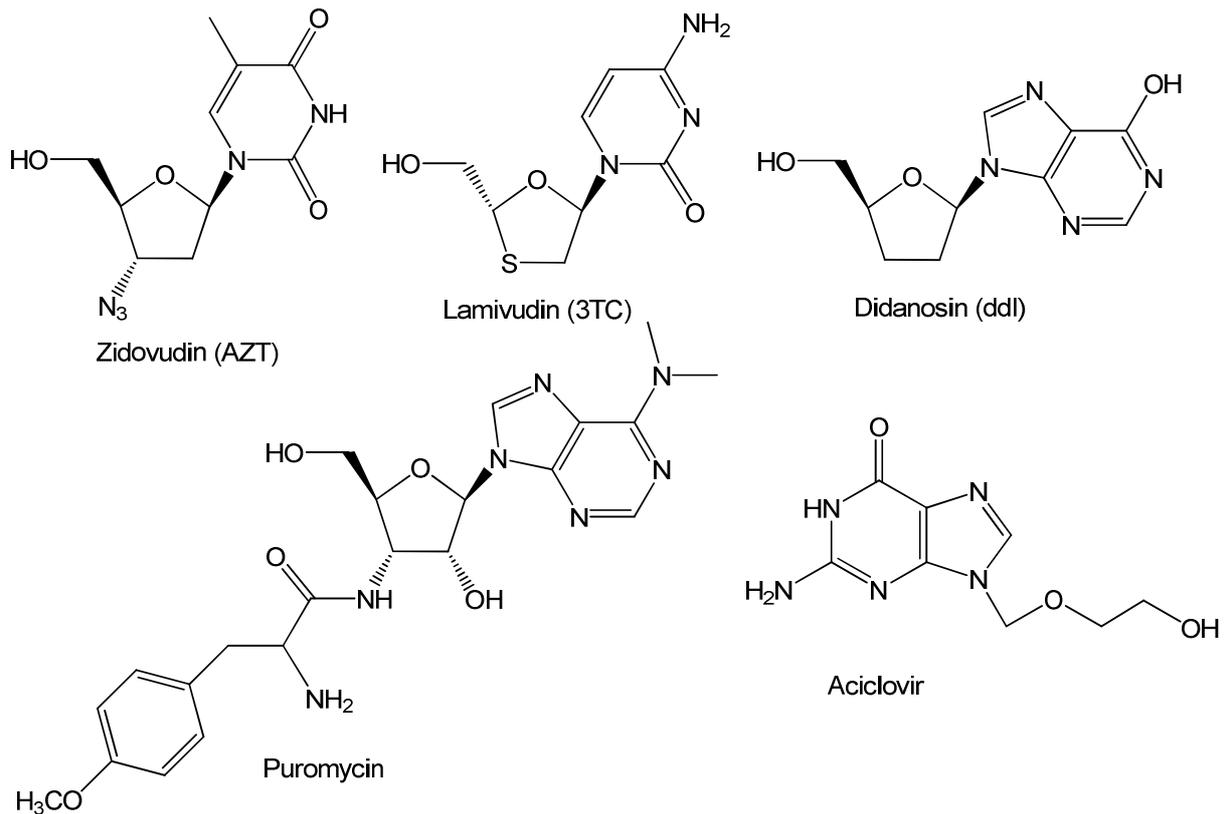
---

<sup>7</sup> Cihlar, T.; Ray, A. S. *Antiviral Research* **2010**, *85*, 39-58.

<sup>8</sup> Mitsuya, H.; Weinhold, K. J.; Furman, P. A.; St. Clair, M. H.; Lehrman, S. N.; Gallo, R. C.; Bolognesi, D.; Barry, D. W.; Broder, S. *National Academy of Sciences of the United States of America* **1985**, *82* (20), 7096-7100.

<sup>9</sup> Vara, J.; Perez-Gonzalez, J. A.; Jimenez, A. *Biochemistry* **1985**, *24*, 8074-8081.

<sup>10</sup> Champness, J. N.; Bennett, M. S.; Wien, F.; Visse, R.; Summers, W. C.; Herdewijn, P.; de Clercq, E.; Ostrowski, T.; Jarvest, R. L.; Sanderson, M. R. *Proteins: Structure, Function, and Genetics* **1998**, *32* (3), 350-361.



**Abbildung 5:** Vertreter von Nukleosid-Analoga mit antibiotischer und antiviraler Wirkung.

## 1.6 Polyoxine

Der Polyoxinkomplex wurde von Isono et al. bei einem Screening-Verfahren, um ein geeignetes Antibiotikum gegen den phytopathogenen Pilz *Pellicularia filamentosa f. sasakii* zu finden, entdeckt<sup>11</sup>. Dieser Pilz ist der Verursacher der Blattscheidendürre von Reis. Die Polyoxine werden von *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* Stämmen produziert und zeigen ein hohes Potential als landwirtschaftliche Fungizide. Polyoxin N wird von *Streptomyces piomogenes* produziert. Bisher sind viele verschiedene Polyoxine und Neopolyoxine bekannt. Die Polyoxine A, B, D, E, F, G, H, J, K, L, M und N sowie die Neopolyoxine A, B und C zeigen alle biologische Aktivität gegen phytopathogene Pilze (siehe Abbildung 7), die einzigen Ausnahmen sind die Polyoxine C und I (Abbildung 8), ihnen fehlt jegliche biologische Aktivität<sup>6, 11, 12</sup>.

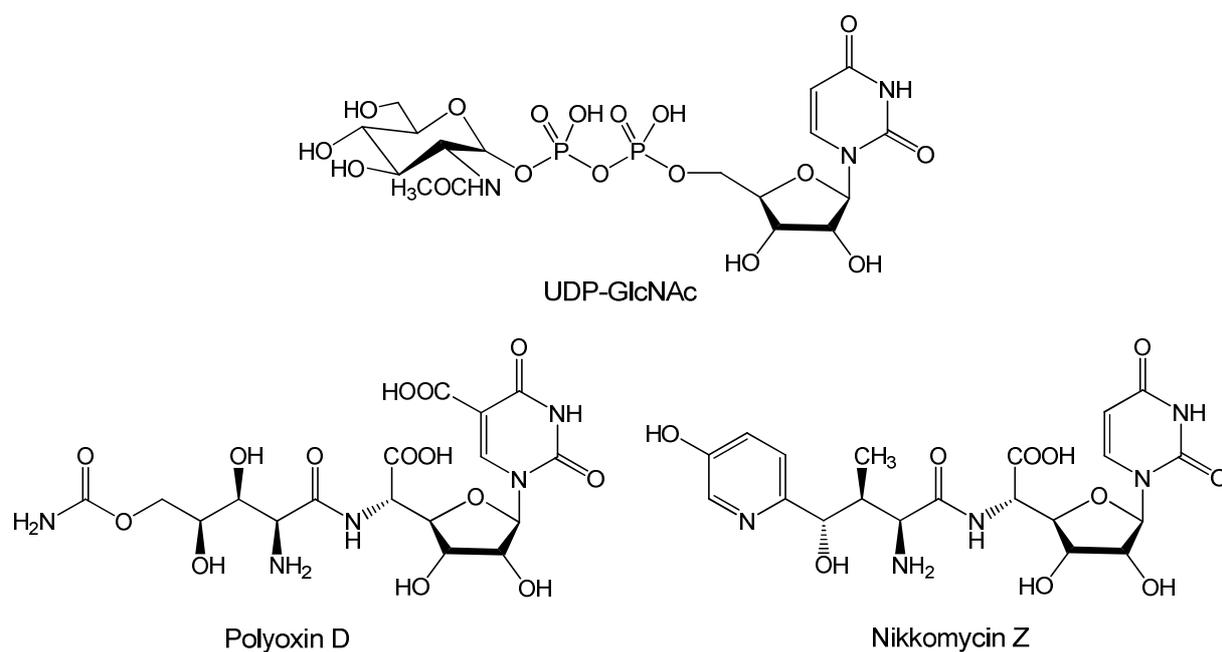
Die biologisch aktiven Polyoxine inhibieren kompetitiv die Chitinsynthese, ein Enzym, das für die Biosynthese von Chitin in der Zellwand der Pilze zuständig ist, und stören

<sup>11</sup> Isono, K.; Asahi, K.; Suzuki, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91 (26), 7490-7505.

<sup>12</sup> Isono, K.; Suzuki, S. *Tetrahedron Letters* **1968**, 2, 203-208.

so die Intaktheit der Pilzzellen, was zum Tod der Pathogene führt. Weder Pflanzen noch Säugetiere produzieren Chitin, weshalb Polyoxine für sie potentiell ungiftig sind, und sich zur Bekämpfung von Pilzinfektionen eignen<sup>13</sup>.

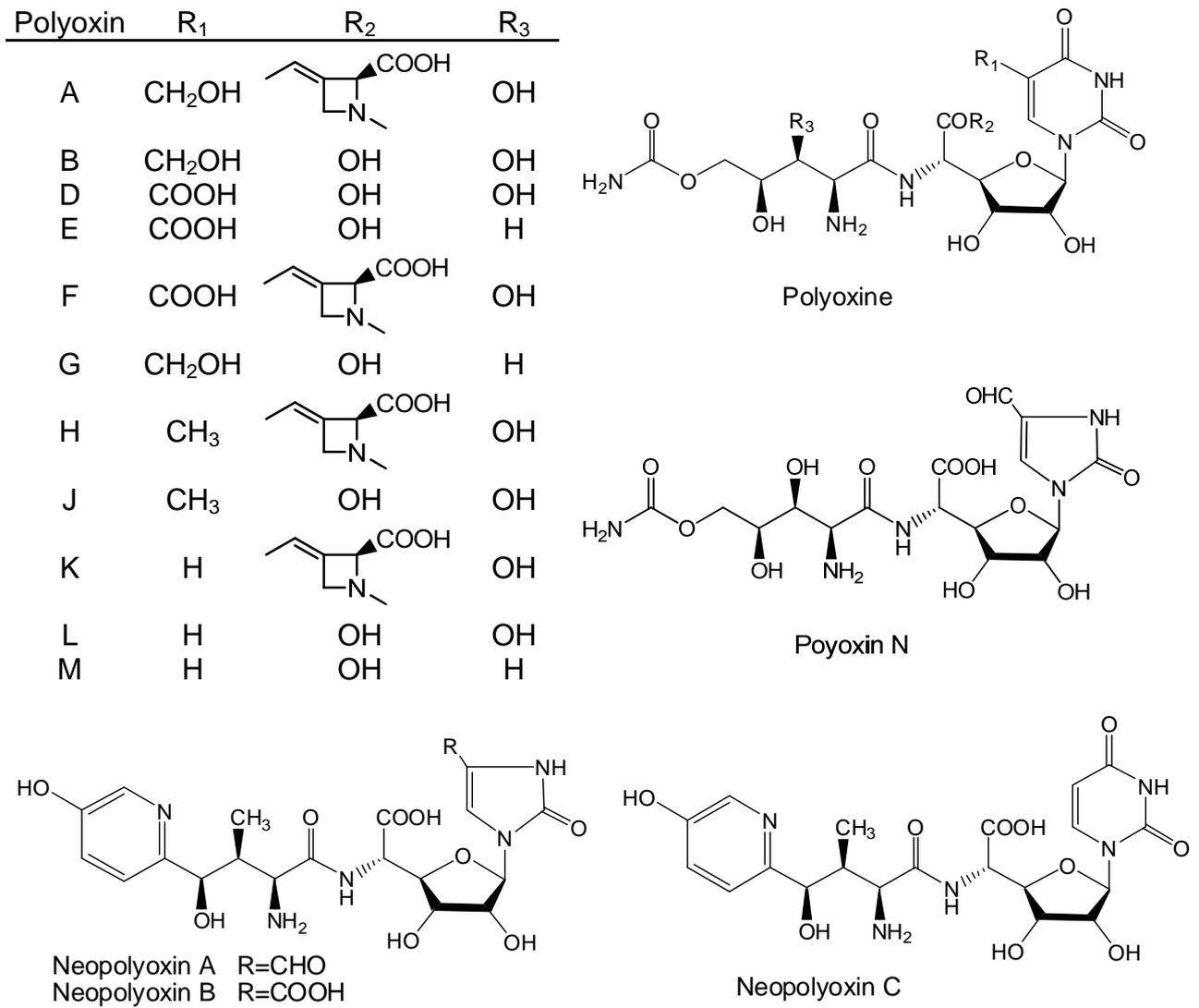
Die Biosynthese von Chitin wird durch Chitinsynthase katalysiert und geht von *N*-Acetylglucosamin (UDP-GlcNAc) aus. Polyoxine und Nikkomycine „mimen“ UDP-GlcNAc als dessen Strukturanaloga und inhibieren so die Chitinbiosynthese<sup>14</sup>. In Abbildung 6 sind UDP-GlcNAc mit Nikkomycin Z und Polyoxin D als Beispiele für ähnliche Strukturen dargestellt.



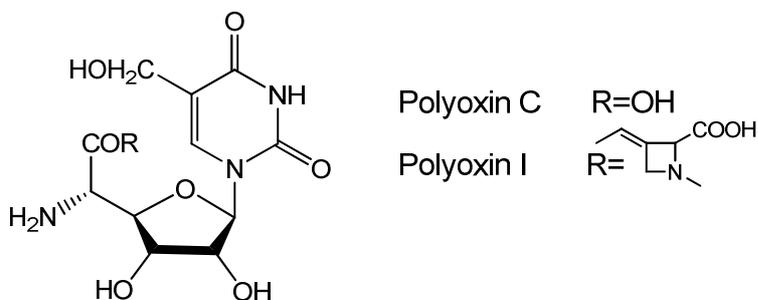
**Abbildung 6:** *N*-Acetylglucosamin (UDP-GlcNAc) und seine Strukturanaloga Polyoxin D und Nikkomycin Z.

<sup>13</sup> Cesario, C.; Miller, M. J. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5730-5733.

<sup>14</sup> Obi, K.; Uda, J.; Iwase, K.; Sugimoto, O.; Ebisu, H.; Matsuda, A. *Bioorg. Med.Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1451-1454.

