

## Bioreversible Maskierung von Nucleosiddiphosphaten\*\*

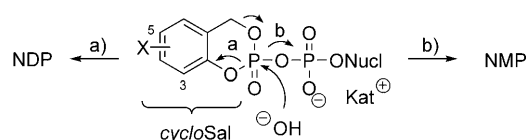
Henning Jacob Jessen, Tilmann Schulz, Jan Balzarini und Chris Meier\*

Nucleosid-Analoga werden heute weitverbreitet in der antiviralen Chemotherapie eingesetzt. Eine starke Einschränkung bei der Anwendung dieser Verbindungen ist, dass sie, um biologisch aktiv zu sein, zunächst durch schrittweises, durch Kinasen katalysiertes Anknüpfen von Phosphatgruppen in das entsprechende Nucleosidtriphosphat (NTP) metabolisiert werden müssen.<sup>[1]</sup> Sollte diese Bioaktivierung eingeschränkt oder blockiert sein, kann die antivirale oder antitumorale Aktivität dennoch gesteigert werden, indem man Nucleotid-Prodrugs der phosphorylierten Metaboliten einsetzt. Diese Strategie umgeht die Einschränkung oder Blockade verursachende Kinase und bewirkt letztlich einen starken Anstieg der intrazellulären Konzentrationen an aktiven Metaboliten. Weiterhin gelingt es mit Nucleotid-Prodrugs, Wirkstoffresistenzen zu umgehen und das Wirkspektrum eines Stammnucleosids zu erweitern.<sup>[2]</sup> Ein weiterer Vorteil von maskierten Nucleotiden ist, dass sie aufgrund ihrer hohen Lipophilie die Zellmembranen durchdringen, sodass sie in intakter Form in das Zellinnere gelangen und somit keine Substrate für unspezifischen Phosphatasen im Blutserum sind. Aus diesen Gründen wurden verschiedene Prodrug-Systeme für Nucleosidmonophosphate entwickelt, z. B. *cycloSal*-, Phosphoramidat-, Bis(*S*-acylthioethyl)- und Bis(pivaloxymethyl)-Techniken.<sup>[3]</sup> Demgegenüber wurden bislang sehr wenige Arbeiten zum gezielten Entwurf von Nucleosiddiphosphat(NDP)- und Nucleosidtriphosphat(NTP)-Prodrugs vorgestellt. Dieser Umstand verwundert, da z. B. vom ersten zugelassenen nucleosidischen anti-HIV-Wirkstoff 3'-Azidothymidin (AZT) bekannt ist, dass die Phosphorylierung zum AZT-Diphosphat (AZTDP) nur sehr langsam verläuft.<sup>[4]</sup> Die Folge davon ist eine starke intrazelluläre Anreicherung von AZT-Monophosphat (AZTMP), die starke Nebenwirkungen des Medikaments verursacht.<sup>[5]</sup>

Eine Ursache, weshalb die lipophile Maskierung von NDPs schwierig ist, liegt in der inhärenten Labilität der Phosphorsäureanhydridbindung, die nur aufgrund der negativen Ladungen kinetisch stabil ist und dadurch den nucleo-

philen Angriff auf die Phosphateinheit verhindert. Verschiedene NDP-Diester auf Glycerid-Basis wurden von Hostetler et al. untersucht.<sup>[6]</sup> Allerdings zeigte sich, dass diese Verbindungen nicht als Vorstufen der NDPs agieren, sondern Nucleosidmonophosphate durch Spaltung der Diphosphatgruppe liefern. Ein weiterer Ansatz zur Maskierung von NDPs wurde von Huynh-Dinh et al. beschrieben,<sup>[7]</sup> die verschiedene Acylgruppen mit dem  $\beta$ -Phosphat der Diphosphateinheit verknüpften. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, dass eine gemischte Carbonsäure-Phosphat-Anhydridbindung schneller gespalten wird als die Phosphatanhydridbindung. Das Konzept konnte in Hydrolysestudien in wässrigen Puffern belegt werden, allerdings versagte die Methode in biologischen Medien (z. B. RPMI-Kulturmedium) und führte zu unkontrollierten Zersetzungen.<sup>[8]</sup>

