

**Darstellung photolabiler Mannose-Derivate zur
Markierung des Typ-1-fimbrialen Lectins
aus *E.coli***



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

vorgelegt von
Mark Walter

Kiel 2003

**Darstellung photolabiler Mannose-Derivate zur
Markierung des Typ-1-fimbrialen Lectins
aus *E.coli***



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

vorgelegt von
Mark Walter

Kiel 2003

Referentin: Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst

Koreferent: Prof. Dr. Ulrich Lüning

Tag der Disputation: 08.12.2003

Zum Druck genehmigt:

Der Dekan

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen benutzt und die Arbeit nicht an anderer Stelle eingereicht habe. Dies ist mein erster Promotionsversuch.

Kiel, 03.01.03

Mark Walter

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2000 bis Oktober 2003
am Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
im Arbeitskreis von Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst durchgeführt.

Das Bekannte ist endlich, das Unbekannte unendlich;
geistig stehen wir auf einem Inselchen inmitten eines grenzenlosen Ozeans von Unerklärlichem.
Unsere Aufgabe ist es,
von Generation zu Generation ein klein wenig mehr Land trocken-zulegen.

T. H. Huxley

Frau Prof. Dr. Lindhorst danke ich für die herausfordernde Aufgabenstellung, der
Möglichkeit eigene Ideen einbringen zu können, die freundschaftliche Atmosphäre
und für ihre Hilfsbereitschaft.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	I
1 Einleitung	1
1.1 Kohlenhydrate – Biologische Funktion	1
1.1.1 <i>Lectine</i>	2
1.1.2 <i>Multivalenz</i>	3
1.1.3 <i>Glycomimetika</i>	4
1.2 Das Bakterium <i>E.coli</i>	5
1.3 Typ-1-Fimbrien	7
1.4 Photoaffinitätsmarkierungen	9
1.4.1 <i>Azid-Photolabel</i>	9
1.4.2 <i>Benzophenon-Photolabel</i>	10
1.4.3 <i>Diazirin-Photolabel</i>	10
1.5 Verwendung von Diazirin-Photolabeln in der biologischen Chemie	12
1.6 Thioharnstoff-Derivate in der Zuckerchemie	14
2 Aufgabenstellung	16
3 Präparativer Teil	17
3.1 Synthese- und Kapitelübersicht	17
3.2 Thioharnstofffreie Mannoside mit Diazirin-Label	21
3.2.1 <i>Darstellung von 2-Azi-4-hydroxybutyl-α-D-mannopyranosid (14)</i>	21
3.2.2 <i>Darstellung von Methyl-6-O-[(2'-azi-4'-hydroxybutyl]-2,3,4-tri-O-benzyl-α-D-mannopyranosid (36)</i>	28
3.2.3 <i>Versuche zur Darstellung von Methyl-4-azi-4-desoxy-α-D-mannopyranosid (38)</i>	31

3.3	Mannoside mit Diazirin-Label über Thioharnstoffverbrückung	33
3.3.1	<i>Darstellung des Diazirin-Linkers 2-Azipropylamin-hydrochlorid (48)</i>	33
3.3.2	<i>N-(2-Azipropyl)-N'-(2'-α-mannopyranosyloxyethyl)thioharnstoff (52) und N-(2-Azipropyl)-N'-[p-(α-D-mannopyranosyloxy)phenyl]- quadratsäurediamid (54)</i>	36
3.3.3	<i>Darstellung von N-(2-azipropyl)-N'-(1-desoxy-α-D-mannopyranosyl)thioharnstoff (58) und N-(2-Azipropyl)-N'-(p-phenyl-α-D-mannopyranosyl)thioharnstoff (62)</i>	37
3.3.4	<i>Darstellung von p-Nitrophenyl-6-deoxy-6-(2'-azipropylthioureido)-α-D-mannopyranosid (68) und Methyl-6-deoxy-6-(2'-azipropylthioureido)-α-D-mannopyranosid (71)</i>	39
3.4	Difunktionelle Zuckerisothiocyanato-Derivate	42
3.4.1	<i>Synthese von Mannose-Derivaten mit zweifacher Isothiocyanatofunktionalisierung</i>	42
3.4.2	<i>Darstellung von N-(2-Azipropyl)-N'-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato-α-D-mannopyranosyl)thioharnstoff (83)</i>	45
3.5	Darstellung von Diazirin-funktionalisierten Di- und Triclustern	46
3.5.1	<i>Darstellung von Tris-{2-[3'-(6"-desoxy-6"-(2'''-azipropylthioureido)-α-D-mannopyranosyl)-thioureido]ethyl}amin (87) und Tris-{2-[3'-(1"-6"-didesoxy-1"-(2'''-azipropylthioureido)-α-D-mannopyranos-6"-yl)thioureido]ethyl}amin (89)</i>	46
3.5.2	<i>Darstellung von 1,9-Di-(2',3':4',6'-diisopropyliden-α-D-mannopyranosyloxy)-3,7-dioxa-5-oxo-nonan (94)</i>	50
3.5.3	<i>Darstellung von N-{3-[2'-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethoxymethyl]-propyl}-N'-(2"-azipropyl)-thioharnstoff (105)</i>	53
3.5.4	<i>Versuche zur Darstellung von Serinol-zentrierten Clustern</i>	57

3.5.5	<i>Darstellung von 1,3-Di-(α-D-mannopyranosyloxy)-2-(2'-azipropylthioureido-6''-desoxy-6''-thioureidomethyl-α-D-mannopyranos-6''-yl)propan (126) und [2-(2'-Azipropylthioureido)-1,3-Di-(α-D-mannopyranosyloxy)]propan (133)</i>	60
3.6	Bestrahlungsreaktionen	66
3.6.1	<i>Bestrahlung von (16)</i>	66
3.6.2	<i>Bestrahlung von (58)</i>	67
4	Analytischer Teil	68
4.1	NMR-Spektroskopie von Thioharnstoffderivaten	69
4.2	Massenspektrometrische Untersuchungen der Diazirin-Derivate	71
4.3	ELISA-Messungen der Diazirin-Derivate	79
4.4	FimH-Man-Adduktbildung und MALDI-Analyse	83
5	Zusammenfassung und Ausblick	85
5.1	Summary and Outlook	87
6	Experimenteller Teil	89
6.1	Allgemeine Methoden	89
6.2	Einzelvorschriften	96
6.3	Biologische Tests	171
6.3.1	<i>ELISA-Protokoll</i>	171
6.3.2	<i>Bestrahlungsprotokoll</i>	174
7	Sicherheitsdaten	176
	<i>Lebenslauf</i>	181
	<i>Danksagung</i>	182
8	Literatur	184

Abkürzungen

abs.	absolut
ABTS	2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) Diammoniumsalz
Ac	Acetyl-
AK	Antikörper
Ar	Aryl
b (NMR)	breit
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl-
Bz	Benzoyl
c	Konzentration
C-HEGA	Cyclohexylbutanoyl- <i>N</i> -hydroxy- <i>D</i> -glucamid
CH	Cyclohexan
COSY	Correlated Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
d (NMR)	Dublett
d	Tag
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMP	2,2-Dimethoxypropan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSS	Dimethylsilapentansulfonat
EE	Ethylacetat (Essigester)
eq.	Äquivalent (equivalent)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ESI	Electro-Spray-Ionisation
EtOH	Ethanol

FG	Funktionelle Gruppe
FimH _{tr}	Lectin-Domäne des FimH-Proteins
Fmoc	Fluorenylmethyl-
FT	Fourier-Transformation
ges.	gesättigt
h	Stunde
HCCA	α -Cyano-4-hydroxymethylsäure
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
ipr (NMR)	isopropyliden
IR	Infrarot
m (NMR)	Multiplett
M	Molmasse
Man	Mannose
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
Me	Methyl-
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
min	Minute
MPLC	Middle Pressure Liquid Chromatography
MS	Massenspektrometrie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OTf	Trifluormethansulfonat (Triflat)
PAMAM	Polyamidoamin-
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PDC	Pyridiniumdichromat
Ph	Phenyl
Phe	Phenylalanin
pNP	<i>p</i> -Nitrophenyl-
PT	Phasen-Transfer
Pyr	Pyridin
q (NMR)	Quartett
quant.	quantitativ

quin (NMR)	Quintett
Red.	Reduktion
RP	Reversed Phase
RT	Raumtemperatur
RZ	Retentionszeit
s (NMR)	Singulett
SA	Sinapinsäure
sept (NMR)	Septett
Smp.	Schmelzpunkt
t (NMR)	Triplett
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
TOF	Time of Flight
Tr	Trityl-
Ts	Tosyl-
UV	Ultraviolett
Verb.	Verbindung
Zu (NMR)	Zuckerrest

1 Einleitung

1.1 Kohlenhydrate - Biologische Funktion

Kohlenhydrate sind in erster Linie als Energieträger (Traubenzucker, Stärke), Energiespeicher (ATP) oder als strukturgebendes Naturpolymer (Cellulose, Chitin) bekannt. Gut 90% der Biomasse unseres Planeten sind Kohlenhydrate und die Natur synthetisiert davon 10^9 Jahrestonnen, was die Zucker unübersehbar zu einer wichtigen Substanzklasse macht. Was allerdings erst in den letzten Jahrzehnten in den Blickpunkt der Forschung geraten ist und damit den sich lebhaft entwickelnden Bereich der Glycobiologie begründet hat, war die Erkenntnis, dass Kohlenhydrate im erheblichen Maß ein reichhaltiges Reservoir von Möglichkeiten bieten, an biologischen Steuerungsprozessen teilzuhaben¹.

Im Vergleich zu Aminosäuren oder Nukleinsäuren haben Saccharide weitaus mehr funktionelle Gruppen, sodass schon Oligosaccharide eine große Vielfalt an Verknüpfungsmöglichkeiten (α -, β -Verknüpfung, Verbrückung über verschiedene Hydroxysauerstoffatome, Verzweigungen in der Oligosaccharidkette, unterschiedliche Monosaccharideinheiten) aufweisen². Für gewöhnlich werden

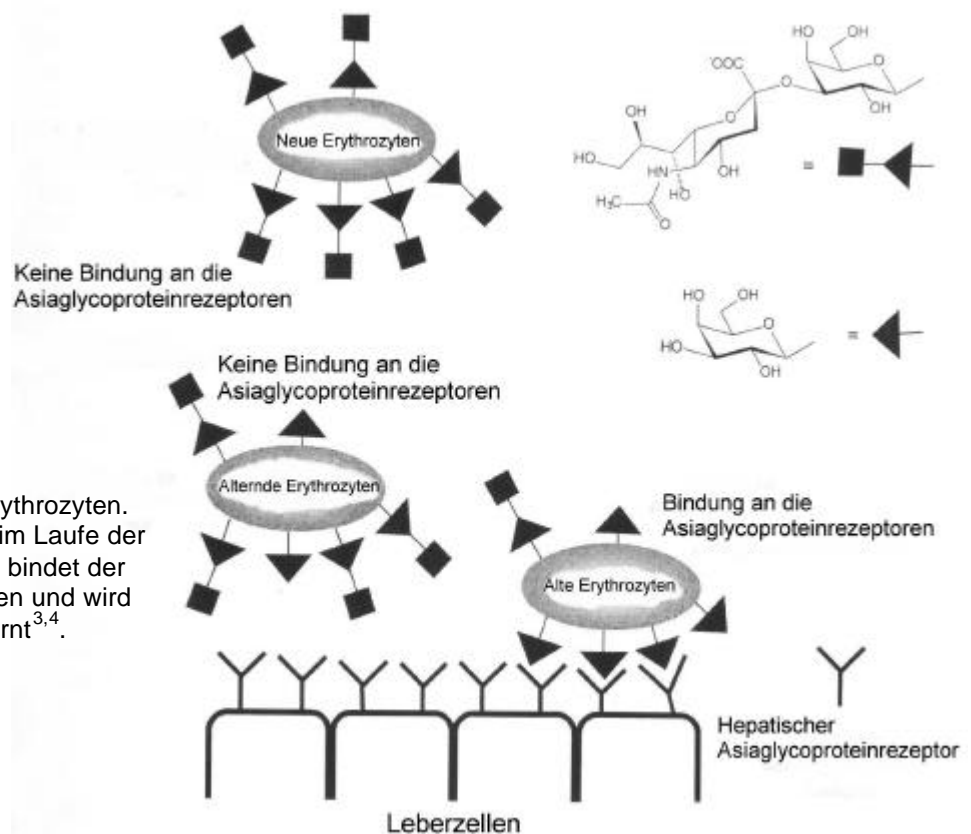


Abb. 1: Abbau von alten Erythrozyten. Wenn die Sialinsäurereste im Laufe der Zeit abgebaut worden sind, bindet der Erythrozyt an die Leberzellen und wird aus dem Blutkreislauf entfernt^{3,4}.

Oligosaccharide, die im Zusammenhang mit biologischer Erkennung stehen, an einem Membranprotein so in der Zellmembran verankert, dass sie im extrazellulären Raum präsentiert werden. So kann z.B. eine Wächterzelle des Immunsystems anhand der ihr von Körperzellen angebotenen Saccharidstrukturen erkennen, ob diese gesund oder möglicherweise geschädigt sind. Ebenso werden alternde Erythrozyten an ihren mangelnden Gehalt an Sialinsäureresten, respektive ihren gestiegenen Gehalt an Galaktoseresten auf ihrer Oberfläche von Leberzellen erkannt und dem körpereigenen Recyclingsystem zugeführt (Abb. 1)^{3,4}. Da eine Zelle für ein biologisches Signal eine Vielzahl an Interaktionen mit ihrer Umgebung benötigt, gibt es auf ihrer Oberfläche ein mannigfaltiges Angebot an Oligosaccharid-Strukturen, die die Zelle wie einen Mantel umgeben und in ihrer Gesamtheit Glycocalix genannt werden.

1.1.1 Lectine

Zu den mit Sacchariden in Wechselwirkung tretenden Proteinen, gehören, neben Saccharid-spezifischen Enzymen oder Antikörpern des Immunsystems, als große heterogene Gruppe die Lectine⁵, welche die unterschiedlichsten Saccharid(teil)strukturen binden können. Die eigentliche Wechselwirkung zwischen Lectin und Saccharid erfolgt entweder über Wasserstoffbrücken mit Peptidbindungen oder polaren Seitenketten von Aminosäuren und/oder über hydrophobe Wechselwirkungen zwischen der Ringfläche des Saccharids und hydrophoben

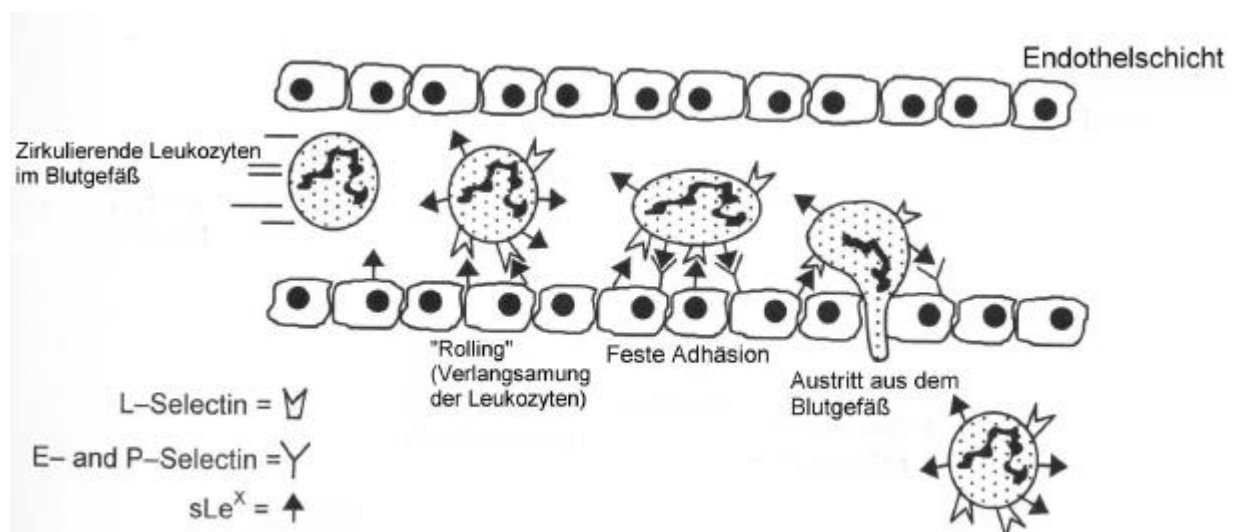


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen. Die Wechselwirkung zwischen den Selectinen und den sLe^xStrukturen sind im frühen Stadium der Adhäsion von Wichtigkeit^{4,6}.

Aminosäureseitenketten des Lectins. Zudem ist auch bei ionischen Verbindungen wie Heparin (enthält Iduronsäure, die unter physiologischen Bedingungen als Carboxylat vorliegt) eine Wechselwirkung mit einer positiv geladenen Seitenkette möglich. Des Weiteren können nichtkovalente Bindungen über Wasserstoffbrücken oder unter Zuhilfenahme von Ca^{2+} als Komplexbildner erreicht werden.

Die Strukturdomänen auf Lectinen, die mit den Sacchariden wechselwirken, nennt man CRDs (Carbohydrate Recognition Domains). So ist z.B. die Agglutination von Erythrozyten auf die Wechselwirkung mit Lectinen zurückzuführen. In Tieren unterscheidet man S-Typ-, C-Typ- und P-Typ-Lectine. Zu den Ca^{2+} -abhängigen C-Typ-Lectinen gehören die Selectine, die selektiv u.a. die Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen im Falle einer Immunantwort vermitteln (Abb. 2)⁶.

1.1.2 Multivalenz

Für gewöhnlich ist die Wechselwirkung zwischen einem Monosaccharid und der CRD eines Lectins sehr schwach. So liegen die Dissoziationskonstanten von Monosaccharid-CRD-Komplexen üblicherweise im millimolaren Bereich. Zudem kommt es häufig vor, dass auch strukturell ähnliche Saccharide ebenso durch das Lectin gebunden werden können, sodass die Spezifität der Wechselwirkung nicht allzu groß ist. Dies steht natürlich im Gegensatz zur Notwendigkeit einer eindeutigen und stabilen Bildung des nichtkovalenten Komplexes, um die richtige biologische Funktion zu erhalten.

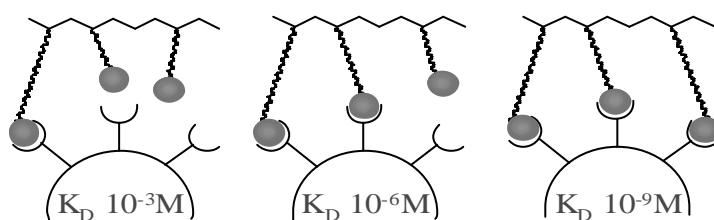


Abb. 3: Cartoon zur Verdeutlichung des Cluster-Effekts: Die lineare Erhöhung von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen führt zu einer logarithmischen Verkleinerung der Dissoziationskonstante K_D ⁷.

Die Natur löst dieses Problem, indem eine größere Anzahl von zusammenhängenden Saccharidstrukturen mit einer Mehrzahl von CRDs in Wechselwirkung treten. In Zusammenhang mit diesen mehrfachen, gleichzeitig auftretenden Wechselwirkungen spricht man von Multivalenz. Bei der Ausbildung der Ligand-Rezeptor-Komplexe kommt es häufig zu einem Aviditätseffekt, der in der glycobiologischen Literatur häufig als "Cluster-Effekt" bezeichnet wird (Abb. 3)⁷. Man versteht darunter die logarithmische Abnahme der Dissoziationskonstante K_D bei

einer linearen Zunahme der Kohlenhydrat-Liganden in einem Zucker-Cluster, unabhängig davon, ob es sich um ein natürliches Adhäsionssystem⁸ oder um die Verwendung synthetischer multivalenter Glycomimetika und Glycocluster handelt⁹.

1.1.3 Glycomimetika

Ein Nachteil höherer Strukturvarianz von Biomolekülen ist die hohe Anfälligkeit gegen mutagene Einflüsse. Veränderte Strukturen der Oligosaccharide auf Zelloberflächen sind eine Ursache für viele Autoimmunkrankheiten oder Zellentartungen. Zudem können noch unerwünschte pathogene Wechselwirkungen mit einer Vielzahl an Mikroben wie Viren, Bakterien, Protozoen oder Pilzen auftreten¹⁰. Ein Ansatz für die Unterbindung dieser störenden Wechselwirkung zwischen der Zelle und einem Pathogen ist, dem Lectin ein attraktiveres Ziel zu bieten (Abb. 4). So könnte man das Oligosaccharid, das die Erkennung vermittelt, in hohen Dosen einem Patienten verabreichen, was dazu führen müsste, dass das Lectin des Pathogens mit dem

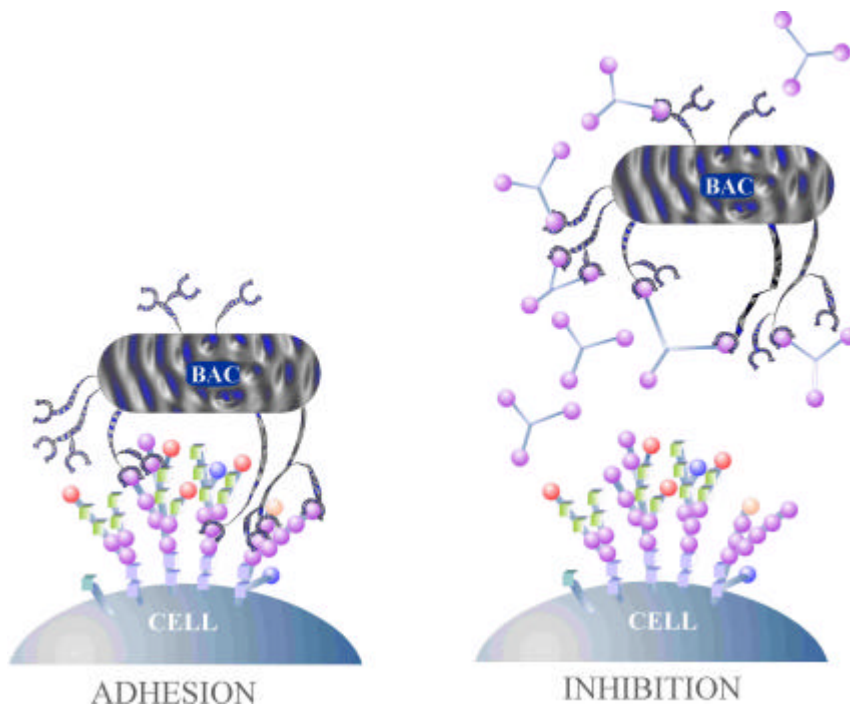


Abb. 4: Adhäsion eines Bakteriums an eine Zelle über Lectin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen und deren Inhibition durch Glycomimetika⁴.

freien Oligosaccharid abgesättigt ist und nicht mehr mit der Zielzelle wechselwirken kann. Von etwaigen Nebenwirkungen für den Patienten abgesehen, hat diese Variante allerdings die Schwäche, dass es in der Regel sehr schwierig sein dürfte, das entsprechende Oligosaccharid in ausreichender Menge zu synthetisieren. Eine Lösung dieses Problems bieten die sogenannten Glycomimetika^{11,12,13,14}, die auf chemischem Wege verhältnismäßig einfach darzustellen sind. Ist z.B. bekannt, dass

das Lectin prinzipiell nur mit endständigen Glucoseresten eines komplexen Oligosaccharids wechselwirkt, so kann man Glucose-Einheiten an ein Kern-Molekül knüpfen und je nach Länge und Zahl der verbrückenden Ketten eine unterschiedliche Anzahl an Glucose-Einheiten anbringen. Kleinere Strukturen verzweigter Glycomimetika nennt man Glyocluster, größere Glycodendrimere.

1.2 Das Bakterium *E.coli*



Abb. 5: Elektronenmikroskopische Aufnahme von *E.coli* mit Fimbrien¹⁵.

*Escherichia coli*¹⁵ ist ein obligater Bewohner des menschlichen und tierischen Dickdarmes. Das stäbchenförmige Bakterium ist Gram-negativ, rundherum begeißelt und gehört zur Gruppe der Enterobakterien, zu denen auch Krankheitserreger wie Salmonellen und Shigellen, die Erreger der Ruhr, zählen. Es ist bekannt, dass neben harmlosen *E.coli*-Bakterien, die den gesunden Darm von Menschen und Tieren besiedeln, eine ganze Reihe von pathogenen Formen existieren, die verschiedene Infektionskrankheiten verursachen können.

Darunter fallen recht häufig auftretenden Harnwegsinfektionen, sowie Gastroenteritis und Diarrhöe.

Der erste Schritt der Kolonisierung des menschlichen Harntraktes mit pathogenen *E.coli* ist die Wechselwirkung von Mannosestrukturen auf Rezeptoren der Harntraktzellen mit dem FimH, dem Adhäsion an der Spitze der von *E.coli* exprimierten Typ-1-Fimbrien, welche es dem Bakterium ermöglichen, sich an der Harntraktwand festzusetzen und zu vermehren¹⁶. Abb. 5 zeigt ein *E.coli*-Bakterium, das an seiner Oberfläche Fimbrien exprimiert hat.

1.3 Typ-1-Fimbrien

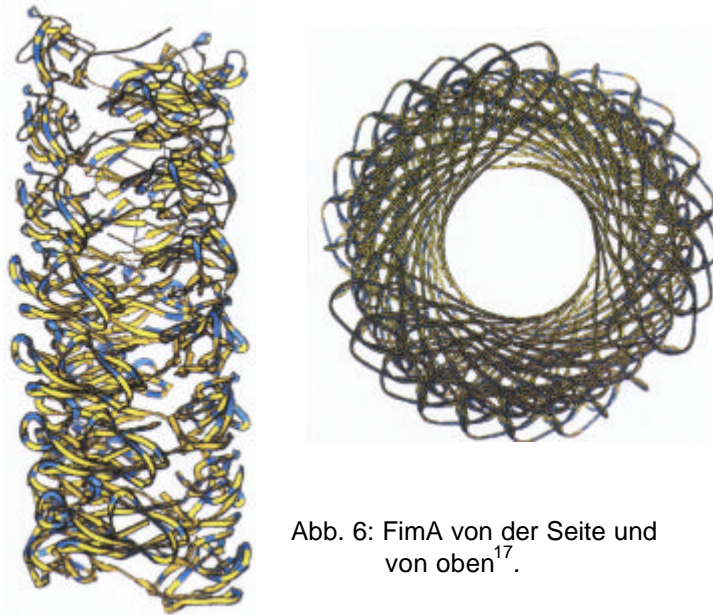


Abb. 6: FimA von der Seite und von oben¹⁷.

Mehr als 70% aller *E.coli*-Stämme können die Mannose-spezifischen Typ-1-Fimbrien exprimieren. Die Anzahl der Fimbrien variiert dabei von 100 bis ca. 400 je Zelle. Von der Gestalt her ist ein Fimbrium zylinderförmig und besteht aus sich wiederholenden immunoglobulinartigen FimA-Untereinheiten, die 98% des gesamten Fimbriumproteins ausmachen

(Abb. 6). Diese FimA-Untereinheiten sind in einer rechtshändigen Helix so angeordnet, dass je Windung drei von ihnen benötigt werden. Der Durchmesser der Helix beträgt 7 nm außen und 2 nm innen bei einer Fimbrienlänge von ca. 1 – 2 μm . Das FimH ist das Mannose-erkennende Adhäsins, das über ein FimC, ein Chaperone-Protein, an der Spitze des Fimbriums und zusätzlich an mehreren Stellen entlang des FimA-Schaftes verankert ist. FimH besteht aus 300 Aminosäuren, hat eine Masse von 31.5 kDa und ist unterteilt in eine Pili-Domäne und die rezeptorbindende Lectin-Domäne, die aus 11 β -Faltblattstrukturen besteht und die Aminosäuren Phe1 bis Thr158 enthält. Auf FimH ist durch Röntgenstrukturanalyse, einmal als FimH-FimC-Komplex zusammen mit dem Zuckermimetikum Cyclohexylbutanoyl-*N*-hydroxy-D-glucamid (C-HEGA)¹⁷ (Abb. 7) und ein weiteres Mal direkt mit D-Mannose¹⁸ eine Bindungsstelle für Monosaccharideinheiten identifiziert worden. An der bindenden Wechselwirkung sind anscheinend alle Hydroxylgruppen außer der an der C-1-Position der Mannose beteiligt. Nichtsdestotrotz wird die α -Konfiguration der Mannose bevorzugt. Die im Vergleich mit Methylmannosid niedrigen Dissoziationskonstanten von Phenylmannosiden, wie das pNP-Mannosid¹⁹, werden durch eine Wechselwirkung des Aromaten mit den der Bindungstasche benachbarten Tyr48 und Tyr137 erklärt, die das sogenannte "Tyrosine-Gate" bilden. Neuere Untersuchungen zeigen, dass Quadratsäure-modifizierte Phenylmannoside noch niedrigere Dissoziationskonstanten für Monosaccharide besitzen. Nach Molecular

Modelling-Studien lässt sich dieses Phänomen auf eine Wechselwirkung zwischen einem Sauerstoffatom der Quadratsäure und der Hydroxylgruppe von Thr51 zurückführen²⁰. In Abb. 8 werden die Potenzialoberfläche des FimHs und die für die Monosaccharid-Bindung wichtigen Aminosäuren dargestellt. Abb. 9 stellt die Bindungstasche im Detail dar.

Trivalente Mannosyl-Cluster zeigten in Inhibitionsexperimenten auffallend gute Assoziationskonstanten mit dem FimH^{21,22}. Von diesen sind allerdings noch keine Addukt-Kristallstrukturen bekannt, sodass sich hier noch die Frage stellt, ob

die Bindungstasche für mono- und oligovalente Mannose-Derivate dieselbe ist oder ob es noch eine weitere Bindungsstelle auf FimH gibt. Eine zusätzliche Wechselwirkung zwischen Glycocluster und Protein muss auf jeden Fall vorhanden sein, will man die Testergebnisse auf der Grundlage von Ligand-Rezeptor-Assoziation erklären.



Abb. 7: FimH-FimC-Komplex mit C-HEGA¹⁷.

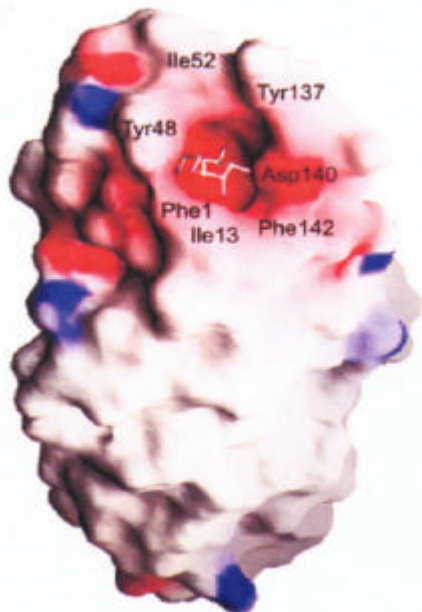


Abb. 8: Potenzialoberfläche des FimH mit der Monosaccharid-Bindungsstelle. Positiv geladene Bereiche sind blau, negative rot¹⁸.

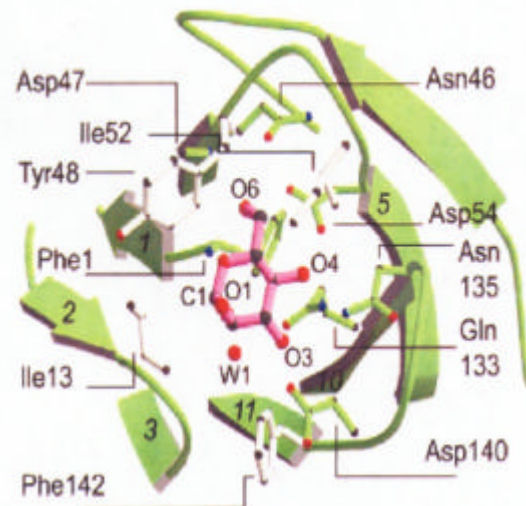


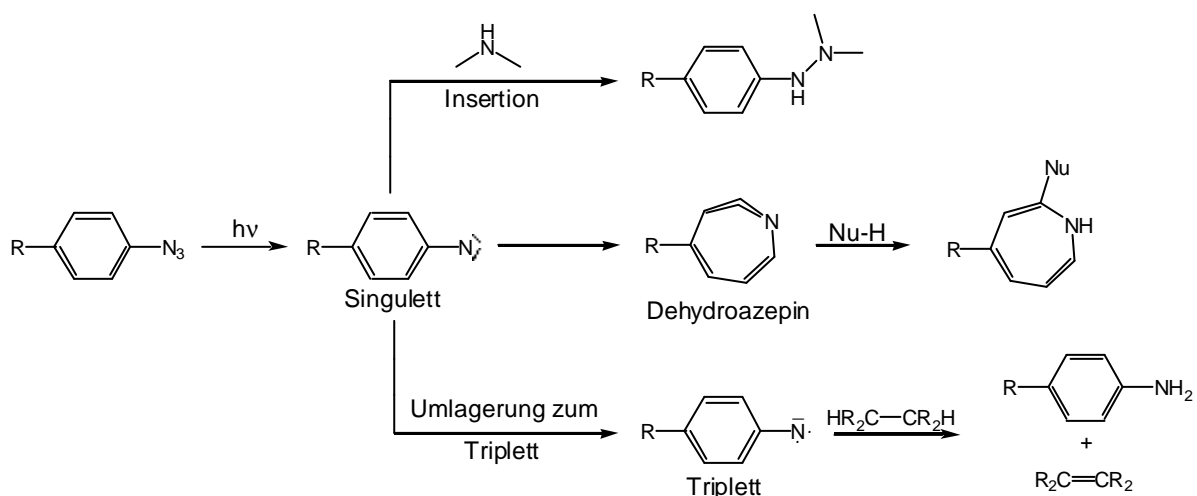
Abb. 9: Detaillierte Darstellung der Monomannosid-Bindungstasche von FimH¹⁸.

1.4 Photoaffinitätsmarkierungen

Bei der Photoaffinitätsmarkierung²³ wird das proteinspezifische Substrat mit einer photolabilen Gruppe funktionalisiert. Nachdem sich der Substrat-Protein-Komplex gebildet hat, wird durch Bestrahlung mit UV-Licht die photolabile Gruppe aktiviert, was im besten Falle dazu führt, dass sich Substrat und Protein kovalent miteinander verbinden. Dies kann dann z.B. genutzt werden, um Bindungstaschen von Proteinen zu identifizieren. Es sind verschiedene photolabile Gruppen bekannt, die jeweils Vor- und Nachteile aufweisen und im Folgenden kurz vorgestellt werden.

1.4.1 Azid-Photolabel

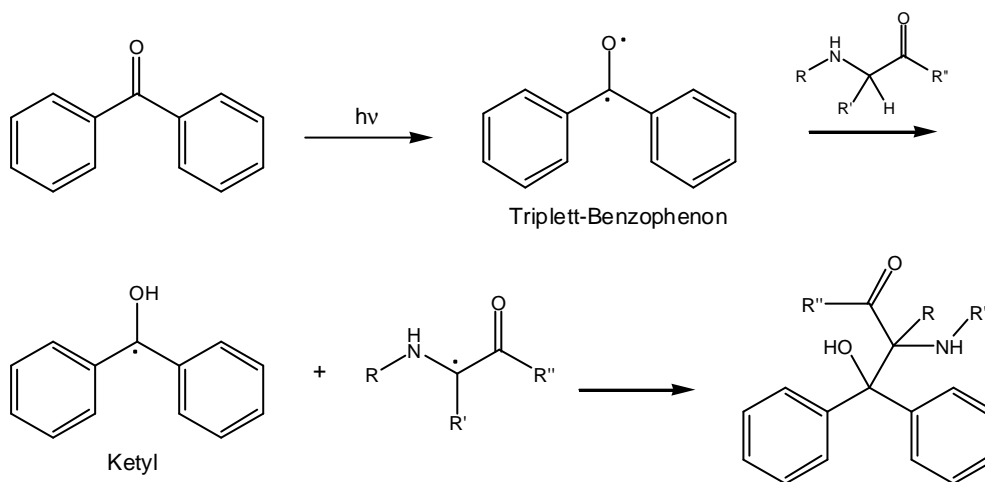
Azid-Photolabel benötigen zur Photoaktivierung relativ viel Energie, dafür ist die Stoffklasse der Azide präparativ leicht zugänglich. Bei der Verwendung von Arylaziden können auch Wellenlängen oberhalb 300 nm für die Bestrahlung gewählt werden, die die meisten Proteinstrukturen unbeschädigt lassen. Nachteilig bei den Aziden ist die Lebensdauer der entstehenden Nitrene, was nicht-spezifische oder multiple Insertionen zur Folge haben kann. So kann das zuerst entstehende Singulett-Nitren zum Triplett-Nitren umlagern, das dazu neigt, Protonen aus CH-Bindungen abziehen. Des Weiteren können weniger reaktive Dehydroazepine entstehen, die bevorzugt mit dem Reaktionswasser reagieren. Somit ist die Insertionsausbeute in der Regel gering (Schema 1).



Schema 1: Reaktionen von Arylaziden nach Bestrahlung.

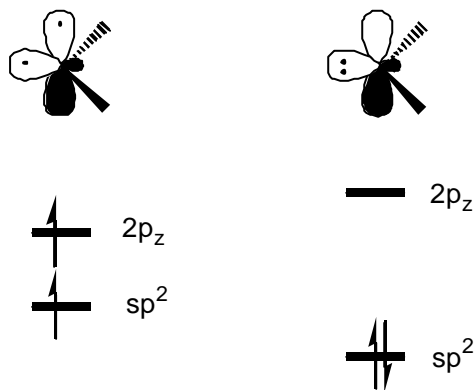
1.4.2 Benzophenon-Photolabel

Ein gewichtiger Vorteil der Benzophenon-Photolabel ist die 70-80%ige Insertionsausbeute verglichen mit 10% im Fall der Azide. Die Benzophenon-Derivate sind chemisch stabiler als Azide und lassen sich bei Wellenlängen um 350 nm aktivieren, sodass die Gefahr von Strahlenschäden des Proteins minimiert ist. Allerdings hängt der Erfolg der photochemische Reaktion auch davon ab, dass die Umgebung der Bindungsstelle auch ausreichend hydrophob und sterisch wenig anspruchsvoll ist. Schema 2 zeigt den Verlauf der Photoreaktion.



Schema 2: Photomarkierung von Peptiden mit Benzophenon.

1.4.3 Diazirin-Photolabel

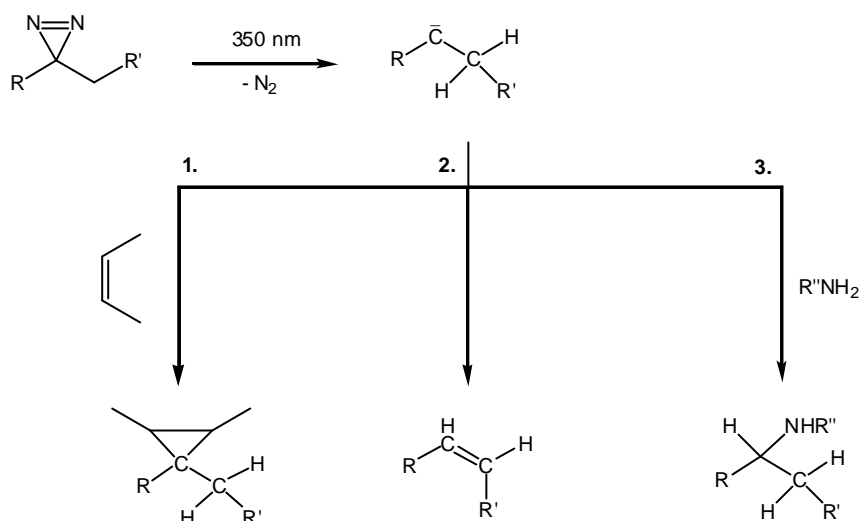


Triplett-Carben

Singulett-Carben

Abb. 10: Vergleich Triplett- und Singulett-Carben.

Das beim photochemischen Zerfall des Diazirins entstehende Carben ist kurzlebiger als die beim Azid-Zerfall erzeugten Nitrene und besitzt auch eine geringe Promiskuität. Wie bei den Benzophenonen reicht eine Wellenlänge von 350 nm zur Aktivierung aus, womit eine Schädigung der Proteinstruktur unterbleiben sollte. Die Insertionsausbeute ist leider ähnlich der der Nitrene. Üblicherweise entsteht ein Triplett-Carben, in dem ein Elektron im sp^2 -AO



Schema. 3: Übliche Reaktionswege eines Carbens.

1. Addition an eine Doppelbindung
2. Migration eines α -Wasserstoff-Atoms unter Bildung eines Olefins
3. Einschub in eine Einfachbindung

und das andere im energetisch höheren $2p_z$ -AO lokalisiert ist (Abb. 10). Das Singulett-Carben ist ein wenig energiereicher, wobei dort beide Elektronen das sp^2 -AO besetzen. Übliche Reaktionswege eines Carbens sind die Addition an Doppelbindungen – was auch synthetisch genutzt wird –, die Migration eines α -Wasserstoffatoms unter Bildung einer Doppelbindung und die für die Bindung an das Substrat wichtigste Reaktion, die Insertion in eine Einfachbindung (Schema 3).

Diazirine selbst sind erstaunlich reaktionsträge. So sind sie relativ unempfindlich gegen Basen und Säuren sowie gegen Oxidationsmitteln und manchen Reduktionsmitteln wie beispielsweise Natriumborhydrid²⁴. Befindet sich allerdings

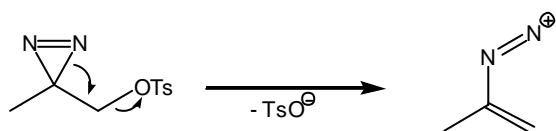


Abb. 11: Öffnung des Diazirinringes mit nucleofuger Nachbargruppe.

eine nucleofuge Gruppe in α -Position zum Diazirinring, dann ist dieser destabilisiert (Abb. 11). Zudem sind Diazirine auch thermisch labil.

1.5 Verwendung von Diazirin-Photolabeln in der biologischen Chemie

Lehmann und Weitzel stellten mehrfach Diazirin-gelabelte triantennäre Mannosylcluster dar (Abb. 12), die nach Bestrahlung zur Verbrückung von Concanavalin A (ConA)-Untereinheiten führten²⁵. ConA ist ein Mannose-spezifisches Lectin, das sich mit diesem Glycocluster gut vernetzen ließ. Zusätzlich war die

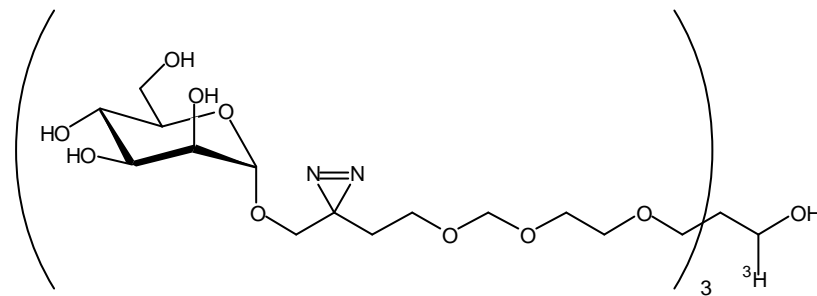


Abb. 12: Dreifach Diazirin-funktionalisierter radioaktiv markierter Mannosyltricluster zur Verbrückung von ConA-Untereinheiten²⁵.

Verbindung mit Tritium radioaktiv markiert, sodass die Bestrahlungsprodukte gut detektiert werden konnten. In Hinblick auf die Charakterisierung einer Bindungsstelle in einem Protein mag allerdings die höhere Anzahl an möglichen Produkten die Analyse erschweren, sodass pro Molekül ein Diazirin-Label angestrebt werden sollte.

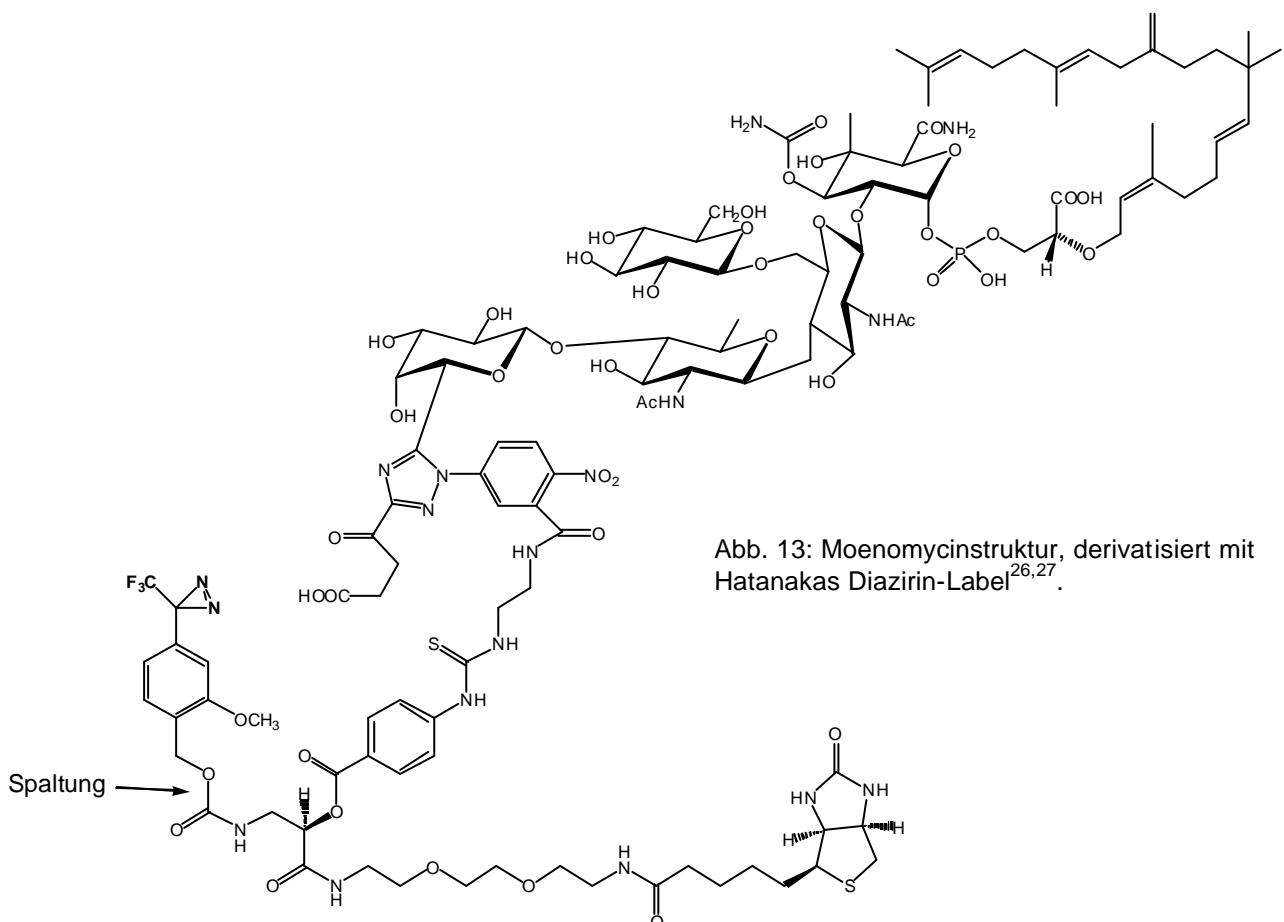


Abb. 13: Moenomycinstruktur, derivatisiert mit Hatanakas Diazirin-Label^{26,27}.

Welzel et al. stellten eine Biotin-gelabelte Moenomycinstruktur dar (Abb.13)²⁶, um mit dem Penicillin-bindenden Protein 1b, welches einen der letzten Schritte der bakteriellen Zellwand-Peptidoglycan-Biosynthese katalysiert, in Wechselwirkung zu treten. Diese Struktur ist mit Hatanakas Diazirin-Label²⁷, der bei 350 nm zerfällt, und einer Carbamatgruppe, die chemisch selektiv gespalten wird, versehen.

Günstig sind Diazirin-Label, bei denen die Kohlenstoffatome in α -Position entweder keine Wasserstoffatome tragen (z.B. im Fall von Aryl-Kohlenstoffatomen) oder die eigentlich von Wasserstoffatomen besetzten Positionen durch Fluoratome ersetzt sind. Dies verhindert, dass es zur Wanderung eines α -Wasserstoff-Atoms unter Olefinbildung kommt, nachdem sich das Carben gebildet hat. Nachteilig ist, dass hierfür die Vielfalt an strukturellen Möglichkeiten, wie das Diazirin in das Substrat eingebaut werden kann, limitiert sind, oder einen verhältnismäßig hohen synthetischen Aufwand erfordern.

Lehmann und Ziser stellten ein Diazirin-gelabeltes Glucose-Derivat dar, das mit weiteren Zuckereinheiten zu verschiedenen Oligomeren verknüpft wurde, um Strukturinformationen über die α -Amylase zu gewinnen (Abb. 14)²⁸. Dabei war der Diazirin-Label weder fluoriert noch frei von α -Wasserstoffatomen.

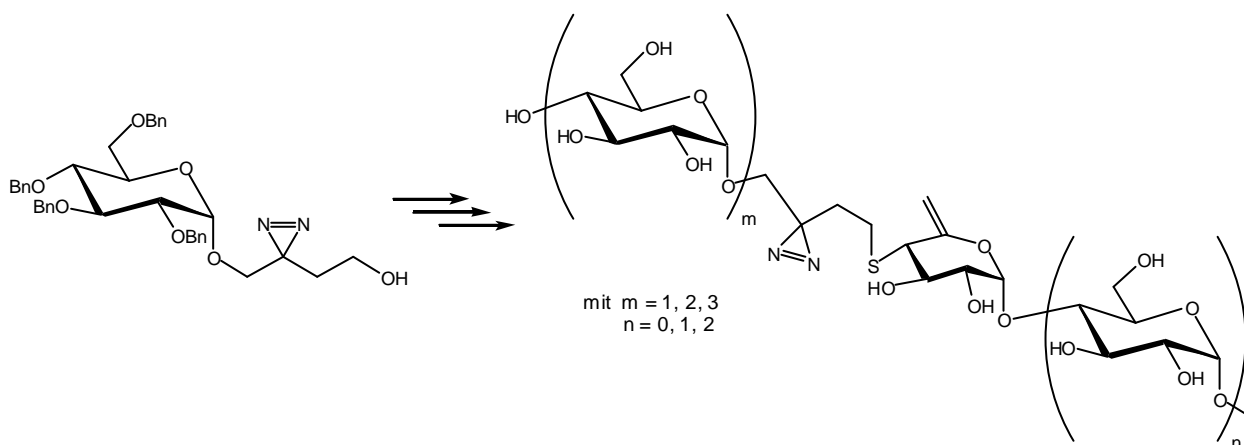


Abb. 14: Diazirin-modifiziertes Glucose-Derivat, das zu verschiedenen Oligomeren für die Untersuchung der Bindungsstellen von α -Amylase vergrößert wurde²⁸.

1.6 Thioharnstoff-Derivate in der Zuckerchemie

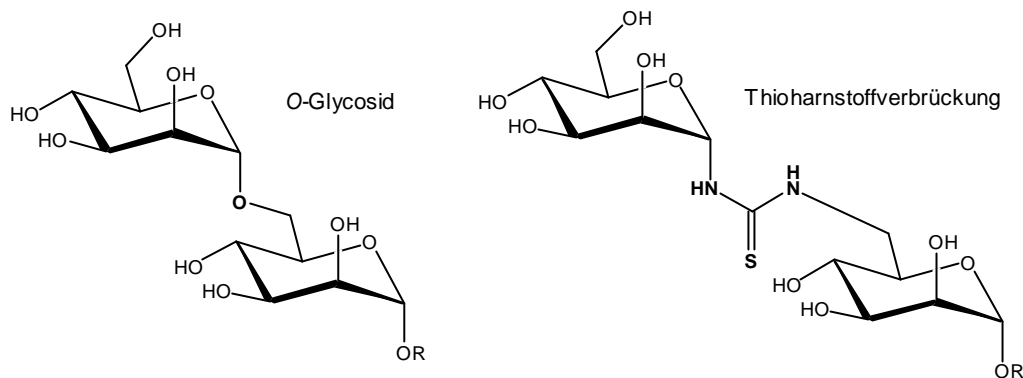
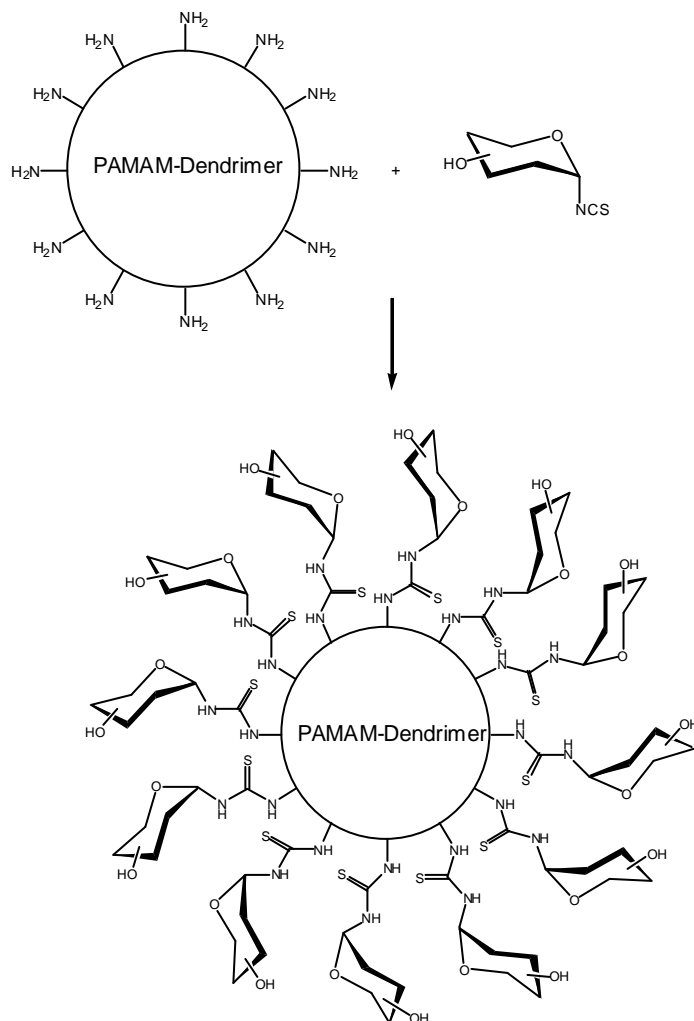


Abb. 15: Vergleich O-glycosidische Bindung und Thioharnstoffverbrückung.

Thioharnstoffverbrückungen stellen in der Zuckerchemie eine einfache Möglichkeit dar, gewissermaßen als Ersatz für glycosidische Bindungen, Monomere miteinander zu verknüpfen (Abb. 15)²⁹. Glycosylierungsreaktionen sind gerade in komplexeren Systemen, aber auch manchmal in vermeintlich einfachen Systemen oft schwer



Schema 4: Darstellung eines Glycodendrimers durch Thioharnstoffverbrückung.

durchführbar und bedürfen eines unter Umständen langwierigen Optimierungsprozesses. Hingegen bildet sich in der Regel die Thioharnstoffgruppe recht leicht aus einer Amino- und einer Isothiocyanatkomponente. So sind Polyamido-amino-(PAMAM)-Dendrimere schon lange bekannt, deren Oberflächen mit Thioharnstoff-verbrückten Zuckern versehen sind (Schema 4)³⁰. Ebenfalls sind auch kleinere Cluster erfolgreich durch Thioharnstoffverbrückung dargestellt worden (Abb. 16), die z.B. einen recht guten Inhibitionstiter (IT) bei Hämagglutinationstests zeigten²¹.

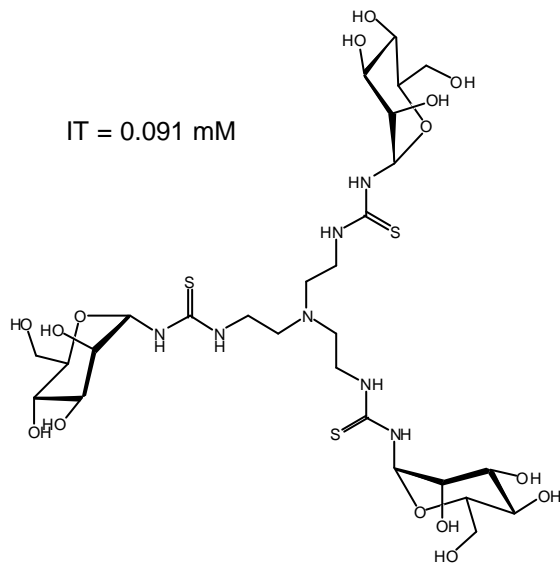


Abb. 16: Beispiel eines einfachen Thioharnstoff-verbrückten Triclusters²¹.

2 Aufgabenstellung

Von Interesse ist es, mehr Details über die Wechselwirkungen des FimH-Proteins mit Mannose, Mannose-Derivaten und Mannose-Clustern zu erfahren. Aus Kristallstrukturanalysen kennt man eine Bindungsstelle, die nur Monosaccharide aufnehmen kann. Dies erklärt aber nicht, weshalb einige trivalente Glycocluster eine höhere Assoziationskonstante aufweisen als ein vergleichbares Monosaccharid. Einerseits ist ein trivalenter Cluster zu klein, um z.B. mehrere FimH-Einheiten in ihrer nativen Umgebung miteinander zu vernetzen, andererseits kommen multiple Wechselwirkungen auf eine FimH-Untereinheit für die Erklärung verbesserter Aktivitäten von Zuckerclustern in Frage. Molecular Modelling-Studien weisen verschiedene Bereiche auf der FimH-Oberfläche aus, die als weitere Bindungsstellen für Kohlenhydrate in Frage kommen.

Unsere Überlegung ist nun, mit photolabilen Mannose-Derivaten zum einen die bekannte Bindungsstelle für Monomannoside im nativen Protein zu bestätigen und darüber hinaus mit kleineren photolabilen Mannose-Clustern weitere Bindungsstellen auf FimH zu identifizieren.

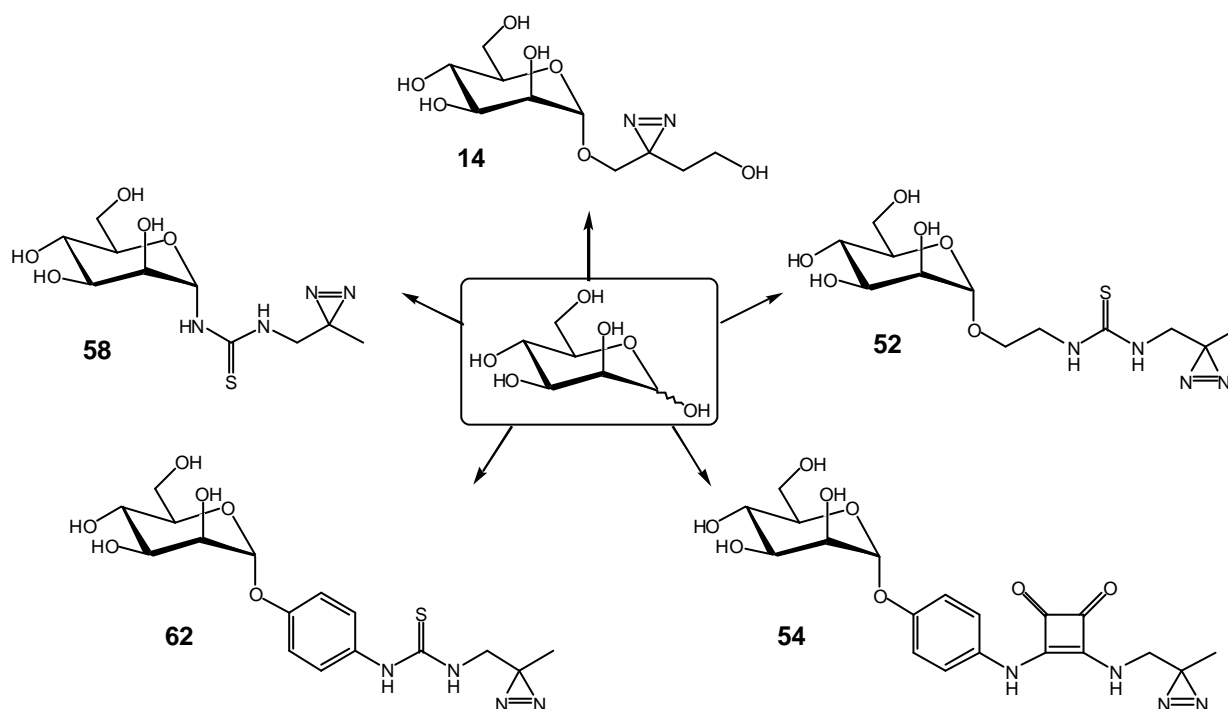
So ist der Hauptteil der vorliegenden Arbeit der Synthese Diazirin-gelabelter Mannose-Derivate und Mannose-Clustern verschiedener Architektur gewidmet.