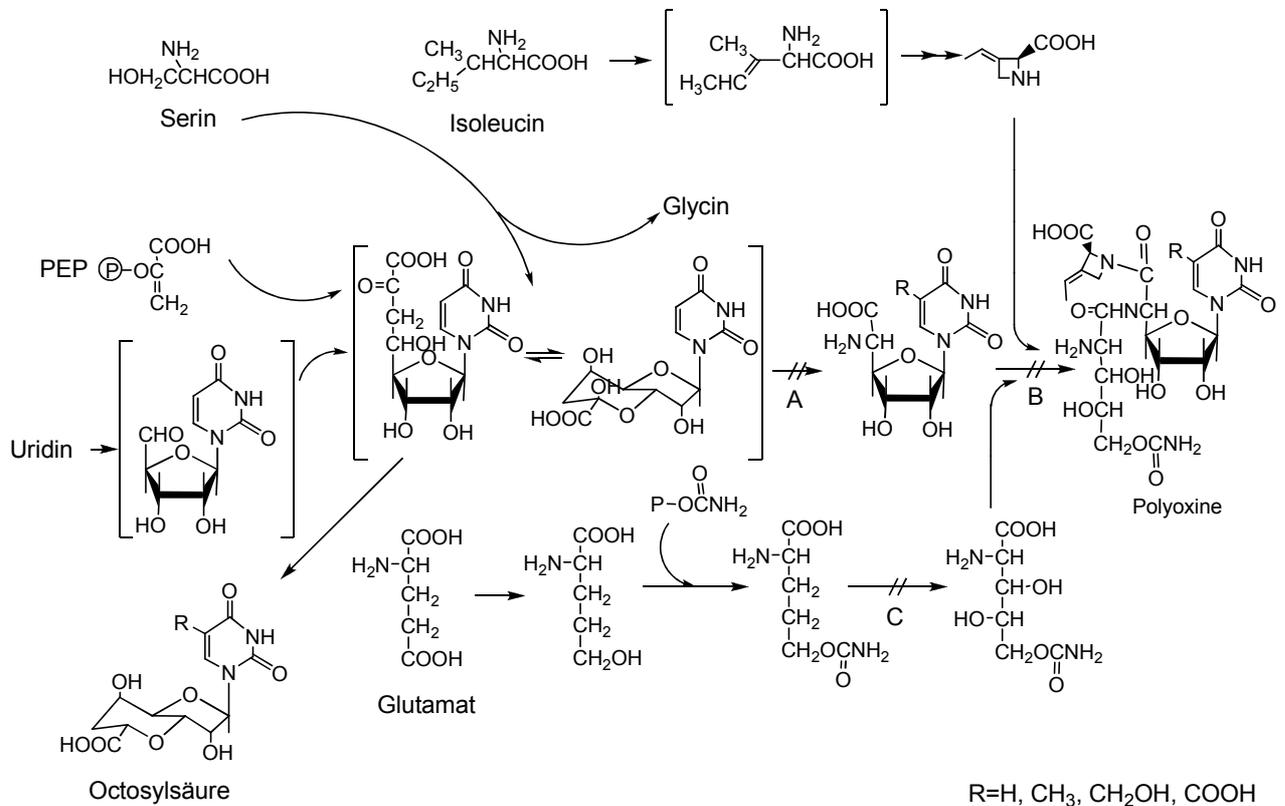


**Abbildung 7:** Strukturen der biologisch aktiven Polyoxine und Neopolyoxine (übernommen von Referenz 6).



**Abbildung 8:** Strukturen von Polyoxin C und I (übernommen von Referenz 11).

Die Biosynthese der Polyoxine ist bereits geklärt<sup>6</sup> (Abbildung 9), so wird das Nucleosidgerüst durch Kondensation von Uridin (wahrscheinlich durch den 5'-Aldehyd) und Phosphoenolpyruvat gebildet<sup>15</sup>. Anschließend folgt die Bildung des Alloseuronsäurenucleosids unter Verlust zweier C-Atome. Um die Methyl-, Hydroxymethyl- oder Carboxylgruppe zu erhalten, wird das C-3 von L-Serin in die Position 5 von Uracil über verschiedene Reaktionswege mittels Thymidylatsynthetase eingeführt. L-Glutaminsäure und L-Isoleucin gelten als Precursor der Aminosäureseitenketten, Carbamoylpolyoxamsäure und Polyoximsäure. 5-Fluoropolyoxine werden allerdings durch Zugabe von 5-Fluorouracil gebildet<sup>16</sup>.



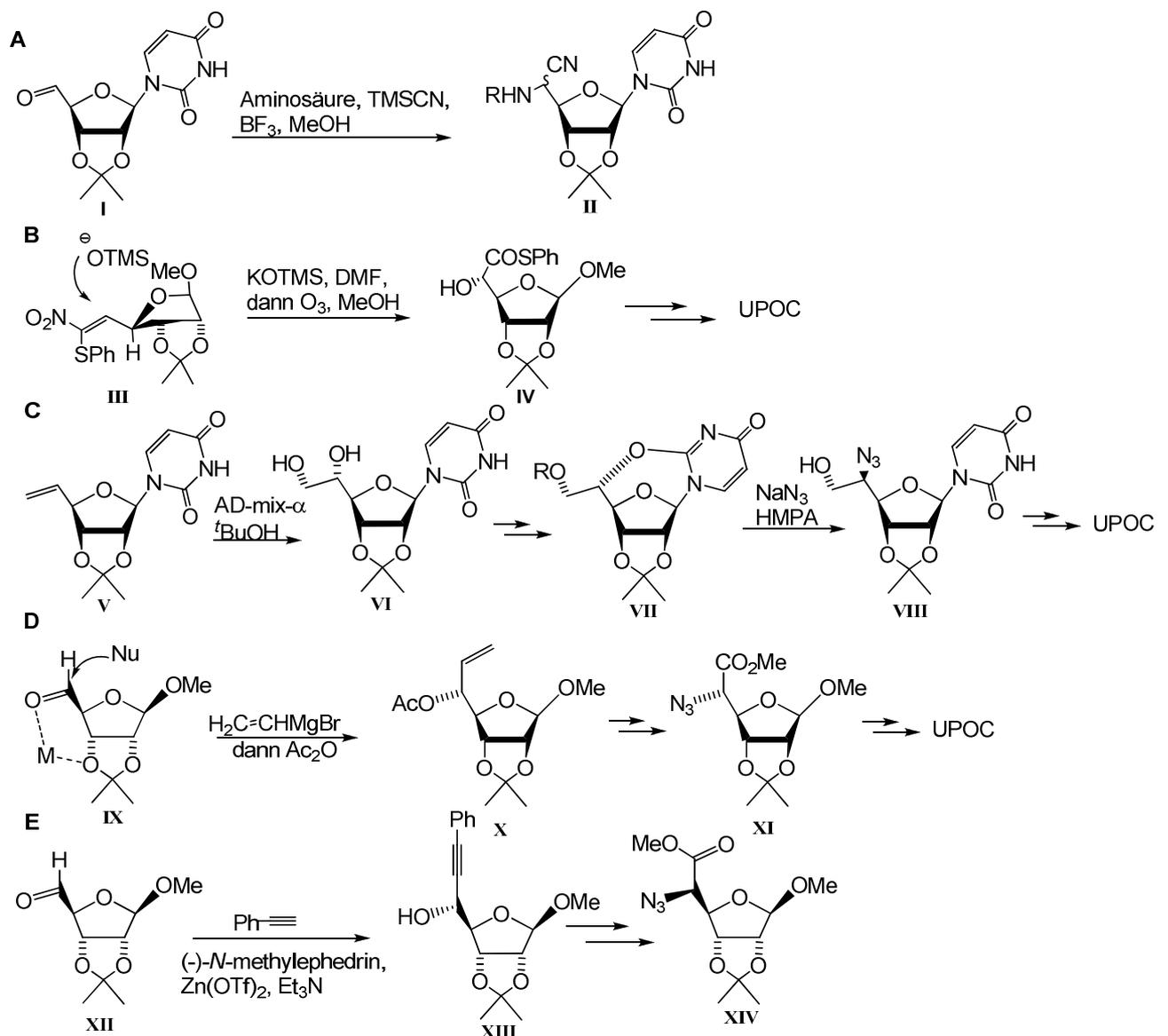
**Abbildung 9:** Schematische Darstellung der Biosynthese von Polyoxinen (übernommen von Referenz 6).

<sup>15</sup> Isono, K.; Hirasawa, K.; Sato, T.; Funayama, S.; Suzuki, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (12), 3937-3939.

<sup>16</sup> Isono, K.; Crain, P. F.; Odiorne, T. J.; McCloskey, J. A.; Suhadolnik, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95* (17), 5788-5789.

Polyoxin C (Abbildung 8) ist das kleinste Molekül unter der Familie der Polyoxine und stellt eine Schlüsselverbindung zur Strukturaufklärung der anderen Polyoxine dar, da es durch Hydrolyse der Polyoxine A, B, G und I gewonnen wird, so wie man durch Hydrolyse der Polyoxine D, E und F die korrespondierende Säure, Polyoxin C Säure erhält<sup>12</sup>.

Eine Reihe von Chemikern hat sich mittlerweile mit der Synthese von Uracil Polyoxin C (UPOC) befasst. Abbildung 10 zeigt literaturbekannte Synthesewege, die zu UPOC führen.



**Abbildung 10:** Ausgewählte Synthesewege für UPOC aus der Literatur (übernommen von Referenz 17).

Weg A beschreibt die Synthese von UPOC über eine modifizierte Streckersynthese zwischen dem isopropylidengeschützten Aldehyd (**I**) und TMSCN und einer Aminosäure in Gegenwart von  $\text{BF}_3$ <sup>17</sup>. Diese Synthese wurde von Fiandor et al. 1987 veröffentlicht<sup>18</sup>. Durch Hydrolyse der Nitrilgruppe von **II** wird UPOC erhalten.

Die Arbeitsgruppe um Barrett<sup>19</sup>, Variante B, zeigt die nukleophile Addition Kaliumtrimethylsilonat an das Nitroalken, welches schließlich zum (S)- $\alpha$ -Hydroxythioester (**IV**) führt und nach weiteren sechs Stufen zu UPOC. Diese Synthese ist deutlich länger als die vorige, besitzt aber eine wesentlich höhere Stereoselektivität<sup>17</sup>.

Evina und Guillerm<sup>20</sup> (Weg C) behandeln **V** mit AD-mix- $\alpha$ , dieser besitzt eine hohe Stereoselektivität, und überführen **VI** in ein O-2,5'-Cyclonukleosid. Nach Zugabe von  $\text{NaN}_3$  in HMPA und weiteren vier Stufen erhalten sie Uracil Polyoxin C mit einer Ausbeute von nur 6%<sup>17</sup>.

Der Syntheseweg nach Akita et al.<sup>21</sup> (D) beschreibt die nukleophile Addition von Vinylmagnesium an **IX**. Jedoch erfordert dieser Syntheseweg mit  $\alpha$ -L-Talofuranosyluronsäure als Intermediat sehr viele Schritte mit schlechter Diastereoselektivität<sup>17</sup>.

Weg E entwickelt von der Arbeitsgruppe von Finney<sup>22</sup> ähnelt der vorigen Synthese von Akita. **XII** wird mittels eines Zinkacetylid stereospezifisch in **XIII** überführt. Nach weiteren 4 Stufen wird wieder das Azid als Vorstufe für UPOC erhalten<sup>17</sup>.

Die oben angeführten Synthesen wurden von Plant, Thompson und Williams ausgewählt, um zu zeigen, dass mit zunehmender Stereoselektivität meist mehr Syntheseschritte erforderlich sind. Plant et al.<sup>17</sup> haben außerdem eine kürzere, aber dennoch stereoselektive Synthese entwickelt (Abbildung 11).

<sup>17</sup> Plant, A.; Thompson, P.; Williams, D. M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3714-3724.

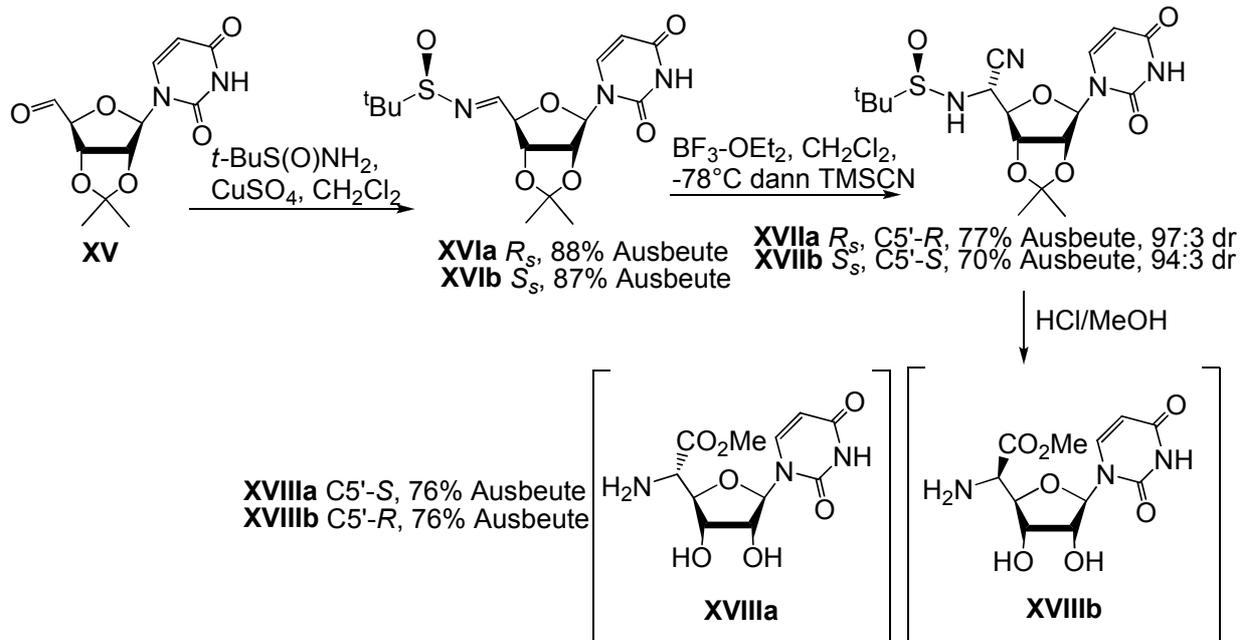
<sup>18</sup> Fiandor, J.; García-López, M. T.; De las Heras, F. G.; Méndez-Castrillón, P. P. *Synthesis* **1987**, 978-981.

<sup>19</sup> Barrett, A. G. M.; Lebold, S. A. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3853-3857.

<sup>20</sup> Evina, C. M.; Guillerm, G. *Tetrahedron Letters* **1996**, *37*, 163-166.

<sup>21</sup> Akita, H.; Uchida, K.; Chen, C. Y.; Kato, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 1034-1038.

<sup>22</sup> More, J. D.; Finney, N. S. *Synlett* **2003**, 1307-1310.



**Abbildung 11:** Effizienter stereoselektiver Syntheseweg für den Methyl ester von Uracil Polyoxin C entwickelt von Plant et al. (übernommen von Referenz 17).

Bei dieser stereoselektiven Synthese wird der Aldehyd (**XV**) einmal mit (*R*)-(+)-*tert*-Butansulfinamid in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mit Kupfersulfat und einmal mit (*S*)-(-)-*tert*-Butansulfinamid umgesetzt und anschließend die so erhaltenen Verbindungen **XVIa** und **XVIb** mit  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  bei  $-78^\circ\text{C}$  gefolgt von  $\text{TMSCN}$  behandelt, um **XVIIa** mit  $R_S, R$  Konfiguration mit 77% Ausbeute und **XVIIb** mit  $S_S, S$  Konfiguration mit 70% Ausbeute zu erhalten. Durch Zugabe von  $\text{HCl}$  in Methanol werden gleichzeitig der Methyl ester von UPOC (**XVIII**) gebildet und die Isopropyliden-Schutzgruppe abgespalten.

## 1.7 Nikkomycine

Nikkomycine zählen wie Polyoxine zu den Nukleosid-Antibiotika. Sie wurden bereits 1970 in Japan entdeckt und nach der Stadt Nikko benannt. Nikkomycine werden von einigen *Streptomyces* Arten, den *Streptomyces tendae* und *Streptomyces ansochromogenes*, produziert. Streptomyces gehören der Gattung der Actinobacteria an, und sind vorwiegend im Boden zu finden. Die meisten medizinisch genutzten Antibiotika werden von der Familie der Streptomycetaceae produziert.

Nikkomycine fungieren als starke Inhibitoren für die Chitinsynthese und weisen daher insektizide, akarizide und fungizide Eigenschaften auf. Chitin kommt in den Zellwänden der meisten Pilze sowie als Hauptbestandteil des Exoskeletts vieler Invertebraten, wie Spinnen, Insekten, Krebstieren und anderen vor. Wegen der Hemmung der Chitinsynthese kommt Nikkomycinen ein hohes antibiotisches Potential zu. Ein möglicher Einsatzbereich für Nikkomycine ist die Behandlung von Patienten, die aufgrund von Krebserkrankungen oder anderen Krankheiten, bei denen das Immunsystem geschwächt, oder durch Einnahme von Immunsuppressiva herabgesetzt wird, anfälliger für Pilzkrankungen sind<sup>23, 24</sup>.

Da immer häufiger Antibiotika-Resistenzen ausgebildet werden, ist es besonders wichtig neue Antibiotika zu finden, aber auch bereits bekannte zu modifizieren, um so die Verträglichkeit und Wirkungsweise zu verbessern und Nebenwirkungen herabsetzen zu können<sup>25</sup>. Hierfür wäre es besonders hilfreich, besser über die Nikkomycinbiosynthese Bescheid zu wissen, um so einen Anhaltspunkt für die Entwicklung neuartiger Nikkomycine zu haben, die ihrerseits wieder wertvolle Eigenschaften als potentielle Antibiotika aufweisen könnten<sup>3</sup>. Über zwanzig biologisch aktive Nikkomycine wurden aus *Streptomyces tendae* Stämmen isoliert<sup>26</sup>. In Abbildung 12 sind einige bereits bekannte Nikkomycine dargestellt.