Wir haben zunächst untersucht, ob sich die von uns entwickelte *cycloSal*-Technik auch für die Maskierung von NDPs eignet. Dies war naheliegend, da in ausführlichen Studien nachgewiesen wurde, dass durch die Verwendung der *cycloSal*-Technik die antivirale Aktivität bei einigen Nucleosid-Analoga deutlich verbessern werden kann.<sup>[3b]</sup> Nach der Synthese einiger *cycloSal*-NDPs untersuchten wir die Hydrolysewege durch  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektroskopie (Schema 1; Weg a und



**Schema 1.** Hydrolyse der *cycloSal*-NDP-Prodrugs über Weg (a) und (b).

b). Wir beobachteten, dass die Derivate nicht zur Freisetzung der NDPs geeignet waren, da die Spaltung der Diphosphatgruppe sehr dominant ist (Schema 1, Weg b), sodass der erwünschte Hydrolyseweg (Weg a) nicht konkurrieren kann. Folglich konnten nur sehr geringe Mengen an NDP nachgewiesen werden, während große Mengen an Nucleotid und *cycloSal*-Phosphat gebildet wurden.

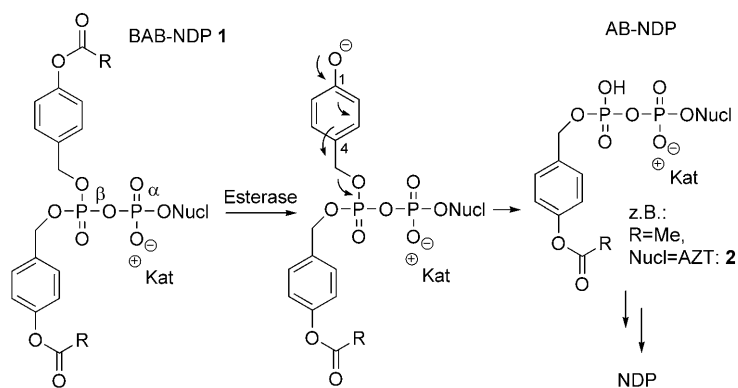
Wir änderten daraufhin unsere Strategie und untersuchten eine enzymatisch aktivierbare Klasse von Prodrugs,<sup>[9]</sup> bezeichnet als Bis-(4-acyloxybenzyl)nucleosiddiphosphate (BAB-NDPs, **1**). Die Leitstruktur dieser Prodrugs und der konzipierte, enzymatisch ausgelöste Spaltungsmechanismus sind in Schema 2 zusammengefasst. Um chemische Details wie Lipophilie und Stabilität der potenziellen NDP-Prodrugs zu untersuchen, synthetisierten wir Derivate, die sich im Acylrest und dem verwendeten Nucleosid unterscheiden. Die Spaltung der Maskierungsgruppen sollte dabei durch die Hydrolyse der Acylesterbindung entweder durch pH-abhängige chemische Hydrolyse oder durch enzymkatalysierte Hydrolyse initiiert werden.

[\*] Dr. H. J. Jessen, T. Schulz, Prof. Dr. C. Meier  
Organische Chemie, Department für Chemie, Universität Hamburg  
Martin-Luther-King-Platz 6, 20146 Hamburg (Deutschland)  
Fax: (+49) 40-42838-2495  
E-Mail: chris.meier@chemie.uni-hamburg.de  
Homepage: <http://www.chemie.uni-hamburg.de/oc/meier/>

Prof. Dr. J. Balzarini  
Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universiteit Leuven  
Minderbroederstraat 10, 3000 Leuven (Belgium)

[\*\*] Die Autoren danken Leen Ingels und Lizette van Berckelaer für exzellente technische Assistenz. Die Arbeiten wurden von der Universität Hamburg (C.M.) und der Universität Leuven (GOA no. 05/19; J.B.) finanziell unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200803100> zu finden.