Nach erfolgreicher Darstellung dieser Mannose-Derivate würde sich ihre Untersuchung mittels eines ELISA bezüglich ihrer biologischen Aktivität gegenüber Typ-I-Fimbrien von *E.coli* anschließen. Diejenigen Derivate, die eine ausreichende Aktivität besitzen, wären dann geeignete Kandidaten, um in einem Verdünnungsexperiment mit dem FimH-Protein inkubiert und anschließend mit UV-Licht bestrahlt zu werden, wobei im besten Fall Ausbeute und Verlauf der kovalenten Verknüpfung zwischen Zucker und Protein für die anschließende Analytik ausreichend sind. Dann könnte die MALDI-spektrometrische Untersuchung klären, ob sich Addukte gebildet haben, die dann denaturiert und einem Verdau mit Trypsin unterzogen werden könnten. Dies würde schließlich die Möglichkeit eröffnen, durch massenspektrometrische Analytik der Verdau-Fragmente, Erkenntnisse darüber zu gewinnen, in welchem Bereich von FimH die Bindung an Mannose erfolgte.

3 Präparativer Teil

3.1 Synthese- und Kapitelübersicht

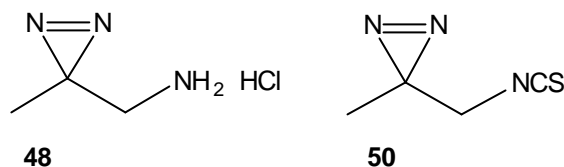
Weil nicht genau vorhersagbar ist, an welcher Position eines Mannose-Derivates bzw. eines Mannose-Clusters ein Diazirin-Label am besten lokalisiert ist, wurden einerseits Mannoside synthetisiert, die den Photolabel im aglyconischen Teil tragen (Schema 5), andererseits wurden noch weitere Molekülarchitekturen vorgesehen.



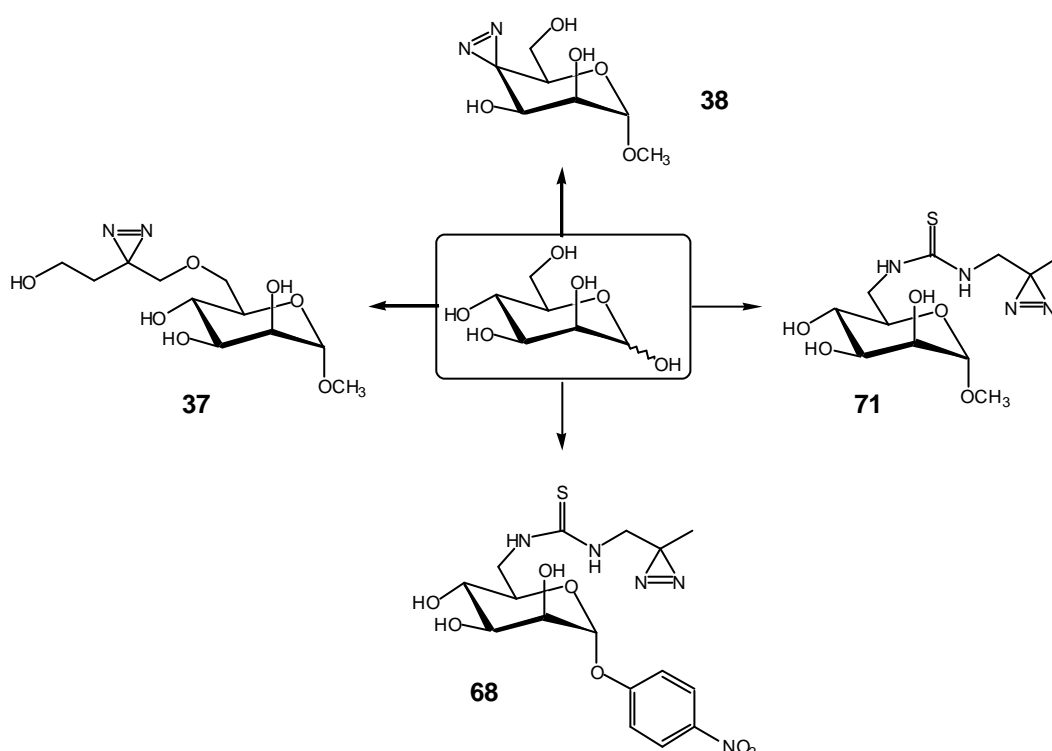
Schema 5: Übersicht der über diejenigen Mannoside, welche die Diazirinfunktionalisierung im aglyconischen Teil tragen.

Für die Synthese des Diazirin-funktionalisierten Monosaccharids **14** (Kapitel 3.2.1) wurde zuerst auf die Arbeit von Lehmann und Ziser zurückgegriffen, die Glucose mit einem Diazirin-haltigen Aglycon versehen hatte²⁸. Die Synthese des Mannose-Analogons erwies sich dann aber als sehr langwierig, wobei die Ausbeuten mitunter unbefriedigend waren. Als Alternative wurden über die Thioharnstoffverbrückung die funktionalisierten Diazirin-Spacer **48** und **50** (Kapitel 3.3.1) mit Mannose verknüpft (Abb. 17), was bei der Darstellung von **58** und **62** verhältnismäßig einfach gelang (Kapitel 3.3.3). Auch die Synthese der Verbindung **52** und des Quadratsäurediamids **54** gelang auf diese Weise (Kapitel 3.3.2).

Abb. 17: Amino-, bzw. Isothiocyanato-funktionalisierte Diazirin-Label.



Eine andere Gruppe Diazirin-gelabelter Mannoside bilden diejenigen Derivate, die über die 6-Position bzw. die 4-Position markiert sind (Schema 6). Dabei wurden die Diazirinegruppen entweder in einer linearen Synthesesequenz wie im Fall von **37** (Kapitel 3.2.2) und **38** (Kapitel 3.2.3) eingeführt, oder in einer konvergenten Synthese über Thioharnstoffverbrückung wie im Fall von **68** und **71** (Kapitel 3.3.4) erhalten.



Schema 6: Übersicht der über die in 6-bzw. 4-Position Diazirin-funktionalisierten Mannopyranoside.

In Kapitel 3.2 sind die Synthesen zusammengefasst, die in einer linearen Sequenz zu Diazirin-gelabelten Mannosiden ohne Thioharnstoff-Substrukturen führen. Kapitel 3.3 befasst sich mit der Synthese derjenigen Mannoside, in die die Diazirinegruppe über Thioharnstoffverbrückung eingeführt wurde.

Daran schließt sich *Kapitel 3.4* an, in dem gezeigt wird, wie bei zweifach Isothiocyanato-funktionalisierten Mannose-Derivaten (Abb. 18) die unterschiedlichen Reaktivitäten der beiden Isothiocyanatogruppen für eine selektive Diazirinfunktionalisierung ausgenutzt werden können.

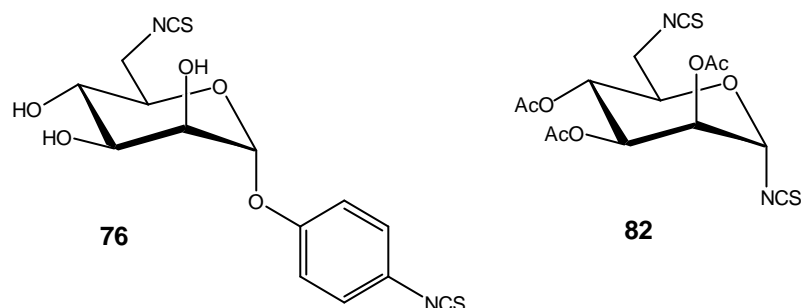
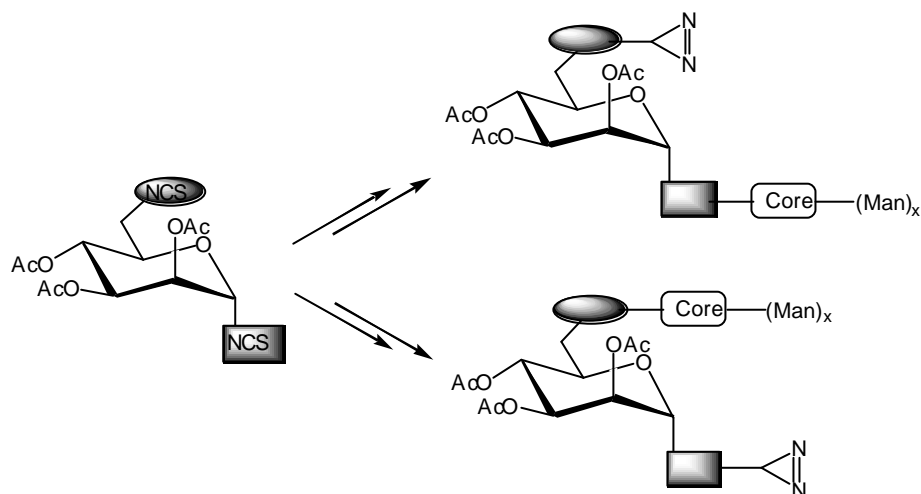


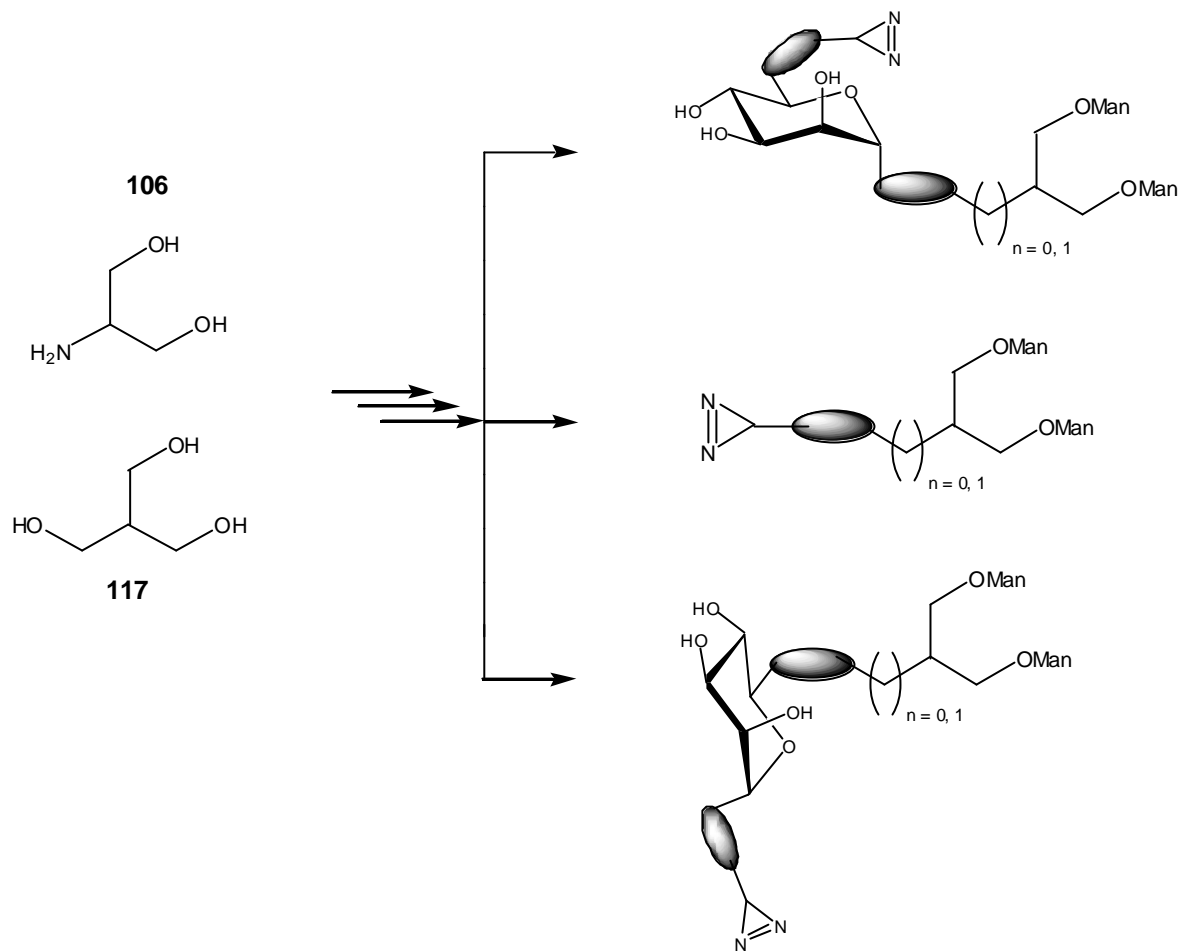
Abb. 18: Diisothiocyanato-funktionalisierte Mannose-Derivate.

Ein weiterer Teil der Arbeit befasst sich mit di- und trivalenten Glycoclustern mit Diazirinfunktionalisierung. Diese waren beispielsweise ausgehend von Diisothiocyanato-funktionalisierten Zuckerderivaten zugänglich (Schema 7).

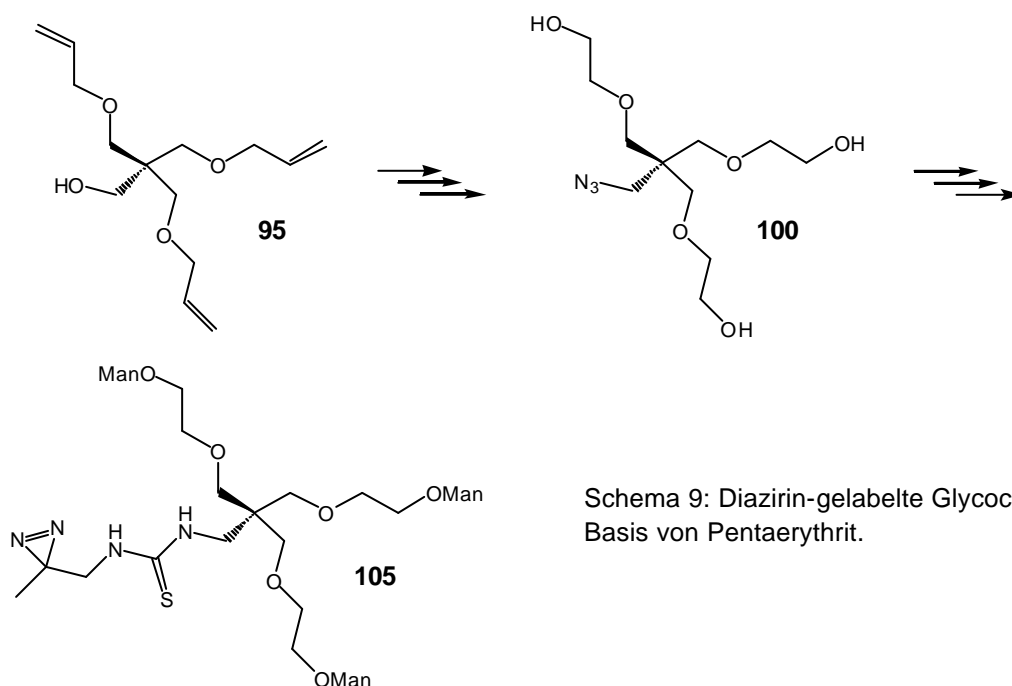


Schema 7: Optionen für die Synthesen Diazirin-gelabelter Glycocluster, ausgehend von Diisothiocyanato-funktionalisierten Mannose-Derivaten.

Als Core-Moleküle wurden Tris-(2-aminoethyl)amin (*Kapitel 3.5.1*), Serinol **106** und 2-Hydroxymethyl-1,3-propandiol **117** (*Kapitel 3.5.4, 3.5.5*, Schema 8) verwendet, andererseits konnte erfolgreich Triallylpentaerythrit (*Kapitel 3.5.3*) eingesetzt werden (Schema 9).



Schema 8: Diazirin-gelabelte Glycocluster auf der Basis von Serinol- bzw. 2-Hydroxymethyl-1,3-propandiol.

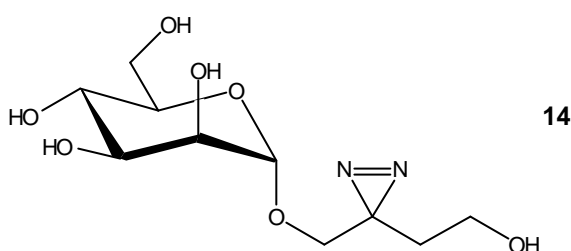


Schema 9: Diazirin-gelabelte Glycocluster auf der Basis von Pentaerythrit.

3.2 Thioharnstofffreie Mannoside mit Diazirin-Label

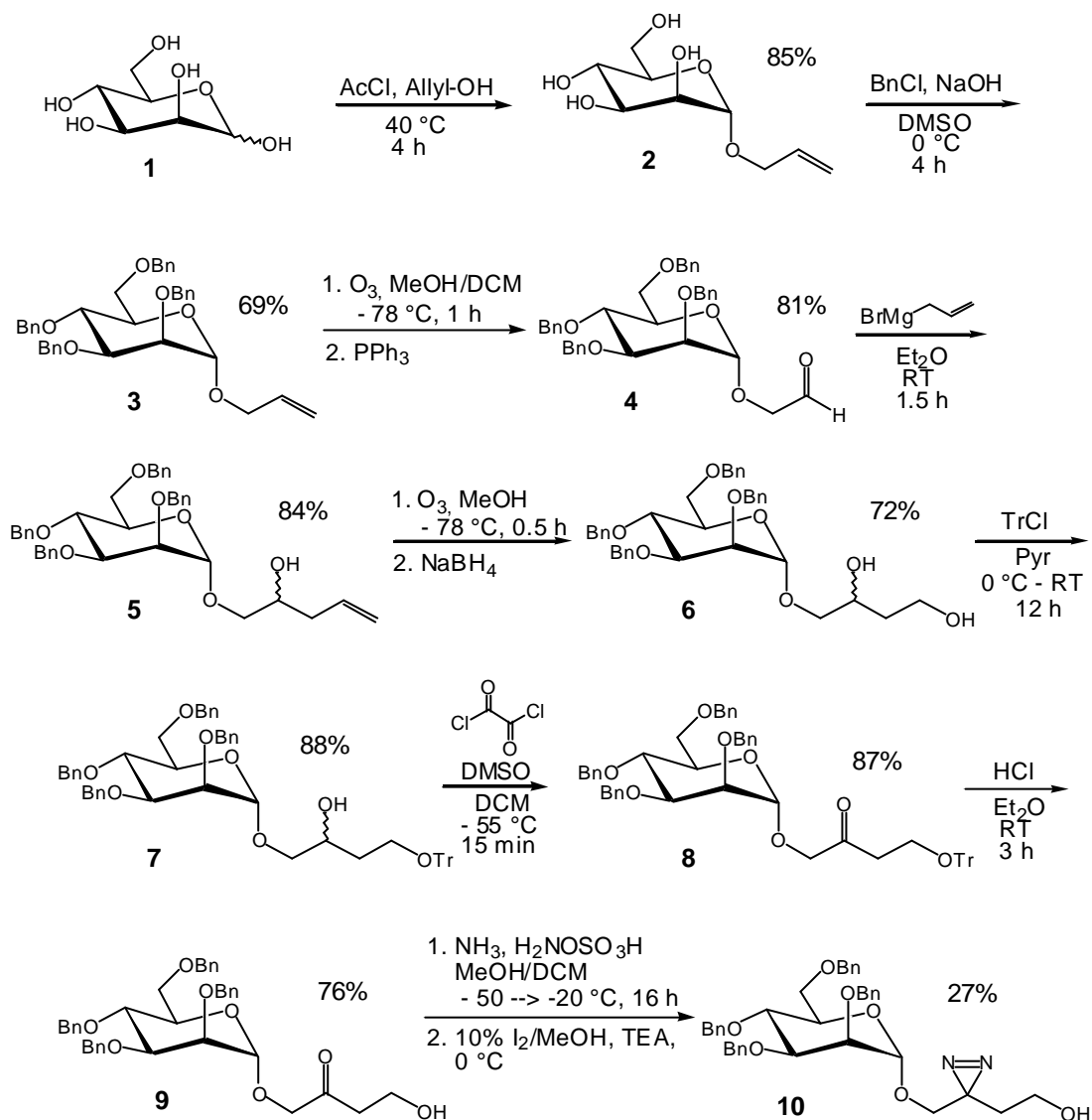
Aus *Kapitel 1.5* sind einige Beispiele für erfolgreiche Carben-Insertionen von bestrahlten Diazirinen mit α -Wasserstoffatomen bekannt, sodass dieser Ansatz auch in dieser Arbeit verfolgt wurde. Die Synthese derartiger Verbindungen erscheint relativ einfach, wobei gleichzeitig leicht unterschiedliche Strukturen bei Variation der flexiblen Synthesewege hergestellt werden können.

3.2.1 Darstellung von 2-Azi-4-hydroxybutyl- α -D-mannopyranosid (**14**)



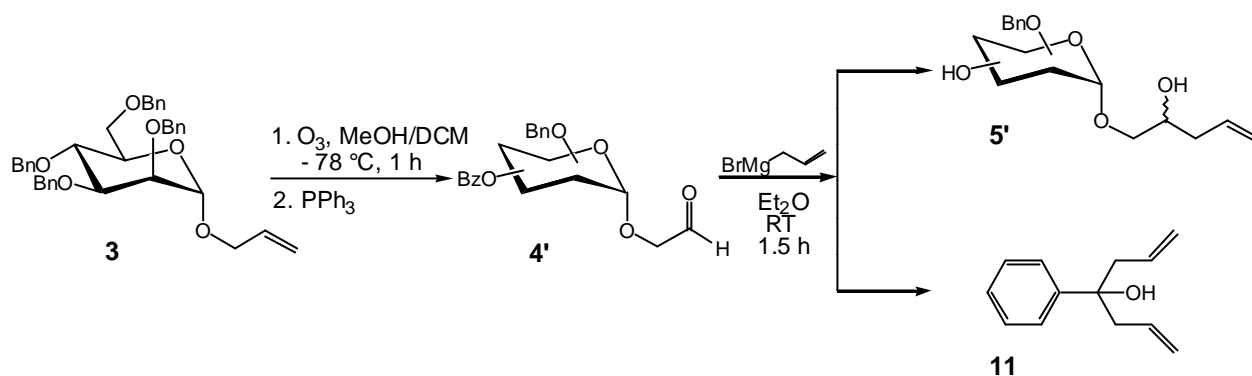
Um die gewünschte Zielverbindung, die analog zum Glucose-Derivat von Lehmann und Ziser²⁸ ist, darzustellen, wurde zuerst mit Benzylschutzgruppen gearbeitet. Auf diesem Wege ließ sich auch die benzylgeschützte Vorstufe **10** der Zielverbindung **14** darstellen. Schema 10 stellt die Synthesesequenz im Überblick dar.

Ausgehend von D-Mannose (**1**) wurden nach literaturbekannten Synthesevorschriften erst das Allylmannosid **2**³¹ und anschließend die benzylgeschützte Verbindung **3**³² dargestellt. Um die aglyconische Kette nicht zu lang werden zu lassen, folgte nun eine Ozonisierung mit reduktiver Aufarbeitung zu **4**³³. Dabei entstanden allerdings teilweise aus den Benzyl-Schutzgruppen Benzoylgruppen, was für die nachfolgende Grignard-Reaktion zu Verbindung **5** fatal war (Schema 11). So konnte in großen Mengen **11** gewonnen werden. Erst durch die Verwendung eines Niederkonzentrationsozonisators konnte dieses Problem beseitigt werden. Nun gelang auch die Grignard-Reaktion mit Allylmagnesiumbromid mit hervorragender Ausbeute. Da an dieser Stelle ein Diastereomergemisch entstand, wurde die Auswertung der ¹H-NMR-Daten erschwert. Die Zuordnung der Signale war zumeist durch 2D-NMR-Methoden (COSY, HSQC, HMBC) möglich. Die Verbindung **5** wurde erneut einer Ozonolyse unterzogen und diesmal reduktiv mit Natriumborhydrid zu **6** aufgearbeitet³⁴. Die entstehende primäre Hydroxylgruppe kann sowohl als zusätzliche Verknüpfungsstelle, z.B. zu einem Biotin-Label³⁵, genutzt werden oder



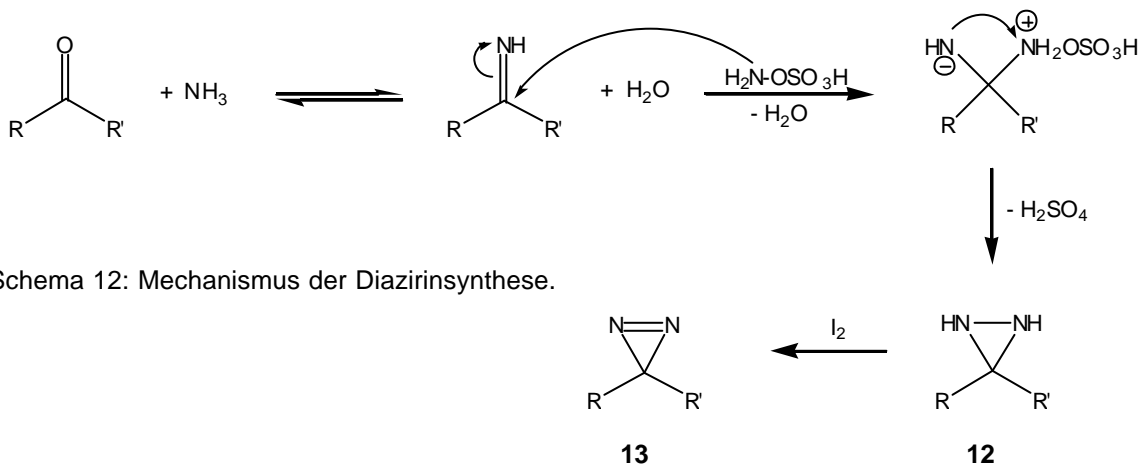
Schema 10: Übersicht der Syntheseroute mit Benzylschutzgruppen.

um die Löslichkeit des entschützten Endproduktes in Wasser zu verbessern. Um die sekundäre Hydroxylgruppe zum Keton umsetzen zu können, muss zuerst die primäre Hydroxylgruppe geschützt werden, was nach einer standardisierten Methode mit Tritylchlorid zu **7** problemlos gelang³⁶. Nach der Schützung der primären Hydroxylgruppe konnte nun die Oxidation der sekundären Hydroxylgruppe durchgeführt werden. Lehmann und Ziser²⁸ schlugen an dieser Stelle die Oxidation mit PCC vor³⁷. Aufgrund der bekannten Toxizität von Chrom^{VI}-Verbindungen und der Verfügbarkeit harmloserer Alternativen wurde eine Swern-Oxidation durchgeführt³⁸, die die Verbindung **8** mit sehr guter 87%iger Ausbeute lieferte. Nun war auch die NMR-spektroskopische Zuordnung der Signale erleichtert, da das stereogene Zentrum im Aglycon nicht mehr vorhanden war. Um die Löslichkeit in den für die



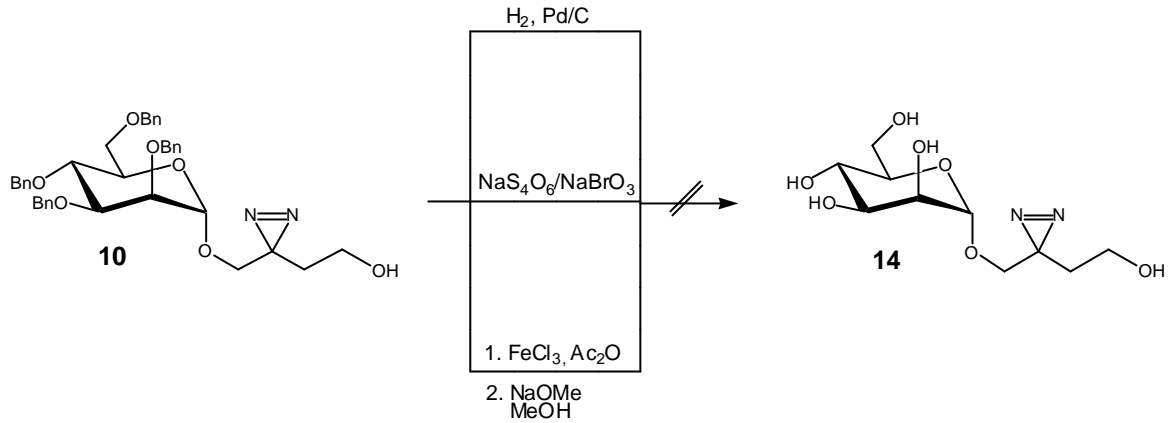
Schema 11: Verbindung **11** als Hauptprodukt bei der auf die Ozonosierung von **3** folgenden Grignard-Reaktion.

Diazirin-Synthese polaren Lösungsmitteln Methanol und Ammoniak zu verbessern, und um mögliche sterische Hinderungen zu minimieren, wurde nun erst einmal die Tritylschutzgruppe analog einer üblichen Methode entfernt³⁹. Die folgende Umsetzung des Ketons **9** zum Diazirin **10** gelang in kondensiertem Ammoniak und Methanol. Im vorgelagerten Gleichgewicht zwischen Imin und Keton wurde dann das Imin mit Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure zum Diaziridin **12** umgesetzt. Nach der Literatur⁴⁰ wird das Imin-Kohlenstoffatom dabei von der Aminogruppe der Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure nucleophil angegriffen, und das entstehende



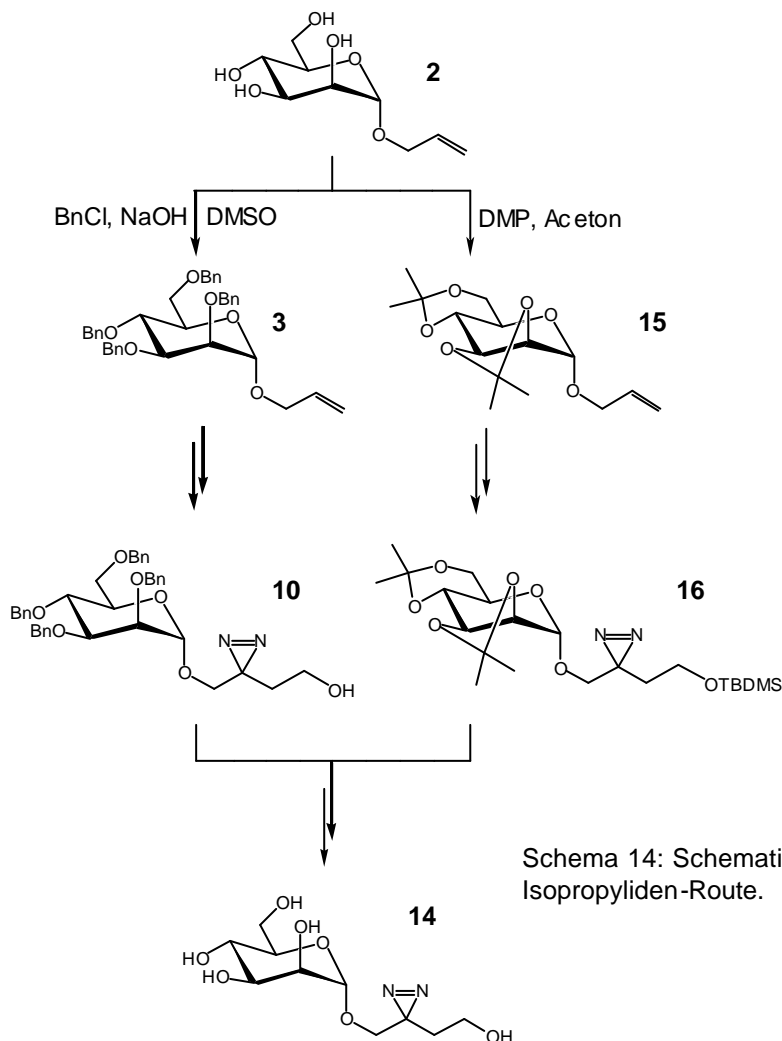
Schema 12: Mechanismus der Diazirinsynthese.

Ammonium-Ion wiederum nucleophil vom Imin-Stickstoffatom unter Extrusion der Sulfonsäurerestes substituiert (Schema 12). Das entstandene Diaziridin ist weitaus instabiler als das Diazirin **13**, weshalb an dieser Stelle wahrscheinlich mit einem Ausbeuteverlust zu rechnen ist, da das Diaziridin bei Raumtemperatur bis zur ausreichenden Entfernung des Ammoniaks verbleiben muss, was üblicherweise über Nacht Rühren bedeutete. Die anschließende Iod-Oxidation liefert das bemerkenswert



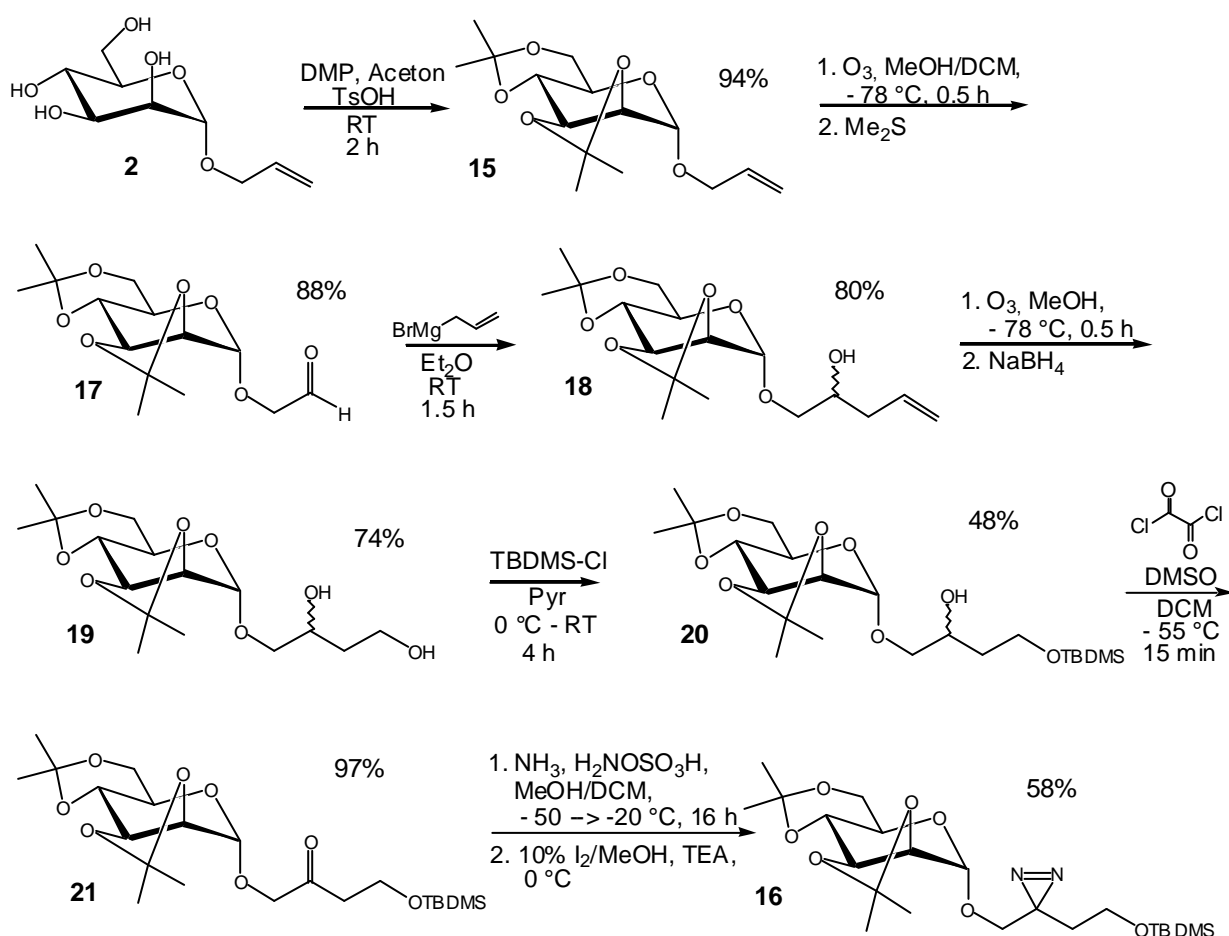
Schema 13: Übersicht der versuchten Debenzylierungsreaktionen.

stabile **10**, wobei auch nach tagelangem Stehen im NMR-Röhrchen bei Raumtemperatur noch kein signifikanter Zerfall festzustellen war. So zeigte diese Substanz nach zweidreivierteljähriger Lagerung bei $-21^\circ C$ bei einer erneuten NMR-Vermessung ein identisches Spektrum. Ein weiteres Produkt ist auch das 1-OH-freie Benzylmannosid, was bedeutet, dass es unter diesen Reaktionsbedingungen



Schema 14: Schematischer Vergleich der Benzyl- und der Isopropyliden-Route.

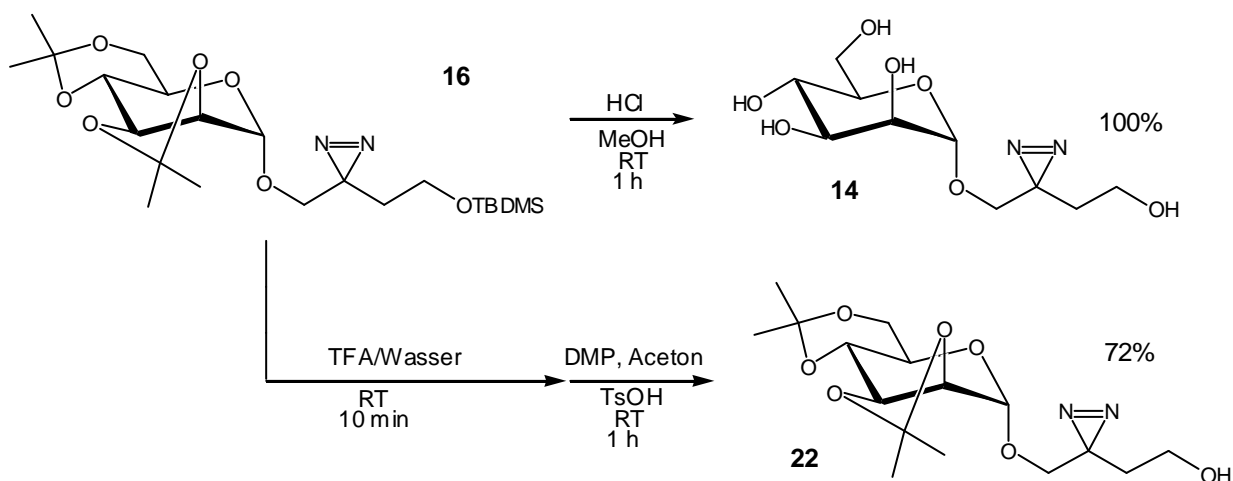
teilweise zur Spaltung der glycosidischen Bindung kommt. Die nun folgende Debenzylierung erwies sich aber mit den verwendeten Methoden als nicht durchführbar, obwohl eine Reihe an unterschiedlichen Entschützungsverfahren getestet wurde. Die übliche Methode zur Spaltung von Benzylethern ist die Pd-katalysierte Reaktion mit Wasserstoff⁴¹, die in diesem Falle zu einer Vielzahl unterschiedlicher Produkte führte, was eine sinnvolle Aufarbeitung unmöglich machte. Ein weiterer Versuch der Debenzylierung war die Nutzung des Systems Natriumdithionit/Natriumbromat⁴². In diesem Redox-System entsteht das Hypobromit, welches graduell zerfällt und dabei Brom-Radikale freisetzt, die in der organischen Phase mit dem Benzylether reagieren. Anders als in der Literatur beschrieben, war kein signifikanter Umsatz erkennbar. Eine Erwärmung der Reaktionslösung, um möglicherweise die Reaktivität zu erhöhen, schied aufgrund der thermolabilen Diaziringeruppe aus. Als letzte Methode wurde die Umschützung mit Eisen(III)-chlorid und Essigsäureanhydrid getestet (Schema 13)⁴³. Diese Methode hat bei dem Glucose-Analogon der Verbindung **10** – wenn auch nicht mit herausragender



Schema 15: Übersicht der Syntheseroute mit Isopropylidenschutzgruppen.

Ausbeute – funktioniert²⁸. Hier konnte zumindest nachgewiesen werden, dass zum einen die Entschützung teilweise gelang, zum anderen aber leider auch die glycosidische Bindung eine Spaltung erfuhr.

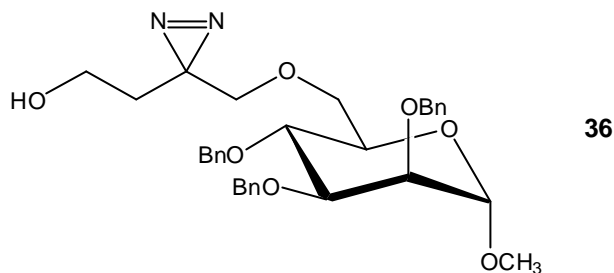
Hierauf wurde die Syntheseroute mit Isopropylidenschutzgruppen probiert, die sich bei Mannose als Alternative anbieten. Zunächst erfolgte die Synthese von **16** in Analogie zur Herstellung von **10**, abgesehen von der Einführung und Entfernung der Schutzgruppen (Schema 14). Schema 15 zeigt die Isopropylidenroute in der Übersicht. Die Synthese startete mit Allylmannosid, das mit DMP/Aceton unter Säurekatalyse zur geschützten Verbindung **15** umgesetzt wurde⁴⁴. Die Ausbeute ist in guter Übereinstimmung mit der Literatur, wenn von rohem **2** ausgegangen wird. Die folgende Ozonolyse zum Aldehyd **17** ergab eine gute Ausbeute⁴⁵. Wie mehrere Reaktionsansätze zeigten, darf die Temperatur allerdings nicht über $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ steigen, da nun Zerfallsprodukte beobachtet werden konnten. Dimethylsulfid wurde bei der Isopropylidenroute als Reduktionsmittel gewählt, da sowohl der eingesetzte Überschuss als auch das entstandene DMSO leichter zu entfernen waren als das ebenso gut reduzierende Triphenylphosphin, respektive sein Reaktionsprodukt Triphenylphosphinoxid, welches bei der Benzylroute benutzt wurde. Die Grignard-Reaktion zu **18** verlief mit höheren Ausbeuten, wenn Argon als Schutzgas verwendet wurde. Die Darstellung des Grignard-Addukts aus Allylbromid und Magnesium gelang bei jedem Versuch problemlos. Wie bei der Benzylroute entstand auch hier ein Diastereomergemisch, was die NMR-Auswertung ebenfalls erschwerte. Wieder konnte mit Hilfe von 2D-NMR-Methoden der Großteil der Zuordnungen erfolgen. Durch die erneute Ozonolyse mit anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid³⁴



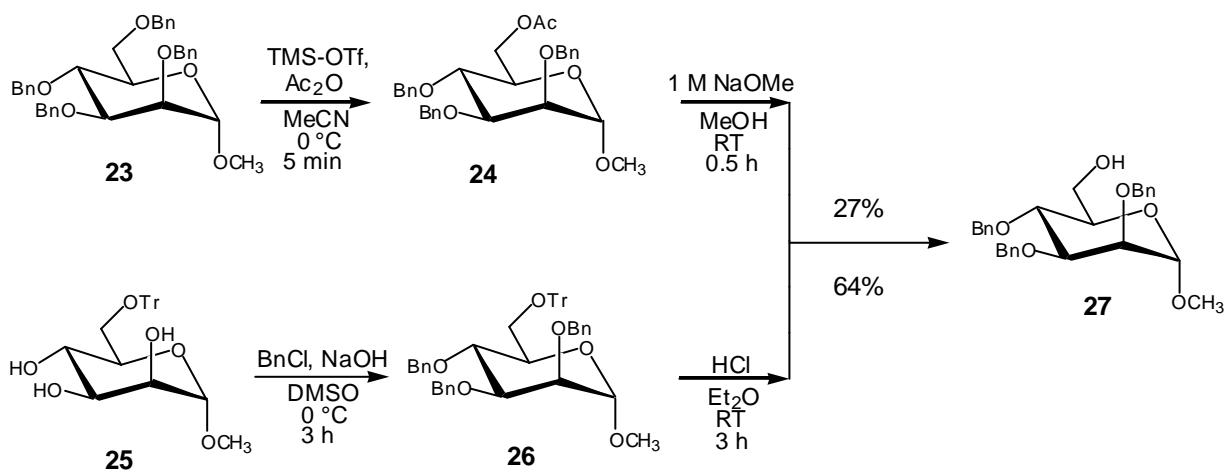
Schema 16: Vollständige Entschützung und selektive Rückschützung von **16**.

wurde in die Verbindung **19** erneut die entständige Hydroxylgruppe eingeführt. Um die sekundäre Hydroxylgruppe selektiv zu oxidieren, wurde die primäre Hydroxylgruppe diesmal mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zu **20** geschützt⁴⁶. Diese Schutzgruppe hat gegenüber der Tritelgruppe den Vorteil, dass sie mit Fluorid-Ionen orthogonal zu den Isopropyliden-Schutzgruppen abgespalten werden kann⁴⁷, wohingegen die selektive Entschützung der Tritelgruppe ohne Spaltung der Isopropylidengruppen nicht ohne Weiteres möglich wäre. Die vergleichsweise niedrige Ausbeute der TBDMS-Schützung ist hier auf unzureichend trockenes Pyridin zurückzuführen. Wieder wurde eine Swern-Oxidation³⁸ mit hervorragender Ausbeute zu **21** durchgeführt. Die Ausbeute der anschließenden Diazirinsynthese⁴⁰ ist hier mit 58% erfreulich hoch; im Falle der Benzylroute lag die Ausbeute nur bei 27%. Die Entschützung mit konz. Salzsäure in Methanol⁴⁸ und anschließender Neutralisation mit basischem Ionenaustauscher lieferte verlustfrei Verbindung **14**. Alternativ wurde mit TFA/Wasser = 9 : 1 entschützt⁴⁹ und anschließend die Isopropylidenschutzgruppen wieder eingeführt, um Verbindung **22** zu gewinnen (Schema 16). Diese Verbindung ließe sich nun entweder über eine Esterbrücke oder – nach weiteren Modifikationen – über eine Amidbrücke mit Biotin³⁵ verbinden.

3.2.2 Darstellung von Methyl-6-O-[(2'-azi-4'-hydroxybutyl]-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (**36**)

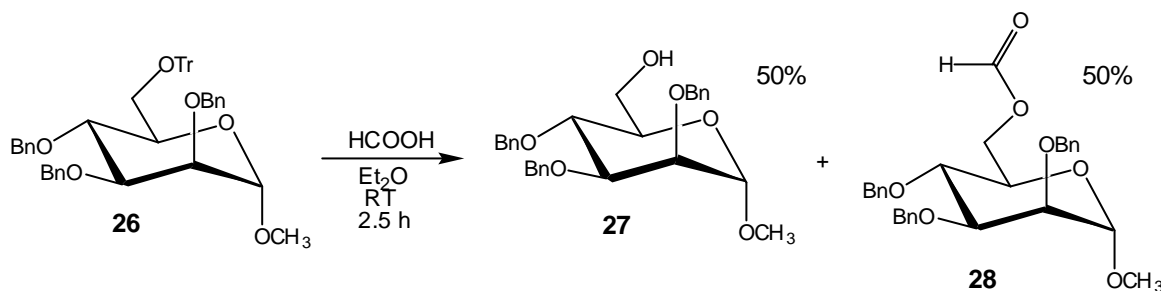


Für die Synthesen von Mannosiden, die den Diazirinspacer an der 6-Position verankert tragen, wurde das Methylmannosid als Ausgangsverbindung verwendet. Mit der geplanten 6-Funktionalisierung ist die komplette Isopropylidenschützung nicht kompatibel. Da allerdings nach beendeter Syntheseroute bei der Umschützung mit Eisen(III)-chlorid und Essigsäureanhydrid nicht mit einer Spaltung der glycosidischen Bindung zu rechnen war, konnte in diesem Fall wieder auf Benzylschutzgruppen zurückgegriffen werden. Ein interessanter Ansatz, um die 6-OH-freie Verbindung **27** zu erhalten, geht von der perbenzylierten Verbindung **23** aus, bei der durch kurzzeitige Einwirkung von TMS-OTf und Umsetzung mit Essigsäureanhydrid die regioselektiv in der 6-Position acetylierte Verbindung **24** entstehen soll, welche



Schema 17: Synthese 6-OH-freien Methylmannosids **27**.

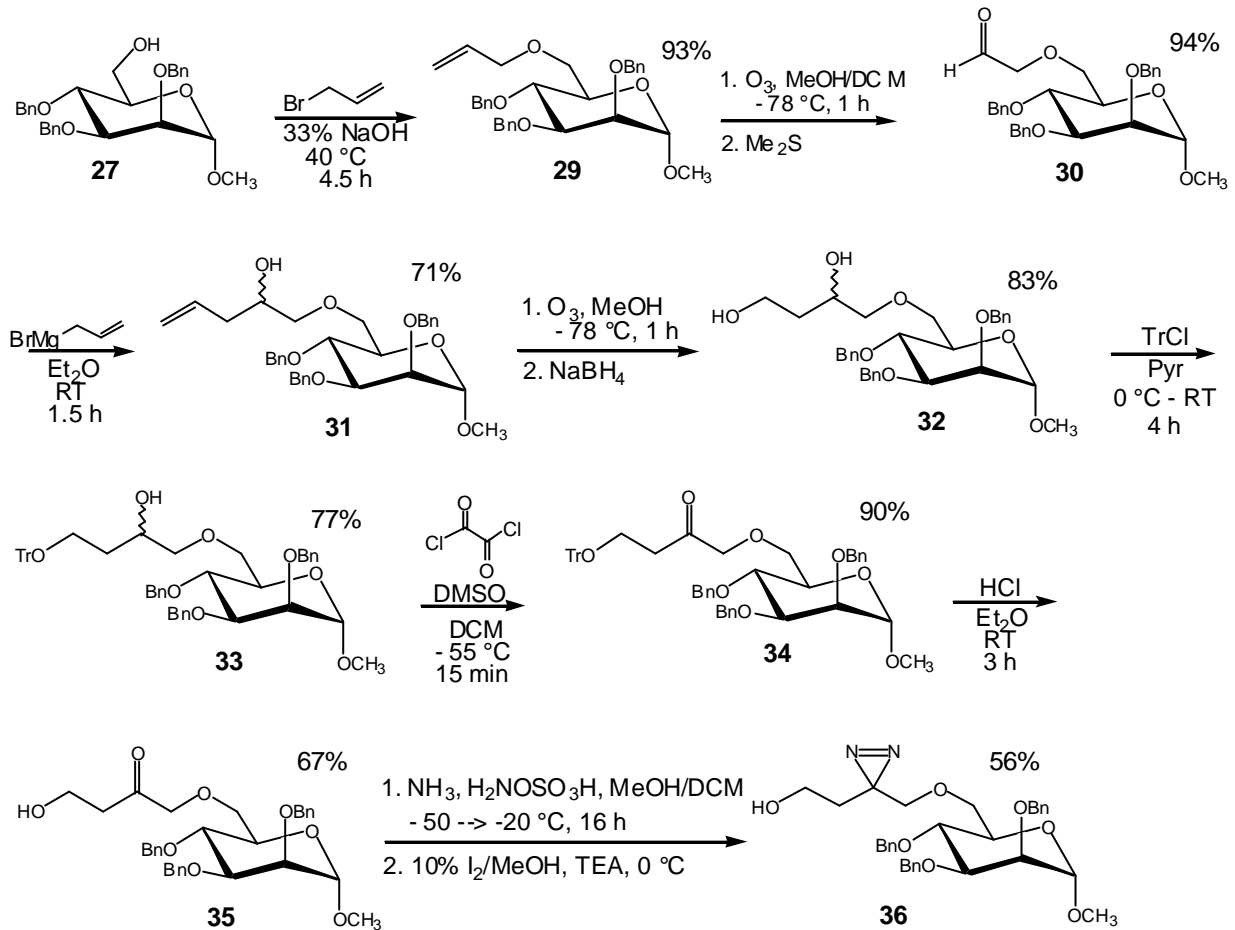
anschließend nach Zemplén entschützt werden kann⁵⁰. Dieser Syntheseweg wurde auch getestet, lieferte hier allerdings auch nach mehrmaligen Versuchen nur mäßige Ausbeuten, sodass ein eher klassischer, aber dafür mit höheren Ausbeuten verlaufender Syntheseweg gewählt wurde (Schema 17)³². Dabei wurde die 6-Position von Methylmannosid zunächst selektiv trityliert und das aufgereinigte **25**⁵¹



Schema 18: Formylierung zu **28** als Nebenreaktion bei der Detritylierung mit Ameisensäure.

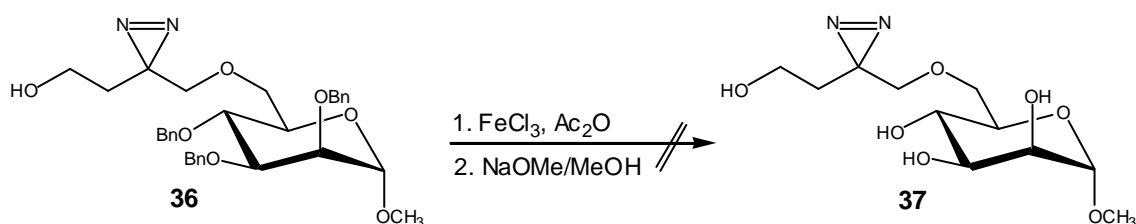
in DMSO mit gepulvertem Natriumhydroxid und Benzylchlorid zu **26** benzyliert. Bei dieser Methode ist darauf zu achten, dass die Eiskühlung nicht zu intensiv ist, da sonst das DMSO fest wird. Die Ausbeute war ähnlich der mit Natriumhydrid zu erreichenden⁵². An dieser Stelle wurde davon abgesehen, das benzylierte Produkt vom ebenso entstandenen Dibenzylether zu trennen, da dies im darauffolgenden Schritt, der Entschützung der 6-Position, leichter gelingen kann. Zur Entfernung der Tritylgruppe wurde zunächst mit Ameisensäure/Diethylether gearbeitet⁵³, wobei sich allerdings zwei Produkte bildeten. Der im Dünnschichtchromatogramm höher laufende Spot wurde mit der Zeit mehr und entsprach ungünstigerweise dem formylierten Nebenprodukt **28** (Schema 18). Nach Entschützung unter Zemplén-Bedingungen⁵⁴ entstand schließlich auch aus **28** das gewünschte 6-OH-freie Produkt **27**. Bei Wiederholungssynthesen wurde die Tritylgruppe mit konz. Salzsäure in Diethylether entfernt (Schema 17), wobei kein Nebenprodukt auftrat.

27 wurde nun zu **29** allyliert⁵⁵, was mit exzellenter Ausbeute gelang. Die weiteren Synthesen verliefen zum großen Teil in Analogie zur Darstellung von **10** und **16**. Die erste Ozonolyse lieferte **30** ebenfalls in hervorragender Ausbeute, während die nachfolgende Grignard-Reaktion, die hier ohne Argon-Atmosphäre durchgeführt wurde, **31** in etwas schlechtere Ausbeute ergab als die, die z.B. **5** zu verzeichnen hatte. Auch hier ergab sich natürlich ein Diastereomerengemisch für das dieselben Charakterisierungsprobleme bestanden wie für die entsprechenden Diastereomerengemische der Syntheserouten aus *Kapitel 3.2.1*. Auch hier gelang die Zuordnung der meisten Signale mit 2D-NMR-Methoden. Nach der erfolgreichen zweiten Ozonolyse und reduktiver Aufarbeitung mit Natriumborhydrid³⁴ zu **32** wurde die primäre Hydroxyl-Gruppe mit Tritylchlorid zu **33** geschützt³⁶. Da in diesem Fall die Forderung nach orthogonaler Entschützung wie im Fall der Synthese von **16** nicht bestand, konnte anstelle von *tert*-Butyldimethylsilylchlorid das preiswerte Tritylchlorid verwendet werden. Die Swern-Oxidation³⁸ zu **34** verlief wiederum mit hervorragender



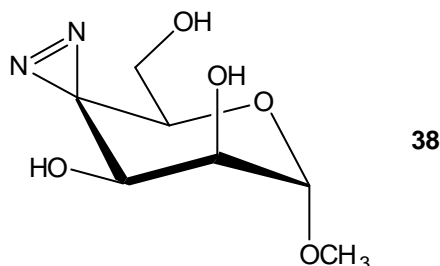
Schema 19: Syntheseroute zur Darstellung von **36**.

Ausbeute. Anschließend wurde zuerst die Tritylgruppe zu **35** abgespalten³⁹, um einerseits die Löslichkeit der Verbindung bei der Diazirinsynthese in den polaren Lösungsmitteln Ammoniak und Methanol zu erhöhen und um andererseits möglichen sterischen Hinderungen durch die Tritylgruppe bei der Bildung des Diaziridins aus dem Wege zu gehen. Mit 56%iger Ausbeute konnte das Diazirin-funktionalisierte Produkt **36** erhalten werden (Schema 19)⁴⁰. Die Entschützung mit Eisen(III)-chlorid und Essigsäureanhydrid verlief sehr langsam⁴³, sodass nach 3 d Rühren bei RT unter Lichtausschluss bei der Aufarbeitung nur ein Gemisch unterschiedlich umgeschützter Verbindungen anfiel, die nicht trennbar waren. Nach 14 d mit einmaligem Katalysatorwechsel konnte ein nicht UV-aktives Produkt isoliert werden, welchem allerdings der Diazirin-Spacer fehlte (Schema 20).



Schema 20: Fehlgeschlagene Darstellung von **37**.

3.2.3 Versuche zur Darstellung von Methyl-4-azi-4-desoxy- α -D-mannopyranosid (38)



Um eine Diazirinegruppe in einer Spiro-Konstellation direkt am Zuckerring zu platzieren, empfiehlt sich zuerst ein Blick in die Literatur. Vasella et al. hatten bereits

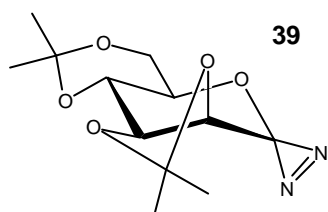
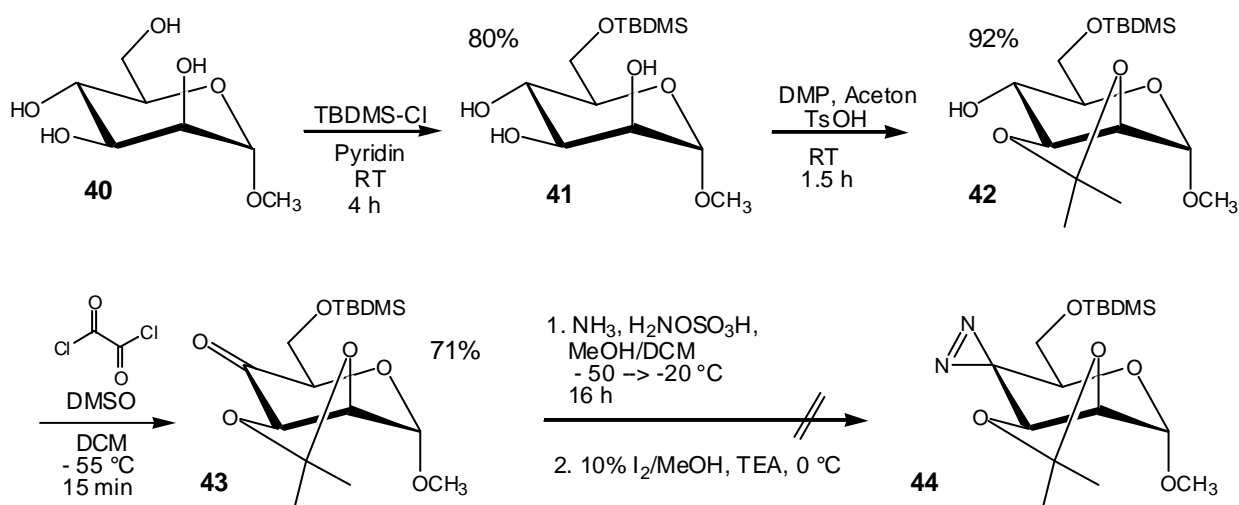


Abb. 19: In 1-Position Diazirine-funktionalisierte Mannose.

die Darstellung des in 1-Position kondensierten Rings (Abb. 19) beschrieben und dabei auf die Instabilität der Verbindung hingewiesen, die praktisch nur *in situ* dargestellt und weiter verarbeitet wurde⁵⁶. Für die Verwendung als Inhibitor der Bindungsstellen im FimH schied diese Verbindung damit aus. Alternativ wurde hier der Versuch unternommen, die 4-Position zu

funktionalisieren. Dabei war das Methylmannosid **40** die Ausgangsverbindung, das diesmal in der 6-Position mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid geschützt wurde (**41**)⁵⁷. Anschließend wurde eine 2,3-Isopropylidinerung durchgeführt, was zum 4-OH-freien **42** führte. Die in der Literatur beschriebene Darstellung von **42** nimmt zunächst den Weg zur mono-isopropylidenerierten Verbindung, um anschließend die 6-Position mit TBDMS-Cl zu schützen. Dabei werden keine spektroskopischen Daten angegeben⁵⁸.



Schema 21: Syntheseroute zur Darstellung von **44**.