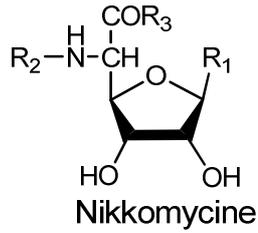
---

<sup>23</sup> Fiedler, H. P.; Schüz, T.; Decker, H. *Clinical Dermatology* **1993**, 7, 325-52.

<sup>24</sup> Binter, A. *Presentation for Graduate Seminar* **2008**.

<sup>25</sup> <http://www.wissenschaft-online.de/abo/lexikon/bio/4027>.

<sup>26</sup> Schüz, T. C.; Fiedler, H.-P.; Zähner, H. *The Journal of Antibiotics* **1992**, 45 (2), 199-206.

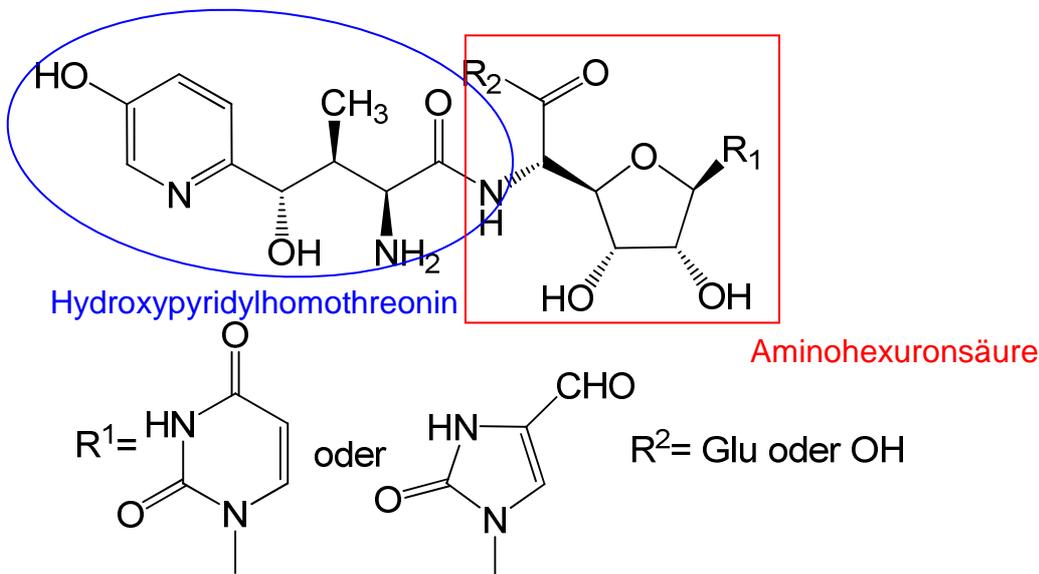


Nikko- mycin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Nikko- mycin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Z			OH	O <sub>x</sub>			OH
X			OH	Q <sub>z</sub>			Homo- -Ser
J			Glu	Q <sub>x</sub>			Homo- -Ser
I			Glu	P <sub>x</sub>			OH
B <sub>z</sub>			OH	R <sub>z</sub>			Glu
B <sub>x</sub>			OH	R <sub>x</sub>			Glu
K <sub>z</sub>			OH	W <sub>z</sub>			OH
K <sub>x</sub>			OH	W <sub>x</sub>			OH
O <sub>z</sub>			OH				

**Abbildung 12:** Bekannte Nikkomycine (übernommen von Referenz 6).

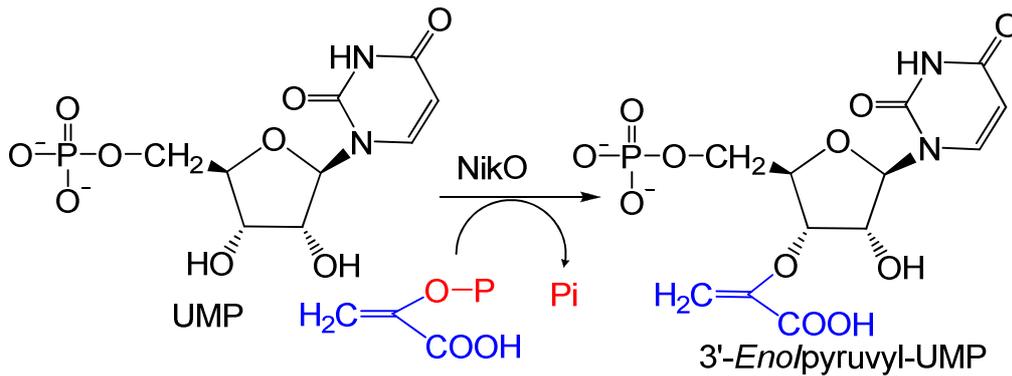
Obwohl der strukturelle Aufbau der Nikkomycine bald nach ihrer Entdeckung geklärt wurde, sind von der Biosynthese bis heute nur wenige Schritte bekannt und erforscht<sup>3</sup>.

Von der Struktur her können Nikkomycine zu den Peptidnucleosiden gezählt werden. Sie setzen sich aus zwei ungewöhnlichen Aminosäuren, dem Hydroxypyridylhomothreonin und der Aminohexuronsäure, zusammen. Die Aminohexuronsäure ist zusätzlich mit Uracil oder 4-Formyl-4-imidazolin-2-on *N*-glykosidisch verknüpft<sup>3</sup>, siehe Abbildung 13.



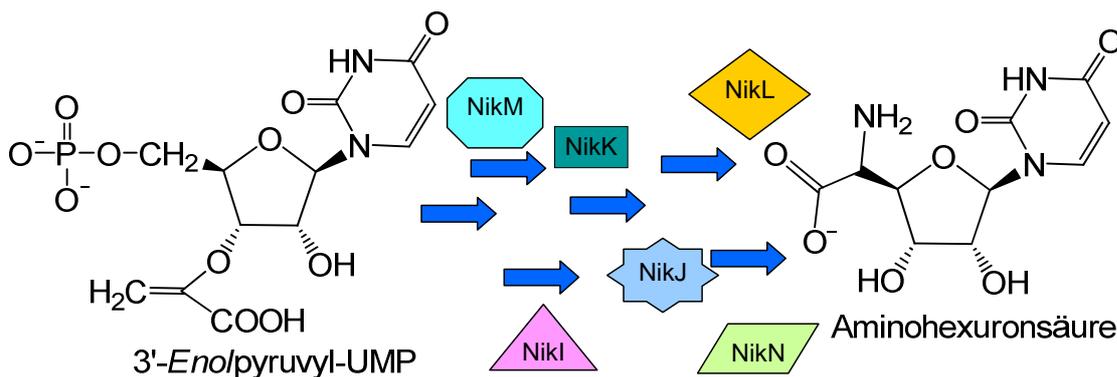
**Abbildung 13:** Grundstruktur der Nikkomycine (übernommen von Referenz 3).

Die Reaktionsschritte, die bei der Biosynthese der Aminohexuronsäure ablaufen, sind bislang annähernd unerforscht. Macheroux und Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass der erste Schritt die Einführung einer Enolpyruvat-Gruppe bei der Hydroxygruppe am C-3 von UMP ist (Abbildung 14). Das Protein, das diese Übertragung katalysiert, wird NikO genannt. Gefunden wurde es, indem das Nikkomycin Biosynthese-Operon isoliert wurde, und die einzelnen Proteine später in *E.coli* exprimiert wurden<sup>3</sup>.



**Abbildung 14:** NikO als *Enolpyruvyl transferase*.

Auf dem Operon befinden sich viele weitere Gene, von denen ausgegangen werden kann, dass die entsprechenden Proteine für die Synthese der Aminohexuronsäure von Bedeutung sind (siehe Abbildung 15)<sup>24</sup>.

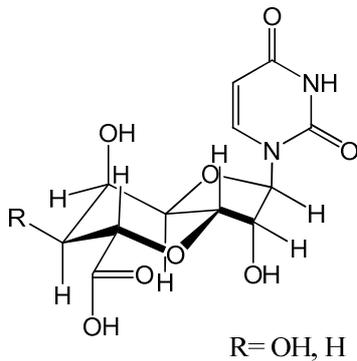


**Abbildung 15:** Gemeinsam mit NikO wurden sechs weitere Gene transkribiert, die die Proteine NikI, NikJ, NikK, NikL, NikM und NikN kodieren.

Noch nicht geklärt ist allerdings, in welcher Reihenfolge sie in die Synthese eingreifen, daher ist es notwendig die Substrate, die von den jeweiligen Proteinen/Enzymen umgesetzt werden, zu finden.

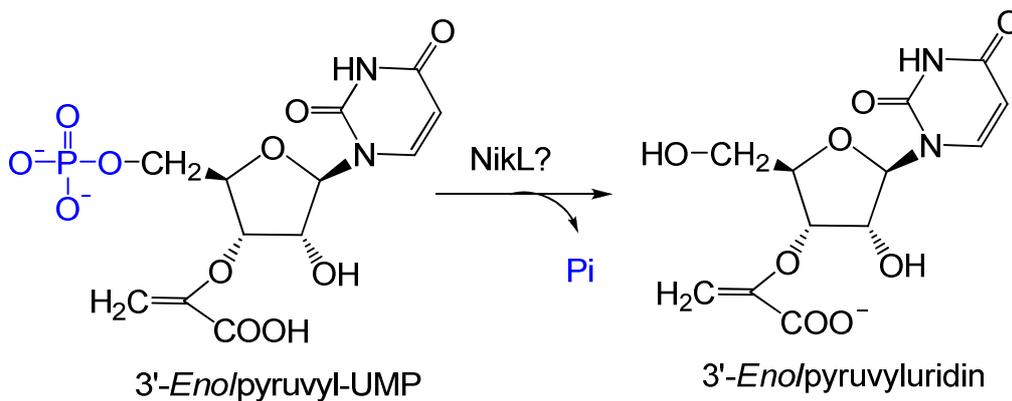
Darum werden derzeit die Wirkungsweise der Proteine und ihre mögliche Funktion in der Nikkomycin-Biosynthese erforscht. Durch Sequenzähnlichkeiten zu anderen Proteinen können Rückschlüsse auf die möglichen Funktionsweisen gezogen werden. Bei NikI, NikM und NikN ist bis jetzt noch unklar, welche Rollen sie in der

Synthese übernehmen<sup>24</sup>. Schüz et al. haben gezeigt, dass die Bildung der Aminohexuronsäure über ein bicyclisches Intermediat abläuft<sup>26</sup> (siehe Abbildung 16).



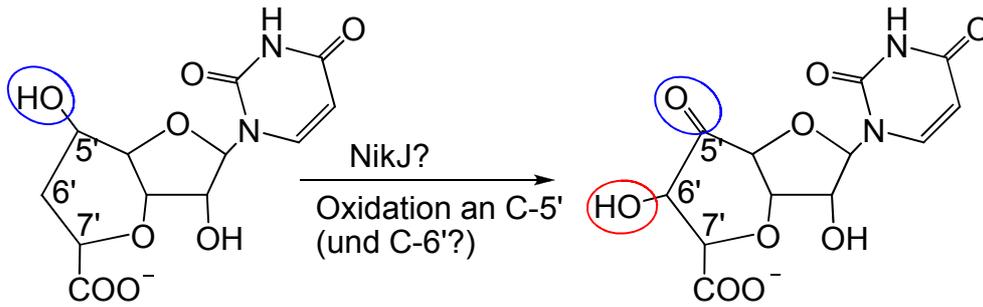
**Abbildung 16:** Bicyclisches Nikkomycin-Intermediat mit Uracil als Base (übernommen von Referenz 26).

NikL zeigt eine große Ähnlichkeit zu Tyrosinphosphatasen und katalysiert möglicherweise eine Dephosphorylierungsreaktion (Abbildung 17)<sup>24</sup>.



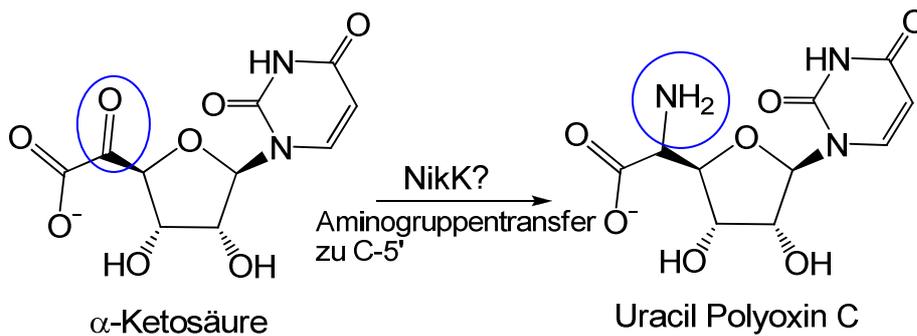
**Abbildung 17:** Mögliche Funktion von NikL.

NikJ ähnelt S-Adenosylmethionin und Eisen-Schwefel-Oxidoreduktasen, aufgrund dessen katalysiert es vielleicht Redoxreaktionen oder radikalische Umlagerungen (Abbildung 18)<sup>24</sup>.



**Abbildung 18:** Mögliche Funktion von NikJ.

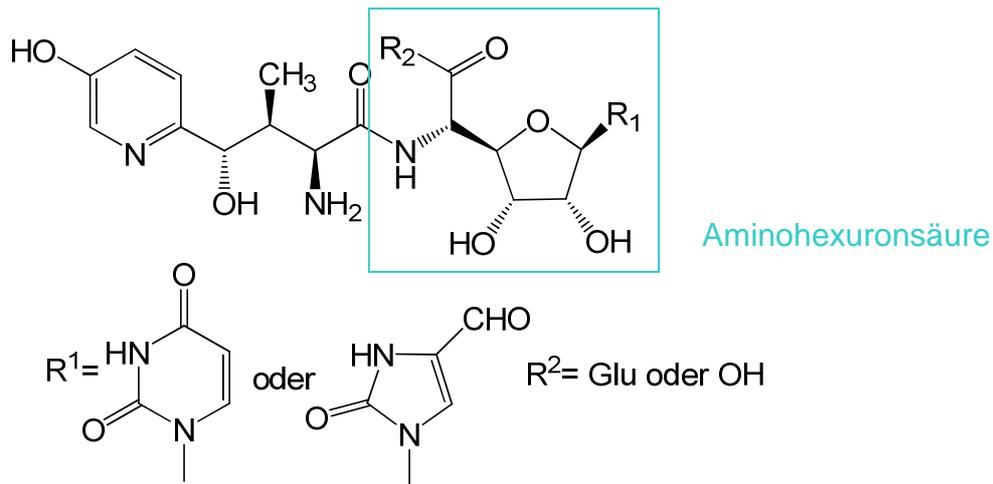
NikK weist große Ähnlichkeiten zu Histidinolphosphat-Aminotransferasen auf, weshalb davon ausgegangen wird, dass das Protein für die Einführung der Aminogruppe in die Aminohexuronsäure verantwortlich ist. Als mögliches Substrat wird die  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C angenommen (Abbildung 19)<sup>24</sup>.



