

**Ein neuartiger, flexibler Zugang zu  
*myo*-Inositolphosphaten und -derivaten  
aus *para*-Benzochinon**

Vom Fachbereich 9 - Chemie -  
der Bergischen Universität - Gesamthochschule Wuppertal  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften  
- Dr. rer. nat. -  
genehmigte Dissertation

von  
**Oliver Plettenburg**  
aus Solingen  
2000

Im Lichte bereits erlangter Erkenntnis  
erscheint das glücklich Erreichte  
fast wie selbstverständlich.

A. Einstein

Für Julia

Eingereicht am:

15.5.2000

Tag der mündlichen Prüfung

8.6.2000

Referent:

Prof. Dr. H.-J. Altenbach

Korreferent:

Prof. Dr. G. Vogel

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 1997 bis Mai 2000 im Fach Organische Chemie des Fachbereichs 9 - Chemie - der Bergischen Universität-Gesamthochschule Wuppertal angefertigt.

Herrn Prof. Dr. H.-J. Altenbach gilt mein Dank für die interessante und interdisziplinär orientierte Themenstellung, die Gewährung wissenschaftlicher Freiheit sowie seine Bereitschaft, mir jederzeit mit hilfreichen Ratschlägen zur Seite zu stehen. Die freundliche Betreuung und die zahlreichen anregenden Diskussionen habe ich in dieser Zeit sehr zu schätzen gelernt.

Herrn Prof. Dr. G. Vogel gilt mein Dank für die Übernahme des Korreferats

## Summary

Enantiopure inositol derivatives, especially inositol phosphates are a special target of scientific efforts due to their outstanding importance in means of signal transduction. Therefore flexible and unambiguous synthetic routes are required to prepare synthetic samples to study their biological meaning.

In this work, a new *de-novo*-strategy for the preparation of inositol phosphates and derivatives is presented. In the first part, several *myo*-inositol phosphates are prepared starting from different  $C_2$ -symmetrical building blocks. Among others, a new very short and effective route to Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> is presented. The key step of this synthesis is the selective protection of the axial hydroxy-group in 1,4-dibenzylinositol. A selective 3-benylation of this compound was also established.

A 2-*desoxy*-analogue of Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> was prepared *via* regioselective hydroboration of a C-C-double bond in a conduritol-B-derivative. Other synthetic targets which were synthesized were for example the optical antipodes Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> / Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub>, Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> / Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> and the *meso*-compound Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub>.

In the second part of this work the number of accessible inositol phosphate isomeres was drastically increased by desymmetrization of conduritol-B-derivatives. The opportunities offered by this strategy could be demonstrated by successful preparation of Ins(4,5,6)P<sub>3</sub>, Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> and several InsP<sub>5</sub>-derivatives.

In a third part, the advantages of an epoxide-based strategy for inositol synthesis could be demonstrated by the straightforward synthesis of several azido- and amino-inositol derivatives. Among these, an amino-inositolpentakisulfate was prepared, which turned out to be a potent inhibitor of a phytase from *dictyostelium discoideum* and should be suitable for preparation of materials for affinity chromatography.

In another section a new route to *allo*- and *chiro*-inositol derivatives is presented, starting from conduritol-E and -F derivatives. Moreover, some new building blocks could also be prepared, which should give access to *neo*- and *chiro*-inositol derivatives in subsequent works.

Finally in cooperation with biochemists the use of regiospecific enzymes for selective dephosphorylation of InsP<sub>4</sub>-isomers was examined to synthesize enantiopure inositol trisphosphates. Three different enzymes have been used to prepare five InsP<sub>3</sub>-isomers, among these two enantiomeric pairs, in good yields and excellent isomeric purity. There is no example in literature so far, reporting similar conversions.

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1 ALLGEMEINES .....	1
1.1.1 <i>Inositol-Stereoisomere</i> .....	1
1.1.2 <i>Nomenklatur</i> .....	2
1.2 BIOLOGISCHE BEDEUTUNG.....	3
1.3 BEDEUTUNG VON $\text{INS}(1,4,5)\text{P}_3$ ALS SECOND-MESSENGER.....	4
1.3.1 <i>Rezeptorvermittelte Signaltransduktion</i> .....	4
1.3.2 <i>Signaltransduktion über G-Proteine</i> .....	5
1.3.3 <i>Inositolphosphat-Stoffwechsel</i> .....	5
1.4 WEITERE NATÜRLICH VORKOMMENDE INOSITOLVERBINDUNGEN .....	8
1.5 SYNTHETISCHE ZUGÄNGE .....	10
1.5.1 <i>Chiral-Pool-Synthesen</i> .....	10
1.5.2 <i>De-novo-Synthesen</i> .....	13
1.6 ZIELSETZUNG .....	14
<b>2 DISKUSSION UND ERGEBNISSE .....</b>	<b>15</b>
2.1 EINFÜHRUNG .....	15
2.1.1 <i>Vorteile <math>C_2</math>-symmetrischer Bausteine für die Inositolsynthese</i> .....	15
2.1.2 <i>Darstellung enantiomerenreiner Ausgangsverbindungen</i> .....	16
2.2 SYNTHESEN AUSGEHEND VON DIPHOSPHO-KONDURITOL <b>45</b> .....	19
2.2.1 <i>Darstellung des Diphospho-Konduritols 45</i> .....	19
2.2.2 <i>Darstellung von <math>\text{Ins}(1,4)\text{P}_2</math> (14a) und <math>\text{Ins}(3,6)\text{P}_2</math> (14b)</i> .....	28
2.2.2.1 <i>Synthese</i> .....	28
2.2.2.2 <i>Einschub: NMR-Spektroskopische Untersuchungen von Inositolphosphaten</i> .....	30
2.2.2.3 <i>Einschub: Inositolphosphatnachweis durch Nachsäulenderivatisierung</i> .....	35
2.2.2.4 <i>Komplexierungstendenz verschiedener Inositolbisphosphate</i> .....	35
2.2.2.5 <i>Biologische Bedeutung</i> .....	37
2.2.3 <i>Darstellung von <math>\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4</math> (54a) und <math>\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4</math> (54b)</i> .....	37
2.2.3.1 <i>Synthese</i> .....	37
2.2.3.2 <i>Einschub: Darstellung des Phosphorylierungsreagenzes 55</i> .....	39
2.2.3.3 <i>Korrelation der erhaltenen Drehwerte mit Literaturdaten</i> .....	41
2.2.3.4 <i>Biologische Bedeutung</i> .....	43
2.2.4 <i>Darstellung von <math>\text{Ins}(1,2,3,4)\text{P}_4</math> (61a) und <math>\text{Ins}(1,2,3,6)\text{P}_4</math> (61b)</i> .....	44
2.2.4.1 <i>Synthese</i> .....	44
2.2.4.2 <i>Biologische Bedeutung</i> .....	47
2.2.5 <i>Versuche zur Schützung der äquatorialen OH-Gruppe in 59</i> .....	48
2.2.6 <i>Darstellung von <math>\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5</math> (68)</i> .....	49
2.2.6.1 <i>Synthese</i> .....	49
2.2.7 <i>Darstellung von <math>\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3</math> (15a)</i> .....	52
2.2.7.1 <i>Synthese</i> .....	52

2.2.7.2 Biologische Bedeutung .....	53
2.3 SYNTHESEN AUSGEHEND VON DIBENZYLKONDURITOL <b>80</b> .....	53
2.3.1 Darstellung von Dibenzyl-Konduritol-B ( <b>80</b> ) .....	54
2.3.2 Darstellung von <i>Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub></i> ( <b>83b</b> ) .....	55
2.3.2.1 Chemische Darstellung .....	55
2.3.2.2 Biologische Bedeutung .....	57
2.3.3 Darstellung von <i>Ins(3)P</i> ( <b>88a</b> ) .....	57
2.3.3.1 Synthese .....	57
2.3.4 Biologische Bedeutung .....	58
2.3.5 Synthese von 2-Desoxy- <i>Ins(1,4,5)P<sub>3</sub></i> ( <b>96b</b> ) .....	60
2.3.5.1 Synthese .....	60
2.3.5.2 Biologische Bedeutung .....	62
2.3.6 Darstellung von <i>Ins(1,4,5)P<sub>3</sub></i> ( <b>12b</b> ) .....	62
2.3.6.1 Synthese .....	62
2.3.6.2 Biologische Bedeutung .....	66
2.3.6.3 Weitere Anwendung der Monoacetat-Schützung .....	66
2.3.7 Selektive Schützung der 3-Position in Tetrol <b>81</b> .....	67
2.4 DARSTELLUNG SUBSTITUIERTER INOSITOLSYSTEME .....	71
2.4.1 Literaturbekannte Synthesen von Azido- und Aminoinositolen .....	72
2.4.2 Affinitätsmaterialien auf Inositolbasis .....	73
2.4.2.1 Einschub: Prinzip der Affinitätschromatographie .....	73
2.4.2.2 Literaturbekannte Affinitätsmaterialien auf Inositolbasis .....	74
2.4.3 Konzept der Desymmetrisierung .....	75
2.4.4 Darstellung des Affinitätsmaterials .....	78
2.4.4.1 Darstellung von Azidotriol <b>126</b> .....	78
2.4.4.2 Überführung in eine Trennstufe .....	79
2.4.4.2.1 Isopropyliden-Schützung von <b>126</b> .....	79
2.4.4.2.2 Überführung in eine acetylierte Verbindung .....	86
2.4.4.3 Synthese des Amino-Inositol sulfats <b>122</b> .....	88
2.4.5 Inhibierungsstudien .....	92
2.4.6 Anbindungsversuche .....	95
2.4.7 Weitere Derivate .....	97
2.4.8 Bewertung des Synthesekonzepts .....	98
2.5 SYNTHESE VON INOSITOLPHOSPHATEN ÜBER DESYMMETRISIERUNG .....	100
2.5.1 Konzeption .....	100
2.5.2 Synthese des Konduritol-B-Derivats <b>141</b> .....	102
2.5.3 Derivate von <b>141</b> .....	105
2.5.4 Darstellung von <i>Ins(4,5,6)P<sub>3</sub></i> ( <b>159</b> ) .....	109
2.5.4.1 Synthese .....	109
2.5.4.2 Biologische Bedeutung .....	111
2.5.5 Darstellung von ( $\pm$ )- <i>Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub></i> ( <b>13</b> ) .....	111
2.5.5.1 Synthese .....	111

2.5.5.2 Biologische Bedeutung .....	112
2.5.6 Synthese von ( $\pm$ )- <i>Ins</i> (1,2,3,4,5) $P_5$ ( <b>163</b> ) und ( $\pm$ )- <i>Ins</i> (1,2,4,5,6) $P_5$ ( <b>164</b> ).....	113
2.6 CHEMOENZYMATISCHE SYNTHESEN.....	114
2.6.1 Reaktionen mit einer <i>InsP</i> <sub>5</sub> / <i>InsP</i> <sub>4</sub> -Phosphohydrolase .....	114
2.6.1.1 Charakteristika des Enzyms .....	114
2.6.1.2 Darstellung von <i>Ins</i> (1,5,6) $P_3$ ( <b>158a</b> ) und <i>Ins</i> (3,4,5) $P_3$ ( <b>158b</b> ).....	115
2.6.1.2.1 Synthese .....	115
2.6.1.2.2 Biologische Bedeutung .....	119
2.6.1.2.3 Weitere Untersuchungen.....	119
2.6.1.3 Darstellung von <i>Ins</i> (1,2,3) $P_3$ ( <b>166</b> ) .....	121
2.6.1.3.1 Synthese .....	121
2.6.1.3.2 Biologische Bedeutung .....	123
2.6.1.3.3 Weitere Untersuchungen.....	123
2.6.2 Untersuchungen von <i>Phytasen</i> .....	125
2.6.2.1 Allgemeines .....	125
2.6.2.1.2 Enzymatische Umsetzungen von <b>61a</b> und <b>61b</b> mit <i>Phytasen</i> .....	127
2.6.2.1.3 Umsetzung der Enantiomere <b>45a</b> und <b>45b</b> mit der <i>Phytase</i> aus <i>Dictyostelium</i> .....	128
2.6.2.2 Enzymatische Darstellung von <i>Ins</i> (1,2,4) $P_3$ ( <b>168a</b> ) .....	133
2.6.2.2.1 Synthese .....	133
2.6.2.2.2 Einschub: Spezifität der Inositolpolyphosphat-5-Phosphatase .....	133
2.6.2.2.3 Biologische Bedeutung .....	134
2.6.2.3 Resümee der chemoenzymatischen Methoden .....	134
2.7 SYNTHESEN VON STEREOISOMEREN VON MYO-INOSITOL.....	135
2.7.1 Zugänge über <i>Konduritol-E</i> .....	135
2.7.2 Zugänge über <i>Konduritol-F-Derivate</i> .....	139
2.7.2.1 Formale Totalsynthese von <i>Ins</i> (1,4,5) $P_3$ und Derivaten.....	140
2.7.2.2 Synthese von chiro-Inositol-Derivaten aus <b>145</b> .....	141
<b>3 ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>143</b>
<b>4 EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>151</b>
4.1. Synthese von Vorstufen.....	154
4.2 Synthesen, ausgehend von <i>Diphosphokonduritol 45</i> .....	161
4.3 Synthesen, ausgehend von <i>Dibenzylkonduritol 80</i> .....	192
4.4 Synthesen von <i>Azido- und Amino-Inositolen</i> .....	219
4.5 Inositolsynthesen über <i>desymmetrisierte Bausteine</i> .....	239
4.1.6 Chemoenzymatische Synthesen.....	262
4.1.7 Regioisomere zu <i>myo-Inositol</i> .....	268
<b>5 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>282</b>



## Abkürzungen

abs.	absolut
Ac	Acetat
aq.	wässrig
Bn	Benzyl
CH	Cyclohexan
COSY	Zweidimensionales NMR-Experiment
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett vom Dublett
DMF	Dimethylformamid
DMP	2,2'-Dimethoxypropan
EE	Essigsäureethylester
eq.	Äquivalente
Et	Ethyl
ges.	gesättigt
h	Stunde
HPLC	high pressure liquid chromatography
Ins	Inositol
m	Multiplett
mdd	metal-dye-detection
Me	Methyl
MHz	Megahertz
min.	Minuten
NMO	N-Morpholin-N-Oxid
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Ph	Phenyl
PIP	Phosphatidyl-Inositid
PPL	Pig Pancreas Lipase
py	Pyridin
Ψ	Pseudo
q	Quartett
R <sub>f</sub>	Ratio of Front
r <sub>t</sub>	Retention time
s	Singulett
Schmp	Schmelzpunkt
TES	Triethylsilyl-
TDBMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl-
THF	Tetrahydrofuran
verd.	verdünnt
z. T.	zum Teil
Zers.	Zersetzungspunkt

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

- Journal of Medicinal Chemistry **1999**, *47*, 1262-73
- Biol. Chem, spec.suppl. **1999**, *380*, 130
- Tetrahedron Asymmetry **2000**, *11*, 1057-61.

**Posterbeiträge**

- Internationale *Dictyostelium*-Konferenz, Bad Irsee, 1998
- 50. IUPAC / 26. GdCH-Meeting Berlin, 1999
- Herbstmeeting der Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie Hamburg, 1999

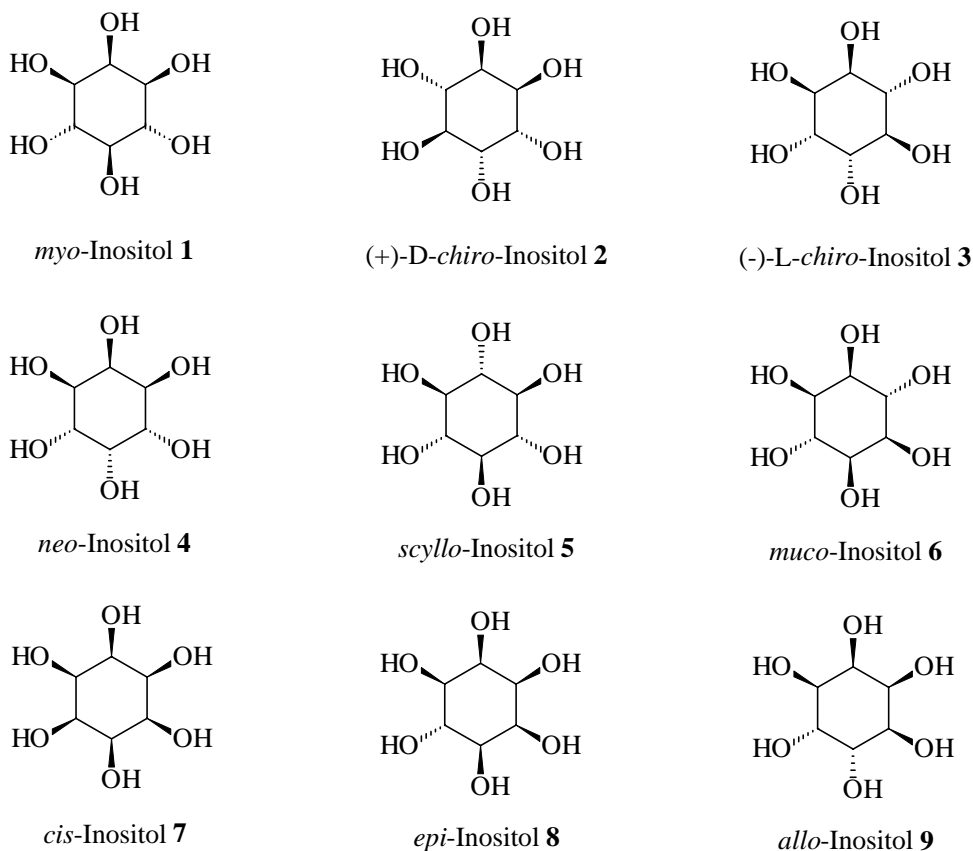
## 1 Einleitung

### 1.1 Allgemeines

1850 isolierte der deutsche Chemiker SCHERER<sup>1</sup> eine optisch inaktive Verbindung aus Herzmuskelgewebe, identifizierte sie als Cyclohexan-hexol und bezeichnete sie nach dem griechischen Wort für Muskel als „Inosit“. Dieser Begriff setzte sich als generelle Bezeichnung für derartige Cyclohexan-hexole durch, inzwischen um das Suffix -ol, das dem englischen und französischen Sprachgebrauch entlehnt ist, erweitert.

#### 1.1.1 Inositol-Stereoisomere

Die Charakterisierung und Bezeichnung der einzelnen Isomere wurde bereits 1894 von BOUVEAULT<sup>2</sup> vorgenommen.



**Abbildung 1:** Mögliche stereoisomere Inositole.

Von den neun möglichen Stereoisomeren, die in Abbildung 1 gezeigt sind, besitzen sieben eine Spiegelebene und sind somit achiral. Lediglich *chiro*-Inositol kommt in zwei

enantiomeren Formen vor. Sechs dieser Stereoisomere finden sich in der Natur, lediglich *cis*-, *epi*- und *allo*-Inositol wurden (bislang) noch nicht in natürlichem Material nachgewiesen.

Das häufigste Isomer ist *myo*-Inositol (**1**), das frei oder als Teil von Konjugaten in allen Organismen vorzukommen scheint.<sup>3</sup> In menschlichem Blut beispielsweise können große Mengen (ca. 20  $\mu\text{mol/l}$ ) *myo*-Inositol nachgewiesen werden. Bei fetalem Blut kann diese Konzentration sogar um den Faktor 20 höher liegen,<sup>4</sup> was als Indiz für die wichtige Rolle des *myo*-Inositols bei Wachstum und Differenzierung des Organismus gewertet werden kann.

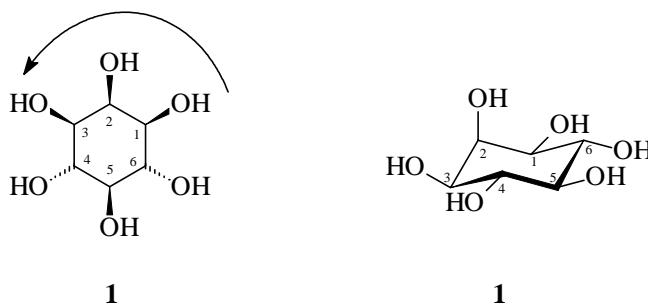
*Chiro*-Inositole (D- und L-Form) bilden die nächsthäufigste Inositolspezies. Bei dieser Verbindung tritt der seltene Fall eines racemisch auftretenden Naturstoffs auf, beide enantiomeren Formen lassen sich beispielsweise aus Mistelbeeren isolieren. *Chiro*-Inositole kommen vorwiegend in Pflanzen vor, wo sie entweder frei oder als Methylether ((-)-Quebrachitol (**32**) und (+)-Pinitol (**33**)) vorliegen (siehe Abbildung 8). *Chiro*-Inositole sind auch als Teil von Glycokonjugaten von Bedeutung (vgl. Abschnitt 1.4).

Die dritte bedeutsame Inositolform ist *scyllo*-Inositol. *Scyllo*-Inositol macht 2-10 % des tierischen Inositols aus,<sup>5</sup> bei einigen Fischarten scheint es sogar das einzig vorkommende Isomer zu sein.<sup>6</sup> Eine interessante Anwendung von *scyllo*-Inositolen im nicht biologisch orientierten Forschungsgebiet stellt dessen Verwendung in Flüssigkristallen dar. Der Einsatz dieser Verbindung wird möglich durch die *all*-äquatoriale Anordnung der Hydroxy-Gruppen, die dem Molekül eine scheibenartige Form verleiht.

### 1.1.2 Nomenklatur

Unter den Inositolderivaten kommt den Inositolphosphaten, die sich untereinander sowohl im Grad der Phosphorylierung als auch in der Anordnung der Phosphatgruppen unterscheiden, eine gewichtige Rolle zu. Je nach Anzahl der Phosphatgruppen wird der Inositolbezeichnung ein entsprechendes Präfix (mono, bis, tris, tetrakis, pentakis bzw. hexakis) vorangestellt.

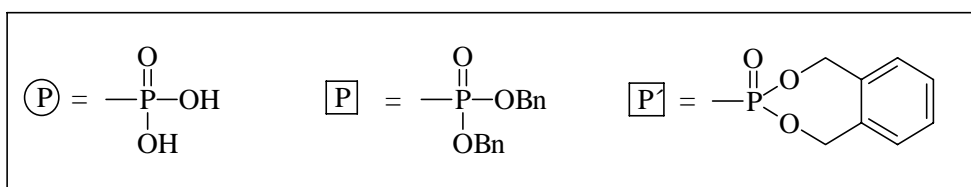
Bei der Nomenklatur des *myo*-Inositols wird definitionsgemäß das Kohlenstoffatom mit der axialständigen Hydroxygruppe als C-2 bezeichnet.



**Abbildung 2:** D-Nomenklatur von Inositolen.

Die Numerierung der übrigen Kohlenstoffe erfolgt gegen den Uhrzeigersinn; es ergibt sich die D-Konfiguration. Bei einer Numerierung gemäß dem Uhrzeigersinn ergäbe sich die entsprechende L-Konfiguration. Diese wurde zwar in älteren Publikationen noch verwendet, nach einer IUPAC-Empfehlung<sup>7</sup> ist aber einheitlich die Verwendung der D-Nomenklatur vorgesehen. Auf diese Weise soll Verwechslungen und Irrtümern, die in der Vergangenheit häufig für Verwirrung sorgten, vorgebeugt werden.

Wenn im folgenden von Inositolen (im Folgenden häufig als „Ins“ abgekürzt) die Rede sein wird, so bezieht sich dieses, wenn nicht anders vermerkt, auf Derivate des *myo*-Inositols. Zur Vereinfachung der strukturellen Darstellung einzelner Inositolphosphate bzw. deren Derivate werden in den folgenden Reaktionsschemata die in Abbildung 3 aufgeführten Abkürzungen verwendet.

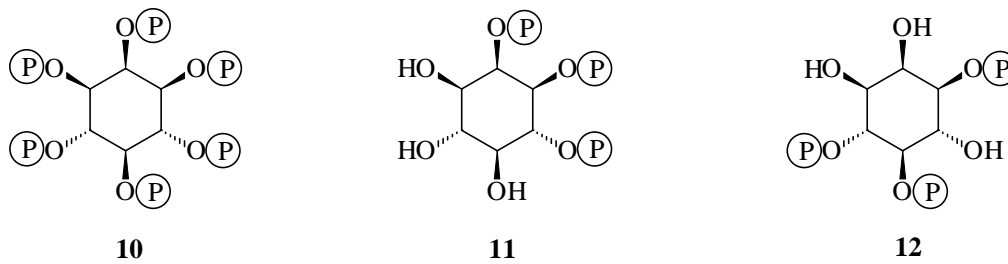


**Abbildung 3:** Abkürzungen zur Darstellung von Inositolphosphaten und deren Derivaten.

## 1.2 Biologische Bedeutung

Für zahlreiche Inositolphosphate sind biologische Funktionen entdeckt worden.

Aus Platzgründen kann im Rahmen der Einleitung nur auf die in Abbildung 4 gezeigten Verbindungen eingegangen werden, die Funktionen von anderen, im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen werden im Anschluß an deren Synthese beschrieben.



**Abbildung 4:** Wichtige phosphorylierte Inositele.

Phythinsäure (**10**) bzw. ihr Salz, das Phythat, kommen in großen Mengen in Pflanzen und im Erdboden vor. Wahrscheinlich dient sie den Pflanzen während der Keimung als Phosphatquelle, dafür spricht beispielsweise, daß bei reifem Getreidesaatgut bis zu 95 % des Phosphates in dieser Form vorliegt.<sup>8</sup> ISAACKS<sup>9</sup> stellte fest, daß **7** bei Vögeln einen ähnlichen Effekt auf Hämoglobin hat, wie 2,3-Bisphosphoglycerat bei Säugern und somit eine wichtige Rolle bei der Atmung spielt. Auch eine wirksame Inhibierung der Bildung von Hydroxyl-Radikalen durch **10** konnte beobachtet werden<sup>10</sup>. Von SHAMSUDDIN<sup>11</sup> wird eine krebpräventive und -inhibierende Funktion für InsP<sub>6</sub> postuliert.

Ins(1,2,6)P<sub>3</sub> (**11**) ist ein von der Firma Perstorp Pharma<sup>12</sup> unter der Bezeichnung  $\alpha$ -Trinositol™ vertriebenes Medikament, das bei der postoperativen Schmerzhemmung und zur Hemmung von Entzündungen eingesetzt wird.<sup>13</sup>

Das wohl wichtigste Inositol-Isomer ist Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**). 1983 identifizierte BERRIDGE<sup>14</sup> **12b** als Schlüsselmolekül eines transmembranen, rezeptorvermittelten Reizleitungsprozesses. Dieses Resultat führte zu einer Renaissance der Inositolchemie. Die Wirkungsweise und der Freisetzungsmechanismus von **12b** sollen im folgenden kurz beschrieben werden.

### 1.3 Bedeutung von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> als second-messenger

#### 1.3.1 Rezeptorvermittelte Signaltransduktion

Während lipophile Botenstoffe, wie beispielsweise Steroidhormone, die Lipidmembran von Zellen passieren können, benötigen hydrophile Signalstoffe membrandurchspannende Rezeptoren, die das entsprechende Signal in das Zellinnere weitergeben können. Es sind drei Grundtypen derartiger rezeptorvermittelter Signalübertragungen in Organismen bekannt.<sup>15</sup>

Die erste Rezeptorklasse leitet den Reiz durch membrandurchspannende Enzyme in das Zellinnere. Häufig handelt es sich um *Tyrosin-Kinasen*. Durch Bindung des Signalstoffs wird zunächst eine Autophosphorylierung des Rezeptors bewirkt. Diese Autophosphorylierung erhöht seine Fähigkeit, andere Enzyme (auf der anderen Seite der Membran) zu phosphorylieren, d. h. zu aktivieren. Beispiele für diesen Rezeptortyp bilden Insulin- und Wachstumsfaktor-Rezeptoren.

Eine weitere Klasse von Rezeptoren bilden *Ionenkanäle*. Dabei wird durch die Bindung des Signalstoffes eine schnelle Öffnung eines Kanals für bestimmte Ionen induziert. Die durch die Ladungsverschiebungen bedingten Potentialänderungen ermöglichen eine Zellreaktion. Beispiele für diese Klasse sind Rezeptoren für Neurotransmitter wie z.B. Acetylcholin.

Der dritte Typ von Rezeptoren vermittelt die Signalübertragung in das Zellinnere mit Hilfe einer Familie von Guanin-Nucleotid-bindenden Proteinen, den G-Proteinen. Einen ausführlichen aktuellen Überblick über Signaltransduktion bietet z. B. WALDMANN.<sup>16</sup>

### ***1.3.2 Signaltransduktion über G-Proteine***

G-Proteine bestehen aus drei verschiedenen Untereinheiten ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ -Einheit) (siehe Abbildung 5). Im Ruhezustand ist ein Molekül GDP an die  $\alpha$ -Einheit des Proteins gebunden. Durch Bindung des Signalstoffes erfolgt eine konformative Änderung, die die Anlagerung eines G-Proteins an den Rezeptor erlaubt. Die Wechselwirkung zwischen Rezeptor und G-Protein führt zum Austausch des GDP's durch ein GTP-Molekül. Anschließend zerfällt das G-Protein in einen  $\alpha$ - und einen  $\beta,\gamma$ -Teil. Der  $\alpha$ -Teil aktiviert ein weiteres Enzym, das die Freisetzung eines second-messengers bewirkt. Nach langsamer Hydrolyse des GTP's zu GDP bildet sich wieder der trimere Grundkomplex.

### ***1.3.3 Inositolphosphat-Stoffwechsel***

Die  $\alpha$ -Einheit des G-Proteins aktiviert eine Phospholipase, im Falle der Inositol-vermittelten Reizleitung die *Phospholipase C*, die Phosphatidyl-inositolbisphosphat ( $\text{PIP}_2$ ) zu Diacylglycerat (DAG) und  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  (**12b**) spaltet. (siehe Abb. 5). DAG ist ein lipophiler Botenstoff, verbleibt in der Membran und aktiviert dort eine *Proteinkinase C*, die in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen die Phosphorylierung bestimmter Serin- und Threoninreste an Proteinen bewirkt.

$\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  als hydrophiler second-messenger diffundiert zum endoplasmatischen Reticulum und bewirkt dort eine Calciumausschüttung.

Der Abbau von **12b** erfolgt auf zwei Haupttrouten, die in Abbildung 5 beschrieben sind.

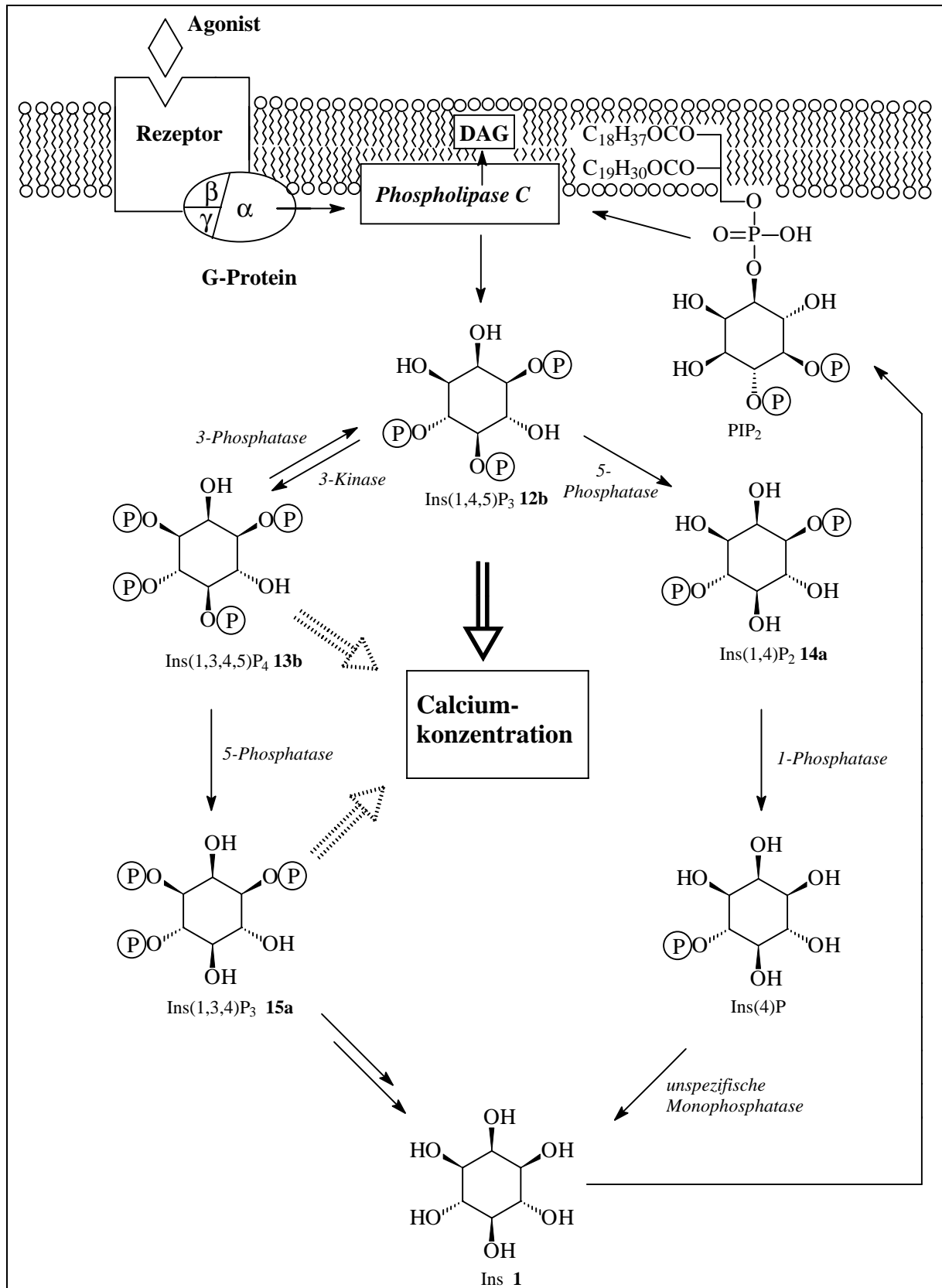
Zum einen kann durch eine spezifische *5-Phosphatase*  $\text{Ins}(1,4)\text{P}_2$  (**14a**) gebildet werden, das keine Calcium-mobilisierende Wirkung mehr besitzt. Somit kommt es zu einer Signaltermination. Weitere Abspaltung der Phosphatgruppen an 1- und 4-Position führen zur Bildung freien Inositols, das anschließend wieder zum Aufbau von  $\text{PIP}_2$  eingesetzt wird.

Zum anderen kann durch eine *3-Kinase*  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$  (**13b**) entstehen. **13b** scheint in stimulierten Zellen eine Vielzahl von Funktionen zu besitzen.<sup>17</sup> So gibt es Hinweise darauf, daß **13b** den Einstrom extrazellulären Calciums durch Ionenkanäle der Plasmamembran vermittelt.<sup>18</sup> Ein endgültiger Beweis dieser Funktion *in vivo* steht aber noch aus.

Dephosphorylierung durch eine *5-Phosphatase* erzeugt  $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$  (**15a**). Auch für **15a** ist eine schwache Aktivität in Bezug auf eine Calcium-Mobilisierung feststellbar.<sup>19</sup>

Der Abbau von **15a** erfolgt über zwei verschiedene Wege: Durch Dephosphorylierung der 1- bzw. 3-Position werden die beiden entsprechenden Bisphosphate gebildet. Weitere Abspaltung von Phosphat erzeugt  $\text{Ins}(3)\text{P}$  bzw.  $\text{Ins}(1)\text{P}$ . Die verbliebenen Monophosphate werden, wie auch schon das auf dem alternativen Weg entstehende  $\text{Ins}(4)\text{P}_1$ , durch eine *unspezifische Monophosphatase* zu freiem Inositol umgesetzt. Der beschriebene Abbau von **15a** wurde in Abbildung 5 aus Gründen der Übersichtlichkeit nur durch einen Doppelpfeil angedeutet.





**Abbildung 5:** Freisetzung und Metabolismus von InsP<sub>3</sub> (12b).

In Abbildung 5 ist nur ein geringer Teil des weitverzweigten Metabolismus von Inositolphosphaten aufgeführt. So wird auch auf die mögliche Phosphorylierung von Ins(1,3,4)P<sub>3</sub> (**15a**) in 6-Position, die den Startpunkt für eine weitere Kaskade von Inositolphosphaten bildet, nicht weiter eingegangen, da eine Diskussion dieser Thematik den hier gegebenen Rahmen sprengen würde.

Es existieren jedoch zahlreiche Hinweise auf vielfältige, zum Teil hochspezialisierte Funktionen anderer Inositolphosphate.

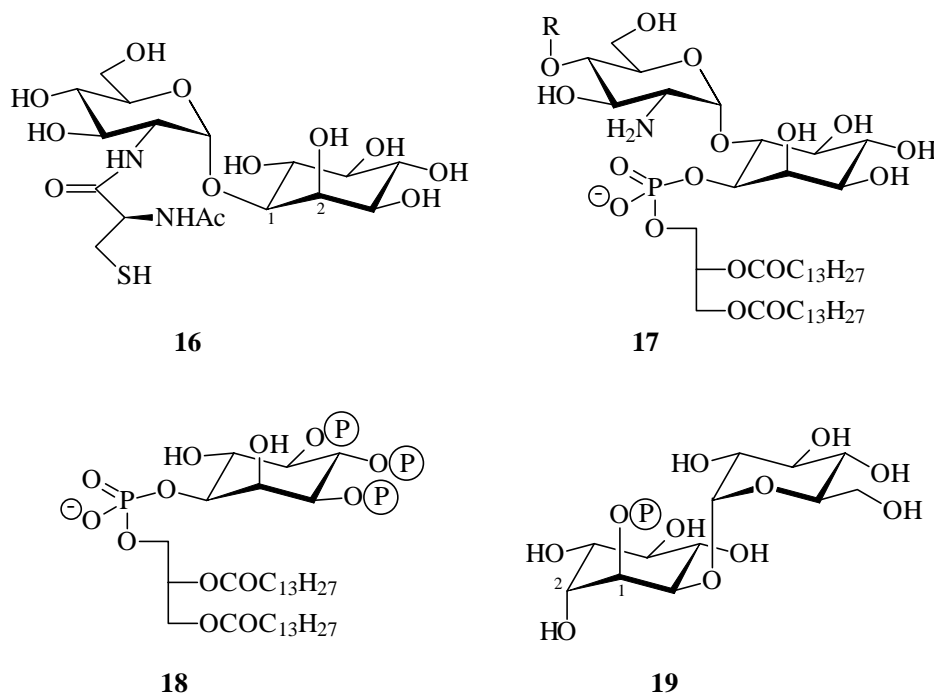
Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen, daß es auch im Zellkern einen Inositolphosphat-Stoffwechsel gibt. Es deutet einiges darauf hin, daß Inositolphosphate hier an der Regulation der Transkription<sup>20</sup> und am RNA-Export aus dem Zellkern<sup>21</sup> beteiligt sind.

Einen detaillierteren Überblick über den Inositolphosphatstoffwechsel und mögliche regulatorische Funktionen geben z. B. MAJERUS,<sup>22</sup> SHEARS<sup>23</sup> und VAN HAASTERT<sup>24</sup> (letzterer im Bezug auf *Dictyostelium discoideum*).

Da Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) eine wichtige Aufgabe bei der Signaltransduktion zukommt, liegen Verbindungen zwischen einer Störung der oben beschriebenen Vorgänge und verschiedenen Krankheitsbildern nahe. So scheinen Zusammenhänge zwischen Veränderungen im Signalstoffwechsel und Krankheiten wie Krebs<sup>25</sup>, Alzheimer<sup>26</sup> oder AIDS<sup>27</sup> zu bestehen. Auch der Therapieansatz für manische Depression durch Lithiumpräparate<sup>28</sup> beruht wahrscheinlich auf der Inhibierung der oben erwähnten *unspezifischen Monophosphatase* durch das verabreichte Lithium, hier scheint aber die Konzentration an freiem Inositol der bestimmende Faktor zu sein.

#### ***1.4 Weitere natürlich vorkommende Inositolverbindungen***

Inositole sind Bestandteile einer Vielzahl biologisch aktiver Verbindungen. Einige natürlich vorkommende Beispiele sind in Abbildung 6 gezeigt.



**Abbildung 6:** Inositol-enhaltende Biomoleküle

*Mycothiol* wird in zahlreichen Actinomyceten gefunden. Es scheint bei diesen Bakterien eine dem Glutathion ähnliche Funktion auszuüben,<sup>29</sup> ist aber gegenüber Autooxidation unempfindlicher. Die Synthese von Mimetika bietet hier Gelegenheit zur Synthese neuer, hochspezifischer Antibiotika. Eine Synthese von **17** wurde bereits im Arbeitskreis ALTENBACH von PODESCHWA<sup>30</sup> erfolgreich durchgeführt.

Ein **17** entsprechendes Strukturelement\* ist in allen bislang charakterisierten GPI-Ankern (Protozoen, Hefen, Fischen und Säugern) identifiziert worden,<sup>31</sup> kann aber je nach Gattung lipid- oder glycosidmodifiziert sein.

Phosphoinositide wie PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> (**18**) beeinflussen die Struktur des Actin Cytoskeletts, dadurch modulieren sie wichtige zelluläre Funktionen wie Zellbeweglichkeit, Zelladhäsion, Endocytose oder den Membranfluß. Zudem bewirken sie eine Resistenz gegen mechanische und osmotische Kräfte.<sup>32</sup>

Das *chiro*-Inositolphosphat **19** (bzw. dessen cyclisches (1:2)-Phosphat) wurde als Bestandteil verschiedener Oligosaccharide identifiziert<sup>33</sup> und besitzt Aktivität als Insulin-Antagonist.<sup>34</sup>

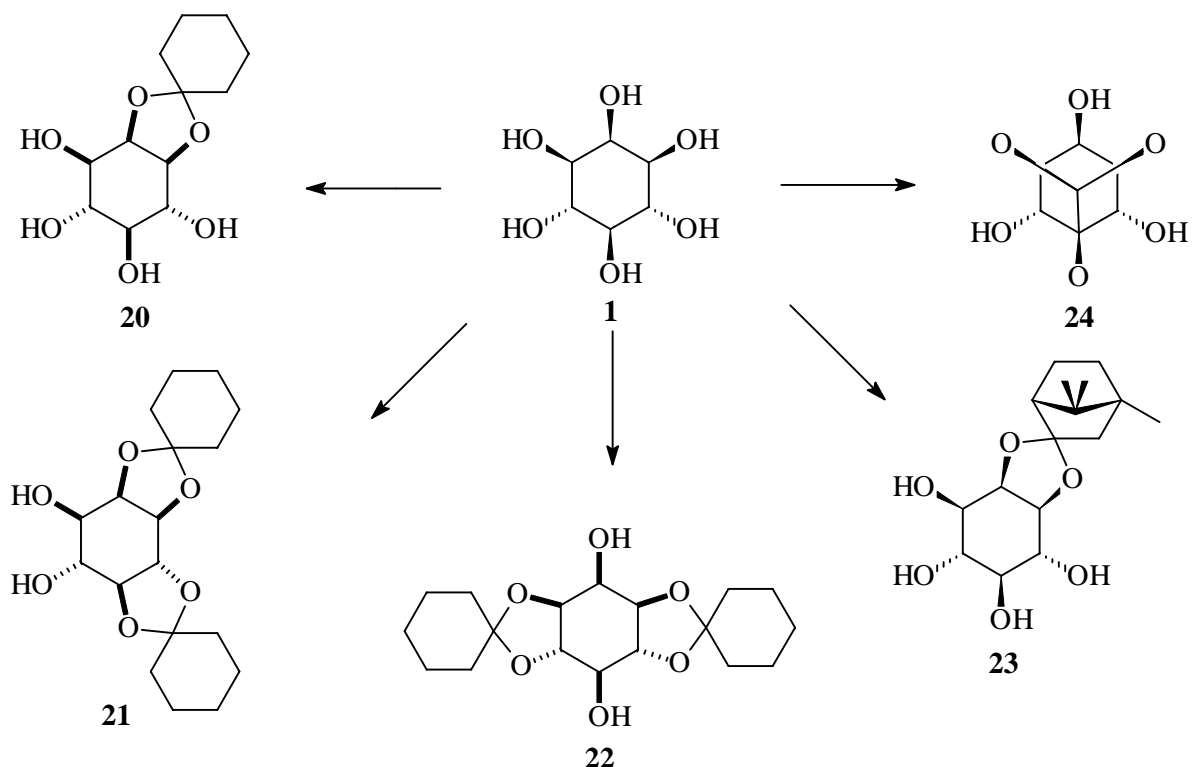
\* R = Ethanolaminphosphat-6- $\alpha$ -D-Manp(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Manp(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-Manp(1 $\rightarrow$ 4)-

## 1.5 Synthetische Zugänge

### 1.5.1 Chiral-Pool-Synthesen

Es bietet sich an, zur Synthese verschiedener Inositolphosphate von freiem *myo*-Inositol auszugehen. Dem Vorteil, von einem System ausgehen zu können, dessen Hydroxygruppen bereits alle in der korrekten relativen Stereochemie vorliegen und das zudem durch seine gute Verfügbarkeit preiswert und in großen Mengen zur Verfügung steht, stehen einige Nachteile gegenüber. Zum einen müssen zur gezielten Synthese von Inositolderivaten die sechs Hydroxy-Gruppen untereinander differenziert werden. Zum anderen besitzt freies *myo*-Inositol eine Spiegelebene und ist somit achiral, so daß nach erfolgreicher Derivatisierung eine Racematspaltung durchgeführt werden muß.

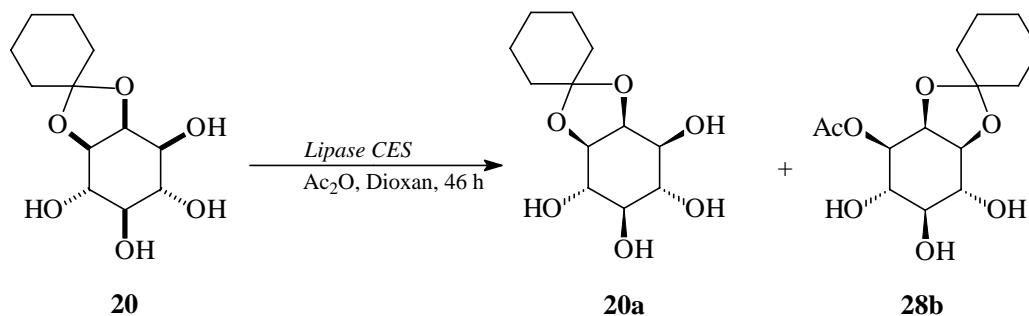
Zur Differenzierung der Hydroxy-Gruppen wurden bislang zahlreiche Ansätze publiziert, einige Beispiele sind in Abbildung 7 gezeigt.



**Abbildung 7:** Synthesebausteine ausgehend von freiem Inositol.

Viele dieser Bausteine sind nur in geringen bis mäßigen Ausbeuten darstellbar, Ausnahmen bilden **20** mit 90 % und **26** mit 86 %. Der von BRUZIK<sup>35</sup> eingeführte Baustein **23** ist bereits mit Campher acetalisiert und bietet so die Möglichkeit einer direkten

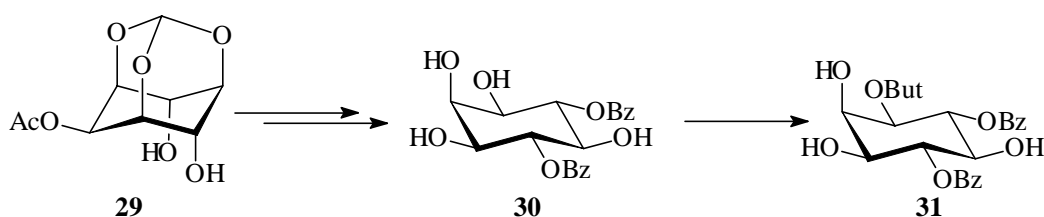




**Schema 2:** Racematspaltung von **20** nach OZAKI.

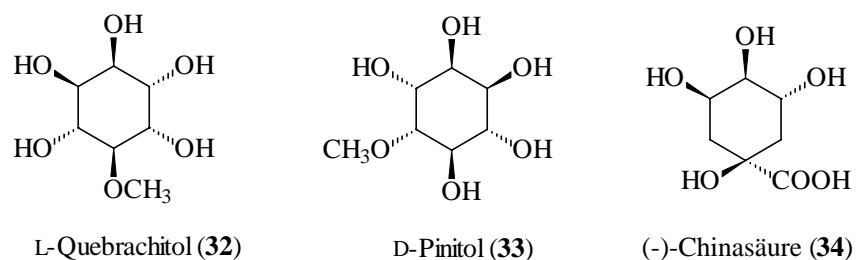
Diese Racematspaltungsmethoden haben den Nachteil, daß die beiden entstehenden Produkte eine vergleichbare Polarität besitzen und so chromatographisch getrennt werden müssen, was die Ansatzgrößen limitiert.

SCHNEIDER<sup>40</sup> publizierte eine enzymatisch Acetylierung von **24** in 2-Position mit *Lipoprotein Lipase* aus *pseudomonas species* (*LPL*) zu **29**. Das durch Benzoylierung und anschließende Abspaltung des cyclischen Acetals und der Acetat-Gruppe erhältliche, achirale **30** kann durch erneuten Einsatz von *LPL* selektiv in 1-Position acyliert werden (Schema 3).



**Schema 3:** Überführung von **24** in optisch aktive Inositolderivate nach SCHNEIDER.

Als alternative Ausgangsmaterialien für chiral-pool-Synthesen bieten sich Verbindungen an, deren OH-Gruppen bereits (teilweise) differenziert sind. Einige Beispiele sind in Abbildung 8 gezeigt.



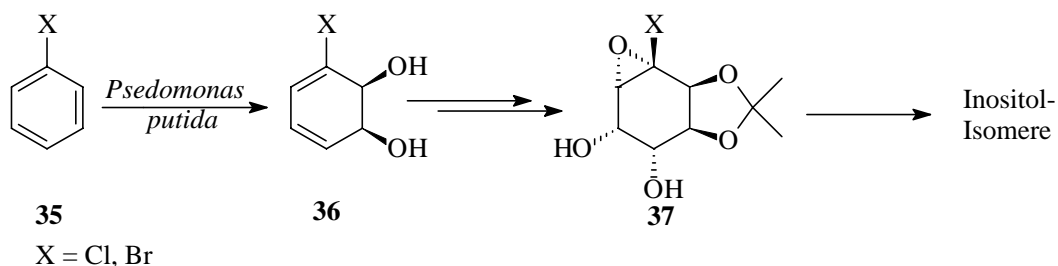
**Abbildung 8:** Mögliche Edukte für chiral-pool-Synthesen.

Hier liegt zwar eine bereits chirale Ausgangsverbindung vor, doch die Hydroxygruppen sind erst teilweise eingeführt oder das Molekül liegt nicht in *myo*-Konfiguration vor, so daß zahlreiche weitere Manipulationen am Molekülgerüst nötig sind. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung von Zuckern zum Aufbau des Inositol-Grundgerüsts.<sup>41</sup> Der eigentliche Carbacyclus muß noch über eine Ferrier-Umlagerung synthetisiert werden, die Stereochemie der meisten OH-Gruppen ist aber durch den eingesetzten Zucker vorgegeben. Durch Verwendung von bereits derivatisierten Edukten kann zudem eine Vordifferenzierung der Hydroxy-Gruppen erfolgen.

### 1.5.2 De-novo-Synthesen

Eine alternative Vorgehensweise besteht im sukzessiven Aufbau des Inositolgerüsts. Da die einzelnen funktionellen Gruppen schrittweise eingeführt werden, ist auf diese Weise eine Darstellung substituierter Inositolssysteme leichter möglich als bei von natürlichem Inositol ausgehenden Synthesen. Die Hydroxy-Gruppen müssen stereoselektiv in das Molekül eingebracht werden, was zum Teil beträchtlichen Aufwand erfordert. Da von achiralen Startmaterialien ausgegangen wird, muß auch hier eine Racematspaltung erfolgen, um zu optisch aktiven Verbindungen zu gelangen.

Auch hier sind bereits zahlreiche Verfahren beschrieben. Ein von HUDLICKY<sup>42</sup> beschriebenes Verfahren geht von Chlorbenzol aus, das mit dem Mikroorganismus *Pseudomonas putida* in Diol **36** überführt werden kann. Durch den Chlor-Substituenten unterscheiden sich die beiden Doppelbindungen in ihrer Elektronendichte, was eine weitere Derivatisierung erleichtert. Zudem wird durch enzymatische Umsetzung dieser Verbindung direkt ein chirales Molekül erhalten. Ausgehend von Diol **36** konnten bereits zahlreiche Inosolderivate synthetisiert werden, darunter auch Isomere wie *chiro*- und *allo*-Inositol. Die erforderliche Dehalogenierung kann mit Tributylzinnhydrid und 2,2'-Azobisisobutyronitril (AIBN) erreicht werden



**Schema 4:** Inositol-Synthesen nach HUDLICKY.

Ein analoger Ansatz, ausgehend von Benzol, konnte von LEY erfolgreich zur Synthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) und Derivaten dieser Verbindung eingesetzt werden (vgl. Schema 84, S. 141). Durch die Symmetrie des eingesetzten Benzols wird aber nach der enzymatischen Umsetzung ein achirales Produkt erhalten, was den zusätzlichen Aufwand einer Racematspaltung erfordert.

Andere *de-novo*-Synthesen verwenden zum Aufbau des Cyclohexanrings beispielsweise Samariumdiodid-katalysierte Cyclisierungen,<sup>43</sup> Diels-Alder<sup>44</sup>- oder Metathese-Reaktionen.<sup>45</sup> In einer neueren Arbeit beschreibt TROST<sup>46</sup> eine formale Totalsynthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> über dynamisch-kinetisch kontrollierte Palladium-katalysierte Allylsubstitution von Konduritol-B-Tetracarbonaten.

### 1.6 Zielsetzung

Obwohl *myo*-Inositol aus biologischen Quellen in großen Mengen zur Verfügung steht und, wie oben gezeigt, bereits ein breites Methodenspektrum zur Gewinnung enantiomerenreiner und gezielt differenzierter Inositol-Derivate besteht, erfordert diese Vorgehensweise doch aufwendige Trennungen und liefert häufig in großer Menge unerwünschte Regioisomere.

Die *de-novo*-Synthese von Inositolderivaten ist deshalb durchaus konkurrenzfähig und eröffnet zusätzlich interessante Möglichkeiten. Zum einen kann durch die aufeinanderfolgende Einführung von Hydroxy-Gruppen eine einfache Differenzierung erreicht werden, zum anderen sind auch substituierte Derivate, bei denen einzelne, definierte OH-Gruppen durch andere Reste ersetzt wurden, gut zugänglich. Da ausgehend von natürlichem *myo*-Inositol die Einführung von Substituenten unter Retention des Stereozentrums erfolgen muß, sind bisher publizierte Zugänge über derartige Routen aufwendig und als wenig effektiv anzusehen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein neuartiges Synthesekonzept etabliert werden, das die oben beschriebenen Möglichkeiten bietet. Insbesondere unter Ausnutzung der Vorteile C<sub>2</sub>-symmetrischer Bausteine sollte eine Methodik zur gezielten Darstellung enantiomerenreiner Inositolphosphate und deren Derivate entwickelt werden.

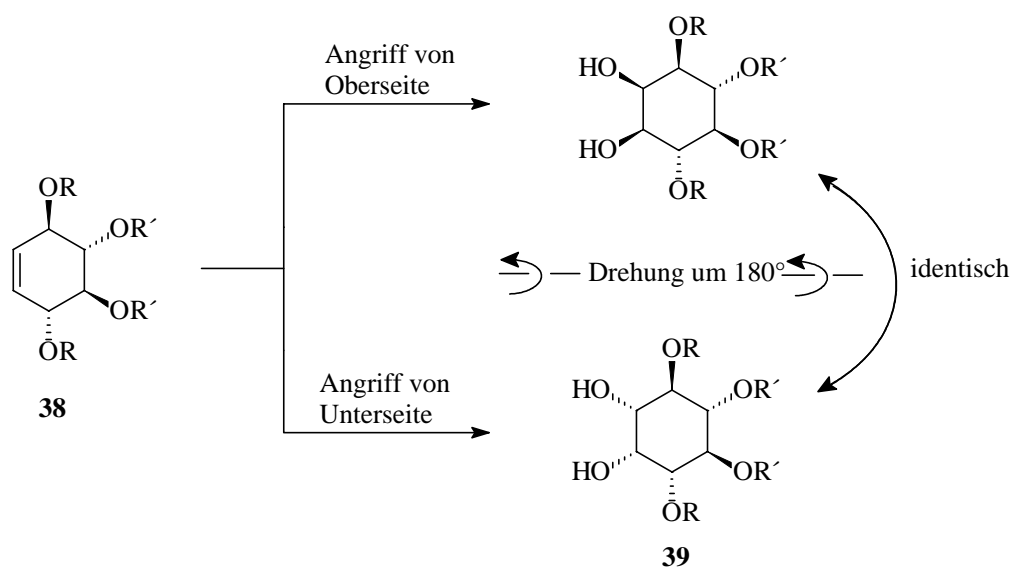


## 2 Diskussion und Ergebnisse

### 2.1 Einführung

#### 2.1.1 Vorteile $C_2$ -symmetrischer Bausteine für die Inositolsynthese

$C_2$ -symmetrische, *all-trans*-konfigurierte Konduritole bieten zur Darstellung von *myo*-Inositol-Derivaten nahezu ideale Voraussetzungen. Die *all-trans* Anordnung der Hydroxy-Gruppen führt bei einer *cis*-Dihydroxylierung zu einem einzigen Stereoisomer, das in *myo*-Konfiguration vorliegt. Aufgrund der  $C_2$ -Symmetrie der Ausgangsverbindung führt der Angriff des Reagenzes von oben oder unten zum selben Produkt (Abbildung 9).

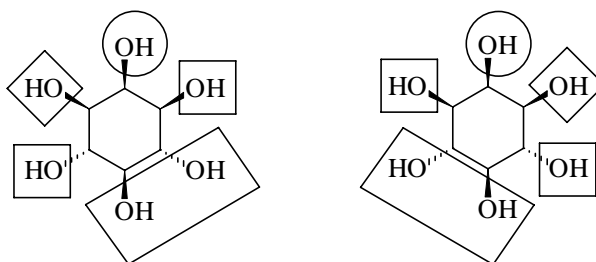


**Abbildung 9:** *Cis*-Dihydroxylierung von Konduritol-B-Derivaten.

Wie aus der Abbildung zu erkennen ist, sind drei Paare von Hydroxy-Gruppen zu unterscheiden. Zusätzlich sollten die durch *cis*-Dihydroxylierung eingeführten OH-Gruppen durch ihre unterschiedliche Lage am Ring (äquatorial/axial) differenzierbar sein.

Die Besonderheit, daß *myo*-Inositol eine *meso*-Verbindung darstellt, erweitert den Rahmen zugänglicher Inositol-Isomere, da die Enantiomeren nicht „nur“ Spiegelbilder sind, sondern auch als unterschiedliche D-Inositole aufgefaßt werden können.

Die Möglichkeiten der Methode der paarweisen Differenzierung sind in Abbildung 10 zusammengefaßt. Die verschiedenen Symbole stellen hierbei verschiedenen Gruppen von unterschiedlich substituierbaren Hydroxy-Gruppen dar, OH-Gruppen, die gleiche Symbole tragen, sind gleich substituiert.

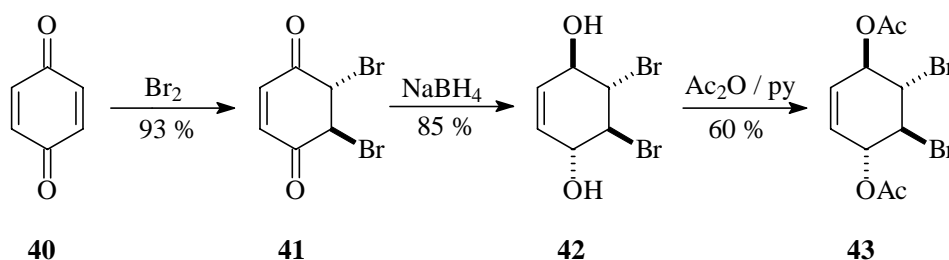


**Abbildung 10:** Konzept der paarweisen Differenzierung.

Durch Wahl des entsprechend vorfunktionalisierten Ausgangsmoleküls und gegebenenfalls Differenzierung von verbleibenden OH-Gruppen sollte eine schnelle und direkte Synthese von sozusagen „maßgeschneiderten“ Inositol-Derivaten möglich sein

### 2.1.2 Darstellung enantiomerenreiner Ausgangsverbindungen

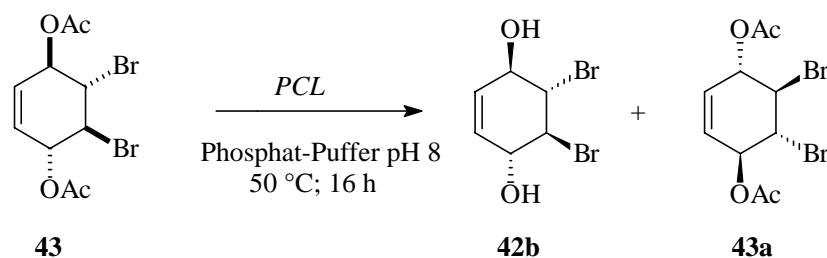
Ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Darstellung von Konduritol-B-Derivaten ist das Dibromdiol **42**, das nach einem von ALTENBACH<sup>47</sup> entwickelten Verfahren aus *p*-Benzochinon **40** durch Monobromierung und anschließende Reduktion der Carbonyl-Funktionen mit Natriumborhydrid zugänglich ist. Dabei entsteht hauptsächlich das *all-trans*-Produkt **42**. Im Rahmen dieser Arbeit konnte dieses Verfahren in Zusammenarbeit mit BRAUN<sup>48</sup> in Bezug auf Reaktionszeit und Ansatzgröße optimiert werden.



**Schema 5:** Synthese des Diacetats **43**.

Durch Umkristallisation aus Toluol können aromatische Verunreinigungen abgetrennt werden. Acetylierung von **42** mit Pyridin und Essigsäureanhydrid liefert das Diacetat **43**, das durch Umkristallisation aus Ethanol von den als Nebenprodukt auftretenden Isomeren gereinigt werden kann.

**43** bildet eine geeignete Stufe für eine enzymatische Racematspaltung. Von JOHNSON<sup>49</sup> ist ein Verfahren unter Verwendung von *Pseudomonas cepacia Lipase* (*PCL*) publiziert. (Schema 6).



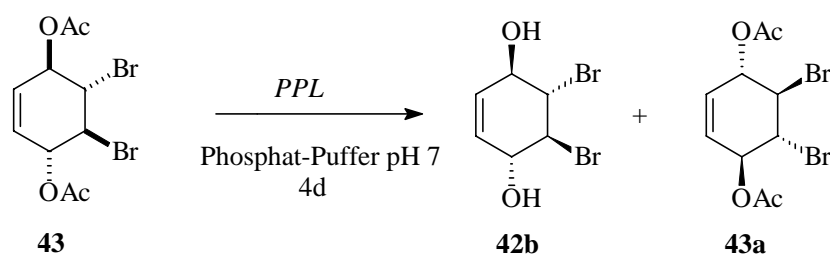
**Schema 6:** Racematspaltung nach JOHNSON.

Je nach Reaktionsbedingungen kann dabei entweder das Diacetat **43a** oder das Diol **42b** in enantiomerenreiner Form (ee  $\geq$  98 %) erhalten werden (vgl. Tabelle 1).

Enzymmenge*	Diol <b>42b</b>	Diacetat <b>43a</b>
7 g	47 % Ausbeute; ee = 90 %	26 % Ausbeute; ee $\geq$ 98 %
1,4 g	40 % Ausbeute; ee $\geq$ 98 %	44 % Ausbeute; ee = 86 %

**Tabelle 1:** Racematspaltung nach JOHNSON.

Ein im Arbeitskreis ALTENBACH von KLEIN<sup>50</sup> entwickeltes Verfahren verwendet als Enzym *Pig Pancreas Lipase* (*PPL*) (Schema 7).



**Schema 7:** Enzymatische Racematspaltung von **43** mit *Pig Pancreas Lipase*.

\* bezogen auf 7 g Edukt

Diese Methode weist gegenüber der von JOHNSON publizierten signifikante Vorteile auf. Das Enzym/Substrat-Verhältnis ist mit 1: 5 bei der *PPL*-Methode sehr gut. Da *PPL* um einen Faktor 2000 preiswerter ist als *PCL*,<sup>51</sup> ist das in diesem Arbeitskreis erarbeitete Verfahren als deutlich überlegen anzusehen. Während JOHNSON nur kleine Ansätze (7 g Edukt) beschreibt, konnten in eigenen Arbeiten problemlos auch Mengen von 100 g umgesetzt werden, was die einfache Bereitstellung großer Mengen enantiomerenreiner Ausgangsprodukte sicherstellt. Zudem können beide Produkte in guten Ausbeuten und ee isoliert werden, die Methode von JOHNSON liefert hingegen **43a** in nur mäßiger Ausbeute.

Der maßgebliche Vorteil ist jedoch die Selektivität des verwendeten Enzyms. Das Diacetat **43a** wird auch bei längeren Reaktionszeiten nicht umgesetzt. Durch Acetylierung des nach mehrwöchiger Reaktionszeit erhaltenen Diols und Überprüfung des Enantiomerenüberschusses mit Hilfe von chiraler HPLC konnte neben dem Diacetat **43b** kein **43a** nachgewiesen werden. Gleiches gilt für das direkt aus der Racematspaltung erhaltene Diacetat **43a**, bei dem keine Spuren des Enantiomeren **43b** detektiert werden konnten. Die isolierten Ausbeuten unterschieden sich ebenfalls nicht von den Ansätzen, die nach wenigen Tagen aufgearbeitet wurden.

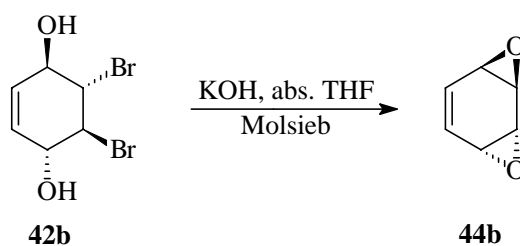
Die beiden Verbindungen können einfach durch Digerieren in unpolaren Lösungsmitteln wie Dichlormethan getrennt werden; nach Umkristallisation werden beide Verbindungen mit einem Enantiomerenüberschuß von  $\geq 99$  % isoliert; die Ausbeuten von jeweils 38 % sind ebenfalls zufriedenstellend. Neben der Übereinstimmung der für **43a** und **42b** erhaltenen Drehwerte mit Literaturwerten und bereits von BIEN<sup>52</sup> und RITTER<sup>53</sup> durchgeführten Totalsynthesen, die von den bei der Racematspaltung erhaltenen Produkten ausgingen und die absolute Konfiguration dieser Edukte bestätigten, konnte bei einer Röntgenstrukturanalyse<sup>53</sup> des Diacetats **43a** eine chirale Raumgruppe identifiziert werden. Der erhaltene absolute Strukturparameter von 0.01 (4) identifiziert **43a** ebenfalls als das (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*)-Enantiomer.

Das hier beschriebene Verfahren zur Racematspaltung ist auch einem kürzlich publizierten Verfahren von NICOLOSI<sup>54</sup> weit überlegen, der eine Lipase aus *Mucor miehei* zur Racematspaltung von **43** einsetzt. Für dieses Verfahren gelten ähnliche Bedingungen, die beschriebenen präparativen Ansatzgrößen liegen bei 2 g Edukt und das verwendete Enzym ist ebenfalls um mehr als einen Faktor 1000 teurer als die in dieser Arbeitgruppe eingesetzte *PPL*.

## 2.2 Synthesen ausgehend von Diphospho-Konduritol 45

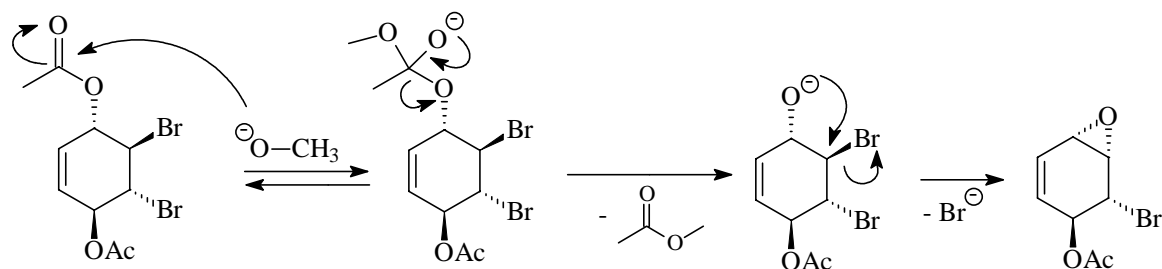
### 2.2.1 Darstellung des Diphospho-Konduritols 45

Durch Behandlung des Diols **42b** mit gepulvertem Kaliumhydroxid und Molsieb in absolutem Tetrahydrofuran kann in guten Ausbeuten enantiomerenreines *anti*-Benzoldioxid **44b** erhalten werden (Schema 8). Die Verwendung von Molsieb vermeidet die bei der ersatzweisen Verwendung von Magnesiumsulfat<sup>47</sup> auftretende Erwärmung bei der Durchmischung des Kaliumhydroxids mit dem Trockenmittel. Zudem werden Verunreinigungen durch in Tetrahydrofuran angelöstes Magnesiumsulfat vermieden. Die hier vorgestellte Vorgehensweise stellt eine Verbesserung der von FARKAS<sup>55</sup> publizierten Methode dar, da geringere Mengen Molsieb eingesetzt werden, die Reaktionszeit auf ein Viertel verringert wird und die Ausbeute der Reaktion um ca. 15 % höher ist.



**Schema 8:** Darstellung von *anti*-Benzoldioxid (**44b**).

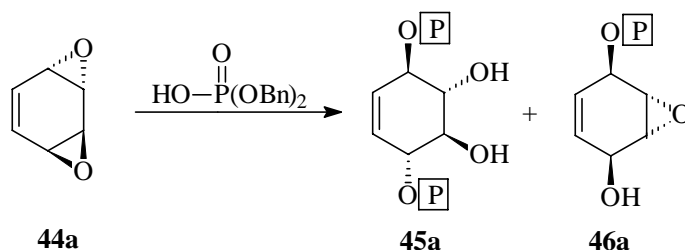
Das Diacetat **43a** reagiert unter analogen Bedingungen nur unvollständig; auch längere Reaktionszeiten oder größere Mengen eingesetzten Kaliumhydroxids führen zu keiner Verbesserung. Erst durch Zugabe geringer Mengen Methanol<sup>56</sup> zum Reaktionsansatz läßt sich ein schneller und vollständiger Umsatz beobachten. Die nun erfolgreiche Umsetzung ist vermutlich auf eine Umesterung des Acetats durch Methanolat zurückzuführen. Das entstehende Alkoholat kann nun nicht durch die bei Esterspaltung durch ein Hydroxid-Ion entstehende Essigsäure direkt protoniert werden, greift in einer intramolekularen nucleophilen Substitutionsreaktion schnell den Bromid-Kohlenstoff an und bildet ein Epoxid (Schema 9).



**Schema 9:** Postulierter Mechanismus der Reaktionsbeschleunigung durch Methanol-Zugabe (am Beispiel einer Acetat-Gruppe).

Auf diese Weise kann die zuvor nötige sauer katalysierte Überführung des Diacetats **43a** in Diol **42a** zur Darstellung des Epoxids **44a** vermieden werden.

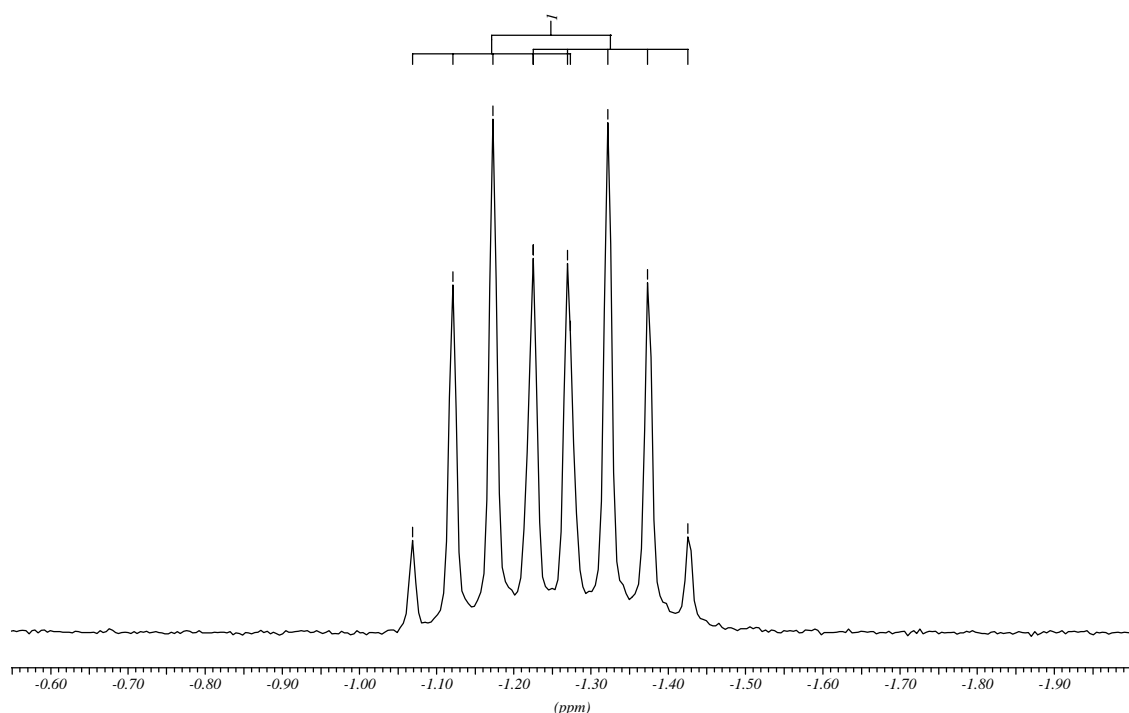
Das so erhaltene Diepoxid **44** kann durch Nucleophile in Allylposition geöffnet werden, was bereits für diverse Nucleophile gezeigt wurde.<sup>55,57</sup> Das Diphospho-Konduritol **45** kann durch Umsetzen mit 2,2 Äquivalenten Dibenzylphosphat in Dichlormethan erhalten werden. **45**, dessen Anteil am Produktgemisch im Roh-NMR zu ca. 80 % abgeschätzt wird, kann nach Umkristallisation aus Essigsäureethylester in 55 % Ausbeute isoliert werden. Das Diphosphokonduritol konnte so in beiden enantiomeren Formen **45a** und **45b** dargestellt werden. Während das racemische Produkt in kaltem Essigsäureethylester nahezu unlöslich ist, war eine signifikant bessere Löslichkeit des enantiomerenreinen Konduritols in organischen Lösungsmitteln, verbunden mit einer niedrigen Kristallisationstendenz zu beobachten. Durch Umkristallisation aus wenig Essigsäureethylester konnten dennoch beide Verbindungen (teilweise nach längeren Kristallisationszeiten) in vergleichbaren Ausbeuten rein erhalten werden.



**Schema 10:** Darstellung von Diphosphokonduritolen am Beispiel von **45a**.

Die Umsetzung verläuft unter saurer Katalyse des eingesetzten Dibenzylphosphats; nach wenigen Stunden ist vollständiger Umsatz zu beobachten. Die Identifizierung des Nebenproduktes der Reaktion bzw. dessen Unterscheidung von dem bei der Mono-Öffnung

entstehenden **47** (vgl. Schema 11) ist nicht trivial. Es konnte mittels Flash-Chromatographie isoliert und NMR-spektroskopisch untersucht werden. Durch Vergleich mit NMR-Daten ähnlicher Produkte (z.B. **140**) konnte das strukturell verwandte Monoöffnungsprodukt **47** ausgeschlossen werden: Im  $^{13}\text{C}$ -NMR erscheinen die Epoxid-Kohlenstoffe von **46** bei 53,0 und 50,8 ppm. Bei Vorliegen eines Allyl-Epoxid wäre eine Verschiebung des Allyl-Kohlenstoffs zu höherem Feld und somit ein deutlicher Unterschied in der chemischen Verschiebung zu erwarten gewesen. Zudem spaltet das Phosphor-Signal der Verbindung im  $^1\text{H}$ -gekoppelten  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum in ein Dublett von Quintetts auf. Die  $^3\text{J}(\text{P,H})$ -Kopplung ist mit 24,4 Hz ungewöhnlich groß.



**Abbildung 11**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Signal von **46**.

Die bestimmende Größe für eine P,H-Kopplung zwischen dem CH-1 des Kohlenstoffrings und dem Phosphor-Atom der benachbarten Phosphat-Gruppe ist der Dihedral-Winkel  $\Phi$  zwischen diesen beiden Atomen (Betrachtungsweise entlang der  $\text{C}_1\text{-O}$ -Bindung, siehe Newman-Projektion in Abbildung 12)

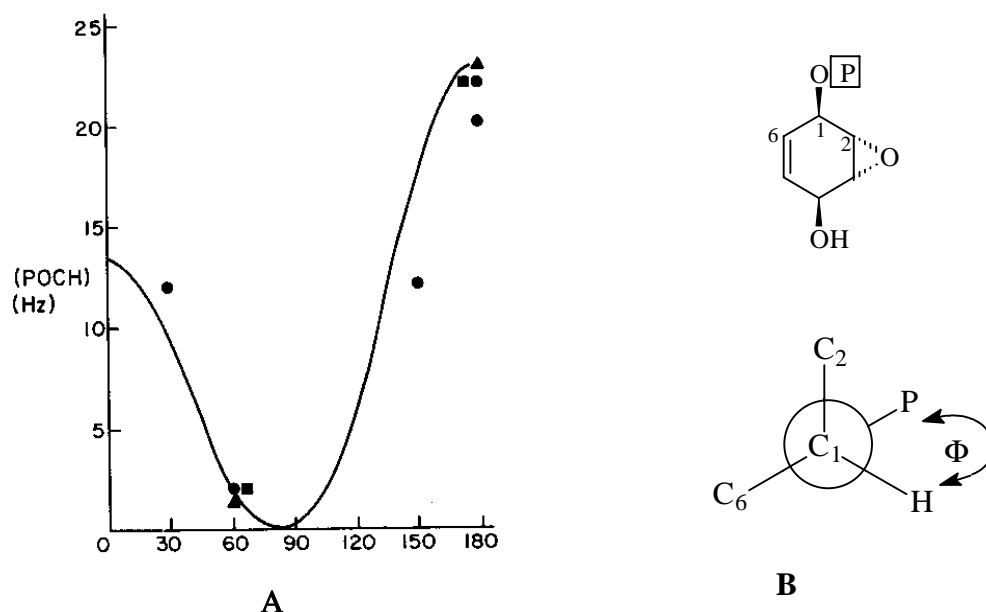


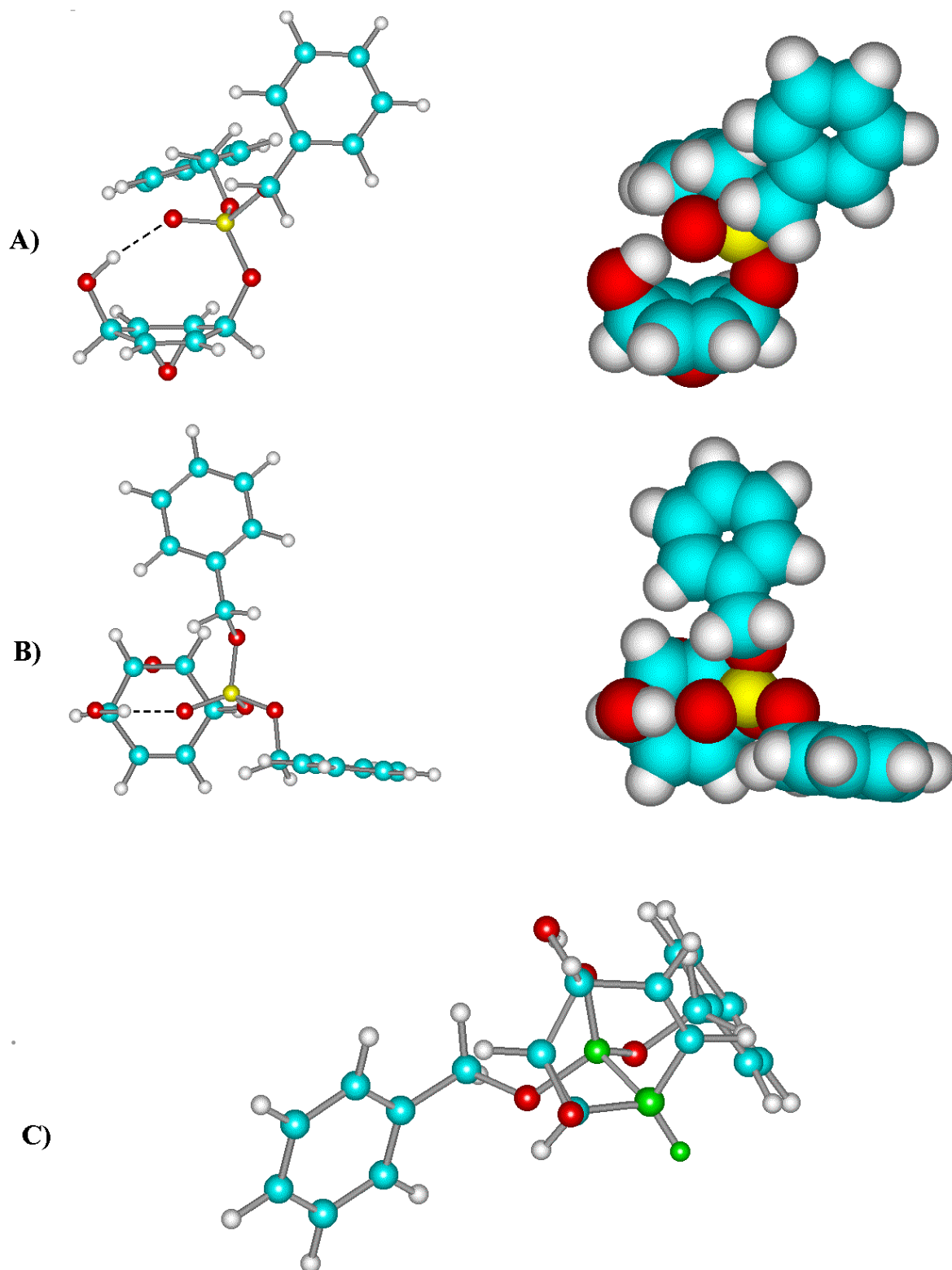
Abbildung 12 a) Karplus-Kurve für  $^3J(\text{P-O-C-H})$ -Kopplungen

b) Newman-Projektion von **46**.

Betrachtet man die Karplus-Kurve für  $^3J(\text{P,H})$ -Bindungen<sup>58</sup> (Abbildung 12), so erfordert eine Kopplungskonstante von 24,6 Hz einen Dihedralwinkel von H und P im Bereich von  $180^\circ$ . Durch Molecular Modelling mit semiempirischen MNDO-Berechnungen konnten sowohl **47** als auch **46** simuliert werden. Um auch Wasserstoffbrückenbindung bei der Geometrieoptimierung berücksichtigen zu können, wurde anschließend für **46** eine *Dichtefunktionaltheorie*-Rechnung mit dem Programm GAUSSIAN 98<sup>59</sup> durchgeführt. Dabei ergibt sich für **46** folgende Vorzugskonformation (Abbildung 13)

Durch Annahme einer Struktur für **46**, bei der der Phosphat-Rest *endo* zum Ring angeordnet ist, kann ein Energiezustand erreicht werden, der günstiger ist als die eigentlich zu erwartende Konfiguration, bei der die Phosphat-Gruppe *exo*, und somit in der Ringebene orientiert ist.





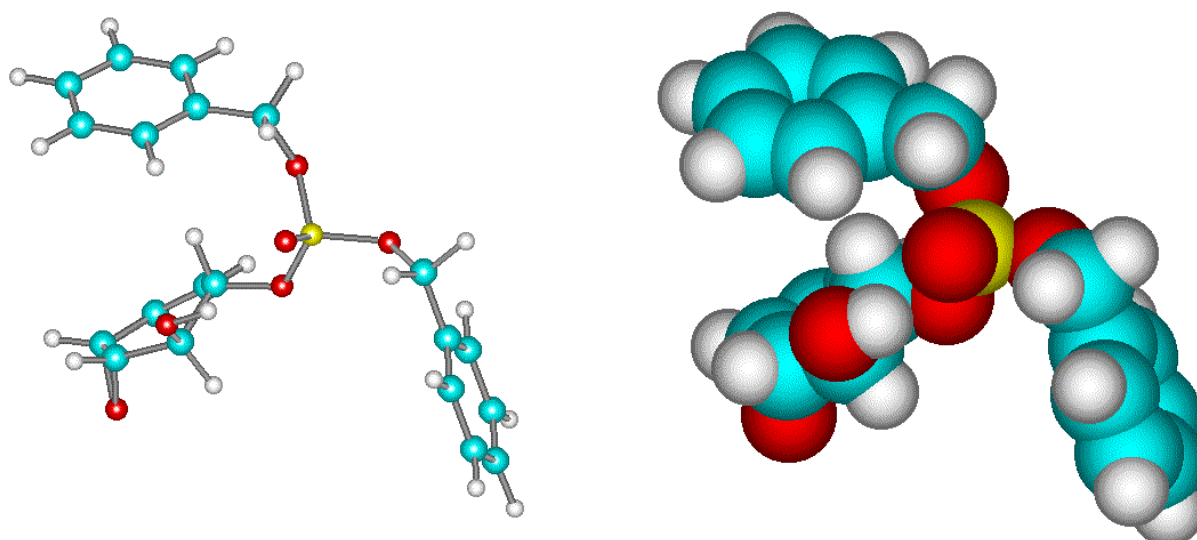
**Abbildung 13** Berechnete Struktur von **46**

A) Seitenansicht, B) Blick auf den Cyclohexenring

C) Darstellung des Dihedralwinkels zwischen H-1 und P (grün hervorgehoben).

Rationalisiert werden kann die Bevorzugung einer derartigen Struktur durch die auf diese Weise mögliche Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen der OH-Gruppe an C-4 und der P=O-Bindung der Phosphat-Gruppe in **46**. Der bei der *Dichtefunktionaltheorie*-Berechnung ermittelte Abstand zwischen H-1 und dem Sauerstoff der P=O-Gruppe von 1,87 Å liegt im Bereich einer Wasserstoffbrückenbindung, was auch an der Darstellung als Kalottenmodell gut erkennbar ist. Der Dihedralwinkel der (P-O-C-H)-Bindung wurde auf diese Weise zu 167° berechnet, was einer Kopplungskonstante von deutlich über 20 Hz entspricht und sich somit gut mit den experimentell ermittelten Daten deckt.

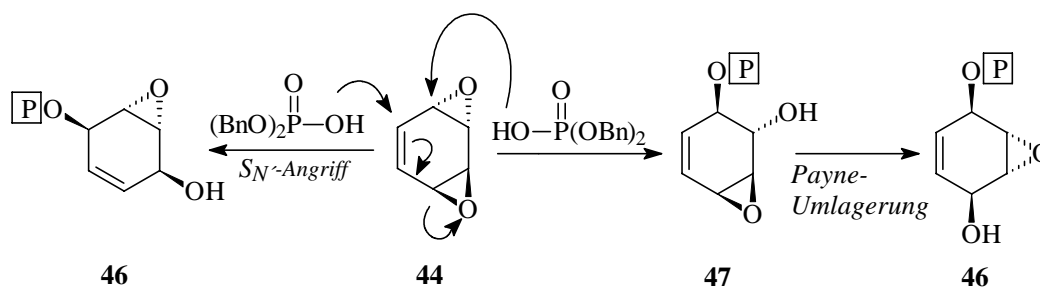
Im Vergleich dazu wäre bei **47** eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der P=O-Bindung des Phosphats und der Hydroxy-Gruppe von C-2 möglich; dazu muß die Phosphat-Gruppe aber pseudo-äquatorial orientiert sein. Diese Annahme wurde durch semiempirische AM1\* -Berechnungen mit dem Programm HYPERCHEM<sup>60</sup> ebenfalls gestützt, der ermittelte Abstand zwischen dem Wasserstoff-Atom der Hydroxy-Gruppe und dem Sauerstoff-Atom des Phosphats beträgt nach dieser Rechnung 2,16 Å. Der ermittelte Dihedralwinkel für die (P-O-C-H)-Einheit in **47** liegt bei ca. 12°, was einer Größenordnung der <sup>3</sup>J(P,H)-Kopplung von etwa 12 Hz entspricht. Dieser Winkel ist durch die Ungenauigkeit der durchgeführten semiempirischen Rechnung fehlerbehaftet, liegt aber in einer vergleichbaren Größenordnung zum tatsächlich ermittelten Wert von 7,9 Hz.



**Abbildung 14:** Berechnete Struktur für **47**.

\* AM1 ist eine SCF-Berechnungsmethode, die eine Weiterentwicklung von MNDO darstellt. Durch diese Methode ist zumindest eine gewisse Berücksichtigung von Wasserstoffbrückenbindungen möglich.

Die Bildung von **46** kann entweder durch stereospezifischen  $S_N'$ -Angriff auf *anti*-Benzoldioxid **4** oder durch Payne-Umlagerung aus dem monogeöffneten Produkt **47** geschehen (Schema 11).



**Schema 11** Unterschiedliche Entstehungsmechanismen für **46**.

Durch Einsatz größerer Mengen Phosphats konnte keine deutliche Verschiebung des Produktverhältnisses erreicht werden; die Reaktion liefert auch in verschiedenen anderen Lösungsmitteln wie Acetonitril oder Tetrahydrofuran ein vergleichbares Produktverhältnis, die Reaktionsgeschwindigkeit war allerdings geringer. Der Versuch, die geringe Löslichkeit des Produkts in Essigsäureethylester zu einer Gleichgewichtsverschiebung zugunsten von **45** auszunutzen, führte ebenfalls nicht zu einer Verbesserung, obwohl nach kurzer Zeit ein farblos Feststoff aus der Reaktionslösung ausfiel, blieb das Verhältnis von **45** zu **46** konstant.

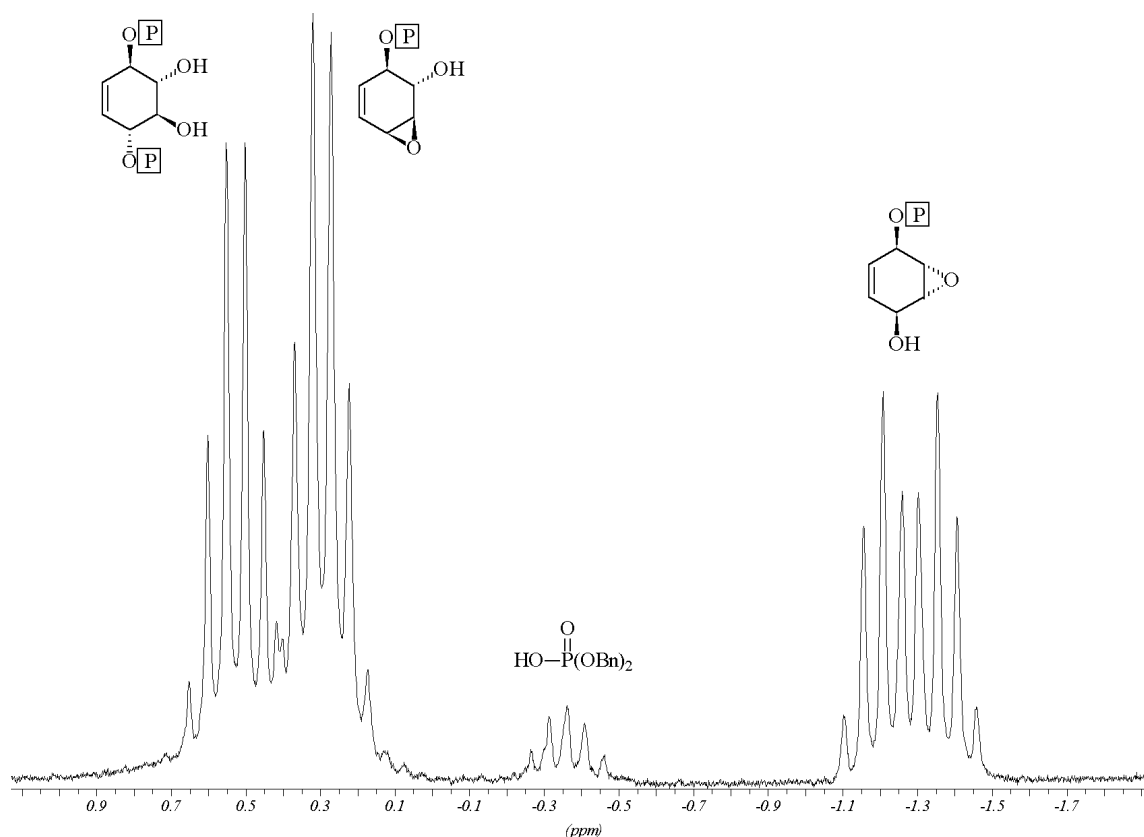
Diese Ergebnisse weisen ebenfalls auf das Vorliegen von **46** als Nebenprodukt hin, da sich der Anteil des reaktiven Monoepoxids **47** durch Phosphatzugabe oder Ausfällen des Reaktionsproduktes herabsetzen lassen sollte. Offenbar ist das Gleichgewicht zwischen **46** und **47** unter den vorliegenden sauren Reaktionsbedingungen nicht schnell genug, um eine Neubildung des reaktiven Allylepoxids **47** bei nucleophiler Öffnung zu gewährleisten.

Ein Kontrollexperiment, bei dem *anti*-Benzaldioxid mit einem Äquivalent Dibenzylphosphat umgesetzt wurde, führte zum Auftreten eines zusätzlichen Signals im  $^{31}P$ -NMR-Spektrum bei 0,3 ppm, das  $^1H$ -gekoppelt als Quintett erschien (Abbildung 15). Dieses Signal ist bei Einsatz von 2,2 Äquivalenten Dibenzylphosphat nicht zu beobachten und wurde **47** zugeordnet. Bei 0,58 ppm ist das Signal von Phosphokonduritol **45** zu sehen, das schon zu einer beträchtlichen Menge gebildet wurde (die Signalintensität ist durch die  $C_2$ -Symmetrie des Moleküls verdoppelt), obwohl in der Reaktionslösung noch *anti*-Benzaldioxid vorhanden war ( $^1H$ -NMR-spektroskopisch nachgewiesen). Dieses Resultat ist insofern bemerkenswert, als daß die Öffnung von *anti*-Benzaldioxid zum einen durch dessen Ringspannung begünstigt

sein sollte, zum anderen die kinetische Wahrscheinlichkeit aufgrund seiner  $C_2$ -Symmetrie doppelt so groß ist wie bei dem Monoöffnungsprodukt **47** ist. Offenbar erfolgt aber dennoch zum Teil bereits die zweite Öffnung des Monoepoxids **47** zu **45**.

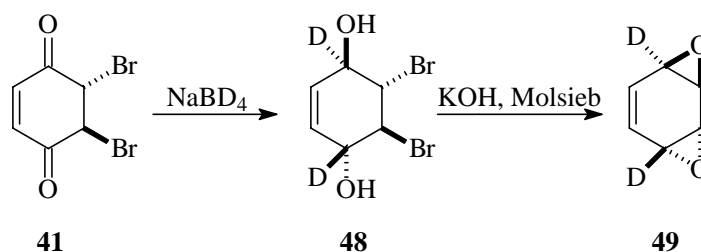
Dibenzylphosphat ist fast vollständig abreagiert und erzeugt ein Quintett bei 0,4 ppm, das eine sehr geringe Signalintensität aufweist. Das Signal, das **46** zugeordnet wird, erscheint wiederum als charakteristisches Dublett von Quintetts. Bemerkenswert ist, daß die Integrale von Diphospho-Konduritol **45** und Monoöffnungsprodukt **47** zusammen verglichen mit dem Integral des  $S_N'$ -Produktes ein Verhältnis von 70:30 ergeben. Dieses Resultat liegt ca. 10 % über der bei der präparativen Darstellung von **45** erhaltenen Menge von **47** und deckt sich mit den Ergebnissen der Phosphat-Testreihe, bei denen der Anteil von **46** im Reaktionsgemisch durch Erhöhung der Phosphatmenge nur geringfügig verringert werden konnte.

Unter Berücksichtigung der hier erzielten Ergebnisse scheint es so zu sein, daß das gebildete Monoöffnungsprodukt **47** bei Vorhandensein ausreichender Mengen Phosphats fast vollständig zu **45** abreagiert. **46** reagiert hingegen nicht weiter; ein Gleichgewicht zwischen **46** und **47** ist also offensichtlich zu langsam, um einen Einfluß auf den Reaktionsverlauf zu nehmen.



**Abbildung 15:**  $^{31}\text{P}$ - $^1\text{H}$ -gekoppeltes NMR Spektrum der Umsetzung von *anti*-Benzoldioxid mit einem Äquivalent Dibenzylphosphat.

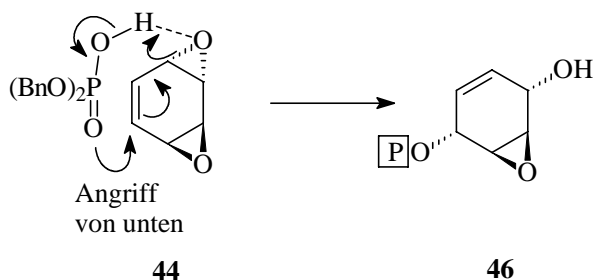
Eine eindeutige Aufklärung des Reaktionsverlaufs wäre durch Umsetzung von in 1- und 4-Position deuteriertem *anti*-Benzoldiooxid möglich. Hier würden  $S_N'$ -Angriff und Payne-Umlagerung zu zwei verschiedenen Produkten führen, der bevorzugte Angriff könnte also durch NMR-spektroskopische Bestimmung der Position der Deuterium-Atome bestimmt werden. Deuteriertes *anti*-Benzoldiooxid kann durch Reduktion von Dibromdion **41** mit Natriumbordeuterid und anschließende Behandlung mit Kaliumhydroxid erhalten werden (Schema 12). Experimente von FARKAS<sup>55</sup> zum Angriff von C-Nucleophilen (MeLi, BuLi) auf deuteriertes **44** deuten in dem von ihm untersuchten Fall auf einen  $S_N'$ -Angriff hin. Die Ergebnisse können aber nicht ohne weiteres auf diesen Fall übertragen werden, da der Reaktionsverlauf entscheidend vom eingesetzten Nucleophil abhängt.



**Schema 12:** Darstellung von 1,4-dideuteriertem *anti*-Benzoldiooxid.

Eine Erklärung für den hohen Anteil von **46** liefert folgende Annahme:

Es ist möglich, daß die säurekatalysierte Aktivierung des Epoxids und der nucleophile Angriff durch ein Molekül Dibenzylphosphat erfolgen. In diesem Fall könnte sich das Dibenzylphosphat so anordnen, daß die P=O-Doppelbindung parallel zu der C=C-Doppelbindung liegt, was durch eine Stabilisierung durch  $p\pi$ - $d\pi$ -Wechselwirkungen begünstigt werden kann. Die so stabilisierte Lage der P=O-Doppelbindung würde nun einen Angriff auf die Doppelbindung begünstigen. So kann über einen cyclischen Übergangszustand in einer konzertierten Reaktion ein Angriff eines Elektronenpaares auf die Doppelbindung erfolgen, das so gebildete Alkoholat kann direkt das Proton des Dibenzylphosphats abstrahieren (Schema 13).



**Schema 13:** Simultane Aktivierung des Epoxids und  $S_N'$ -Angriff durch Dibenzylphosphat.

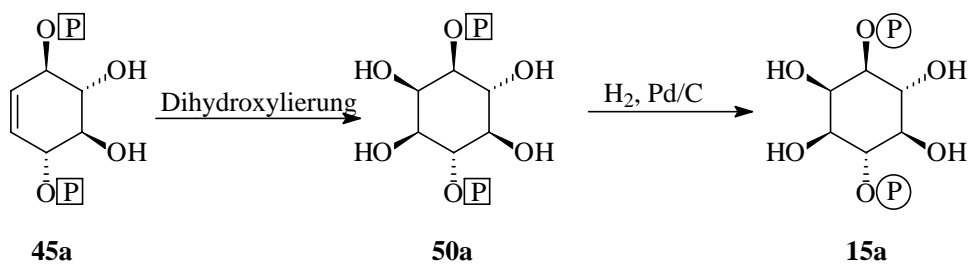
Das zur Öffnung verwendete Dibenzylphosphat wurde durch Oxidation von Dibenzylphosphit mit Kaliumpermanganat nach einer leicht modifizierten Vorschrift von BROWN<sup>61</sup> dargestellt; die Ausbeuten waren mit 60 % allerdings nicht optimal. Ein Grund dafür dürfte die leichte Abspaltung bzw. Oxidation von Benzylgruppen sein. Der Einsatz von anderen Oxidationsmitteln wie Natriumhypochlorit, Brom oder Wasserstoffperoxid führte zu keiner Verbesserung. Versuche zur Darstellung von Dibenzylphosphat durch doppelte Alkoholyse von Phosphorylchlorid mit Benzylalkohol, gefolgt von Hydrolyse des verbliebenen Chlorids führte nur zu einem Produktgemisch.

Die Umsetzung von Phosphorpentoxid mit Benzylalkohol lieferte ein Reaktionsgemisch, das im wesentlichen aus Mono- und Dibenzylphosphat bestand. Eine Trennung dieser beiden Hauptbestandteile aufgrund ihrer unterschiedlichen Acidität und Wasserlöslichkeit gelang jedoch nicht.

## 2.2.2 Darstellung von *Ins(1,4)P<sub>2</sub>* (14a) und *Ins(3,6)P<sub>2</sub>* (14b)

### 2.2.2.1 Synthese

Die Darstellung der beiden enantiomeren Inositolbisphosphate *Ins(1,4)P<sub>2</sub>* (**14a**) und *Ins(3,6)P<sub>2</sub>* (**14b**) ist aufgrund der Lage der Phosphatgruppen im jeweilig verwendeten Ausgangsmaterial **45a** und **45b** denkbar einfach. Durch *cis*-Dihydroxylierung und anschließende hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen sind beide Enantiomere gut zugänglich (Schema 14).

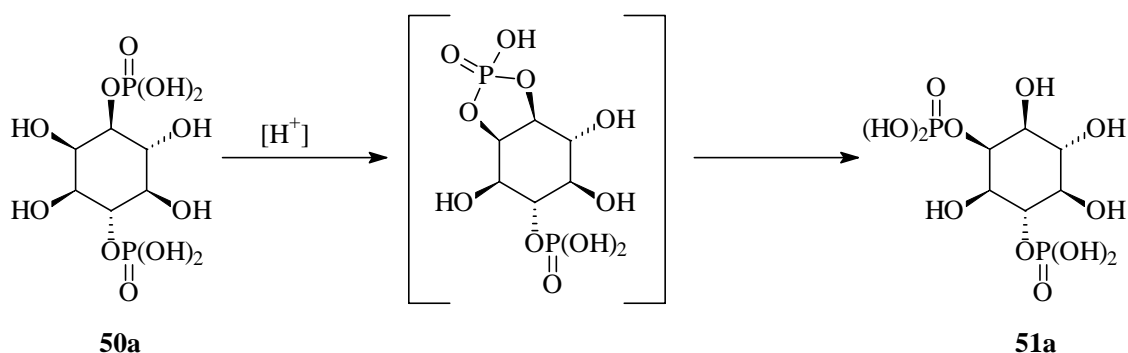


**Schema 14:** Darstellung von Ins(1,4)P<sub>2</sub> (**14a**).

Zur *cis*-Dihydroxylierung von Cyclohexen-Derivaten hat sich insbesondere das sehr reaktive Rutheniumtetroxid bewährt, das bei der Reaktion *in-situ* aus Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat gebildet wird. Diese von SHING<sup>62</sup> als „Blitz-*cis*-Dihydroxylierung“ publizierte Methodik zeichnet sich durch geringere Toxizität des Reagenzes im Vergleich zu Osmiumtetroxid und kurze Reaktionszeiten, die im Bereich weniger Minuten liegen, aus. Zudem liefern derartige Konduritol-Systeme mit anderen Dihydroxylierungsreagenzien wie Kaliumpermanganat oder Osmiumtetroxid geringe oder gar keine Umsätze. Obwohl von RITTER<sup>53</sup> die Dihydroxylierung von Dibenzyl-Konduritol-B (**80**) mit Osmiumtetroxid beschrieben wurde, so waren die Umsatzraten mit 62 % doch nicht zufriedenstellend und auch die Umsatzgeschwindigkeit, die mehrere Tage betrug, war zu gering. Der im Vergleich zu **80** dramatisch erhöhte sterische Anspruch der sperrigen Dibenzylphosphat-Gruppe in **45** schirmt die Doppelbindung des Konduritols gegenüber einem Angriff eines Dihydroxylierungsmittels weiter ab, aus diesem Grund ist es nicht erstaunlich, daß in eigenen Arbeiten mit Osmiumtetroxid kein Umsatz erzielt werden konnte.

Insbesondere die Darstellung des racemischen Inositols **50** bereitete insofern Probleme, als daß das Edukt in dem von SHING standardmäßig verwendeten Lösungsmittelsystem (Essigsäureethylester:Acetonitril 1:1) nicht löslich ist. Auf die Anwesenheit von Acetonitril konnte jedoch nicht verzichtet werden, da es zur Regeneration des aktiven Ruthenium-Komplexes benötigt wird.<sup>63</sup> Durch Einsatz von Dichlormethan anstelle von Essigsäureethylester als Cosolvens konnte dieses Problem aber beseitigt werden. Das bei der Reaktion entstehende Tetrol **50** weist durch seine lipophilen Benzylgruppen einerseits, durch die hydrophilen Phosphat- und Hydroxy-Gruppen andererseits sehr ambiphilen Charakter auf. Die Phasentrennung konnte durch Modifikation des Extraktionsmittels stark beschleunigt werden. **50** konnte somit in beiden enantiomeren Formen in 98 % Ausbeute isoliert werden.

Die hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen verlief in Ethanol-Wasser-Gemischen (1:1) mit Palladium auf Kohle unproblematisch. Zu beachten ist lediglich, daß die Reaktionsdauer nicht übermäßig lang sein sollte. Die bei der Abspaltung der Benzylgruppen freigesetzte Phosphatgruppe besitzt eine beträchtliche Acidität und kann die sauer katalysierte Migration von Phosphatgruppen bewirken (Schema 15).



**Schema 15:** Sauer katalysierte Phosphatmigration am Beispiel von **14a**.

Durch Reaktionsführung in flüchtigen Puffern wie Ammoniumacetat oder Ammoniumformiat oder durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat zur Reaktionslösung kann die Acidität der freigesetzten Inositolphosphate kompensiert werden, wie in Arbeiten von POTTER<sup>64</sup> und anderen gezeigt werden konnte. Auch PODESCHWA<sup>65</sup> setzte Puffersysteme bei Hydrierungen erfolgreich bei der Synthese von Mycothiol-B ein.

Bei der Synthese dieser Verbindung wurde jedoch auf den Einsatz von Puffern verzichtet, da NMR-spektroskopisch nach Hydrierdauern von 12 h noch kein Migrationsprodukt feststellbar war.

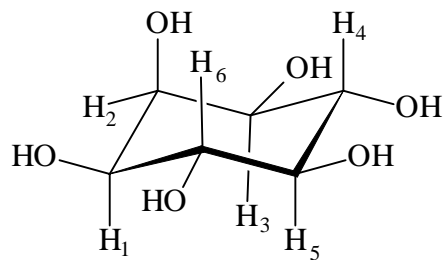
Die Abspaltung verläuft quantitativ und das erhaltene Produkt ist analysenrein, Nebenprodukte sind auch durch HPLC-Analysen nicht nachweisbar.

Die Synthese ist mit 98 % Ausbeute (ausgehend von **45**) im Vergleich zu literaturbekannten Verfahren voll konkurrenzfähig und ermöglicht einen einfachen Zugang zu beiden Enantiomeren in nur zwei Reaktionsschritten.

#### 2.2.2.2 *Einschub: NMR-Spektroskopische Untersuchungen von Inositolphosphaten*

*Myo*-Inositolderivate zeichnen sich durch charakteristische Signalstrukturen der Ringprotonen aus, die durch die relative Lage der einzelnen Protonen zu ihren Nachbarn bedingt sind (Abbildung 16).





**Abbildung 16:** Stellung der Ringprotonen im *myo*-Inositolgrundgerüst.

Durch die relative Lage der Ringprotonen zueinander kommt es zu *cis*- oder *trans*-Kopplungen, die sich in ihrer Größe signifikant unterscheiden. Während eine  $^3J_{H,H}$  (*trans*)-Kopplung axialer Protonen im Bereich von 7-10 Hz liegt, beträgt die  $^3J_{H,H}$  (*cis*)-Kopplung lediglich 2,5-3 Hz. Da bei unphosphorylierten Inositolssystemen jedes H-Atom mit zwei benachbarten, nicht äquivalenten Protonen koppelt, wäre jeweils ein Dublett von Dubletts zu erwarten. Je nach relativer Lage der Kopplungspartner und Auflösung des Spektrum kann es aber zu Überlagerungen kommen. Liegen zwei *cis*- oder *trans*-Kopplungen vor, so erscheinen die Signale als Pseudotriplett. Bei schlechter Auflösung des Spektrums kann es durch den geringen Beitrag der *cis*-Kopplungen zu einer weiteren Vereinfachung kommen. Die Kopplungsverhältnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt:

Position	Kopplungs- partner 1	Kopplungs- partner 2	Signal (gute Auflösung)	Signal (schlechte Auflösung)
H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub> ( <i>cis</i> )	H <sub>6</sub> ( <i>trans</i> )	dd	Ψd
H <sub>2</sub>	H <sub>1</sub> ( <i>cis</i> )	H <sub>3</sub> ( <i>cis</i> )	Ψt	Ψs
H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> ( <i>cis</i> )	H <sub>4</sub> ( <i>trans</i> )	dd	Ψd
H <sub>4</sub>	H <sub>3</sub> ( <i>trans</i> )	H <sub>5</sub> ( <i>trans</i> )	Ψt	Ψt
H <sub>5</sub>	H <sub>4</sub> ( <i>trans</i> )	H <sub>6</sub> ( <i>trans</i> )	Ψt	Ψt
H <sub>6</sub>	H <sub>1</sub> ( <i>trans</i> )	H <sub>5</sub> ( <i>trans</i> )	Ψt	Ψt

**Tabelle 2:** Kopplungsverhältnisse im unphosphorylierten Inositol

Weitere Informationen sind aus der chemischen Verschiebung zu erhalten. Bei pH 6 liegen die chemischen Verschiebungen des freien *myo*-Inositols im Bereich von 3,26 (H<sub>5</sub>) bis 4,04 ppm (H<sub>2</sub>).<sup>66</sup> Die dem äquatorial-ständigen Wasserstoff benachbarten Protonen H<sub>1</sub> und H<sub>3</sub> erzeugen ein Signal bei 3,52 ppm, die beiden von axialständigen H-Atomen umgebenen Protonen H<sub>4</sub> und H<sub>6</sub> erscheinen bei 3,61 ppm. Beachtenswert ist die starke Tieffeldverschiebung des äquatorialständigen Wasserstoffes H<sub>2</sub>, die (insbesondere in Verbindung mit der charakteristischen Signalaufspaltung, s. Tab. 6) meist eine leichte Identifizierung dieser Position erlaubt. Anhand von <sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-COSY-Spektren sollte dann in den meisten Fällen eine Strukturaufklärung möglich sein.