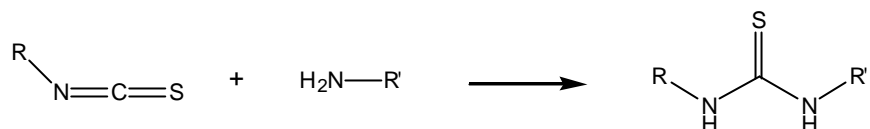
Trotz der sterisch etwas anspruchsvollen Umgebung gelang die Swern-Oxidation³⁸ zur Oxo-Verbindung **43** noch recht gut (Schema 21). Bedauerlicherweise scheiterte jedoch die anschließende Diazirin-Synthese zu **44** völlig, was auf nicht tolerable Ringspannungen zurückzuführen sein könnte. Die Verwendung eines anderen Schutzgruppensystems, das den Zuckerring nicht wie im Fall der Isopropylidinierung, verzerrt, könnte hier Abhilfe schaffen und möglicherweise das gewünschte Produkt **38** liefern.

Die in *Kapitel 3.2* aufgeführten Syntheserouten erwiesen sich alle als recht lang und aufwändig, manchmal auch nur als bedingt erfolgreich. Dies führte zur Erprobung eines neuen Konzeptes zur Einführung von Diazirin-Labeln, bei dem die Thioharnstoffverbrückung eingesetzt wurde und, teilweise in Kombination mit Glycosylierungsreaktionen, ein flexibles, modulares Synthesesystem ermöglichte.

3.3 Mannoside mit Diazirin-Label über Thioharnstoffverbrückung

Zur Darstellung eines Thioharnstoffs gehören eine Isothiocyanato- und eine Aminokomponente, die den Thioharnstoff in einer Additionsreaktion bilden (Abb. 20).

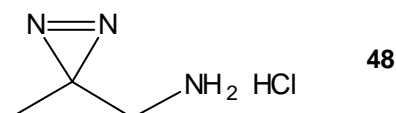
Abb. 20:
Thioharnstoff-
Synthese



Arbeitet man mit Zuckern und tragen diese die üblichen und leicht zu handhabenden Acylschutzgruppen (Acetyl, Benzoyl), so sollte der Zucker Träger der Isothiocyanatogruppe sein, da estergeschützte Zucker, die eine freie Aminogruppe tragen zu N→O-Acylgruppenwanderung neigen⁵⁹. Prinzipiell kann man auch mit ungeschützten Aminozuckern, die mit einem Isothiocyanato-funktionalisierten Spacer reagieren, arbeiten. Dann ist aber die Aufarbeitung des entstehenden Thioharnstoffs aufwändig, da keine chromatographische Trennung an Kieselgel durchgeführt werden kann, was gerade bei größeren Ansätzen problematisch ist. Zusätzlich kann dazu auch die Bildung von Thiocarbamaten als Konkurrenzreaktion auftreten⁶⁰, sodass sich die Verwendung von Schutzgruppen bei der Thioharnstoffverbrückung empfiehlt.

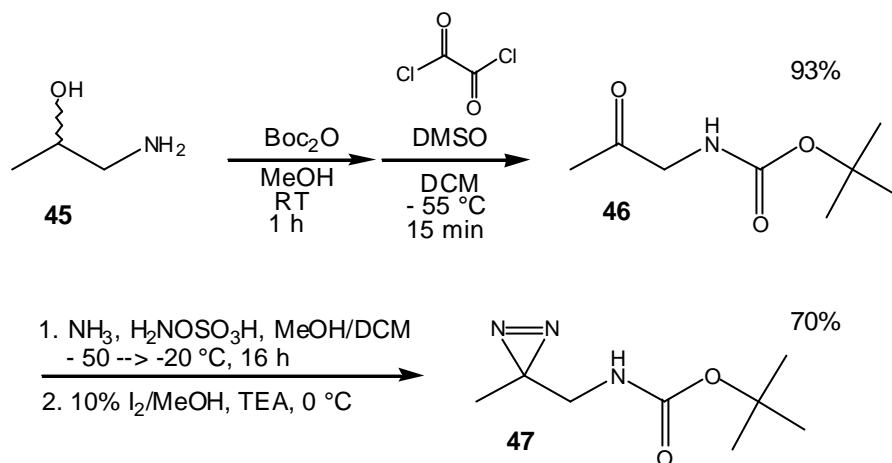
So wird im Folgenden die Synthese eines Amino-funktionalisierten diazirinhaltigen Linkers dargestellt, der an Isothiocyanato-funktionalisierte Zucker addiert werden soll. Anschließend werden Thioharnstoffverbrückungen mit diesem Linker besprochen.

3.3.1 Darstellung des Diazirin-Linkers 2-Azipropropylamin-hydrochlorid (**48**)



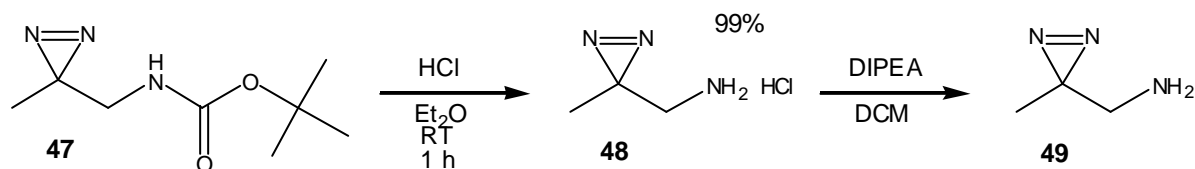
Die Überlegung, einen leicht einföhrbaren und in wenigen Schritten synthetisierbaren Diazirin-Linker darzustellen, führte zu (±)-Amino-2-propanol **45** als Ausgangsverbindung (Schema 22). Zuerst wurde die Amino-Gruppe in einer einfachen Schützungsreaktion mit Boc-Anhydrid versetzt⁶¹ und das nicht isolierte Produkt in einer Swern-Oxidation³⁸ zum Keton **46** umgesetzt, was über zwei Stufen mit 93%iger Ausbeute gelang. In der Literatur⁶² wird die Oxidation zum Keton mit PDC in schlechterer Ausbeute durchgeführt. Nun wurde wie gehabt das Diazirin aus

dem Keton dargestellt⁴⁰, was bei Verbindung **47** mit 70% Ausbeute gelang (Schema 22). Insofern ist nicht nur die kurze Syntheseroute, sondern auch die Ausbeute sehr zufriedenstellend. Bei der Durchführung der Diazirin-Synthese ergab sich häufig eine bessere Ausbeute, wenn außer Methanol auch immer etwas Dichlormethan im



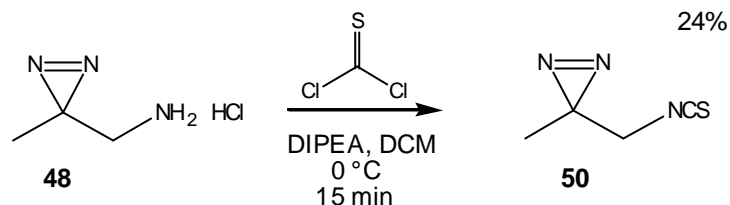
Schema 22: Darstellung der Boc-geschützten Form **47** des Diazirin-Linkers.

Lösungsmittelgemisch zugegen war. Möglicherweise ließ sich so das Keton effektiver in Lösung bringen, um mit dem Ammoniak zu reagieren. Die beschriebene Spaltung der glycosidischen Bindung kann bei der Synthese von **47** natürlich nicht auftreten. Um das Amin für die Thioharnstoffverbrückung zu gewinnen, wurde es immer direkt vor der Reaktion durch Entfernen der Boc-Gruppe mit konz. Salzsäure in Diethylether zum Hydrochlorid **48** umgesetzt (Schema 23). Dieses wurde dann vor Zugabe in die Reaktionslösung in DCM suspendiert und *in situ* durch DIPEA zum freien Amin **49** umgesetzt, worauf es sich im DCM löste. Diese Methode wurde an verschiedenen Isothiocyanato-funktionalisierten Molekülen getestet und lief immer mit zumindest zufriedenstellenden Ausbeuten ab.



Schema 23: Darstellung von **48** und des freien Amins **49**.

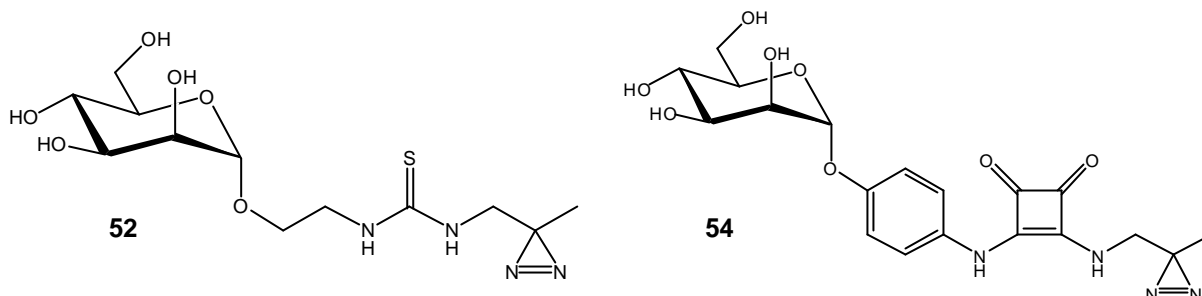
Des Weiteren wurde die Überlegung verfolgt, aus **48** das Isothiocyanat **50** darzustellen, um so auch die inverse Kupplung zum Thioharnstoff zu ermöglichen. Hatten die Reaktionen dieser Sequenz bisher sehr gut funktioniert, so stellte sich die Synthese von Verbindung **50** völlig anders dar.



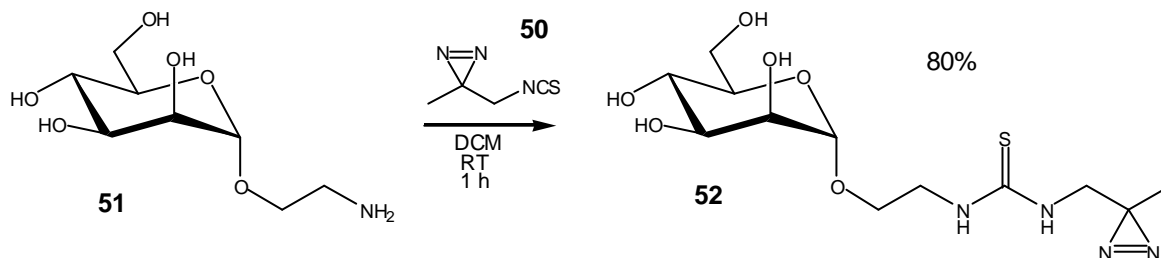
Schema 24: Darstellung der Verbindung **50**.

Die Umsetzung erfolgte mit **48** in Dichlormethan unter Zugabe von DIPEA und Thiophosgen (Schema 24)⁶³. Hier erwies sich als erstes die Detektion als problematisch. Normalerweise zeigen Isothiocyanate eine einigermaßen deutliche UV-Aktivität, aber in diesem Fall konnte auch bei konzentrierter Auftragung auf die DC-Folie ein Spot lediglich erahnt werden. Eine große Auswahl an Detektionsmitteln lieferte auch keine Anfärbung, sodass auf eine 10%ige methanolische Morpholin-Lösung zurückgegriffen wurde, die das Isothiocyanat auf der DC-Folie zum Thioharnstoff-Derivat reagieren ließ, das eine eindeutige UV-Aktivität aufwies. Nun war zwar das Detektionsproblem gelöst, dennoch gelang die Darstellung des Isothiocyanates **50** nur zu 24%.

3.3.2 Darstellung von *N*-(2-Azipropyl)-*N'*-(2'-*a*-mannopyranosyloxyethyl)thioharnstoff (**52**) und *N*-(2-Azipropyl)-*N'*-[*p*-(*a*-*D*-mannopyranosyloxy)phenyl]quadratsäurediamid (**54**)

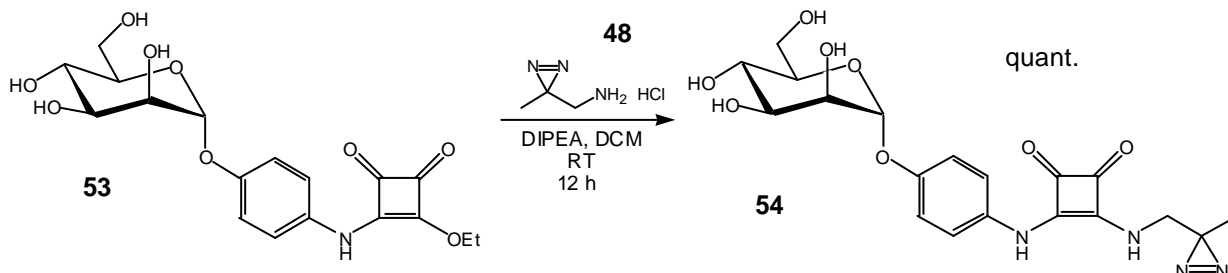


Das Diazirin-funktionalisierte Isothiocyanat **50** konnte mit 2-Aminoethyl- α -*D*-mannopyranosid⁶⁴ **51** als der Aminokomponente zum Thioharnstoff **52** umgesetzt werden, was in der für Thioharnstoffverbrückungen üblichen guten Ausbeute gelang (Schema 25).



Schema 25: Darstellung von **52**.

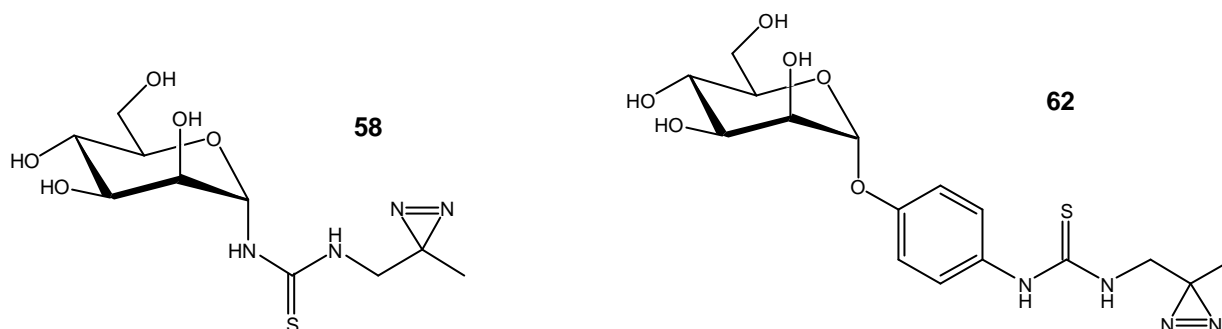
Andererseits konnte der Diazirin-Linker **48** mit dem Quadratsäureester **53**^{65,66} zum Quadratsäureamid **54** in quantitativer Ausbeute umgesetzt werden (Schema 26). Hierbei handelt es sich um eine Substitutionsreaktion. Das Quadratsäureamid **54** ist für die biologischen Untersuchungen mit *E.coli* besonders interessant, da für den Quadratsäureester **53** ein besonders guter relativer Inhibitionstiter ($RIC_{50} = 1\mu\text{M}$ bezogen auf Methylmannosid) gefunden wurde. Leider ist allerdings **54** besonders



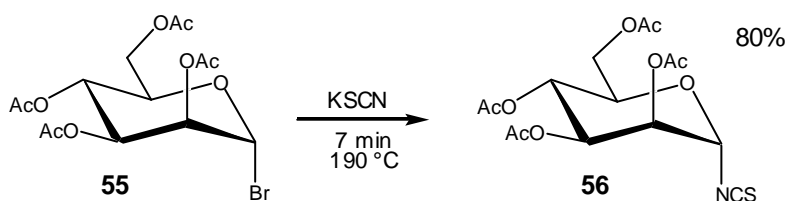
Schema 26: Darstellung von **54**.

schlecht wasserlöslich, sodass sowohl Inhibitionstests als auch Inkubationsexperimente mit dem FimH-Protein mit 10% DMSO-Anteil durchgeführt werden müssen (Vgl. Kapitel 4.3 und 4.4).

3.3.3 Darstellung von *N*-(2-azipropyl)-*N'*-(1-desoxy- α -D-mannopyranosyl)thioharnstoff (**58**) und *N*-(2-Azipropyl)-*N'*-(*p*-phenyl- α -D-mannopyranosyl)thioharnstoff (**62**)

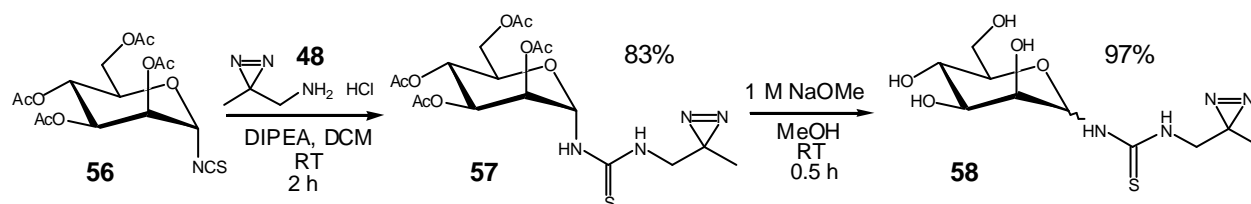


Für die Darstellung weiterer Thioharnstoff-verbrückter Diazirin-funktionalisierter Mannoside bot sich das Isothiocyanat **56**⁶⁷, als leicht verfügbarer Ausgangsstoff an, das mit guten Ausbeuten in einer Schmelzreaktion aus dem acetylierten



Schema 27: Schmelzreaktion zu Verbindung **56**.

Mannosylbromid **55** und einem Überschuss an Kaliumthiocyanat bei 190 °C dargestellt werden kann (Schema 27). So wird in der Reaktion mit dem Diazirin **48** das gelabelte Mannose-Derivat **57** in guter Ausbeute erhalten. Dessen Entschützung führte bei **58** zu einer Anomerisierung, sodass zu ca. 20% das β -entschützte Verbindung entstand (97% Gesamtausbeute \rightarrow 78% α) (Schema 28). Dieses



Schema 28: Darstellung von **58**.

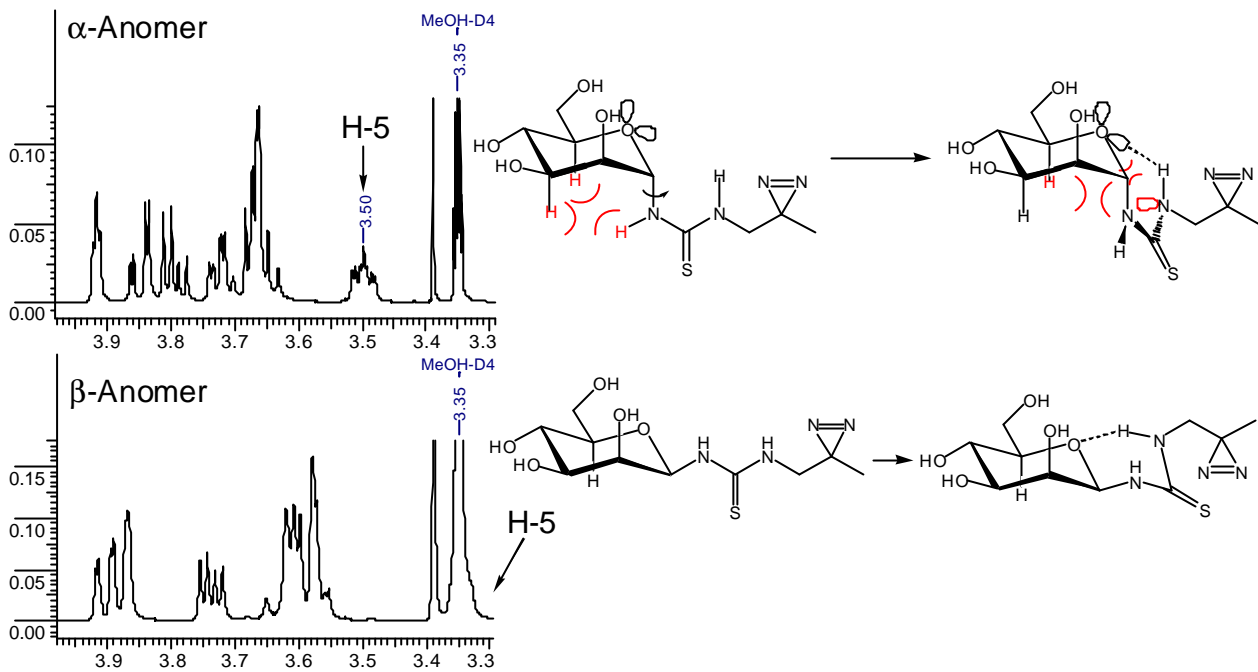
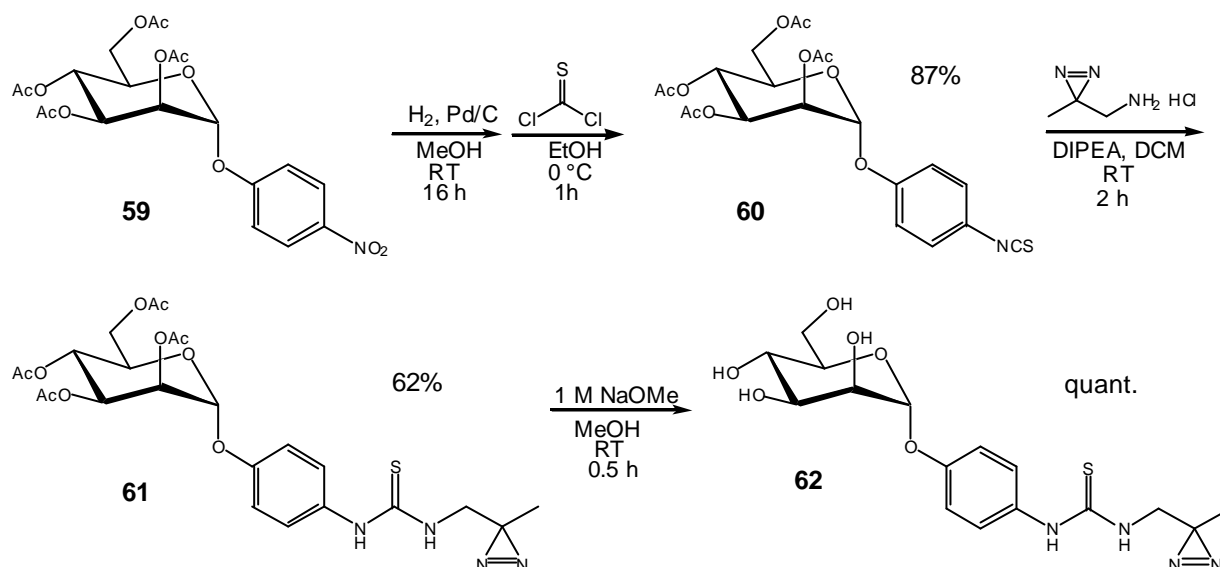


Abb. 21: Vergleich der ¹H-NMR-Spektren des α- und des β-Anomers von **58**. Die Verschiebung des H-5-Signals ist besonders ausgeprägt.

Anomerisierungsverhalten ist literaturbekannt⁶⁸, nur ist die Vorhersagbarkeit dieses Phänomens bei einer am C-1 Thioharnstoff-funktionalisierten Verbindung anscheinend noch nicht gelungen. Die Anomere konnten mittels HPLC vollständig voneinander getrennt werden. So zeigen α- und β-D-Mannosen im ¹H-NMR nahezu identische ³J_{H-1,H-2}-Kopplungen im Bereich von 1.5 – 2.0 Hz, sodass die Feststellung der α/β-Konfiguration mittels Gated-Decoupling-¹³C-NMR-Spektroskopie erfolgen kann, wobei das α-Anomere immer den größeren J_{C-1,H-1}-Wert besitzt als das β-Anomer (J_{C-1α,H-1α} = 163.4, J_{C-1β,H-1β} = 149.8 Hz). Zu beachten ist die Hochfeldverschiebung des H-5-Signals des β-Anomers im ¹H-NMR, was auf den verringerten negativen induktiven Effekt des Ringsauerstoffatoms zurückführbar ist, der eine Wasserstoffbrückenbindung mit einer NH-Gruppe der Thioharnstoffbrücke eingehen kann. Im α-Anomer ist dies energetisch ungünstiger (Abb. 21). Zugleich wird so auch das bei der HPLC-Reinigung recht deutlich unterschiedliche Laufverhalten der Anomere erklärt, wobei das β-Anomer unpolarer ist als das α-Anomer.

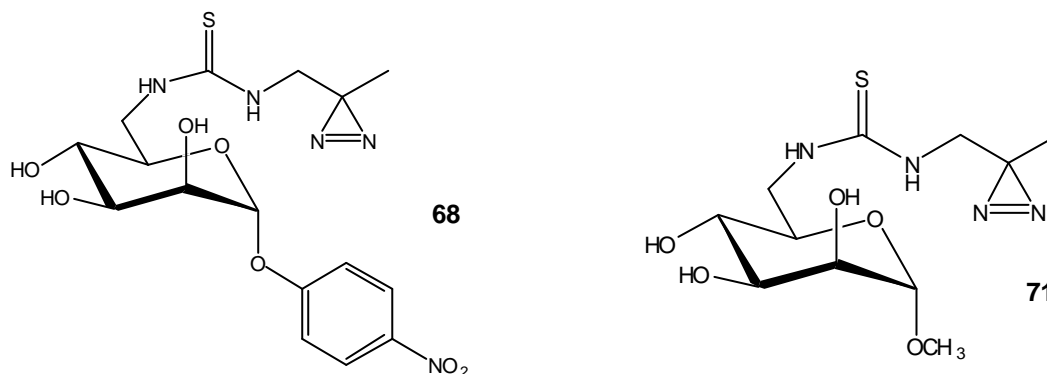
Weiterhin war es von Interesse, Mannoside mit aromatischem Aglycon mit einem Diazirin-Label auszustatten. Da die Zuckerbindungstasche des FimH-Proteins von zwei Tyrosin-Seitenketten flankiert wird ("tyrosine gate"), ist die Bindung solcher Mannoside über π,π-Wechselwirkungen der Aromaten begünstigt. So besitzt z.B.



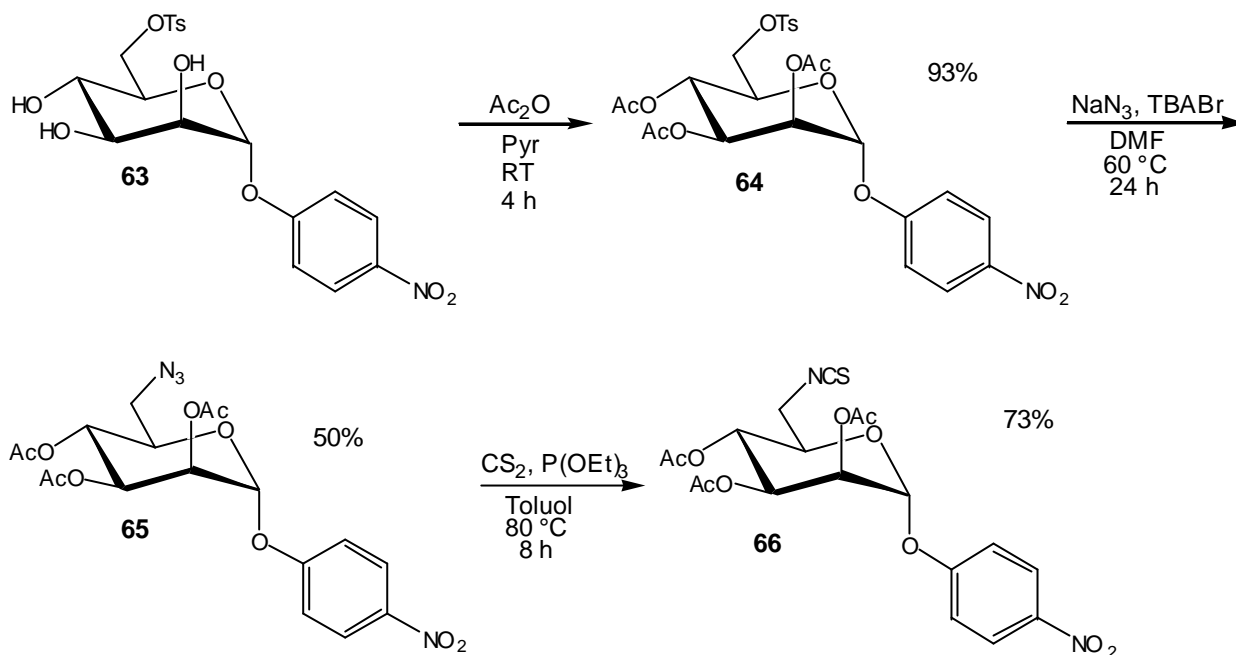
Schema 29: Darstellung von **62**.

pNP-Mannosid eine niedrigere Dissoziationskonstante als Methylmannosid beim ELISA mit Typ-1-Fimbrien¹⁹. Um pNP-Mannosid mit dem Diazirin-Linker **48** umzusetzen, wurde zunächst **60** auf bekanntem Wege aus dem acetylierten pNP-Mannosid **59** durch Reduktion der Nitrogruppe und anschließender Umsetzung mit Thiophosgen dargestellt⁶⁹. Anschließend wurde **60** mit **48** zum Thioharnstoff **61** umgesetzt, der anschließend in einer Zemplén-Reaktion⁵⁴ zu **52** in hoher Ausbeute entschützt werden konnte (Schema 29).

3.3.4 Darstellung von *p*-Nitrophenyl-6-deoxy-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (**68**) und Methyl-6-deoxy-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (**71**)

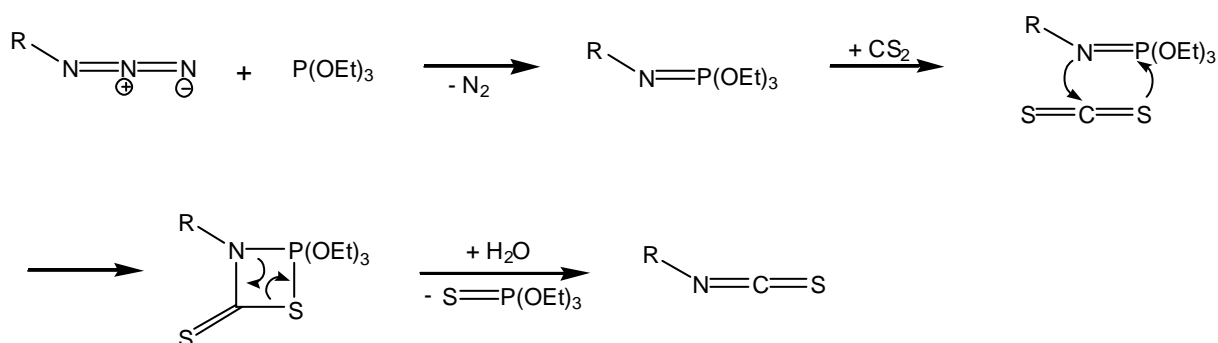


Um den Diazirin-Linker mit der 6-Position des pNP-Mannosides verknüpfen zu können, muss zunächst die primäre Hydroxylgruppe selektiv geschützt werden. So wurde das 6-Tosylat **63** erhalten⁷⁰, das nach Acetylierung das Mannosid **64** lieferte.



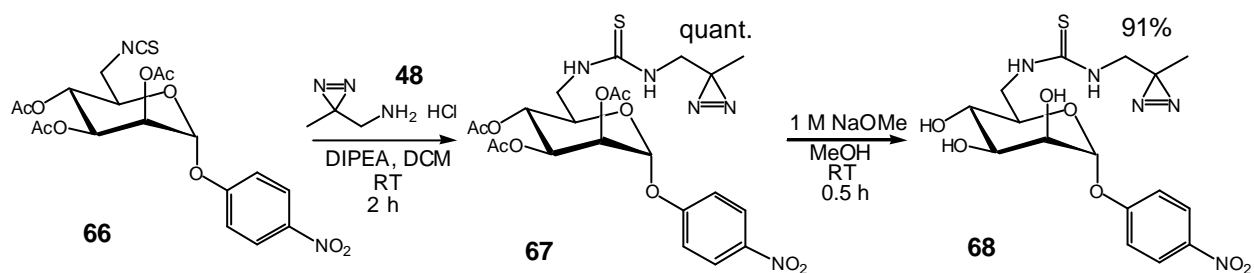
Schema 30: Darstellung der 6-Isothiocyanato-funktionalisierten Verbindung **66**.

Die anschließende Azidierung zu **65** gelang in nur 50%iger Ausbeute⁷¹, wohingegen die Darstellung des Isothiocyanats **66** in einer Reaktion des Staudinger-Typs die üblichen Ausbeute ergab (Schema 30)⁷². Bei dieser Reaktion addiert sich im ersten Schritt Triethylphosphit unter Stickstofffreisetzung an das Azid. Das entstandene Phosphinimin kann nun in einer Cycloaddition mit Kohlenstoffdisulfid reagieren. Durch die Hydrolyse wird der entstandene Ring gespalten und das Isothiocyanat gebildet (Schema 31).

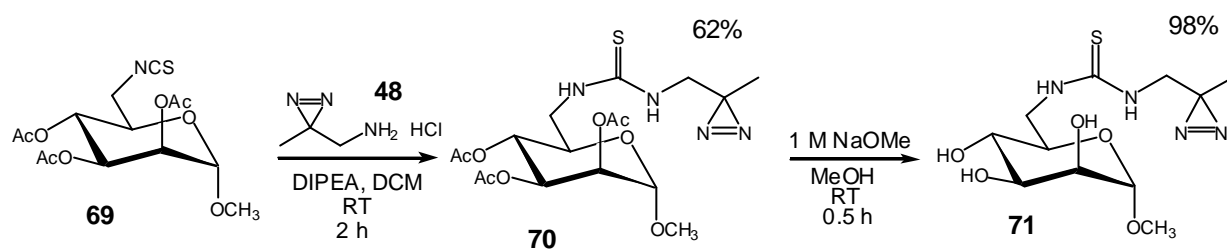


Schema 31: Mechanismus der Isothiocyanat-Synthese nach Staudinger⁷².

Nun konnte durch Umsetzung mit dem Diazirin-Linker **48** der Thioharnstoff **67** in sehr guter Ausbeute dargestellt und anschließend einer Zemplén-Deacetylierung⁵⁴ unterzogen werden, die **68** ebenfalls in einer sehr guten Ausbeute lieferte (Schema 32). Mit der literaturbekannten Verbindung **69**²² wurde analog verfahren und der

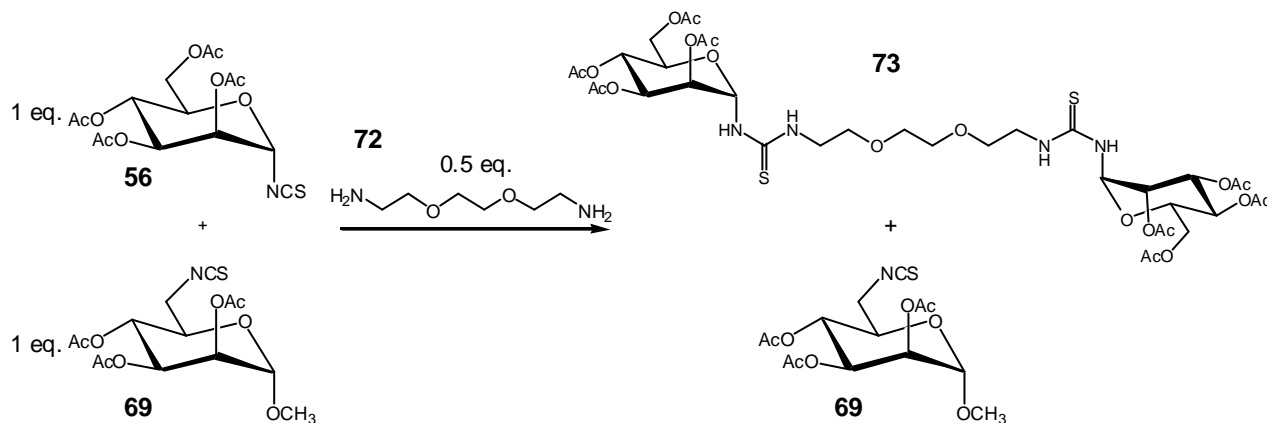
Schema 32: Darstellung von **68**.

Diazirin-Linker **48** zur Verbindung **70** umgesetzt, die ebenfalls leicht zur Verbindung **71** deacetyliert werden konnte (Schema 33).

Schema 33: Darstellung von **71**.

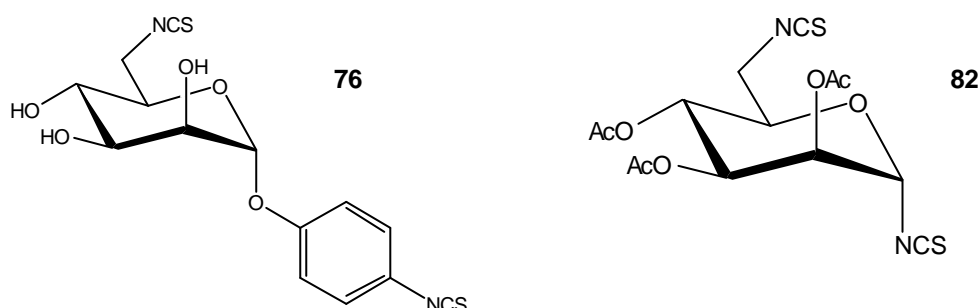
3.4 Difunktionelle Zuckerisothiocyanato-Derivate

Die Möglichkeit, eine Monosaccharideinheit so zu funktionalisieren, dass sie sowohl einen Diazirin-Spacer als auch eine Option für weitere Verknüpfungsmöglichkeiten hat, führte zu der Überlegung, Kenntnisse über die unterschiedlichen Reaktivitäten von Isothiocyanatogruppen in Zuckerderivaten zu nutzen. Konkurrenzexperimente zeigten, dass bei gleichzeitiger Zugabe von 1,8-Diamino-3,6-dioxaocan **72** zu einer äquimolaren Lösung von 1-Isothiocyanato-funktionalisierter **56** und 6-Isothiocyanato-funktionalisierter Mannose **69**, praktisch nur erstere zu **73** reagierte (Schema 34)⁷³. So ergab sich als Syntheseziel die Darstellung der Diisothiocyanato-funktionalisierten Mannosen.



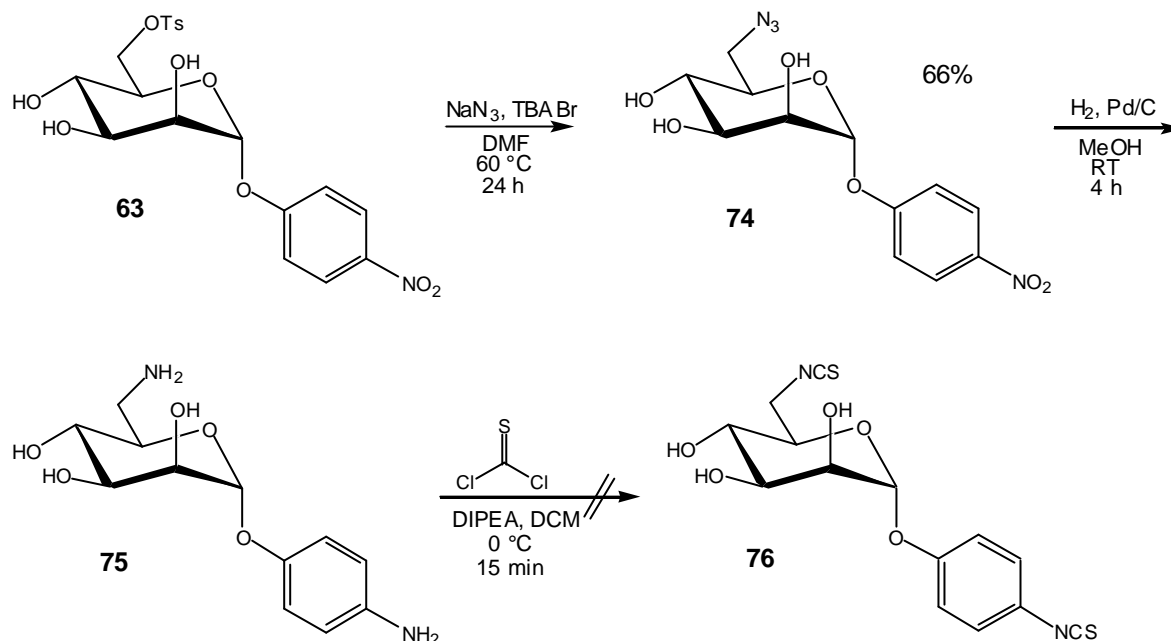
Schema 34: Konkurrenzreaktion zwischen einem in 1- und einem in 6-Position Isothiocyanato-funktionalisierten Mannose-Derivat. Nur die Verbindung **56** reagiert zum Thioharnstoff **73**⁷³.

3.4.1 Synthese von Mannose-Derivaten mit zweifacher Isothiocyanato-funktionalisierung



Zuerst wurde versucht, sowohl die 6-Position als auch die *p*-Phenyl-Position des pNP-Mannosids mit einer Isothiocyanatogruppe zu versehen. Diese sollten dann aufgrund unterschiedlicher Reaktivitäten regiospezifisch zum Thioharnstoff reagieren.

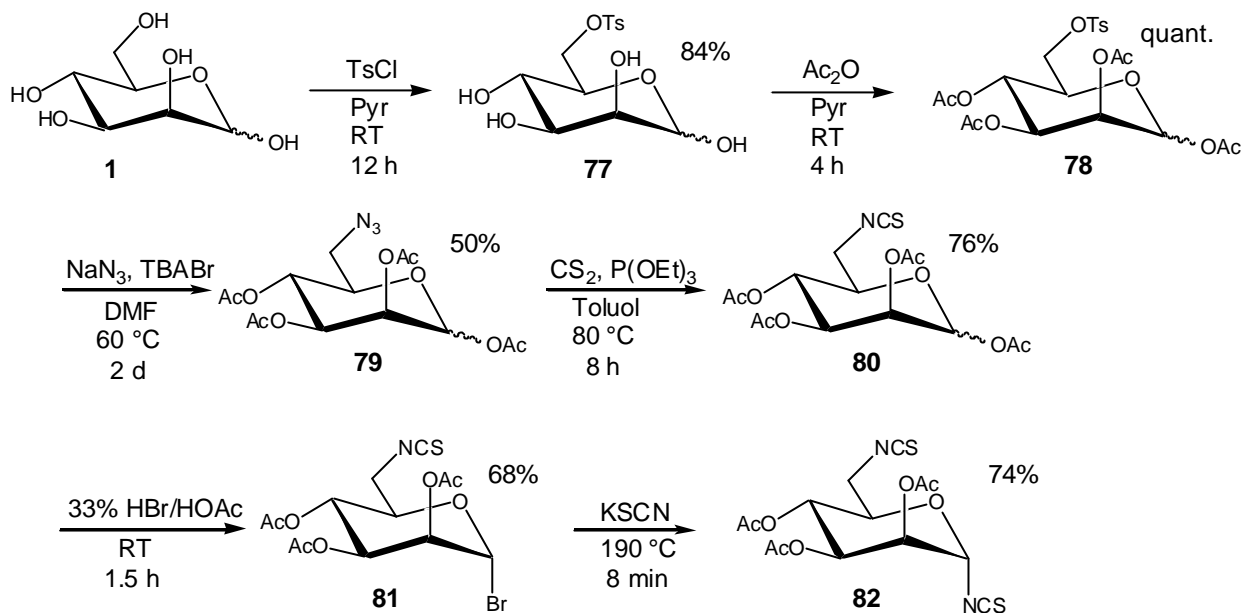
Zunächst ließ sich das 6-Azido-Derivat des pNP-Mannosids durch nucleophile Substitution aus **63** erhalten (Schema 35)⁷¹. Das Azid konnte dann aber nicht zum Isothiocyanat umfunktionalisiert werden, da in einem anschließenden Reduktionsschritt, der die Nitrogruppe zum Amin umsetzte, das entstehende Amin sofort mit der Isothiocyanatogruppe reagierte. Daher wurde versucht, sowohl die



Schema 35: Versuchte Darstellung der Diisothiocyanato-funktionalisierten Verbindung **76**.

Azido- als auch die Nitrogruppe in einem Schritt zum Diamin zu reduzieren. Dazu musste die Ausgangsverbindung OH-frei sein, da Acetyl- oder Benzoylschutzgruppen einer O→N-Acylwanderung unterliegen könnten. Das nach dünn-schichtchromatographischer Kontrolle entstandene Diamin **75** wurde sofort mit Thiophosgen umgesetzt⁶³, aber es konnte nicht das gewünschte Produkt **76** isoliert werden. Vermutlich war die Umsetzungsgeschwindigkeit zu den jeweiligen Isothiocyanatogruppen mit dem Thiophosgen unterschiedlich, sodass nicht umgesetztes Amin mit einer entstandenen Isothiocyanatogruppe zu Thioharnstoff-Addukten reagiert haben wird.

Die Synthese eines Mannosylisothiocyanates mit einer zweiten Isothiocyanatogruppe an der 6-Position gelang dagegen relativ einfach (Schema 36). Zuerst wurde die 6-Position von Mannose selektiv zu **77** tosyliert. Dabei zeigte sich, dass die Ausbeute verbessern werden konnte, wenn vor der Acetylierung eine säulen-chromatographische Reinigung erfolgte, anstatt danach, da störende mehrfach tosylierte oder nicht umgesetzte Mannosen so leichter entfernt werden konnten⁷⁴. Die



Schema 36: Darstellung der 1,6-Diisothiocyanato-funktionalisierten Verbindung **82**.

nucleophile Substitutionsreaktion mit **78** lieferte das Azid **79** in ca. 50%iger Ausbeute, was in Einklang mit der Literaturausbeute⁷⁵ steht. Die folgende Darstellung des Isothiocyanates **80** verlief mit den üblichen guten Ausbeuten⁷². Die Charakterisierung der dargestellten Verbindungen **77**, **78**, **79** und **80** wurde dadurch erschwert, dass es sich um Anomerengemische handelte; zumeist gelang aber die Zuordnung der NMR-Signale. Als kritischer Schritt der Syntheseroute wurde die nun folgende Bromierung der 1-Position angesehen. Im Vorfeld der Synthese wurde in der 6-Position Isothiocyanato-funktionalisiertes Methylmannosid **69** den Reaktionsbedingungen der Bromierung unterworfen⁷⁶. Dazu wurde **69** für 1.5 h in 33%iger Bromwasserstoff/Eisessig-Lösung gerührt (Abb. 22). Nach dünn-schichtchromatographischer Kontrolle zeigte sich nur eine kleine Menge Zersetzungsprodukt, sodass nun die eigentliche Bromierung an **80** durchgeführt

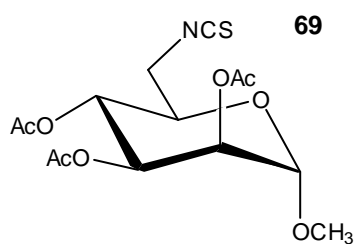
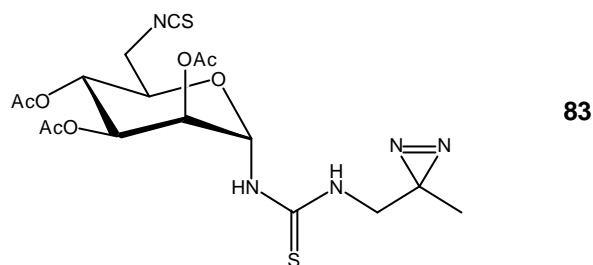


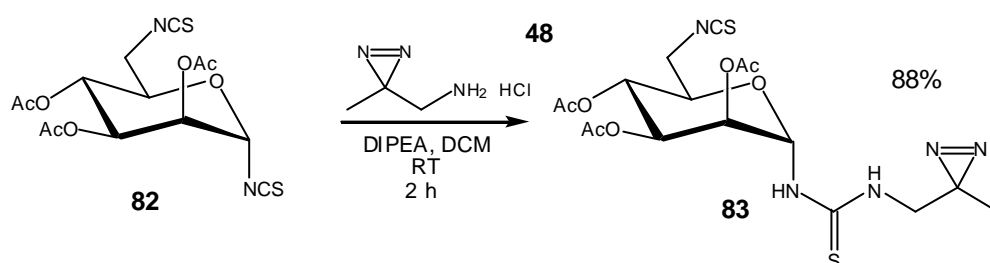
Abb. 22: 6-NCS funktionalisiertes Mannosid **69**.

werden konnte. Tatsächlich gelang die Synthese des 6-Isothiocyanato-funktionalisierten Mannosylbromids **81** als ein nach dem NMR reines Produkt mit 68%iger Ausbeute. Dieses Bromid ließ sich in der Schmelze mit Kaliumthiocyanat zum difunktionalisierten Mannose-Derivat **82** in guter Ausbeute umsetzen. Wie das Gated-Decoupling-¹³C-NMR-Experiment zeigte, liegt das Produkt ausschließlich in der α -Konfiguration vor.

3.4.2 Darstellung von *N*-(2-Azipropyl)-*N'*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato- α -*D*-mannopyranosyl)thioharnstoff



Die Nagelprobe für das vorgeschlagene Konzept zum selektiven Diazirin-Labeling zweifach Isothiocyanato-funktionalisierter Zucker bildete die Reaktion des Diisothiocyanates **82** mit dem Diazirin-funktionalisierten Amin **48** (Schema 37). Wie



Schema 37: Selektive Reaktion von **82** mit dem Diazirin-Label **48**.

aufgrund der literaturbekannten Konkurrenzexperimente⁷³ zu erwarten war, konnte die 1-Position tatsächlich in sehr guter Ausbeute selektiv mit **48** zum Thioharnstoff-verbrückten Produkt **83** umgesetzt werden.

Zur Illustration ist der Ausschnitt der Isothiocyanat-Signale von **82** und **83** in ihren ¹³C-NMR-Spektren dargestellt (Abb. 23).

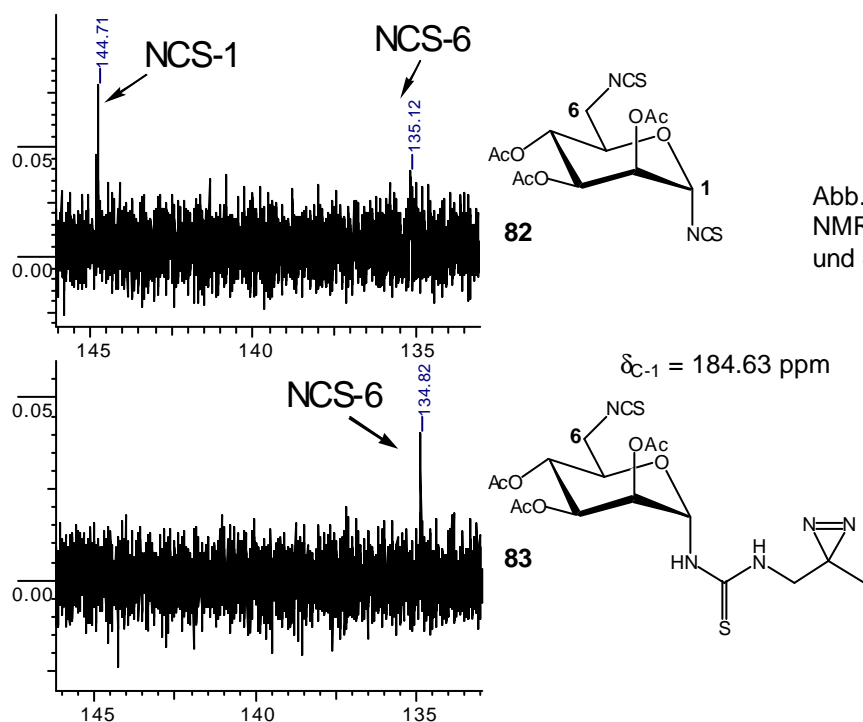
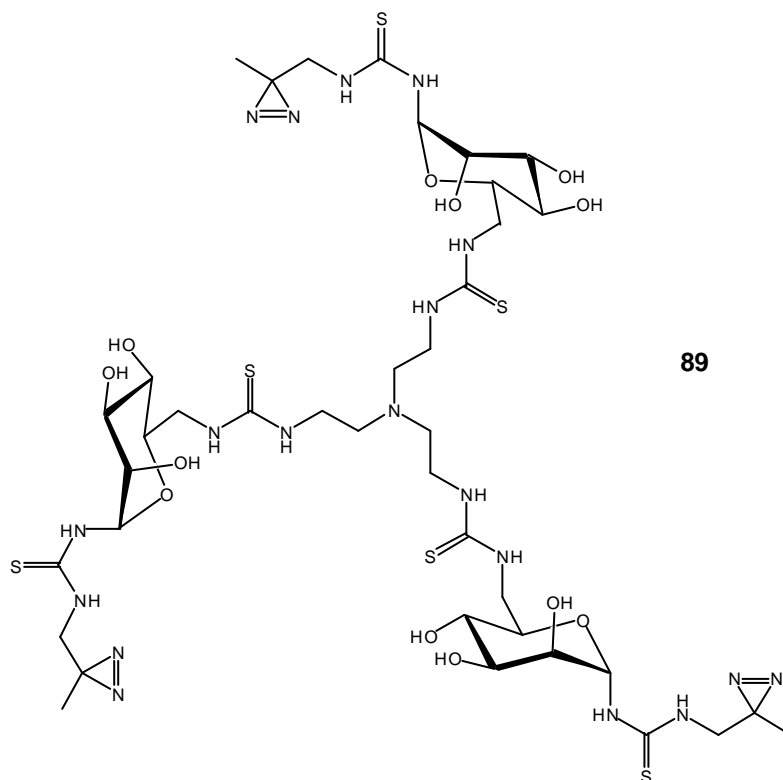
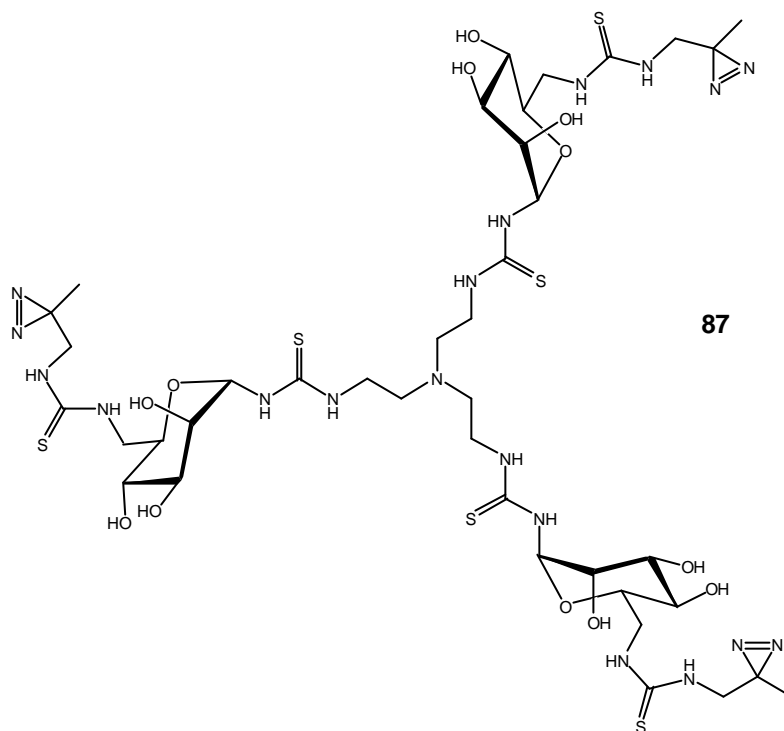


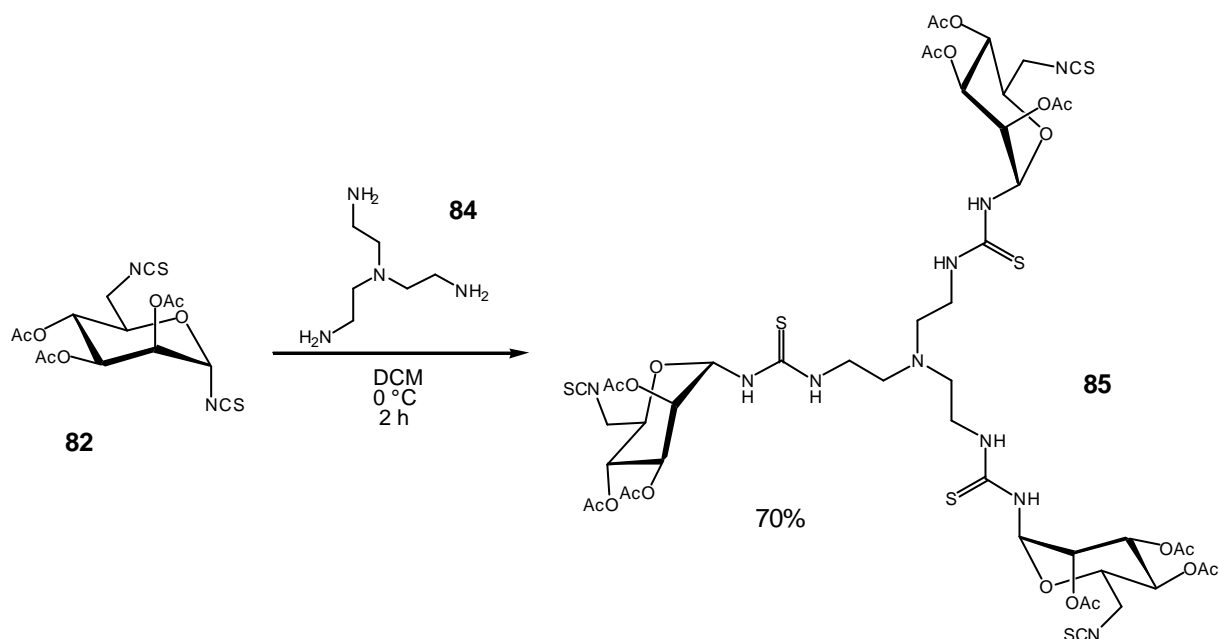
Abb. 23: Ausschnitt aus den ¹³C-NMR Spektren der Verbindungen **82** und **83**.

3.5 Darstellung von Diazirin-funktionalisierten Di- und Triclustern

3.5.1 Darstellung von *Tris*-{2-[3'-(6"-desoxy-6"--(2'''-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosyl)thioureido]ethyl}amin (**87**) und *Tris*-{2-[3'-(1"-6"-didesoxy-1"--(2'''-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranos-6"-yl)thioureido]ethyl}amin (**89**)



Zweifach Isothiocyanato-funktionalisierte Mannoside sollten sich nun auch für die Synthese von Glyoclustern mit Diazirin-Label nutzen lassen. In diesem Sinne wurde das Mannose-Derivat **82** mit Tris-(2-aminoethyl)amin **84** umgesetzt (Schema 38).

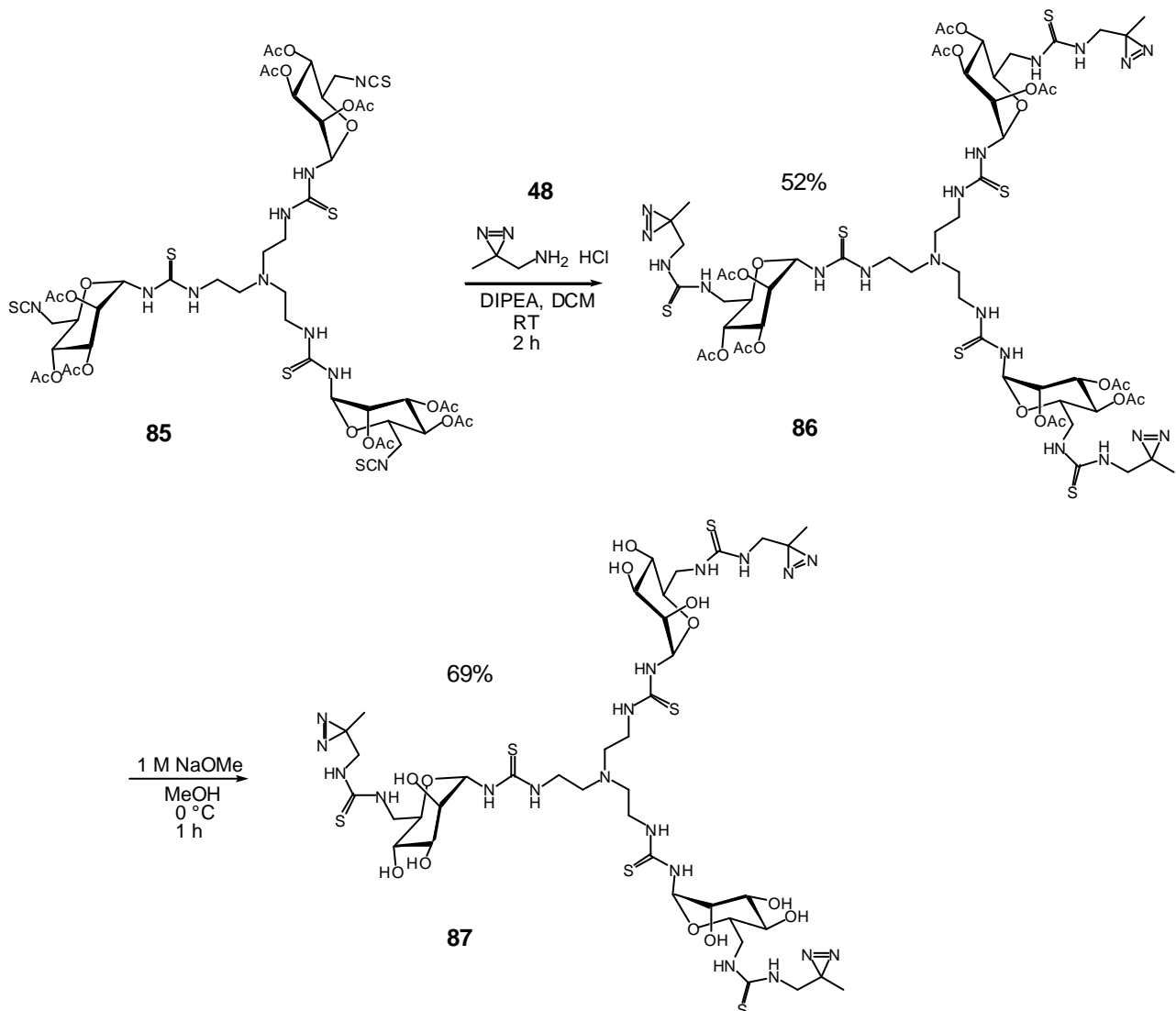


Schema 38: Selektiv verbrückter Thioharnstofftricluster **85**.