**Abbildung 19:** Mögliche Funktion von NikK.

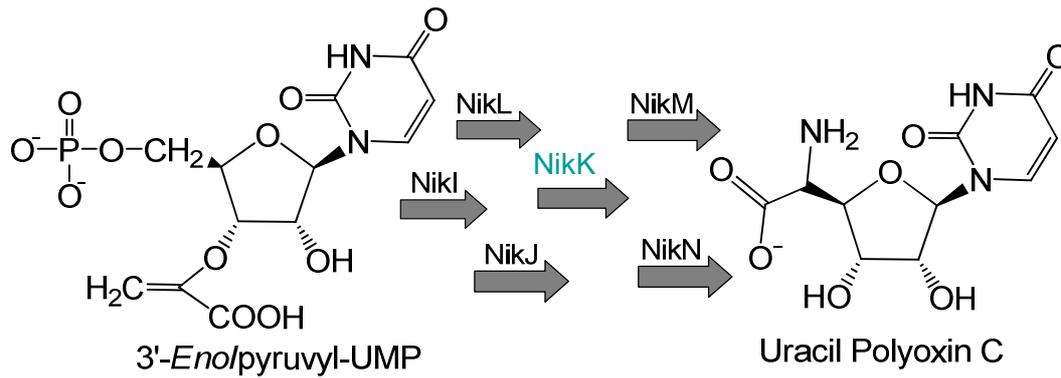
## 2 Problemstellung

Obwohl die Struktur der Nikkomycine bekannt ist, bleibt ihre Biosynthese bis heute weitestgehend ungeklärt. Nikkomycine bestehen aus Hydroxypyridylhomothreonin mit einem Aminohexuronsäure-Rest (siehe Abbildung 20)<sup>3</sup>.



**Abbildung 20:** Struktur der Nikkomycine.

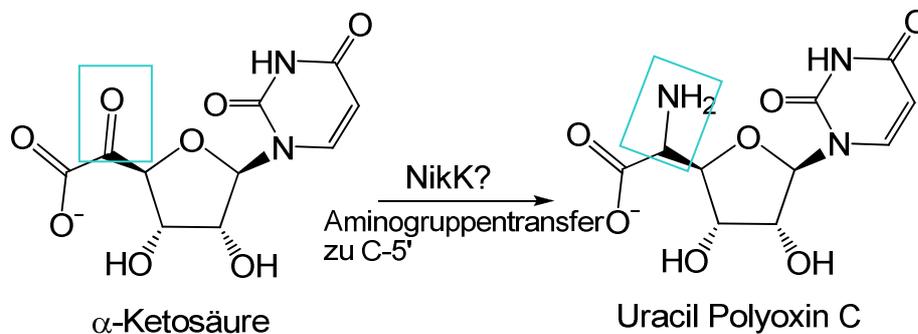
Mit Hilfe des Nikkomycin Operons wurden die für die Synthese verantwortlichen Enzyme identifiziert, und aufgrund von Aminosäuresequenzähnlichkeiten wird auf deren mögliche Funktion in der Biosynthese rückgeschlossen. Die Arbeitsgruppe von Macheroux veröffentlichte, dass das Enzym NikO als Enolpyruvyltransferase die Darstellung von 3'-Enolpyruvyl-UMP katalysiert<sup>3</sup>. Nun wird versucht, die Substrate für die weiteren Enzyme NikI, NikJ, NikK, NikL, NikM und NikN zu finden, um so deren Aufgaben in der Aminohexuronsäurebildung bestimmen, und den Mechanismus aufklären zu können (siehe Abbildung 21).



**Abbildung 21:** NikI, NikJ, NikK, NikL, NikM, NikN katalysieren die Biosynthese von Uracil Polyoxin C.

NikK weist eine hohe Aminotransferase-Aktivität auf, daher wird angenommen, dass mit Hilfe dieses Proteins eine Aminogruppe anstelle einer Ketogruppe eingeführt wird, siehe Abbildung 22<sup>24</sup>.

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist es, die korrespondierende  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C zu synthetisieren, welche für die Aufklärung von NikK als Aminotransferase Verwendung finden wird (siehe Abbildung 22).



**Abbildung 22:** Transfer der Aminogruppe mittels NikK.

### 3 Durchführung und Diskussion

#### Syntheseweg 1:

Für die Darstellung der  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C (**12**) ausgehend von Uridin (**1**) wird der in Abbildung 23 angegebene Synthesepan 1 aufgestellt.

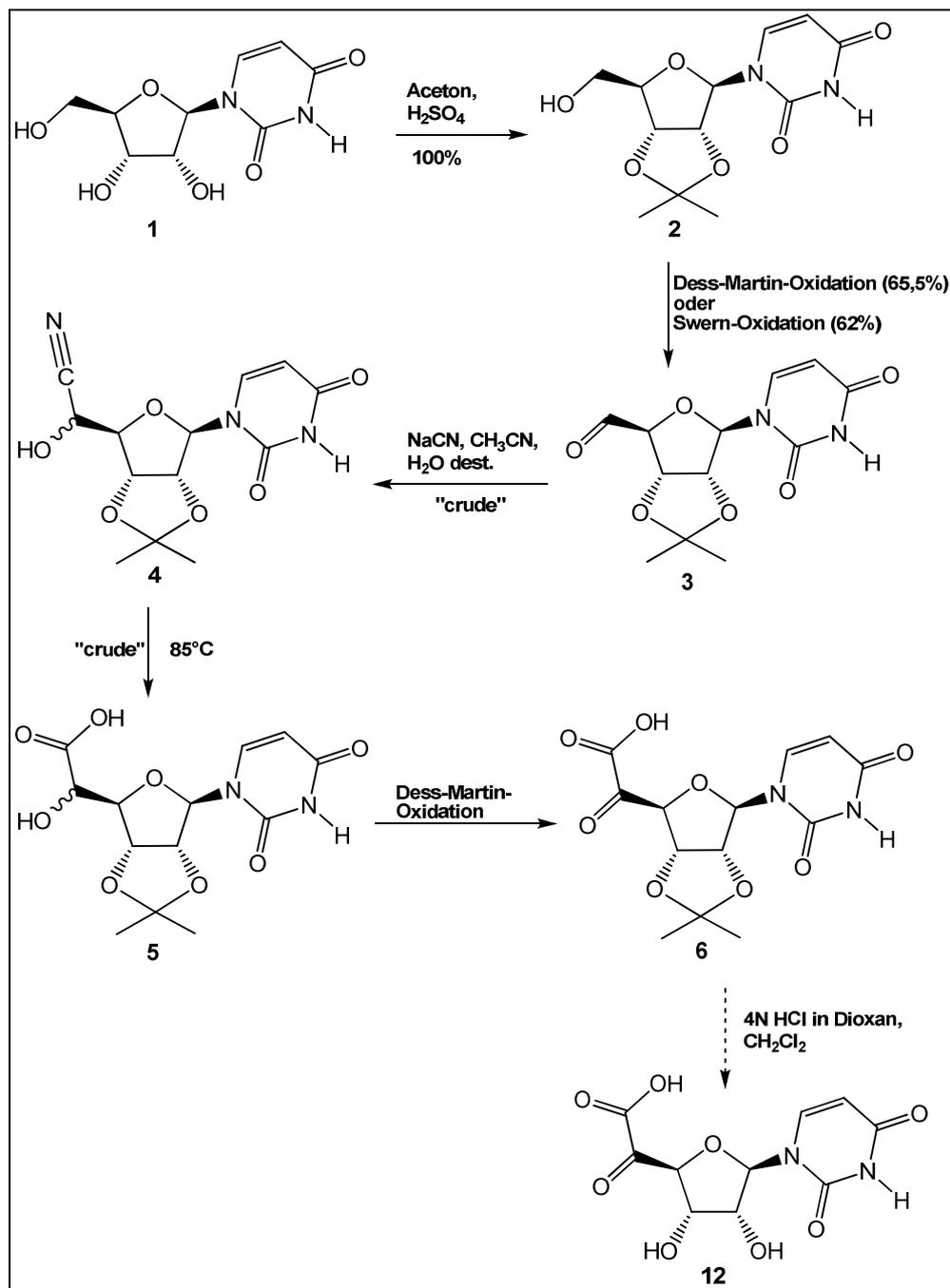


Abbildung 23: Synthesepan 1.

Zuerst werden die cis-ständigen Hydroxygruppen an C-2 und C-3 von Uridin (**1**) durch Einführung eines Isopropylidenacetals geschützt, um im folgenden Schritt ausschließlich die Hydroxygruppe am C-5 regioselektiv oxidieren zu können. Die Isopropylidenschutzgruppe wird mit trockenem Aceton in Anwesenheit von konzentrierter Schwefelsäure als saurem Katalysator eingeführt<sup>27</sup>. Nachdem die Reaktion für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt worden ist, wird sie abgebrochen, obwohl die Kontrolle mittels DC noch keinen vollständigen Umsatz zeigt, da es sonst durch die Säure zur Abspaltung des Uracils an der Anomere kommen kann. Bei der Abspaltung verfärbt sich die zuvor farblose Lösung orange. Die Reaktion wird durch Zugabe von Et<sub>3</sub>N gestoppt und das so erhaltene Produkt (**2**) säulenchromatographisch gereinigt. Der frühe Abbruch der Reaktion zeigt keine Auswirkung auf die Ausbeute (100%).

Der Aldehyd (**3**) wird mittels einer Dess-Martin-Oxidation gewonnen<sup>28</sup>. Hierfür wird das geschützte Uridin (**2**) mit dem Dess-Martin-Periodinan (DMP) in trockenem Methylenchlorid bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Reaktionszeit beträgt 2-3 Stunden. Die Aufarbeitung erfolgt nicht, wie in der Literatur angegeben, mit einer gesättigten Thiosulfat-Lösung und einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung, da sich das Produkt sowohl in der wässrigen als auch in der organischen Phase löst. Stattdessen wird die Reaktion durch Zugabe von festem Bicarbonat neutralisiert, welches anschließend wieder abfiltriert werden kann. Das Produktgemisch wird säulenchromatographisch getrennt (65,5% Ausbeute).

Da das Dess-Martin-Reagenz sehr teuer ist, wird die Synthese des Aldehydes auch mit einer Swern-Oxidation<sup>29</sup> durchgeführt. Die Nachteile dieser Oxidationsmöglichkeit sind allerdings, dass sich hier mehr Nebenprodukte bilden, die sich schwerer trennen lassen, und die Durchführung aufgrund der Wasserempfindlichkeit und der Reaktivität unter Schutzgas bei -78 °C erfolgen muss. Weiters eignet sich das Produkt nicht so gut für die Umsetzung in den Folgereaktionen, da sich auch hier, laut Dünnschichtchromatographie, wieder mehr Nebenprodukte bilden, was zu schlechteren Ausbeuten führt. Auffallend ist, dass diese beiden Oxidationsmethoden laut NMR-Untersuchungen zu zwei unterschiedlichen Hauptprodukten führen. So

<sup>27</sup> Bello, A. M.; Poduch, E.; Fujihashi, M.; Amani, M.; Li, Y.; Crandall, I.; Hui, R.; Lee, P. I.; Kain, K. C.; Pai E. F.; Kotra, L. P. *J. Med. Chem.* **2007**, *50* (5), 915-921.

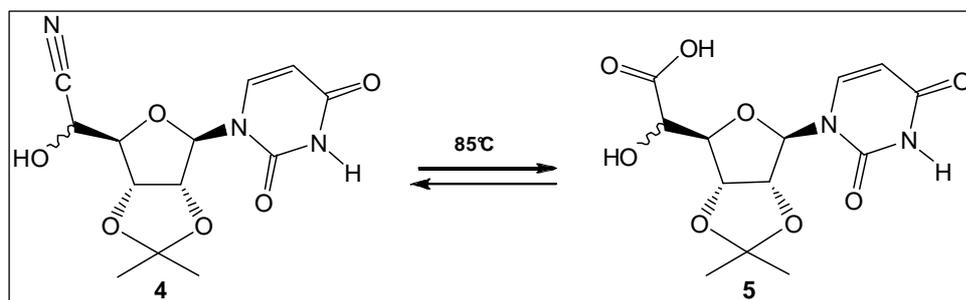
<sup>28</sup> Notz, W.; Hartel, C.; Waldscheck, B.; Schmidt, R. R. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4250-4260.

<sup>29</sup> Nielsen, K. D.; Kirpekar, F.; Roepstorff, P.; Wengel, J. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **1995**, *3* (11), 1493-1502.

erhält man bei der Dess-Martin-Oxidation nicht den gewünschten Aldehyden sondern das korrespondierende Dihydrat, wohingegen die Swern-Oxidation den erwarteten Aldehyden liefert, der jedoch nur schwer zu reinigen ist. Die Oxidation mit DMP führt allerdings zu besseren Ausbeuten und das Vorliegen des Dihydrats anstelle des Aldehyden hat keinen negativen Einfluss auf die Folgereaktion.

Aus diesen Gründen hat man sich für die zwar teure, aber für dieses System besser geeignete, geruchsfreie Dess-Martin-Oxidation entschieden.

Im nächsten Schritt wird eine Kettenverlängerung an der Position C-5 nach einer modifizierten Killiani-Fischer-Reaktion durchgeführt<sup>30</sup>. Verbindung **3** wird bei 0 °C mit NaCN in destilliertem Wasser und Acetonitril umgesetzt. Nach vollständigem Umsatz wird das Reaktionsgemisch auf 85 °C erhitzt, um das Cyanhydrin zur entsprechenden  $\alpha$ -Hydroxysäure (**5**) zu hydrolysieren. Es kommt beim Einengen der Reaktionslösung im Aufarbeitungsschritt allerdings zu einer Rückreaktion und in Folge zu einer Abspaltung der Isopropylidenschutzgruppe (Abbildung 24).



**Abbildung 24:** Falscher Ansatz für die Säuregenerierung.

Ein neuer Synthesepfad mit einer anderen Schutzgruppentechnik wird ausgearbeitet (siehe Abbildung 25).

<sup>30</sup> Pratt, J. P.; Richtmyer, M. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 6326-6328.

## Syntheseweg 2:

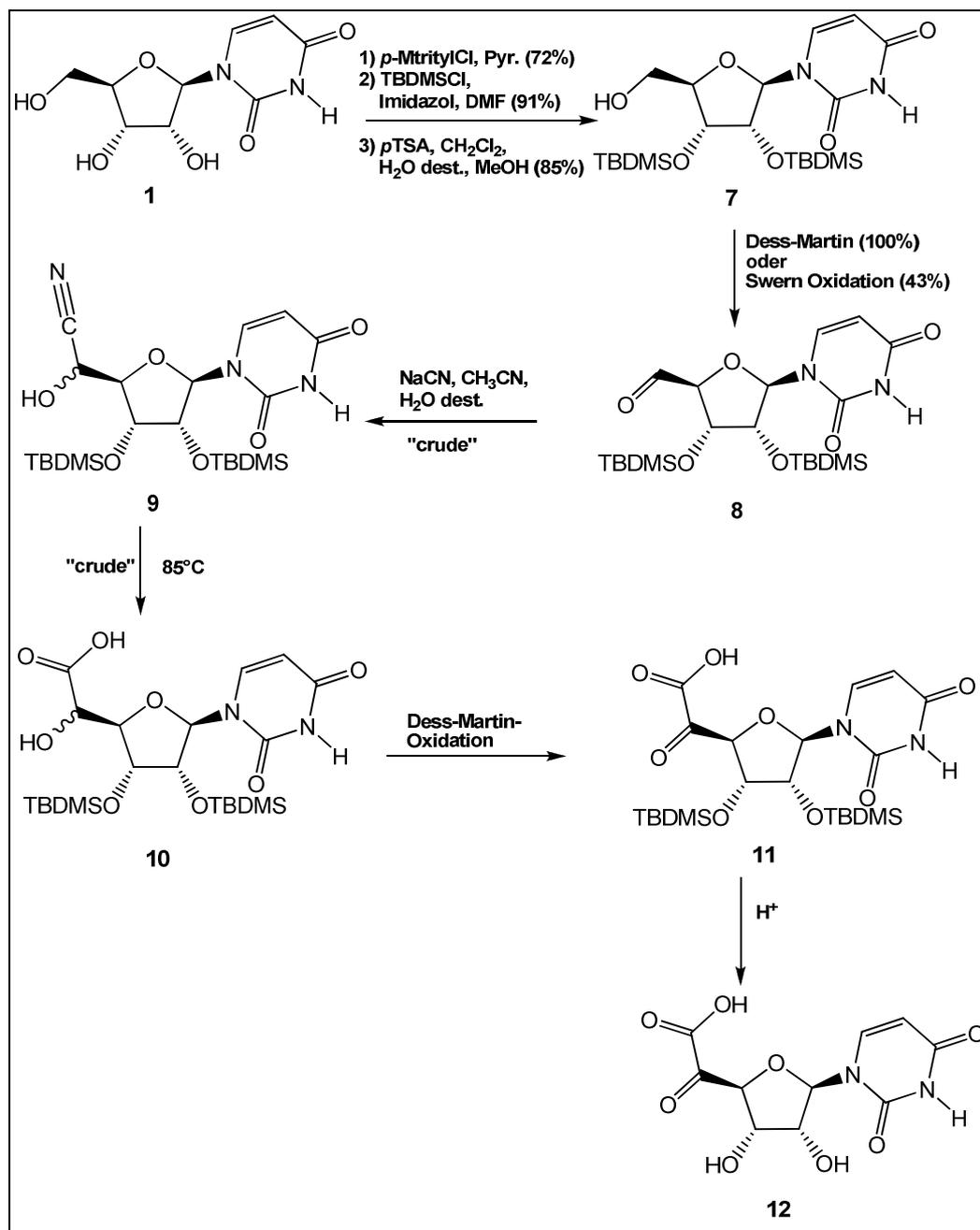


Abbildung 25: Synthesepfad 2.