**Schema 2.** Strukturformeln der BAB-NDP-Prodrugs und enzymatischer Hydrolysemechanismus.

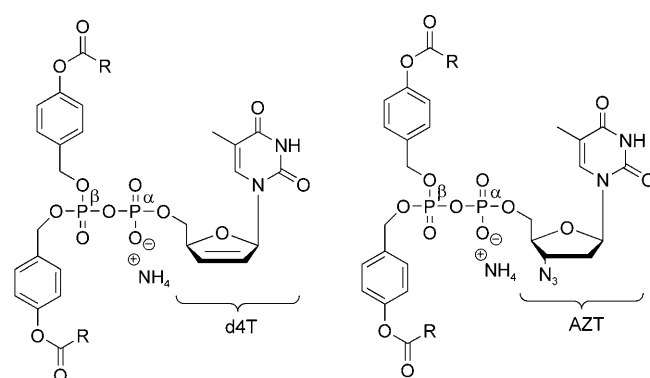
Diese anfängliche Spaltung verursacht eine Umkehr der Substituenteneigenschaften (ein Akzeptor wird in einen Donor-Substituenten überführt), was zu einer Destabilisierung der Benzylphosphatesterbindung führt. Durch 1,4-Eliminierung und anschließende Hydrolyse zerfällt das Prodrug zu 4-Hydroxybenzylalkohol und einem einfach maskierten NDP (AB-NDP) (z.B. **2**, Schema 2). Die Wiederholung dieser Spaltung führt letztlich zur Freisetzung von NDP.

Wichtig ist zu erwähnen, dass nach dem in Schema 2 gezeigten Mechanismus keine Reaktion an der Phosphatanhydridbindung stattfindet, wodurch unerwünschte Nebenreaktionen ausbleiben sollten. Außerdem konnten wir in Vorarbeiten zeigen, dass das  $\alpha$ -Phosphat unmaskiert vorliegen muss, um eine schnelle Hydrolyse der Diphosphatereinheit zu verhindern (Ergebnisse nicht gezeigt).

Die Synthese der Zielverbindungen gelang durch eine Dicyanimidazol(DCI)-vermittelte Kupplung von *para*-Acyloxybenzylphosphoramiditen mit Bis(tetra-*n*-butylammonium)nucleosidmonophosphaten und anschließende Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid (TBHP) (siehe Hintergrundinformationen). Die Reinigung der Produkte gelang durch Chromatographie an RP-18-Kieselgel mit einem Gradienten aus Methanol in Wasser. Zunächst wurden 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (d4T) und 3'-Azidothymidin (AZT) als antiviral aktive Nucleosid-Analoga ausgewählt. In Schema 3 sind die synthetisierten Derivate zusammen mit den nichtoptimierten Ausbeuten zusammengestellt. Erwähnenswert ist, dass im Laufe der Arbeiten eine merkliche Steigerung der chemischen Ausbeuten gelang. Dies beruhte besonders auf der Optimierung der Reinigungsverfahren, sodass Ausbeuten von 46 % bis 65 % möglich wurden.

Die Stabilitäten von **1a–h** wurden in unterschiedlichen Medien bestimmt [Phosphatpuffer (PBS, pH 7.3), Citrat/HCl-Puffer (pH 2.0), T-Lymphocyten(CEM/0)-Zell-extrakt, 20 % humanes Blutserum, RPMI-Kulturmedium]. Der konzipierte Hydrolysemechanismus wurde durch Ionenpaarchromatographie und  $^{31}\text{P}$ -NMR-Studien untersucht, und die erhaltenen Daten stützen den in Schema 2 gezeigten Mechanismus vollständig. So hydrolysierte BAB-AZTDP (**1e**) bei physiologischem pH-Wert vollständig über das einfach maskierte Intermediat AB-AZTDP (**2**), das zudem isoliert und charakterisiert werden konnte, um schließlich nahezu aus-