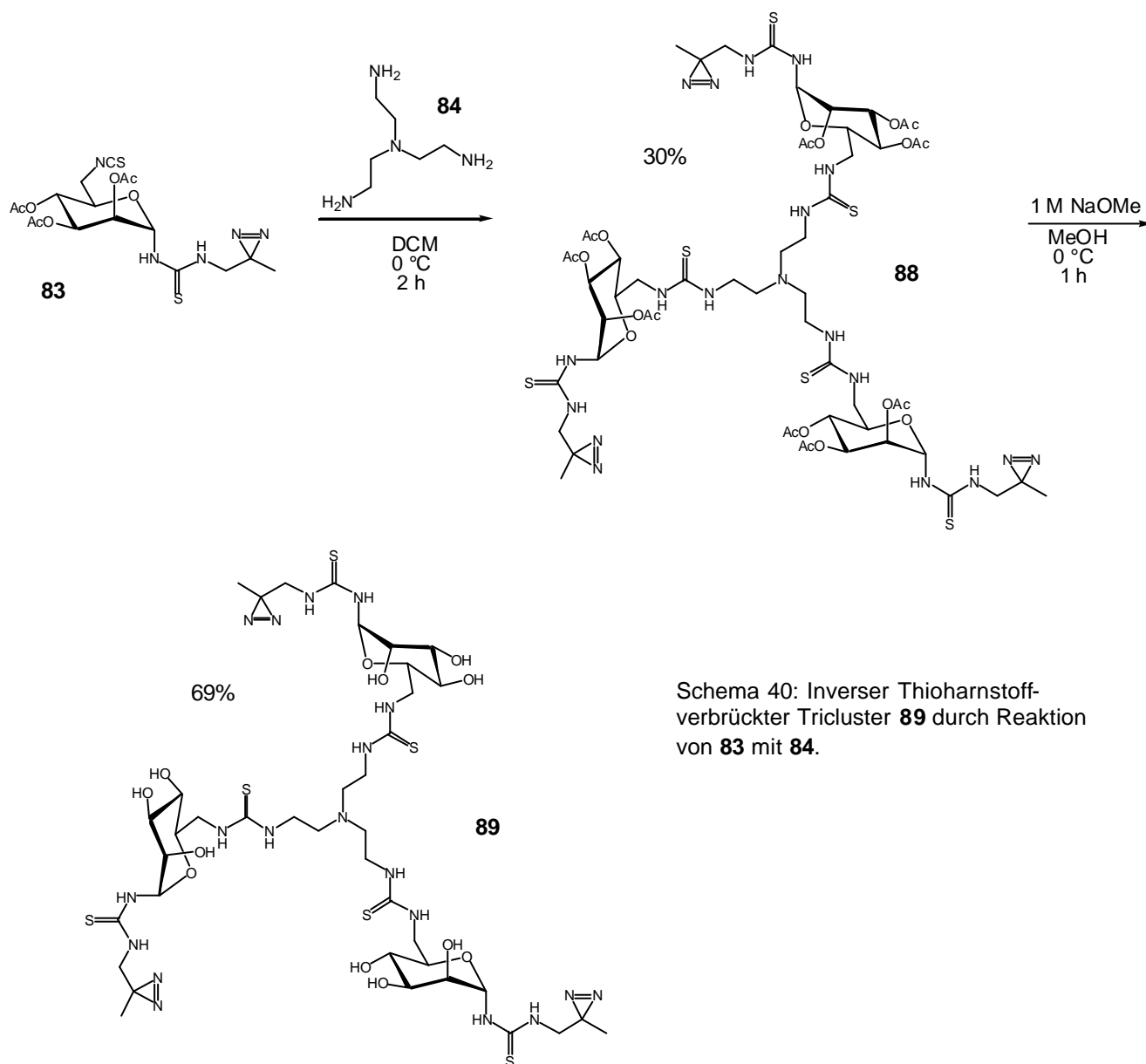
Die Ausbeute an dem gewünschten Produkt **85** war dabei stark temperaturabhängig. Wenn die Reaktion unter Eiskühlung durchgeführt wurde, wurden Ausbeuten bis zu 70% erreicht. Die anschließende Umsetzung der 6-Isothiocyanatogruppen mit dem Diazirin-Linker **48** lieferte das dreifach diazirinierte Produkt **86** in moderater Ausbeute (Schema 39), da die Reinigung sehr aufwändig und schwierig zu bewerkstelligen war. Anders als üblich ist in diesem Fall das Produkt unpolarer als das Edukt. Dabei scheint der unpolare Diazirin-Spacer die Umwandlung der weniger polaren Isothiocyanatogruppe in die polarere Thioharnstoffgruppe überzukompensieren. Wird nun das Mannosid **83** mit **84** zur Reaktion gebracht, entsteht der zu **86** komplementäre Cluster **88** (Schema 40), allerdings in schlechter Ausbeute. Interessanterweise haben **86** und **88** den gleichen R_f -Wert. Da die Reaktionen jeweils nur einmal durchgeführt wurden, lässt sich die Ausbeute allerdings möglicherweise noch durch Variationen der Reaktionsführung erhöhen. Nach der Zemplén-Entschützung⁵⁴ zeigten sich im $^1\text{H-NMR}$ von **87** drei Signale für die Methylgruppe des Diazirin-Linkers, die allerdings nur mit einer Differenz von 0.01 ppm auseinanderliegen, sodass die Struktur des Linkers unverändert sein dürfte. Im $^{13}\text{C-NMR}$ konnten zwei Signale für die Methylgruppe identifiziert werden. Eine Erklärung könnten intra- oder intermolekulare Wasserstoffbrücken sein oder es

ist bei Entschützung erneut zu einer Anomerisierung gekommen, obwohl diese bei 0 °C durchgeführt wurde. Bei **89** war dieses Phänomen sehr viel schwächer ausgeprägt. So konnte eine Verbreiterung des Signals der Methylgruppe beobachtet werden.

Die MALDI-Analytik der Glycocluster **86** und **88** ergab keine Ergebnisse. Bei ES/MS-Messungen gelang die Identifikation des Produkt-Peaks, allerdings zeigten sich auch dort eine Vielzahl an Zersetzungsprodukten. Die Spektren der entschützten Verbindungen **87** und **89** waren sauberer.

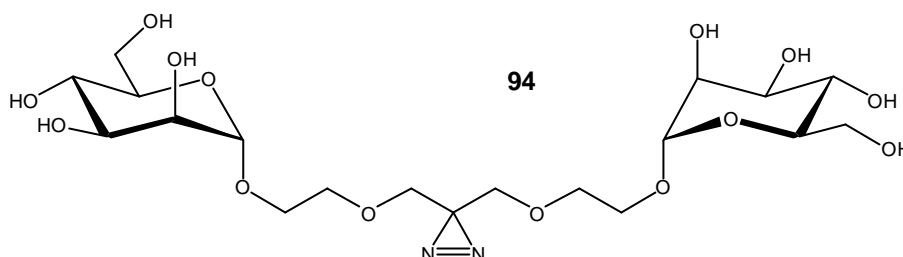


Schema 39: Erneute Thioharnstoffverbrückung und Entschützung zum Tricluster **87**.

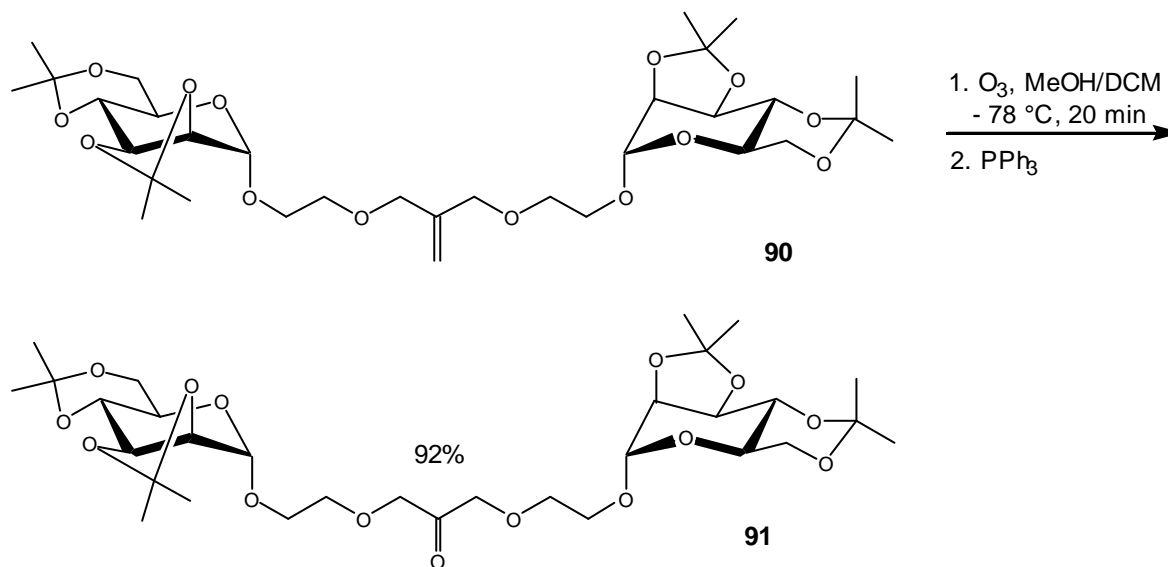


Schema 40: Inverser Thioharnstoffverbrückter Tricluster **89** durch Reaktion von **83** mit **84**.

3.5.2 Darstellung von 1,9-Di-(2',3':4',6'-diisopropyliden- α -D-mannopyranosyloxy)-3,7-dioxa-5-oxo-nonan (**94**)

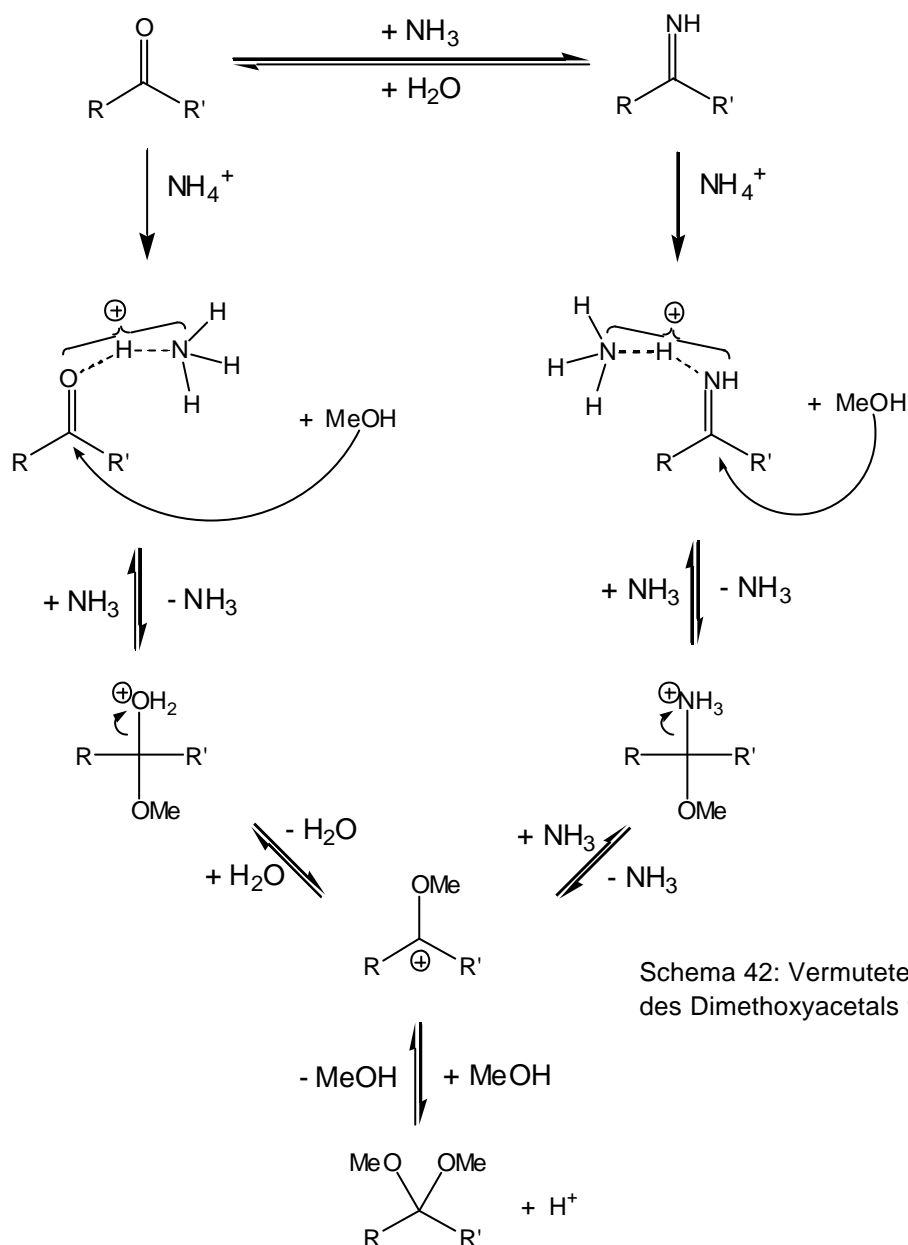


Das divalente Mannose-Derivat **90**⁷⁷ bietet ebenfalls eine interessante Möglichkeit zur Einführung einer Diazirinegruppe, die hier getestet wurde. Zunächst wurde **90** ozonisiert, um das Keton **91** als Ausgangsverbindung für die Diazirin-Synthese zu erhalten³³. Die reduktive Aufarbeitung musste mit Triphenylphosphin vorgenommen werden, da aus ungeklärten Gründen die Reduktion mit verschiedenen Chargen an Dimethylsulfid anscheinend zur partiellen Entschützung der Verbindung führte. Die anfallende Trennung des Triphenylphosphinoxids erhöhte dann allerdings unweigerlich den Aufwand, der zur Aufreinigung von **91** nötig war (Schema 41).



Schema 41: Darstellung des Ketons **91** durch Ozonisierung.

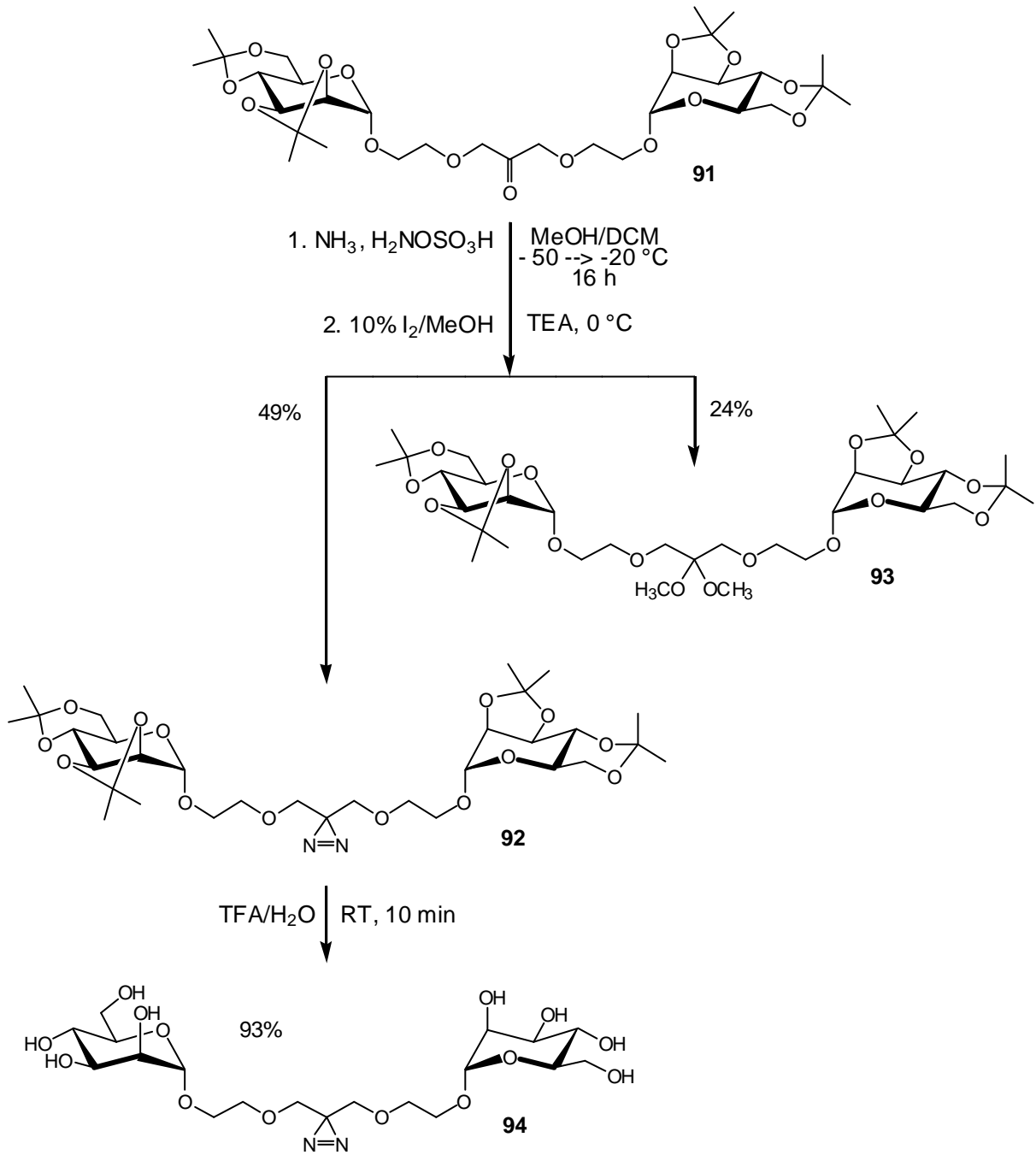
Die anschließende Diazirinsynthese⁴⁰ offenbarte ein interessantes Nebenprodukt, das Acetal **93**, das mit immerhin 24%iger Ausbeute gebildet wurde, was unter den basischen Reaktionsbedingungen zunächst verblüfft. Eine Erklärung für die Bildung dieses Acetals könnte sein, dass nach Zugabe der Hydroxylamin-O-sulfonsäure das aus dem Ammoniak entstehende Ammonium-Ion als saurer Katalysator fungiert



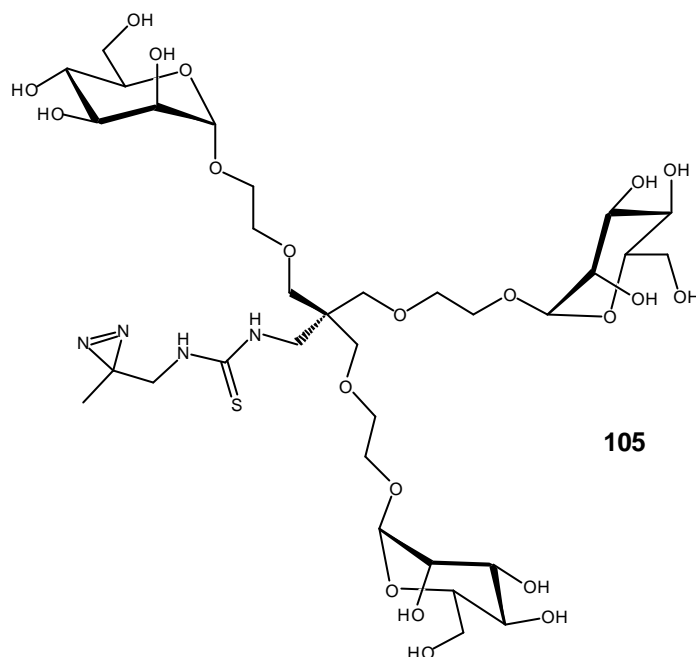
Schema 42: Vermuteter Mechanismus der Bildung des Dimethoxyacetals **93**.

(Schema 42). Entsprechend müsste sich die Bildung des Nebenproduktes vollständig vermeiden lassen, wenn auf Methanol als Lösungsmittel verzichtet oder das Natriumsalz der Hydroxylamin-O-sulfonsäure eingesetzt wird.

Das gewünschte Diazirin **92** konnte mit 49% Ausbeute und damit im erwarteten Ausbeuterahmen gewonnen werden (Schema 43). Die nachfolgende saure Entschützung⁴⁹ lieferte mit hervorragender Ausbeute die Zielverbindung **94**. Dabei war darauf zu achten, dass praktisch sofort nach Beginn der Reaktion mit der Entfernung der TFA im Ölpumpenvakuum begonnen wurde, und dass die Temperatur des Reaktionsgemisches dabei Raumtemperatur nicht überschritt.

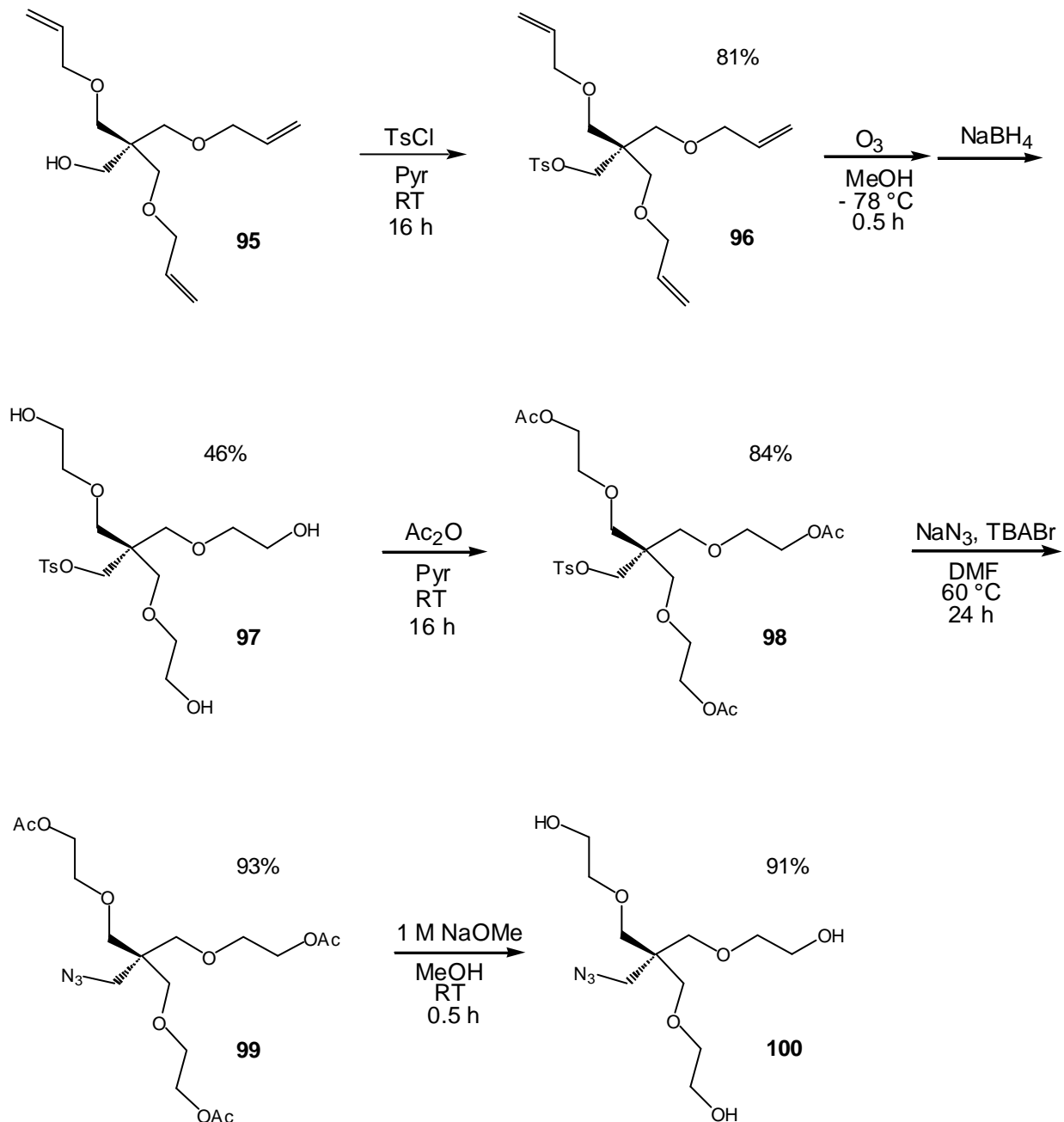
Schema 43: Bildung des Diazirins **94** und Nebenprodukts **93** bei der Diazirin-Synthese.

3.5.3 *N*-{3-[2'-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-ethoxymethyl]-propyl}-*N'*-(2''-azipropyl)-thioharnstoff (**105**)



Die höheren Assoziationskonstanten für trivalente Clustermannoside bei Inhibitionsexperimenten mit dem FimH-Adhäsion und die damit verbundene Möglichkeit, weitere Bindungsstellen auf FimH zu finden, führten zur Überlegung, die Diazirinegruppe auch in einen solchen Cluster einzuführen. Die Synthese erwies sich allerdings als recht aufwändig, sodass nur ein Zielmolekül **105** verwirklicht werden konnte. Der Cluster **105** hat gegenüber den oben beschriebenen Triclustern **87** und **89** den Vorteil, dass es nur eine Diazirinegruppe enthält und damit für die Bestrahlungsexperimente besser geeignet ist. Mehrere Diazirinegruppen pro Molekül führten zu einer permutativ höheren Anzahl an Produkten, was eine Analyse von möglichen FimH-Cluster-Addukten erschweren würde.

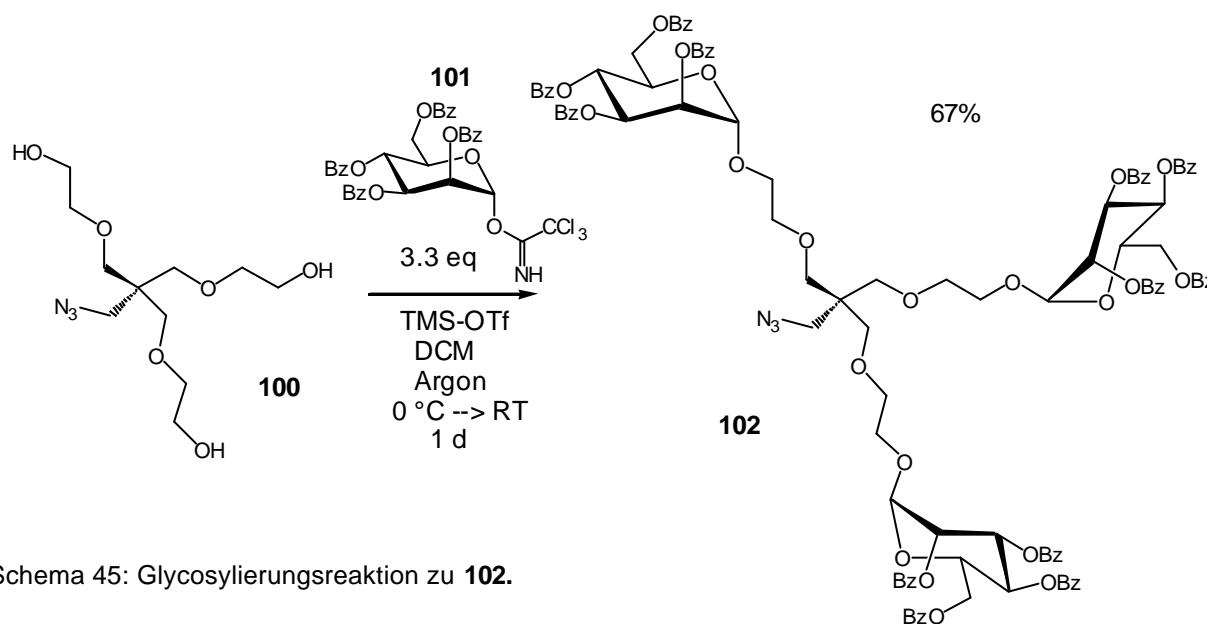
Da der fertige Diazirin-Linker **48** zur Verfügung stand, konnte auch hier wieder eine Thioharnstoffverbrückung vorgesehen werden, um **48** an das Core-Molekül zu binden. Die übrigen drei Positionen des vierarmigen Core-Moleküls sollten über einen Spacer mit Mannose-Einheiten besetzt werden. Als Ausgangsverbindung wurde technisches Tri-*O*-allyl-pentaerythrit **95** ausgewählt, welches durch säulenchromatographische Trennung von den Verunreinigungen Di-*O*-allyl-pentaerythrit und Tetra-*O*-allyl-pentaerythrit getrennt werden konnte. Der erste Schritt war die Umsetzung der freien Hydroxylgruppe zum Tosylat **96** (Schema 44). Im nächsten Schritt wurden die Allylgruppen mittels Ozonolyse und anschließender



Schema 44: Darstellung des Core-Moleküls **100**.

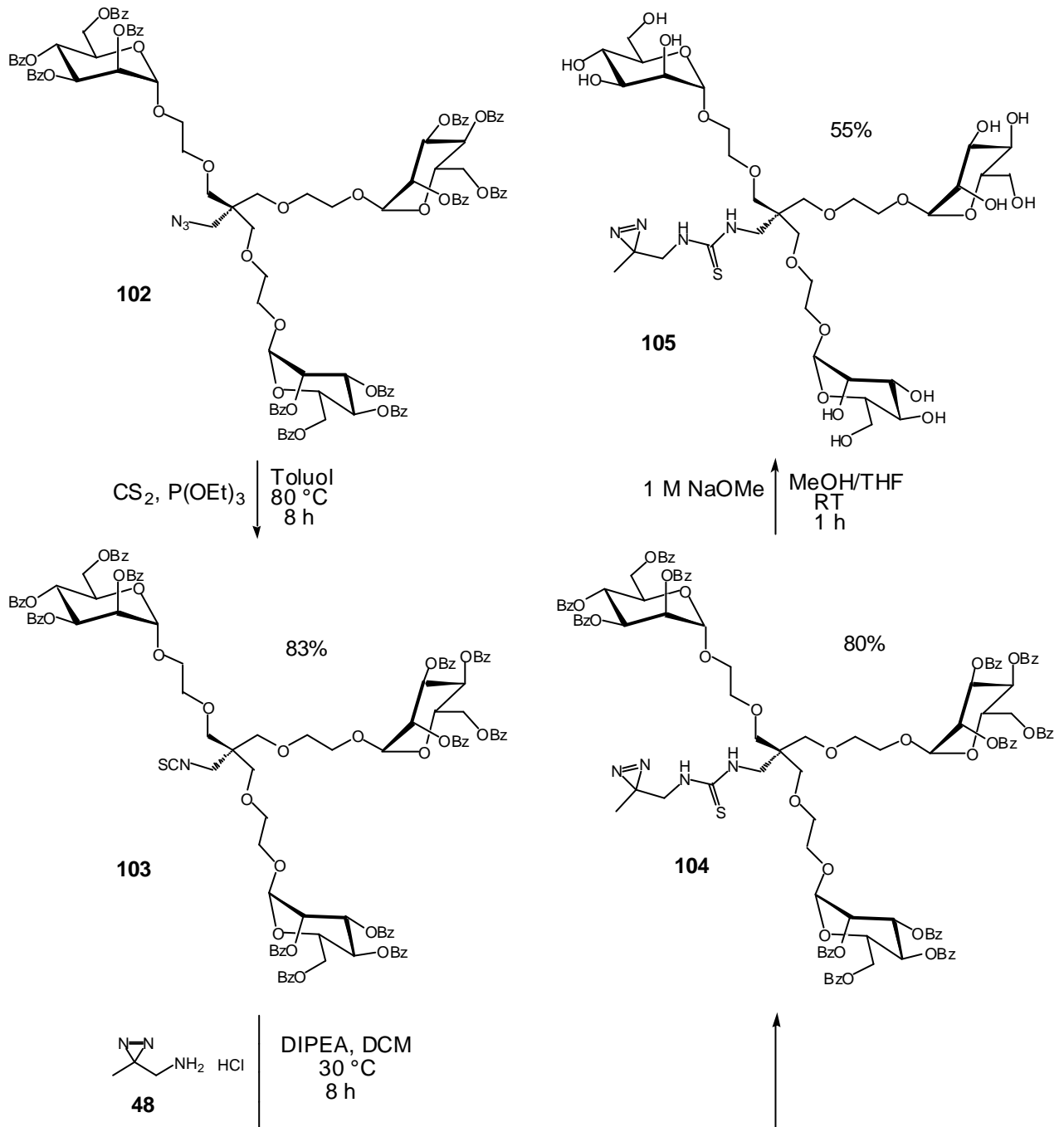
Reduktion mit Natriumborhydrid³⁴ zu Hydroxyethylgruppen umgesetzt, wobei die Ausbeute von **97** eher unerwartet niedrig ausfiel. Alternativ wäre hier auch eine Hydroborierung zum Propyl- anstelle des Ethyl-Spacers möglich gewesen, sodass die Spacerkette etwas flexibler und die Zucker etwas mehr Raum zur Verfügung gehabt hätten. Prinzipiell könnte nun die Umwandlung der Tosylgruppe zum Azid erfolgen, nur erwies es sich in Hinblick auf die Aufarbeitung als einfacher, wenn vorher die Hydroxylgruppen acetyliert wurden (Verb. **98**). Die folgende Substitutionsreaktion am Neopentylrückgrat zum Azid **99** erwies sich erwartungsgemäß als schwierig, gelang jedoch nach 6 d bei 85 °C nahezu

quantitativ. Möglicherweise ließe sich die Reaktion unter milderen Bedingungen mit Trimethylsilylazid durchführen. Nach der Zemplén-Entschützung⁵⁴ stand nun die Verbindung **100** zum Glycosylieren zur Verfügung. Die in der Literatur verwendeten Verfahren zur Darstellung ähnlicher Moleküle ging von einem bis zu zehnfachen Donorüberschuss je Hydroxylgruppe aus, was dazu führte, dass die Aufreinigung ausgesprochen arbeitsaufwändig war⁷⁸. Hier wurde ein nur minimaler Überschuss je



Schema 45: Glycosylierungsreaktion zu **102**.

Hydroxylgruppe eingesetzt, sodass insgesamt nur 3.3 eq. Glycosyldonor pro Core-Molekül verwendet wurden. Als Donor wurde benzoyliertes Mannosyltrichloroacetimidat **101** verwendet⁷⁹. Der benzoylischen Form wurde aufgrund ihrer geringeren Neigung zur Orthoesterbildung bei Glycosylierungsreaktionen der Vorzug gegenüber Acetylschutzgruppen gegeben. Befürchtungen, es könnten sterische Hinderungen die Reaktion blockieren, bewahrheiteten sich nicht. Der Katalysator TMS-OTf wurde nicht in verdünnter, sondern in konzentrierter Form zur Reaktionslösung gegeben. Zwar war die säulenchromatographische Reinigung des Produktes **102** nicht einfach, sie ließ sich jedoch in einem Reinigungsschritt bewerkstelligen, wobei die Ausbeute ansprechend blieb (Schema 45). Als nächstes musste nun das Azid auf die bewährte Weise zum Isothiocyanat **103** umgesetzt werden⁷², was auch in diesem sterisch etwas anspruchsvolleren Molekül mit sehr guter Ausbeute gelang (Schema 46).



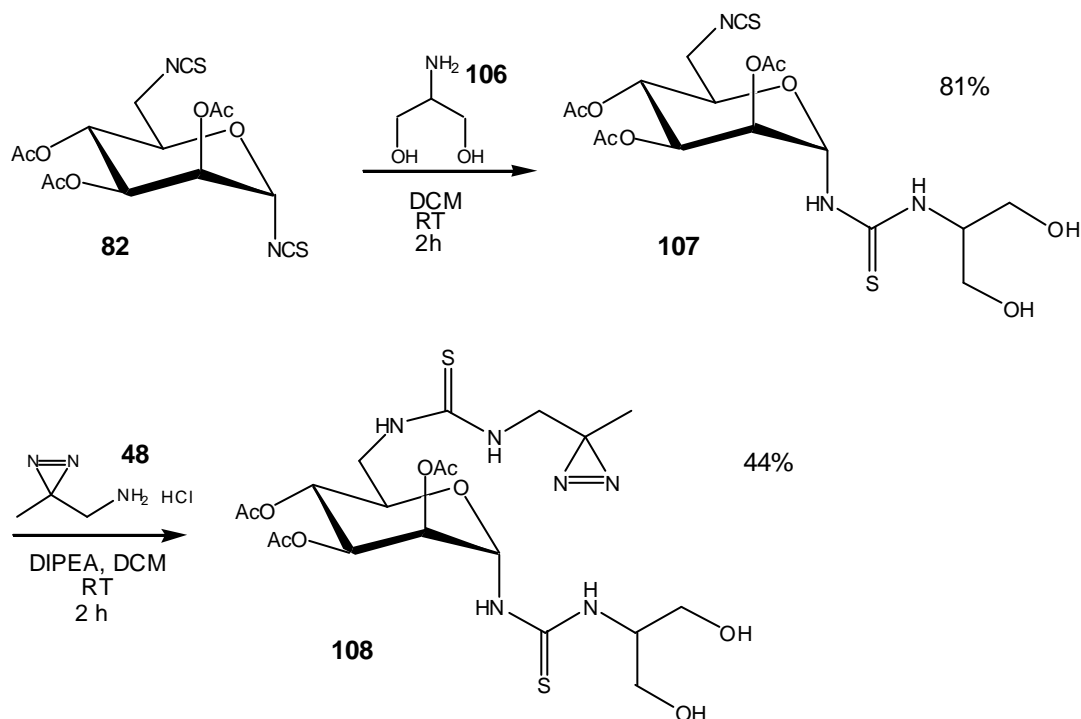
Schema 46: Synthesesequenz zum Diazirin-funktionalisierten Tricluster **105**.

Einzig die NMR-Analytik erwies sich nun als recht schwierig. Das Isothiocyanato-Kohlenstoffsignal war nicht sichtbar und nur durch MALDI-Analytik und IR-Spektroskopie konnte ihre Existenz nachgewiesen werden. Die Verknüpfung von **103** mit dem Diazirin-Linker **48** verlief mit hervorragender Ausbeute zum Thioharnstoff **104**. Thioharnstoffe sind meistens noch viel schlechter in NMR-Spektren zu erkennen als Isothiocyanate, und so war in diesem Fall auch nur die Methylgruppe des Diazirin-Linkers im ^{13}C -NMR zu erkennen. Aus den MALDI-Daten und der Integration der ^1H -Signale ließ sich auf eine erfolgreiche Reaktion schließen. Die abschließende

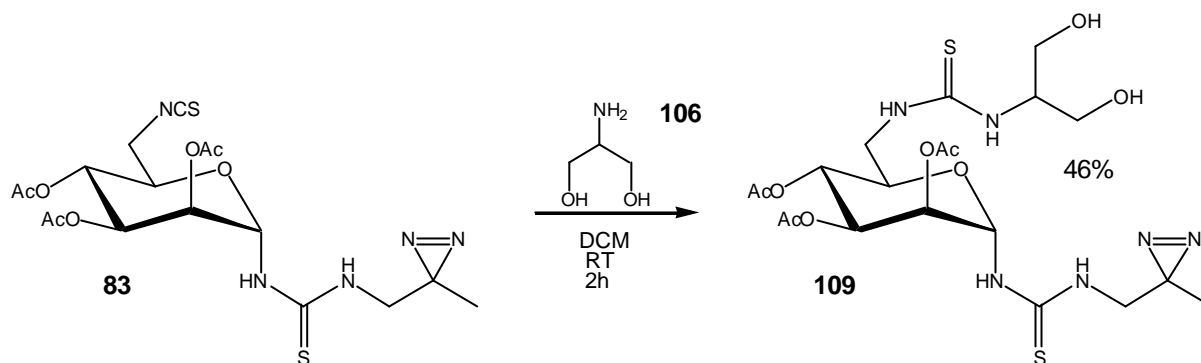
Debenzoylierung zu **105** unter Zemplén-Bedingungen erforderte THF/Methanol als Lösungsmittel, da das Edukt nicht in Methanol löslich war. Gleichzeitig war allerdings auch das Produkt nicht in THF löslich. Bemerkenswerterweise liefen die Debenzoylierungen auch in diesem Lösungsmittelgemisch immer recht schnell ab wie durch Verfolgung der Reaktion durch MALDI-Analytik festgestellt werden konnte. Nichtsdestotrotz war die Ausbeute enttäuschend. Möglicherweise gab es Probleme bei der Trennung des entschützten Produkts von den Benzoesäureestern auf der RP-Säule.

3.5.4 Versuche zur Darstellung von Serinol-zentrierten Clustern

Mit Hinblick auf das Konzept zur Photoaffinitätsmarkierung von FimH, könnte es wichtig sein, die Diazirinegruppe in größere Nähe zu den Zuckereinheiten zu bringen, als dies bei dem weiter oben beschriebenen Tricluster **105** der Fall ist. Dazu eignete sich Verbindung **82** als ein Mannose-Derivat, das leicht mit einem Core-Molekül verbunden werden kann und zudem noch eine weitere leicht zugängliche Verknüpfungsmöglichkeit hat.

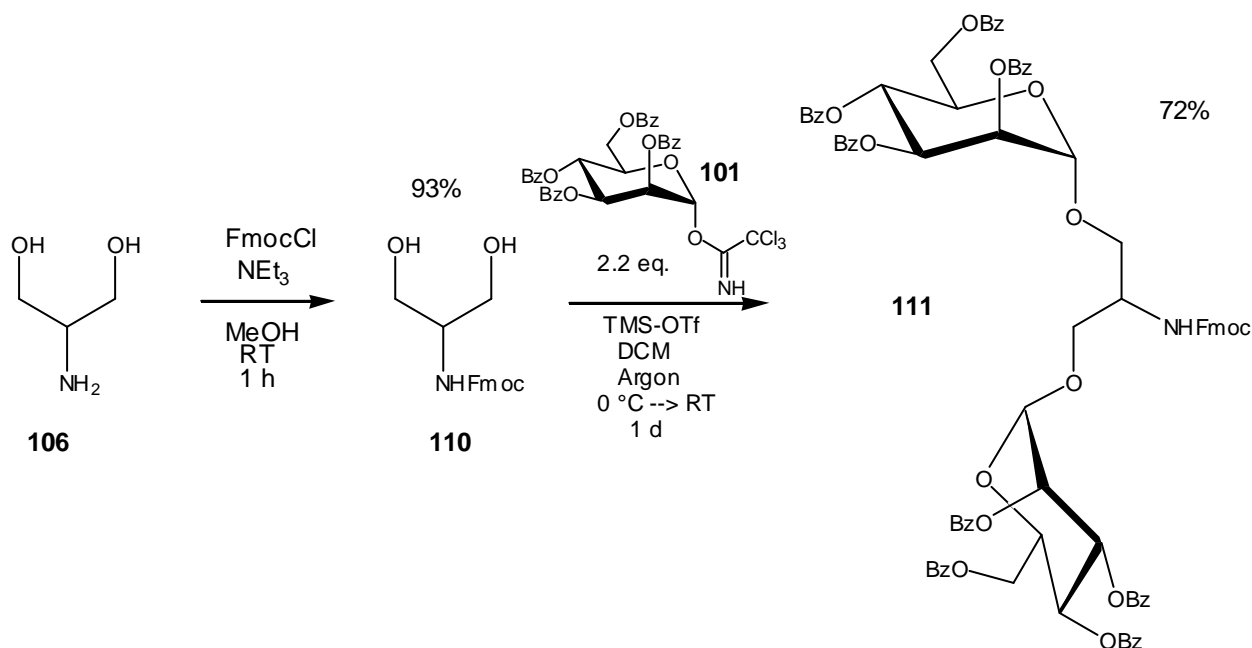


Schema 47: Selektive Thioharnstoffverbrückung von **82** mit Serinol **106** zu **108**.



Schema 48: Thioharnstoffverbrückung von **83** und **106** zu **109**.

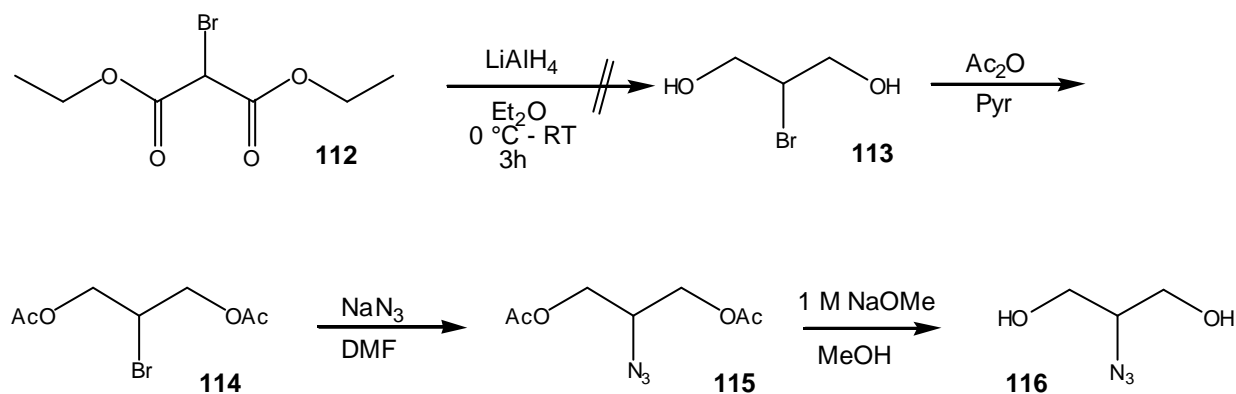
Als Core-Molekül wurde diesmal Serinol gewählt. Der erste Syntheseversuch verknüpfte als erstes die Aminofunktion mit der Isothiocyanatogruppe in der 1-Position von **82**, was wieder mit hohen Ausbeuten gelang (Schema 47). Der nächste Schritt war die Umsetzung von **107** mit dem Diazirin-Linker **48** zu **108**, welche die eher schlechte Ausbeute von 44% ergab. Das entsprechend inverse Molekül **109** wurde aus **83** und Serinol **106** in ähnlicher Ausbeute dargestellt (Schema 48). Nun sollte sich jeweils mit den Diolen **107** und **109** ein Glycosylierungsschritt anschließen, was bedauerlicherweise gar nicht gelang. Wahrscheinlich reichte die H-Donor-Stärke der Thioharnstoffgruppen aus, das TMS-OTf zu deaktivieren. So wurde nun zuerst die Aminogruppe des Serinols mit Fmoc-Cl zu **110** geschützt⁸⁰ und das geschützte Amin anschließend mit sehr guter Ausbeute mit dem bewährten Mannosyldonor **101** (Kapitel 3.5.3) zu **111** glycosyliert (Schema



Schema 49: Synthesesequenz zur Glycosylierung von Serinol zu Verbindung **111**.

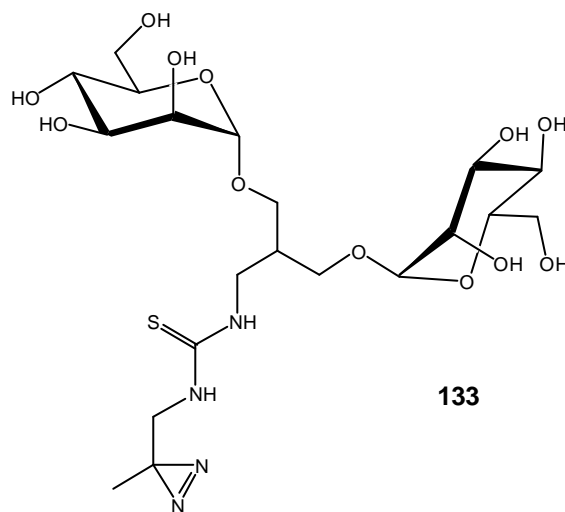
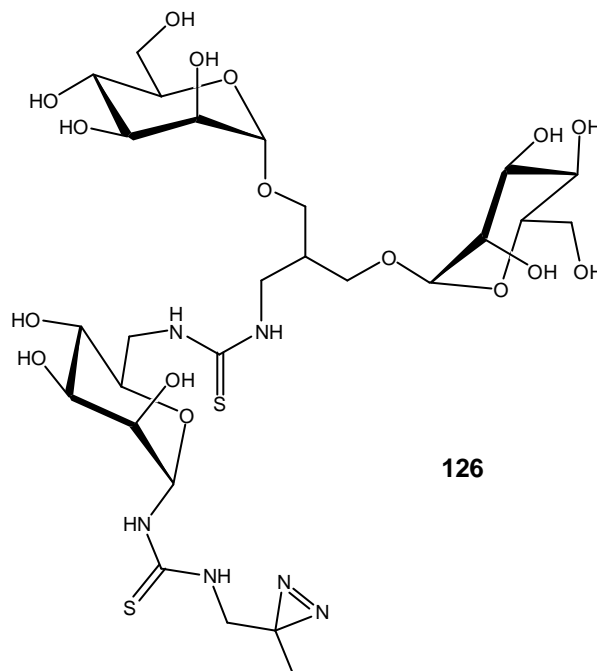
49). Da ein freies Amin immer die Gefahr einer O→N-Acetylgruppenwanderung birgt, sollten die Benzoylschutzgruppen vor der Fmoc-Schutzgruppe entfernt werden. Das gelang jedoch nicht, da unter Zemplén-Bedingungen auch die Fmoc-Schutzgruppe entfernt wurde. Auch Abfangreaktionen mit **82** führten nicht zu brauchbaren Produkten, sodass an dieser Stelle die Syntheseroute mit Serinol als Core-Molekül aufgegeben wurde.

Da die Entschützung desamins als der problematische Schritt erschien, wurde versucht, 2-Azido-1,3-propandiol **116** als Serinol-Analogen darzustellen, was sowohl die Entschützung des Zuckers als auch die zusätzliche Darstellung eines Isothiocyanates möglich machen sollte (Schema 50). Als Ausgangsmaterial wurde Bromdiethylmalonat **112** verwendet, das nach der Reduktion (Verbindung **113**) und Acetylierung (Verbindung **114**) durch nucleophile Substitution des Bromids durch Azid in das Produkt **116** überführt werden sollte. Die Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid lieferte allerdings hauptsächlich Diethylmalonat, sodass dieser Syntheseweg ebenfalls nicht weiter verfolgt wurde.

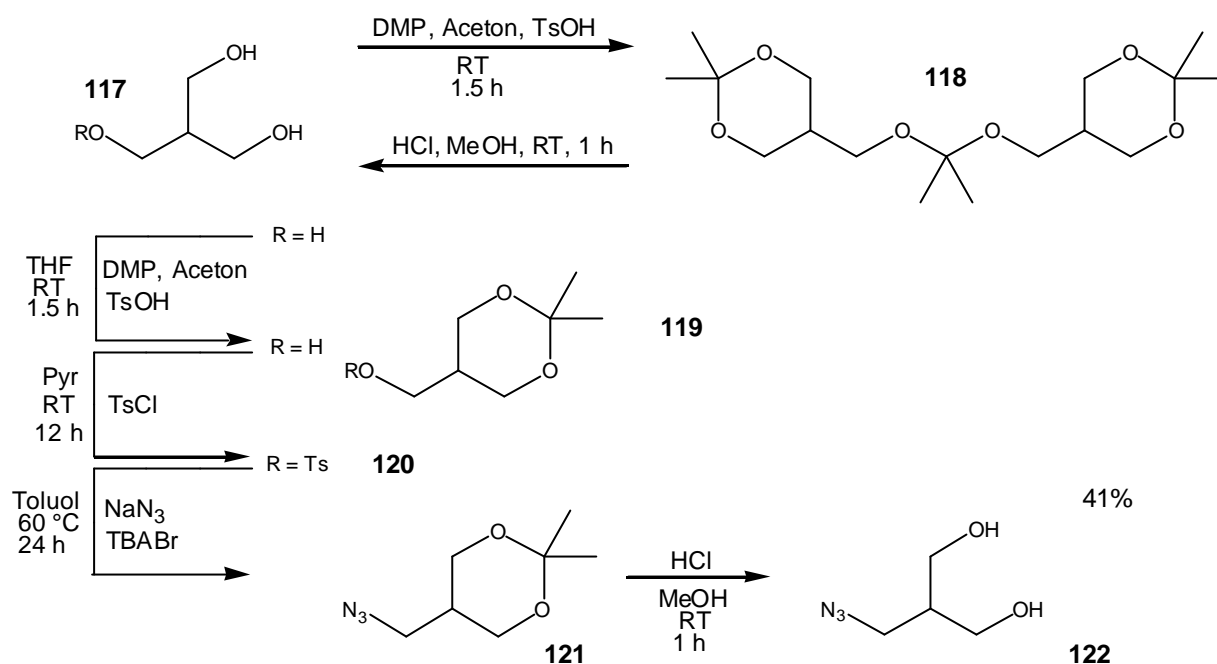


Schema 50: Geplante Darstellung des Azid-modifizierten Serinol-analogen Core-Moleküls **116**.

3.5.5 Darstellung von 1,3-Di-(α -D-mannopyranosyloxy)-2-(2'-azipropylthioureido-6''-desoxy-6''-thioureidomethyl- α -D-mannopyranos-6''-yl)propan (**126**) und [2-(2'-Azipropylthioureido)-1,3-Di-(α -D-mannopyranosyloxy)]propan (**133**)



Als eine Alternative zu Serinol wurde Hydroxymethyl-1,3-propandiol **117** als Core-Molekül ausgewählt. Die Umfunktionalisierung einer Hydroxylgruppe sollte sich durch selektives Schützen der beiden anderen bewerkstelligen lassen. Hierzu wurde die Schützung mit 2,2-Dimethoxypropan in Aceton gewählt⁴⁴, allerdings nicht mit allzu großem Erfolg, da sich hauptsächlich nicht das gewünschte **119** bildete, sondern die verbrückte Verbindung **118** (Schema 51). Die Reaktionsbedingungen wurden daraufhin so angepasst, dass THF als Lösungsmittel verwendet wurde und nur noch jeweils 1.5 eq. 2,2-Dimethoxypropan und Aceton in der Lösung vorhanden waren.



Schema 51: Darstellung von **122** und Auftreten des verbrückten Dimers **118** bei der Isopropylidinierung.

Hierbei ließ sich nun quantitativ das gewünschte monomere **119** erhalten, das nun zuerst tosyliert (Verb. **120**) und anschließend ohne größere Aufreinigung zum Azid **121** umgesetzt wurde. Die Einführung der Azidogruppe ermöglichte, die folgenden Reaktionen wahlweise mit einem Amino- oder Isothiocyanato-funktionalisierten Core-Molekül durchzuführen. Zuvor musste **121** allerdings entschützt und anschließend glycosyliert werden. Ersteres gelang durch einfaches Rühren in methanolischer konz. Salzsäure und anschließender Neutralisation⁴⁸ mit basischem Ionenaustauscher⁴⁸. Die entschützte Verbindung **122** konnte nun standardisiert glycosyliert werden, wobei trotz des geringen Äquivalentüberschusses des Donors für Glycosylierungsreaktionen recht ansehnliche Ausbeuten an **123** erzielt werden konnten. Wie sich im ¹H-NMR zeigte, ist die chemische Umgebung der beiden Zuckereinheiten nicht gleich. Im ¹³C-NMR war allerdings keine Aufspaltung zu erkennen. Die Abbildung 24 soll diesen Sachverhalt verdeutlichen. Eine Spiegelebene ist in Verb. **123** nicht vorhanden, da die beiden identischen Spacer-Mannosylreste Zu1 und Zu2 stereogene Zentren besitzen und somit durch Spiegelung nicht ineinander überführbar sind. Da es auch nur eine C₁-Drehachse in diesem Molekül gibt, sind beide Zucker nicht mehr identisch. Eine systematische Erklärung liefert die Literatur⁸¹. **123** konnte nun entschützt werden, was auch in guter Ausbeute zu **124** gelang. Diese Verbindung hatte keine erkennbaren Signalaufspaltung in den NMR-Spektren. Nun sollte das entschützte Azid zum Amin reduziert werden und entweder

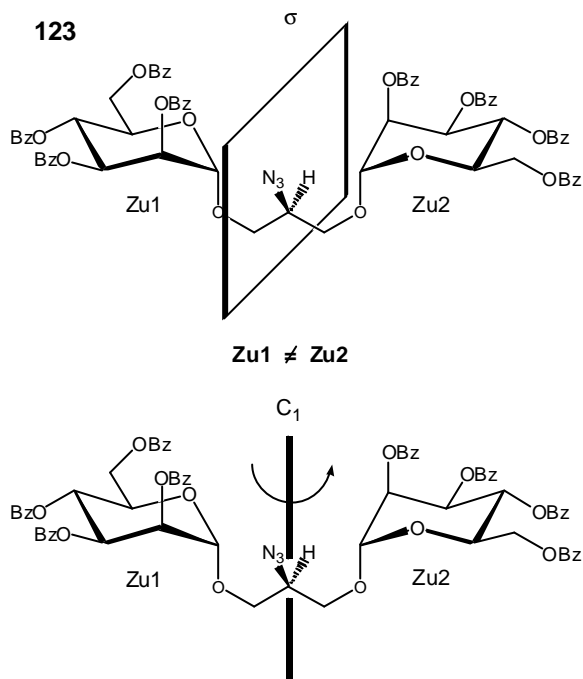
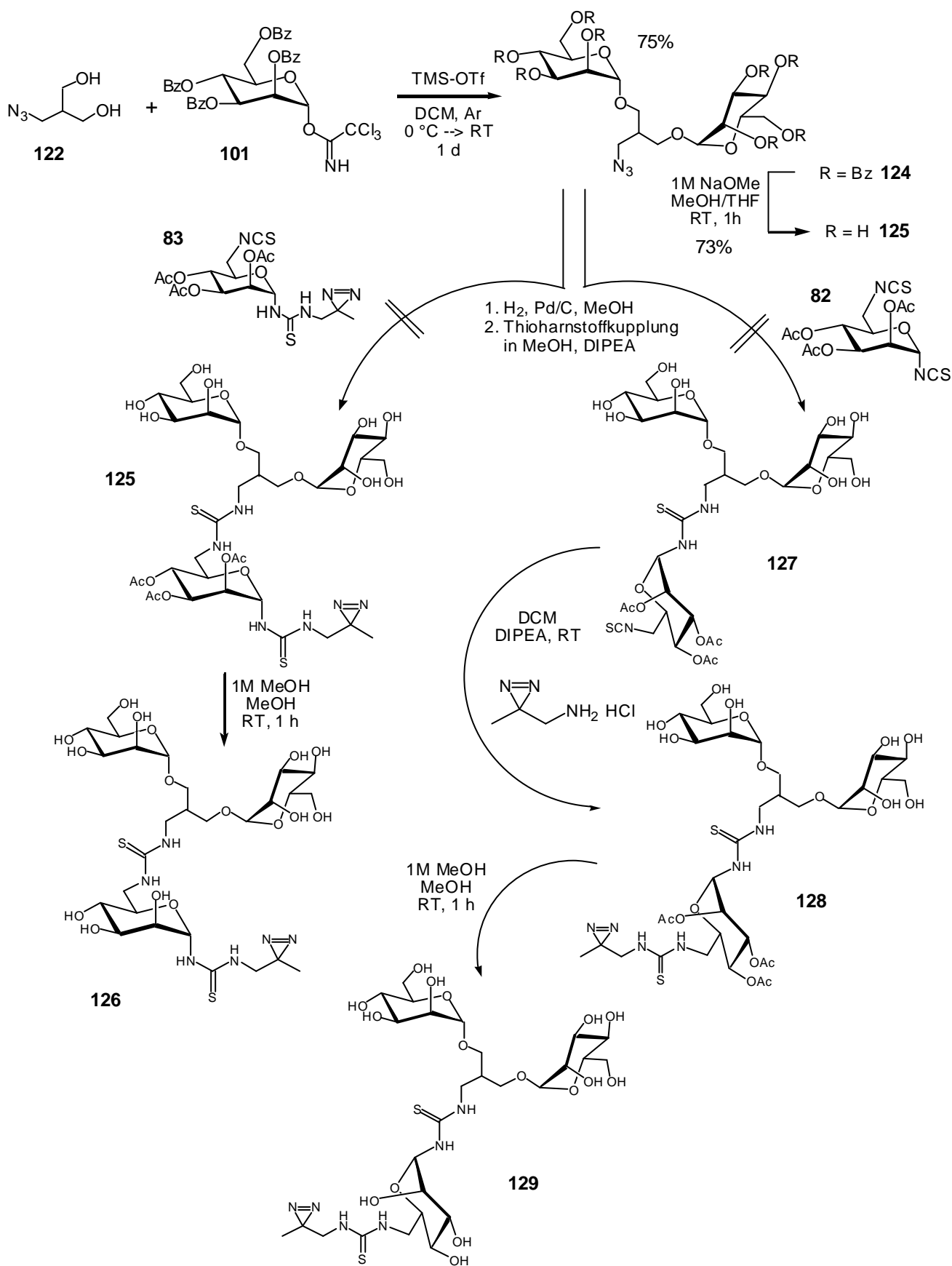


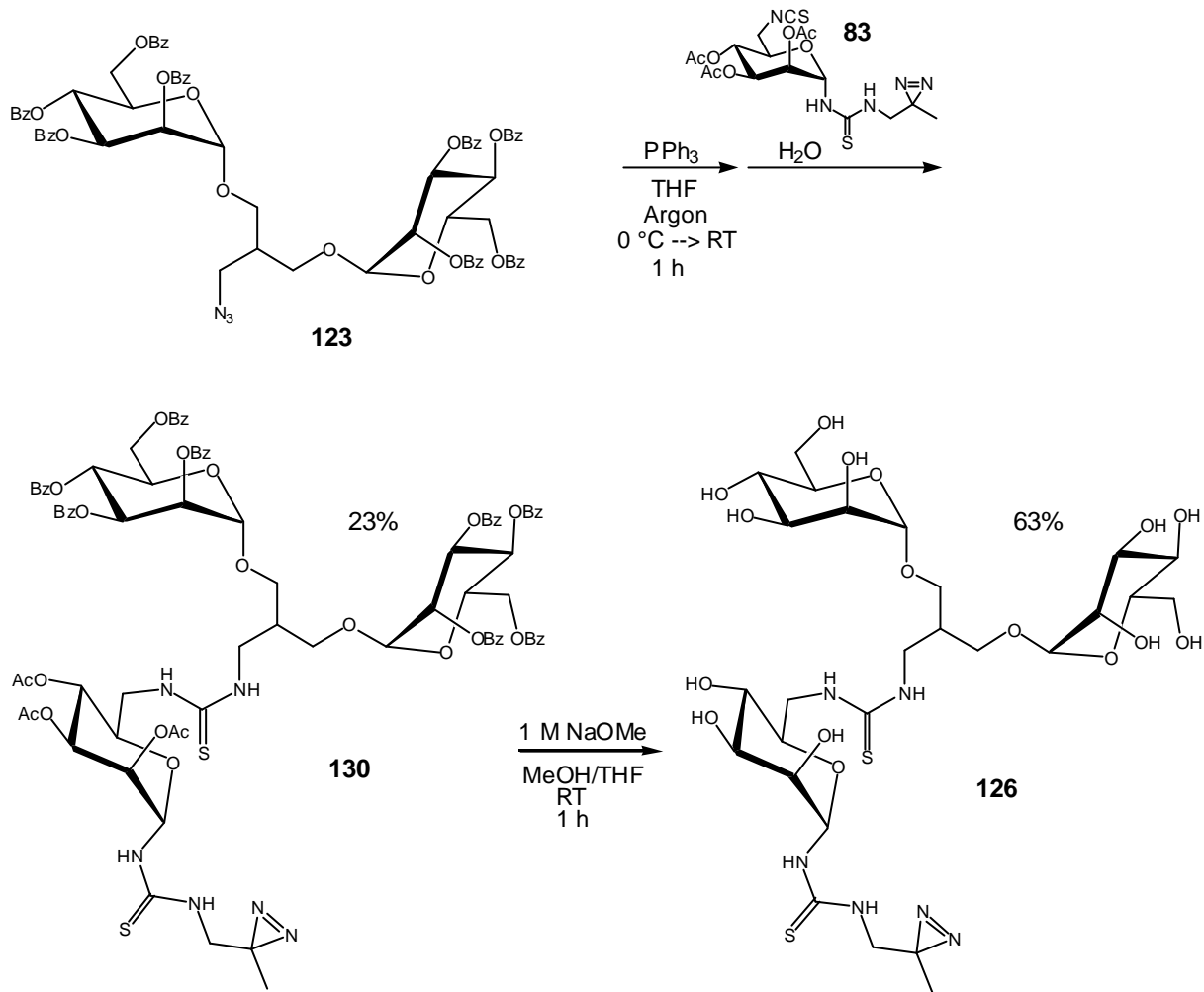
Abb. 24: Erklärung der Asymmetrie von **123**.

mit **83** zu **125** oder nacheinander mit dem Diisothiocyanat **82** und dem Diazirin-Linker **48** zu **128** umgesetzt werden. Die katalytische Hydrierung des Azids zum Amin gelang nur sehr schleppend und die *in situ*-Umsetzungen mit **82**, respektive **83** verliefen unter Bildung einer Vielzahl von Produkten aus denen die gewünschten Zielverbindungen nicht oder nur in für die MALDI-Analytik brauchbaren Mengen entstanden. Modifikationen der Reaktionsbedingungen wie langsames Zutropfen der Isothiocyanato-funktionalisierten Derivate, Kühlen oder Erwärmen der Reak-

tionslösung führten zu keiner Verbesserung (Schema 52).