Wieder wird von Uridin (1) ausgegangen. Um die Hydroxygruppen an Positionen C-2 und C-3 mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid<sup>31</sup> schützen zu können, muss erst am C-5 temporär eine Methoxytritylschutzgruppe<sup>32</sup> eingeführt werden. Hierfür wird Uridin (1)

<sup>31</sup> Myers, A. G.; Gin, D. Y.; Rogers, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116* (11), 4697-4718.

<sup>32</sup> Smith, M.; Rammler, D. H.; Goldberg, I. H.; Khorana, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84* (3), 430-440.

in trockenem Pyridin gelöst und bei Raumtemperatur mit Methoxytritylchlorid umgesetzt. Das Produkt wird sauer/basisch aufgearbeitet und mittels Säulenchromatographie gereinigt (72% Ausbeute).

Zu dem gereinigten Produkt werden in DMF Imidazol und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zugegeben, um die Silylschutzgruppen einzuführen. Nach 15 Stunden wird die Reaktion mit MeOH gequench, im Vakuum eingeeengt und mit Essigester und destilliertem Wasser extrahiert. Das so erhaltene Produkt wird wieder säulenchromatographisch gereinigt (91% Ausbeute).

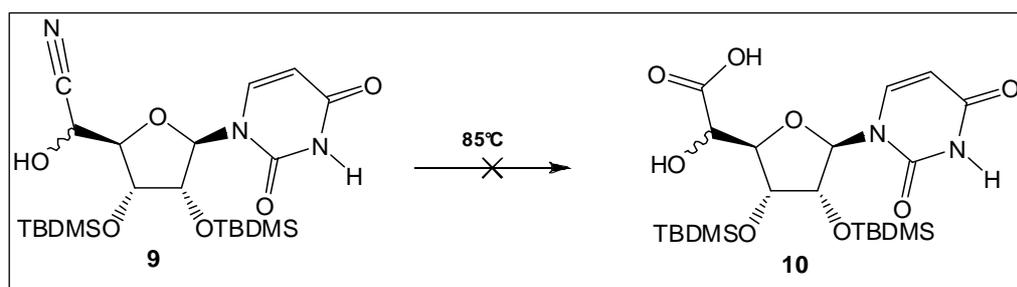
Nun wird die Methoxytritylschutzgruppe wieder abgespalten, um im nächsten Schritt die Hydroxygruppe am C-5 oxidieren zu können. Der geschützte Zucker wird in Methylenchlorid gelöst, anschließend werden ein paar Tropfen destilliertes Wasser zugegeben. MeOH wird solange zugetropft, bis die Lösung erst trüb und dann wieder klar wird. Bei der Abspaltung mit *p*-Toluolsulfonsäure muss besonders darauf geachtet werden, nicht zu sauer zu werden. Der pH wird auf 2 bis 3 eingestellt, da es sonst bei der relativ langen Rührzeit von 24 Stunden zur Spaltung des Aglycons kommen könnte. Nach vollständigem Umsatz wird die Lösung mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie gereinigt (85% Ausbeute).

Der Aldehyd (**8**) wird über eine Swern<sup>29</sup> (43% Ausbeute) oder eine Dess-Martin-Oxidation<sup>28</sup> (100% Ausbeute) gewonnen, analog zum Syntheseplan 1. Wieder erhält man bei der Dess-Martin-Oxidation das korrespondierende Dihydrat und bei der Swern-Oxidation den erwarteten Aldehyden, der wiederum nur schwer zu reinigen ist. Die Oxidation mit DMP führt allerdings zu besseren Ausbeuten und es ist kein weiterer Reinigungsschritt notwendig. Beide Produkte werden für die Kettenverlängerung im nächsten Schritt eingesetzt, und es stellt sich heraus, dass sich wieder das Dess-Martin-Produkt besser für die Reaktion eignet, obwohl es als Dihydrat und nicht als Aldehyd vorliegt. Aufgrund der Vorteile der höheren Ausbeute, des Wegfallens eines Reinigungsschrittes und der kürzeren Reaktionszeit wird auch bei den Silylschutzgruppen die Dess-Martin-Oxidation vorgezogen. Mit dieser Schutzgruppe kann die Reaktion nach Vorschrift mit einer gesättigten

Thiosulfatlösung und einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung aufgearbeitet werden, da sich das Produkt nicht in der wässrigen Phase löst.

Die Oxidation nach Pfitzner-Moffatt<sup>33</sup> wird ebenfalls ausprobiert, doch sie führt nicht zum gewünschten Produkt (**8**).

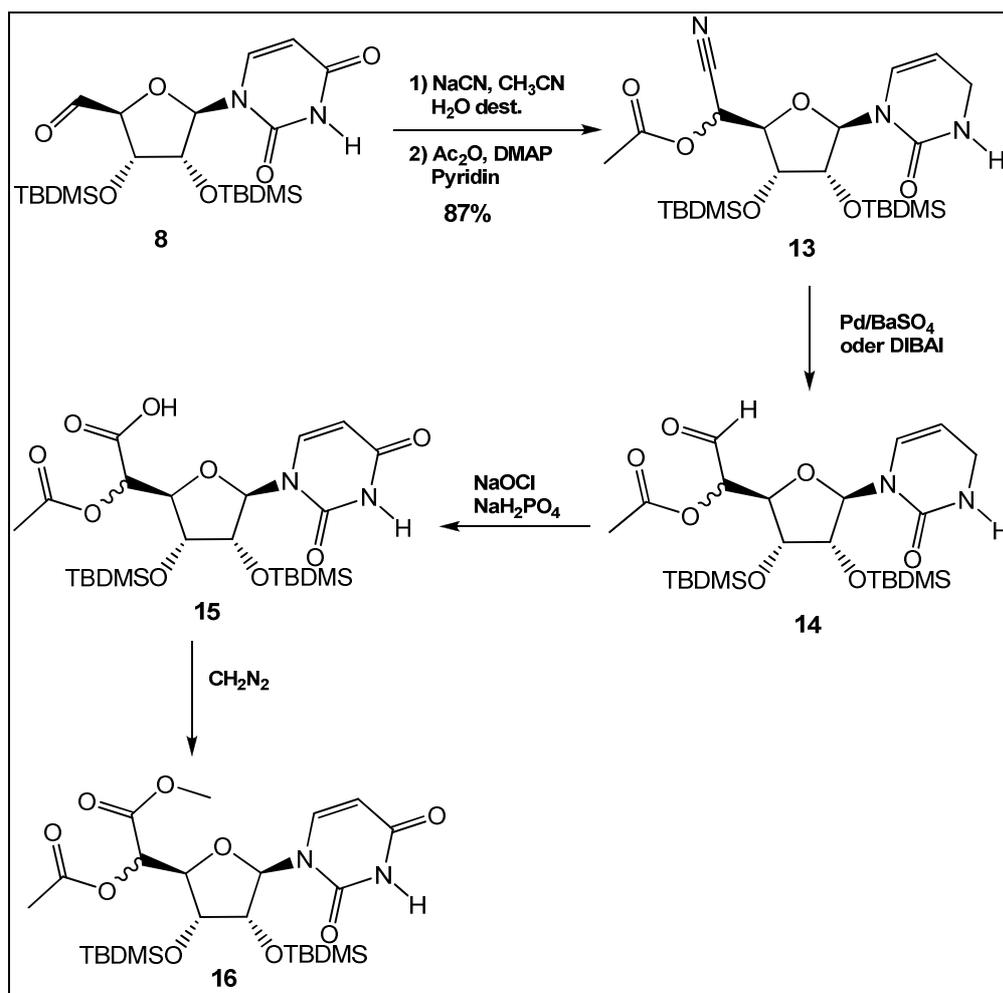
Die Kettenverlängerung nach einer modifizierten Killiani-Fischer-Reaktion<sup>30</sup> (**9**) und die anschließende Bildung der Säure (**10**) durch Aufheizen auf 85 °C führen nicht zu dem gewünschten Produkt (Abbildung 26). Daraufhin wird die Kettenverlängerung mit Trimethylsilylcyanid in trockenem Methylenchlorid durchgeführt<sup>18</sup>. Die bei dieser Reaktion entstehenden beiden Diastereomere an Position C-5 werden in weiterer Folge gemeinsam umgesetzt, da dieses Stereozentrum in der nachfolgenden Oxidation zur  $\alpha$ -Ketosäure wieder zerstört wird.



**Abbildung 26:** Auch mit der Silylschutzgruppe führt dieser Schritt nicht zum Ziel.

Die Dünnschichtchromatographie zeigt, dass das Cyanhydrin (**9**) nicht stabil ist und beim Einengen im Vakuum zerfällt. Daher wird überlegt, das Cyanhydrin noch im selben Schritt zu schützen (Abbildung 27).

<sup>33</sup> Howgate, P.; Jones, A. S.; Tittensor, J. R. *Carbohydr. Res.* **1970**, *12*, 403-408.

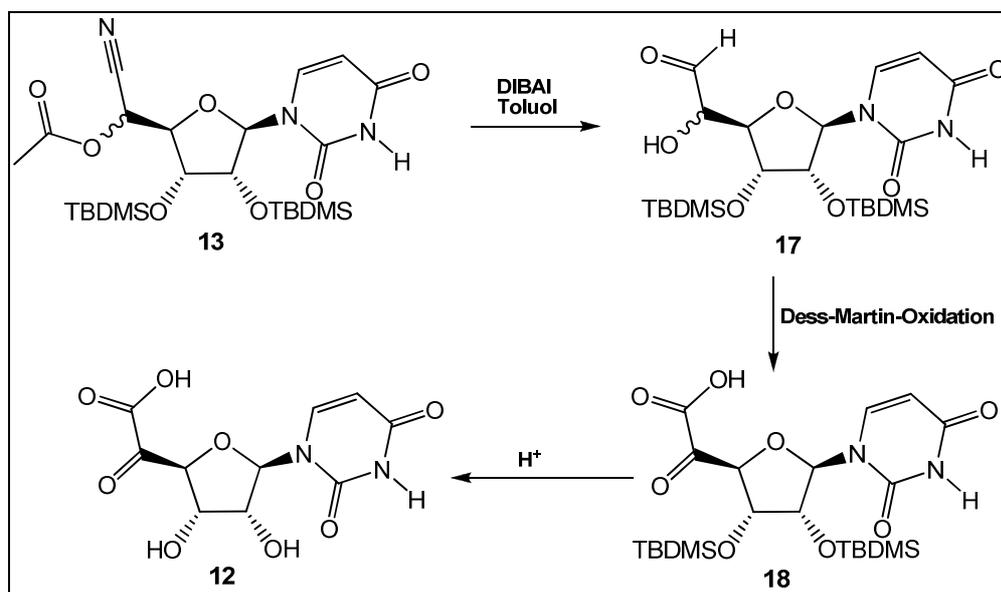


**Abbildung 27:** Erweiterung von Synthesepfad 2 mit einer Acetylschutzgruppe am Cyanhydrin.

Dafür wird der Aldehyd (**8**) mit NaCN umgesetzt und das erhaltene Produkt mit CHCl<sub>3</sub> aus der wässrigen Phase extrahiert. Zu der über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Chloroformlösung wird trockenes Pyridin zugegeben und mit Ac<sub>2</sub>O und DMAP acetyliert. Die Acetylierung geht trotz der großen Menge an Chloroform sehr schnell, die Reaktionszeit beträgt ein bis zwei Stunden. Nach vollständigem Umsatz wird mit MeOH gequench und sauer/basisch aufgearbeitet. Nun ist das Produkt stabil, und kann mittels Säulenchromatographie gereinigt werden (87% Ausbeute).

Die Methode des *in-situ* Schützens funktioniert auch bei einer Kettenverlängerung mit Trimethylsilylcyanid, jedoch muss hier vor der Acetylierung mit stark verdünnter HCl ausgeschüttelt werden, wodurch es zu einer Rückreaktion kommen kann. Außerdem ist diese Art der Kettenverlängerung mit längeren Reaktionszeiten verbunden und es kann zur Bildung von Silylketten kommen.

Mittels reduktiver Hydrolyse mit Pd auf BaSO<sub>4</sub> soll Aldehyd (**14**) gebildet werden, allerdings ohne Erfolg. Daher wurde Verbindung **13** mit DIBAL unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre bei -78 °C reduziert und mit einer gesättigten NH<sub>4</sub>Cl-Lösung und einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung aufgearbeitet. Zuerst werden 2 Äquivalente DIBAL genommen. Hier zeigen NMR-Untersuchungen, dass nicht nur das Nitril reduziert wird, sondern auch die Acetylgruppe abgespalten wird. Es entsteht eine Mischung aus **13**, **14** und **17**. Daher wird versucht, durch Variation der DIBAL-Äquivalente eine vollständige Reaktion zu Verbindung **17** zu erhalten (Abbildung 28).



**Abbildung 28:** Möglicher Synthesepfad, bei dem **13** sofort zu **17** durch Variation der DIBAL-Äquivalente reduziert wird.

Jedoch wird bei 4 Äquivalenten auch der Uracilrest reduziert, und auch bei 3 Äquivalenten erhält man mehrere Nebenprodukte. Deswegen wird versucht, Verbindung **14** nach Synthesepfad 2 zuerst mit NaOCl und NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> zur Säure zu oxidieren und anschließend mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> zu verestern. Inzwischen wird auch versucht, Verbindung **4** aus dem ersten Synthesepfad *in-situ* mit TBDMS-Cl zu schützen, um anschließend das Nitril mit DIBAL reduzieren zu können, da die Silylschutzgruppe gegenüber dem DIBAL stabiler ist. Es stellt sich heraus, dass mit 2 Äquivalenten DIBAL ein vollständiger Umsatz zum gewünschten Produkt erreicht wird. Daher wird ein neuer Synthesepfad 3 (siehe Abbildung 29) basierend auf Synthesepfad 1 erstellt und Synthesepfad 2 nicht weiter verfolgt.