schließlich AZTDP zu bilden (PBS, pH 7.3, siehe Hintergrundinformationen). Für BAB-AZTDP (**1e**) betrugen die Halbwertszeiten (in PBS) dieses ausschließlich auf chemischer Hydrolyse basierenden Prozesses 17 h für die Hydrolyse zu AB-AZTDP (**2**) und 110 h für die abschließende Hydrolyse zu AZTDP. Nur sehr geringe Mengen an AZTMP wurden beobachtet (ca. 5 %). Die Entstehung von AZTMP resultiert aus der Spaltung der Diphosphatgruppe in BAB-AZTDP (**1e**). Die Inkubation des Intermediats AB-AZTDP (**2**) in PBS ergab keine Bildung von AZTMP, was beweist, dass die Diphosphatgruppe in AB-AZTDP hydrolysestabil ist. Erwartungsgemäß hing die Stabilität der Verbindungen **1a–h** stark vom Verzweigungsgrad der Alkylgruppe



R=Me; BAB-d4TDP **1a**: 10%  
R=tBu; BPB-d4TDP **1b**: 46%  
R=Heptyl; BOB-d4TDP **1c**: 65%  
R=Phenyl; BBB-d4TDP **1d**: 33%  
R=Me; BAB-AZTDP **1e**: 29%  
R=iPr; BIB-AZTDP **1f**: 48%  
R=tBu; BPB-AZTDP **1g**: 20%  
R=Phenyl; BBB-AZTDP **1h**: 49%

**Schema 3.** Kombination von Nucleosiden und Acylresten in den Prodrugs **1a–h**. Abkürzungen: Bis-(4-acetoxybenzyl) BAB; Bis-(4-isobutyryloxybenzyl) BIB; Bis-(4-pivaloyloxybenzyl) BPB; Bis-(4-octanoyloxybenzyl) BOB; Bis-(4-benzoyloxybenzyl) BBB.

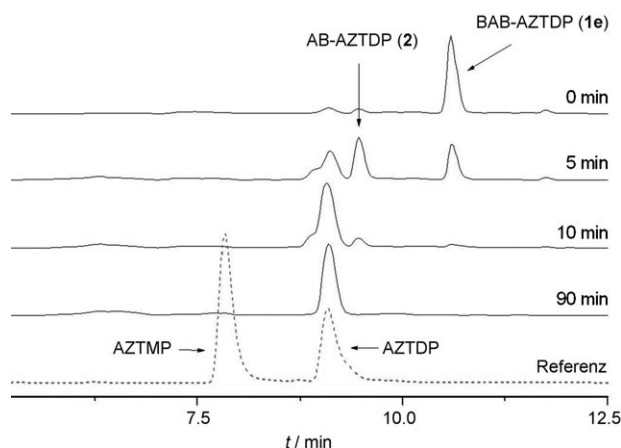
im Acylrest ab. So ist die Halbwertszeit des ersten Schritts z.B. von BIB-AZTDP (**1f**) in PBS deutlich höher (39 h) als die von **1e** (Tabelle 1). Ähnlich hohe Stabilitäten wurden auch in Citrat/HCl-Puffer (pH 2.0) gemessen. Demgegenüber führte die Inkubation z.B. von BAB-AZTDP (**1e**) in CEM/0-

**Tabelle 1:** Halbwertszeiten  $t_{1/2}$  (in h) von **1a** und **1c–h** in verschiedenen Medien.

	pH 7.3 <sup>[a]</sup>	CEM/0 <sup>[b]</sup>	Plasma <sup>[c]</sup>	RPMI/FCS <sup>[d]</sup>
<b>1a</b>	10	0.05	n.b. <sup>[e]</sup>	n.b. <sup>[e]</sup>
<b>1c</b>	63	1	12	3
<b>1d</b>	82	7	13	n.b.
<b>1e</b>	17	0.02	5	2
<b>1f</b>	39	0.3	10	2.5
<b>1g</b>	75	1	24	3
<b>1h</b>	82	0.5	4	1

[a] 25 mM Phosphatpuffer. [b] T-Lymphocyten-Extrakt (human) (pH 6.9). [c] 20 % Humanes Blutplasma, verdünnt mit 80 % 50 mM PBS (pH 6.8). [d] RPMI-Inkubationsmedium plus 10 % hitzedesaktiviertes fötales Kälberserum (FCS). [e] Nicht bestimmt.