Mit der letzten Charge von **123** wurde nun als letzte Möglichkeit zur Darstellung von **130** eine Staudinger-Reaktion durchgeführt⁸². Der Nachteil einer Staudinger-Reaktion liegt in der aufwändigen Abtrennung von entstandenem Triphenylphosphinoxid, insbesondere von Verbindungen, die ebenfalls aromatische Strukturen besitzen, weshalb diese Reaktion lediglich als letzte Alternative genutzt wurde. Das zunächst gebildete Phosphinimin wurde dann in Anwesenheit von **83** hydrolysiert. Die erste säulenchromatographische Aufreinigung musste dazu verwandt werden, nicht abreagiertes **83** vom Produkt **130** abzutrennen. Trotz des bei der dünnschichtchromatographischen Überprüfung deutlichen R_f-Wert-Unterschieds zwischen diesen beiden Fraktionen und dem Triphenylphosphinoxid war dieses nicht abzutrennen. Dies gelang erst mit einer zweiten säulenchromatographischen Trennung in einem anderen Laufmittelgemisch. Die Gesamtausbeute von 23% muss vor dem Hintergrund der zahlreichen vergeblichen Darstellungsansätze wohl als positiv angesehen werden. Das durch Zemplén-Entschützung erhaltene **126** wurde mittels HPLC von einigen weiteren Verunreinigungen, die wahrscheinlich noch aus der Staudinger-Reaktion mitgeschleppt wurden, getrennt, was die Ausbeute von 63% als zufriedenstellend erscheinen lässt.


 Schema 52: Versuche zur Darstellung von **126** und **129**.

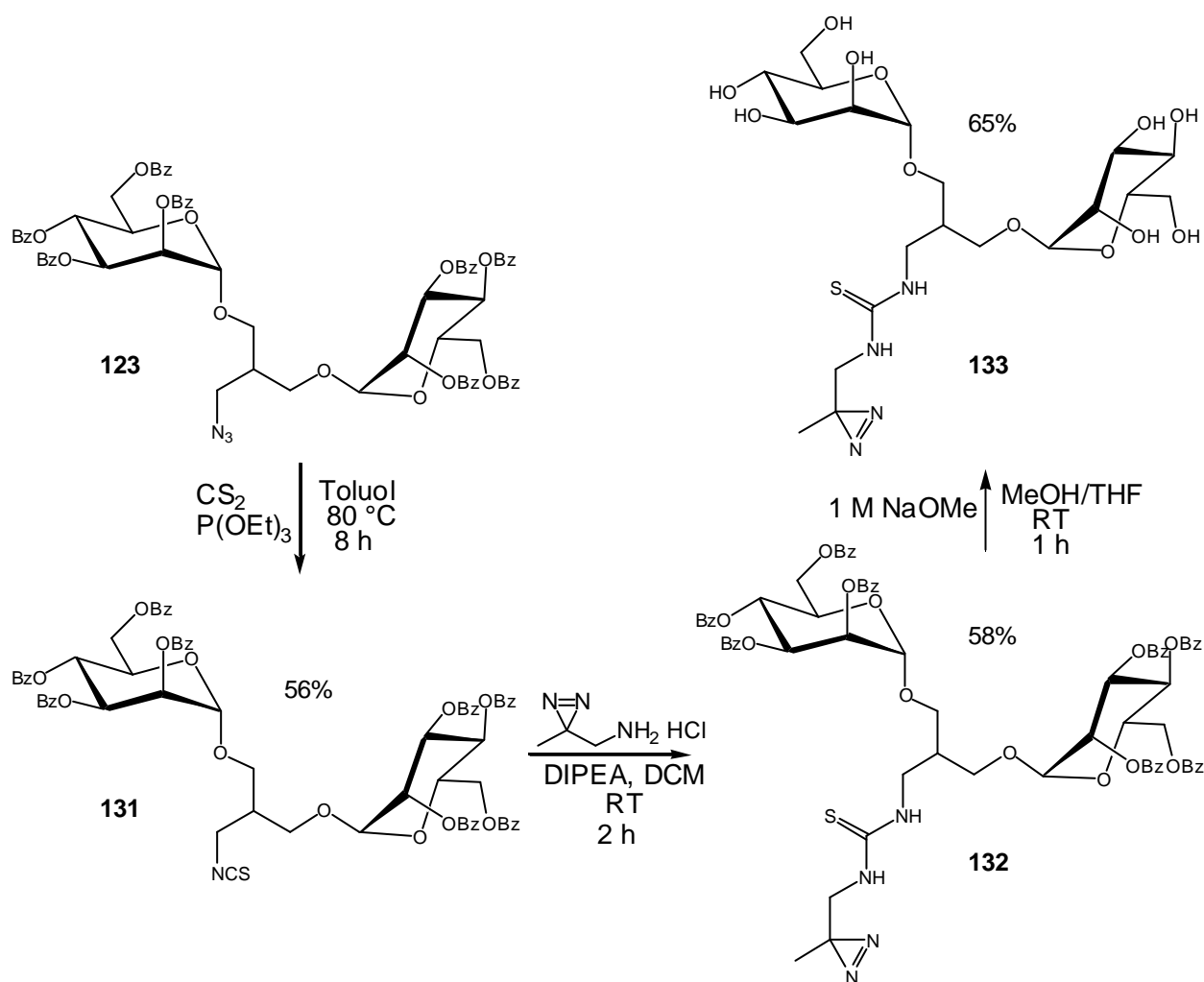


Schema 53: Darstellung des Diazirin-funktionalisierten Triclusters **126**.

Letztlich gelang aufgrund von Materialmangel nur noch diese Darstellung von **126** (Schema 53). Das alternatives **129** ließ sich nicht mehr verwirklichen.

Alternativ ließ sich ein Diazirin-gelabelter Dicluster aus **123** durch die bekannte Umsetzung der Azidgruppe zum Isothiocyanat **131** darstellen⁷², welches sich nur in 56%iger Ausbeute darstellen ließ (Schema 54). Diesmal waren Zersetzungsprodukte bei der dünnenschichtchromatographischen Überprüfung des Rohprodukts erkennbar. Die Standzeit der Reaktionslösung in Wasser war bei allen auf diese Weise dargestellten Isothiocyanaten gleich lang, sodass die Hydrolyseempfindlichkeit wohl strukturbedingt sein muss. Wieder ist eine deutliche Aufspaltung der Zucker-Signale im ^{13}C -NMR zu erkennen. Die folgende Umsetzung mit **48** verlief mit unbefriedigender Ausbeute zu **132**. Im Gegensatz zum Tricluster **104** war hier die Identifizierung des Produkts mittels NMR einfacher, da hier deutlich der Diazirin-Linker zu erkennen war. In diesem Fall ist auch das nominale Signalverhältnis Zucker

zu Linker mit 2 : 1 für die Interpretation des Spektrums günstiger. Auch in diesem Fall zeigten sich die Aufspaltungen der Signale für die beiden Zucker im NMR. Nach der Zemplén-Entschützung zu **133** war keine Signalaufspaltung erkennbar – wie bei **126** – und es gab für die Zucker nur noch einen Signalsatz im ^{13}C -NMR. Zu den Signalen im ^1H -NMR lassen sich keine eindeutigen Aussagen machen, da alle relevanten Signale zu einem Multipllett von 4.0 - 3.4 ppm zusammenfallen. Somit scheint es so zu sein, dass die Zucker chemisch unterschiedlicher werden, wenn sie Benzoylschutzgruppen tragen. Ob dies auch bei anderen Schutzgruppen der Fall ist, wäre Gegenstand weiterer Untersuchungen.

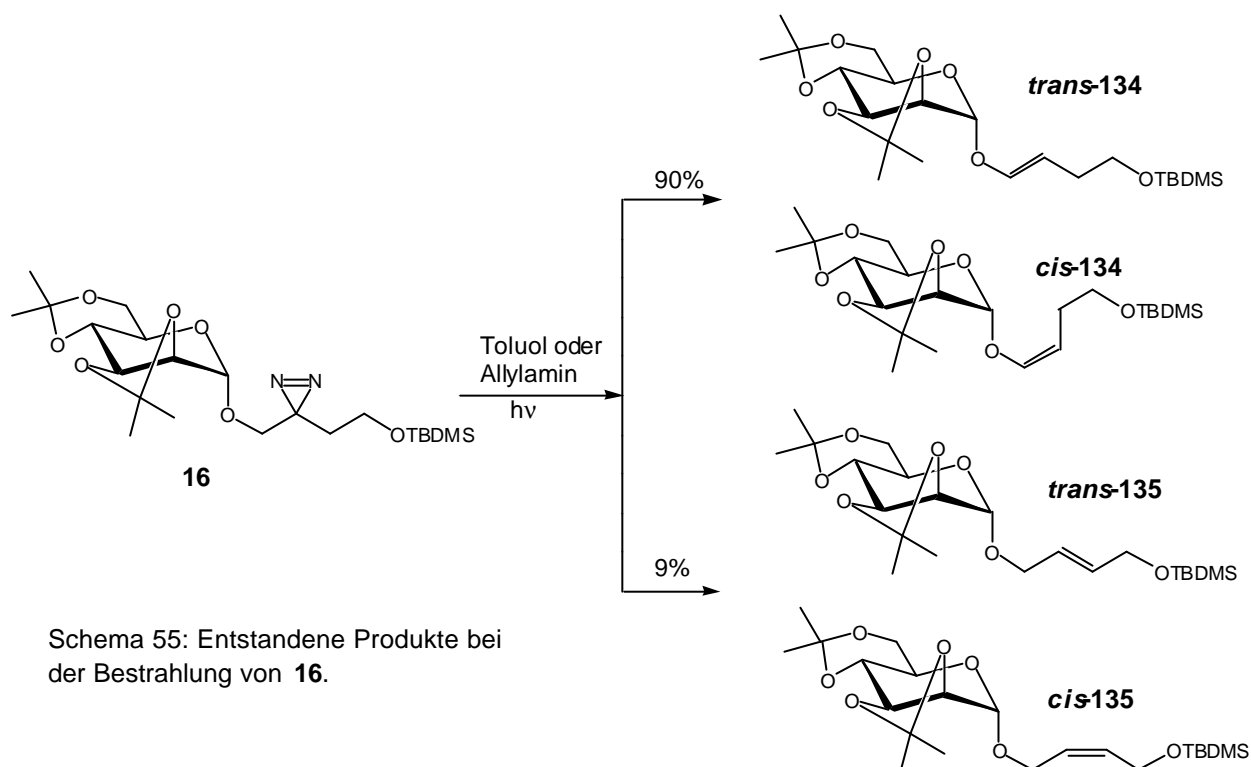


Schema 54: Darstellung von **132**.

3.6 Bestrahlungsreaktionen

3.6.1 Bestrahlung von **16**

Um zu sehen, ob die Bildung von Addukten bei der Diazirin-Bestrahlung überhaupt in nennenswerter Weise stattfindet, wurde das Diazirin-Derivat **16** einmal in Toluol und einmal in Allylamin gelöst und unter Argon-Atmosphäre für 1.5 h bestrahlt. Die dünnschichtchromatographische Überprüfung des Reaktionsverlaufs zeigte den

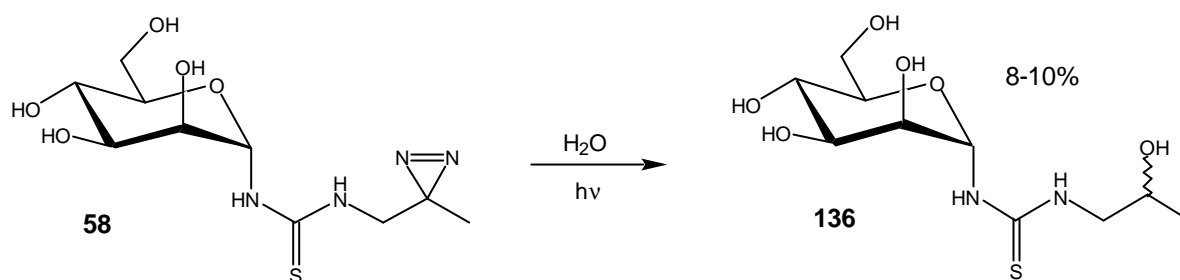


Schema 55: Entstandene Produkte bei der Bestrahlung von **16**.

vollständigen Umsatz des Edukts, wobei in beiden Fällen praktisch nur die α -H-Umlagerungsprodukte, also Alkene entstanden. Es gelang, diese Alkene zu charakterisieren. Zu 90% war das Regioisomer **134** entstanden und zu 9% das Regioisomer **135**. Andere Fraktionen konnten nicht gewonnen werden. Das Regioisomer **134** zeigte eine cis/trans-Selektivität von 7 : 3 (siehe Schema 55). Die Stereochemie des Regioisomers **135** konnte aufgrund der geringen Substanzmenge nicht bestimmt werden. Dass das enoletherartige Eliminierungsprodukt **134** zum Großteil entstand, war aufgrund der günstigen Wechselwirkung mit dem glycosidischen Sauerstoffatom zu erwarten. Möglicherweise war **16** sterisch zu anspruchsvoll, um mit dem jeweiligen Lösungsmittel ein Addukt zu bilden.

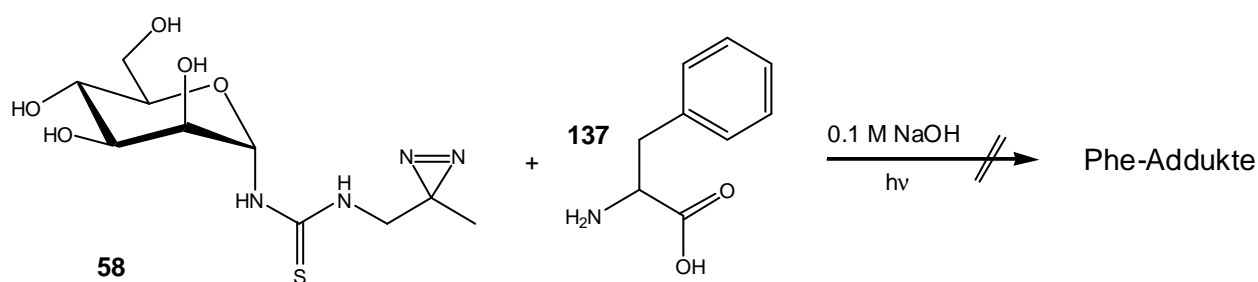
3.6.2 Bestrahlung von **58**

In einem Kontrollexperiment wurde **58** einfach in Wasser gelöst und auf die gleiche Weise wie **16** bestrahlt. Hier konnte das Addukt eindeutig identifiziert werden. Die ungefähre Ausbeute betrug dabei 8-10% (Schema 56). Hauptprodukte waren jedoch wieder die Eliminierungsprodukte.



Schema 56: Bestrahlungsexperiment von **58** in Wasser.

In einem weiteren Experiment wurde **58** mit 3 eq. L-Phenylalanin in 0.1 M NaOH gelöst und wiederum bestrahlt (Schema 57). Die entstandenen Produkte wurden mittels HPLC getrennt und mit ES-MS untersucht. Ein Adduktpeak konnte allerdings in keiner Fraktion eindeutig zugeordnet werden. Hauptsächlich entstanden wieder die Eliminierungsprodukte. Nichtsdestotrotz wurde nun versucht, die Diazirin-Derivate mit der Lectin-Domäne von FimH umzusetzen (*Kapitel 4.4*).



Schema 57: Bestrahlungsexperiment von **58** mit Phenylalanin.

4 Analytischer Teil

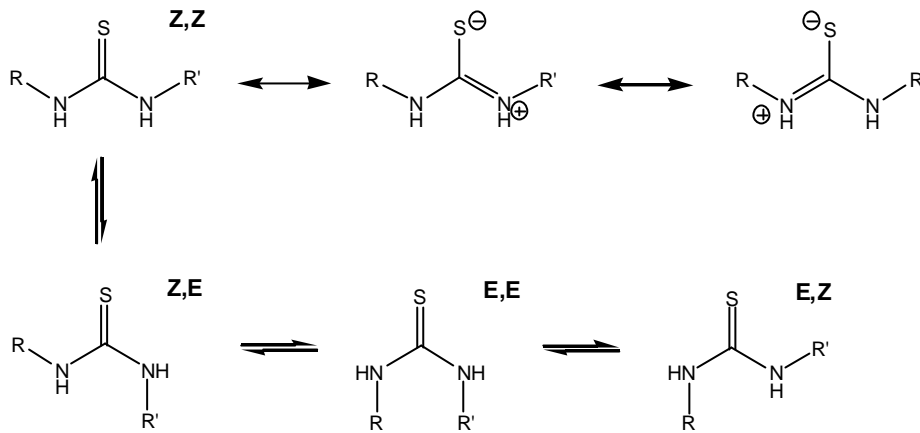
Zuerst werden die Besonderheiten von Thioharnstoff-Derivaten in Bezug auf NMR-spektroskopische Untersuchungen erörtert (*Kapitel 4.1*).

Des Weiteren werden die massenspektrometrischen Methoden zur Untersuchung der dargestellten Diazirin-Derivate besprochen und verglichen (*Kapitel 4.2*).

Für die Untersuchung der FimH-Mannosyl-Addukte muss untersucht werden, welche der dargestellten Diazirin-Label überhaupt für die geplanten Bestrahlungsexperimente in Betracht kommen. Dazu eignet sich der ELISA-Test (*Kapitel 4.3*), mit dem bestimmt werden kann, welche Diazirin-Derivate überhaupt in ausreichendem Maße mit dem FimH wechselwirken, d.h. sich überhaupt in der (den) Bindungstasche(n) befinden können.

Nach dieser ersten Auswahl sollen die erfolgreich getesteten Verbindungen mit der Lectin-Domäne von FimH inkubiert und mit UV-Licht bestrahlt werden. Danach könnte die MALDI-MS-Analytik klären, in welchem Falle auch kovalente FimH-Zucker-Addukte gebildet wurden (*Kapitel 4.4*).

4.1 NMR-Spektroskopie von Thioharnstoffderivaten



Schema 58: Zwitterionische Form und E/Z-Mesomerien bzw. strukturbedingte Gleichgewichte von Thioharnstoffen.

Die Thioharnstoffgruppe liegt, ähnlich der Amidbindung in Peptiden, auch in einer zwitterionischen Grenzform vor, was zu einem planaren Aufbau führt. Daraus resultieren E/Z-Gleichgewichte, da keine freie Drehbarkeit in der Thio-

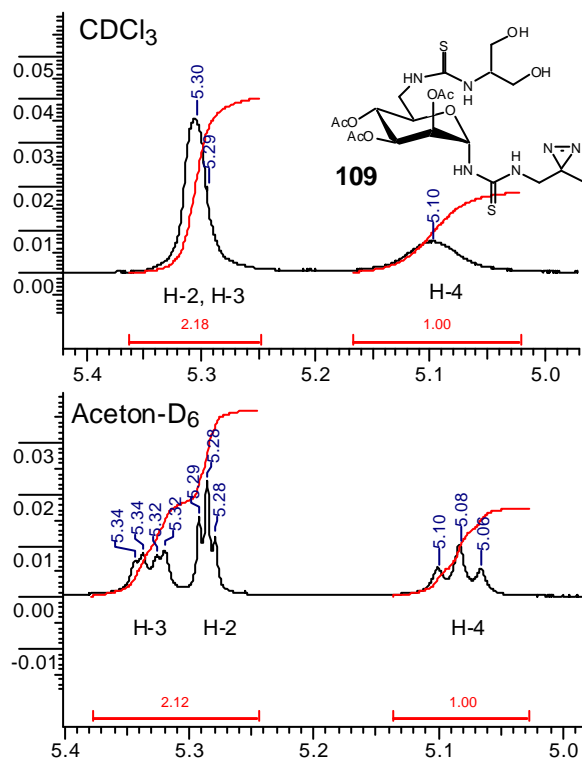


Abb 25: Vergleich eines Ausschnitts der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von **109**, in CDCl_3 und Aceton-D_6 .

harnstoffgruppierung mehr möglich ist (Schema 58). Leider liegen die dabei auftretenden kinetischen Rotationsparameter im Bereich der Relaxationszeiten der bei der NMR-Spektroskopie angeregten Kerne⁸³.

Damit entstehen auch bei hohen Temperaturen teilweise sehr breite Signale. Mitunter sind sogar die Signale der umgebenden Kerne im $^{13}\text{C-NMR}$ überhaupt nicht mehr sichtbar. Insbesondere eine Thioharnstoffgruppe am C-1 eines Zuckerrings kann zu schlecht auswertbaren NMR-Spektren führen. Hierbei spielt aber das Lösungsmittel, in dem die Spektren aufgenommen wurden, eine entscheidende Rolle. Abb. 25 verdeutlicht

diesen Sachverhalt am Beispiel der Verbindung **109**, die einmal in deuteriertem Chloroform und einmal in deuteriertem Aceton aufgenommen wurde. Wie zu erkennen ist, sind die Signale im Fall von Aceton viel besser aufgelöst, obwohl sie auch dort noch etwas verbreitert sind. Erklärbar wird diese Verbesserung des Spektrums möglicherweise dadurch, dass Aceton, im Gegensatz zum Chloroform, als Wasserstoffbrückenakzeptor fungieren kann. Durch die Bereitschaft einer der NH-Gruppen als Wasserstoffbrückendonator zu dienen, kann die Geschwindigkeit der E/Z-Umwandlung vermindert werden, indem die Energiebarriere zum Wechsel der Konformationen angehoben wird, da nun auch die Wasserstoffbrücke zum Lösungsmittel gelöst werden muss (Abb. 26).

So haben auch Mellet und Fernandez mit NMR-Experimenten feststellen können, dass sich die Auflösung der NMR-Spektren verbessert, wenn die Konformation durch eine Wasserstoffbrücke zum Ring-Sauerstoffatom eines Zuckerrings verankert wird⁸⁴.

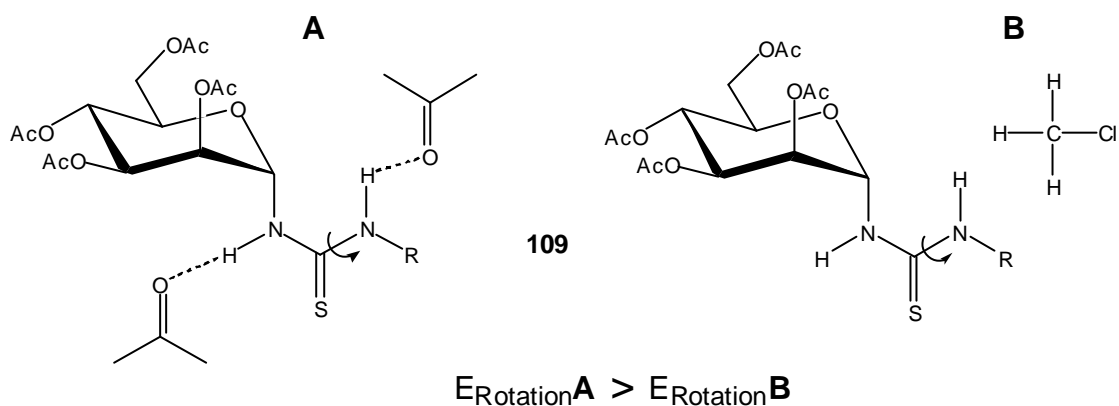


Abb. 26: Erhöhung der Rotationsbarriere durch Wechselwirkung der Thioharnstoffgruppe mit dem Lösungsmittel.

4.2 Massenspektrometrische Untersuchungen der Diazirin-Derivate

Die geschützten Diazirin-Derivate wurden der Routine-EI- bzw. -CI-MS sowie bei ausreichend großer Masse der MALDI-TOF-MS und teilweise der ES-MS unterzogen. Die entschützten Diazirin-Derivate wurden mit ES-MS, sowie bei ausreichend großen Massen auch mit der MALDI-TOF-MS vermessen.

Bei den geschützten Monosacchariden ließ sich insgesamt kein einheitlicher Trend bezüglich der bei den angewendeten massenspektrometrischen Methoden gefundenen Peaks erkennen. So war im EI-MS der $[M]^+$ -Peak nie zu finden. Die Verbindungen **57**, **61**, **67**, **70** und **83** – also alle mit dem Diazirin-Label **48** versehenen Derivate – zeigten immerhin einheitlich den $[M-N_2]^+$ -Peak. Die nicht-Thioharnstoff-funktionalisierten Monosaccharide (**10**, **16**, **36**) ließen keine eindeutige Peakzuordnung zu. Bei CI-MS-Messungen war bei einigen Verbindungen der $[M+H]^+$ -Peak vorhanden (**16**, **57**, **70**, **83**), bei anderen (**61**, **67**) war nur der $[M+H-N_2]^+$ -Peak erkennbar und bei den restlichen geschützten Monosacchariden **10** und **36** war wiederum keine eindeutige Zuordnung der Peaks möglich.

Da die entschützten Monosaccharide nicht flüchtig genug für eine EI- oder CI-Analyse waren, wurden sie mit der ES-MS vermessen. Alle Monosaccharide zeigten im ESI den $[M+Na]^+$ -Peak. Ansonsten hatten die Verbindungen wieder ein uneinheitliches Fragmentierungsverhalten. So setzten sowohl **14** als auch **62** Stickstoff frei, wobei erstere Verbindung einen $[M+Na-N_2]^+$ -Peak zeigte und die zweite einen $[M-N_2]^+$ -Peak. Zusätzlich fand sich bei **71** der $[(M-N_2)_2+Na]^+$ -Peak. Alle anderen Monosaccharide zeigten keine Stickstofffreisetzung. In den Massenspektren von **14**, **52** und **71** wiederum waren $[2M+Na]^+$ -Peaks zu finden, die bei den restlichen Substanzen nicht auftraten. Die geschützten Di- und Triclustere wurden hauptsächlich mit der MALDI-TOF-Analytik untersucht. Als Matrix wurde einheitlich Norhaman verwendet. Bei **92** und **132** wurde der $[M+Na-N_2]^+$ -Peak gefunden, und bei **104** und **130** konnten $[M-N_2]^+$ -Peaks identifiziert werden, wobei bei **130** eine Vielzahl an Signalen auftraten, die auch noch matrixabhängig waren. **104** zeigte zusätzlich ein M-32-Signal, was auf Schwefelfreisetzung schließen lässt. Solche M-32-Signale wurden schon öfter bei Thioharnstoffen beobachtet. Eine Reduzierung der Anregungsenergie veränderte dabei das Peak-Verhältnis nicht wesentlich.

Bei den entschützten Di- und Triclustern konnte bei der MALDI-Analytik im Fall der Verbindung **94** tatsächlich ein $[M+Na]^+$ -Peak ohne Stickstofffreisetzung beobachtet werden. Hauptsächlich war – wie auch bei **105** und **133** – ein $[M+Na-N_2]^+$ -Peak zu finden. **133** zeigte zusätzlich einen $[M-N_2]^+$ -Peak und **105** wies wieder ein M-32-Signal auf. Bei der ESI-MS zeigten alle Cluster ein $[M+Na]^+$ -Signal und nur **126** zeigte signifikante Fragmentierungen.

Eine besondere analytische Herausforderung stellten die Verbindungen **86**, **88** und ihre entschützten Formen **87** und **89** dar. Der Precursor von **88**, die Verbindung **85** ließ sich mittels MALDI-MS noch gut vermessen. Die MALDI-Analytik von **86** und **88** gelang mit keiner verwendeten Matrix so, dass ein Peak zugeordnet werden konnte. Prinzipiell war dieses Ergebnis auch nicht anders erwartet worden, da durch den Zerfall der Diazirine wahrscheinlich eine große Anzahl an Reaktions- und Zerfallsprodukten entstanden, dass eine Zuordnung unmöglich wurde. Auch die ungeschützten Verbindungen **87** und **89** waren nicht mit der MALDI-MS zu vermessen. Bei der ESI-MS zeigte sich das **86** anscheinend stabiler als **88** ist, da hier sowohl der $[M+H]^+$ - als auch der $[M+Na]^+$ -Peak deutlich vorhanden waren. Zusätzlich waren aber noch eine ganze Reihe an weiteren Zerfallsprodukten zu erkennen. In dem Massenspektrum von **88** waren die entsprechenden $[M+H]^+$ - bzw. $[M+Na]^+$ -Signale nur ganz schwach vorhanden, da Zerfallsprodukte entstanden. Die schlechten Ausbeuten bei der Darstellung dieser Verbindungen mögen auch ein Indiz dafür sein, dass diese nicht stabil sind. Die ESI-MS-Daten der ungeschützten Verbindungen **86** und **88** spiegelten dasselbe Bild wieder, auch wenn hier der Anteil an Zerfallsprodukten insgesamt kleiner war. So ließen sich hier die $[M+H]^+$ - bzw. $[M+Na]^+$ -Signale bei beiden Verbindungen deutlich ausmachen. Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht der massenspektrometrischen Ergebnisse der untersuchten Verbindungen wieder.

Legende:

frei = kein Signal erwartet

X = nicht gemessenes Signal

✓ = gemessenes Signal

Verbindung **10**, ber. $m/z = 638.30$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			
CI	✓		X		Signal bei 532.2 entspricht [Zu] ⁺
MALDI	✓	X		X	nur [M+Na-N ₂] ⁺
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **14**, ber. $m/z = 278.11$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	zusätzlich [M+Na-N ₂] ⁺ und [2M+Na] ⁺

Verbindung **16**, ber. $m/z = 472.26$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			
CI	✓		✓		
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **36**, ber. $m/z = 562.27$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			mglw. [M-N ₂ -H ₂ O] ⁺ bei 516.2
CI	✓		X		mglw. [M-N ₂ -CH ₂ OH] ⁺ bei 503.3
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **52**, ber. $m/z = 350.13$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	[2M+Na] ⁺ bei 723.24

Verbindung **54**, ber. $m/z = 434.14$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M+Na-N ₂] ⁺ bei 429.5
ESI	X				

Verbindung **57**, ber. $m/z = 474.14$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			[M-N ₂] ⁺ bei 446.1
CI	✓		✓		[M+H-N ₂] ⁺ bei 447.1
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **58**, ber. $m/z = 306.10$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **61**, ber. $m/z = 566.17$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			[M-N ₂] ⁺ bei 538.0, Signal bei 331.0 entspricht [Zu] ⁺
CI	✓		X		[M+H-N ₂] ⁺ bei 539.2, Signal bei 331.1 entspricht [Zu] ⁺
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **62**, ber. $m/z = 398.13$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	[M-N ₂] ⁺ bei 371.15

Verbindung **67**, ber. $m/z = 553.15$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			[M-N ₂] ⁺ bei 525.1
CI	✓		X		[M+H-N ₂] ⁺ bei 526.1
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **68**, ber. $m/z = 427.12$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **70**, ber. $m/z = 446.15$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			[M-N ₂] ⁺ bei 418.1
CI	✓		✓		[M+H-N ₂] ⁺ bei 419.1
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **71**, ber. $m/z = 320.12$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		✓	✓	[(M-N ₂) ₂ +Na] ⁺ bei 607.26, [2M+Na] ⁺ bei 663.22

Verbindung **83**, ber. $m/z = 473.10$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
EI	✓	X			[M-N ₂] ⁺ bei 445.1
CI	✓		✓		[M+H-N ₂] ⁺ bei 446.2
MALDI	X				
ESI	X				

Verbindung **86**, ber. $m/z = 1565.46$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓				kein Peak zuzuordnen
ESI	✓		✓	✓	Zersetzung bei Messung

Verbindung **87**, ber. $m/z = 1187.37$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓				kein Peak zuzuordnen
ESI	✓		✓	✓	Zersetzung bei Messung

Verbindung **88**, ber. $m/z = 1565.46$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓				kein Peak zuzuordnen
ESI	✓		✓	✓	Zersetzung bei Messung

Verbindung **89**, ber. $m/z = 1187.37$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓				kein Peak zuzuordnen
ESI	✓		✓	✓	Zersetzung bei Messung

Verbindung **92**, ber. $m/z = 674.33$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M+Na-N ₂] ⁺ bei 669.79
ESI	X				

Verbindung **94**, ber. $m/z = 514.20$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	✓	[M+Na-N ₂] ⁺ bei 509.54
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **104**, ber. $m/z = 2128.66$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M-N ₂] ⁺ bei 2101.1, [M-S-N ₂] ⁺ bei 2068.0
ESI	X				

Verbindung **105**, ber. $m/z = 880.35$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M+Na-N ₂] ⁺ bei 875.5, [M-S-N ₂] ⁺ bei 2068.0
ESI	✓		X	✓	

Verbindung **126**, ber. $m/z = 556.21$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	X				
ESI	✓		X	✓	leichte Fragmentierung

Verbindung **130**, ber. $m/z = 556.21$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M-N ₂] ⁺ bei 1708.29, schlecht detektierbar, viele Zerfälle
ESI	X				

Verbindung **132**, ber. $m/z = 1389.43$

	Messung	[M] ⁺	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	Kommentar
MALDI	✓		X	X	[M-N ₂] ⁺ bei 1361.7, [M+Na-N ₂] ⁺ bei 1283.8
ESI	X				

Verbindung **133**, ber. $m/z = 556.21$

	Messung	$[M]^+$	$[M+H]^+$	$[M+Na]^+$	Kommentar
MALDI	✓		X	X	$[M-N_2]^+$ bei 529.3, $[M+Na-N_2]^+$ bei 551.4
ESI	✓		X	✓	

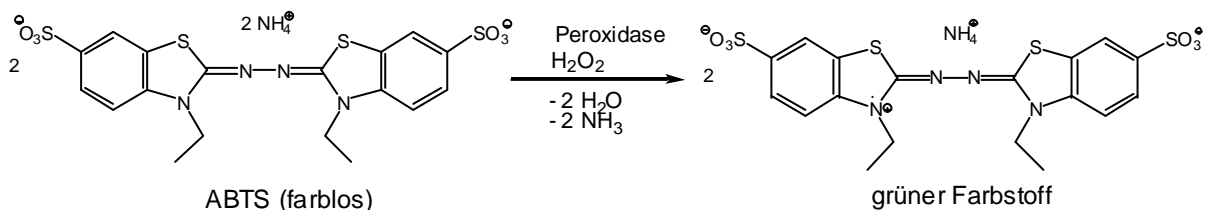
Tabelle 1: Übersicht der massenspektrometrischen Untersuchungen der Diazirin-Derivate.

4.3 ELISA-Messungen der Diazirin-Derivaten

Mit Hilfe eines ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) wurden die synthetisierten Diazirin-Derivate auf ihre antiadhäsive Wirksamkeit getestet. Dabei war es nicht das vorangige Ziel, besonders potente Inhibitoren zu finden, sondern sicherzustellen, dass eine ausreichend starke Wechselwirkung zwischen dem Diazirin-Derivat mit dem FimH-Protein und speziell dessen Bindungsregionen besteht. Das ELISA-System basiert auf der Erkennung einer prinzipiell beliebigen Struktur (des Antigens) mittels eines passenden Antikörpers. Um die Stärke der Wechselwirkung zu quantifizieren, wird ein den ersten Antikörper erkennender zweiter Antikörper hinzugefügt, der in der Lage ist, durch eine gebundene Peroxidase eine Farbreaktion zu katalysieren. Die Intensität der Farbreaktion sollte nun direkt von der Menge des Antigens abhängig sein, gegen das der erste Antikörper gerichtet ist, und wird als "optische Dichte" gemessen.

Gemessen werden sogenannte IC_{50} -Werte, welche diejenige Konzentration der entsprechenden Testsubstanz angeben, die eine 50%ige Inhibition der Adhäsion der antigentragenden Struktur in Bezug auf eine Messung ohne Testsubstanz bewirken. Dieser Wert wird als Gütekriterium für einen Inhibitor herangezogen.

Im vorliegenden Testsystem werden mit Hefemannan beschichtete Mikrotiterplatten eingesetzt, an deren Mannanschichten die Fimbrien des Bakterienstammes *E. coli* HB 101 pPKI4 binden können (Adhäsion)⁸⁵. Wird kein Antiadhäsivum zugegeben (Blindwert), so befinden sich nach einer Waschsequenz die maximal mögliche Menge Bakterien auf der Mannanoberfläche, wobei die Fimbrien die antigentragende Struktur darstellen. Nun werden nacheinander die Antikörper 1 und 2 hinzugefügt und nach Zugabe des farblosen ABTS und Wasserstoffperoxid kommt es zu einer quantifizierbaren Farbreaktion (Schema 59). Befindet sich ein Antiadhäsivum in der Lösung fällt die Farbreaktion schwächer aus, da weniger *E.coli* bzw. FimH-Protein an die Mannanschicht adhäriert.



Schema 59: Peroxidase-katalysierte Farbreaktion von ABTS.

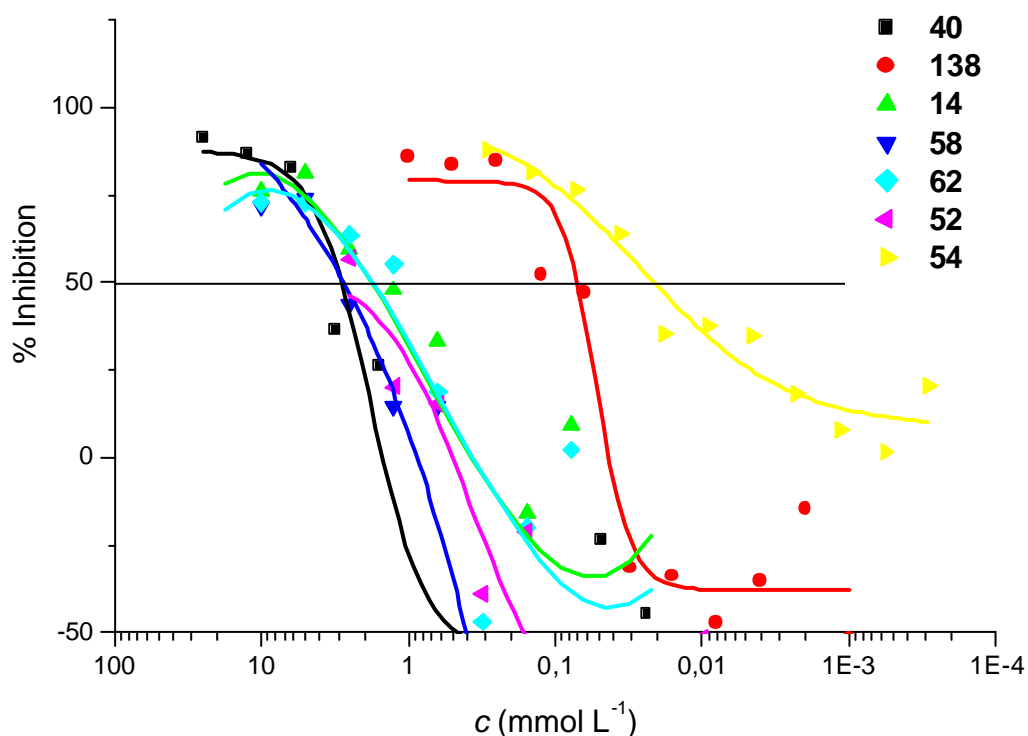
Die Auswertung der Farbreaktion erfolgt mit Hilfe eines ELISA-Readers. Hierbei wird die prozentuale Inhibition mit dem Inhibitor bezogen auf den Blindwert berechnet. Der Blindwert ergibt sich aus dem Mittelwert (MW) der ersten Spalte der Mikrotiterplatte, die inhibitorfrei bleibt.

Zur Berechnung der Inhibition wird folgende Formel verwendet:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(\text{MW ohne Inhibitor} - \text{Wert mit Inhibitor})}{\text{MW ohne Inhibitor}} \times 100$$

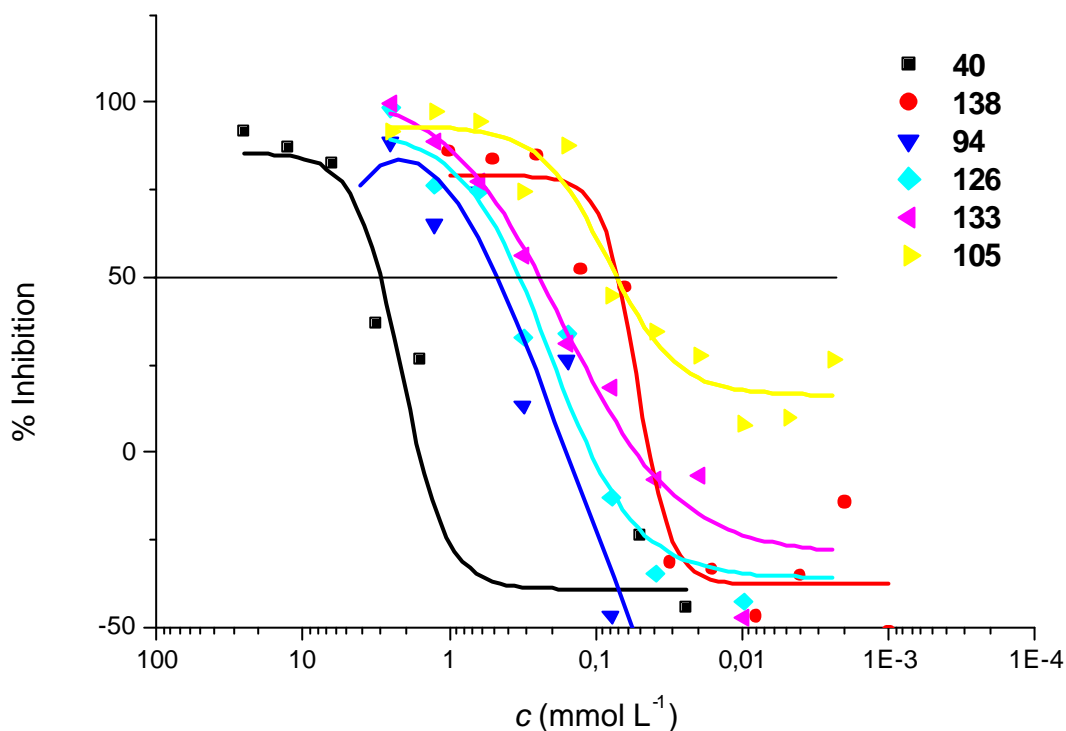
Die in der 1-Position Diazirin-funktionalisierten Monosaccharide zeigten zumeist einen ähnlichen IC_{50} -Wert wie Methylmannosid **40** und sollten somit auf ausreichende Weise für die geplanten Bestrahlungsexperimente mit der FimH-Oberfläche wechselwirken. Lediglich bei Verbindung **52** war die Inhibition etwas schwächer. Auf der anderen Seite zeigte Verbindung **54** eine für ein Monosaccharid sehr starke Inhibition und könnte deshalb ein gut geeigneter Testkandidat sein. Allerdings musste der Test aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit von **54** in 10% DMSO durchgeführt werden.

Abb. 27: ELISA-Messung mit den Diazirin-funktionalisierten Monosacchariden.



Monosaccharide **67** und **71** zeigten in diesem System keine messbare Inhibition, sodass sie auch bei den Bestrahlungsexperimenten nicht berücksichtigt wurden. Abb. 27 zeigt die Inhibitionskurven der Monosaccharide **14**, **58**, **62**, **52** und **54** im Vergleich zu den Standards **40** und pNP-Mannosid **138**.

Abb. 28: ELISA-Messung mit den Diazirin-funktionalisierten Mannosylclustern.



Die IC_{50} -Werte der Di- und Tricluster sind auch nach Valenzbereinigung besser als die der Monosaccharide mit Ausnahme von **54**. Somit sind alle dargestellten Mannosylcluster geeignete Testkandidaten für die Bestrahlungsexperimente. Am besten inhibiert der Tricluster **105** mit einem ähnlichen Wert wie pNP-Mannosid. Abb. 28 zeigt die Inhibitionskurven der Cluster **94**, **105**, **126** und **133**. Tabelle 2 stellt die IC_{50} -Werte der getesteten Verbindungen in der Übersicht dar.

	IC₅₀ [mmol]	IC₅₀ (valenzbereinigt)	RIC₅₀ [mmol]
40	2.7	2.7	1
138	0.07	0.07	0.03
14	1.7	1.7	0.63
58	2.7	2.7	1.00
62	1.7	1.7	0.63
52	(3)	(3)	1.11
54	0.02	0.02	0.007
94	0.47	0.94	0.17
105	0.06	0.18	0.02
126	0.31	0.93	0.11
133	0.23	0.46	0.09

Tabelle 2: Übersicht der IC₅₀-Werte der gemessenen Verbindungen.

4.4 FimH-Man-Adduktbildung und MALDI-Analyse

Die Monosaccharide **14**, **52**, **54**, **58** und **62**, die Dicluster **94** und **133** sowie die Tricluster **105** und **126** wurden jeweils im 2x, 20x und 200x Überschuss zu einer Lösung von jeweils 10 µg FimH-Lectin-Domäne (FimH_{tr}), gelöst in 50 µL 50 mM Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung, gegeben und für 12 min auf einer Mikrotiterplatte mit einer UV-Lampe bestrahlt, der ein UV-Filter vorgeschaltet war, sodass das Einstrahlungsmaximum ungefähr bei einer Wellenlänge von 350 nm lag. Dazu wurde ein Diazirin-Standard (Verbindung **16**) und ein FimH_{tr}-Standard ebenfalls bestrahlt. Die massenspektrometrischen Untersuchungen zeigten, dass sich der Diazirin-Standard vollständig zersetzt hatte, während das FimH anscheinend unzersetzt geblieben war.

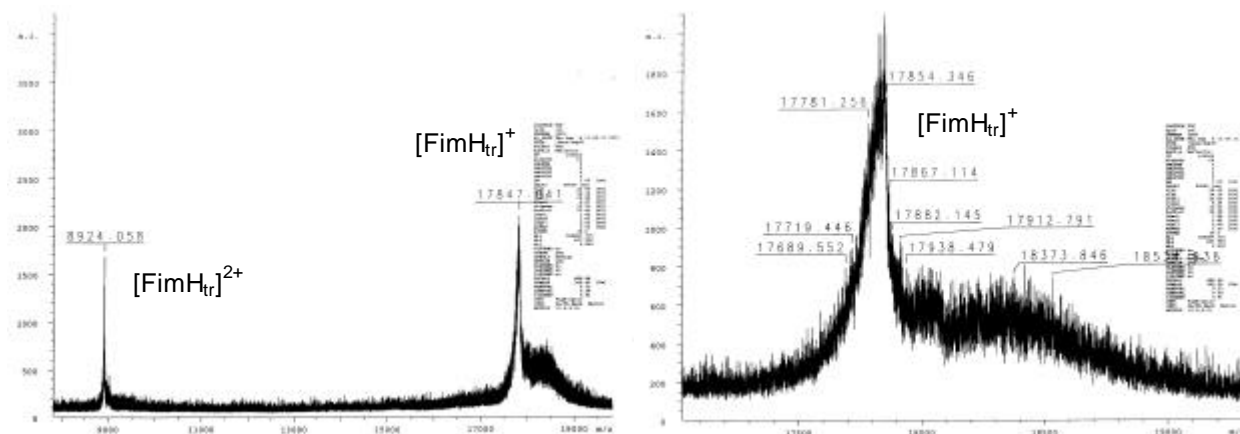


Abb. 29: Übersichtsspektrum (links) und Detailspektrum (rechts) der FimH-Lectin-Domäne.

Die Untersuchung der Addukt-Proben mittels MALDI-Analytik zeigte, dass keine Aussagen darüber möglich waren, ob sich Addukte gebildet hatten, da im interessanten Massenbereich oberhalb der FimH-Lectin-Domäne schon in der unbehandelten Probe ein Berg von Peaks die Auswertung des Spektrums behinderte (Abb. 29). Weil die Anzahl der möglichen gebildeten Addukte wohl nicht groß genug war, um aus diesem Rauschen herauszuragen, konnte keine Aussage gemacht werden, ob überhaupt eine Adduktbildung stattgefunden hatte. Exemplarisch ist das MALDI-Spektrum dargestellt, das nach dem Versuch der Adduktbildung von FimH_{tr} mit **54** gemessen wurde (Abb. 30). Angesichts der bei positiver Betrachtung nur geringen Anzahl an Addukten je Probe wäre auch ein anschließender Trypsin-Verdau nicht erfolgversprechend, da die Peaks der verdauten Addukte ebenfalls im Rauschen der Grundlinie untergehen würden. Stände mehr FimH-Lectin-Domäne zur

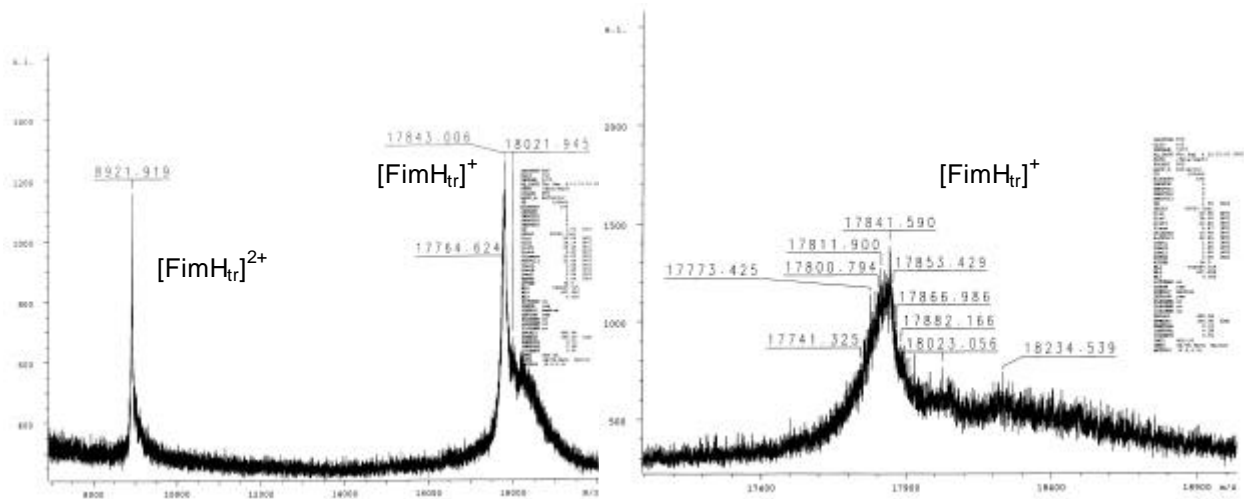


Abb. 30: Übersichtsspektrum (links) und Detailspektrum (rechts) der versuchten Adduktbildung von FimH_{tr} mit dem guten Inhibitor **54**.

Verfügung und wären die Reaktionsansätze im größeren Maßstab möglich gewesen, hätte eine HPLC-Trennung des unreaktierten FimH s und der Addukte durchgeführt werden können.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Escherichia coli trägt an seiner Oberfläche sogenannte Typ-1-Fimbrien, die in der Glycocalix einer Zelle an vorhandenen Mannosylresten adhäreren. Die Typ-1-Fimbrien bestehen zum Großteil aus sich wiederholenden Einheiten von FimA genannten Proteinen. Der Mannose erkennende Teil des Fimbriums wird als FimH bezeichnet. Um mehr über die Wechselwirkung des FimHs mit Mannose-Derivaten in Erfahrung zu bringen, wurden im präparativen Hauptteil dieser Arbeit unterschiedliche photolabile Diazirin-funktionalisierte Mannose-Derivate mit einer Vielzahl unterschiedlicher Herangehensweisen dargestellt. Diese sollten dann im analytischen Teil mit Bestrahlungsexperimenten kovalent mit FimH verknüpft und mittels MALDI-TOF-MS untersucht werden.

Über die 1-Position wurde bei der Verbindung **14** das Aglycon O-glycosidisch verknüpft und danach zum Diazirin über mehrere Syntheseschritte umfunktionalisiert. Anders wurde bei der Verbindung **58** vorgegangen, bei der die Verknüpfung über eine Thioharnstoffverbrückung erfolgte und der Diazirin-Linker **48** bereits fertig synthetisiert war. Die Verbindung **52** konnte durch eine Kombination aus O-Glycosidsynthese und Thioharnstoffverknüpfung dargestellt werden. **62** wurde als Diazirin-funktionalisiertes pNP-Mannosid wieder mit Hilfe der Thioharnstoffverbrückung synthetisiert. Das Quadratsäurederivat **54** zeigte, dass der Diazirin-Linker **48** nicht nur über Thioharnstoffverbrückung eingeführt werden konnte. Die Darstellung eines Thioharnstoff-freien, über die 6-Position Diazirin-funktionalisierten Mannose-Derivates gelang nur bis zur geschützten Form der Zielverbindung. Andererseits konnte mit den Thioharnstoff-verknüpften Verbindungen **68** und **71** die Einführung des Diazirin-Linkers **48** über die 6-Position erreicht werden. Mit der Diisothiocyanato-funktionalisierten Verbindung **82** konnten die unterschiedlichen Reaktivitäten der Isothiocyanatogruppen ausgenutzt werden, um die strukturell zueinander komplementären Tricluster **87** und **89** darzustellen. Die Ausnutzung der unterschiedlichen Reaktivitäten von Isothiocyanato-Funktionen wurde auch bei der Darstellung der Diazirin-funktionalisierten Cluster **126** und **133** ausgenutzt, wobei hier zusätzlich die Möglichkeit genutzt wurde, ein Azid entweder zum Isothiocyanat oder zum Amin umzusetzen, um diese dann jeweils mit einem Amin oder einem Isothiocyanat zu einem Thioharnstoff-Derivat reagieren zu lassen.

Zudem wurde der Diazirin-funktionalisierte Dicluster **94** erfolgreich dargestellt. Für die Synthese des auf Pentaerythrit basierenden Triclusters **105** konnte wiederum der Diazirin-Linker **48** genutzt werden, um den Photolabel einzuführen.

Nachdem im synthetischen Teil der Arbeit eine große Zahl interessanter Verbindungen hergestellt werden konnten, ließen sich die weiteren Arbeiten mit den photogelabelten Derivaten nicht zum Erfolg führen. So lieferte die Bestrahlung der isopropylidengeschützten Verbindung **16** nur Eliminierungsprodukte; im Fall der Verbindung **58** konnte mittels ESI-MS ein Wasser-Addukt nachgewiesen werden.

Die Untersuchung der inhibitorischen Eigenschaften der Verbindungen **14**, **52**, **54**, **58**, **62**, **68**, **71**, **94**, **105**, **126** und **133** wurde mit Typ-1-fimbrierten Bakterien im ELISA durchgeführt. Alle über die 1-Position derivatisierten Verbindungen erwiesen dabei als mit Methylmannosid **40** vergleichbare Inhibitoren. Die Verbindung **54** zeigte sogar eine bessere Inhibition als das pNP-Mannosid **138** und kann damit als potenter monosaccharidischer Inhibitor gelten. Die über die 6-Position Diazirin-funktionalisierten Verbindungen zeigten allerdings keine messbare Inhibition bei der ELISA-Untersuchung, sodass sie bei den anschließenden Bestrahlungsexperimenten mit der FimH-Lectin-Domäne nicht berücksichtigt wurden. Alle Cluster-Moleküle zeigten gute Inhibitionswerte, wobei der Tricluster **105** am besten inhibierte.

Die Bestrahlungsexperimente mit den 1-funktionalisierten Monosacchariden sowie den Di- und Triclustern machten bedauerlicherweise bisher keine abschließende Bewertung möglich, da die Auswertung der aufgenommenen MALDI-TOF-MS-Spektren nicht möglich war.

Nun steht aber eine wertvolle Auswahl neuer Verbindungen mit Diazirin-Label zur Verfügung, was einen guten Ausgangspunkt für nachfolgende Arbeiten bietet. So sollte es mit der Verbindung **22** möglich sein, einen Biotin-Label einzuführen, um so feststellen zu können, ob sich nach der Bestrahlung der Zucker an das Protein gebunden hat. Für eine Erhöhung der Bestrahlungsausbeute an Additionsprodukten könnten fluorierte Diazirin-Linker in Erwägung gezogen werden.

Für ergiebige Untersuchungen mit dem FimH-Protein muss mehr davon zur Verfügung stehen, sodass durch weitere Aufreinigungsprozesse nach einem Bestrahlungsexperiment möglicherweise Addukte für die Analytik angereichert werden können. Dabei könnte es besser sein, FimH aus einer rekombinanten anstelle einer nativen Quelle zu beziehen.