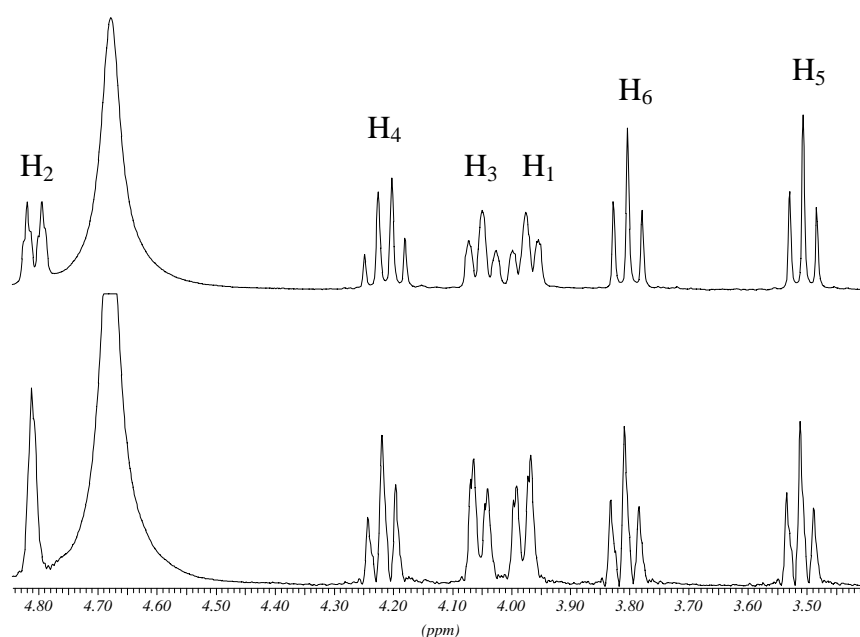
Die Phosphorylierung einer OH-Funktion bewirkt eine Tieffeldverschiebung des zugehörigen Ringprotons um ca. 0,5 ppm, die  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Positionen zeigen eine analoge, wenn auch schwächere Verschiebung um ca. 0,1 bzw. 0,05 ppm. Desweiteren tritt eine <sup>3</sup>J(P,H)-Kopplung in der Größenordnung von 7-10 Hz auf. Fernkopplungen des Phosphors zu anderen Ringprotonen sind normalerweise nicht zu beobachten. Auch im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum wird bei Phosphorylierung einer Position eine Tieffeldverschiebung um ca. 5 ppm beobachtet, zudem sind <sup>2</sup>J(P,C) und <sup>3</sup>J(P,C)-Kopplungen zu beobachten, die in einer Größenordnung von ca. 5 Hz liegen. Das Auftreten dieser C,P-Kopplungen kann im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum zu Problemen führen, da zum einen einzelne Signale nur als Multiplett vorliegen, zum anderen die Signalintensität im Vergleich zu nicht aufgespaltenen Signalen drastisch abnimmt.

Die aus einer Phosphorylierung resultierenden <sup>1</sup>H-Signalformen sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Position	Kopplungs- partner 1	Kopplungs- partner 2	Signal (gute Auflösung)	Signal (schlechte Auflösung)
H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub> (cis)	H <sub>6</sub> (trans)	d $\Psi$ t	$\Psi$ t
H <sub>2</sub>	H <sub>1</sub> (cis)	H <sub>3</sub> (cis)	d $\Psi$ t	$\Psi$ d
H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> (cis)	H <sub>4</sub> (trans)	d $\Psi$ t	$\Psi$ t
H <sub>4</sub>	H <sub>3</sub> (trans)	H <sub>5</sub> (trans)	$\Psi$ q	$\Psi$ q
H <sub>5</sub>	H <sub>4</sub> (trans)	H <sub>6</sub> (trans)	$\Psi$ q	$\Psi$ q
H <sub>6</sub>	H <sub>1</sub> (trans)	H <sub>5</sub> (trans)	$\Psi$ q	$\Psi$ q

**Tabelle 3:** Kopplungsverhältnisse im phosphorylierten Inositol.

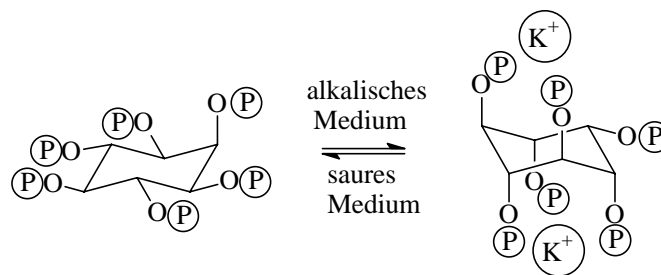
Weitere Strukturinformationen sind Phosphor-entkoppelten  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren zu entnehmen. Auf diese Weise sind phosphorylierte Positionen durch eine Vereinfachung des betreffenden Signals im Vergleich zum  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zu identifizieren, was in verschiedenen Fällen die Aufnahme von COSY-Spektren überflüssig macht. Zudem können auftretende Dacheffekte Hinweise geben. Beispielhaft ist das Phosphor-gekoppelte und das Phosphor-entkoppelte  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Ins(1,2,3,4) $\text{P}_4$  (**61a**) gezeigt



**Abbildung 17:** Vergleich von  $^1\text{H}$ - und  $^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$ -NMR-Spektren von Ins(1,2,3,4) $\text{P}_4$  (**61a**) (pH = 6)

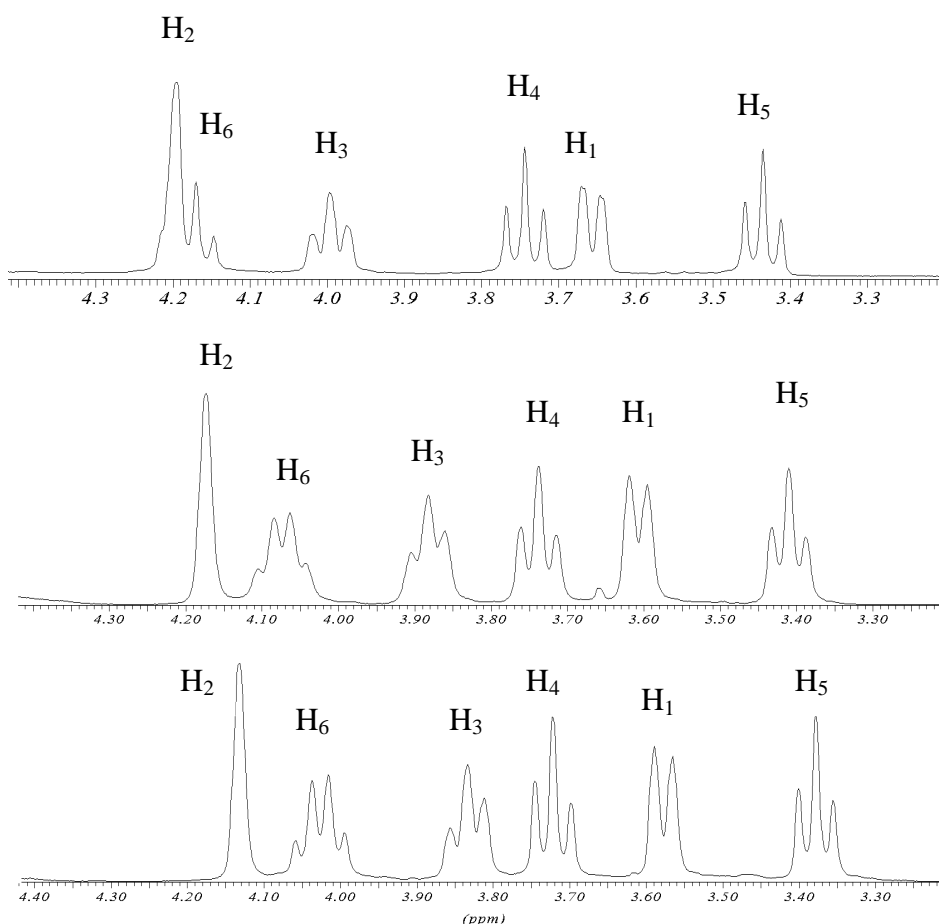
Ein wichtiger Faktor bei der Lage der Signale von Ringprotonen freigesetzter Inositolphosphate ist der pH Wert der Probe. Zum einen spielt der Protonierungsgrad der Phosphatgruppen bei der Entschirmung durch diese Gruppen eine Rolle, zum anderen kann bei hochphosphorylierten Verbindungen auch eine Inversion der Sesselkonformation vorliegen. So ist beispielsweise von Phytinsäure<sup>67</sup> und InsP<sub>5</sub>-Isomeren<sup>68</sup> bekannt, daß sie bei alkalischem pH nicht in der normalerweise günstigeren Sesselform vorliegt, bei der bis auf den Substituenten in 2-Position alle Gruppen äquatorial orientiert sind. Bei steigendem Deprotonierungsgrad ist eine käfigartige Struktur, bei der möglichst viele Substituenten axial angeordnet sind, begünstigt, da durch Komplexierung von Kationen und durch Ausbildung

von Wasserstoffbrückenbindungen zu Wasser die Abstoßung der negativen Ladung minimiert werden kann (Abbildung 18).



**Abbildung 18:** pH-abhängige Konformationsunterschiede bei Phytinsäure.

Der Einfluß des pH-Wertes auf das NMR-Spektrum konnte an der hier synthetisierten Verbindung  $\text{Ins}(3,6)\text{P}_2$  (**14b**) demonstriert werden (Abbildung 19).



**Abbildung 19:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von  $\text{Ins}(3,6)\text{P}_2$  (**14b**) bei pH 1.5 (A), 6.0 (B) und 9.5 (C).

Wie man sieht, bewirkt der Wechsel von saurem zu annähernd neutralem pH (pH 6) starke Veränderungen. Die weitere Verschiebung des pH's nach 9 bewirkt hingegen nur noch eine

geringfügige Hochfeldverschiebung der Protonen. Eine auf einem Inkrementsystem basierende Untersuchung von NMR-Spektren von Inositolphosphaten bei pH 6 und 9 findet sich bei SCHOLZ.<sup>69</sup> Bei anderen, insbesondere bei höherphosphorylierten Inositolphosphaten treten größere Unterschiede zwischen pH 6 und 9 auf.

#### 2.2.2.3 *Einschub: Inositolphosphatnachweis durch Nachsäulenderivatisierung*

Der Nachweis und die Quantifizierung von Inositolphosphaten werden derzeit im Arbeitskreis VOGEL durch eine Nachsäulenderivatisierung im Anschluß an die HPLC-Trennung durchgeführt. Diese von MAYR<sup>70</sup> 1990 eingeführte und im Arbeitskreis VOGEL stark verbesserte Methode ermöglicht die Detektion von Inositolphosphat-Mengen im nanomolaren Bereich. Etabliert wurden zwei unterschiedliche Systeme zur Elution des verwendeten Anionenaustauschers Mono Q. Das eine, im folgenden als „saurer System“ bezeichnet, verwendet als Elutionsmittel eine Salzsäurelösung und ist insbesondere für die Trennung von höherphosphorylierten Verbindungen (InsP<sub>4</sub> und InsP<sub>5</sub>) geeignet. Einen speziellen Gradienten zur Trennung von InsP<sub>3</sub>-Isomeren stellt das als „alkalisches System“ bezeichnete System dar, das auf Elution mit Tris-gepufferten Kaliumchlorid-Lösungen (pH 8,5) beruht. Diese sehr leistungsfähige Trennmethode ist in der Lage, in einem Lauf sieben InsP<sub>3</sub>-Isomere zu trennen (siehe Standard in Abbildung 49, Seite 117).

Der Nachweis beruht auf einer Verdrängung des Liganden aus einem orangerot gefärbten Yttrium(III)-PAR-Komplex (PAR = 4-(2-Pyridylazo)resorcinol) durch Inositolphosphate. Da die durch den freien Farbstoff verursachte Extinktion bei 546 nm deutlich geringer ist als die des Y<sup>3+</sup>-PAR-Komplexes, tritt bei Elution eines Inositolphosphats ein negatives Absorptionssignal auf. Das ermöglicht eine Detektion.

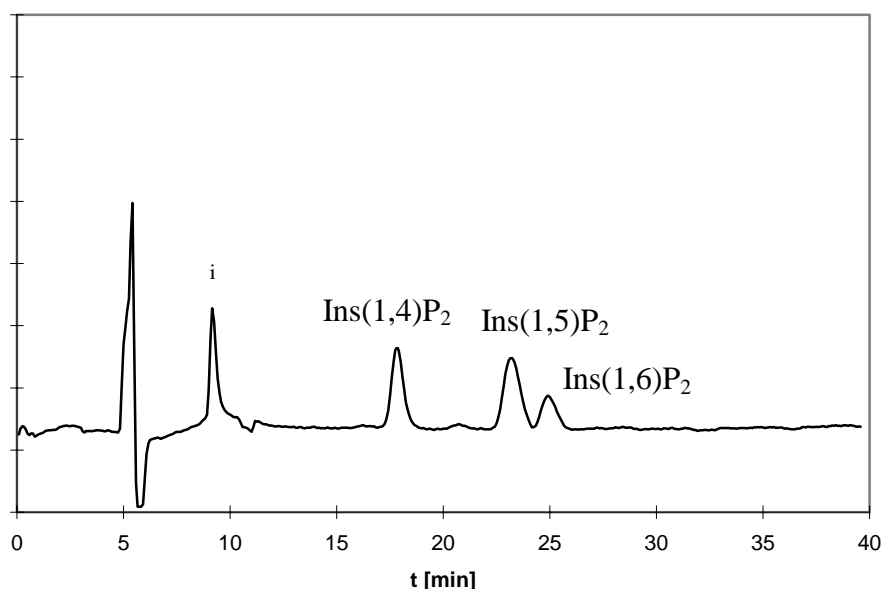
Es ist einfach ersichtlich, daß die Komplexierungstendenz einzelner Inositolphosphate zum einen stark von deren Phosphorylierungsgrad, zum anderen aber auch von der Lage der Phosphatgruppen im Ring bzw. zueinander abhängt. Somit muß für die Quantifizierung jedes Inositol-Isomers zunächst eine Eichung erstellt werden.

#### 2.2.2.4 *Komplexierungstendenz verschiedener Inositolbisphosphate*

Ins(1,4)P<sub>2</sub> (**14a**) ist das mit dem oben beschriebenen Verfahren am schlechtesten nachzuweisende InsP<sub>2</sub>-Isomer. Da die beiden Phosphatgruppen an entgegengesetzten Seiten des Ringes angeordnet sind und *trans* zueinander stehen, ist ein Chelatisierungseffekt bei der

Komplexierung von Yttrium-Ionen ausgeschlossen. Durch die Synthese verschiedener Inositolbisphosphate konnte die Verbindung von Lage der Phosphatgruppen zueinander und Komplexierung durch das betreffende Inositolphosphat demonstriert werden.

Verglichen wurden  $\text{Ins}(1,6)\text{P}_2$ , das im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurde (siehe Abschnitt 2.6.1.2.1),  $\text{Ins}(1,5)\text{P}_2$  (von ANDERSCH<sup>71</sup> synthetisiert) und das hier beschriebene  $\text{Ins}(1,4)\text{P}_2$  (**14a**).



**Abbildung 20:** HPLC-Chromatogramm der Trennung von drei  $\text{InsP}_2$ -Isomeren:

$\text{Ins}(1,6)\text{P}_2$ : 5 nmol;  $\text{Ins}(1,5)\text{P}_2$ : 50 nmol;  $\text{Ins}(1,4)\text{P}_2$ : 100 nmol.

Diese drei Verbindungen wurden auch an DIONEX zu Testzwecken eingesandt. Dabei sollte zum einen die Leistungsfähigkeit einer von ihnen vertriebenen HPLC-Anlage demonstriert werden, zum anderen die Vorzüge eines Inositolphosphatnachweises über Leitfähigkeitsmessungen aufgezeigt werden. Die Messungen ergaben Nachweisempfindlichkeiten von ca. 25 pmol, was eine Verbesserung der bisher für diese Verbindungen erreichbaren Grenzen um einen Faktor von bis zu 1000 bedeutet. Zudem ist die Nachweisempfindlichkeit bei diesem Verfahren von der relativen Lage der Phosphatgruppen zueinander unabhängig.

### 2.2.2.5 Biologische Bedeutung

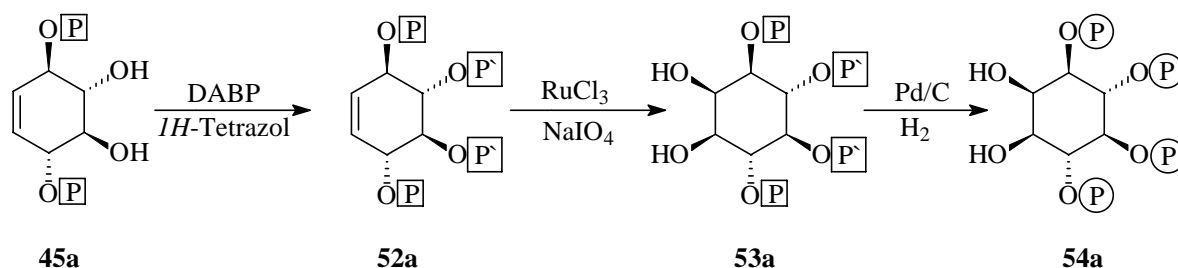
Während Ins(3,6)P<sub>2</sub> (**14b**) nicht natürlich vorkommt, ist Ins(1,4)P<sub>2</sub> (**14a**) ein häufig auftretendes Isomer, das durch Dephosphorylierung von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) durch eine 5-Phosphatase entsteht. Untersuchungen von SYLVIA<sup>72</sup> zeigten eine Aktivierung einer DNA-Polymerase in menschlichen Fibroblasten durch **14a**. Ähnliche Effekte konnten bei Ochsennerenzellen<sup>73</sup> festgestellt werden.

### 2.2.3 Darstellung von Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) und Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54b**)

Bei dem Enantiomerenpaar **54a** und **54b** waren zuvor in der Literatur widersprüchliche Drehwert-Daten publiziert worden.<sup>74</sup> Da für beide diese Enantiomere auch wichtige (unterschiedliche) biologische Funktionen festgestellt werden konnten (siehe unten), war eine eindeutige Bestimmung der Absolutkonfiguration dieser beiden Enantiomere von großem Interesse.

#### 2.2.3.1 Synthese

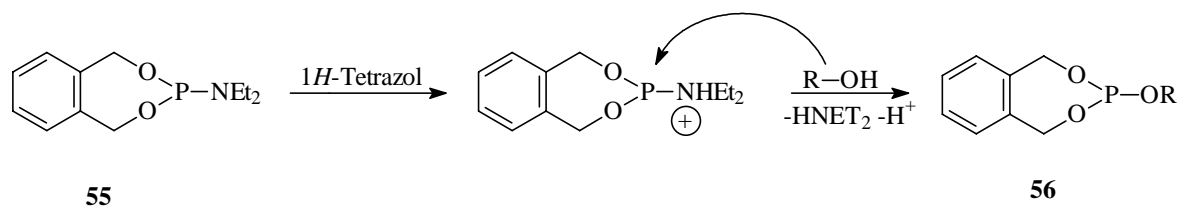
Die Synthese des biologisch interessanten Enantiomerenpaares Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) und Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54b**) konnte ausgehend von **45a** bzw. **45b** realisiert werden (Schema 16).



**Schema 16:** Synthese von Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**).

Eine Phosphorylierung der freien OH-Gruppen konnte mit 3-Diethylamino-2,4,3-benzodioxaphosphan (DABP) in Gegenwart von *1H*-Tetrazol, gefolgt von anschließender Oxidation des resultierenden Phosphits mit *m*-Chlorperbenzoesäure, erreicht werden. Bei der von OZAKI<sup>75</sup> entwickelten Methode, die eine Variante der Phosphorylierung durch Dibenzylphosphoamidite darstellt,<sup>76</sup> wird die Phosphitylierung des Alkohols durch Umsatz mit zwei Äquivalenten Phosphorylierungsreagenz und vier Äquivalenten Tetrazol erreicht. Durch das als Hilfssäure zugesetzte *1H*-Tetrazol wird die P-N-Bindung des Reagenzes geschwächt. Aus diesem Grund kann die Hydroxy-Funktion des zu phosphorylierenden

Alkohols nucleophil am Phosphor angreifen und das Amin substituieren (Schema 17). Das entstehende Phosphit muß nun noch oxidiert werden; gebräuchlich ist vor allem *m*-Chlorperbenzoesäure, es sind aber auch Oxidationen mit Wasserstoffperoxid beschrieben.



**Schema 17:** Phosphitylierungsreaktion mit Phosphoamiditen wie DABP (**55**).

OZAKI beschreibt in der genannten Quelle die Zugabe limitierter Mengen Wassers zum Reaktionsansatz vor der anschließenden Oxidation. Auf diese Weise soll das im Überschuß eingesetzte Reagenz hydrolysiert und eine spätere Aufarbeitung erleichtert werden. In nach dieser Vorgehensweise synthetisierten Produkten war in massenspektroskopischen Untersuchungen immer ein Signal von [M+18] zu finden, das in beträchtlichen Mengen auftrat. Dieses Resultat kann dadurch erklärt werden, daß das zugesetzte Wasser nicht nur den Siebenring des Phosphoamidits, sondern auch den des phosphitylierten Konduritols spaltet. Durch Verzicht auf Wasser und Einsatz von trockener *m*-Chlorperbenzoesäure zur Oxidation des Phosphits zum Phosphat konnte schließlich phosphoryliertes **52** in beiden enantiomeren Formen gewonnen werden, bei dem keine Spaltprodukte nachweisbar waren.

Bei Verlängerung der Reaktionsdauer über Nacht konnte zudem die Menge eingesetzten Phosphorylierungsreagenzes von zwei Äquivalenten auf 1,3 Äquivalente pro zu phosphorylierender OH-Gruppe reduziert werden, ohne daß sich die Ausbeute verringerte. Auch die Menge des verwendeten 1*H*-Tetrazols konnte auf diese Weise von vier auf 1,5 Äquivalente reduziert werden.

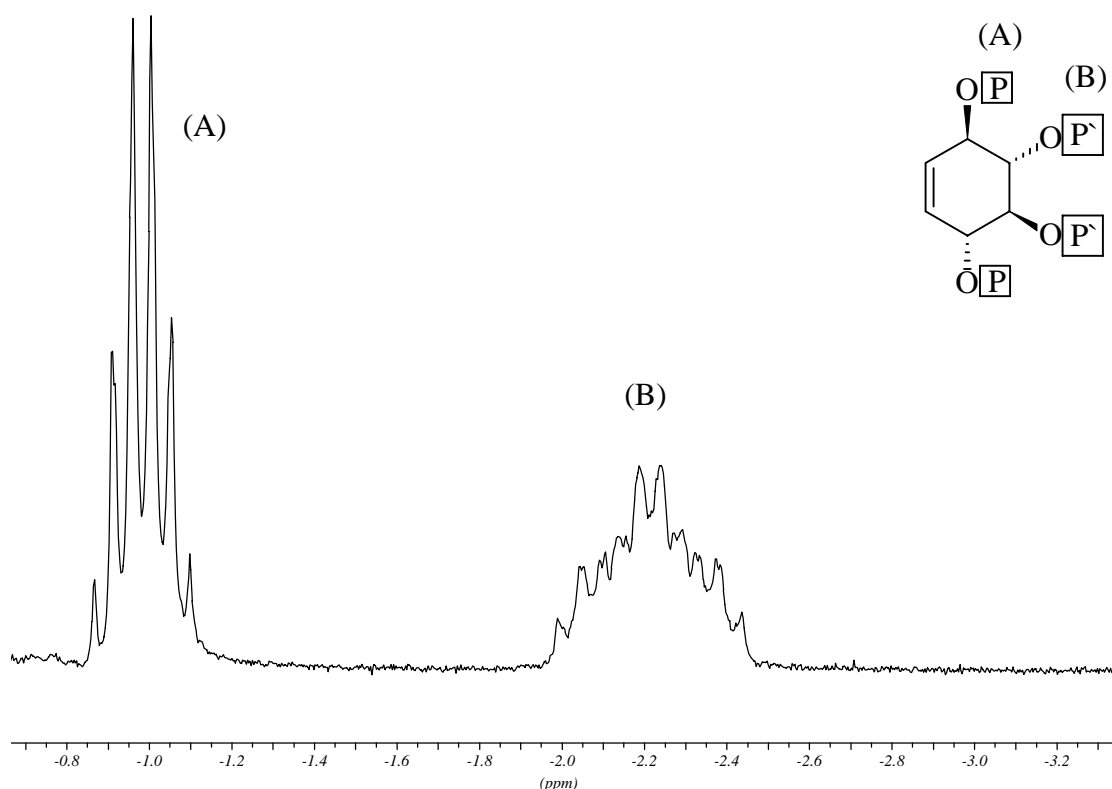
Eine Aufreinigung des erhaltenen Rohprodukts, das nach NMR-Spektren lediglich aus oxidiertem Phosphorylierungsreagenz und vollständig phosphoryliertem Produkt **52a** besteht, ist (unter Ausbeuteverlust) durch Flash-Chromatographie möglich. Diese Verluste sind wahrscheinlich auf Dephosphorylierung an Silicagel zurückzuführen, wie im folgenden (vgl. Kapitel 2.2.4.1) noch gezeigt werden wird.

Die beiden unterschiedlichen Phosphat-Gruppen können im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum einfach unterschieden werden (Abbildung 21). Bei den in 1- und 4-Position vorliegenden Dibenzylphosphaten liegt die <sup>3</sup>J(P,H)-Kopplung zu den CH<sub>2</sub>-Gruppen in einer ähnlichen Größenordnung, wie die <sup>3</sup>J(P,H)-Kopplung zu C-1/4, deshalb erscheint das Signal als



Pseudosextett (A). Durch die Fixierung des Siebenrings in den Xylylphosphatgruppen in 2- und 3-Position sind dort die Methylenprotonen alle magnetisch inäquivalent; sie bilden mit dem Phosphor-Atom ein AA'BB'X-Spinsystem (B).

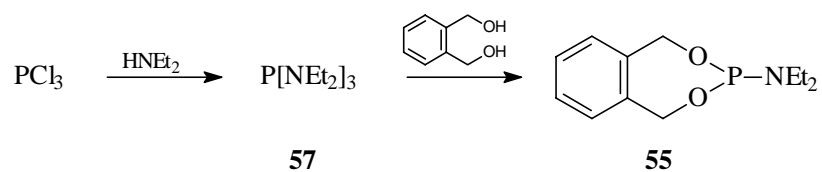
Diese Eigenschaft schlägt sich auch in den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren ähnlich phosphorylierter Verbindungen nieder; im Bereich von 3,8 bis 4,7 ppm finden sich meist breite, nicht auswertbare Multipletts, von denen auch Signale der Ringprotonen überlagert werden. Deshalb stellt das Phosphor-Spektrum eine gute Möglichkeit dar, eine erfolgreiche Umsetzung festzustellen.



**Abbildung 21:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von Konduritol **52**

### 2.2.3.2 Einschub: Darstellung des Phosphorylierungsreagenzes **55**

Das Phosphorylierungsreagenz **55** wurde wie folgt hergestellt (Schema 18):



**Schema 18:** Darstellung des Phosphorylierungsreagenzes **55**.

Zunächst wurde nach einer Vorschrift von REGITZ<sup>77</sup> Tris(diethylamino)phosphit (**57**) dargestellt. Dabei wird Phosphortrichlorid mit sechs Äquivalenten Diethylamin umgesetzt. Der bei der Reaktion entstehende Chlorwasserstoff wird durch überschüssiges Amin als Hydrochlorid ausgefällt und kann anschließend durch Extraktion mit Wasser einfach entfernt werden. Nach Destillation im Hochvakuum kann **57** in 80 % Ausbeute isoliert werden.

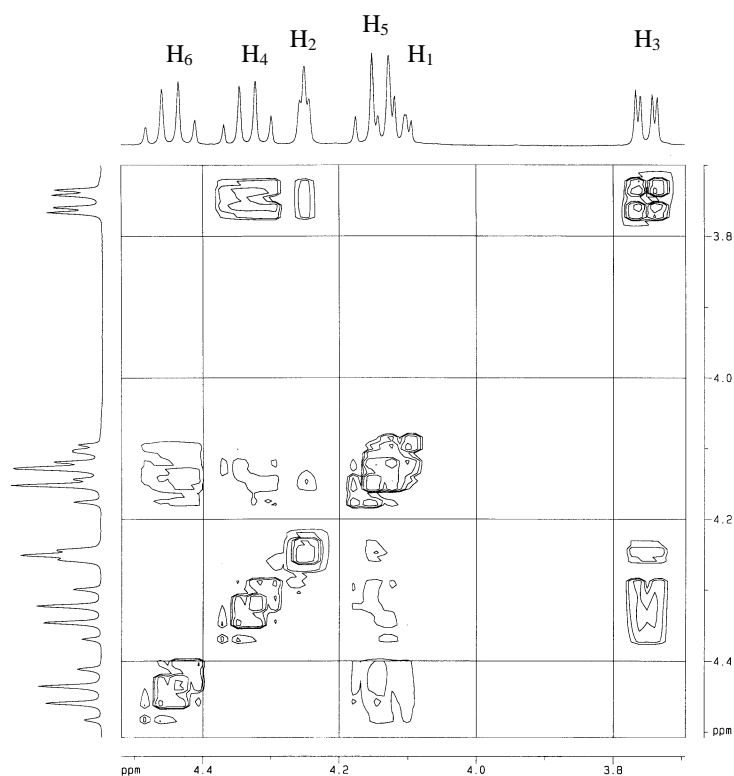
**57** zeichnet sich durch gute Substituierbarkeit der Diethylaminogruppen aus; durch  $\delta\pi$ - $\rho\pi$ -Wechselwirkungen können zwei der drei Aminofunktionen ohne zusätzliche Aktivierung substituiert werden. Erst bei Angriff auf die dritte Amino-Funktionalität ist, wie oben gezeigt, die Aktivierung durch eine Hilfssäure nötig. Aus diesem Grund kann die Bildung von **55** durch Umsetzung von **57** mit Phthalylalkohol (1,2-Benzoldimethanol) ohne Säureaktivierung erfolgen, eine Gleichgewichtsverschiebung erfolgt durch Abdestillation des entstehenden Diethylamins. Nach Destillation im Hochvakuum erhält man das Reagenz **55** in 58 % Ausbeute.

Der für die letztgenannte Reaktion benötigte Phthalylalkohol ist einfach durch Reduktion von Phthalsäurediethylester (Palatinol A) mit Lithiumaluminiumhydrid darzustellen; man erhält eine Ausbeute von 80 % nach Umkristallisation.

Nach erfolgreicher Phosphorylierung konnten die beiden enantiomeren Konduritole **52a/b** nach den Standard-Bedingungen von SHING in Essigsäureethylester:Acetonitril (im Verhältnis 1:1) *cis*-dihydroxyliert werden und lieferten die geschützten Inositole **53a** / **53b** in jeweils 87 % Ausbeute. Es wurden keine Zersetzungsprodukte durch eventuelle Periodat-Spaltung der Doppelbindung beobachtet, so daß auch längere Reaktionszeiten als die von SHING beschriebenen drei Minuten verwendet werden konnten.

Auch die anschließende Freisetzung der Inositoltrikisphosphate **54a** und **54b** verlief problemlos; nach Hydrogenolyse erhielt man beide Produkte als NMR-saubere Feststoffe in 95 % Ausbeute. Um eine für biologische Untersuchungen ausreichende Reinheit zu gewährleisten, wurden beide Produkte über HPLC weiter aufgereinigt.

Durch Aufnahme von  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-NMR-Spektren konnten die Signale aller Ringprotonen eindeutig zugeordnet werden. Ausgehend von dem charakteristischen Signal des H-2 bei 4,22 ppm und unter Zuhilfenahme der in Kapitel 2.2.2.2 beschriebenen Aufspaltungsmuster ergibt sich die getroffene Zuordnung (Abbildung 22).



**Abbildung 22:**  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY von Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**).

### 2.2.3.3 Korrelation der erhaltenen Drehwerte mit Literaturdaten.

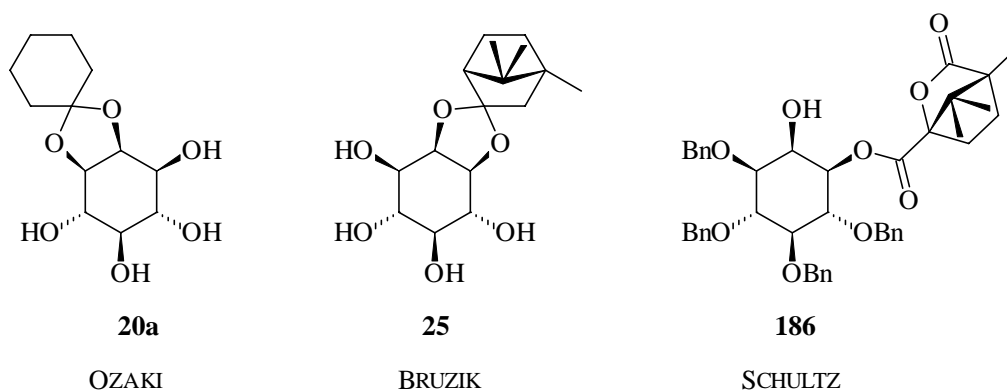
Bislang sind drei Synthesen literaturbekannt.

Autor	Ins(1,4,5,6)P <sub>4</sub> <b>54a</b>	Ins(3,4,5,6)P <sub>4</sub> ( <b>54b</b> )
BRUZI <sup>78</sup> et al, (1992)	+6.2 (c = 2.15, H <sub>2</sub> O, pH = 9.5)	
BRUZI <sup>79</sup> et al, Corrigendum (1994)		+ 6.2 (c = 2.15, H <sub>2</sub> O, pH = 9.5)
OGASAWARA <sup>80</sup> et al. (1994)	-10.2 (c = 2.46, H <sub>2</sub> O, Na-Salz)	+ 9,8 (c = 1.43, H <sub>2</sub> O, Na-Salz)
SCHULTZ <sup>81</sup> et al. (1995)	+8.0 (c=1.1, H <sub>2</sub> O, pH = 7.0)	-5,6 (c = 0.2, H <sub>2</sub> O)
Eigene Resultate	-4,8 (c = 2.7, H <sub>2</sub> O, freie Säure)	+ 4.1 (c = 2.7, H <sub>2</sub> O, freie Säure)

**Tabelle 4:** Vergleich der publizierten Drehwerte mit eigenen Resultaten.

Auf dieser totalsynthetischen Route konnte Ins(3,4,5,6) $P_4$  **54b** zweifelsfrei als (+)-Enantiomer identifiziert werden, was mit den Resultaten von OGASAWARA und dem Corrigendum von BRUZIK korreliert. Die Abweichungen im Betrag der Drehwerte sind durch den unterschiedlichen pH der vermessenen Probe erklärbar. Der unterschiedliche Protonierungsgrad, dessen Einfluß schon bei NMR-spektroskopischen Untersuchungen groß ist, sollte auch hier eine wichtige Rolle spielen.

OZAKI synthetisierte **54a** ausgehend von enzymatisch gewonnenem enantiomerenreinem **20a** (Schema 2) in 2 Stufen. Sowohl BRUZIK in ihrer Originalveröffentlichung, als auch SCHULTZ verwenden in ihrer Synthese als enantiomerenreines Ausgangsmaterial durch Diastereomerentrennung gewonnene Campher-Derivate (Abbildung 23). BRUZIK führt eine Umacetalisierung von (L)-Campherdimethylacetal mit freiem Inositol durch und erhält nach Äquilibrierung das Isomer **25** als Hauptkomponente. Durch Einsatz des anderen Enantiomers des chiralen Auxiliars ist auch das Enantiomer von **25** zugänglich. SCHULTZ beschreibt eine Trennung ausgehend von racemischem 3,4,5,6-Tetrabenzylinositol, das er mit (-)-Camphansulfonsäurechlorid umsetzt.



**Abbildung 23:** Für Literatursynthesen verwendete enantiomerenreine Ausgangsmaterialien.

Sowohl BRUZIK als auch SCHULTZ erhalten bei ihrer Synthese die falschen Enantiomere. BRUZIK korrigiert diese Resultate später, und verweist in dem zwei Jahre später erschienenen Corrigendum auf eine neuerliche Synthese von Ins(3,4,5,6) $P_4$  (**54b**), ausgehend von dem „chrossgecheckten Tetrol **25**“ (Abbildung 23).

Bei Studium der Sekundärliteratur konnte der Fehler von SCHULTZ wahrscheinlich ausfindig gemacht werden. SCHULTZ stellte die Absolutkonfiguration seiner Edukte vermutlich durch

einen Vergleich der Drehwerte mit Literaturdaten von ANEJA<sup>82</sup> fest, korrelierte diese aber mit dem dort beschriebenen 3-Camphamat, dem Enantiomer der von ihm beschriebenen Verbindung **186**. Dieser Fehler ist umso erstaunlicher, als daß SCHULTZ bei seiner Synthese OZAKI als Referenz für den Schmelzpunkt von **54a** zitiert, die offensichtliche Diskrepanz der Drehwerte jedoch nicht bemerkt.

Vergleicht man den hier vorgestellten Syntheseweg mit den oben beschriebenen Zugängen, so ist zu bemerken, daß auf der von **45** ausgehenden Route beide Enantiomeren in guten Ausbeuten und größeren Mengen zugänglich sind. Die von SCHULTZ und BRUZIĆ vorgestellten Synthesewege sind durch den Einsatz chiraler Auxiliare auf den Einsatz des teureren (+)-Camphansäurechlorids bzw. von (-)-Campherderivaten angewiesen. Zudem muß eine Diastereomerentrennung durchgeführt werden. Aus diesen Gründen ist die hier entwickelte Synthese als echte Alternative zu den bereits beschriebenen Verfahren anzusehen.

Beide enantiomerenreine Verbindungen **54a** und **54b** wurden in einer Rezeptorstudie mit einem Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub>-Rezeptor getestet (vgl. Kapitel 2.6.1.2.3).

#### 2.2.3.4 Biologische Bedeutung

Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> scheint eine Funktion als Regulator der Chlorid-Konzentration<sup>83</sup> in Darmepithel-Zellen zu besitzen. Von der Chlorid-Konzentration hängen zelluläre Funktionen wie pH-Gleichgewicht und Osmoregulation ab. Dabei entkoppelt Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54b**) den Chlorid-Einstrom in die Zelle von der durch Thapsigargin- oder Histamin-verursachten Calcium-Konzentrationserhöhung.

Zudem konnte Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) als Metabolit eines alternativen Synthesewegs von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) in *Dictyostelium discoideum* und Leberzellen von Ratten<sup>84</sup> nachgewiesen werden. Es entsteht als Intermediat durch Dephosphorylierung von Ins(1,3,4,5,6)P<sub>3</sub> (**68**) und wird anschließend zu Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) weiter dephosphoryliert. Das umsetzende Enzym ist eine *multiple inositol polyphosphate phosphatase (MIPP)*.

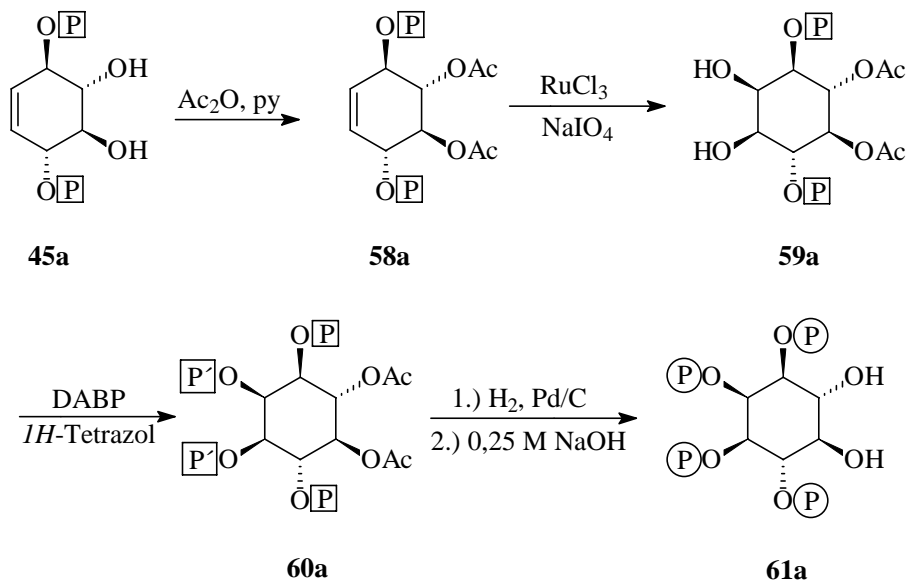
Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) wurde in einer aktuellen Arbeit auch im Zellkern nachgewiesen und scheint dort eine Rolle als Regulator der Transkription zu besitzen. Desweiteren wurde bei mit *Salmonella* infizierten Darmepithel-Zellen ein Anstieg der Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub>-Konzentration auf das 10-15-fache beobachtet.<sup>85</sup> Dieses wird durch die Sekretion einer Phosphatase, die Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (**68**) zu Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) abbaut, durch *Salmonella* hervorgerufen.

Es wird vermutet, daß das verstärkt gebildete Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> als Antagonist zu PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> wirkt, eine verstärkte Sekretion von Mineralsalzen bewirkt und letztlich zu den Symptomen von Diarrhoe beiträgt

### 2.2.4 Darstellung von Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (61a) und Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (61b)

#### 2.2.4.1 Synthese

Ausgehend von **45** wurde eine vierstufige Synthesesequenz für die hier beschriebenen Inositoltetrakisphosphate **61a** und **61b** entwickelt (Schema 19).



**Schema 19:** Darstellung von Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**).

Die freien OH-Gruppen wurden zunächst mit einer geeigneten Schutzgruppe blockiert. Dazu erwiesen sich Acetate wegen ihrer einfachen Einführbarkeit und ausreichenden Säurestabilität als geeignet. Durch Umsetzung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid konnten beide Hydroxy-Gruppen quantitativ acetyliert werden.

Bei der *cis*-Dihydroxylierung von **58a** / **58b** kam es zu unerwarteten Problemen. Sowohl die Umsetzung nach SHING in einem Lösungsmittelsystem von Essigsäureethylester und Acetonitril, als auch in dem bei der direkten Dihydroxylierung von **45** bewährten System aus Dichlormethan und Acetonitril lieferten als Produkte grünliche Öle, die nach dünnschichtchromatographischer Untersuchung aus Produkt, Edukt und polaren

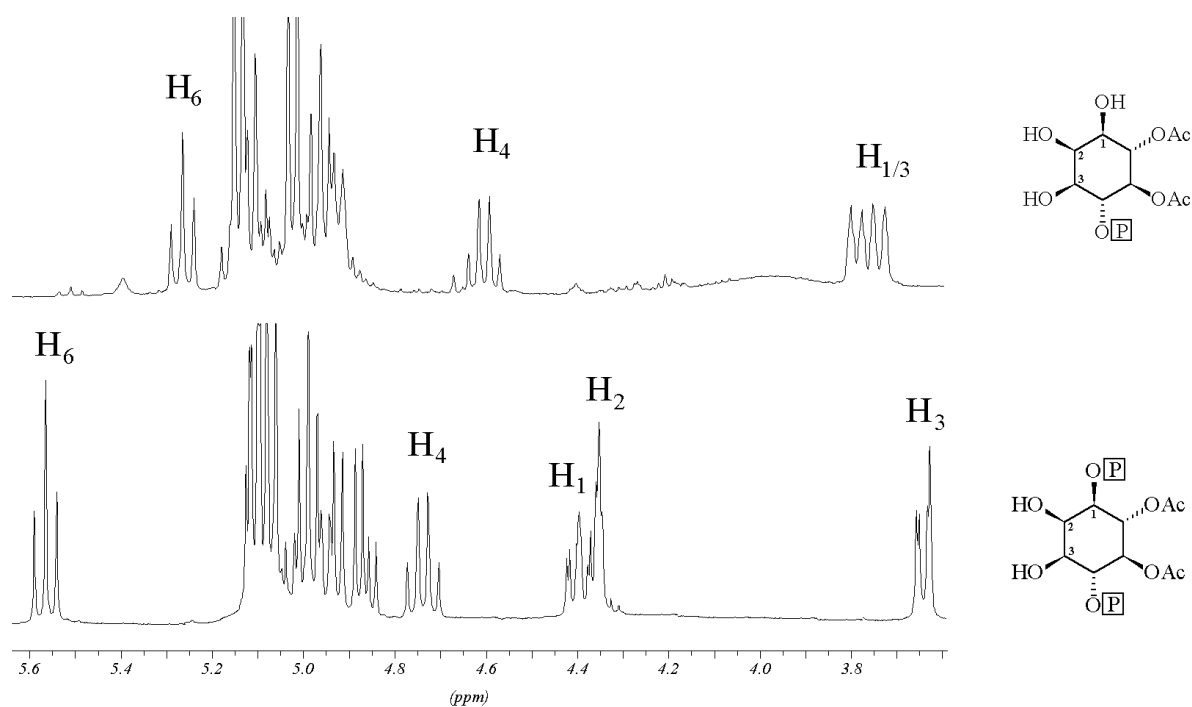
Zersetzungsprodukten bestanden. Längere Reaktionszeiten führten nur zur verstärkten Bildung von Zersetzungsprodukten.

Es ist anzunehmen, daß das zugegebene Ruthenium von den beiden Acetat-Gruppen chelatisiert wird und somit der Reaktion entzogen wird. Einen ähnlichen Effekt beobachtete SPRINGER<sup>86</sup> bei der Umsetzung von acetylierten Dehydropyridinen.

Durch Reaktionsführung in reinem Acetonitril, sowie durch Erhöhung der Katalysatormenge von sieben auf zehn mol-% gelang die Umsetzung problemlos. Wahrscheinlich verdrängt das Acetonitril chelatisierendes Acetylinositol aus dem Komplex, das Ruthenium steht somit der Reaktion wieder zur Verfügung. **59** konnte in 86 % Ausbeute erhalten werden.

Auch hier traten bei flash-chromatographischer Aufreinigung Probleme auf; trotz kurzer Verweildauer auf Kieselgel konnten bis zu 15 % einer dephosphorylierten Verbindung isoliert werden.

Dieses Produkt konnte NMR-spektroskopisch eindeutig als **62** identifiziert werden (Abbildung 24). Im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum erscheint nur noch ein Signal, so daß offensichtlich eine Dephosphorylierung stattgefunden hat. Der Vergleich der <sup>1</sup>H-NMR Spektren von Diacetylinositol **59a** mit dem als Nebenprodukt der Chromatographie erhaltenen Produkt **62** zeigt einige signifikante Unterschiede.



**Abbildung 24:** Charakterisierung des Abbauprodukts von **59a**.

So ist das Pseudotriplett des H-1 des Edukts im unteren Spektrum bei 4,4 ppm verschwunden, stattdessen findet man ein zweites Dublett bei 3,8 ppm. Die beiden Dubletts bei 3,7 und 3,8 ppm verändern sich bei einer Phosphor-Entkopplung nicht, so daß eine Umesterung des Phosphats von der 2- auf die 1-Position auszuschließen ist. Die Position des verbliebenen Phosphats kann eindeutig bestimmt werden, da das Quartett bei 4,75 ppm bei Phosphor-Entkopplung als Triplett erscheint. Dieses Quartett kann der C-4-Position zugeordnet werden.

Dabei ist interessant, daß offensichtlich eine selektive Dephosphorylierung in der der axialen Hydroxy-Funktion benachbarten Stellung stattgefunden hat. Möglicherweise kann eine Si-OH-Gruppe an dieser 2-Position anbinden und von dort einen Angriff auf die benachbarte Phosphat-Gruppe durchführen. Eine alternative Reaktionsmöglichkeit wäre die Silanol-katalysierte Umesterung der Phosphat-Gruppen durch Methanol aus dem Laufmittel-Gemisch; bei ähnlichen Verbindungen wurden in Essigsäureethylester-Cyclohexan-Gemischen aber ebenfalls Verluste beobachtet.

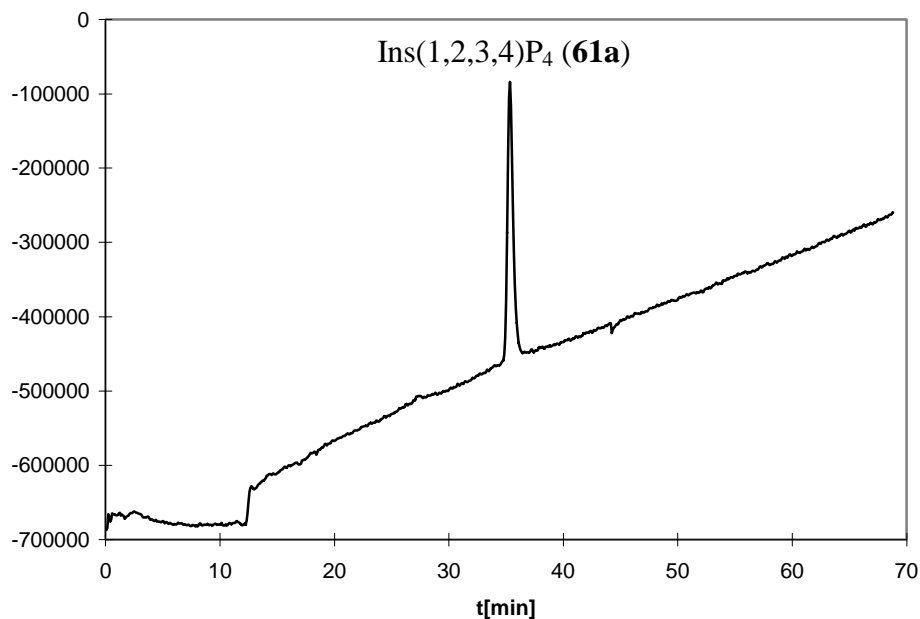
Die Phosphorylierung von **59** konnte nach der unter 2.2.3.2 beschriebenen Methodik mit DABP in 80 % Ausbeute erreicht werden. Die Abspaltung der Benzyl- und Xylylschutzgruppen erfolgte erneut hydrogenolytisch mit Palladium auf Kohle als Katalysator. Es stellte sich als zweckmäßig heraus, die Abspaltung der Acetatgruppen erst auf der Stufe der freigesetzten Phosphate durchzuführen; Abspaltungsversuchen auf der Stufe von **60**, z.B. unter Verwendung von Kaliumcarbonat in Methanol, führten zur Zersetzung des Moleküls durch Esterspaltung der Phosphat-Ester. Die freien Phosphate scheinen dagegen eine wesentlich größere Stabilität gegenüber basischen Bedingungen zu besitzen.

Versuche mit Kalium- und Natriumhydroxid-Lösungen zeigten, daß die Inositolphosphate auch bei pH 13,7 stabil waren. Eine basenkatalysierte Phosphatmigration wurde nicht beobachtet.

Durch Aufnahme der acetatgeschützten Inositolphosphate in 0,25 M Natriumhydroxid-Lösung (pH = 13,3) konnte eine vollständige Abspaltung der Acetatgruppen innerhalb von sechs Stunden beobachtet werden.

Eine anschließende Aufreinigung über HPLC lieferte beide Enantiomere in für biologische Studien ausreichender Reinheit (> 99 %)





**Abbildung 25:** HPLC-MDD-Analytik des dargestellten Inositoltrakisphosphats **61a**  
(saurer System)

Auf diese Weise konnte die erste Totalsynthese des Enantiomerenpaares Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**) und Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**) durchgeführt werden. Beide auf diesem Weg synthetisierten Verbindungen wurden kürzlich von der Firma ALEXIS in deren Vertriebsprogramm aufgenommen.

#### 2.2.4.2 Biologische Bedeutung

Sowohl Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub><sup>87</sup> (**61a**) als auch Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub><sup>88</sup> (**61b**) sind als Abbauprodukte von Phytinsäure durch Phytasen identifiziert worden. Entweder **61a** oder **61b** (die Absolutkonfiguration ist nicht bekannt) wurde in Pancreatoma-Zellen von Ratten nachgewiesen.<sup>89</sup> Im Zuge von Untersuchungen des p42<sup>IP4</sup>-Rezeptors durch VOGEL und REISER<sup>90</sup> konnten Hinweise erhalten werden, daß **61a** oder **61b** auch im Rattenhirn vorkommt.

Die Lage der Phosphatgruppen zueinander begünstigt eine Chelatisierung von Kationen. Physiologisch könnten sie deshalb beispielsweise als Eisen-Carrier<sup>91</sup> fungieren.

Zudem wurde von PHILLIPPY<sup>92</sup> gefunden, daß bei Zugabe von Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**) die Aufnahme von Calcium in Knochen um 17 % beschleunigt wurde. Dazu wurden Ratten

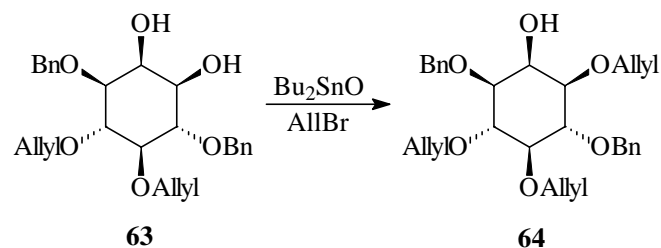
Testlösungen, die  $^{45}\text{Ca}$ -Ascorbat und  $\text{Ins}(1,2,3,6)\text{P}_4$  enthielten, oral verabreicht und die Calcium-45-Anreicherung im Knochen im Vergleich zu einer Vergleichsgruppe gemessen. Interessant ist dabei, daß Phytinsäure-Zugabe die Calcium-Absorption verringert; offensichtlich ist die Chelatisierung hier zu stark, so daß keine Abgabe des Calciums im Knochen erfolgt.

### 2.2.5 Versuche zur Schützung der äquatorialen OH-Gruppe in **59**

Durch Schützung der äquatorialen Hydroxy-Gruppe in **59**, gefolgt von anschließender Phosphorylierung und Freisetzung der Verbindung sollte eine Darstellung von  $\text{Ins}(1,2,4)\text{P}_3$  möglich sein. Für diese Verbindung wurde kürzlich eine mögliche physiologische Funktion als Regulator der  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$ -1-Kinase gefunden<sup>93</sup> (vergleiche auch Kapitel 2.6.2.2.3).

Aus diesem Grund schien eine Synthese dieser Verbindung interessant.

Um die äquatoriale OH-Gruppe von *cis*-Diolen in Inositolen zu schützen, sind mehrere Verfahren bekannt. Ein an Dibenzylinositolen erfolgreich anwendbares Verfahren überführt das Diol in ein Stannylidenacetal, das anschließend mit Allylbromid (oder z. B. Benzylbromid) geöffnet wird. Der Angriff auf das cyclische Acetal erfolgt dabei bevorzugt von der besser zugänglichen äquatorialen Position aus. Nach Abspaltung des Stannans erhält man das in 1-Position allylierte Produkt (Schema 20).



**Schema 20:** Allylierung der 1-Position (aus einer  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ -Synthese nach HANESSIAN.)<sup>94</sup>

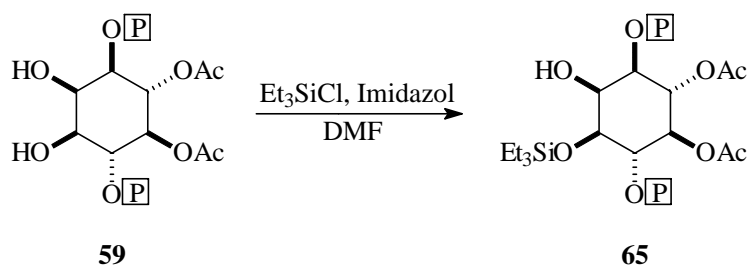
Versuche zur Stannylierung von **59** führten jedoch lediglich zur Zersetzung des Produkts, auch Modifikation der Reaktionsbedingungen führten nicht zum Erfolg. Offenbar sind die Phosphatester unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil.

Alternativ gibt es in der Literatur zahlreiche Beispiele für die selektive Silylierung der reaktiveren äquatorialen Hydroxy-Gruppe in Diolen. Da die eingebrachte Silylgruppe auch

unter den sauren Bedingungen einer anschließenden Phosphorylierung stabil sein muß, wurden zunächst einige Vorversuche gemacht.

Dabei wurde Cyclohexanol als Testsystem mit verschiedenen Reagenzien wie *tert*-Butyldimethylsilylchlorid oder Triethylsilylchlorid in Gegenwart von Imidazol als Base umgesetzt. Die so erhaltenen silylierten Alkohole wurden über Nacht in einer Suspension von Tetrazol in Dichlormethan gerührt und anschließend NMR-spektroskopisch und dünnschichtchromatographisch auf Hydrolyseprodukte untersucht. Beide Silylgruppen erwiesen sich unter diesen Bedingungen als stabil.

Bei den Silylierungsreagenzien wurde festgestellt, daß die Wahl des Lösungsmittels bei der Silylierung einen entscheidenden Einfluß auf deren erfolgreichen Ablauf hatte. Während in Dichlormethan auch bei Variation der Hilfsbase keine oder nur unvollständige bzw. unselektive Silylierung beobachtet wurde, konnte unter Verwendung von Dimethylformamid als Lösungsmittel eine schnelle und unproblematische Silylierung erreicht werden (Schema 21).



**Schema 21:** Silylierung von **59**.

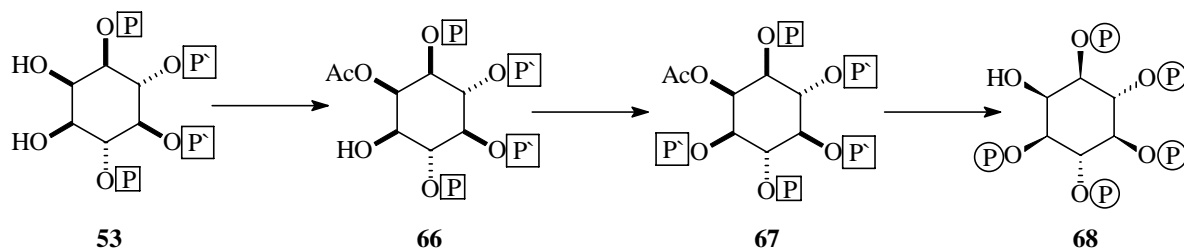
Diese Route wurde aber nicht weiter verfolgt, da sowohl Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (**168a**), als auch das Enantiomer Ins(2,3,6)P<sub>3</sub> (**168b**) im Verlauf dieser Dissertation enzymatisch dargestellt wurden (vgl. Kapitel 2.6.2.2 und 2.6.2.1.2). Eine klassisch-chemische Darstellung sollte aber auf dem hier aufgezeigten Weg ebenfalls möglich sein.

## 2.2.6 Darstellung von Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (**68**)

### 2.2.6.1 Synthese

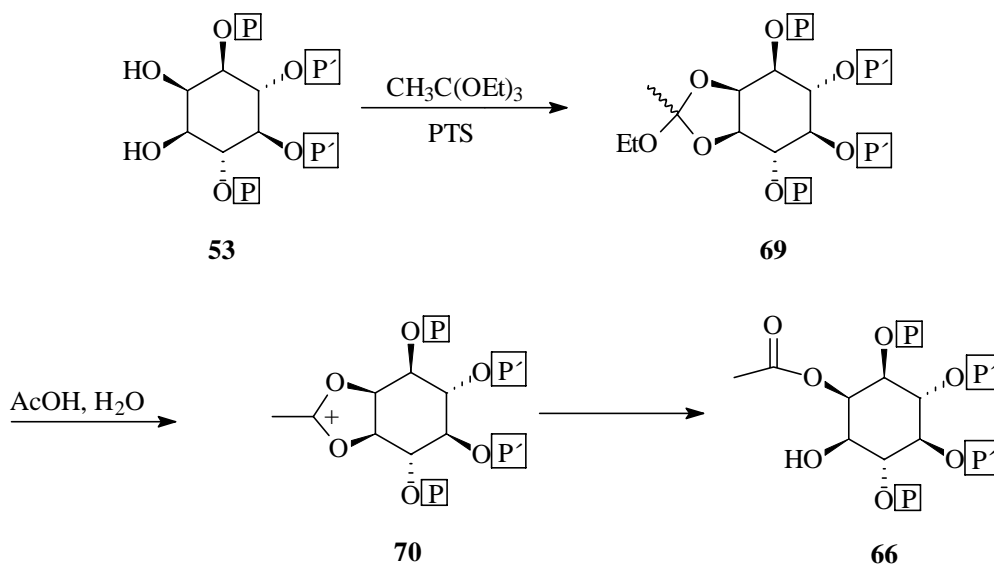
Bei Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> handelt es sich um eine *meso*-Verbindung. Aus diesem Grund kann für diese Synthese von racemischem Startmaterial ausgegangen werden. Geeignet hierfür ist das Tetraphospho-Inositol **53**, dessen Synthese bereits in 2.2.3.1 beschrieben wurde. Um eine

ausschließliche Phosphorylierung der 1-Position zu gewährleisten, muß die 2-Position zuvor selektiv geschützt werden (Schema 22).



**Schema 22:** Darstellung von Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (**68**).

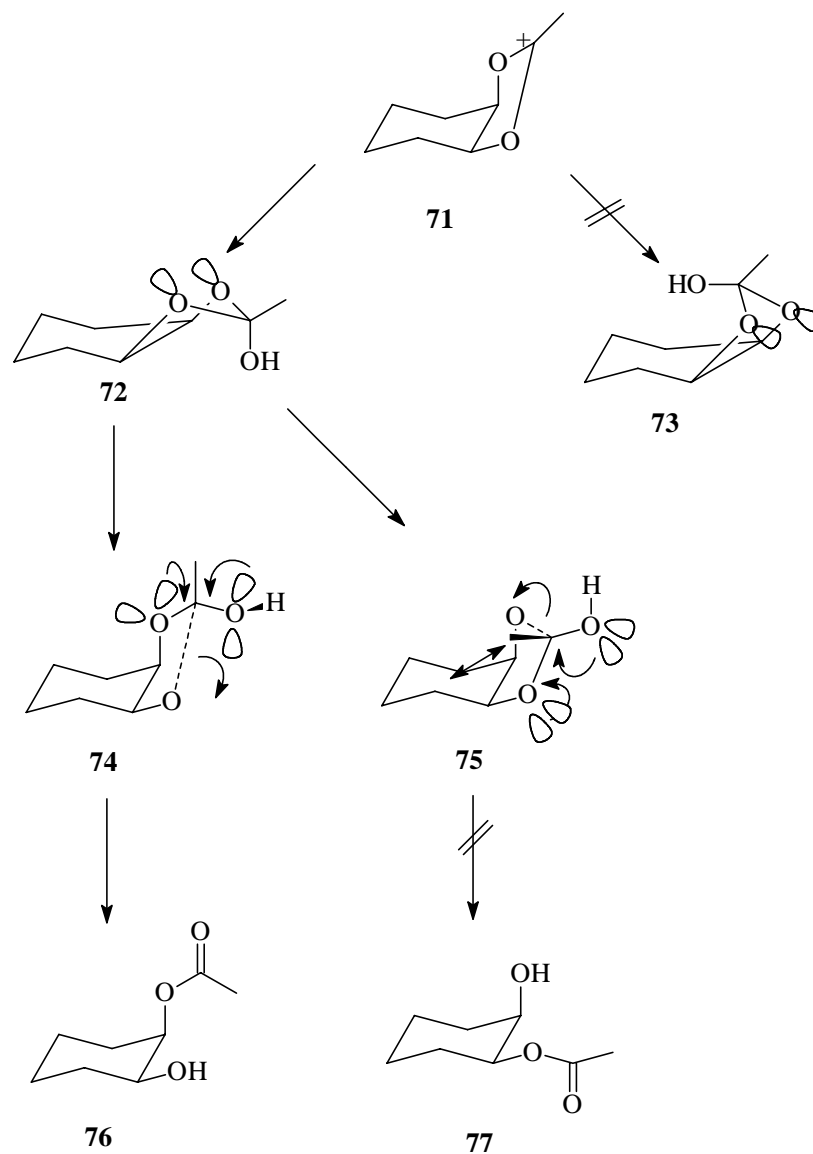
Eine geeignete Methode zur selektiven Schützung von axial-ständigen Hydroxy-Gruppen in *cis*-Diolen bietet die sogenannte Orthoester-Methode. Dabei wird das Diol zunächst durch Umesterung in ein cyclisches Acetal überführt, das als Diastereomerenmisch vorliegt. Durch saure Hydrolyse wird dieses Acetal gespalten. Dabei bildet sich zunächst ein planares Dioxolenium-Ion, das so geöffnet wird, daß auf der axialen Hydroxy-Gruppe eine Acetat-Funktion verbleibt (Schema 23).



**Schema 23:** Selektive Schützung axialer Hydroxy-Gruppen durch die Orthoester-Methode.

Eine gute Rationalisierungsmöglichkeit dieser Selektivität bietet ein Ansatz von DESLONGCHAMPS:<sup>95</sup>

Dabei werden stereoelektronische Gründe für diesen Effekt verantwortlich gemacht. Der Angriff des Wassers auf das planare Dioxoleniumion **71** erfolgt bevorzugt von der weniger gehinderten Seite und führt zu **72** (Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Stereoelektronische Effekte bei der Orthoester-Methode.

Zur Bindungsspaltung des Fünfringacetals muß Elektronendichte von nicht-bindenden Sauerstoff-Orbitalen auf *anti*-bindende Orbitale der C-O-Bindung übertragen werden. Auf diese Weise findet eine Schwächung der Bindung statt, die zu ihrer Spaltung führt. Dazu müssen Orbital und Bindung koplanar vorliegen. Da die freie Hydroxy-Gruppe drehbar ist, werden beide benachbarten C-O-Bindungen durch deren nichtbindende Orbitale

gleichermaßen geschwächt. Pro Konformer liegt jedoch nur ein Ringsauerstoff mit den Orbitalen der Hydroxy-Gruppe in einer Ebene, diese Wechselwirkung ist aber für den Bindungsbruch verantwortlich.

**72** kann zwei verschiedene spannungsarme Konformationen einnehmen, die zu einer derartigen Spaltung geeignet sind (**74** und **75**). Dabei ist **75** aber aufgrund sterischer Wechselwirkungen der Methylgruppe mit Ringprotonen energetisch benachteiligt, so daß bevorzugt **74** abreagiert. Das resultierende Produkt ist **76**, bei dem die Acetatgruppe auf der axialen Hydroxy-Gruppe verbleibt.

Eine erfolgreiche Umsetzung kann einfach an der Tieffeldverschiebung des C-2-Protons erkannt werden. Durch die Acetylierung erscheint das Signal um 1,4 ppm zu tieferem Feld verschoben und liegt damit in einem deutlich höheren ppm-Bereich als die übrigen Protonen.

Da die verbliebene 1-Position sterisch abgeschirmt ist, werden für die Phosphorylierung zwei Äquivalente DABP und vier Äquivalente Tetrazol eingesetzt.

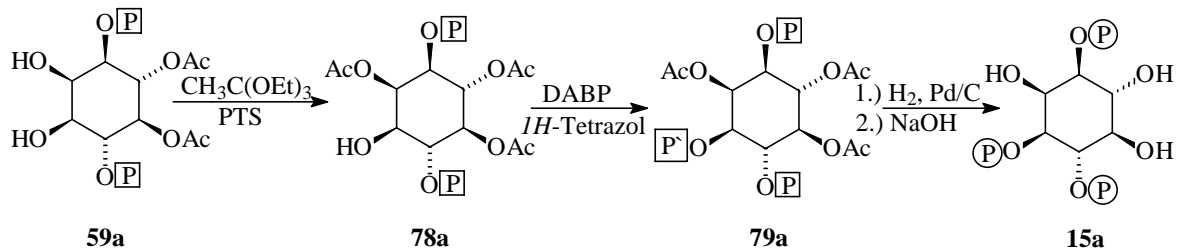
Die Umsetzung verläuft problemlos, die Reaktion wird aber zur Komplettierung des Umsatzes erst nach 12 h abgebrochen. Das Produkt kann im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum durch die Veränderung des Signals des C-1-Protons identifiziert werden; das vormals vorliegende Dublett von Dubletts erscheint nun als Triplet, zudem findet eine Tieffeldverschiebung durch die Phosphorylierung um 0,8 ppm statt.

Nach Freisetzung der Verbindung durch Hydrogenolyse und basischer Abspaltung der Acetat-Gruppe erhält man die *meso*-Verbindung **68**.

## 2.2.7 Darstellung von *Ins*(1,3,4) $\text{P}_3$ (**15a**)

### 2.2.7.1 Synthese

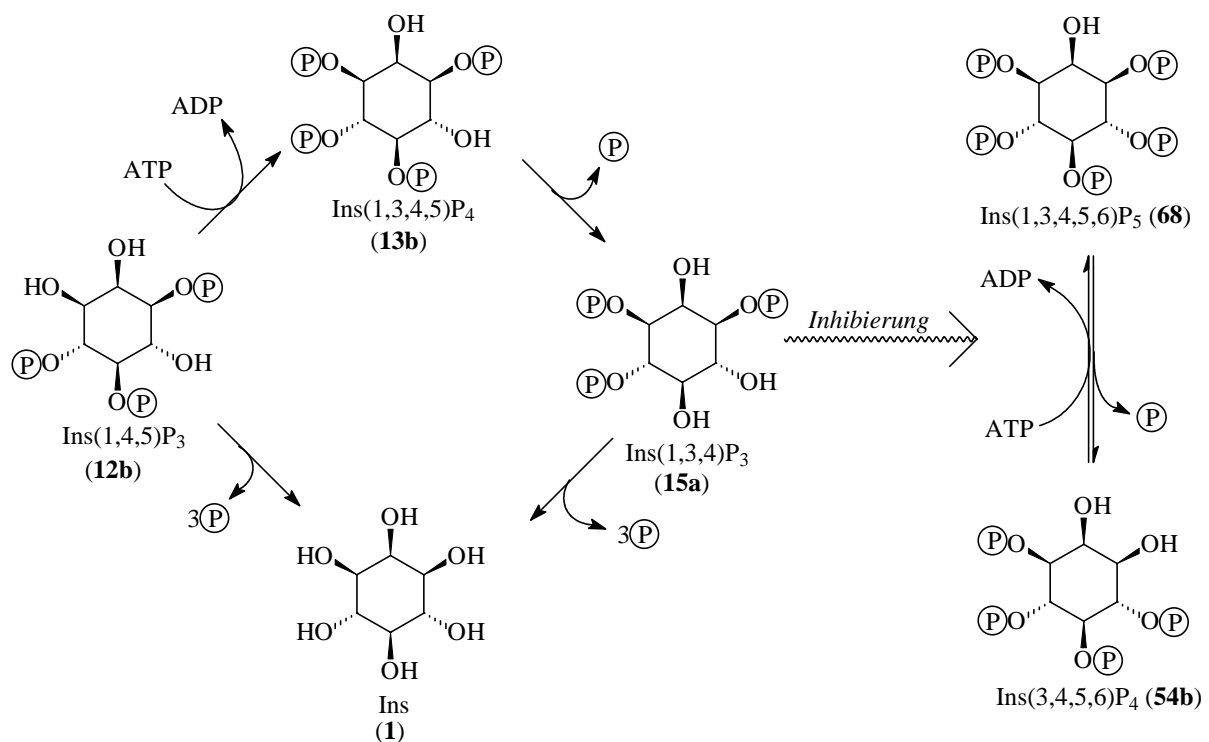
Auf ähnliche Weise konnte auch ein Zugang zu *Ins*(1,3,4) $\text{P}_3$  (**15a**) entwickelt werden. Dazu wurden die beiden freien Hydroxy-Gruppen des diacetylierten Inositols **59a**, das bereits zur Synthese von *Ins*(1,2,3,4) $\text{P}_4$  eingesetzt wurde, mittels der Orthoester-Methode differenziert. Anschließende Phosphorylierung, gefolgt von Hydrogenolyse und Abspaltung der Acetatgruppen in 0,25 M NaOH lieferte **15a** (Schema 24).



**Schema 24:** Darstellung von Ins(1,3,4)P<sub>3</sub> (15a).

### 2.2.7.2 Biologische Bedeutung

Für Ins(1,3,4)P<sub>3</sub> wird eine Funktion als Regulator der Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub>-Konzentration postuliert (vgl. Kapitel 2.2.3.4). Von SHEARS<sup>93</sup> et al. wurde gefunden, daß sich bei einer Erhöhung der innerzellulären Ins(1,3,4)P<sub>3</sub>-Konzentration die Konzentration an Ins(3,4,5,6)P<sub>3</sub> verdoppelte. Dies ist vermutlich auf eine Inhibierung der 1-Kinase, die die Phosphorylierung von Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> zu Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> katalysiert, durch Ins(1,3,4)P<sub>4</sub> zurückzuführen.



**Schema 25:** Vorgeschlagener Mechanismus für die Regulation der Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub>-Konzentration nach SHEARS.

### 2.3 Synthesen ausgehend von Dibenzylkonduritol 80

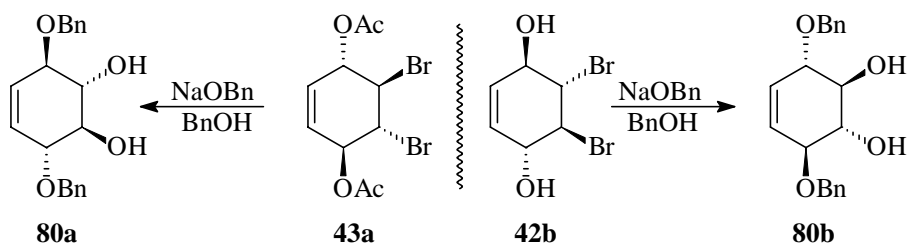
Einen anderen interessanten Synthesebaustein zur Darstellung von *myo*-Inositolphosphaten stellt Dibenzylkonduritol-B dar. Der Vorteil gegenüber anderen Konduritol-B-Derivaten

besteht in der Schützung der 1- und 4-Position mit Benzylgruppen. Diese Schutzgruppe ist unter den meisten Reaktionsbedingungen stabil, so daß vielfältige Derivatisierungen dieses Bausteins vorgenommen werden können. Ein weiterer Vorteil ist die Abspaltbarkeit unter pH-neutralen Bedingungen durch Behandeln mit Palladium auf Kohle und Wasserstoff, die simultan zur Abspaltung der Schutzgruppen von eventuell eingeführten Phosphat-Gruppen erfolgen kann. Da geschützte Phosphate unter sauren oder alkalischen Bedingungen hydrolyselabil sind, stellen die Abspaltungsbedingungen eine gute Möglichkeit zur Freisetzung von Inositolphosphaten dar.

Die Vorzüge dieses Bausteins konnten bereits von RITTER<sup>53</sup> demonstriert werden; aufbauend auf diesen Arbeiten konnten einige Inositolphosphate dargestellt werden.

### 2.3.1 Darstellung von Dibenzyl-Konduritol-B (80)

Enantiomerenreines Ausgangsmaterial konnte einfach durch Umsetzen des aus der Racematspaltung erhaltenen **42b** bzw. **43a** mit Natriumbenzylat in Benzylalkohol dargestellt werden (Schema 26)



**Schema 26:** Darstellung enantiomerenreiner Dibenzylkonduritole **80a** und **80b**.

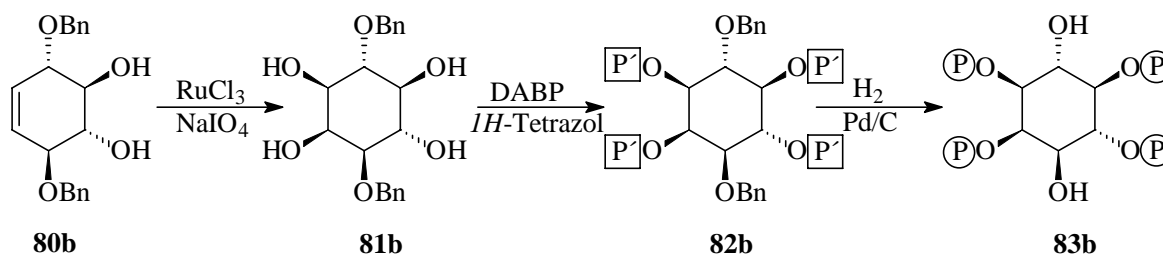
Dabei werden im Falle des Diacetats **43a** zunächst die Acetat-Gruppen durch Benzylat abgespalten. Das in beiden Fällen erzeugte Alkoholat bildet durch intramolekulare nucleophile Substitution des  $\alpha$ -Broms ein Allylepoxid, das anschließend von Benzylat in Allylposition geöffnet wird. Nach erneuter Epoxidbildung und -öffnung erhält man das *all-trans*-konfigurierte Dibenzylkonduritol-B in 44 % Ausbeute in beiden enantiomeren Formen.



### 2.3.2 Darstellung von *Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub>* (**83b**)

#### 2.3.2.1 Chemische Darstellung

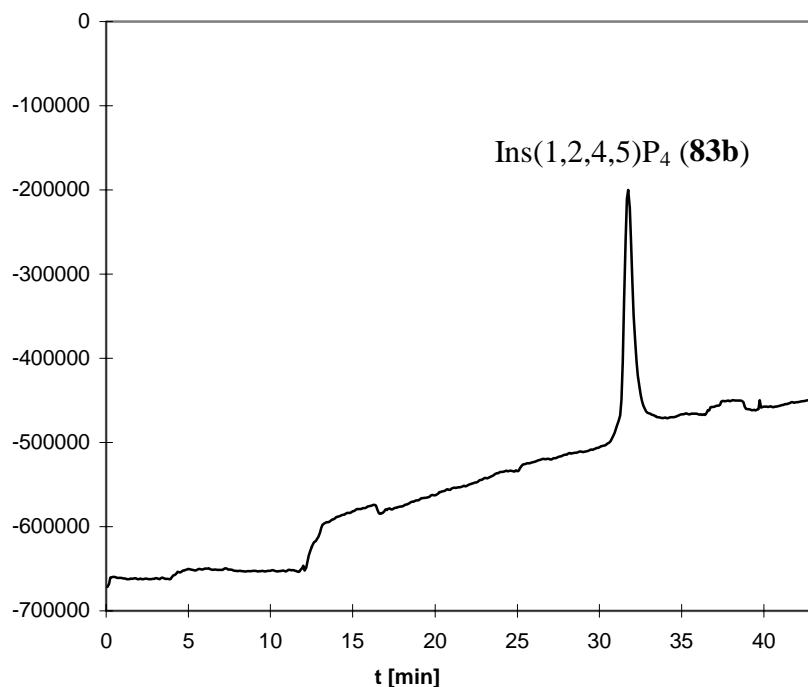
Ausgehend von **80b** konnte die bereits von RITTER<sup>53</sup> durchgeführte Synthese von *Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub>* optimiert werden. **83b** wurde benötigt, um eine chemoenzymatische Dephosphorylierung zu *Ins(1,2,4)P<sub>3</sub>* (**168a**) durchzuführen (siehe 2.6.2.2). **83b** ist dabei aus **80b** in nur drei Reaktionsschritten zugänglich (Schema 27).



**Schema 27:** Darstellung von *Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub>* (**83b**) aus Dibenzyloxyconduritol **80b**.

Die von RITTER beobachteten Probleme bei der *cis*-Dihydroxylierung mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat konnten durch Reaktionsführung in reinem Acetonitril beseitigt werden. Auch bei Ansätzen im 6 mmol-Maßstab konnte als einziges Produkt Tetrol **81b** in 82 % Ausbeute als farbloser Feststoff isoliert werden. Der Schmelzpunkt des Rohproduktes von 173 °C korrelierte mit den Literaturdaten,<sup>96</sup> so daß für weitere Umsetzungen das Rohprodukt eingesetzt werden konnte. Eine Umkristallisation zu analytischen Zwecken war jedoch unproblematisch möglich.

Die Phosphorylierung zum geschützten Tetrakisphosphat wurde mit 1,3 Äquivalenten Phosphorylierungsmittel und 1,5 Äquivalenten *1H*-Tetrazol pro OH-Gruppe durchgeführt, das Rohprodukt konnte durch Flash-Chromatographie aufgereinigt werden. Die anschließende Freisetzung durch hydrogenolytische Entfernung der Benzyl- und Xylyl-Gruppen führte zu **83b**, die Ausbeute über vier Stufen betrug 66 %.



**Abbildung 27:** HPLC-Chromatogramm von Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub> (**83b**) (saures System).

Durch Vergleich mit Referenzsubstanzen konnten Struktur und Reinheit von **83b** überprüft werden. HPLC-Messungen ergaben eine Isomerenreinheit von  $\geq 99\%$ , was einen Einsatz in einer enzymatischen Dephosphorylierungsreaktion ermöglicht. Bei enzymatischen Reaktionen ist das Vorliegen von Isomeren nach Möglichkeit auszuschließen, da dies zu störenden Nebenreaktionen und schlecht trennbaren Produktgemischen führen kann.

Diese Route, die den selektiven Zugang zu beiden Enantiomeren **83a** und **83b** ermöglicht, ist den zuvor von KOZIKOWSKI, POTTER und CHUNG veröffentlichten Routen überlegen, da sie in nur drei Stufen (ausgehend von enantiomerenreinem Konduritol **80a** bzw. **80b**) in 66 % Gesamtausbeute zu der gewünschten Verbindung führt (ausgehend von *p*-Benzochinon in immerhin noch 7,2 %). Da die Stufen bis zu den enantiomerenreinen Konduritolen **80** problemlos im 100g-Maßstab durchgeführt werden können, bietet diese Route einen idealen Zugang auch zu größeren Inositolphosphat-Mengen. Sowohl POTTER, als auch CHUNG führen Diastereomerentrennungen unter Zuhilfenahme von (erst zu synthetisierenden) Mandelsäure-Derivaten bzw. Camphamaten durch. Die von POTTER beschriebene Route ist zudem zwar auf racemischem Wege sehr kurz, benötigt aber für die enantiomerenreine Darstellung zwölf Stufen (ausgehend von *myo*-Inositol) und liefert **83b** in 3 % Gesamtausbeute.

CHUNG hingegen räumt ein, daß sein erhaltenes Produkt mit 1,5 % des anderen Enantiomers **83a** kontaminiert ist.

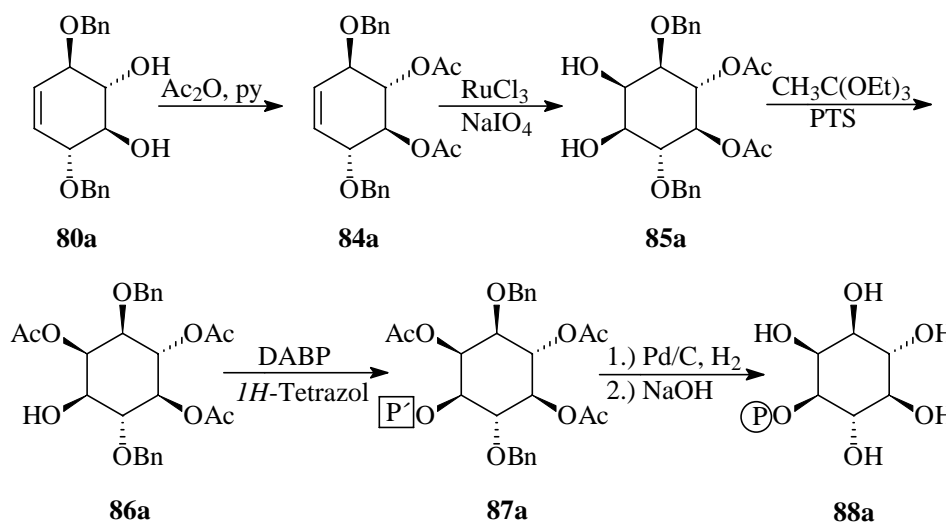
### 2.3.2.2 Biologische Bedeutung

Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub> (**83b**) ist kein natürlich vorkommendes Inositolphosphat. **83b** zeigt aber eine zu Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) vergleichbare Bindungsaffinität zu Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Bindeprotein, das aus der Nebennierenrinde von Rindern isoliert wurde (IC<sub>50</sub> (**83b**) = 13.4 nM, IC<sub>50</sub> (**12b**) = 15.3 nM).<sup>97</sup> Außerdem wurde festgestellt, daß racemisches **83** die Dephosphorylierung von [<sup>3</sup>H]-Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> durch eine 5-Phosphatase aus menschlichen Erythrocyten kompetitiv inhibiert (K<sub>i</sub> = 15,9 µM).<sup>96</sup>

### 2.3.3 Darstellung von Ins(3)P (**88a**)

#### 2.3.3.1 Synthese

Die ebenfalls von RITTER durchgeführte Synthese des racemischen Inositol-3-Monophosphats (**88**) konnte im Rahmen dieser Arbeit enantiomerenrein durchgeführt werden (Schema 28).



**Schema 28:** Darstellung von Ins(3)P (**88a**).

Das aus Acetylierung von **80a** zugängliche Diacetat **84a** ist gut durch Umkristallisation aus Essigsäureethylester aufzureinigen.<sup>65</sup> Anschließende *cis*-Dihydroxylierung unter Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, gefolgt von einer Differenzierung der Hydroxy-Gruppen

mit Triethylorthoacetat lieferten **86a** in 74 % Ausbeute über beide Stufen. Die Reaktionen verliefen unter den von PODESCHWA beschriebenen Bedingungen glatt.

Anschließende Phosphorylierung der freien Hydroxy-Funktion mit DABP lieferte **87a**, das durch Flash-Chromatographie (Cyclohexan:Essigsäureethylester 1:1) aufgereinigt werden konnte. In diesem Lösungsmittelgemisch stellt die Abtrennung des Phosphorylierungsmittels kein Problem dar. **87a** wurde in 61 % Ausbeute nach Chromatographie isoliert, bei polarerer, methanolhaltigen Laufmitteln (vgl. Kapitel 2.2.4.1) kann es hingegen zu Problemen kommen. In diesem Fall liegt nur eine polare Phosphatgruppe, hingegen zwei lipophile Benzylgruppen im Molekül vor, so daß hier eine hinreichend große Wanderungstendenz in (verhältnismäßig) unpolaren organischen Solventien gegeben ist. Bei Verbindungen ausgehend von Diphosphokonduritol **45** ist die Polarität drastisch erhöht, so daß im allgemeinen auf Dichlormethan:Methanol-Gemische zur Chromatographie zurückgegriffen werden muß.

Abspaltung der Schutzgruppen durch Hydrogenolyse, gefolgt von Behandeln in wäßriger NaOH-Lösung lieferte das freie Produkt **88a**.

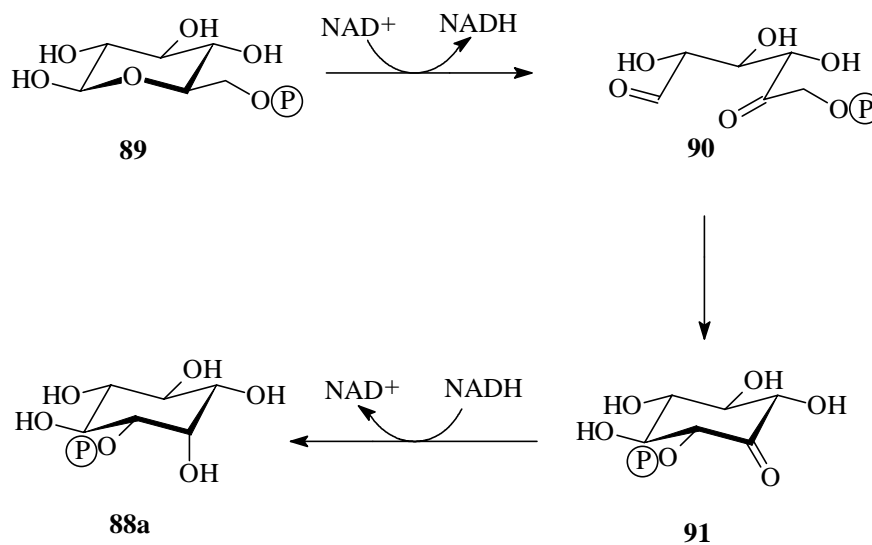
**88a** wurde als Standard benötigt, um ein auf Fluoreszenz basierendes neues Detektionsverfahren von niedrig phosphorylierten Inositolphosphaten zu etablieren. Diese Methodik basiert auf der sehr empfindlichen Fluoreszenz von Morin-Aluminium-Komplexen.<sup>98</sup>

Im Verlauf der Untersuchung dieses Verfahrens stellte es sich aber als nicht für eine Online-Detektion geeignet heraus. Die Austauschreaktion verlief bei Raumtemperatur zu langsam und hohe Temperaturen quenchten die Fluoreszenz. Zudem war die Schwankung der Grundlinie sehr stark und kleinste Verunreinigung, beispielsweise im verwendeten Wasser oder Natriumnitrit führten zu zahlreichen, nicht vorhersagbaren „Geisterpeaks“. Deshalb wurde dieses Vorhaben aufgegeben.

Desweiteren konnte **88a** FISCHBACH (Biochemie) als Standard zur Verfügung gestellt werden (vgl. Abschnitt 2.3.4).

#### **2.3.4 Biologische Bedeutung**

Ins(3)P **88a** kommt natürlich als Produkt der *Inositol-Synthase* vor, die die Umwandlung von Glucose-6-Phosphat zu Inositol-3-Phosphat katalysiert (Schema 29).



**Schema 29:** Biosynthese von *myo*-Inositol.

Dieses Enzym wird in beträchtlichen Mengen in menschlichem Hirn nachgewiesen. Das läßt darauf schließen, daß im Blut vorhandenes Inositol die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann und somit biosynthetisch dargestellt werden muß. Da Glucose-6-Phosphat als Intermediat der Glycolyse in ausreichender Menge zur Verfügung steht, ist es ein geeignetes Ausgangsprodukt.

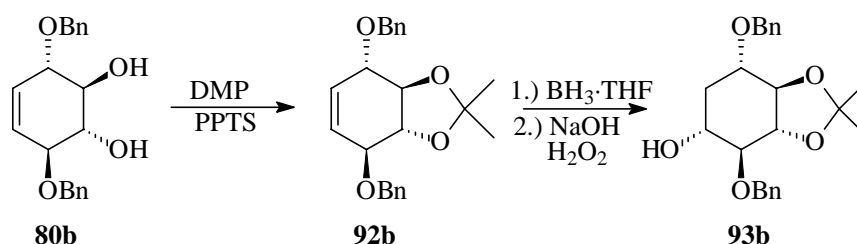
Der Verlauf der Reaktion ist dem einer Ferrier-Umlagerung<sup>99</sup> ähnlich. Nach oxidativer Spaltung des Acetals findet eine regioselective Aldol-Reaktion statt. Abschließend wird die verbliebene Ketofunktion stereospezifisch reduziert.

FISCHBACH<sup>100</sup> versucht, mit **88a** eine Produkthemmung der Inositolsynthese herbeizuführen. Zudem kann durch Umsetzung von bei der Inositolsynthese entstandenem **88a** mit der unspezifischen Monophosphatase und anschließende Bestimmung der Phosphatmenge ein System zur Bestimmung der Synthase-Aktivität entwickelt werden. Zur Etablierung dieser Methodik wird ebenfalls **88a** als Testsubstrat benötigt, das auf diese Weise zur Verfügung gestellt werden konnte.

### 2.3.5 Synthese von 2-Desoxy-Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (96b)

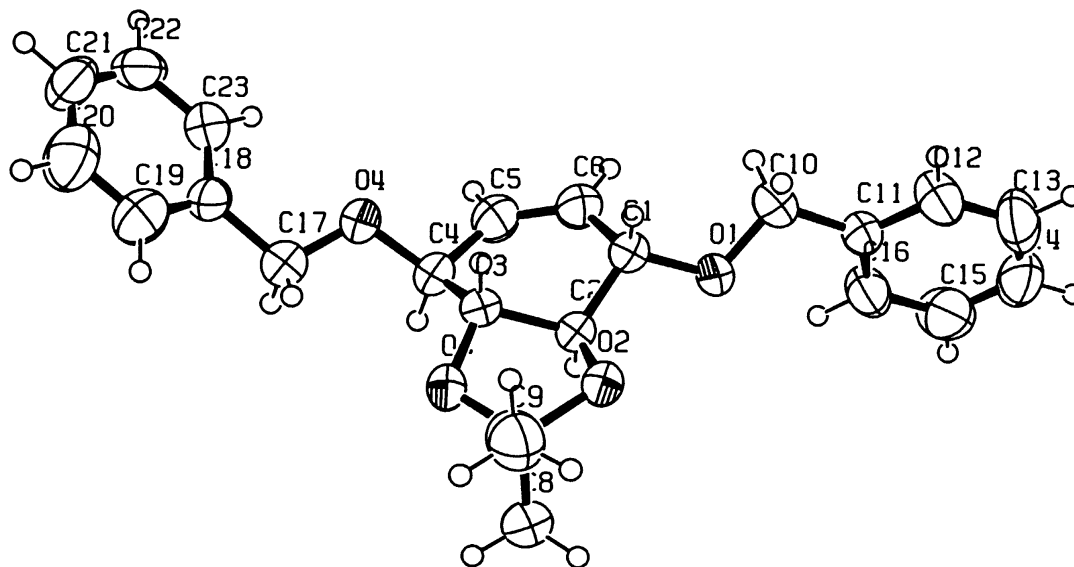
#### 2.3.5.1 Synthese

2-Desoxy-*myo*-inositol-Derivate können durch Hydroborierung von Konduritol-B-Derivaten zugänglich gemacht werden. Dazu werden die Hydroxy-Gruppen zunächst mit einer cyclischen Schutzgruppe versehen, anschließend wird die Doppelbindung hydrobriert. Die durchgeführte Synthese ist in Schema 30 dargestellt.

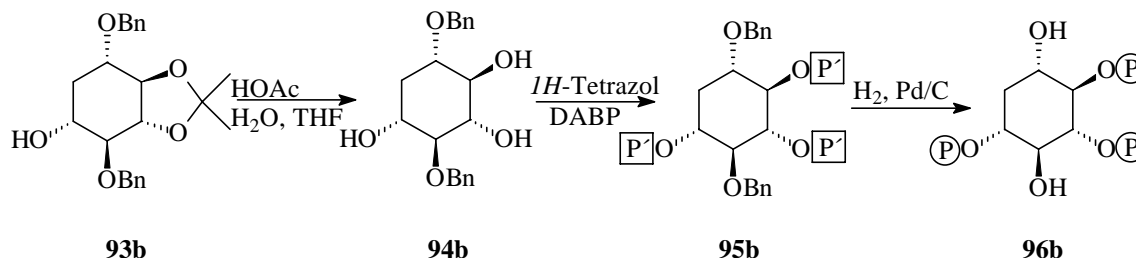


**Schema 30:** Selektive Hydroborierung von Konduritol-B-Derivaten

Durch Schützung der *trans*-Dioleinheit mit 2,2-Dimethoxypropan unter Katalyse von Pyridinium-*p*-Toluolsulfonat kann nach einer Vorschrift von BIEN **80** quantitativ in das isopropylidengeschützte Derivat **92** überführt werden. Dieses konnte kristallin erhalten und röntgenspektroskopisch vermessen werden, so daß eine Bestimmung der Bindungswinkel und somit eine Abschätzung des Verzerrungsgrades durch Anbringung der cyclischen Schutzgruppe möglich wird. Die so getroffenen Aussagen beziehen sich zwar auf den Festzustand und können von den Verhältnissen in Lösung zum Teil beträchtlich abweichen, ermöglichen aber doch einige interessante Aussagen über die Molekülgeometrie 2,3-isopropylidengeschützter Cyclohexen-Derivate. Die war insbesondere in Bezug auf die spätere Untersuchung des Azidokonduritols **127** von Interesse. Beispielsweise stimmt der auf diese Weise erhaltenen Winkel (C1-C2-O2) von 116,1° bis auf 0,2° mit dem für die Azidverbindung **127** berechneten entsprechenden Winkel (115,9°) überein.



aufkonzentrierte Salzsäure kommen, aus diesem Grund wurden die oben beschriebenen milderen Bedingungen gewählt. Man erhält **94b** quantitativ als kristallinen Feststoff.



**Schema 31:** Darstellung von 2-*desoxy*-Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**96b**).

Nach Phosphorylierung und anschließender Freisetzung konnte **96b** in guter Ausbeute erhalten werden. Dies ist die erste Synthese von enantiomerenreinem 2-Desoxy-Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**96a**), bislang ist nur eine racemische Synthese von OZAKI<sup>101</sup> bekannt

### 2.3.5.2 Biologische Bedeutung

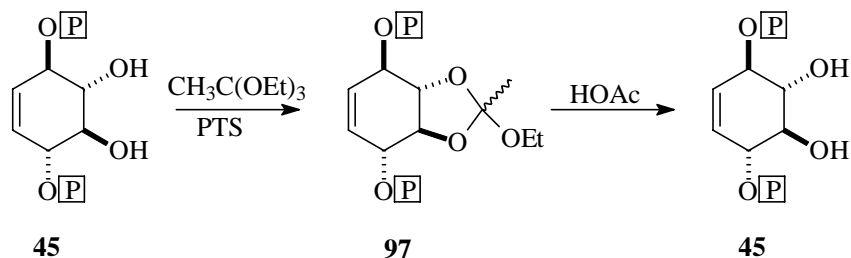
Die 2-Position ist für die Substraterkennung durch die 5-Phosphatase nicht wesentlich. Interessanterweise weist **96b** sogar eine höhere Affinität zur 5-Phosphatase auf als deren eigentliches Substrat Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**).<sup>102</sup> Die Verbindung wird ebenfalls von InsP<sub>3</sub>-Rezeptoren erkannt und von der 3-Kinase phosphoryliert. Die erzielten Resultate wurden allerdings alle mit racemischem **96** erzielt.

## 2.3.6 Darstellung von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**)

### 2.3.6.1 Synthese

Wie oben geschildert verläuft die Spaltung cyclischer Orthoester über ein planares Dioxolenium-Ion. Es ist zu erwarten, daß dieses bei *trans*-Diolen extrem instabil sein sollte. Zu Testzwecken wurde Konduritrol **45** mit Triethylorthoacetat und katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure umgesetzt (Schema 32). Nach einer Reaktionszeit von zwei Tagen konnte über NMR die vollständige Umsetzung zu dem cyclischen Acetal **97**, erkennbar am Auftreten von quartären Kohlenstoffsignalen bei 114 ppm, nachgewiesen werden.

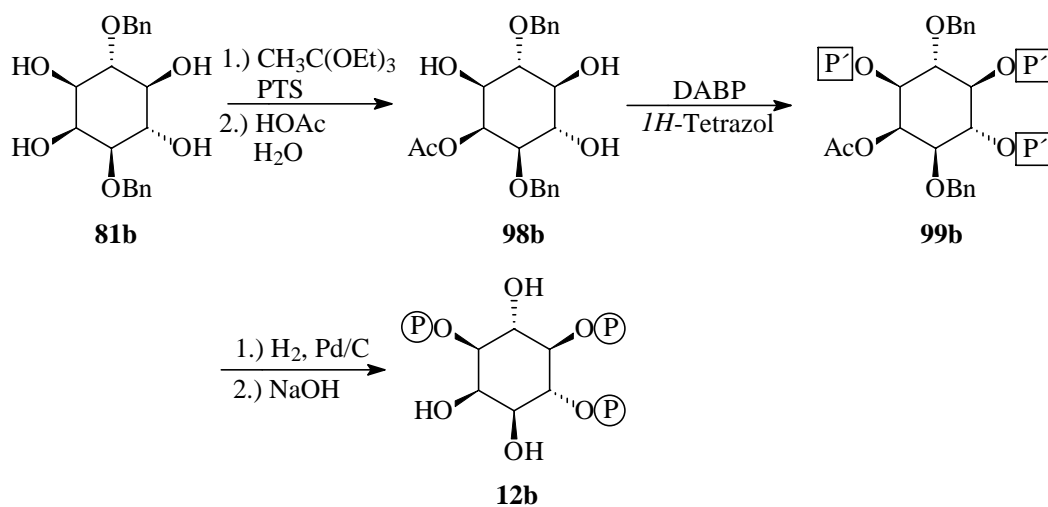




**Schema 32:** Umsetzung von **45** mit Triethylorthoacetat.

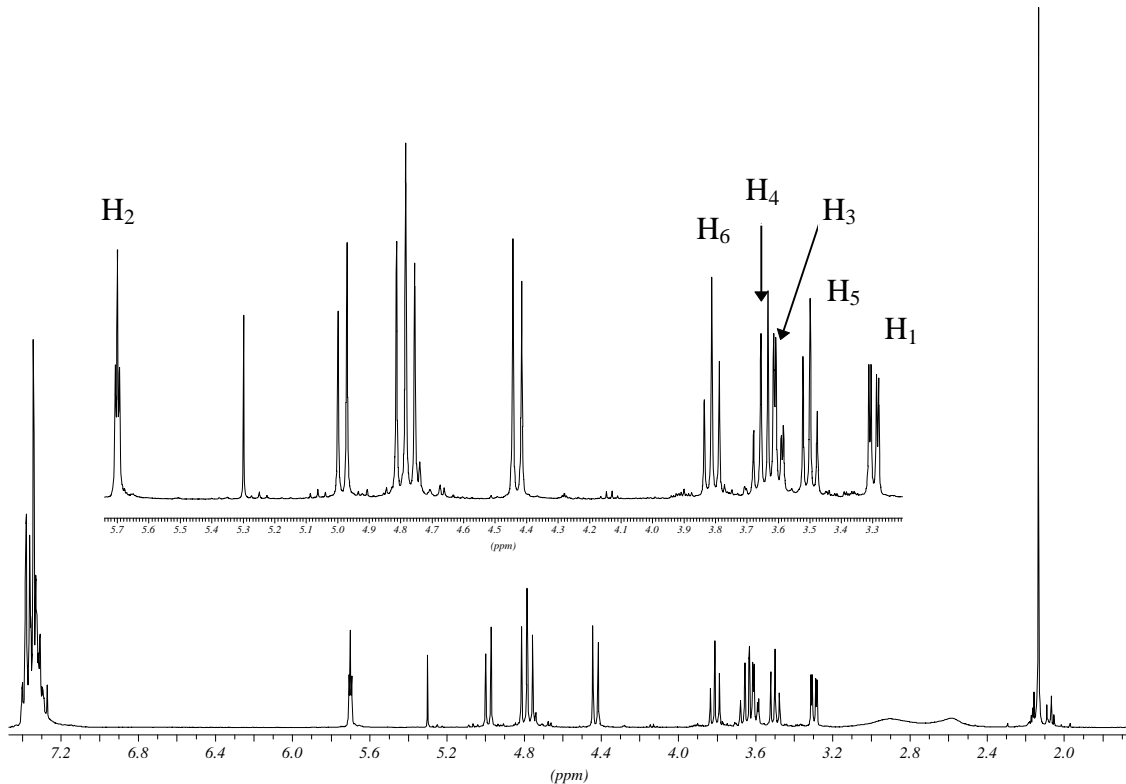
Nach Behandeln mit wäßriger Essigsäure konnte bereits nach fünf Minuten kein Acetal mehr detektiert werden. Das NMR-Spektrum des Produktes zeigte aber lediglich Signale des Edukts **45**, es findet eine vollständige Abspaltung des Acetals statt, ohne daß eine Acetatgruppe am Molekül verbleibt.

Aus diesem Ergebnis ergibt sich eine interessante Möglichkeit zu einer schnellen und effizienten Synthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) (Schema 33).



**Schema 33:** Darstellung von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**).

Durch Umsetzen des Tetrols **81b** mit zwei Äquivalenten Triethylorthoacetat und katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure in absolutem Tetrahydrofuran, gefolgt von anschließender dreißig-minütiger Hydrolyse in 80 %-iger Essigsäure erhält man das Monoacetat in 92 % Ausbeute. Auf diese Weise ist es möglich, aus vier freien Hydroxy-Gruppen selektiv und in sehr guten Ausbeuten die axiale (und somit unreaktivste) OH-Funktion zu schützen.



**Abbildung 29:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **98b**.

Das  $^1\text{H}$ -NMR zeigt eine deutliche Tieffeldverschiebung des Protons in 2-Position um 1,6 ppm im Vergleich zu Tetrol **81b**, die durch die Acetylierung bewirkt wird (Abbildung 29). Die freien Hydroxy-Gruppen sind als breite Signale zwischen 2,4 und 2,8 ppm erkennbar. Bei 2,1 ppm erscheint das Signal einer einzelnen Methylgruppe, was ein Beleg für das Auftreten einer Monoacetylierung ist. Die übrigen Ringprotonen erzeugen Signalgruppen zwischen 3,2 und 3,8 ppm, die inäquivalenten  $\text{CH}_2$ -Protonen der Benzylschutzgruppe bilden AB-Systeme im Bereich von 4,8 ppm.

**98b** kann säulenchromatographisch aufgereinigt werden. Alternativ kann aber auch eine Aufreinigung auf der Stufe der freigesetzten Verbindungen über hochauflösende ionenchromatographische Trennverfahren erfolgen.

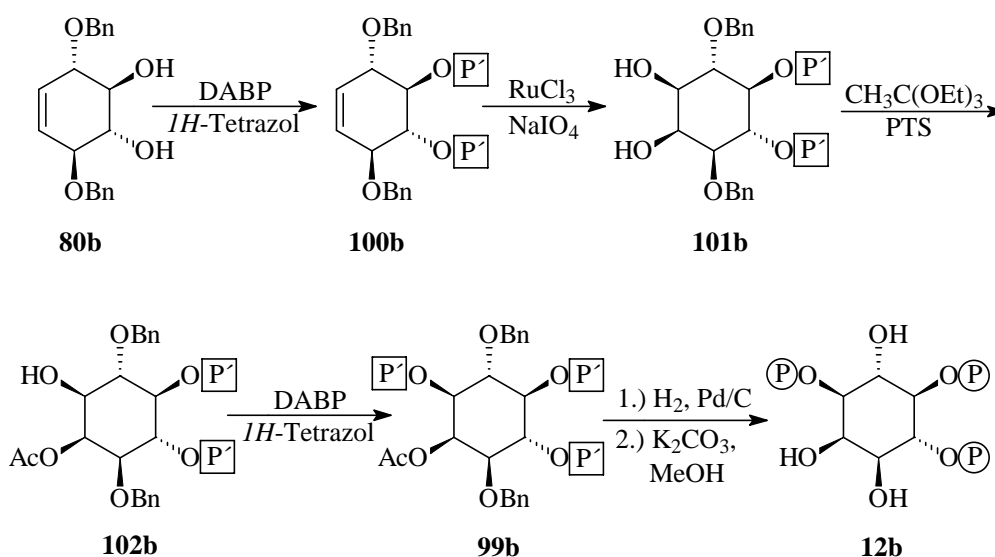
Phosphorylierung mit DABP liefert glatt das geschützte Trisphosphat **99b**; auch bei dieser Verbindung kann eine säulenchromatographische Aufreinigung mit Cyclohexan : Essigsäureethylester durchgeführt werden. Freisetzung durch Hydrogenolyse mit Palladium

auf Kohle als Katalysator und anschließende Abspaltung der Acetatgruppe in 0,25 M Natronlauge (Schema 33) führt zu Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**).

Die Vorzüge dieser Synthese liegen in ihrer Kürze, sie benötigt ausgehend von Tetrol **81**, das entweder durch *cis*-Dihydroxylierung aus Dibenzyl-Konduritol-B **80** oder in literaturbekanntere Weise aus Inositol dargestellt werden kann, lediglich drei Schritte und liefert **99b** in einer Gesamtausbeute von 75 % über alle drei Stufen. Da zudem die eingesetzten Chemikalien sehr preiswert sind, keine Diastereomerentrennung benötigt wird und beide Enantiomere gleich gut dargestellt werden können, stellt dieses Verfahren eine konkurrenzlos günstige Methode dar.

Diese Synthesesequenz ergänzt sich in idealer Weise mit der Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Synthese von RITTER,<sup>53</sup> der eine stufenweise Einführung der Phosphatgruppen durchführt und in fünf Schritten und 14 % Ausbeute ausgehend von Konduritol **80** Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> darstellt. (Schema 34). Die Ausbeuten auf dieser Route lassen sich aber wahrscheinlich durch Übertragung der hier erhaltenen Ergebnisse, insbesondere bei der Freisetzungsmethode nachhaltig verbessern.

Dennoch dürfte die erzielbare Ausbeute auf der hier vorgestellten Route durch die Verkürzung um einen Phosphorylierungsschritt um mindestens 20 % über der alternativ erreichbaren Ausbeute liegen. Ein weiterer Vorteil liegt in der Verwendung des Tetrols **81** als Zwischenprodukt, das (falls überhaupt erforderlich) eine einfache Aufreinigung durch Umkristallisation erlaubt (s.o.).



**Schema 34:** Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Synthese nach RITTER.

Die Ausbeuten sind durch die erhöhte Stufenzahl zwar geringer, durch den Einsatz des Konduritols kann aber bei den zwei aufeinanderfolgenden Phosphorylierungen zwischen den

Phosphatgruppen in 1- und 4/5-Position differenziert werden. So sollte die Darstellung gemischter Phosphat-Thioat-Verbindungen, bei denen an definierten Stellen die P=O-Bindung gegen eine P=S-Bindung ersetzt ist, einfach durch Wahl des Oxidationsmittels (Schwefel oder *m*-Chlorperbenzoesäure) möglich sein. Derartige Verbindungen wurden bereits von POTTER<sup>103</sup> und anderen synthetisiert und stellten sich als wirksame Enzyminhibitoren heraus, da die Thioatgruppen nicht von Phosphohydrolasen hydrolysiert werden können.

Da diese Methode zur Darstellung von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) und dessen Derivaten anderen publizierten Methoden in Hinsicht auf ihre Effizienz und Flexibilität überlegen ist, wird sie gegenwärtig patentiert.

### 2.3.6.2 *Biologische Bedeutung*

In neueren Arbeiten von MIKOSHIBA wurde der Einfluß des Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Rezeptors auf verschiedene fundamentale biologische Prozesse untersucht. Dabei wurde gefunden, daß dieser Rezeptor eine wichtige Rolle bei der Fertilisation, Meiose und Mitose spielt.<sup>104</sup> Zudem scheint ein Einfluß auf die Änderung der Zellform vorzuliegen.<sup>105</sup>

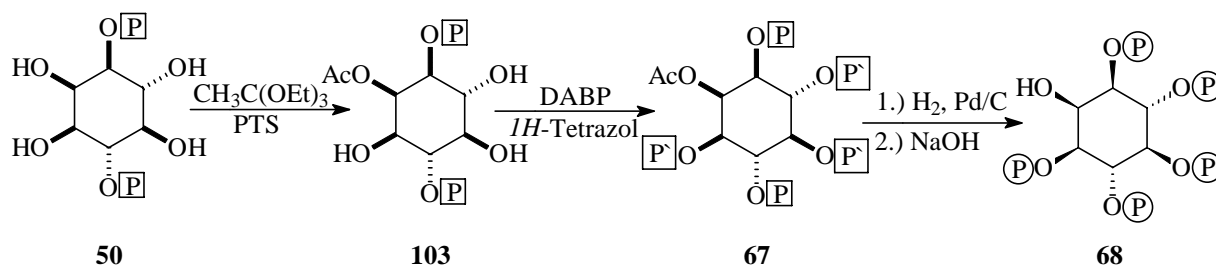
Bei Mäusen, bei denen der Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Rezeptor genetisch ausgeknockt wurde, war eine geringe Geburtenrate und hohe Sterblichkeit zu beobachten.<sup>106</sup> Die geborenen Mäuse zeigten zudem u. a. Symptome von Epilepsie und verstarben innerhalb von drei Wochen.

Eine deutliche Erhöhung der Konzentration von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-Rezeptoren fand MIKOSHIBA in den Wachstumskegeln von Neuronen.<sup>107</sup> Durch gezielte Zerstörung dieser Rezeptoren durch Laserbestrahlung wurde deren Wachstum gestoppt; es resultierte eine Retardation der Neutriten. Offenbar besitzt die InsP<sub>3</sub>-induzierte Calciumausschüttung eine Schlüsselfunktion bei der Kontrolle des Nervenwachstums.

### 2.3.6.3 *Weitere Anwendung der Monoacetat-Schützung*

Die Methode, selektiv die C-2-Position eines Tetrols zu acetylieren, konnte auch erfolgreich auf das Bisphospho-Inositol **50** angewendet werden (Schema 35). Damit konnte die Synthese von Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (**68**), ausgehend von Konduritol **45** auf vier Schritte verkürzt werden.

Diese Möglichkeit, einfach auch größere Mengen von **68** verfügbar machen zu können, ist eine wichtige Voraussetzung für von ADELTE geplante Fütterungsexperimente mit *Dictyostelium*.