Zell-extrakten zu einer drastischen Beschleunigung der Spaltungsreaktion, da die Phenylestergruppe nunmehr enzymatisch hydrolysiert wird. Die erste Hydrolyse, die zur Bildung von AB-AZTDP (**2**) führte, war 500fach schneller ( $t_{1/2} = 2$  min) als die chemische Hydrolyse. Der zweite Schritt, der zu über 95 % zu AZTDP führte, hatte eine Halbwertszeit von 3 min, was einer 2500fachen Beschleunigung im Vergleich zur chemischen Hydrolyse entspricht. Dies ist überraschend, da bei BAB-Nucleotid-Prodrugs die enzymatische Spaltung der zweiten Maskierungsgruppe erheblich langsamer ist als die erste Spaltung.<sup>[9c]</sup> Die in Abbildung 1 exemplarisch gezeigten



**Abbildung 1.** HPL-Chromatogramme von BAB-AZTDP (**1e**) nach Inkubation in CEM/0-Zell-extrakten.

HPL-Chromatogramme belegen die selektive Spaltung von Verbindung **1e** nach Inkubation im CEM/0-Zell-extrakt. Identische Befunde liegen für BAB-d4TDP (**1a**) vor. Unseres Wissens ist dies damit der erste Bericht über NDP-Prodrugs, die über eine hohe chemische Stabilität verfügen und in einer schnellen, hochselektiven enzymatischen Spaltung im Zell-extrakt Nucleosiddiphosphate liefern.

Die extrem schnelle und hochselektive Spaltung in Zell-extrakten ist entscheidend für das Funktionieren der Methode, da somit die unerwünschten Nebenreaktionen an der Diphosphatgruppe zurückgedrängt werden können. Aufgrund der Ergebnisse sind wir überzeugt, dass, anders als bei den Nucleotid-Prodrugs (*cycloSal*-Technik), nur solche Pro-drug-Konzepte für den gezielten Entwurf von NDP-Prodrugs erfolgreich sein werden, die auf einer enzymatischen Spaltung *beider* Maskierungsgruppen ohne Beteiligung der Phosphat-anhydridbindung beruhen. Wie oben beschrieben, lässt sich die chemische Stabilität zudem durch Verzweigungen im Alkylrest „einstellen“. Allerdings steigt mit höherer Verzweigung im Alkylrest auch die Stabilität in biologischen Medien (vgl. **1f**, **1g** und **1e** in Tabelle 1).

Überraschenderweise führt die Steigerung der enzymatischen Stabilität auch zu einer verringerten NDP-Bildung. Im Fall von BIB-AZTDP (**1f**) ( $t_{1/2} = 20$  min für die erste Hydrolyse) lag die Ausbeute an AZTDP nur noch bei 60 % im CEM/0-Zell-extrakt. BOB-d4TDP (**1c**) ( $t_{1/2} = 60$  min für die erste Hydrolyse) lieferte sogar nur noch 35 % d4TDP im

CEM/0-Zell-extrakt. Bei Verwendung eines Pivalinsäure-esters, wie in **1g**, konnte hingegen kein AZTDP detektiert werden, da das Intermediat PB-AZTDP (analog zu **2**) stabil gegen die anwesenden Enzyme war. Hier beobachteten wir die vollständige Spaltung der Diphosphatgruppe unter Freisetzung verschiedener Produkte. Daraus lässt sich für die Entwicklung effizienter Diphosphat-Prodrugs folgendes ableiten: Trotz der erwünschten hohen chemischen Stabilität müssen die Maskierungseinheiten schnellstmöglich in biologischer Umgebung entfernt werden, da ansonsten die Spaltung der Diphosphatgruppe effizient konkurriert. Halbwertszeiten z.B. in Zell-extrakten, die die Bildung großer Mengen NDP zulassen, liegen im Bereich von 1 bis 30 min. Darüber hinaus haben wir, trotz einer leichten Verkürzung der Halbwertszeiten, eine beachtliche Stabilität der neuen NDP-Prodrugs in humanem Blutserum im Vergleich zu Zell-extrakten beobachtet, was auf eine deutlich höhere Enzymkonzentration in den Extrakten hinweist.