5.1 Summary and Outlook

Escherichia coli bacteria possess so called type 1 fimbriae to adhere to α -mannosyl residues present in the glyocalix of potential host cells. Type 1 fimbriae are mainly formed by repeating units of a protein called FimA, while the lectin domain, which is able to interact with carbohydrates is represented by a protein component named FimH. It has been the goal of this work to synthesize mannose derivatives, which are equipped with a photolabile group to facilitate research, which is aimed to the elucidation of the details of the molecular interaction between FimH and carbohydrates. Thus, the main part of this thesis deals with the preparation of a variety of diazirine-labelled mannose derivatives, both on monovalent as well as oligovalent form. Eventually, these derivatives could be incubated with FimH and irradiated to allow a peptid digestion and spectrometric investigation of the covalently linked protein-carbohydrate adduct.

The diazirine group has been incorporated into the aglycone part of O-glycosides (**14**) or thiourea-linked mannose derivatives (**58** and **62**), respectively. For the synthesis of the diazirine-labelled compound **52** glycosylation methodology has been combined with the thiourea-bridging strategy. Another option to connect a diazirine linker to the mannose moiety has utilized squaric acid, leading to **54**.

Alternatively, mannosides have been targeted, in which the diazirine function has been established at the 6-position of the sugar ring. When a respective mannoside (**36**) was synthesized, it did not allow deprotection to yield the OH-free target compound. However, again thiourea-bridging proved to be successful, yielding the mannosides **68** and **71**, in which the diazirine is linked via the 6-position.

A very successful approach was the utilization of graded reactivities of two different isothiocyanato groups in a difunctionalized mannose derivative such as **82**. This concept allowed the synthesis of the diazirine-labelled trivalent glycoclusters **87** and **89** on the one hand and of the labelled cluster glycosides **126** and **133** on the other hand.

Additional molecular architectures lead to the cluster glycosides **94** and **105**, based on **90** and pentaerythritol, respectively, as the core molecules.

In conclusion, the synthetic part in this thesis has revealed a large number of very different diazirine-labelled mannose derivatives, which are ready for testing in a biological context. The majority of the new compounds, the diazirine-labelled

mannose derivatives **14**, **52**, **54**, **58**, **62**, **68**, **71**, **94**, **105**, **126** and **133** have been examined for their antiadhesive properties with type 1 fimbriated bacteria using an ELISA format. The IC_{50} values which have been measured were as expected. The squaric acid mannoside **54** was an even better inhibitor of *E.coli* adhesion than the pNP-mannosides.

Unfortunately, the following irradiation experiments did not lead to conclusive results. First, the preparative irradiation of the isopropylidene-protected compound **16** yielded only the elimination products. In the case of **58** at least a water adduct could be found, although in poor yield.

The incubation/irradiation experiments with each compound **14**, **52**, **54**, **58**, **62**, **94**, **105**, **126** and **133** on and the lectin domain of FimH could not be analysed by MALDI-TOF-MS.

The large amount of different diazirine-labelled carbohydrate derivatives that has been prepared during this thesis, forms a solid ground for future projects. Thus, further work could be utilize the potential of the mannose derivative **22**, which allows the incorporation of a biotin label, e.g. this labelling would eventually allow to check if FimH, which has been irradiated with this diazirine-labelled compound, contains mannose which is covalently linked to the protein or if the irradiation experiment has failed. Such results would allow to plan further steps in accomplishing the task.

6 Experimenteller Teil

6.1 Allgemeine Methoden

Soweit nicht speziell vermerkt, wurden alle Reaktionen unter normalen atmosphärischen Bedingungen durchgeführt.

Trockene Lösungsmittel wurden durch mehrstündiges Erhitzen mit den im Folgenden aufgelisteten Trocknungsmitteln und nachfolgender Destillation in einer mit Calciumchlorid-Rohr versehenen Apparatur erhalten oder bereits getrocknet vom Hersteller bezogen:

Aceton	über Phosphorpentoxid
Dichlormethan	über Calciumhydrid
Diethylether	über Natrium
Ethanol	über Magnesiumspänen
Methanol	über Magnesiumspänen
Acetonitril	getrocknet vom Hersteller (Fluka)
DMF	getrocknet vom Hersteller (Fluka)
DMSO	getrocknet vom Hersteller (Fluka)
THF	getrocknet vom Hersteller (Fluka)
Toluol	getrocknet vom Hersteller (Fluka)

Ozonolysen wurden mit einem Niederkonzentrationsozonisator der Fa. Sander (Art.Nr. 300) bei benzylierten Verbindungen mit $I = 40$ mA und mit einem Ozonisator der Fa. Sander (Art.Nr. 301) bei isopropylidinierten Verbindungen mit $I = 300$ mA durchgeführt.

Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselfolie (GF₂₅₄, Merck), RP-Dünnschichtchromatogramme auf DC-Folie RP-18 F_{254s} (Merck) angefertigt. Die Detektion erfolgte, wenn nicht anders vermerkt, abhängig von der Substanz durch UV-Licht oder Besprühen mit 10%iger ethanolischer Schwefelsäure-Lösung und anschließender Wärmebehandlung. Amine wurden mit 5%iger wässriger Ninhydrin-Lösung detektiert. Für die Flashchromatographie wurde Kieselgel 60 (230-400 mesh, Korngröße 0.040-0.063 mm) von Merck eingesetzt. Dabei wurde leichter Überdruck verwendet. RP-MPLC wurde mit Hilfe einer Mitteldruck-Flüssigkeits-Chromatographie-

Anlage der Fa. Büchi und einer Lobar-Fertigsäule der Größe B (310-25) LiChrorep RP 18 (40-63 μm) der Fa. Merck durchgeführt.

Analytische HPLC wurde mit einer Anlage der Fa. Merck-Hitachi betrieben, bestehend aus dem Interface D-7000, der Pumpe L-7100, des Dioden-Array-Detektors L-7455, des RI-Detektors L-7490, des Säulenofens L-7350 und des Autosamplers L-7200.

Für die präparative HPLC wurde eine Anlage der Fa. Shimadzu verwendet, bestehend aus dem SCL-10A System Controller, Degasser DGU-14A, zwei LC-8A Pumpen, RID-10A Dektor und SPD-M10A Dioden-Array-Detektor. Es wurde eine Hibar[®] RT 250-25 mm Säule, gepackt mit LiChrosorb[®] RP-8 (7 μm) Kieselgel, der Fa. Merck verwendet.

Drehwerte wurden mit einem Perkin-Elmer 241-Polarimeter (Natrium-D-Linie: 589 nm, Küvettenlänge: 1 dm) in den jeweils angegebenen Lösungsmitteln gemessen.

Für die IR-spektroskopische Charakterisierung wurden die Substanzen als Kaliumbromid-Presslinge mit einem FT-IR-Spektrometer Paragon 1000 der Firma Perkin Elmer vermessen.

NMR-Spektren wurden an den Bruker-Geräten ARX 300 (300 MHz für ^1H , 75.47 MHz für ^{13}C) und DRX 500 (500.13 MHz für ^1H , 125.75 MHz für ^{13}C) aufgenommen.

Die Zuordnung der Signale wurde zum Teil mit Hilfe zweidimensionaler NMR-spektroskopischer Methoden ($^1\text{H}^1\text{H}$ -COSY und HSQC/HMBC) vorgenommen. C-H-Kopplungskonstanten wurden mittels Gated-Decoupling- ^{13}C -NMR bestimmt. In den berichteten NMR-Daten wird, wenn nötig, aus Gründen der Übersichtlichkeit der Zuckerrest mit „Zu“ abgekürzt.

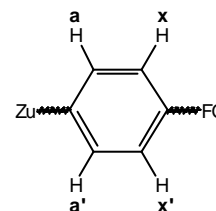
NMR-Spektren wurden mit Hilfe der jeweiligen Lösungsmittelsignale wie folgt oder mit TMS als interner Standard kalibriert:

CDCl ₃	¹ H	7.24 ppm (s)
	¹³ C	77.0 ppm (t)
MeOH-D ₄	¹ H	3.35 ppm (s)
	¹³ C	49.3 ppm (sept)
DMSO-D ₆	¹ H	2.49 ppm (quin)
	¹³ C	39.7 ppm (sept)
Aceton-D ₆	¹ H	2.04 ppm (quin)
	¹³ C	29.3 ppm (sept)
D ₂ O	¹ H	DSS als externer Standard
	¹³ C	DSS als externer Standard

Mit * gekennzeichnete Zuordnungen sind gegeneinander austauschbar.

Mit ^d gekennzeichnete Zuordnungen werden bei Diastereomeregemischen verwendet.

Indices bei Aromaten-Wasserstoffatomen sind wie folgt definiert:



Indices bei aliphatischen Aglyconen sind wie folgt definiert:

ZuX-C_a-C_b-X-C_c-etc.

mit X = O, NHC(S)NH

CI- und EI-Massenspektren wurden auf einem Massenspektrometer MAT8200 der Fa. Finnigan aufgenommen. Als Kollisionsgas (CI) wurde Isobutan verwendet.

MALDI-TOF-Massenspektren wurden an einem Biflex III-Gerät der Firma Bruker mit 19 kV Beschleunigungsspannung aufgenommen. Als Matrices wurden Norhaman (9H-Pyrido[3,4-b]indol) (ges. Lösung in THF) oder DHB (*c* = 10 µg/µL in Acetonitril/Wasser = 1 : 2 mit einem Zusatz von 0.1% TFA), für Proteinvermessungen HCCA (*c* = 20 µg/µL in Acetonitril/Wasser = 7 : 3 mit einem Zusatz von 0.1% TFA)

oder SA ($c = 20 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ in Acetonitril/Wasser = 7 : 3 mit einem Zusatz von 0.1% TFA) verwendet. Bestrahlung erfolgte mit einem Stickstofflaser bei 337 nm.

ESI-Massenspektren wurde auf einem Mariner ES-TOF 5280 der Fa. Applied Biosystems aufgenommen.

Für die Durchführung der ELISA-Tests fanden Mikrotiterplatten der Fa. Sarstedt (Best.Nr. 82.1581-001) Verwendung, die Extinktionsmessungen wurden an einem ELISA-Reader Digiscan 400 der Fa. ASYS Hitech durchgeführt.

Die Reinheit der entschützten Endstufen wurde mittels analytischer HPLC bestimmt, da aufgrund des hygroskopischen Charakters dieser Verbindungen die Elementaranalysen nicht aussagekräftig waren.

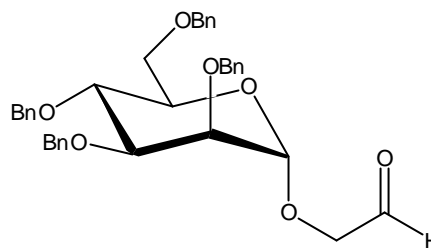
6.2 Einzelschriften

2-Oxoethyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (4)

3.4 g (5.9 mmol) **3**³² wurden in 20 mL abs. DCM/abs. MeOH (1 : 1) gelöst und auf -78°C gekühlt.

Es wurden 5 min O_2 , danach für 30 min Ozon, in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O_2 -Einleitung und 5 min Argon-Einleitung wurden

1.7 g (6.4 mmol) Triphenylphosphin der kalten Lösung hinzugefügt und bei RT über Nacht gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 5 : 2) das Produkt als farblosen Sirup.



Ausbeute: 2.8 g (4.8 mmol; $M = 582.69\text{ g mol}^{-1}$), 81%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.28;

$[\alpha]_D^{20} = +25.8^{\circ}$ ($c = 0.54$, CHCl_3);

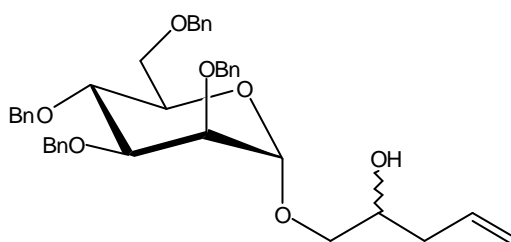
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.64$ (s, 1H, CHO), 7.41 - 7.24 (m, 18H, H_{Bn}), 7.17 - 7.13 (m, 2H, H_{Bn}), 4.93 (d, 1H, H-1), 4.90 - 4.46 (m, 8H, BnCH_2), 4.19 (d, 1H, CHHCHO), 4.17 (d, 1H, CHHCHO), 4.00 - 3.90 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 3.81 - 3.69 (m, 3H, H-5, H-6, H-6')

$^3J_{1,2} = 1.6$, $^3J_{5,6'} = 2.1$, $^3J_{\text{CHHCHO}} = 0.7$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 199.15$ (CHO), 138.33, 138.24, 138.16, 138.05, 129.76, 29.00, 128.38, 128.34, 127.97, 127.90, 127.76, 127.72, 127.65, 127.63, 127.56 (C_{Bn}), 98.42 (C-1), 79.71 (C-3), 75.09 (BnCH_2), 74.64 (C-4), 74.29 (C-2), 73.40 (BnCH_2), 72.79 (BnCH_2), 72.45 (C-5), 72.25 (ZuO-CH_2), 72.21 (C BnCH_2), 69.08 (C-6) ppm.

(2-Hydroxy-4-pentenyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (5)

3.1 g (0.13 mol) Magnesium wurden unter Argon-Atmosphäre mit abs. Diethylether überschichtet und es wurde ein Tropfen Allylbromid zum Start der Reaktion hinzugefügt. Nachdem die Reaktion an-



gesprungen war, wurden 7.1 mL (10.2 g, 84 mmol) Allylbromid, gelöst im gleichen Volumen abs. Diethylether, unter Eiskühlung so hinzuge tropft, dass der Ether gelinde siedete. Die Reaktionslösung wurde dann für 1.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurden 7.0 g (12 mmol) **4**, gelöst in 20 mL abs. Diethylether, zu der Grignard-Lösung hinzuge tropft und die Lösung für weitere 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung abgebrochen. Nachdem das überschüssige Magnesium gelöst war, wurde die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 6.33 g (10.1 mmol; $M = 624.77 \text{ g mol}^{-1}$), 84%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.40;

$[\alpha]_D^{20} = + 30.1^\circ$ ($c = 0.75$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 7.40 - 7.24$ (m, 36H, H_{Bn}), 7.19 - 7.14 (m, 4H, H_{Bn}), 5.86 - 5.69 (m, 2H, $\text{CH}^{\text{d1}}=\text{CH}_2$, $\text{CH}^{\text{d2}}=\text{CH}_2$), 5.14 - 5.05 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}_2^{\text{d1}}$, $\text{CH}=\text{CH}_2^{\text{d2}}$), 4.90 - 4.84 (m, 4H, H-1^{d1} , H-1^{d2} , BnCH_2), 4.79 - 4.46 (m, 14H, BnCH_2), 4.02 - 3.70 (m, 14H, H-2^{d1} , H-2^{d2} , H-3^{d1} , H-3^{d2} , H-4^{d1} , H-4^{d2} , H-5^{d1} , H-5^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , $\text{CH}^{\text{d1}}\text{OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{OH}$), 3.67 (dd, 1H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d1}}$), 3.57 - 3.50 (m, 2H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d2}}$, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d1}}$), 3.32 (dd, 1H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d2}}$), 2.24 - 2.15 (m, 4H, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{CH}=\text{CH}_2$) ppm;

$^2J_{\text{a(d1),a'(d1)}} = ^2J_{\text{a(d2),a'(d2)}} = 10.4$, $^3J_{\text{a(d1),b}} = 3.2$, $^3J_{\text{a(d2),b}} = 7.8$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 138.35$, 138.26, 138.23, 138.19, 138.17, 138.16, 138.15, 128.34, 128.33, 128.31, 128.29, 128.27, 127.98, 127.97, 127.80, 127.79, 127.77, 127.76, 127.68, 127.66, 127.65, 127.62, 127.61, 127.52, 127.48 (C_{Bn}), 134.10, 133.91 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}=\text{CH}_2$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}=\text{CH}_2$), 117.90, 117.87 ($\text{CH}=\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{CH}=\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 98.72, 98.48 (C-1^{d1} , C-1^{d2}), 79.86 (C-3^{d1} , C-3^{d2}), 75.09, 75.07 (BnCH_2), 74.88, 74.81 (C-4^{d1} , C-4^{d2}), 74.69, 74.66 (C-2^{d1} , C-2^{d2}), 73.34, 73.31 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.64, 72.62 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.33, 72.26 (ZuO-CH_2), 72.14, 72.12 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.07, 72.01 (C-5^{d1} , C-5^{d2}), 69.60, 69.57 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 69.19, 69.10 (C-6^{d1} , C-6^{d2}), 37.93, 37.80 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ppm.

(2,4-Dihydroxybutyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (6)

6.3 g (10 mmol) **5** wurden in 30 mL abs.

Methanol gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt.

Nach 5 min O_2 -Einleitung wurde für 30 min

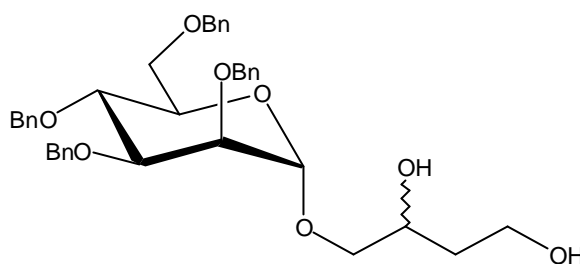
Ozon in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O_2 -Einleitung und 5 min Argon-

Einleitung wurden 3.1 g (81 mmol) Natriumborhydrid portionsweise der kalten Lösung hinzugefügt und für zwei weitere Stunden in der Kälte und bei RT über Nacht gerührt.

Die Reduktion wurde durch Zugabe von 10 mL Eisessig abgebrochen. Nach Einengen der Reaktionslösung wurde der Rückstand in Wasser/DCM aufgenommen.

Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und

filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittel lieferte die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 3 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.



Ausbeute: 4.6 g (7.3 mmol; $M = 628.76\text{ g mol}^{-1}$), 72%;

R_f (EE/CH = 3 : 1) = 0.32;

$[\alpha]_D^{20} = +25.0^{\circ}$ ($c = 0.92$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 7.40 - 7.24$ (m, 36H, H_{Bn}), 7.19 - 7.14 (m, 4H, H_{Bn}), 4.90 - 4.84 (m, 4H, H-1^{d1} , H-1^{d2} , BnCH_2), 4.79 - 4.45 (m, 14H, BnCH_2), 4.02 - 3.70 (m, 18H, H-2^{d1} , H-2^{d2} , H-3^{d1} , H-3^{d2} , H-4^{d1} , H-4^{d2} , H-5^{d1} , H-5^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , $\text{CH}^{\text{d1}}\text{OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{OH}$), 3.64 (dd, 1H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d1}}$), 3.54 (d, 2H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d2}}$, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d1}}$), 3.37 (dd, 1H, $\text{ZuO-CH}_a^{\text{d2}}$), 1.66 - 1.57 (m, 4H, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{CH}_2\text{OH}$) ppm;

$^2J_{a(\text{d1}),a'(\text{d1})} = ^2J_{a(\text{d2}),a'(\text{d2})} = 10.5$, $^3J_{a(\text{d1}),b} = 3.2$, $^3J_{a(\text{d2}),b} = 7.8$ Hz;

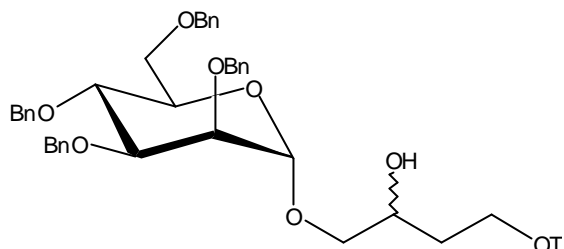
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 138.38$, 138.25, 138.20, 138.11, 138.09, 128.02, 128.00, 127.84, 127.83, 127.82, 127.71, 127.69, 127.68, 127.65, 127.64, 127.62, 127.60 (C_{Bn}), 98.92, 98.86 (C-1^{d1} , C-1^{d2}), 79.87, 79.84 (C-2^{d1} , C-2^{d2}), 75.08, 74.99 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 75.03, 74.98 (C-4^{d1} , C-4^{d2}), 74.92, 74.88 (C-3^{d1} , C-3^{d2}), 73.83, 72.96 ($\text{ZuO-C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{ZuO-C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 73.44, 73.42 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.76, 72.75 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.33, 72.28 ($\text{BnCH}_2^{\text{d1}}$, $\text{BnCH}_2^{\text{d2}}$), 72.21, 72.17 (C-5^{d1} , C-5^{d2}), 70.52, 70.13 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H-OH}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H-OH}$), 69.39, 69.36 (C-6^{d1} , C-6^{d2}),

61.08, 60.93 ($C^{d1}H_2OH$, $C^{d2}H_2OH$), 34.63, 34.60 ($C^{d1}H_2CH_2OH$, $C^{d2}H_2CH_2OH$) ppm.

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 651.55$ $[M+Na]^+$ (ber. $m/z = 651.29$) für $C_{38}H_{44}NaO_8$,
 $m/z = 667.52$ $[M+K]^+$ (ber. $m/z = 667.24$) für $C_{38}H_{44}KO_8$.

(2-Hydroxy-4-O-tritylbutyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (7)

3.66 g (5.8 mmol) **6** wurden in trockenem Pyridin gelöst, bei 0 °C mit 4.05 g (14.5 mmol) Tritylchlorid versetzt und bei RT über Nacht gerührt. Die Reaktion



wurde durch Zugabe von 10 mL MeOH abgebrochen und die Lösung eine Stunde weitergerührt. Nach Einengen der Reaktionslösung wurde der Rückstand mit DCM und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt, die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 5 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 4.44 g (5.1 mmol; $M = 871.08$ g mol⁻¹), 88%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.51;

$[\alpha]_D^{20} = +18.2^\circ$ ($c = 1.1$, $CHCl_3$);

¹H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): (Diastereomerengemisch) $\delta = 7.46 - 7.12$ (m, 70H, H_{Ar}), 4.90 - 4.48 (m, 18H, $H-1^{d1}$, $H-1^{d2}$, $BnCH_2$), 4.02 - 3.50 (m, 18H, $H-2^{d1}$, $H-2^{d2}$, $H-3^{d1}$, $H-3^{d2}$, $H-4^{d1}$, $H-4^{d2}$, $H-5^{d1}$, $H-5^{d2}$, $H-6^{d1}$, $H-6^{d2}$, $H-6^{d1}$, $H-6^{d2}$, $CH^{d1}OH$, $CH^{d2}OH$, $ZuO-CH_a^{d1}$, $ZuO-CH_a^{d2}$, $ZuO-CH_a^{d1}$), 3.41 (dd, 1H, $ZuO-CH_a^{d2}$), 3.36 - 3.26 (m, 2H, $CH_2^{d1}OTr$), 3.24 - 3.14 (m, 2H, $CH_2^{d2}OTr$), 1.66 - 1.57 (m, 4H, $CH_2^{d1}CH_2OTr$, $CH_2^{d2}CH_2OTr$) ppm;

$^2J_{a(d1),a'(d1)} = ^2J_{a(d2),a'(d2)} = 10.5$, $^3J_{a(d2),b} = 7.8$ Hz;

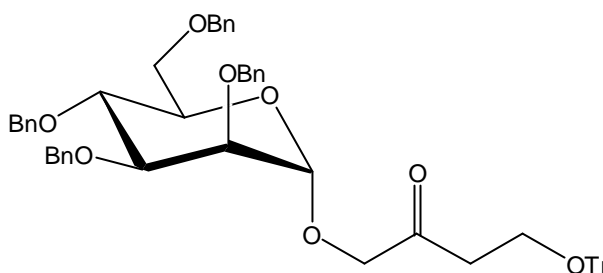
¹³C-NMR (75.47 MHz, $CDCl_3$): (Diastereomerengemisch) $\delta = 143.91$, 143.88, 138.45, 138.44, 138.34, 138.27, 138.26, 138.23, 128.562, 128.55, 128.33, 128.31, 128.27, 128.02, 128.00, 127.91, 127.90, 127.87, 127.86, 127.79, 127.78, 127.63, 127.62, 127.60, 127.55, 127.48, 127.46, 127.04 (C_{Bn}), 98.61, 98.29 ($C-1^{d1}$, $C-1^{d2}$), 87.07, 87.03 (C_q^{d1} , C_q^{d2}), 80.02, 80.01 ($C-3^{d1}$, $C-3^{d2}$), 75.13, 75.09 ($BnCH_2^{d1}$, $BnCH_2^{d2}$), 74.85, 74.82 ($C-4^{d1}$, $C-4^{d2}$), 74.71, 74.64 ($C-2^{d1}$, $C-2^{d2}$), 73.34, 73.31 ($BnCH_2^{d1}$,

BnCH₂^{d2}), 72.62, 72.59 (BnCH₂^{d1}, BnCH₂^{d2}), 72.35, 72.34 (ZuO-C^{d1}H₂, ZuO-C^{d2}H₂), 72.23, 72.22 (BnCH₂^{d1}, BnCH₂^{d2}), 72.00, 71.98 (C-5^{d1}, C-5^{d2}), 69.28 (CH^{d1}-OH, CH^{d2}-OH), 69.05, 69.04 (C-6^{d1}, C-6^{d2}), 61.47, 61.43 (C^{d1}H₂OTr, C^{d2}H₂OTr), 33.31, 33.24 (C^{d1}H₂CH₂OH, C^{d2}H₂CH₂OH) ppm.

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 893.81$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 893.40$) für C₅₇H₅₈NaO₈, $m/z = 909.79$ [M+K]⁺ (ber. $m/z = 909.35$) für C₅₇H₅₈KO₈.

(2-Oxo-4-O-tritylbutyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (8)

Zu einer Lösung von 480 μ L (704 mg, 5.6 mmol) Oxalylchlorid in 15 mL abs. DCM bei -55 °C wurden unter Gasentwicklung 780 μ L (860 mg, 11 mmol) trockenes DMSO, gelöst im



doppelten Volumen abs. DCM, langsam zugetropft. Nach 5 min wurden 4.4 g (5.1 mmol) **7**, gelöst in 5 mL abs. DCM hinzugefügt. Nach 15 min Rühren wurden in der Kälte 10 mL Triethylamin zur Lösung gegeben und die Lösung auf RT erwärmt. Die organische Phase wurde einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 5 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 3.8 g (4.4 mmol; $M = 869.07$ g mol⁻¹), 87%;

R_f (CH/EE = 3 : 1) = 0.42;

$[\alpha]_D^{20} = +20.4^\circ$ ($c = 6.35$, Aceton);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.44 - 7.12$ (m, 35H, H_{Ar}), 4.94 - 4.44 (m, 9H, H-1, BnCH₂), 4.18 (d, 2H, ZuO-CH₂), 4.04 - 3.89 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 3.77 - 3.62 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.37 (t, 2H, CH₂OTr), 2.54 (t, 2H, CH₂CH₂OTr) ppm;

³J_{1,2} = 1.4, ²J_{a,a'} = 17.2, ³J_{c,d} = ³J_{c',d'} = 6.2 Hz;

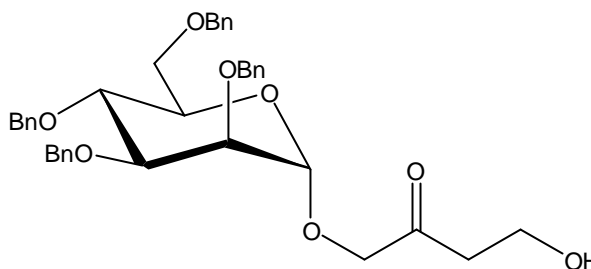
¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 205.72$ (C=O), 143.66, 138.29, 138.16, 138.04, 128.45, 128.24, 128.21, 128.18, 127.84, 127.81, 127.77, 127.76, 127.74, 127.61, 127.56, 127.51, 127.37, 127.08, 126.95 (C_{Ar}), 97.642 (C-1), 86.78 (C_q), 79.57 (C-3), 74.97 (BnCH₂), 74.53 (C-4), 74.18 (C-2), 73.23 (BnCH₂), 72.45 (BnCH₂), 72.24 (C-5),

71.96 (BnCH₂), 71.45 (ZuO-CH₂), 68.98 (C-6), 58.71 (CH₂OTr), 39.50 (CH₂CH₂OTr) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 891.69$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 891.39$) für C₅₇H₅₆NaO₈,
 $m/z = 907.67$ [M+K]⁺ (ber. $m/z = 907.34$) für C₅₇H₅₆KO₈.

(2-Oxo-4-hydroxybutyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (9)

3.7 g (4.3 mmol) **8** wurden in 30 mL einer konz. Salzsäure/Diethylether-Mischung (2 : 1) gelöst und bis zur vollständigen Detritylierung für 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 50



mL Diethylether abgebrochen, die Phasen getrennt, die organische Phase dreimal mit Wasser und einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Anschließend wurde über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 1 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 2.05 g (3.3 mmol; $M = 625.75 \text{ g mol}^{-1}$), 76%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.25;

$[\alpha]_D^{20} = +24.9^\circ$ ($c = 0.99$, CHCl₃);

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.41 - 7.23$ (m, 18H, H_{Bn}), 7.18 - 7.13 (m, 2H, H_{Bn}), 4.91 (d, 1H, H-1), 4.90 - 4.45 (m, 8H, BnCH₂), 4.22 (d, 1H, ZuO-CH_H), 4.12 (d, 1H, ZuO-CH_H), 3.99 - 3.88 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 3.82 (dt, 2H, CH₂OH), 3.78 - 3.69 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 2.57 (t, 2H, CH₂CH₂OH) ppm;

³J_{1,2} = 1.7, ²J_{a,a'} = 17.4, ³J_{c,d} = ³J_{c',d'} = 5.5 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): $\delta = 207.98$ (C=O), 138.28, 138.21, 138.08, 138.03, 128.34, 128.31, 127.96, 127.91, 127.77, 127.68, 127.63, 127.60, 127.56 (C_{Bn}), 97.92 (C-1), 79.58 (C-3), 75.06 (BnCH₂), 74.64 (C-4), 74.28 (C-2), 73.34 (BnCH₂), 72.71 (BnCH₂), 72.35 (C-5), 72.14 (BnCH₂), 71.52 (ZuO-CH₂), 69.15 (C-6), 57.40 (CH₂OH), 41.04 (CH₂CH₂OH) ppm.

(2-Azi-4-hydroxybutyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (10)

2.0 g (3.2 mmol) **M9** wurden in 20 mL abs.

MeOH und 5 mL abs. DCM gelöst und auf

– 50 °C gekühlt. Nun wurden 100 mL

Ammoniak einkondensiert und über 4 h bei

– 20 °C gerührt. Erneut wurde auf – 50 °C

gekühlt und 430 mg (3.84 mmol) Hydroxylamin-O-sulfonsäure, suspendiert in abs.

MeOH, zur Lösung getropft. Über Nacht wurde bei RT gerührt, wobei ein Großteil

des Ammoniaks verdampfte. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat

eingeeengt bis der Geruch von Ammoniak nahezu vollständig verschwunden war. Der

Rückstand wurde in 20 mL MeOH aufgenommen und mit 8 mL Triethylamin versetzt.

Bei 0 °C wurde dann eine 10%ige methanolische Iod-Lösung tropfenweise bis zur

dauerhaften Braunfärbung hinzugegeben. Die Lösung wurde erneut eingeeengt und

der Rückstand in Diethylether/Wasser aufgenommen und durch Schütteln mit

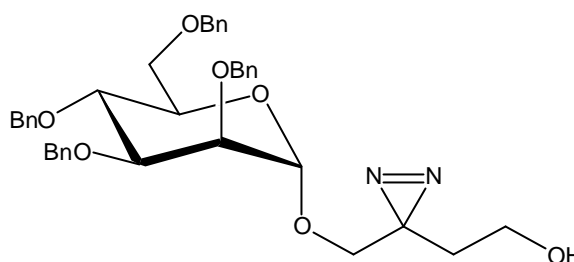
Natriumthiosulfat-Lösung entfärbt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit

Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-

Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die

säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) lieferte das Produkt als

farblosen Sirup.



Ausbeute: 562 mg (0.88 mmol; $M = 638.77 \text{ g mol}^{-1}$), 27%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.27;

$[\alpha]_D^{20} = + 32.4^\circ$ ($c = 1.37$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.39 - 7.25$ (m, 18H, H_{Bn}), 7.19 - 7.16 (m, 2H, H_{Bn}),

4.87 (d, 1H, BnCHH), 4.80 (d, 1H, H-1), 4.78 - 4.48 (m, 7H, BnCH_2), 3.94 (t, 1H, H-4),

3.85 (dd, 1H, H-3), 3.77 - 3.69 (m, 4H, H-2, H-5, H-6, H-6'), 3.59 (d, 1H, ZuO-CHH),

3.47 (bt, 2H, CH_2OH), 3.26 (d, 1H, ZuO-CHH), 1.89 (bs, 1H, OH), 1.64 (dt, 1H,

CHHCH_2OH), 1.54 (dt, 1H, CHHCH_2OH) ppm;

$^3J_{1,2} = 2.0$, $^3J_{2,3} = 3.1$, $^3J_{3,4} = 9.1$, $^2J_{a,a'} = 12.0$, $^3J_{c,d} = ^3J_{c',d'} = 6.1$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.36$, 138.26, 138.15, 128.37, 128.35, 128.33,

128.32, 128.04, 127.85, 127.81, 127.73, 127.66, 127.61, 127.57 (C_{Bn}), 97.88 (C-1),

79.83 (C-3), 75.09 (BnCH_2), 74.74 (C-4), 74.59 (C-3), 73.37 (BnCH_2), 72.80 (BnCH_2),

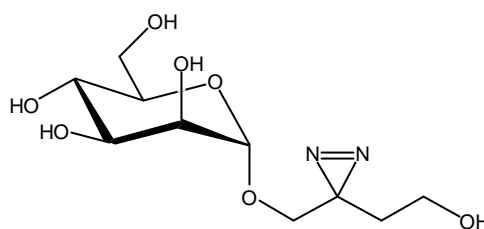
72.31 (BnCH₂), 72.26 (C-5), 69.25 (C-6), 68.78 (ZuO-CH₂), 57.25 (CH₂OH), 33.94 (CH₂CH₂OH), 26.36 (C(NN)) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 633.48$ [M+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 633.28$) für C₃₈H₄₂NaO₇,
 $m/z = 649.43$ [M+K-N₂]⁺ (ber. $m/z = 649.23$) für C₃₈H₄₂KO₇;

ESI-MS: $m/z = 661.2912$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 661.2884$) für C₃₈H₄₂N₂NaO₇.

(2-Azi-4-hydroxybutyl)- α -D-mannopyranosid (**14**)

50 mg (0.11 mmol) **16** wurden in 2 mL MeOH gelöst und mit 0.5 mL konz. Salzsäure versetzt und 1 h bei RT gerührt. Nach abgeschlossener Reaktion wurde mit Merck Ionentauscher III (stark basisch, OH⁻-Form) neutralisiert. Nach Lyophilisation verblieb ein farbloser Feststoff.



Ausbeute: 26.5 mg (0.095 mmol; $M = 278.26 \text{ g mol}^{-1}$), 91%;

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.54;

$[\alpha]_D^{20} = +68.4^\circ$ ($c = 0.74$, MeOH);

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): $\delta = 4.75$ (d, 1H, H-1), 3.86 (dd, 1H, H-6'), 3.82 (dd, 1H, H-2), 3.72 (dd, 1H, H-6), 3.69 (dd, 1H, H-3), 3.64 (d, 1H, Zu-OCH₂H), 3.63 (t, 1H, H-4), 3.51 (t, 2H, CH₂OH), 3.49 (ddd, 1H, H-5), 3.41 (d, 1H, Zu-OCH₂H), 1.68 (dt, 1H, CH₂CH₂OH) ppm;

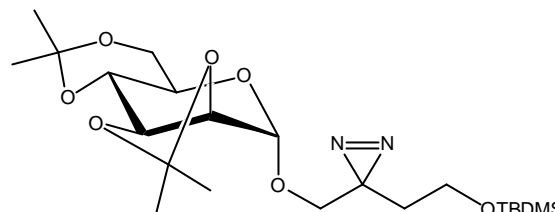
³J_{1,2} = 1.8, ³J_{2,3} = 3.4, ³J_{3,4} = 9.6, ³J_{4,5} = 9.6, ³J_{5,6} = 6.0 Hz, ³J_{5,6'} = 2.4, ²J_{6,6'} = 11.8, ²J_{OCH₂H} = 11.9, ³J_{CH₂HCH₂OH} = 6.4 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CD₃OD): $\delta = 101.28$ (C-1), 75.02 (C-5), 72.46 (C-3), 71.88 (C-2), 69.34 (Zu-OCH₂), 68.45 (C-4), 62.87 (C-6), 57.53 (CH₂OH), 34.77 (CH₂CH₂OH), 27.48 (C(NN)) ppm;

ESI-MS: $m/z = 273.0939$ [M+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 273.0951$) für C₁₀H₁₈NaO₇,
 301.1011 [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 301.1006$) für C₁₀H₁₈N₂NaO₇.

[2-Azi-4-O-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)butyl]-2,3:4,6-diisopropyliden-a-D-mannopyranosid (16)

3.80 g (8 mmol) **21** wurden in 20 mL abs. MeOH und 5 mL abs. DCM gelöst und auf – 50 °C gekühlt. Nun wurden 100 mL Ammoniak einkondensiert und über 4 h bei – 20 °C gerührt. Erneut wurde auf – 50 °C



gekühlt und 1.13 g (10 mmol) Hydroxylamin-O-sulfonsäure suspendiert in abs. MeOH zur Lösung getropft. Über Nacht wurde bei RT gerührt, wobei der Großteil des Ammoniaks verdampfte. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat eingengt bis der Geruch von Ammoniak nahezu vollständig verschwunden war. Der Rückstand wurde in 20 mL MeOH aufgenommen und mit 8 mL Triethylamin versetzt. Bei 0 °C wurden dann eine 10%ige methanolische Iod-Lösung bis zur dauerhaften Braunfärbung hinzugegeben. Die Lösung wurde erneut eingengt und der Rückstand in Diethylether/Wasser aufgenommen und durch Schütteln mit Natriumthiosulfat-Lösung entfärbt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 15 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 2.20 g (5 mmol; $M = 472.65 \text{ g mol}^{-1}$), 58%;

R_f (CH/EE = 8 : 1) = 0.32;

$[\alpha]_D^{20} = + 14.4^\circ$ ($c = 0.98$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.94$ (s, 1H, H-1), 4.16 - 4.08 (m, 2H, H-2, H-3), 3.85 (dd, 1H, H-6), 3.77 - 3.67 (m, 2H, H-4, H-6'), 3.55 - 3.44 (m, 4H, ZuO-CHH, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$, H5), 3.40 (d, 1H, ZuO-CHH), 1.60 (dq, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 1.53, 1.50, 1.42, 1.34 (je s, je 3H, 4 ipr- CH_3), 0.90 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.06 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

$^3J_{2,3} = 6.0$, $^3J_{3,4} = 7.3$, $^3J_{4,5} = 10.2$, $^3J_{5,6} = 5.7$, $^2J_{6,6'} = 10.9$, $^2J_{\text{ZuOCHH}} = 11.8$, $^3J_{\text{CHHCHH}} = 6.1$, $^2J_{\text{CHH-OTBDMS}} = 10.8$ Hz;

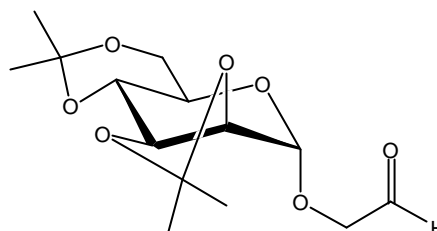
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 109.49$ (2,3-ipr- C_q), 99.69 (4,6-ipr- C_q), 97.62

(C-1), 75.72 (C-2), 74.69 (C-3), 72.52 (C-4), 68.97 (ZuO-CH₂), 61.91 (C-6), 61.55 (C-5), 57.64 (CH₂OTBDMS), 34.01 (CH₂CH₂OTBDMS), 29.00, 28.15, 26.12, 18.74 (4 ipr-CH₃), 26.50 (C(NN)), 25.84 (C(CH₃)₃), 18.18 (C(CH₃)₃), -5.47, -5.48 (Si(CH₃)₂) ppm;

MS (CI): $m/z = 473.4$ [M+H]⁺ (ber. $m/z = 473.27$) für C₂₂H₄₁N₂O₇Si.

(2-Oxoethyl)-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (17)

3.50 g (12 mmol) **15**⁴⁴ wurden in 20 mL abs. DCM/abs. MeOH (1 : 1) gelöst und auf -78 °C gekühlt. Nach 5 min O₂-Einleitung wurde für 30 min Ozon in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O₂-Einleitung und 5 min Argon-Einleitung wurden



6 mL Dimethylsulfid der kalten Lösung hinzugefügt und bei RT über Nacht gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 1 : 1) das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 3.10 g (10 mmol; M = 302.32 g mol⁻¹), 88%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.35;

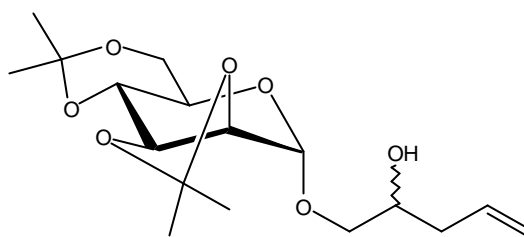
$[\alpha]_D^{20} = +11.3^\circ$ (c = 1.5, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 9.71$ (t, 1H, C(O)H), 5.09 (s, 1H, H-1), 4.32 (d, 1H, H-2), 4.24 (d, 2H, ZuO-CH₂), 4.20 (dd, 1H, H-3), 3.86 (dd, 1H, H-6), 3.80 - 3.70 (m, 2H, H-4, H-6'), 3.63 (dt, 1H, H-5), 1.56, 1.52, 1.43, 1.37 (je s, je 3H, 4 ipr-CH₃) ppm; ³J_{2,3} = 5.8, ³J_{3,4} = 8.0, ³J_{4,5} = 10.1, ³J_{5,6} = 5.6, ²J_{6,6'} = 10.8 Hz, ³J_{CHHC(O)H} = 0.7 Hz;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 198.64$ (C=O), 109.64 (2,3-ipr-C_q), 99.77 (4,6-ipr-C_q), 98.57 (C-1), 75.61, 74.70, 72.40 (C-2, C-3, C-4), 72.75 (ZuO-CH₂), 61.98 (C-5), 61.79 (C-6), 28.98, 28.11, 26.09, 18.74 (4 ipr-CH₃) ppm.

(2-Hydroxy-4-pentenyl)-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (18)

8.0 g (0.33 mol) Magnesium wurden unter Argon-Atmosphäre mit abs. Diethylether überschichtet und zum Start der Reaktion wurde ein Tropfen Allylbromid hinzugefügt. Nachdem die Reaktion angesprungen war,



wurden 18.6 mL (26.6 g, 0.22 mol) Allylbromid, gelöst im gleichen Volumen abs. Diethylether, unter Eiskühlung so hinzugetropft, dass der Ether gelinde siedete. Die Reaktionslösung wurde dann für 1.5 h bei RT weiter gerührt. Anschließend wurden 9.34 g (31 mmol) **17**, gelöst in 30 mL abs. Diethylether, zu der Grignard-Lösung hinzugetropft und die Reaktionslösung für weitere 1.5 bei RT rühren gelassen. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung abgebrochen. Nachdem das überschüssige Magnesium gelöst war, wurde die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 8.56 g (25 mmol; 344.90 g mol⁻¹), 80%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.38;

[α]_D²⁰ = + 4.5° (c = 1.8, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): (Diastereomerengemisch) δ = 5.91 - 5.75 (m, 2H, CH^{d1}=CH₂, CH^{d2}=CH₂), 5.20 - 5.12 (m, 2H, CH=CH₂^{d1}, CH=CH₂^{d2}), 5.05 (m_c, 2H, H-1^{d1}, H-1^{d2}), 4.25 - 4.20 (m, 2H, H-2^{d1}, H-2^{d2}), 4.20 - 4.14 (m, 2H, H-3^{d1}, H-3^{d2}), 3.92 - 3.82 (m, 4H, CH^{d1}OH, CH^{d2}OH, H6^{d1}, H-6^{d2}), 3.81 - 3.69 (m, 5H, H4^{d1}, H4^{d2}, H-6^{d1}, H-6^{d2}, ZuO-CH_a^{d1}H_a), 3.66 - 3.49 (m, 3H, H5, H5*, ZuO-CH_a^{d2}H_a^{d2}), 3.35 (dd, 1H, ZuO-CH_aH_a^{d1}), 2.33 - 2.21 (m, 6H, CH₂^{d1}CH=CH₂, CH₂^{d2}CH=CH₂, OH^{d1}, OH^{d2}), 1.56, 1.52, 1.43, 1.36 (je s, je 6H, 8 ipr-CH₃) ppm;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): (Diastereomerengemisch) δ = 133.88, 133.71 (C^{d1}H=CH₂, C^{d2}H=CH₂), 118.27, 118.21 (CH=C^{d1}H₂, CH=C^{d2}H₂), 109.54, 109.53 (2,3-ipr-C_q^{d1}, 2,3-ipr-C_q^{d2}), 99.74, 99.73 (4,6-ipr-C_q^{d1}, 4,6-ipr-C_q^{d2}), 98.48, 98.17 (C-1^{d1}, C-1^{d2}), 75.98, 75.92 (C-2^{d1}, C-2^{d2}), 74.83, 74.82 (C-3^{d1}, C-3^{d2}), 72.61, 72.58

(C-4^{d1}, C-4^{d2}), 71.81, 71.66 (ZuO-C^{d1}H₂, ZuO-C^{d2}H₂), 69.66, 69.44 (C^{d1}-OH, C^{d2}-OH), 62.00, 61.97 (C-6^{d1}, C-6^{d2}), 61.66, 61.59 (C-5^{d1}, C-5^{d2}), 38.00, 37.90 (C^{d1}H₂CH=CH₂, C^{d2}H₂CH=CH₂), 29.02, 29.01, 28.12, 26.12, 18.77 (8 ipr-CH₃) ppm.

(2,4-Dihydroxybutyl)-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (19)

8.56 g (25 mmol) **18** wurden in 30 mL abs.

Methanol gelöst und auf – 78 °C gekühlt.

Nach 5 min O₂-Einleitung wurde für 1 h Ozon

in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min

O₂-Einleitung und 5 min Argon-Einleitung

wurden 7.5 g (0.20 mol) Natriumborhydrid portionsweise der kalten Lösung

hinzugefügt und für zwei weitere Stunden in der Kälte und bei RT über Nacht gerührt.

Die Reduktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung und etwas

Eisessig abgebrochen. Nach Einengen der Reaktionslösung wurde der Rückstand in

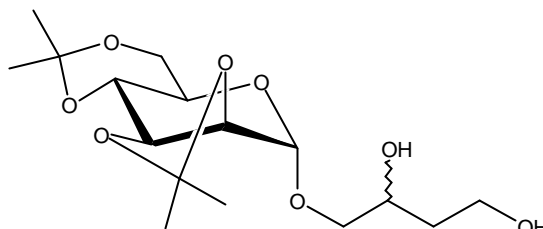
Wasser/DCM aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert,

die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über

Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Auf eine säulenchromatographische

Aufarbeitung konnte aufgrund der sauberen Reaktion verzichtet werden. Nach

Entfernung des Lösungsmittels verblieb ein amorpher farbloser Feststoff.



Ausbeute: 6.43 g (19 mmol; M = 348.39 g mol⁻¹), 74%;

R_f (EE/CH = 2 : 1) = 0.16;

[α]_D²⁰ = + 4.9° (c = 0.88, CHCl₃);

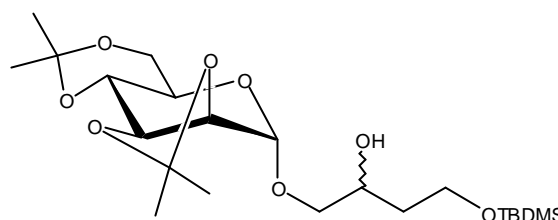
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): (Diastereomerenmischung) δ = 4.99, 4.98 (je bs, je 1H, H-1^{d1}, H-1^{d2}), 4.15 (m, 2H, H-2^{d1}, H-2^{d2}), 4.09 (m, 2H, H-3^{d1}, H-3^{d2}), 4.02 - 3.94 (m, 2H, CH_b^{d1}OH, CH_b^{d2}OH), 3.84 - 3.75 (m, 6H, H-6^{d1}, H-6^{d2}, CH₂^{d1}OH, CH₂^{d2}OH), 3.72 - 3.66 (m, 4H, H-4^{d1}, H-4^{d2}, H-6^{d1}, H-6^{d2}), 3.63 (dd, 1H, ZuO-CH_a^{d1}), 3.58 (dd, 1H, ZuO-CH_a^{d2}), 3.55 - 3.47 (m, 2H, H-5^{d1}, H-5^{d2}), 3.44 (dd, 1H, ZuO-CH_a^{d1}), 3.32 (dd, 1H, ZuO-CH_a^{d2}), 1.69 - 1.61 (m, 4H, CH₂^{d1}CH₂OH, CH₂^{d2}CH₂OH), 1.48, 1.45, 1.36, 1.29 (je s, je 6H, 8 ipr-CH₃) ppm;

²J_{a,a'} = ²J_{a*,a*} = 10.1, ³J_{a(d1),b} = 3.5, ³J_{a(d2),b} = 6.6 Hz;

^{13}C -NMR (125.75 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 109.54, 109.53$ (2,3-*ipr*- C_q^{d1} , 2,3-*ipr*- C_q^{d2}), 99.76 (4,6-*ipr*- C_q^{d1} , 4,6-*ipr*- C_q^{d2}), 98.45, 98.11 ($\text{C}-1^{d1}$, $\text{C}-1^{d2}$), 75.93, 75.86 ($\text{C}-2^{d1}$, $\text{C}-2^{d2}$), 74.79, 74.78 ($\text{C}-3^{d1}$, $\text{C}-3^{d2}$), 72.58, 72.56 ($\text{C}-4^{d1}$, $\text{C}-4^{d2}$), 72.32, 72.27 ($\text{ZuO}-\text{CH}_2^{d1}$, $\text{ZuO}-\text{CH}_2^{d2}$), 70.09, 69.90 ($\text{C}^{d1}-\text{OH}$, $\text{C}^{d2}-\text{OH}$), 61.97, 61.94 ($\text{C}-6^{d1}$, $\text{C}-6^{d2}$), 61.63, 61.59 ($\text{C}-5^{d1}$, $\text{C}-5^{d2}$), 60.86, 60.79 ($\text{C}^{d1}\text{H}_2\text{OH}$, $\text{C}^{d2}\text{H}_2\text{OH}$), 34.76, 34.65 ($\underline{\text{C}}^{d1}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\underline{\text{C}}^{d2}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 28.99, 28.97, 28.10, 26.09, 18.75 (8 *ipr*- CH_3) ppm.

[2-Hydroxy-4-*O*-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)butyl]-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (20)

6.40 g (18 mmol) **19** wurden in trockenem Pyridin gelöst und bei 0 °C mit 2.91 g (19 mmol) TBDMS-Cl versetzt und bei RT für 4 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 mL MeOH abgebrochen.



Nach Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 4 : 1 \rightarrow 3 : 1) zu einem gelblichen Sirup.

Ausbeute: 4.10 g (9 mmol; $M = 462.65 \text{ g mol}^{-1}$), 48%;

R_f (CH/EE = 3 : 1) = 0.30;

$[\alpha]_D^{20} = +5.4^\circ$ ($c = 1.09$, CHCl_3);

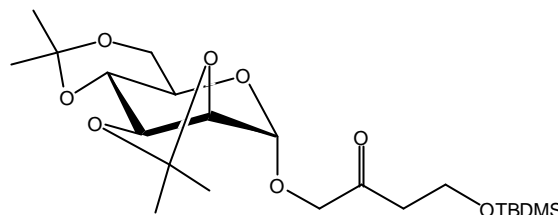
^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 5.02, 5.01$ (je bs, je 1H, $\text{H}-1^{d1}$, $\text{H}-1^{d2}$), 4.21 - 4.16 (m, 2H, $\text{H}-2^{d1}$, $\text{H}-2^{d2}$), 4.15 - 4.10 (m, 2H, $\text{H}-3^{d1}$, $\text{H}-3^{d2}$), 4.01 - 3.93 (m, 2H, $\underline{\text{C}}\text{H}^{d1}\text{OH}$, $\underline{\text{C}}\text{H}^{d2}\text{OH}$), 3.90 - 3.83 (m, 2H, $\text{H}-6^{d1}$, $\text{H}-6^{d2}$), 3.80 - 3.64 (m, 8H, $\text{H}-4^{d1}$, $\text{H}-4^{d2}$, $\text{H}-6^{d1}$, $\text{H}-6^{d2}$, $\text{CH}_2^{d1}\text{OTBDMS}$, $\text{CH}_2^{d2}\text{OTBDMS}$), 3.64 - 3.52 (m, 4H, $\text{H}-5^{d1}$, $\text{H}-5^{d2}$, $\text{ZuO}-\text{CH}_a^{d1}$, $\text{ZuO}-\text{CH}_a^{d2}$), 3.38 - 3.30 (m, 2H, $\text{ZuO}-\text{CH}_a^{d1}$, $\text{ZuO}-\text{CH}_a^{d2}$), 1.77 - 1.63 (m, 4H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2^{d1}\text{CH}_2\text{OTBDMS}$, $\underline{\text{C}}\text{H}_2^{d2}\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 1.52, 1.43, 1.36, 1.25 (je bs, je 6H, 8 *ipr*- CH_3), 0.89 (s, 18H, $\text{C}(\text{CH}_3^{d1})_3$, $\text{C}(\text{CH}_3^{d2})_3$), 0.05 (s, 12H, $\text{Si}(\text{CH}_3^{d1})_2$, $\text{Si}(\text{CH}_3^{d1})_2$) ppm.

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): (Diastereomerengemisch) $\delta = 109.44, 109.42$ (2,3-*ipr*- C_q^{d1} , 2,3-*ipr*- C_q^{d2}), 99.68, 99.63 (4,6-*ipr*- C_q^{d1} , 4,6-*ipr*- C_q^{d2}), 98.06, 98.00 ($\text{C}-1^{d1}$, $\text{C}-1^{d2}$), 76.00, 75.93 ($\text{C}-2^{d1}$, $\text{C}-2^{d2}$), 74.93, 74.88 ($\text{C}-3^{d1}$, $\text{C}-3^{d2}$), 72.72 ($\text{C}-4^{d1}$,

C-4^{d2}), 72.34, 72.08 (ZuO-C^{d1}H₂, ZuO-C^{d2}H₂), 68.38, 68.33 (C^{d1}-OH, C^{d2}-OH), 62.07 (C-6^{d1}, C-6^{d2}), 61.31, 61.28 (C-5^{d1}, C-5^{d2}), 59.28, 59.21 (C^{d1}H₂OTBDMS, C^{d2}H₂OTBDMS), 37.79, 34.77 (C^{d1}H₂CH₂OTBDMS, C^{d2}H₂CH₂OTBDMS), 29.04, 28.23, 28.21, 26.16, 26.12, 18.78 (8 ipr-CH₃), 25.93 (C(C^{d1}H₃)₃, C(C^{d2}H₃)₃), 18.72 (C^{d1}(CH₃)₃, C^{d2}(CH₃)₃), -4.77, -4.81 (Si(C^{d1}H₃)₂, Si(C^{d2}H₃)₂) ppm.

[2-Oxo-4-O-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)butyl]-2,3:4,6-diisopropyliden-a-D-mannopyranosid (21)

Zu einer Lösung von 830 μ L (1.21 g, 10 mmol) Oxalylchlorid in 15 mL abs. DCM bei -55 °C wurden unter Gasentwicklung 1.3 mL (1.49 g, 19 mmol) trockenes DMSO,



gelöst im doppelten Volumen abs. DCM, langsam zugetropft. Nach 5 min wurden 4.0 g (9 mmol) **20**, gelöst in 15 mL abs. DCM, zur Reaktionslösung getropft. Nach 15 min Rühren wurden in der Kälte 10 mL Triethylamin zur Lösung gegeben und die Lösung auf RT erwärmt. Die organische Phase wurde einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels verblieb das Produkt als hellbrauner Sirup. Auf eine weitere Aufarbeitung wurde aufgrund der NMR-Reinheit des Produkts abgesehen.

Ausbeute: 3.85 g (8 mmol; $M = 460.63 \text{ g mol}^{-1}$), 97%;

R_f (CH/EE = 4 : 1) = 0.26;

$[\alpha]_D^{20} = +20.2^\circ$ ($c = 1.3$, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 5.07$ (s, 1H, H-1), 4.33 (d, 1H, H-2), 4.28 - 4.24 (m, 2H, ZuO-CHH), 4.19 (dd, 1H, H-3), 3.93 - 3.81 (m, 3H, CH₂CH₂OTBDMS, H-6), 3.78 - 3.70 (m, 2H, H-4, H-6'), 3.61 (dt, 1H, H-5), 2.59 (t, CH₂CH₂OTBDMS), 1.55, 1.52, 1.43, 1.37 (je s, je 3H, 4 ipr-CH₃), 0.88 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.06 (s, 6H, Si(CH₃)₂) ppm; ³J_{2,3} = 5.7, ³J_{3,4} = 7.6, ³J_{4,5} = 10.1, ³J_{5,6} = 5.7, ²J_{6,6'} = 10.6, ³J_{CHHCHH} = 6.1 Hz;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 205.76$ (C=O), 109.54 (2,3-ipr-C_q), 99.70 (4,6-ipr-C_q), 98.00 (C-1), 75.71, 74.70, 72.53 (C-2, C-3, C-4), 72.56 (ZuO-CH₂), 61.91 (C-6), 61.81 (C-5), 58.65 (CH₂CH₂OTBDMS), 42.22 (CH₂CH₂OTBDMS), 29.01,

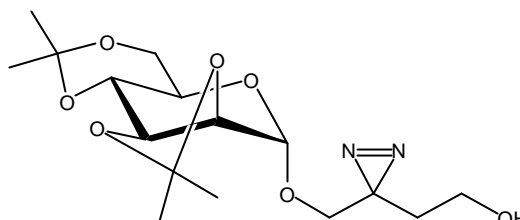
28.15, 26.13, 18.77 (4 ipr-CH₃), 25.85 (C(CH₃)₃), 18.72 (C(CH₃)₃), -5.51, -5.52 (Si(CH₃)₂) ppm;

MS (EI): $m/z = 460.1$ [M]⁺ (ber. $m/z = 460.25$) für C₂₂H₄₀O₈Si;

MS (CI): $m/z = 461.2$ [M+H]⁺ (ber. $m/z = 461.2$) für C₂₂H₄₁O₈Si.

(2-Azi-4-hydroxybutyl)-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (22)

100 mg (0.21 mmol) **16** wurden in 5 mL TFA/Wasser = 9 : 1 aufgenommen. Nach einminütigem Stehen wurde die Reaktionslösung bei RT im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde zweimal mit Toluol



codestilliert und anschließend in 4 mL DMP/Aceton = 1 : 1 aufgenommen und mit einem Spatel *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Die Reaktion musste nach 0.5 h durch Zugabe eines Löffels Natriumcarbonats abgebrochen werden, da sich das verbrückte Dimer zu bilden begann. Die Lösung wurde eingeeengt und in Wasser/Ether aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt, die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 54.2 mg (0.10 mmol; $M = 358.17 \text{ g mol}^{-1}$), 72%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.20;

$[\alpha]_D^{20} = +13.9^\circ$ ($c = 1.88$, CHCl₃);

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.96$ (s, 1H, H1), 4.17 - 4.10 (m, 2H, H2, H3), 3.85 (dd, 1H, H6), 3.74 - 3.68 (m, 1H, H4, H6'), 3.54 (t, 2H, CH₂OH), 3.52 - 3.47 (m, 2H, ZuO-CHH, H5), 3.37 (d, 1H, ZuO-CHH), 1.93 (bs, 1H, OH), 1.74 - 1.63 (m, 2H, CH₂CH₂OH), 1.52, 1.49, 1.40, 1.34 (je s, je 3H, 74 (4 ipr-CH₃) ppm;

³J_{1,2} \approx 0, ³J_{2,3} = 5.7, ³J_{3,4} = 7.7, ³J_{5,6} = 5.7 Hz, ³J_{5,6'} = 2.6, ²J_{6,6'} = 10.9, ²J_{ZuOCHH} = 11.9, ³J_{CHHCHHOH} = 6.0 Hz;

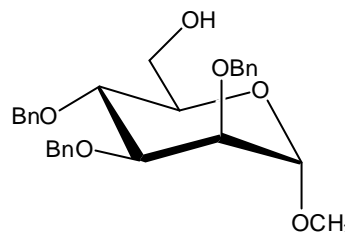
¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): $\delta = 109.58$ (2,3-ipr-C_q), 99.74 (4,6-ipr-C_q), 97.78 (C-1), 75.70 (C-2), 74.70 (C-3), 72.45 (C-4), 68.38 (ZuO-CH₂), 61.88 (C-6), 61.71 (C-5), 57.18 (CH₂OTBDMS), 33.80 (CH₂CH₂OH), 28.96, 28.10, 26.11, 18.74 (74 (4 ipr-

CH₃), 26.50 (C(NN)) ppm;

ESI-MS = $m/z = 381.1613$ [$M+Na$]⁺ (ber. $m/z = 381.1632$) für C₁₆H₂₆N₂NaO₇.

Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (27)

10.2 g (0.26 mol) gemörsertes Natriumhydroxid wurden in 40 mL DMSO suspendiert und mäßig gekühlt. Zu der Suspension wurden 7.0 g (0.016 mol) **25**⁵¹ gelöst in 20 mL DMSO gegeben und anschließend 9.2 mL (10.2 g, 0.08 mol) Benzylchlorid hinzugefügt. Nach 5 min wurde



die Kühlung entfernt und bei RT für 3 h weitergerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Eis gegossen und das Produkt mit Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen dreimal mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt war noch mit ebenfalls bei der Reaktion entstehendem Dibenzylether verunreinigt. Dessen Abtrennung war nach der Detritylierung jedoch einfacher, sodass an dieser Stelle auf eine weitere Aufreinigung verzichtet wurde.

11.3 g Reaktionsmischung wurden in 20 mL Diethylether und 20 mL konz. Salzsäure gelöst und für 3 h bei RT gerührt. Die organische Phase wurde bis zur Neutralität mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 4.72 g (0.01 mol; $M = 464.55 \text{ g mol}^{-1}$), 64% (bezogen auf **25**);

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.26;

$[\alpha]_D^{20} = +23.3^\circ$ ($c = 1.25$, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.39 - 7.26$ (m, 15 H, H_{Ar}), 4.94 (d, 1H, BnCHH), 4.78 (d, 1H, BnCHH), 4.72 - 4.62 (m, 5H, H-1, BnCH₂), 4.01 - 3.77 (m, 5H, H-2, H-3, H-4, H-6, H-6'), 3.62 (ddd, 1H, H-5), 3.30 (s, 3H, OCH₃), 2.49 (bs, 1H, OH) ppm;

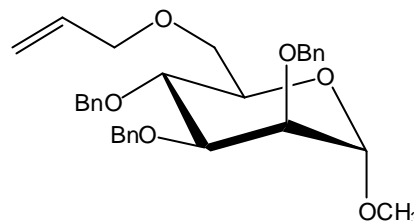
³J_{1,2} = 1.4, ³J_{3,4} = 9.4, ³J_{4,5} = 9.4, ³J_{5,6} = 4.4, ³J_{5,6'} = 3.0, ²J_{6,6'} = 12.2 Hz;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 138.42, 138.36, 138.18, 128.54, 128.41, 128.39, 128.38, 128.03, 127.86, 127.73, 127.57, 126.97$ (C_{Bn}), 99.28 (C-1), 74.81, 74.59,

72.18, 71.98 (C-2, C-3, C-4, C-5), 75.20, 72.93, 72.18 (3 BnCH₂), 62.37 (C-6), 54.76 (OCH₃) ppm.

Methyl-6-O-allyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (29)

8.0 g (17 mmol) **27** und 5.5 g (17 mmol) TBABr wurden in 100 mL 33%iger wässriger Natriumhydroxid-Lösung gelöst und mit 7.3 mL (10.4 g, 86 mmol, 5 eq.) Allylbromid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf 40 °C erhitzt und für 4.5 h stark gerührt. Anschließend wurden 150 mL Toluol hinzugegeben und die Phasen separiert. Die organische Phase wurde neutral gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 6 : 1) lieferte einen farblosen Sirup.



Ausbeute: 8.1 g (16 mmol; M = 504.61 g mol⁻¹), 93%;

R_f (CH/EE = 2 : 1 = 0.62);

[α]_D²⁰ = + 25.6° (c = 1.08, CHCl₃);

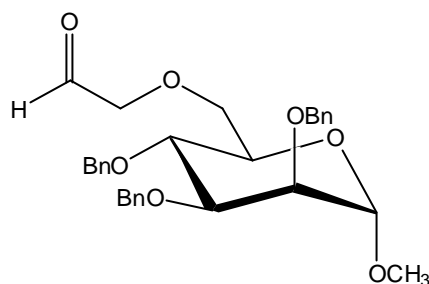
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.40 - 7.25 (m, 15H, H_{Bn}), 5.93 (dddd, 1H, CH=CH₂), 5.28 (dq, 1H, CH=CHH), 5.16 (dq, 1H, CH=CHH), 4.94 (d, 1H, BnCHH), 4.76 (d, 1H, H-1), 4.72 (s, 2H, BnCH₂), 4.64 - 4.58 (m, 3H, BnCH₂), 4.10 (dt, 1H, CHHCH=CH₂), 4.01 (dt, 1H, CHHCH=CH₂), 3.96 (t, 1H, H-4), 3.87 (dd, 1H, H-3), 3.78 (dd, 1H, H-2), 3.74 - 3.69 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.31 (s, 3H, OCH₃) ppm;

³J_{1,2} = 1.8, ³J_{2,3} = 3.0, ³J_{3,4} = 9.2, ³J_{4,5} = 9.2, ²J_{gem} = 1.7, ³J_{cis} = 10.4, ³J_{trans} = 17.2 Hz;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 138.61, 138.53, 138.31, 128.34, 128.33, 128.30, 127.91, 127.84, 127.59, 127.58, 127.57, 127.51 (C_{Bn}), 134.88 (CH=CH₂), 116.88 (CH=CH₂), 98.91 (C-1), 80.18, 74.94, 74.43, 71.51 (C-2, C-3, C-4, C-5), 75.10, 72.53, 72.05 (3 BnCH₂), 72.39 (CH₂CH=CH₂), 69.31 (C-6), 54.71 (OCH₃) ppm.

Methyl-6-O-(2-oxoethyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (30)

9.0 g (0.18 mol) **29** wurden in 50 mL abs. DCM/ abs. MeOH = 1 : 1 gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Nach 5 min O_2 -Einleitung wurde für 1 h Ozon in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O_2 -Einleitung und 5 min Argon-Einleitung wurden 10 mL Dimethylsulfid der kalten Lösung hinzugefügt und



bei RT über Nacht gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 8.54 g (0.017 mol; $M = 506.59\text{ g mol}^{-1}$), 94%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.25;

$[\alpha]_D^{20} = +26.1^{\circ}$ ($c = 0.77$, CHCl_3);

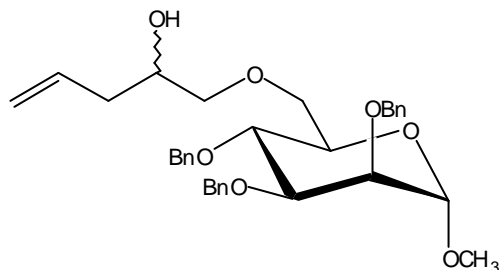
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 9.72$ (t, 1H, CHO), 7.40 - 7.26 (m, 15H, H_{Bn}), 4.96 (d, 1H, BnCHH), 4.74 - 4.60 (m, 6H, H-1, BnCH_2), 4.14 (dd, 1H, CHHCHO), 4.06 (dd, 1H, CHHCHO), 4.01 (t, 1H, H-4), 3.93 - 3.84 (m, 2H, H-2, H-3), 3.80 - 3.67 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.31 (s, 3H, OCH_3) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.4$, $^3J_{2,3} = 3.0$, $^3J_{3,4} = 9.6$, $^3J_{4,5} = 9.6$, $^3J_{5,6} = 5.0$, $^3J_{5,6'} = 1.7$, $^2J_{6,6'} = 12.2$, $^2J_{\text{CHHCHO}} = 17.8$, $^3J_{\text{CHHCHO}} = 1.1$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 201.74$ (CHO), 138.45, 138.40, 138.18, 128.39, 128.37, 128.35, 127.98, 127.87, 127.70, 127.68, 127.59, 127.58 (C_{Bn}), 99.04 (C-1), 80.09, 74.37, 74.30, 71.77 (C-2, C-3, C-4, C-5), 77.18 (CH_2CHO), 75.10, 72.67, 72.06 (BnCH_2), 71.00 (C-6), 54.85 (OCH_3) ppm.

Methyl-6-O-(2'-hydroxypentenyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (31)

4.0 g (0.17 mol) Magnesium wurden unter Argon-Atmosphäre mit abs. Diethylether überschichtet und es wurde ein Tropfen Allylbromid zum Start der Reaktion hinzugefügt. Nachdem die Reaktion



angesprungen war, wurden 9.4 mL (13.4 g, 0.11 mol) Allylbromid, gelöst im gleichen Volumen abs. Diethylether, unter Eiskühlung so hinzugetropft, dass der Ether gelinde

siedete. Die Reaktionslösung wurde dann für 1.5 h bei RT weiter gerührt. Anschließend wurden 8.0 g (16 mmol) **30**, gelöst in 20 mL abs. Diethylether, zu der Grignard-Lösung hinzugegeben und für weitere 1.5 bei RT rühren gelassen. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid-Lösung abgebrochen. Nachdem das überschüssige Magnesium gelöst war, wurde die wässrige Phase zweimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 6.3 g (0.011 mol; $M = 548.67 \text{ g mol}^{-1}$), 71%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.26;

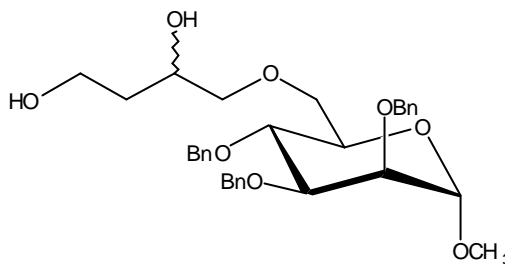
$[\alpha]_D^{20} = +26.5^\circ$ ($c = 1.53$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerengemisch) 7.39 - 7.26 (m, 30H, H_{Bn}), 5.83 (dddd, 1H, $\text{CH}^{\text{d1}}=\text{CH}_2$, $\text{CH}^{\text{d2}}=\text{CH}_2$), 5.14 - 5.04 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CH}_2^{\text{d1}}$, $\text{CH}=\text{CH}_2^{\text{d2}}$), 4.94 (d, 2H, $\text{BnCH}^{\text{d1}}\text{H}$, $\text{BnCH}^{\text{d2}}\text{H}$), 4.77 - 4.57 (m, 12H, H-1^{d1} , H-1^{d2} , 5 BnCH_2), 4.02 - 3.65 (m, 14H, H-2^{d1} , H-2^{d2} , H-3^{d1} , H-3^{d2} , H-4^{d1} , H-4^{d2} , H-5^{d1} , H-5^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , $\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 3.57 (dd, 2H, $\text{ZuO-CH}^{\text{d1}}$, ZuOCH^{d2}), 3.40 (t, 2H, $\text{ZuO-CHH}^{\text{d1}}$, $\text{ZuO-CHH}^{\text{d2}}$), 3.30 (s, 6H, OCH_3^{d1} , OCH_3^{d2}), 2.27 - 2.20 (m, 4H, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{CH}=\text{CH}_2$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerengemisch) 138.50, 138.42, 138.19, 138.16, 128.36, 128.35, 127.89, 127.88, 127.83, 127.68, 127.67, 127.64, 127.63, 127.59, 127.55 (C_{Bn}), 134.50, 134.45 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}=\text{CH}_2$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}=\text{CH}_2$), 117.40, 117.32 ($\text{CH}=\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{CH}=\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 98.97, 98.92 (C-1^{d1} , C-1^{d2}), 80.04, 80.03, 74.77, 74.71, 74.39, 74.33, 71.62, 71.59 (C-2^{d1} , C-2^{d2} , C-3^{d1} , C-3^{d2} , C-4^{d1} , C-4^{d2} , C-5^{d1} , C-5^{d2}), 75.61, 75.54 ($\text{ZuO-C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{ZuO-C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 75.14, 75.11, 72.65, 72.64, 72.08, 72.04 (6 BnCH_2), 70.64, 70.48 (C-6^{d1} , C-6^{d2}), 69.73, 69.65 ($\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 54.81, 54.79 ($\text{OC}^{\text{d1}}\text{H}_3$, $\text{OC}^{\text{d2}}\text{H}_3$), 37.71, 37.69 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ppm.

Methyl-6-O-(2',4'-dihydroxybutyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (32)

6.10 g (25 mmol) **31** wurden in 30 mL abs. Methanol gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Nach 5 min O_2 -Einleitung wurde für 1 h Ozon in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O_2 -Einleitung und 5 min Argon-Einleitung wurden



7.5 g (0.20 mol) Natriumborhydrid portionsweise der kalten Lösung hinzugefügt und für 2 h weitere Stunden in der Kälte und bei RT über Nacht gerührt. Die Reduktion wurde durch Zugabe von 10 mL Eisessig abgebrochen. Nach Einengen der Reaktionslösung wurde der Rückstand in Wasser/DCM aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 5 : 2) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 5.10 g (9 mmol; $M = 552.66\text{ g mol}^{-1}$), 83%, Diastereomerengemisch;

R_f (EE/CH = 3 : 1) = 0.20;

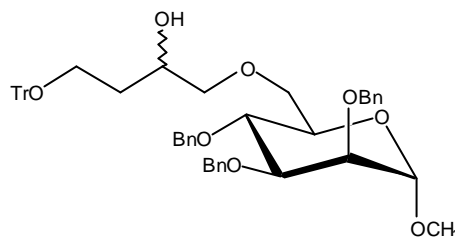
$[\alpha]_D^{20} = +23.2^{\circ}$ ($c = 0.28$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerengemisch) 7.40 - 7.26 (m, 30H, H_{Bn}), 4.94 (d, 2H, $\text{BnCH}^{\text{d1}}\text{H}$, $\text{BnCH}^{\text{d2}}\text{H}$), 4.79 - 4.58 (m, 12H, H-1^{d1} , H-1^{d2} , 5 BnCH_2), 4.05 - 3.63 (m, 18H, H-2^{d1} , H-2^{d2} , H-3^{d1} , H-3^{d2} , H-4^{d1} , H-4^{d2} , H-5^{d1} , H-5^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , $\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{OH}$), 3.60 - 3.37 (m, 8H, $\text{ZuO-CH}_2^{\text{d1}}$, $\text{ZuOCH}_2^{\text{d2}}$), 3.30 (s, 6H, OCH_3^{d1} , OCH_3^{d2}), 1.72 - 1.57 (m, 4H, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{CH}_2\text{OH}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerengemisch) 138.46, 138.39, 138.10, 138.07, 128.36, 127.91, 127.88, 127.73, 127.64, 127.58, 127.57 (C_{Ar}), 99.04, 98.99 (C-1^{d1} , C-1^{d2}), 79.99, 79.97, 74.58, 74.44, 74.38, 71.60 (C-2^{d1} , C-2^{d2} , C-3^{d1} , C-3^{d2} , C-4^{d1} , C-4^{d2} , C-5^{d1} , C-5^{d2}), 76.14, 75.96 ($\text{ZuO-C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{ZuO-C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 75.15, 75.11, 72.78, 72.06 (6 BnCH_2), 70.59, 70.25 ($\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 70.40, 70.26 (C-6^{d1} , C-6^{d2}), 61.13, 61.10 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{OH}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{OH}$), 54.85 ($\text{OC}^{\text{d1}}\text{H}_3$, $\text{OC}^{\text{d2}}\text{H}_3$), 34.56, 34.54 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm.

Methyl-6-*O*-(2'-hydroxybutyl-4'-*O*-trityl)-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosid (33)

5.0 g (8.9 mmol) **32** wurden in 50 mL trockenem Pyridin gelöst und bei 0 °C mit 8.0 g (0.03 mol) Tritylchlorid versetzt und für 4 h bei RT gerührt. Nach der Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) zu einem leicht gelblichen Feststoff.



Ausbeute: 5.87 g (7 mmol; $M = 794.97 \text{ g mol}^{-1}$), 77%, Diastereomerenmischung;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.34;

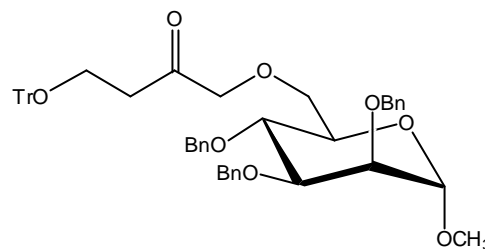
$[\alpha]_D^{20} = +25.4^\circ$ ($c = 0.84$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerenmischung) 7.47 - 7.17 (m, 60H, H_{Ar}), 4.92 ($\text{BnCH}^{\text{d1}}\text{H}$, $\text{BnCH}^{\text{d2}}\text{H}$), 4.75 - 4.55 (m, 12H, H-1^{d1} , H-1^{d2} , 5 BnCH_2), 4.06 - 3.63 (m, 14H, H-2^{d1} , H-2^{d2} , H-3^{d1} , H-3^{d2} , H-4^{d1} , H-4^{d2} , H-5^{d1} , H-5^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , H-6^{d1} , H-6^{d2} , $\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 3.58 - 3.14 (m, 14H, $\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{OTr}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{OTr}$, $\text{ZuO-CH}_2^{\text{d1}}$, $\text{ZuO-CH}_2^{\text{d2}}$, OCH_3^{d1} , OCH_3^{d2}), 1.80 - 1.67 ($\text{CH}_2^{\text{d1}}\text{CH}_2\text{OTr}$, $\text{CH}_2^{\text{d2}}\text{CH}_2\text{OTr}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = (Diastereomerenmischung) 144.11, 144.06, 138.49, 138.48, 138.44, 138.18, 138.15, 128.71, 128.61, 128.59, 128.36, 128.34, 128.33, 128.31, 127.88, 127.87, 127.86, 127.81, 127.80, 127.78, 127.75, 127.65, 127.63, 127.61, 127.58, 127.57, 127.54 (C_{Ar}), 98.92, 98.86 (C-1^{d1} , C-1^{d2}), 86.87, 86.78 (C_q^{d1} , C_q^{d2}), 80.04, 80.01, 74.77, 74.70, 74.37, 74.30, 71.58, 71.54 (C-2^{d1} , C-2^{d2} , C-3^{d1} , C-3^{d2} , C-4^{d1} , C-4^{d2} , C-5^{d1} , C-5^{d2}), 75.99, 75.93 ($\text{ZuO-C}^{\text{d1}}\text{H}_2$, $\text{ZuO-C}^{\text{d2}}\text{H}_2$), 75.12, 75.09, 72.58, 72.06, 72.04 (6 BnCH_2), 70.57, 70.45 (C-6^{d1} , C-6^{d2}), 68.94, 68.61 ($\text{CH}^{\text{d1}}\text{-OH}$, $\text{CH}^{\text{d2}}\text{-OH}$), 61.28, 61.00 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{OTr}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{OTr}$), 54.78 ($\text{OC}^{\text{d1}}\text{H}_3$, $\text{OC}^{\text{d2}}\text{H}_3$), 33.34, 33.32 ($\text{C}^{\text{d1}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OTr}$, $\text{C}^{\text{d2}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OTr}$) ppm.

Methyl-6-O-(2'-oxo-4'-O-tritylbutyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (34)

Zu einer Lösung von 670 μ L (970 mg, 7.9 mmol) Oxalylchlorid in 15 mL abs. DCM wurden bei -55 °C unter Gasentwicklung 1.1 mL (1.20 g, 15 mmol) trockenes DMSO, gelöst im doppelten Volumen abs. DCM langsam zugetropft. Nach



5 min wurden 5.5 g (6.9 mmol) **33**, gelöst in 20 mL abs. DCM, zur Reaktionslösung getropft. Nach 15 min Rühren wurden in der Kälte 10 mL Triethylamin zur Lösung gegeben und die Lösung auf RT erwärmt. Die organische Phase wurde einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittel verblieb das Produkt als hellbrauner Sirup. Von einer weiteren Aufarbeitung wurde aufgrund der NMR-Reinheit des Produkts abgesehen.

Ausbeute: 4.92 g (6 mmol; $M = 792.95 \text{ g mol}^{-1}$), 90%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.51;

$[\alpha]_D^{20} = +24.4^\circ$ ($c = 1.12$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.46 - 7.16$ (m, 30H, H_{Ar}), 4.94 (d, 1H, BnCH_2H), 4.78 - 4.63 (m, 6H, H-1, BnCH_2), 4.14 (d, 1H, $\text{ZuO-CH}_2\text{H}$), 4.02 (d, 1H, ZuO-CHH), 3.97 (t, 1H, H-4), 3.90 (dd, 1H, H-3), 3.84 - 3.77 (m, 2H, H-2, H-6), 3.74 - 3.67 (m, 2H, H-6', H-5), 3.50 - 3.38 (m, 2H, CH_2OTr), 3.31 (s, 3H, OCH_3), 2.67 - 2.58 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTr}$) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.8$, $^3J_{1,2} = 3.0$, $^3J_{3,4} = 9.5$, $^3J_{4,5} = 9.5$ Hz;

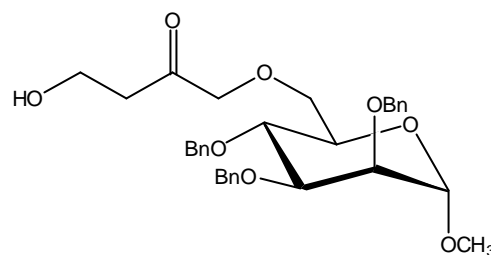
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 210.30$ (C=O), 144.12, 144.08, 138.49, 138.40, 138.22, 128.74, 128.63, 128.60, 128.39, 128.37, 127.96, 127.87, 127.73, 127.66, 127.60 (C_{Ar}), 98.99 (C-1), 86.84 (C_{q}), 80.10, 74.52, 74.39, 71.60 (C-2, C-3, C-4, C-5), 76.99 (ZuO-CH_2), 75.10, 72.74, 72.09 (BnCH_2), 70.53 (C-6), 61.05 (CH_2OTr), 54.81 (OCH_3), 41.44 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTr}$) ppm.

Methyl-6-O-(4'-hydroxy-2'-oxobutyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (35)

4.90 g (6.2 mmol) **34** wurden in 15 mL Diethylether gelöst und mit 10 mL konz.

Salzsäure versetzt und für 2 h bei RT gerührt. Die organische Phase wurde bis zur Neutralität

mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulen-



Ausbeute: 2.53 g (5 mmol; $M = 550.64 \text{ g mol}^{-1}$), 67%

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.30;

$[\alpha]_D^{20} = +24.9^\circ$ ($c = 0.56$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40 - 7.26$ (m, 15H, H_{Bn}), 4.95 (d, 1H, BnCHH), 4.79 - 4.62 (m, 6H, H-1, BnCH_2), 4.14 (d, 1H, ZuO-CHH), 4.04 (d, 1H, ZuO-CHH), 3.98 (t, 1H, H-4), 3.90 (dd, 1H, H-3), 3.86 - 3.75 (m, 4H, H-2, H-6, CH_2OH), 3.74 - 3.66 (m, 2H, H-6', H-5), 3.31 (s, 3H, OCH_3), 2.71 (qt, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.9$, $^3J_{2,3} = 2.9$, $^3J_{3,4} = 9.4$, $^3J_{4,5} = 9.4$, $^2J_{\text{ZuO-CHH}} = 17.0$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 210.36$ (C=O), 138.44, 138.38, 138.19, 128.39, 128.36, 127.98, 127.85, 127.72, 127.66, 127.61 (C_{Bn}), 99.05 (C-1), 80.13, 74.46, 74.35, 71.67 (C-2, C-3, C-4, C-5), 76.94 (ZuO-CH_2), 75.06, 72.78, 72.10 (BnCH_2), 70.52 (C-6), 57.64 (CH_2OH), 54.84 (OCH_3), 41.21 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm.

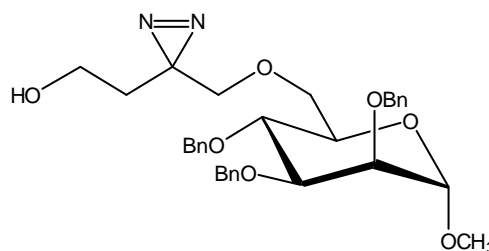
Methyl-6-O-(2'-azi-4'-hydroxybutyl)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (36)

2.40 g (4.4 mmol) **35** wurden in 20 mL abs.

MeOH und 5 mL abs. DCM gelöst und auf -50°C gekühlt. Nun wurden 100 mL

Ammoniak einkondensiert und über 4 h bei -20°C gerührt. Erneut wurde auf -50°C

gekühlt und 590 mg (5 mmol) Hydroxylamin-O-sulfonsäure suspendiert in abs. MeOH zur Lösung getropft. Über Nacht wurde bei RT gerührt, wobei der Großteil des Ammoniaks verdampfte. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat eingengt



bis der Geruch von Ammoniak nahezu komplett verschwunden war. Der Rückstand wurde in 20 mL MeOH aufgenommen und mit 8 mL Triethylamin versetzt. Bei 0 °C wurden dann eine 10%ige methanolische Iod-Lösung bis zur dauerhaften Braunfärbung hinzugegeben. Die Lösung wurde erneut eingeeengt und der Rückstand in Diethylether/Wasser aufgenommen und durch Schütteln mit Natriumthiosulfat-Lösung entfärbt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 15 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 1.38 g (2.5 mmol; $M = 562.65 \text{ g mol}^{-1}$), 56%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.21;

$[\alpha]_D^{20} = + 25.8^\circ$ ($c = 0.82$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3): $\delta = 7.41 - 7.26$ (m, 15H, H_{Bn}), 4.95 (d, 1H, BnCHH), 4.78 - 4.56 (m, 6H, H-1, BnCH_2), 3.99 - 3.85 (m, 2H, H-3, H-4), 3.78 (dd, 1H, H-2), 3.72 - 3.59 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.59 - 3.50 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.41 (d, 1H, ZuO-CHH), 3.32 (s, 3H, OCH_3), 3.16 (d, 1H, ZuO-CHH), 2.89 (bs, 1H, OH), 1.54 (dt, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm;

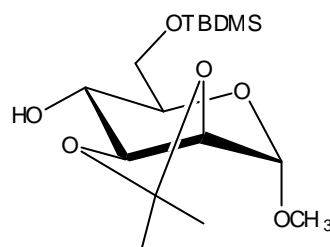
$^3J_{1,2} = 1.9$, $^3J_{2,3} = 2.8$, $^3J_{\text{CHHCHHOH}} = 5.4$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 138.45$, 138.38, 138.17, 128.37, 128.13, 127.91, 127.69, 127.66, 127.61 (C_{Bn}), 98.92 (C-1), 80.05, 74.55, 74.36, 71.41 (C-2, C-3, C-4, C-5), 75.11, 72.70, 72.07 (BnCH_2), 74.08 (ZuO-CH_2), 70.15 (C-6), 57.47 (CH_2OH), 54.89 (OCH_3), 35.41 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 27.02 (C(NN)) ppm;

ESI-MS: $m/z = 585.2515$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 585.2571$) für $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{NaO}_7$.

Methyl-6-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (42)

5.90 g (19 mmol) **41**⁵⁷ wurden in 30 mL abs. Aceton und 30 mL 2,2-Dimethoxypropan gelöst. Um die Reaktion zu starten, wurden 250 mg *p*-Toluolsulfonsäure hinzugefügt und die Reaktionslösung für 1.5 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe eines Löffels Natrium-



carbonat abgebrochen und die Reaktionslösung eingeeengt. Der Rückstand wurde in Diethylether/Wasser aufgenommen und die organische Phase einmal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels verblieb ein gelblicher Sirup. Das Produkt zeigte im NMR keinerlei Verunreinigungen, sodass auf eine säulenchromatographische Reinigung verzichtet wurde.

Ausbeute: 6.1 g (0.018 mol; $M = 348.51 \text{ g mol}^{-1}$), 92%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.28;

$[\alpha]_D^{20} = +7.6^\circ$ ($c = 1.50$, CHCl_3);

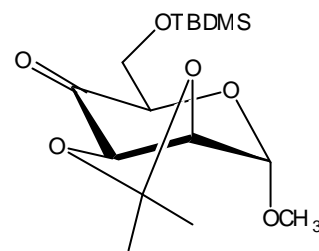
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.88$ (s, 1H, H-1), 4.17 - 4.09 (m, 2H, H-2, H-3), 3.89 (dd, 1H, H-6), 3.84 (dd, 1H, H-6'), 3.72 (ddd, 1H, H-4), 3.57 (ddd, 1H, H-5), 3.39 (s, 3H, OCH_3), 3.13 (d, 1H, OH), 1.52 (s, 3H, ipr- CH_3), 1.35 (s, 3H, ipr- CH_3), 0.91 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.10 (s, 3H, SiCH_3), 0.10 (s, 3H, SiCH_3) ppm;

$^3J_{2,3} = 5.9$, $^3J_{3,4} = 6.1$, $^3J_{5,6} = 5.2$, $^3J_{5,6'} = 5.2$, $^2J_{6,6'} = 10.6$, $^3J_{4,\text{OH}} = 3.0$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 109.50$ (2,3-ipr- C_q), 98.23 (C-1), 78.18, 75.25, 71.13, 69.10 (C-2, C-3, C-4, C-5), 64.35 (C-6), 54.93 (OCH_3), 27.90 (ipr- CH_3), 26.11 (ipr- CH_3), 25.84 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.25 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -5.44 (SiCH_3), -5.47 (SiCH_3) ppm.

Methyl-6-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2,3-diisopropyliden-4-oxo- α -D-mannopyranosid (43)

Zu einer Lösung von 1.63 mL (2.36 g, 0.019 mmol) Oxalylchlorid in 20 mL abs. DCM wurden bei $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Gasentwicklung 2.65 mL (2.90 g, 0.037 mmol) trockenes DMSO, gelöst im doppelten Volumen abs. DCM, langsam zugetropft. Nach 5 min wurden 5.9 g (7 mmol) **42**, gelöst in



25 mL abs. DCM, zur Reaktionslösung getropft. Nach 15 min Rühren wurden in der Kälte 10 mL Triethylamin zur Lösung gegeben und die Lösung auf RT erwärmt. Die organische Phase wurde einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 15 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 4.15 g (0.012 mol; $M = 346.50\text{ g mol}^{-1}$), 71%;

R_f (CH/EE = 6 : 1) = 0.47;

$[\alpha]_D^{20} = +48.7^{\circ}$ ($c = 1.19$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.93$ (s, 1H, H-1), 4.45 (dd, 1H, H-2), 4.41 (d, 1H, H-3), 4.22 (dd, 1H, H-5), 4.02 (dd, 1H, H-6'), 3.94 (dd, 1H, H-6), 3.48 (s, 3H, OCH_3), 1.49 (s, 3H, ipr- CH_3), 1.37 (s, 3H, ipr- CH_3), 0.90 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.08 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

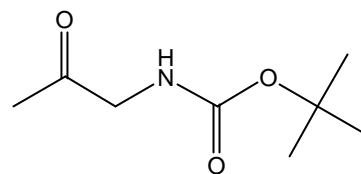
$^3J_{1,2} = 1.2$, $^3J_{2,3} = 6.6$, $^3J_{5,6} = 6.9$, $^3J_{5,6'} = 3.5$, $^2J_{6,6'} = 11.2$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 202.67$ (C-4), 111.51 (2,3-ipr- C_q), 98.36 (C-1), 78.65, 75.87, 75.30 (C-2, C-3, C-5), 62.73 (C-6), 55.73 (OCH_3), 26.75 (ipr- CH_3), 25.84 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25.44 (ipr- CH_3), 18.34 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -5.32 (SiCH_3), -5.40 (SiCH_3) ppm;

MS (CI): $m/z = 347.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 347.18$) für $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Si}$.

(2-Oxopropyl)-carbaminsäure-*tert*-butylester (46)

6.0 g (28 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat wurden in Methanol gelöst und bei RT mit 1.8 mL (1.72 g, 23 mmol) (\pm)-1-Amino-2-propanol **45** langsam versetzt und die Reaktionslösung für 1 h gerührt. Das



Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand in Ether aufgenommen, einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde direkt in der folgenden Swern-Oxidation umgesetzt.

In einen auf -55°C gekühlten Kolben wurden 1.1 eq. Oxalylchlorid gelöst in abs. DCM vorgelegt. Dazu werden 2.2 eq. DMSO gelöst im doppelten Volumen abs. DCM langsam hinzuge tropft. Nach 5 min wurde das Rohprodukt gelöst in etwas abs. DCM hinzuge tropft und die Reaktionslösung für 20 min in der Kälte gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 8 mL Triethylamin beendet und die Lösung anschließend auf RT erwärmt. Dann wurde die Reaktionslösung einmal mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Aufreinigung (CH/EE = 3 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 3.69 g (0.021 mol; $M = 173.21\text{ g mol}^{-1}$), 93%;

R_f (CH/EE 3 : 1) = 0.18; Molybdophosphorsäure;

Smp. $48\text{-}49^{\circ}\text{C}$;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.26$ (bs, 1H, NH), 4.04 (d, 2H, CH_2), 2.19 (s, 3H, CH_3), 1.45 (s, 9H, *tert*-Bu) ppm;

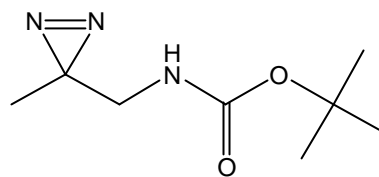
$^3J_{\text{CHHNH}} = 4.8\text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 203.39$ (C=O), 155.54 (OC(O)NH), 79.79 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 50.88 (CH_2), 28.26 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 27.08 (CH_3) ppm;

MS (EI): $m/z = 173.1$ [M] $^+$ (ber. $m/z = 173.11$) für $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_3$; MS (CI): $m/z = 174.1$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (ber. $m/z = 174.12$) für $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}_3$.

(2-Azipropyl)-carbaminsäure-*tert*-butylester (47)

3.64 g (0.021 mol) **46** wurde in 30 mL abs. MeOH/abs. DCM 5:1 gelöst und auf -50°C gekühlt. Nun wurden ca. 100 mL Ammoniak einkondensiert und für 4 h bei -20°C gerührt. Anschließend wurden 2.85 g



(0.025 mol) Hydroxylamin-*O*-sulfonsäure gelöst in etwas abs. MeOH bei -50°C hinzugegeben. Nach 1 h wurde die Kühlung entfernt und über Nacht bei RT gerührt. Von festen Bestandteilen wurde abfiltriert und die Lösung eingeengt. Der Rückstand wurde in MeOH aufgenommen und mit 10 mL Triethylamin versetzt. Nun wurde mit einer 10%igen methanolischen Iod-Lösung bis zur bleibenden Gelbfärbung titriert. Die Lösung wurde abermals eingeengt und in Ether/Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Ether extrahiert und die vereinigten etherischen Phasen einmal mit Natriumthiosulfat-Lösung entfärbt, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Aufreinigung (CH/EE = 8 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 2.61 g (0.014 mol; $M = 185.22\text{ g mol}^{-1}$), 70%;

R_f (CH/EE 6 : 1) = 0.29; Molybdophosphorsäure;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.47$ (bs, 1H, NH), 3.13 (d, 2H, CH_2), 1.44 (s, 9H, *tert*-Bu), 1.06 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^3J_{\text{CHHNH}} = 6.4\text{ Hz}$;

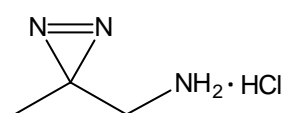
$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 155.60$ (OC(O)NH), 79.85 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 43.87 (CH_2), 28.26 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 25.62 (C(NN)), 17.78 (CH_3) ppm;

MS (CI): $m/z = 186.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 186.1$) für $(\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2)$;

IR (KBR): $\nu = 1686.3$ (C=O), 1534.2 (N=N) cm^{-1} .

1-Amino-2-azipropan-hydrochlorid (48)

150 mg (0.8 mmol) **47** wurden in 1 mL Diethylether gelöst und mit 0.5 mL konz. Salzsäure versetzt und bis zur vollständigen Entschützung bei RT gerührt. Die Lösung wurde eingeeengt und lyophilisiert.



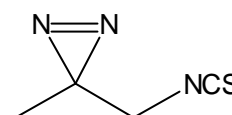
Ausbeute: 94 mg (0.8 mmol; $M = 121.57 \text{ g mol}^{-1}$), 99%;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 2.94$ (s, 2H, CH_2), 1.13 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, D_2O): $\delta = 47.58$ (CH_2), 26.91 ($\text{C}(\text{NN})$), 20.48 (CH_3) ppm.

2-Azipropylisothiocyanat (50)

94 mg (0.77 mmol) **48** wurden in 50 μL DIPEA und 2 mL DCM aufgenommen. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und dazu 137 μL (0.20 g, 1.7 mmol, 2.2 eq.) Thiophosgen gegeben. Die Lösung wurde für 15 min gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung ($\text{CH}/\text{EE} = 4 : 1$) das Produkt als gelbes Öl.



Ausbeute: 25 mg (0.2 mmol; $M = 127.17 \text{ g mol}^{-1}$), 24%;

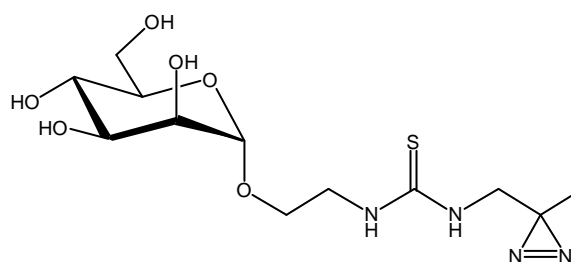
R_f ($\text{CH}/\text{EE} = 2 : 1$) = 0.75 (methanolische Cyclohexylamin-Lsg.);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.44$ (s, 2H, CH_2), 1.19 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 130.88$ (NCS), 49.87 (CH_2), 25.06 ($\text{C}(\text{NN})$), 17.44 (CH_3) ppm.

N-(2-Azipropyl)-N'-(2'-a-mannopyranosyloxyethyl)thioharnstoff (52)

24 mg (0.20 mmol) **50** wurden in abs. DCM gelöst und dazu wurden 42 mg (0.20 mol) **51**⁶⁴ gelöst in 1.5 mL abs. MeOH langsam hinzuge tropft. Die Lösung wurde 1 h bei RT gerührt. Die säulenchromatographische Reinigung ($\text{EE}/\text{MeOH} = 2 : 1$) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.



Ausbeute: 53 mg (0.15 mmol; $M = 350.39 \text{ g mol}^{-1}$), 80%;

R_f (EE/MeOH = 3 : 2) = 0.59;

$[\alpha]_D^{20} = + 40.2^\circ$ ($c = 2.46$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.82$ (d, 1H, H-1), 3.92 - 3.83 (m, 3H, H-6, ZuO-CHH, H2), 3.79 - 3.70 (m, 3H, H-3, H6', NCHHC(NN)), 3.69 - 3.62 (m, 3H, H-4, ZuO-CHH, NCHHC(NN)), 3.61 - 3.54 (m, 3H, ZuO-CH₂CH₂, H-5), 1.09 (s, 3H, C(NN)CH₃) ppm;

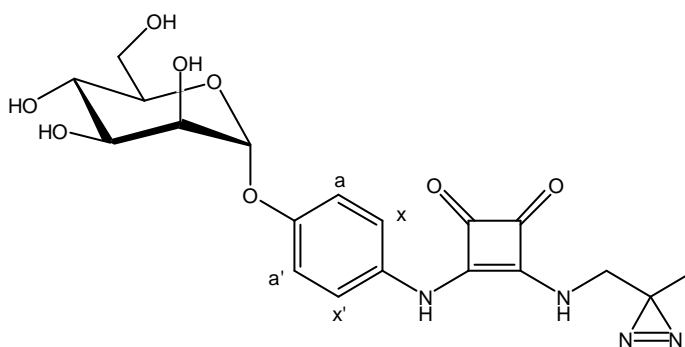
$^3J_{1,2} = 1.4$, $^3J_{2,3} = 2.8$, $^3J_{3,4} = 9.7$, $^3J_{4,5} = 9.7$, $^3J_{5,6} = 5.8$, $^3J_{5,6'} = 2.2$, $^2J_{6,6'} = 11.9$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 101.77$ (C-1), 74.74 (C-5), 72.49 (C-3), 72.04 (C-2), 68.53 (C-4), 67.26 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 62.85 (C-6), 47.79 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 45.20 (NCHHC(NN)), 26.73 (C(NN)), 18.19 (C(NN)CH₃) ppm.

ESI-MS: $m/z = 373.1045$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (ber. $m/z = 373.1152$) für $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_6\text{S}$.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-[*p*-(α -D-mannopyranosyloxy)phenyl]quadratsäurediamid (54)**

43 mg (0.2 mmol) **47** wurden in 1 mL Diethylether gelöst und mit 0.5 mL konz. Salzsäure versetzt und bis zur vollständigen Entschützung bei RT gerührt. Die Lösung wurde eingeeengt und lyophilisiert. Anschließend wurde



der Rückstand in 50 μL DIPEA und 0.5 mL abs. MeOH aufgenommen und zu 80 mg (0.2 mmol) **53**⁶⁶ gelöst in 2 mL abs. MeOH gegeben. Die Reaktionslösung wurde bei RT über Nacht gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (EE/MeOH = 3 : 2) das Produkt als gelben Feststoff.

Ausbeute: 86 mg (0.2 mmol; $M = 434.40 \text{ g mol}^{-1}$), quant.;

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.47;

$[\alpha]_D^{20} = + 60.5^\circ$ ($c = 0.85$, DMSO);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-D_6): $\delta = 11.10$ (bs, 1H, NH-Ar), 8.90 (bt, 1H, NH- CH_2), 7.44 (d, 2H, $\text{H}_{\text{x,x'}}$), 7.05 (d, 2H, $\text{H}_{\text{a,a'}}$), 5.29 (d, 1H, H-1), 5.05 (d, 1H, $\text{OH}_{\text{C-2}}$), 4.86 (d, 1H, $\text{OH}_{\text{C-4}}$), 4.80 (d, 1H, $\text{OH}_{\text{C-3}}$), 4.50 (t, 1H, $\text{OH}_{\text{C-6}}$), 3.82 (bq, 1H, H-2), 3.66 (ddd, 1H, H-3), 3.62 - 3.56 (m, 3H, CH_2 , H-6'), 3.52 - 3.44 (m, 2H, H-4, H-6), 3.42 (ddd, 1H, H-5), 1.10 (s, 3H, CH_3) ppm;

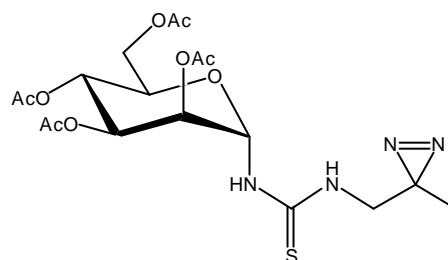
$^3\text{J}_{1,2} = 1.7$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.4$, $^3\text{J}_{3,4} = 8.9$, $^3\text{J}_{5,6} = 5.5$, $^3\text{J}_{5,6'} = 1.8$, $^3\text{J}_{\text{a,x}} = ^3\text{J}_{\text{a',x'}} = 9$, $^3\text{J}_{\text{H-2,OH}} = 4.2$, $^3\text{J}_{\text{H-3,OH}} = 5.9$, $^3\text{J}_{\text{H-4,OH}} = 5.7$, $^3\text{J}_{\text{H-6,OH}} = 5.9$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, DMSO-D_6): $\delta = 182.91$, 180.62 (C=O), 169.13 ($\underline{\text{C}}=\text{CNHAr}$), 164.20 ($\underline{\text{C}}=\text{CNHCH}_2$), 152.11 (ZuO-C_{Ar}), 133.92 (NH- C_{Ar}), 119.04 (NH- $\text{C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{x,x'}}$)), 117.85 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a,a'}}$)), 99.42 (C-1), 74.84 (C-5), 70.69 (C-3), 70.08 (C-2), 66.76 (C-4), 61.00 (C-6), 46.66 (CH_2), 26.39 (C(NN)), 17.31 (CH_3) ppm;

MALDI-TOF-MS: $m/z = 429.5$ [$\text{M}+\text{Na} - \text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 428.38$) für $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NaN}_2\text{O}_8$.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)thioharnstoff (57)**

233 mg (0.60 mmol) **56**⁶⁷ wurden in abs. DCM gelöst und mit 69 mg (0.57 mmol) **48** gelöst in 1 mL abs. DCM und 80 μL DIPEA tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde im Laufmittel (CH/EE = 1 : 1) aufgenommen und die säulenchromatographische Reinigung lieferte das Produkt als farblosen mikrokristallinen Feststoff.



Ausbeute: 236 mg (0.50 mmol; $M = 474.49 \text{ g mol}^{-1}$), 83%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.27;

$[\alpha]_D^{20} = +58.9^\circ$ ($c = 0.95$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.26$ (bs, 1H, Zu-NH), 6.71 (t, 1H, NHCH_2), 5.32 - 5.16 (m, 4H, H-1, H-2, H-3, H-4), 4.29 (dd, 1H, H-6), 4.11 (dd, 1H, H-6'), 4.01 (ddd, 1H, H-5), 3.65 (dq, 2H, NHCH_2), 2.12, 2.06, 2.02, 1.98 (je s, je 3H, 4 C(O) CH_3) ppm; $^3\text{J}_{1,2} = 1.5$, $^3\text{J}_{3,4} = 9.3$, $^3\text{J}_{4,5} = 9.3$, $^3\text{J}_{5,6} = 5.7$, $^3\text{J}_{5,6'} = 2.6$, $^2\text{J}_{6,6'} = 12.5$, $^2\text{J}_{\text{CHH}'} = 15.0$, $^3\text{J}_{\text{NHCHH}'} = 5.7$ Hz;

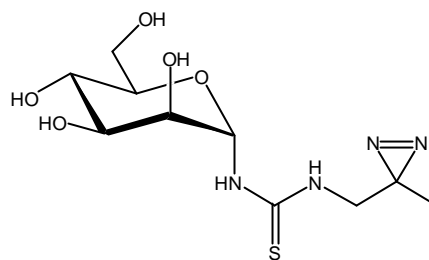
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 184.76$ (C=S), 171.26, 170.21, 169.90, 169.61

(C=O), 80.62 (C-1), 69.82, 68.60, 68.14, 65.74 (C-2, C-3, C-4, C-5), 61.95 (C-6), 47.92 (NHCH₂), 25.28 (C(NN)), 20.77, 20.76, 20.68, 20.67 (4 C(O)CH₃), 18.28 (C(NN)CH₃) ppm;

MS (CI): $m/z = 475.1$ [M+H]⁺ (ber. $m/z = 475.14$) für C₁₈H₂₇N₄O₉S, $m/z = 447.1$ [M+H-N₂]⁺ (ber. $m/z = 447.13$) für C₁₈H₂₇N₂O₉S.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-(α -D-mannopyranosyl)thioharnstoff (58)**

50 mg (0.11 mmol) **57** wurden in 2 mL abs. MeOH gelöst und mit 42 μ L (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und bei RT für 0.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120) abgebrochen. Nach Filtration und Einengen der Lösung verblieb das Produkt als farbloser amorpher Feststoff. Mittels HPLC wurde das bei der Entschützung entstandene β -Anomer vom α -Anomer getrennt (Merck RP-8 (7 μ m), MeCN 5% isokratisch).



Ausbeute: 31 mg (0.10 mmol; $M = 306.34 \text{ g mol}^{-1}$), 97% Anomerengemisch;

Anomerenverhältnis: $\alpha : \beta = 80 : 20$ (nach NMR, HPLC-Chromatogramm);

α -Anomer:

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.64;

$[\alpha]_D^{20} = + 82.6^\circ$ ($c = 1.13$, MeOH);

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): $\delta = 5.50$ (bs, 1H, H-1), 3.92 (bt, 1H, H-2), 3.85 (dd, 1H, H-6'), 3.79 (dd, 1H, H-6), 3.73 (dd, 1H, H-3), 3.70 - 3.62 (m, 3H, H-4, CH₂), 3.50 (ddd, 1H, H-5), 1.11 (s, 3H, CH₃) ppm;

³J_{2,3} = 3.1, ³J_{3,4} = 9.0, ³J_{4,5} = 9.0, ³J_{5,6} = 6.4, ³J_{5,6'} = 2.7, ²J_{6,6'} = 11.9 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): $\delta = 185.96$ (C=S), 83.74 (C-1), 75.97 (C-5), 72.46 (C-3), 71.23 (C-2), 68.77 (C-4), 62.62 (C-6), 48.22 (CH₂), 26.60 (C(NN)), 18.28 (CH₃) ppm;

$J_{C-1, H-1} = 163.4$ Hz.

ESI-MS: $m/z = 279.1270$ $[M+H-N_2]^+$ (ber. $m/z = 279.1015$) für $C_{10}H_{19}N_2O_5S$, $m/z = 329.1195$ $[M+Na]^+$ (ber. $m/z = 329.0890$) für $C_{10}H_{18}N_4NaO_5S$.

β -Anomer:

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.64;

$[\alpha]_D^{20} = -9.5^\circ$ ($c = 0.48$, MeOH);

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 5.54$ (bs, 1H, H-1), 3.86 (dd, 1H, H-6'), 3.83 (bd, 1H, H-2), 3.70 (dd, 1H, H-6), 3.70 - 3.62 (m, 4H, H-3, H-4, CH_2), 3.31 - 3.28 (m, 1H, H-5), 1.06 (s, 3H, CH_3) ppm;

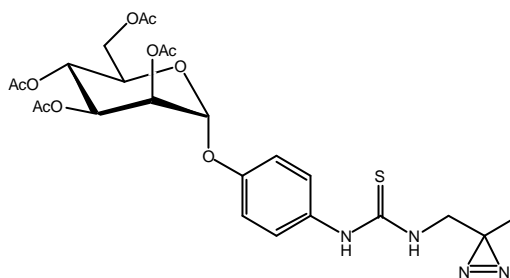
$^3J_{2,3} = 3.1$, $^3J_{5,6} = 5.9$, $^3J_{5,6'} = 2.4$, $^2J_{6,6'} = 12.0$ Hz;

^{13}C -NMR (125.75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 185.56$ (C=S), 83.13 (C-1), 79.57 (C-5), 75.78 (C-3), 72.35 (C-2), 68.24 (C-4), 62.93 (C-6), 48.64 (CH_2), 26.57 (C(NN)), 18.24 (CH_3) ppm;

$J_{C-1, H-1} = 149.8$ Hz.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-[*p*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)phenyl]-thioharnstoff (61)**

300 mg (0.62 mmol) **60**⁶⁹ wurden in abs. DCM gelöst und mit 75 mg (0.62 mmol) **48** gelöst in 1 mL abs. DCM und 80 μ L DIPEA tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde im Laufmittel (CH/EE = 1 : 1) aufgenommen und die säulenchromatographische Reinigung lieferte das Produkt als gelblichen mikrokristallinen Feststoff.



Ausbeute: 219 mg (0.39 mmol; $M = 566.58$ g mol⁻¹), 62%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.37;

$[\alpha]_D^{20} = +57.1^\circ$ ($c = 0.86$, $CHCl_3$);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.92$ (s, 1H, NH-Ar), 7.17 (s, 4H, H_{Ar}), 5.65 (t, 1H, NHCH_2), 5.58 - 5.52 (m, 2H, H-1, H-3), 5.44 (dd, 1H, H-2), 5.39 (t, 1H, H-4), 4.30 (dd, 1H, H-6), 4.14 - 4.05 (m, 2H, H-5, H-6'), 3.74 (d, 2H, NHCH_2), 2.22, 2.07, 2.06, 2.05 (je s, je 3H, 4 C(O)CH_3), 1.11 (s, 3H, C(NN)CH_3) ppm;

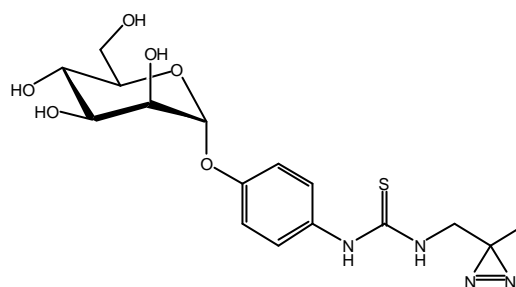
$^3\text{J}_{1,2} = 1.8$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.5$, $^3\text{J}_{3,4} = 10.1$, $^3\text{J}_{4,5} = 10.1$, $^3\text{J}_{5,6} = 5.5$, $^3\text{J}_{5,6'} = 2.4$, $^2\text{J}_{6,6'} = 13.0$, $^3\text{J}_{\text{NHCHH}} = 6.2$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 181.89$ (C=S), 170.51, 170.02, 169.99, 169.67 (C=O), 155.01 ($\text{Zu-O-C}_{\text{Ar}}$), 130.29 (NH-C_{Ar}), 127.67 ($\text{NH-C}_{\text{Ar}}(\underline{\text{C}}_{\text{x,x}})$), 118.07 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a,a}})$), 95.90 (C-1), 69.30, 69.17, 68.64, 65.75 (C-2, C-3, C-4, C-5), 62.05 (C-6), 47.72 (NHCH_2), 25.50 (C(NN)), 20.86, 20.70, 20.69, 20.67 (4 C(O)CH_3), 18.21 (C(NN)CH_3) ppm;

MS (CI): $m/z = 539.2$ [$\text{M}+\text{H}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 539.17$) für $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-[*p*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)phenyl]-thioharnstoff (62)**

50 mg (0.09 mmol) **61** wurden in 2 mL abs. MeOH gelöst und mit 35 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und bei RT für 0.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120) abgebrochen. Nach Filtration und Einengen der Lösung verblieb das Produkt als farbloser amorpher Feststoff.



Ausbeute: 35 mg (0.09 mmol; $M = 398.44$ g mol $^{-1}$), quant.;

R_f (EE/MeOH = 2 : 1) = 0.68;

$[\alpha]_D^{20} = +74.5^\circ$ ($c = 1.28$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 7.22$ (d, 2H, $\text{H}_{\text{a,a}}$), 7.18 (d, 2H, $\text{H}_{\text{x,x}}$), 5.52 (d, 1H, H-1), 4.05 (dd, 1H, H-2), 3.94 (dd, 1H, H-3), 3.81 (dd, 1H, H-6'), 3.80 - 3.73 (m, 2H, H-4, H-6), 3.66 (s, 2H, CH_2) 3.63 (ddd, 1H, H-5), 1.10 (CH_3) ppm;

$^3\text{J}_{1,2} = 1.8$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.4$, $^3\text{J}_{3,4} = 9.6$, $^3\text{J}_{4,5} = 9.6$, $^3\text{J}_{5,6} = 5.3$, $^3\text{J}_{5,6'} = 2.5$, $^2\text{J}_{6,6'} = 12.0$, $^3\text{J}_{\text{a,x}}$ =

$^3J_{a',x'} = 9.1$ Hz;

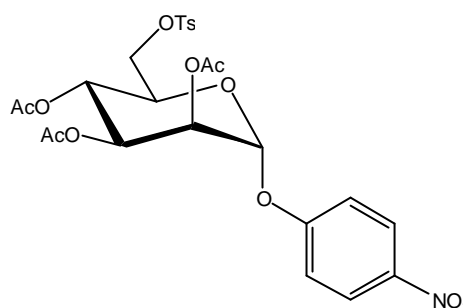
^{13}C -NMR (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 183.40$ (C=S), 156.24 (Zu-O- C_{Ar}), 133.30 ($\text{NH}-\text{C}_{\text{Ar}}$), 127.99 ($\text{NH}-\text{C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{x,x'})$), 118.50 (Zu-O- $\text{C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{a,a'})$), 100.24 (C-1), 75.41, 72.33, 71.89, 68.27 (C-2, C-3, C-4, C-5), 62.61 (C-6), 47.83 (CH_2), 26.85 (C(NN)), 18.37 (CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 371.1529$ [$\text{M}+\text{H}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 371.1277$) für $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$, $m/z = 421.1438$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 421.1152$) für $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_6\text{S}$.

***p*-Nitrophenyl-6-tosyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosid (64)**

Zu 1.20 g (2.6 mmol) **63**⁷⁰, gelöst in 10 mL abs.

Pyridin, wurden 1.5 mL (2 eq. pro OH-Gruppe), 1.59 g, 16 mmol) Essigsäureanhydrid hinzugefügt und für weitere 4 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde weitgehend eingeeengt, wobei das Pyridin dreimal mit Toluol codestilliert



wurde. Die säulenchromatographische Reinigung des Rückstandes (CH/EE = 2 : 1) lieferte das Produkt als amorphen gelblichen Feststoff.

Ausbeute: 1.41 g (2.4 mmol; $M = 581.55$ g mol $^{-1}$), 93%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.49;

$[\alpha]_D^{20} = +56.0^\circ$ ($c = 1.14$, CHCl_3);

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.24$ (d, 2H, $\text{H}_{x,x'}$), 7.72 (d, 2H, H_{Ar}), 7.33 (d, 2H, H_{Ar}), 7.22 (d, 2H, $\text{H}_{a,a'}$), 5.64 (d, 1H, H-1), 5.53 - 5.43 (m, 2H, H-2, H-3), 5.39 (t, 1H, H-4), 4.28 (dd, 1H, H-6), 4.17 - 4.07 (m, 2H, H-5, H-6'), 2.46 (s, 3H, CH_3), 2.23, 2.07, 2.06 (je s, je 3H, 3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

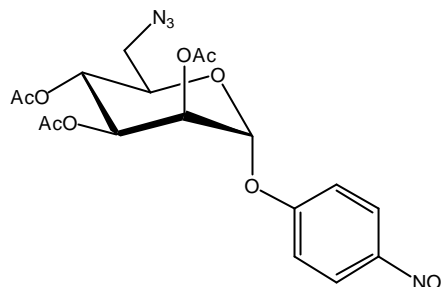
$^3J_{1,2} = 1.8$, $^3J_{3,4} = 9.9$, $^3J_{4,5} = 9.9$, $^3J_{5,6} = 5.3$, $^2J_{6,6'} = 12.3$, $^3J_{\text{Tos}} = 8.4$, $^3J_{a,x} = ^3J_{a',x'} = 9.3$ Hz;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.40$, 169.91, 169.54 (C=O), 160.03 (ZuO- C_{pNP}), 145.27 ($\text{H}_3\text{C}-\text{C}_{\text{Ts}}$), 143.12 ($\text{C}_{\text{pNP}}-\text{NO}_2$), 132.54 ($\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{\text{Ts}}$), 129.81 ($\text{H}_3\text{C}-\text{C}_{\text{Ts}}(\underline{\text{C}}_{\text{Ts}})(\underline{\text{C}}_{\text{Ts}})$), 127.91 ($\text{S}(\text{O})_2\text{C}_{\text{Ts}}(\underline{\text{C}}_{\text{Ts}})(\underline{\text{C}}_{\text{Ts}})$), 125.82 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_{\text{pNP}}(\underline{\text{C}}_{x,x'})$), 116.48 (ZuO

$-\text{C}_{\text{pNP}}(\text{C}_{\text{a,a}})$), 95.63 (C-1), 69.77, 68.89, 68.47, 65.60 (C-2, C-3, C-4, C-5), 67.10 (C-6), 21.65 (CH_3), 20.82, 20.67, 20.64 (3 $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm.

p-Nitrophenyl-6-azido-6-deoxy-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-mannopyranosid (65)

1.0 g (1.7 mmol) **64** wurden in 10 mL abs. DMF gelöst und mit 560 mg (5 eq., 8.6 mmol) Natriumazid und 274 mg (0.5 eq., 0.9 mmol) TBABr versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 24 h bei 60 °C gerührt und anschließend weitgehend eingengt. Der Rückstand wurde in



DCM/Wasser aufgenommen, die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen. Nachdem über Natriumsulfat getrocknet und filtriert wurde, erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1), die das Produkt als gelblichen Sirup lieferte.

Ausbeute: 387 mg (0.86 mmol; $M = 452.37 \text{ g mol}^{-1}$), 50%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.29;

$[\alpha]_D^{20} = +60.1^\circ$ ($c = 0.79$, CHCl_3);

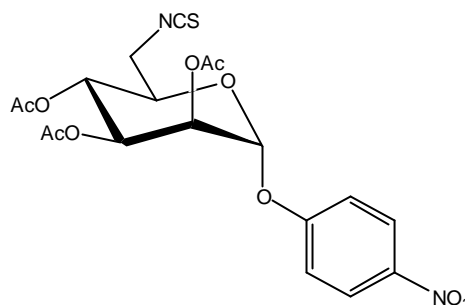
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.25$ (d, 2H, $\text{H}_{\text{k,x}}$), 7.23 (d, 2H, $\text{H}_{\text{b,a}}$), 5.66 (d, 1H, H-1), 5.54 (dd, 1H, H-3), 5.47 (dd, 1H, H-2), 5.36 (t, 1H, H-4), 3.97 (ddd, 1H, H-5), 3.39 (dd, 1H, H-6), 3.25 (dd, 1H, H-6'), 2.23, 2.07, 2.06 (je s, je 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.8$, $^3J_{2,3} = 3.5$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6} = 6.5$, $^3J_{5,6'} = 2.6$, $^2J_{6,6'} = 13.5$, $^3J_{\text{a,x}} = ^3J_{\text{a',x'}} = 9.4 \text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.99$, 169.97, 169.71 (C=O), 160.03 (ZuO-C_{Ar}), 143.19 ($\text{C}_{\text{Ar-NO}_2}$), 125.98 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}(\underline{\text{C}}_{\text{x,x'}})$), 116.30 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a,a}})$), 95.22 (C-1), 71.37, 68.83, 68.27, 66.53 (C-2, C-3, C-4, C-5), 50.84 (C-6), 20.83, 20.69, 20.68 (3 $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm.

p-Nitrophenyl-6-desoxy-6-isothiocyanato-2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-mannopyranosid (66)

350 mg (0.77 mmol) **65** wurden in 8 mL abs. Toluol gelöst und mit 1.87 mL (2.36 g, 0.03 mol) Kohlenstoffdisulfid und 537 μ L (515 mg, 3.1 mmol) Triethylphosphit versetzt und die Reaktionslösung unter Rückfluss für 8 h bei 80 °C gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 5 mL Wasser



beendet und das Gemisch über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen. Nach der Trocknung über Magnesiumsulfat und Filtration lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 2) das Produkt als gelblichen Sirup.