## Syntheseweg 3:

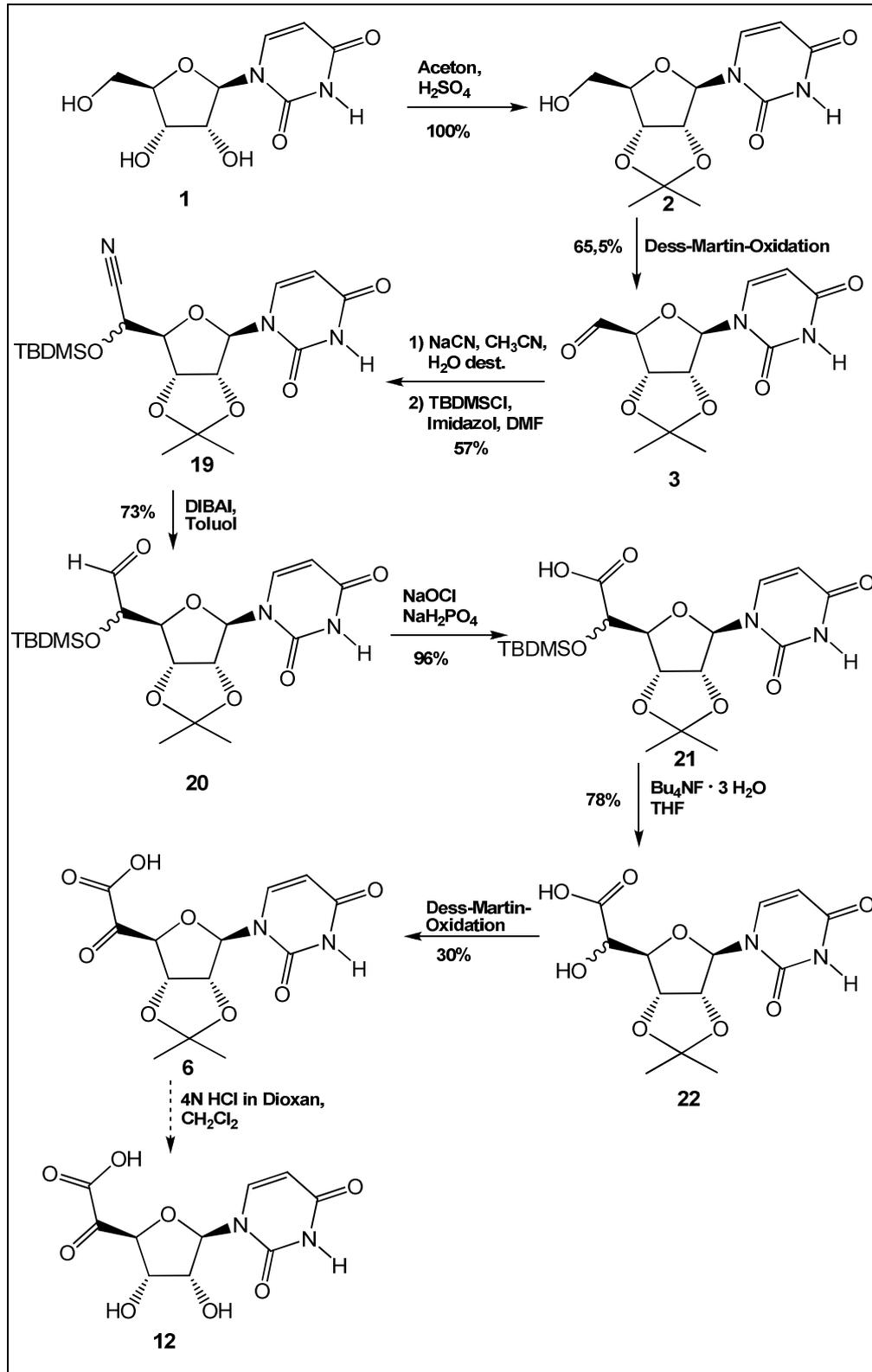


Abbildung 29: Synthesepfad 3.

Wie schon im ersten Syntheseplan wird Uridin (**1**) mit Aceton und konzentrierter Schwefelsäure 2',3'-O-Isopropyliden geschützt und anschließend an Position C-5 mit DMP oxidiert. Die Kettenverlängerung am C-5 erfolgt mittels modifizierter Killiani-Fischer-Reaktion mit NaCN. Nach vollständigem Umsatz wird die wässrige Lösung mit Essigester extrahiert. Das Produkt geht nur schwer in die organische Phase. Die Essigesterphase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, und DMF, Imidazol und TBDMS-Cl werden zugegeben. Jetzt kann das Reaktionsgemisch gefahrlos im Vakuum eingengt werden, bis eine stark konzentrierte Lösung übrig bleibt. Erneut werden Imidazol und TBDMS-Cl zugegeben, um vollständigen Umsatz zu erreichen. Es wird mit MeOH gequench und mit EE und H<sub>2</sub>O dest. ausgeschüttelt. Das Produkt (**19**) wird säulenchromatographisch gereinigt und in einer Ausbeute von 57% erhalten.

Verbindung **19** wird mit zwei Äquivalenten DIBAL zu Aldehyd (**20**) in einer Ausbeute von 73% reduziert.

Der Aldehyd (**20**) wird mit NaOCl und NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in THF, *t*-BuOH und Isopenten bei 0 °C zur Säure (**21**) oxidiert. Hier ist zu beachten, dass die Reaktionszeiten bei größeren Ansatzmengen deutlich zunehmen. Die Reaktion wird mit einer gesättigten Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung und einer gesättigten NaCl-Lösung gestoppt und auf pH 3 angesäuert und mit EE ausgeschüttelt. Die Säure (**21**) wird in einer Ausbeute von 96% erhalten.

Im nächsten Schritt wird die Silylschutzgruppe mit Bu<sub>4</sub>NF·3H<sub>2</sub>O in THF abgespaltet und die so erhaltene Hydroxysäure (**22**) mit DMP in absolutem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> zur Ketosäure (**6**) oxidiert. Das erhaltene Produkt wird mittels Säulenchromatographie gereinigt und in einer Ausbeute von 30% erhalten.

Im letzten Schritt soll die Isopropylidenschutzgruppe, laut Vorschrift<sup>34</sup>, mit 4N HCl in Dioxan abgespalten werden. Massenuntersuchungen von Vorversuchen zeigen, dass das gewünschte Produkt (**12**) in kleinen Mengen gebildet wurde, doch muss die Methode noch verbessert werden, und ein geeignetes Reinigungsverfahren entwickelt werden. Außerdem fehlen noch die analytischen Schritte um die erhaltene Verbindung hinreichend als die  $\alpha$ -Ketosäure identifizieren und charakterisieren zu können, diese laufen gerade<sup>35</sup>.

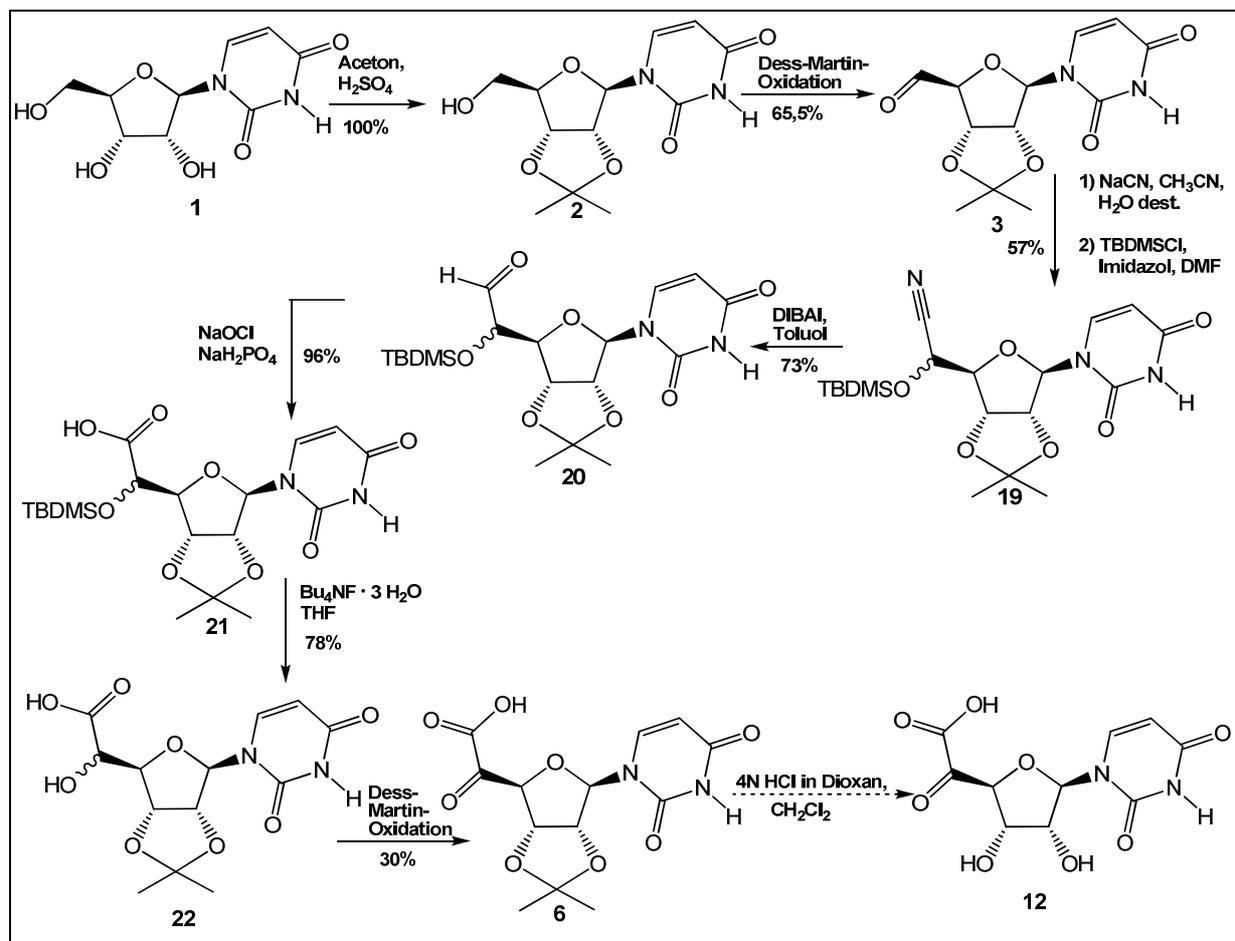
---

<sup>34</sup> Dalhoff, C.; Hüben, M.; Lenz, T.; Poot, P.; Nordhoff, E.; Köster, H.; Weinhold, E. *ChemBioChem* **2010**, *11*, 256-265.

<sup>35</sup> Wird in einem Addendum nachgereicht.

## 4 Zusammenfassung

Während dieser Diplomarbeit wurde die Synthese der  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C erarbeitet (Abbildung 30).



**Abbildung 30:** Syntheseweg zur  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C.

Uridin (**1**) wurde 2',3'-O-Isopropyliden geschützt und an Position C-5 mit DMP oxidiert. Bei der anschließenden Kettenverlängerung mittels modifizierter Killiani-Fischer-Reaktion wurde die dabei entstehende Hydroxygruppe am C-5 *in-situ* mit einer *tert*-Butyldimethylsilylgruppe geschützt. Das Nitril (**19**) wurde mit DIBAL reduziert und der so gebildete Aldehyd (**20**) mit einer NaOCl/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung zur Säure (**21**) oxidiert. Anschließend wurde die Silylschutzgruppe abgespalten und die Ketosäure (**6**) über eine Dess-Martin-Oxidation erhalten. Der letzte Schritt, in dem die Isopropylidenschutzgruppe abgespalten werden soll, befindet sich gerade in der Entwicklung.

Alle Syntheseschritte konnten mit relativ guten bis sehr guten Ausbeuten durchgeführt werden, und auch die Bildung der Diastereomere (**19**, **20**, **21** und **22**) durch die Kettenverlängerung stellte kein Problem dar, da das Stereozentrum durch die Oxidation zur Ketosäure (**6**) wieder zerstört wurde. So konnten beide Diastereomere in den folgenden Reaktionen gemeinsam umgesetzt werden.

Mit Hilfe der so synthetisierten  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C soll ein weiterer Syntheseschritt der Nikkomycin-Biosynthese und die Bedeutung von NikK für selbige aufgeklärt werden.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Analytik

#### *Chromatographie*

##### Dünnschichtchromatographie:

Für die Dünnschichtchromatographie werden Kieselgel 60 F<sub>254</sub>-Fertigplatten der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte mit einer 254 nm UV Lampe und den unten angeführten Sprühreagenzien. Nach dem Sprühen wurde zur Entwicklung erhitzt.

##### Sprühreagenzien:

Vanillin/Schwefelsäure: 1 g Vanillin in 100 mL konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ammoniummolybdat/Cersulfat: 100 g Ammoniummolybdat in 1000 mL 10 %-iger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 8 g Cer(IV)sulfat in 80 mL 10 %-iger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Anisaldehyd: 10 mL *para*-Anisaldehyd, 2 mL Essigsäure, 180 mL Ethanol und 10 mL konzentrierte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ehrlich-Reagenz: 0,5 g *para*-Dimethylaminobenzaldehyd in 25 mL Ethanol und 25 mL konzentrierter HCl.

Permanganat-Lösung: KMnO<sub>4</sub> in H<sub>2</sub>O.

##### Präparative Dünnschichtchromatographie:

Hierfür wurden mit Kieselgel 60 beschichtete Glasplatten (0,25 oder 0,5 mm) der Firma Merck verwendet.

##### Säulenchromatographie:

Die Säulenchromatographie wurde mit Merck Kieselgel 60 (230-400 mesh) durchgeführt. Die Laufmittelzusammensetzungen unterscheiden sich und sind daher in den Arbeitsvorschriften zur Herstellung der jeweiligen Substanzen angeführt.

### *Optische Aktivität*

Die Drehwerte wurden mit einem PERKIN ELMER Polarimeter 341 bei 20 °C, einer Küvettenlänge von 1 dm und einer Wellenlänge von 589 nm gemessen. Die Konzentrationsberechnung bezieht sich auf g/100 mL und das Lösungsmittel für die jeweilige Messung ist in der Arbeitsvorschrift angegeben.

### *NMR- Spektroskopie*

Die NMR-Spektren wurden mit einem Bruker Ultrashield 300 MHz bei einer Frequenz von 75,53 MHz (<sup>13</sup>C) beziehungsweise 300,36 MHz (<sup>1</sup>H) aufgenommen.

NMR-spektroskopische Daten:

δ chemische Verschiebung in ppm gegen Trimethylsilan

in Klammer:

<sup>13</sup>C: zugeordnetes Kohlenstoffatom

<sup>1</sup>H: Multiplizität, Anzahl der Wasserstoffe, zugeordnete Wasserstoffe,  
Kopplungskonstante (J) in Hz

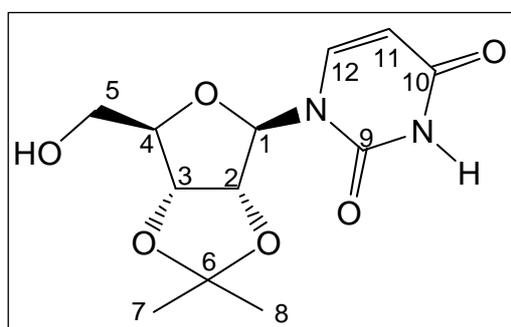
Multiplizität:

s	Singlett	d	Duplett
bs	breites Singlett	dd	duplettisches Duplett
t	Triplett	ddd	duplettisches dd
m	Multipllett	n.a.	nicht aufgelöst

## 5.2 Darstellung der Produkte

### 5.2.1 2',3'-O-Isopropylidenuridin (**2**)

Uridin (**1**) (5 g; 20,5 mmol) wird in trockenem Aceton (250 mL) suspendiert. Konzentrierte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2,5 mL) wird bei Raumtemperatur zugetropft. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur für 1 Stunde gerührt und schließlich mit Et<sub>3</sub>N neutralisiert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird mittels Säulenchromatographie gereinigt. Ausbeute: 5,8 g (20,4 mmol) weißes Pulver (100%).



DC LM:	EE/MeOH (10:1) (v/v)
Säulen LM:	EE/MeOH (10:1) (v/v)
Ausbeute:	100%
Rel. Molmasse:	284,27 g/mol (C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> )
[α] <sub>589</sub> <sup>20</sup>	-0,172

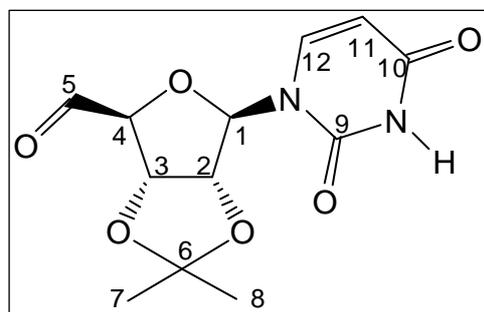
<sup>1</sup>H-NMR (MeOD) δ: 7.76 (d, 1H, *J*<sub>11,12</sub>=8.1 Hz, H-12), 5.80 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub>=2.4 Hz, H-1), 5.61 (d, 1H, H-11), 4.84 (dd, 1H, *J*<sub>2,3</sub>=6.2 Hz, H-2), 4.75 (dd, 1H, *J*<sub>3,4</sub>=3.4 Hz, H-3), 4.13 (dd, 1H, *J*<sub>4,5</sub>=7.4 Hz, H-4), 3.67 (ddd, 2H, *J*<sub>4,5'</sub>=3.2 Hz, *J*<sub>5,5'</sub>=11.6 Hz, H-5), 1.47 (s, 3H, H-7), 1.27 (s, 3H, H-8).