Weiter haben wir die Halbwertszeiten der Verbindungen in dem bei HIV-Tests verwendeten Inkubationsmedium (RPMI-Kulturmedium mit 10 % hitzedesaktiviertem fötalem Kälberserum (FCS)) bestimmt. In diesem Medium war eine Verkürzung der Halbwertszeiten bei allen Verbindungen im Vergleich zum Phosphatpuffer festzustellen.

Abschließend wurden die Verbindungen **1a–h** auf ihre Fähigkeit untersucht, die Replikation von HIV in T-Lymphozyten zu inhibieren. Hierzu wurde eine Wildtyp-CEM-Zellsuspension mit HIV-1 oder HIV-2 infiziert, und eine mutierte Zelllinie, die das Enzym Thymidinkinase nicht exprimiert (TK-defizient), wurde lediglich mit HIV-2 infiziert. Jeweils 100  $\mu$ L der Zellsuspension wurden auf eine 96er Mikrotiterplatte überführt und mit 100  $\mu$ L der entsprechend verdünnten Testverbindung gemischt. Nach 4–5 Tagen wurde die Syncytienbildung in den infizierten Zellkulturen mikroskopisch aufgezeichnet. Obwohl die d4T-Derivate **1a–d** in RPMI/FCS-Kulturmedium weniger stabil als in Phosphatpuffer waren, zeigten **1c** und **1d** eine vollständige Erhaltung der anti-HIV-Aktivität in der mutierten, TK-defizienten Zelllinie (CEM/TK<sup>-</sup>) (Tabelle 2). Dies beweist, dass die Verbindungen offensichtlich über die Zellmembran diffundieren und intrazellulär biologisch aktive Metaboliten freisetzen. Demgegenüber konnten die Derivate **1a** und **1b** die Thymidinkinase-Defizienz nicht umgehen. Obwohl **1a** in den

**Tabelle 2:** Antivirale Aktivität der Verbindungen **1a–d** gegen HIV-1 und HIV-2.

	EC <sub>50</sub> [ $\mu$ M] <sup>[a]</sup> CEM/0 <sup>[b]</sup> HIV-1	EC <sub>50</sub> [ $\mu$ M] CEM/0 HIV-2	EC <sub>50</sub> [ $\mu$ M] CEM/TK <sup>-</sup> <sup>[c]</sup> HIV-2	CC <sub>50</sub> [ $\mu$ M] CEM/0
<b>1a</b>	1.05	1.5	21.0	> 125
<b>1b</b>	0.78	0.90	14	66 $\pm$ 1
<b>1c</b>	0.90	1.30	2.6	81 $\pm$ 1
<b>1d</b>	0.20	0.30	0.85	36 $\pm$ 5
<b>d4T</b>	0.40	0.3	70	> 100

[a] Antivirale Aktivität in T-Lymphozyten: 50 % effektive Konzentration (Werte sind Mittelwerte aus zwei bis drei unabhängigen Experimenten).

[b] Wildtyp-T-Lymphozyten. [c] Thymidinkinase-defiziente T-Lymphocyten. [d] Cytotoxische Konzentration: 50 % cytostatische Konzentration zur Inhibierung der CEM/0-Zellproliferation.

anderen beschriebenen Untersuchungen sehr effizient d4TDP lieferte, könnte diese Verbindung zu polar sein, um durch die Zellmembran zu diffundieren, wodurch sie bereits im RPMI/FCS-Medium hydrolysieren würde. Dass das Derivat **1b** keine Aktivität zeigt, könnte damit zusammenhängen, dass die zweite Maskierungsgruppe nicht enzymatisch gespalten wird. Dies hatten wir bereits in den CEM-Zell-extrakt-Studien beobachtet. Alle getesteten Verbindungen **1a–h** zeigten keine ausgeprägte Zytotoxizität.