**Schema 35:** Verkürzte Synthese von Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (**68**).

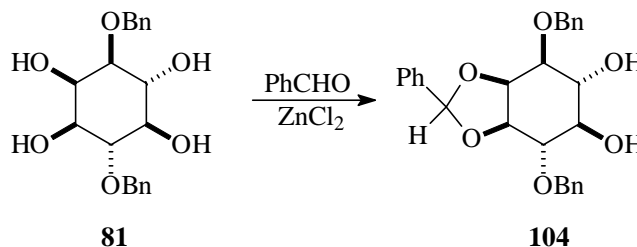
Analog zu der Synthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) bietet der längere, in Schema 22 gezeigte Weg Differenzierungsmöglichkeiten zwischen den Inositolphosphaten; geht man von enantiomerenreinem Ausgangsmaterial aus, so können folgende Gruppen unterschieden werden:

Ausgehend von **45a**: 1, 4-Position - 5, 6-Position - 3-Position

**45b**: 3,6-Position - 4,5-Position - 1-Position

### 2.3.7 Selektive Schützung der 3-Position in Tetrol **81**

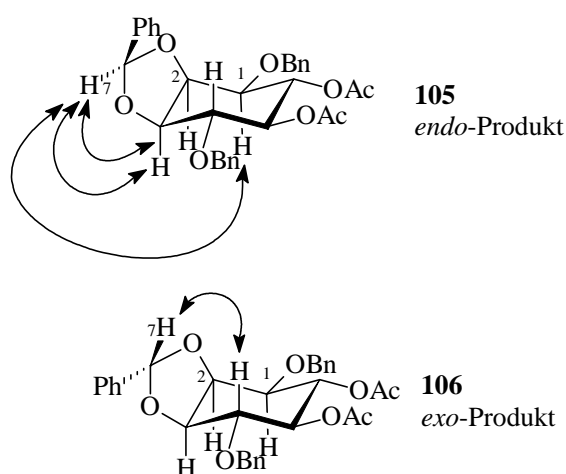
Neben der oben beschriebenen Schützung der 2-Position konnte eine weitere hochselektive Schützung durchgeführt werden. Dazu wurde Tetrol **81** mit Benzaldehyd unter Zinkchlorid-Katalyse acetalisiert (Schema 36). Dabei bildete sich stark bevorzugt ein Diastereomer, sein Anteil wurde im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Rohproduktes zu >95 % abgeschätzt.



**Schema 36:** Bildung des benzyldengeschützten Inositols **104**.

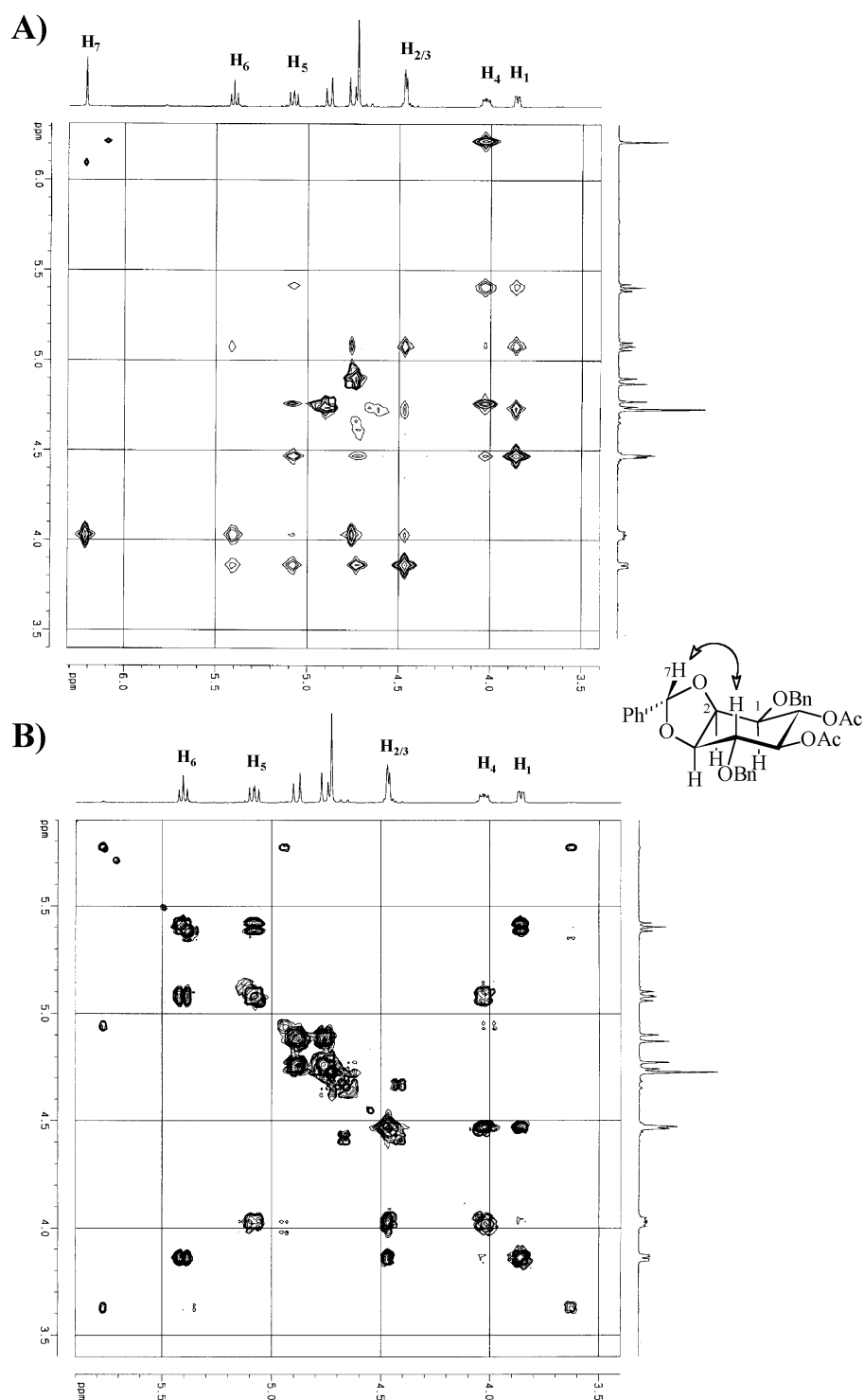
Die Bestimmung, ob es sich bei dem gebildeten Produkt um das *exo*- oder *endo*-Isomer handelt, konnte auf dieser Stufe nicht durchgeführt werden, da es im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Produktes **104** zu zahlreichen Signalüberlappungen kam. Anhand der in 5- und 6-Position

acetylierten Verbindung **106** war aber eine Strukturaufklärung über ein NOESY-NMR-Experiment möglich (Abbildung 31, A). Im Falle des *endo*-Isomers **105**, bei dem der Phenylrest des Benzyliden-Acetals zum Ring hin zeigt, wären Raumkopplungen des Benzyliden-Wasserstoffs an C-7 zu den Wasserstoffen im Ring an C-1, C-2 und C-3 zu erwarten gewesen. Im Falle des *exo*-Isomeren **106** liegen diese Wasserstoffe aber auf der anderen Ringseite und koppeln demzufolge nicht. In diesem Falle müsste lediglich eine Kopplung des Benzyliden-Wasserstoffs mit dem Proton an C-4 zu beobachten sein (Abbildung 30).



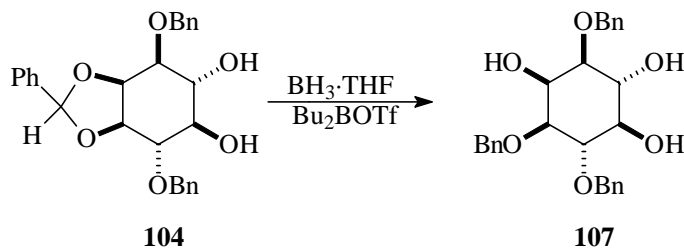
**Abbildung 30:** Erwartete Raumkopplungen für das *endo*- bzw. *exo*-Produkt.

Das NOESY-Experiment zeigte für H-7 lediglich eine Resonanz, was das Vorliegen des *exo*-Isomeren beweist.



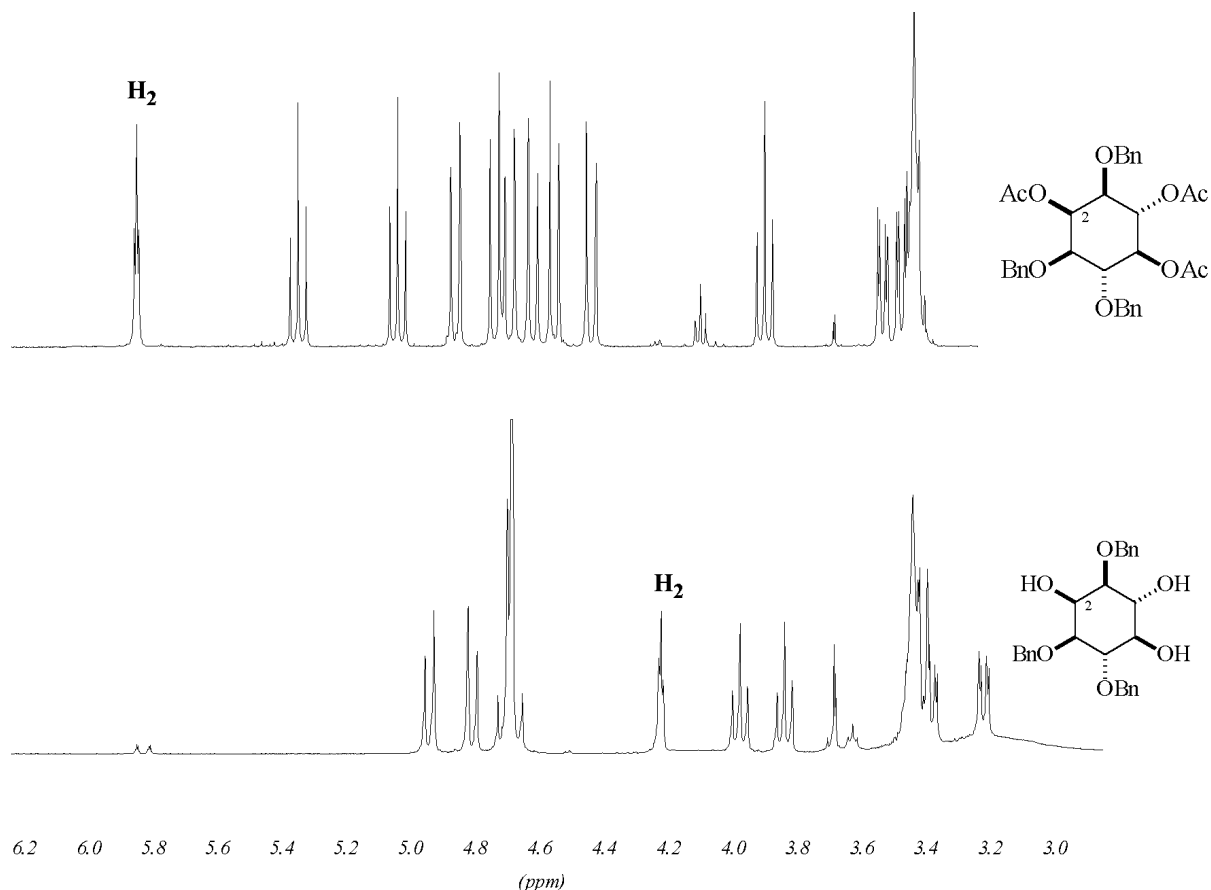
**Abbildung 31:** (A):  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY- und (B):  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-NMR-Spektren von **106**.

Das so erhaltene Acetal konnte nach einer von CHAN<sup>108</sup> entwickelten Methode mit Boran-Tetrahydrofuran-Komplex und Dibutylboryltrifluorsulfonat reduziert werden. Dabei verbleibt die Benzylgruppe je nach Ausrichtung der Phenylgruppe auf der äquatorialen (Phenyl *exo*) oder auf der axialen (Phenyl *endo*) OH-Gruppe.



**Schema 37:** Reduktion des Benzylidenacetals **104**.

Bei der Umsetzung erhielt man ein Gemisch von zwei Produkten, deren Verhältnis NMR-spektroskopisch zu 3:1 abgeschätzt wurde. Die Abtrennung des Reagenzes und die Trennung der beiden Produkte konnte problemlos durch Flashchromatographie erfolgen. Die Acetylierung des Hauptproduktes, das in 57 % Ausbeute nach Chromatographie isoliert wurde, zeigte, daß es sich erwartungsgemäß um das in 3-Position benzylierte Produkt handelte, wie durch die Tieffeldverschiebung des Protons in 2-Position eindeutig belegbar war. **107** stellt ein geeignetes Ausgangsmaterial für die Synthese von Ins(2,4,5)P<sub>3</sub> dar, einem Isomer, das zwar Calciumausschüttungen induzieren, aber nicht ohne weiteres metabolisiert werden kann. Diese Synthese soll im Rahmen einer künftigen Diplomarbeit durchgeführt werden.



**Abbildung 32:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektren des freien Produkts **107** und des acetylierten **108**.



#### 2.4 Darstellung substituierter Inositolssysteme

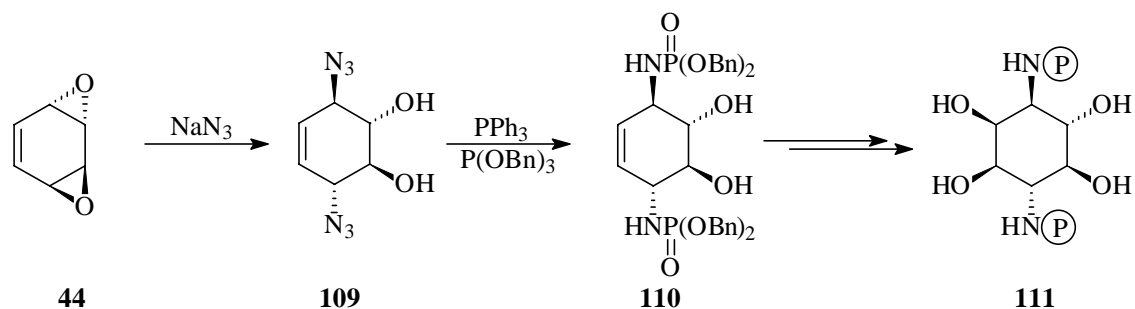
Zur Aufklärung biologischer Funktionen von Inositolphosphaten und der Substratspezifität bzw. des Wirkungsmechanismus von Enzymen sind Inositol-Analoga, bei denen definierte Hydroxy-Gruppen durch andere Substituenten ersetzt sind, von zentraler Bedeutung.

Es ist bekannt, daß Azidoinositole das Zellwachstum von Tumorzellen inhibieren können.<sup>109</sup> Desweiteren stellte sich heraus, daß Aminoinositole als Glucosidase-Inhibitoren wirksam sind und eine Schlüsselrolle in der Wirkung von Antibiotika besitzen.<sup>110</sup>

Sowohl Azido- als auch Amino-Substituenten sollten darüberhinaus geeignet sein, um über diese Gruppe eine Anbindung an ein Trägermaterial zu ermöglichen. Für die Anbindung über Amino-Gruppen gibt es für vergleichbare Inositolphosphat-Systeme bereits zahlreiche Beispiele (vergleiche Kapitel 2.4.2.2). Die gerichtete Anbindung über Azidogruppen ist bislang nicht beschrieben, sollte aber realisierbar sein (siehe Kapitel 2.4.6). Auf diese Weise sollten gezielt derivatisierte Affinitätsmaterialien zur Aufreinigung Inositol-spezifischer Enzyme darstellbar sein.

Der in dieser Arbeit vorgestellte totalsynthetische Ansatz liefert ideale Bedingungen zur Einbringung von Substituenten an das Kohlenstoff-Gerüst. Durch Einsatz anderer Nucleophile zur Öffnung der Allylepoxide können substituierte Inositolssysteme leicht zugänglich gemacht werden. Ein geeignetes Synthon für eine Amino-Funktionalität ist Azid. Azid besitzt eine hohe Nucleophilie und kann durch einfache Hydrogenolyse in eine Aminofunktion überführt werden, nachdem die gewünschte Funktionalisierung der Hydroxy-Gruppen durchgeführt wurde. Auf diese Weise wird eine Schützung und Entschützung der Amino-Gruppe überflüssig.

Die doppelte Einführung von Azid konnte bereits von KLEIN<sup>50</sup> und KAFFEE<sup>56</sup> an racemischem **44**, sowie von PODESCHWA<sup>30</sup> an enantiomerenreinen Verbindungen demonstriert werden. (Schema 38).



**Schema 38:** Darstellung von Amidoinosiolphosphaten nach KLEIN, KAFFEE und PODESCHWA.

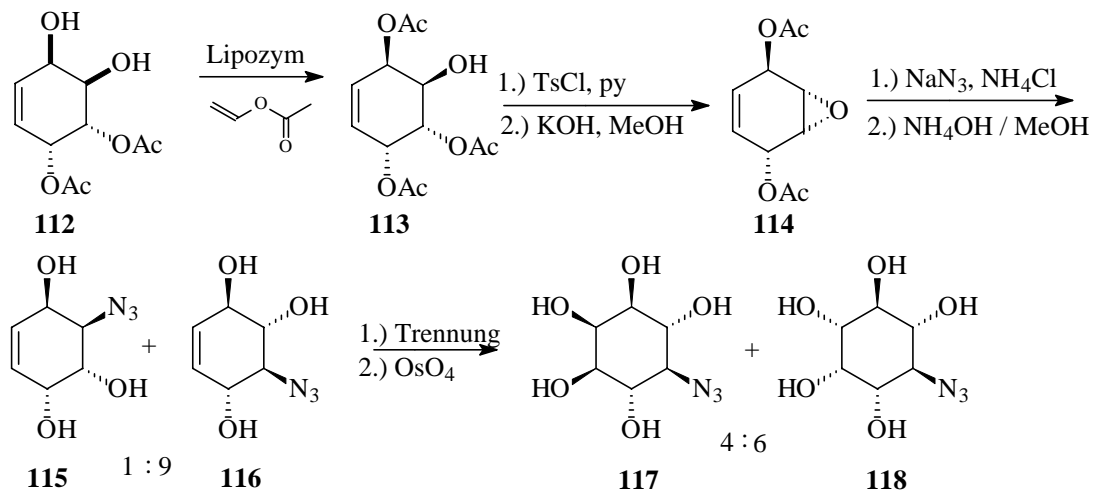
Aus dem Diazido-konduritit **109** läßt sich durch Umsetzen mit Tribenzylphosphit im Sinne einer Staudinger-Reaktion und anschließende *cis*-Dihydroxylierung ein Amidophosphat darstellen, das entschützt ein Analogon zu Ins(1,4)P<sub>2</sub> (**14a**) ist.

#### 2.4.1 Literaturbekannte Synthesen von Azido- und Aminoinsitolen

Bislang sind nur sehr wenige Synthesen von enantiomerenreinen Amino- und Azido-substituierten Inositolsystemen literaturbekannt. Aminoinsitole mit *allo*-Konfiguration konnten durch Diels-Alder-Reaktion chiraler Nitroso-Dienophile mit *cis*-1,2-Diacetoxycyclohexa-3,5-dien synthetisiert werden.<sup>111</sup> *Myo*-Inositolderivate konnten von PAULSEN<sup>112</sup> aus D-Glucose, sowie von verschiedenen Arbeitsgruppen aus L-Quebrachitol<sup>113</sup> dargestellt werden.

NICOLOSI<sup>114</sup> publizierte parallel zu diesen Arbeiten einen Zugang, der ein verwandtes Konzept verfolgt. Bei dieser Route (Schema 39) geht NICOLOSI von aus einer enzymatischen Acetylierung mit Lipozym IM (immobilisierter *Mucor miehei* Lipase) gewonnenen Konduritit-E-Derivat aus.<sup>115</sup> Durch Tosylierung der freien Hydroxy-Gruppen und anschließende basische Abspaltung der Acetatgruppen kann **113** in das Epoxy-Diol **114** überführt werden. Dieses kann mit Natriumazid überwiegend zum *anti*-Fürst-Plattner-Produkt geöffnet werden; das alternative Öffnungsprodukt wird jedoch ebenfalls zu ca. 10 % erhalten. Die Regioselektivität der Reaktion kann eventuell darauf zurückgeführt werden, daß das Edukt nicht in einer sessel-artigen, sondern eher in einer boot-artigen Konformation vorliegt (vergleiche auch die verwandte Struktur von **46** (Abbildung 13, Seite 23)). In diesem Fall kann die größere sterische Abschirmung der 2-Position einen Angriff des Nucleophils in

3-Position begünstigen. Dihydroxylierung des Triols mit Osmiumtetroxids führt zu Bildung beider Diastereomeren im Verhältnis 4:6, die als Acetate chromatographisch getrennt werden können. Dabei handelt es sich um das geschützte 5- und 6-Azidoinositol.



**Schema 39:** Azido-Inositolsynthese nach NICOLosi.

Bislang ist aber noch kein umfassender synthetischer Ansatz publiziert, der eine große Flexibilität in Bezug auf die Stelle der Substitution erlaubt.

## 2.4.2 Affinitätsmaterialien auf Inositolbasis

### 2.4.2.1 Einschub: Prinzip der Affinitätschromatographie

Affinitätschromatographie ist ein wesentlicher Schritt bei Enzymaufreinigungen. Dabei wird ein Substratanalogon, das einen niedrigen  $K_M$ -Wert zu diesem Enzym aufweist (typischerweise im mikromolaren Bereich) kovalent an ein Trägermaterial angebunden. Trägt man nun eine Enzympräparation auf die Säule auf, wird das Analogon im aktiven Zentrum des Enzyms gebunden. Da die Affinität des Enzyms zu diesem Analogon hoch ist, bleibt es auch an dem Träger gebunden, andere Proteine, die keine oder geringere Wechselwirkungen mit dem Affinitätsmaterial eingehen, werden zügig von der Säule eluiert.

Eluiert man anschließend beispielsweise mit einem Laufmittel, daß ein Substrat enthält, zu dem das Enzym eine noch höhere Affinität aufweist, so verdrängt dieses Substrat das Affinitätsmaterial kompetitiv und bringt das Enzym somit wieder in Lösung.

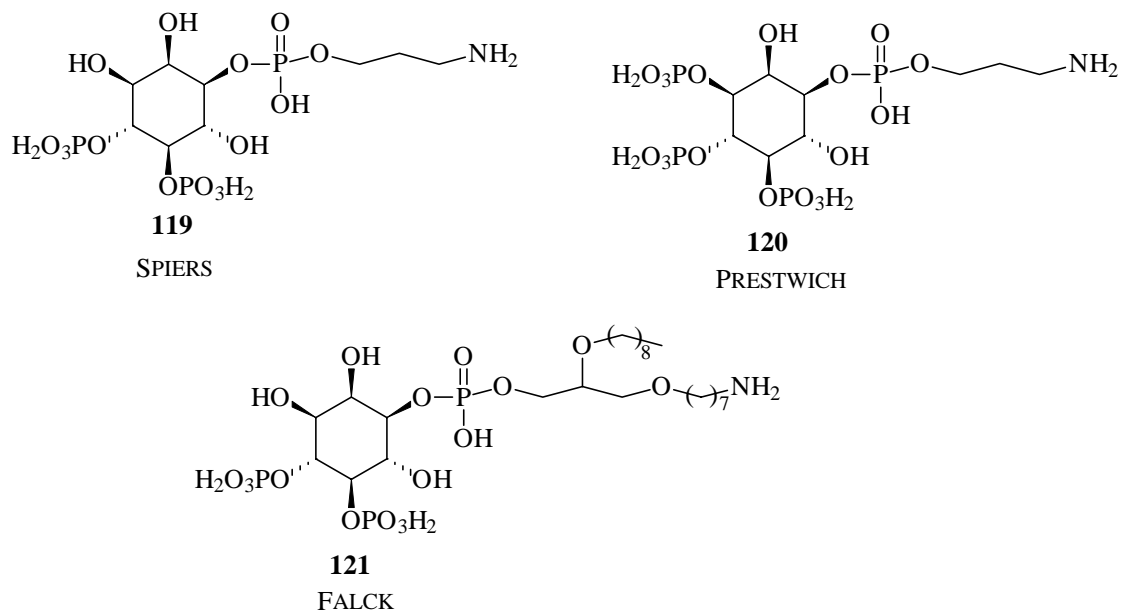
Da diese Methode hochspezifisch ist, ist sie ein geeignetes Mittel zur einfachen Aufreinigung von Enzymen.

### 2.4.2.2 Literaturbekannte Affinitätsmaterialien auf Inositolbasis

Bislang sind verschiedene Affinitätsmaterialien, die kovalent gebundene Inositolssysteme enthalten, in der Literatur beschrieben,<sup>116</sup> einige Beispiele sind in Abbildung 33 gezeigt.

Von TEGGE<sup>117</sup> und PRESTWICH<sup>118</sup> wurden Verbindungen synthetisiert, bei denen an einer der Phosphat-Gruppen ein Spacer angebracht ist. Am Ende dieses Spacers befindet sich eine Amino-Funktion, über die eine Anbindung an ein Säulenmaterial erfolgen kann.

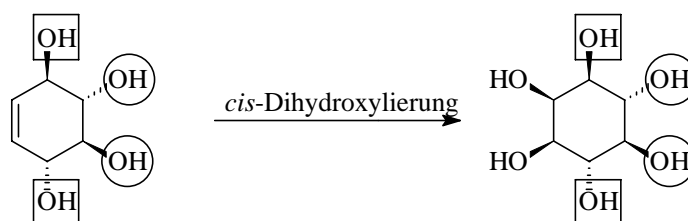
FALCK<sup>119</sup> publizierte kürzlich ein System, daß ein Phosphatidylinositolgerüst enthält. Da die Spacer-Gruppe dabei an dem Lipid-Rest des Moleküls angebracht ist, der für das den Inositolteil erkennenden Enzym nicht von Relevanz ist, handelt es sich hier um ein sehr vielversprechendes System. Durch Anwendung dieser Verbindungen bei Affinitätschromatographie und Photoaffinity-Labels konnten bislang zahlreiche Proteine isoliert und charakterisiert werden, darunter eine  $\text{InsP}_6$ -Kinase,<sup>120</sup> eine  $\text{Ins}(1,3,4)\text{P}_3$ -5/6-Kinase<sup>121</sup> und  $\text{InsP}_3$ -Rezeptoren.<sup>122</sup> Anhand dieser Beispiele mag die Bandbreite der möglichen Einsatzmöglichkeiten für ein flexibles Affinitätsmaterial auf Inositolbasis ersichtlich werden.



**Abbildung 33:** Literaturbekannte Affinitätsmaterialien auf Inositolbasis.

### 2.4.3 Konzept der Desymmetrisierung

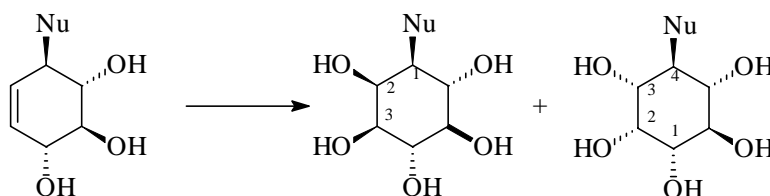
Bei den bisher vorgestellten Synthesen wurde das Konzept der paarweisen Differenzierung verfolgt. Dabei wurden gezielt derivatisierte Konduritol-B-Derivate zum Aufbau des Inositol-Grundgerüsts eingesetzt. Die Modifikation einzelner, definierter Hydroxy-Gruppen ist dabei aber nur bei den durch *cis*-Dihydroxylierung eingeführten OH-Gruppen in 1- und 2- (bzw. 2- und 3-) Position möglich.



**Schema 40:** Konduritol-B-Derivate als *myo*-Inositol-Bausteine.

Gibt man die bisher angewandte Strategie der Verwendung  $C_2$ -symmetrischer Zwischenstufen auf und führt nicht zwei Substituenten gleichzeitig durch doppelte Allylöffnung von *anti*-Benzoldioxid ein, sondern vollzieht diese nucleophile Öffnung in zwei voneinander separierten Schritten mit unterschiedlichen Nucleophilen, so erhält man in 1- und 4-Position des Cyclohexen-Rings unterschiedlich substituierte Verbindungen. Diese Vorgehensweise soll im folgenden als „Desymmetrisierung“ bezeichnet werden.

Ausgehend von enantiomerenreinen Ausgangsmaterialien (**43a** und **43b**) lassen sich so vier der sechs möglichen Positionen des Inositolrings definiert substituieren (vergleiche auch Abbildung 39).



**Schema 41:** Darstellung von 1- bzw. 4-substituierten *myo*-Inositolen (am Beispiel eines Enantiomers).

Wie oben beschrieben, kann durch Einbringung einer Amino-Funktion eine kovalente Anbindung an ein Trägermaterial realisiert werden. Die Darstellung eines derartigen Affinitätsmaterials ausgehend von Diacetat **43** gliedert sich in drei Schritte:

- 1) Darstellung eines desymmetrisierten Azidokonduritol-B-Derivats
- 2) Überführung in eine geeignete Trennstufe zur Trennung der erhaltenen Diastereomere
- 3) Derivatisierung um ein für Affinitätschromatographie geeignetes Molekül zu erhalten

Das so herzustellende Affinitätsmaterial hat folgende Vorteile:

- ⇒ Die zur Anbindung benötigte Amino-Funktion ist als Azid „geschützt“.
  - ⇒ Keine Schützungs- Entschützungssequenz nötig.
  - ⇒ Die Amino-Gruppe kann unter anderem durch Hydrogenolyse am Ende der Synthese freigesetzt werden (milde Bedingungen).
  - ⇒ Diese Hydrogenolyse kann in wäßrigen Medien unter pH-neutralen Bedingungen erfolgen (wichtig bei labilen und / oder stark hydrophilen Substituenten an den OH-Gruppen).
- ⇒ Das Azid kann in vier verschiedenen Positionen des Rings eingebracht werden.
  - ⇒ Der Substratspezifität des zu reinigenden Enzyms kann einfach entgegengekommen werden und eine Stelle zur Anbindung ausgewählt werden, die für die Enzym-Substrat-Wechselwirkung minderwichtig ist.
- ⇒ Die Anbindungsstelle ist direkt am Ring orientiert
  - ⇒ Der Spacer kann in seiner Länge einfach variiert werden

Demgegenüber stehen folgende Punkte, die als nachteilig angesehen werden könnten:

- ⇒ Um gezielt in einer bestimmten Position substituierte Inositolssysteme zu erhalten, muß eine Diastereomerentrennung erfolgen.\*
- ⇒ Die direkte Nachbarschaft des Inositol-Gerüsts zu der Amino-Gruppe kann eine Anbindung an das Trägermaterial aus sterischen Gründen erschweren.

---

\* Bei der verwendeten Numerierung werden die bei einer *cis*-Dihydroxylierung erhaltenen Diastereomere nach Lage der eingeführten Dioleneinheit zu der Azido-Gruppe (bzw. Benzylgruppe, nächstes Kapitel) mit dem Suffix -syn oder -anti versehen. Diese Einteilung ist willkürlich gewählt, soll aber den Bezug zum Ausgangssystem verdeutlichen

Diese beiden Punkte stellen aber keine gravierenden Nachteile dar.

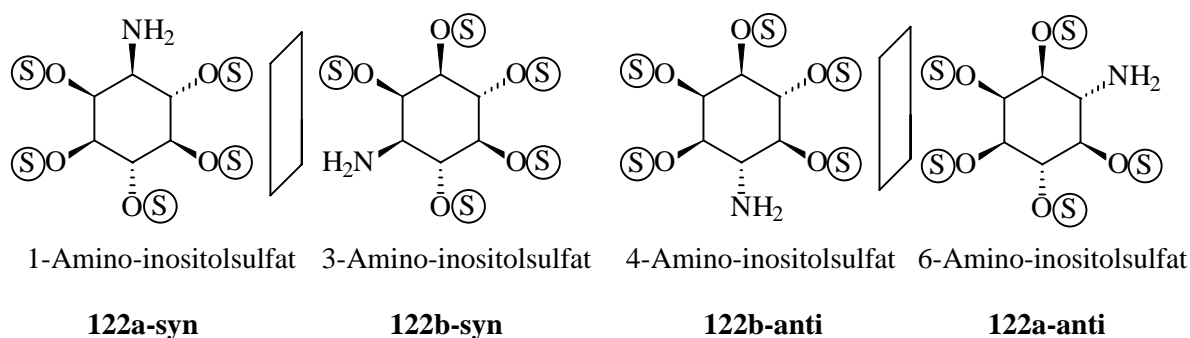
Zum einen kann, wenn über die Substratspezifität des aufzureinigenden Enzyms keine genauen Kenntnisse vorliegen, auch das Diastereomergemisch zur Anbindung eingesetzt werden. Die breite Streuung der Anbindungsposition gewährleistet immer noch ein hohes Maß an potentiell wirksamen Molekülen. Zum anderen unterscheiden sich die Diastereomere in ihren Eigenschaften zum Teil erheblich, so daß eine Trennung möglich sein sollte (vergleiche Kapitel 2.4.4.2).

Die sterische Hinderung könnte eher ein Problem darstellen, es gibt aber eine Vielzahl von Standard-Prozeduren zur Anbindung der Amino-Funktion. Gelingt auf diesem Wege keine Anbindung, so kann auch ein beliebig gewählter Spacer „zwischengesetzt“ werden. Auf diese Weise sollte der sterische Anspruch des Trägermaterials kompensiert und somit die Anbindung erfolgreich durchgeführt werden können. Eine weitere Möglichkeit liegt in der Nutzung der Azido-Funktion zur Anbindung (vgl. Kapitel 2.4.6).

Aus diesem Grund erschien die Synthese von substituierten Aminoinositolen zur Erzeugung eines Affinitätsmaterials als ein lohnendes Synthesziel. Einen direkten Anlaß gaben Aufreinigungsprobleme einer *Phytase* aus *Dictyostelium discoideum*, die im Arbeitskreis VOGEL aufgetreten waren.

Zur Aufreinigung einer Phytase, die sich durch eine starke Dephosphorylierungstendenz auszeichnet, sind Inositolphosphate als Affinitätsmaterial ungeeignet. Die Beständigkeit des so hergestellten Materials wäre nicht sehr hoch, zudem würde die Affinität des Enzyms zu der kovalent gebundenen Verbindung mit fortschreitender Dephosphorylierung des Materials abnehmen.

Nach LAMMERTZ wird die oben genannte Phytase stark von Inositolhexakisulfat ( $\text{InsS}_6$ ) inhibiert, der  $K_M$ -Wert liegt bei 20 nM. Damit liegt der Wert noch deutlich unter dem für die  $\text{InsS}_6$ -Inhibierung für Phytasen aus *Aspergillus ficuum* bestimmten  $K_i$ -Wert (4,6  $\mu\text{M}$  bzw. 0,2  $\mu\text{M}$ ).<sup>123</sup> Aus diesem Grund schien eine möglichst hoch sulfatierte Spezies für den Einsatz als Affinitätsmaterial geeignet. Dabei war zu erwarten, daß die Inhibierung der Phytase durch das Azido- bzw. Aminosulfat im Vergleich zu  $\text{InsS}_6$  geringer ist, da die negative Ladung des Moleküls sukzessive verringert wird.



**Abbildung 34:** Geplante Syntheseeziele für eine Aufreinigung der Phytase aus *Dictyostelium discoideum*.

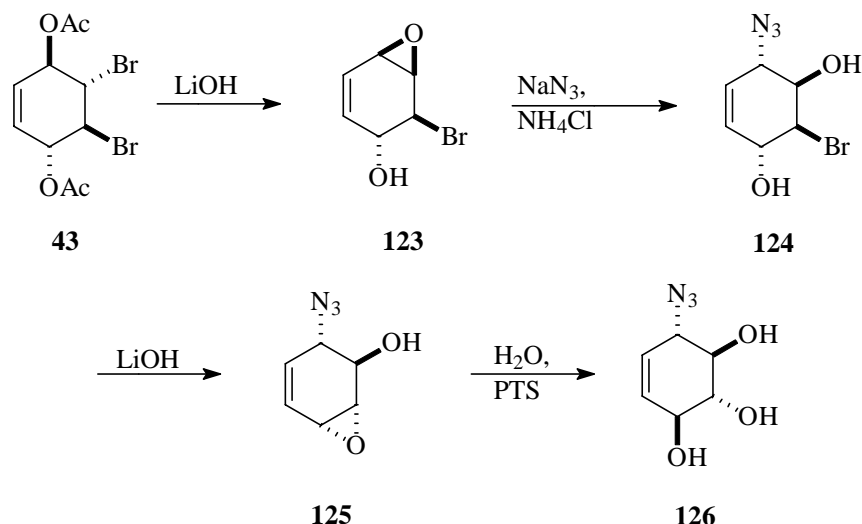
#### 2.4.4 Darstellung des Affinitätsmaterials

##### 2.4.4.1 Darstellung von Azidotriol **126**

Das Diacetat **43** kann nach einer Vorschrift von BIEN und KAFFEE durch Behandeln mit Lithiumhydroxid in einem Gemisch aus Diethylether und Methanol selektiv in 98 % Ausbeute in das Monoepoxid **123** überführt werden (Schema 42). Dieses Epoxid kann nun mit Nucleophilen wie Azid geöffnet werden. Nach einer modifizierten Vorschrift von SHARPLESS<sup>124</sup> gelingt das in sehr guten Ausbeuten in einem System von Ammoniumchlorid und Natriumazid in einem Gemisch aus Dimethoxyethan, Ethanol und Wasser. Von BLOCK<sup>125</sup> wurde auch die Öffnung von **123** mit Fluorid durchgeführt, was ebenfalls ein pharmakologisch interessanter Substituent ist.

Die Überführung in das zweite Epoxid gelingt ebenfalls in guten Ausbeuten. Dabei finden die gleichen Bedingungen Anwendung, die bereits zur Bildung des ersten Epoxids **123** benutzt wurden. Nach Öffnung mit Wasser unter saurer Katalyse von *p*-Toluolsulfonsäure erhält man das Azidotriol **126**, das von Nebenprodukten (z.B. S<sub>N</sub>'-Angriff) einfach durch Umkristallisation aus Essigsäureethylester gereinigt werden kann. Auf diese Weise erhält man **126** in einer Ausbeute von 43 % über vier Stufen; eine Aufreinigung der Zwischenprodukte **123** bis **125** ist nicht nötig.





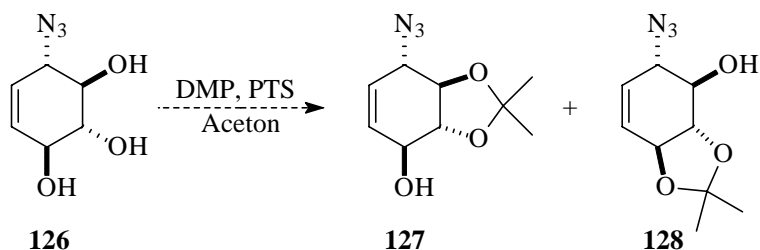
**Schema 42:** Darstellung von Azidotriol **126**.

#### 2.4.4.2 Überführung in eine Trennstufe

**126** muß nun in geeigneter Weise modifiziert werden, um eine Trennung der nach anschließender *cis*-Dihydroxylierung erhaltenen Diastereomere zu ermöglichen. Eine direkte *cis*-Hydroxylierung mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat kommt aufgrund der Polarität der erhaltenen Verbindung nicht in Frage; als hydrophobe Schutzgruppen bieten sich Isopropyliden- und Acetatgruppen an.

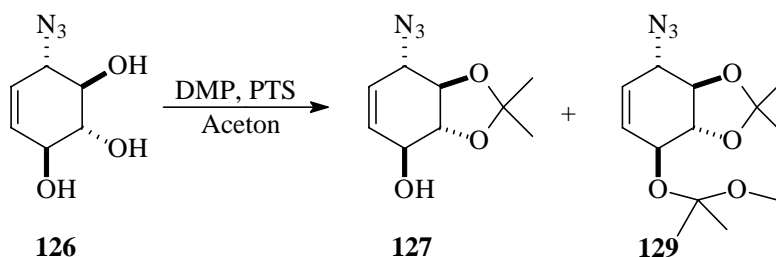
##### 2.4.4.2.1 Isopropyliden-Schätzung von **126**

Bei der Isopropyliden-Schätzung wurden zunächst zwei Produkte erwartet (Schema 43), da die geometrischen Verhältnisse zwischen der *trans*-ständigen 2- und 3-Hydroxy-Funktionen zwischen 3- und 4-Position vergleichbar erschienen.



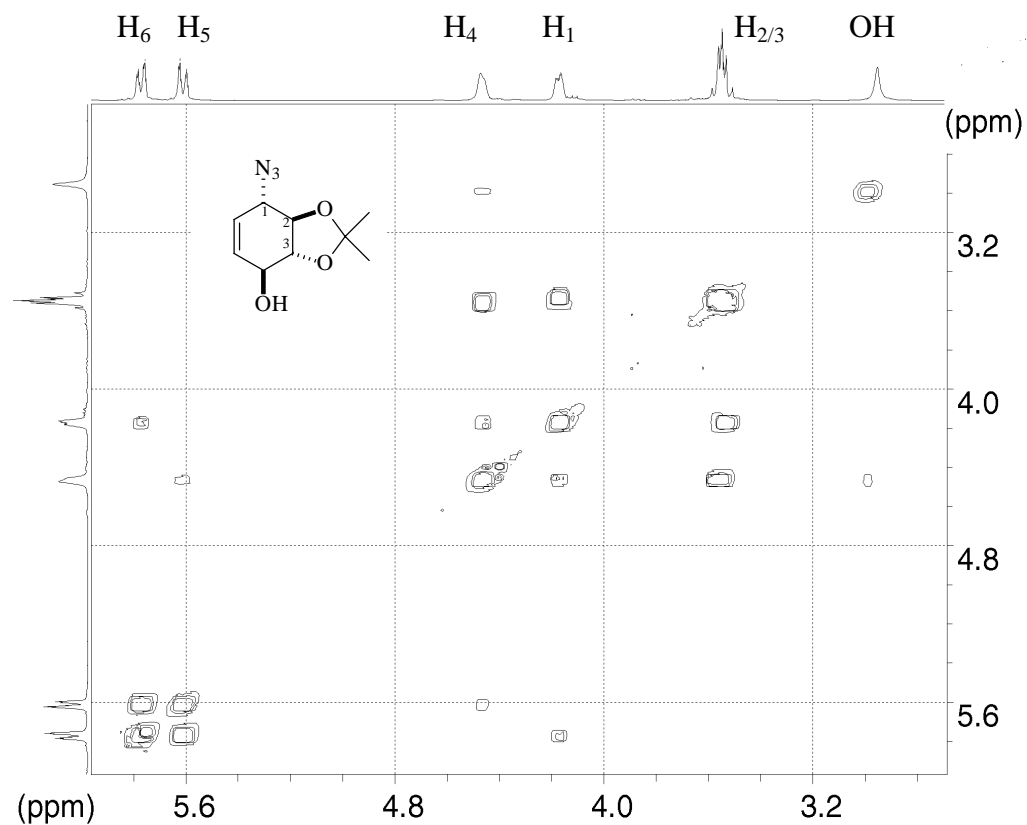
**Schema 43:** Erwartete Produkte bei der Isopropyliden-Schätzung von **126**.

Tatsächlich wurden auch zwei Produkte isoliert, die jedoch signifikante Unterschiede im Laufverhalten bei dünnschichtchromatographischer Untersuchung aufwiesen. Durch säulenchromatographische Trennung und anschließende NMR-spektroskopische Untersuchung konnten beide Produkte identifiziert werden. Dabei handelt es sich nicht um die in Schema 43 beschriebenen Produkte.



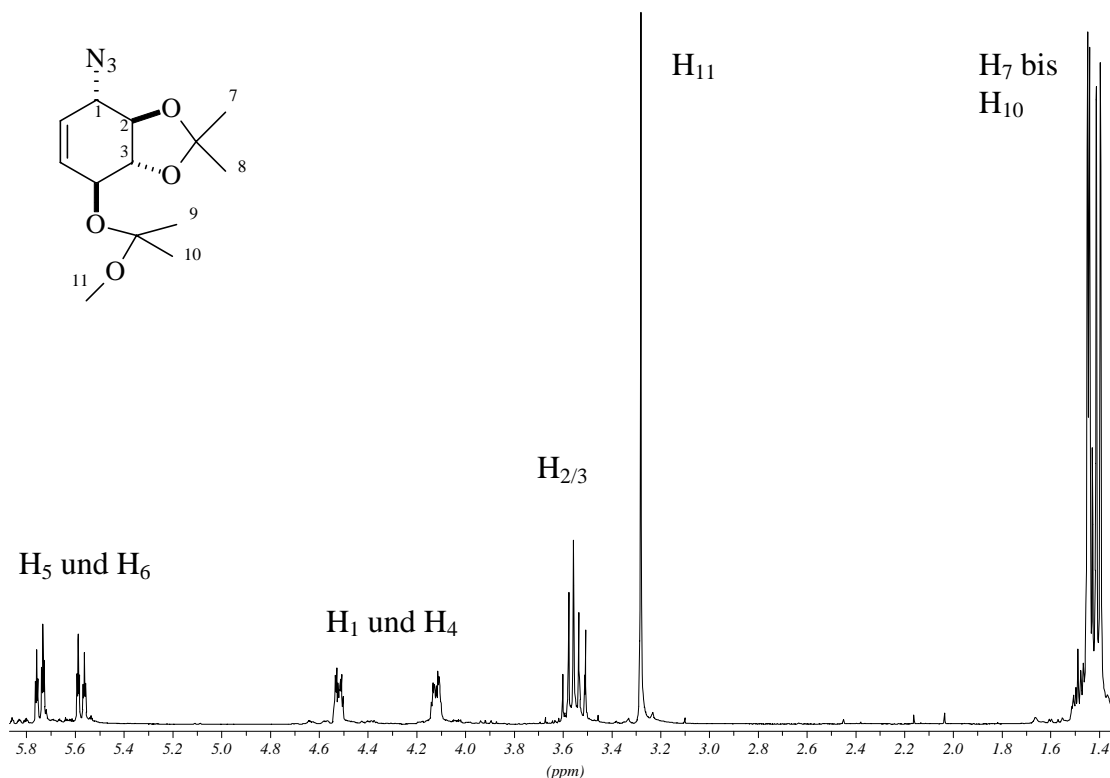
**Schema 44:** Tatsächlich bei der Isopropyliden-Schützung von **126** gebildete Produkte

Die Identifizierung des als Hauptprodukt gebildeten **127** erfolgte NMR-spektroskopisch durch die Aufnahme eines  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-NMR-Spektrums. Deutlich sichtbar ist die Kopplung des Alkohols (3,0 ppm) mit dem Ringproton an C-4 (bei 4,45 ppm), sowie dessen Kopplung zu dem Proton der Doppelbindung (bei 5,6 ppm). Durch Acetylierung der Verbindung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin konnte durch die Tieffeldverschiebung des betreffenden Protons das Vorliegen einer Hydroxy-Gruppe in Allylposition bestätigt werden.



**Abbildung 35:**  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-NMR von **127**.

Ebenfalls durch NMR-spektroskopische Untersuchung konnte der unpolaren Verbindung **129**, die zu ca. 30 % im Produktgemisch vorliegt, die unten abgebildete Struktur zugeordnet werden (Abbildung 36).

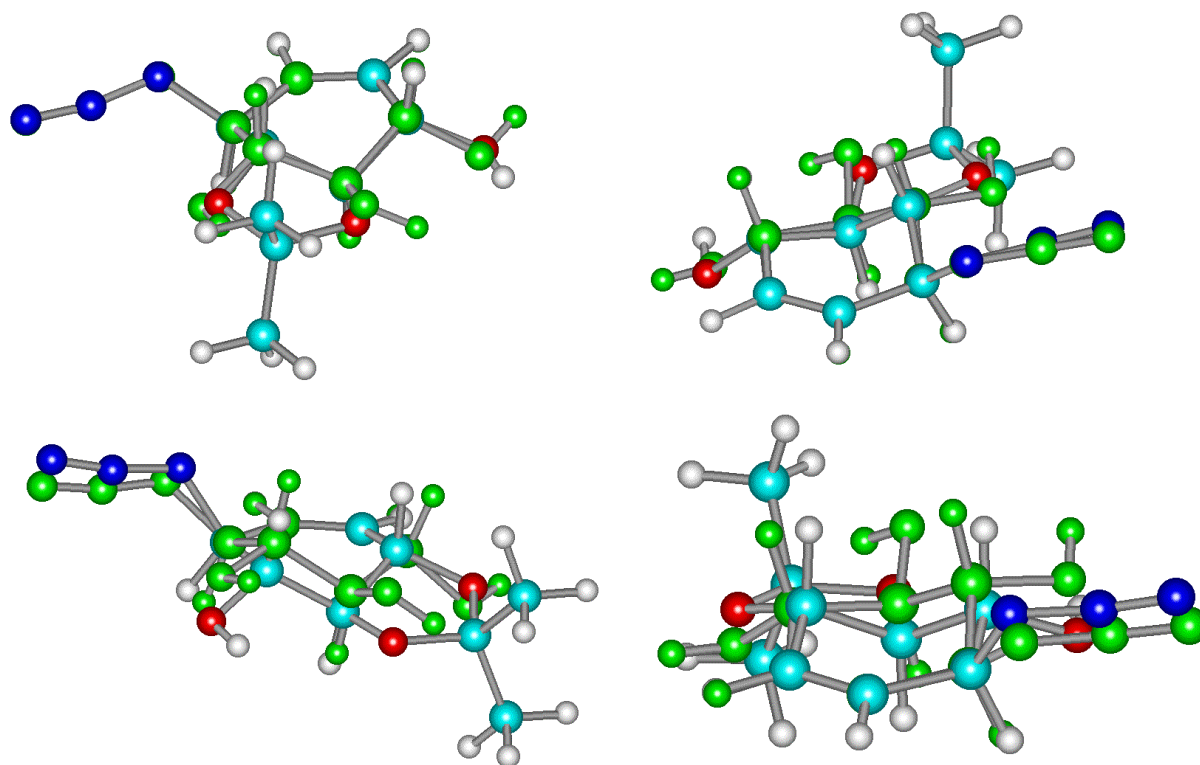


**Abbildung 36:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **129**.

Charakteristisch ist das Singulett der Methoxy-Gruppe bei 3,28 ppm, sowie das Auftreten von vier Methylgruppen bei 1,39; 1,41; 1,44 und 1,45 ppm. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind zwei quartäre Kohlenstoffe bei 101,2 und 110,9 ppm zu beobachten, das Signal der Methoxy-Gruppe liegt hier bei 49,2 ppm. Behandlung des Produktes mit Essigsäureanhydrid und Pyridin führte zu keiner Veränderung, so daß das Vorliegen freier Hydroxy-Gruppen ausgeschlossen werden konnte.

Die Bildung dieses unerwünschten Nebenproduktes stellt kein Problem dar, da es innerhalb kurzer Zeit durch Behandeln mit katalytischen Mengen *p*-Toluolsulfonsäure in Aceton in **127** überführt werden kann.

Durch *Dichtefunktionaltheorie*-Berechnungen mit dem Programm GAUSSIAN 98<sup>59</sup>, die freundlicherweise von A. P. Ligon durchgeführt wurden, konnte die zunächst überraschende Bildung nur eines Regioisomers rationalisiert werden. Bringt man die berechneten Strukturen für **127** (gebildet) und **128** (nicht gebildet) mit der des Edukts **126** (grün) zur Deckung, so ergibt sich folgendes Bild (Abbildung 37) (Überlappung an der C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-Achse):



**Abbildung 37:** A: Überlappung des gebildeten Produkts **127** mit dem Edukt **126** (grün)  
B: Überlappung des nicht gebildeten Produkts **128** mit dem Edukt (**126**) (grün).

Wie ersichtlich wird, ist die Ringgeometrie des Cyclohexenrings bei Schützung der OH-Gruppen in 2- und 3-Position nahezu unverändert. Die Anbringung der Isopropyliden-Gruppe erfordert lediglich ein leichtes Aufdehnen der Winkel (C1-C2-O) bzw. C4-C3-O). Um die Schutzgruppe in 3- und 4-Position anzubringen, muß sich hingegen der Cyclohexenring verzerren. Dabei wird das C-3 nach unten, das C-4 nach oben verschoben. Die verzernte Bootstruktur ist in Abbildung 37 B gut erkennbar. Die so ermittelten Resultate stehen in guter Näherung zu zuvor durchgeführten semiempirischen PM3-Berechnungen mit dem Programm HYPERCHEM.

Diese ohnehin vorhandene Begünstigung der 2- und 3-Schützung wird verstärkt durch das Auftreten von DMP-Monoacetalen (siehe Schema 44). Das sperrige Monoacetal ist in C-4-Position der Doppelbindung benachbart und ist somit keinerlei sterischen Einflüssen ausgesetzt. In C-2-Position wäre aber eine Azidgruppe benachbart, was zu sterischen Wechselwirkungen führen kann. Diese Annahme wurde durch semiempirische PM3-Berechnungen gestützt (nicht gezeigt).

Bei den Berechnungen mit GAUSSIAN 98 konnten auch die molaren Bildungsenthalpien erhalten werden. Die auf diese Weise erhaltenen Werte weisen eine hohe Genauigkeit bei einem Fehler von maximal 5 % auf, weshalb sie eine verlässliche Größe zur Beurteilung von Gleichgewichtsreaktionen bilden. Berücksichtigt werden muß allerdings, daß die Berechnungen für eine Temperatur von 25 °C im Vakuum durchgeführt wurden.

Um Rückschlüsse auf die Reaktionsenthalpien ziehen zu können, mußten zusätzlich die weiteren bei der Reaktion auftretenden Moleküle (2,2-Dimethoxypropan und Methanol) berechnet werden. Durch Bildung der Differenzen der aus diesen Berechnungen erhaltenen Energiewerten konnten die beiden Reaktionsenthalpien für die Reaktion von **126** zu **127** (Reaktion A) und zu **128** (Reaktion B, nicht beobachtet) ermittelt werden. Die Berechnungen wurden für 25° im Vakuum durchgeführt. Durch Einsetzen dieser Werte in die Boltzmann-Gleichung (Abbildung 38) können die Gleichgewichtskonstanten berechnet werden und aus diesen wiederum das Produktverhältnis der Reaktion.

$$k = e^{-\frac{\Delta G}{RT}}$$

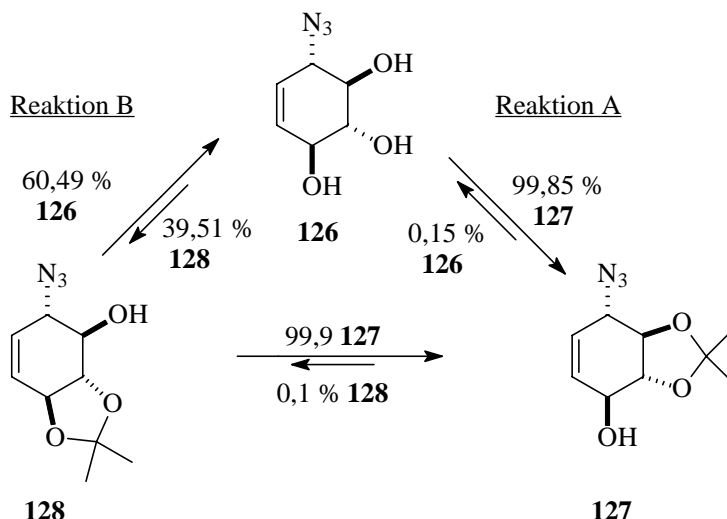
**Abbildung 38:** Boltzmann-Gleichung.

Man erhält folgende Werte (Tabelle 5).

	Reaktion A	Reaktion B
Reaktionsenthalpie $\Delta H$ [kJ/mol]	+ 30,55	+ 47,35
freie Reaktionsenthalpie $\Delta G$ [kJ/mol]	-16,07	+ 1,06
Gleichgewichtskonstante k	653,43	0,65
Produktverhältnis Produkt : Edukt	99,85 % : 0,15 %	39,51 % : 60,49 %

**Tabelle 5:** Berechnete thermodynamische Größen für Reaktion A und B.

Daraus ergibt sich die in Schema 45 dargestellte Produktverteilung:

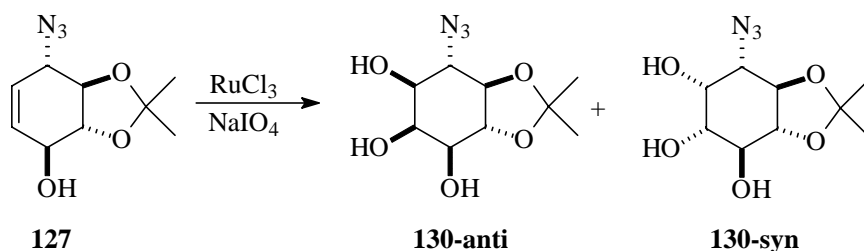


**Schema 45:** Gleichgewicht der erwarteten Produkte der Isopropyliden-Schützung von **126**.

Es wird deutlich, daß das Gleichgewicht nahezu quantitativ auf der Seite von **127** liegt. Dies entspricht den tatsächlich gemachten Beobachtungen.

Die so erhaltene Verbindung **127** weist eine freie OH-Gruppe in Allylposition auf, was zahlreiche regioselektive Reaktionen mit der Doppelbindung durch deren dirigierenden Effekt (z.B. Sharpless-Epoxidierung, Henbest-Regel) ermöglichen sollte.

Dihydroxylierung von **127** mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat, wie oben beschrieben, führte zu einem Produktgemisch, das die beiden möglichen Diastereomere **130-anti** und **130-syn** in einem Verhältnis von 2:1 enthielt (Schema 46).

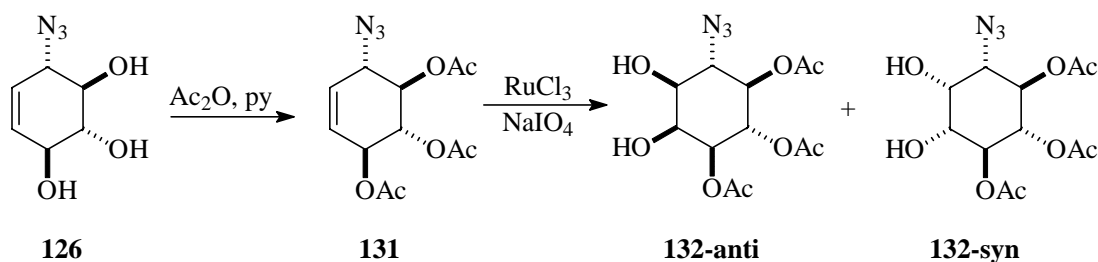


**Schema 46:** Dihydroxylierung von **127** unter Bildung von **130-anti** und **130-syn**.

Diese, sowie die entsprechende acetylierte Stufe erwiesen sich jedoch als für eine Trennung nicht optimal geeignet. Sie stellen aber eine interessante Erweiterung in Bezug auf einfach darstellbare Substitutionsmuster azidosubstituierter Inositole dar.

#### 2.4.4.2.2 Überführung in eine acetylierte Verbindung

Acetyliertes **131** konnte einfach durch Behandeln von **126** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin erhalten werden. Die anschließende Dihydroxylierung führte zu den beiden Diastereomeren **132-anti** und **132-syn** im Verhältnis 2:3. Eine Trennung der Diastereomeren war aber auf dieser Stufe weder säulenchromatographisch, noch über Normalphasen- oder reversed-phase-HPLC zu erreichen.

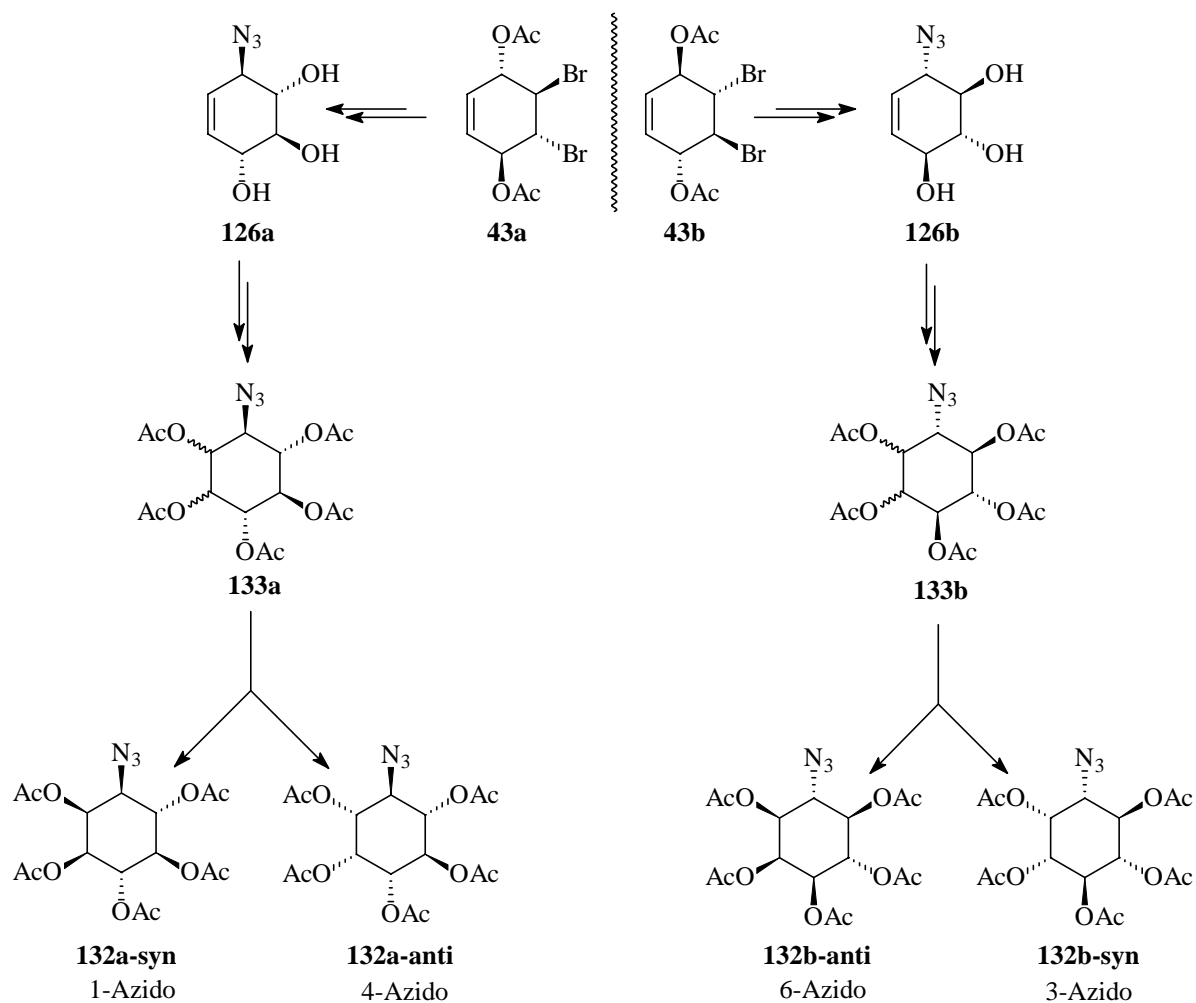


**Schema 47:** Darstellung des Diastereomerengemischs **132-anti** und **132-syn**.

Um die Polarität der Verbindung zu verringern, wurde das Diastereomerengemisch **132-anti** und **132-syn** an den beiden freien Hydroxygruppen isopropylidengeschützt bzw. erneut acetyliert. Es stellte sich heraus, daß das isopropylidengeschützte Gemisch ebenfalls nicht für eine Trennung geeignet war, die beiden pentaacetylierten Verbindungen **133-anti** und **133-syn** jedoch ausreichend unterschiedliches Laufverhalten zeigten. Eine präparative Trennung dieses Gemischs über HPLC war aber auch hier nicht zu erreichen. Die geringe Löslichkeit in zur Trennung geeigneten Laufmitten führte auch bei säulenchromatographischer Aufreinigung zu Problemen. Durch fraktionierte Kristallisation des Gemisches aus Ethanol konnte **133-syn** schließlich diastereomerenrein erhalten werden. In der Nachfällung konnte das im Unterschluß gebildete Diastereomer **133-anti** in einem Diastereomerenverhältnis von 3:1 erhalten werden; die dabei verbliebene Menge an **133-syn** konnte anschließend problemlos säulenchromatographisch abgetrennt werden.

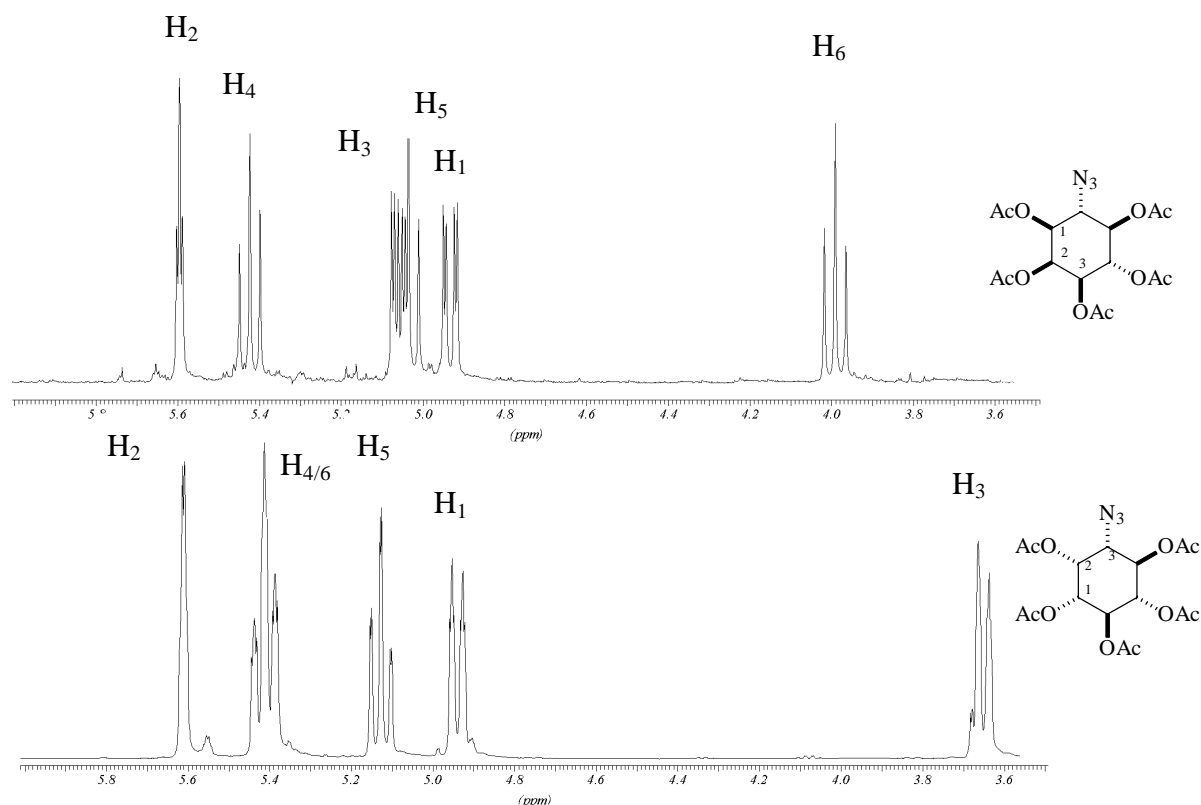
Somit konnte eine Möglichkeit eröffnet werden, beide Verbindungen diastereomerenrein auch in größeren Mengen (mehrere Gramm) zugänglich zu machen. Geht man von enantiomerenreinen Ausgangsverbindungen aus, so ist es somit möglich, Azidogruppen selektiv in 1-, 3-, 4-, oder 6-Position einzuführen, wie in Abbildung 39 gezeigt.





**Abbildung 39:** Mögliche Einbringung von Azidogruppen in Inositolgerüste.

Die Zuordnung der beiden Diastereomere war anhand von  $^1\text{H-NMR}$ -Experimenten leicht möglich. Da alle Hydroxy-Gruppen acetyliert vorliegen, erfahren die zugehörigen Ringprotonen eine Tiefeldverschiebung von ca. zwei ppm. Die beiden einzigen im Hochfeld verbleibenden Signale sind somit die der Azidogruppe benachbarten CH-Gruppen. Aufgrund der Lage der Azidogruppe zu der durch *cis*-Dihydroxylierung eingeführten Nachbar-OH-Gruppe spaltet dieses Signal in ein für das entsprechende Diastereomer charakteristisches Signal auf (Abbildung 40).

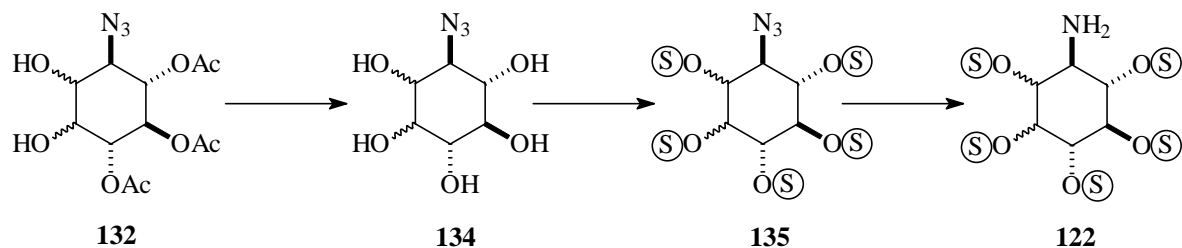


**Abbildung 40:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der beiden getrennten Diastereomere **133-anti** und **133-syn**.

Das Azid-Proton in **133-anti** weist zu beiden benachbarten Protonen *trans*-Kopplungen von  $^3J_{\text{H,H}} = 10,5$  Hz auf und erscheint somit als Pseudotriplett. Das Azid-Proton in **133-syn** hingegen erzeugt eine deutlich unterschiedliche *trans*- und *cis*-Kopplung von 10,7 bzw. 2,5 Hz. Letztere ist in dem oben abgebildeten Spektrum nicht aufgelöst, deshalb erscheint das betreffende Signal als Pseudodublett.

#### 2.4.4.3 Synthese des Amino-Inositolulfats **122**

Die Synthese des Aminosulfats **122** sollte, wie oben beschrieben, als Diastereomerenmischung erfolgen, aus diesem Grund konnte für die folgende Synthese von **132** ausgegangen werden (Schema 48).



**Schema 48:** Geplante Synthese von **122**.

Die nun durchzuführenden Reaktionsschritte sind Abspaltung der Schutzgruppen, Sulfatierung der Hydroxygruppen und anschließende Freisetzung des Amino-Funktion. Die Azido-Gruppe fungiert dabei, wie bereits beschrieben, als Schutzgruppe für die Amino-Funktion und verhindert so eine mögliche Sulfatierung dieser Gruppe.

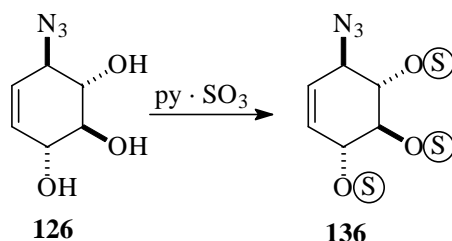
Die Abspaltung von Acetatgruppen kann auf vielfältige Weisen erreicht werden. Bei der Wahl der Entschützungsverfahren ist jedoch zu beachten, daß das entstehende Produkt **134** ein Azidopentol ist und somit nur schwerlich aus wäßrigen Reaktionslösungen zu extrahieren sein wird. Deshalb sollte eine Entschützungsverfahren verwendet werden, die auf die Verwendung wäßriger Lösungen verzichtet.

Die Freisetzung von **134** konnte durch Umsetzung von **132** mit Acetylchlorid in absolutem Methanol erreicht werden. Die bei der Methanolyse des Acetylchlorids freigesetzte Salzsäure katalysiert eine Umesterung der Acetat-Gruppen und bewirkt somit eine schnelle Freisetzung des Inositols.

**134** stellt in enantiomerenreiner Form einen wirksamen Inhibitor des Zellwachstums dar.<sup>109</sup> Da Tumorzellen häufig einen deutlich erhöhten Phospholipid-Stoffwechsel zeigen und diese Verbindungen diesen Stoffwechsel (selektiv) zu hemmen scheinen, könnten derartige Verbindungen neuartige Möglichkeiten bieten, das Wachstum von Krebszellen zu kontrollieren.

Zur Sulfatierung von Hydroxy-Gruppen stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. So wird beispielsweise die Verwendung von Chlorsulfonsäure zur Darstellung von Inositolhexakisulfat beschrieben.<sup>126</sup> Diese Reaktion konnte aber in eigenen Versuchen nicht in zufriedenstellenden Ausbeuten reproduziert werden. Alternativ einsetzbare Reagenzien sind Komplexe von Schwefeltrioxid mit verschiedenen Basen.<sup>127</sup> Da direkt eine fünffache Sulfatierung erreicht werden soll, muß eine hohe Ausbeute der Sulfatierungsreaktion

gewährleistet werden. Das Diastereomergemisch **134-syn** und **134-anti** erschwert eine NMR-spektroskopische Analyse des sulfatierten Rohprodukts, so daß als Testverbindung Triol **126** eingesetzt wurde (Schema 49).



**Schema 49:** Sulfatierung des Testsystems **126**.

Eine erfolgreiche Umsetzung konnte durch Umsetzung mit fünf Äquivalenten Pyridin-Schwefeltrioxid-Komplex pro Hydroxy-Gruppe erreicht werden. Eine Übertragung dieser Ergebnisse auf das Isomergemisch **132-syn** / **132-anti** war problemlos möglich.

Die online-Detektion der Verbindung mit dem standardmäßig verwendeten Yttrium-PAR-Komplex war nicht möglich, da die Sulfate zum einen im Vergleich zu den normalerweise vermessenen Phosphat-Gruppen stärkere Säuren darstellen und somit nicht leicht zu protonieren sind, zum anderen die Sulfatgruppen im sauren wesentlich hydrolyselabiler sind als die entsprechenden Inositolphosphate.

Alternativ wurden zahlreiche colorimetrische Nachweisverfahren zur Detektion von Sulfat auf deren Eignung hin überprüft; sämtliche Verfahren waren aber entweder nicht geeignet, auch kovalent gebundene Sulfate zu detektieren und / oder waren gegenüber pH-Einflüssen etc. sehr labil. Mit Pinakryptol-Gelb<sup>128</sup> konnte schließlich ein Farbstoff gefunden werden, der die Detektion von kovalent gebundenem Sulfat über Fluoreszenzmessung ermöglicht. Der Test ist nicht empfindlich auf freies Sulfat, so daß eine erfolgreiche Anbindung durch diesen Farbstoff überprüft werden konnte. Auf diese Weise konnte das Produkt durch reversed-phase-Dünnschichtchromatographie detektiert werden.

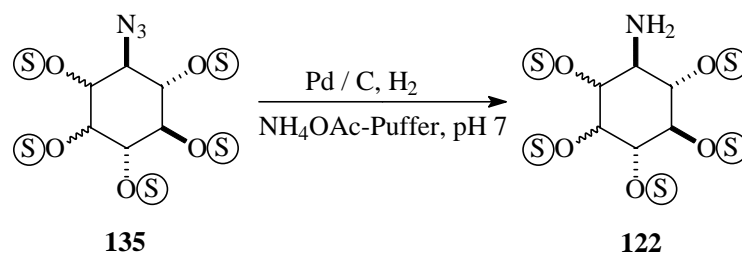
Die Abtrennung des bei der anschließenden Hydrolyse entstehenden Pyridiniumsulfats konnte durch ionenchromatographische Verfahren erreicht werden. Dabei stellte die Säurelabilität der Sulfatgruppen ein großes Problem dar. Nach zahlreichen Variationen des Elutionsmittels konnte eine Aufreinigung durch Auftragung auf DEAE-Spharose und Waschen mit 10 mM

Ammoniumacetat-Lösung erreicht werden. Die Substanz konnte schließlich mit 2.5 M Ammoniumacetat-Lösung wieder von dem Tauschermaterial eluiert werden.

Die vollständige Sulfatierung von **135** konnte zum einen massenspektrometrisch bestätigt werden, zum anderen zeigte das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum lediglich zwölf Signale der beiden Diastereomere, von denen die zwei Signale der Azid-Kohlenstoffe deutlich zu höherem Feld verschoben sind.

Abschließend mußte nun die Umwandlung der Azido- in eine Amino-Funktion erfolgen.

Da **135** durch die eingebrachten fünf Sulfatgruppen in organischen Lösungsmitteln nahezu nicht löslich ist, bot sich eine hydrogenolytische Reduktion in wäßrigem Medium an (Schema 50). Um einer eventuellen Hydrolyse von Sulfatgruppen vorzubeugen, wurde diese Hydrierung in einem Ammoniumacetatpuffer (pH 7) durchgeführt. Dieser Puffer hat den Vorteil, daß seine Bestandteile flüchtig sind und durch mehrfaches Aufnehmen des Reaktionsprodukts in Wasser und Lyophilisierung vollständig entfernt werden können.



**Schema 50:** Reduktion der Azidogruppe in **135**.

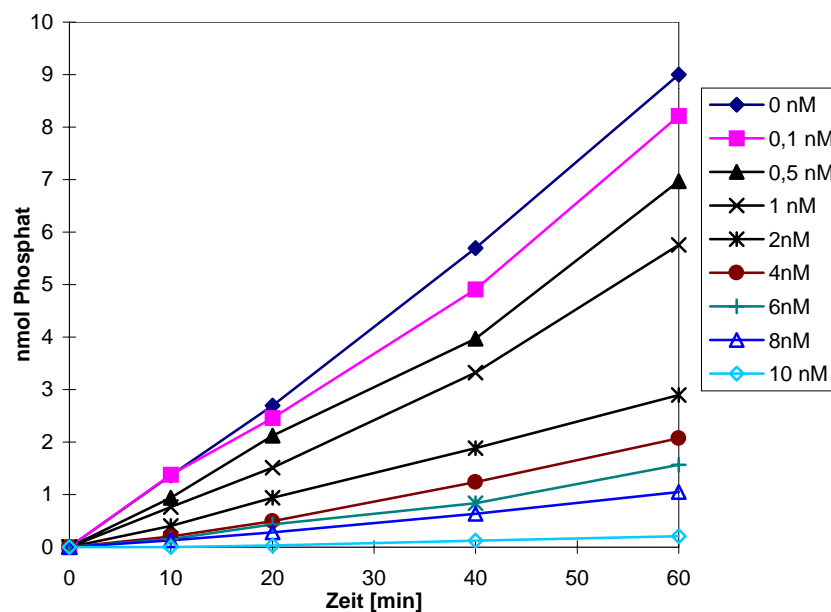
Eine erfolgreiche Umsetzung war im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum nur an der Veränderung der Differenz der chemischen Verschiebung von Amino- und den sulfatierten Kohlenstoff-Atomen auszumachen, da die Vermessung der Probe in  $\text{D}_2\text{O}$  durchgeführt wurde. Im IR-Spektrum konnte jedoch das Verschwinden der Azid-Bande gut erkannt werden.

### 2.4.5 Inhibierungsstudien

Sowohl das Azidosulfat **135** als auch das Aminosulfat **122** wurden von DALLMANN<sup>129</sup> auf ihre Wirkung als Enzyminhibitor getestet. Als Enzyme wurden die *InsP<sub>5</sub> / InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* (vergleiche Kapitel 2.6.1.1) und die *Phytase* aus *Dictyostelium discoideum* eingesetzt.

Dazu wurde die Inhibierung der Dephosphorylierung eines Testsubstrats (im Falle der *Phytase*  $\text{InsP}_6$ , im Falle der *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase*  $(\pm)\text{-Ins}(1,2,3,4)\text{P}_4$  ( $c = 2\text{mM}$ )), katalysiert durch das betreffende Enzym bei Zugabe einer bestimmten Menge **135** / **122** zu der Reaktionslösung, bestimmt. Die Bestimmung der Menge freigesetzten Phosphats erfolgte über eine colorimetrische Methode.

Während für die *InsP<sub>5</sub> / InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* keine Inhibierung beobachtet wurde, waren beide Verbindungen starke Inhibitoren der Phytase. Eine graphische Auftragung dieser Werte ergab folgendes Bild (Abbildung 41). Dazu wird mit der gemessenen Extinktionen zunächst mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes die Menge hydrolysierten Phosphats berechnet.



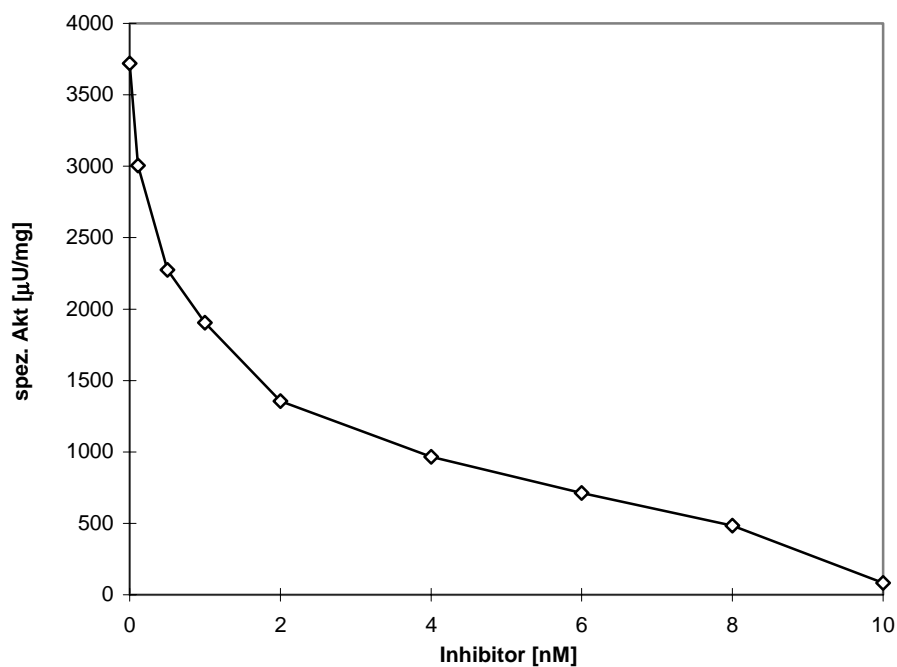
**Abbildung 41:** Inhibierung der Phosphatase-Aktivität bei der Phytase aus *Dictyostelium*.

Aus diesen Werten konnten die spezifischen Aktivitäten ermittelt werden, indem man die Steigung der einzelnen Funktionen im linearen Bereich durch den Enzymgehalt der verwendeten Lösung dividiert. Die Resultate sind in Tabelle 6 aufgeführt.

c( <b>135</b> ) [nM]	Spez. Aktivität [ $\mu$ U/mg]
0	3721
0,1	3004
0,5	2275
1	1904
2	1355
4	965
6	712
8	485
10	83

**Tabelle 6:** Inhibierung der *Phytase* durch **135**.

Trägt man diese spezifischen Aktivitäten gegen die InhibitorKonzentration auf, so ergibt sich der in Abbildung 42 gezeigte Verlauf.



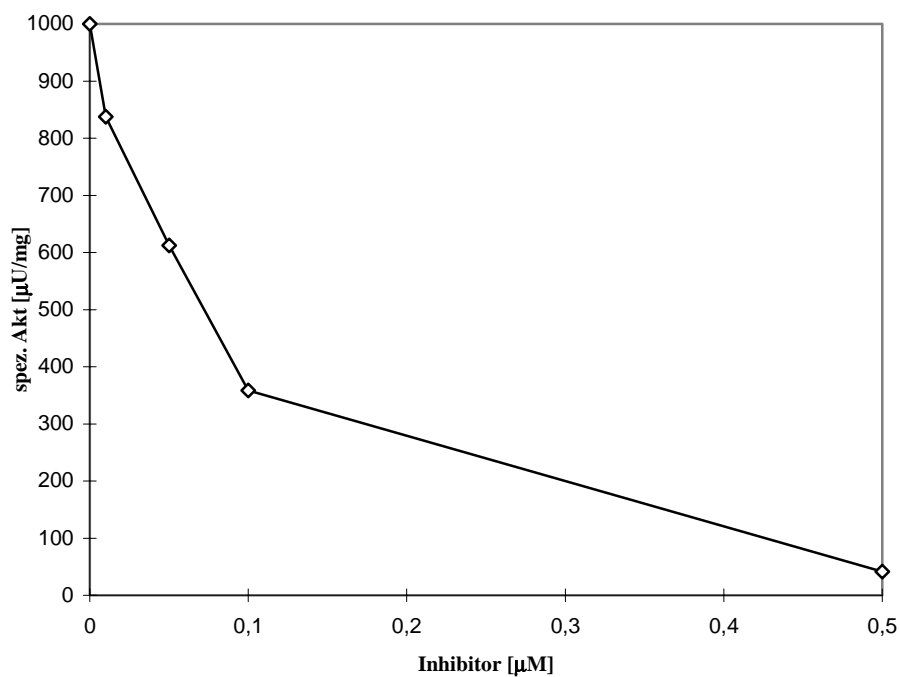
**Abbildung 42:** Graphische Auftragung der *Phytase*-Inhibierung durch **135**.

Der  $IC_{50}$ -Wert ist als die Inhibitorkonzentration definiert, bei der die ursprüngliche Aktivität auf die Hälfte reduziert worden ist. Hier kann dieser Wert zu ca. 1 nM abgeschätzt werden. Der von LAMMERTZ für Inositolhexakissulfat ermittelte  $K_i$ -Wert liegt bei ca.  $K_i (IS_6) \approx 20 \text{ nM}$ .<sup>130</sup>

Für die Aminoverbindung **122** wurden ähnliche Untersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und Abbildung 43 zusammengefaßt.

c( <b>122</b> ) [ $\mu\text{Mol}$ ]	Spez. Aktivität [ $\mu\text{U}/\text{mg}$ ]
0	1000
0,01	837,5
0,05	612,5
0,1	358,33
0,5	41,67

**Tabelle 7:** Phytase-Inhibierung durch **122**



**Abbildung 43:** Graphische Darstellung der Phytase-Inhibierung durch **122**.



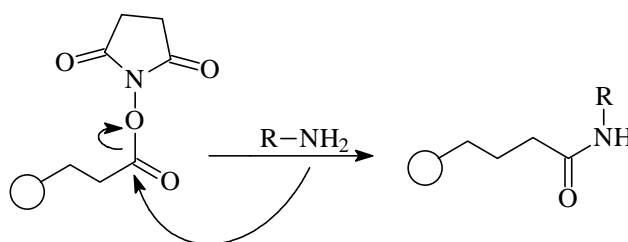
Der dargestellte Graph ist aufgrund der wenigen Meßpunkte mit Vorsicht zu interpretieren, erlaubt aber dennoch die Abschätzung des  $IC_{50}$ -Werts. Der für **122** erhaltene  $IC_{50}$ -Wert liegt mit ca.  $0,8 \mu M$  in einer für Affinitätsmaterialien weit geeigneteren Größenordnung als **135**. Die Affinitätsabschwächung könnte unter anderem auf eine Verringerung der Nettoladung des Moleküls (von  $InsS_6$  mit sechs negativen Ladungen über **135** mit fünf bis hin zu **122**, bei dem die Aminogruppe protoniert vorliegt und somit die Ladung auf vier reduziert wird) zurückzuführen sein.

Ist die Inhibierung zu stark, so kann die Anbindung des Enzyms so stark sein, daß eine spätere Elution problematisch sein könnte. Durch das Einbringen eines Spacers ist es wahrscheinlich, daß die Affinität erneut herabgesetzt und die Ablösung von der stationären Phase somit erleichtert wird.  $IC_{50}$ -Werte im mikromolaren Bereich ist jedoch als günstig anzusehen.

Will man einen  $K_i$ -Wert bestimmen, so muß man in Betracht ziehen, daß die Inhibierung des Enzyms auch von der gewählten Substratkonzentration abhängig ist. Nach DIXON<sup>131</sup> muß demzufolge auch eine Meßreihe bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen durchgeführt werden. Trägt man den Kehrwert der bei der Messung erhaltenen Geschwindigkeit gegen die verwendete Inhibitor-Konzentration auf, so ergeben sich zwei Geraden, in deren Schnittpunkt sich  $K_i$  befindet. Da in diesem Fall aber nur eine vorläufige Abschätzung des Inhibierungspotentials der synthetisierten Verbindungen erfolgen soll, ist die oben beschriebene Abschätzung von  $IC_{50}$ -Werten ausreichend.

#### 2.4.6 Anbindungsversuche

Zunächst wurde versucht, **122** an ein Trägermaterial kovalent zu binden, bei dem die Anbindungsstelle durch N-Hydroxysuccinimid-Gruppen aktiviert ist. Dabei wird N-Hydroxysuccinimid durch das anzubindende Teilchen (in diese Fall Aminosulfat **122**) nucleophil substituiert (siehe Schema 51 ).



**Schema 51:** Anbindung an Trägermaterialien mit N-Hydroxysuccinimid-Gruppen.

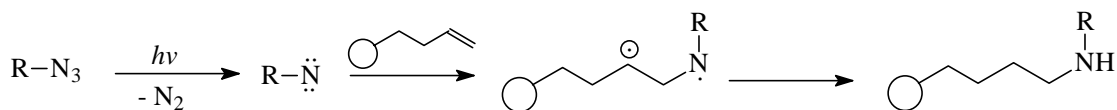
Bislang wurden von DALLMANN<sup>129</sup> zwei Vorversuche zur Anbindung durchgeführt. Dabei wurde **122** in einem Puffer (pH 9 und pH 11) gelöst und im Kreislauf über das Säulenmaterial geführt.

Problematisch ist, daß eine nucleophile Substitution nur erfolgen kann, wenn die Aminogruppe nicht protoniert ist. Die Reaktion muß somit im alkalischen Medium durchgeführt werden, wobei bei zu alkalischem pH auch die in hohen Konzentrationen vorliegenden Hydroxid-Ionen in einer Konkurrenzreaktion das Succinimid substituieren können und somit eine Anbindung von **122** verhindern würden. Eine Reaktionskontrolle erfolgte über die Inhibierung der in der Lösung verbliebenen **122**-Menge. In beiden Fällen konnte keine signifikante Anbindung beobachtet werden.

Für künftige Anbindungsversuche bieten sich aber noch eine Vielzahl von Variationsmöglichkeiten. So kann beispielsweise das Säulenmaterial variiert werden; ein anderes, häufig verwendetes Material besitzt terminale Epoxid-Gruppen zur Anbindung, die nucleophil geöffnet werden können. Durch Zugabe organischer Solventien wie Dimethylsulfoxid kann gegebenenfalls die Anbindung von **122** erleichtert werden.

Durch Arbeiten mit höheren Konzentrationen von **122** kann eventuell die Anbindung beschleunigt und so die Konkurrenzreaktion der Hydroxid-Ionen vermindert werden. Eine weitere, häufig verwendete Vorgehensweise bei Anbindungen an polymere Träger ist die Variation des Gegenions (z.B. quarternäre Ammoniumsalze wie Tetrabutylammonium als Kation)

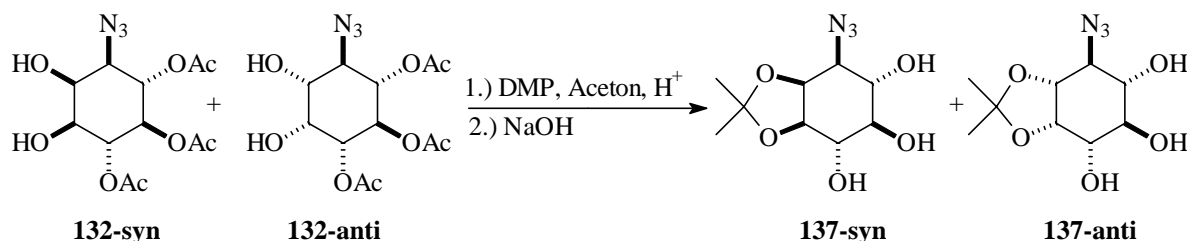
Sollten die Versuche, eine Anbindung über die Amino-Gruppe zu erreichen, nicht erfolgreich verlaufen, so besteht weiterhin die Möglichkeit, die photolabile Azidogruppe der Vorstufe **135** zu einer Anbindung zu nutzen. Durch Bestrahlung mit UV-Licht könnte diese unter Stickstoff-Abspaltung in ein Nitren überführt werden. Diese sehr reaktive Gruppe kann zu vielfältigen Bindungsknüpfungen, beispielsweise im Sinne einer radikalischen Addition an terminale Doppelbindungen genutzt werden (Schema 52). Die Regioselektivität dieser Reaktion führt zum *anti*-Markovnikov-Produkt, bei dem die Anbindung am terminalen Kohlenstoff-Atom erfolgt.



**Schema 52:** Anbindung an das Affinitätsmaterials über ein Nitren.

### 2.4.7 Weitere Derivate

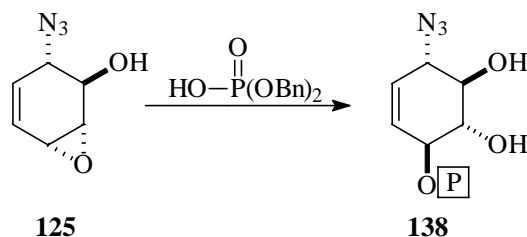
Die gezielte Einführung orthogonaler Schutzgruppen ermöglicht die Darstellung verschiedener, in Bezug auf die Hydroxy-Gruppen differenzierter Derivate, was für weitere Untersuchungen in Bezug auf Positionselektivität von Enzymen von großem Interesse sein dürfte. Durch die Darstellung des selektiv in 2- und 3-Position Isopropyliden-geschützten Derivats **127** konnte bereits eine Unterscheidung von zwei Hydroxy-Gruppen von den anderen Hydroxy-Gruppen im Ring erreicht werden (siehe Schema 46). Eine andere Zugangsmöglichkeit zu Derivaten, bei denen selektiv zwei Hydroxy-Gruppen des Inositolrings geschützt vorliegen und die anderen OH-Gruppen frei derivatisierbar sind, ist die Isopropylidenschütz von **132** (Schema 53).



**Schema 53:** Darstellung von in 1- und 2-Position (bzw. 2- und 3-Position) geschützten Azidoinsitolen.

Bei der alkalischen Aufarbeitung des Reaktionsgemischs wird mit 2 N Natronlauge ausgeschüttelt, was zu einer vollständigen Abspaltung aller Acetatgruppen führt. Die vollständige Hydrolyse aller Acetat-Gruppen konnte über das Fehlen einer Carbonylschwingung im IR-Spektrum bestätigt werden. Auf diese Weise steht bereits eine breite Palette von Azidoinsitolen mit unterschiedlichen Substitutionsmustern zur Verfügung. Auch die direkte Einführung einer Phosphatgruppe in der der Azidogruppe gegenüberliegenden Position konnte einfach erreicht werden. Dazu wurde das Allylepoxyd

**125** mit Dibenzylphosphat in Dichlormethan geöffnet. Man erhielt das gut kristallisierende Azidophosphokonduritol **138** (Schema 54).



**Schema 54:** Darstellung von Azidophosphat **138**.

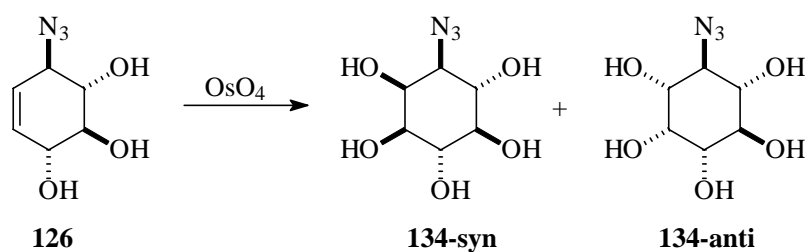
Über diese Verbindung sollten sich verschiedene Aminoinositolphosphate darstellen lassen, die über die Aminogruppe beispielsweise mit Photoaffinitäts-Labeln verknüpft werden können. Auch die Darstellung von Affinitätsmaterialien zur Chromatographie ist denkbar.

#### 2.4.8 Bewertung des Synthesekonzepts

Abschließend läßt sich sagen, daß die hier bearbeitete Thematik einen flexiblen und gut praktikablen Zugang zu zahlreichen, definiert derivatisierten Azido- und Amino-Inositol-Derivaten darstellt.

Die Vorteile der hier beschriebenen Route liegen vor allem in ihrer großen Flexibilität, da Azidogruppen selektiv in 1-, 3-, 4- und 6-Position eingeführt werden können. Desweiteren konnte durch die Einführung verschiedener Sätze von orthogonalen Schutzgruppen eine variable Differenzierung von OH-Gruppen demonstriert werden, was die Darstellung spezifisch substituierter Inositolssysteme ermöglicht.

Zudem ist der Enantiomerenüberschuß bei der von NICOLSI<sup>114</sup> beschriebenen Methode mit >95 % ee geringer als bei der hier präsentierten. Beide Routen benötigen bis zur Stufe der Azidopentaacetate sechs Stufen, wobei auf der hier beschriebenen die Acetylierung des Azidotriols **126** vermieden werden kann, wenn zur *cis*-Dihydroxylierung Osmiumtetroxid verwendet wird. Auf diese Vorgehensweise wurde, trotz ihrer generellen Praktikabilität, verzichtet, auch wenn ihre Durchführbarkeit aufgrund des geringeren sterischen Anspruchs der Allylsubstituenten möglich war (Schema 55). Die kurze Reaktionsdauer der „Bitz-Dihydroxylierung“ und deren gute Ausbeuten kompensierten jedoch den Mehraufwand einer Stufe. Bei Verwendung von Osmiumtetroxid zur Dihydroxylierung von **126** wurden beide Azidopentole im Verhältnis 1:1 gebildet.



**Schema 55:** Dihydroxylierung von Azidotriol **126** mit Osmiumtetroxid.

Ein weiterer Vorteil der in diesem Kapitel beschriebenen Route ist, daß nur einmal eine Trennung von Diastereomeren erfolgen muß. Auf der von NICOLosi beschriebenen Route entstehen sowohl zwei Regioisomere bei der Epoxidöffnung als auch bei der *cis*-Dihydroxylierung.

Die Methode von NICOLosi stellt allerdings eine gute Möglichkeit zur Darstellung von 5-Azido- und 5-Aminoinositolen dar, die auf dem oben beschriebenen Zugang nicht ohne weiteres zugänglich sind.

## 2.5 *Synthese von Inositolphosphaten über Desymmetrisierung*

### 2.5.1 *Konzeption*

Wie in den Kapiteln 2.2 und 2.3 gezeigt werden konnte, sind über verschiedene  $C_2$ -symmetrische Verbindungen eine große Anzahl von Inositolphosphaten schnell und effektiv zugänglich. Dennoch birgt dieses Konzept der paarweisen Differenzierung in sich auch eine gewisse Limitierung, die in seinem Grundprinzip verankert ist. Da die Einführung von Nucleophilen und die Modifikation der Konduritol-OH-Gruppen nur paarweise möglich ist, kann zwischen diesen Positionen nicht differenziert werden. Dieser Nachteil wird durch den Zugriff auf beide Enantiomere teilweise kompensiert (vergleiche auch Abbildung 10 auf Seite 16); dennoch bleibt eine Begrenzung auf bestimmte Substitutionsmuster bestehen.

Das unter 2.4.3 beschriebene Konzept der Desymmetrisierung ist keinesfalls auf substituierte Inositole beschränkt. So ist es denkbar, durch Differenzierung von 1- und 4-Position (bzw. 3- und 6-Position zwei orthogonal geschützte Alkoholfunktionalitäten einzuführen (oder auch eine geschützte und eine freie OH-Gruppe). Diese Vorgehensweise würde die paarweise Differenzierung aufheben und somit die Anzahl darstellbaren Inositolphosphate drastisch erhöhen.

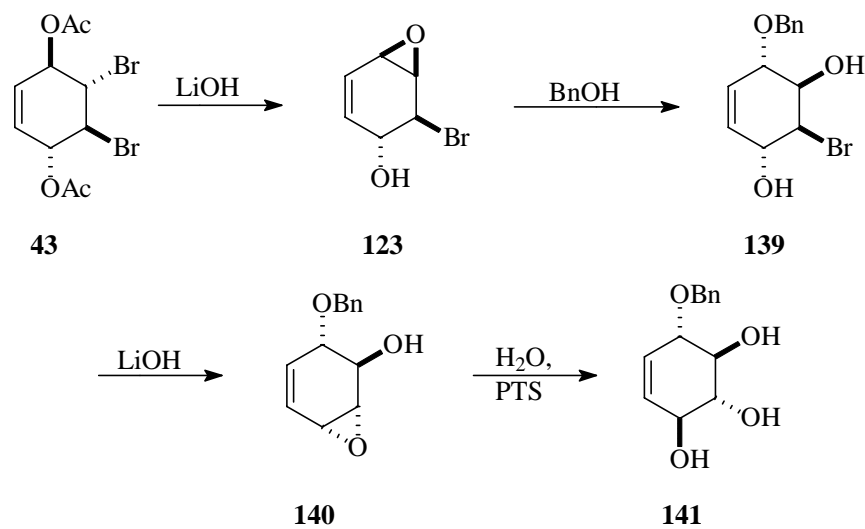
Das Problem der Regioisomerentrennung kann bei der Darstellung hochphosphorylierter Inositolphosphate (mit drei oder mehr Phosphat-Gruppen) oftmals auf der Stufe der freigesetzten Inositolphosphate geschehen. Durch die Anwendung präparativer Trennungen auf einer HPLC-Anlage mit einer Mono-Q-Säule können so auf einem Syntheseweg direkt zwei Inositolphosphate erhalten werden. Es sollten sich aber auch, falls erforderlich, zu der Azido-Route analoge Trennverfahren über Kristallisation und / oder Chromatographie an Kieselgel etablieren lassen.

Aufgrund der guten Erfahrung mit der sauer katalysierten Epoxidöffnung mit Wasser sollte zunächst eine geschützte Alkoholfunktionalität eingebracht, anschließend das zweite Epoxid generiert und dieses schließlich mit Wasser geöffnet werden.

Es muß dabei eine Schutzgruppe gewählt werden, die sowohl unter den basischen Bedingungen der zweiten Epoxid-Bildung, als auch unter sauren Bedingungen, beispielsweise

bei späteren Phosphorylierungen stabil ist und über einen nucleophilen Angriff einführbar ist. Es bietet sich die Nutzung von Benzylgruppen an, da diese zudem am Schluß der Synthese hydrogenolytisch entfernbare sind und somit keine Reaktionsbedingungen erfordern, die eventuell zur Abspaltung von eingeführten Phosphatgruppen o. ä. führen könnten.

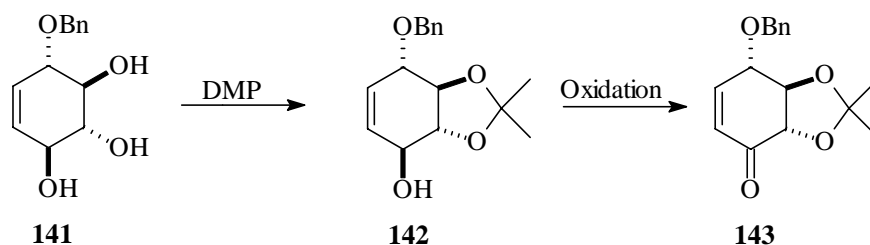
Aus den bei 2.4.4 gemachten Beobachtungen war zu erwarten, daß man auf ähnliche Weise ein monobenzylisiertes Konduritol-B-Derivat **141** darstellen können sollte (Schema 68).



**Schema 56:** Darstellung von Konduritol-B-Derivat **141**.

Das Interesse von BRAUN an Michael-Systemen, die denen aus der Ferrier-Umlagerung entstehenden Produkten entsprechen, führte zu einer Zusammenarbeit auf diesem Gebiet.

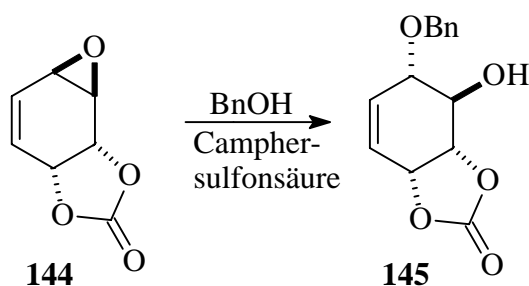
Eine Isopropyliden-Schützung von **141** sollte ebenfalls analog zu **126** das in Allylposition ungeschützte **142** ergeben, daß durch Oxidation in ein Michael-System überführbar sein sollte (Schema 57).



**Schema 57:** Darstellung eines Michael-Systems aus **141**.

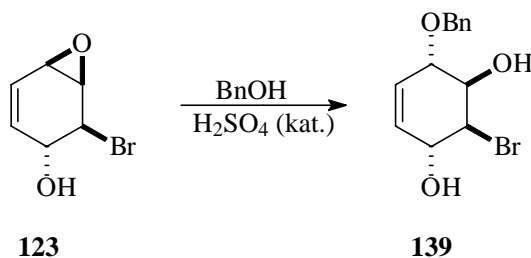
### 2.5.2 Synthese des Konduritol-B-Derivats 141

Ausgehend von **123** sollte zunächst das Allylepoxid durch Benzylalkohol nucleophil geöffnet werden. Da die Bildung des zweiten Epoxids vermieden werden muß, müssen hier im Gegensatz zur Bildung des Konduritols **80** saure Bedingungen verwendet werden. Von LEY<sup>132</sup> ist an einem ähnlichen System die sauer katalysierte Öffnung mit Benzylalkohol beschrieben worden. Als Hilfssäure verwendet LEY Camphersulfonsäure (0,2 Äquivalente) (Schema 58).



**Schema 58:** Öffnung von Allylepoxiden nach LEY.

Bei den von BRAUN und mir durchgeführten Versuchen an **123** konnte die von LEY an **145** beobachtete schnelle Epoxidöffnung nicht beobachtet werden. Auch bei erhöhten Temperaturen betrug die Reaktionszeit mehrere Tage. Die Verwendung von *p*-Toluolsulfonsäure<sup>52</sup> erbrachte ebenfalls keine verbesserten Resultate. Durch Zugabe geringer Mengen Schwefelsäure konnte allerdings bereits nach zwei Tagen vollständiger Umsatz festgestellt werden (Schema 59). Die geringe Nucleophilie des eingesetzten Benzylalkohols scheint die Aktivierung durch eine starke Säure zu erfordern.

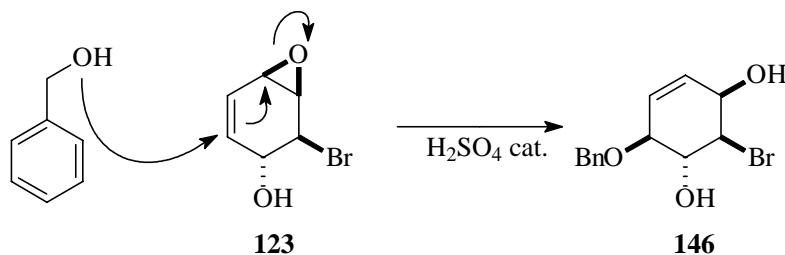


**Schema 59:** Öffnung von **123** mit Benzylalkohol.

Dabei war spektroskopisch neben dem Hauptprodukt eine zweite Verbindung zu beobachten, deren Anteil <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopisch zu 10 % abgeschätzt wurde und die im <sup>13</sup>C-NMR-

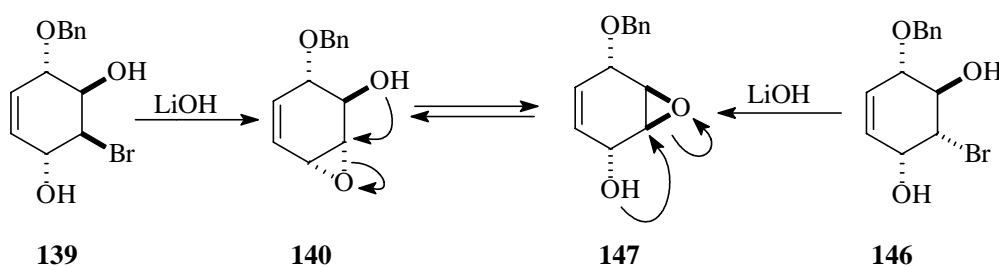


Spektrum einen Satz von Signalen erzeugt, der **139** sehr ähnlich sieht. Es handelt sich hierbei um das C-3-Epimere zu **139**, das durch  $S_N1'$ -Angriff des Benzylalkohols entsteht (Schema 60).



**Schema 60:** Bildung des  $S_N1'$ -Produkts **146**.

Durch Behandlung mit Lithiumhydroxid unter analogen Bedingungen, die auch zur Darstellung von **123** verwendet wurden, wurde anschließend Epoxid **140** erzeugt. Aus dem Produkt des  $S_N1'$ -Angriffs **146** entsteht unter diesen Bedingungen Epoxid **147**. Dieses könnte im Sinne einer Payne-Umlagerung zu **140** umlagern (Schema 61)

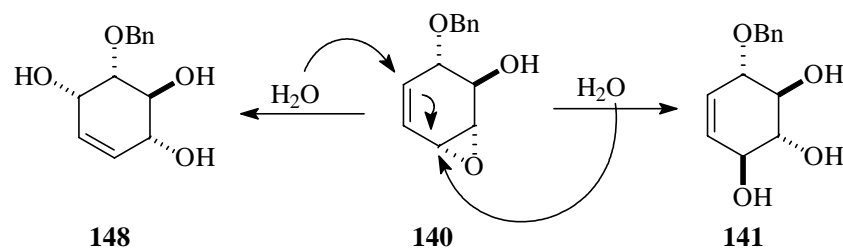


**Schema 61:** Darstellung des Epoxids **140**.

Die beiden Epoxide konnten zu analytischen Zwecken säulenchromatographisch getrennt und anschließend NMR-spektroskopisch charakterisiert werden. Dabei unterscheiden sich die beiden Verbindungen vor allem im Bezug auf die Epoxid-Kohlenstoffe; während bei **147** zwei Signale bei 52,0 und 53,9 ppm auftreten, die für Epoxide in gesättigten Systemen charakteristisch sind, erscheinen die Kohlenstoffsignale des Allylepoxids deutlich voneinander getrennt bei 46,9 und 57,9 ppm. Zudem kann im Falle von **140** im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eine Kopplung des Alkohol-Protons zum Ring beobachtet werden, die eine Bestimmung des zugehörigen Ringprotons ermöglicht. Durch Aufnahme von  $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ -NMR-Spektren konnte so eine vollständige Zuordnung aller Signale erfolgen und die Struktur von **140** bestätigt werden

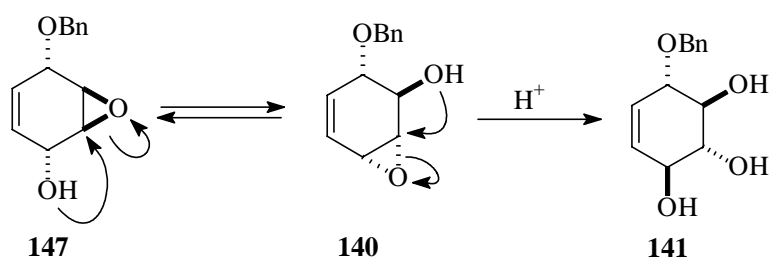
Die anschließende Öffnung des gebildeten Epoxid-Gemisches mit Wasser unter Katalyse von *p*-Toluolsulfonsäure erforderte aufgrund der durch die Benzylgruppe im Vergleich zu **126** stark verringerten Hydrophilie die Zugabe von Tetrahydrofuran zur Reaktionsmischung.

Durch Angriff von Wasser auf die Doppelbindung in **140** entsteht das  $S_N'$ -Produkt **148** (Schema 62).



**Schema 62:** Öffnung des Epoxids **140** mit Wasser.

Da die weit bevorzugte Öffnung des Epoxidgemisches durch Wasser in Allylposition des Epoxids **140** geschehen sollte, war anzunehmen, daß die Abreaktion eine Verschiebung des Gleichgewichts zugunsten von **140** bewirken sollte (Schema 63).



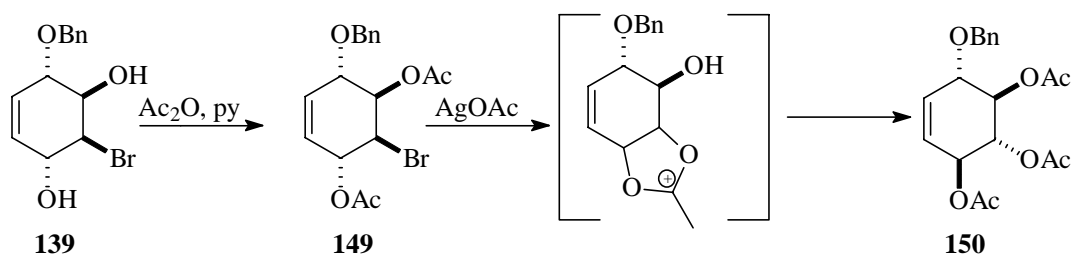
**Schema 63:** Geplante Payne-Umlagerung bei der Öffnung von **140** / **147** mit Wasser.