<sup>13</sup>C-NMR (MeOD) δ: 166.2 (C-10), 152.1 (C-9), 144.0 (C-12), 115.2 (C-6), 102.7 (C-11), 94.2 (C-1), 88.4 (C-4), 85.9 (C-2), 82.3 (C-3), 63.1 (C-5), 27.6, 25.6 (2C, C-7, C-8).

### 5.2.2 5'-Oxa-2',3'-O- isopropylidenuridin (**3**)

Zu einer Suspension von Verbindung **2** (4 g; 14,1 mmol) in absolutem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL) wird DMP (6,57 g; 15,5 mmol; 1,1 eq) bei Raumtemperatur zugegeben. Die Reaktion wird für 2-3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktion mit festem Bicarbonat neutralisiert, das Bicarbonat abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird

säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 2,6 g (9,21 mmol) weißes Pulver (65,5%).



DC LM:	EE/MeOH (10:1) (v/v)
Säulen LM:	EE/Toluol (2:1) (v/v)
Ausbeute:	65,5%
Rel. Molmasse:	282,25 g/mol (C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> )
[α] <sub>589</sub> <sup>20</sup>	-0,175

Dihydrat:

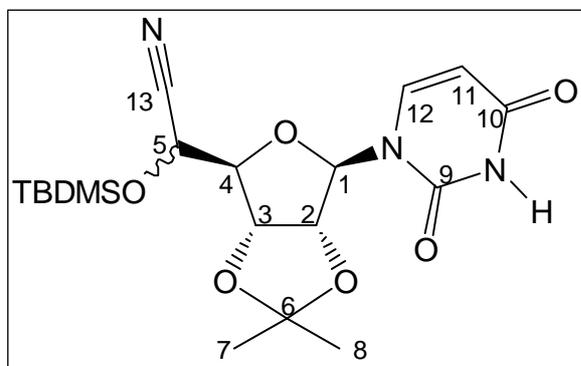
<sup>1</sup>H-NMR (MeOD) δ: 7.90 (d, 1H, *J*<sub>11,12</sub>=8.1 Hz, H-12), 5.92 (d, 1H, *J*<sub>1,2</sub>=2.8 Hz, H-1), 5.72 (d, 1H, H-11), 4.97-4.88 (m, 2H, H-2, H-3), 4.73 (d, 1H, *J*<sub>4,5</sub>=4.1 Hz, H-5), 4.18 (dd, 1H, *J*<sub>3,4</sub>=2.1 Hz, H-4), 1.56 (s, 3H, H-7), 1.37 (s, 3H, H-8).

<sup>13</sup>C-NMR (MeOD) δ: 166.3 (C-10), 152.2 (C-9), 143.8 (C-12), 114.8 (C-6), 102.4 (C-1), 97.8 (C-5), 94.7 (C-11), 89.1 (C-4), 85.9 (C-2), 82.2 (C-3), 27.6, 25.6 (2C, C-7, C-8).

### 5.2.3 5'-O-*t*-Butyldimethylsilyl-6'-cyano-2',3'-O-isopropylidenuridin (**19**)

Verbindung **3** (2,6 g; 9,21 mmol) wird in absolutem Acetonitril (15 mL) und H<sub>2</sub>O dest. (15 mL) suspendiert. Unter Eiskühlung wird NaCN (451,5 mg; 9,21 mmol; 1 eq) zugegeben. Die Lösung wird bei 0 °C für 3 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Essigester extrahiert. Dieser Schritt muss sehr oft mit geringen Mengen EE wiederholt werden, um das Produkt vollständig aus der wässrigen Phase zu bekommen. Die vereinten organischen Phasen werden getrocknet. Anschließend wird DMF (15 mL) zugegeben. Imidazol (7,53 g; 111 mmol; 12 eq) und TBDMS-Cl (8,33 g; 55,3 mmol; 6 eq) werden nacheinander zugegeben. Die Lösung wird für ungefähr 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Schließlich wird der EE im Vakuum entzogen und die Reaktion wird für weitere 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Eventuell muss weiteres TBDMS-Cl zugegeben werden. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktion durch Zugabe von MeOH (30 mL) gequencht, eingeeengt

und mit EE und H<sub>2</sub>O dest. ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird 3-mal mit jeweils 20 mL EE extrahiert und die organischen Phasen werden vereint, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, einrotiert und mittels Säulenchromatographie gereinigt. Ausbeute: 2,2 g (5,19 mmol) gelbliches Pulver (57%).



DC LM:	EE/MeOH (10:1) (v/v)
	Kettenverlängerung;
	EE Silylierung
Säulen LM:	CH/EE (2:1) (v/v)
Ausbeute:	57%
Rel. Molmasse:	423,54 g/mol
	(C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> Si)

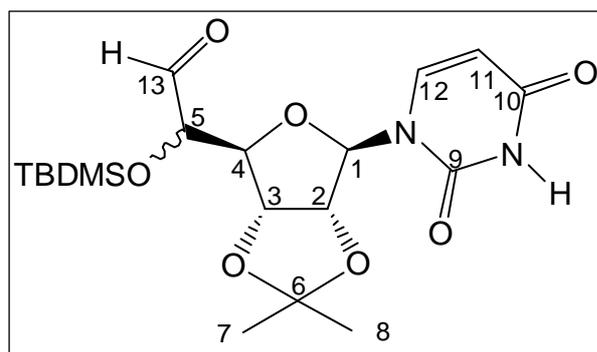
Die absolute Konfiguration wurde nicht bestimmt, deswegen werden die Signale für die beiden Diastereomere als a und b angegeben.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.42 (d, 1H,  $J_{11b,12b}=8.1$  Hz, H-12b), 7.23 (d, 1H,  $J_{11a,12a}=8.1$  Hz, H-12a), 5.81 (d,  $J_{1b,2b}=2.4$  Hz, H-1b), 5.78-5.69 (m, 2H, H-11a, H-11b), 5.57 (d, 1H,  $J_{1a,2a}=1.6$  Hz, H-1a), 5.04 (dd, 1H,  $J_{2a,3a}=6.5$  Hz, H-2a), 4.91-4.82 (m, 3H, H-2b, H-3a, H-3b), 4.72 (d, 1H,  $J_{4b,5b}=5.8$  Hz, H-5b), 4.70 (d, 1H,  $J_{4a,5a}=7.8$  Hz, H-5a), 4.30 (dd, 1H,  $J_{3b,4b}=3.0$  Hz, H-4b), 4.24 (dd, 1H,  $J_{3a,4a}=3.3$  Hz, H-4a), 1.56 (s, 3H, H-7b), 1.53 (s, 3H, H-7a), 1.34 (s, 3H, H-8b), 1.32 (s, 3H, H-8a), 0.95-0.84 (m, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, a und b), 0.22, 0.18, 0.15, 0.10 (4s, 12H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a und b).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 163.6, 163.5 (2C, C-10a, C-10b), 150.4, 150.2 (2C, C-9b, C-9a), 143.5, 141.6 (2C, C-12a, C-12b), 118.7, 117.9 (2C, C-13a, C-13b), 115.2, 114.8 (2C, C-6b, C-6a), 103.2, 103.1 (2C, C-11b, C-11a), 97.0, 94.1 (2C, C-1a, C-1b), 88.6, 87.6 (2C, C-4a, C-4b), 84.3 (2C, C-2a, C-2b), 82.2, 80.8 (2C, C-3a, C-3b), 63.5, 62.9 (2C, C-5b, C-5a), 27.2, 27.1 (2C, C-7b, C-7a), 25.7, 25.6 (6C, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, a und b), 25.4, 25.3 (2C, C-8b, C-8a), -4.8, -5.0, -5.1, -5.2 (4C, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a und b).

### 5.2.4 6'-Oxa-5'-O-*t*-butyldimethylsilyl-2',3'-O-isopropylidenuridin (**20**)

Verbindung **19** (2,2 g; 5,19 mmol) wird in absolutem Toluol (20 mL) vorgelegt. Der Kolben mit der Lösung wird evakuiert und mit N<sub>2</sub> belüftet (Vorgang 3-mal wiederholen) und danach auf -78 °C gekühlt. Die Reaktion wird unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre bei -78 °C durchgeführt. DIBAL (8,6 mL; 10,4 mmol; 2 eq) wird mittels Spritze langsam über ein Septum zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 2 Stunden bei -78 °C gerührt. Eine gesättigte NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (30 mL) wird zugetropft und die Reaktion wird für weitere 10 Minuten bei -78 °C gerührt. Nach Zugabe von CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird die Kühlung entfernt und das Gemisch auf Raumtemperatur gebracht. Die Reaktion wird mit einer gesättigten NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mehrmals mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert, die organischen Phasen werden vereint und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 1,6 g (3,75 mmol) gelbes Pulver (73%).



DC LM:	EE/CH (2:1) (v/v)
Säulen LM:	EE/CH (2:1) (v/v)
Ausbeute:	73%
Rel. Molmasse:	426,54 g/mol (C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> Si)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.64 (d, 1H, *J*<sub>11b,12b</sub>=8.1 Hz, H-12b), 7.20 (d, 1H, *J*<sub>11a,12a</sub>=8.0 Hz, H-12a), 6.00 (d, *J*<sub>1b,2b</sub>=2.8 Hz, H-1b), 5.80 (d, 1H, *J*<sub>1a,2a</sub>=2.5 Hz, H-1a), 5.70 (2d, 2H, H-11a, H-11b), 4.95 (dd, 1H, *J*<sub>2a,3a</sub>=6.5 Hz, H-2a), 4.86-4.78 (m, 2H, H-2b, H-3a), 4.69-4.60 (m, 2H, H-3b, H-4b), 4.36-4.31 (m, 2H, H-5a, H-5b), 4.20 (dd, 1H, *J*<sub>3a,4a=4a,5a</sub>=4.7 Hz, H-4a), 1.58-1.48 (m, CH<sub>3</sub> a und b, H-7 a und b), 1.34-1.28 (m, CH<sub>3</sub> a und b, H-8 a und b), 0.94-0.84 (m, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, a und b), 0.15-0.04 (m, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a und b).

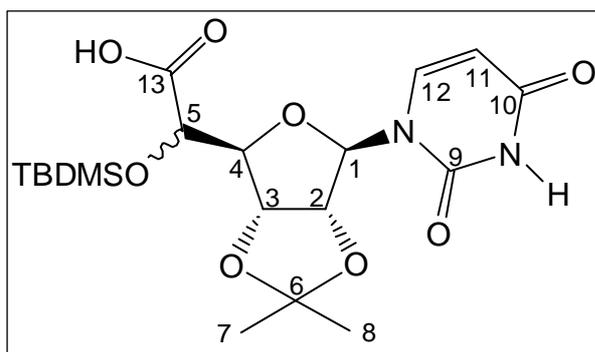
$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 201.3, 200.0 (2C, C-13a, C-13b), 163.3, 163.3 (2C, C-10b, C-10a), 150.2, 150.1 (2C, C-9b, C-9a), 141.8, 140.4 (2C, C-12a, C-12b), 115.3, 114.9 (2C, C-6a, C-6b), 103.2, 102.7 (2C, C-11a, C-11b), 92.7, 91.7 (2C, C-1a, C-1b), 86.2, 85.9 (2C, C-4a, C-4b), 85.1, 83.9 (2C, C-3b, C-3a), 80.3, 80.0 (2C, C-2b, C-2a), 78.7, 77.4 (2C, C-5b, C-5a), 27.4, 27.3 (2C, C-7b, C-7a), 25.6, 25.5 (2C, C-8a, C-8b), 25.9 (6C,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ , a und b), -4.3, -4.7, -5.1 (4C,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ , a und b).

### 5.2.5 6'-Carboxy-5'-O-*t*-butyldimethylsilyl-2',3'-O-isopropylidenuridin (**21**)

Verbindung **20** (0,8 g; 1,88 mmol; 1 eq) wird in THF abs. (5 mL), *t*-BuOH abs. (10 mL) und Isopenten abs. (5 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine NaOCl/ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -Lösung (130 mL) wird über einen Tropftrichter zugetropft. Die Reaktion wird bei 0 °C für 60 Minuten gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ -Lösung (50 mL) und einer gesättigten NaCl-Lösung (20 mL) gestoppt und mit Eisessig neutralisiert. Das Lösungsmittelgemisch wird mehrmals mit EE extrahiert und die organischen Phasen vereint, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 800 mg (1,81 mmol) gelbes Pulver (96%).

Herstellung der NaOCl/ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -Lösung:

250 mg NaOCl und 250 mg  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  werden in 1,2 mL  $\text{H}_2\text{O}$  dest. gelöst.



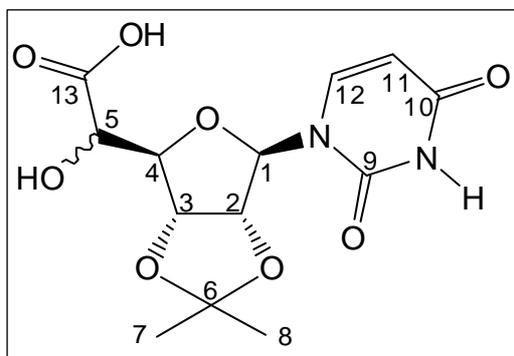
DC LM:	EE/CH (1:1) (v/v)
Säulen LM:	CH/EE (1:1) (v/v)
	(0,5% Eisessig)
Ausbeute:	96%
Rel. Molmasse:	442,54 g/mol
	( $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8\text{Si}$ )

$^1\text{H-NMR}$  (MeOD)  $\delta$ : 7.64 (d, 1H,  $J_{11b,12b}=8.0$  Hz, H-12b), 7.57 (d, 1H,  $J_{11a,12a}=8.0$  Hz, H-12a), 5.74 (d, 1H,  $J_{1b,2b}=1.4$  Hz, H-1b), 5.66-5.58 (m, 3H, H-1a, H-11a, H-11b), 5.12 (dd, 1H,  $J_{2b,3b}=6.4$  Hz, H-2b), 5.02 (dd, 1H,  $J_{1a,2a}=1.5$  Hz,  $J_{2a,3a}=6.3$  Hz, H-2a), 4.92-4.80 (m, 4H, H-3a, H-3b, H-5a, H-5b), 4.21 (dd, 1H,  $J_{3a,4a}=3.2$  Hz,  $J_{4a,5a}=6.7$  Hz, H-4a), 4.11 (dd, 1H,  $J_{3b,4b}=3.2$  Hz,  $J_{4b,5b}=8.3$  Hz, H-4b), 1.50-1.45 (m,  $\text{CH}_3$  a und b, H-7 a und b), 1.30-1.25 (m,  $\text{CH}_3$  a und b, H-8 a und b), 0.90-0.80 (m,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ , a und b), 0.20-0.02 (m,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ , a und b).

$^{13}\text{C-NMR}$  (MeOD)  $\delta$ : 175.3 (2C, C-13a, C-13b), 166.2, 166.1 (2C, C-10b, C-10a), 152.3, 152.2 (2C, C-9a, C-9b), 146.0, 144.9 (2C, C-12b, C-12a), 115.6, 115.4 (2C, C-6a, C-6b), 103.1 (2C, C-11a, C-11b), 98.4, 97.0 (2C, C-1a, C-1b), 90.5, 90.3 (2C, C-4a, C-4b), 86.0, 85.7 (2C, C-2a, C-2b), 84.0, 82.7 (2C, C-3b, C-3a), 65.1, 64.2 (2C, C-5a, C-5b), 28.1, 27.5 (2C, C-7b, C-7a), 27.4, 26.7 (2C, C-8b, C-8a), 26.1, 25.5 (6C,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ , a und b), -4.8, -4.9, -5.0 (4C,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ , a und b).