In dieser Studie haben hier die nötigen Voraussetzungen für die gezielte Entwicklung effizienter bioreversibler Prodrugs für Nucleosiddiphosphate untersucht. Das vorgestellte BAB-Konzept sollte sich im Prinzip auch auf andere Nucleosid-Analoga übertragen lassen. Unsere derzeitigen Studien gelten der Optimierung sowohl der Hydrolyse- als auch der Lipophilieeigenschaften der BAB-Leitstruktur.

## Experimentelles

Experimentelle Einzelheiten sind in den Hintergrundinformationen verfügbar.

Eingegangen am 27. Juni 2008

Online veröffentlicht am 1. Oktober 2008

**Stichwörter:** Antivirale Wirkstoffe · Medizinische Chemie · Nucleotide · Prodrugs · Wirkstofftransport

- [1] a) J. Balzarini, P. Herdewijn, E. De Clercq, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 6127–6133; b) J. Balzarini, *Pharm. World Sci.* **1994**, 16, 113–126.  
[2] a) C. Meier, T. Knispel, E. De Clercq, J. Balzarini, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1604–1614; b) C. Meier, A. Lomp, A. Meerbach, P.

- Wutzler, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 5157–5172; c) D. Cahard, C. McGuigan, J. Balzarini, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2004**, 4, 371–381, zit. Lit.  
[3] a) X. Tan, C. K. Chu, F. D. Boudinot, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, 39, 117–151; b) C. Meier, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081–1102; c) C. R. Wagner, V. V. Iyer, E. J. McIntee, *Med. Res. Rev.* **2000**, 20, 417–451; d) R. J. Jones, N. Bischofsberger, *Antiviral Res.* **1995**, 27, 1–17, zit. Lit.  
[4] a) A. Lavie, I. Schlichting, I. R. Vetter, M. Konrad, J. Reinstein, R. S. Goody, *Nat. Med.* **1997**, 3, 922–924; b) A. Lavie, I. R. Vetter, M. Konrad, R. S. Goody, J. Reinstein, I. Schlichting, *Nat. Struct. Biol.* **1997**, 4, 601–604.  
[5] a) J. P. Sommadossi, R. Carlisle, Z. Zhou, *Mol. Pharmacol.* **1989**, 36, 9–14; b) J. A. Harrington, J. E. Reardon, T. Spector, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37, 918–920; c) J. P. Yan, D. D. Ilsley, C. Frohlick, R. Street, E. T. Hall, R. D. Kuchta, P. Melanco, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 22836–22841.  
[6] a) K. Y. Hostetler, L. M. Stuhmiller, H. B. M. Lenting, H. van den Bosch, D. D. Richman, *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 6112–6117; b) G. M. T. van Wijk, K. Y. Hostetler, H. van den Bosch, *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1991**, 1084, 307–310.  
[7] a) A. Kreimeyer, J. Ughetto-Monfrin, A. Namane, T. Huynh-Dinh, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8739–8742; b) D. Bonnafe, B. Dupraz, J. Ughetto-Monfrin, A. Namane, T. Huynh-Dinh, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 531–534; c) A. Kreimeyer, F. André, C. Gouyette, T. Huynh-Dinh, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 3013–3016; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, 37, 2853–2855.  
[8] D. Bonnafe, B. Dupraz, J. Ughetto-Monfrin, A. Namane, Y. Henin, T. Huynh-Dinh, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 895–902.  
[9] Der Bis(AB)-Ansatz wurde zur Maskierung von NMPs getestet, aber nicht weiter verfolgt: a) A. Routledge, I. Walker, S. Freeman, A. Hay, N. Mahmood, *Nucleosides Nucleotides* **1995**, 14, 1545–1558; b) S. Freeman, K. C. Ross, *Prog. Med. Chem.* **1997**, 34, 111–147; c) C. Meier, U. Muus, J. Renze, L. Naesens, E. De Clercq, J. Balzarini, *Antiviral Chem. Chemother.* **2002**, 13, 101–114.