Auf diese Weise könnte das Epoxid **147** ebenfalls in Triol **141** überführt werden, die Bildung des  $S_N'$ -Produkts **146** bei der ersten Epoxidöffnung würde somit bedeutungslos werden. Die Ergebnisse der Versuche zur sauer katalysierten Epoxidöffnung zeigten jedoch, daß das nur bedingt der Fall ist. Das Auftreten von Nebenprodukten sowie der träge Reaktionsverlauf sprechen dafür, daß die Payne-Umlagerung zwischen **147** und **140** im sauren Medium zu langsam verläuft, um eine Verschiebung des Gleichgewichts zu bewirken. Dieses Resultat deckt sich mit den Ergebnissen, die bei der Synthese des Diphospho-Konduritols **45** gemacht wurden. Die geringe Umwandlungstendenz ermöglichte die chromatographische Trennung beider Epoxide, während der Trennung wurden nur geringe Mengen des jeweils anderen Epoxids nachgebildet.

**141** weist eine geringe Kristallisationstendenz auf, konnte jedoch unter Ausbeuteverlust aus Essigsäureethylester umkristallisiert werden.

Eine alternative Darstellung von **141**, bei der die Möglichkeit einer Payne-Umlagerung begünstigt wird, ist die Öffnung von **140** unter basischen Bedingungen. Auf diese Weise kann die Nucleophilie der Hydroxy-Gruppen durch Deprotonierung stark gesteigert werden; die Umlagerung wird dementsprechend begünstigt. Öffnung in 4N Natriumhydroxid-Lösung lieferte **141** in 74 % Ausbeute als farblosen Feststoff. Das Rohprodukt war lediglich durch eine weitere Verbindung verunreinigt; ihr Anteil betrug nach  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ca. 10 %. Nach den oben angestellten mechanistischen Überlegungen dürfte es sich um das Produkt des zweiten  $\text{S}_{\text{N}}'$ -Angriffs **148** handeln. Das Nebenprodukt konnte bei auf diese Weise hergestellten Ansätzen unproblematisch durch Umkristallisation beseitigt werden. So konnte ein gangbares Verfahren zur Darstellung des flexiblen Triolbausteins **141** entwickelt werden.

Eine weitere Möglichkeit, desymmetrisierte Konduritol-B-Bausteine herzustellen, bietet die Umsetzung des acetylierten **149** mit Silberacetat<sup>133</sup> in absolutem Eisessig (Schema 64). Durch den aktivierenden Effekt des Silbers substituiert die *trans*-ständige Acetatgruppe unter Ausbildung eines Acetoxonium-Ions das Bromid. Dieses Acetoxoniumion wird anschließend unter Inversion an diesem Zentrum von Essigsäure substituiert.



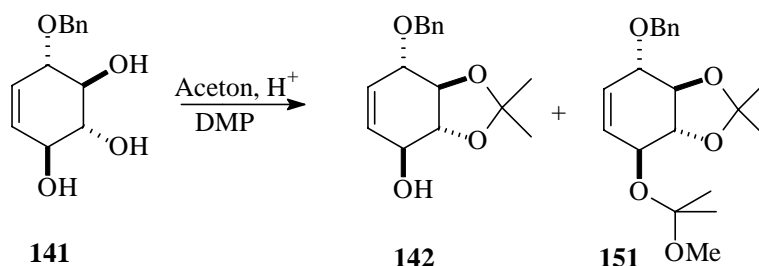
**Schema 64:** Umsetzung zu Triacetat **150** mit der Silberacetat-Methode.

Triacetat **150** konnte in 59 % Ausbeute als bräunliches Öl erhalten werden, das bei längerem Stehenlassen kristallisierte. Eine Aufreinigung des Produkts war auf dieser Route durch Umkristallisation aus Ethanol möglich.

### 2.5.3 Derivate von **141**

Die Isopropyliden-Schützung von **141** mit 2,2-Dimethoxypropan führte, wie bereits unter Kapitel 2.4.4.2.1 für **127** beschrieben, zur Bildung des 2,3-geschützten Derivats (Schema 65). Eine ähnliche Umsetzung des entsprechenden 1-Pivaloyl-Derivats wurde parallel zu den

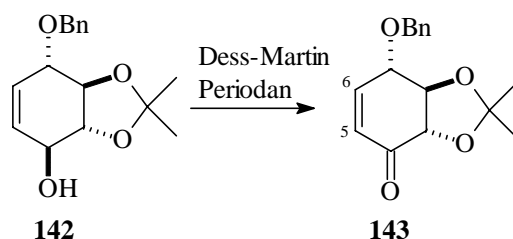
eigenen Arbeiten ebenfalls von TROST<sup>134</sup> bei Arbeiten zur Synthese von Cyclophellitol durchgeführt. Auch er gibt als Produkt der Acetonid-Schätzung die in 2- und 3-Position geschützte Verbindung an, führt aber weder spektroskopische Daten, noch eine Begründung für die Bildung dieses Produktes auf. Er verweist lapidar darauf, daß das Produkt „ausreichend charakterisiert“ wäre. Da aber die geometrischen Verhältnisse in diesem Falle mit denen des Azidprodukts vergleichbar sind, kann angenommen werden, daß die oben erzielten Resultate auf diesen Fall übertragbar sind.



#### Schema 65: Isopropylidenschätzung von Benzyltriol **141**

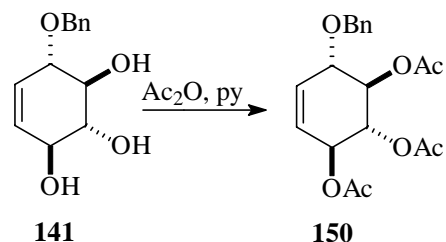
Auch hier wird unter den gewählten Reaktionsbedingungen in geringen Mengen als Nebenprodukt **151** beobachtet, bei dem die allylische Hydroxygruppe von Dimethoxypropan acetalisiert wurde. Wie oben beschrieben, kann der 2-Methoxypropanether in Allylposition schnell abgespalten werden, indem man die Substanz kurze Zeit in Aceton unter Säurekatalyse zur Reaktion bringt.

Die von BRAUN<sup>48</sup> nach einer von NICOLAOU<sup>135</sup> modifizierte Vorschrift zur Oxidation mit Dess-Martin-Reagenz durchgeführte Oxidation zum Michael-System **143** kann als endgültiger Beweis dieser Struktur angeführt werden. Die für Michael-Systeme charakteristische große Differenz der chemischen Verschiebungen der olefinischen Protonen (6,8 ppm für H-6 und 6,1 ppm für H-5) läßt keinen anderen Schluß zu.



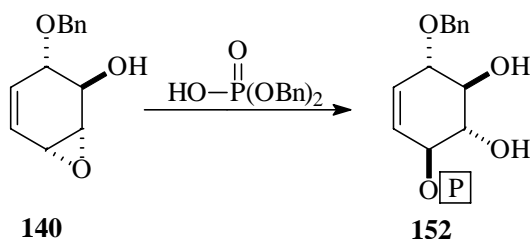
#### Schema 66: Oxidation von **142** nach BRAUN.

Das Triacetat **150** konnte auch aus dem Triol **141** durch Acetylierung in Pyridin und Essigsäureanhydrid einfach hergestellt werden.



**Schema 67:** Darstellung des Triacetats **150**.

Das Problem der Abtrennung unerwünschter Nebenprodukte konnte bei der Öffnung des Epoxids **140** durch Dibenzylphosphat (Schema 68) einfach gelöst werden. Durch die starke Kristallisationstendenz Dibenzylphosphat-substituierter Konduritole konnten alle entstehenden Nebenprodukte durch Umkristallisation aus Essigsäureethylester entfernt werden.

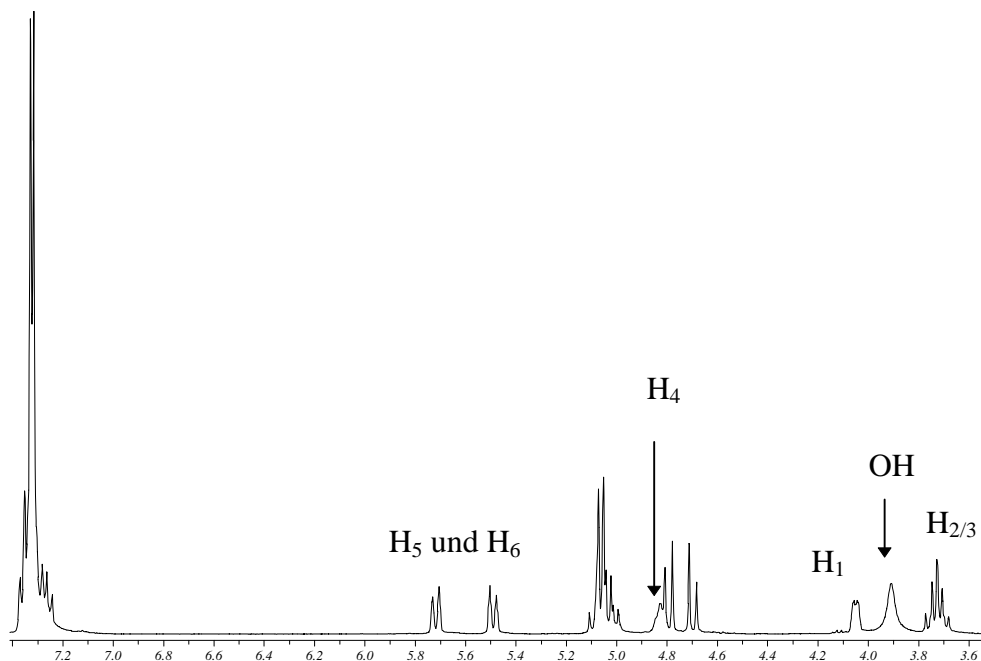


**Schema 68:** Öffnung von **140** mit Dibenzylphosphat.

Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **152** (Abbildung 44) sind deutlich die Signale der Doppelbindung bei 5,5 und 5,7 ppm zu erkennen. Neben dem AB-System der CH<sub>2</sub>-Gruppe des Benzylrests in 1-Position (4,7 ppm), erscheinen jetzt die vier weiteren Methylenprotonen des Phosphatrestes als Multipllett bei 5,1 ppm. Das Ringproton in C-4-Position ist aufgrund seiner Nachbarschaft zu der Phosphatgruppe um ca. 0,8 ppm zu H-1 tieffeldverschoben. Die beiden Protonen in 2- und 3-Position erzeugen ein Multipllett bei 3,4 ppm, die OH-Gruppen erscheinen als breites Signal bei 3,9 ppm.

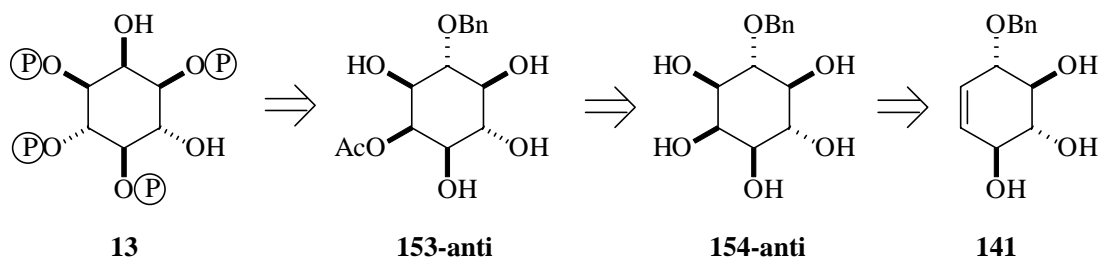
Der auf diese Weise einfach und frei von Nebenprodukten herstellbare, desymmetrisierte Baustein **152** enthält bereits eine geschützte Phosphat-Funktionalität. Er ermöglichte einen

direkten Zugang zu verschiedenen Inositolphosphaten, wie in den folgenden Kapiteln gezeigt wird.



**Abbildung 44:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **152**.

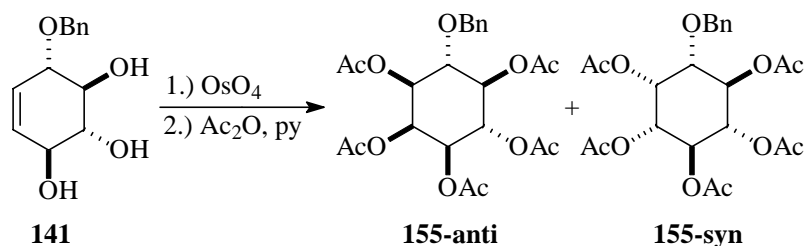
Weiterhin wurde versucht, Triol **141** direkt mit Osmiumtetroxid umzusetzen. Es ist aus Arbeiten von HUDLICKY<sup>136</sup> und anderen bekannt, daß Umsetzungen von ähnlichen Cyclohexenderivaten mit Osmiumtetroxid bei geringem sterischen Anspruch der allylständigen Substituenten erfolgreich durchgeführt werden können. Der unterschiedliche Anspruch dieser beiden Substituenten könnte eine Diastereoselektivität zugunsten des besser zugänglichen Produkts hervorrufen.



**Schema 69:** Retrosynthetische Betrachtung von ( $\pm$ )-Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13**).

Nach einer Reaktionszeit von fünf Tagen war kein Edukt mehr detektierbar. Die Aufarbeitung ergab ein Produktgemisch im Verhältnis von ca. 3:1 zugunsten des sterisch weniger abgeschirmten Pentols **154-anti**, bei dem die eingeführte *cis*-Diolenheit *trans* zur Benzylgruppe angeordnet ist. Die Abschätzung des Verhältnisses wurde durch vollständige

Acetylierung des Gemischs und Vergleich der beiden im Hochfeld verbliebenen Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum getroffen. Eine Extraktion des Pentolgemischs aus der Reaktionslösung ist aber aufgrund der Hydrophobie der Benzylgruppe unproblematisch möglich. Das im Vergleich zu der Dihydroxylierung von **152** mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat zum anti-Diastereomer verschobene Diastereomerenverhältnis kann sich im Bezug auf eine spätere Synthese von Ins(1,3,4,5) $\text{P}_4$  (**13**) als nützlich erweisen (vgl. Abschnitt 2.5.5)



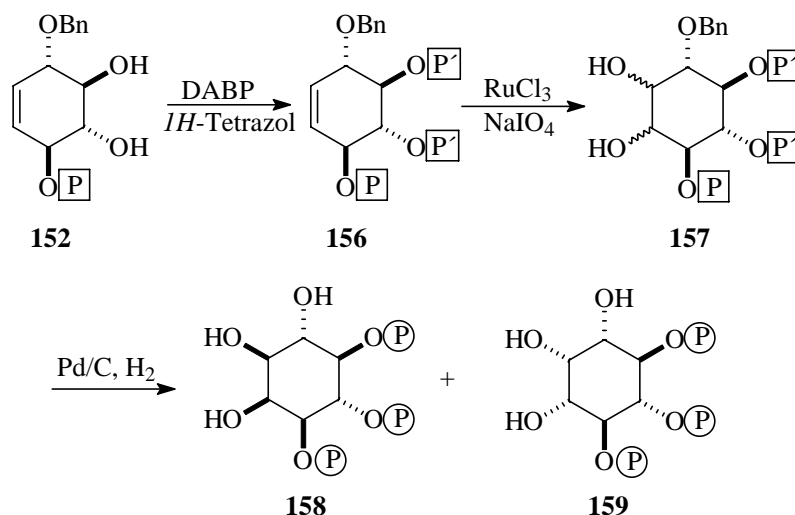
**Abbildung 45:** Direkte Dihydroxylierung von **141**.

Eine Trennung der penta-acetylierten Diastereomere **155-anti** und **155-syn** sollte nach dünnschichtchromatographischen Vorversuchen unproblematisch möglich sein, war aber für die hier vorgestellten Synthesen nicht erforderlich und wurde aus diesem Grund nicht präparativ durchgeführt.

#### 2.5.4 Darstellung von Ins(4,5,6) $\text{P}_3$ (**159**)

##### 2.5.4.1 Synthese

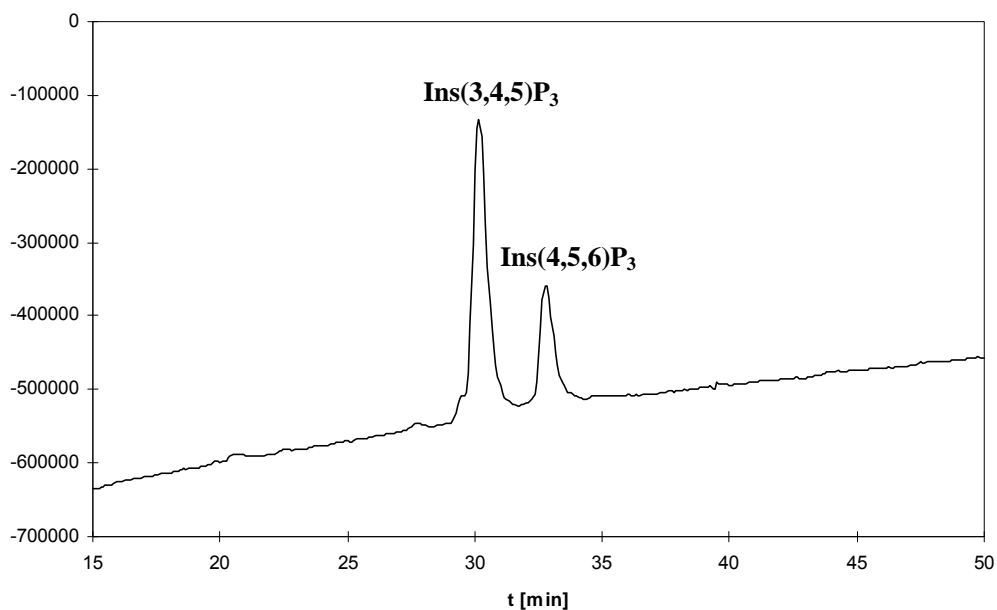
Die Synthese der *meso*-Verbindung Ins(4,5,6) $\text{P}_3$  konnte ausgehend von **152** realisiert werden (Schema 70). Dabei wurde **152** zunächst mit DABP phosphoryliert, anschließend die Doppelbindung mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat dihydroxyliert und schließlich das Diastereomergemisch durch Behandeln mit Palladium auf Kohle und Wasserstoff freigesetzt.



**Schema 70:** Darstellung von Ins(4,5,6)P<sub>3</sub> (**159**).

Das andere entstehende Regioisomer ist ( $\pm$ )-Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> (**158**). Diese Verbindung konnte im Verlauf dieser Arbeit auch in beiden enantiomeren Formen chemoenzymatisch synthetisiert werden; steht das verwendete Enzym aber nicht zur Verfügung, so kann diese Route auch als alternatives Darstellungsverfahren verwendet werden. Beide Regioisomere konnten auf einer Mono-Q-Säule unter Verwendung des sauren Systems problemlos voneinander getrennt werden, da **158** eine für InsP<sub>3</sub>-Isomere ungewöhnlich hohe Retentionszeit aufweist, die bereits in den für Inositoltetrakisphosphate typischen Bereich hineinspielt. Das HPLC-Chromatogramm des hier erhaltenen Produktgemischs ist in Abbildung 60 gezeigt. Es ist bemerkenswert, daß (auch wenn man die starke Komplexierungseigenschaften von **158** berücksichtigt) Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> (**158**) das bevorzugt gebildete Diastereomer darstellt. Dieses Resultat steht im Kontrast zu der Annahme, daß das Diastereomer bevorzugt gebildet werden sollte, bei dem die Dihydroxylierung von der besser zugänglichen Seite, d.h. von der Seite des kleineren Substituenten erfolgen sollte. Eine mögliche Erklärung bietet die Annahme, daß das Dibenzylphosphat flexibler ist als die Benzylgruppe und sich so von der Doppelbindung weg drehen kann. Eventuell kann man auch eine Wechselwirkung des Rutheniums mit der P=O-Bindung in Betracht ziehen, die das Reagenz auf die Seite des Phosphatrests dirigieren würde. Eine ähnliche Wechselwirkung wurde bereits für die Carbonylfunktionen des Diacetats **59** postuliert. Dieser Effekt begünstigt die Darstellung von Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13**), da dort das Diastereomer verwendet wird, bei dem die *cis*-Dioleinheit *trans* zu der Benzylgruppe eingeführt wurde.





**Abbildung 46:** HPLC-Chromatogramm des Diastereomerengemischs **158** und **159** (saures System).

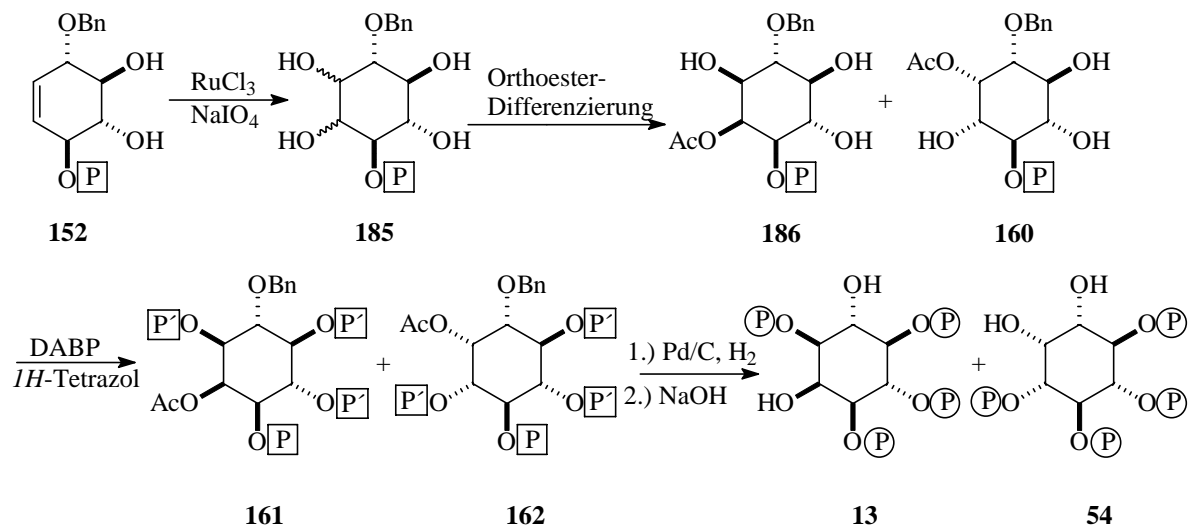
#### 2.5.4.2 Biologische Bedeutung

Ins(4,5,6)P<sub>3</sub> (**159**) ist eine Verbindung, die nach bisherigem Kenntnisstand nicht natürlich vorkommt. Für eine Untersuchung der Abhängigkeit der Komplexierungsfähigkeit von Inositolphosphaten mit drei benachbarten Phosphatgruppen (siehe Kapitel 2.6.1.3.3) war die Synthese dieses letzten fehlenden Isomers von Interesse.

#### 2.5.5 Darstellung von ( $\pm$ )-Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13**)

##### 2.5.5.1 Synthese

Ein besonders reizvolles synthetisches Ziel stellte das Tetrakisphosphat Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13b**) dar. Auch dieses Produkt konnte in racemischer Form ausgehend von **152** dargestellt werden. Nach Dihydroxylierung von **152** erhält man ein Gemisch der beiden Tetrole **185-anti** und **185-syn** im Verhältnis 1:2. Zu dessen Differenzierung kann die Orthoestermethode angewandt werden, die bereits zur Synthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) erfolgreich eingesetzt wurde. Dabei wird die jeweils einzige axiale Hydroxy-Gruppe als Acetat geschützt, die drei äquatorialen Hydroxygruppen bleiben frei. Auf diese Weise erhält man das Gemisch **161** und **162** in guter Ausbeute (Schema 71).



**Schema 71:** Darstellung von (±)-Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13**).

Eine Trennung der Isomere **161** und **162** über HPLC sollte möglich sein, war aber für die in diesem Rahmen durchgeführten Arbeiten nicht erforderlich.

Nach Phosphorylierung, Hydrogenolyse und alkalischer Verseifung der Acetatgruppe erhält man ein Gemisch aus (±)-Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54**) und (±)-Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13**), die ebenfalls unproblematisch über ionenchromatographische HPLC voneinander getrennt werden können.

Geht man von den enantiomerenreinen Bausteinen **152a** und **152b** aus, so sollte das Enantiomerenpaar Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> / Ins(1,3,4,6)P<sub>4</sub> unproblematisch zugänglich sein, was beispielsweise für die unten beschriebenen Untersuchungen zur Phytase aus *Dictyostelium* von Interesse ist.

### 2.5.5.2 Biologische Bedeutung

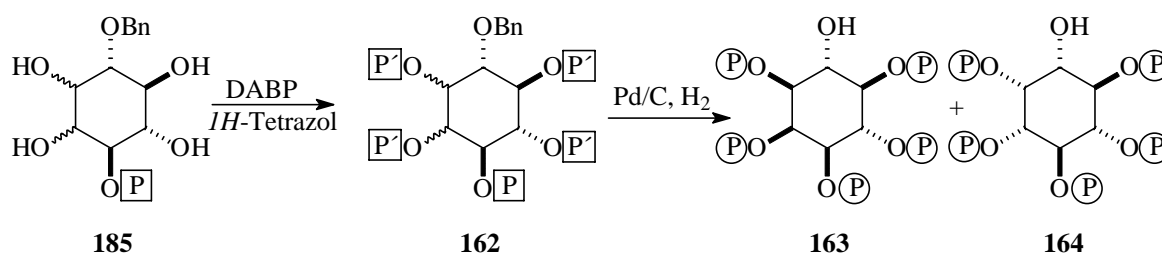
Neben Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) ist Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (**13b**) das wohl wichtigste Inositolphosphat, da für dieses Isomer zahlreiche Hinweise auf eine Funktion als second-messenger vorliegen. Die genaue Funktion und der Mechanismus sind bislang nicht entschlüsselt und stellen gegenwärtig einen Punkt großen wissenschaftlichen Interesses dar.

Das **13b**-erzeugende Enzym, die Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>-3-Kinase, ist eines der meistuntersuchten Enzyme des Inositolstoffwechsels. Verschiedene hochaffine Proteine für Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> wurden bislang isoliert und geklont, darunter GAP1<sup>IP4BP</sup> (IRVINE<sup>137</sup>) und p42<sup>IP4</sup> (REISER<sup>138</sup>). Von ZHU<sup>139</sup> wurde in einer kürzlich publizierten Arbeit die Abhängigkeit der Frequenz von Ca<sup>2+</sup>-

Oszillationen, die auf eine primär erfolgte  $\text{Ca}^{2+}$ -Freisetzung folgten, von  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$  beschrieben. Er folgert aus seinen Experimenten, daß  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$  eine Funktion als Frequenzregulator *in vivo* besitzt.

### 2.5.6 Synthese von $(\pm)\text{-Ins}(1,2,3,4,5)\text{P}_5$ (163) und $(\pm)\text{-Ins}(1,2,4,5,6)\text{P}_5$ (164)

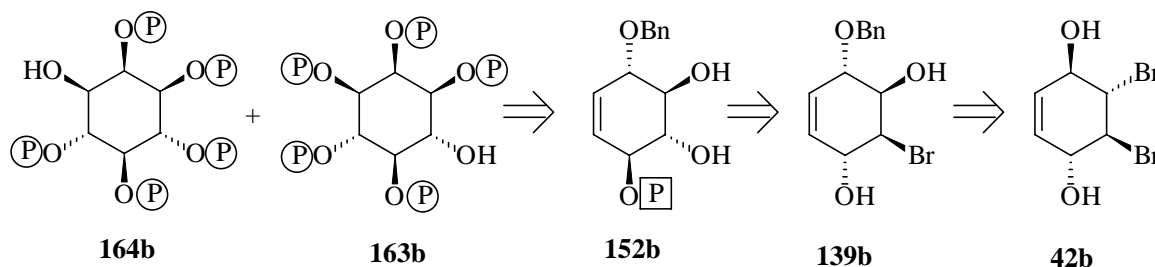
Der Zugang über Konduritol **141** bietet darüberhinaus eine ideale Ergänzung zu der Synthese des Inositolpentakisphosphats  $\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5$  (**68**), die in Kapitel 2.2.6 beschrieben wurde. Durch *cis*-Dihydroxylierung von **141**, anschließende Phosphorylierung und Hydrogenolyse sind die Diastereomerenpaare  $(\pm)\text{-Ins}(1,2,4,5,6)\text{P}_5$  und  $(\pm)\text{-Ins}(1,2,3,4,5)\text{P}_5$  (Schema 72). Die hier resultierenden Verbindungen können ebenfalls unproblematisch auf der Stufe der freigesetzten Inositolphosphate über HPLC getrennt werden.



**Schema 72:** Darstellung von Inositolpentakisphosphaten aus **141**.

Auch hier bietet der Einsatz enantiomerenreiner Edukte die Möglichkeit, einfach Zugang zu vier enantiomerenreinen  $\text{InsP}_5$ -Isomere zu erhalten.

Im Falle des erstgenannten Diastereomerenpaares  $\text{Ins}(1,2,4,5,6)\text{P}_5$  und  $\text{Ins}(1,2,3,4,5)\text{P}_5$  wäre dieses Ausgangsmaterial Dibromdiol **42a**; die retrosynthetische Betrachtung ist in Abbildung 47 aufgezeigt.



**Abbildung 47:** Retrosynthetische Betrachtung des Diastereomerenpaares  $\text{Ins}(1,2,4,5,6)\text{P}_5$  (**164b**) und  $\text{Ins}(1,2,3,4,5)\text{P}_5$  (**163b**).

Ausgehend von Diacetat **43b** wären die resultierenden Verbindungen folglich  $\text{Ins}(1,2,3,5,6)\text{P}_5$  und  $\text{Ins}(1,2,3,5,6)\text{P}_5$ .

Auf diese Weise können weitere vier der sechs möglichen InsP<sub>5</sub>-Isomere auf kurzen und effizienten Routen dargestellt werden; lediglich das in 5-Position unphosphorylierte Regioisomer ist durch das hier präsentierte Methodenspektrum nicht ohne weiteres darstellbar. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Durchführbarkeit dieser Route nur an racemischem Ausgangsmaterial demonstriert, die enantiomerenreine Darstellung dieser Verbindungen wird zur Zeit von PODESCHWA<sup>30</sup> weitergeführt.

## 2.6 Chemoenzymatische Synthesen

Enzyme sind als Werkzeuge zur enantioselektiven Synthese aus der Praxis präparativ-organischer Chemiker nicht mehr wegzudenken.<sup>140</sup> Aufgrund ihrer hohen Selektivität und Spezifität finden sie breite Anwendung, beispielsweise bei Racematspaltungen oder zur regio- und enantioselektiven Knüpfung von C-C-Bindungen, z.B. durch Aldolasen. Insbesondere in der Saccharidchemie sind Glycosyltransferasen<sup>141</sup> als echte Alternative zu „traditionell-chemischen“ Methoden anzusehen.

In der Synthese von Inositolphosphaten wurden Enzyme bislang vorwiegend zur Bereitstellung enantiomerenreiner Ausgangsmaterialien verwendet (vgl. Schema 2), weiterhin ist die Dephosphorylierung von InsP<sub>6</sub> zu  $\alpha$ -Trinositol (Ins(1,2,6)P<sub>3</sub>)<sup>142</sup> literaturbekannt. Regiospezifische Dephosphorylierungen in einer Position wurden bislang nicht beschrieben.

In Zusammenarbeit mit ADELTE konnte das Potential verschiedener Enzyme zur selektiven Darstellung von Inositolphosphaten ausgenutzt werden. Dazu wurden InsP<sub>4</sub>-Isomere, die zuvor in oben beschriebener Weise synthetisiert wurden, regioselektiv dephosphoryliert.

### 2.6.1 Reaktionen mit einer InsP<sub>5</sub> / InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase

#### 2.6.1.1 Charakteristika des Enzyms

Die *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* ist eine Phosphatase, die im cytosolischen Extrakt von *Dictyostelium discoideum* vorliegt. Sie besitzt ein pH-Optimum im schwach sauren Bereich (pH = 6,0) und zeigt eine breite Substrattoleranz. Zahlreiche InsP<sub>5</sub> und InsP<sub>4</sub>-Isomere werden zu Inositoltrisphosphaten dephosphoryliert. Die *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* weist einen

entscheidenden Unterschied zu der Klasse der Phytasen auf: Das Hauptsubstrat der Phytasen,  $\text{InsP}_6$ , wird von diesem Enzym nicht umgesetzt.

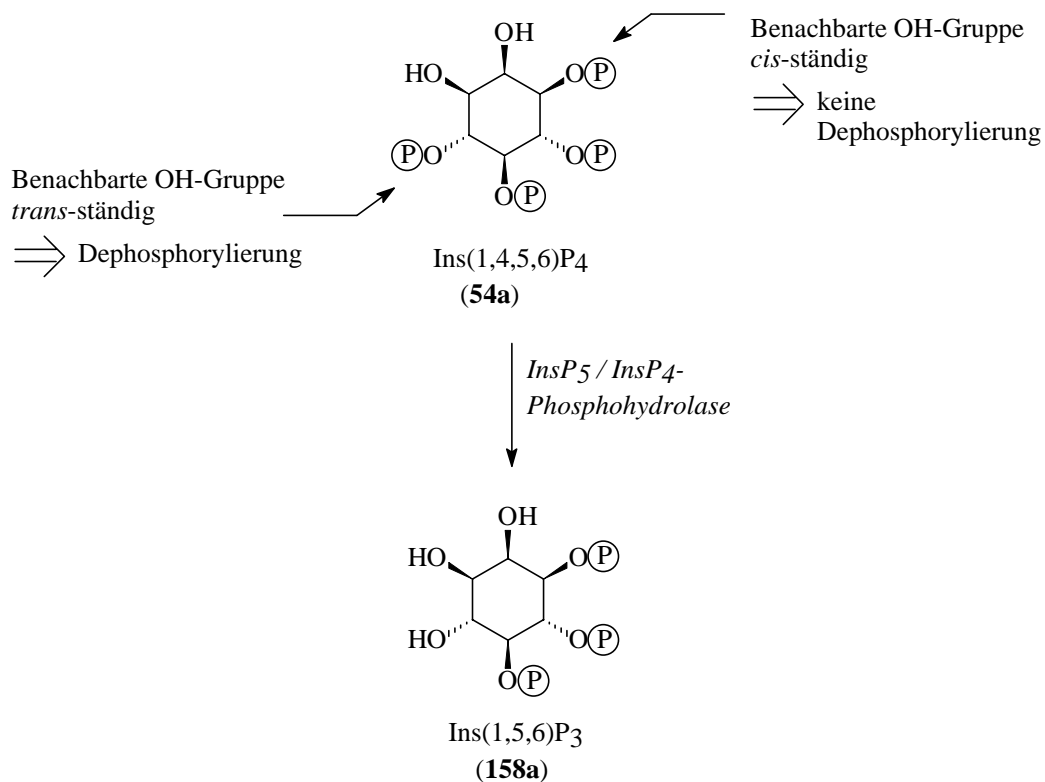
Die *InsP<sub>3</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* dephosphoryliert Inositoltrisphosphate wesentlich langsamer als  $\text{InsP}_4$ - oder  $\text{InsP}_5$ -Isomere. Das ermöglicht ihren präparativen Einsatz, da entstandene  $\text{InsP}_3$ -Isomere gut isoliert werden können.

Die *InsP<sub>3</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* zeigt weiterhin eine hohe Regiospezifität. Nach Untersuchungen von ADELT<sup>143</sup> werden für die Substraterkennung drei benachbarte Phosphatgruppen benötigt. Zudem muß neben der zu dephosphorylierenden Position eine freie, *trans*-ständige Hydroxy-Gruppe vorliegen.

#### 2.6.1.2 Darstellung von *Ins(1,5,6)P<sub>3</sub>* (**158a**) und *Ins(3,4,5)P<sub>3</sub>* (**158b**)

##### 2.6.1.2.1 Synthese

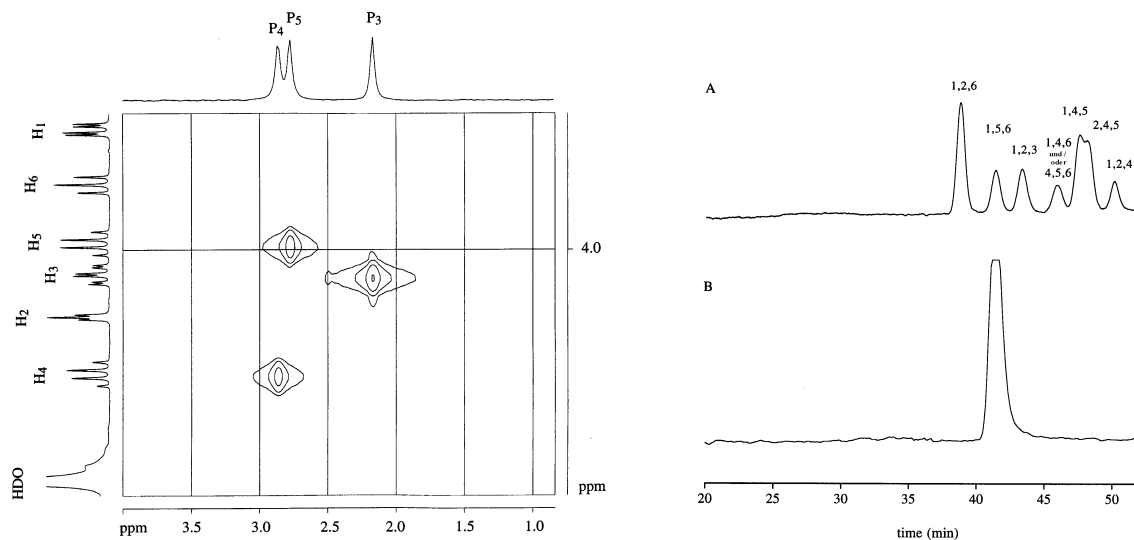
Die in Abschnitt 2.2.3 synthetisierten Inositoltrakisphosphate  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  (**158a**) und  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$  (**158b**) stellen aufgrund ihres Substitutionssystems ideale Substrate für den Einsatz in einer gezielten Dephosphorylierungsreaktion mit der *InsP<sub>3</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* dar (Abbildung 48).



**Abbildung 48:** Positionsspezifität der *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase*-Reaktion für **54a**.

So ist zu erwarten, daß die Umsetzung von Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) zu einer Dephosphorylierung in 4-Position und folglich zu Ins(1,5,6)P<sub>3</sub> (**158a**) führt. Die 1-Position kann nicht angegriffen werden, da sie der *cis*-ständigen 2-OH benachbart ist und die 6-Position phosphoryliert ist. Die anderen phosphorylierten Ringpositionen verfügen nicht über eine freie benachbarte OH-Gruppe. Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54b**) wird analog in 6-Position dephosphoryliert und ergibt Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> (**158b**).

Bei den enzymatischen Umsetzungen, die in Zusammenarbeit mit ADELTE durchgeführt wurden, wurden jeweils 15 µmol Substrat in einem Zeitraum von sechs Stunden umgesetzt. Dabei wurde das Substrat in mehreren Portionen zugegeben. Die Abreaktion wurde über einen Phosphat-Assay verfolgt und über HPLC-MDD kontrolliert. Die Reaktionslösung wurde ionenchromatographisch aufgereinigt, um verbliebenes InsP<sub>4</sub> und das entstandene Phosphat zu entfernen. Das synthetisierte Inositoltrisphosphat konnte in 70-80 % Ausbeute (entspricht 4-5 mg) isoliert werden. Die erwartete Positionsselektivität der enzymatischen Reaktion konnte durch NMR-spektroskopische Charakterisierung der erhaltenen Produkte bestätigt werden (Abbildung 49 a).

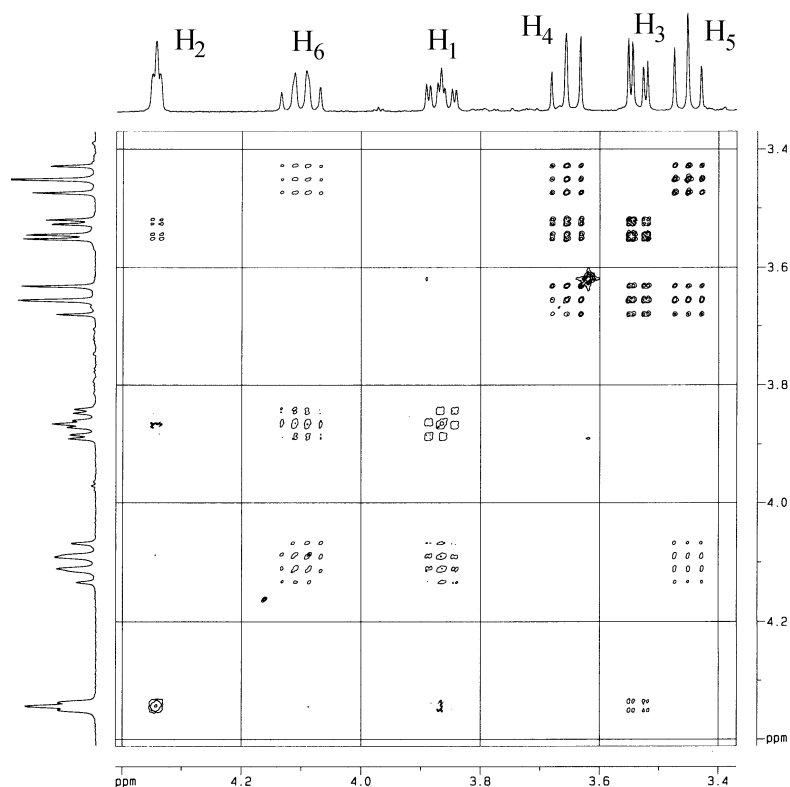


**Abbildung 49:**  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$ -COSY-NMR-Spektrum von  $\text{Ins}(3,4,5)\text{P}_3$  (**158b**) und HPLC-Kontrolle von  $\text{Ins}(1,5,6)\text{P}_3$  (**158a**)

Durch die hohe Trennleistung und Nachweisempfindlichkeit der HPLC-MDD-Methode konnte eine Isomerenreinheit des gereinigten Produkts von >99 % sichergestellt werden (Abbildung 49 b).

Interessant ist, daß beide Enantiomere mit nahezu identischer Geschwindigkeit umgesetzt werden. Ausführliche Untersuchungen von HANSEN<sup>144</sup> zur Umsetzung der hier synthetisierten Verbindungen lieferten in beiden Fällen ein  $V_{\text{MAX}}$  von 0,9  $\mu\text{M}/\text{min}$  und für  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  (**54a**) einen  $K_{\text{M}}$ -Wert von 120  $\mu\text{M}$ , im Falle des Enantiomers  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$  (**54b**) einen  $K_{\text{M}}$ -Wert von 110  $\mu\text{M}$ .

Die Dephosphorylierung von  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  (**54a**) zu  $\text{Ins}(1,5,6)\text{P}_3$  (**158a**) verläuft zwar deutlich schneller als die anschließende Weiterreaktion, dennoch wurde bei dieser Reaktion in geringen Mengen (ca. 10 %) auch ein Inositolbisphosphat gebildet, das bei der ionenchromatographischen Reinigung des Produktes isoliert werden konnte. Die Zuordnung über HPLC zeigte, daß es sich nicht um  $\text{Ins}(1,5)\text{P}_2$  oder  $\text{Ins}(5,6)\text{P}_2$  handeln konnte. Als einzig mögliches Produkt verblieb  $\text{Ins}(1,6)\text{P}_2$  (**165a**), was durch  $^1\text{H}$ -NMR-spektroskopische Untersuchungen bestätigt werden konnte (Abbildung 50). Die selektive Bildung nur eines Bisphosphats unterstreicht die Positionsspezifität der *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase*.



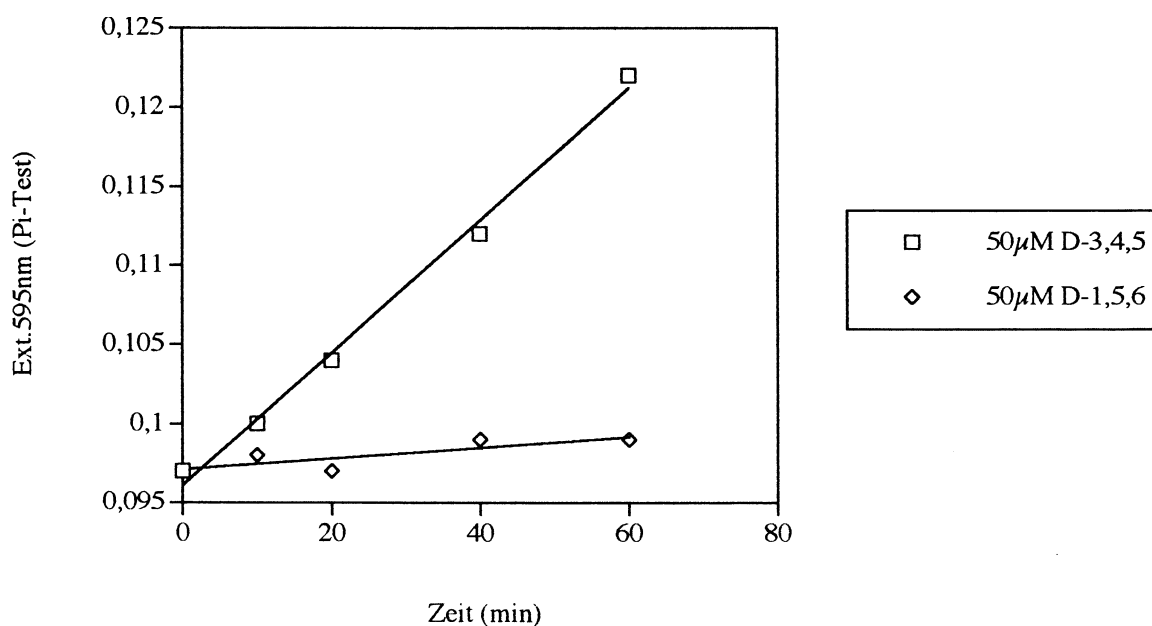
**Abbildung 50:**  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY-NMR-Spektrum von Ins(1,6) $\text{P}_2$  (**165a**).

Auf diese Weise konnte die erste totalsynthetische Darstellung des Enantiomerenpaares **158a** und **158b** erfolgreich durchgeführt werden. Umgesetzt wurden jeweils 15  $\mu\text{mol}$  Substrat, größere Ansätze sind jedoch ebenfalls denkbar.

Eine Vermessung des Drehwertes beider Verbindungen ergab für Ins(1,5,6) $\text{P}_3$  (**158a**) einen Wert von  $+2,2^\circ$ . Daraus ergibt sich eine neuerliche Fehlzuordnung durch PIETRUSIEWICZ,<sup>145</sup> die dadurch zu erklären sein dürfte, daß von denselben Vorstufen wie bei der Synthese von Ins(1,4,5,6) $\text{P}_4$  (**54a**) ausgegangen wurde. Bei dieser Synthese trat aber offenkundig eine Verwechslung auf (vergleiche Kapitel 2.2.3.3).

Die korrekte Zuordnung der hier synthetisierten Verbindungen **158a** und **158b** konnte nochmals überprüft werden, indem man beide Verbindungen mit der *5-Phosphatase* umsetzte. Nach den von ADELT ermittelten Substratanforderungen war zu erwarten, daß Ins(3,4,5) $\text{P}_3$  umgesetzt werden kann, Ins(1,5,6) $\text{P}_3$  hingegen kein Substrat darstellt, da die essentielle OH-Gruppe in 6-Position phosphoryliert ist. Die durchgeführte Messung bestätigte diese Erwartung (Abbildung 51).





**Abbildung 51:** Umsetzung von **158a** und **158b** mit der *Inositolpolyphosphat-5-Phosphatase*.

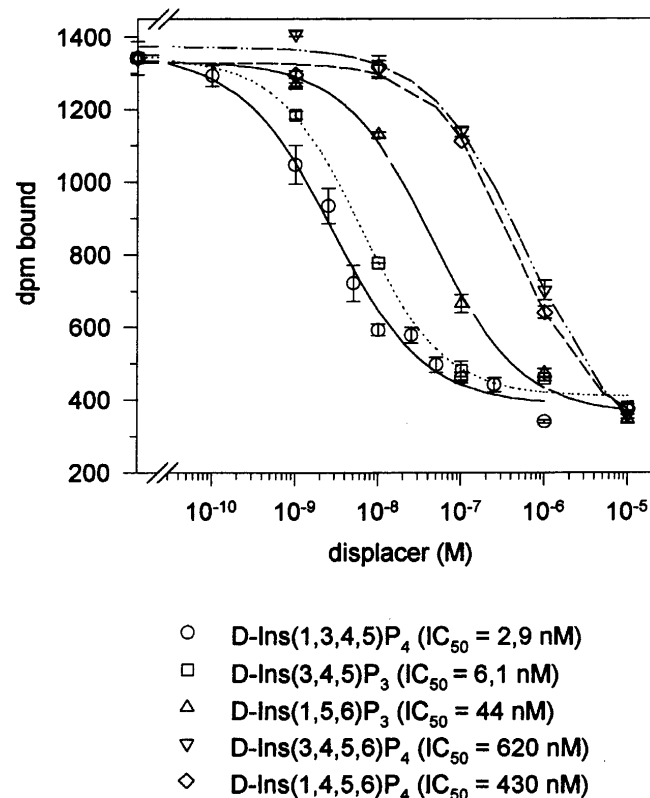
Beide auf diese Weise synthetisierten Verbindungen wurden kürzlich in das Vertriebsprogramm der Firma ALEXIS aufgenommen.

#### 2.6.1.2.2 *Biologische Bedeutung*

#### 2.6.1.2.3 *Weitere Untersuchungen*

Das Enantiomerenpaar **158a** und **158b** wurde zusammen mit den beiden Tetrakisphosphaten **54a** und **54b** von STRICKER (Arbeitskreis Prof. Reiser, Magdeburg) für eine Kompetitions-Bindungsstudie am  $p42^{IP4}$ -Rezeptors herangezogen (Abbildung 52). Dabei handelt es sich um einen  $PtdIns(3,4,5)P_3$  /  $Ins(1,3,4,5)P_4$ -spezifischen Rezeptor, der aus dem Kleinhirn von Schweinen isoliert wurde. Er besitzt eine hohe Affinität zu  $PtdIns(3,4,5)P_3$ , das seinerseits als Botenstoff fungiert. Es wird postuliert, daß  $p42^{IP4}$  eine Rolle als Regulator dieses Botenstoffs besitzt. SHIN et al. vermuten einen Zusammenhang mit Lernprozessen.<sup>146</sup>

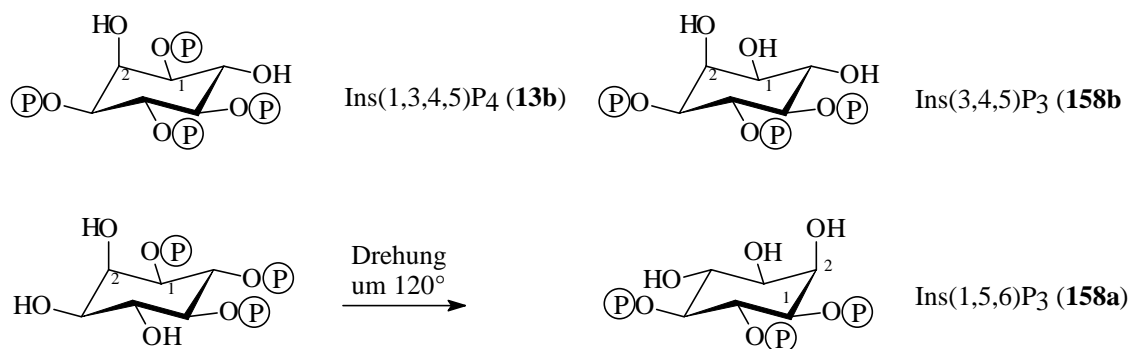
Der Rezeptor wird bei diesem Test mit Tritium-markiertem  $Ins(1,3,4,5)P_4$  inkubiert, anschließend wird die Verdrängung des Liganden durch die zugesetzte Verbindung bestimmt (Abbildung 52). Gemessen wurden  $IC_{50}$ -Werte, d. h. die Konzentration, bei der die Hälfte des radioaktiv gebundenen  $^3H$ - $Ins(1,3,4,5)P_4$  freigesetzt wurde.



**Abbildung 52:** Verdrängungsstudie mit p42<sup>IP4</sup>.

Die Resultate dieser Studie lieferten Hinweise auf die Substratspezifität dieses Rezeptors. Für die Bindung sind die drei Phosphatgruppen in 3-, 4- und 5-Position wichtig; Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> weist nur eine um einen Faktor zwei geringere Affinität zum Rezeptor auf. Die Phosphatgruppe in 1-Position besitzt offenbar eine untergeordnete Bedeutung für die Substraterkennung.

Auch Ins(1,5,6)P<sub>3</sub> besitzt noch einen niedrigen IC<sub>50</sub>-Wert (nur ca. 15 mal größer als Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub>). Eine mögliche Erklärung liegt in der spezifischen Struktur von *myo*-Inositolderivaten. Dreht man das Molekül um 120°, so erreicht man eine dem Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> nahezu überlagerbare Struktur (Abbildung 53). Die OH-Gruppen in 2- und 4-Position sind jedoch anders orientiert. Dieser Unterschied führt zwar zu einer Herabsetzung der Affinität, es kann aber weiterhin eine Bindung an p42<sup>IP4</sup> erfolgen.



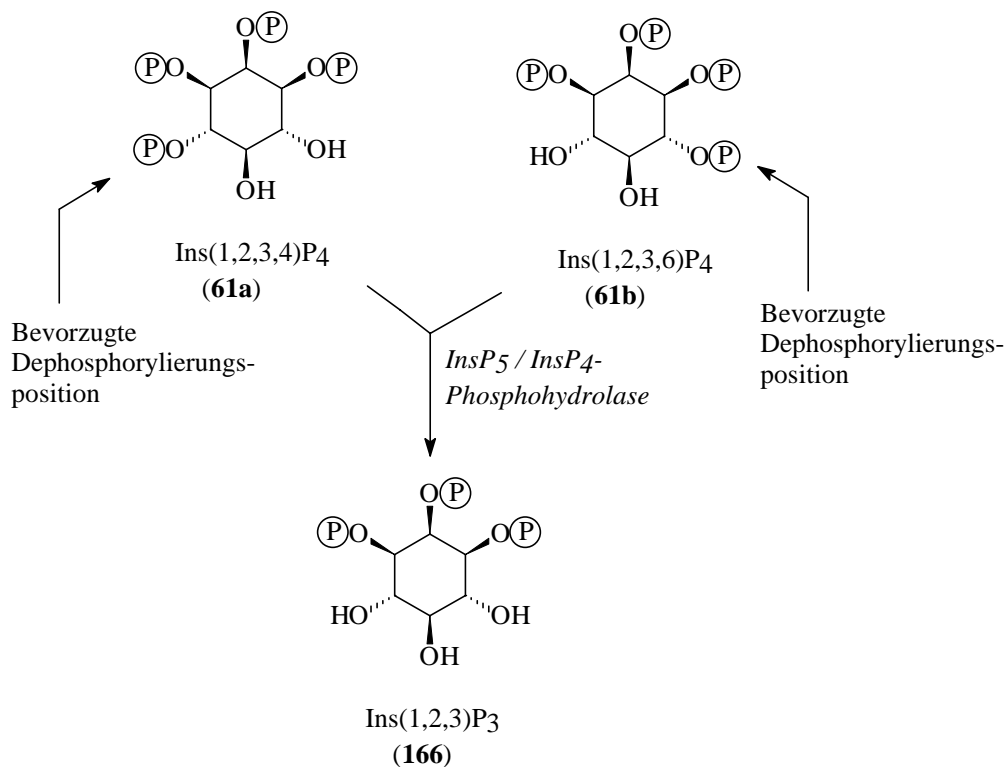
**Abbildung 53:** Vergleich struktureller Ähnlichkeiten zwischen  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$ ,  $\text{Ins}(1,5,6)\text{P}_3$  (**158a**) und  $\text{Ins}(3,4,5)\text{P}_3$  (**158b**).

### 2.6.1.3 Darstellung von $\text{Ins}(1,2,3)\text{P}_3$ (**166**)

#### 2.6.1.3.1 Synthese

Ein weiteres interessantes Isomer für die Umsetzung mit der Phosphohydrolase ist  $\text{Ins}(1,2,3,4)\text{P}_4$  (**61a**) (bzw. das Enantiomer  $\text{Ins}(1,2,3,6)\text{P}_4$  (**61b**)), dessen Synthese in Abschnitt 2.2.4 beschrieben wurde.

Dabei ist hier die Position der Dephosphorylierung nicht so einfach abzuleiten wie bei der Synthese von **158**, da hier beide äußeren Phosphatgruppen einer *trans*-ständigen, freien OH-Gruppe benachbart sind. Aus Untersuchungen von ADELTE zur Selektivität der *InsP<sub>5</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* ging aber hervor, daß die Dephosphorylierung in 4- bzw. 6-Position gegenüber der Dephosphorylierung in 1-Position deutlich bevorzugt abläuft (Abbildung 54).



**Abbildung 54:** Dephosphorylierung von Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**) und Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**).

Umsetzung der beiden enantiomerenreinen Verbindungen **61a** und **61b** führte erwartungsgemäß in beiden Fällen zu Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**). Wie Enzymkinetiken belegen, wird **61a** etwas schneller umgesetzt als **61b**, zwischen den Umsatzraten beider Verbindungen liegt ein Faktor von ca. 1,2.

Untersuchungen der erhaltenen Produkte ergaben, daß die Umsetzung von Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**) zu mehr als 99 % Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) liefert. Die Umsetzung von Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> führte in ca. 97 % zu Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**), lieferte hingegen aber auch in ca. 3 % das Nebenprodukt Ins(1,2,6)P<sub>3</sub>.

Da es sich bei dem aus beiden Enantiomeren erhaltenen Produkt, Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) um eine *meso*-Verbindung handelt, kann bei der enzymatischen Reaktion racemisches Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61**) eingesetzt werden.

Die Reaktion lieferte in ca. 65 % Ausbeute **166**. In geringen Mengen (1-2 %) entstand dabei auch das Nebenprodukt Ins(1,2,6)P<sub>3</sub>.

Die im Vergleich zu der im vorigen Kapitel beschriebenen Umsetzung geringere Ausbeute ist auf eine geringere Reaktionsgeschwindigkeit der Dephosphorylierung zu InsP<sub>3</sub> und eine höhere Tendenz zur Weiterreaktion zu InsP<sub>2</sub>-Isomeren zurückzuführen.

Nach der Reaktion verbliebenes Substrat wurde bei der ionenchromatographischen Aufreinigung wiedergewonnen und der Drehwert dieser Verbindung vermessen. Die vormals racemische Probe zeigte eine negative optische Rotation, was die vorher erhaltenen Kinetiken bestätigt. Da Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> schneller umgesetzt wird, reichert sich Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (das einen negativen Drehwert besitzt) in der Reaktionslösung an.

Durch Einsatz des enantiomerenreinen Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**) in der *Phosphohydrolase*-Reaktion kann so auch isomerenreines **166** dargestellt werden.

Auch auf diese Weise synthetisiertes Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) wird derzeit über die Firma ALEXIS vertrieben.

#### 2.6.1.3.2 *Biologische Bedeutung*

Die krebopräventive Wirkung von InsP<sub>6</sub> wird vorwiegend auf die Chelatisierungsfähigkeit dieser Verbindung von Eisen(III) zurückgeführt. Freies Eisen(III) kann in einer Fenton-Reaktion im Haber-Weiss-Zyklus die Bildung von OH-Radikalen bewirken.

Bei Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) können die drei benachbarten Phosphatgruppen eine klauenartige Struktur (vgl. Abbildung 56) bilden. Diese strukturelle Besonderheit bewirkt eine starke Komplexierungsfähigkeit. Untersuchungen von SPIERS<sup>91</sup> zeigten, daß die Zugabe von **166** die Eisen(III)-katalysierte Bildung von OH-Radikalen in einer ähnlichen Größenordnung inhibiert wie InsP<sub>6</sub>. Das Vorhandensein dieser drei benachbarten Phosphatgruppen scheint offenbar für die Komplexierungsfähigkeit von entscheidender Bedeutung zu sein. Von PHILLIPPY<sup>147</sup> wurden ähnliche Resultate erzielt.

**166** kommt natürlich als Abbauprodukt von Phytasen in Pflanzen<sup>148</sup> und *Paramecium*<sup>149</sup> vor.

#### 2.6.1.3.3 *Weitere Untersuchungen*

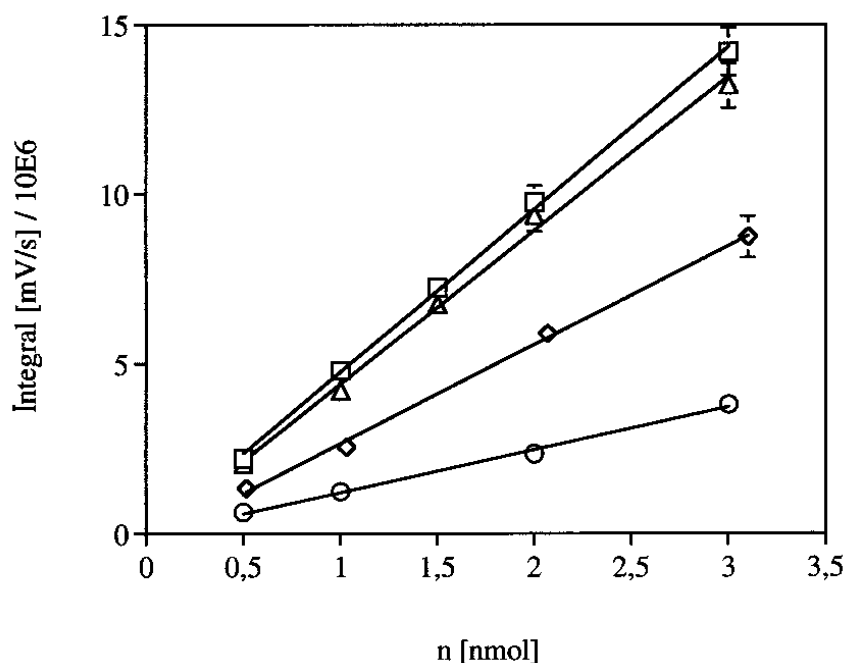
Um Aussagen über die Bedeutung der räumlichen Orientierung von drei benachbarten Phosphatgruppen bei InsP<sub>3</sub>-Isomeren treffen zu können, wurde von ADELTA<sup>143</sup> eine Untersuchung der Komplexierungstendenz der hier synthetisierten Verbindungen Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) und Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> (**158b**), sowie von ihm synthetisiertem Ins(1,2,6)P<sub>3</sub> durchgeführt. Das vierte mögliche Isomer mit drei benachbarten Phosphatgruppen, Ins(4,5,6)P<sub>3</sub> (**159**) liegt zwar

vor, wurde aber erst kurz vor Ende dieser Dissertation dargestellt und konnte noch nicht in diese Studie eingebracht werden.

Als Indikator für die Komplexierungsfähigkeit wurde die Verdrängung von PAR aus einem Yttrium-PAR-Komplex betrachtet, eine Reaktion, die, wie oben geschildert, zur online-Detektion von Inositolphosphaten bei der HPLC-MDD-Methode Anwendung findet.

Das Integral des betreffenden MDD-Signals wurde mit der Menge absolut zugesetzten Inositolphosphats korreliert, die durch vollständige Hydrolyse einer bestimmten Menge des betreffenden Inositolphosphats und anschließende Phosphatbestimmung erhalten werden konnte.

Die Untersuchung führte zu folgenden Ergebnissen (Abbildung 55):

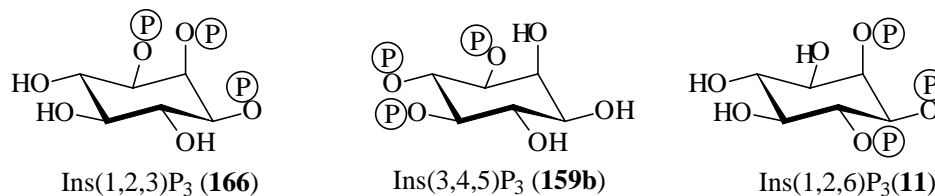


**Abbildung 55:** Komplexierungsfähigkeit von Inositoltrisphosphaten.

□ = Ins(1,2,3)P<sub>3</sub>, Δ = Ins(1,5,6)P<sub>3</sub>, ◇ = Ins(1,2,6)P<sub>3</sub>, ○ = Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>

Es ergibt sich folgende Reihenfolge: Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**) ≈ Ins(1,5,6)P<sub>3</sub> (**158a**) / Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> (**158b**) > Ins(1,2,6)P<sub>3</sub> / Ins(2,3,4)P<sub>3</sub>. Inositoltrisphosphate ohne drei benachbarte Phosphatgruppen weisen eine signifikant schlechtere Komplexierungsfähigkeit auf; als Beispiel sind die Werte für Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> (**12b**) in die Grafik mit aufgenommen.

Interessanterweise zeigte Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> eine nur geringfügig schlechtere Komplexierung von Yttrium als Ins(1,2,3)P<sub>3</sub>, obwohl hier alle drei Phosphatgruppen äquatorial orientiert sein sollten und somit die oben beschriebene „Klauenbildung“ nicht so effizient möglich ist. Die Komplexierung ist deutlich stärker als bei Ins(1,2,6)P<sub>3</sub>. Eine verbesserte Komplexierung durch Umklappen in die andere Sesselform ist nicht wahrscheinlich, da sich so zwei Phosphatgruppen auf der Ober- und die andere auf der Unterseite des Rings befinden würden (Abbildung 56). Einen Erklärungsansatz würde die Annahme einer Partizipation der unphosphorylierten aber den Phosphatgruppen benachbarten axialen 2-OH-Gruppe bei der Komplexbildung in **158a** liefern. Die Einbindung von Ins(4,5,6)P<sub>3</sub> (**159**) in diese Studie kann in Zukunft weitere Hinweise auf die Strukturanforderungen für Metallionen-Chelatisierung geben.



**Abbildung 56:** Darstellung der in der Komplexierungsstudie untersuchten InsP<sub>3</sub>-Isomere.

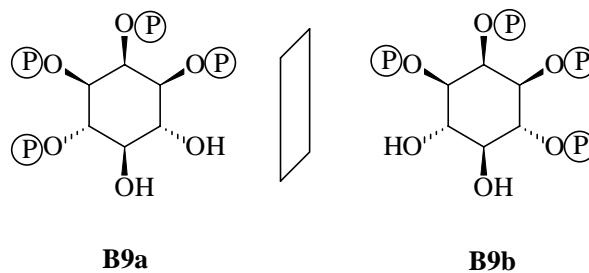
## 2.6.2 Untersuchungen von Phytasen

### 2.6.2.1.1 Allgemeines

Phytasen sind Inositolhexakisphat-abbauende Enzyme. IUPAC-IUB weist zwei Klassen von Phytasen aus, wobei sich die Klassifizierung auf die bevorzugte Position der ersten Phosphathydrolyse bezieht. Da es sich bei Phytasen aber um relativ unspezifische Enzyme handelt, entstehen auch zahlreiche andere Produkte. Die erste Gruppe umfaßt die D-4-Phytasen (verbreitet auch als L-6-Phytasen bezeichnet) (EC 3.1.3.26), die zweite Gruppe besteht aus D-3-Phytasen (EC 3.1.3.8).

Die beiden Tetrakisphosphate Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> (**61a**) und Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**), deren Synthese in Abschnitt 2.2.4 beschrieben wurde, kommen beide als Abbauprodukte von Phytasen natürlich vor.<sup>87,88</sup>

Über die Regio- und Stereoselektivität von Phytasen ist bislang nicht viel bekannt. Es war deshalb nicht klar, ob die getroffene Klassifizierung nach Präferenz der Dephosphorylierung in dieser Position auch für niedriger phosphorylierte Verbindung gelten würde oder ob diese Bevorzugung auf  $\text{InsP}_6$  beschränkt ist. Die beiden Enantiomere **61a** und **61b** stellen eine gute Möglichkeit dar, zu untersuchen, wie eine Phytase das jeweilig nicht natürlich vorkommende Enantiomer abbaut.



**Abbildung 57:** Für Phytaseuntersuchungen eingesetzte Tetrakisphosphate **61a** und **61b**.

Sollte beispielsweise eine 3-Phytase regiospezifisch die 3-Position bevorzugt umsetzen, so wäre eine einfache Unterscheidung zwischen den beiden Enantiomeren möglich, da  $\text{Ins}(1,2,3,4)\text{P}_4$  (**61a**) dementsprechend zu  $\text{Ins}(1,2,4)\text{P}_3$  umgesetzt werden sollte, während  $\text{Ins}(1,2,3,6)\text{P}_4$  (**61b**) zu  $\text{Ins}(1,2,6)\text{P}_3$  dephosphoryliert werden sollte. Die bisher bekannten Abbauwege von Phytasen geben keinen Aufschluß in dieser Frage, da nur die Produkte des jeweilig „natürlich vorkommenden“ Enantiomers, das aus dem Abbau von  $\text{InsP}_6$  herrührt, charakterisiert wurden.

Da die meisten Phytasen nach Erreichen einer Trisphosphat-Zwischenstufe zumindest eine langsamere Umsetzungsgeschwindigkeit bei den weiteren Dephosphorylierungen aufweisen, wurde bei dieser Studie auch nach präparativ nutzbaren Umsetzungen zu  $\text{InsP}_3$ -Isomeren gesucht. Zu diesem Zweck wurden zwei käufliche Phytasen untersucht, von denen die eine der Klasse der D-4-Phytasen angehört (*Aspergillus niger*), die andere ein Vertreter der D-3-Phytasen ist (Weizen-Phytase). Darüberhinaus wurde auch der Abbau durch eine Phytase aus *Dictyostelium discoideum* untersucht. Das Verhalten des Enzyms ähnelt dem einer 3-Phytase. Es besteht die Vermutung, daß es sich bei diesem Enzym um eine sogenannte *MIPP* (*Multiple Inositol Polyphosphat Phosphatase*) handeln könnte (siehe auch Kapitel 2.6.2.1.3); ein Enzym mit ähnlichen Eigenschaften wurde von SHEARS<sup>150</sup> aus unterschiedlichen Gewebe von Säugern isoliert.



### 2.6.2.1.2 Enzymatische Umsetzungen von 61a und 61b mit Phytasen

Beide Tetrakisphosphate **61a** und **61b** wurden mit den drei untersuchten Enzymen umgesetzt. Die Reaktion wurde nach Umsatz von 80-90 % des Substrats abgebrochen und die entstandenen InsP<sub>3</sub>-Isomere wurden über HPLC-MDD identifiziert. Das Verhältnis der einzelnen Isomere wurde dabei aus den HPLC-Integralen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Detektionsempfindlichkeit abgeschätzt. Aus der Menge des detektierten InsP<sub>3</sub> wurde zudem die Tendenz zu weiterer Dephosphorylierung zu Bis- und Monophosphaten abgeleitet. Hierbei ergab sich folgende Reihenfolge (Anordnung nach abnehmender Dephosphorylierungstendenz zu InsP<sub>2</sub>):

*Aspergillus*-Phytase (ca. 30 % InsP<sub>3</sub> wiedergewonnen) > Weizen-Phytase (ca. 65 %) > *Dictyostelium*-Phytase (ca. 80 %).

Daraus ergibt sich, daß die *Dictyostelium*-Phytase und mit Einschränkungen auch die Weizen-Phytase für präparative Anwendung geeignet sind. Die *Aspergillus*-Phytase hingegen dephosphoryliert zu schnell, so daß keine größeren Mengen Inositoltrisphosphat gewonnen werden könnten.

Die Untersuchung der gebildeten InsP<sub>3</sub>-Isomere ergab folgende Resultate (Tabelle 8).

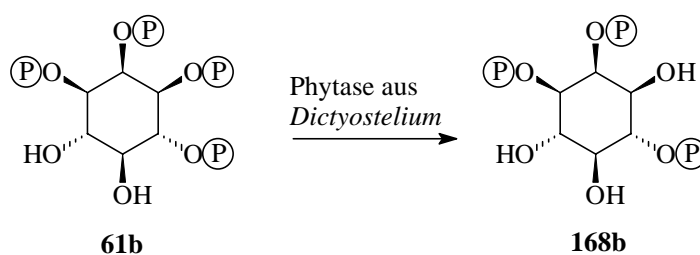
Eingesetztes Inositol-tetrakis-phosphat	Weizen-Phytase	<i>Aspergillus</i> -Phytase	<i>Dictyostelium</i> -Phytase
Ins(1,2,3,4)P <sub>4</sub> <b>(61a)</b>	1,2,3 (85 %)	2,3,4 (65 %)	1,2,4 (75 %)
	2,3,4 (15 %)	1,2,3 (35 %)	1,2,3 (25 %)
			2,3,4 (Spuren)
Ins(1,2,3,6)P <sub>4</sub> <b>(61b)</b>	1,2,3 (85 %)	1,2,6 (65 %)	2,3,6 (100 %)
	1,2,6 (15 %)	1,2,3 (35 %)	

**Tabelle 8:** Erhaltene InsP<sub>3</sub>-Regioisomere nach Dephosphorylierung von **61a** / **61b** durch Phytasen.

Die beiden käuflichen Phytasen aus *Aspergillus* und Weizen zeigen keine Differenzierung der Enantiomere; beide Enantiomere werden mit nahezu gleicher Geschwindigkeit in spiegelbildlichen Positionen dephosphoryliert. Die Phytase aus *Dictyostelium* zeigt zumindest eine geringe Differenzierung zwischen den beiden Enantiomeren, während Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> ausschließlich in 1-Position dephosphoryliert wird, tritt bei Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> neben der (ebenfalls überwiegend auftretenden) Dephosphorylierung in der spiegelbildlichen 3-Position auch ein Abbau in 4-Position auf.

Die Weizen-Phytase ist durch ihren uneinheitlichen Reaktionsverlauf in Kombination mit ihrer Tendenz zu weiterer Dephosphorylierung nicht zum präparativem Einsatz bei dieser Reaktion geeignet. Zudem liefert sie vorwiegend Ins(1,2,3)P<sub>3</sub> (**166**), das wesentlich effizienter durch Reaktion mit der *InsP<sub>3</sub>/InsP<sub>4</sub>-Phosphohydrolase* gewonnen werden kann.

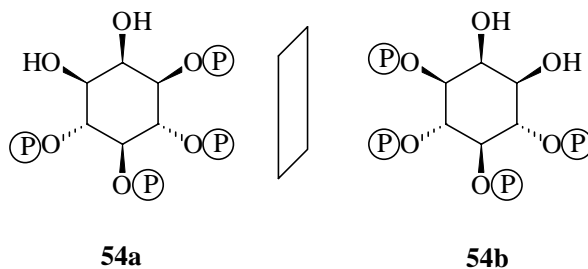
Die Phytase aus *Dictyostelium* kann zur Darstellung von Ins(2,3,6)P<sub>3</sub> (**168b**) aus Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**) genutzt werden (Schema 73). Auch das andere Enantiomer, Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (**168a**) kann theoretisch durch Dephosphorylierung von Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> durch die Phytase aus *Dictyostelium* erhalten werden; das Auftreten von 25 % eines Nebenprodukts erfordert jedoch den Aufwand einer zusätzlichen ionenchromatographischen Aufreinigung im alkalischen System. Da im Verlauf dieser Arbeit auch noch ein effizienterer Zugang zu Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (**168a**) erschlossen werden konnte, bei dem das Auftreten von anderen Isomeren nicht beobachtet wurde, konnte auf diese Umsetzung verzichtet werden (vgl. Kapitel 2.6.2.2).



**Schema 73:** Umsetzung von Ins(1,2,3,6)P<sub>4</sub> (**61b**) mit einer Phytase aus *Dictyostelium*.

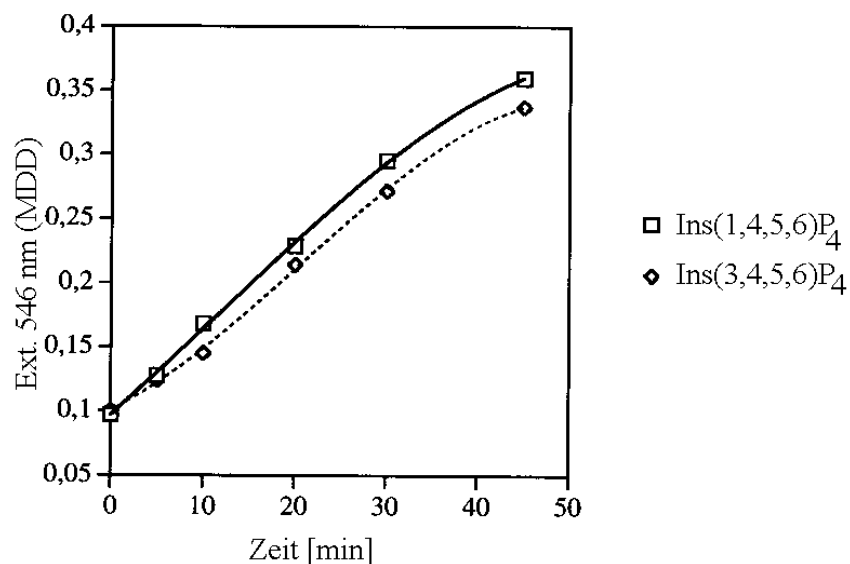
### 2.6.2.1.3 Umsetzung der Enantiomere 54a und 54b mit der Phytase aus *Dictyostelium*

Die Phytase aus *Dictyostelium* zeigte bei der oben durchgeführten Untersuchung als einzige der eingesetzten Phytasen eine gewisse Stereospezifität der Dephosphorylierung. Aus diesem Grund schien sie am vielversprechendsten für eine Differenzierung zwischen den beiden Enantiomeren Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54a**) und Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> (**54b**).



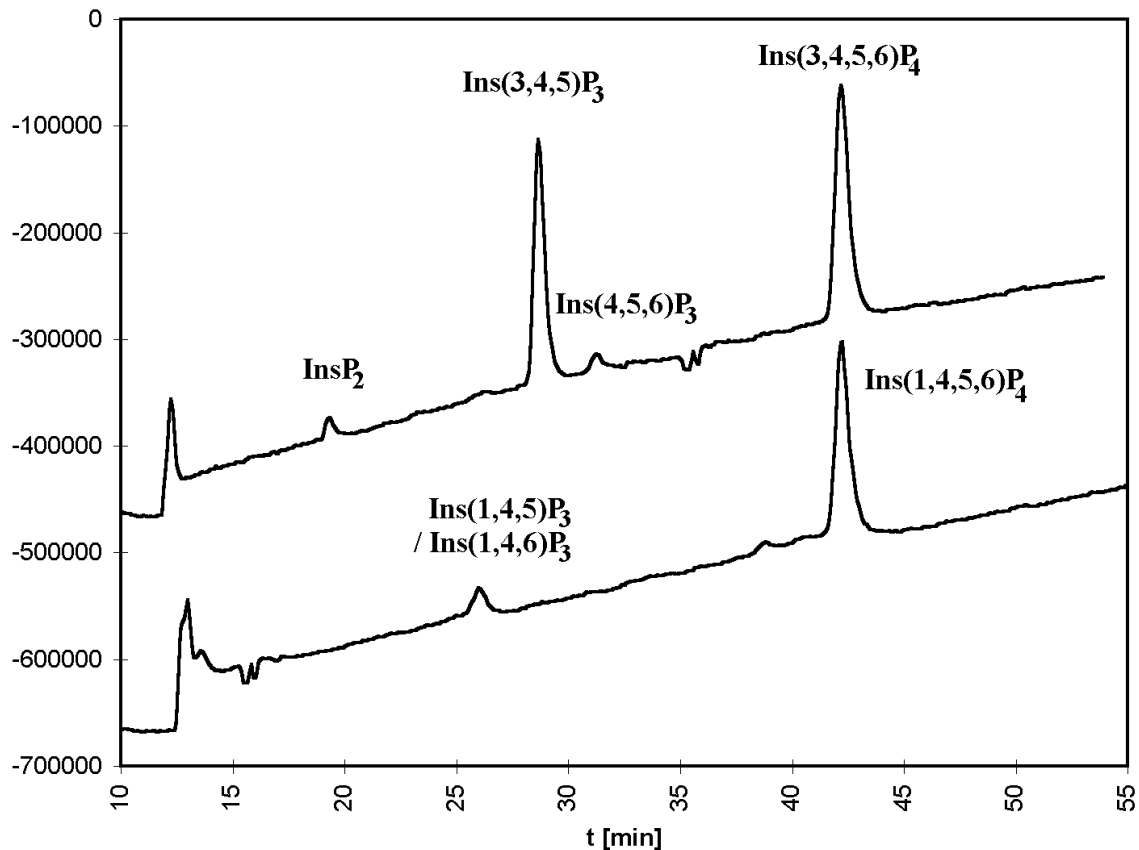
**Abbildung 58:** Edukte zu Versuchen zur Differenzierung von Enantiomeren durch die Phytase aus *Dictyostelium*.

Kinetische Messungen zeigten, daß beide Edukte mit vergleichbaren Geschwindigkeiten umgesetzt werden (Abbildung 59).



**Abbildung 59:** Kinetik der Umsetzung von **54a** und **54b** mit der Phytase aus *Dictyostelium*.

HPLC-MDD-Kontrolle der Umsetzungen ergab folgendes Bild:



**Abbildung 60:** HPLC-MDD-Kontrolle der Umsetzung von  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$  (**54b**) und  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  (**54a**) mit der Phytase aus *Dictyostelium*.

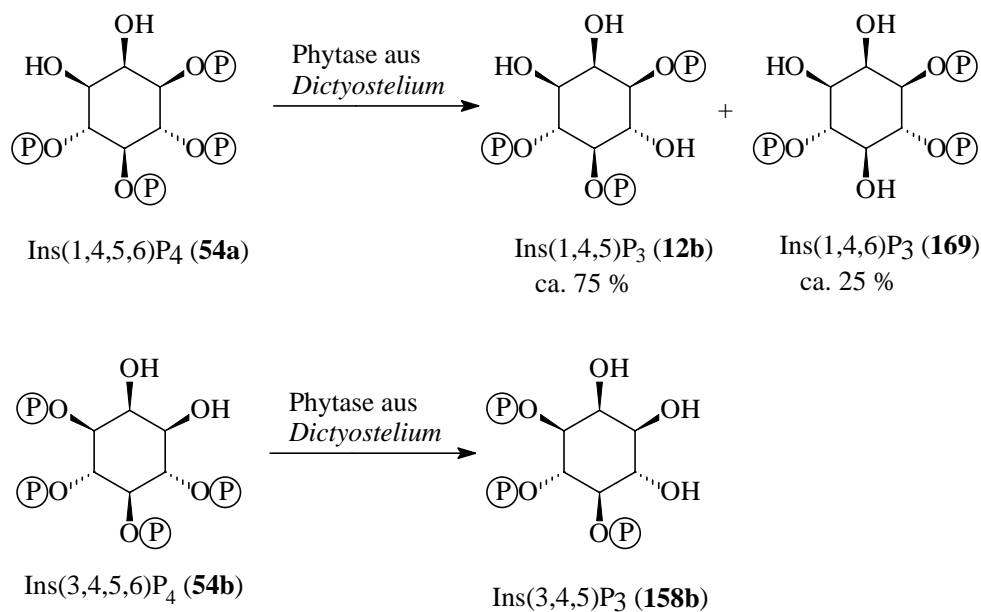
Die Messungen zeigten deutliche Unterschiede. So wurde als Hauptprodukt der Hydrolyse von  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$  ein Hauptsignal bei  $t = 28,7$  min. beobachtet, was der Retentionszeit von  $\text{Ins}(3,4,5)\text{P}_3$  entspricht. Als Nebenprodukt wurde das aus Dephosphorylierung in 3-Position resultierende  $\text{Ins}(4,5,6)\text{P}_3$  beobachtet ( $t = 31,3$  min.).

Die Umsetzung von  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  führte zu einem einzigen, sehr kleinen Signal bei  $t = 26,0$  min. Da sowohl  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  als auch  $\text{Ins}(1,4,6)\text{P}_3$  im sauren Elutionssystem nahezu koeluierten und beide Verbindungen denkbare Reaktionsprodukte sind, wurde eine zusätzliche Vermessung der Proben im alkalischen System vorgenommen. Dabei konnte festgestellt werden, daß  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  und  $\text{Ins}(1,4,6)\text{P}_3$  in einem Verhältnis von ca. 3:1 entstehen.

Auffällig bei dieser Messung ist die stark unterschiedliche Detektionsempfindlichkeit von  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  und  $\text{Ins}(1,4,6)\text{P}_3$  im Vergleich zu  $\text{Ins}(3,4,5)\text{P}_3$ , die in Abbildung 53 beschriebenen Resultate illustriert. Für beide Reaktionen wurden gleiche Mengen  $\text{InsP}_4$  eingesetzt, die Kinetiken für beide Umsetzungen ergeben ebenfalls ähnliche Resultate (vgl.

Abbildung 59). Dennoch unterscheiden sich die Integrale der HPLC-Signale der  $\text{InsP}_3$ -Isomere um einen Faktor sechs.

Offensichtlich kann die Phytase aus *Dictyostelium* zwischen diesen beiden  $\text{InsP}_4$ -Enantiomeren differenzieren. Beide Enantiomere werden vorwiegend in 6-Position dephosphoryliert; die dazu spiegelbildliche 4-Position wird nicht umgesetzt (Schema 74).

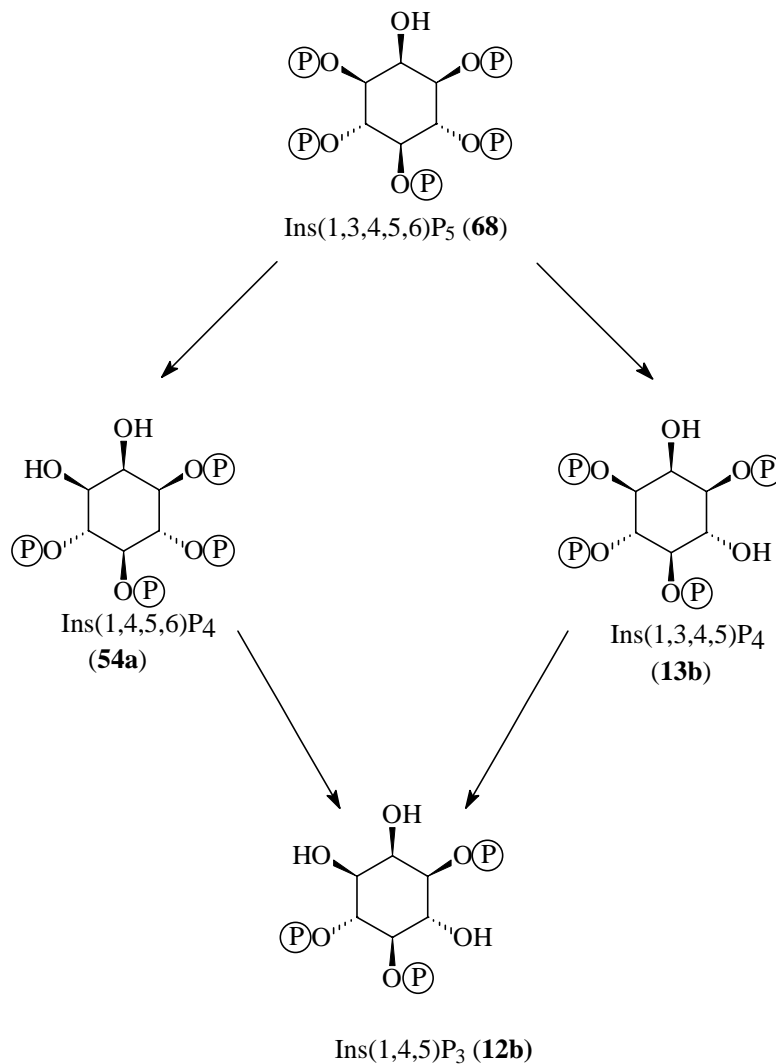


**Schema 74:** Umsetzung von  $\text{Ins}(1,4,5,6)\text{P}_4$  (**54a**) und  $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$  (**54b**) mit der Phytase aus *Dictyostelium*.

Da aus den Enantiomeren  $\text{InsP}_3$ -Isomere entstehen, die im sauren Elutionssystem einen Unterschied in der Retentionszeit von fast drei Minuten aufweisen, ergibt sich hier eine Möglichkeit, die Absolutkonfiguration von **54a/b** enzymatisch zu bestimmen. Dies könnte bei der Aufklärung metabolischer Wege von Nutzen sein.

Zudem ermöglichten die hier beschriebenen Ergebnisse einen detaillierteren Vergleich zwischen der Phytase aus *Dictyostelium* und der von SHEARS isolierten *MIPP*.

Für die *MIPP* aus *Dictyostelium* bzw. Rattenleber beschreibt SHEARS<sup>150</sup> folgenden Abbauweg von  $\text{Ins}(1,3,4,5,6)\text{P}_5$  (**68**).



**Abbildung 61:** Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub>-Abbau von einer *MIPP* nach SHEARS.

Aus Messungen von ADELTE ging hervor, daß Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (68) durch die Phytase aus *Dictyostelium* zu Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> / Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> und Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> / Ins(1,3,5,6)P<sub>4</sub> als InsP<sub>4</sub>-Intermediate und weiter zu Ins(3,4,5)P<sub>3</sub> / Ins(1,5,6)P<sub>3</sub> und Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> / Ins(3,4,6)P<sub>3</sub> abgebaut wird. Die Absolutkonfiguration der entstehenden Verbindungen konnte dabei nicht festgestellt werden.

Durch die Messungen mit dem Enantiomerenpaar **54a/54b** ist nun nachweisbar, daß die Phytase aus Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> bildet, das Spiegelbild Ins(3,5,6)P<sub>3</sub> wird aus Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> nicht gebildet.

Durch eine folgende, analoge Untersuchung der Enantiomere Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> und Ins(1,3,5,6)P<sub>4</sub> ist nun eine weitere Aufklärung dieses Abbaus möglich, insbesondere die Beantwortung der Frage, ob auch durch Abbau von Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> freigesetzt werden kann. Durch

den in Kapitel 2.5.5 bereits für die racemische Verbindung ( $\pm$ )-Ins(1,3,4,5) $P_4$  beschriebene Synthese sollte es in weiterführenden Arbeiten möglich sein, diese auch in beiden enantiomeren Formen zur Verfügung zu stellen.

### 2.6.2.2 Enzymatische Darstellung von Ins(1,2,4) $P_3$ (168a)

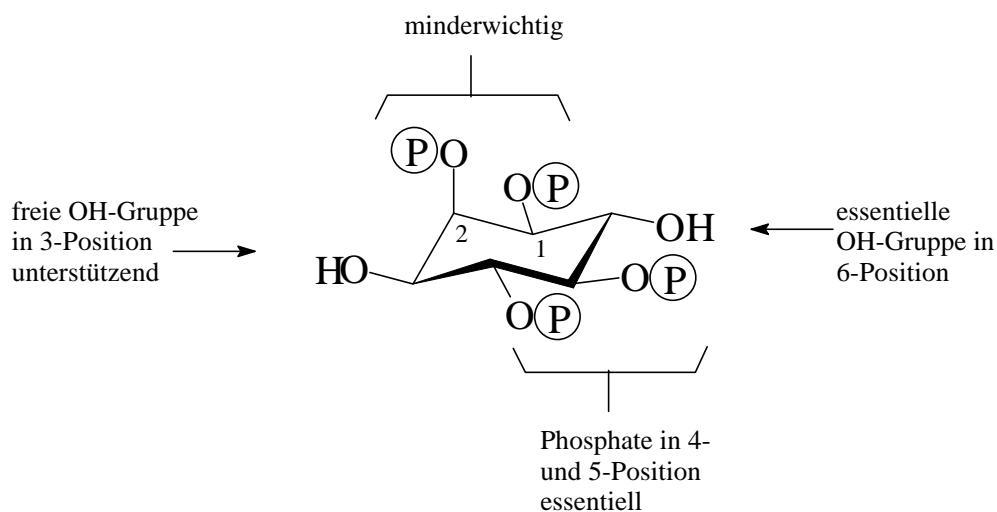
#### 2.6.2.2.1 Synthese

Wie oben beschrieben ist die Synthese von Ins(1,2,4) $P_3$  mit den bisher beschriebenen Mitteln zwar sowohl „klassisch-chemisch“ (vgl. Kapitel 2.2.5) als auch chemoenzymatisch unter Einsatz der Phytase aus *Dictyostelium* (vgl. Abschnitt 2.6.2.1.2) möglich, birgt aber im ersten Fall die Problematik der selektiven Silylierung der äquatorialen Hydroxy-Gruppe in 3-Position, im zweiten Fall die Abtrennung eines in nicht unbeträchtlichen Mengen entstehenden Nebenprodukts. Aus diesem Grund wurde nach einer alternativen Darstellungsmöglichkeit gesucht.

Die Umsetzung von Ins(1,2,4,5) $P_4$  (vgl. Kapitel 2.3.2) mit der hochspezifischen *Inositolpolyphosphat-5-Phosphatase*, die ebenfalls aus *Dictyostelium* isoliert werden kann, liefert diese Alternative.

#### 2.6.2.2.2 Einschub: Spezifität der Inositolpolyphosphat-5-Phosphatase

Die Spezifität der 5-Phosphatase wurde von ADEL<sup>T</sup> ausführlich untersucht. Es ergibt sich folgendes Bild (Abbildung 62):



**Abbildung 62:** Spezifität der 5-Phosphatase nach ADEL<sup>T</sup>.

Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub> (**83b**) ist, wie von ADELTE gezeigt wurde, ein gutes Substrat, das mit 17 % der relativen Aktivität, bezogen auf das Hauptsubstrat Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>) umgesetzt wird. Die katalytisch relevante OH-Gruppe in 6-Position ist frei, die ebenfalls wichtige Phosphorylierung in 4- und 5-Position ist in **83b** gegeben. Da dieses Enzym regiospezifisch nur eine Dephosphorylierung in 5-Position katalysiert, ist eine weitere Abreaktion des entstehenden Produkts Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (**168a**) nicht zu befürchten.

HPLC-Kontrolle der Reaktionsprodukte (20 µmol-Maßstab) zeigten auch bei längeren Reaktionszeiten kein Auftreten von InsP<sub>2</sub>-Isomeren; **168** konnte in >90% Ausbeute isoliert werden. Das isolierte Produkt wies zudem eine hohe Isomerenreinheit von >99.8 % auf.

#### 2.6.2.2.3 *Biologische Bedeutung*

Ins(1,2,4)P<sub>4</sub> (**168a**) ist kein physiologisch vorkommendes Isomer. Racemisches Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> wurde aber kürzlich von SHEARS<sup>93</sup> et al. als relativ potenter Inhibitor der Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub>-1-Kinase (IC<sub>50</sub> = 0,7 µM) identifiziert (im Vergleich dazu: Ins(1,3,4)P<sub>3</sub> (**15a**) als vermutlicher Inhibitor *in vivo*: IC<sub>50</sub> = 0,17 µM). Dieses Resultat könnte neue Wege zur Darstellung neuer, therapeutisch wirksamer Agenzien aufzeigen, da die Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub>-1-Kinase die Konzentration an Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> steuert. Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> aber ist für zahlreiche regulatorische Funktionen in der Zelle verantwortlich, darunter auch die Inhibierung der Ca<sup>2+</sup>-induzierten Aktivierung von Chlorid-Kanälen (siehe auch Kapitel 2.2.3.4 und 2.2.7.2).

#### 2.6.2.3 *Resümee der chemoenzymatischen Methoden*

Im Rahmen dieser Arbeit konnten in Kooperation mit ADELTE (Biochemie) verschiedene enzymatische Darstellungsverfahren von Inositolphosphaten etabliert werden, die auch im präparativen Maßstab durchführbar sind. Die Regioselektivität der beschriebenen Methoden ermöglicht die gezielte und isomerenreine Darstellung von insgesamt fünf verschiedenen Inositoltrisphosphaten. Diese Vorgehensweise stellt eine interessante Ergänzung zu den „klassisch-chemischen“ Synthesen dar. Bislang ist in der Literatur kein chemoenzymatischer Ansatz bekannt, der selektive Monodephosphorylierungen an „maßgeschneiderten“ InsP<sub>4</sub>-Isomeren zur Darstellung bestimmter InsP<sub>3</sub>-Isomere nutzt.

Zudem konnte eine einfache Möglichkeit der enzymatischen Unterscheidung zwischen den physiologisch vorkommenden Enantiomeren Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> und Ins(3,4,5,6)P<sub>4</sub> etabliert werden. Diese Testmöglichkeit könnte sich zur Aufklärung metabolischer Wege als nützlich herausstellen.



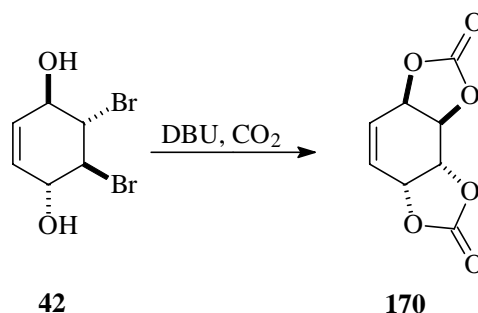
## 2.7 Synthesen von Stereoisomeren von *myo*-Inositol

Die Synthese von Inositolderivaten über einen *de-novo*-Ansatz ermöglicht nicht nur die Darstellung zahlreicher Inositolphosphate oder die gezielte Einbringung von Substituenten in den Inositolring (wie oben gezeigt). Auch die relativen Konfiguration der OH-Gruppen zueinander kann variiert werden. Dazu muß lediglich von anderen, entsprechend vorkonfigurierten Konduritol-Bausteinen ausgegangen werden. Das Potential zur Synthese derartiger Isomere von *myo*-Inositol soll im folgenden angerissen werden.

### 2.7.1 Zugänge über Konduritol-E

Dibromdiol **42** bietet neben der Darstellung von Konduritol-B-Derivaten auch Zugang zu allen anderen möglichen Konduritol-Systemen (A-F).<sup>50, 151</sup>

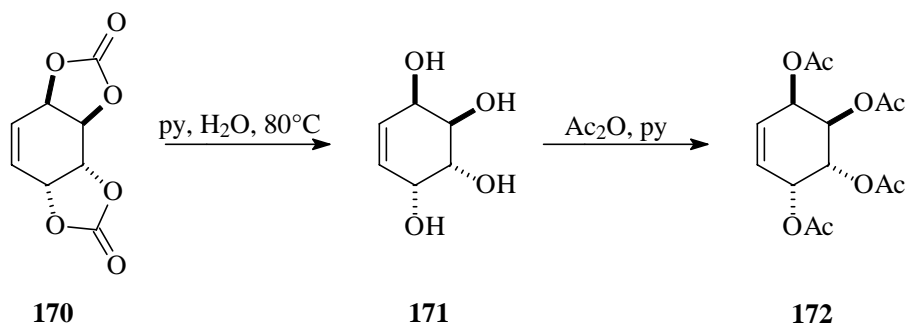
Eine Möglichkeit, das ebenfalls  $C_2$ -symmetrische Konduritol-E-Derivat **170** darzustellen, besteht in der Umsetzung von **42** mit Diazabicycloundecen (DBU) und Kohlendioxid. Dabei greift die durch DBU deprotonierte OH-Gruppe zunächst nucleophil die Carbonyl-Gruppe des Kohlendioxids an. Anschließend erfolgt eine intramolekulare nucleophile Substitution des Bromids.



**Schema 75:** Darstellung von Biscalcarbonat **170**.

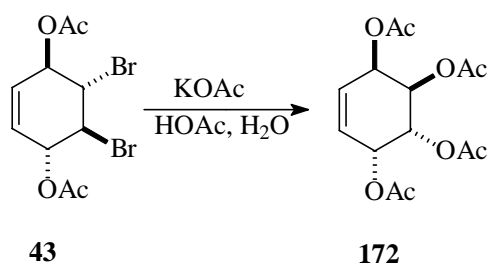
**170** konnte nach einer modifizierten Vorschrift von BIEN<sup>52</sup> in 32 % Ausbeute erhalten werden.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit von **170** in nahezu allen organischen Lösungsmitteln wurde eine Umschüttung zu Tetraacetat **172** durchgeführt (Schema 77). Dazu wurden zunächst die Carbonatgruppen durch Erhitzen in wäßriger Pyridin-Lösung entfernt und anschließend die Hydroxylgruppen mit Pyridin und Essigsäureanhydrid acetyliert.



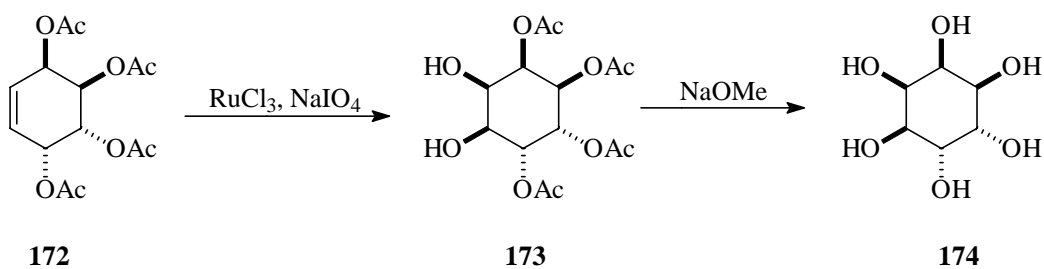
**Schema 76:** Darstellung von Tetraacetat **172**.

Ein direkter Zugang zu **172** wird gegenwärtig von PODESCHWA<sup>30</sup> untersucht (Schema 77); dazu soll Diacetat **43** direkt mit Kaliumacetat in **172** überführt werden. Die ebenfalls praktikable Umsetzung mit Silberacetat erfordert zur Darstellung der (1,2:3,4) *syn*-Anordnung der Substituenten den Einsatz eines großen Überschusses an Reagenz, was wegen des hohen Preises von Silberacetat nicht wünschenswert ist.



**Schema 77:** Direkte Darstellung von **172** nach PODESCHWA.

Durch *cis*-Dihydroxylierung mit Rutheniumtrichlorid und Natriummetaperiodat und anschließende Abspaltung der Acetat-Gruppen konnte ein schneller Zugang zu *allo*-Inositol **174** aufgezeigt werden.



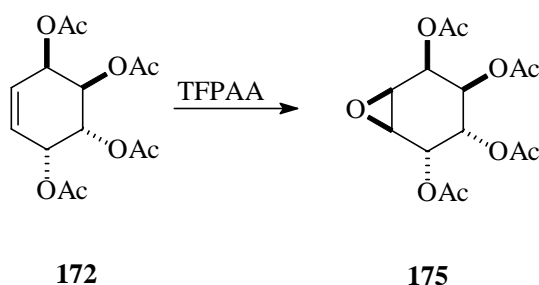
**Schema 78:** Darstellung von *allo*-Inositol (**174**).

*Allo*-Inositol kann als das C-4/5-Bisepimere zu *myo*-Inositol aufgefaßt werden. Auch die Verbindung **174** konnte FISCHBACH zu Untersuchungen der Inositol-Synthese überlassen werden.

Desweiteren konnten zwei weitere Bausteine synthetisiert werden, die die Überführung der Doppelbindung in eine *trans*-Diolenheit ermöglichen sollten. Die sich daraus ergebenden Inositolderivate weisen *neo*- bzw. *chiro*-Konfiguration auf.

Die C<sub>2</sub>-Symmetrie des Konduritol-E-Derivats **172** führt dazu, daß bei der Epoxidierung der Doppelbindung nur ein Isomer entsteht. Anschließende Öffnung des Epoxids mit Sauerstoff-Nucleophilen führt zu Produkten, bei denen bereits eine Differenzierung der beiden eingebrachten Hydroxy-Gruppen erfolgt ist. Auch die Einbringung von anderen Substituenten ist auf diese Weise einfach zu erreichen.

Die Epoxidierung von **172** mit *m*-Chlorperbenzoesäure verlief sehr langsam und unvollständig. Durch den Einsatz der reaktiveren Trifluorperessigsäure konnte das Epoxid **175** schließlich unproblematisch erhalten werden (Schema 79).



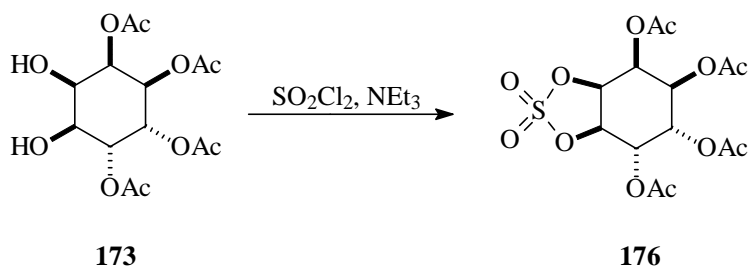
**Schema 79:** Darstellung des Epoxids **175**.

Anders als bei Epoxid **177**, bei dem die *all-trans*-Konfiguration der sich äquatorial anordnenden Substituenten eine Öffnung zum *trans*-diaxialen Fürst-Plattner-Produkt bewirkt (Schema 81), ist hier hier durch die paarweise *cis*-Anordnung der Acetat-Gruppen keine direkte Vorhersage der bevorzugten Öffnungsposition zu treffen.

Betrachtet man das Molekülmodell, so dürfte ein Angriff *trans* zu den benachbarten Acetat-Gruppen aufgrund von geringeren sterischen Einflüssen bevorzugt sein. Dieser Angriff würde zu *chiro*-Inositolen führen.

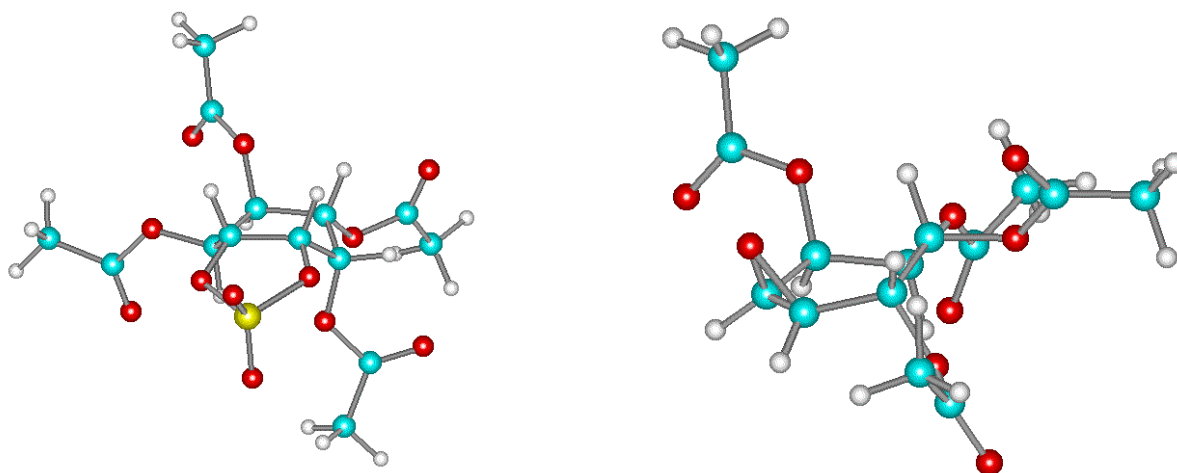
Die beiden entstehenden Isomere sollten aber aufgrund ihrer unterschiedlichen sterischen Ansprüche problemlos durch Umkristallisation oder Säulenchromatographie trennbar sein.

Eine weitere Möglichkeit zur Einführung von zwei *trans*-ständigen Hydroxy-Funktionalitäten bieten cyclische Sulfate, die sich aus *cis*-Diolen im allgemeinen gut darstellen lassen.



**Schema 80:** Darstellung des cyclischen Sulfats **176**.

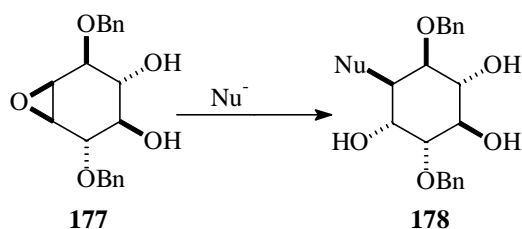
Durch Umsetzen des *allo*-Inositol-Derivats **173** mit Sulfurylchlorid und Triethylamin konnte das cyclische Sulfat **176** erhalten werden. Die beiden Vorzugsgeometrien von **176** und **175** wurden durch PM3-Rechnungen (eine Weiterentwicklung der MNDO-Methode mit optimierter Parametrisierung) simuliert. Dabei wurde für das cyclische Sulfat **176** eine boot-artige Struktur erhalten, für Epoxid **175** ergab sich ein partiell eingeebnetter Sechsring



**Abbildung 63:** Berechnete Strukturen von **176** und **175**.

*Neo*-Inositole sind derzeit ein häufiges Ziel synthetischer Bemühungen, erst kürzlich wurde zwei Arbeiten publiziert, die die Darstellung von *neo*-Inositol zum Inhalt haben.<sup>152</sup> *Neo*-InsP<sub>8</sub>-Isomere wurde zudem als natürlich vorkommender Inositolphosphate identifiziert und isoliert, zudem gelang die Strukturaufklärung.<sup>153</sup> Die Möglichkeit, derartige Substanzen, z.B. zu Vergleichszwecken, darstellen zu können, ist ein lohnendes synthetisches Ziel und wird von PODESCHWA<sup>30</sup> weiterverfolgt.

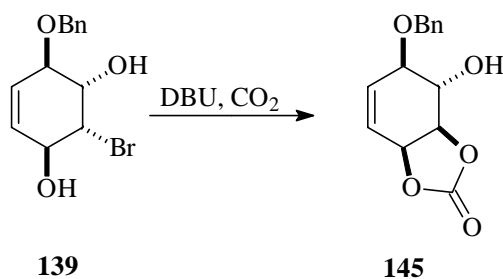
Ein anderer Zugang zu *chiro*-Inositol konnte bereits im Arbeitskreis ALTENBACH von BLOCK<sup>154</sup> etabliert werden. Dabei wurde, ausgehend von Epoxykonduritol **177** eine nucleophile Öffnung nach Fürst-Plattner zum *trans*-diaxialen Produkt durchgeführt (Schema 81). Die hier beschriebene Synthese ermöglicht den Zugang zu alternativen Substitutionsmustern und stellt somit eine sinnvolle Ergänzung zu diesem Konzept dar.



**Schema 81:** Darstellung von *chiro*-Inositolen nach BLOCK.

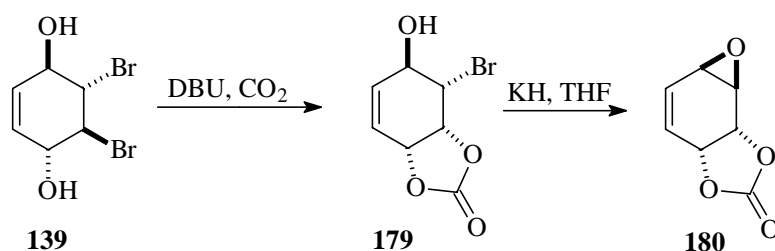
### 2.7.2 Zugänge über Konduritol-F-Derivate

Das Monobenzyl-Derivat **139** bietet eine interessante Möglichkeit zur Darstellung von Konduritol-F-Derivaten. Dazu wird **139** mit DBU und Kohlendioxid zu Carbonat **145** umgesetzt (Schema 82) und so eine geschützte *cis*-Diolenheit in 3:4-Position eingeführt.



**Schema 82:** Darstellung des Benzylcarbonats **145**.

Eine Synthese von **145** wurde bereits von KLEIN<sup>50</sup> durch Bildung des Monocarbonats **139** und anschließender Bildung des Allylepoxids **180** durch Behandeln mit Kaliumhydrid in Tetrahydrofuran beschrieben (Schema 83).