### 5.2.6 6'-Carboxy-5'-hydroxy-2',3'-O-isopropylidenuridin (**22**)

Verbindung **21** (520 mg; 1,18 mmol; 1 eq) wird in absolutem THF (10 mL) gelöst.  $\text{Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (483 mg; 1,53 mmol; 1,3 eq) wird zugegeben und die Reaktion für 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird das Lösungsmittel im Vakuum entzogen und der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt. Ausbeute: 300 mg (0,91 mmol) gelbes Öl (78%).



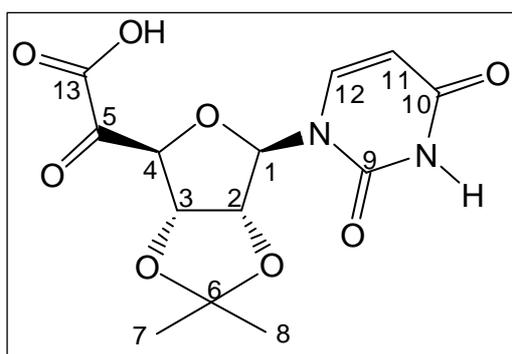
DC LM:	EE/CH (3:1) (v/v)
Säulen LM:	EE/CH (3:1) (v/v)
Ausbeute:	78%
Rel. Molmasse:	328,27 g/mol ( $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ )

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.45 (d, 1H,  $J_{11b,12b}=8.1$  Hz, H-12b), 7.40 (d, 1H,  $J_{11a,12a}=8.0$  Hz, H-12a), 5.80-5.70 (m, 2H, H-11a, H-11b), 5.65-5.60 (m, 2H, H-1a, H-1b), 5.27-5.20 (m, 1H, H-2b), 5.05-4.97 (m, 2H, H-3a, H-3b), 4.80-4.73 (m, 2H, H-5a, H-5b), 4.73-4.66 (m, 1H, H-2a), 4.37-4.27 (m, 2H, H-4a, H-4b), 2.07-1.95 (m,  $\text{CH}_3$ , H-7a, H-7b, H-8a, H-8b).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171.8 (2C, C-13a, C-13b), 165.0, 164.7 (2C, C-10b, C-10a), 151.3, 151.0 (2C, C-9b, C-9a), 143.9, 143.8 (2C, C-12b, C-12a), 115.2, 114.9 (2C, C-6a, C-6b), 102.9, 102.6 (2C, C-11a, C-11b), 96.4, 96.2 (2C, C-1b, C-1a), 87.6, 86.8 (2C, C-4b, C-4a), 85.8, 85.3 (2C, C-2b, C-2a), 84.1, 83.7 (2C, C-3b, C-3a), 61.9, 61.7 (2C, C-5b, C-5a), 27.1 (2C, C-7a, C-7b), 25.3 (2C, C-8a, C-8b).

### 5.2.7 6'-Carboxy-5'-oxo-2',3'-O-isopropylidenuridin (**6**)

Verbindung **22** (120 mg; 0,37 mmol) wird in absolutem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) suspendiert. DMP (171 mg; 0,40 mmol; 1,1 eq) wird zugegeben. Die Reaktion wird für 2-3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktion mit festem Bicarbonat neutralisiert, das Bicarbonat abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mittels Säulenchromatographie gereinigt. Ausbeute: 36 mg (0,11 mmol) gelbliches Öl (30%).



DC LM:	EE/CH (3:1) (v/v)
Säulen LM:	EE/CH (3:1) (v/v)
Ausbeute:	30%
Rel. Molmasse:	326,26 g/mol ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8$ )

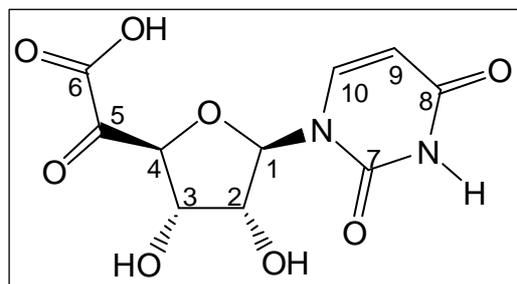
Charakteristische Peaks in  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.02 (d, 1H,  $J_{11,12}=7.9$  Hz, H-12), 5.80 (d, 1H, H-11), 5.55 (bs, 1H, H-1), 5.18 (d, 1H,  $J_{2,3}=6.1$  Hz, H-2), 5.04 (d, 1H, H-3), 4.40-4.30 (m, 1H, H-4).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 176.2 (C-5), 172.1 (C-13), 163.5 (C-10), 150.4 (C-9), 144.0 (C-12), 115.1 (C-6), 103.7 (C-11), 93.8 (C-1), 86.9 (C-4), 80.3, 76.5 (2C, C-2, C-3), 26.5, 25.3 (2C, C-7, C-8).

### 5.2.8 6'-Carboxy-5'-oxouridin (**12**)

Vorversuch:

Verbindung **6** (44 mg, 0,13 mmol) wird in absolutem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) suspendiert. Bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  wird eine 4N HCl-Lösung in Dioxan (18 mL) zuge tropft. Die Reaktion wird für 1 Stunde bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt.  $\text{H}_2\text{O}$  dest. (1 mL) wird zugegeben und das Gemisch für 1 weitere Stunde bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktion mit  $\text{H}_2\text{O}$  dest. (10 mL) und  $\text{Et}_3\text{N}$  (11 mL) gequencht. Die organische Phase wird mit  $\text{H}_2\text{O}$  dest. extrahiert, die wässrigen Phasen vereint und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.



DC LM:

$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (1/1) (v/v)

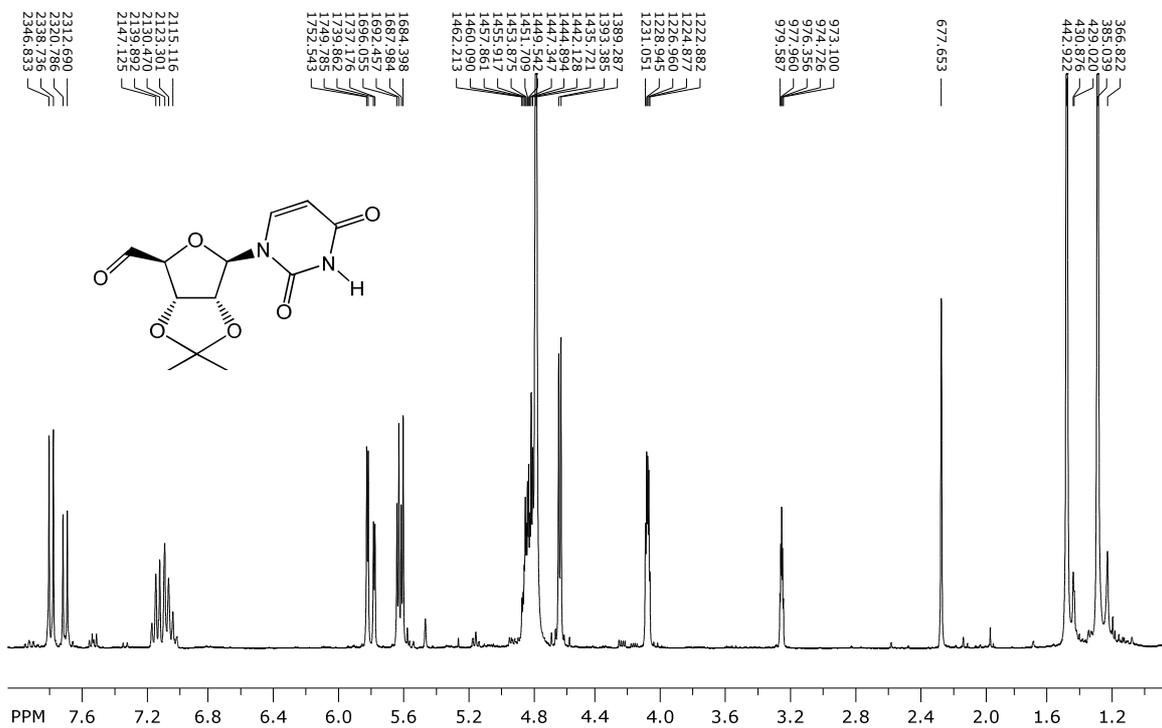
Rel. Molmasse:

286,19 g/mol ( $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_8$ )

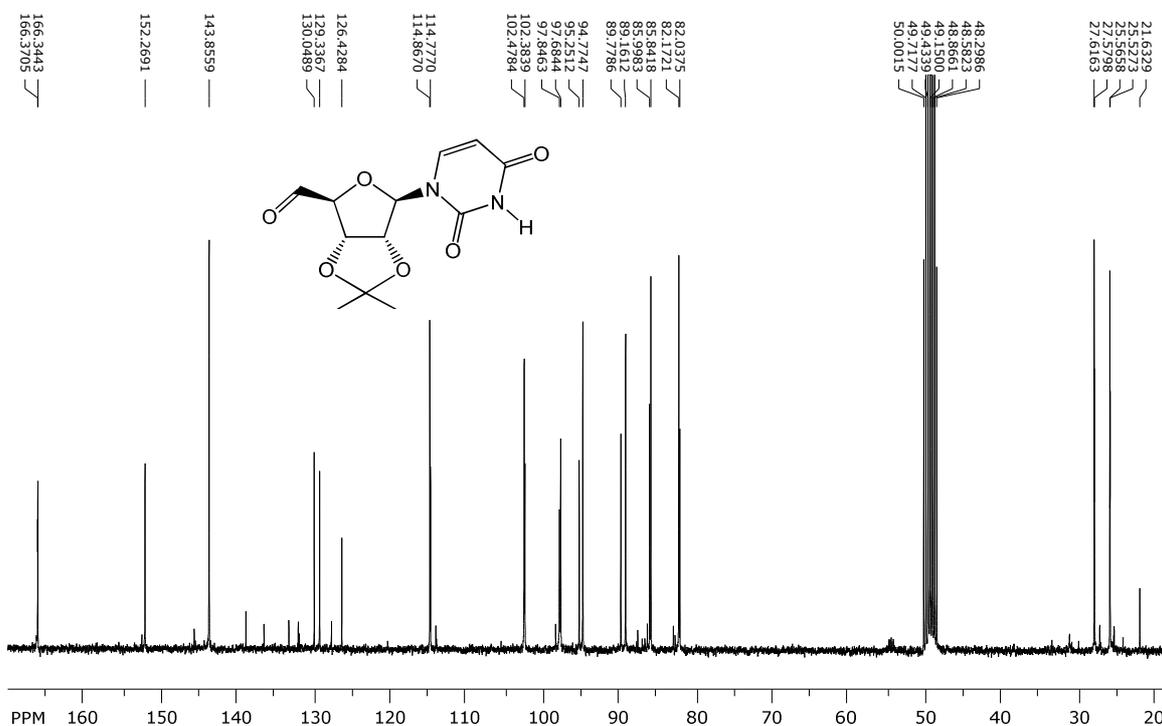


**5'-Oxa-2',3'-O- isopropylidenuridin (3)**

SpinWorks 3: VS6 Verena 227



SpinWorks 3: VS6 Verena 227

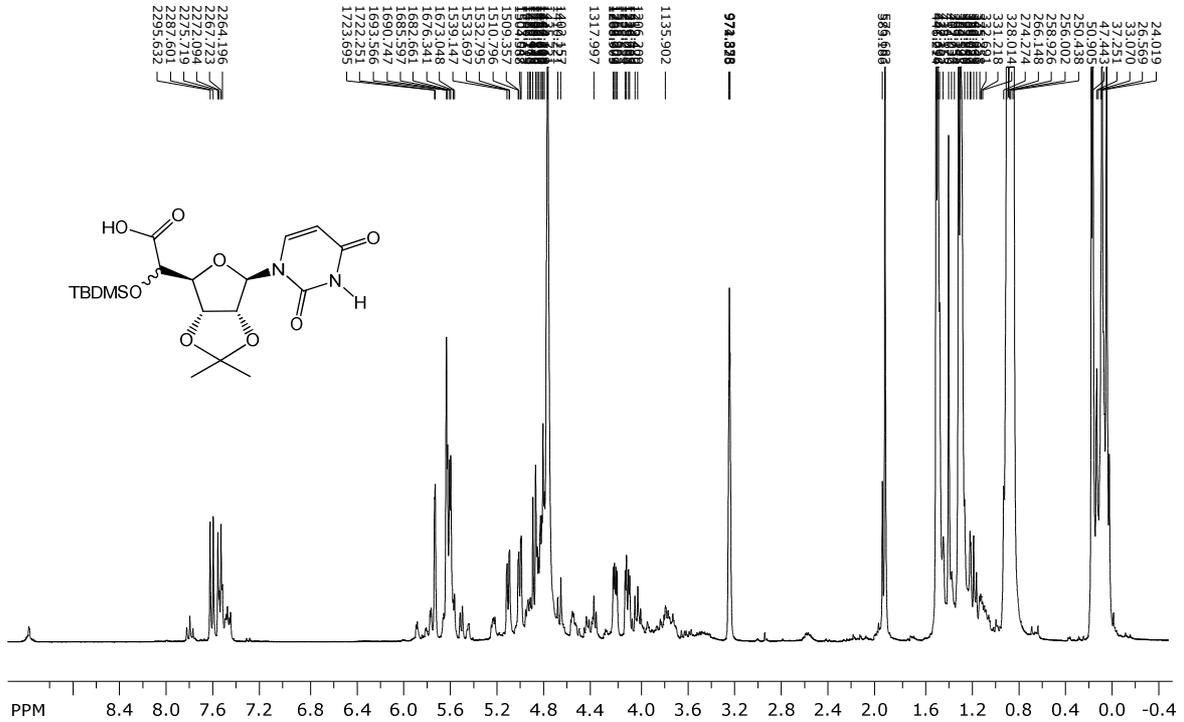






6'-Carboxy-5'-O-*t*-butyldimethylsilyl-2',3'-O-isopropylidenuridin (21)

SpinWorks 3: VS78;Verena







## 7 Publikationsliste

### Poster

„Synthetic Studies towards Uracil Polyoxin C Analogues“, V. Schenk, A. Binter, P. Macheroux, T. Wrodnigg, *15th European Carbohydrate Symposium*, Vienna, Austria, 19 – 24 July, **2009**

„Uracil Polyoxin C: Synthesis and Studies of Analogues“, V. Schenk, A. Binter, P. Macheroux, T. Wrodnigg, *13th Austrian Chemistry Days*, Vienna, Austria, 24 – 27 August, **2009**

## 8 Curriculum vitae

### Persönliche Angaben

Name: Verena Schenk

Staatsbürgerschaft: Österreich

Geburtsdatum: 02.10.1985

Geburtsort: Graz

### Ausbildung

1992-1996 Volksschule Alleestraße in Köflach

1996-2004 BG/BRG Köflach, 8580 Köflach, Gymnasialzweig

seit 2004 Studium Technische Chemie, TU Graz

14.03.08 1. Diplomprüfung

seit Mai 09 Diplomarbeit „Synthese der  $\alpha$ -Ketosäure von Uracil Polyoxin C“  
am Institut für Organische Chemie, TU Graz  
Betreuerin: Dipl.-Ing. Dr.techn. Assoc.Prof. Tanja Wrodnigg

### Berufserfahrung

Okt. 07 – Apr. 09 Projektmitarbeiterin am Institut für Umweltbiotechnologie, TU  
Graz

Juli/Sept. 08 Ferialpraktikum, Glyco Group, TU Graz

Okt. 08 COST Action, TNO Eindhoven

### Zusätzliche Qualifikationen

Cambridge Certificate

Celi 3 (Italienisch Zertifikat)

Zertifikat in Spanisch

### Poster-Präsentationen

Synthetic Studies towards Uracil Polyoxin C Analogues (15<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium 2009)

Uracil Polyoxin C: Synthesis and Studies of Analogues (GÖCH Chemitage 09)