**Schema 83:** Synthese von **145** nach KLEIN.

**180** kann dann, wie von LEY<sup>132</sup> beschrieben (vgl. Schema 84) zu **145** umgesetzt werden.

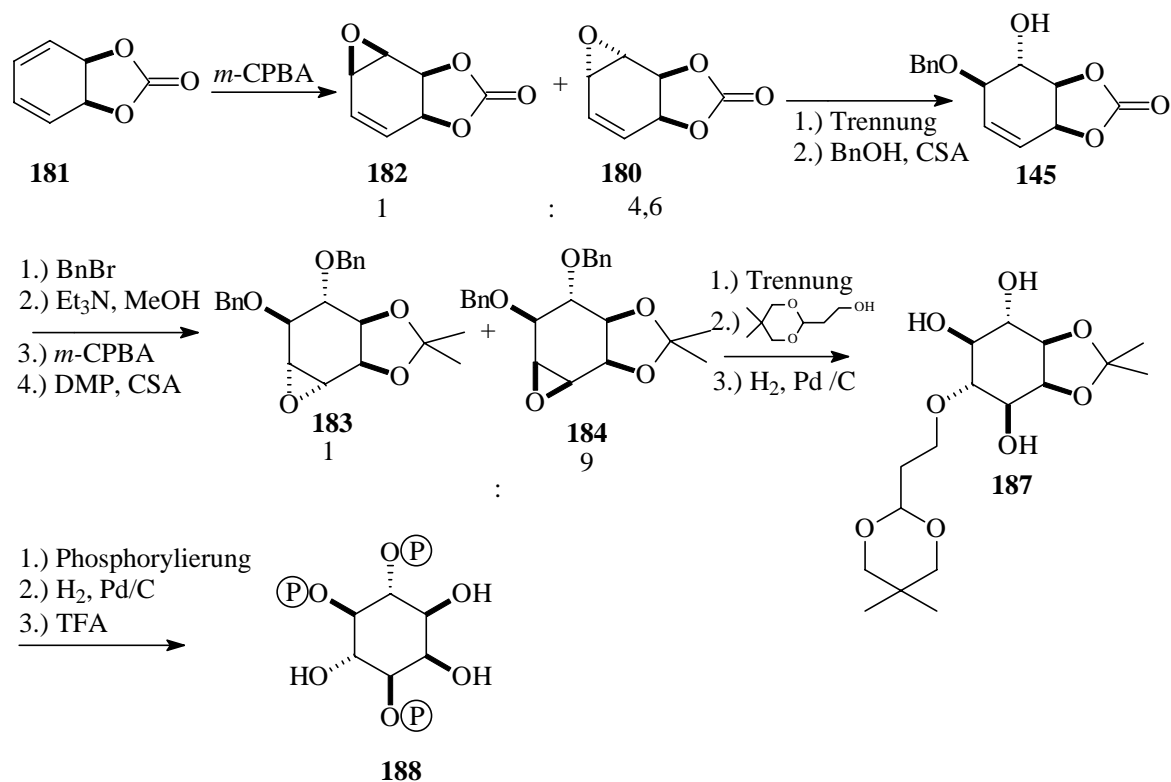
Der in dieser Arbeit vorgestellte Zugang zu **145** ist präparativ aber besser zu handhaben und ermöglicht einen schnellen Zugang zu **145** auch in größeren Mengen.

#### 2.7.2.1 Formale Totalsynthese von *Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>* und Derivaten

LEY<sup>132</sup> setzt **145** als Edukt einer *Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>*-Synthese ein (Schema 84).

Ausgehend von der durch mikrobielle Oxidation von Benzol mit *pseudomonas putida* gewonnenen und anschließend carbonat-geschützten Verbindung **181** kann durch Epoxidierung und anschließende Öffnung mit Benzylalkohol in Allylposition **145** erhalten werden. Bildung eines zweiten Epoxids und anschließende Öffnung mit einem geschützten  $\beta$ -Hydroxyaldehyd als Sauerstoffnucleophil führt zu einer Verbindung, die durch Hydrogenolyse der Benzylgruppen in ein in 1,4 und 5-Position ungeschütztes Derivat **187** überführt werden kann. Phosphorylierung und Abspaltung der Schutzgruppen führen zu ( $\pm$ )-*Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>* (**12**). Einsatz anderer Nucleophile zur Öffnung von Epoxid **183** eröffnen darüberhinaus auch einen Zugang zu zahlreichen substituierten Derivaten.

Die von LEY beschriebene Synthese ist zunächst für racemische Produkte konzipiert, eine Enantiomerentrennung kann durch Öffnung des Epoxids **145** mit zuvor in einer Dreischritt-Prozedur aus (S)-Mandelsäure hergestelltem (R)-(+)-*sec*-Phenethyl-Alkohol und anschließende Trennung der erhaltenen Diastereomere erfolgen. Die so eingeführte Gruppe ist analog zu einer Benzylgruppe hydrogenolytisch abspaltbar, so daß die Route wie in Schema 84 beschrieben fortgesetzt werden kann.

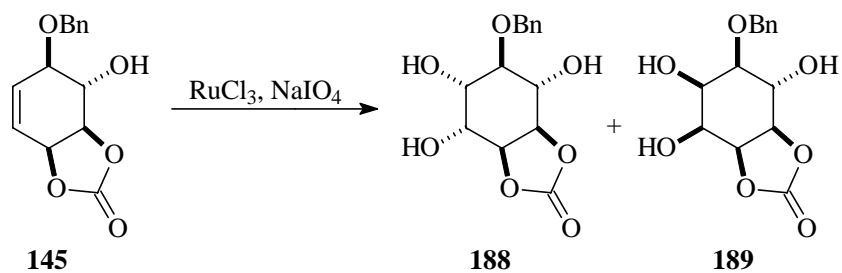


#### Schema 84: Synthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> nach LEY.

Der in Schema 82 vorgestellte Zugang zu **145** kann problemlos auch in enantiomerenreiner Form durchgeführt werden; ausgehend von (+)-Diacetat **43a** kann enantiomerenreines **145a** erhalten werden. Auf diesem hier vorgestellten Weg läßt sich neben der nötigen Diastereomerentrennung auch die Abtrennung des unerwünschten regioisomeren Epoxids **182** vermeiden, was die Synthese deutlich effizienter gestaltet.

#### 2.7.2.2 Synthese von chiro-Inositol-Derivaten aus **145**.

Cis-Dihydroxylierung von Carbonat **145** liefert aufgrund der Anordnung der beiden Allylsubstituenten in großem Überschuß das *chiro*-Inositol-Derivat **188** (Schema 85). Das in geringen Mengen (< 10 %) entstehende *epi*-Inositolderivat kann durch Umkristallisation entfernt werden.



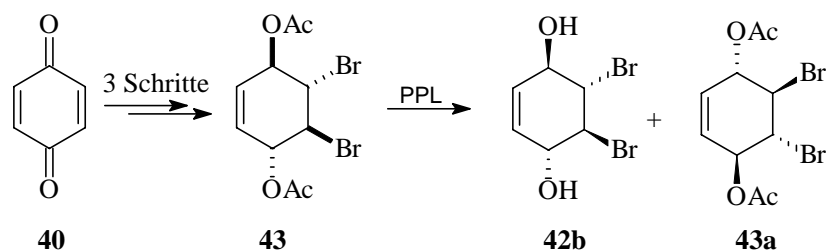
**Schema 85:** Darstellung von *chiro*-Inositolderivat **188**.

Die auf diesem Weg zugänglichen Substitutionsmuster ergänzen die unter 2.7.1, sowie von BLOCK<sup>154</sup> beschriebenen Zugänge weiter.

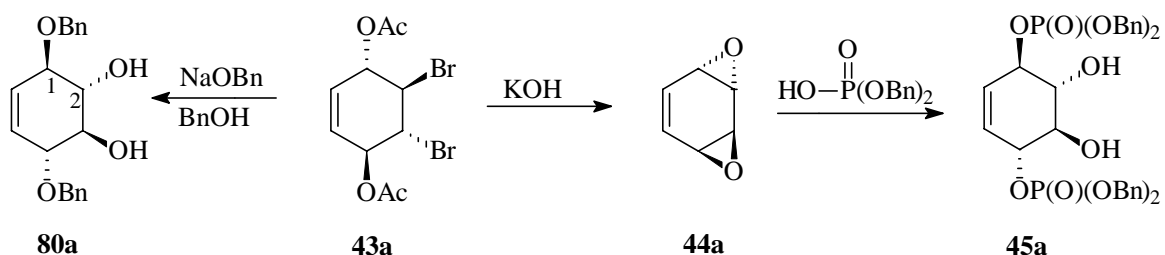


### 3 Zusammenfassung

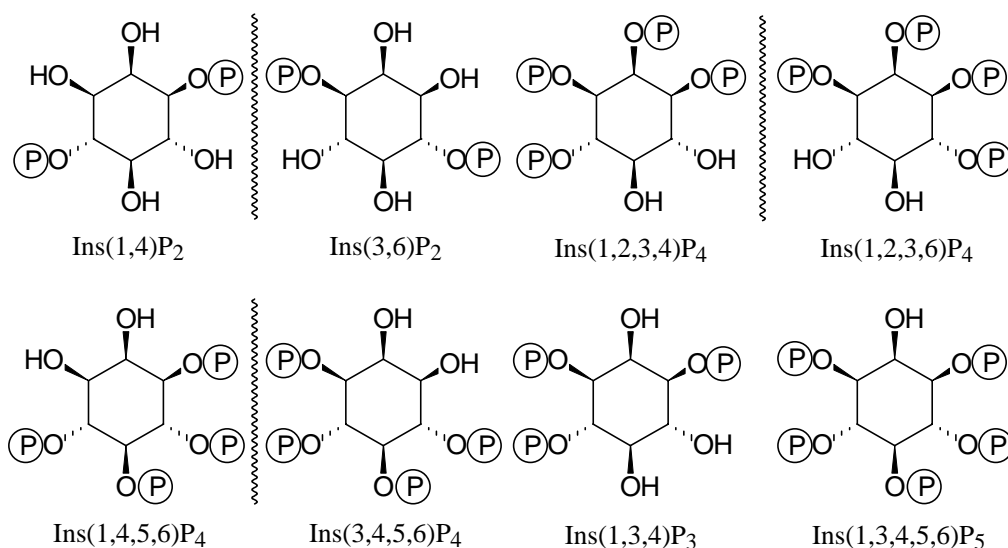
Ausgehend von den enantiomerenreinen Verbindungen **42b** und **43a**, die aus preiswertem *p*-Benzochinon in vier Reaktionsschritten auch in größeren Mengen gut zugänglich sind, konnte ein flexibles System zur Synthese von Inositolphosphaten und anderen Inositolderivaten etabliert werden.



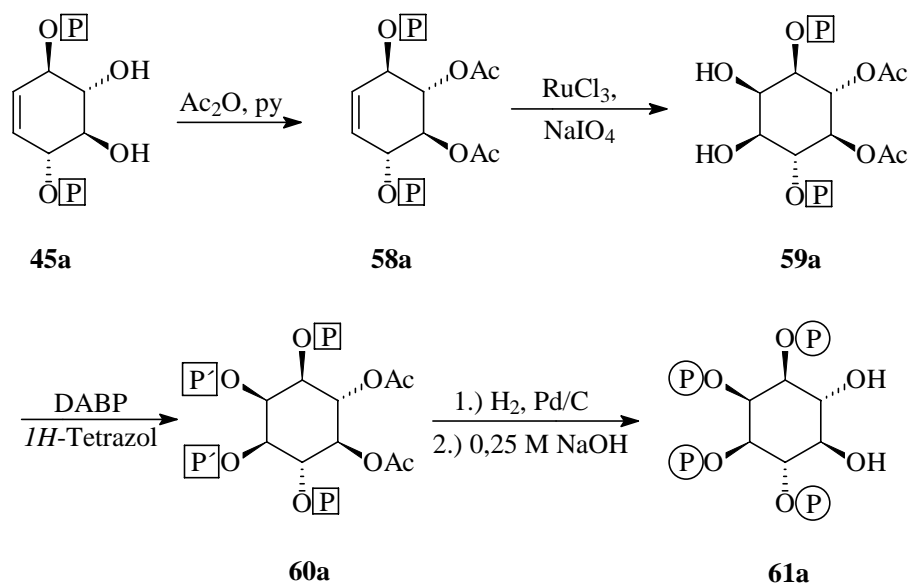
Diese Verbindungen können durch Behandeln mit Kaliumhydroxid in Tetrahydrofuran in *anti*-Benzoldioxid überführt werden, das in Allylposition mit Dibenzylphosphat geöffnet werden kann. Auf diesem Weg konnten enantiomerenreine, doppelt phosphorylierte Konduritol-B-Derivate zugänglich gemacht werden. Alternativ können die Ausgangsverbindungen auch mit Natriumbenzylat in Benzylalkohol direkt zu 1,4-Dibenzylkonduritol-B umgesetzt werden (Schema 2).



Das Potential des Diphosphokonduritols **45** als flexiblem Baustein zur Inositolsynthese konnte erfolgreich demonstriert werden. Konsequente Ausnutzung des Konzepts der paarweisen Differenzierung ermöglichte die Synthese von sieben enantiomerenreinen Inositolphosphaten und einer *meso*-Verbindung.

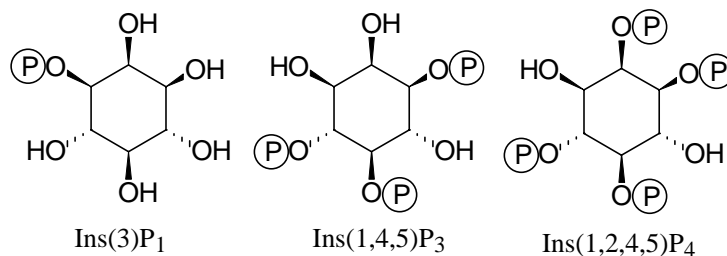


Die Vorgehensweise soll am Beispiel des in dieser Arbeit erstmalig synthetisierten Ins(1,2,3,4)P<sub>4</sub> veranschaulicht werden.

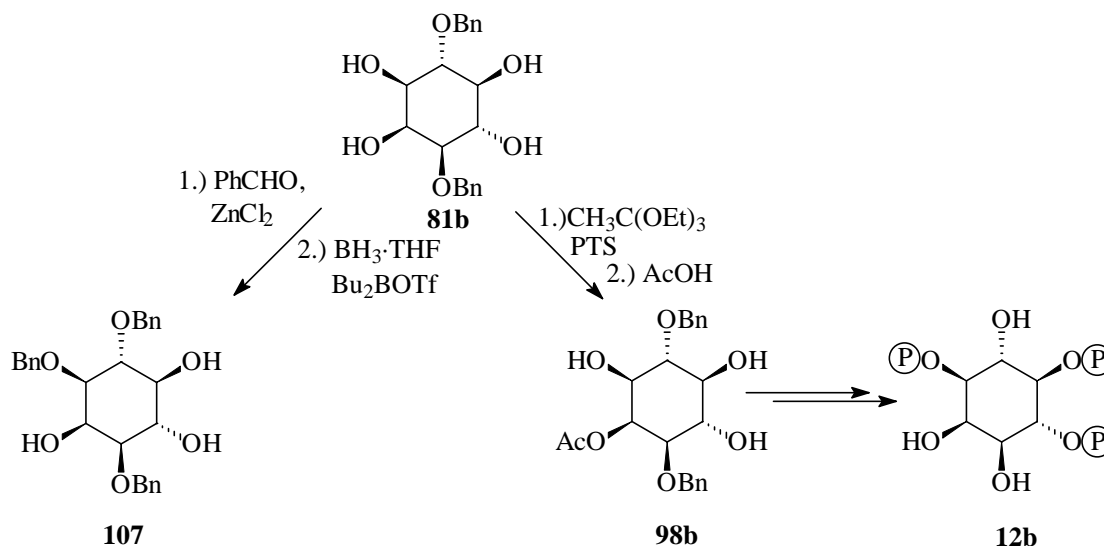


Zunächst wurden die beiden freien OH-Gruppen mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen und anschließend die Doppelbindung *cis*-dihydroxyliert. Die  $C_2$ -Symmetrie des Konduritols führt dazu, daß bei der Dihydroxylierung nur ein Produkt entsteht; Angriff des Reagenzes von der Ober- oder Unterseite führen zum identischen Produkt. Die *all-trans*-Orientierung von Konduritoll-B-Derivaten bewirkt zudem, daß das resultierende Inositol *myo*-Konfiguration besitzt. Nach Phosphorylierung der beiden OH-Gruppen kann das Inositolphosphat durch Abspaltung aller Schutzgruppen einfach freigesetzt werden.

Zudem konnten, ausgehend von 1,4-Dibenzylkonduritol **80** verschiedene enantiomerenreine Inositolphosphate dargestellt werden, darunter das aus der Inositol-Biosynthese entstehende  $\text{Ins}(3)\text{P}_1$  und das wohl wichtigste Inositolphosphat,  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ .

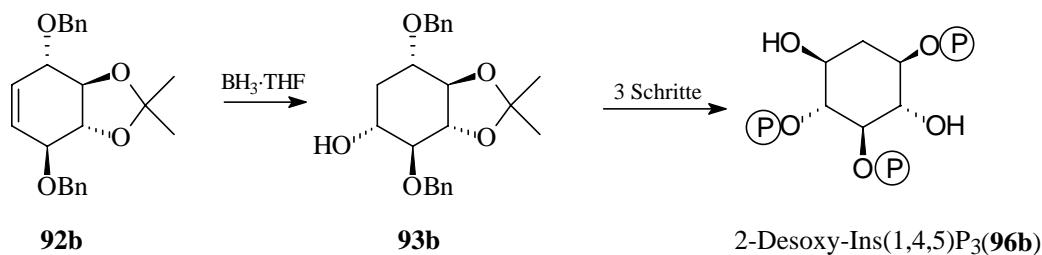


Die hier entwickelte Synthese von  $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$  stellt den wohl effizientesten Zugang zu dieser Verbindung dar, der bisher bekannt ist. **12b** kann in nur vier Reaktionsschritten und einer Gesamtausbeute von 75 % ausgehend von Konduritol-B **80b** synthetisiert werden. Bemerkenswert ist dabei vor allem die selektive Schützung der axialständigen (und damit unreaktivsten) Hydroxylgruppe in Tetrol **81b**, die durch die sogenannte „Orthoester-Methode“ realisiert werden konnte. **98b** stellt darüberhinaus einen flexiblen Baustein zur Synthese von Analoga zu **12b** wie z.B. Thioaten dar. Desweiteren konnte ein Weg gefunden werden, selektiv die 1- bzw. 3-Position in Tetrol **81** zu benzylieren.

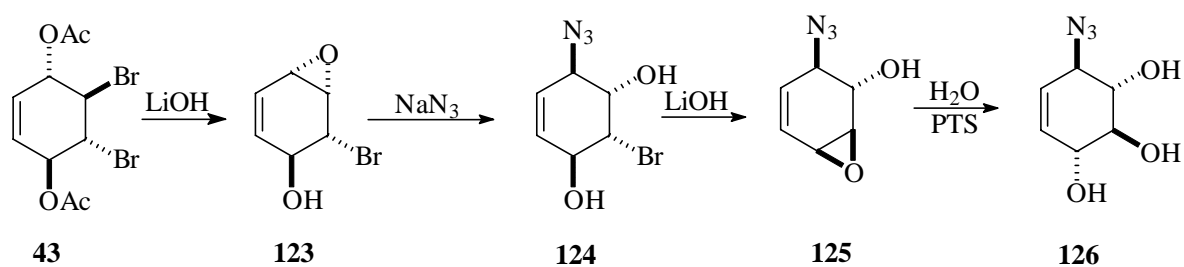


Eine weitere interessante Funktionalisierungsmöglichkeit von Konduritol-B-Derivaten stellt deren Hydroborierung dar; aus dem isopropylidengeschützten Dibenzylkonduritol konnte in 95 % Ausbeute das 2-Desoxy-myo-Inositolderivat als einziges Isomer erhalten werden, was zu

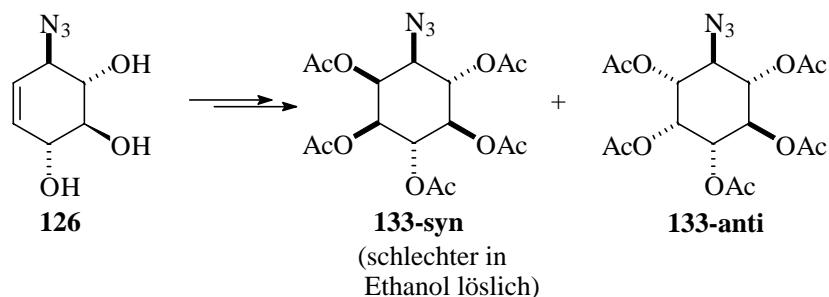
der ersten Synthese von enantiomerenreinem 2-Desoxy-Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> ausgenutzt werden konnte.



Eine pharmakologisch interessante Klasse von *myo*-Inositolderivaten stellen Azido- und Amino-Inositole dar. Die sukzessive Einführung von zwei Substituenten bietet eine elegante Möglichkeit zur gezielten Einführung eines Substituenten in definierten Positionen des Inositol-Grundgerüsts.



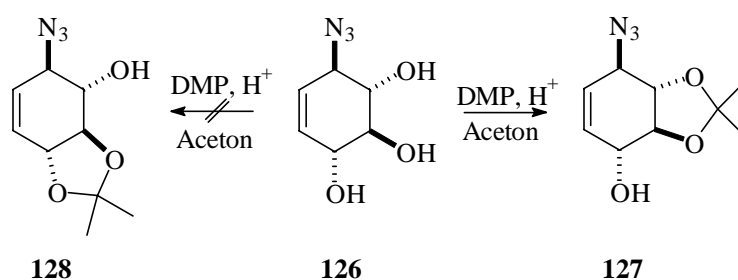
So konnte durch Öffnung des ersten Epoxids mit Azid eine Stickstoff-Funktionalität eingebracht werden. Die Trennung der Diastereomeren konnte hier durch Umkristallisation aus Ethanol auf der Stufe des Pentaacetats elegant gelöst werden.



Diese Synthesestrategie konnte erfolgreich zur Darstellung von Azido- und Aminoinositolsulfaten genutzt werden. Diese Verbindungen sind, wie vermutet, starke Inhibitoren von Phytasen. Über die Aminofunktion sollte eine Anbindung an ein Trägermaterial möglich sein. Ein so erhältliches Affinitätsmaterial könnte geeignet zu sein,

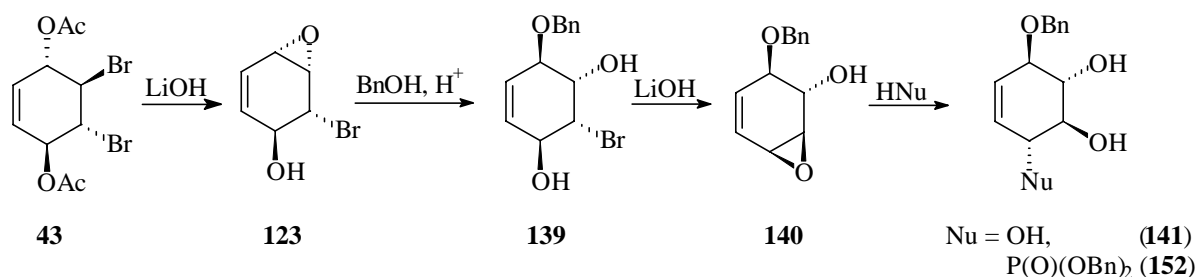
eine Phytase aus *Dictyostelium discoideum* aufzureinigen; Arbeiten auf diesem Gebiet werden zur Zeit im Arbeitskreis VOGEL (Biochemie) in Wuppertal durchgeführt.

Zudem konnte festgestellt werden, dass bei Azidotriol **126** die Einführung einer Isopropyliden-Schutzgruppe selektiv in 2- und 3-Position erfolgt. Somit ist eine zusätzliche Positionsdifferenzierung möglich. Diese unerwartete Selektivität konnte durch semiempirische und *Dichtefunktionaltheorie*-Berechnungen rationalisiert werden, die eine Abschätzung der Gleichgewichtskonstante zwischen den möglichen Produkten ermöglichte.



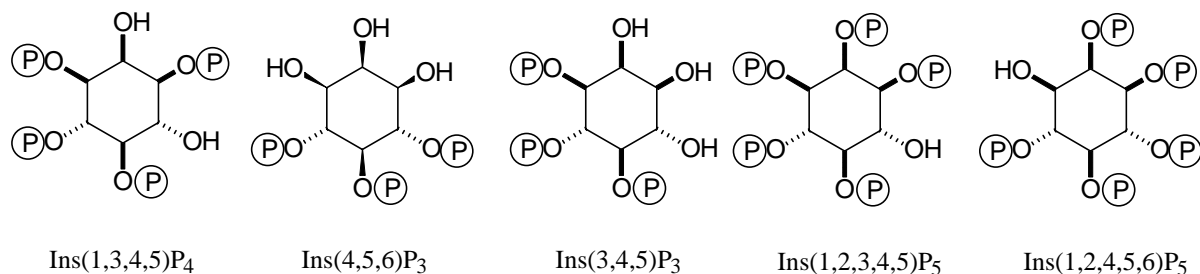
Trotz der oben beschriebenen vielfältigen Möglichkeiten setzt die paarweise Differenzierung der Hydroxy-Gruppen Grenzen in Bezug auf das Substitutionsmuster synthetisierbarer Inositolphosphate. Eine Übertragung des zur Synthese von **126** verwendeten Prinzips der schrittweisen Substituenteneinführung ermöglichte die Darstellung von Konduritol-Derivaten, bei denen die OH-Gruppen in 1- und 4-Position differenziert waren.

Durch sauer katalysierter Öffnung von **123** mit Benzylalkohol, gefolgt von Bildung des zweiten Epoxids und dessen nucleophiler Öffnung konnten unsymmetrische Konduritol-B-Derivate dargestellt werden. Durch Öffnung des zweiten Epoxids mit Wasser wurde in Zusammenarbeit mit BRAUN Triol **141** erhalten, zudem gelang die direkte Einführung einer Phosphatgruppe durch Epoxidöffnung mit Dibenzylphosphat.



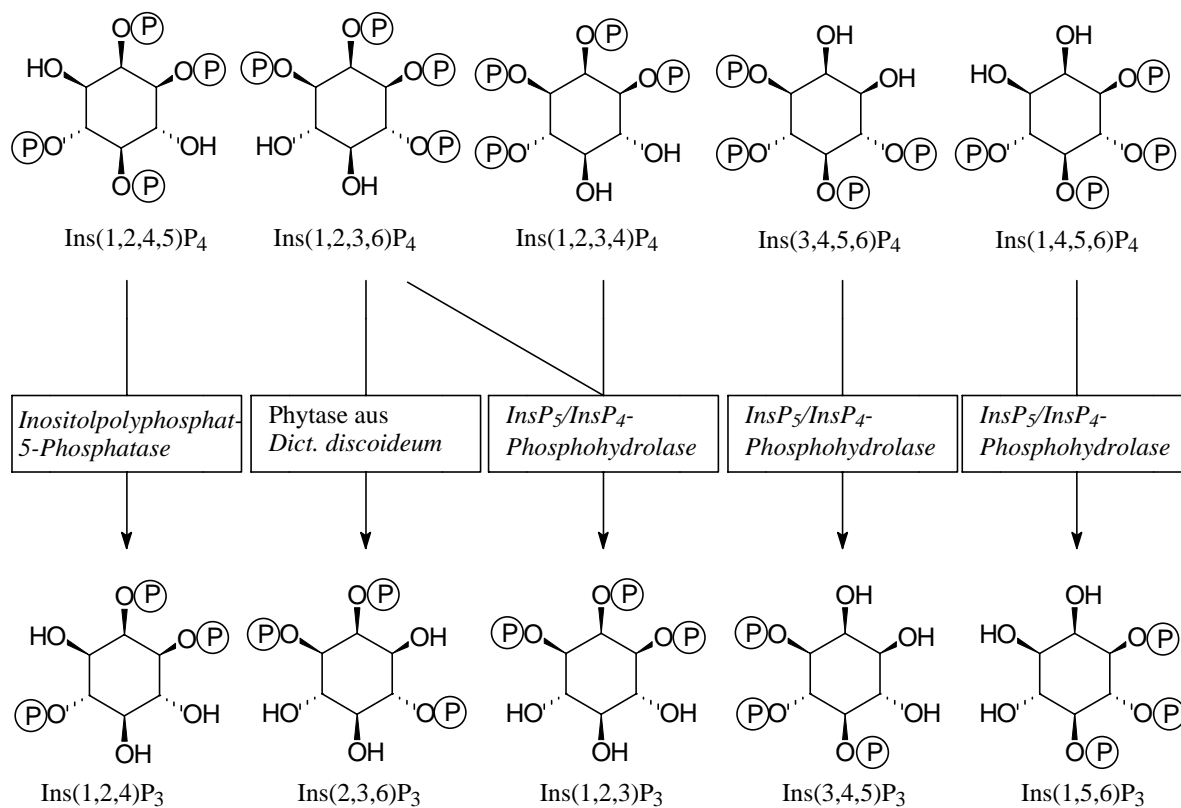
Insbesondere **152** wurde erfolgreich zur Synthese von Inositolphosphaten eingesetzt.

Die bei der *cis*-Dihydroxylierung entstehenden Diastereomere konnten im weiteren Syntheseverlauf in vielen Fällen getrennt werden, vorwiegend durch Einsatz einer Anionentauscher-HPLC-Anlage auf der Stufe der freigesetzten Inositolphosphate. Auf diese Weise wurde jeweils ein Regioisomerenpaar zugänglich. Dieses Prinzip erhöht die Anzahl zugänglicher *myo*-Inositolphosphate erheblich und konnte bereits zur Synthese verschiedener racemischer Inositolphosphate genutzt werden, darunter die *meso*-Verbindung  $\text{Ins}(4,5,6)\text{P}_3$ , die für eine Komplexierungsstudie von Interesse war, und  $\text{Ins}(1,3,4,5)\text{P}_4$ , das ein Isomer von großer biologischer Bedeutung ist. Die Übertragung dieser Resultate auf enantiomerenreine Verbindungen dürfte problemlos durchzuführen sein.

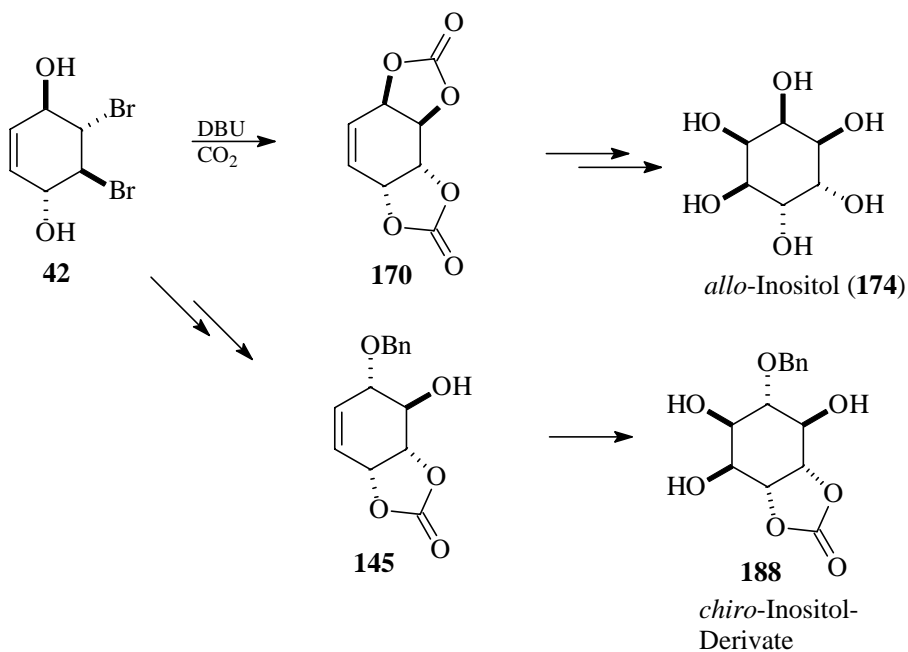


Untersuchungen von enzymatischen Dephosphorylierungen führten zu der Erschließung präparativ nutzbarer Umsetzungen. Ausgehend von synthetisch hergestellten  $\text{InsP}_4$ -Isomeren konnten durch regioselektive Dephosphorylierungen Inositoltrisphosphate hergestellt werden, darunter auch das in obigem Schema racemisch erhaltene  $\text{Ins}(3,4,5)\text{P}_3$  in beiden enantiomeren Formen. Insgesamt wurden drei Enzyme aus *Dictyostelium* zu präparativen Umsetzungen eingesetzt; unter Ausnutzung ihrer unterschiedlichen Substratspezifität und Positionsselektivität konnten insgesamt vier enantiomerenreine Inositoltrisphosphate und ein *meso*-Inositoltrisphosphat synthetisiert werden. Bemerkenswert ist die Darstellung des Enantiomerenpaares  $\text{Ins}(1,2,4)\text{P}_3$  /  $\text{Ins}(2,3,6)\text{P}_3$  unter Verwendung von zwei verschiedenen Enzymen und völlig unterschiedlichen Substraten.

Die Flexibilität der hier präsentierten drei ineinandergreifenden Synthesekonzepte konnte eindrucksvoll demonstriert werden. Im Rahmen dieser Arbeit konnten gezielt 20 Inositolphosphate (von 63 möglichen) synthetisiert werden, darunter nahezu alle physiologisch interessanten Isomere.



Durch Umsetzung der Ausgangsverbindungen zu anderen Bausteinen konnten zudem Wege zu verschiedenen Stereoisomeren von *myo*-Inositol aufgezeigt werden.



Durch Funktionalisierung der Doppelbindung des Tetraacetyl-Konduritol-E **172** durch Epoxidierung oder *cis*-Dihydroxylierung und nachfolgende Bildung eines cyclischen Sulfats konnten zwei Möglichkeiten zur Einführung eines *trans*-Diols (durch anschließende Öffnung mit Wasser) in Konduritol-Systeme demonstriert werden; die so entstehenden Isomere sollten gut trennbar sein und somit Zugang zu weiteren Inositol-Systemen ermöglichen.

Die schnelle Darstellung von Benzylcarbonat **145** stellt zudem eine formale Totalsynthese von Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> dar. Da auf diese Weise auch enantiomerenreines **145** einfach zugänglich ist, ergibt sich eine deutliche Verbesserung der von LEY publizierten Route.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Zugang zu *myo*-Inositolphosphaten ausgehend von *p*-Benzochinon den bisher bekannten Routen als völlig ebenbürtig anzusehen ist; die zwei unterschiedlichen Synthesekonzepte, die auf der Verwendung von C<sub>2</sub>-symmetrischen Bausteinen einerseits und unsymmetrischer Konduritol-B-Derivate andererseits beruhen, ergänzen sich in nahezu idealer Weise, die chemoenzymatischen Methoden bilden eine weitere interessante Erweiterung. Ein gravierender Vorteil gegenüber Zugängen, die von natürlichem *myo*-Inositol ausgehen, ist die einfache Einführbarkeit von Substituenten in das Ringgerüst. Diese erfolgt durch einfache, stereospezifische Ringöffnung eines Epoxids durch frei wählbare Nucleophile und ermöglicht die gezielte Einführung von Substituenten in vier der sechs möglichen Ringpositionen. Die Leistungsfähigkeit des Konzepts konnte eindrucksvoll am Beispiel von Azido-Inositolen demonstriert werden.

Schließlich ist diese Methode nicht auf den Einsatz von Konduritol-B-Derivaten limitiert; gezielte Modifikation des verwendeten Konduritol-Bausteins bietet hier ein Höchstmaß an Flexibilität. Besonders erwähnt werden sollen hier die ebenfalls C<sub>2</sub>-symmetrischen Bausteine **170** und **172**, die die oben beschriebenen Vorteile der Konduritol-B-Systeme besitzen. In nachfolgenden Arbeiten wird deren Potential demonstriert werden.

Berücksichtigt man diese Faktoren, so bleibt festzustellen, daß diese Route zu Inositol-Systemen die flexibelste und umfassendste Methode darstellt, die bislang bekannt ist. Insbesondere die Möglichkeit, nahezu beliebig modifizierte Inositole auf kurzen und effizienten Routen auch enantiomerenrein zugänglich zu machen, bietet in diesem Umfang kein anderes Konzept.



## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Allgemeine Arbeitstechniken und Meßmethoden

Es wurden folgende Geräte und Materialien eingesetzt:

#### *Schmelzpunktbestimmung:*

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren mit einem Gerät der Firma Büchi (Büchi 510) bestimmt. Die angegebenen Schmelzpunkte sind nicht korregiert.

#### *Chromatographische Verfahren:*

Für die analytische Dünnschichtchromatographie fanden Kieselgel-Fertigfolien der Firma Merck (DC-Alurolle Kieselgel F<sub>254</sub>) Verwendung. Die Detektion der Substanzen erfolgte zum einen durch Fluoreszenzlöschung im UV-Licht bei 254 nm, zum anderen durch Besprühen mit einer Lösung von Vanillin in Schwefelsäure (1:100) und anschließendem Erwärmen der Folie mittels eines Heißluftföns.

Zur präparativen Flash-Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (Korngröße 40-65 µm) der Firma Merck eingesetzt. Das Massenverhältnis von zu trennendem Substanzgemisch und Adsorptionsmittel betrug, je nach Trennproblem, 1:30 bis 1:100.

Die HPLC-Messungen wurden an folgenden Geräten der Firma Merck-Hitachi durchgeführt: Säule 25 cm RP18, UV-Detektor L 4250 (235 nm), Integrator D 2500 und Pumpe L 6200. Die Substanzen wurden bei Messungen mit normaler Phase auf einer Nucleosil-Säule mit einem Laufmittelgemisch von Heptan / *iso*-Propanol (80:20), bei Messungen auf reverser Phase mit einer Nucleosil-RP-Säule und einem Laufmittelgemisch aus Acetonitril/Wasser 80:20 durchgeführt.

Zur Identifikation freigesetzter Inositolphosphate wurden Messungen an folgenden Geräten der Firma Pharmacia durchgeführt: Steuergerät LC 2152, Pumpe 2150, Probengeber Typ 2157, Photometer VWM 2151 und ein Integrator des Typs 2121. Die Trennung der Inositolphosphate wurde über eine Mono-Q-Anionenaustauschersäule erreicht. Der Nachweis der Inositolphosphate erfolgte durch Extinktionsmessung, zur Detektion wurde ein *metal-dye*-Verfahren verwendet.

*IR-Spektroskopie:*

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte an einem Grät der Firma Perkin-Elmer, Typ 1420. Flüssige Substanzen wurden als Film vermessen, Feststoffe als KBr-Preßlinge. Die Intensitäten der beobachteten Absorptionen werden nach folgende Gruppen klassifiziert: stark (s), mittel (m) und wenig intensiv (w). Breite Banden erhalten den Zusatz (b).

*Massenspektrometrie:*

Die Massenspektren wurden an Geräten der Firma Varian MAT 311 A (EI) bzw. Perkin-Elmer, Typ API 150 (CI) aufgenommen. FAB-Experimente wurden an einem Finnigan-MAT 90-Gerät durchgeführt.

*Kernresonanzspektroskopie:*

Die Aufnahme der Kernresonanzspektren wurde an einem Gerät der Firma Bruker, Typ ARX 400 durchgeführt. Die chemischen Verschiebungen der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Spektren sind in  $\delta$ -Werten, bezogen auf das verwendete Lösungsmittel als interner Standard angegeben. Die Verschiebungen der  $^{31}\text{P}$ -Spektren beziehen sich auf 85%ige Phosphorsäure als externer Standard. Zur Beschreibung der Signalmultiplizität werden folgende Symbole verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett), sext (Sextett) und m (Multipllett). Um eine Überlagerung mehrerer Signale zu einem scheinbar einfacheren Aufspaltungsmuster anzudeuten, wird dem betreffenden Symbol ein  $\Psi$  (Pseudo-) vorangestellt. Wenn beide enantiomere Formen dargestellt wurden, so bezieht sich die Numerierung der NMR-Auswertung auf das **a**-Enantiomer.

*Optische Rotation:*

Die gemessenen Drehwerte wurden mit einem Polarimeter 241 der Firma Perkin-Elmer durchgeführt. Die Berechnung des spezifischen Drehwerts  $[\alpha]$  erfolgt nach folgender Formel:

$$[\alpha] = 100 \cdot \alpha / (c \cdot l)$$

Dabei bedeutet  $\alpha$  den gemessenen Wert für die Probe, c die Konzentration in g /100 ml und l die Küvettenlänge in dm.

Stellvertretend für alle Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Arbeitskreises möchte ich mich bei meinem Inositol-Mitstreiter und -Nachfolger M. Podeschwa, sowie bei meinen Laborkollegen Dr. M. Braun, T. Daub und J. Ostrowski bedanken, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Mein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern des Arbeitskreises Vogel für die freundliche Aufnahme und die entgegenkommende Beteiligung an deren Kaffee-Vorräten. Hervorzuheben sind Herr G. Dallmann und insbesondere Herr Dr. S. Adelt, mit dem sich eine für alle Seiten gedeihliche und äußerst fruchtbare Kooperation auf zahlreichen Gebieten entwickelte und der sich desweiteren für die Aufnahme zahlreicher HPLC-Messungen und -Aufreinigungen der freigesetzten Inositolphosphate bereitwillig zur Verfügung stellte. Ohne seinen engagierten Einsatz wären einige der „last-minute“-Resultate nicht mehr erzielbar gewesen.

Bei Prof. O. Stelzer mochte ich mich herzlich für sein Interesse an NMR-spektroskopischen Fragestellungen bedanken. Herrn A. P. Ligon danke ich herzlich für die Berechnungen mit GAUSSIAN 98.

Für die Aufnahmen der zahlreichen NMR-Spektren danke ich Frau I. Polanz, Herrn Dr. C. M. Weisshuhn und Herrn Prof. Dr. R. Eujen. Für die Aufnahmen der Massenspektren bedanke ich mich bei Frau E. Smets, sowie bei Herrn Musche und Herrn Dr. Weigand (Bayer AG). Herrn Lenz (Universität Köln) gebührt mein Dank für die Aufnahme der Inositolphosphat-Massenspektren.

Meinen beiden Forschungspraktikanten M. Schellenträger (Aminoinositolsulfate) und P. Lebus (Synthese von Ins(4,5,6)P<sub>3</sub>) danke ich für ihren engagierten und unermüdlichen Einsatz im Dienste der Inositolchemie.

Für die geleisteten Korrekturen gilt mein ausdrücklicher Dank an die Herren Dr. M. Braun, Dr. M. Roggel und Dr. S. Adelt, die durch ihre Anregungen die Präsentation dieser Arbeit verbessert haben.

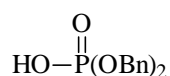
#### 4.1.1 Darstellung von Dibenzylphosphat

27,6 g (100 mmol) Dibenzylphosphit (95 %) werden in einem Gemisch von 50 ml Dioxan und 50 ml Wasser gelöst. Es werden 3,0 g (34 mmol) Natriumhydrogencarbonat zugegeben.

Unter Rühren wird innerhalb von 1 h eine Lösung von 10,5 g (664 mmol) Kaliumpermanganat in 150 ml Wasser zugegeben. Entstehende Reaktionswärme wird in einem Wasserbad abgefangen. Die Suspension wird 2 h bei Raumtemperatur nachgerührt. Anschließend wird das Gemisch über Nacht absitzen lassen, der entstandene Braunstein abfiltriert und mehrfach mit Dichlormethan und Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen.. Die leicht gelbliche Reaktionslösung wird mit 2 N Salzsäure auf pH 2 eingestellt und dreimal mit 200 ml Dichlormethan extrahiert. Zwischen den Extraktionen stellt man den pH durch erneute Zugabe von Salzsäure wieder auf 2 ein.

Die vereinigte organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Nach Überschichten mit Pentan kristallisiert das verbleibende Öl . Umkristallisation des Rückstands aus Diethylether ergeben 16,7 g (60 %) farblose Kristalle.



**Schmp.** 79-80°C

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

δ = 5.08 (d, 2 H, <sup>3</sup>J(H,P) = 7.6 Hz, O-CH<sub>2</sub>-Ph); 7.38 (m, 5 H, Phenylring)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

δ = 39.33 (d, CH<sub>2</sub>, <sup>2</sup>J(C,P) = 5.0 Hz); 128.01, 128.59, 128.69, 135.93, 136.00 (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 164.41 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>31</sup>P-{<sup>1</sup>H}-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

δ = 1.34

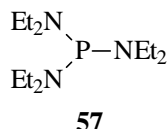
#### 4.1.2 Darstellung von Tris(diethylamino)phosphit (57)

In einem inertisierten 2l-Dreihalskolben werden 700 ml (6,74 mol) Diethylamin in 800 ml Petrolether vorgelegt. Innerhalb von 2 h werden bei -78 °C 92,4 ml (1,06 mol)

Phosphortrichlorid zugetropft. Nach der Zugabe wird auf Raumtemperatur auftauen lassen und 3 h nachgerührt.

Das Reaktionsgemisch wird zur Entfernung der Ammoniumsalze zweimal mit 200 ml Wasser versetzt. Nach Entfernen der wäßrigen Phase wird die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Durch Destillation des erhaltenen Öls erhält man 210 g (80 %) einer farblosen Flüssigkeit mit Sdp. 88-90° (0,8 mbar)



**<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 400 MHz):**

$\delta = 0.93$  (t, 18H,  $^3\text{J}(\text{H},\text{H}) = 7.2$  Hz, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>);  $2.86$  ( $\Psi$ quint, 12H,  $^3\text{J}(\text{H},\text{H}) = 7.2$  Hz,  $^3\text{J}(\text{P},\text{H}) = 8.4$  Hz, -N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 101 MHz):**

$\delta = 14.07$  (d, CH<sub>3</sub>,  $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 3.4$  Hz, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>),  $39.31$  (d, CH<sub>2</sub>,  $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 22.5$  Hz, N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 162 MHz)**

$\delta = 118.23$

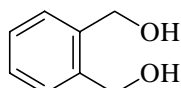
**<sup>31</sup>P-NMR (C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, 162 MHz)**

$\delta = 118.23$  (sept,  $^3\text{J}(\text{P},\text{H}) = 8.4$  Hz)

**4.1.3 Darstellung von Benzol-1,2-dimethanol**

Zu einer Suspension von 5,7 g (0,15 mol) Lithiumaluminiumhydrid in 250 ml wasserfreiem Diethylether tropft man unter Rühren eine Lösung von 22,2 g (0,1 mol) Phthalsäurediethylester, gelöst in 100 ml. abs. Diethylether, so zu, daß das Gemisch durch die ablaufende Reaktion bei gelindem Sieden gehalten wird (ca. 5 h). Die Reaktionslösung rührt über Nacht nach.

Unter Eiskühlung und Rühren werden tropfenweise 70 ml Wasser zur Vernichtung überschüssigen Alanats vorsichtig zugegeben, anschließend gibt man langsam 75 ml 20 %-ige Schwefelsäure zur Auflösung des ausgefallenen Aluminiumhydroxids zu. Die Phasen werden getrennt und die wäßrige Phase wird dreimal mit je 200 ml Ether extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und der Ether im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird in Diethylether aufgekocht und der ausfallende Niederschlag abfiltriert. Man erhält 11,2 g (80 %) eines farblosen Feststoffs.



**Schmp:** 63°C (Lit.: 61-64°C)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

δ = 3.66 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH); 4.68 (s, 4H, -CH<sub>2</sub>-OH); 7.34 (m, 4H, Phenylring)

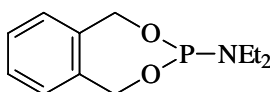
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

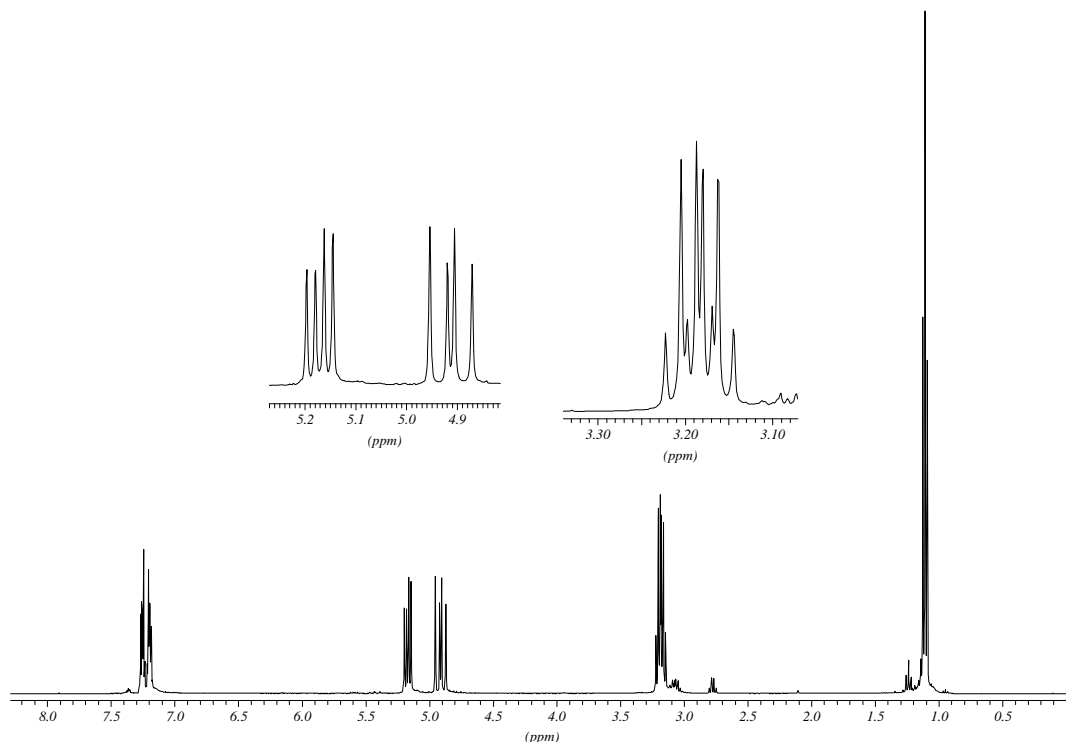
δ = 63.88 (2CH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>-OH), 128.45 und 128.58 (4CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 139.28 (2C, ipso-C des Phenylrings)

#### 4.1.4 Darstellung von *o*-Xyliden-*N,N*-diethylamino-phosphit (55)

In einer trockenen, inertisierten Destillationsapparatur mit Mikrobrücke werden 39 ml (0,17 mol) Tris(diethylamino)phosphit **57** und 14 g (0,1 mol) Phthalylalkohol vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird auf ca. 70 °C Badtemperatur erwärmt, dabei entsteht eine klare Lösung. Durch Anlegen eines leichten Vakuums wird Diethylamin aus dem Reaktionsgemisch abdestilliert. Nach ca. 2 h ist die Reaktion beendet.

Durch anschließende Destillation im Hochvakuum erhält man 13,8 g (58 mmol, 58 %) einer farblosen Flüssigkeit mit Sdp. 110-115 °C (0,1 mbar). Das Produkt kann sich bei längerem Stehenlassen gelblich verfärben.



 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta = 1.12$  (t, 6H,  $^3\text{J}(\text{H,H}) = 7.1$  Hz,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_3$ );  $3.17$  (dq, 4H,  $^3\text{J}(\text{H,H}) = 7.1$  Hz,  $^3\text{J}(\text{P,H}) = 8.3$  Hz,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_3$ );  $4.87\text{-}5.19$  (2 AB-Spektren, 4H,  $\text{-C-CH}_2\text{-O}$ );  $7.22$  (m, 4H, Phenylring)

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):**

$\delta = 14.72$  (d,  $2\text{CH}_3$ ,  $^3\text{J}(\text{C,P}) = 2.9$  Hz,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_3$ );  $38.26$  (d,  $2\text{CH}_2$ ,  $^2\text{J}(\text{C,P}) = 20.6$  Hz,  $\text{N-CH}_2\text{-CH}_3$ );  $65.31$  (d,  $2\text{CH}_2$ ,  $^2\text{J}(\text{C,P}) = 10.0$  Hz,  $\text{-CH}_2\text{-O-P}$ );  $124.41$  und  $127.68$  ( $4\text{CH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ),  $137.90$  ( $2\text{C}$ , ipso-C des Phenylrings)

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)**

$\delta = 146.50$

**4.1.5 Darstellung von (5R,S), (6R,S)-5,6-Dibromcyclohex-2-en-1,4-dion (41)**

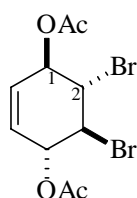
176,5 g (1,6 mol) *p*-Benzochinon werden in 2,4 l Chloroform gelöst und im Eisbad gekühlt. Innerhalb von 2 h wird eine Lösung von 255,7 g (1,6 mol) Brom in 800 ml Chloroform zugetropft. Man rührt 1,5 h bei Raumtemperatur nach, gibt Magnesiumsulfat zu und filtriert das Reaktionsgemisch. Nach Entfernen des Lösungsmittels erhält man und. Die gelbe Reaktionslösung wird über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedunstet. Man erhält 423,2 g (98 %) eines gelb-grünen Feststoffs, der roh zur Reduktion eingesetzt wird.

**4.1.6 Darstellung von (1R,S),(2S,R),(3S,R),(4R,S)-2,3-dibromcyclohex-5-en-1,4-diol (42)**

200 g ( 0,75 mol) Dibromdion **41** werden in einem Dreihalskolben mit KPG-Rührer und Innenthermometer in 2,5 l Diethylether gelöst und im Ethanol-Trockeneis-Bad auf -20 °C gekühlt. Innerhalb von 90 min. werden 60,0 g (1,6 mol) Natriumborant in 1 l Wasser unter kräftigem Rühren zügig zugegeben. Dabei sollte die Innentemperatur 7° C nicht überschreiten. Nach beendeter Zugabe rührt die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 90 min. nach. Die etherische Phase wird abgetrennt, die wäßrige wird fünf mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es verbleiben 193,7 g (0,71 mol, 95 %) eines farblosen Feststoffs. Das nach dieser Methode erhaltene Dibromdiol weist eine Isomerenreinheit von >80 % auf und kann direkt zur Acetylierung verwendet werden.

**4.1.7 Darstellung von (1R,S),(2S,R),(3S,R),(4R,S)-1,4-Di-O-acetyl-2,3-dibromcyclohex-5-en (43)**

Verbindung **42** (178,6 g, 0,66 mol) wird in einer gekühlten Mischung aus 200 ml Pyridin und 200 ml Essigsäureanhydrid über Nacht gerührt. Eis (300 g) wird zugegeben und 15 min. gerührt. Anschließend gibt man 300 ml Dichlormethan zu. Die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase vier mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (3 × 200 ml), 0,75 N HCl (3 × 200 ml) und gesättigter Kochsalzlösung (200 ml) extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein Kristallbrei, der aus Ethanol (0,5 ml/g) umkristallisiert wird. Man erhält 159 g (0,45 mol, 68 %) eines farblosen Feststoffs.

**43**

**Schmp.** 94 °C (Lit.<sup>155</sup>: 91-92 °C)



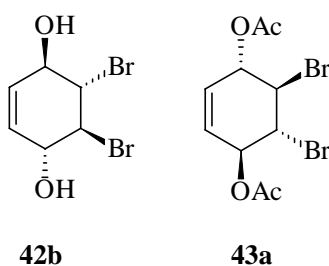
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta = 2.20$  (s, 6H, COCH<sub>3</sub>); 4.26 ppm (m, 2H, XX'-Teil eines AA'XX'-Spektrums, CH-2 und CH-3); 5.68 (m, 2H, AA'-Teil eines AA'XX'-Spektrums, CH-1 und CH-4); 5.61 (s, 2 H, CH-5 und CH-6)

Weitere spektroskopische Daten: Siehe Ref. 57.

**4.1.8 Racematspaltung von 43**

100,0 g (0,28 mol) gemörstertes racemisches Diacetat **43** und *Pig Pancreas Lipase* (54,7 g) werden in 1,2 l 0,1 M Phosphatpuffer und 120 ml Diethylether suspendiert. Das Reaktionsgefäß wird fest verschlossen und die Reaktionsmischung wird vier Tage heftig gerührt. Anschließend werden Ethylacetat (500 ml) und Celite zugegeben und das Enzym über Celite abfiltriert. Der Rückstand wird viermal mit 150 ml Ethylacetat und 150 ml Wasser extrahiert. Die vereinigte wäßrige Phase wird mit Ethylacetat extrahiert (3 × 150 ml) und die gesammelten organischen Phasen werden im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der verbleibende Feststoff wird in Dichlormethan suspendiert (600 ml). Diol **42b** verbleibt unlöslich als farbloser, kristalliner Feststoff, der durch einfaches Abfiltrieren isoliert werden kann. Zur Aufreinigung kann aus Toluol umkristallisiert werden. Man erhält 28,9 g (0,1 mol, 38 %) an **42b**. Durch Einengen der verbliebenen organischen Phase und Umkristallisation aus Ethanol erhält man **43a** als nadelförmig kristallisierenden Feststoff (37,9 g, 0,1 mol, 38 %)

**Analytische Daten für (1R),(2S),(3S),(4R)-2,3-dibromcyclohex-5-en-1,4-diol (42b)**

**Schmp.:** 164 °C (Lit.<sup>156</sup>: 164-166 °C).

$[\alpha]_D^{20} = + 41,8^\circ$  (c = 5,0, MeOH) (Lit.<sup>156</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = + 45,8^\circ$  (c = 1,2, Aceton))

**Analytische Daten für (1S),(2R),(3R),(4S)-1,4-Di-O-acetyl-2,3-dibromcyclohex-5-en (43a)**

**Schmp.:** 110 °C (Lit.<sup>156</sup>: 107-109 °C).

$[\alpha]_D^{20} = + 11,3^\circ$  (c = 5,1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Lit.<sup>156</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = + 11,3^\circ$  (c = 5,1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>))

**HPLC** (Whelk, S,S; Heptan / Isopropanol 90:10; Flow: 0,8 ml / min): t = 9,08 min

Anderes Enantiomer **43b**:

**HPLC** (Whelk, S,S; Heptan / Isopropanol 90:10; Flow: 0,8 ml / min): t = 10,24 min.

Für spektroskopische Daten: Siehe racemische Verbindungen und dort angegebene Literatur.

**4.1.9 Darstellung von anti-Benzoldioxid (43)**

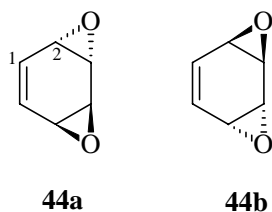
8,2 g (30,4 mmol) **42** werden in 350 ml abs. THF vorgelegt. Die Lösung wird im Eisbad gekühlt. Portionsweise gibt man ein Gemisch von 23g gepulvertem Kaliumhydroxid und 15 g gepulvertem Molsieb 3Å zu, die Temperatur der Lösung wird dabei zwischen 3 und 7°C gehalten. Man läßt die Reaktionslösung langsam auf Raumtemperatur erwärmen. Zur Vervollständigung des Reaktionsumsatzes werden weitere 3 g des Gemisches aus Molsieb und Kaliumhydroxid zugegeben und läßt 1 h nachrühren. Man versetzt die Lösung mit 400 ml Diethylether und filtriert den Feststoff ab. Der Rückstand wird gründlich mit Diethylether nachgewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 2,57 g (77 %) eines farblosen Feststoffs.

**Schmp.:** 56-57°C [Lit 53-54°C]

Zur Synthese von enantiomerenreinem **44b** wird das aus der Racematspaltung erhaltene Diol **42b** eingesetzt, zur Darstellung des anderen Enantiomers **44a** wird unter Einsatz des Diacetats **43a** wie folgt verfahren:

10,8 g (30,4 mmol) Diacetat **43a** werden in 350 ml abs. THF vorgelegt. Die Lösung wird im Eisbad gekühlt. Portionsweise gibt man ein Gemisch von 23g gepulvertem Kaliumhydroxid und 15 g gepulvertem Molsieb 3Å zu, die Temperatur der Lösung wird dabei zwischen 3 und 7 °C gehalten. Langsam werden dem Reaktionsgemisch 2 ml abs. Methanol zugegeben. Dabei

verschwindet die grüne Farbe des Reaktionsgemischs. Zur Komplettierung des Umsatzes läßt man 2 h nachrühren. Aufarbeitung: Siehe Vorschrift oben.



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**  $\delta$  = 3.03 (m, 2H, CH-3 und CH-4); 3.69 (m, CH-2 und CH-5); 6.02 (m, 2H, CH-1 und CH-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**  $\delta$  = 46.38 (d, 2C, C-3 und C-4); 53.64 (d, 2C, C-2 und C-5), 129,48 (d, 2C, C-1 und C-6)

**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)-anti-Benzoldioxid (44a)**

$[\alpha]_D^{20} = + 320.6^\circ$  (c = 1.44, CHCl<sub>3</sub>) (Lit.<sup>157</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = + 320.0^\circ$  (c = 1,44 CHCl<sub>3</sub>))  
(Lit.<sup>157</sup>:  $+170,3^\circ$  (c = 0,30 CHCl<sub>3</sub>))

**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)-anti-Benzoldioxid (44b)**

$[\alpha]_D^{20} = - 320.2^\circ$  (c = 1.75, CHCl<sub>3</sub>) (Lit.<sup>50</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -324,6^\circ$  (c = 0,75 CHCl<sub>3</sub>))  
(Lit.<sup>157</sup>:  $-324,6^\circ$  (c = 0,75 CHCl<sub>3</sub>))

**4.1.10 Darstellung von 1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)-konduritol-B (45)**

1,98 g (18 mmol) *anti*-Benzoldioxid **44** werden unter inerten Bedingungen in 150 ml abs. Dichlormethan gelöst. Anschließend werden 10,5 g (37,8 mmol) Dibenzylphosphat zugegeben. Die Reaktionslösung rührt über Nacht.

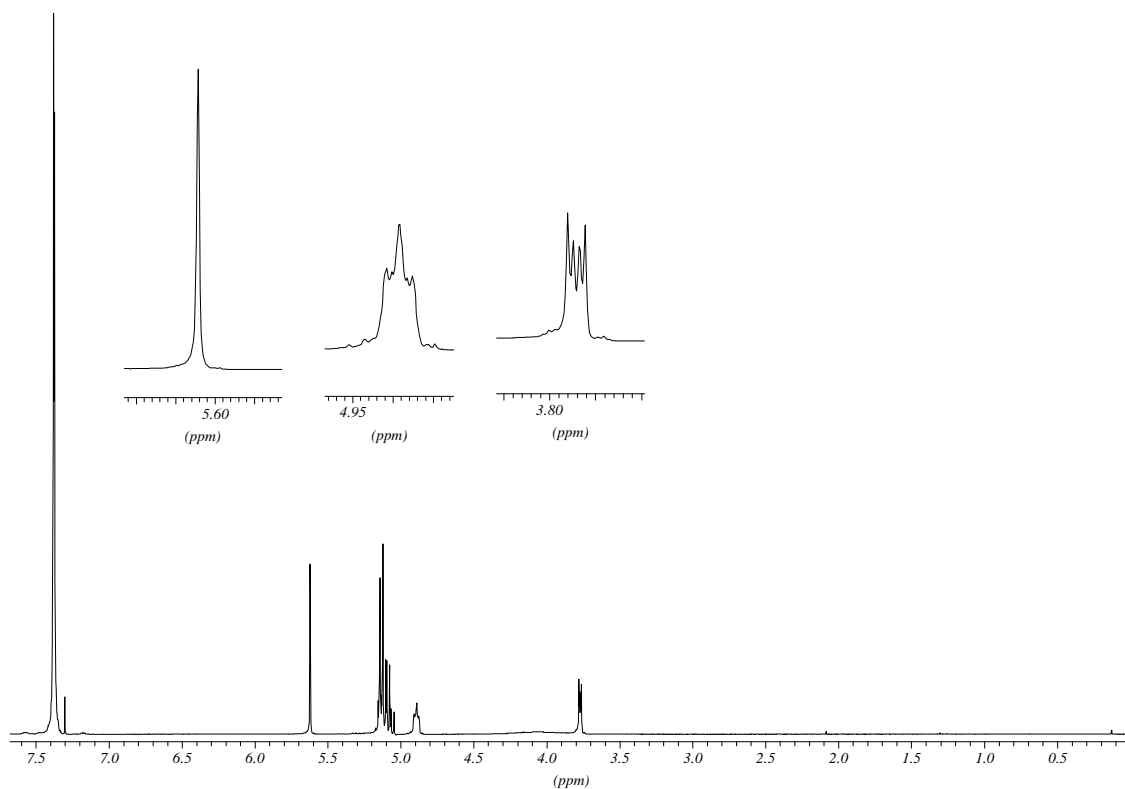
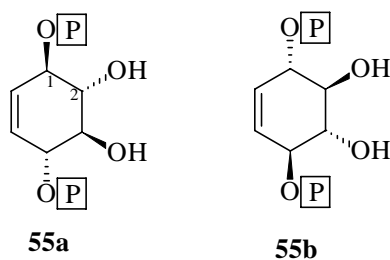
Anschließend wird das Lösungsmittel entfernt und der resultierende Feststoff zweimal aus Ethylacetat umkristallisiert. Man erhält 6,62 g (55 %) eines farblosen, voluminösen Niederschlags.

Enantiomer **45a** wird durch Einsatz von **44a**, Enantiomer **45b** durch Einsatz von **44b** erhalten. Die Darstellung der enantiomerenreinen Verbindungen liefert im allgemeinen **45a/b** als

farblosen, voluminösen Feststoff, kann aber aufgrund der geringeren Kristallisationstendenz den Einsatz von säulenchromatographischen Reinigungsschritten zur Erhaltung von analysenreiner Substanz erforderlich machen,

**Schmp.** 151-152° (Zers.)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,22 (DC:MeOH 95:5)



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta$  = 3.75 (dd, 2H,  $J = 2.4$  Hz,  $J = 5.2$  Hz, CH-2 und CH-3); 3.97 (s-b, 2H, OH); 4.85 (m, 2H, CH-1 und CH-4); 5.00-5.14 (m, 8H, -O-CH<sub>2</sub>-); 5.62 (s, 2H, CH-5 und CH-6); 7.37-7.28 (m, 20H, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

$\delta$  = 69.91 (m, CH<sub>2</sub>, AB-Teil eines ABX-Spektrums, -CH<sub>2</sub>-Ph); 74.25 (d, 2CH,  $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 3.8$  Hz, C-2 und C-3); 78.80 (d, 2CH  $^2\text{J}(\text{C},\text{P}) = 5.1$  Hz, C-1 und C-4); 128.07 ppm (dd, 2C,  $^3\text{J}(\text{C},\text{P}) = 5.1$  Hz, C-5 und C-6); 128.17, 128.22, 128.74, 128.79 und 128.82 (d, 20C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.76 (d, 4C,  $^4\text{J}(\text{C},\text{P}) = 5.5$  Hz, C(ipso))

 **$^{31}\text{P}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

$\delta$  = 0.58

**IR [KBr]:**

3380 [ν(O-H)]; 3065, 3020 [ν(=C-H)]; 2940, 2880 [ν(-C-H)], 1250 [ν(-P=O)]; 1135 [ν(-C-O-C)]; 1020 (-P(O)(OR)<sub>2</sub>), 730, 690 (=C-H)

**MS**(ESI, rel. Intensität):  $m/z = 667.7$  [(M+H)<sup>+</sup>, 100]

**Elementaranalyse:** Ber.: C: 61.27 % H: 5.44 %

Gef.: C: 61.03 % H: 5.38 %

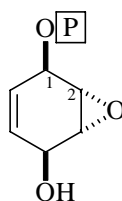
**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)-1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)-konduritol-B (45a)**

$[\alpha]_D^{20} = -55.2^\circ$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>)

**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)-1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)-konduritol-B (45b)**

$[\alpha]_D^{20} = +56.6^\circ$  (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>)

Aus der Mutterlauge kann durch Flash-Säulenchromatographie das Produkt der Payne-Umlagerung **46** isoliert werden.



**46**

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,33 (DC:MeOH 95:5)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

δ = 3.33 (ψt, 1H, J = 1.4 Hz, CH-2 oder CH-3); 3.42 (dd, 1H, J = 3.6 Hz, J = 1.5 Hz, CH-2 oder CH-3); 3.72 (s-b, OH); 4.38 (d, 1H, J = 4.07 Hz, CH-4); 4.94 (dd, 1H, J = 24.7 Hz, J = 3.8 Hz, CH-1); 5.64 (ddd, 1H, J = 10.3 Hz, J = 5.0 Hz, J = 1.7 Hz, CH-5 oder CH-6); 5.98 (ddd, 1H, J = 10.7 Hz, J = 5.1 Hz, J = 1.5 Hz, CH-5 oder CH-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

δ = 50.77 (CH, d, J = 1.9 Hz), C-2); 50.78 (CH, C-3); 61.73 (CH; C-4); 69.58 (CH<sub>2</sub>, dd, J = 10.6 Hz, J = 5.6 Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 69.71 (CH, C-1); 120.93 (CH, d, J = 1.9 Hz, C-6); 126.88 (CH, C-5); 127.93 - 128.74 (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 130.88 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**4.1.11 Darstellung von 1,4-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)-konduritol-B (52)**

In einem trockenen inertisierten Schlenk-Kolben werden 300 mg (0,45 mmol) Konduritol **45**, 508 mg (3,6 mmol) 1*H*-Tetrazol in 30 ml abs. Dichlormethan vorgelegt. Durch ein Septum werden 432 mg (1,8 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** zugegeben. Die Lösung rührte über Nacht.

Die Reaktionslösung wird im Ethanol/Trockeneis-Bad auf -40 °C gekühlt und mit einer über Magnesiumsulfat getrockneten Lösung von 670 mg (2.7 mmol) 70-%iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. nach und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Man gibt weitere 50 ml Dichlormethan zu. Überschüssige *m*-CPBA wird durch zweimaliges Ausschütteln mit je 60 ml 20%-ige Natriumsulfit-Lösung zu *m*-Chlor-benzoesäure reduziert. Die Reaktionslösung wird mit ges.

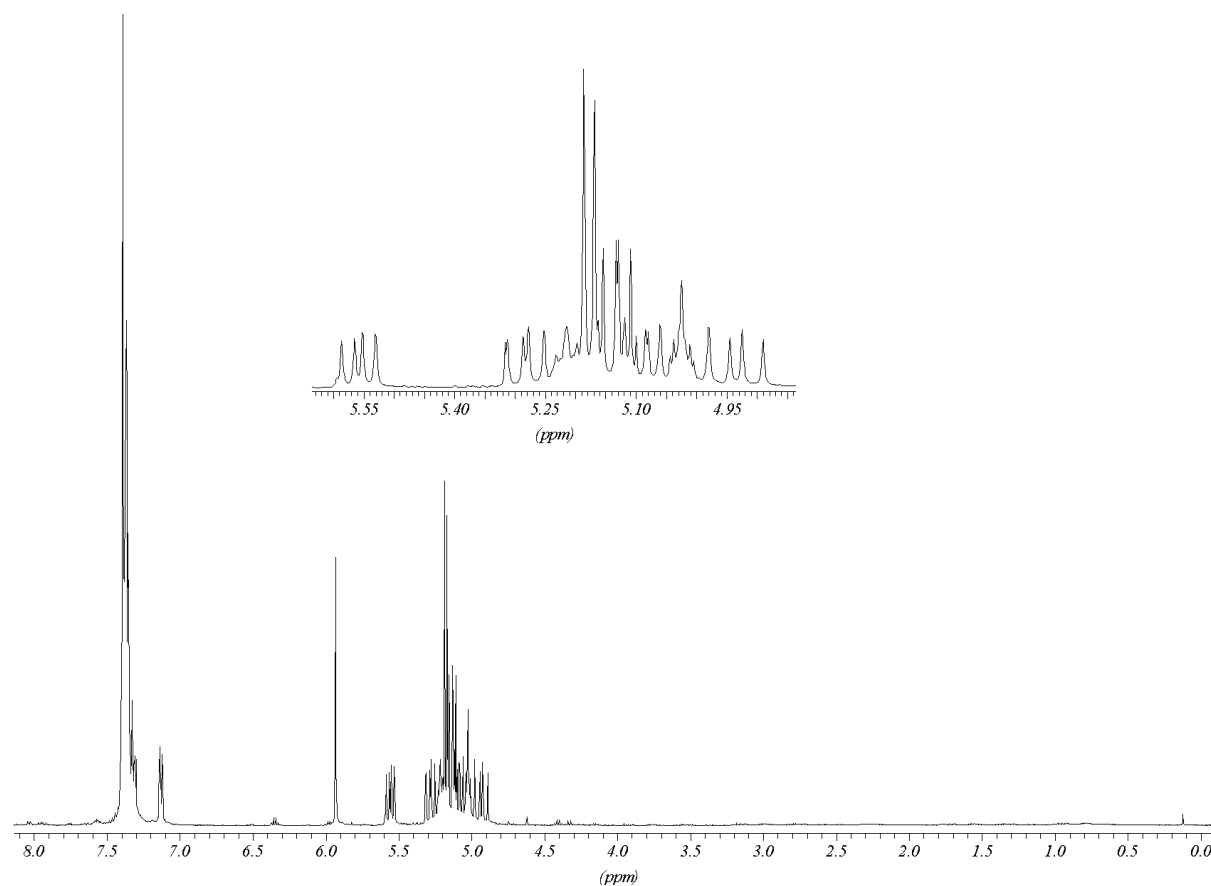
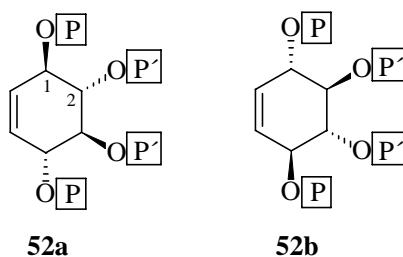
Natriumhydrogencarbonatlösung (3×70 ml) und ges. Natriumchlorid (70 ml) ausgeschüttelt.

Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein farbloser Schaum, der durch Flash-Chromatographie (DC:MeOH 97:3) gereinigt werden kann. Man erhält 385 mg (0,37 mmol, 83 %) eines farblosen Feststoffs.

Zur Darstellung von **52a** wird **45a** eingesetzt, zur Synthese von **52b** das andere Enantiomer **45b**.

Schmp. 135°C

R<sub>f</sub>-Wert: 0,39 (DC:MeOH 95:5)



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

δ = 4.92-5.30 und 5.52-5.59 (m, 20H, O-CH<sub>2</sub>-Ph und CH-1 bis CH-4); 5.93 (s, 2H, CH-1 und CH-2); 7.11-7.16 und 7.30-7.34 (m, 28H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

δ = 68.92, 69.23 (d, 4CH<sub>2</sub>, <sup>2</sup>J(C,P) = 6.8 Hz, -P(O)-O-CH<sub>2</sub>-Ph); 69.73, 69.94 (m, 4CH<sub>2</sub>, -P(O)-O-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 76.19 (2CH, C-2 und C-3); 77.92 (2CH, C-1 und C-4); 127.15 (2CH, C5 und C6); 128.00, 128.16, 128.57, 128.61, 128.63 (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 128.94, 129.03 (d, CH, J = 4.1 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 135.31, 135.44 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.48, 135.50, 135.55, 135.57 (C, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

$\delta = -0.84$  (P(O)(OBn)<sub>2</sub>);  $-2.18$  (P(O)(O<sub>2</sub>Xyl))

 **$^{31}\text{P}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

$\delta = -0.84$  ( $\Psi_{\text{sext}}$ ,  $^3J(\text{P},\text{H}) = 7,2$  Hz, P(O)(OBn)<sub>2</sub>);  $-2,18$  (m, P(O)(O<sub>2</sub>Xyl))

**IR(KBr):**

3400(O-H), 3080, 3057, 3035 (=C-H), 2950, 2910, 2885 (-C-H), 1285 (P=O), 1050, 1025, 1015 (C-O-C), 730, 693 (C=C)

**MS (ESI, rel. Intensität):**

$m/z = 1049.5$  [(M+H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 37],  $1031.5$  [(M+H)<sup>+</sup>, 100],  $425.6$  [10],  $367.5$  [8],  $151.1$  [12],  $120.1$  [23],  $79.0$  [18]

**HR-MS:**

$m/z$ :  $1031.2125$  [M+H]<sup>+</sup> calcd. for C<sub>50</sub>H<sub>51</sub>O<sub>16</sub>P<sub>4</sub>:  $1065.2127$

**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)- 1,4-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-konduritol-B (52a)**

$[\alpha]_D^{20} = -19.7^\circ$  (c = 0.98, CHCl<sub>3</sub>)

**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)- 1,4-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-konduritol-B (52b)**

$[\alpha]_D^{20} = +19.8^\circ$  (c = 1.32, CHCl<sub>3</sub>)

**4.1.12 Darstellung von 1,4-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-5,6-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (53)**

Zu einer kräftig gerührten Lösung von 400 mg (0.38 mmol) **52** in 20 ml Ethylacetat/Acetonitril (1:1) wird bei 0 °C eine zuvor hergestellte Lösung von 125 mg (0.58 mmol, 1.5 eq.) Natriummetaperiodat und 10 mg (10 mol%) Rutheniumtrichlorid in 2 ml Wasser zugegeben.

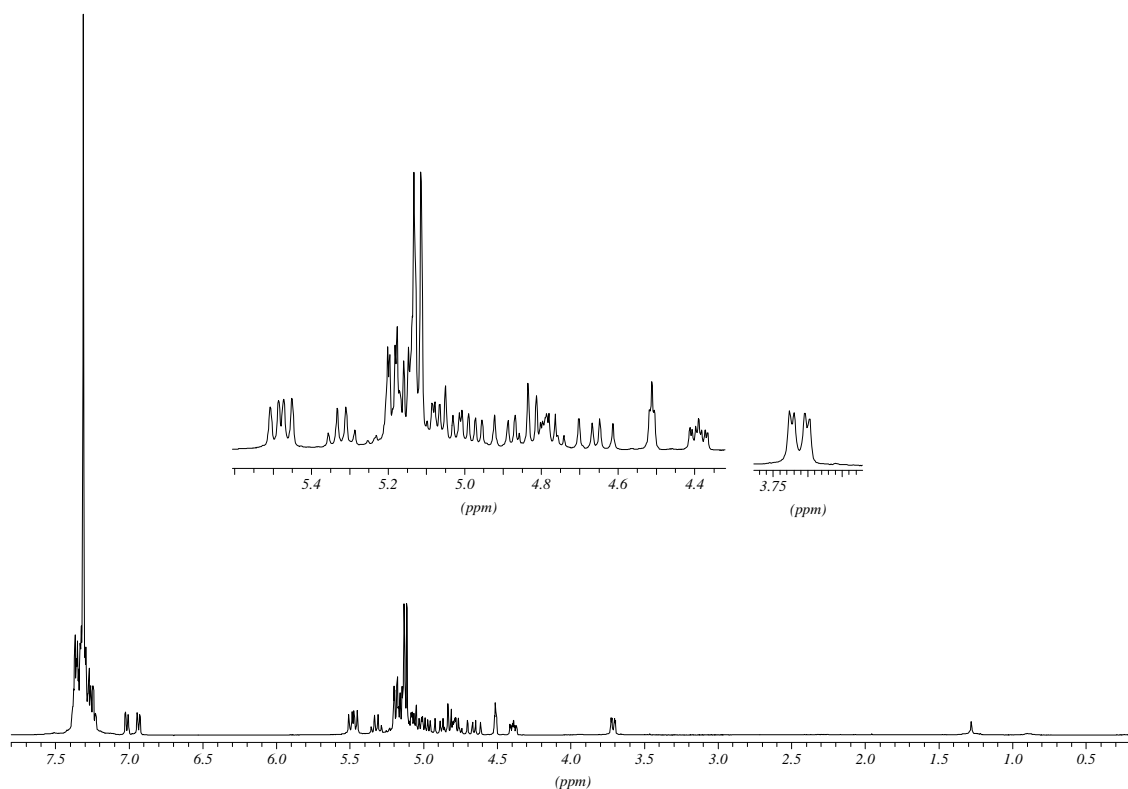
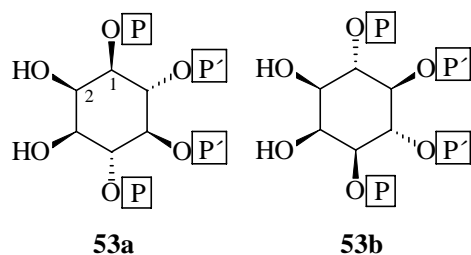


Nach 7-10 min. wird die Reaktion durch Eingießen der Reaktionslösung in 50 ml 20 % Natriumthiosulfatlösung abgebrochen.

Die wäßrige Phase wird viermal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Es bleibt ein NMR-sauberer Feststoff, der zu analytischen Zwecken durch Flash-Chromatographie (DC:MeOH 97:3) aufgereinigt werden kann. Man erhält 348 mg (0.33 mmol, 86 %) eines farblosen Feststoffs.

Zur Darstellung von **53a** wird **52a** eingesetzt, zur Synthese von **53b** das andere Enantiomer **52b**.

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,17 (DC:MeOH 95:5)



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta = 3.71$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.1$  Hz  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.3$  Hz, CH-3);  $4.39$  (ddd, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.6$  Hz,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) = 10.0$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{P}) = 6.1$  Hz, CH-1);  $4.51$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz, CH-2);  $4.65$ - $5.66$  (m, 16H, -O-CH<sub>2</sub>-Ph);  $4.77$  (CH-6, Zuordnung über <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY);  $\approx 4.82$  (CH-5, Zuordnung über <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY);  $5.35$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 9.5$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{P}) = 8.8$  Hz, CH-4);  $6.92$ - $7.05$  und  $7.22$ - $7.40$  (m, 28H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

$\delta = 70.24$  (2 CH, C-2 und C-3);  $76.07$  (m, CH, C-1);  $76.88$  (m, CH, C-6);  $77.83$  (m, CH, C-5);  $79.83$  (m, CH, C-6);  $69.92$ ,  $70.07$  (d, 2CH<sub>2</sub>,  $J = 5.2$  Hz, -OCH<sub>2</sub>-Ph);  $69.10$ ,  $68.71$  (m, 2 CH<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>);  $128.05$ ,  $128.15$ ,  $128.22$ ,  $128.37$ ,  $128.56$ ,  $128.64$ ,  $128.73$ ,  $128.81$ ,  $128.88$ ,  $128.94$  (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>);  $135.25$ ,  $135.30$ ,  $135.42$ ,  $135.51$ ,  $135.55$ ,  $135.58$ ,  $135.60$ ,  $135.68$  (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

$\delta = 0.61$  (PC-4);  $-1.42$  (PC-1);  $-1.78$  (PC-5);  $-1.93$  (PC-6)

**<sup>31</sup>P-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

$\delta = 0.61$  ( $\Psi$ sext,  $^3J(\text{H}, \text{P}) = 7.1$  Hz, PC-4);  $-1.42$  ( $\Psi$ sext,  $^3J(\text{H}, \text{P}) = 8.4$  Hz, PC-1);  $-1.78$  (m, PC-5);  $-1.93$  (m, PC-6)

**IR (KBr):**

$3400$  (O-H),  $3080$ ,  $3057$ ,  $3035$  (=C-H),  $2950$ ,  $2910$ ,  $2885$  (-C-H),  $1285$  (P=O),  $1050$ ,  $1025$ ,  $1015$  (C-O-C),  $730$ ,  $693$  (C=C)

**MS (+ ion FAB, rel Intensität)**

$m/z$ :  $1065.5$  [(M+H)<sup>+</sup>, 100],  $1084.8$  [(M+H<sub>3</sub>O)<sup>+</sup>, 45],  $425.6$  [80],  $120$  [61];

**HR-MS:**

$m/z$ :  $1065.2189$  [M + H]<sup>+</sup>, calcd for C<sub>50</sub>H<sub>53</sub>O<sub>18</sub>P<sub>4</sub>:  $1065.2182$

Drehwert für **1,4-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-5,6-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (53a)**

$$[\alpha]_D^{20} = +5.5^\circ \text{ (c = 4.5, CHCl}_3\text{)}$$

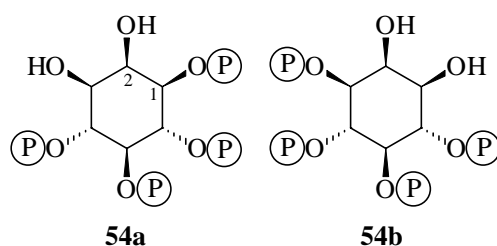
Drehwert für **3,6-Bis-O-(di-O-benzylphospho)-4,5-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (53b)**

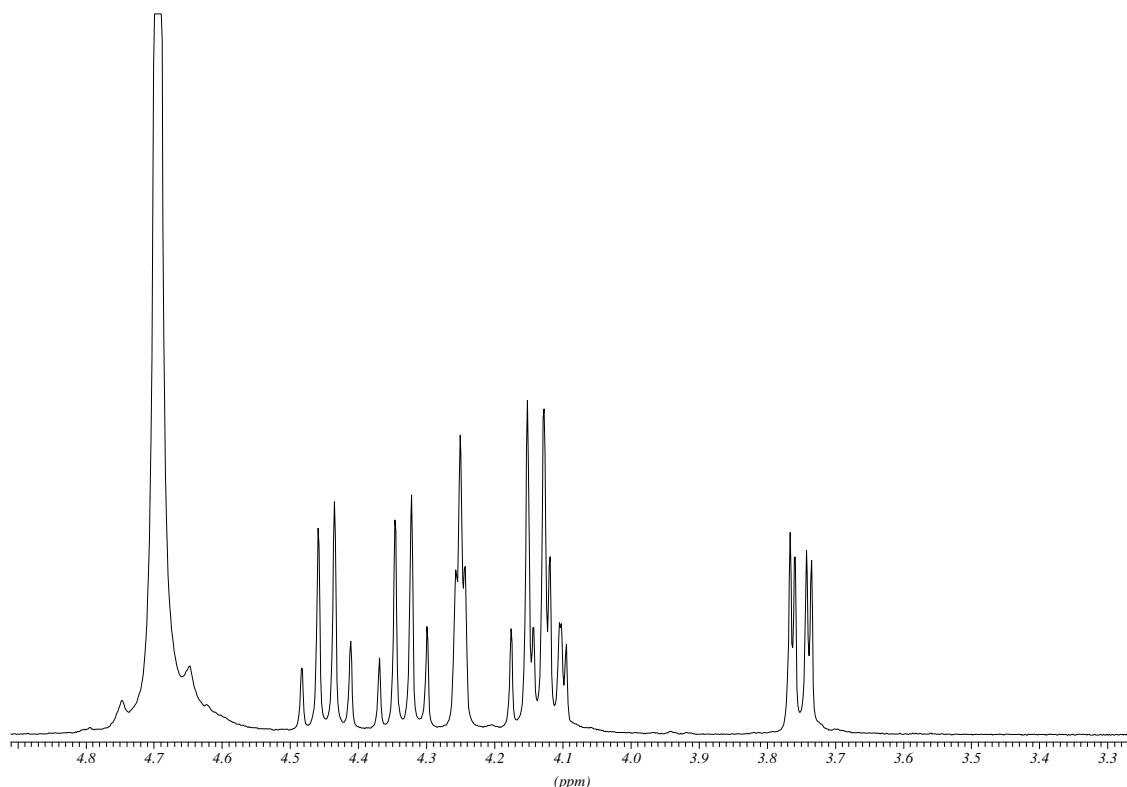
$$[\alpha]_D^{20} = -5.7^\circ \text{ (c = 4.5, CHCl}_3\text{)}$$

#### 4.1.13 Darstellung von myo-Inositol-1,4,5,6 -tetrakisphosphat (54)

100 mg Pd/C (Degussa RW-10X) werden in 30 ml Ethanol/Wasser (1:2) suspendiert. Die Suspension wird mit Wasserstoff überlagert und 30 min. heftig gerührt. 300 mg (0.28 mmol) **53** werden in Ethanol gelöst und der Reaktionsmischung zugegeben. Der Ansatz rührt über Nacht unter Wasserstoff-Athmosphäre. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Die erhaltene klare Lösung wird im Hochvakuum bei Raumtemperatur weitgehend von Ethanol befreit, der verbliebene Rest wird lyophilisiert. Man erhält 132 mg (95 %) eines fast farblosen, stark hygroskopischen Schaums. Dieser wird anschließend über HPLC-IC aufgereinigt.

Zur Darstellung von **54a** wird **53a** eingesetzt, zur Synthese von **54b** das andere Enantiomer **53b**.





**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH auf 5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ )):**

3.75 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.1$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz, CH-3); 4.12 (d $\Psi$ t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 3.1$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_1, \text{P}) = 9.7$  Hz, CH-1); 4.14 ( $\Psi$ q, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_6, \text{P}) = 9.7$  Hz, CH-5); 4.25 ( $\Psi$ t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.1$  Hz, CH-2); 4.33 ( $\Psi$ q, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{P}) = 9.6$  Hz, H-C4), 4.45 (q, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_6, \text{P}) = 9.5$  Hz, CH-6);

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 101 MHz, pH auf 5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

70.35 (d, CH,  $J = 2.7$  Hz, C-3), 71.23 (CH, C2), 74.76 (m, CH, C-1), 76.47 (m, CH, C-6), 77.07 (m, CH, C-4), 77.71 (m, CH, C-5);

**$^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 162 MHz, pH auf 5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

1.37 (PC-1); 2.28 (PC-6); 2.32 (PC-4); 2.36 (PC-5);

**MS** (ESI-neg, rel. Intensität)

$m/z$ : 499.1 [(M-H) $^-$ , 75], 419.0 [18], 321.0 [31] 158.9 [158.9]

**HR-MS**

$m/z$ : 500.934  $[M+H]^+$ , calcd for  $C_6H_{17}O_{18}P_4$  500.9365

**HPLC** (Mono-Q): 44.5 min. (HCl-System)

**Drehwert für D-myoinositol-1,4,5,6 -tetrakisphosphat (54a)**

$[\alpha]_D^{20} = -4.8^\circ$  ( $c = 2.7$ ,  $H_2O$ , freie Säure)

Lit.<sup>158</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -10.2^\circ$  ( $c = 2.46$ ,  $H_2O$ ,  $Na^+$ -Salz);

**Drehwert für D-myoinositol-3,4,5,6 -tetrakisphosphat (54b)**

$[\alpha]_D^{20} = +4.1^\circ$  ( $c = 2.7$ ,  $H_2O$ , freie Säure)

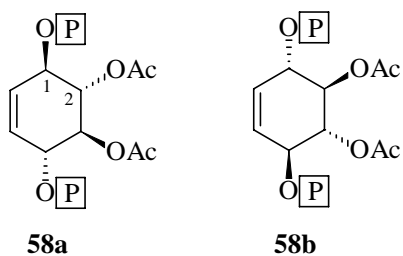
Lit.<sup>79</sup>  $[\alpha]_D = +6.2^\circ$  ( $c = 2.15$ ,  $H_2O$ , pH 9.5); Lit.<sup>158</sup>  $[\alpha]_D^{24} = +9.8^\circ$  ( $c = 1.43$ ,  $H_2O$ ,  $Na^+$ -Salz);

Lit.<sup>159</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -5.6^\circ$  ( $c = 0.2$ ,  $H_2O$ )

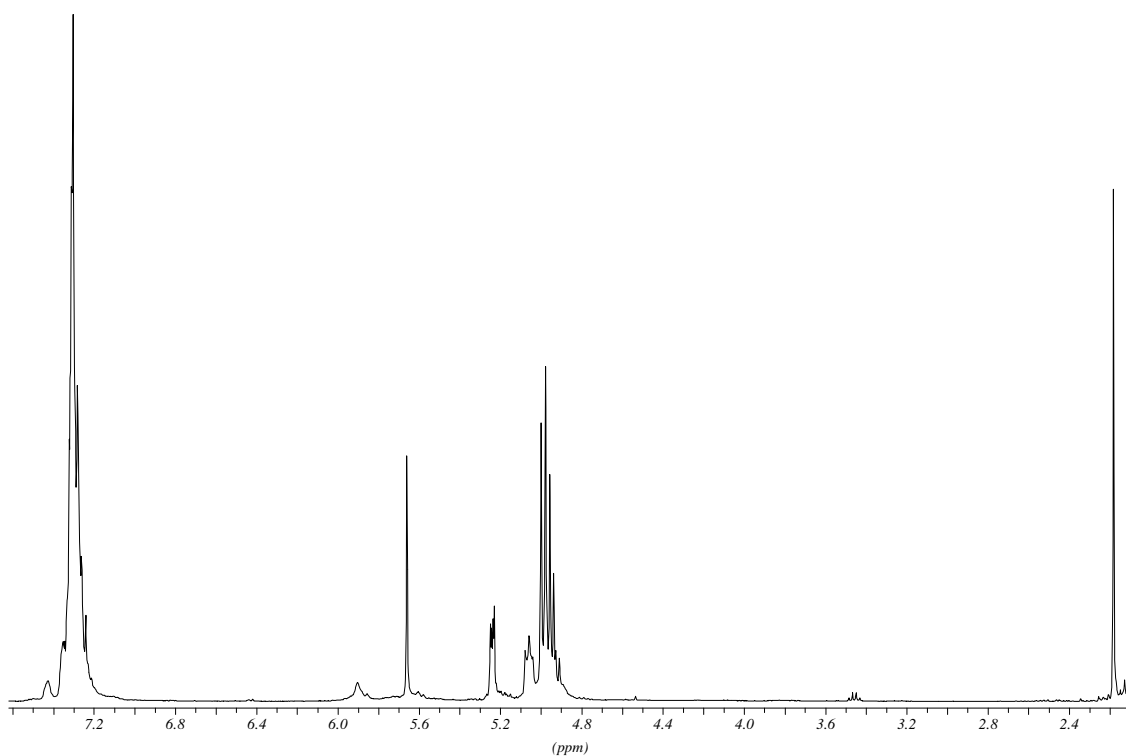
**4.1.14 Darstellung von 1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)- 2,3-di-O-acetyl-konduritol-B (58)**

2 g (3 mmol) Konduritol **45** werden mit 30 ml Pyridin und 30 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung rührt über Nacht und wird anschließend auf 300 ml Eiswasser gegeben. Die wäßrige Phase wird fünfmal mit 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3×150 ml), 10 % Salzsäure (3×150 ml) und ges. Natriumchloridloösung (150 ml) extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Es verbleiben 1,93 g (86 %) eines gelblichen Öls, das nach einiger Zeit kristallisiert.

Zur Darstellung von **58a** wird **45a** eingesetzt, zur Synthese von **58b** das andere Enantiomer **45b**.



**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,46 (DC:MeOH 95:5)



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta = 1.66$  (s, 6H, -C(O)-CH<sub>3</sub>); 5.03 (m, 8H, -O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5.12 (m, 2H, CH-1 und CH-4); 5.30 (m, 2H, CH-2 und CH-3); 5.73 (s, 2H, CH-5 und CH-6); 7.35 (m, 20H, C6H<sub>5</sub>)

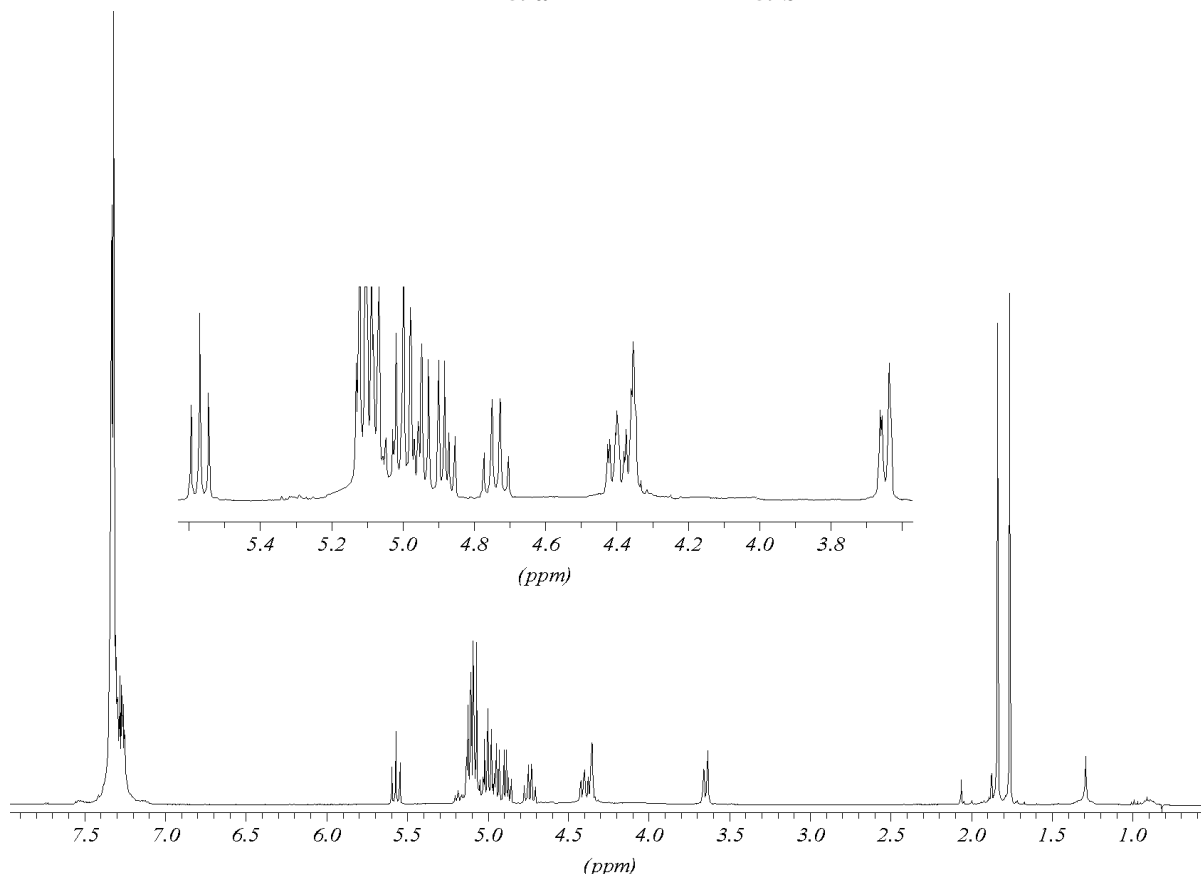
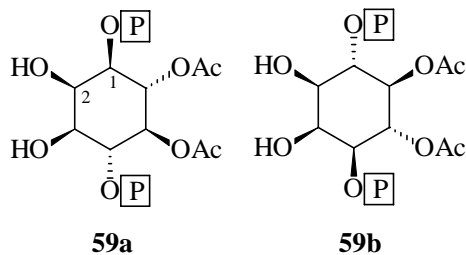
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

$\delta = 20.37$  (CH<sub>3</sub>, -C(O)-CH<sub>3</sub>); 69.58 (m, 4CH<sub>2</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-Ph); 71.60 (d, 2CH, <sup>3</sup>J(C,P) = 4,9 Hz, C-1 und C-4); 75.50 (d, 2CH, <sup>2</sup>J(C,P) = 5,0 Hz, C-2 und C-3); 127.51 - 129.62 (C6H<sub>5</sub> und CH=CH); 135,41-135,48 (C, C6H<sub>5</sub>); 169.71 (C, -C(O)-CH<sub>3</sub>)

**$^{31}\text{P}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161,98 MHz)** $\delta = -0.35$  (sext,  $^3\text{J}(\text{H},\text{P}) = 8,5$  Hz) **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161,98 MHz)** $\delta = -0.35$ **MS (ESI):** $m/z$ : 768 [M+H]<sup>+</sup>, 473, 400, 386, 212**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)-1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)- 2,3-di-O-acetyl konduritol-B (58a)** $[\alpha]_D^{20} = -90.4^\circ$  (c = 1.28, CHCl<sub>3</sub>)**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)-1,4-Bis-(di-O-benzylphospho)- 2,3-di-O-acetyl konduritol-B (58b)** $[\alpha]_D^{20} = +92.3^\circ$  (c = 1.28, CHCl<sub>3</sub>)**4.1.15 Darstellung von 5,6-Di-O-acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho) myo-inositol (59)**

1,93 g (2,6 mmol) Konduritol **58** werden in 40 ml Acetonitril gelöst und im Eisbad gekühlt. Man versetzt die Reaktionsmischung mit einer Lösung von 824 mg (3,86 mmol, 1,5 eq.) Natriummetaperiodat und 68 mg Rutheniumtrichlorid in 6 ml Wasser. Nach 7 min. wird die Reaktion durch Eingießen der Reaktionslösung in 200 ml frisch angesetzte ges. Natriumthiosulfatlösung abgebrochen. Die wäßrige Phase wird viermal mit je 150 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Es bleiben 1,56 g (77 %) eines farblosen Feststoffs zurück.

Zur Darstellung von **59a** wird **58a** eingesetzt, zur Synthese von **59b** das andere Enantiomer **58b**.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta = 1.80$  (s, 3H, -C(O)-CH<sub>3</sub>);  $1.86$  (s, 3H, -C(O)-CH<sub>3</sub>);  $3.66$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_2) = 2.4$  Hz,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.2$  Hz, CH-3);  $4.34$  ( $\Psi$ s, 1H, CH-2);  $4.39$  (d $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.5$  Hz,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_1, \text{P}) \approx 9.3$  Hz, CH-1);  $4.72$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_4, \text{H}_3) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{P}) \approx 9.2$  Hz, CH-4);  $4.88$ - $5.20$  (m, 9H, -O-CH<sub>2</sub>-Ph und CH-5);  $5.57$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_6, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_6, \text{H}_1) = 9.9$  Hz, CH-6);  $7.33$  (m, 20H, C6H5)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

$\delta = 20.52$  (CH<sub>3</sub>, C(O)-CH<sub>3</sub>);  $20.68$  (C(O)-CH<sub>3</sub>);  $69.91$ ,  $70.10$ ,  $71.04$  (5 C, -O-CH<sub>2</sub>-Ph, C-5);  $70.27$  (d, CH, C-6);  $70.70$  (CH, C-3);  $71.87$  (d, CH, C-2);  $76.02$  (d, CH, C-1);  $78.84$  (d, CH, C-4);  $127.99$ ;  $128.07$ ;  $128.57$ ;  $128.62$ ;  $128.69$  (CH, C6H5);  $135.45$  (m, C, C6H5),  $169.74$  (C, -C(O)-CH<sub>3</sub>);  $169.87$  (C, -C(O)-CH<sub>3</sub>)



**$^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta = 1.80$  (s, 3H,  $-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{CH}}_3$ );  $1.86$  (s, 3H,  $-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{CH}}_3$ );  $3.66$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_2) = 2.4$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.2$  Hz, CH-3);  $4.34$  ( $\Psi$ s, 1H, CH-2);  $4.39$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.5$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 10.2$  Hz, CH-1);  $4.72$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_3) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx 9.4$  Hz, CH-4);  $4.88$ - $5.20$  (m, 9H,  $-\text{O}-\underline{\text{CH}}_2$ -Ph und CH-5);  $5.57$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_6, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_6, \text{H}_1) = 9.9$  Hz,  $\text{H}_6$ );  $7.33$  ppm (m, 20H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 161,98 MHz)**

$\delta = 0.80$ ;  $-0.72$

**MS** [70eV],  $m/z = 785$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 707  $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_5]$ , 729, 454, 429, 391

**IR** [KBr]:

$\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3410 (w); 3070 (w); 3030 (w); 2950 (w); 1755 (s); 1240 (s); 1040 (s), 1020 (s); 755 m), 705 (m).

**Drehwert von D-myco-5,6-Di-O-acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-inositol (59a)**

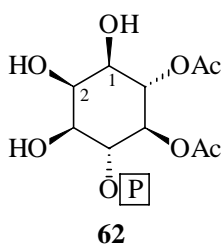
$[\alpha]_D^{20} = -34.8^\circ$  ( $c = 1.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

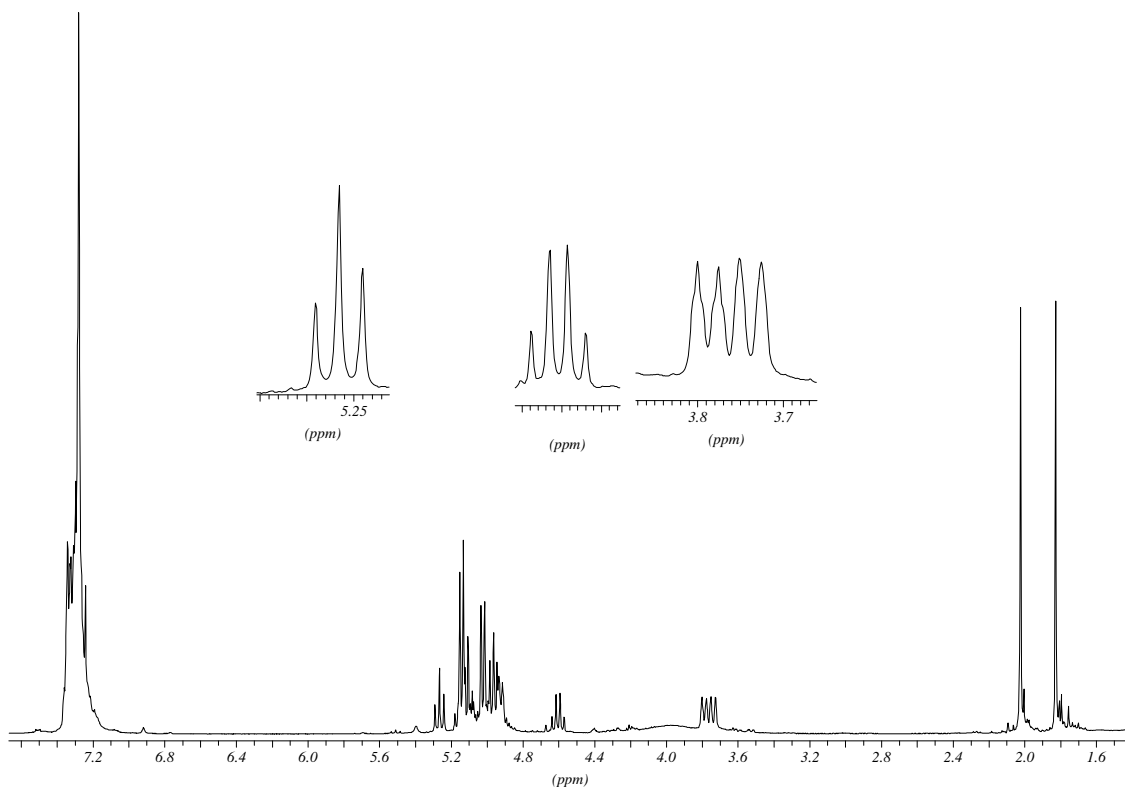
**Drehwert von D-myco-4,5-Di-O-acetyl-3,6-bis-O-(di-O-benzylphospho)-inositol (59b)**

$[\alpha]_D^{20} = +33.8^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,16 (DC:MeOH 95:5)

Als Nebenprodukt chromatographischer Aufreinigungen wurde folgende Verbindung isoliert:

**5,6-Di-O-acetyl-4-(di-O-benzyl)-phospho-myco-Inositol (62)**



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta = 1.83$  (s, 3H,  $-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $2.02$  (s, 3H,  $-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $3.75$  (d, 1H,  $J = 10.2$  Hz, CH-1);  $3.79$  (d, 1H,  $J = 9.7$  Hz, CH-3);  $4.60$  (q, 1H,  $J = 9.0$  Hz, CH-4)  $4.90 - 5.26$  (m, 10H,  $\text{CH}_2$  und verbleibende Ringprotonen);  $5.27$  (t, 1H,  $J = 10.2$  Hz, CH-6),  $7.20-7.38$  (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):**

$\delta = 20.47$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\text{O})-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $20.74$  ( $\text{C}(\text{O})-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $69.12$  (CH, C-1);  $69.72$  (d,  $J = 6.1$  Hz, C-3);  $69.86$ ,  $70.21$  (d,  $2\text{CH}_2$ ,  $J = 5.7$  Hz,  $-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2-\text{Ph}$ );  $71.09$  (d, CH,  $J = 5.7$  Hz, C-5 oder C-2);  $71.73$  (CH, C-6);  $78.54$  (d, CH,  $J = 5.7$  Hz, C-6);  $80.00$  (d, CH,  $J = 5.7$  Hz, CH, C-2 oder C-5);  $128.68$ ,  $128.59$ ,  $128.56$ ,  $128.51$ ,  $128.12$ ,  $128.08$ ,  $127.98$ ,  $127.94$  (CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $135.37$  (d, C,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $135.52$  (d, C,  $J = 7.1$  Hz,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $169.94$  (C,  $-\underline{\text{C}}(\text{O})-\text{CH}_3$ );  $170.93$  (C,  $-\underline{\text{C}}(\text{O})-\text{CH}_3$ )

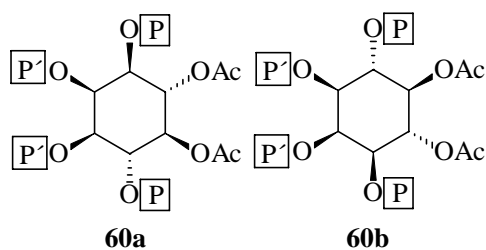
**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)**

$\delta = 1.04$  (PC-4)

#### 4.1.16 Darstellung von 5,6-Di-O-acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)-myo-inositol (60)

In einem trockenen inertisierten Schlenk-Kolben werden 250 mg (0,32 mmol) Konduritol **59** und 100 mg (2,54 mmol) 1*H*-Tetrazol in 20 ml abs. Dichlormethan vorgelegt. Durch ein Septum werden 520 mg (2,17 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** zugegeben. Die Lösung rührt über Nacht. Die Lösung wird auf -40°C gekühlt und gibt durch das Septum eine Lösung von 1,5 g trockener 70-%iger *m*-CPBA in 25 ml Dichlormethan zu. Die Lösung rührt 30 min. nach und taut dann langsam auf Raumtemperatur auf. Man gibt weitere 50 ml Dichlormethan zu. Überschüssige *m*-CPBA wird durch zweimaliges Ausschütteln mit je 60 ml 20%-ige Natriumsulfit-Lösung zu *m*-Chlor-benzoesäure reduziert. Die Reaktionslösung wird mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung (3×70 ml) und ges. Natriumchlorid (70 ml) ausgeschüttelt. Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein farbloser Schaum, der durch Flash-Chromatographie (DC:MeOH 97:3) gereinigt werden kann. Man erhält 293 mg (80 %) eines farblosen Schaums. Zur Darstellung von **60a** wird **59a** eingesetzt, zur Synthese von **60b** das andere Enantiomer **59b**.

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,51 (DC:MeOH 95:5)



#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):

δ = 1.83 (s, 3H, -C(O)-CH<sub>3</sub>); 1.88 (s, 3H, -C(O)-CH<sub>3</sub>); 4.58 (t, 1H, J = 9.9 Hz, CH-1 oder CH-3); 5.46 (t, 2H, J = 9.9 Hz); 5.14 (m, 19H, CH<sub>2</sub> und verbleibende Ringprotonen); 7.31 (m, 28H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):**

$\delta = 20.33$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $20.34$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{c}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ );  $68.81$  (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ );  $69.82$  (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ );  $69.49$  (CH, d,  $J = 3.8$  Hz, C-5 oder C-6);  $70.00$  (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ );  $70.13$  (CH, m, 1C, C-1 bis C-4);  $72.99$  (CH, d,  $J = 2.9$  Hz, C-5 oder C-6);  $73.59$  (CH, m, 1C, C-1 bis C-4);  $75.24$  (CH, t,  $J = 5.3$  Hz, 1C, C-1 bis C-4);  $76.92$  (CH, m, 1C, C-1 bis C-4);  $127.90 - 129.87$  (CH, m,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ );  $134.44 - 135.86$  (C, m,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ );  $169.67$  (C,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ );  $169.89$  (C,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ )

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)**

$\delta = -0.65, -0.71$  (PC-1 und PC-4);  $-1.02, -1.74$  (PC-2, PC-3)

MS (FAB):  $m/z = 1149$   $[\text{M}+\text{H}]^+$

**Drehwert von D-5,6-Di-O-acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)- myo-inositol (60a)**

$[\alpha]_D^{20} = -1.7^\circ$  ( $c = 1.25$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**Drehwert von D-4,5-Di-O-acetyl-3,6-bis-O-(di-O-benzylphospho)-1,2-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)- myo-inositol (60b)**

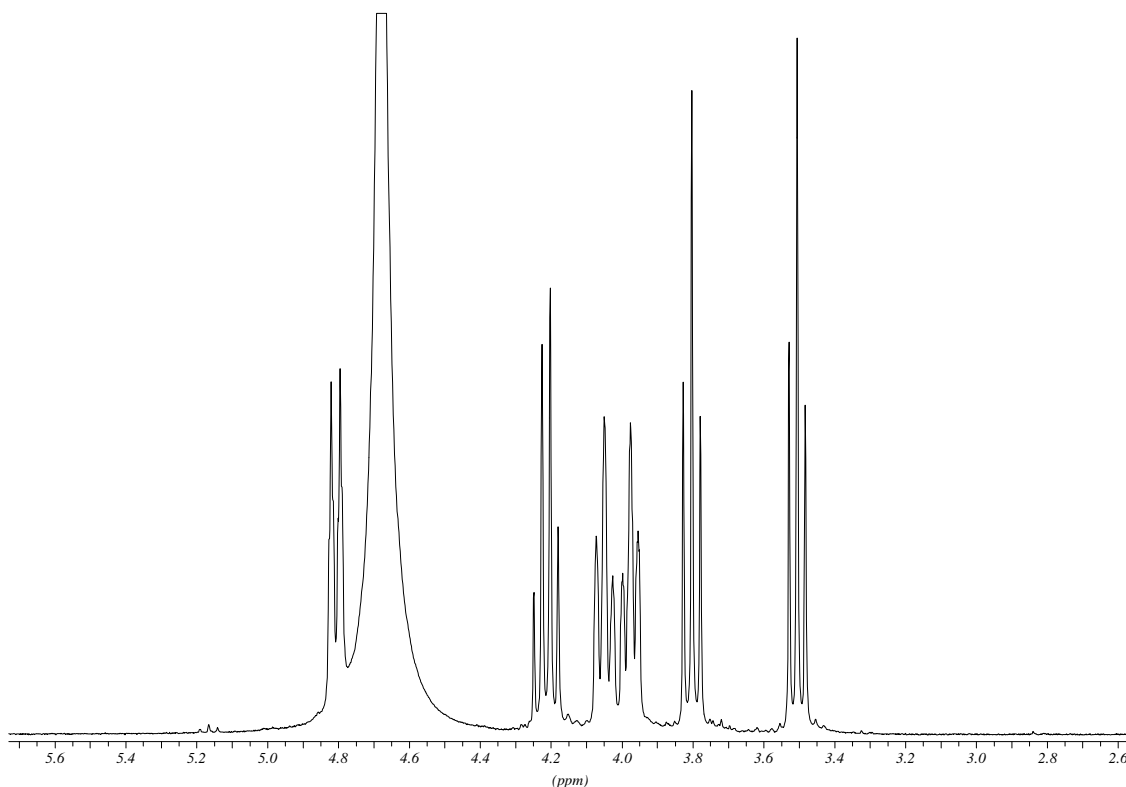
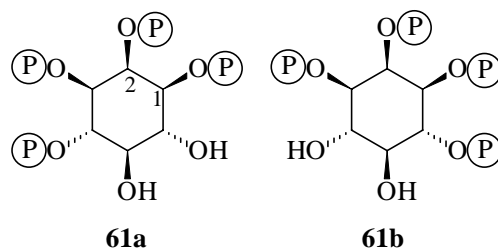
$[\alpha]_D^{20} = +2.5^\circ$  ( $c = 1.25$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**4.1.17 Darstellung von myo-Inositol-1,2,3,4-tetrakisphosphat (61)**

100 mg Pd/C (Degussa RW-10X) werden in 30 ml Ethanol/Wasser (1:2) suspendiert. Die Suspension wird mit Wasserstoff überlagert und 30 min. heftig gerührt. 300 mg (0,22 mmol) **60** werden in Ethanol gelöst und der Reaktionsmischung zugegeben. Der Ansatz rührt über Nacht unter Wasserstoff-Athmosphäre. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Die erhaltene klare Lösung wird im Hochvakuum bei Raumtemperatur weitgehend von Ethanol befreit, der verbliebene Rest wird lyophilisiert. Der Rückstand wird unter Kühlung im Eisbad in 20 ml 0,25 M Natronlauge aufgenommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend gibt man, erneut unter Kühlung,

DOWEX-50 ( $H^+$ -Form) zu, rührt 5 min. und filtriert das Ionenaustersmaterial ab. Der Ionenausterscher wird gründlich mit Wasser nachgewaschen und die vereinigten wäßrigen Phasen lyophilisiert. Man erhält 102 mg (95 %) eines fast farblosen, stark hygroskopischen Schaums.

Zur Darstellung von **61a** wird **60a** eingesetzt, zur Synthese von **61b** das andere Enantiomer **60b**.



**$^1H$ -NMR ( $D_2O$ , 400 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $ND_4OD$ )):**

$\delta = 3.51$  ( $\Psi_t$ ,  $^3J(H_4, H_5) \approx ^3J(H_5, H_6) = 9.2$  Hz, CH-5);  $3.80$  ( $\Psi_t$ ,  $^3J(H_5, H_6) \approx ^3J(H_1, H_6) = 9.6$  Hz, CH-6);  $3.98$  ( $d\Psi_t$ ,  $^3J(H_1, H_2) \approx ^3J(H_2, H_3) = 2.1$  Hz,  $^3J(P, H_1) = 8.5$  Hz, CH-1);  $4.05$  ( $d\Psi_t$ ,  $^3J(H_2, H_3) = 2.1$  Hz,  $^3J(H_3, H_4) \approx ^3J(P, H_3) = 9.5$  Hz, CH-3);  $4.21$  ( $\Psi_q$ ,  $^3J(H_3, H_4) \approx ^3J(H_4, H_5) \approx ^3J(P, H_4) = 9.1$  Hz, CH-4);  $4.81$  ( $dt$ ,  $^3J(P, H_2) = 10$  Hz;  $^3J(H_1, H_2) \approx ^3J(H_2, H_3) = 2.1$  Hz, CH-2)

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz, pH auf 6 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

δ = 73.61 (d, CH, J = 6.1 Hz, C-6); 75.65 (m, CH, C-3); 75.87 (s, CH, C-5), 76.49 (dd, CH, J = 5.6 Hz, J = 2.5 Hz, C-1); 77.04 (d, CH, J = 6.1 Hz, C-2), 78.66 (t, CH, J = 6.1 Hz, C-4);

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (D<sub>2</sub>O, 162 MHz, pH auf 6 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

δ = 2.06 (PC-2); 2.44 (PC-1); 2.49 (PC-3); 3.49 (PC-4);

**HPLC (Mono-Q): 30.0 min. (HCl-System); 53.5 min. (alk. System)**

**Drehwert für D-*myo*-Inositol-1,2,3,4-tetrakisphosphat (61a)**

$[\alpha]_D^{20} = -6.6^\circ$  (c = 3.95, H<sub>2</sub>O, freie Säure)

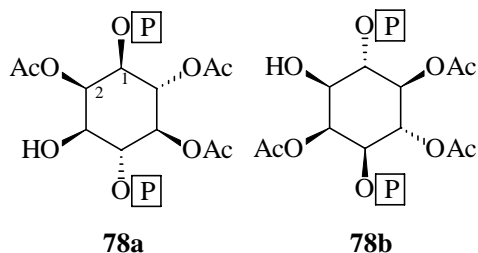
**Drehwert für D-*myo*-Inositol-1,2,3,6-tetrakisphosphat (61b)**

$[\alpha]_D^{20} = +4.8^\circ$  (c = 1.72, H<sub>2</sub>O, freie Säure)

#### **4.1.18 Darstellung von 2,5,6-Tris-O-Acetyl-1,4-(di-O-benzyl)-bisphospho-*myo*-Inositol (78a)**

500 mg (0,64 mmol) Diacetyl-Inositol **59** werden mit 20 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 30 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst. Die Lösung wird mit 0,35 ml (1,91 mmol) Triethylorthoacetat versetzt und zwei Tage gerührt. Anschließend wird die Lösung im Vakuum bis zur Trockne eingeengt und 90 min. mit 20 ml 80 Vol-% Essigsäure gerührt. Die so erhaltene Reaktionslösung wird erneut im Hochvakuum eingeengt. Der Rückstand wird in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und dreimal gegen 50 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-, sowie einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 437 mg (83 %) eines fast farblosen Schaums.

Zur Darstellung von **78a** wird **59a** eingesetzt, zur Synthese von **78b** das andere Enantiomer **59b**.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):**

$\delta$  = 1.78 (s, 6H, 2xC(O)CH<sub>3</sub>); 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>); 3.89 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>,H<sub>2</sub>) = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub>) = 9.9 Hz, CH-3); 4.65 (dΨt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>,H<sub>2</sub>) = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>,H<sub>6</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>,P) ≈ 9.9 Hz, CH-1); 4.69 (Ψq, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>,H<sub>3</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>,P) ≈ 9.3 Hz, CH-4); 4.89-5.11 (m, 8H, -OCH<sub>2</sub>Ph); 5.18 (Ψt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>,H<sub>6</sub>) = 9.7 Hz, CH-5); 5.41 (Ψt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>6</sub>,H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>6</sub>,H<sub>1</sub>) = 9.9 Hz, CH-6); 5.77 (Ψt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>,H<sub>2</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>,H<sub>3</sub>) = 2.8 Hz, CH-2); 7.25-7.38 (m, 20H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz):**

$\delta$  = 20.14; 20.20; 21.41 (3CH<sub>3</sub>, C(O)-CH<sub>3</sub>); 69.52, 69.58, 69.71; 69.75; 69.81 (5CH<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>Ph); 69.80 (d, CH, J = 2.9 Hz, C-3); 70.14 (d, CH, J = 4.8 Hz, C-6); 70.73 (d, CH, J = 4.8 Hz, C-5); 71.33 (d, CH, J = 2.9 Hz, C-2); 73.55 (d, CH, J = 5.7 Hz, C-1); 78.58 (d, CH, J = 6.7 Hz, C-4); 127.68; 127.82; 127.85; 127.87; 128.45; 128.55; 129.66 (7CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.11 (d, C, J = 2.0 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.19 (d, C, J = 3.1 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.33 (d, C, J = 3.1 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.39 (d, C, J = 2.0 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 169.74 (C, -C(O)-CH<sub>3</sub>); 169.70, 169.81; 169.84 (3C, -C(O)-CH<sub>3</sub>)

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

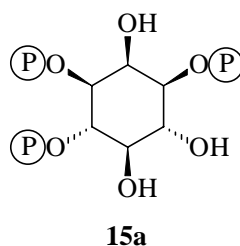
$\delta$  = -0.56; -0.24

**4.1.19 Darstellung von Ins(1,3,4)P<sub>3</sub> (15a)**

Zu einer Suspension aus 100 mg (1,4 mmol) 1H-Tetrazol und 300 mg Konduritol **78a** (0,36 mmol) in 15 ml abs. Dichlormethan werden unter inerten Bedingungen 175 mg (0,73 mmol, 1,5 eq.) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 0,5 g (2 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-

Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhält 570 mg (92 %) **79a** als farblosen Schaum.

300 mg Palladium auf Kohle (Degussa NW/10) werden in 10 ml Ethanol und 20 ml Wasser suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Das Gemisch rührt 30 min. Anschließend werden 200 mg (0,21 mmol) **79a** in 20 ml Ethanol aufgenommen und der Katalysatorsuspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und 36 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Zu der Lösung werden 100 ml Wasser gegeben. Nach weiteren 15 min. Rührens wird der Katalysator abfiltriert, das Ethanol im Hochvakuum weitgehend entfernt und der Rest der Lösung lyophilisiert. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Der verbliebene Rückstand wird unter Eiskühlung in 20 ml 0,25 M NaOH aufgenommen. Die Lösung rührt zur Abspaltung der Acetat-Gruppen über Nacht bei Raumtemperatur nach. Die Lösung wird neutralisiert und kann direkt zur ionenchromatographischen Aufreinigung eingesetzt werden. Diese Aufreinigung wird zur Zeit durchgeführt.



**HPLC** (Mono-Q): 26,5 min. (saurer System)

#### **4.1.20 Darstellung von Inositol-1,4-(di-O-benzyl)-bisphosphat (50)**

200 mg (0,3 mmol) Konduritol **45** werden in 20 ml eines 1:1 Gemischs aus Dichlormethan und Acetonitril gelöst. Zu der im Eisbad gekühlten Lösung wird eine Lösung von 10 mg (0,01 mmol) Rutheniumtrichlorid-Trihydrat und 109 mg (0,75 mmol) Natriummetaperiodat in 1,5 ml Wasser gegeben.

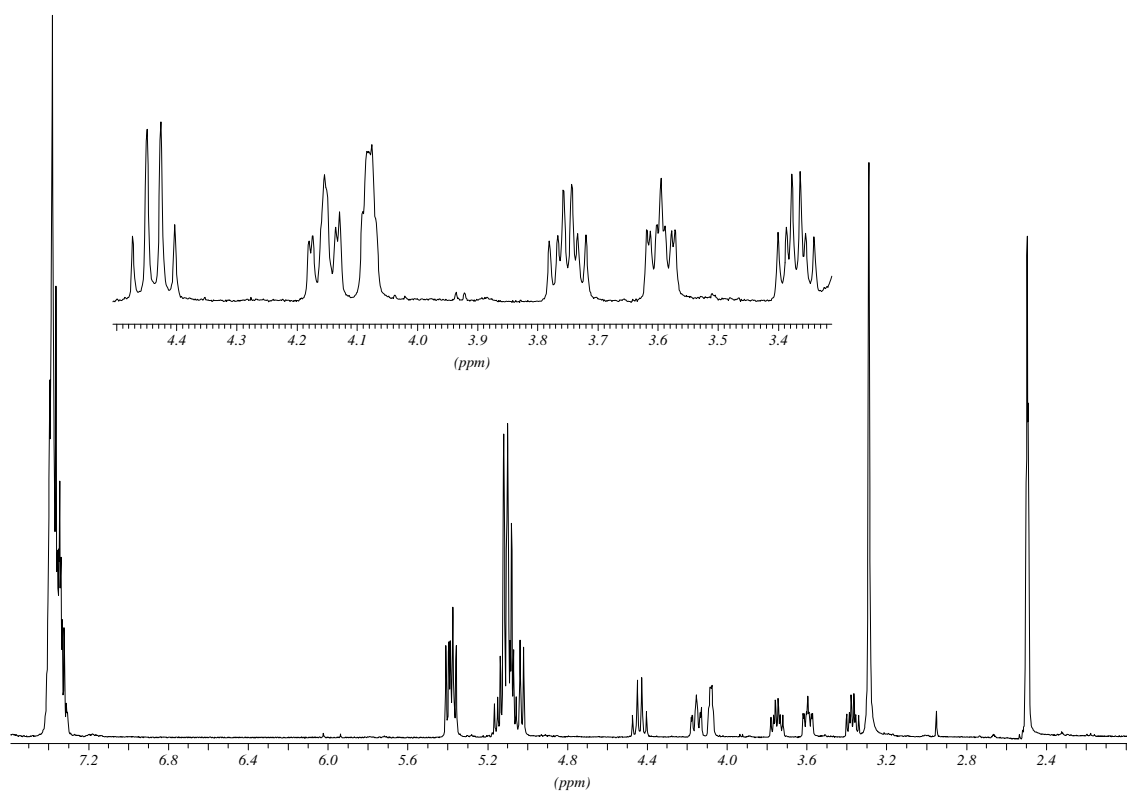
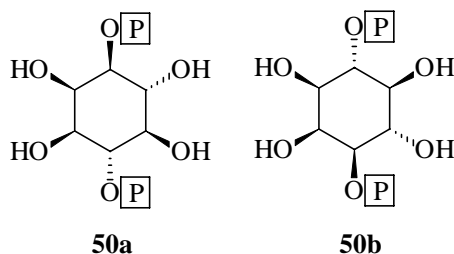
Nach 10 min. wird die Reaktion durch Zugabe von 40 ml ges. Thiosulfat-Lösung abgebrochen. Die Lösung wird einmal mit 150 ml Dichlormethan und zweimal mit 100 ml Ethylacetat extrahiert.

Man erhält 210 mg (98 %) eines farblosen Feststoffs, der aus Ether umkristallisiert wird.



Zur Darstellung von **50a** wird **45a** eingesetzt, zur Synthese von **50b** das andere Enantiomer **45b**.

**Schmp.:** 158°C (racemisch)



**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz):**

$\delta$  = 3.37 (dt, 1H,  $^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 9.2$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{OH}) = 5.6$  Hz, CH-5); 3.59 (ddd, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) = 2.2$  Hz,  $^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.2$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{OH}) = 6.6$  Hz, CH-6); 4.08 ( $\Psi$ s, 1H, CH-2), 4.15 (dt, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) = 2.2$  Hz,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) = 9.1$  Hz, CH-1), 4.44 ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3J(\text{H}, \text{P}) = 9.2$  Hz, CH-4); 5.20 (m, 8H, -O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5.39 (m, 4H, -OH); 7.35 (m, 20H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ , 101 MHz):**

$\delta = 68.10\text{-}68.38$  (4C,  $-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$ );  $69.64$  (CH);  $70.85$  (CH);  $81.34$ (CH);  $71.24$  (CH);  $72.84$  (CH);  $78.40$  (CH);  $127.64\text{-}128.33$  (CH,  $\underline{\text{C}}_6\text{H}_5$ );  $136.19\text{-}136.61$  (m, C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (DMSO- $d_6$  161,98 MHz)**

$\delta = 0.30, -0.63$

**IR [KBr]:**

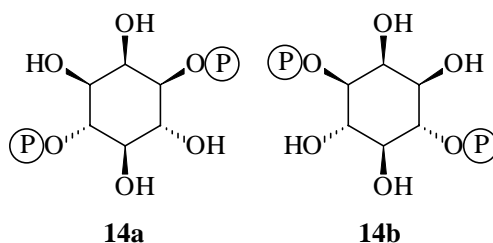
$\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3350$  (m, OH),  $2980, 2920$  (m, C-H),  $1605$ (w),  $1510$  (m),  $1450$  (m),  $1380$  (m),  $1270$  (m, C-O),  $1090$  (s),  $1020$  (s, P-O-Alkyl),  $980$  (m),  $840$  (m),  $735$  (m),  $695$  (m)

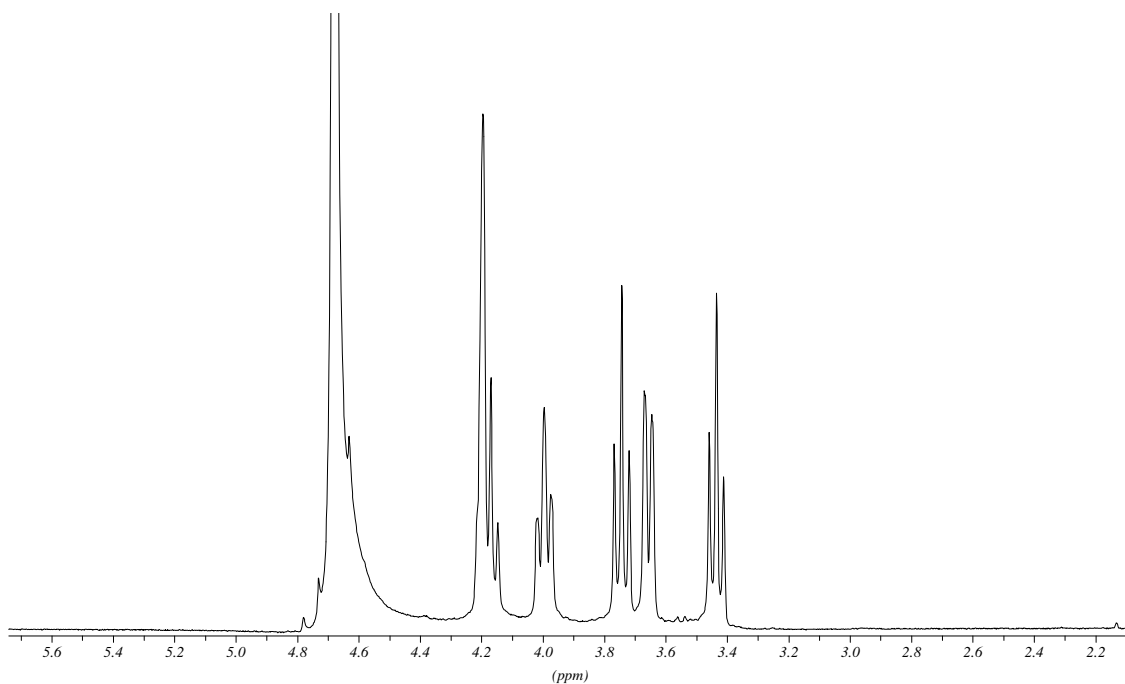
**4.1.21 Darstellung von myo-Inositol-1,4-bisphosphat (15)**

50 mg Pd/C (Degussa, E 101, Pd-Gehalt ca. 10 %) werden bei Raumtemperatur in 30 ml eines Ethanol/Wasser-Gemischs (1:2) suspendiert. Die stark gerührte Reaktionsmischung wird mehrfach mit Wasserstoff überlagert. Nach 30 min. gibt man in 15 ml Ethanol gelöstes Inositol **50** (132 mg, 0,19 mmol) zu, evakuiert das Reaktionsgefäß und überlagert erneut mit Wasserstoff.

Nach 12 h wird der Katalysator abfiltriert und mit mehrfach mit Wasser gewaschen. Das Ethanol wird größtenteils bei Raumtemperatur im Hochvakuum entfernt. Die Probe wird sodann eingefroren und das restliche Wasser durch Gefriertrocknung entfernt. Der schaumige Rückstand wird erneut in 5 ml Wasser aufgenommen, eingefroren und gefriergetrocknet. Es verbleiben 61 mg (95 %) eines farblosen Schaums.

Zur Darstellung von **14a** wird **50a** eingesetzt, zur Synthese von **14b** das andere Enantiomer **50b**.





**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz, H<sup>+</sup>-Form):**

$\delta = 3.40$  (t, 1H,  $^3J(H_4, H_5) \approx ^3J(H_5, H_6) = 9.4$  Hz, CH-5);  $3.62$  (dd, 1H,  $^3J(H_2, H_3) = 3.0$  Hz,  $^3J(H_3, H_4) = 9.7$  Hz, CH-3);  $3.71$  (t, 1H,  $^3J(H_5, H_6) = ^3J(H_1, H_6) = 9.7$  Hz, CH-6),  $3.98$  (d $\Psi$ t, 1H,  $^3J(H_1, H_2) = 2.8$  Hz,  $^3J(H_1, P) \approx ^3J(H_1, H_6) = 9.6$  Hz, CH-1);  $4.14$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(H_3, H_4) \approx ^3J(H_4, H_5) \approx ^3J(H, P) = 9.3$  Hz, CH-4);  $4.16$  ( $\Psi$ s, 1H, CH-2)

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz):**

$\delta = 71.94$  (d, CH,  $J(C, P) = 3.0$  Hz);  $73.04$  (2C, CH);  $74.79$  (d, CH,  $J(C, P) = 2.0$  Hz);  $78.72$  (d, CH,  $J(C, P) = 6.1$  Hz);  $81.02$  (d, CH,  $J(C, P) = 7.1$  Hz)

**<sup>1</sup>H{<sup>31</sup>P}-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz, H<sup>+</sup>-Form):**

$\delta = 3.40$  (t, 1H,  $^3J(H_4, H_5) \approx ^3J(H_5, H_6) = 9.4$  Hz, CH-5);  $3.62$  (dd, 1H,  $^3J(H_2, H_3) = 3.0$  Hz,  $^3J(H_3, H_4) = 9.7$  Hz, CH-3);  $3.71$  (t, 1H,  $^3J(H_5, H_6) = ^3J(H_1, P) = 9.7$  Hz, CH-6);  $3.98$  (dt, 1H,  $^3J(H_1, H_2) = 2.8$  Hz),  $^3J(H_1, H_6) = 9.7$  Hz, CH-1);  $4.14$  (t, 1H,  $^3J(H_3, H_4) = ^3J(H_4, H_5) = 9.3$  Hz, CH-4),  $4.16$  ( $\Psi$ s, 1H, CH-2)

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (D<sub>2</sub>O, 161,98 MHz)**

$\delta = 1,12 ; 0,37$

**HPLC (Mono-Q):** 23,6 min. (saures System)

**Drehwert für D-myo-Inositol-1,4-bisphosphat (14a)**

$$[\alpha]_D^{20} = + 1.6^\circ \text{ (c = 1.3, H}_2\text{O, freie Säure)}$$

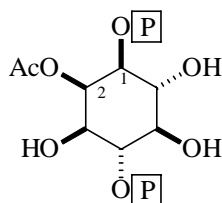
**Drehwert für D-myo-Inositol-3,6-bisphosphat (14b)**

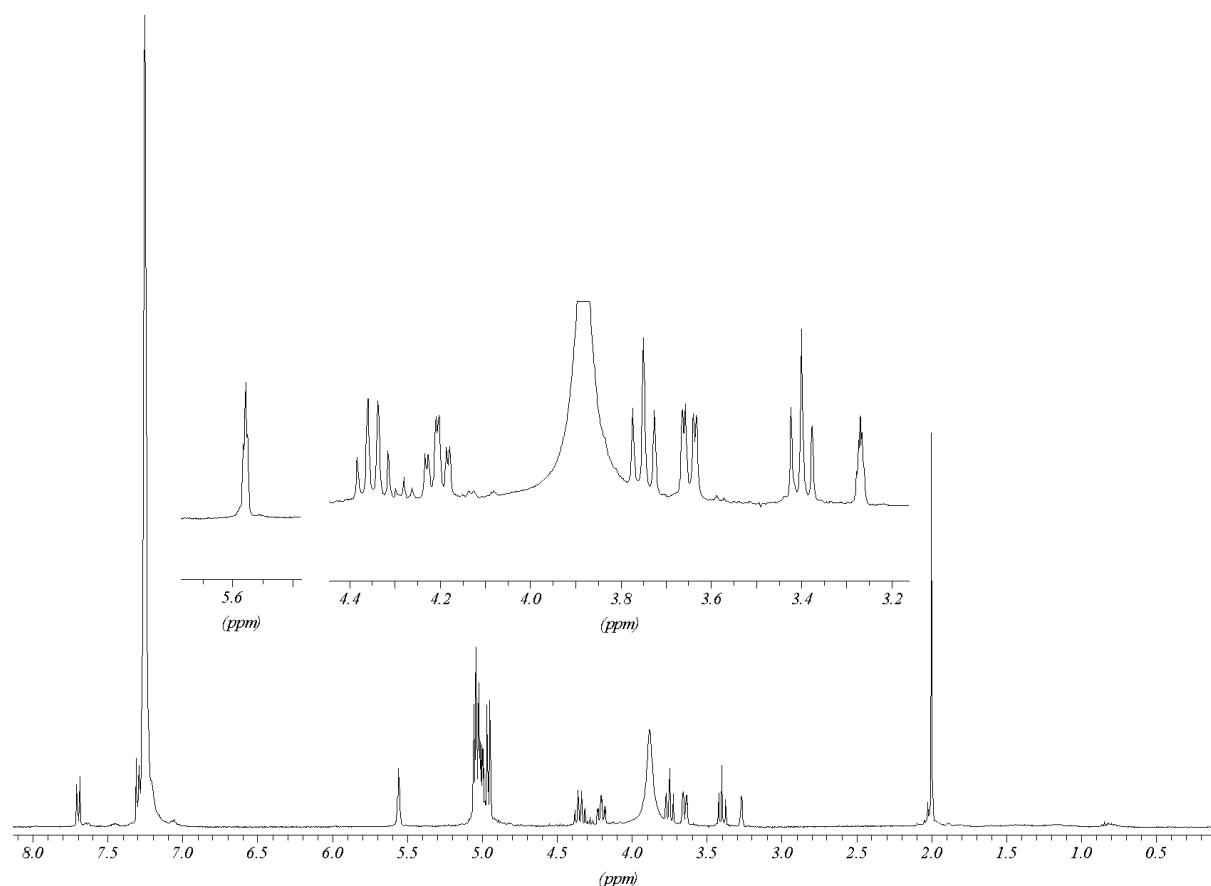
$$[\alpha]_D^{20} = -1.4^\circ \text{ (c = 1.8, H}_2\text{O, freie Säure)}$$

**4.1.22 Darstellung von 2-O-Acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-myo-inositol (103)**

250 mg ( 0,36 mmol) racemisches **50** werden mit 30 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 50 ml abs. THF suspendiert. Durch ein Septum werden 0,15 ml (0,82 mmol) Orthoessigsäuretriethylester zugegeben. Die Lösung rührt zwei Tage und wird anschließend im Vakuum bis zur Trockne eingengt. Dann gibt man 15 ml 80 %-ige Essigsäure zu und läßt erneut 1,5 h bei Raumtemperatur rühren. Die Lösung wird im Vakuum bis zur Trockne eingengt.

Die *p*-Toluolsulfonsäure kann entfernt werden, indem man den Rückstand in Dichlormethan (70 ml) aufnimmt und die organische Phase zweimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges Natriumchloridlösung extrahiert (jeweils 50 ml). Man erhält 260 mg (98 %) eines farblosen Feststoffs

**103**



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 400 MHz):**

$\delta = 2.04$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3.31 (m, 1H, OH); 3.44 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.4$  Hz, CH-5 oder CH-6); 3.68 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz), CH-3); 3.79 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.7$  Hz, CH-5 oder CH-6); 4.25 (d $\psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.8$  Hz;  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 9.4$  Hz, CH-1); 4.39 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) \approx ^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.2$  Hz, CH-4); 4.97-5.12 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.60 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.8$  Hz, CH-2)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 101 MHz):**

$\delta = 20.25$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ ); 68.55 (d, CH,  $J = 3.8$  Hz); 69.34 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 5.2$  Hz); 69.48 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 5.7$  Hz); 69.55 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.7$  Hz); 69.68 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 5.6$  Hz); 71.49 (d, CH,  $J = 4.8$  Hz); 72.03 (d, CH,  $J = 1.9$  Hz); 72.29 (d, CH,  $J = 2.9$  Hz); 76.23 (d, CH,  $J = 6.7$  Hz); 81.02 (d, CH,  $J = 6.87$  Hz); 127.50; 127.62; 128.23; 128.29 (m, CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 135.24; 135.30; 135.32; 135.37; 135.41; 135.44; 135.48; 135.52 (8 C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 170.21 (C,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ )

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 162 MHz)**

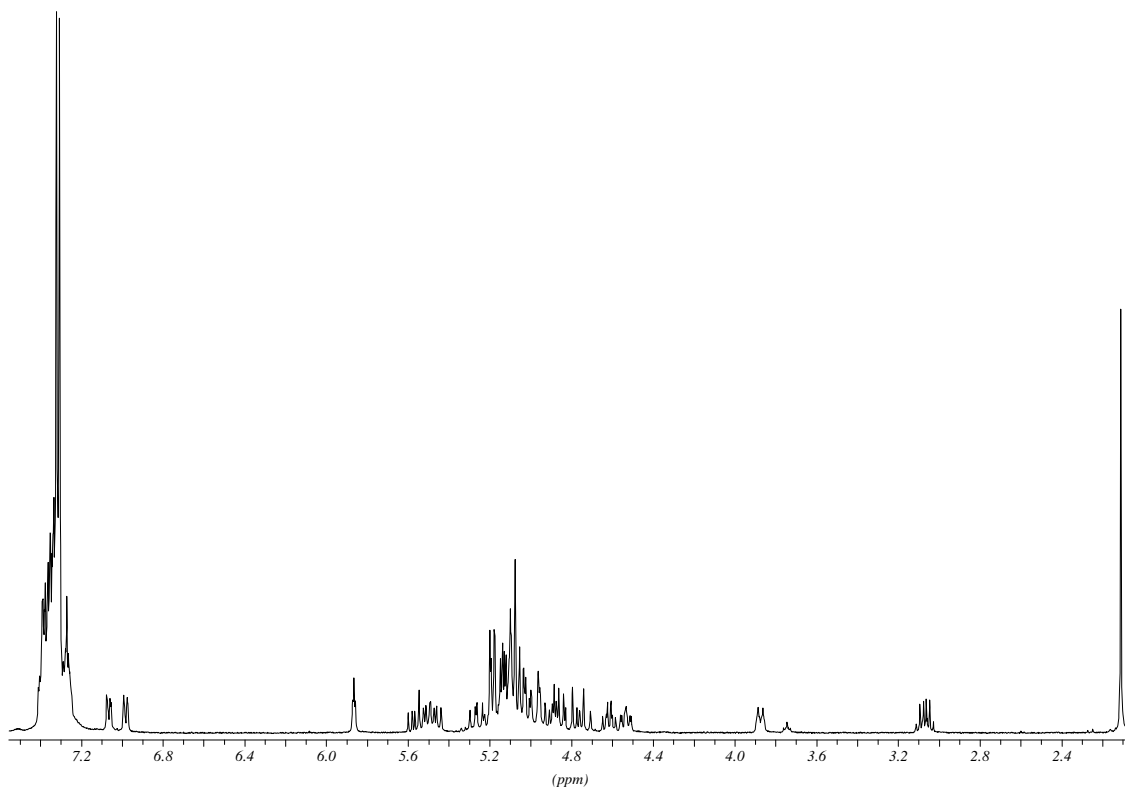
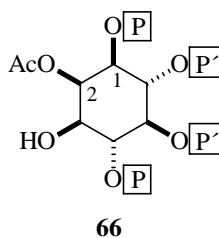
$\delta = 2.70$ ; 3.33

MS (ES+):  $m/z = 743.5 [M+H]^+$

HR-MS: Berechnet ( $C_{36}H_{41}O_{13}P_2$ )<sup>+</sup>: 743.2022 Gefunden: 743.2016  $[M+H]^+$

#### 4.1.23 Darstellung von 2-O-Acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-5,6-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)-myo-inositol (66)

700 mg (0,66 mmol) racemisches **53** werden mit 20 mg *p*-Toluolsulfonsäure in 20 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst. Die Lösung wird mit 0,3 ml (1,64 mmol) Triethylorthoacetat versetzt und zwei Tage gerührt. Anschließend wird die Lösung im Vakuum bis zur Trockne eingengt und 90 min. mit 80 Vol% Essigsäure gerührt. Die so erhaltene Reaktionslösung wird erneut im Hochvakuum eingengt und über Säulenfiltration gereinigt. Man erhält 620 mg (85 %) eines farblosen Schaums.



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta$  = 2.10 (s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 3.90 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.1 \text{ Hz}$ ;  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7 \text{ Hz}$ , CH-3); 4.56 (d $\psi$ t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.5 \text{ Hz}$ ;  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_3, \text{P}) = 8.5 \text{ Hz}$ , CH-1); 4.60 (dt, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.4 \text{ Hz}$ ;  $^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 7.3 \text{ Hz}$ , CH-4 bis CH-6); 4.70 - 5.30 (m, 16 H,  $\text{CH}_2$  und Ringprotonen); 5.42 - 5.60 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  und Ringprotonen); 5.88 ( $\psi$ t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.8 \text{ Hz}$ , CH-2); 7.23 - 7.42 (m, 28H,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ )

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):**

$\delta$  = 20.69 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 68.92 (s, CH, CH-3); 69.14 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 7.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 69.83 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 70.05 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 70.30 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 70.51 (s, CH, CH-2); 73.40 (m, CH, CH-1); 76.67 (m, CH, C-4 bis C-6); 77.69 (m, CH, C-4 bis C-6); 79.98 (d, CH,  $J = 4.8 \text{ Hz}$ , C-4 bis C-6); 128.04; 128.10; 128.16; 128.19; 128.48; 128.54; 128.58; 128.71; 128.79; 128.83; 128.86; 128.91; 128.97; 129.10 (CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 135.07; 135.26; 135.31; 135.34; 135.49; 135.55; 136.94 (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 169.40 (C,  $-\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ )

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)**

$\delta$  = 0.66; -0.77 (PC-1 und PC-4); -1.72; -2.03 (PC-5, PC-6)

**IR [KBr]**

3421.32 [OH]; 3060.19; 3029.13 [=C-H]; 2954.53; 2924.50; 2854.02 [-C-H]; 1754.95 [C=O]; 1456.57; 1377.96; 1292.55; 1261.54; 1224.02; 1020.21; 860.63; 803.77; 734.13; 691.20

**MS** (ES+):  $m/z = 1107.2$  [ $\text{M}+\text{H}$ ]<sup>+</sup>

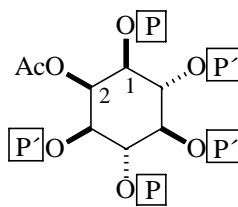
**HR-MS**: Berechnet ( $\text{C}_{52}\text{H}_{54}\text{O}_{19}\text{P}_4\text{Na}$ )<sup>+</sup>: 1129.2170 Gefunden: 1129.2108 [ $\text{M}+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>

**4.1.24 Darstellung von 2-O-Acetyl-1,4-bis-O-(di-O-benzylphospho)-3,5,6-tris-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphospho-2-yl)-myo-inositol (67)**

In einem trockenen inertisierten Schlenk-Kolben werden 250 mg (0,23 mmol) racemisches Inositol ( $\pm$ )-**66** und 63 mg (0,90 mmol) 1H-Tetrazol in 20 ml abs. Dichlormethan vorgelegt. Durch ein Septum werden 107 mg (0,46 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** zugegeben. Die

Lösung rührt über Nacht. Anschließend wird auf  $-40^{\circ}\text{C}$  gekühlt und man gibt durch das Septum eine Lösung von 0,5 g trockener 70-%iger *m*-CPBA in 25 ml Dichlormethan zu. Die Lösung rührt 30 min. nach und taut dann langsam auf Raumtemperatur auf. Man gibt weitere 50 ml Dichlormethan zu. Überschüssige *m*-CPBA wird durch zweimaliges Ausschütteln mit je 60 ml 20%-ige Natriumsulfit-Lösung zu *m*-Chlor-benzoesäure reduziert. Die Reaktionslösung wird mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung ( $3 \times 70$  ml) und ges. Natriumchlorid (70 ml) ausgeschüttelt.

Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein farbloser Schaum, der durch Flash-Chromatographie (DC:MeOH 95:5) gereinigt werden kann. Man erhält 235 mg (82 %) eines farblosen Schaums.



67

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta = 2.11$  (s, 3H,  $-\text{C}(\text{O})-\underline{\text{CH}}_3$ ); 4.56 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $J = 8.1$  Hz, CH-1 oder CH-3); 4.71 ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $J = 8.7$  Hz, CH-1 oder CH-3); 4.81 - 5.34 (m, 21H,  $\text{CH}_2$  und verbleibende Ringprotonen); 5.41 - 5.56 (m, 2H, Ringprotonen oder  $\text{CH}_2$ ); 6.16 ( $\psi\text{s}$ , 1H, CH-2); 7.20 - 7.39 (m, 32H,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ )

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):**

$\delta = 20.62$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 68.51 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 7.1$  Hz,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 69.00 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1$  Hz,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 69.31 (s, CH, Inositolgerüst); 69.48 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1$  Hz,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 69,80 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1$  Hz,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 70.21 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 6.1$  Hz,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  oder  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 73.09 (d, CH,  $J = 3.8$  Hz, Inositolgerüst); 73.38 ( $\psi\text{s}$ , CH, Inositolgerüst); 75.73 (m, CH, Inositolgerüst); 76.72 ( $\psi\text{t}$ , CH,  $J = 5.3$  Hz, Inositolgerüst); 77.16 (m, CH, Inositolgerüst); 69.82 (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 69.49 (CH, d,  $J = 3.8$  Hz, C-5 oder C-6); 70.00 (m,  $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_4$ ); 70.13 (CH, m, 1C, C-1 bis C-4); 72.99 (CH, d,  $J = 2.9$  Hz, C-5 oder C-6); 73.59 (CH, m, 1C, C-1 bis C-4); 75.24 (CH, t,  $J = 5.3$  Hz, 1C, C-1 bis C-4); 76.92 (CH, m, 1C, C-1 bis C-4); 127.88; 127.96; 128.01; 128.18; 128.24; 128.26; 128.32; 128.36; 128.48; 128.53; 128.58; 128.65; 128.72; 128.76; 128.83; 128.85; 128.90; 128.98 (CH, m,  $\text{C}_6\text{H}_5$  und  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 134.78; 134.91; 135.28;



135.39; 135.41; 135.47 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 135.63 (d, C, J = 7.1 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>);  
135.86 (d, C, J = 7.1 Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 168.65 (C, C(O)CH<sub>3</sub>)

**<sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

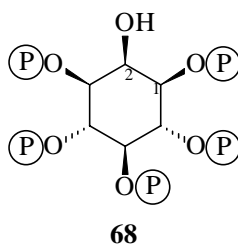
δ = -0.74; -1.04 (PC-1 und PC-4); -0.07; -1.75; -2.19(PC-3, PC-5, PC-6)

**MS (ES<sup>+</sup>):**  $m/z = 1289.2$  [M+H]<sup>+</sup>

**HR-MS:** Berechnet (C<sub>60</sub>H<sub>62</sub>O<sub>22</sub>P<sub>5</sub>)<sup>+</sup>: 1289.2450 Gefunden: 1289.2421 [M+H]<sup>+</sup>

**4.1.25 Darstellung von *Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub>* (**68**)**

50 mg Pd /C (Degussa RW 10) werden in 30 ml eine Gemisches aus Ethanol und Wasser (2:1) suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Nach 10 min. gibt man eine Lösung von 300 mg ( 0,24 mmol) (**67**) in 20 ml Ethanol zu und überlagert das Reaktionsgemisch erneut mit Wasserstoff.. Nach einer Reaktionszeit von 12 h wird der Rückstand von Pd/C abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Die Reaktionslösung wird im Hochvakuum weitgehend von Ethanol befreit und das verbleibende Wasser durch Gefriertrocknung entfernt. Der zurückbleibende Rückstand wird zweimal in wenig Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Anschließend löst man den Rückstand unter Kühlung im Eisbad in 10 ml 0,25 N NaOH und rührt 6 h bei Raumtemperatur nach. Durch Zugabe von saurem Ionentauscher (DOWEX 50-X) wird die Lösung sauer gestellt und erneut lyophilisiert. Man erhält 132 mg (92 %) eine farblosen, stark hygroskopischen Schaums, der anschließend ionenchromatographisch aufgereigt wird



**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz, pH auf 9 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD)):**

δ = 3.39 (dt, 2H, CH-1 und CH-3); 4.03 (q, 1H, CH-5); 4.30 (q, 2H, CH-4 und CH-6); 4.51 (t, CH-2)

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 162 MHz, pH auf 9 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))

$\delta = 3.05; 3.84; 4.60$

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 101 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ )):

$\delta = 70.89$  (s);  $74.33$  (m);  $76.22$  (m);  $77.65$  (m)

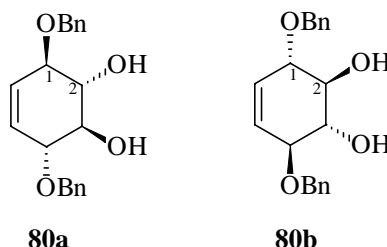
HPLC (Mono Q):  $t = 62,3$  min. (saures System)

#### 4.1.26 Darstellung von Dibenzyl-Konduritol-B (80)

8,4 g (346 mmol) Natrium werden unter Kühlung in 300 ml Benzylalkohol gelöst. Nachdem das Natrium vollständig zu Natriumbenzylat umgesetzt ist, wird unter Kühlung im Eisbad langsam eine Lösung von 35,6 g (100 mmol) Diacetat **43** in 80 ml abs. Tetrahydrofuran zugegeben. Die Lösung rührt drei Tage bei Raumtemperatur. Anschließend wird überschüssiges Natriumbenzylat durch Zugabe von 200 ml verd. Salzsäure gequenchet. Die organische Phase wird dreimal mit gesättigter Hydrogencarbonatlösung und einmal mit gesättigter Kochsalzlösung ausgeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Der überschüssige Benzylalkohol wird im Hochvakuum abdestilliert. Man erhält ein rotbraunes Öl, das aus Cyclohexan : Essigsäureethylester (1:1) umkristallisiert werden kann.

Alternativ zu **43** kann auch Dibromdiol **42** eingesetzt werden. Zur Darstellung von **80a** wird Diacetat **43a** eingesetzt, zur Synthese von **80b** das enantiomerenreine Dibromdiol **42b**.

Ausbeute nach Umkristallisation 15,3 g (47 %)



Schmp:  $124$  °C (rac.)

DC (EE:CH 1:1):  $R_f = 0.25$

**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)-1,4-Di-O-benzylkonduritol-B (80a)**

$$[\alpha]_D^{20} = -128.3^\circ \quad (c = 1.80, \text{CHCl}_3)$$

**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)-1,4-Di-O-benzylkonduritol-B (80b)**

$$[\alpha]_D^{20} = +130.6^\circ \quad (c = 1.4, \text{CHCl}_3)$$

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):**

$\delta = 2.69$  (s, 2H, OH); 3.79 (dd, 2H,  $J = 5.0$  Hz,  $J = 2.2$  Hz, CH-2 und CH-3); 4.10 (dd, 2H,  $J = 5.0$  Hz,  $J = 2.3$  Hz, CH-1 und CH-4), 4.75 (s, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 5.79 (s, 2H, CH-5 und CH-6); 7.31-7.42 (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

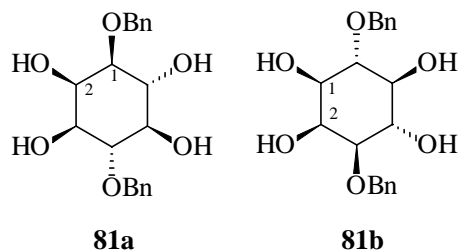
$\delta = 71.92$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ); 74.66 (CH, C-2 und C-3); 79.21 (CH, C-1 und C-4); 126.93; 127.68; 127.84; 127.99; 128.23 (5 CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ , C-5 und C-6); 138.07 (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

weitere spektroskopische Daten siehe Ref. 65

#### **4.1.27 Darstellung von 1,4-Di-O-benzyl-myoinositol (81)**

2,076 g (6.36 mmol) **80** werden in 65 ml Acetonitril gelöst und im Eisbad gekühlt. Bei  $0^\circ\text{C}$  wird eine zuvor hergestellte Lösung von 2,04 (9,54 mmol, 1,5 eq.) Natriummetaperiodat und 164 mg (0,63 mmol, 10 mol-%) Rutheniumchlorid-Trihydrat zugegeben. Die Lösung rührt unter Kühlung 7 min., dann werden zum Abbruch der Reaktion 150 ml 20 %-ige Natriumthiosulfat-Lösung zugegeben. Die Reaktionsmischung rührt 5 min. nach, anschließend wird die wässrige Phase mit Essigsäureethylester extrahiert (5 x 150 ml) Die gesammelten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gegengeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 1,87 g (82 %) eines farblosen Feststoffs, der eine für weitere Umsetzungen ausreichende Reinheit besitzt, zu analytischen Zwecken aber aus Essigsäureethylester umkristallisiert werden kann.

Zur Darstellung von **81a** wird **80a** eingesetzt, zur Synthese von **81b** das andere Enantiomer **80b**.



**Schmp.:** 170°C (Lit:<sup>160</sup> 172°C)

**DC:**  $R_f = 0.25$  (EE:CH 1:1)

**Drehwert für D-1,4-Di-O-benzyl-myoinositol (81a)**

$$[\alpha]_D^{20} = -18.3^\circ \quad (c = 2, \text{MeOH})$$

**Drehwert für D-3,6-Di-O-benzyl-myoinositol (81b)**

$$[\alpha]_D^{20} = +17.2^\circ \quad (c = 1.8, \text{MeOH})$$

**H-NMR (CDCl<sub>3</sub> + MeOD, 400 MHz)**

$\delta = 3.16$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.7$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 2.0$  Hz CH-3 oder CH-1);  $3.31$  ( $\psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.4$  Hz, CH-4 oder CH-6);  $3.38$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.7$  Hz,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 2.5$  Hz, CH-1 oder CH-3);  $3.58$  ( $\psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.4$  Hz, CH-5);  $3.78$  ( $\psi$ t, 1H  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.4$  Hz, CH-4 oder CH-6);  $4.07$  ( $\psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 2.0$  Hz, CH-2);  $4.61$  ( $\psi$ q, 2H, AB-System einer CH<sub>2</sub>-Gruppe);  $4.79$  ( $\psi$ dd, 2H, AB-System einer CH<sub>2</sub>-Gruppe); 7.16-7.38 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

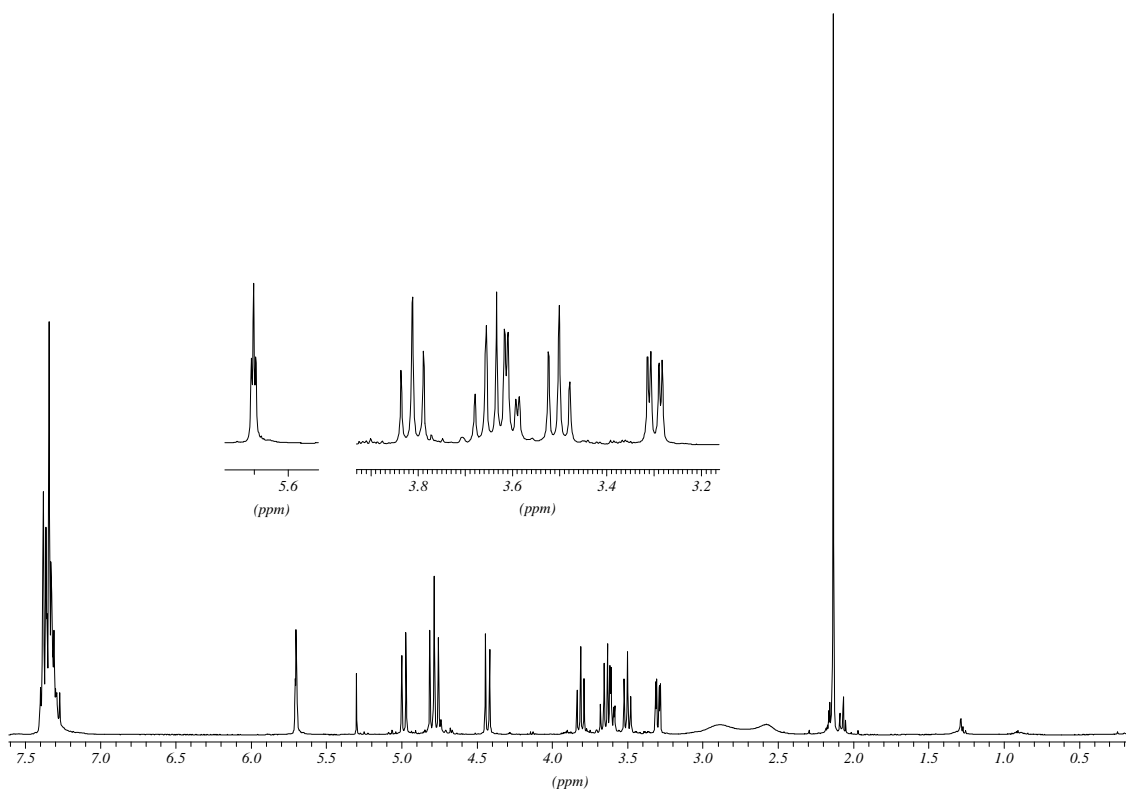
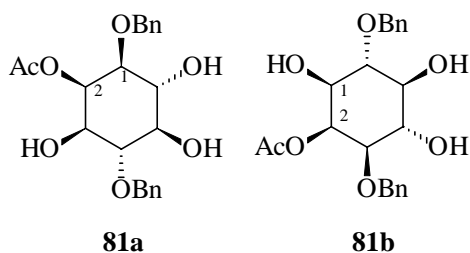
$\delta = 65.51$  (CH, C-2);  $67.92$  (CH, C-1 oder C-3);  $68.30$  (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>);  $68.49$  (CH, C-5);  $70.79$  (CH, C-4 oder C-6);  $71.13$  CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>);  $75.46$  (CH, C-1 oder C-3);  $77.46$  (CH, C-4 oder C-6);  $127.76$ ;  $127.93$ ;  $128.01$ ;  $128.13$ ;  $128.42$ ;  $128.48$  (6 CH; C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>);  $137.90$ ;  $138.73$  (2 C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

Weitere analytische Daten: Siehe Ref. 53, 160

**4.1.28 Darstellung von 2-O-Acetyl-1,4-di-O-benzyl-myo-inositol (98)**

300 mg (0,83 mmol) 1,4-Di-O-benzyl-myo-inositol **81** und 15 mg *p*-Toluolsulfonsäure werden in 20 ml abs. THF gelöst. Es werden 0,3 ml (1,6 mmol) Triethylorthoacetat zugegeben und die Reaktionslösung wird 24 h gerührt. Die Lösung wird im Vakuum bis zur Trockne eingengt. Anschließend versetzt man mit 10 ml 80 % Essigsäure. Nach 90 min. wird die Reaktionslösung erneut im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird in Essigsäureethylester aufgenommen und dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhält 317 mg (95 %) als farblosen Schaum.

Zur Darstellung von **98a** wird **81a** eingesetzt, zur Synthese von **98b** das andere Enantiomer **81b**.



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.13$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2.99 (b, 1H, OH); 2.58 (b, 1H, OH); 3.30 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.9$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.8$  Hz, CH-3); 3.50 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.2$  Hz, CH-5); 3.60 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 9.7$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 3.1$  Hz, CH-1); 3.65 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_6, \text{H}_1) = 8.9$  Hz, CH-6); 3.81 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_3) = 9.7$  Hz, CH-4); 4.43 (d, 1H, Teil von zwei AB-Systemen,  $J = 10.7$  Hz,  $\text{CH}_2$ ); 4.78 ( $\Psi\text{t}$ , Teil von zwei AB-Systemen, 2H,  $J = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2$ ); 4.99 (d, 1H, Teil von zwei AB-Systemen,  $J = 11.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ); 5.70 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz, CH-2); 7.26-7.40 (m, 10 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ).

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 20.87$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ); 69.00 (CH, C-2); 70.16 (CH, C-1); 71.84 ( $\text{CH}_2$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ); 72.66 (CH, C-4); 74.67 (CH, C-5); 75.07 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ); 77.48 (CH, C-3); 81.06 (CH, C-6); 127.91; 127.95; 128.09; 128.24; 128.54 (5 CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 137.19; 138.44 (22 C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 170.56 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ )

**MS [70 eV], m/z (%)**

402 (2.4,  $\text{M}^+$ ); 311 (45.1,  $\text{M}^+ - \text{Bn}$ ); 310 (29.2); 205 (46.7); 127 (11.5); 109 (27.1); 107 (31.4); 99 (14.6); 92 (33.0); 91 (100); 86 (25.22); 81 (9.8); 73 (11.9); 65 (14.9); 43 (88.0)

**HRMS:**

Ber. ( $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_7$ ): 403.1756 Gefunden: 403.1752 [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$

**Drehwert für D-2-O-Acetyl-1,4-di-O-benzyl-myoinositol (98a)**

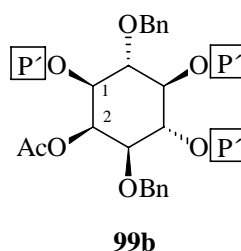
$[\alpha]_D^{20} = + 19,8^\circ$  ( $c = 5.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**Drehwert für D-2-O-Acetyl-3,6-di-O-benzyl-myoinositol (98b)**

$[\alpha]_D^{20} = - 20,5^\circ$  ( $c = 4.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

#### 4.1.29 Darstellung von 2-O-Acetyl-3,6-di-O-benzyl-1,4,5-tris-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (**99b**)

Zu einer Suspension aus 660 mg (9.4 mmol) 1*H*-Tetrazol und 315 mg 2-O-Acetyl-3,6-Di-O-benzyl-*myo*-inositol (**98**) (0.78 mmol) in 30 ml abs. Dichlormethan wird unter inerten Bedingungen 1.13 g (4.7 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 9.4 mmol trockener *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand kann säulenchromatographisch gereinigt werden (Ethylacetat:Cyclohexan 5:1). Man erhält 646 mg (87 %) von **99b** als farblosen Schaum.



#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 2.16 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 3.69 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) = 9.9 Hz, CH-3); 4.07 (Ψt, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 9.7 Hz); 4.48 (d, 1H, Teil eines AB-Systems, J = 11.4 Hz, O-CH<sub>2</sub>Ph); 4.71 (dd, 1H, J = 2.6 Hz, J = 9.9 Hz, CH-1); 4.80-5.27 (m, 15 H, CH<sub>2</sub> und restliche Ringprotonen); 5.45-5.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 6.02 (Ψt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.5 Hz, CH-2); 7.06-7.49 (m, 22H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

#### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$  = 20.68 (CH<sub>3</sub>); 67.57 (CH); 68.03 (d, J = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>OP); 68.35 (dd, 2C, CH<sub>2</sub>, J = 5.6 Hz, J = 10.0 Hz, CH<sub>2</sub>OP); 68.77 (dd, CH<sub>2</sub>, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, CH<sub>2</sub>OP); 72.04 (CH<sub>2</sub>, -OBn); 74.80 (CH<sub>2</sub>, -OBn); 75.39 (CH); 75.43 (CH); 77.63 (t, CH, J = 4.3 Hz); 77.86 (dd, CH, J = 6.2 Hz, J = 2.1 Hz); 78.76 (m, CH); 126.85-129.80 (m, CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 132.23 - 137.63 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 169.23 (C, C(O)CH<sub>3</sub>)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)** $\delta = 0.00; 0.79; 1.20$ 

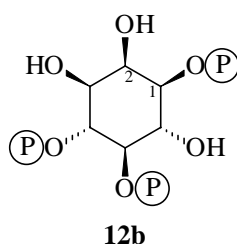
**Drehwert für D-2-O-Acetyl-3,6-di-O-benzyl-1,4,5-tris-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (99b)**

 $[\alpha]_D^{20} = -5.3^\circ$  (c = 1.8, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)

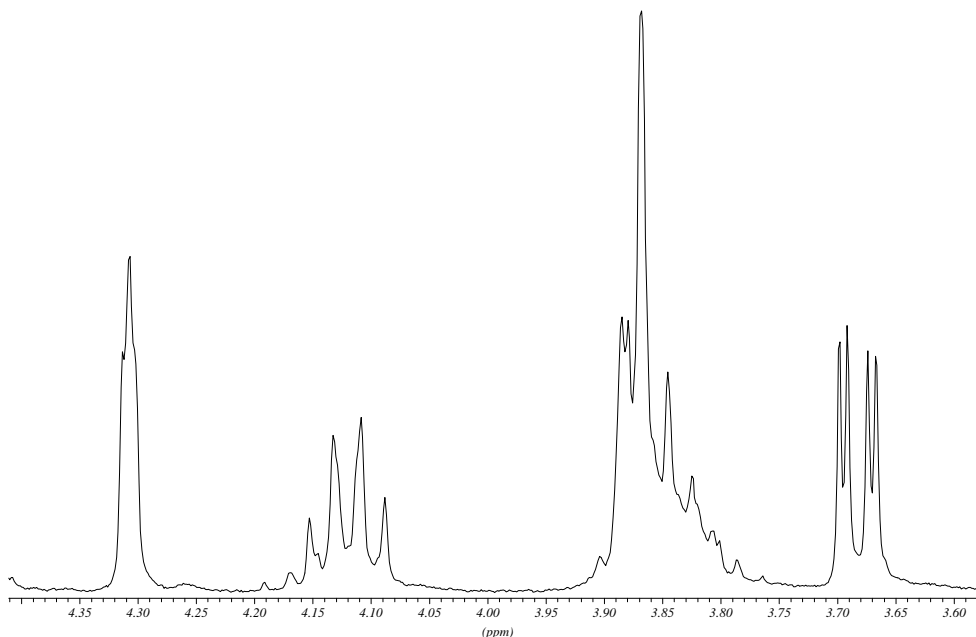
Weitere analytische Daten siehe Ref.53

**4.1.30 Darstellung von myo-Inositol-1,4,5-trisphosphat (12b)**

20 mg Pd /C (Degussa RW 10) werden in 30 ml eine Gemisches aus Ethanol und Wasser (2:1) suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Nach 10 min. gibt man eine Lösung von 150 mg ( 0,16 mmol) 2-O-Acetyl-3,6-Di-O-benzyl-1,4,5-tris(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (**99b**) in 10 ml Ethanol zu und überlagert das Reaktionsgemisch erneut mit Wasserstoff.. Nach einer Reaktionszeit von 12 h wird der Rückstand von Pd/C abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Die Reaktionslösung wird im Hochvakuum weitgehend von Ethanol befreit und das verbleibende Wasser durch Gefriertrocknung entfernt. Der zurückbleibende Rückstand wird zweimal in wenig Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Anschließend löst man den Rückstand unter Kühlung im Eisbad in 10 ml 0,25 N NaOH und rührt 6 h bei Raumtemperatur nach. Durch Zugabe von saurem Ionentauscher (DOWEX 50-X) wird die Lösung sauer gestellt und erneut lyophilisiert. Man erhält 66 mg (98 %) eine farblosen, stark hygroskopischen Schaums.







**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH mit  $\text{ND}_4\text{OD}$  auf 8.0 eingestellt)**

$\delta = 3.66$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_2) = 2.5$  Hz, CH-3); 3.87 (m, 3H, CH-1; CH-6; CH-5); 4.12 ( $\Psi\text{q}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{P}, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) = 8.7$  Hz, CH-4); 4.31 ( $\Psi\text{q}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.1$  Hz, CH-2)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 72.81$  (CH, s, C-2); 73.84 (CH, s, C-3); 74.63 (CH, d,  $J = 7.0$  Hz); 76.72 (CH, d,  $J = 5.7$  Hz); 77.30 (CH, t,  $J = 5.4$  Hz, C-4); 79.52 (CH, t,  $J = 6.4$  Hz)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz)**

$\delta = 4.16 + 5.55$  (PC-1 und PC-5); 5.88 (PC-4)

**Drehwert für D-myoinositol-1,4,5-trisphosphat (12b)**

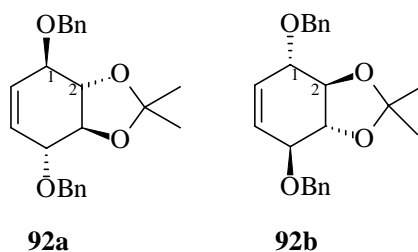
$[\alpha]_D^{20} = -9.2^\circ$  ( $c = 1.4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}^+$ -Form); Lit:<sup>161</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -13.3^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ); Lit:<sup>162</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -11.1^\circ$  ( $c = 0.9$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ )

**HPLC** (Mono-Q):  $t = 44,5$  min. (alkalisches System);  $t = 26,0$  (saurer System)

**4.1.31 Darstellung von 1,4-Di-O-benzyl-2,3-isopropyliden-Konduritol-B (92)**

10 g (30.6 mmol) **80** werden in 50 ml 2,2-Dimethoxypropan und 25 ml Aceton mit 100 mg PPTS 5 Tage gerührt. Anschließend werden 30 ml 2N Natronlauge, 30 ml ges. Natriumchlorid-Lösung und 150 ml Diethylether zugegeben. Die Lösung wird 5 min. kräftig gerührt, die organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase wird viermal mit 150 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 10.82 g (98 % als farblosen Feststoff,

Zur Darstellung von **92a** wird **80a** eingesetzt, zur Synthese von **92b** das andere Enantiomer **80b**. Im Falle der enantiomerenreinen Verbindungen fällt das Produkt als gelbliches Öl an, das bei längerem Stehenlassen kristallisiert.



DC:  $R_f = 0,65$  (CH:EE 1:1)

 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 1.55$  (s, 6H, 2  $\text{CH}_3$ ); 3.71 (dd, 2H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 5.5$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.2$  Hz, CH-2 und CH-3); 4.31 (dd, 2H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 5.5$  Hz),  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.4$  Hz), CH-1 und CH-4); 4.74 (d, 2H,  $^2\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 11.9$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ); 4.74 (d, 2H,  $^2\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 11.9$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ); 4.90 (d, 2H,  $^2\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 11.9$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ); 5.75 (s, 2H, CH-5 und CH-6); 7.27-7.40 (m, 10H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 27.29$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ); 71.90 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 77.37 (CH, C-2 und C-3); 80.54 (CH, C-1 und C-4); 111.10 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ); 127.78; 127.96; 128.51 (CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 129.26 (CH, C-5 und C-6); 138.54 (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**Drehwert für (1S),(2S),(3S),(4S)-1,4-Di-O-benzyl-2,3-O-isopropyliden-konduritol-B (92a)**

$$[\alpha]_D^{20} = -18.4^\circ \quad (c = 1.2, \text{CHCl}_3)$$

**Drehwert für (1R),(2R),(3R),(4R)-1,4-Di-O-benzyl-2,3-O-isopropyliden-konduritol-B (92b)**

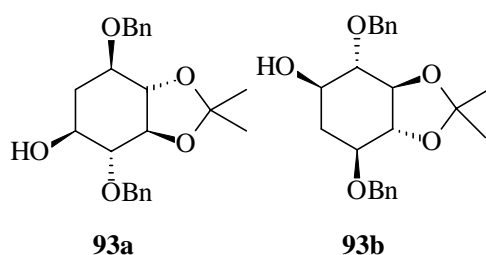
$$[\alpha]_D^{20} = +18.5 \quad (c = 1.0, \text{CHCl}_3)$$

Weitere analytische Daten siehe Ref. 53.

**4.1.32 Darstellung von 2-Desoxy-1,4-di-O-benzyl-5,6-isopropyliden-myoinositol (93)**

In einem inertisierten Kolben werden 1,5 g (4,1 mmol) Konduritol **92b** vorgelegt und in 25 ml abs. THF gelöst. Man gibt 5 ml 1M Boran-THF-Komplex-Lösung zu und rührt die Reaktionslösung über Nacht nach. Zur Vernichtung überschüssigen Borans wird vorsichtig Wasser zugegeben bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten ist. Anschließend werden 7 ml 2M Natronlauge und 7 ml 30 %-ige Wasserstoffperoxid-Lösung zugegeben. Die Lösung rührt ca. 12 h nach und wird anschließend gründlich mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 1,46 g (93 %) eines farblosen Feststoffs, der eine für die weiteren Umsetzungen ausreichende Reinheit besitzt, zu analytischen Zwecken aber chromatographisch (CH:EE 2:1) aufgereinigt werden kann.

Zur Darstellung von **93a** wird **92a** eingesetzt, zur Synthese von **93b** das andere Enantiomer **92b**.



**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,50 (EE/CH 1:1)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 1.49 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1.51 (s, 3H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1.57 (m, 1H, CH-2<sub>ax</sub>); 2.37 (dΨt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) = 4.8 Hz; <sup>2</sup>J(H<sub>2ax</sub>, H<sub>2eq</sub>) = 13.2 Hz); 2.52 (s, 1H, OH); 3.41-3.60 (m, 2H, Ringprotonen); 3.62-3.71 (m, 3H, Ringprotonen); 4.66 (dd, 2H, AB-System der CH<sub>2</sub>Ph-Gruppen); 4.82 (d, 1H, J = 12.1 Hz, AB Teil einer CH<sub>2</sub>Ph-Gruppe); 4.99 (d, 1H, J = 11.6 Hz, AB Teil einer CH<sub>2</sub>Ph-Gruppe); 7.27-7.41 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 26.92 (CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 27.04 (CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 35.78 (CH<sub>2</sub>, C-2); 71.52 (CH<sub>2</sub>; CH<sub>2</sub>Ph); 72.74 (CH<sub>2</sub>; CH<sub>2</sub>Ph); 70.38; 73.40; 79.29; 81.93; 82.01 (5 CH, CH-1 und CH-3 - CH-6); 111.78 (C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 127.48; 127.71; 127.81; 128.05; 128.27; 128.43 (6 CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 138.32; 13.41 (2C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**Drehwert für 2-Desoxy-1,4-di-O-benzyl-5,6-isopropyliden-*myo*-inositol (93a)**

$[\alpha]_D^{20} = -73.1^\circ$  (c = 0.35, CHCl<sub>3</sub>)

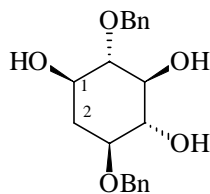
**Drehwert für 2-Desoxy-3,6-di-O-benzyl-4,5-isopropyliden-*myo*-inositol (93b)**

$[\alpha]_D^{20} = +72.9^\circ$  (c = 0.4, CHCl<sub>3</sub>)

Weitere spektroskopische Daten siehe Ref 48, 52.

**4.1.33 Darstellung von 2-Desoxy-3,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol (94b)**

500 mg (1,3 mmol) **93** werden in einem Gemisch aus 10 ml THF, 10 ml Essigsäure und 10 ml Wasser suspendiert. Nach ca. 30 min. wird die Reaktionslösung klar. Man läßt zur Komplettierung der Reaktion 5 h Rühren und entfernt anschließend alle flüchtigen Bestandteile der Reaktionslösung im Vakuum. Man erhält 448 mg (100 %) eines farblosen Feststoffs, der ohne Aufreinigung zur Phosphorylierung eingesetzt wird.

**94b****<sup>1</sup>H-NMR (MeOD, 101 MHz)**

$\delta$  = 1.41 (m, 1H, CH<sub>2</sub>, CH-2<sub>ax</sub>); 2.08 (m, CH<sub>2</sub>, C-2<sub>eq</sub>); 3.03 (dt, 1H, J = 2.7 Hz, J = 9.0 Hz, CH-1 oder CH-3); 3.10-3.26 (m, 3H, C-1 bis C-6); 3.-35 (m, 1H, C-1 bis C-6), 4.42; 4.90; 4.70 (CH<sub>2</sub>-Gruppen); 7.04-7.30 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

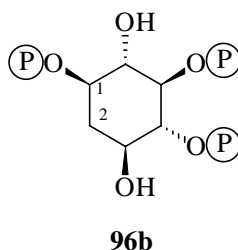
**<sup>13</sup>C-NMR (MeOD, 101 MHz)**

$\delta$  = 36.57 (CH<sub>2</sub>, C-2); 65.21; 76.10; 78.05; 78.29; 87.17 (5CH, C-1 und C-3 bis C-6); 73.04 und 75.90 (2CH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>Ph); 128.44; 128.57; 128.93; 129.14; 129.27; 129.30 (7CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 140.04; 140.43 (2C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**4.1.34 Darstellung von 2-Desoxy-1,4,5-myoinositol-trisphosphat (96b)**

Zu einer Suspension aus 350 mg (5 mmol) 1H-Tetrazol und 350 mg **94b** (1 mmol) in 50 ml abs. Dichlormethan werden unter inerten Bedingungen 1,08 g (4,5 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 3 g (12 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 50 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhält 670 mg (75 %) **95b** als fast farblosen Schaum, der direkt einer Hydrierung unterworfen wird. Dazu werden 300 mg Palladium auf Kohle (Degussa NW/10) in 10 ml Ethanol und 20 ml Wasser suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Das Gemisch rührt 30 min. Anschließend werden 300 mg (0,34 mmol) **95b** in 20 ml Ethanol aufgenommen und der Katalysatorsuspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und 36 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Zu der Lösung werden 100 ml Wasser gegeben. Nach weiteren 15 min. Rührens wird der Katalysator abfiltriert, das Ethanol im Hochvakuum weitgehend entfernt und der Rest der

Lösung lyophilisiert. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Man erhält 120 mg eines leicht gelblichen Schaums, der ionenchromatographisch aufgereinigt wird. Diese Aufreinigung wird zur Zeit durchgeführt.



$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz) von **95b**

$\delta = -0.22; -0.04; 1.26$

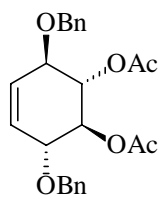
$^{13}\text{C}$ -NMR (MeOD, 101 MHz) von **95b**

$\delta = 32.83$  ( $\text{CH}_2$ , C-2); 68.01-68.90 ( $\text{CH}_2\text{OP}$ ); 71.84; 75.02 ( $2\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 74.09; 74.67; 78.74; 80.41; 81.71 (6CH, alle m, C-1 und C-3 bis C-6); 127.27-130.15 (m, CH,  $\text{C}_6\text{H}_4$  und  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 134.76-135.20 (m, C,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 137.48; 137.61 (2C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ )

HPLC (Mono-Q) von **96b**: 39.0 min (alkalisches System); 26.4 min. (saurer System)

#### 4.1.35 Darstellung von 2,3-Di-O-Acetyl-1,4-di-O-benzyl-Konduritol-B (84a)

10 g (30,6 mmol) Dibenzylkonduritol **G5a** werden unter Eiskühlung in einer Mischung aus 20 ml Pyridin und 20 ml Essigsäureanhydrid gelöst. Das Eisbad wird entfernt und die Reaktionslösung über Nacht nachgerührt. Anschließend wird die Lösung auf 100 ml Eis gegeben und das Gemisch viermal mit je 150 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird viermal mit 100 ml 15 %-iger Salzsäure, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonat- und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält 11,7 g eines leicht grau gefärbten Feststoffs, der aus wenig Essigsäureethylester umkristallisiert werden kann. Nach Umkristallisation erhält man 9,5 g (76 %) eines farblosen Feststoffs.

**84a****<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 2.06 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>); 4.30 (2H, AA'XX'-System, CH-1 und CH-4); 4.60 (d, J = 11.8 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 5.29 (2H, AA'XX'-System, CH-2 und CH-3); 5.81 (s, 2H, CH-5 und CH-6); 7.33 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 20.66 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 71.20 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 72.67 (CH, C-2 und C-3); 76.88 (CH, C-1 und C-4); 127.85 (CH, C-5 und -6); 127.66; 127.82; 128.40; (3 CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.85 (C, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>); 169.91 (C, C(O)CH<sub>3</sub>)

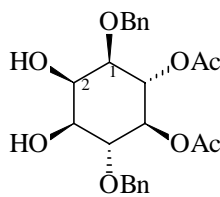
**Drehwert für 2,3-Di-O-acetyl-1,4-Dibenzyl-Konduritol-B (84a)**

$[\alpha]_D^{20} = -195.0^\circ$  (c = 1.2, CHCl<sub>3</sub>)

Weitere spektroskopische Daten siehe Ref. 65, 53.

**4.1.36 Darstellung von 5,6-Di-O-acetyl-1,4-di-O-benzyl-myo-inositol (85a)**

2,0 g Diacetylkonduritol **84a** (4,9 mmol) werden in 60 ml Acetonitril gelöst und im Eisbad gekühlt. Zu der Lösung gibt man eine Lösung von 128 mg (0,49 mmol) Rutheniumtrichlorid und 1,56 g (7,3 mmol) Natriummetaperiodat in 14 ml Wasser. Die Reaktion wird nach 7 min. durch Eingießen von 100 ml 20 %-iger Natriumthiosulfat-Lösung abgebrochen. Die Lösung wird viermal mit 120 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit ges. Natriumchlorid-Lösung gegengeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 2,0 g (93 %) eines farblosen Feststoffs, der für die weiteren Umsetzungen eine ausreichende Reinheit zeigt, zu analytischen Zwecken aber durch Flash-Chromatographie (CH:EE 3:2) aufgereinigt werden kann.

**85a**

**Schmp:** 126°C (Lit:<sup>65</sup> 129°C, Lit<sup>163</sup> 105°C)

### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.70 (s-br, 1H, OH); 2.90 (s-br, 1H, OH); 3.48 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) = 9.8 Hz, CH-3); 3.58 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.5 Hz, CH-1); 3.90 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>6</sub>, H<sub>1</sub>) = 9.6 Hz, CH-6); 4.20 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.9 Hz, CH-2); 4.60 (d, 2H, J = 12.0 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4.71 (d, 2H, J = 11.7 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 5.04 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.8 Hz, CH-5); 5.44 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) = 9.8 Hz, CH-4); 7.33 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$  = 20.69; 20.71 (2CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 69.13 (CH, C-2); 71.74 (CH, C-3); 71.74 (CH, C-6); 72.81 (CH, C-5); 72.44 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 75.08 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 77.13 (CH, C-1); 79.28 (CH, C-4); 127.65; 127.84; 128.20; 128.55; 128.67 (5 CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.23; 137.96 (2C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 170.04; 170.08 (2C, CH<sub>3</sub>C(O))

### Drehwert für 5,6-Di-O-acetyl-1,4-dibenzyl-myoinositol (85a)

$[\alpha]_D^{20} = -34.3^\circ$  (c = 0.8, CHCl<sub>3</sub>);

Lit<sup>65</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -34.1^\circ$  (c = 0.84, CHCl<sub>3</sub>)

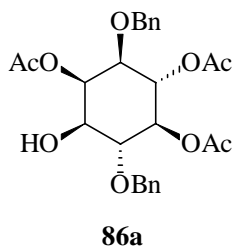
Weitere spektroskopische Daten siehe 65, 53.

#### 4.1.37 Darstellung von 2,5,6-Tri-O-acetyl-1,4-di-O-benzyl-myoinositol (86a)

1g (2,25 mmol) Inositol **85a** und 50 mg *p*-Toluolsulfosäure werden in 30 ml abs. THF gelöst. Es werden 1,2 ml (6,75 mmol) Orthoessigsäuretriethylester zugegeben. Die Reaktionslösung rührt über Nacht. Anschließend wird die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt und mit 20 ml 80 %-iger Essigsäure 1 h gerührt. Die Lösung wird im



Vakuum erneut zur Trockne eingengt, der Rückstand in Dichlormethan (100 ml) aufgenommen und zweimal mit ges. Natriumhydrogencarbonat- und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt kann durch Säulenfiltration gereinigt werden (CH:EE 3:2). Man erhält 889 mg (82 %) eines farblosen Feststoffs.



### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 1,97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1,98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,65 (s-br, 1H, OH); 3,52 (ss, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.8 Hz, CH-1); 3,68 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) = 9.7 Hz, CH-3); 3,85 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) = 9.7 Hz, CH-4); 4,54 (d, 2H, J = 12.0 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4,72 (m, 2H, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 5,07 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.8 Hz, CH-5); 5,35 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.7 Hz, CH-6); 5,70 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.7 Hz, CH-2); 7,33 (m, 10H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$  = 20.63; 20.71; 20.89 (3CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 68.93 (CH, C-2); 70.08 (CH, C-3); 71.68 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 71.77 (CH, C-6); 73.03 (CH, C-5); 74.79 (CH, C-1); 75.12 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 79.42 (CH, C-4); 127.61; 127.77; 127.83; 127.88; 128.27; 128.55 (6CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.21; 137.92 (2C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 169.88; 170.04; 170.08 (3C, CH<sub>3</sub>C(O))

### Drehwert für 3,5,6-Tri-O-acetyl-1,4-dibenzyl-myoinositol (86a)

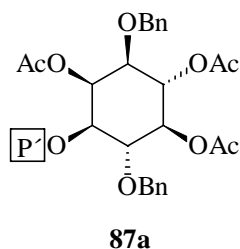
$[\alpha]_D^{20} = -53,1^\circ$  (c = 11,7, CHCl<sub>3</sub>);

Lit:<sup>65</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -53,3^\circ$  (c = 1,74, CHCl<sub>3</sub>)

Weitere spektroskopische Daten siehe Ref. 65, 53.

#### 4.1.38 Darstellung von 2,5,6-Tri-O-acetyl-1,4-di-O-benzyl-3-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (87a)

In einem trockenen inertisierten Schlenk-Kolben werden 300 mg (0,62 mmol) Inositol **86a** und 130 mg (1,84 mmol) 1*H*-Tetrazol in 20 ml abs. Dichlormethan vorgelegt. Durch ein Septum werden 148 mg (0,92 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** zugegeben. Die Lösung rührt über Nacht. Anschließend wird auf -40°C gekühlt und man gibt durch das Septum eine Lösung von 690 mg trockener 70-%iger *m*-CPBA in 25 ml Dichlormethan zu. Die Lösung rührt 30 min. nach und taut dann langsam auf Raumtemperatur auf. Man gibt weitere 50 ml Dichlormethan zu. Überschüssige *m*-CPBA wird durch zweimaliges Ausschütteln mit je 60 ml 20%-ige Natriumsulfit-Lösung zu *m*-Chlor-benzoesäure reduziert. Die Reaktionslösung wird mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung (3×70 ml) und ges. Natriumchlorid (70 ml) ausgeschüttelt. Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein farbloser Schaum, der durch Flash-Chromatographie (CH:EE 1:1) gereinigt werden kann. Man erhält 268 mg (65 %) eines farblosen Schaums.



#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 1.91 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 3.72 (dd, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.9 Hz, CH-1); 4.03 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) = 9.7 Hz, CH-4); 4.40 (d, 1H, J = 11.7 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4.62 (d, 1H, J = 11.7 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4.62 (dΨt, 1H, <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 3.0 Hz, <sup>3</sup>J(H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(P, H) = 9.0 Hz, CH-3); 4.70 (d, 1H, J = 11.7 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4.82 (d, 1H, J = 11.2 Hz, AB-System CH<sub>2</sub>Ph); 4.99-5.28 (m, 4H, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 5.09 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.9 Hz, CH-5); 5.30 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.9 Hz, CH-6); 5.96 (Ψt, <sup>3</sup>J(H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>) ≈ <sup>3</sup>J(H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) = 2.8 Hz, CH-2); 7.17-7.28 (m, 14H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 20.54; 20.61; 20.85 (3CH<sub>3</sub>,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}(\text{O})$ ); 68.14 (CH, C-2); 68.42 (CH<sub>2</sub>, t, J = 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 71.22 (CH, C-5); 71.85 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 72.23 (CH, C-6); 74.60 (CH, C-1); 75.23 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 76.03 (CH, d, J = 5.7 Hz, C-3); 77.93 (CH, d, J = 6.5 Hz, C-4); 127.67; 127.85; 127.91; 128.30; 128.36; 128.69; 128.77; 129.02; 129.06 (9CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 134.97; 135.01; 137.09; 137.79 (4C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 169.43; 169.62; 169.98 (3C, CH<sub>3</sub> $\underline{\text{C}}$ (O))

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)**

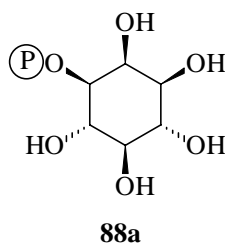
$\delta$  = 1.05 (P-C3)

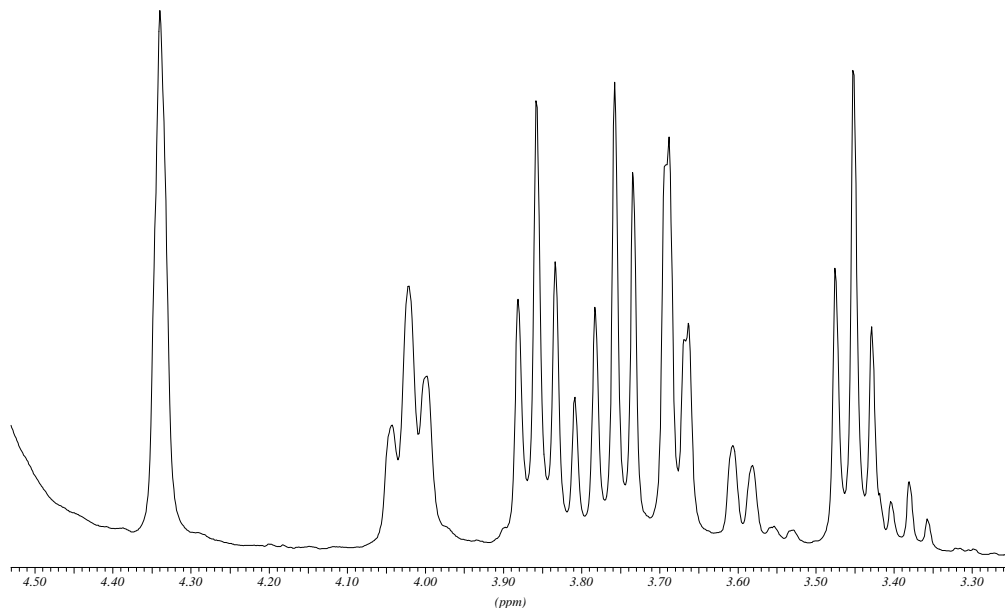
DC: 0,20 (EE:CH 1:1)

Weitere spektroskopische Daten siehe Ref. 53.

**4.1.39 Darstellung von myo-Inositol-3-Phosphat (88a)**

20 mg Pd /C (Degussa NW/10) werden in 30 ml eine Gemisches aus Ethanol und Wasser (2:1) suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Nach 10 min. gibt man eine Lösung von 150 mg ( 0,22 mmol) (**87a**) in 10 ml Ethanol zu und überlagert das Reaktionsgemisch erneut mit Wasserstoff.. Nach einer Reaktionszeit von 12 h wird der Rückstand von Pd/C abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Die Reaktionslösung wird im Hochvakuum weitgehend von Ethanol befreit und das verbleibende Wasser durch Gefriertrocknung entfernt. Der zurückbleibende Rückstand wird zweimal in wenig Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Anschließend löst man den Rückstand unter Kühlung im Eisbad in 10 ml 0,25 N NaOH und rührt 6 h bei Raumtemperatur nach. Durch Zugabe von saurem Ionentauscher (DOWEX 50-X) wird die Lösung sauer gestellt und erneut lyophilisiert. Man erhält 56 mg (96 %) eine farblosen, stark hygroskopischen Schaums.





**$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH 6.0 eingestellt mit  $\text{CF}_3\text{COOD}$ )**

$\delta = 3.72$  (dd,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.8$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 9.9$  Hz, CH-1); 4.03 ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz, CH-4); 4.62 (d $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.0$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 9.0$  Hz, CH-3); 5.09 ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.9$  Hz, CH-5); 5.30 ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 9.9$  Hz, CH-6); 5.96 ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.8$  Hz, CH-2);

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 100 MHz, pH 6.0 eingestellt mit  $\text{CF}_3\text{COOD}$ )**

$\delta = 71.18$  (CH, s, C-1); 71.97 (CH, d,  $J = 1.9$  Hz, C-2); 72.39 (CH, d,  $J = 3.8$  Hz, C-4); 72.57 (CH, s, C-6); 74.61 (CH, s, C-5); 74.74 (CH, d,  $J = 5.1$  Hz, C-3)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 161 MHz, pH 6.0 eingestellt mit  $\text{CF}_3\text{COOD}$ )**

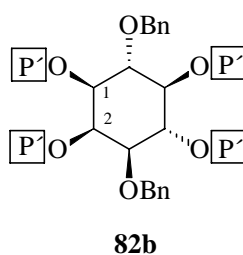
$\delta = 5.67$  (P-C3)

**Drehwert für D-myoinositol-3-Phosphat (88a)**

$[\alpha]_D^{20} = -1.8$  ( $c = 1.6$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}^+$ -Form); Lit.<sup>79</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -3.4$  ( $c = 1.6$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , Cyclohexylammonium-Salz, pH 9); Lit.<sup>164</sup>:  $-3.4$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ )

#### 4.1.40 Darstellung von 3,6-di-O-benzyl-1,2,4,5-tetra-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-myo-inositol (**82b**)

Zu einer Suspension aus 290 mg (4,1 mmol) 1*H*-Tetrazol und 290 mg Dibenzyl-Inositol (0,7 mmol) **81b** in 30 ml abs. Dichlormethan wird unter inerten Bedingungen 830 mg (3,5 mmol) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 4,1 g (16,6 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand kann säulenchromatographisch gereinigt werden (Ethylacetat:Cyclohexan 5:1). Man erhält 595 mg (78 %) **82b** als farblosen Schaum.



#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 3.68 (d, 1H,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz, CH-3); 3.97 ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}, \text{H}) = 9.9$  Hz); 4.56 (d, 1H, Teil eines AB-Systems,  $J = 11.2$  Hz, O-CH<sub>2</sub>Ph); 4.66-5.20 (m, 18H, CH<sub>2</sub> und verbleibende Ringprotonen); 5.27-5.48 (m, 5H, CH<sub>2</sub> und verbleibende Ringprotonen); 7.06-7.50 (m, 26H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

#### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$  = 68.06 (m, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 68.45 (m, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 68.71-68.95 (m, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 72.47 (s, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 74.49 (s, CH, Inositolring); 74.57 (s, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); (dd, CH,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 1.6$  Hz, Inositolring); 75.76 (s, CH, Inositolring); 73.36 (m, CH, 2C, Inositolring); 78.44 (m, CH, Inositolring); 127.36-129.18 (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 134.24-135.25 (11C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 136.82; 137.00; 137.65 (3C, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

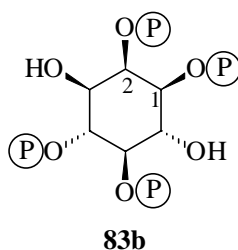
#### <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 162 MHz)

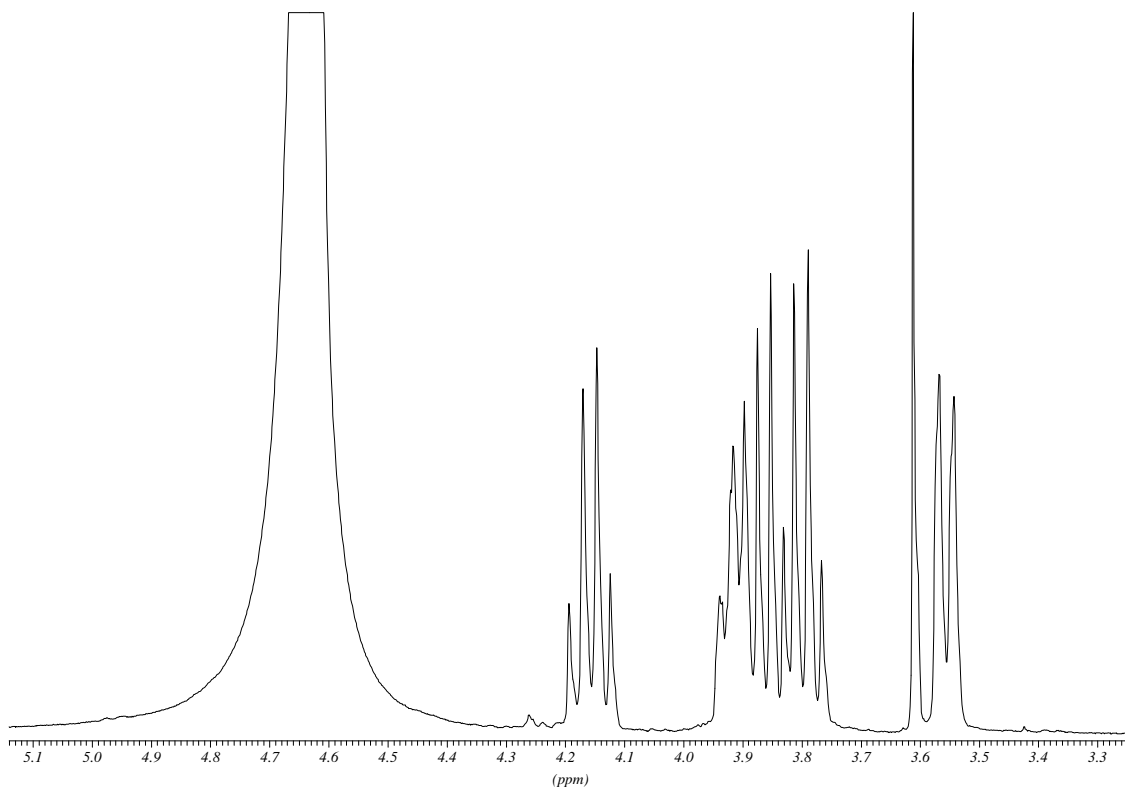
$\delta = -0,70; 0,11; 0,24; 1,17$

Weitere analytische Daten: Siehe Ref. 53.

#### 4.1.41 Darstellung von *Ins(1,2,4,5)P<sub>4</sub>* (**83b**)

100 mg Pd/C (Degussa, N/W 10) werden in 40 ml Wasser und 20 ml Ethanol suspendiert und 30 min. unter kräftigem Rühren mit Wasserstoff überlagert. 200 mg (0.18 mmol) Inositol **82b** werden in 20 ml Ethanol aufgeschlämmt und der Suspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird mehrfach evakuiert und mit Wasserstoff überlagert. Die Lösung rührt über Nacht. Anschließend gibt man weitere 100 ml Wasser zu, rührt erneut ca. 5 min. und filtriert zur Entfernung der Aktivkohle durch mehrere übereinandergelegte Filter. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bei niedriger Temperatur (max. RT) eingeeengt, bis das Ethanol weitgehend abgezogen worden ist. Die restliche, wäßrige Phase wird lyophilisiert. Der Rückstand wird erneut in ca. 10 ml Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Man erhält 90 mg eines farblosen Schaums, der für weitere Umsetzungen noch ionenchromatographisch aufgereinigt wird.





**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ )):**

$\delta = 3.56$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.0$  Hz;  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 10.2$  Hz, CH-3); 3.78 ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 9.6$  Hz, CH-6); 3.86 ( $\Psi\text{q}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{P}) = 8.7$  Hz, CH-5); 3.92 (d $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.0$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}_1) = 7.4$  Hz, CH-1); 4.15 ( $\Psi\text{q}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}_4) = 9.2$  Hz, CH-4); 4.58 (CH-2 unter HDO)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 101 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$\delta = 70.61$  (s, CH, C-3); 71.77 (dd, CH, J = 1.9 Hz; J = 7.0 Hz; C-6); 74.39 (dd, CH, J = 5.7 Hz; J = 3.8 Hz, C-1); 74.86 (d, CH, J = 5.7 Hz, C-4); 77.01 (dd, CH, J = 6.4 Hz, J = 3.2 Hz, C-2); 78.04 (m, CH, C-5)

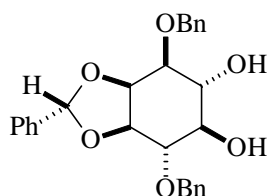
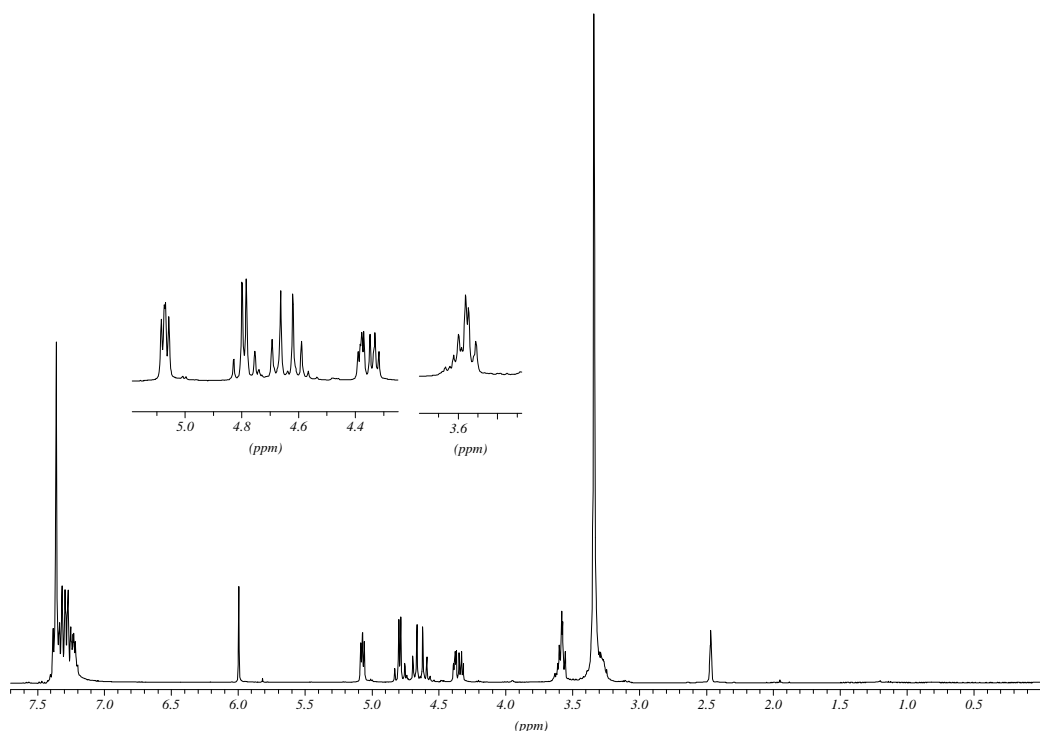
**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 162 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$\delta = 1.93; 3.12; 3.58; 3.63$

**HPLC** (Mono-Q): 35.8 min. (saures System)

**4.1.42 Darstellung von 1,4-Di-O-benzyl-2,3-benzyliden-inositol (104)**

2 g (5,5 mmol) Dibenzylinositol **80** werden in 35 ml Benzaldehyd suspendiert und mit 450 mg Zinkchlorid versetzt. Die Lösung rührt mehrere Tage. Die Reaktionslösung wird in 100 ml Eiswasser eingegossen und mit viel Essigsäureethylester extrahiert. Anschließend saugt man die organische Phase über eine kleine Kieselgur-Fritte ab und wäscht mit viel Essigsäureethylester nach. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbliebene Benzaldehyd wird im Hochvakuum entfernt. Durch Suspension des erhaltenen Rückstands in Cyclohexan können Reste von Benzaldehyd entfernt werden. Nach Umkristallisation aus Essigsäureethylester erhält man **104** in 74 % (1,84 g) als farblosen Feststoff.

**104**



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{d}_6\text{-DMSO}$ , 400 MHz)**

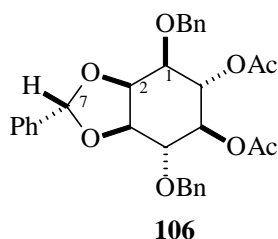
$\delta$  = 3.28 (m, 1H, CH-5 oder CH-6); 3.58 (m, 3H); 4.33 (dd, 1H,  $J = 6.6$  Hz,  $J = 6.1$  Hz); 4.38 (dd, 1H,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 3.1$  Hz); 4.60 und 4.68 (2d, AB-System,  $J = 12.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.77 und 4.80 (2d, AB-System,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.06 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz, OH); 5.08 (d, 1H,  $J = 4.6$  Hz, OH); 5.99 (s, 1H, CH-7); 7.19-7.40 (m, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

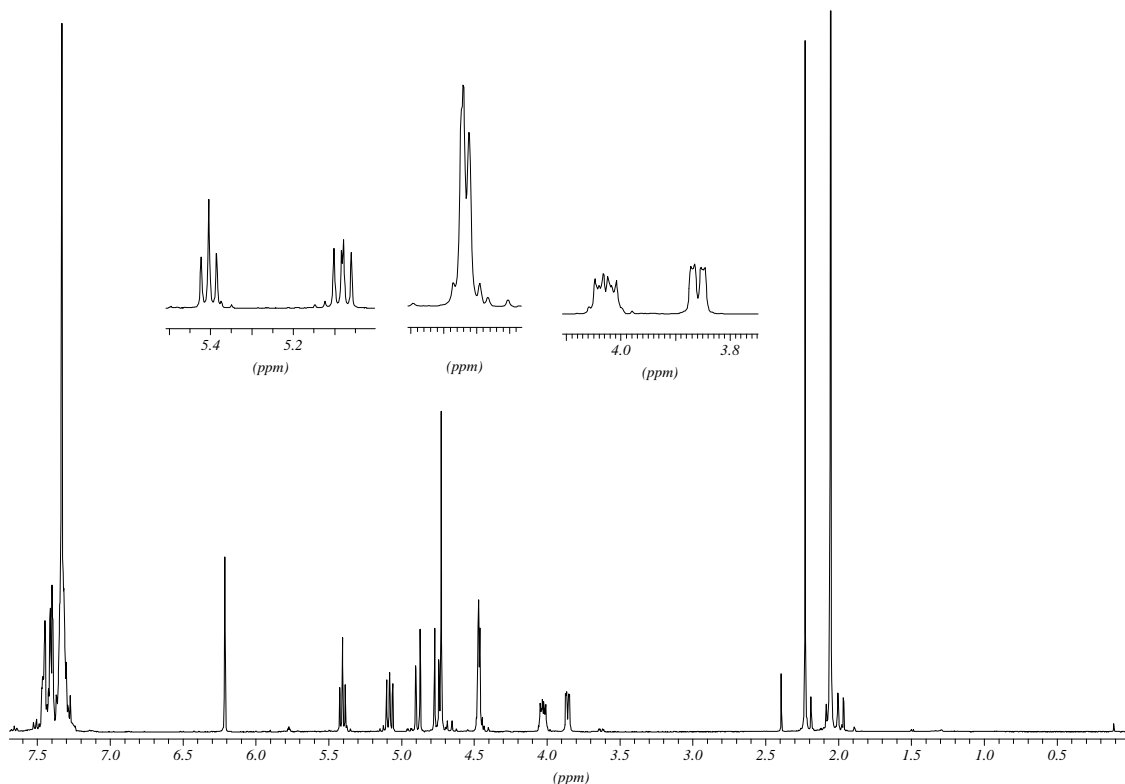
 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta$  = 71.48 ( $\text{CH}_2$ ); 71.91 (CH); 72.52 ( $\text{CH}_2$ ); 74.27 (CH); 78.21 $^{\wedge}$ (CH); 79.21 (CH); 79.45 (CH); 79.73 (CH); 102.24 (CH, C-7); 126.27; 127.15; 127.22; 127.34; 127.46; 127.46; 127.49; 127.56; 127.56; 127.98; 128.07; 128.26; 128.91 (11 CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 138.89; 139.10; 139.26 (3C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**4.1.43 Darstellung von 5-6-Di-O-acetyl-1,4-Di-O-benzyl-2,3-benzyliden-inositol (106)**

100 mg (0,22 mmol) **104** werden unter Kühlung im Eisbad mit einem Gemisch aus 7 ml Pyridin und 7ml Essigsäureanhydrid gegeben. Die Lösung rührt über Nacht und wird anschließend im Hochvakuum bis zur Trockne eingeengt. Man erhält 120g (100 %) eines farblosen Feststoffs.





### $^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

$\delta = 2.05$  und  $2.06$  (je s, 6H,  $\text{CH}_3\text{C(O)}$ );  $3.85$  (dd, 1H,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 3.0$  Hz, CH-1);  $4.03$  (ddd, 1H,  $J = 9.3$  Hz,  $J = 3.2$  Hz,  $J = 3.2$  Hz, CH-4);  $4.67$  (m, 2H, CH-2 und CH-3);  $4.73$  (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $4.76$  und  $4.89$  (je d,  $J = 12.0$  Hz, AB-System,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $5.08$  (dd, 1H,  $J = 9.2$  Hz,  $J = 7.6$  Hz, CH-5);  $5.70$  ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $J = 7.6$  Hz, CH-6);  $6.21$  (s, 1H, CH-7);  $7.26$ - $7.48$  (m, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

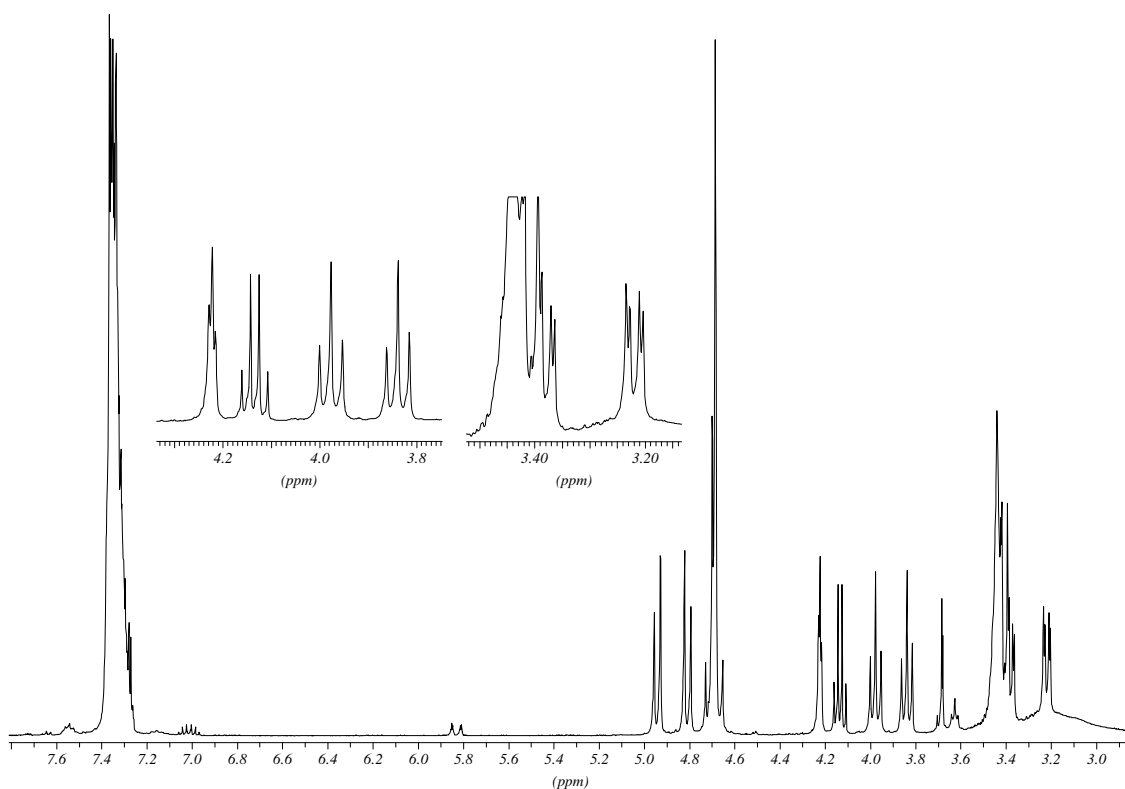
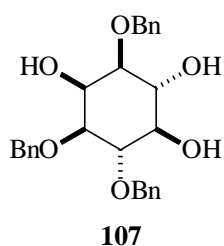
### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)

$\delta = 20.71$  und  $20.74$  ( $2\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C(O)}$ );  $71.64$  (CH, C-6);  $72.53$  (CH und  $\text{CH}_2$ , C-5 und  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $73.07$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $73.86$  (CH, C-2 oder C-3);  $75.74$  (CH, C-1);  $77.03$  (CH, C-4);  $79.20$  (CH, C-2 oder C-3);  $103.94$  (CH, C-7);  $126.06$ ;  $127.47$ ;  $127.61$ ;  $127.69$ ;  $127.75$ ;  $128.24$ ;  $128.31$ ;  $128.35$ ;  $129.03$  ( $9\text{CH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $137.62$ ;  $137.89$ ;  $138.38$  ( $3\text{C}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $169.61$ ;  $169.92$  ( $2\text{C}$ ,  $\text{CH}_3\text{C(O)}$ )

#### 4.1.44 Darstellung von 1,3,4-Tri-O-benzyl-myoinositol (107)

150 mg (0,33 mmol) benzylidengeschütztes Inositol **104** werden bei  $0^\circ\text{C}$  in 10 ml Boran-THF-Komplexlösung suspendiert. Nach 5 min. klart die Lösung auf. Portionsweise werden 0,5 ml 1M Dibutylboryl-Triflat-Lösung zugegeben. Die Lösung rührt 2 h bei  $0^\circ\text{C}$  und über Nacht bei

Raumtemperatur. Unter Kühlung im Eisbad werden 3 ml Triethylamin und 10 ml Methanol zugegeben. Dabei ist Gasentwicklung zu beobachten. Die Lösung rührt 30 min. bei Raumtemperatur nach. Anschließend versetzt man dreimal mit 30 ml Methanol und engt die Lösung am Rotationsverdampfer ein. Man erhält 1,2 g eines blaßgelben Öls, das zwei Regioisomere im Verhältnis von ca. 3:1 enthält (NMR-spektroskopische Abschätzung). **107** kann durch Flash-Chromatographie erhalten werden. Dazu eluiert man zunächst mit Cyclohexan:Essigsäureethylester im Verhältnis 1:1 zur Entfernung des Boran-Reagenzes, anschließend mit Cyclohexan:Essigsäureethylester im Verhältnis 1:5. Man erhält 80 mg (53 %) eines farblosen Feststoffs.



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

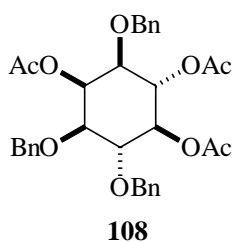
$\delta$  = 3.22 (dd, 1H,  $J$  = 9.7 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, CH-1 oder CH-3); 3.38 (dd, 1H,  $J$  = 9.4 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, CH-1 oder CH-3); 3.42 ( $\Psi\text{t}$ , 1H, CH-5); 3.84 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $J$  = 9.4 Hz, CH-4 oder CH-6); 3.98 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $J$  = 9.4 Hz, CH-4 oder CH-6); 4.22 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $J$  = 2.5 Hz, CH-2); 4.69 (m, 4H, 2AB-Systeme,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.81 und 4.94 (2d, 2H, AB-System,  $J$  = 11.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 7.27-7.40 (m, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

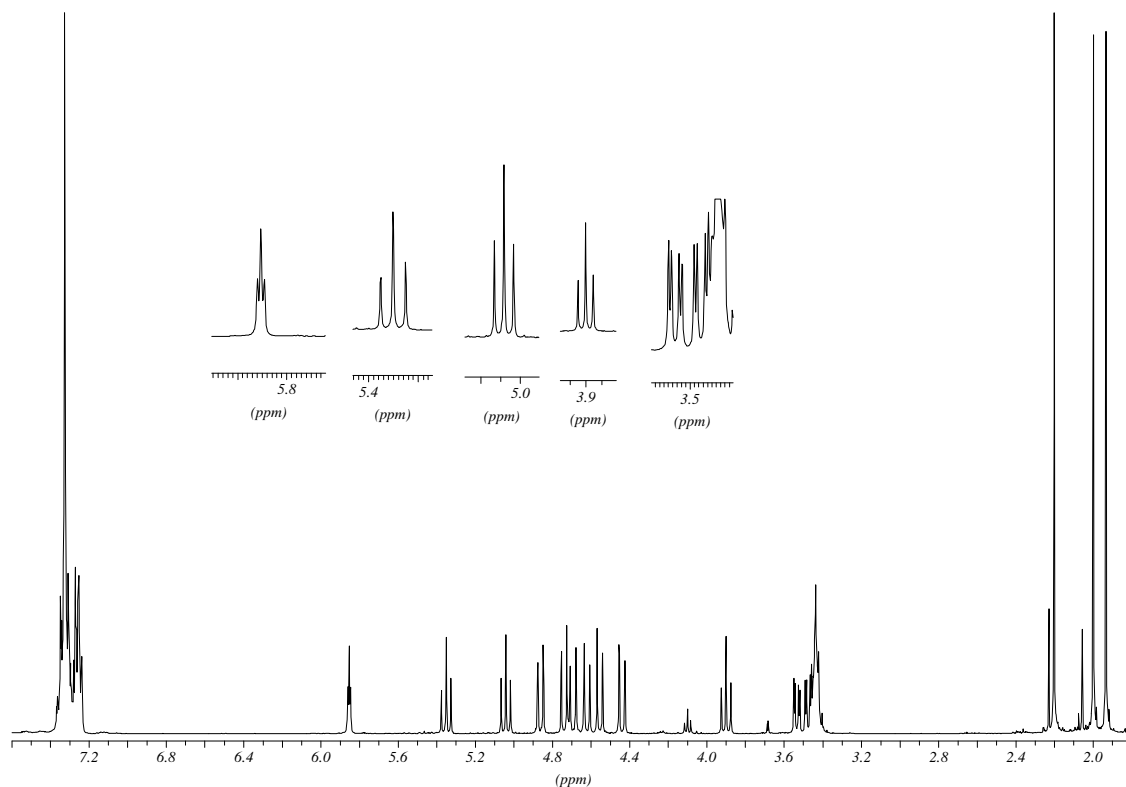
 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta$  = 67.00 (CH, C-2); 71.93 (CH, C-4 oder C-6); 72.24 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 72.43 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 74.28 (CH, C-5); 75.43 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 79.03 (CH, C-1 oder C-3); 79.74 (CH, C-1 oder C-3); 80.44 (CH, C-4 oder C-6); 127.68; 127.84; 127.89; 127.91; 127.96; 128.41; 128.44; 128.51 (8CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 137.73; 137.79; 138.69 (3C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**4.1.45 Darstellung von 2,5,6-Tri-O-acetyl-1,3,4-tri-O-benzyl-myoinositol (108)**

80 mg (0,17 mmol) Tribenzyl-inositol **107** werden unter Kühlung im Eisbad mit einem Gemisch aus 10 ml Pyridin und 10 ml Essigsäureanhydrid gegeben. Die Lösung rührt über Nacht und wird anschließend im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Man erhält 100 mg (98 %) eines leicht grau gefärbten Feststoffs.





### $^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

$\delta = 1.93$ ;  $2.00$ ;  $2.20$  (3s,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $3.47$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = 3.1$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_6) = 10.2$  Hz, CH-1);  $3.53$  (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) = 9.7$  Hz, CH-3);  $3.90$  ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) = 9.7$  Hz, CH-4);  $4.44$  und  $4.86$  (2d, 2H,  $J = 12.2$  Hz, AB-System);  $4.55$  und  $4.74$  (2d, 2H,  $J = 11.2$  Hz, AB-System);  $4.62$  und  $4.69$  (2d, 2H,  $J = 11.2$  Hz, AB-System);  $5.04$  ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.9$  Hz, CH-5);  $5.35$  ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3\text{J}(\text{H}_6, \text{H}_1) = 9.9$  Hz, CH-6);  $5.85$  ( $\Psi\text{t}$ ,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.8$  Hz, CH-2);  $7.22$ - $7.37$  (m, 15 H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

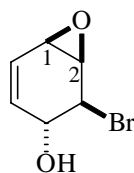
### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)

$\delta = 20.62$ ;  $20.68$ ;  $20.96$  ( $3\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $66.17$  (CH, C-2);  $71.48$  (CH, C-6);  $71.72$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ );  $72.38$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ );  $72.59$  (CH, C-5);  $74.81$  (CH, C-1);  $75.44$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ );  $78.09$  (CH, C-3);  $78.92$  (CH, C-4);  $127.58$ ;  $127.64$ ;  $127.90$ ;  $128.11$ ;  $128.28$ ;  $128.39$ ;  $128.41$  (7CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $137.20$ ;  $137.29$ ;  $138.28$  (3C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $169.95$ ;  $169.97$ ;  $170.18$  (3C,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ )

**4.1.46 Darstellung von 3c-Brom-1,2r-epoxy-4t-hydroxy-5-cyclohexen (123)**

32,5 g (91 mmol) ( $\pm$ )-3,6-Diacetoxy-4,5-dibrom-1-cyclohexen (**43**) werden in 650 ml Diethylether und 325 ml Methanol gelöst. Unter Kühlung im Eisbad werden 4,875 g Lithiumhydroxid zugegeben und 2 h gerührt. Anschließend wird die Lösung mit 520 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 350 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 16,8 g (96 % Ausbeute) eines farblosen Produktes.

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,38 (EE/CH 1:1)



**123**

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 2.67 (d, 1H, J = 4.6 Hz, OH); 3.51 (d $\psi$ q, 1H, J = 3-4 Hz, J = 2 Hz; CH-1); 3.75 (dd, J = 4.1 Hz; J = 0.7 Hz, CH-2); 4.04 (dd, 1H, J = 1,0 Hz; J = 8.7 Hz, CH-4); 4.49 (m, 1H, CH-3); 5.94 (d $\psi$ t, 1H, J = 9.7 Hz, J = 2.0-1.5 Hz; CH-6); 6.06 (d $\psi$ t, 1H, J = 9.7 Hz; J = 3-4 Hz, CH-5)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 51.56 (CH, C-1); 55.52 (CH, C-2); 55.26 (CH, C-3); 71.20 (CH, C-4); 123.44 (CH, C-5); 134.76 (CH, C-6)

Weitere analytische Daten: Siehe Ref. 50, 125#

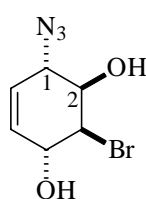
**4.1.47 Darstellung von 1r-Azido-3t-brom-2t,4c-dihydroxy-5-cyclohexen (124)**

17,5 g (91 mmol) Monoepoxid **123** werden in 180 ml Dimethoxyethan, 125 ml Wasser und 125 ml Ethanol gelöst und die Lösung wird auf 0 °C gekühlt. Danach werden 24 g (0,37 mol) Natriumazid und 19,6 g (0,37 mol) Ammoniumchlorid zugegeben und 3 h unter Kühlung bei 0 °C gerührt. Anschließend werden die flüchtigen Anteile des Lösungsmittels abrotiert und der Rückstand viermal mit je 150 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die gesammelten

organischen Phasen werden zur Entfernung von Methanol mit ges. Kochsalzlösung gegengeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 21 g (98 % Ausbeute) Produkt als farblosen Feststoff.

**Smp.:** 96 °C (Lit.: 96 – 97 °C)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,40 (EE/CH 2:1)



**124**

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 3.97 (m, 1H, CH-2); 4.07 (m, 1H, J = 7.1 Hz; CH-1); 4.24 ( $\psi$ t, 1H, J = 3.1; CH-3); 4.44 (m, 1H, J = 4.1 Hz, J = 9.1 Hz; CH-4); 5.03 (d, 1H, J = 6.1 Hz; OH an C-4); 5.03 (d, 1H, J = 5.6 Hz; OH an C-2) 5.67 (dd, 1H, J = 2.5 Hz, J = 10.2 Hz, CH-5); 5.85 (dddd, 1H, J = 10.2 Hz, J = 3.9 Hz, J = 1.7 Hz, J = 1.0 Hz, CH-6);

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 60.1 (CH, C-4), 63.8 (CH, C-1); 71.0 (CH, C-2); 71.5 (CH, C-4); 127.4 (CH, C-6); 131.3 (CH, C-5)

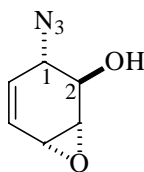
Weitere analytische Daten: Siehe Ref. 125

**4.1.48 Darstellung von 1r-Azido-2t-hydroxy-3,4t-epoxy-5-cyclohexen (125)**

15 g (64 mmol) 1r-Azido-3t-brom-2t,4c-dihydroxy-5-cyclohexen (**124**) werden in 325 ml Diethylether und 160 ml Methanol gelöst. Unter Kühlung im Eisbad werden 2,4 g Lithiumhydroxid zugegeben und die Reaktionslösung wird zwei Stunden gerührt. Dann wird die nunmehr gelbe Lösung mit 250 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 175 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird zur Entfernung von Methanolresten zweimal mit gesättigter Kochsalzlösung gegengeschüttelt. Die organische

Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach kurzem Trocknen im Hochvakuum erhält 9.9 g (64 mmol) eines gelben Öls.

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.28 (EE/CH 1:1)



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 3.33 ( $\psi$ t, 1H, J = 3.6 Hz); 3.50 (m, 1H); 3.80 ( $\psi$ t, 1H, J = 2.3 Hz); 4.15 ( $\psi$ s, 1H); 5.83 (dd, 1H,  $^3J$ (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.9 Hz; J = 5.3 Hz, CH-5 oder CH-6); 6.37 (dd, 1H,  $^3J$ (H<sub>5</sub>, H<sub>6</sub>) = 9.6 Hz; J = 3.6 Hz, CH-5 oder CH-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 45.83 (C-3); 56.12 (C-4); 59.44 (C-1); 67.68 (C-2); 126.86; 129.74 (C-5 und C-6)

**MS [70 ev], m/z (%)**

153 (1,59) [M<sup>+</sup>]; 111 (11,17) [M<sup>+</sup> -N<sub>3</sub>]; 96 (6,42) [M<sup>+</sup> +H -N<sub>3</sub> -O]; 81 (14,09) [M<sup>+</sup> +2 x H -N<sub>3</sub> -2 x O]

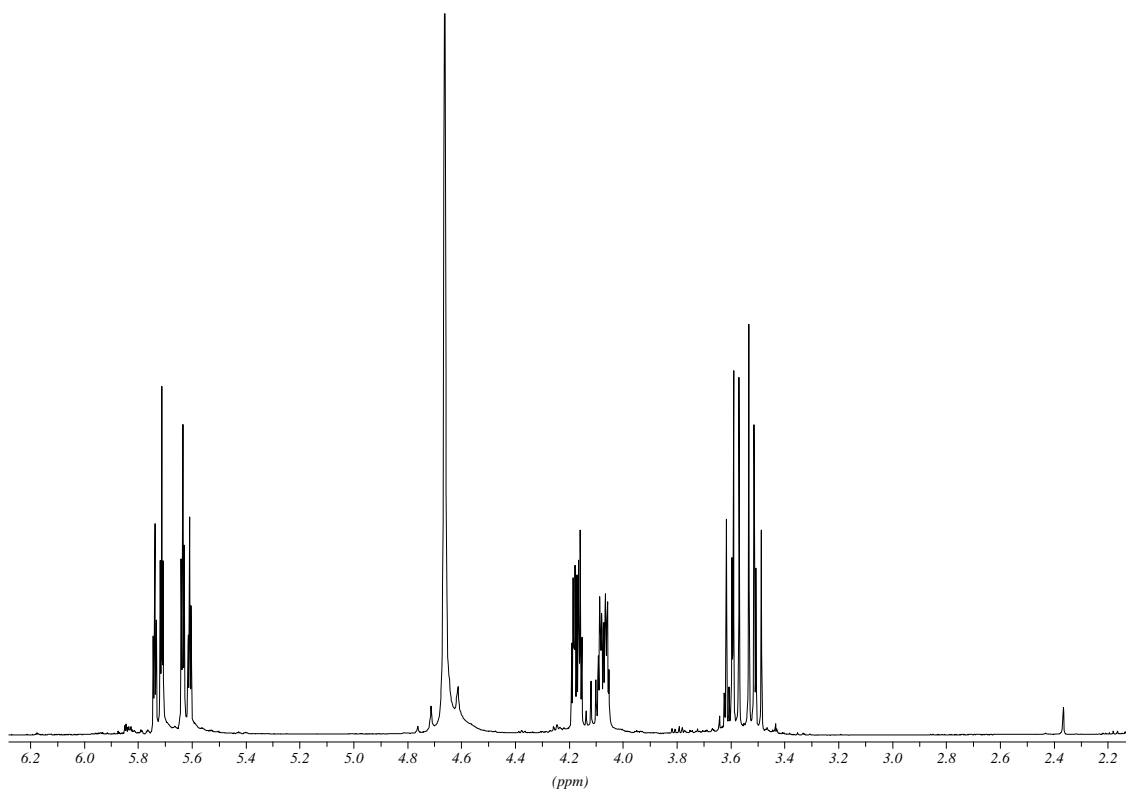
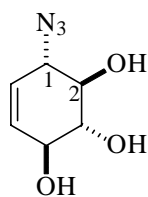
**4.1.49 Darstellung von 1-Azido-Konduritol-B (126)**

13 g (85 mmol) **125** werden mit 130 ml Wasser und einer Spatelspitze p-Toluolsulfonsäure versetzt und zwei Tage gerührt. Das Wasser wird durch Gefriertrocknung entfernt. Anschließende Umkristallisation aus 50 ml Essigsäureethylester ergeben 6,5 g (38 mmol, 45 % Ausbeute) in Form von farblosen Kristallen.

**Smp.:** 122°C (Lit<sup>165</sup>: 123-124°C)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,51 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 80:20)



**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)**

$\delta$  = 3.53 (dd, 1H,  $J$  = 7.6 Hz; 3.1 Hz, CH-3); 3.59 (dd, 1H,  $J$  = 8.7 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, CH-2); 4.07 (ddd, 1H,  $J$  = 9.7 Hz,  $J$  = 3.1 Hz,  $J$  = 2.5 Hz; CH-1); 4.16 (m, 1 H, CH-4); 4.66 (s, 3 H, OH); 5.63 (dt, 1H,  $J$  = 10.7 Hz, 4.6 Hz, CH-5); 5.71 (dt,  $J$  = 10.7 Hz,  $J$  = 4.6 Hz, CH-6).

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz)**

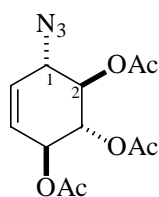
$\delta$  = 66.27 (CH, C-1); 73.86 (CH, C-4); 76.08 (CH, C-6); 77.68 (CH, C-5); 127.12 (CH, C-3); 133.44 (CH, C-2);

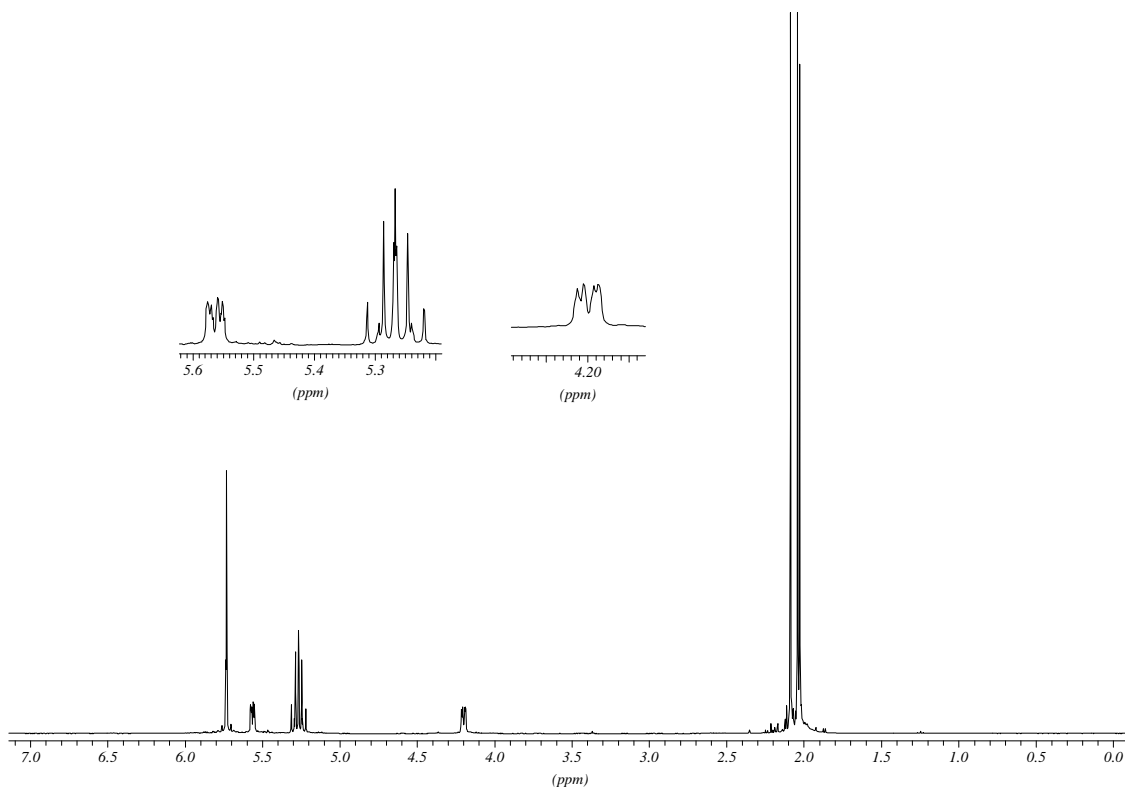
**MS [70 eV], m/z (%)**

153 (2,90) [ $M^+$  -H<sub>2</sub>O]; 111 (23,14) [ $M^+$  -H<sub>2</sub>O -N<sub>3</sub>]; 55 (100) [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]

**TOF-MS, ES+**194.0553 [M+Na]<sup>+</sup>; 365.118 [2M + Na]<sup>+</sup>**HR-MS:***m/z*: 194.0553 [M+Na]<sup>+</sup> (8 %), berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Na: 194.05416365.1180 [2M + Na]<sup>+</sup> (100 %), berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>Na: 365.1186**IR [KBr]** $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3350 (s, br, ν(OH)); 2900 + 2870 (w, ν(CH)<sub>ali</sub>); 2090 (s, N<sub>3</sub>); 1630 (w, ν(C=C<sub>ol</sub>))**4.1.50 Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-azido-konduritol-B (131)**

110 mg (0,6 mmol) 1-Azido-Konduritol-B (**126**) werden in einem Gemisch aus 5 ml Essigsäureanhydrid und 5 ml Pyridin gelöst und über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Hochvakuum bis zur Trockne eingeengt. Erhalten werden 190 mg (99 % Ausbeute) eines bräunlichen Feststoffes, der aus Essigsäureethylester / Hexan umkristallisiert werden kann.

**Smp.:** 113-114 °C (Lit.<sup>165</sup>: 82–83°C)**131**

 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.03$  und  $2.04$  (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{C(O)}$ );  $2.08$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C(O)}$ );  $4.18$  (dd, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 3.0$  Hz, CH-1);  $5.25$  (ddd, 2H  $J = 9.05$ ;  $3.06$ ;  $1.01$ , CH-2 und CH-3);  $5.55$  (dd, 1H  $J = 7.2$  Hz;  $3.0$  Hz, CH-4);  $5.72$  (s, 2H, CH-5 und CH-6);

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 170.02$ ;  $169.88$ ;  $169.50$  (3C,  $-\text{C(O)CH}_3$ );  $127.89$  und  $126.68$  (2 CH, C-5 und C-6);  $71.96$  (CH, C-4);  $71.63$  und  $71.50$  (2 CH, C-2 + C-3);  $61.10$  (CH, C-1);  $20.91$  ( $\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_3\text{C(O)}$ );  $20.69$  ( $\text{CH}_3$ , 2C  $-\text{CH}_3\text{C(O)}$ )

**MS [70 eV], m/z (%)**

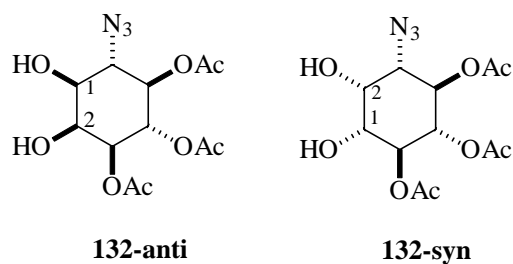
$297$  [ $\text{M}^+$ ],  $255$  (4,05) [ $\text{M}^+ - \text{N}_3$ ];  $226$  (1,76) [ $\text{M}^+ - \text{COAc}$ ];  $195$  (1,76) [ $\text{M}^+ - \text{N}_3 - \text{OAc}$ ];  $138$  (82,84) [ $\text{M}^+ - \text{N}_3 - 2 \times \text{OAc}$ ];  $43$  (100) [Ac]

**IR [KBr-Preßling]**

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $2940$  (w,  $\nu(\text{CH})_{\text{ali}}$ );  $2080$  (s,  $\text{N}_3$ );  $1780$  (s,  $\nu(\text{C=O})$ );  $1650$  (w,  $\nu(\text{C=C}_{\text{ol}})$ )

#### 4.1.51 Darstellung von 3,4,5-Tri-O-acetyl-6-azido-myoinositol bzw. 4,5,6-Tri-O-acetyl-3-azido-myoinositol (**132**)

1,39 g (4,68 mmol) 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-azido-Konduritol-B (**131**) in 56 ml Acetonitril gelöst und in einem Eisbad gekühlt. 1,5 g (7,02 mmol, 1,5 eq.) Natriummetaperiodat werden in 10 ml Wasser gelöst und anschließend mit 125 mg (0,47 mmol, 10 mol%) Rutheniumtrichloridtrihydrat versetzt. Die Lösung färbt sich sofort braun und wird sodann dem bereits vorgelegten Edukt zugesetzt und, noch immer unter Eiskühlung, gerührt. Nach acht Minuten wird die komplette Lösung auf 140 ml 20 %-ige Natriumthiosulfatlösung zum Quenchen des Rutheniumkomplexes gegeben. Es wird siebenmal mit jeweils 100 ml Ethylacetat ausgeschüttelt, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es werden 1,44 g (93 % Ausbeute) eines fast farblosen Schaums erhalten, in dem die beiden Diastereomere **132-syn** und **132-anti** im Verhältnis 3:2 vorliegen.



#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>+ 0,1 ml MeOD, 400 MHz) **132-syn**

$\delta$  = 2.00 - 2.14 (CH<sub>3</sub>-Gruppen beider Diastereomere); 3.54 (dd, 1H, J = 10.7 Hz, J = 2.5 Hz, CH-1 oder CH-3); 3.67 (dd, 1H, J = 10.2 Hz, J = 2.5 Hz, CH-1 oder CH-3); 4.24 (Ψt, 1H, J = 2.0 Hz, CH-2); 5.19 (Ψt, 1H, J = 10.2 Hz, CH-4 bis CH-6); 5.33 (Ψt, 1H, J = 9.7 Hz, CH-4 bis CH-6); 5.52 (1H, Ψt, unter Signal von **132-anti**)

#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) **132-anti**

$\delta$  = 2.00 - 2.14 (CH<sub>3</sub>-Gruppen beider Diastereomere); 3.36 (dd, 1H, J = 10.2 Hz, J = 2.5 Hz, CH-1); 3.49 (Ψt, 1H, J = 10.2 Hz, CH-6); 4.28 (Ψt, 1H, J = 2.4 Hz, CH-2); 4.92 (dd, 1H, J = 10.2 Hz, J = 3.0 Hz, CH-3); 4.99 (Ψt, 1H, J = 10.2 Hz, CH-4 oder CH-5); 5.52 (Ψt, 1H, J = 9.9 Hz, CH-4 oder CH-5)

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$  + 0,1 ml MeOD, 101 MHz) für 132-syn**

$\delta$  = 19.91-20.3 ( $\text{CH}_3$ -Gruppen beider Diastereomere); 61.15 (CH, C-3); 70.66; 70.57; 70.93; 71.62; 72.12 (5 CH, C-1, C-2, C-4 bis C-6); 169.86; 169.98; 170.08; 170.20; 170.23 (6C, Carbonylgruppen beider Diastereomere)

 **$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$  + 0,1 ml MeOD, 101 MHz) für 132-anti**

$\delta$  = 19.91-20.3 ( $\text{CH}_3$ -Gruppen beider Diastereomere); 63.16 (CH, C-6); 69.56; 69.87; 70.17; 71.24; 71.36 (5 CH, C-1 bis C-5); 169.86; 169.98; 170.08; 170.20; 170.23 (6C, Carbonylgruppen beider Diastereomere)

**$R_f$ -Werte:** 0,55 und 0,50 (DC/MeOH 90:10); 0,36 und 0,31 (DC/MeOH 93:7)  
0,13 und 0,11 (DC/MeOH 95:5); 0,07 und 0,07 (EE/CH 1:1)

**MS [ES-neg.]**

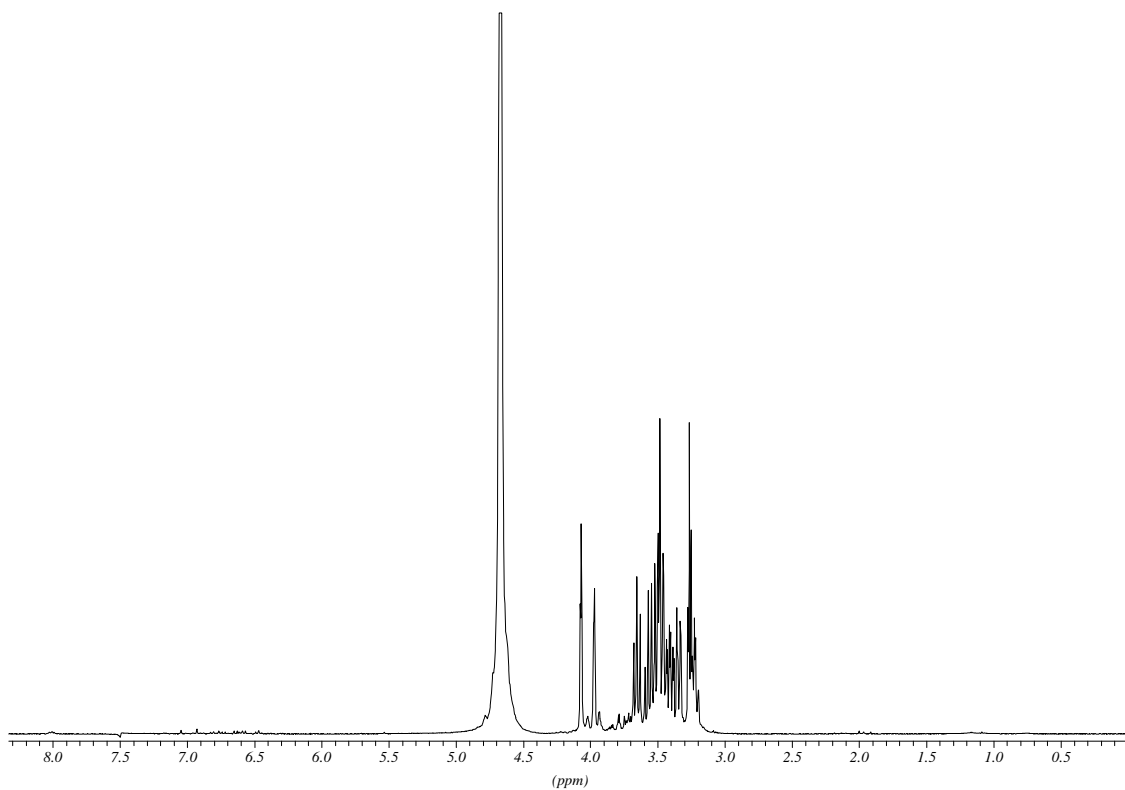
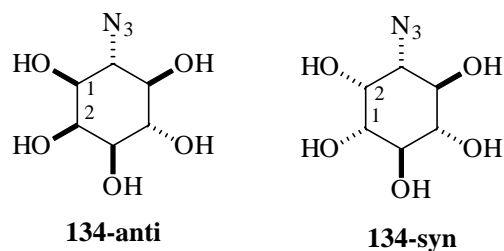
$m/z$ : 288.1 (55 %); 330.1 ( $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 45); 376.1 ( $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$ , 100)

**HR-MS :**

$m/z$ : 376.0963  $[\text{M}-\text{H}+\text{HCOOH}]^-$ , berechnet für  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_{10}$ : 376.0992

**4.1.52 Darstellung von 6-desoxy-3-azido-myoinositol (134-anti) bzw. 3-Desoxy-3-azido-myoinositol (134-syn)**

Unter Kühlung im Eisbad werden 15 ml abs. Methanol und 4,5 ml Acetylchlorid vorsichtig zusammengegeben. Anschließend wird dem weiterhin unter Eiskühlung gehaltenen Gemisch durch ein Septum 200 mg (0,6 mmol) 3,4,5-Tri-O-acetyl-6-azido-myoinositol (10), gelöst in 6 ml abs. Methanol, zugegeben. Nach 30 min. läßt sich dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz feststellen. Die rosafarbene Lösung wird am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und anschließend in wenig Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Man erhält 125 mg (0,6 mmol, 100 %) eines farblosen, kristallinen Feststoffs.

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)**

$\delta = 3.19\text{-}3.29$  (m, 2H);  $3.31\text{-}3.61$  (m, 7H);  $3.62\text{-}3.70$  (m, 1H);  $3.97$  ( $\Psi$ t, 1H,  $J = 2.0$  Hz, CH-6 von **134-anti**);  $4.07$  ( $\Psi$ t, 1H,  $J = 2.5$  Hz, CH-3 von **134-syn**);

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz) für **134-syn** (stärkere Signalintensität)**

$\delta = 65.52$  (CH, C-3);  $73.14$ ;  $73.57$ ;  $73.65$ ;  $74.67$ ;  $77.04$  (5 CH; C-1 bis C-2 und C-4 bis C-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz) für **134-anti** (geringere Signalintensität)**

$\delta = 67.94$  (CH, CH-6);  $72.34$ ;  $73.07$ ;  $74.37$  (zusammen mit **134-syn**);  $74.68$ ;  $75.38$  (CH, C-1 bis C-5)

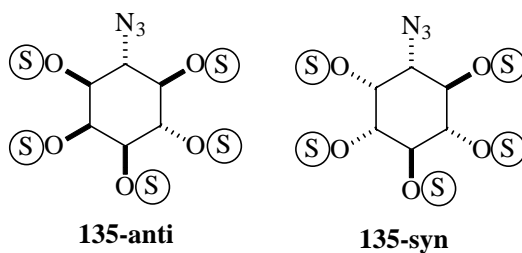
**IR [KBr-Preßling]**

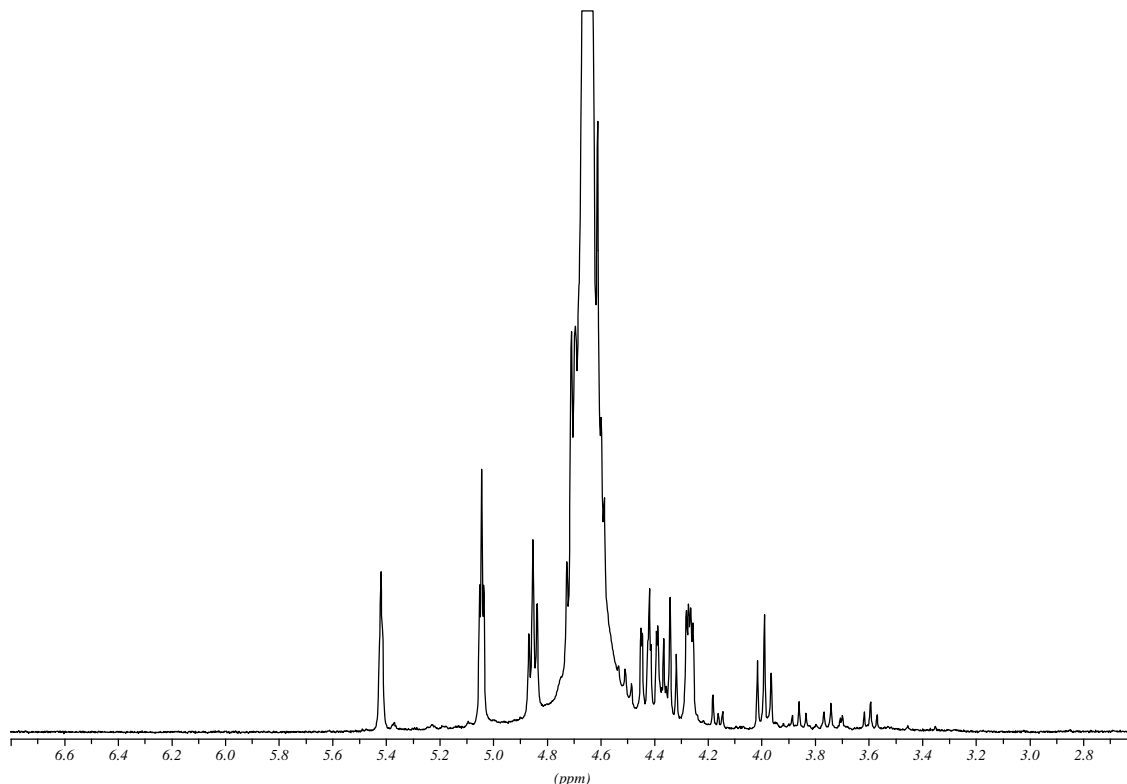
$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3350$  (s, br,  $\nu(\text{OH})$ );  $2920$  (w,  $\nu(\text{CH})_{\text{ali}}$ );  $2110$  (s,  $\text{N}_3$ )

**4.1.53 Darstellung von 3-Desoxy-3-azido-myo-inositol-12,4,5,6-pentakissulfat (135-anti) bzw. 6-Desoxy-6-azido-myo-inositol-1,2,3,4,5-pentakissulfat (135-syn)**

50 mg (244  $\mu\text{mol}$ ) 6-Azidoinositol **134** werden in 3 ml abs. Dimethylformamid gelöst und im Eisbad unter Rühren mit 0,99 g (6,11 mmol) Pyridin  $\cdot$   $\text{SO}_3$  versetzt. Dabei fällt ein weißer Feststoff aus, der sich bei Erwärmung auf 60°C wieder löst. Man rührt das Reaktionsgemisch bei dieser Temperatur zwei Tage. Nach dieser Zeit filtriert man den in der Kälte wieder ausgefallenen weißen Feststoff ab und entfernt das verbleibende Lösungsmittel im Hochvakuum. Es verbleiben 55 mg (34 % Ausbeute) eines weißen Feststoffes.

Die Probe wurde in 10 ml aufgenommen und so verdünnt, daß die Leitfähigkeit der Probe unter der bei dem ersten Elutionsschritt verwendeten liegt. Die Probe wird auf eine DEAE-Speharose-Säule aufgetragen und nacheinander mit 80 ml 10 mM Ammoniumacetat-Lösung, 40 ml Wasser und 90 ml 2.5 M Ammoniumacetat-Lösung eluiert. Die erhaltenen Ammoniumacetat-Lösungen werden bis zur Gewichtskonstanz lyophilisiert



**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)**

$\delta$  = 3.99 ( $\Psi$ t, 1H, J = 9.9 Hz); 4.27 (dd, 2H, J = 6.4 Hz, J = 3.3 Hz); 4.34 ( $\Psi$ t, 1H, J = 9.4 Hz); 4.40 (dd, 1H, J = 10.4 Hz, J = 2.3 Hz); 4.48 (dd, J = 10.4 Hz, J = 2.3 Hz); 4.85 ( $\Psi$ t, 2H, J = 6.4 Hz); 5.04 ( $\Psi$ t, 2H; J = 5.04 Hz); 5.41 ( $\Psi$ s, 1H), übrigen Signale unter HDO

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz)**

$\delta$  = 61.39; 64.30 (CH-N<sub>3</sub>); 75.43; 75.83; 76.20; 76.42; 76.52; 77.38; 77.85; 78.51; 79.29 (9 CH, Ringkohlenstoffe)

**HR-MS (ESI-neg)**

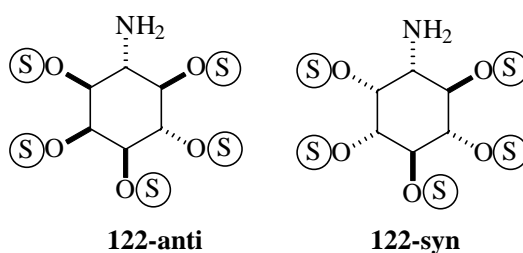
$m/z$ : 603.8461 (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>3</sub>O<sub>20</sub>S<sub>5</sub>) gef. 603.8508 [M-H]<sup>-</sup>

**4.1.54 Darstellung von 3-Desoxy-3-amino-myo-inositol-1,2,4,5,6-pentakissulfat (122-anti) bzw. 6-Desoxy-6-amino-myo-inositol-1,2,3,4,5-pentakissulfat (122-syn)**

200 mg Pd/C (Degussa RW-10-N) werden in 100 ml Wasser suspendiert und 30 min. unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Anschließend werden 20 ml 10 mM Ammoniumacetat-Puffer, der ca. 35 mg (5,8  $\mu$ mol **135** enthält (Lösung aus ionenchromatographischer



Aufreinigung von **135**) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und rührt über Nacht. Die Reaktionslösung wird filtriert, der Katalysator wird gründlich mit Wasser gewaschen und die Reaktionslösung lyophilisiert. Der verbleibende Rückstand wird erneut in wenig Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet; dieser Vorgang wird bis zur Gewichtskonstanz wiederholt. Man erhält 30 mg (89 %) eines farblosen Produkts.



#### <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)

$\delta$  = 3.99 ( $\Psi$ t, J = 10.6 Hz, CH-NH<sub>2</sub>); 4.15 ( $\Psi$ t, J = 4.6 Hz, CH-NH<sub>2</sub>); 4.83 ( $\Psi$ t, J = 4.8 Hz); 4.92 ( $\Psi$ t, J = 4.0 Hz); 4.99 ( $\Psi$ t, J = 4.6 Hz); 5.06 ( $\Psi$ t, J = 3.4 Hz); 5.09 ( $\Psi$ t, J = 4.6 Hz); 5.47 ( $\Psi$ t, J = 2.2 Hz, CH-2); 5.49 ( $\Psi$ t, J = 2.3 Hz, CH-2); übrigen Signale unter HDO

#### <sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz)

$\delta$  = 53.24; 54.57 (2 CH-NH<sub>2</sub>); 70.94; 73.73; 75.31; 75.40; 75.69; 76.31; 76.35; 77.35; 78.12 (9CH, Ringkohlenstoffe)

#### HR-MS (ESI-neg)

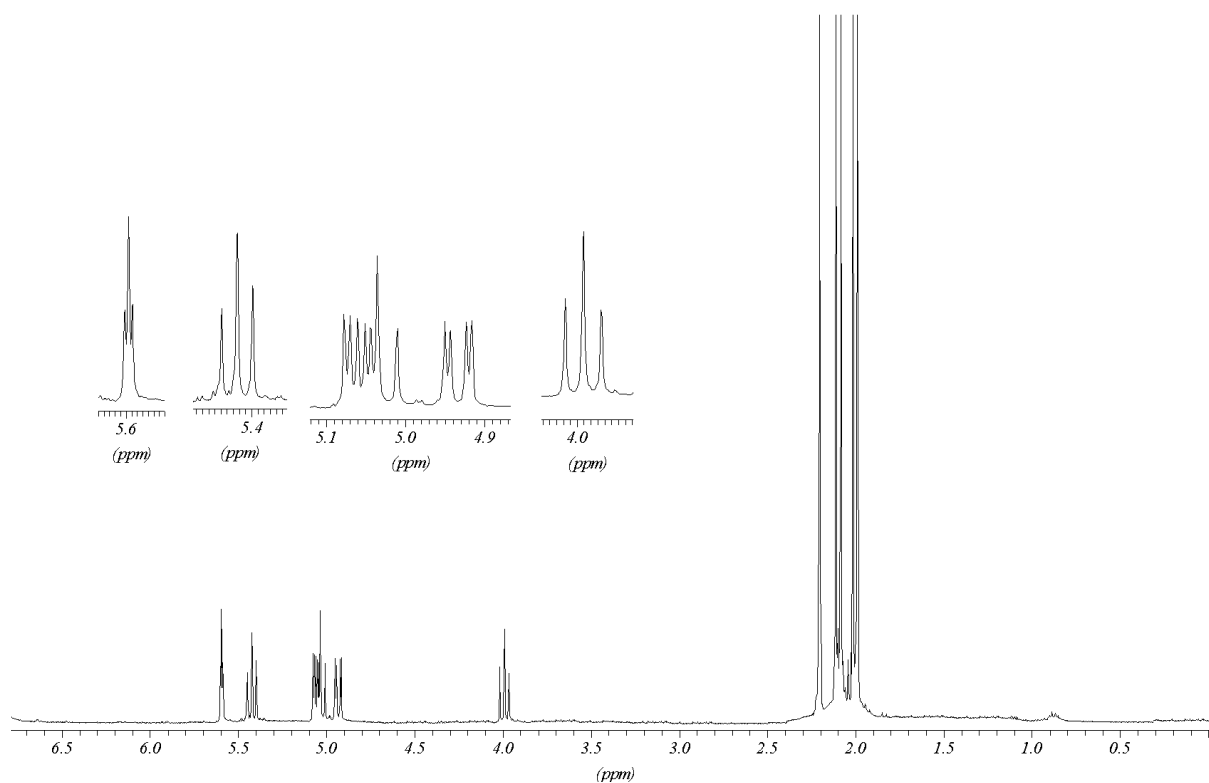
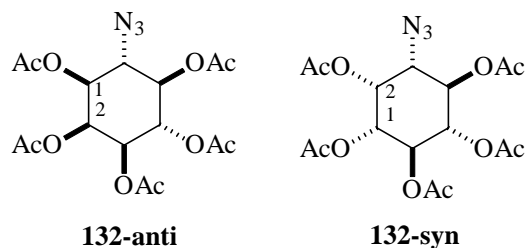
*m/z*: 577.8556 (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>20</sub>S<sub>5</sub>) gef. 577.8596 [M-H]<sup>-</sup>

#### 4.1.55 Darstellung von 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-desoxy-6-azido-myoinositol **133-anti** bzw. 1,2,4,5,6-Penta-O-acetyl-3-desoxy-3-azido-myoinositol (Azidopentaacetat) (**133-syn**)

Es werden 4,3 g (13 mmol) Azidotriacetatdiol **132** als Diastereomerengemisch in der Kälte in einem Gemisch aus 30 ml Essigsäureanhydrid und 30 ml Pyridin gelöst und über Nacht gerührt. Das Lösemittel wird im Hochvakuum entfernt und das Rohprodukt aus viel Ethanol fraktioniert kristallisiert. Dabei ist **133-syn** schlechter in Ethanol löslich und kristallisiert folglich schneller aus.

Die erhaltenen Kristallisationsstufen werden anschließend gegebenenfalls flash-chromatographisch aufgereinigt um auch **133-anti** analysenrein zu erhalten. Als Laufmittel wird Cyclohexan : Essigsäureethylester im Verhältnis 1:2 verwendet.

Man erhält 2,9 g (54 %) **133-syn** und 1,7 g (32 %) **133-anti** als farblose Feststoffe

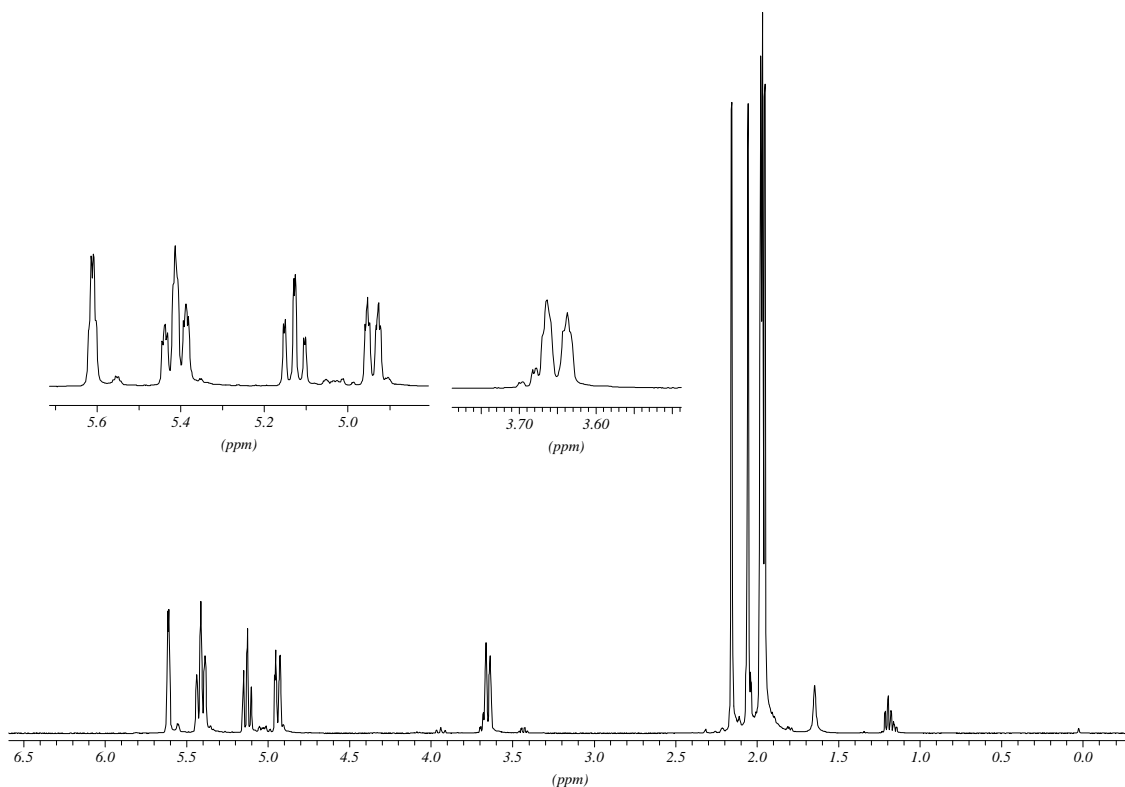


#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) für **133-anti**

$\delta$  = 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 3.99 ( $\Psi$ t, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 10.5 Hz, CH-6); 4.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 2.8 Hz; <sup>3</sup>J(H, H) = 10.8 Hz, CH-1); 5.04 ( $\Psi$ t, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 10.0 Hz, CH-5); 5.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 2.8 Hz; <sup>3</sup>J(H, H) = 10.5 Hz, CH-3) 5.42 ( $\Psi$ t, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 10.1 Hz, CH-4); 5.60 ( $\Psi$ t, 1H, <sup>3</sup>J(H, H) = 2.7 Hz, CH-2)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz) für 133-anti**

$\delta = 20.12; 20.18; 20.20; 20.24; 20.35$  (5 CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)-); 61.09 (CH, C-6); 68.47 (CH, 2C, C-2 und C-3); 69.21 (CH, C-1); 69.73 (CH, C-4); 71.11 (CH, C-5); 169.44; 169.47; 169.51; 169.73 (2x) (5 C, C(O)CH<sub>3</sub>)

 **$^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) für 133-syn**

$\delta = 1.95$  (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 1.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.06 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 2.16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)-); 3.68 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 10.7$  Hz;  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.5$  Hz, CH-3); 4.97 (dd, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 10.7$  Hz;  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 3.0$  Hz, CH-1); 5.16 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.7$  Hz, CH-5); 5.44 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 10.4$  Hz; CH-4 oder CH-6); 5.45 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.9$  Hz; CH-4 oder CH-6); 5.64 ( $\Psi\text{t}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.8$  Hz; CH-2);

 **$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz) für 133-syn**

$\delta = 20.33; 20.39; 20.45; 20.49; 20.56$  (5 CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)-); 59.13 (CH; C-3); 68.48 (CH; C-2); 69.00 (CH; C-4 oder C-6); 69.41 (CH; C-1); 70.51 (CH; C-4 oder C-6); 71.46 (CH; C-5); 167.31; 169.42; 169.45; 169.48; 169.70 (5xC, C(O)CH<sub>3</sub>)

**MS [70 ev], m/z (%)**

310 (1.3); 226 (14.5); 184 (25.1); 157 (15.35); 142 (43.6) [(AcO)<sub>2</sub>C<sub>2</sub>]; 115 (26.6); 43 (100)  
[Ac]

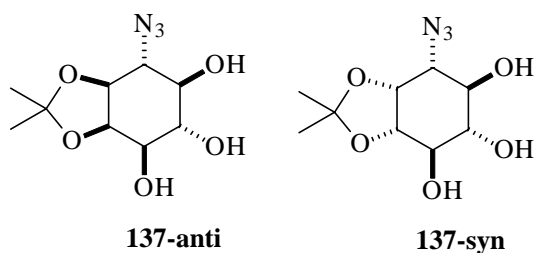
**IR [KBr-Preßling]**

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2920 + 2850 (m,  $\nu(\text{CH})_{\text{ali}}$ ); 2100 (m, N<sub>3</sub>); 1750 (s,  $\nu(\text{C}=\text{O})$ )

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,31 und 0,23 (EE/CH 1:1); 0,24 und 0,15 (EE/CH 1:2);  
0,11 und 0,06 (EE/CH 1:3); 0,52 und 0,40 (EE/CH 2:1)

**4.1.56 Darstellung von 6-Azido-1,2-isopropyl-myo-inositol bzw. 3-Azido-1,2-isopropyl-myo-inositol (137)**

70 mg (211  $\mu\text{mol}$ ) Azidoinositol **132** werden in 2 ml Dimethoxypropan und 1 ml Aceton gelöst und mit einigen Kristallen *p*-Toluolsulfonsäure als Katalysator versetzt. Nach 12 h versetzt man mit 0,5 ml 10 %iger Natronlauge, 0,5 ml gesättigter Kochsalzlösung und 5 ml Ethylacetat ausschüttelt und rührt die Lösung drei Minuten kräftig. Die organische Phase wird mit gesättigter Kochsalzlösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 50 mg (96 % Ausbeute) Produkt in Form von schwach gelben Kristallen.



**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** keine genaue Auswertung des Spektrums möglich

$\delta$  = 1.29 (s, 6H 2 x CH<sub>3</sub> von Isopropylgruppe); 1.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 3.08-3.20 (m, 2H, Ringprotonen); 3.33-3.43 (m, 2H, Ringprotonen); 3.43-3.51 (m, 2H, Ringprotonen); 3.56-3.61 (m, 2H, Ringprotonen); 3.66-3.73 (m, 1H, Ringproton); 3.86-3.92 (m, 1H, Ringproton); 4.25-4.32 (m, 2H, 2 x CH-2)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 25.60 und 25.71 (2CH<sub>3</sub>, Isopropylidengruppe Diastereomer 1); 27.68 und 27.93 (2CH<sub>3</sub>, Isopropylidengruppe Diastereomer 2); 61.23 (CH, CH-N<sub>3</sub>); 67.56 (CH, CH-N<sub>3</sub>); 69.73; 71.35; 72.09; 72.68; 73.80; 74.50; 74.76; 75.95; 77.20; 78.87 (10 CH, 10 x CH-OH in beiden Diastereomeren); 109.94(C, Isopropylidengruppe); 110.21 (C, Isopropylidengruppe)

**IR [KBr-Preßling]**

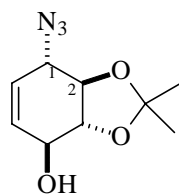
$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3350 (s, br, v(OH)); 2980 + 2920 (w, v(CH)<sub>ali</sub>); 2090 (s, N<sub>3</sub>)

DC: R<sub>f</sub> = 0,09 (EE/CH 1:1)

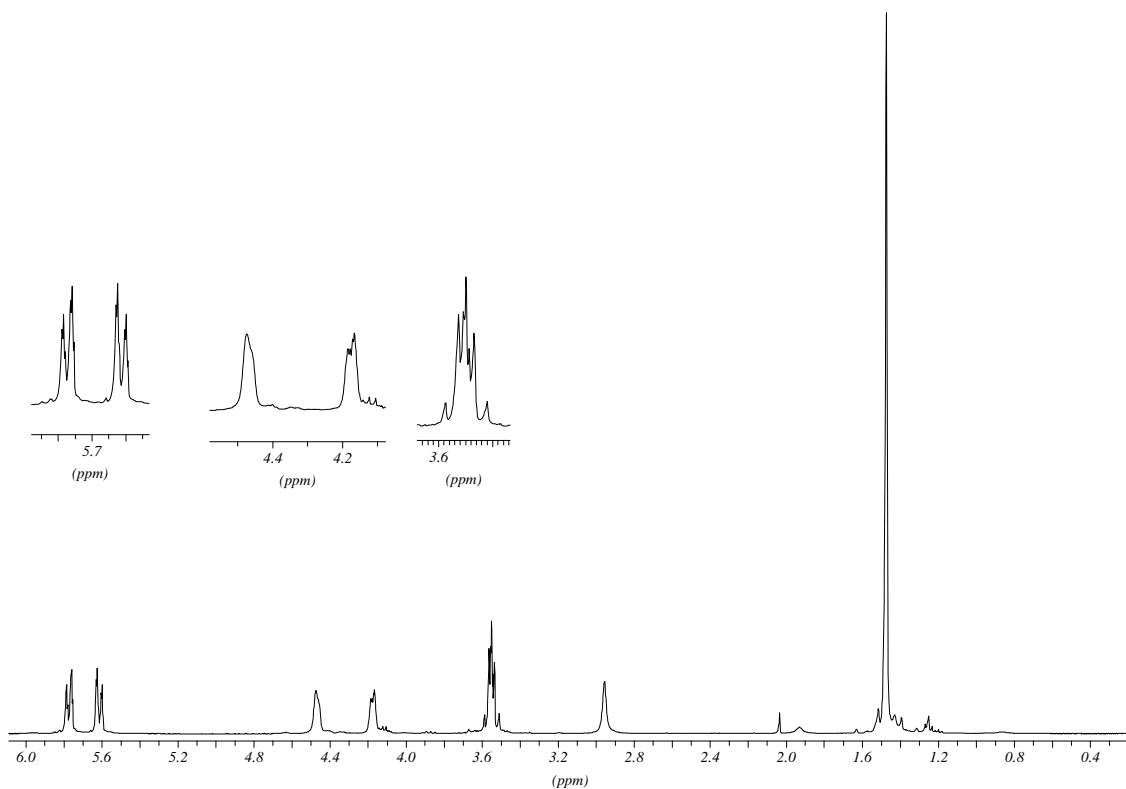
***4.1.57 Darstellung von 1-Azido-2,3-isopropyl-Konduritol-B (127) bzw. 1-Azido-2,3-isopropyl-4-mono-O-(2-methoxy)-isopropyl-Konduritol-B (129)***

Es werden 500 mg (2,9 mmol) 1-Azido-Konduritol-B (**126**) in 10 ml Dimethoxypropan und 5 ml Aceton gelöst, sowie mit 20 mg PPTS als Katalysator versetzt. Nach einer Rührzeit von drei Tagen wird die Lösung mit 1 ml 10 %iger Natronlauge, 0,5 ml gesättigter Kochsalzlösung und 10 ml Essigsäureethylester versetzt und einige Minuten kräftig gerührt. Die abgetrennte organische Phase wird mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Trennung der beiden Produkte konnte über Flash-Chromatographie (Cyclohexan / Essigsäureethylester 2 : 1) erreicht werden. Man erhält 0,33 g 1-Azido-2,3-isopropyl-Konduritol-B (**127**) und 0,15 g 1-Azido-2,3-isopropyl-4-mono-O-(2-methoxy)-isopropyl-Konduritol-B (**129**) in Form von weißen Kristallen.

**129** kann in **127** überführt werden, indem man die Verbindung unter Katalyse durch *p*-Toluolsulfonsäure einige Minuten in Aceton rühren läßt und die Reaktionslösung nach Beendigung (dünnschichtchromatographische Kontrolle) zweimal mit ges. Natriumhydrogencarbonat- und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit.



127

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 1.47 (s, 6H, 2 x CH<sub>3</sub>); 2.95 (s-b, 1H, -OH); 3.55 (m, 2H; CH-, Und CH-3); 4.17 (dd, 1H, J = 4.8 Hz, J = 2.3 Hz, CH-1); 4.47 (d, 1H, J = 4.5 Hz, CH-4); 5.61 (dt, 1H, J = 10.2 Hz, J = 2.0 Hz, CH-5); 5.77 (dt, 1H, J = 10.2 Hz, J = 2.0 Hz, CH-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

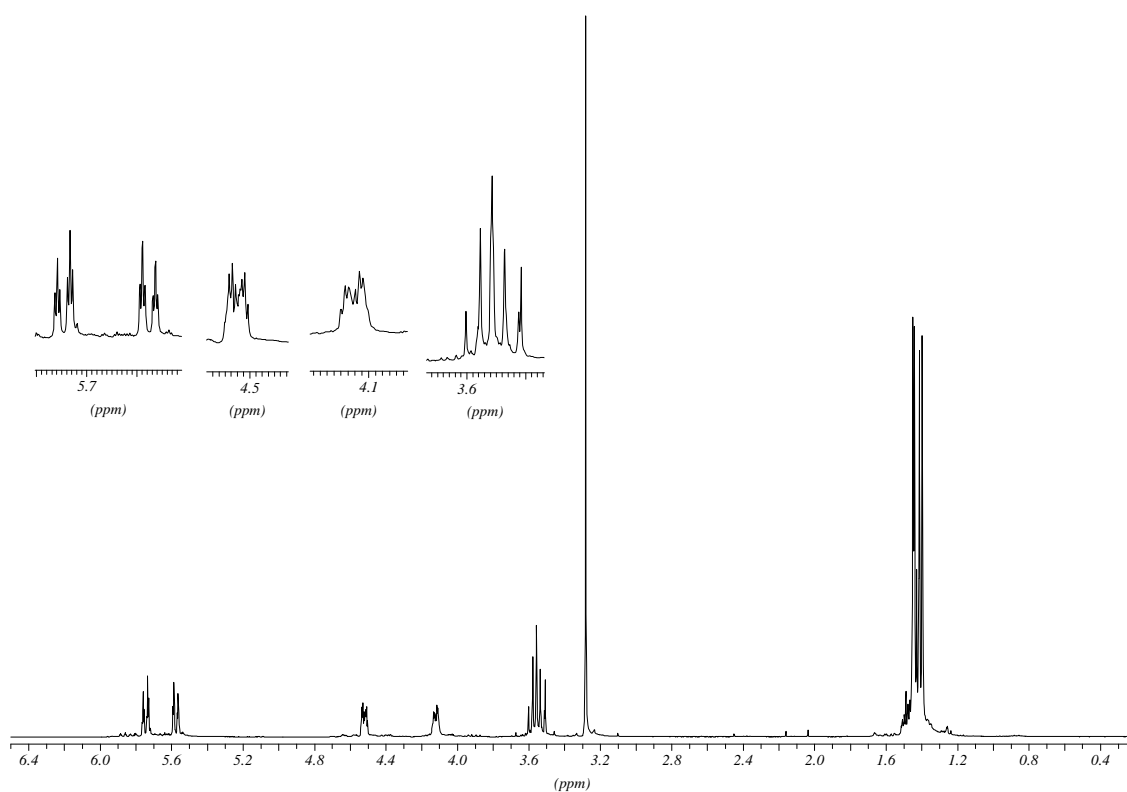
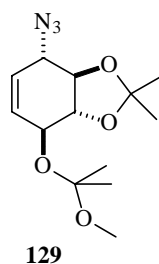
$\delta$  = 26.82 (CH<sub>3</sub>); 26.89 (CH<sub>3</sub>); 61.44 (CH, C-1); 70.42 (CH, C-4); 77.96 (CH, C-2 oder C-3); 81.03 (CH, C-2 oder C-3); 111.69 (C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 125.82 (CH, C-5); 132.67 (CH, C-6)

**MS [70 eV], m/z (%)**

196 (15,47) [M<sup>+</sup> -CH<sub>3</sub>]; 168 (3,26) [M<sup>+</sup> -N<sub>3</sub>]; 111 (29,31) [M<sup>+</sup> -N<sub>3</sub> -C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]; 59 (87,74) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O]; 43 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]

**IR [KBr]**

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3430 (s, br,  $\nu(\text{OH})$ ); 3030 (w,  $\nu(\text{CH})_{\text{ol}}$ ); 2970 + 2860 (m,  $\nu(\text{CH})_{\text{ali}}$ ); 2090 (s,  $\text{N}_3$ ); 1630 (w,  $\nu(\text{C}=\text{C}_{\text{ol}})$ )

Auswertung des 1-Azido-2,3-isopropyl-4-O-(2-methoxy)-isopropyl-Konduritol-B's (129) **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta$  = 1.39 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.41 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.44 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.45 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3.27 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.56 (m, 2H, CH-2 und CH-3); 4.11 (m, 1H, CH-1); 4.52 (m, 1H, CH-4); 5.57 (dt, 1H,  $J = 2.0$  Hz,  $J = 10.7$  Hz, CH-5); 5.74 (dt, 1H,  $J = 2.0$  Hz,  $J = 10.7$  Hz, CH-6)

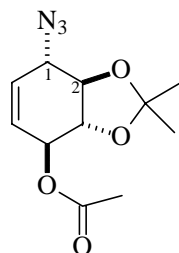
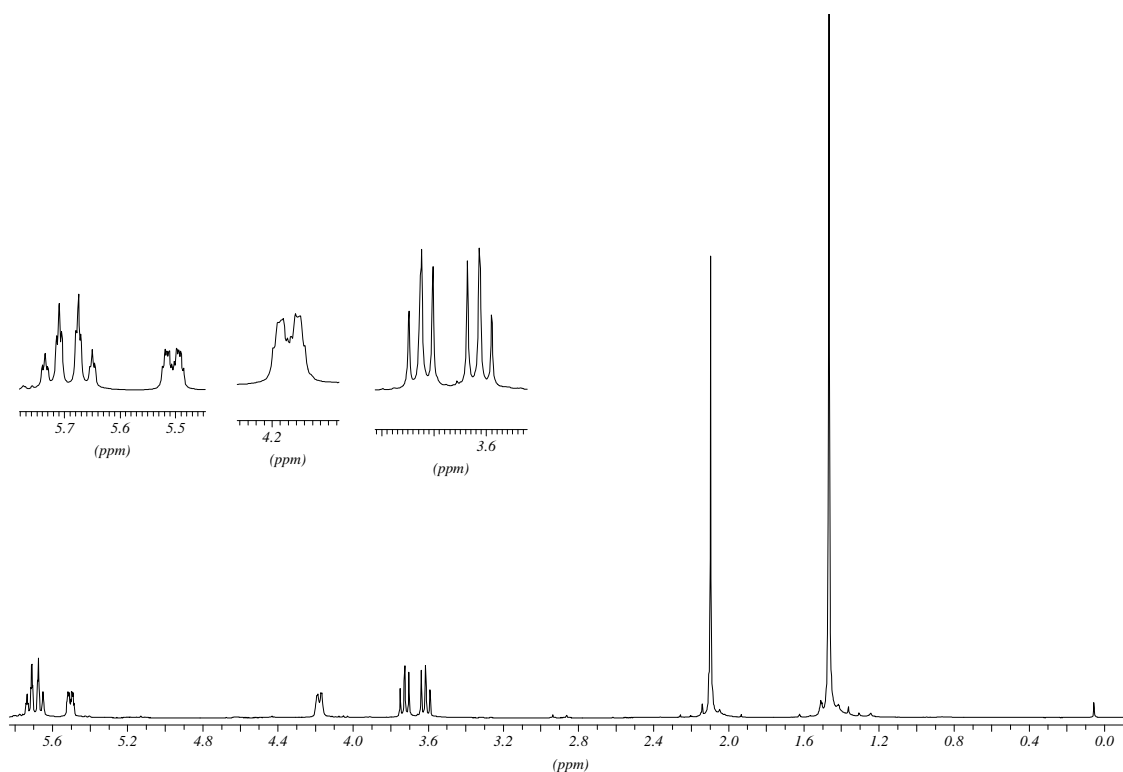
**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 25.26 (CH<sub>3</sub>); 25.71 (CH<sub>3</sub>); 27.04 (CH<sub>3</sub>); 27.19 (CH<sub>3</sub>); 49.32 (OCH<sub>3</sub>); 61.63 (CH, C-1); 69.46 (CH, C-4); 78.44 (CH, C-2 oder C-3); 79.21 (CH, C-2 oder C-3); 101.17 (C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 110.91 (C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OMe)); 125.68 (CH, C-5); 133.41 (CH, C-6)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,55 und 0,27 (EE/CH 1:1); 0,52 und 0,22 (EE/CH 1:2)  
0,43 und 0,09 (EE/CH 1:3)

**4.1.58 Darstellung von 4-Mono-O-acetyl-1-azido-2,3-isopropyliden-Konduritol-B (190)**

Es werden 70 mg (330  $\mu\text{mol}$ ) 1-Azido-2,3-isopropyliden-Konduritol-B (**127**) in 1 ml Essigsäureanhydrid und 1 ml Pyridin gelöst und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Hochvakuum entfernt. Es verbleiben 84 mg (100 %) eines gelblichen Öls

**190**



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta$  = 1.47 (s, 6H,  $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$ ); 2.10 (s, 3H,  $\underline{\text{CH}_3}\text{C}(\text{O})$ ), 3.61 + 3.72 (m, 2H, CH-2 und CH-3); 4.17 (ddd, 1H,  $J = 8.7$ ,  $J = 2.6$ ;  $J = 2.0$ , CH-1); 5.50 (m, 1H, CH-4); 5.66 + 5.72 (m, 2H, CH-5 und CH-6)

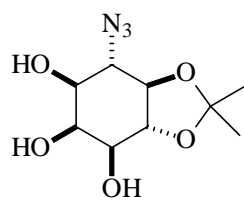
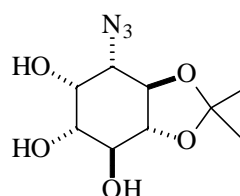
 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta$  = 20.89 ( $\text{CH}_3$ ,  $\underline{\text{CH}_3}\text{C}(\text{O})$ ); 26.80 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2$ ); 61.13 (CH, C-1); 72.22 (CH, C-4); 74.45 + 78.18 (2 CH, C-2 und C-3); 111.91 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ ); 127.50 + 129.06 (2 CH, C-5 und C-6); 170.13 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ )

**$R_f$ -Wert:** 0,54 (EE/CH 1:1)

**4.1.59 Darstellung von 6-Azido-4,5-isopropyl-myo-inositol (130-anti) bzw. 3-Azido-4,5-isopropyl-myo-inositol (130-syn)**

Es werden 170 mg (805  $\mu\text{mol}$ ) 1-Azido-2,3-isopropyl-Konduritol-B (**127**) mit 5 ml Ethylacetat und 5 ml Acetonitril vorgelegt und im Eisbad gekühlt. 1,5 eq. (258 mg oder 1,21 mmol) Natriummetaperiodat werden in 3 ml Wasser unter Rühren gelöst und anschließend mit 15 mg (56  $\mu\text{mol}$ , 7 mol-%)  $\text{RuCl}_3 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  versetzt. Diese Lösung wird der Reaktionslösung zugegeben. Nach 5 min., während der die Reaktionslösung unter Kühlung stark gerührt wird, wird die Reaktion durch Eingießen der Reaktionslösung in 25 ml ges. Natriumthiosulfatlösung abgebrochen. Nach fünfmaligem Ausschütteln mit jeweils 25 ml Ethylacetat wird die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Man erhält 158 mg (80 %) eines farblosen Feststoffs. Das Diastereomerenverhältnis in dem Produktgemisch wurde NMR-spektroskopisch zu 2:1 abgeschätzt.

**130-anti****130-syn**

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)** (Diastereomeregemisch, wenn möglich Signale nach „groß“ und „klein“ unterschieden)

$\delta = 1.46$ ; 1.48; 1.50 (Signale der  $\text{CH}_3$ -Gruppen der beiden Isopropyliden-Gruppen); 3.22 ( $\Psi\text{t}$ ,  $J = 9.7$  Hz, klein); 3.39 ( $\Psi\text{t}$ ,  $J = 9.7$  Hz, groß); 3.51 (dd,  $J = 2.5$  Hz,  $J = 11.2$  Hz); 3.56 (m); 3.80 ( $\Psi\text{t}$ ,  $J = 9.9$  Hz, groß); 3.90 ( $\Psi\text{t}$ ,  $J = 9.9$  Hz, klein); 4.00 (m); 4.17 ( $\Psi\text{s}$ , CH-2, klein); 4.17 ( $\Psi\text{s}$ , CH-2, groß)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)** erstes Diastereomer (stärkere Signalintensität)

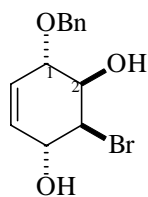
$\delta = 26.69 + 26.78$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ); 60.56 (CH- $\text{N}_3$ ); 70.95 (CH); 72.39 (CH); 74.53 (CH); 75.47 (CH); 79.29 (CH); 112.83 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ )

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)** zweites Diastereomer (geringere Signalintensität)

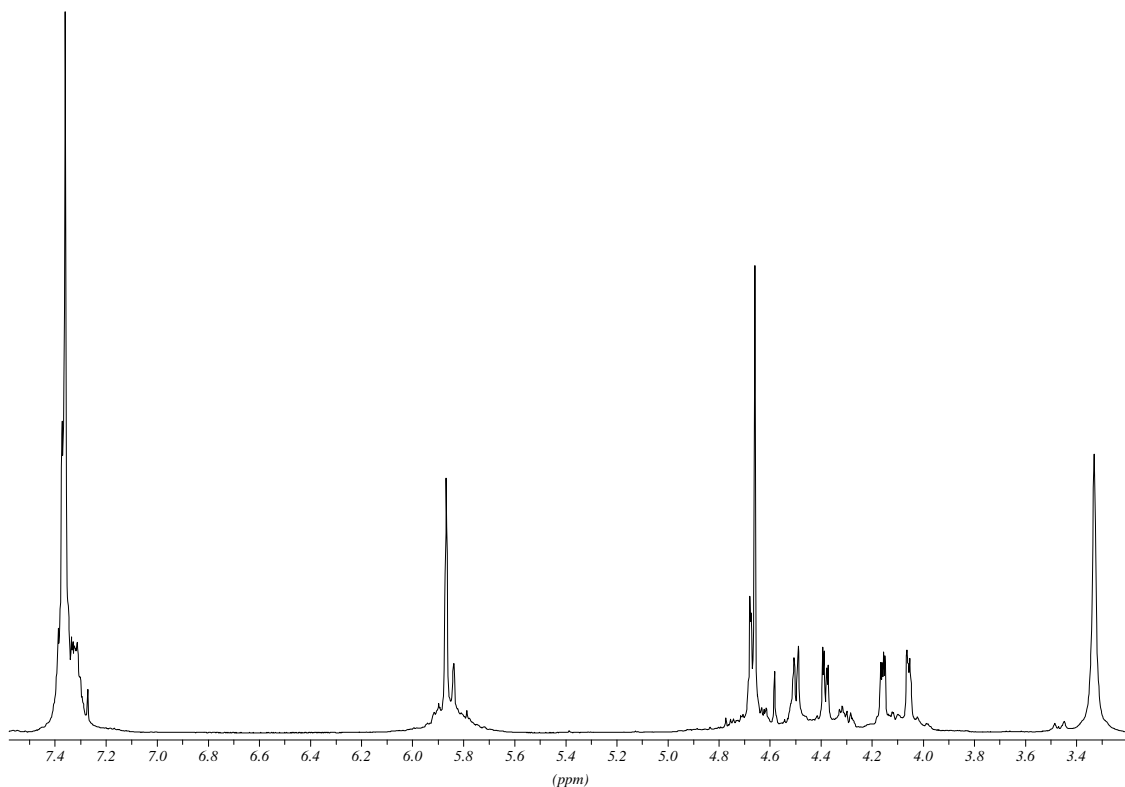
$\delta = 26.69 + 26.78$  ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ ); 62.60 (CH- $\text{N}_3$ ); 69.79 (CH); 73.23 (CH); 73.64 (CH); 76.77 (CH); 77.81 (CH); 112.69 (C,  $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_2$ )

#### **4.1.60 Darstellung von 1-O-Benzyl-3-brom-2,4-dihydroxy-5-cyclohexen (139)**

11,1 g (58 mmol) Monoepoxid **123** werden in 500 ml Dichlormethan gelöst und im Eisbad gekühlt. Es werden 30 ml Benzylalkohol und 2-3 Tropfen konz. Schwefelsäure zugegeben. Die Lösung rührt zwei Tage. Anschließend extrahiert man die organische Phase zur Entfernung der Schwefelsäure dreimal mit 100 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit 100 ml ges. Natriumchlorid-Lösung, trocknet sie über Magnesiumsulfat und entfernt das Dichlormethan am Rotationsverdampfer. Dan wird der Benzylalkohol bei möglichst geringer Badtemperatur im Hochvakuum abdestilliert. Man erhält 14,8 g (85 % Ausbeute) eines grünbraunen Öls, das bei längerem Stehenlassen zu kristallisieren beginnt. Das so erhaltene Produkt ist mit ca. 10 % der durch  $\text{S}_{\text{N}}'$ -Angriff entstehenden Verbindung **146** verunreinigt. Das Nebenprodukt kann auf dieser Stufe nicht ohne weiteres abgetrennt werden, dieses erfolgt auf späteren Stufen.



139

 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta$ [ppm] = 3.33 (s-b, 2H, OH); 4.06 (dd, 1H,  $J = 4.6$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-1); 4.16 (dd, 1H,  $J = 4.6$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-2); 4.38 (dd, 1H,  $J = 6.1$  Hz,  $J = 2.5$  Hz, CH-3); 4.49 (dd, 1H,  $J = 6.4$  Hz,  $J = 1.5$  Hz, CH-4); 4.66 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.87 (m, 2H, CH-5 und CH-6); 7.28-7.41 (m, 5H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta$  = 59.02 (CH, C-3); 70.20 (CH, C-4); 71.06 (CH, C-2); 72.01 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 76.46 (CH, C-1); 127.05 (CH, C-5 oder C-6); 127.76; 127.91; 128.47 (3CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 129.63 (CH, C-5 oder C-6); 137.73 (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**MS [70ev], m/z (%)**

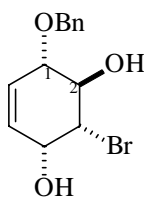
298 (2.2) [M<sup>+</sup>]; 219 (7.8) [M<sup>+</sup> -Br]; 201 (60.8) [M<sup>+</sup> -Br-H<sub>2</sub>O]; 109 (4.4) [M<sup>+</sup> -Br-H<sub>2</sub>O-C<sub>7</sub>H<sub>8</sub><sup>+</sup>]; 91 (100.0) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]; 81, 79 (13.9, 34.5) [Br<sup>+</sup>]; 65 (76.3) [C<sub>5</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>]; 51 (19.3) [C<sub>4</sub>H<sub>3</sub><sup>+</sup>]; 41 (22.2) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>]

**IR-(KBr):**

$\tilde{\nu}$ [cm<sup>-1</sup>] = 3390 (s, br,  $\nu$ [OH]); 3010 (w,  $\nu$ [CH<sub>olef, arom</sub>]); 2860 (w,  $\nu$ [CH<sub>ali</sub>]); 1650 (w,  $\nu$ [C=C<sub>olef</sub>]); 1490 (m,  $\nu$ [C=C<sub>arom</sub>]); 1470, 1380 (m,  $\delta$ [CH<sub>ali</sub>]); 1060 (s,  $\nu$ [C-O]); 690 (s,  $\nu$ [C-Br]); 735 u. 695 (m,  $\delta$ [CH<sub>arom</sub>] mono-subst. Arom.)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.24 (CH/EE 1 : 1)

**GC:** 12.3 min                      Temperaturprogramm: 120/0/10/300/5



**146**

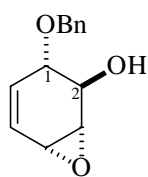
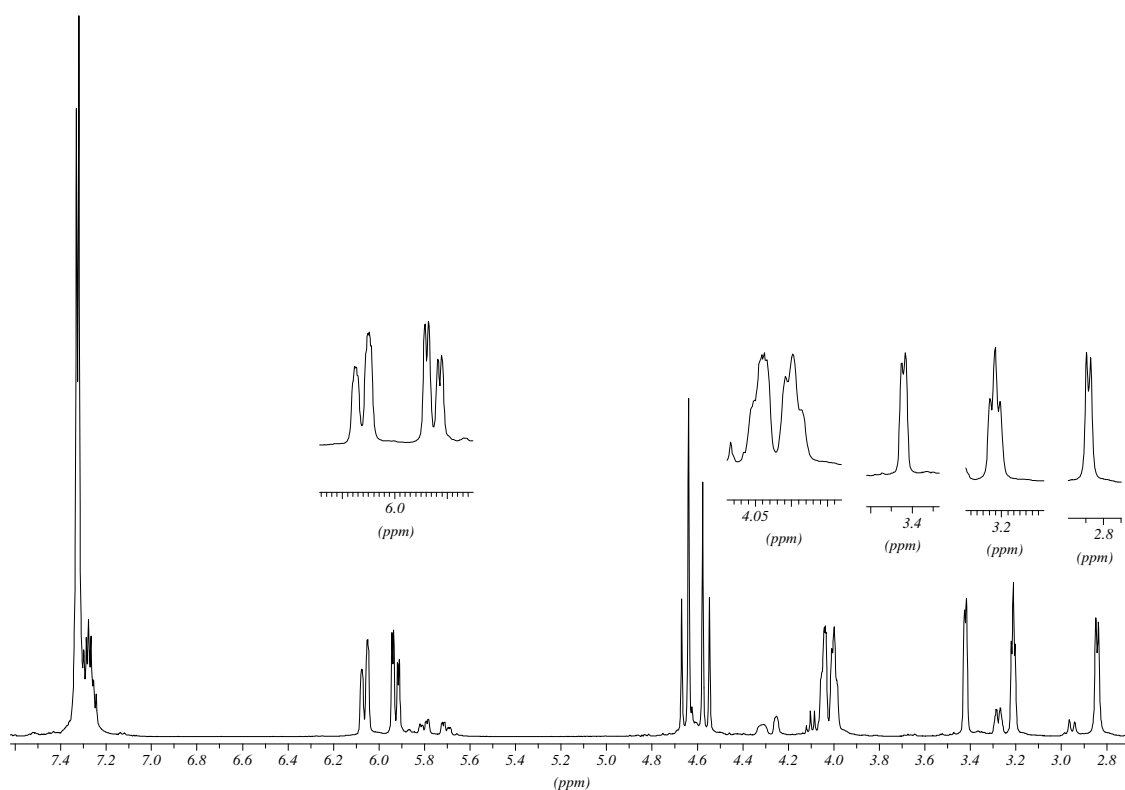
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)** (nur Ringkohlenstoffe und CH<sub>2</sub>)

$\delta$  = 58.58 (CH, C-3); 65.95; 68.88; 73.06 (3CH, C-1, C-2 und C-4); 71.94 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 128.86; 137.73 (2Ch, C-5 und C-6)

**4.1.61 Darstellung von 1-O-benzyl-2-hydroxy-3,4-epoxy-5-cyclohexen (140)**

4,5 g (15 mmol) 1-O-Benzyl-3-brom-2,4-dihydroxy-5-cyclohexen **139** werden in 130 ml Diethylether und 60 ml Methanol gelöst. danach werden 0,92 g (38 mmol) Lithiumhydroxid zugegeben und 2 h bei 0 °C gerührt. Die inzwischen intensiv rotgefärbte Lösung wird mit 100 ml Wasser versetzt und 15 min kräftig gerührt. Die wäßrige Phase wird anschließend dreimal mit jeweils 150 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird zweimal mit jeweils 100 ml gesättigter Kochsalzlösung ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 3,05 g (93 % Ausbeute)

eines rotbraunen Öls. Die beiden entstehenden Epoxide **140** und **147** können flashchromatographisch (EE:CH 7:4) voneinander getrennt werden

**140**

### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 2.84 (d, OH); 3.21 ( $\Psi$ t, 1H,  $J$  = 3.3 Hz, CH-4); 3.42 (d, 1H,  $J$  = 3.6 Hz, CH-3); 4.00 (m, 1H, CH-2); 4.03 (m, 1H, CH-1); 4.06 (2d, AB-System,  $J$  = 12.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 5.93 (dd, 1H,  $J$  = 9.9 Hz,  $J$  = 2.8 Hz, CH-6); 6.06 (ddd, 1H,  $J$  = 9.7 Hz,  $J$  = 2.5 Hz,  $J$  = 1.5 Hz, CH-5); 7.30-7.43 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$  = 46.84 (CH, C-4); 57.85 (CH, C-3); 69.92 (CH, C-2); 71.87 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 77.37 (CH, C-1); 127.06 (CH, C-5); 128.26; 128.89 (2CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 133.70 (CH, C-6); 138.40 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**MS [70ev], m/z (%)**

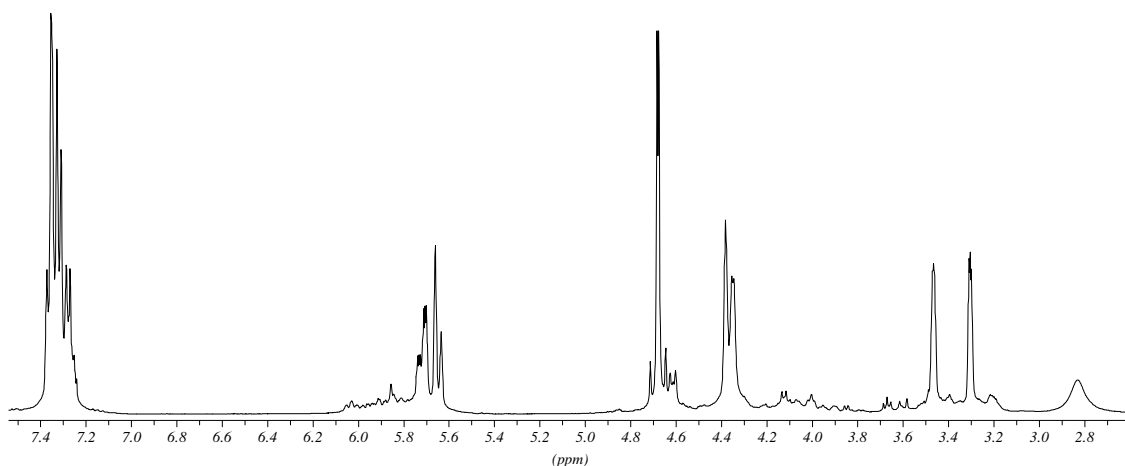
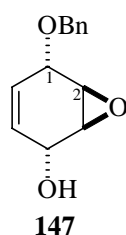
218 (10.6) [ $M^+$ ]; 127 (8.2) [ $M^+ - \text{Bn}$ ]; 111 (4.5) [ $M^+ - \text{OBn}$ ]; 107 (14.7) [ $\text{OBn}^+$ ]; 92 (37.6) [ $\text{C}_7\text{H}_8^+$ ]; 91 (100.0) [ $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ]; 79 (12.0) [ $\text{C}_6\text{H}_7^+$ ]; 66 (27.0) [ $\text{C}_5\text{H}_6^+$ ]; 65 (40.0) [ $\text{C}_5\text{H}_5^+$ ]; 51 (10.6) [ $\text{C}_4\text{H}_3^+$ ]; 41 (25.0) [ $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ]

**IR-(KBr):**

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3340$  (s, br,  $\nu$  [OH]); 3040 (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{olef,arom}}$ ]); 2940, 2860 (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]); 1650 (w,  $\nu$  [ $\text{C}=\text{C}_{\text{olef}}$ ]); 1500 (m,  $\nu$  [ $\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ]); 1450, 1380 (m,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]); 1070 (s,  $\nu$  [C-O]); 735 u. 695 (m,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{arom}}$ ] mono-subst. Arom.)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.21 (CH/EE 1 : 1)

0.54 (CH/EE 1 : 3)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta = 2.87$  (s-b, OH); 3.30 (dd, 1H,  $J = 4.1$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-2 oder CH-3); 3.46 (dd,  $J = 3.6$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-2 oder CH-3); 4.35 (d, 1H,  $J = 4.5$  Hz, CH-1 oder CH-4); 4.38 ( $\Psi$ t, 1H,  $J = 2.0$  Hz, CH-1 oder CH-4); 4.67 (2H, AB-System, nicht aufgelöst,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.67 (d $\Psi$ t, 1H,  $J = 11.2$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-5 oder CH-6); 5.72 (m, 5H, CH-5 oder CH-6); 7.24-7.39 (m, 5H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

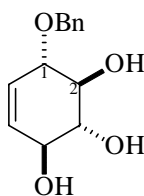
$\delta$  = 51.98; 53.90 (2 CH, C-2 und C-3); 62.16; 70.39 (2CH, C-1 und C-4); 126.56 und 127.04 (2CH, C-5 und C-6); 127.69; 128.23 (2CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.88 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

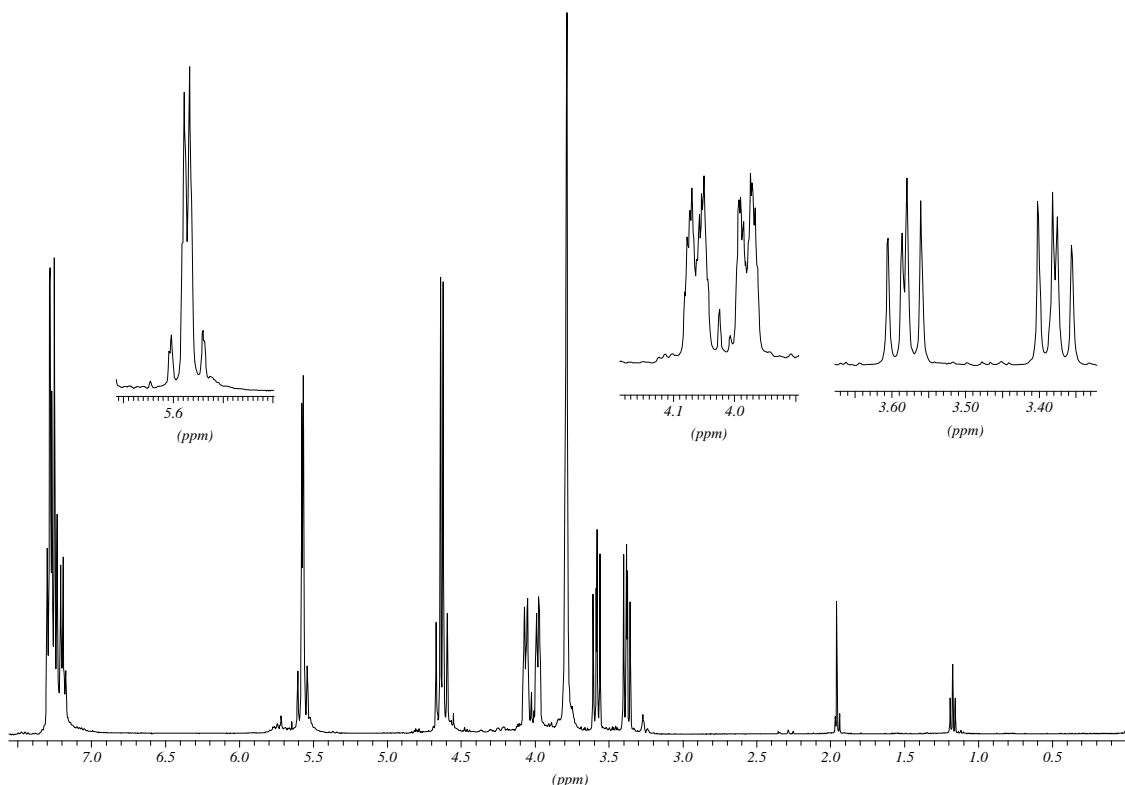
**4.1.62 Darstellung von 1-O-Benzyl-konduritol B (141)****1. Sauer katalysierte Epoxidöffnung**

2,9 g (13 mmol) des Epoxidgemischs **140** / **147** werden mit 80 ml Wasser, 20 ml THF und einer Spatelspitze *para*-Toluolsulfonsäure versetzt und drei Tage gerührt. Anschließend wird das THF am Rotationsverdampfer weitgehend entfernt und die restliche Reaktionslösung lyophilisiert. Man erhält 3,2 g eines bräunlichen Öls, das helle Kristalle enthält. Anschließende Umkristallisation aus Methyl-*tert*-butylether ergibt 1,51 g (48 % Ausbeute) in Form von weißgelben Kristallen, die aber noch mit dem Produkt des S<sub>N</sub>'-Produkts verunreinigt sind (ca 10 %). Eine vollständig saubere Substanz kann durch Umkristallisation aus Essigsäureethylester erhalten werden.

**2. Alkalische Epoxidöffnung**

2 g (9,2 mmol) Epoxid **140** / **147** werden mit 80 ml THF und 160 ml 4N NaOH drei Tage gerührt. Anschließend entfernt man das Tetrahydrofuran am Rotationsverdampfer weitgehend und rührt erneut einen Tag. Die Reaktionslösung wird mit konz. Salzsäure neutral bis schwach sauer gestellt und viermal mit 100 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gegengeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Man erhält 1,6 g (74 %) eines farblosen Feststoffs, der aus Essigsäureethylester umkristallisiert werden kann.

**141**



### $^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 400 MHz)

$\delta = 3.38$  (dd, 1H,  $J = 10.4$  Hz,  $J = 7.9$  Hz, CH-2 oder CH-3);  $3.58$  (dd, 1H,  $J = 10.2$  Hz,  $J = 7.6$  Hz, CH-2 oder CH-3);  $3.98$  (m, 1H, CH-1 oder CH-4);  $4.06$  (m, 1H, CH-1 oder CH-4);  $4.63$  (dd, AB-System,  $J = 11.7$  Hz);  $5.55$  (dd, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 1.5$  Hz, CH-5 oder CH-6);  $5.59$  (dd, 1H,  $J = 10.2$  Hz,  $J = 1.5$  Hz, CH-5 oder CH-6);  $7.15$ - $7.31$  (m, 5H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3 + \text{MeOD}$ , 101 MHz)

$\delta = 71.68$  (CH, C-1 oder C-4);  $71.82$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $74.44$  (CH, C-2 oder C-3);  $76.00$  (CH, C-2 oder C-3);  $79.68$  (CH, C-1 oder C-4);  $126.55$  (CH, C-5 oder C-6);  $127.51$ ;  $127.68$ ;  $128.16$  (3CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $130.02$  (CH, C-5 oder C-6);  $138.03$  (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

### MS [70eV], m/z (%)

$236$  (5.8) [ $\text{M}^+$ ];  $107$  (56.5) [ $\text{OBn}^+$ ];  $91$  (100.0) [ $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ];  $41$  (27.1) [ $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ]

### IR (KBr):

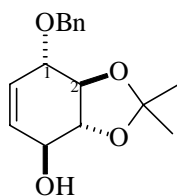
$\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3460$  (m, br, v [ $\text{OH}$ ]);  $3020$  (w, v [ $\text{CH}_{\text{olef, arom}}$ ]);  $1500$  (w, v [ $\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ]);  $1450$ ,  $1370$  (m,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1050$  (s, v [ $\text{C-O}$ ]);  $735$  u.  $695$  (m,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{arom}}$ ] mono-subst. Arom.)



**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.06 (CH/EE 1 : 1); 0.06 (CH/EE 1 : 3); 0.11 (CH/EE 1 : 5);  
0.13 (CH/EE 1 : 9)

#### 4.1.63 Darstellung von 1-O-Benzyl-2,3-O-isopropyl-konduritol-B (142)

0,97 g (4,2 mmol) Monobenzylkonduritol **141** werden in 20 ml Dimethoxypropan und 20 ml Aceton gelöst und mit einer Spatelspitze *para*-Toluolsulfonsäure als Katalysator versetzt. nach einer Rührzeit von 3d wird die Lösung mit 30 ml Diethylether verdünnt. der Ansatz wird mit 20 ml 2N Natronlauge und 20 ml gesättigter Kochsalzlösung extrahiert. Die wäßrige Phase wird dreimal mit jeweils 40 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es verbleiben 1,04 g (81 % Ausbeute) **142** als gelbliches Öl.



**142**

#### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

δ = 1.48 (s, 6H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.08 (s-b, OH); 3.51 (dd, 1H, J = 9.9 Hz, J = 8.4 Hz, CH-2 oder CH-3); 3.66 (dd, 1H, J = 9.7 Hz, J = 8.1 Hz, CH-2 oder CH-3); 4.26 (ddd, 1H, J = 3.1 Hz; J = 8.1 Hz, J = 1.5 Hz, CH-1 oder CH-4); 4.45 (dΨt, 1H, J = 8.0 Hz, J = 1.4 Hz, CH-1 oder CH-4); 4.67 und 4.84 (2d, AB-System, J = 12.2 Hz); 5.65 und 5.69 (2d, je 1H, J = 10.2 Hz, CH-5 und CH-6); 7.27-7.40 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

#### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

δ = 26.98 (CH<sub>3</sub>, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 70.57 (CH, C-4); 77.28 (CH, C-1); 80.09; 80.86 (2CH, C-2 und C-3); 111.03 (C, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 126.78 (CH, C-5 oder C-6); 127.74; 128.28; 128.65 (3CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 130.79 (CH, C-5 oder C-6); 138.16 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

#### MS [70ev], m/z (%)

276 (3.3) [M<sup>+</sup>]; 170 (2.1) [M<sup>+</sup> +H-OBn]; 107 (19.4) [OBn<sup>+</sup>]; 91 (100.0) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]; 43 (54.4) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]; 41 (34.7) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>]

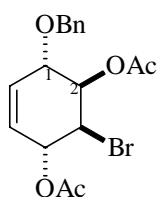
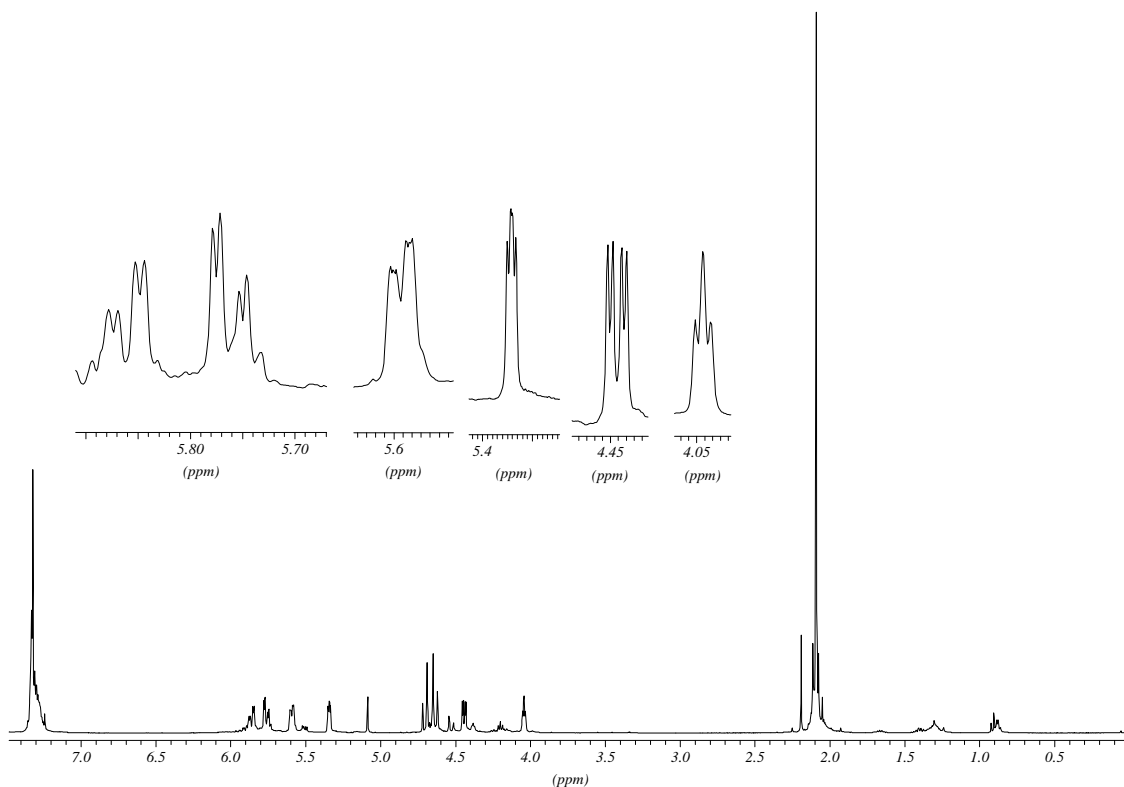
**IR-(KBr):**

$\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3400 (m, br, v [OH]); 3040 (w, v [CH<sub>olef, arom</sub>]); 2900, 2860 (w, v [CH<sub>ali</sub>]); 1500 (w, v [C=C<sub>arom</sub>]); 1450, 1370 (w,  $\delta$  [CH<sub>ali</sub>]); 1050 (m, v [C-O]); 735 u. 695 (m,  $\delta$  [CH<sub>arom</sub>] mono-subst. Arom.)

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.30 (CH/EE 1 : 1); 0.47 (CH/EE 1 : 2); 0.46 (CH/EE 1 : 3);  
0.20 (CH/EE 2 : 1); 0.40 (CH/EE 2 : 3); 0.21 (CH/EE 3 : 2)

**4.1.64 Darstellung von 1-O-Benzyl-3-brom-2,4-di-O-acetyl-5-cyclohexen (149)**

Zu 2 g (6,7 mmol) **139** wird unter Eiskühlung eine Mischung aus 20 ml Pyridin und 20 ml Essigsäureanhydrid gegeben. Die Reaktionslösung rührt über Nacht und wird anschließend im Hochvakuum weitmöglichst eingengt. Man erhält 2,5 g (98 %) eines gelben Öls.

**149**

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta$  = 2.09 (s, 6H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ ); 4.04 (t, 1H,  $J$  = 3.8 Hz, CH-1); 4.44 (dd,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 2.5 Hz, CH-3); 4.63 und 4.70 (2d, 2H, AB-System,  $J$  = 12.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.35 (dd, 1H,  $J$  = 4.1 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, CH-2); 5.59 (ddd, 1H,  $J$  = 6.6 Hz,  $J$  = 2.0 Hz,  $J$  = 1.0 Hz, CH-4); 5.76 (dd, 1H,  $J$  = 10.2 Hz,  $J$  = 3.0 Hz, CH-5); 5.86 (dd, 1H,  $J$  = 10.2 Hz,  $J$  = 3.5 Hz, CH-6); 7.26-7.37 (m, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

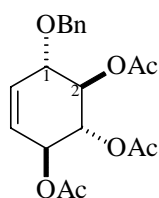
 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

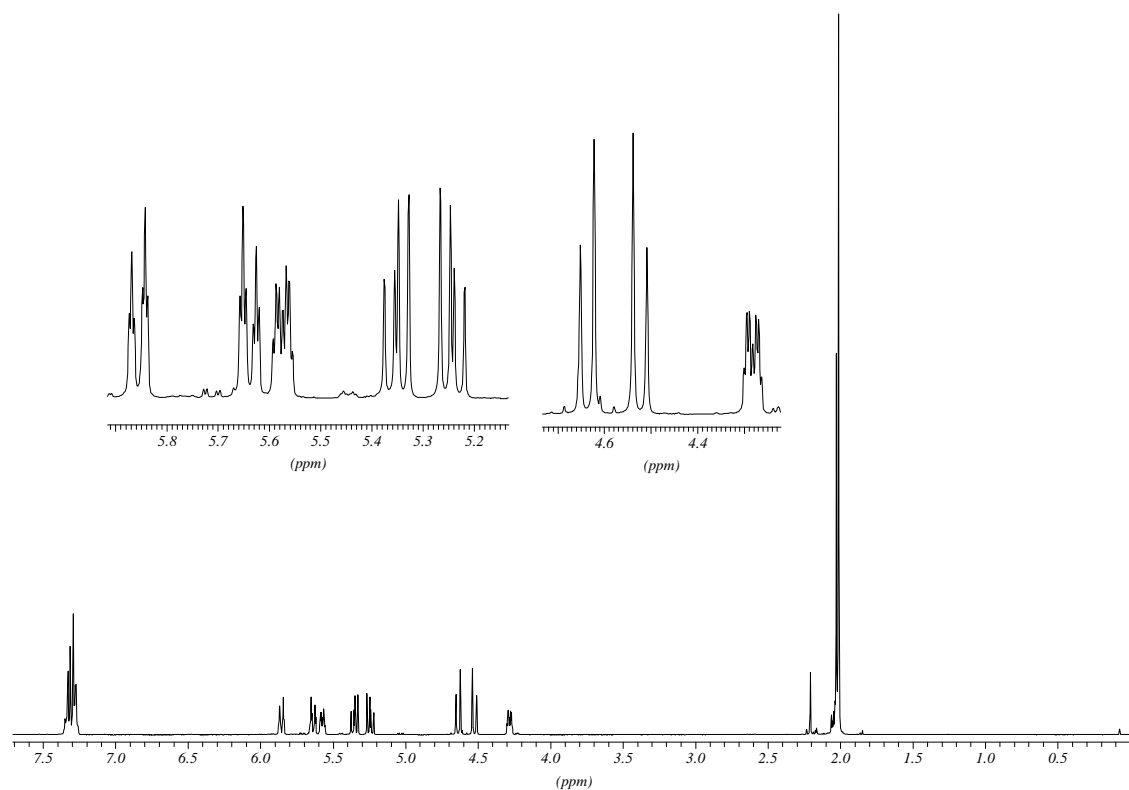
$\delta$  = 20.78 und 20.80 ( $2\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ ); 47.93 (CH, C-3); 71.40; 72.20; 73.38 ( $3\text{CH}$ , C-1, C-2 und C-4); 72.16 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 127.25 und 128.30 ( $2\text{CH}$ , C-5 und C-6); 127.71; 127.89; 128.43 ( $3\text{CH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 137.65 (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 170.01 (C,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ )

**4.1.65 Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-O-benzyl-konduritol B (150)**

10 ml abs. Essigsäure werden über Nacht mit 1 ml Essigsäureanhydrid unter Rückfluß erhitzt. 2 g (5,2 mmol) **149** und 2 g (12 mmol) Silberacetat werden unter wasserfreien Bedingungen zugegeben. Die Reaktionsmischung wird über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Bereits nach kurzer Zeit bildet sich ein gräulicher Niederschlag. Nach Beendigung der Reaktion gibt man 100 ml Diethylether zu und filtriert die Reaktionsmischung durch eine Glasfritte. Der Rückstand wird gründlich mit Diethylether nachgewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingengt, die verbliebene Essigsäure wird im Hochvakuum entfernt. Man erhält 1,8 g (42 %) eines bräunlichen Öls, das nach einiger Zeit kristallisiert.

Alternativ kann **150** auch durch Acetylierung des Triols **141** mit Essigsäureanhydrid und Pyridin geschehen.

**150**



### <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

$\delta$  = 2.01 (s, 3H, 2CH<sub>3</sub>C(O)); 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(O)); 4.28 (ddd, 1H, J = 7.8 Hz, J = 5.0 Hz, J = 2.7 Hz, CH-1); 4.52 und 4.66 (2d, 2H, J = 11.7 Hz, AB-System, CH<sub>2</sub>Ph); 5.24 (dd, 1H, J = 11.2 Hz, J = 8.1 Hz, CH-3); 5.35 (dd, J = 11.3 Hz, J = 8.1 Hz, CH-2); 5.57 (ddd, 1H, J = 7.6 Hz, J = 4.8 Hz, J = 2.5 Hz, CH-4); 5.62 (dt, 1H, J = 10.3 Hz, J = 2.3 Hz, CH-5 oder CH-6); 5.84 (dt, 1H, J = 10.7 Hz, J = 1.8 Hz, CH-5 oder CH-6); 7.25-7.36 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

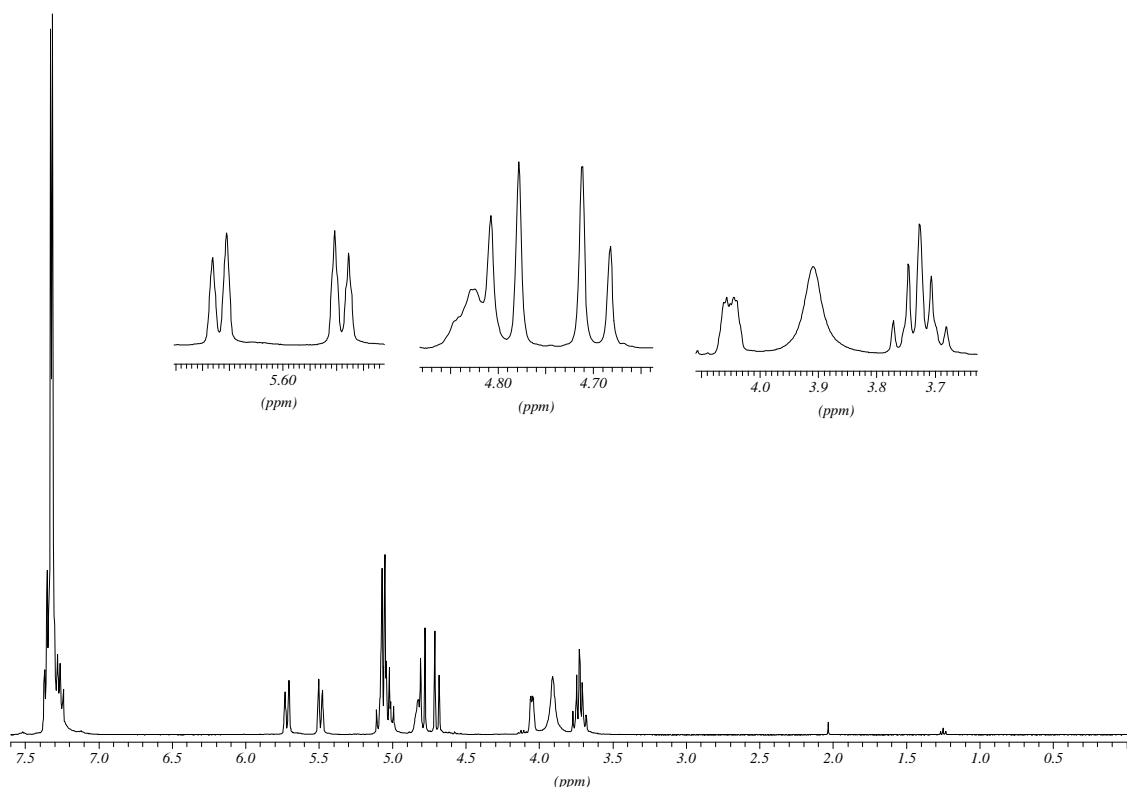
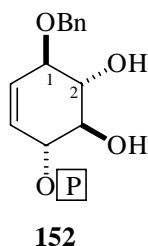
### <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)

$\delta$ [ppm] = 20.51; 20.60; 20.73 (3 CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 71.18 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 71.65 (CH, C-3); 71.79 (CH, C-4); 72.10 (CH, C-2); 76.45 (CH, C-1); 126.06 und 129.16 (2CH, C-5 und C-6); 127.71; 127.80; 128.35 (3CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.58 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 169.59; 169.96; 170.07 (3C, CH<sub>3</sub>C(O));

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.40 (CH/EE 1 : 1); 0.48 (CH/EE 1 : 2); 0.22 (CH/EE 2 : 1)

**4.1.66 Darstellung von 1-O-Benzyl-4-(di-O-benzyl-phospho-konduritol-B (152)**

3,07 g (14,1 mmol) **140/147** werden in 100 ml abs. Dichlormethan gelöst und mit 4,7 g (16,9 mmol, 1,2 eq.) Dibenzylphosphat versetzt. Die Lösung rührt über Nacht. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand aus viel Essigsäureethylester umkristallisiert. Man erhält 2,8 g (40 %) eines voluminösen, farblosen Feststoffs.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 3.71 (m, 2H, CH-2 und H-3); 4.05 (m, 1H, CH-1); 4.39 (s-b, OH); 4.69 und 4.79 (2d, 2H, AB-System,  $J = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.78 (m, 1H, CH-4); 4.97-5.11 (m, 5H, CH<sub>2</sub>-OP); 5.47 (dt, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-6); 5.72 (dt, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-5); 7.23 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 69.89 ( $\Psi_{\text{t}}$ , CH<sub>2</sub>, J = 5.6 Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 72.45 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 74.54 (d, CH, J = 3.0 Hz, C-3); 74.91 (s, CH, C-2); 78.37 (s, CH, C-1); 79.74 (d, CH, J = 5.1 Hz, C-4); 127.77 (d, CH, J = 7.1 Hz, C-5); 127.70; 127.77; 127.83; 127.98; 128.08; 128.30; 128.40; 128.45; 128.56; 128.65; 128.73 (11CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 130.3 (s, CH, C-6); 135.42; 135.48 (2C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>P); 138.31 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)**

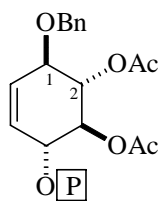
$\delta$  = 0.95

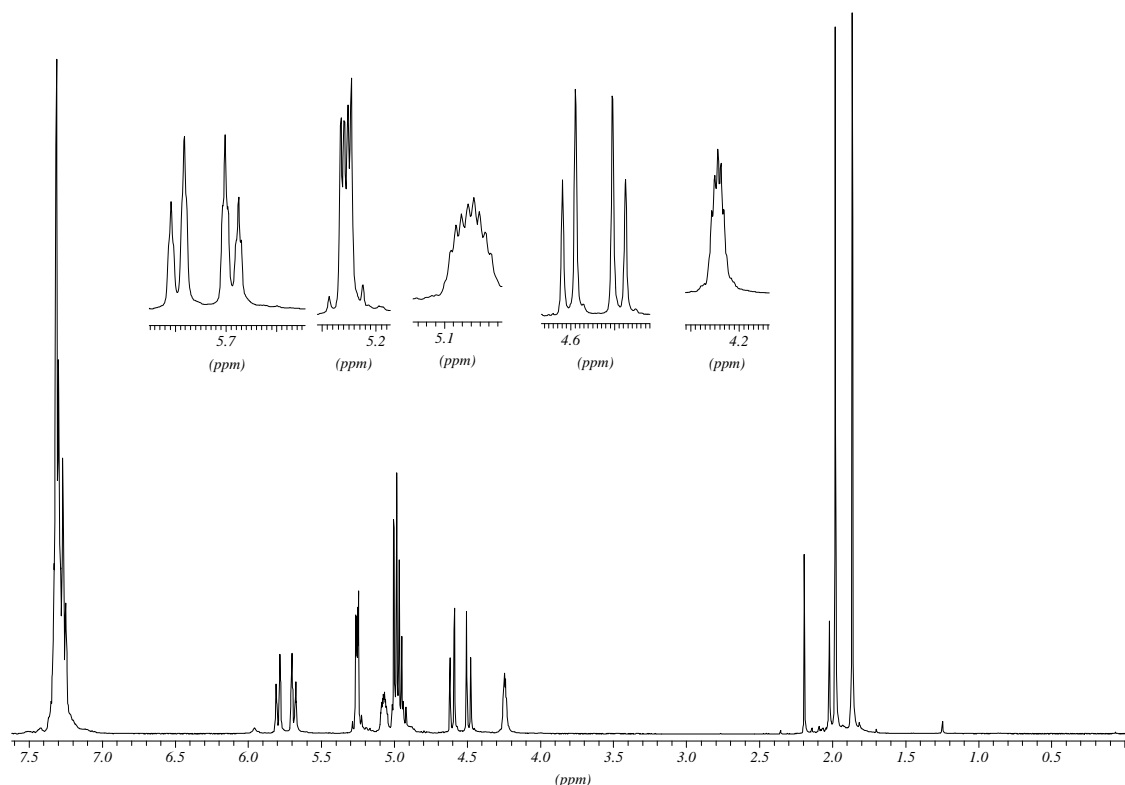
 **$^{31}\text{P}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)**

$\delta$  = 0.95 ( $\Psi_{\text{sext}}$ , J(P, H) = 8.0 Hz)

**4.1.67 Darstellung von 2,3-Di-O-acetyl-1-O-benzyl-4-(di-O-benzyl-phospho-konduritol-B (191)**

200 mg (0,40 mmol) **152** werden unter Eiskühlung mit einer Mischung aus 5 ml Essigsäureanhydrid und 5 ml Pyridin versetzt. Die Lösung rührt über Nacht. Anschließend werden die flüchtigen Anteile der Reaktionsmischung im Hochvakuum entfernt. Man erhält 230 mg (98 %) eines gelben Öls.

**191**



### $^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)

$\delta = 1.86$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $1.98$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $4.24$  (m, 1H, CH-1);  $4.49$  und  $4.60$  (2d, 2H, AB-System,  $J = 12.0$  Hz, C-1-Benzyl);  $4.98$  (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-OP}$ );  $5.07$  (m, 1H, CH-4);  $5.25$  (dd, 2H,  $J = 5.3$  Hz,  $J = 2.3$  Hz, CH-2 und CH-3);  $5.69$  (dt, 1H,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, CH-6);  $5.80$  (dt, 1H,  $J = 10.2$  Hz,  $J = 1.6$  Hz, CH-5);  $7.23\text{-}7.35$  (m, 15H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)

$\delta = 20.42$  und  $20.62$  ( $2\text{CH}_3$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}(\text{O})$ );  $69.49$  (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J = 5.1$  Hz,  $\text{POCH}_2\text{C}_5\text{H}_6$ );  $71.37$  ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ );  $72.00$  (CH, C-2);  $72.26$  (d, CH,  $J = 6.1$  Hz, C-3);  $76.07$  (d, CH,  $J = 6.1$  Hz, C-4);  $76.42$  (CH, C-1);  $126.49$  (d, CH,  $J = 3.1$  Hz, C-5);  $127.77$ ;  $127.88$ ;  $127.91$ ;  $128.41$ ;  $128.55$ ; ( $5\text{CH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $129.27$  (d, CH,  $J = 3.1$  Hz, C-6);  $135.48$  (d, C,  $J = 4.1$  Hz,  $\text{POCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ );  $135.55$  (d, C,  $J = 3.1$  Hz,  $\text{POCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ );  $137.13$  (C,  $\text{C}_6\text{H}_5$ );  $169.64$ ;  $169.97$  ( $2\text{C}$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ )

### $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 161 MHz)

$\delta = -0.69$

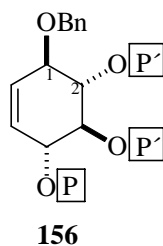
### $^{31}\text{P-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 161 MHz)

$\delta = -0.69$  ( $\Psi_{\text{sext}}$ ,  $J(\text{P}, \text{H}) = 8.0$  Hz)

**4.1.68 Darstellung von 1-O-Benzyl-2,3-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-4-(di-O-benzyl)-phospho-konduritol-B (156)**

Zu einer Suspension aus 420 mg (6 mmol) 1*H*-Tetrazol und 300 mg Konduritol **152** (0,6 mmol) in 30 ml abs. Dichlormethan werden unter inerten Bedingungen 450 mg (1,88 mmol, 1,5 eq.) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 1 g (4,1 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhält 570 mg (92 %) **156** als farblosen Schaum.

Das Produkt kann säulenchromatographisch gereinigt werden (Dichlormethan:Methanol 96:4).

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 4.35 (m, 1H, CH-1 oder CH-4); 4.69-5.26 (m, 15H); 5.45-5.58 (m, 2H); 5.77 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz, CH-5 oder CH-6); 5.86 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz, CH-5 oder CH-6); 7.26-7.36 (m, 18H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 68.32 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 6.1 Hz); 68.79 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 7.1 Hz); 68.97 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 7.1 Hz); 69.10 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 8.1 Hz); 69.61 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 6.1 Hz); 69.78 (d, CH<sub>2</sub>, *J* = 6.1 Hz); 79.19 (s, CH<sub>2</sub>, C1-OBn); 76.68; 77.63 (2C); 78.44 (3CH, jeweils m, C-1 bis C-4); 125.97 und 130.18 (CH, C-5 und C-6); 127.78; 127.83; 127.91; 128.10; 128.35; 128.47; 128.51; 128.61; 128.77; 128.87; 128.95; 129.10 (12CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 134.38; 134.88; 135.03; 135.17; 135.30; 135.46; 135.54; 135.62; 136.94; 1377.45 (10C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)



**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)**

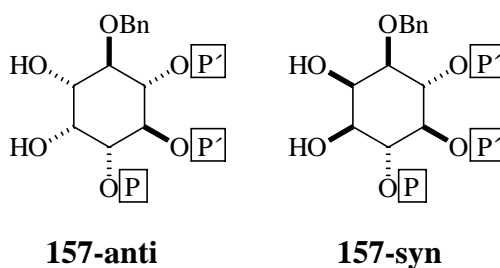
$\delta = -1.96$  (PC-2 oder PC-3);  $-0,80$  (PC-4);  $-0,29$  (PC-2 oder PC-3)

 **$^{31}\text{P}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)**

$\delta = -1.96$  (m);  $-0,80$  ( $\Psi_{\text{sext}}$ ,  $J(\text{P}, \text{H}) = 7.5$  Hz);  $-0,29$  (m)

**4.1.69 Darstellung von 1-O-Benzyl-5, 6-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-4-(di-O-benzyl)-phospho-konduritol-B (157-syn) und 6-O-Benzyl-4, 5-bis-O-(2-oxo-5,6-benzo-1,3,2-dioxaphosphep-2-yl)-3-(di-O-benzyl)-phospho-konduritol-B (157-anti)**

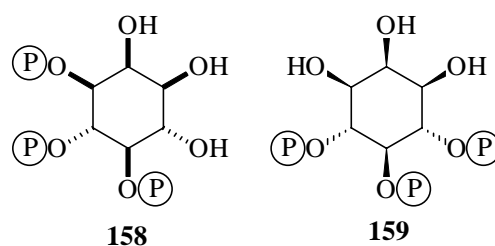
300 mg (0,35 mmol) **156** werden in einem Gemisch aus 15 ml Acetonitril gelöst. Die Lösung wird im Eisbad gekühlt. Es wird eine Lösung aus 112 mg (1,5 mmol) Natriummetaperiodat und 9 mg Rutheniumtrichlorid zugegeben. Nach 12 min. wird die Reaktion durch Eingießen in 100 ml 20 % Natriumthiosulfat-Lösung abgebrochen. Die wäßrige Phase wird sechsmal mit 50 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Man erhält 310 mg (99 %) eines farblosen Feststoffs. Das Verhältnis der Isomeren **157-anti** zu **157-syn** kann durch  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren abgeschätzt werden und beträgt ca. 2:1.

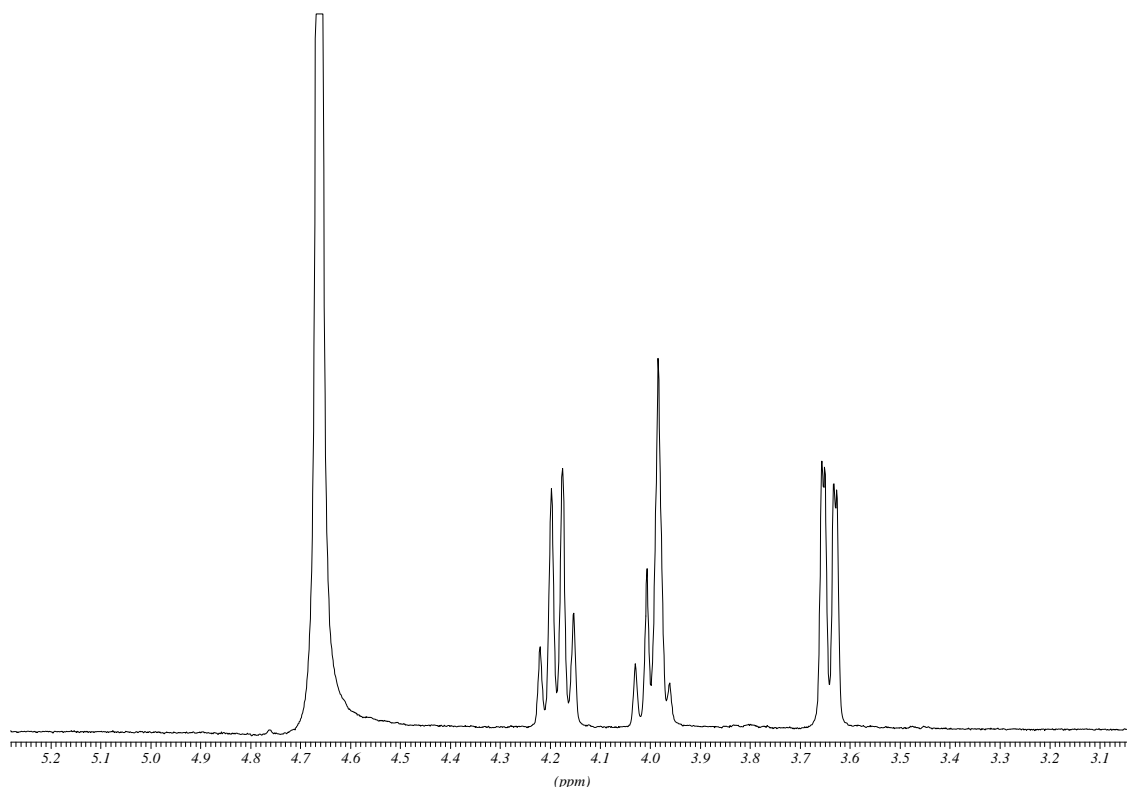
 **$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta = 70.97$  (s, CH);  $71.45$  (s, CH);  $76.99$  (m, CH);  $77.99$  (m, CH);  $78.07$  (m, CH);  $79.66$  (s, CH) (6CH, **157-anti**);  $70.81$  (s, CH);  $77.30$  (m, CH);  $78.70$  (m, CH);  $78.98$  (m, CH);  $80.31$  (m, CH) (5CH, **157-syn**);  $72.48$  (CH<sub>2</sub>, OBn-**157-anti**);  $71.70$  (CH<sub>2</sub>, OBn-**157-syn**);  $70.44$  (dd, CH<sub>2</sub>,  $J = 12.2$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, CH<sub>2</sub>-OP);  $68.8369.67$  (m, CH<sub>2</sub>);  $67.46$  (d, CH<sub>2</sub>,  $J = 6.1$  Hz);  $127.50-130.76$  (CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>);  $135.07-138.27$  (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> und C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)** $\delta = -0.35; -1.26; -1.74$  (**157-syn**);  $-0.01; -1.34; -1.58$  (**157-anti**)**4.1.70 Darstellung von *Ins(4,5,6)P<sub>3</sub>* (**159**) und  $(\pm)$ -*Ins(3,4,5)P<sub>3</sub>* (**158**)**

100 mg Palladium auf Kohle (Degussa NW/10) werden in 10 ml Ethanol und 20 ml Wasser suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Das Gemisch rührt 30 min. Anschließend werden 190 mg (0,21 mmol) Triphospho-Inositol-Gemisch **157** in 20 ml Ethanol aufgenommen und der Katalysatorsuspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und 36 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Zu der Lösung werden 100 ml Wasser gegeben. Nach weiteren 15 min. Rührens wird der Katalysator abfiltriert, das Ethanol im Hochvakuum weitgehend entfernt und der Rest der Lösung lyophilisiert. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Man erhält 90 mg (100 %) eines leicht gelblichen Schaums. Nach Aufreinigung von ca. 50 % der erhaltenen Menge über HPLC (saurer System) erhält man 10 mg (24  $\mu\text{mol}$ ) *Ins(4,5,6)P<sub>4</sub>* (**159**) und 20 mg (48  $\mu\text{mol}$ ) *Ins(3,4,5)P<sub>4</sub>* (**158**).

**HPLC (Mono-Q): 158:** 30.0 min. (HCl-System)**159:** 32,9 min (HCl-System)Analytische Daten für **158**: Siehe S. 266.

Analytische Daten für 159: **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH auf 8.5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$\delta = 3,64$  (dd, 2H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 2.0$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) = 9.7$  Hz, CH-1 und CH-3); 3.98 ( $\Psi\text{s}$ , 1H, CH-2); 4.00 ( $\Psi\text{q}$ , 1H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 9.2$  Hz, CH-5); 4.19 ( $\Psi\text{q}$ , 2H,  $^3\text{J}(\text{H}, \text{H}) \approx ^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 9.0$  Hz, CH-4 und CH-6)

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH auf 8.5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$\delta = 71.33$  (s, CH, C-2); 71.69 (s, CH, C-1 und C-3); 75.94 (m, CH, C-4 und C-6); 78.00 (m, CH, C-5)

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 161 MHz, pH auf 8.5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

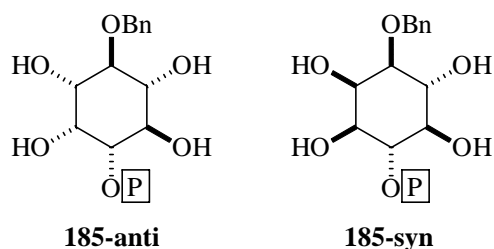
$\delta = 2.07$  (PC-5); 5.67 (PC-4 und PC-6)

 **$^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 161 MHz, pH auf 8.5 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$\delta = 2.07$  (d, 1P,  $^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 9.4$  Hz, PC-5); 5.67 (d, 2P,  $^3\text{J}(\text{P}, \text{H}) = 8.3$  Hz, PC-4 und PC-6)

#### 4.1.71 Darstellung von 1-O-Benzyl-4-(di-O-benzyl)-phospho-inositol (**185-syn**) und 6-O-Benzyl-3-(di-O-benzyl)-phospho-inositol (**185-anti**)

500 mg (1,0 mmol) **152** werden in einem Gemisch aus 10 ml Acetonitril und 10 ml Dichlormethan gelöst. Die Lösung wird im Eisbad gekühlt, dabei fallen Teile des Edukts aus. Es wird eine Lösung aus 320 mg (1,5 mmol) Natriummetaperiodat und 26 mg (0,1 mmol) Rutheniumtrichlorid zugegeben. Nach 7 min. wird die Reaktion durch Eingießen in 100 ml 20 % Natriumthiosulfat-Lösung abgebrochen. Die wäßrige Phase wird sechsmal mit 50 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt. Man erhält 530 mg (100 %) eines farblosen Feststoffs. Das Verhältnis der Isomeren **185-anti** zu **185-syn** kann durch  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren abgeschätzt werden und beträgt 2,3:1.



#### $^1\text{H}$ -NMR ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz)

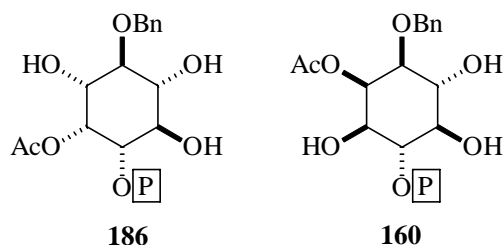
$\delta$  = 3.19 (m), 3.37(m), 3.43 (m); 3.66 (m); 3.99 (m); 4.36 und 4.91 (2d, AB-System,  $J$  = 9.7 Hz); 4.56 und 4.64 (2d, AB-System,  $J$  = 12.2 Hz); 4.76 (m); 4.91 (t,  $J$  = 5.6 Hz); 4.96 (d,  $J$  = 5.1 Hz); 5.07 (m); 5.12 (dd,  $J$  = 9.4 Hz,  $J$  = 4.8 Hz); 7.19-7.40 (m)

#### $^{13}\text{C}$ -NMR ( $d_6$ -DMSO, 101 MHz)

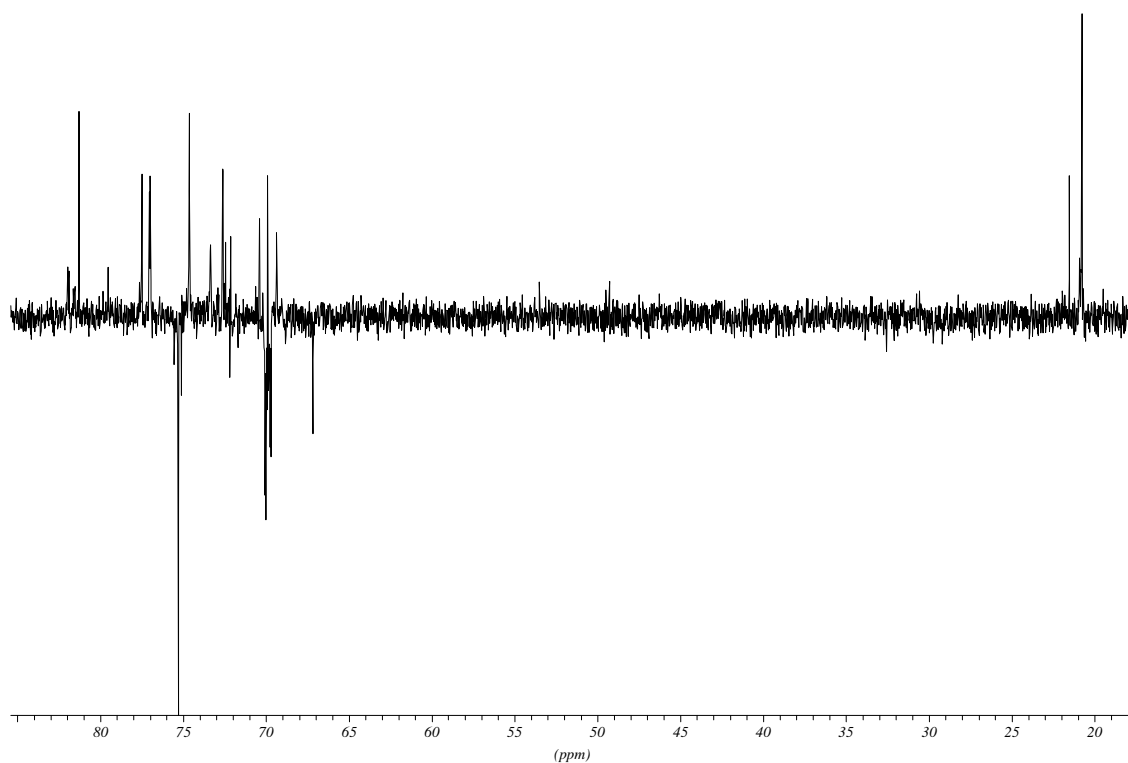
$\delta$  = [69.52 (CH); 70.29 (d, CH,  $J$  = 2.9 Hz); 72.00 (CH); 73.43 (d, CH,  $J$  = 2.9 Hz); 79.47 (CH); 81.79 (d, CH,  $J$  = 7.6 Hz) (6CH, **185-syn**); [70.81 (CH); 71.09 (d, CH,  $J$  = 6.7 Hz); 7.49 (CH); 74.43 (CH); 78.91 (d, CH,  $J$  = 5.7 Hz); 81.50 (CH) (6CH, **185-anti**); 68.33 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J$  = 5.7 Hz,  $\text{POCH}_2\text{Ph}$ ); 68.68 (d,  $\text{CH}_2$ ,  $J$  = 5.3 Hz,  $\text{POCH}_2\text{Ph}$ ); 71.09 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ , **185-syn**); 73.43 ( $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ , **185-anti**); 126.86-128.33 (17CH,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 136.26 und 136.34 (je d, C,  $J$  = 4.1),  $\text{POC}_6\text{H}_5$  von **185-syn**); 136.50 und 136z.67 (d, C,  $J$  = 2.0 Hz,  $\text{OPC}_6\text{H}_5$  von **185-anti**); 139.19 (C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  von **185-syn**); 139.77 (C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  von **185-anti**)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{d}_6$ -DMSO, 161 MHz)** $\delta = -0.54$  (**185-anti**);  $0.33$  (**185-syn**) **$^{31}\text{P}$ -NMR ( $\text{d}_6$ -DMSO, 161 MHz)** $\delta = -0.54$  ( $\Psi_{\text{sext}}$ ,  $J = 7.2$  Hz, **185-anti**);  $0.33$  (m, **185-syn**)**4.1.72 Darstellung von 2-O-Acetyl-1-O-benzyl-4-(di-O-benzyl)-phospho-konduritol-B (160) und 2-O-Acetyl-6-O-benzyl-3-(di-O-benzyl)-phospho-konduritol-B (186)**

300 mg (0,57 mmol) **185** werden mit einer Spatelspitze PTS in 50 ml abs. THF gelöst. Es werden 0,6 ml (4,4 mmol) Orthoessigsäuretriethylester zugegeben. Die Reaktionslösung rührt drei Tage. Anschließend wird die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt und mit 20 ml 80 %-iger Essigsäure 1 h gerührt. Die Lösung wird im Vakuum erneut zur Trockne eingengt, der Rückstand in Dichlormethan (100 ml) aufgenommen und zweimal mit ges. Natriumhydrogencarbonat- und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird anschließend über Manganiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 298 mg (92 %) eines gelblichen Feststoffs.

 **$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.03$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ , **186**);  $2.05$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ , **160**);  $3.36$  (m);  $3.52$  (t, 1H,  $J = 9.4$  Hz, **186**);  $3.57$ - $3.77$  (m);  $4.18$  (dt,  $J = 2.8$  Hz,  $J = 9.4$  Hz, CH-1 oder CH-3 **186**);  $4.38$  (m);  $4.43$  und  $4.69$  (2d, 2H, AB-System,  $J = 11.2$  Hz, **186**);  $4.74$ - $5.09$  (m);  $5.53$  (s, 1H, CH-2 **186**);  $5.61$  (s, 1H, CH-2 **160**);  $7.10$ - $7.37$  (m,  $\text{C}_6\text{H}_5$ )

**$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)****186:** (Zuordnung nach Signalintensität)

$\delta = 20.77$  (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 69.35 (d, CH, J = 3.8 Hz); 69.91 (CH); 72.60 (d, CH, J = 2.9 Hz); 74.63 (CH); 77.02 (d, CH, J = 6.7 Hz); 81.30 (CH); 69.67-70.14 (m, CH<sub>2</sub>); 75.31 (CH<sub>2</sub>, OBn); 127.79-128.77 + 130.02 (m, CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.60-135.91 (m, C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 138.72 (C, OBn); 170.77 (C, CH<sub>3</sub>C(O))

**160:**

21.54 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 70.40 (CH); 72.15 (CH); 72.44 (CH); 77.37 (d, CH, J=3.8 Hz); 77.51 (CH); 81.89 (d, CH, J = 6.7 Hz); 69.67-70.14 (m, CH<sub>2</sub>); 67.19 (CH<sub>2</sub>, OBn); 127.79-128.77 + 130.02 (m, CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 135.60-135.91 (m, C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.53 (C, OBn); 171.07 (C, CH<sub>3</sub>C(O))

 **$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>, 161 MHz)**

$\delta = -0.52$  (**186**); 0.16 (**160**)

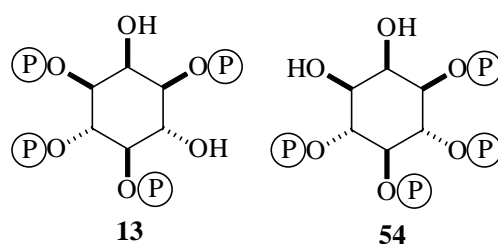
**HR-MS (ESI-+)**

$m/z$ : 573.1890 (C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>O<sub>10</sub>P) gef. 573.1906 [M+H]<sup>+</sup>

**4.1.73 Darstellung von ( $\pm$ )-Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> (13) und ( $\pm$ )-Ins(1,4,5,6)P<sub>4</sub> (54)**

Zu einer Suspension aus 175 mg (2.5 mmol, 1,7 eq. pro OH-Gruppe) 1*H*-Tetrazol und 210 mg (0,37 mmol) eines Gemisches der beiden Verbindungen **160** und **186** in 30 ml abs. Dichlormethan werden unter inerten Bedingungen 457 mg (1,91 mmol, 1,3 eq. pro OH-Gruppe) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 1 g (4,1 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es verbleiben 400 mg (97 %) eines farblosen Schaums, die direkt einer Hydrogenolyse unterworfen werden.

300 mg Palladium auf Kohle (Degussa NW/10) werden in 10 ml Ethanol und 20 ml Wasser suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Das Gemisch rührt 30 min. Anschließend werden 200 mg (0,18 mmol) des Inositol-Gemischs **161/162** in 20 ml Ethanol aufgenommen und der Katalysatorsuspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und 36 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Zu der Lösung werden 100 ml Wasser gegeben. Nach weiteren 15 min. Rührens wird der Katalysator abfiltriert, das Ethanol im Hochvakuum weitgehend entfernt und der Rest der Lösung lyophilisiert. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Der verbliebene Rückstand wird unter Eiskühlung in 20 ml 0,25 M NaOH aufgenommen. Die Lösung rührt zur Abspaltung der Acetat-Gruppen über Nacht bei Raumtemperatur nach. Die Lösung wird neutralisiert und kann direkt zur ionenchromatographischen Aufreinigung eingesetzt werden. Diese Aufreinigung wird zur Zeit durchgeführt, HPLC-Chromatogramme liegen bereits vor und bestätigen die erfolgreiche Freisetzung. Das Verhältnis von **13** zu **54** beträgt ca. 2:1.



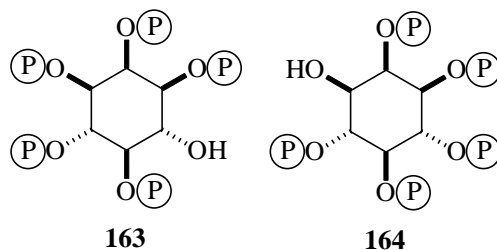
**HPLC (Mono-Q)**    **13:** t = 37.25 min (saures System).

**54:** t = 44.00 min.(saures System)

**4.1.74 Darstellung von ( $\pm$ )-Ins(1,2,3,4,5)P<sub>5</sub> (163) und ( $\pm$ )-Ins(1,3,4,5,6)P<sub>5</sub> (164)**

Zu einer Suspension aus 84 mg (1,2 mmol) 1*H*-Tetrazol und 80 mg (0,15 mmol) des Gemisches der beiden Diastereomere **185-anti** und **185-syn** in 30 ml abs. Dichlormethan werden unter inerten Bedingungen 188 mg (0,8 mmol, 1,3 eq. pro OH-Gruppe) Phosphorylierungsmittel **55** gegeben. Die Lösung rührt über Nacht, wird auf -40 °C gekühlt und mit einer Lösung von 1 g (4,1 mmol) trockener, 70 %-iger *m*-CPBA in 20 ml Dichlormethan versetzt. Die Lösung rührt 30 min. bei -40 °C und wird dann langsam auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Lösung wird zweimal mit 20%-iger Natriumsulfit-Lösung, dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, die organische Phase wird getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhält 190 mg (100 %) **162** als fast farblosen Schaum.

300 mg Palladium auf Kohle (Degussa NW/10) werden in 10 ml Ethanol und 20 ml Wasser suspendiert und mit Wasserstoff überlagert. Das Gemisch rührt 30 min. Anschließend werden 190 mg (0,15 mmol) des Inositol-Gemischs **162** in 20 ml Ethanol aufgenommen und der Katalysatorsuspension zugegeben. Die Reaktionslösung wird erneut mit Wasserstoff überlagert und 36 h unter Wasserstoff-Atmosphäre gerührt. Zu der Lösung werden 100 ml Wasser gegeben. Nach weiteren 15 min. Rührens wird der Katalysator abfiltriert, das Ethanol im Hochvakuum weitgehend entfernt und der Rest der Lösung lyophilisiert. Der Rückstand wird in 5 ml Wasser aufgenommen und erneut lyophilisiert. Man erhält 80 mg (92 %) eines leicht gelblichen Schaums. Die Aufreinigung findet zur Zeit statt, HPLC-Chromatogramme liegen bereits vor und bestätigen die erfolgreiche Freisetzung. **164** und **163** liegen demnach (wie erwartet) im Verhältnis 2:1 in der Reaktionslösung vor.



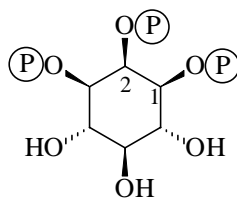
**HPLC (Mono-Q)**    **163:** t = 47.7 min (saures System).

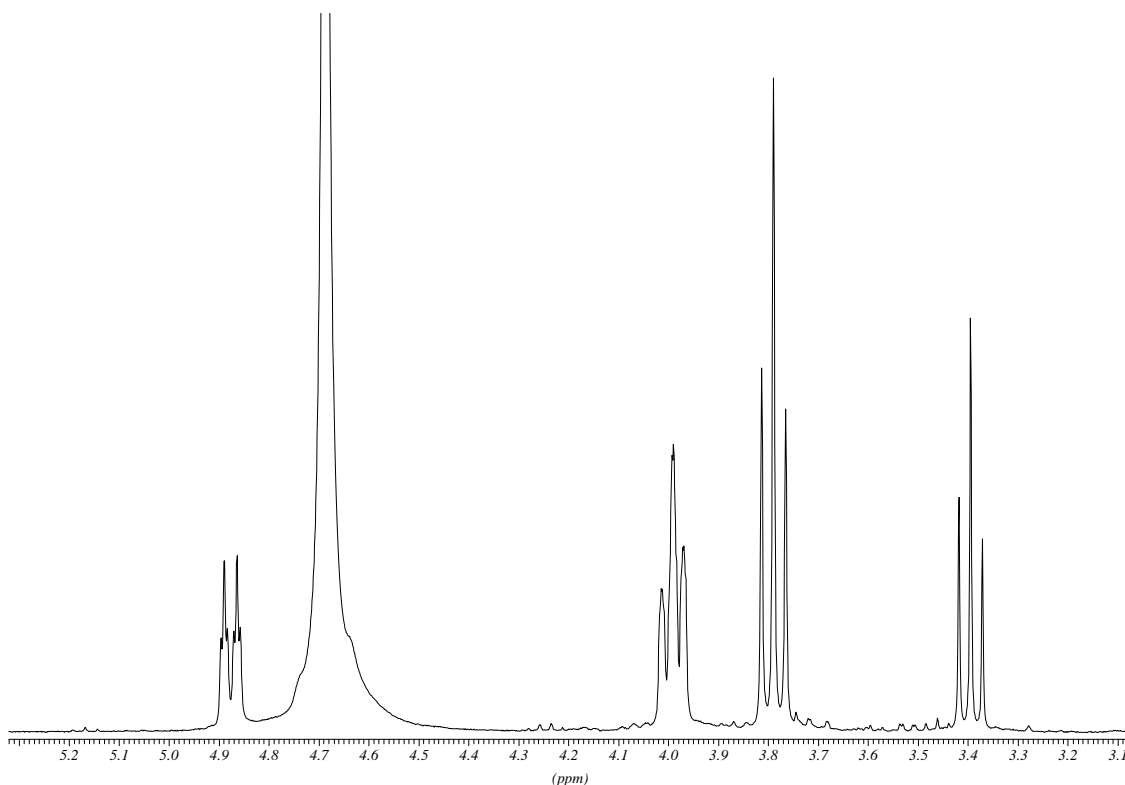
**164:** t = 53.7 min. (saures System)



**4.1.75 Darstellung von myo-Inositol-1,2,3-Trisphosphat (166)**

Die enzymatische Reaktion wird bei Raumtemperatur auf einem Reziprokschüttler durchgeführt (70 rpm). Die Endpufferkonzentration entspricht dabei der für den  $\text{InsP}_5/\text{InsP}_4$ -Phosphohydrolase-Aktivitäts-Assay verwendeten Konzentration (d.h.: 50 mM Mes/ $\text{Na}^+$ , 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,1 % Triton X-100 hydr. (Calbiochem), pH 5.5). Es wird bei einer Substratkonzentration von 300  $\mu\text{M}$  racemischem **61** und einer Volumenaktivität von ca. 3-3.5 mU/ml (was 50-75 % der Gesamtaktivität eines Extraktes aus  $10^{10}$  Zellen entspricht) gearbeitet. Nach ca. 1,5 h war das eingesetzte Tetrakisphosphat vollständig umgesetzt. Abhängig von der Menge freigesetzten Phosphats wurde dreimal neues Substrat zugegeben. Um die Vollständigkeit des Umsatzes zu überprüfen, wurde ein Aliquot mittels HPLC-MDD (saures System) untersucht. Nach Reaktionskontrolle wurde die Reaktion durch Zugabe von 3 ml 0.5 M HCl gestoppt. Der pH der Reaktionslösung wurde auf 6 eingestellt und der gebildete Niederschlag durch Zentrifugation abgetrennt (6000g, 15 min. Raumtemperatur. Der Überstand wurde um einen Faktor 10 mit Wasser verdünnt und ionenchromatographisch durch HPLC aufgearbeitet. Eine exakte Quantifizierung der erhaltenen Inositolmenge erfolgte durch Bestimmung des Phosphatgehaltes, die erzielte Ausbeute nach Chromatographie betrug ca. 65 % (10  $\mu\text{mol}$ ).

**166**



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ )):**

$\delta = 3.39$  (t, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_4, \text{H}_5) = ^3\text{J}(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.41$  Hz, CH-5);  $3.79$  (t, 2H,  $J = 9.7$  Hz, CH-4 und CH-6);  $3.99$  ( $\Psi$ t,  $J = 9.2$  Hz, CH-1 und CH-3);  $4.88$  (dt, 1H,  $^3\text{J}(\text{H}_1, \text{H}_2) = ^3\text{J}(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.6$  Hz,  $^3\text{J}(\text{H}_2, \text{P}) = 10.2$  Hz, CH-2)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 101 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$71.73$  (d, 2C, CH,  $J = 6.8$  Hz, C-4 und C-6),  $73.80$  (CH, C-5),  $74.36$  (d CH,  $J = 6.2$  Hz, C-2),  $74.68$  (dd, 2C, CH,  $J = 2.9$  Hz,  $J = 5.7$  Hz, C-1 und C-3)

**$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 162 MHz, pH auf 6 eingestellt ( $\text{ND}_4\text{OD}$ ))**

$2.22$  (PC-1 und PC-3);  $2.16$  (PC-2)

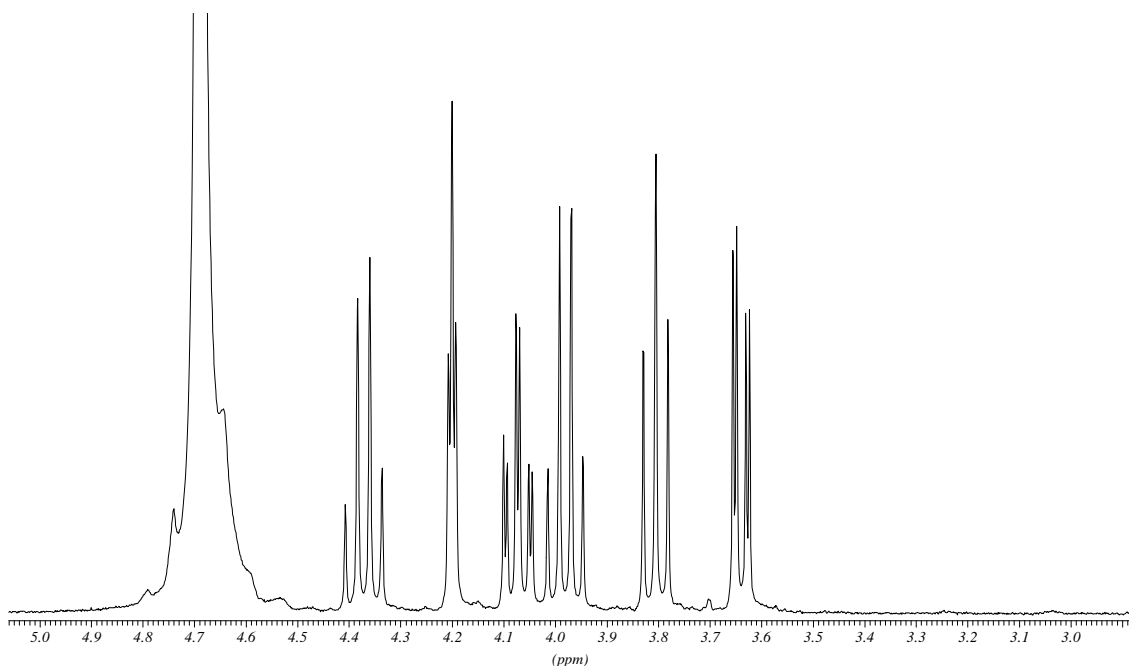
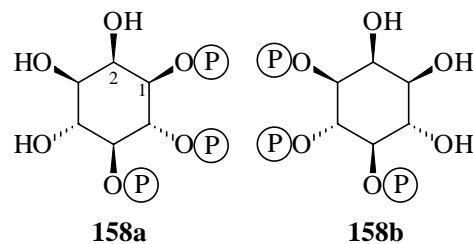
**HPLC** (Mono-Q): 37.6 min. (alk. System)

#### 4.1.76 Darstellung von myo-Inositol-1,5,6-trisphosphat (158)

Die enzymatische Reaktion wird bei Raumtemperatur auf einem Reziproschüttler durchgeführt (70 rpm). Die Endpufferkonzentration entspricht dabei der für den  $\text{InsP}_4/\text{InsP}_5$ -Phosphohydrolase-Aktivitäts-Assay verwendeten. Es wird bei einer Substratkonzentration von

300  $\mu\text{M}$  **54** und einer Volumenaktivität von ca. 3-3.5 mU/ml (was 50-75 % der Gesamtaktivität eines Extraktes aus  $10^{10}$  Zellen entspricht) gearbeitet. Nach ca. 1,5 h war das eingesetzte Tetrakisphosphat **54** vollständig umgesetzt. Abhängig von der Menge freigesetzten Phosphats wurde dreimal neues Substrat zugegeben. Um die Vollständigkeit des Umsatzes zu überprüfen, wurde ein Aliquot mittels HPLC-MDD (saures System) untersucht. Nach Reaktionskontrolle wurde die Reaktion durch Zugabe von 3 ml 0.5 M HCl gestoppt. Der pH der Reaktionslösung wurde auf 6 eingestellt und der gebildete Niederschlag durch Zentrifugation abgetrennt (6000g, 15 min. Raumtemperatur. Der Überstand wurde um einen Faktor 10 mit Wasser verdünnt und ionenchromatographisch durch HPLC aufgearbeitet. Eine exakte Quantifizierung der erhaltenen Inositolmenge erfolgte durch Bestimmung des Phosphatgehaltes, die erzielten Ausbeuten nach Chromatographie betragen 70-80 % (10-12  $\mu\text{mol}$ ). Bei der Darstellung von **158a** wird zusätzlich ein  $\text{InsP}_2$ -Isomer erhalten, das als  $\text{Ins}(1,6)\text{P}_2$  (**165a**) identifiziert werden konnte.

Zur Darstellung von **158a** wird **54a** eingesetzt, zur Synthese von **158b** das andere Enantiomer **54b**.



**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz, pH auf 6 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD)):**

$\delta = 3.64$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.0$  Hz,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 10.1$  Hz, CH-3);  $3.80$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 9.6$  Hz, CH-4);  $3.98$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_5, \text{P}) = 9.0$  Hz, CH-5);  $4.07$  (d $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 3.0$  Hz,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_1, \text{P}) = 9.7$  Hz, CH-1);  $4.20$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 3.0$  Hz, CH-2);  $4.37$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_6, \text{P}) = 9.3$  Hz, CH-6).

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz, pH auf 6 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

$\delta = 70.60$  (d, CH,  $J = 2.7$  Hz, C-3),  $73.75$  (CH, C2),  $74.04$  (d, CH,  $J = 3.0$  Hz, C-4),  $77.05$  (dd, CH,  $J = 2.0$  Hz,  $J = 6.0$  Hz, C-1),  $78.42$  (m, CH, C-6),  $80.76$  (dd, CH,  $J = 3.0$  Hz,  $J = 6.1$  Hz, C-5)

**<sup>31</sup>P-NMR (D<sub>2</sub>O, 162 MHz, pH auf 6 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

$\delta = 2.17$  (PC-1);  $2.77$  (PC-5);  $2.87$  (PC-6)

**MS (+-ion FAB)**

$m/z$ : 420.9 [ $\text{M}^+$ , 16], 277.2 [5], 202.1 [22] 185.1 [80], 110.2 [100]

**HR-MS**

$m/z$ : 420.966 [ $\text{M}+\text{H}]^+$ , calcd for  $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{O}_{15}\text{P}_3$  420.9702

**HPLC (Mono-Q): 30.0 min. (HCl-System)**

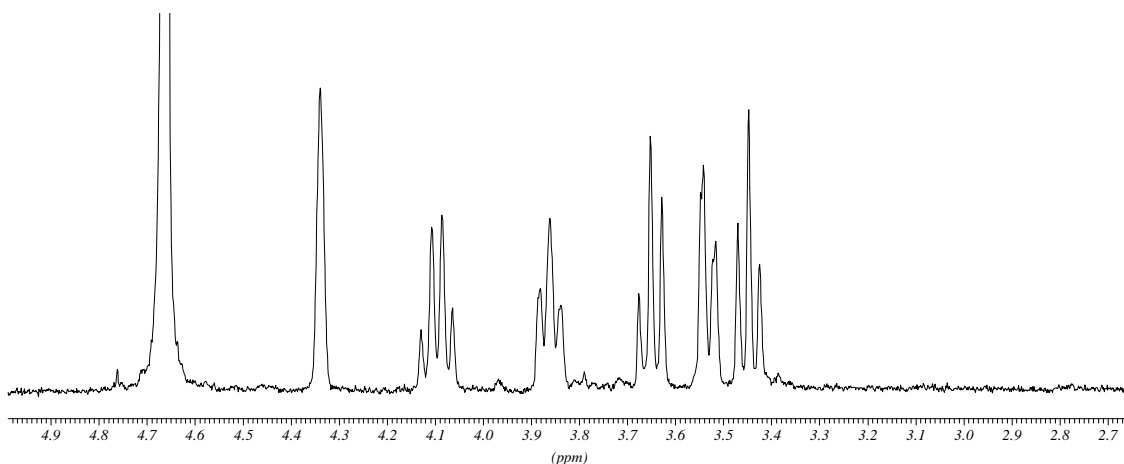
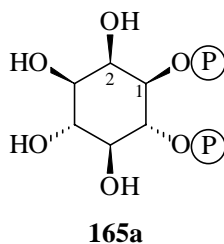
**Drehwert für D-myoinositol-1,5,6 -trisphosphat (158a)**

$[\alpha]_D^{20} = +2.2^\circ$  (c = 2.3, H<sub>2</sub>O, freie Säure)

Lit<sup>145</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = -2.8^\circ$  (c = 1.43, H<sub>2</sub>O, Na<sup>+</sup>-Salz);

**Drehwert für D-myoinositol-3,4,5 -tetrakisphosphat (54b)**

$[\alpha]_D^{20} = -4.6^\circ$  (c = 1.4, H<sub>2</sub>O, freie Säure)

Nebenprodukt bei der Darstellung von **158a**: Ins(1,6)P<sub>2</sub>

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz, pH auf 9,5 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD)):**

$\delta = 3.45$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) \approx ^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) = 9.2$  Hz, CH-5);  $3.56$  (dd, 1H,  $^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 10.2$  Hz, CH-3);  $3.65$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_3, \text{H}_4) \approx ^3J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 9.7$  Hz, CH-4);  $3.86$  (d $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 2.0$  Hz,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_1, \text{P}) = 9.2$  Hz, CH-1);  $4.10$  ( $\Psi$ q, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_5, \text{H}_6) \approx ^3J(\text{H}_6, \text{P}) = 8.7$  Hz, CH-6);  $4.34$  ( $\Psi$ t, 1H,  $^3J(\text{H}_1, \text{H}_2) \approx ^3J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 2.5$  Hz, CH-2);

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 101 MHz, pH auf 9,5 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

$\delta = 70.80$  (s, CH);  $71.45$  (s, CH);  $72.76$  (s, CH);  $73.75$  (t, CH,  $J = 5.7$  Hz);  $75.20$  (s, CH);  $75.59$  (dd, CH,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 5.7$  Hz);

**<sup>31</sup>P-NMR (D<sub>2</sub>O, 162 MHz, pH auf 9,5 eingestellt (ND<sub>4</sub>OD))**

$\delta = 3.56; 6.08$

**HPLC (Mono-Q): 24,9 min. (HCl-System)**

#### 4.1.77 *Phosphat-Assay*

Ein Aliquot (10  $\mu$ l) der zu analysierenden Probe wird in einer Mikrotiter-Platte vorgelegt. 100  $\mu$ l Phosphatreagenz wird zupipettiert. Zur Beendigung der Reaktion gibt man nach 1 min. 10  $\mu$ l Natriumcitrat-Lösung zu. Zur vollständigen Farbentwicklung wird die Probe 20 min. bei Raumtemperatur geschüttelt und die Platte anschließend in einem Mikrotiterplatten-Reader (Bio-Rad., Modell 450) bei  $\lambda=595$  nm ausgelesen

Zusammensetzung der Lösungen:

a) Phosphatreagenz: 735 Volumenteile 0,045 % (w/v) Malachitgrün-Hydrochlorid (Sigma) in bidest. Wasser werden zu 245 Volumenteilen 4,2 %-iger Ammoniummolybdat-Lösung in 4M HCl gegeben. Die Lösung rührt 24 h und wird anschließend mit 20 Volumenteilen 2% (v/v) Tergitol NP-10 (Sigma) versetzt. Die Lösung wird filtriert und ist mehrere Monate lagerfähig.

b) Natriumcitrat-Lösung: 34 % (w/v) Trinatriumcitrat $\cdot$ 2H<sub>2</sub>O-Lösung

#### 4.1.78 *Phytase-Tests*

Eine 100  $\mu$ M Lösung des Substrats wurde in 40 mM Mes/Na<sup>+</sup>-Puffer pH 5 bei 22°C umgesetzt. Die Menge freigesetzten Phosphats wurde über den oben beschriebenen Malachitgrün-Assay bestimmt, die resultierenden Regioisomere wurden über HPLC-Chromatographie und Vergleich mit Standards identifiziert.

#### 4.1.79 *Darstellung von Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (168a)*

Die enzymatische Reaktion wird bei Raumtemperatur auf einem Reziproschüttler durchgeführt (70 rpm). Es wird bei einer Substratkonzentration von 400  $\mu$ M und einer Volumenaktivität von ca. 10 mU/ml gearbeitet. Das Substrat wurde in 4 Portionen a 5  $\mu$ mol zugegeben. Zwischen den einzelnen Zugaben wird jeweils 1 h reagieren lassen, zudem wird die Reaktion nach der letzten Zugabe noch 90 min. nachgerührt. Es wird in einem Puffer (40 mM BIS/TRIS, 80 mM Sucrose; 20 mM Magnesiumchlorid und 1 mM EDTA) gearbeitet. Nach Beendigung der Reaktion wird das Enzym entfernt und die Probe

ionenchromatographisch von Phosphat befreit. Die Probe weist eine Isomerenreinheit von >99,8 % auf. Man erhält 8,3 mg (ca. 20 µmol) Ins(1,2,4)P<sub>3</sub> (**168b**) (98 %).

**HPLC (Mono-Q): 168a:** t = 43,6 min. (alkalisches System)

#### 4.1.80 Darstellung von Ins(2,3,6)P<sub>3</sub> (**168b**)

6 ml	Enzymlösung (Proteingehalt 1 mg/ml; 10 mU/ml, 50 mM TRIS/HCl, 400 mM NaCl, 1mM EDTA, 0,1 % Triton X-100, pH 7,7)
3 ml	250 mM Mes/Na <sup>+</sup> , pH 5.15
3 ml	H <sub>2</sub> O
0,8 ml	20 mM Ins(1,2,3,6)P <sub>4</sub> ( <b>61b</b> ) (16 µmol)

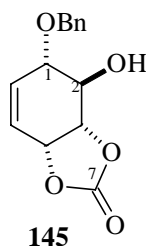
werden zusammengegeben und 9 h bei 37 °C zur Reaktion gebracht. Die Reaktion wird anschließend durch Zugabe von 3 ml 2,5 N HCl abgestoppt, das Enzym abzentrifugiert und die Reaktionslösung ionenchromatographisch aufgereinigt. Man erhält 4,6 mg (ca. 11 µmol) Ins(2,3,6)P<sub>3</sub> (**168b**) (69 %).

**HPLC (Mono-Q): 168b:** t = 43,6 min. (alkalisches System)

#### 4.1.81 Darstellung von 1-O-Benzyl-konduritol-B-3,4-carbonat (**145**)

In einem Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Innenthermometer und Blasenähler werden 1,45 g (4,8 mmol) 1-O-Benzyl-3-brom-2,4-dihydroxy-5-cyclohexen **139** in 100 ml abs. THF vorgelegt. Nach Zugabe von 2,2 ml (13,8 mmol) DBU und von einem Löffel von festem Natriumsulfat, wird der Reaktionsansatz bei -75 °C gekühlt. Kohlendioxid wird in die Reaktionslösung eingeleitet. Nach einer Reaktionszeit von 2 h, werden 50 ml 5 %iger Salzsäure zugegeben und 5 min. gerührt. Der Reaktionsansatz wird anschließend mit viermal jeweils 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 50 ml jeweils 5 %iger Salzsäure, dreimal mit 50 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal mit 50 ml jeweils ges. Natriumchloridlösung extrahiert.

Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhält 1,2 g (86 % Ausbeute) eines bräunlichen Öls.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

$\delta$  = 2.77 (s-b, 1H, OH); 3.81 ( $\psi$ t, 1H, J = 8.7 Hz, CH-2); 3.92 (ddd, 1H, J = 8.7 Hz, J = 3.6 Hz, J = 1.5 Hz, CH-1); 4.60-4.80 (m, 3H, CH<sub>2</sub>Ph und CH-3); 5.07 (ddd, J = 7.9 Hz, J = 1.8 Hz, J = 1.5 Hz, CH-4); 5.88 (ddd, 1H, J = 10.2 Hz, J = 3.2 Hz, J = 2.2 Hz, CH-5); 6.11 (d, 1H, J = 10.2 Hz, CH-6); 7.26-7.40 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta$  = 72.32; 73.17; 75.82; 77.95 (4CH, C-1 bis C-4); 72.42 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph); 120.84 und 133.80 (2CH, C-5 und C-6); 127.99; 128.09; 128.57 (3CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 137.33 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 153.80 (C-7)

**MS [70ev], m/z (%)**

262 (2.3) [M<sup>+</sup>]; 201 (34.0) [M<sup>+</sup> +H-CO<sub>2</sub>]; 156 (8.7) [M<sup>+</sup> +H-OBn]; 107 (86.7) [OBn<sup>+</sup>]; 91 (80.50) [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]; 44 (16.1) [CO<sub>2</sub><sup>+</sup>]; 43 (39.2) [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>]; 41 (56.7) [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>]

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.21 (CH/EE 1 : 1)

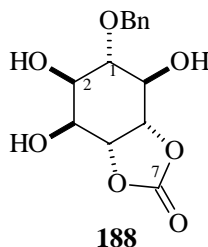
Weitere analytische Daten: Siehe Ref. 50.

**4.1.82 Darstellung von 1-O-Benzyl-4:5-carbonat-chiro-inositol (188)**

300 mg (1,1 mmol) **145** werden in 12 ml Acetonitril gelöst und in einem Eisbad gekühlt. 352 mg (1,7 mmol) Natriummetaperiodat werden in 2 ml Wasser gelöst und anschließend mit 22 mg (0,01 mmol, 7 mol%) Rutheniumtrichloridtrihydrat versetzt. Die Lösung färbt sich sofort braun und wird sodann dem bereits vorgelegten Edukt zugesetzt und, noch immer unter Eiskühlung, gerührt. Nach acht Minuten wird die komplette Lösung zum Quenchen des Rutheniumkomplexes auf 140 ml 20 %-ige Natriumthiosulfatlösung gegeben. Es wird siebenmal mit jeweils 50 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das



Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es werden 300 mg (93 % Ausbeute) **188** erhalten. Dabei beträgt der Anteil des bei der *cis*-Dihydroxylierung erhaltenen Isomers **188** am Produktgemisch 80 %.



#### <sup>1</sup>H-NMR (dMeOH, 400 MHz)

$\delta$  = 3.50 (dd, 1H, J = 7.0 Hz, J = 2.5 Hz); 3.84 (dd, 2H, J = 9.2 Hz, J = 7.1 Hz); 3.93 (t, J = 2.5 Hz); 4.04 (dd, J = 6.6 Hz, J = 2.0 Hz); 4.75 (t, J = 8.9 Hz); 4.67 und 4.71 (2d, AB-System, J = 11.2 Hz, 7.20-7.40 (m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>))

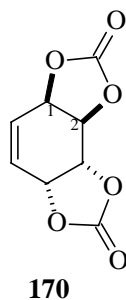
#### <sup>13</sup>C-NMR (dMeOH, 101 MHz)

$\delta$  = 70.20; 73.26; 73.52; 80.23; 81.04; 84.03 (6CH, C-1 bis C-6); 73.27 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph)); 128.94; 129.37; 129.58 (3CH, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 139.29 (C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 156.41 (C, C-7)

#### 4.1.83 Darstellung von 1:2-3:4-Bis-carbonat-konduritol-E (170)

In einem trockenen Dreihalskolben mit KPG-Rührer, Gaszufuhr und Blasenähler werden 10 g (36 mmol) Dibromdiol **42** und zwei Löffel Natriumsulfat (oder wahlweise Seesand) in 200 ml abs. THF vorgelegt. Die Reaktionslösung wird auf -70°C gekühlt und das THF mit trockenem CO<sub>2</sub> gesättigt (Einleitung über eine Waschflasche mit Schwefelsäure). Nach 1 h werden dem Ansatz 16 ml (0,1 mol) DBU zugegeben. Die Zufuhr an CO<sub>2</sub> wird unter starkem Rühren fortgesetzt. Nach 30 min. läßt man den Ansatz langsam bis auf Raumtemperatur auftauen und rührt zwei weitere Stunden bei Raumtemperatur nach.

Zur Auflösung des Niederschlags werden dem Ansatz 200 ml 5 %-ige Salzsäure zugegeben. Die Reaktionslösung wird filtriert und die unlöslichen Rückstände gründlich mit Ethylacetat gewaschen. Die wäßrige Phase wird sechsmal mit jeweils 200 ml Essigsäureethylester gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit 5 %-iger Salzsäure und einmal mit ges. Natriumchloridlösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Umkristallisation aus Ethanol verbleiben 2,25 g (32 %) eines farblosen Feststoffs.

 **$^1\text{H-NMR}$  ( $d_6\text{-DMSO}$ , 400 MHz)**

$\delta = 5.37$  (d, 2H,  $J = 6.5$  Hz, CH-3 und CH-4) 5.45 (d, 2H,  $J = 6.7$  Hz, CH-1 und CH-4); 6.17 (s, 2H, CH-5 und CH-6)

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $d_6\text{-DMSO}$ , 101 MHz)**

$\delta = 152.55$  ( $\text{O}_2\text{C}(\text{O})$ ); 125.75 (CH, C-5 und C-6); 70.95 (CH, C-1 und C-4); 69.31 (CHm C-2 und C-3)

**MS [70ev], m/z (%)**

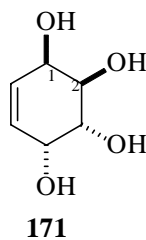
198 (4.1) [ $\text{M}^+$ ]; 91 (80.5) [ $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ]; 44 (17.8) [ $\text{CO}_2^+$ ]; 43 (39.2) [ $\text{C}_3\text{H}_7^+$ ]; 41 (9.8) [ $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ]

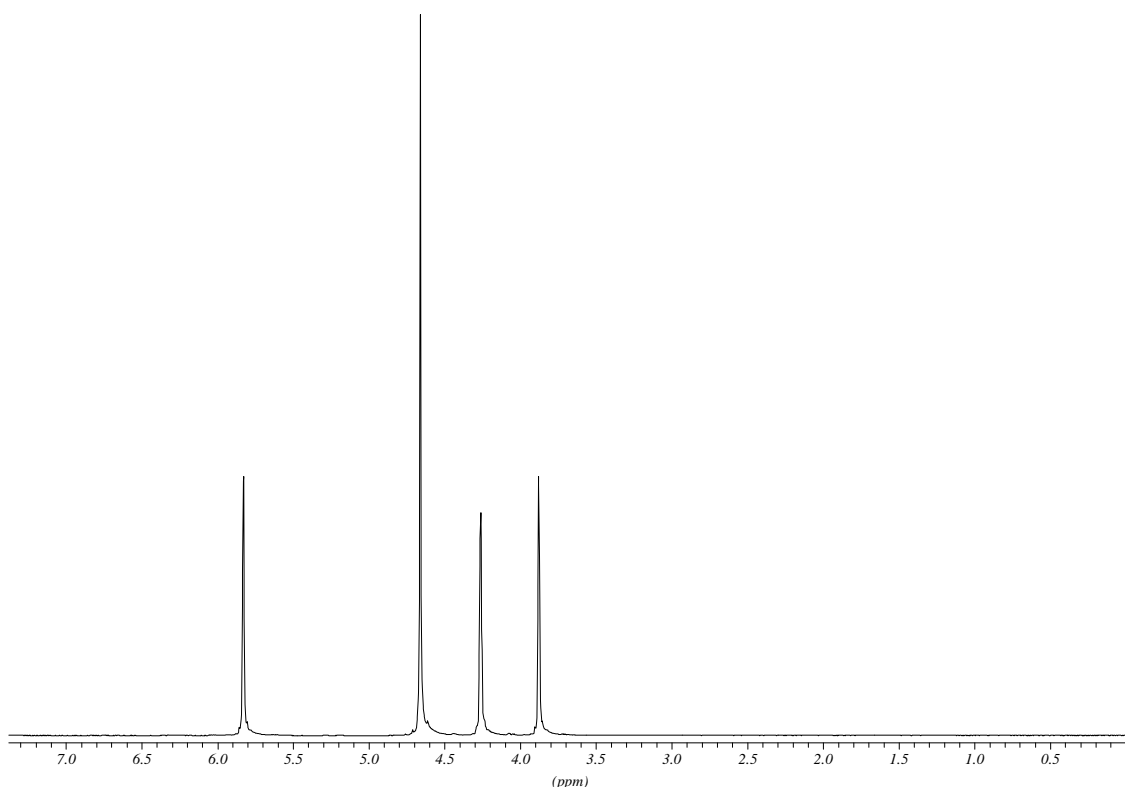
**IR-(KBr):**

$\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3040 (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{olef}}$ ]); 2960 (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]); 1750 (s,  $\nu$  [ $\text{C}=\text{O}$ ]); 1660(m,  $\nu$  [ $\text{C}=\text{C}$ ]); 1180 (s,  $\nu$  [ $\text{C}-\text{O}$ ])

**4.1.84 Darstellung von Konduritol-E (171)**

300 mg (1,5 mmol) Konduritol **170** werden in 7 ml Pyridin und 7 ml Wasser suspendiert und über Nacht unter Rückfluß gerührt. Nach dem Entfernen im Hochvakuum der Lösungsmitteln, werden 243 mg (98 %) eines leicht bräunlichen Feststoffs erhalten.



**<sup>1</sup>H-NMR (MeOD, 400 MHz)**

$\delta = 3.29$  ( $\psi$ quint, 2H,  $J = 1.7$  Hz, CH-2 und CH-3);  $3.89$  (dd, 2H,  $J = 2.5$  Hz,  $J = 1.0$  Hz, CH-1 und CH-4);  $4.22$  (s, 2H, OH);  $5.74$  (d, 2H,  $J = 2.0$  Hz, CH-5 und CH-6)

**<sup>13</sup>C-NMR (MeOD, 101 MHz)**

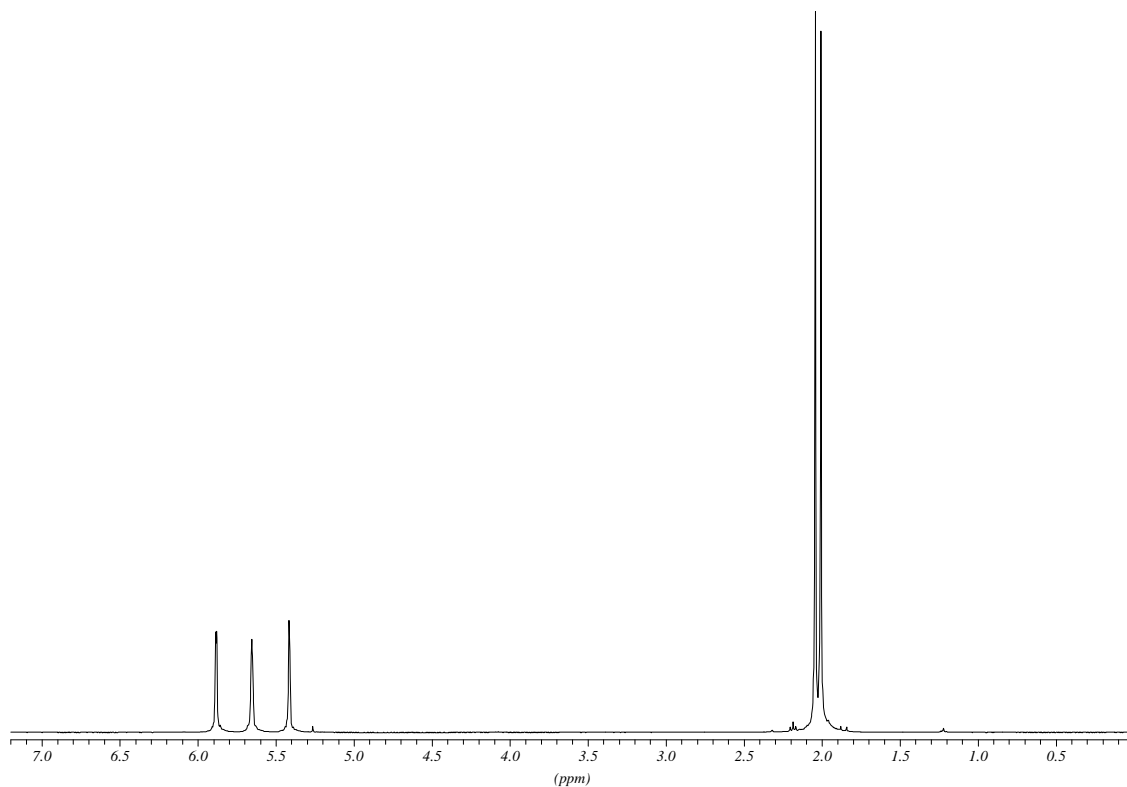
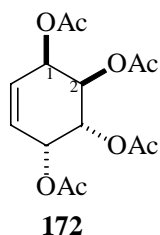
$\delta = 67.69$  (CH, C-2 und C-3);  $71.17$  (CH, C-1 und C-4);  $130.77$  (CH, C-5 und C-6);

**IR-(KBr):**

$\bar{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] =  $3300$  (s, br,  $\nu$  [OH]);  $3020$  (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{olef}}$ ]);  $2940, 2880$  (m,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1460, 1380$  (s,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1070$  (s,  $\nu$  [C-O])

**4.1.85 Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-konduritol-E (172)**

300 mg (2,1 mmol) Konduritol **171** werden mit 10 ml Pyridin und 10 ml Essigsäureanhydrid bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Reaktionslösung wird im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Man erhält 557 mg (97 %) eines fast farblosen Feststoffs.



**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.04$  (s, 6H,  $\text{CH}_3$ );  $2.07$  (s, 6H,  $\text{CH}_3$ );  $5.44$  (m, 2H, CH-2 und CH-3);  $5.68$  (m, 2H, CH-1 und CH-4);  $5.91$  (dd, 2H,  $J = 2.8$  Hz,  $J = 1.3$  Hz, CH-5 und CH-6)

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 20.46$ ;  $20.76$  ( $2\text{CH}_3$ ,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{C}(\text{O})$ );  $66.07$  (CH, C-2 und C-3);  $66.57$  (CH, C-1 und C-4);  $128.14$  (CH, C-5 und C-6);  $169.90$ ;  $170.18$  ( $2\text{C}$ ,  $\underline{\text{C}}(\text{O})\text{CH}_3$ );

**MS [70ev], m/z (%)**

$288$  (2.0) [ $\text{M}^+ + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ];  $228$  (8.9) [ $\text{M}^+ + 2\text{H} - 2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ];  $210$  (5.1) [ $\text{M}^+ + 2\text{H} - 2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{H}_2\text{O}$ ];  $168$  (37.9) [ $\text{M}^+ + 3\text{H} - 3\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ];  $43$  (97.7) [ $\text{C}_3\text{H}_7^+$ ] [ $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ ];  $41$  (9.8) [ $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ]

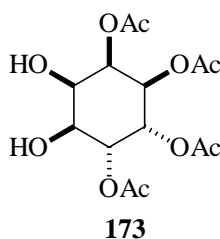
**IR-(KBr):**

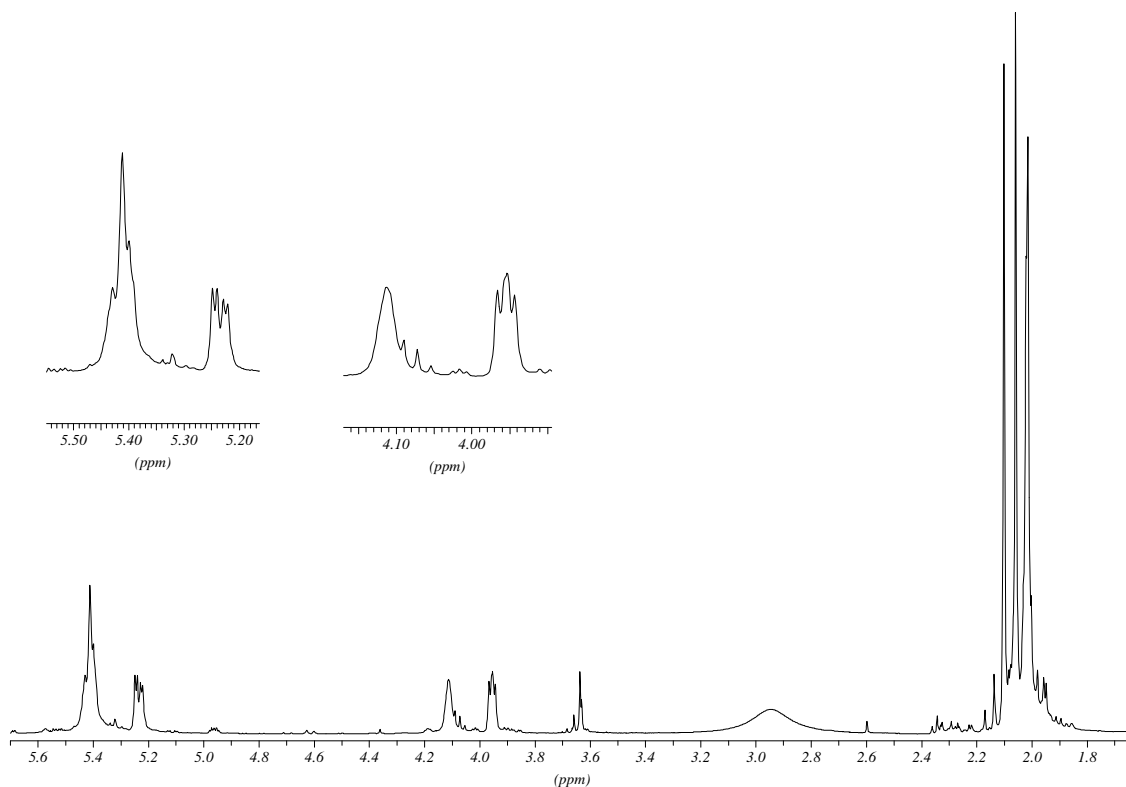
$\tilde{\nu}[\text{cm}^{-1}] = 2960, 2900$  (m,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1740$  (s,  $\nu$  [ $\text{C=O}$ ]);  $1440, 1370$  (s,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1210$  (s,  $\nu$  [ $\text{C-O}$ ])

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.32 (CH/EE 1 : 1); 0.53 (CH/EE 1 : 3)

**4.1.86 Darstellung von 3,4,5,6-Tetra-O-acetyl-*allo*-Inositol (173)**

190 mg (0,60 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-konduritol-F (**172**) werden in 12 ml Acetonitril gelöst und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Anschließend werden 180 mg (0,9 mmol, 1,5 eq.) Natriumperodat in 2 ml Wasser unter Rühren gelöst und mit 12 mg (0,57 mmol, 10 mol-%) Rutheniumtrichlorid versetzt. Diese Lösung wird der Reaktionslösung zugegeben. Nach 5 min wird die komplette Lösung auf 50 ml 20 % Natriumthiosulfatlösung gegeben. Die Reaktionslösung wird viermal mit jeweils 50 ml Ethylacetat ausgeschüttelt, die organische Phase mit ges. Natriumchloridlösung gegengeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Es werden 190 mg (87 %) eines farblosen Feststoffs erhalten.



 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.01$  (s, 6H  $2\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $2.06$  (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $2.10$ s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $2.94$  (s-b, OH);  $3.95$  (dd, 1H,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 3.6$  Hz, CH-5);  $4.11$  ( $\Psi$ s, 1H, CH-6);  $5.23$  (dd, 1H,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 3.6$  Hz, CH-4);  $5.41$  (m, 3H, CH-1 - CH-3)

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

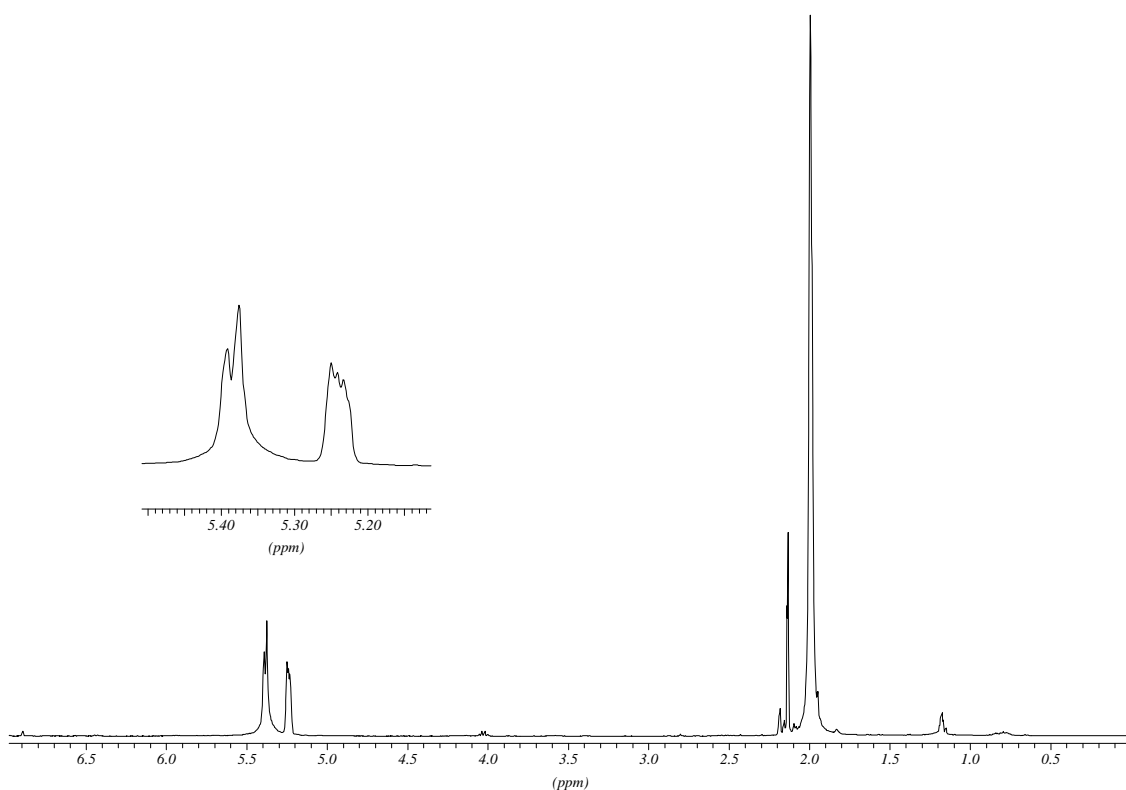
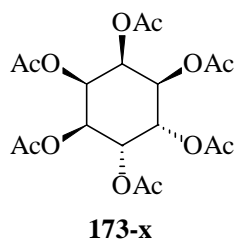
$\delta = 20.64$ ;  $20.75$  ( $2\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $66.87$  (CH, C-5 oder C-6);  $68.19$  (CH, C-5 oder C-6);  $69.85$  (CH, C-1 bis C-4);  $169.72$ ;  $169.75$ ;  $170.10$ ;  $170.37$  (4C,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ )

**IR-(KBr):**

$\bar{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3480$  (s, br,  $\nu$  [OH]);  $2960$ ,  $2900$  (m,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1740$  (s,  $\nu$  [C=O]);  $1440$ ,  $1370$  (s,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1230$  (s,  $\nu$  [C-O-C]);  $1040$  (s,  $\nu$  [C-OH])

**4.1.87 Darstellung von 1,2,3,4,5,6-Hexa-O-acetyl-*allo*-Inositol (173-x)**

150 mg (0,43 mmol) Edukt werden in 5 ml Pyridin und 5 ml Essigsäureanhydrid über Nacht gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Man erhält 184 mg (99 %) eines gelblichen Öls.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

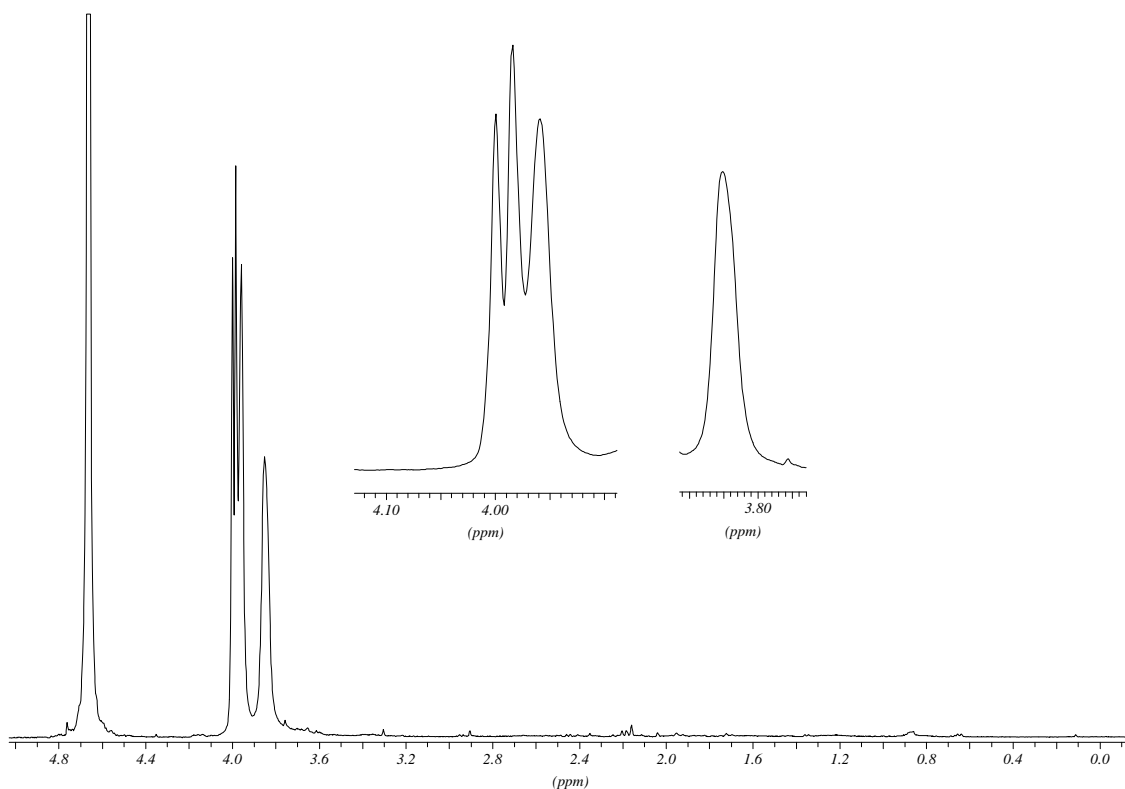
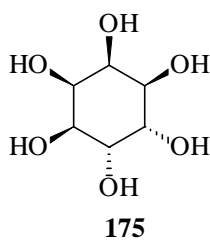
$\delta = 1.99$  (s, 18H, CH<sub>3</sub>C(O)); 5.24 (dd, 2H, J = 6.6 Hz, J = 3.1 Hz); 5.38 (m, 4H)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

$\delta = 20.28$ ; 20.29; 20.31; 20.36 (4CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 66.97; 67.36 (2CH, C-1 bis C-6); 169.11; 169.18; 1169.37 (3C, CH<sub>3</sub>C(O))

**4.1.88 Darstellung von *allo*-Inositol (174)**

184 mg (0,43 mmol) Hexa-*O*-acetyl-*allo*-Inositol **173-x** (oder alternativ 150 mg (0,43 mmol) Tetra-*O*-acetyl-*allo*-Inositol **173**) werden in 6 ml abs.Methanol gelöst. Unter Rühren gibt man 0,2 ml 1 M Natriummethanolat-Lösung zu. Die Lösung rührt ber Nacht. Unter Kühlung im Eisbad werden 20 ml Wasser und anschließend 0,5 g DOWEX-50 (H<sup>+</sup>-Form) zugegeben. Die Lösung rührt 10 min. und wird anschließend filtriert. Die Lösung wird im Hochvakuum bis zur Trockne eingengt. Der erhaltene Rückstand kann aus Isopropanol umkristallisiert werden. Man erhält 70 mg (90 %) eines fast farblosen Feststoffs



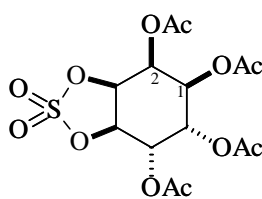
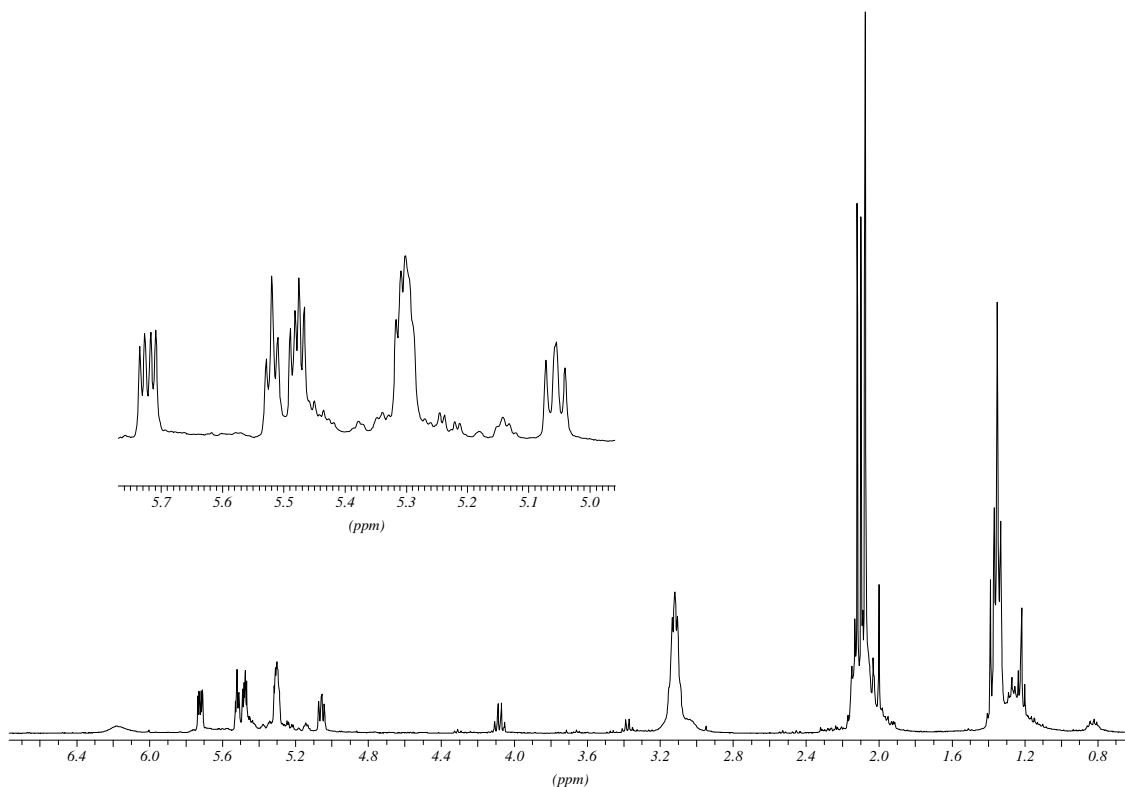
**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz)**

δ = 3.85 (s, 2H); 3.98 (m, 4H)



**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 101 MHz)** $\delta = 71.84$  (CH);  $73.99$  (CH)**4.1.89 Darstellung von 3,4,5,6-Tetra-O-acetyl-*allo*-Inositol-(1:2)-sulfat (176)**

110 mg (0,32 mmol) *allo*-Inositol **173** werden in 5 ml abs. Essigsäureethylester gelöst. Durch ein Septum werden 250 mg Triethylamin und 130 mg Sulfurylchlorid zugegeben. Die Reaktionslösung rührt über Nacht. Anschließend wird der ausgefallene Niederschlag abgesaugt und gründlich mit Essigsäureethylester gewaschen. Die Lösung wird am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Man erhält **176** als gelbliches Öl.

**176**

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**

δ = 2.08 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub>); 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 5.06 (dd, 1H, J = 5.9 Hz, J = 6.9 Hz, CH-4); 5.30 (m, 2H, CH-3 und CH-1); 5.45 (dd, J = 5.4 Hz, J = 3.3 Hz); 5.51 (ψt, J = 3.8 Hz, CH-2); 5.72 (dd, 1H, J = 7.1 Hz, J = 3.1 Hz, CH-5)

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz)**

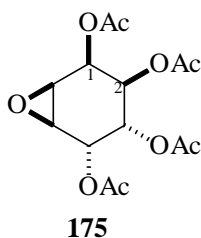
δ = 20.38; 20.41; 20.44; 20.46 (4CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>C(O)); 65.01 (CH, C-2); 66.64 (CH, C-1); 67.12 (CH, C-5 und C-6); 78.22 (CH, C-3); 79.77 (CH, C-4); 168.73; 168.95; 169.31; 169.43 (4C, CH<sub>3</sub>C(O))

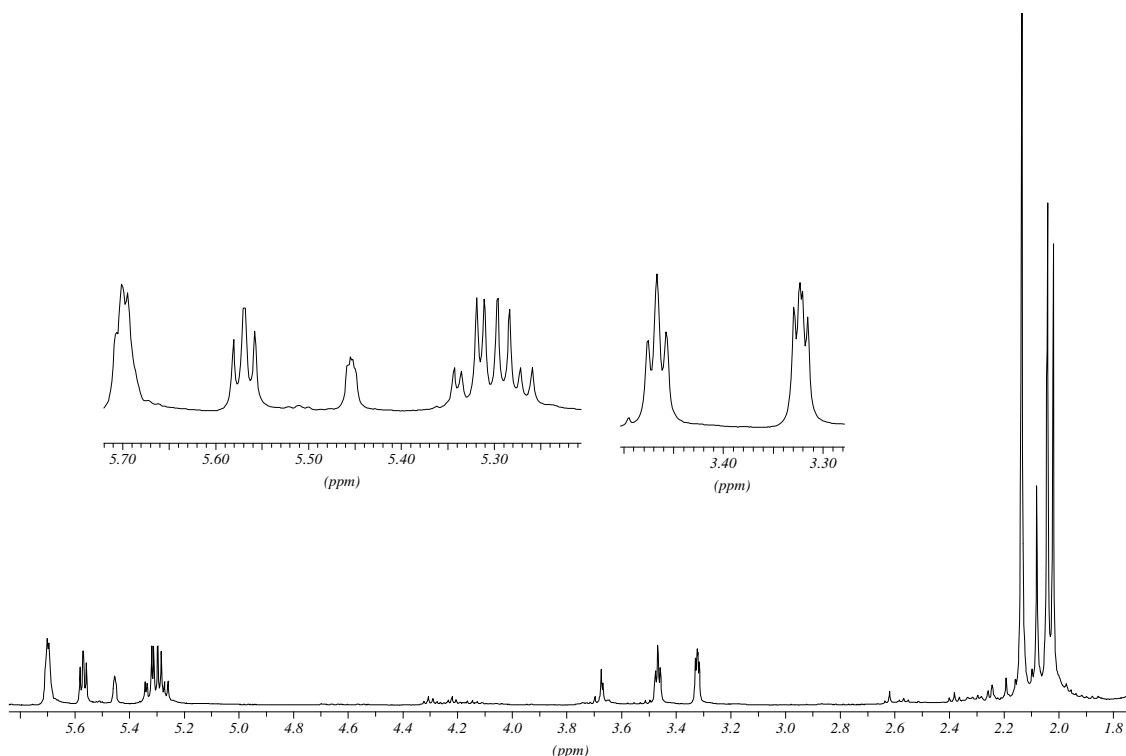
**4.1.90 Darstellung von 1,2-Epoxy-3,4,5,6-tetra-O-acetyl-Konduritol-F (175)**

0,4 ml 85 %-ige Wasserstoffperoxidlösung werden sehr langsam zu einer auf 0°C gekühlten, stark gerührten Lösung von 2,1 ml Trifluoressigsäureanhydrid in 6 ml Dichlormethan gegeben. Hierbei sollte keine Gasentwicklung auftreten. Die Lösung rührt 1 h nach. Anschließend tropft man die so erhaltene Reagenzlösung innerhalb von 15 min. zu einer Suspension von 200 mg (0,64 mmol) Konduritol **172** und 1 g Natriumcarbonat in 25 ml Dichlormethan. Die Reaktionslösung rührt zwei Stunden bei Raumtemperatur und wird anschließend noch 1,5 h unter Rückfluß erhitzt.

Zur Aufarbeitung werden 10 ml 20 % Natriumsulfitlösung und 10 ml 4N Natronlauge zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt, gegen Natriumchloridlösung geschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verbleibt ein bräunliches Öl, das flash-chromatographisch aufgereinigt werden kann.

Man erhält 74 mg (35 %) von **175**.



 **$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**

$\delta = 2.03$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $2.04$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );  $2.14$  (s, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ );  $3.32$  (dd, 1H,  $J = 2.3$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, CH-6);  $3.47$  ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $J = 3.6$  Hz, CH-5);  $5.28$  (dd, 1H,  $J = 5.1$  Hz,  $J = 9.7$  Hz, CH-3);  $5.32$  (dd, 1H,  $J = 3.1$  Hz,  $J = 9.7$  Hz, CH-2);  $5.56$  ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $J = 4.6$  Hz, CH-4);  $5.70$  ( $\psi\text{t}$ , 1H,  $J = 2.3$  Hz, CH-1)

 **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz)**

$\delta = 20.51$ ;  $20.61$  (2  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ );  $50.99$ ;  $53.27$  (2 CH, C-5 und C-6);  $65.30$ ;  $65.77$ ;  $65.84$ ;  $66.59$  (4CH, C-1 bis C-4);  $169.33$ ;  $169.59$ ;  $169.79$ ;  $170.17$  (4C,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ )

**MS [70ev], m/z (%)**

$255$  (18.9) [ $\text{M}^+ + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{CH}_3$ ];  $212$  (43.2) [ $\text{M}^+ + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{CH}_3 - \text{C}_2\text{H}_3\text{O}$ ];  $152$  (99.0) [ $\text{M}^+ - 2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 - \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ];  $43$  (83.9) [ $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ ];  $41$  (7.9) [ $\text{C}_3\text{H}_5^+$ ]

**IR-(KBr):**

$\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 2960, 2900$  (w,  $\nu$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1740$  (s,  $\nu$  [ $\text{C}=\text{O}$ ]);  $1460, 1370$  (s,  $\delta$  [ $\text{CH}_{\text{ali}}$ ]);  $1200$  (s,  $\nu$  [ $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ]);  $1060$  (s,  $\nu$  [ $\text{C}-\text{O}_{\text{epo}}$ ])

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.15 (CH/EE 1:1)

## 5 Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> Scherer, J. *Ann.* **1850**, 322.
- <sup>2</sup> Bouveault, L. *Bull. Chim. Soc. Fr.* **1894**, 11, 144.
- <sup>3</sup> Cosgrove, D. J. „Inositol Phosphates, Their Chemistry, Biochemistry and Physiology“ **1980**, Elsevier, Oxford.
- <sup>4</sup> Hallmann, M., *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, 795, 67.
- <sup>5</sup> Mayr, G.W., *Topics in Biochemistry*, Boehringer Mannheim **1987**.
- <sup>6</sup> Posternak, T., „The Cyclitols“, Herman, Paris & Holden-Day, San Francisco **1965**, 91.
- <sup>7</sup> Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry *Eur.J.Biochem.* **1989** 180, 485.
- <sup>8</sup> Cosgrove, D.J., *Rev. Pure Appl. Chem.* **16** **1966**, 209.
- <sup>9</sup> Isaacs, R.E.; Harkness, D.R.; Adler, J.L.; Goldman, P.J. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1976**, 173, 114.
- <sup>10</sup> Graf, E.; Mahoney, J.R.; Bryant, R.J.; Eaton, J.W. *J.Biol.Chem.* **1984** 259, 3620.
- <sup>11</sup> Shamsuddin, A. M., Vucenik, I.; Cole, K. E. *Life Sciences* **1997**, 61, 343.
- <sup>12</sup> Siren, M.; EPO 179440, **1990**.
- <sup>13</sup> Siren, M.; Linne, L.; Persson, L. *ACS Symposium Series* **1991**, 463, 103.
- <sup>14</sup> Streb, H.; Irvine, R.F.; Berridge, M.J.; Schulz, I. *Nature* **1983** 306, 67.
- <sup>15</sup> Potter, B.V.L. *Natural Product Reports* **1990**, 1.
- <sup>16</sup> Hinterding, K.; Alonso-Diaz, D.; Waldmann, H. *Angew. Chem.* **1998**, 110, 716
- <sup>17</sup> a) Mitchel, R.H. *Nature* **1986** 324, 613.  
b) Luckhoff, A; Clapham, D. *Nature* **1992**, 355, 356.
- <sup>18</sup> Irvine, R.F. „*Advances in Second messenger and Phosphoprotein Research*“, Hrsg.: Puney, J.W.Jr Raven Press, New York **1992**, 161.
- <sup>19</sup> a) Irvine, R.F.; Letcher, A.J.; Lander, D.J.; Berridge, M.J. *Biochem. J.* **1986** 240, 301.  
b) Gawler, D.J.; Potter, B.V.L.; Gigg, R.; Nahorski, S.R. *Biochem. J.* **1991** 276, 163.  
c) Ivorra, I.; Gigg, R.; Irvine, R.F.; Parker, I. *Biochem. J.* **1991** 273, 317.
- <sup>20</sup> a) Chi, T. S.; Crabtree, G. R. *Science* **2000**, 287, 1937.  
b) Odom, A. R.; Stahlberg, A.; Wenthe, S. R.; York, J. D. *Science* **2000**, 2026.
- <sup>21</sup> York, J. D.; Odom, A. R.; Murphy, R.; Ives, E. C.; Wenthe, S. R. *Science* **1999**, 285, 96.
- <sup>22</sup> a) Majerus, P.W. *Annu.Rev.Biochem.* **1992** 61, 225.  
b) van Haastert, P.J.M.; van Dijken, P. *FEBS Letters* **1997** 410, 39.
- <sup>23</sup> Shears, S. B. *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1436, 49.
- <sup>24</sup> van Haastert, P.J.M.; van Dijken, P. *FEBS Letters* **1997** 410, 39.
- <sup>25</sup> a) Singhal, R.H.; Yeh, Y.A.; Look, K.Y.; Sledge, G.W.Jr.; Weber, G. *Life Sciences* **1994** 55, 1487.  
b) Cole, K.; Kohn, E. *Cancer and Methastasis Reviews* **1994** 13, 31.  
c) Powis, G.; Phil, D. *Cancer and Methastasis Reviews* **1994** 13, 91.
- <sup>26</sup> a) Miller, B.L. Moats, R.A.; Shonk, T.; Ernst, T.; Woolley, S.; Ross, B.D. *Radiology* **1993** 187, 433.  
b) Jope, R.S.; Song, L.; Li, X.; Powers, R. *Neurobiology of Aging* **1994** 15, 221.

- <sup>27</sup> Ng, T.; Guntermann, C.; Nye, K.; Parkin, J.; Anderson, J.; Norman, J.; Morrow, W. *AIDS* **1995**, *9*, 337.
- <sup>28</sup> a) Lenox, R.H.; Watson, D.G. *Clin.Chem.* **1994**, *40*, 309.  
b) Belmaker, R. H.; Galia, M. D.; von Calker, D.; Richards, M. H.; Kofman, O. *Neuropsychopharmacology* **1998**, *19*, 220.
- <sup>29</sup> a) Newton, G. L.; Arnold, K.; Price, M. S.; Sherrill, C.; Delcardyre, S. B.; Aharonowitz, Y.; Cohen, G.; Davies, J.; Fahey, R. C.; Davies, C. *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 1990.  
b) Misset-Smits, M.; van Ophem, P. W.; Sakuda, S.; Duine, J. A. *FEBS Lett.* **1997**, *409*, 221.
- <sup>30</sup> Podeschwa, A. L. M., Dissertation, Bergische Universität Wuppertal, vorauss. **2002**.
- <sup>31</sup> McConville, M. J.; Ferguson, M. A. J. *Biochem. J.* **1993**, *294*, 305.
- <sup>32</sup> Janney, P. A.; Xia, W.; Flanagan, L. A. *Chem. Phys. Lipids* **1999**, *101*, 93.
- <sup>33</sup> a) Mato, J. M.; Kelly, K. L.; Abler, A.; Jarett, L.; Corkey, B. E.; Cashel, J. A.; Zopf, D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *146*, 764.  
b) Lerner, J., Huang, L. C.; Schwartz, C. F. W.; Oswald, A. S.; Shen, T. Y.; Kinter, M.; Tang, G.; Zeller, K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *151*, 1416.
- <sup>34</sup> a) Reddy, K. K.; Falck, J. R., Capdevila, J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7869.  
b) Jawoek, C. H.; Calias, P.; Iacobucci, S.; d'Alarcao, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 667.  
c) Garegg, P. J.; Konradsson, P.; Oscarson, S.; Ruda, K. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 17727.
- <sup>35</sup> Bruzik, K. S.; Salomonczyk, G. M. *Carbohydr. Res.* **1989**, *195*, 67.
- <sup>36</sup> Painter, G. F.; Grove, S. J. A.; Gilbert, I. H.; Holmes, A. B.; Raizhby, P. A.; Hill, M. L.; Hawkin, P. T.; Stephens, L. R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans I* **1999**, 923.
- <sup>37</sup> Ling, L.; Ozaki, S. *Carbohydr. Res.* **1994**, *256*, 49.
- <sup>38</sup> Ozaki, S.; Lei, L. *Carbohydr. Drug Design* **1997**, 343.
- <sup>39</sup> a) Chen, S.-H., Liu, Y.-C. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1617.  
b) Chen, S.-H.; Gou, D.-M.; Liu, Y.-C. *Carbohydr. Res.* **1992**, *234*, 51.
- <sup>40</sup> Andersch, P.; Schneider, M. P. *Tetrahedron Asymm.* **1993**, *4*, 2135.
- <sup>41</sup> a) Safrany, S. T.; Woicikiewicz, R. J. H., Struppish, J.; Nahorski, S. R.; Dubreuil, D.; Cleophax, J.; Gero, S. D.; Potter, B. V. L. *FEBS Lett.* **1991**, *278*, 252.  
b) K. Sato; M. Bokura; M. Taniguchi *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1994**, *67*, 1633.  
c) Jaramillo, C.; Chiara, J.-L.; Martin-Lomas, M. *J. Org. Chem* **1994**, *59*, 3135.
- <sup>42</sup> a) Mandel, M.; Hudlicky, T. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1993**, 741; Corrigendum: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1993**, 1537.  
b) Bramer, L. E. Jr.; Hudlicky, T. *Tetrahedron Asymm.* **1998**, *9*, 2011.  
c) Desjardins, M.; Brammer, L. E., Hudlicky, T. *Carb. Res.* **1997**, *304*, 39.
- <sup>43</sup> a) Kornienko, A., Turner, D. I., Jaworek, C. H., d'Alarcao, M. *Tetrahedron Asymm.* **1998**, 2783.  
b) Guidot, J. P.; Legall, T.; Mioskowski, C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6671.  
c) Chiara, J.-L.; Martin-Lomas, M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2969.
- <sup>44</sup> Jaques, F.; Dupeyroux, J. F.; Joly, J. P.; Chapleur, Y. *Tetrahedron Lett* **1997**, *38*, 73.
- <sup>45</sup> Kornienko, A.; d'Alarcao, M. *Tetrahedron Asymm.* **1999**, *10*, 827.
- <sup>46</sup> Trost, B. M.; Patterson, D. E.; Hembre, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10834.

- <sup>47</sup> Altenbach, H.-J.; Stegelmaier, H.; Vogel, E. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 3333.
- <sup>48</sup> Braun, M., Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **2000**.
- <sup>49</sup> Johnson, C.R.; Miller, M.W. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6674.
- <sup>50</sup> Klein, G. Dissertation, Universität Paderborn **1992**.
- <sup>51</sup> Preise SIGMA 1999: *Pig Pancreas Lipase*: 500 g 178,20 DM, *Pseudomonas cepacia Lipase* 500 mg 317,60 DM, *Mucor miehei Lipase*: 500 mg 217,40 DM.
- <sup>52</sup> Bien, D. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **1995**.
- <sup>53</sup> Ritter, F. P. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **1997**.
- <sup>54</sup> Sanfilippo, C., Patti, A.; Nicolosi, G. *Tetrahedron Asymm.* **2000**, 1043.
- <sup>55</sup> Esser, T.; Farkas, F.; Mangolz, S.; Séquin, U. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 3709.
- <sup>56</sup> Kaffee, A. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal, vorauss. **2000**.
- <sup>57</sup> z. B. Stegelmeier, H. Dissertation Köln **1979**
- <sup>58</sup> Bentrude, W. G., Setzer, W. N. in „Phosphorus-31 NMR Spectroscopy in Stereochemical Analysis“, *Methods in Stereochemical Analysis Bd 8*, Eds. Verkade, J. D. und Quin, L. D. VCH, Weinheim, **1987**, S. 366.
- <sup>59</sup> GAUSSIAN 98, Revision A.7, Pople, J. A. et al, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 1998.
- <sup>60</sup> Hyperchem 5.01 for Windows, Hypercube Inc. 1996.
- <sup>61</sup> Brown, D. M.; Hammond, P. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *80*, 4229.
- <sup>62</sup> Shing, T. K. M.; Tai, V. W.-F.; Tam, E. K. W.; Chung, I. H. F.; Jiang, Q. *Chem. Eur. J.* **1996**, *106*, 50.
- <sup>63</sup> a) Shing, T. K. M.; Tai, V. W. F.; Tam, E. K. W. *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2408.  
b) Carlsen, P. H. J.; Katsuki, T., Martin, V. S.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936.
- <sup>64</sup> a) Jenkins, D. J.; Potter, B. V. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 41.  
b) Ozaki, S.; Kondo, Y., Shiotani, N.; Ogasawara, T.; Watanabe, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1992**, 729.  
c) Desai, T.; Gigg, J.; Gigg, R.; Martin-Zamora, E. „*Synthesis in Lipid Chemistry*“ London, **1996**, 67.
- <sup>65</sup> Podeschwa, M. Diplomarbeit, Bergische Universität Wuppertal **1999**.
- <sup>66</sup> Scholz, P.; Bergmann, G.; Mayr G.W. *Methods in Inositide Research* **1990**, 65; Editor Irvine R.F., Raven Press Ltd., New York
- <sup>67</sup> Blank, G. E.; Pletcher, J., Sax, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1971**, *44*, 319.
- <sup>68</sup> Barrientos, L.; Murthy, P. P. N. *Carbohydr. Res.* **1996**, *296*, 39.
- <sup>69</sup> Scholz, P.; Bergmann, G.; Mayr, G. W. „*Methods in Inositide Research*“, Kap. 6, **1995**, 38, Ed.: Irvine, R. F.; Raven Press Ltd. New York.
- <sup>70</sup> Mayr, G. W. „*Methods in Inositide Research*“, Kap. 7, **1995**, 38, Ed.: Irvine, R. F.; Raven Press Ltd. New York.
- <sup>71</sup> Andersch, P. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **1995**.
- <sup>72</sup> Sylvia, V.; Curtin, G.; Norman, J.; Stec, J.; Busbee, D. *Cell* **1988**, *54*, 651.
- <sup>73</sup> York, J. D.; Saffitz, J. E.; Majerus, P. W. *J. Biol. Chem.* **1995**, *269*, 19992.
- <sup>74</sup> Shears, S. B. in „*Subcellular Biochemistry*, Vol. 26, myo inositol phosphates and phosphoinositides and signal transduction“, Ed. Biwas B. B. und Biwas, S., Plenum Press, New York, **1996**, 187.
- <sup>75</sup> Watanabe, Y.; Komoda, Y.; Ebisuya, K.; Ozaki, S. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 255.

- <sup>76</sup> Fraser-Reid, B.; Yu, K.-L. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 979.
- <sup>77</sup> Regitz, M. „Methoden der Organischen Chemie“ Houben-Weyl, Bd E1, 342, Thieme, Stuttgart **1982**.
- <sup>78</sup> Pietrusiewicz, K. M.; Salomonczyk, G. M.; Bruzik, K. S. *Tetrahedron* **1992**, 48, 5523.
- <sup>79</sup> Pietrusiewicz, K. M.; Salomonczyk, G. M.; Bruzik, K. S. *Tetrahedron* **1994**, 50, 573.
- <sup>80</sup> Ozaki, S.; Ling, L.; Ogasawara, T.; Watanabe, Y.; Masato, H. A. *Carbohydr. Res.* **1994**, 259, 307.
- <sup>81</sup> a) Römer, S.; Stadler, C.; Rudolf, M. T.; Schultz, C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 411.  
b) Römer, S.; Stadler, C.; Rudolf, M. T.; Jasdorf, B.; Schultz, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 1683.
- <sup>82</sup> Aneja, R.; Parra, A. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 45, 525.
- <sup>83</sup> Vajanaphanich, M.; Schultz, C.; Rudolf, M. T.; Wassermann, M.; Enyedi, P.; Craxton, A.; Shears, S. B.; Tsien, R. Y.; Barrett K. E.; Traynor-Kaplan, A. *Nature* **1994**, 371, 711.
- <sup>84</sup> Van Dijken, P.; de Haas, J.-R.; Craxton, A.; Erneaux, C.; Shears, S. B.; van Haastert, P. J. M. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 29724.
- <sup>85</sup> Eckmann, L.; Rudolf, M. T.; Ptasznik, A.; Schultz, C.; Jiang, T.; Wolfson, N.; Tsien, R.; Fierer, J.; Shears, S. B.; Kagnoff, M. F.; Traynor-Kaplan, A.-E. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **1997**, 94, 14456.
- <sup>86</sup> Springer, O. Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **1999**.
- <sup>87</sup> Van der Kaay, J.; van Haastert, P. J. M. *Biochem. J.* **1995**, 312, 907-910.
- <sup>88</sup> Hayakawa, T.; Suzuki, K.; Miura, H.; Ohno, T.; Igaue, I. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, 54, 279.
- <sup>89</sup> Menniti, F. S.; Oliver, K. G.; Nogimori, K.; Obie, J. F.; Shears, S. B.; Putney Jr., J. W. *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 11167.
- <sup>90</sup> Stricker, R.; Adelt, S.; Vogel, G.; Reiser, G. *Eur. J. Biochem* **1999**, 265, 815.
- <sup>91</sup> Spiers, I. D.; Barker, C. J.; Chung, S.-K.; Chang, Y.-T.; Freeman, S.; Gardiner, J.-M.; Hirst, P. H.; Lambert, P. A.; Michell, R. H.; Poyner, D. A.; Schwalbe, C. H.; Smith, A. W.; Solomons, K. R. H. *Carbohydr. Res.* **1996**, 282, 81.
- <sup>92</sup> Shen, X.; Weaver, C. M.; Kempa-Steczko, A.; Martin, B. R.; Phillippy, B. Q.; Heaney, R. P. *J. Nutr. Biochem.* **1998**, 9, 298.
- <sup>93</sup> Yang, X.; Rudolf, M.; Carew, M. A.; Yoshida, M.; Nerreter, V.; Riley, A. M.; Chung, S.-K.; Bruzik, K. S.; Potter, B. V. L.; Schultz, C.; Shears, S. B. *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 18973.
- <sup>94</sup> David, S.; Hanessian, S. *Tetrahedron* **1985**, 41, 643.
- <sup>95</sup> Deslonchamps, P. „Stereolectronic Effects in Organic Chemistry“ **1983** Pergamon Press, Oxford.
- <sup>96</sup> Mills, S. J.; Potter, B. V. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1997**, 1279.
- <sup>97</sup> Chung, S.-K.; Shin, B.-G.; Chang, Y.-T.; Suh, B.-C.; Kim, K.-T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 659.
- <sup>98</sup> a) Lovdahl, M. J.; Pietrzyk, D. J. *J. Chromatogr. A* **1999**, 850, 143.  
b) Pietrzyk, D. J.; Meek, S. E. *Anal. Chem.* **1988**, 60, 1397.
- <sup>99</sup> Ferrier, R. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1979**, 1455.
- <sup>100</sup> Fischbach, A. Dissertation Bergische Universität Wuppertal, vorauss. **2000**.
- <sup>101</sup> Ozaki, S. „Inositol Phosphates and Derivatives, Synthesis, Biochemistry and Therapeutic Potential“, Hrsg. Reitz, A. B. American Chemical Society, Washington DC **1991**, S. 43.
- <sup>102</sup> Hirata, M.; Watanabe, Y.; Ishimatsu, T.; Ikebe, T.; Kimura, Y.; Yamaguchi, K.; Ozaki, S.; Koga, T. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 20303.

- <sup>103</sup> Lampe, D.; Mills, S. J.; Potter, B. V. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans I* **1992**, 2899.
- <sup>104</sup> Miyazaki, S.-I.; Yuzaki, M.; Nakada, K.; Shirakawa, H.; Nakanishi, S.; Nakade, S.; Mikoshiba, K. *Science* **1992**, 257, 251.
- <sup>105</sup> Kume, S.; Muto, A.; Inoue, T.; Suga, K.; Okano, H.; Mikoshiba, K. *Science* **1997**, 278, 1940.
- <sup>106</sup> Matsumoto, M.; Nakagawa, T.; Inoue, T.; Ngagata, E.; Tanaka, K.; Minowa, O.; Kuno, J.; Sakakibara, S.; Yamada, M.; Yoneshima, H.; Miyawaki, A.; Fukuuchi, Y.; Furuichi, T.; Okano, H.; Mikoshiba, K.; Noda, T. *Nature* **1996**, 379, 168.
- <sup>107</sup> Takei, K.; Shin, R.-M.; Inoue, T.; Kato, K.; Mikoshiba, K. *Science* **1998**, 282, 1705.
- <sup>108</sup> Jiang, L.; Chan, T.-H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 355.
- <sup>109</sup> a) Brunn, G.; Fauq, A. H.; Chow, S.; Kozikowski, A. P.; Gallegos, A.; Powis, G. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1994**, 35, 71
- b) Powis, G.; Aksoy, I. A.; Melder, C. D.; Aksoy, S.; Eichinger, H.; Fauq, A. H.; Kozikowski, A. P. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1991**, 29, 95.
- c) Kozikowski, A. P.; Fauq, A. H.; Powis, G.; Kurian, P.; Crews, F. T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 362.
- <sup>110</sup> Legler, G. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, 48, 319-384.
- <sup>111</sup> Braun, H.; Burger, W.; Kresze, G.; Schmidchen, F. P.; Vaerman, J. L.; Viehe, H. G. *Tetrahedron Asymm.* **1990**, 1, 403.
- <sup>112</sup> Paulsen, H.; Mielke, B. *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 169.
- <sup>113</sup> a) Kozikowski, A. P.; Fauq, A. H.; Powis, G.; Kurian, P.; Crews, F. T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 362.
- b) Paulsen, H.; Roben, W. *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 974.
- c) Johnson, S. C.; Dahl, J.; Shih, T. L.; Schedler, D. J. A.; Anderson, L.; Benjamin, T.L.; Baker, D. C. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 3628.
- <sup>114</sup> Sanfilippo, C.; Patti, A.; Piatelli, M.; Nicolosi, G. *Tetrahedron Asymm.* **1998**, 9, 2809.
- <sup>115</sup> Sanfillippo, C., Patti, A.; Piattelli, M.; Nicolosi, G. *Tetrahedron Asymm.* **1997**, 8, 2083.
- <sup>116</sup> Ein Review: Prestwich, G. D. *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 503.
- <sup>117</sup> Tegge, W.; Ballou, C. E. *Carbohydr. Res.* **1992**, 230, 63.
- <sup>118</sup> Estevez, V. A.; Prestwich, G. D. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1623.
- <sup>119</sup> Falck, J. R.; Krishna, U. M.; Capdevila, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8771.
- <sup>120</sup> Vogelmaier, S.; Bembenek, M. E.; Kaplin, A. I.; Dormán, G.; Olszewski, J. D.; Prestwich, G. D.; Snyder, S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, 93, 4305.
- <sup>121</sup> Abdullah, M.; Hughes, P. J.; Craxton, A.; Gigg, R.; Marecek, J. F.; Prestwich, G. D.; Shears, S. B. *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 22340.
- <sup>122</sup> a) Mignery, G. A.; Südhof, T. C. *EMBO J.* **90**, 9, 3893.
- b) Kanetmatsu, T.; Takeya, H.; Watanabe, Y.; Ozaki, S. *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 6518.
- <sup>123</sup> Ullah, A. H.; Sethumadhavan, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 251, 260.
- <sup>124</sup> Sharpless, K. B.; Caron, M. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 1557.
- <sup>125</sup> Block, O., Dissertation, Bergische Universität Wuppertal, **2000**.



- <sup>126</sup> Takahashi, E. *Nippon Kagaku Zhassi* **1959**, 80, 1364; *Chem. Abstr.* **1961**, 3446.
- <sup>127</sup> Gilbert, E. E. *Chem. Rev* **1962**, 549.
- <sup>128</sup> Jork; Funk; Fischer; Wimmer „Dünnschichtchromatographie - Reagenzien und Nachweismethoden“, Bd. 1a, **1990**, VCH, Weinheim
- <sup>129</sup> Diese Messungen wurden durchgeführt von G. Dallmann, Arbeitskreis G. Vogel, Bergische Universität Wuppertal, Dissertation vorauss. **2002**.
- <sup>130</sup> M. Lammertz, unveröffentlichte Ergebnisse.
- <sup>131</sup> Dixon, M., Webb, E. C. „Enzymes“ **1979**, Longman Group Limited, New York
- <sup>132</sup> a) Ley, S. V.; Sternfeld, F. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 5305.  
b) Ley, S. V.; Parra, M.; Redgrave, A. J.; Sternfeld, F. *Tetrahedron* **1990**, 46, 4995.
- <sup>133</sup> Guo, Z.-X.; Haines, A. H.; Pyke, S. M.; Pyke, S. G.; Taylor, R. J. K. *Carbohydr. Res.* **1994**, 264, 147.
- <sup>134</sup> Trost, B. M.; Hembre, E. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 219.
- <sup>135</sup> Nicolaou, K. C.; van Delft, F.; Ohshima, T.; Vourloumis, D.; Xu, J.; Hosokawa, S.; Pfefferkorn, J.; Kim, S.; Li, T. *Angew. Chem.* **1999**, 109, 2630.
- <sup>136</sup> Hudlicky, T.; Gonzalez, D.; Gibson, D. T. *Aldrichim. Acta* **1999**, 32, 35.
- <sup>137</sup> Cullen, P. J.; Hsuan, J. J.; Truong, O.; Letcher, A. J.; Jackson, T. R.; Dawson, A. P.; Irvine, R. F. *Nature* **1995**, 376, 527.
- <sup>138</sup> Aggensteiner, M.; Stricker, R.; Reiser, G. *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1387, 117.
- <sup>139</sup> Zhu, D. M.; Tekle, E.; Huan, C. Y.; Chock, P. B. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 6063.
- <sup>140</sup> Wong, C.-H.; Whitesides, G. M. „Enzymes in Synthetic Organic Chemistry“, Tetrahedron Organic Chemistry Series Vol 12, **1994**, Elsevier, Oxford
- <sup>141</sup> a) McGarvey, G. J.; Wong, C.-H. *Liebigs Ann.* **1997**, 1059.  
b) Krên, V.; Thiem, J. *Chem. Soc. Rev.* **1997**, 26, 463.
- <sup>142</sup> Sirén, M., US-Patent No. 4,851,560.
- <sup>143</sup> S. Adelt, Dissertation, Bergische Universität Wuppertal **1999**.
- <sup>144</sup> A. Hansen, Diplomarbeit, Bergische Universität Wuppertal **1998**.
- <sup>145</sup> Salomonczyk, G. M.; Pietrusiewicz, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 4233.
- <sup>146</sup> Jun, K.; Choi, G.; Yan, S.-G.; Choi, K. Y.; Kim, H.; Chan, G. C. K.; Storm, D. R.; Alber, C.; Mayr, G. W.; Lee, C.-J.; Shin, H.-S. *Learning & Memory* **1998**, 5, 317.
- <sup>147</sup> Philippy, B. Q.; Graf, E.; *Free Radic. Biol. Med.* **1997**, 22, 939.
- <sup>148</sup> Barrientos, L.; Scott, J. J.; Murthy, P. P. N. *Plant Physiol.* **1994**, 106, 1489.
- <sup>149</sup> Freund, W.-D.; Mayr, G. W.; Tietz, C.; Schultz, J. E. *Eur. J. Biochem.* **1992**, 207, 359.
- <sup>150</sup> Craxton, A.; Caffrey, J. J.; Burkhart, W.; Safrany, S. T.; Shears, S. B. *Biochem. J.* **1997**, 328, 75.
- <sup>151</sup> Balci, M.; Sütbeyaz, Y.; Seçen, H. *Tetrahedron* **1990**, 46, 3715.
- <sup>152</sup> a) Riley, A. M.; Jenkins, D. J.; Potter, B. V. L. *Carbohydr. Res.* **1998**, 314, 277.  
b) Hudlicky, T.; Restrepo-Sanchez, N.; Kary, P. D.; Jaramillo-Gomez, L. M. *Carbohydr. Res.* **2000**, 324, 200.
- <sup>153</sup> Martin, J.-B.; Lausmann, T.; Bakker-Grunwald, T.; Vogel, G.; Klein, G. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 10134.
- <sup>154</sup> O. Block, Diplomarbeit, Bergische Universität Wuppertal **1995**.
- <sup>155</sup> Secen, H.; Maras, A.; Suetbeyaz, Y.; Balci, M. *Synth. Commun.* **1992**, 44, 2867.

- 
- <sup>156</sup> Johnson, C.R.; Miller, M. W. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6674.
- <sup>157</sup> Koreeda, M.; Yoshihara, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 974.
- <sup>158</sup> Ozaki, S.; Ling, L.; Ogasawara, T.; Watanabe, Y.; Masato, H. A.; *Carbohydr. Res.* **1994**, *50*, 307-310.
- <sup>159</sup> Römer, S.; Stadler, C.; Rudolf, M. T.; Schultz, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 1683-1694.
- <sup>160</sup> Mills, S. B.; Potter, B. V. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1997**, 1279.
- <sup>161</sup> Chung, S.-K.; Shin, B.-G.; Chang, Y.-T.; Suh, B.-C.; Kim, K.-T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 659.
- <sup>162</sup> Ozaki, S.; Kondo, Y.; Joshihisa, S.; Shiotani, N.; Ogasawara, T.; Watanabe, Y. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1992**, 729.
- <sup>163</sup> Zimmermann, P.; Diplomarbeit, Bergische Universität Wuppertal **1999**.
- <sup>164</sup> Billington, D. C.; Baker, R.; Kulagowski, J. J.; Mawer, I. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 314.
- <sup>165</sup> Legler, G.; Bollhagen, R. *Carbohydr. Res.* **1992**, *23*, 113.