Ausbeute: 263 mg (0.56 mmol; $M = 468.44 \text{ g mol}^{-1}$), 73%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.62;

$[\alpha]_D^{20} = +71.7^\circ$ ($c = 0.76$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.24$ (d, 2H, $\text{H}_{\text{k},\text{x}'}$), 7.23 (d, 2H, $\text{H}_{\text{b},\text{a}}$), 5.68 (d, 1H, H-1), 5.56 (dd, 1H, H-3), 5.46 (dd, 1H, H-2), 5.34 (t, 1H, H-4), 3.98 (ddd, 1H, H-5), 3.65 (dd, 1H, H-6), 3.58 (dd, 1H, H-6'), 2.24, 2.09, 2.06 (je s, je 3H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

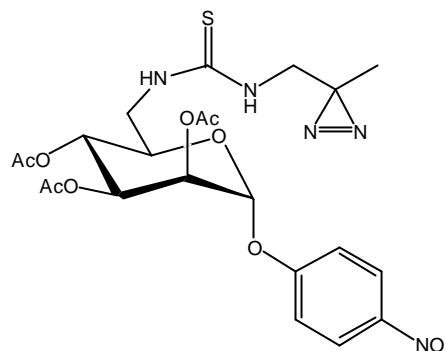
$^3J_{1,2} = 2.1$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6} = 5.9$, $^3J_{5,6'} = 3.1$, $^2J_{6,6'} = 14.9$, $^3J_{\text{a},\text{x}} = ^3J_{\text{a}',\text{x}'} = 9.4 \text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): 169.97, 169.89, 169.69 (C=O), 159.95 (ZuO-C_{Ar}), 143.32 ($\text{C}_{\text{Ar-NO}_2}$), 134.74 (NCS), 126.09 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}(\underline{\text{C}}_{\text{x},\text{x}'})$), 116.48 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a},\text{a}'})$), 95.53 (C-1), 70.12, 68.74, 68.08, 66.64 (C-2, C-3, C-4, C-5), 45.87 (C-6), 20.87, 20.66, 20.64 (3 $\text{C}(\text{O})\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm;

MS (EI): $m/z = 469.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 469.08$) für $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$.

p-Nitrophenyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (67)

240 mg (0.51 mmol) **66** wurden in abs. DCM gelöst und mit 62 mg (0.51 mmol) **48** gelöst in 1 mL abs. DCM und 80 μ L DIPEA tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde im Laufmittel (CH/EE = 1 : 1) aufgenommen und die säulenchromatographische Reinigung lieferte das Produkt als gelblichen mikrokristallinen Feststoff.



Ausbeute: 288 mg (0.51 mmol; $M = 553.54 \text{ g mol}^{-1}$), quant.;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.28;

$[\alpha]_D^{20} = +93.9^\circ$ ($c = 0.82$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.24$ (d, 2H, $\text{H}_{\text{x,x}'}$), 7.23 (d, 2H, $\text{H}_{\text{a,a}'}$), 6.32 (bt, 1H, $\text{C}_6\text{-NH}$), 6.01 (CH_2NH), 5.71 (d, 1H, H-1), 5.57 (dd, 1H, H-3), 5.47 (dd, 1H, H-2), 5.28 (t, 1H, H-4), 4.05 - 3.86 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.77 - 3.58 (m, 1H, H-5), 3.55 - 3.30 (m, 2H, CH_2), 2.23, 2.12, 2.06 (je s, je 3H, 3 C(O)CH_3), 1.08 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^3\text{J}_{1,2} = 1.9$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.4$, $^3\text{J}_{3,4} = 10.1$, $^3\text{J}_{4,5} = 10.1$, $^3\text{J}_{\text{CHHNH}} = 5.7$, $^3\text{J}_{\text{a,x}} = ^3\text{J}_{\text{a',x'}} = 9.3$ Hz;

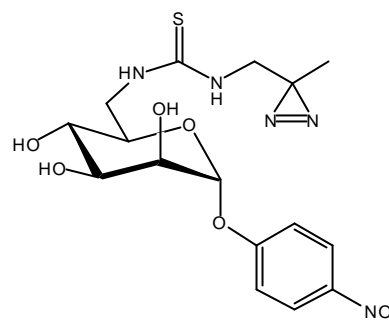
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 183.88$ ($\text{C}=\text{S}$), 170.53, 169.99, 169.90 ($\text{C}=\text{O}$), 159.97 (ZuO-C_{Ar}), 143.07 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}$), 125.99 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{x,x}'})$), 116.46 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a,a}'})$), 95.39 (C-1), 71.02, 68.75, 68.03, 66.54 (C-2, C-3, C-4, C-5), 47.24 (CH_2NH), 44.63 (C-6), 25.53 ($\text{C}(\text{NN})$), 20.83, 20.78, 20.68 (3 C(O)CH_3), 17.95 (CH_3) ppm;

MS (EI): $m/z = 525.1$ $[\text{M}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 525.15$) für $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$;

MS (CI): $m/z = 526.1$ $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 526.15$) für $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$.

p-Nitrophenyl-6-desoxy-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (68)

50 mg (0.09 mmol) **67** wurden in 2 mL abs. MeOH gelöst und mit 27 μ L (0.1 eq. pro OH-Gruppen) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und bei RT für 0.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120) abgebrochen. Nach Filtration und Einengen der Lösung verblieb das Produkt als farbloser amorpher Feststoff.



Ausbeute: 35 mg (0.08 mmol; $M = 427.43 \text{ g mol}^{-1}$), 91%;

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.72;

$[\alpha]_D^{20} = +84.5^\circ$ ($c = 1.01$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 8.22$ (d, 2H, $\text{H}_{\text{x,x'}}$), 7.25 (d, 2H, $\text{H}_{\text{a,a'}}$), 5.65 (d, 1H, H-1), 4.05 (dd, 1H, H-2), 3.90 (dd, 1H, H-3), 3.86 - 3.57 (m, 4H, H-4, H-5, H-6, H-6'), 3.55 - 3.38 (m, 2H, CH_2), 0.99 (s, 3H, CH_3) ppm;

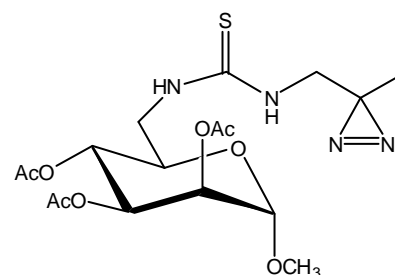
$^3J_{1,2} = 1.9$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 9.0$, $^3J_{\text{a,x}} = 9.2$, $^3J_{\text{a',x'}} = 9.4$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 185.14$ (C=S), 162.45 (ZuO-C_{Ar}), 143.87 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}$), 126.77 ($\text{O}_2\text{N-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{x,x'}})$), 117.75 ($\text{ZuO-C}_{\text{Ar}}(\text{C}_{\text{a,a'}})$), 99.90 (C-1), 74.09, 71.68, 71.43, 69.10 (C-2, C-3, C-4, C-5), 47.97 (CH_2), 46.16 (C-6), 26.70 (C(NN)), 18.15 (CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 450.1054$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 450.1054$) für $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{NaO}_7\text{S}$.

Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (70)

20 mg (0.55 mmol) **69**²² wurden in abs. DCM gelöst und mit 67 mg (0.55 mmol) **48**, gelöst in 1 mL abs. DCM, und 80 μ L DIPEA tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde im Laufmittel (CH/EE = 1 : 1) aufgenommen und die säulenchromatographische Reinigung lieferte das Produkt als gelblichen mikrokristallinen Feststoff.



Ausbeute: 152 mg (0.34 mmol; $M = 446.48 \text{ g mol}^{-1}$), 62%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.29;

$[\alpha]_D^{20} = + 60.8^\circ$ ($c = 0.72$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.42$ (bs, 1H, NH), 6.34 (bs, 1H, NH), 5.35 (dd, 1H, H-3), 5.25 (dd, 1H, H-2), 5.16 (t, 1H, H-4), 4.78 (d, 1H, H-1), 3.90 (ddd, 1H, H-5), 3.83 - 3.65 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.58 (dd, 1H, CHHNNH), 3.44 (s, 3H, OCH_3), 3.41 - 3.29 (m, 1H, CHHNNH), 2.17, 2.09, 2.00 (je s, je 3H, C(O)CH_3), 1.12 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.7$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6} = 5.5$, $^3J_{5,6'} = 2.0$, $^2J_{6,6'} = 12.0$, $^3J_{\text{CHHNNH}} = 5.7$, $^2J_{\text{CHH}} = 15.3$ Hz;

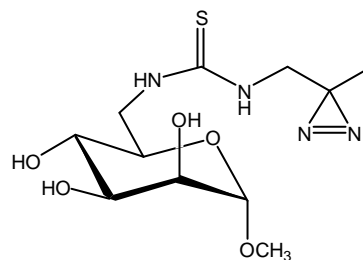
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 184.35$ (C=S), 170.44, 170.08, 169.86 (C=O), 98.64 (C-1), 69.61, 69.24, 68.53, 66.99 (C-2, C-3, C-4, C-5), 55.64 (OCH_3), 47.72 (CH_2), 44.97 (C-6), 25.47 (C(NN)), 20.89, 20.80, 20.67 (3 C(O)CH_3), 18.10 (CH_3) ppm.

MS (EI): $m/z = 418.1$ $[\text{M-N}_2]^+$ (ber. $m/z = 418.15$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$;

MS (CI): $m/z = 419.1$ $[\text{M+H-N}_2]^+$ (ber. $m/z = 419.15$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$, $m/z = 447.1$ $[\text{M+H}]^+$ (ber. $m/z = 447.15$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$.

Methyl-6-desoxy-6-(2'-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosid (71)

50 mg (0.11 mmol) **70** wurden in 2 mL abs. MeOH gelöst und mit 33 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und bei RT für 0.5 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120) abgebrochen.



Nach Filtration und Einengen der Lösung verblieb das Produkt als farbloser amorpher Feststoff.

Ausbeute: 33 mg (0.10 mmol; $M = 427.43 \text{ g mol}^{-1}$), 98%;

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.66;

$[\alpha]_D^{20} = + 13.1^\circ$ ($c = 0.60$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.67$ (bs, 1H, H-1), 3.95 - 3.83 (bm, 1H, H-6), 3.83

(dd, 1H, H-2), 3.70 (dd, 1H, H-3), 3.68 - 3.53 (m, 5H, H-4, H-5, H-6', CH₂C(NN)), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 1.09 (s, 3H, CH₃) ppm;

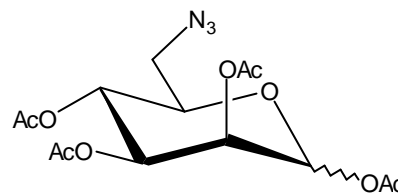
³J_{1,2} = 1.6, ³J_{2,3} = 3.3, ³J_{3,4} = 9.5, ³J_{4,5} = 9.5 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CD₃OD): δ = 102.85 (C-1), 72.65 (C-5), 72.04 (C-3), 71.94 (C-2), 69.40 (C-4), 55.34 (OCH₃), 48.15 (CH₂C(NN)), 26.72 (C(NN)), 18.20 (CH₃) ppm;

ESI-MS: *m/z* = 343.1046 [M+Na]⁺ (ber. *m/z* = 343.1047) für C₁₁H₂₀N₄NaO₅S.

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-D-mannopyranose (79)

11.0 g (0.02 mol) **78**⁷⁴ wurden in 25 mL DMF gelöst und mit 7.3 g (0.11 mol, 5 eq.) Natriumazid und 3.6 g (0.01 mol) TBABr versetzt und für 48 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde das DMF weitestgehend i. Vak. entfernt und der Rückstand in Wasser/DCM



aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach säulenchromatographischer Reinigung (CH/EE = 2 : 1) und Entfernung des Laufmittels verblieb das farblose, sirupöse Produkt.

Ausbeute: 4.1 g (0.01 mol; M = 373.32 g mol⁻¹), 50%;

R_f (CH/EE = 1:1) = 0.52;

[α]_D²⁰ = + 64.1° (c = 1.42, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.10 (d, 1H, H-1_α), 5.87 (d, 1H, H-1_β), 5.49 (1H, H-2_β), 5.38 - 5.34 (m, 2H, H-2_α, H-4_α), 5.26 (dd, 1H, H-3_α), 5.12 (dd, 1H, H-3_β), 4.01 (ddd, 1H, H-5_α), 3.76 (ddd, 1H, H-5_β), 3.41 (dd, 1H, H-6'_α), 3.31 (dd, 1H, H-6_α), 2.19, 2.18, 2.07, 2.02 (je s, je 3H, C(O)CH_{3,α}), 2.23, 2.11, 2.01 (je s, je 3H, 4 C(O)CH_{3,β}) ppm;

α: ³J_{1,2} = 1.7, ³J_{4,5} = 9.3, ³J_{5,6} = 5.6, ³J_{5,6'} = 2.9, ²J_{6,6'} = 13.5 Hz;

β: ³J_{1,2} = 1.3, ³J_{2,3} = 3.2, ³J_{3,4} = 10.0, ³J_{5,6} = 5.7, ³J_{5,6'} = 3.2 Hz;

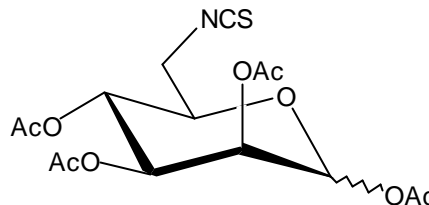
Anomerenverhältnis: α:β = 88:12;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 170.05, 169.81, 169.61, 168.07 (C=O), 90.31

(C-1), 71.83, 68.54, 68.25, 66.42 (C-2, C-3, C-4, C-5), 50.67 (C-6), 20.86, 20.77, 20.70, 20.67 (4 C(O)CH₃) ppm.

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato-D-mannopyranose (80)

4.0 g (0.01 mol) **79** wurden in 30 mL abs. Toluol gelöst und mit 25.9 mL (32.6 g, 0.43 mol) Kohlenstoffdisulfid und 7.4 mL (7.1 g, 0.04 mol) Triethylphosphit versetzt. Die Reaktionslösung



wurde für 8 h unter Rückfluss bei 80 °C gerührt. Zur Beendigung der Reaktion wurden 10 mL Wasser hinzugefügt und die Reaktionslösung über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organische Phasen zweimal mit Wasser gewaschen. Nachdem über Magnesiumsulfat getrocknet wurde, erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE 3 : 2) und lieferte einen farblosen Sirup.

Ausbeute: 3.16 g (8 mmol, M = 389.38 g mol⁻¹), 76%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.51;

[α]_D²⁰ = + 68.7° (c = 1.3, CHCl₃);

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.12 (d, 1H, H-1_α), 5.8 (d, 1H, H-1_β), 5.48 (1H, H-2_β), 5.38 - 5.33 (m, 2H, H-2_α, H-4_α), 5.27 - 5.22 (m, 1H, H-3_α), 5.14 (dd, 1H, H-3_β), 4.00 (ddd, 1H, H-5_α), 3.74 (ddd, 1H, H-5_β), 3.71 (dd, 1H, H-6'_α), 3.58 (dd, 1H, H-6_α), 2.20, 2.18, 2.09, 2.03 (je s, je 3H, C(O)CH_{3,α}), 2.23, 2.12, 2.04, 2.02 (je s, je 3H, 4 C(O)CH_{3,β}) ppm;

α: ³J_{1,2} = 2.0, ³J_{4,5} = 9.3, ³J_{5,6} = 4.5, ³J_{5,6'} = 3.5, ²J_{6,6'} = 15.1 Hz;

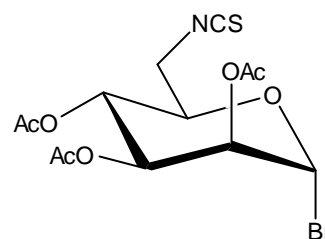
β: ³J_{1,2} = 1.2, ³J_{2,3} = 3.1, ³J_{3,4} = 9.9 Hz;

Anomerenverhältnis: α:β = 88:12;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 169.96, 169.82, 169.60, 168.00 (C=O), 90.22 (C-1), 70.85, 68.26, 68.06, 66.42 (C-2, C-3, C-4, C-5), 45.75 (C-6), 20.82, 20.80, 20.64, 20.62 (4 C(O)CH₃) ppm.

2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato- α -D-mannopyranosylbromid (81)

3.0 g (8 mmol) **80** wurden mit 20 mL einer essigsäuren 33%igen Bromwasserstoff-Lösung und 2 mL Essigsäureanhydrid versetzt und für 1.5 h gerührt. Dann wurde die Reaktionslösung mit 150 mL Toluol verdünnt und auf 200 g Eis gegossen. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit kalter gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels verblieb ein dunkelgelber Sirup. Aufgrund der Empfindlichkeit des Produkts gegen Feuchtigkeit und Licht wurde auf eine weitere Reinigung verzichtet



Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen zweimal mit kalter gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels verblieb ein dunkelgelber Sirup. Aufgrund der Empfindlichkeit des Produkts gegen Feuchtigkeit und Licht wurde auf eine weitere Reinigung verzichtet

Ausbeute: 2.15 g (5.2 mmol; $M = 410.24 \text{ g mol}^{-1}$), 68%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.51;

$[\alpha]_D^{20} = +123.3^\circ$ ($c = 1.06$, CHCl_3);

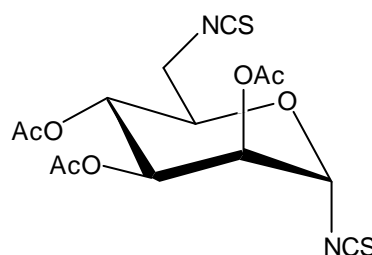
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.32$ (d, 1H, H-1), 5.75 (dd, 1H, H-3), 5.47 - 5.36 (m, 2H, H-2, H-4), 4.16 (ddd, 1H, H-5), 3.77 (dd, 1H, H-6'), 3.63 (dd, 1H, H-6), 2.21, 2.11, 2.03 (je s, je 3H, 3 C(O)CH₃) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.7$, $^3J_{2,3} = 3.4$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6} = 4.4$, $^3J_{5,6'} = 3.3$, $^2J_{6,6'} = 15.3$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.71$, 169.70, 169.61 (C=O), 135.17 (NCS), 82.35 (C-1), 72.67, 71.82, 67.61, 66.14 (C-2, C-3, C-4, C-5), 45.24 (C-6), 20.82, 20.67, 20.60 (C(O)CH₃) ppm.

2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato- α -D-mannopyranosylisothiocyanat (82)

1.51 g (3.7 mmol) **81** wurden in DCM gelöst und mit 1.2 g (0.01 mol, 10 eq.) Kaliumthiocyanat suspendiert. Anschließend wurde das DCM i. Vak. entfernt. Nun wurde die Mischung für 8 min bei einer Ölbadtemperatur von 190 °C gerührt. Der auf RT abgekühlte Schmelzkuchen wurde in 30 mL Wasser/ 30 mL DCM überführt. Die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen zweimal



mit Wasser gewaschen. Nachdem über Natriumsulfat getrocknet wurde, lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 1.06 g (2.8 mmol; 388.42 g mol⁻¹), 74%;

R_f (CH/EE = 3 : 1) = 0.30;

[α]_D²⁰ = + 116.6° (c = 0.9, CHCl₃);

Smp. = 80 °C;

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.62 (d, 1H, H-1), 5.37 - 5.27 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.07 (ddd, 1H, H-5), 3.76 (dd, 1H, H-6'), 3.62 (dd, 1H, H-6), 2.21, 2.10, 2.03 (je s, je 3H, 3 C(O)CH₃) ppm;

³J_{1,2} = 2.1, ³J_{4,5} = 8.3, ³J_{5,6} = 4.6, ³J_{5,6'} = 3.3, ²J_{6,6'} = 15.1 Hz;

¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 169.85, 169.74, 169.60 (C=O), 144.71 (1-NCS), 135.12 (6-NCS), 82.60 (C-1), 71.51, 69.40, 67.95, 66.12 (C-2, C-3, C-4, C-5), 45.61 (C-6), 20.83, 20.66, 20.59 (3 C(O)CH₃) ppm;

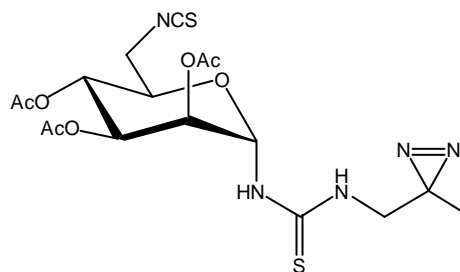
MS (EI): m/z = 330.0 [M-NCS]⁺ (ber. m/z = 330.0) für C₁₃H₁₆NO₇S;

MS (CI): m/z = 388.9 [M+H]⁺ (ber. m/z = 389.0) für C₁₄H₁₇N₂O₇S₂;

IR (KBr): ν = 2069.0, 1989.5 (NCS) cm⁻¹.

N-(2-Azipropyl)-N'-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-6-isothiocyanato-α-D-mannopyranosyl)thioharnstoff (83)

210 mg (0.54 mmol) **82** wurden in abs. DCM gelöst und mit 66 mg (0.54 mmol) **48**, gelöst in 1 mL abs. DCM und 80 μL DIPEA, tropfenweise versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde im Laufmittel (CH/EE = 1 : 1) aufgenommen und die säulenchromatographische Reinigung lieferte das Produkt als gelblichen mikrokristallinen Feststoff.



Ausbeute: 224 mg (0.50 mmol; M = 473.53 g mol⁻¹), 88%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.35;

$[\alpha]_D^{20} = + 51.5^\circ$ ($c = 2.28$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.27$ (bs, 1H, Zu-NH), 6.64 (t, 1H, CH_2NH), 5.38 - 5.33 (m, 2H, H-1, H-2), 5.31 (dd, 1H, H-3), 5.25 (t, 1H, H-4), 4.02 (dt, 1H, H-5), 3.88 (dd, 1H, CHHNH), 3.79 (dd, 1H, CHHNH), 3.74 (d, 2H, H-6, H-6'), 2.21, 2.11, 2.05 (je s, je 3H, C(O)CH_3), 1.15 (CH_3) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.6$, $^3J_{2,3} = 3.0$, $^3J_{3,4} = 9.7$, $^3J_{4,5} = 9.7$, $^3J_{5,6} = 4.6$, $^3J_{\text{CHHNH}} = 5.9$, $^2J_{\text{CHH}} = 15.0$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 184.63$ (C=S), 170.33, 169.87, 169.76 (C=O), 134.82 (NCS), 80.81 (C-1), 69.51, 68.28, 67.98, 66.57 (C-2, C-3, C-4, C-5), 47.59 (CH_2NH), 45.83 (C-6), 25.45 (C(NN)), 20.79, 20.70, 20.69 (3 C(O)CH_3), 18.39 (CH_3) ppm;

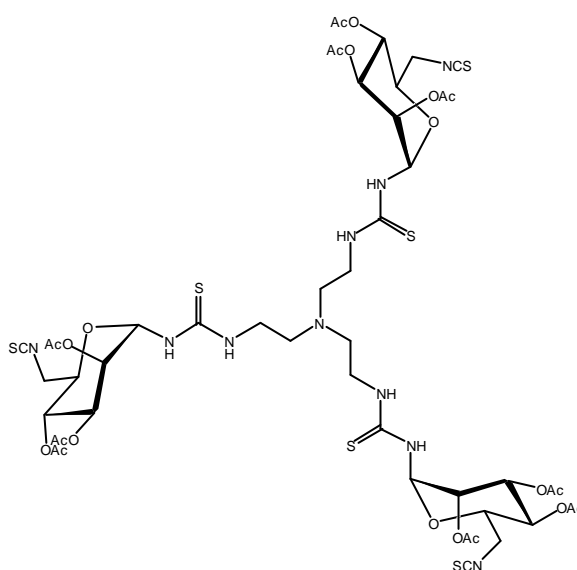
MS (EI): $m/z = 445.1$ $[\text{M-N}_2]^+$ (ber. $m/z = 445.10$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$;

MS (CI): $m/z = 446.2$ $[\text{M+H-N}_2]^+$ (ber. $m/z = 446.11$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$, $m/z = 474.2$ $[\text{M+H}]^+$ (ber. $m/z = 474.11$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_7\text{S}_2$;

IR (KBR): $\nu = 2117.5$ (NCS), 1542.8 (C(NN)) cm^{-1} .

Tris-{2-[3'-(2'',3'',4''-tri-O-acetyl-6''-desoxy-6''-isothiocyanato- α -D-mannopyranosyl)thioureido]ethyl}amin (85)

155 mg (0.40 mmol) **82** wurden in 2 mL abs. DCM gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dazu wurden langsam in zwei Portionen mit halbstündigem Abstand 19.6 μL (19.3 mg, 0.132 mmol, 0.33 eq.) Tris(2-aminoethyl)amin **84**, gelöst in 500 μL abs. DCM, gegeben. Nach insgesamt 1 h bei 0° C wurde eine weitere Stunde bei RT gerührt und eingengt. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 9 : 1) lieferte das Produkt als feinpulvrigen Feststoff.



Ausbeute: 123 mg (94 μmol ; $M = 1311.49 \text{ g mol}^{-1}$), 70%;

R_f (EE) = 0.21;

$[\alpha]_D^{20} = +28.3^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3);

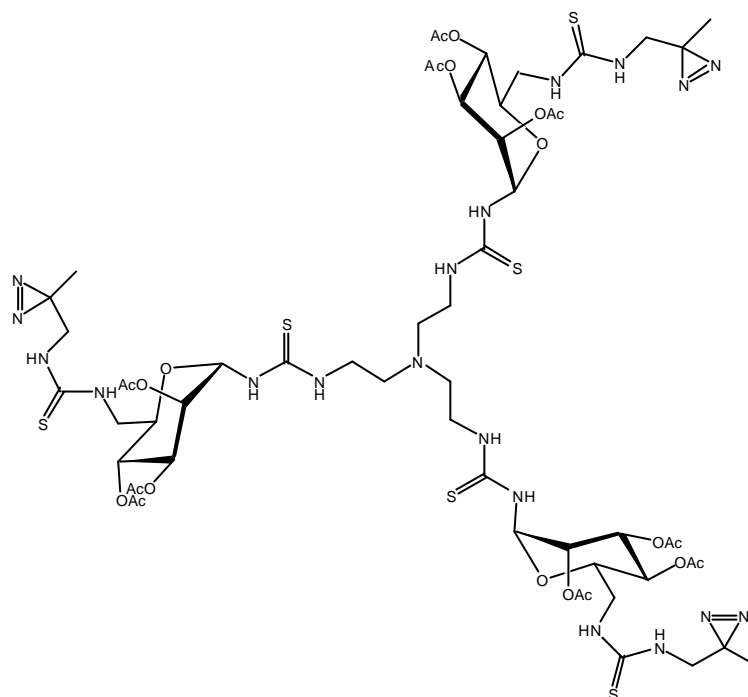
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 8.14$ (bs, 3H, 3 Zu-NH), 7.53 (bs, 3H, 3 NHCH_2), 6.18 (bs, 3H, 3 H-1), 5.51 - 5.43 (m, 3H, 3 H-3), 5.36 - 5.26 (m, 6H, 3 H-2, 3 H-4), 4.04 - 3.95 (m, 3H, 3 H-5), 3.89 (dd, 3H, 3 H-6'), 3.84 - 3.73 (m, 6H, 3 H-6, 3 NHCH_2), 3.72 - 3.60 (m, 3H, 3 NHCH_2), 2.84 (bt, 6H, 3 $\text{N}(\text{CH}_2)_3$), 2.16, 2.07, 1.99 (je s, je 9H, 9 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

$^3J_{2,3} = 2.6$, $^3J_{3,4} = 9.4$, $^3J_{5,6} = 3.9$, $^3J_{5,6'} = 3.3$, $^2J_{6,6'} = 15.6$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 184.26$ (3 C=S), 170.25, 170.20, 170.18 (9 C=O), 132.59 (3 NCS), 80.75 (3 C-1), 70.58 (3 C-5), 70.02 (3 C-2), 69.58 (3 C-3), 67.27 (3 C-4), 53.47 (β $\text{N}(\text{CH}_2)_3$), 46.40 (3 C-6), 43.94 (3 NHCH_2), 20.80, 20.67, 20.59 (9 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

MALDI-TOF-MS (DHB): $m/z = 1310.9$ $[\text{M}]^+$ (ber. $m/z = 1310.27$) für $\text{C}_{48}\text{H}_{66}\text{N}_{10}\text{O}_{21}\text{S}_6$.

Tris-{2-[3'-(2'',3'',4''-tri-O-acetyl-6''-desoxy-6''-(2'''-azipropylthioureido)-a-D-mannopyranosyl)thioureido]ethyl}amin (86)



110 mg (85 μmol) **85** wurden in 1 mL abs. DCM gelöst und mit 31 mg (0.25 mmol; 3 eq.) **48**, gelöst in 500 μL abs. DCM und 50 μL DIPEA, langsam versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt. Nach der Entfernung des Lösungsmittel erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 3 : 1) und lieferte das Produkt als feinpulvrigen Feststoff.

Ausbeute: 70 mg (44 μmol ; $M = 1566.81 \text{ g mol}^{-1}$), 52%;

R_f (EE) = 0.79;

$[\alpha]_D^{20} = + 82.8^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3);

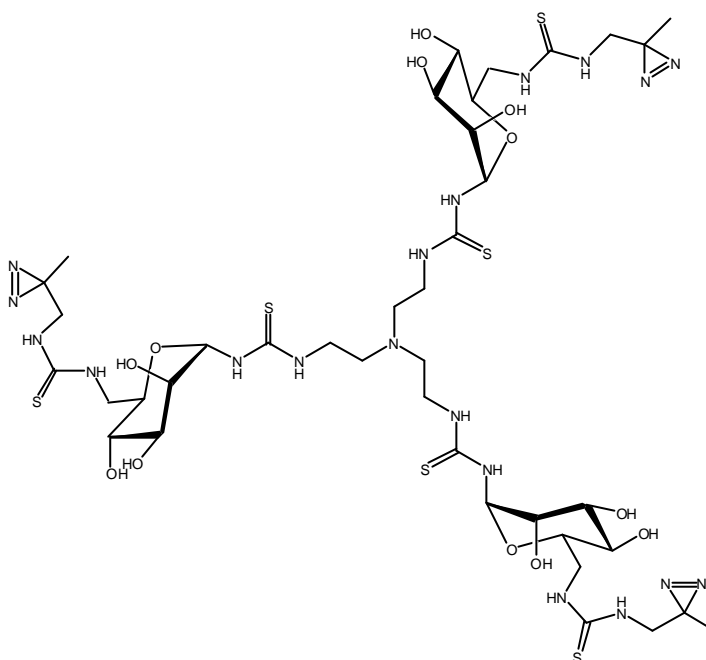
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 8.39$ (bs, 3H, 3 Zu-NH), 7.53, 7.39, 6.91, (je bs, je 3H, 9 NH), 6.08 (bs, 3H, 3 H-1), 5.40 (bd, 3H, 3 H-3), 5.31 (t \approx dd, 3H, 3 H-2), 5.08 (t, 3H, 3 H-4), 4.31 - 4.17 (bm, 3H, 3 H-6'), 4.11 - 4.02 (bm, 3H, 3 H-5), 3.93 - 3.80 (bm, 3H, 3 $\text{CHHC}(\text{NN})$), 3.79 - 3.59 (bm, 3H, 3 H-6), 3.54 - 3.34 (m, 9H, 3 $\text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 3 $\text{CHHC}(\text{NN})$), 2.84 - 2.79 (bm, 3H, 3 NCHH), 2.65 - 2.58 (bm, 3H, 3 NCHH), 2.16, 2.11, 2.08 (je s, je 9H, 9 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.07 (s, 9H, 3 CH_3) ppm;

$^3J_{2,3} = 3.7$, $^3J_{3,4} = 7.1$, $^3J_{4,5} = 7.1$ Hz;

^{13}C -NMR (125.75 MHz, Aceton- D_6): δ = 185.07, 184.01 (6 C=S), 170.31, 170.25, 170.16 (9 C=O), 78.73 (3 C-1), 73.78 (3 C-5), 69.37 (3 C-2), 68.96 (3 C-4), 68.64 (3 C-3), 52.59 (3 NCH_2), 47.67 (3 $\text{CCH}_2\text{C}(\text{NN})$), 45.14 (3 C-6), 43.36 (3 NCH_2CCH_2), 26.72 (3 C(NN)), 20.93, 20.76, 20.62, (9 C(O)CH₃), 18.30 (3 CH₃) ppm;

ESI-MS: m/z = 1566.4890 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. m/z = 1566.4721) für $\text{C}_{57}\text{H}_{88}\text{N}_{19}\text{O}_{21}\text{S}_6$, m/z = 1588.5011 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. m/z = 1588.4540) für $\text{C}_{57}\text{H}_{87}\text{N}_{19}\text{NaO}_{21}\text{S}_6$.

Tris-{2-[3'(6''-desoxy-6''-(2'''-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosyl)-thioureido]ethyl}amin (87)



68 mg (43 μmol) **86** wurden in 500 μL abs. MeOH gelöst und mit 39 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und für 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Neutralisation mit saurem Amberlite IR 120 Ionenaustauscher. Nach Filtration und Einengung der Lösung wurde der erhaltene Rückstand mittels HPLC (Merck RP-8 (7 μm), MeCN 40% isokratisch) gereinigt. Das Lyophilisat war ein farbloser amorpher Feststoff.

Ausbeute: 36 mg (30 μmol ; $M = 1186.51 \text{ g mol}^{-1}$), 69%;

R_f (MeOH/EE = 1 : 1) = 0.30;

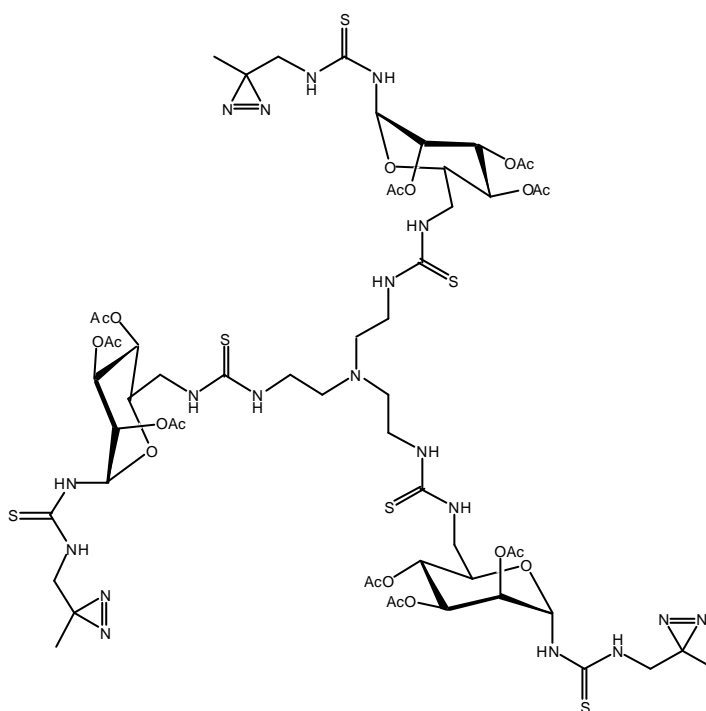
$[\alpha]_D^{20} = -19.8^\circ$ ($c = 0.88$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 5.82, 5.64$ (bs, 3H, 3 H-1), 4.06 - 3.50 (m, 30H, 3 H-2, 3 H-3, 3 H-4, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 3 NCH_2CH_2 , 3 $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 2.87 - 2.74 (bm, 6H, 3 NCH_2), 1.11, 1.10, 1.09 (s, 9H, 3 CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 184.42$ (6 C=S), 83.70 (3 C-1), 77.93 (3 C-5), 75.07, 74.54 (3 C-3), 72.15, 72.03, 71.39 (3 C-2), 69.56, 68.98, 68.78 (3 C-4), 54.44, 54.09 (3 NCH_2), 46.30 (3 C-6), 44.11 (3 NCH_2CH_2), 26.81 (3 C(NN)), 18.34, 18.28 (3 CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 1188.3929$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 1188.3770$) für $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{N}_{19}\text{O}_{12}\text{S}_6$, $m/z = 1210.3760$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 1210.3590$) für $\text{C}_{39}\text{H}_{69}\text{N}_{19}\text{NaO}_{12}\text{S}_6$.

Tris-{2-[3'-(2'',3'',4''-tri-O-acetyl-1''-6''-dideoxy-1'1'-(2'''-azipropylthioureido)-a-D-mannopyranos-6''-yl)thioureido]ethyl}amin (88)



69.9 mg (0.15 mmol) **83** wurden in 1 mL abs. DCM gelöst und mit 7.4 μL (7.2 mg; 49 μmol ; 0.33 eq.) Tris(2-aminoethyl)amin **84**, gelöst in 500 μL abs. DCM, langsam versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt. Nach der Entfernung des Lösungsmittel erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 3 : 1) und lieferte das Produkt als feinpulvrigen Feststoff.

Ausbeute: 23.5 mg (15 μmol ; $M = 1566.81$ g mol $^{-1}$), 30%;

R_f (EE/CH = 3 : 1) = 0.23;

$[\alpha]_D^{20} = +99.8^\circ$ ($c = 1.15$, CHCl_3);

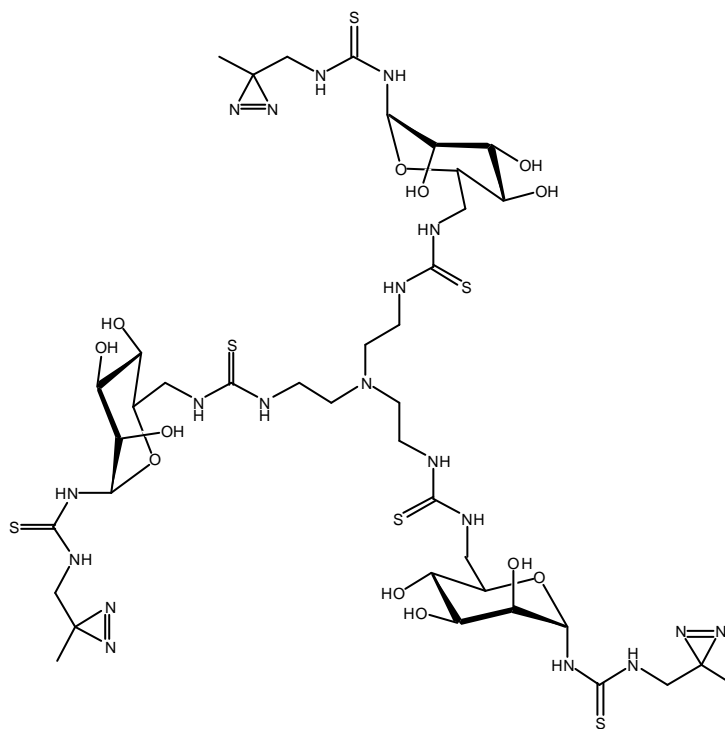
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 8.16$ (bs, 3H, 3 Zu-NH), 7.45, 7.29, 6.95, (je bs, je 3H, 9 NH), 6.02 (bs, 3H, 3 H-1), 5.39 - 5.22 (m, 6H, 3 H-2, 3 H-3), 5.08 (t, 3H, 3 H-4), 4.24 - 4.14 (bm, 3H, 3 H-6'), 4.09 - 4.01 (bm, 3H, 3 H-5), 3.81 - 3.42 (bm, 15H, 3 H-6, 3 NH- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 3 $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 2.84 - 2.60 (bm, 6H, 3 NCH_2), 2.12, 2.11, 2.04 (je s, je 9H, 9 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.08 (s, 9H, 3 CH_3) ppm;

$^3J_{3,4} = 7.3$, $^3J_{4,5} = 7.3$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 185.48$, 184.14 (6 C=S), 170.25, 170.20, 170.10 (9 C=O), 79.53 (3 C-1), 73.26 (3 C-5), 69.40 (3 C-2), 68.14 (3 C-3), 68.75 (3 C-4), 53.88 (3 NCH_2), 48.00 (3 $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 45.00 (3 C-6), 42.88 (3 NCH_2CH_2), 26.36 (3 C(NN)), 20.93, 20.79, 20.62, (9 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 18.26 (3 CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 1588.4900$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 1588.4540$) für $\text{C}_{57}\text{H}_{87}\text{N}_{19}\text{NaO}_{21}\text{S}_6$.

Tris-{2-[3'-(1''-6''-dideoxy-1''-(2'''-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranos-6''-yl)thioureido]ethyl}amin (89)



23 mg (15 μmol) **88** wurden in 500 μL abs. MeOH gelöst und mit 14 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und für 1 h

bei 0 °C gerührt. Anschließend erfolgte die Neutralisation mit saurem Amberlite IR 120 Ionenaustauscher. Nach Filtration und Einengung der Lösung verblieb ein farbloser amorpher Feststoff. Aufgrund der geringen Menge an Produkt und der ausreichenden NMR-Reinheit wurde auf eine weitere Reinigung des Rohproduktes verzichtet.

Ausbeute: 12 mg (10 μmol ; $M = 1186.51 \text{ g mol}^{-1}$), 69%;

R_f (MeOH/EE = 3 : 1) = 0.31;

$[\alpha]_D^{20} = + 7.0^\circ$ ($c = 0.63$, MeOH);

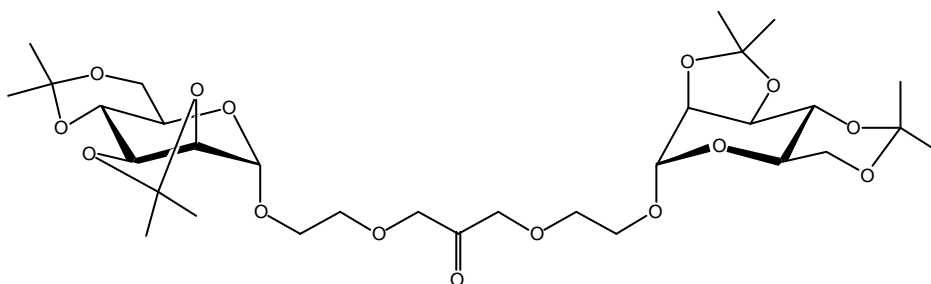
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 5.72$ (bs, 3H, 3 H-1), 3.94 (t \approx dd, 3H, 3 H-2), 3.82 - 3.52 (m, 27H, 3 H-3, 3 H-4, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 3 NCH_2CH_2 , 3 $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 2.90 - 2.76 (bm, 6H, 3 NCH_2), 1.12 (s, 9H, CH_3) ppm;

$^3J_{2,3} = 2.9 \text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 185.90$ (6 C=S), 83.76 (3 C-1), 74.70 (3 C-5), 71.93 (3 C-3), 71.29 (3 C-2), 69.00 (3 C-4), 54.64 (3 NCH_2), 48.07 (3 $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 45.80 (3 C-6), 43.80 (3 NCH_2CH_2), 26.75 (3 C(NN)), 18.45 (3 CH_3) ppm.

ESI-MS: $m/z = 1188.3686$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 1188.3770$) für $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{N}_{19}\text{O}_{12}\text{S}_6$, $m/z = 1210.3621$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 1210.3590$) für $\text{C}_{39}\text{H}_{69}\text{N}_{19}\text{NaO}_{12}\text{S}_6$.

1,9-Di-(2',3':4',6'-diisopropyliden- α -D-mannopyranosyloxy)-3,7-dioxa-5-oxononan (91)



1.44 g (2.2 mmol) **90**⁷⁷ wurden in DCM/MeOH (1 : 1) gelöst und die Lösung auf -78°C gekühlt. Durch die Reaktionslösung wurden 5 min Sauerstoff, 20 min Ozon, 5 min Sauerstoff und 5 min Argon geleitet. Anschließend wurden 2.22 g (8.5 mmol, 4 eq.) Triphenylphosphin zu der kalten Lösung gegeben, die dann für 2 h bei RT gerührt wurde. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulen-

chromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als amorphes farbloses Feststoff.

Ausbeute: 1.33 g (2.0 mmol; $M = 662.72 \text{ g mol}^{-1}$), 92%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.36;

$[\alpha]_D^{20} = +6.8^\circ$ ($c = 1.25$, CHCl_3);

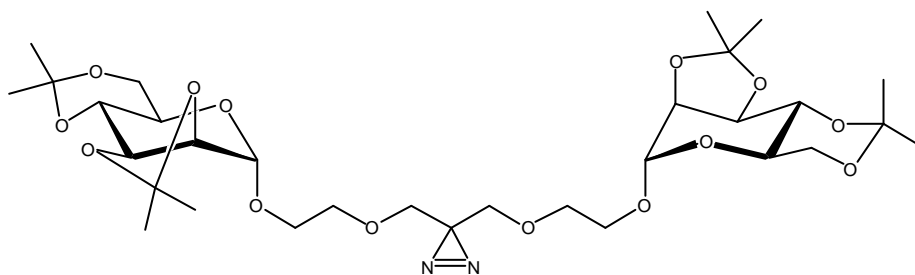
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.07$ (s, 2H, 2 H-1), 4.31 (d, 8H, 4 $\text{H}_{c,c'}$), 4.22 (d, 2H, 2 H-2), 4.16 (dd, 2H, 2 H-3), 3.89 - 3.82 (m, 4H, 2 H-6, 2 H_a), 3.79 - 3.64 (m, 10H, 2 H-4, 2 H-6, 4 $\text{H}_{b,b'}$, 2 H_a), 3.59 (dt, 2H, 2 H-5), 1.55, 1.52, 1.42, 1.35 (je s, je 6H, 8 ipr- CH_3) ppm;

$^3J_{2,3} = 5.7$, $^3J_{3,4} = 7.9$, $^3J_{5,6} = 5.6$, $^2J_{6,6'} = 10.8$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, CDCl_3): $\delta = 205.59$ (C=O), 109.46 (2 2,3-ipr- C_q), 99.70 (2 4,6-ipr- C_q), 97.92 (2 C-1), 75.94 (2 C-2), 75.01 (2 C_c), 74.80 (2 C-3), 72.68 (2 C-4), 70.73 (2 C_b), 66.56 (2 C_a), 62.02 (2 C-6), 61.45 (2 C-5), 29.04, 28.15, 26.14, 18.77 (8 ipr- CH_3) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 685.75$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 685.30$) für $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{NaO}_{15}$, $m/z = 701.71$ [$\text{M}-\text{K}$] $^+$ (ber. $m/z = 701.25$) für $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{KO}_{15}$.

1,9-Di-(2',3':4',6'-diisopropyliden- α -D-mannopyranosyloxy)-5-azi-3,7-dioxanonan (92)



810 mg (1.22 mmol) **91** wurden in 5 mL abs. MeOH/abs. DCM gelöst und auf -50°C gekühlt. Nun wurden ca. 80 mL Ammoniak einkondensiert und für 4 h bei -20°C gerührt. Anschließend wurden 152 mg (1.24 mmol) Hydroxylamin-O-sulfonsäure, gelöst in etwas abs. MeOH, bei -50°C hinzugegeben. Nach 1 h wurde die Kühlung entfernt und über Nacht bei RT gerührt. Von festen Bestandteilen wurde

abfiltriert und die Lösung eingeeengt. Der Rückstand wurde in 20 mL MeOH aufgenommen und mit 10 mL Triethylamin versetzt. Nun wurde mit einer 10%igen methanolischen Iod-Lösung bis zur bleibenden Gelbfärbung titriert. Die Lösung wurde abermals eingeeengt und in Ether/Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit Ether extrahiert, die vereinigten etherischen Phasen einmal mit Natriumthiosulfat-Lösung entfärbt, einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Aufreinigung (CH/EE = 5 : 2) liefert sowohl das Produkt als auch das Acetal **93** als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 404 mg (0.60 mmol; $M = 674.73 \text{ g mol}^{-1}$), 49%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.36;

$[\alpha]_D^{20} = + 5.7^\circ$ ($c = 1.15$, CHCl_3);

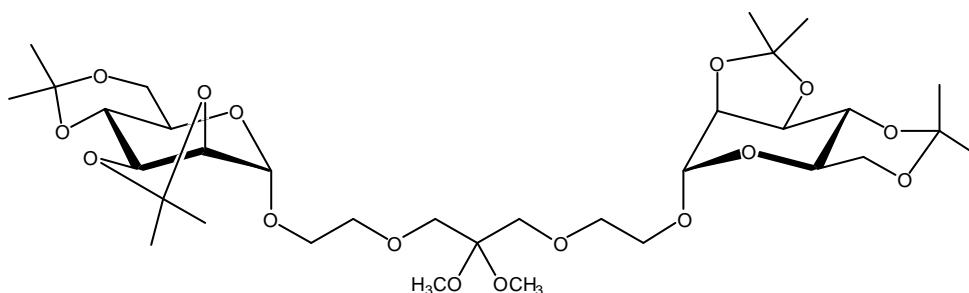
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.97$ (d, 2H, 2 H-1), 4.13 (dd \approx d, 2H, 2 H-2), 4.08 (dd, 2H, 2 H-3), 3.81 (dd, 2H, 2 H-6), 3.74 - 3.64 (m, 6H, 2 H-4, 2 H-6', 2 H_a), 3.57 - 3.48 (m, 8H, 2 H-5, 2 H_{c,c'}, 2 H_a), 3.39 (d, 2H, 2 H_b), 3.33 (d, 2H, 2 H_{b'}), 1.48, 1.45, 1.35, 1.28 (je s, je 6H, 8 ipr-CH₃) ppm;

$^3J_{1,2} \approx 0$, $^3J_{2,3} = 5.7$, $^3J_{3,4} = 7.9$, $^3J_{5,6} = 5.7$, $^2J_{6,6'} = 10.8$, $^2J_{b,b'} = 12.1$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, CDCl_3): $\delta = 109.44$ (2 2,3-ipr-C_q), 99.69 (2 4,6-ipr-C_q), 97.80 (2 C-1), 75.96 (2 C-2), 74.81 (2 C-3), 72.70 (2 C-4), 70.29 (2 C_b), 70.01 (2 C_c), 66.47 (2 C_a), 62.03 (2 C-6), 61.39 (2 C-5), 29.05, 28.17, 26.15, 18.78 (8 ipr-CH₃), 27.38 (C(NN)) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 669.79$ $[\text{M}+\text{Na}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 669.31$) für $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{NaO}_{15}$.

1,9-Di-(2',3':4',6'-diisopropyliden- α -D-mannopyranosyloxy)-5,5-dimethoxy-3,7-dioxa-nonan (**93**)



Ausbeute: 211 mg (0.30 mmol; $M = 708.79 \text{ g mol}^{-1}$), 24%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.28;

$[\alpha]_D^{20} = + 2.2^\circ$ ($c = 0.6$, CHCl_3);

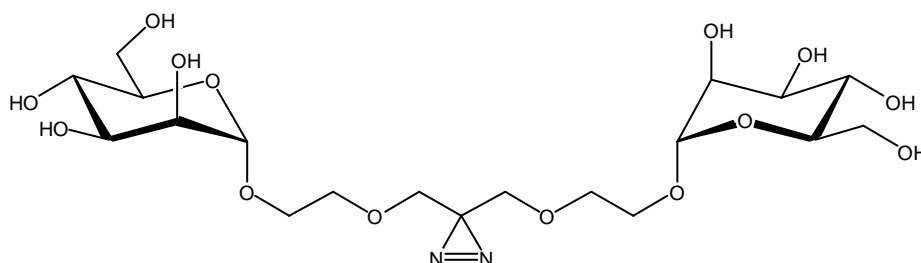
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.99$ (d, 2H, 2 H-1), 4.12 (d, 2H, 2 H-2), 4.06 (dd, 2H, 2 H-3), 3.80 (dd, 2H, 2 H-6), 3.74 (ddd, 2H, 2 H_a), 3.70 - 3.63 (m, 4H, 2 H-4, 2 H-6'), 3.63 - 3.51 (m, 8H, 2 H-5, 4 H_{c,c'}, 2 H_{a'}), 3.50 (d, 2H, 2 H_b), 3.47 (d, 2H, 2 H_{b'}), 3.21 (s, 6H, 2 OCH₃), 1.48, 1.44, 1.35, 1.27 (je s, je 6H, 8 ipr-CH₃) ppm;

$^3J_{1,2} \approx 0$, $^3J_{2,3} = 5.7$, $^3J_{3,4} = 7.9$, $^3J_{5,6} = 5.5$, $^2J_{6,6'} = 10.6$, $^2J_{b,b'} = 10.6$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, CDCl_3): $\delta = 109.41$ (2 2,3-*ipr*-C_q), 100.10 (2 C(OMe)₂), 99.65 (2 4,6-*ipr*-C_q), 97.80 (2 C-1), 76.01 (2 C-2), 74.84 (2 C-3), 72.71 (2 C-4), 70.30 (2 C_c), 67.90 (2 C_b), 66.48 (2 C_a), 62.01 (2 C-6), 61.32 (2 C-5), 48.18 (2 OCH₃), 29.05, 28.18, 26.16, 18.77 (8 *ipr*-CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 731.97$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 731.35$) für $\text{C}_{33}\text{H}_{56}\text{NaO}_{16}$,
 $m/z = 747.91$ $[\text{M}+\text{K}]^+$ (ber. $m/z = 747.30$) für $\text{C}_{33}\text{H}_{56}\text{KO}_{16}$.

1,9-Di-(α -D-mannopyranosyloxy)-5-azi-3,7-dioxa-nonan (94)



187 mg (0.28 mmol) **92** wurden in 10 mL TFA/Wasser = 9 : 1 aufgenommen. Nach einminütigem Stehen wurde die Reaktionslösung bei RT im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde zweimal mit Toluol codestilliert und lieferte nach der säulenchromatographischen Aufreinigung (EE/MeOH = 1 : 2) das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 133 mg (0.26 mmol; $M = 514.48 \text{ g mol}^{-1}$), 93%;

R_f (MeOH/EE = 2 : 1) = 0.65;

$[\alpha]_D^{20} = + 57.1^\circ$ ($c = 0.95$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.84$ (d, 2H, H-1), 3.90 - 3.82 (m, 6H, H-2, H-6', H_a), 3.79 - 3.72 (m, 4H, H-3, H-6), 3.69 - 3.57 (m, 10H, H-4, H-5, H_a' , $\text{H}_{c,c'}$), 3.47 (d, 4H, $\text{H}_{b,b'}$) ppm;

$^3\text{J}_{1,2} = 1.4$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.3$, $^3\text{J}_{5,6} = 5.9$, $^3\text{J}_{5,6'} = 2.4$, $^2\text{J}_{6,6'} = 11.7$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, CD_3OD): $\delta = 101.70$ (C-1), 74.60 (C-5), 72.55 (C-3), 72.09 (C-2), 71.33 (C_c), 71.13 (C_b), 68.57 (C-4), 67.63 (C_a), 62.88 (C-6), 28.69 (C(NN)) ppm;

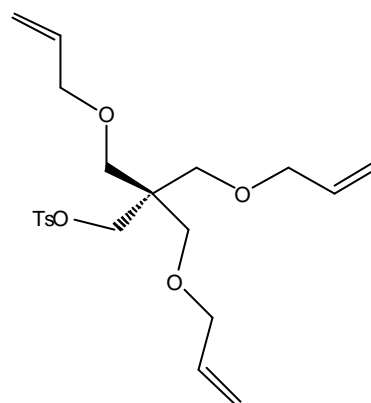
MALDI-TOF-MS (DHB): $m/z = 509.54$ $[\text{M}+\text{Na}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 509.19$) für $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{NaO}_{14}$, 537.52 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 537.19$) für $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_{14}$;

ESI-MS: $m/z = 537.2150$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 537.1902$) für $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_{14}$.

Tri-O-allyl-O-tosyl-pentaerythrit (96)

4.00 g (16 mmol) säulenchromatographisch gereinigtes technisches Tri-O-allyl-pentaerythrit **95** wurden in 30 mL trockenem Pyridin gelöst und portionsweise mit 3.24 g (17 mmol) Tosylchlorid versetzt und bei RT über Nacht gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 mL MeOH abgebrochen, die Lösung eingeeengt und in DCM/ ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung aufgenommen.

Die organische Phase wurde ein weiteres Mal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 9 : 1) lieferte das Produkt als leicht gelblichen Sirup.



Ausbeute: 5.30 g (0.013 mol; $M = 410.53$ g mol⁻¹), 81%;

R_f (CH/EE = 9 : 1) = 0.28;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.77$ (d, 2H, $\text{H}_{a,a'}$), 7.33 (d, 2H, $\text{H}_{x,x'}$), 5.79 (dddd, 3H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.18 (ddd \approx dd, 3H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CHH}_t$), 5.12 (ddd \approx dd, 3H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_c\text{H}$), 4.06 (s, 2H, TsOCH_2), 3.86 (dt, 6H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.38 (s, 6H, 3 $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 2.44 (CH_3) ppm;

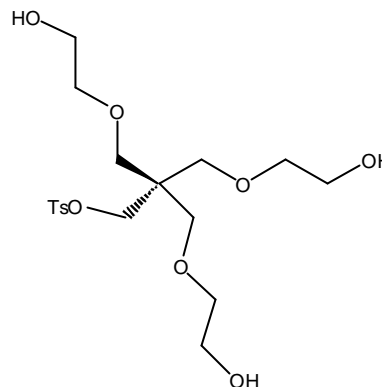
$^2\text{J}_{\text{gem}} = 1.8$, $^3\text{J}_{\text{cis}} = 10.5$, $^3\text{J}_{\text{trans}} = 17.3$, $^3\text{J}_{\text{OCHHCH}} = 5.4$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 144.53$ ($\text{H}_3\text{CC}_{\text{Ar}}$), 134.76 (3 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 132.90 ($\text{O}_3\text{SC}_{\text{Ar}}$), 129.73 ($\text{H}_3\text{CC}_{\text{Ar}}(\text{C}_{x,x'})$), 127.96 ($\text{O}_3\text{SC}_{\text{Ar}}(\text{C}_{a,a'})$), 116.39 (3 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 72.28

(3 $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 69.74 (TsOCH_2), 68.18 (3 $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 44.81 (C_q), 21.61 (CH_3) ppm.

Tri-O-(2-hydroxyethyl)-O-tosyl-pentaerythrit (97)

5.00 g (12 mmol) **96** wurden in 40 mL abs. DCM/ abs. MeOH (1 : 1) gelöst und auf -78°C gekühlt. Nach 5 min O_2 -Einleitung wurde für 40 min Ozon in die Lösung geleitet. Nach weiteren 5 min O_2 -Einleitung und 5 min Argon-Einleitung wurden 4.54 g (0.12 mol, 10 eq.) Natriumborhydrid der kalten Lösung hinzugefügt, die eine weitere Stunde gekühlt wurde und bei RT über Nacht gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von



15 mL Eisessig abgebrochen und die Lösung eingeeengt. Der Rückstand wurde in Diethylether/Wasser aufgenommen, die wässrige Phase zweimal mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung ($\text{EE}/\text{CH} = 2 : 1 \rightarrow \text{EE} \rightarrow \text{EE}/\text{MeOH} = 2 : 1$) das Produkt als farblosen Sirup

Ausbeute: 2.32 g (5 mmol; $M = 422.49 \text{ g mol}^{-1}$), 46%;

R_f (EE) = 0.10;

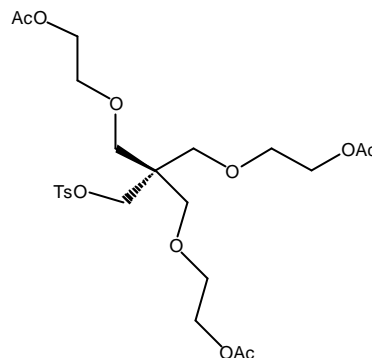
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.78$ (d, 2H, $\text{H}_{a,a'}$), 7.36 (d, 2H, $\text{H}_{x,x'}$), 4.07 (s, 2H, CH_2OTs), 3.69 - 3.63 (m, 6H, 3 CH_2OH), 3.53 - 3.47 (m, 6H, 3 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.45 (s, 6H, 3 $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 3.02 (bs, 3H, 3 OH), 2.46 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^3J_{a,x} = ^3J_{a',x'} = 8.6 \text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 145.01$ ($\text{H}_3\text{CC}_{\text{Ar}}$), 132.71 ($\text{O}_3\text{SC}_{\text{Ar}}$), 129.91 ($\text{H}_3\text{CC}_{\text{Ar}}(\text{C}_{x,x'})$), 127.91 ($\text{O}_3\text{SC}_{\text{Ar}}(\text{C}_{a,a'})$), 72.67 (3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 69.10 (TsOCH_2), 69.04 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 61.37 (3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 44.95 (C_q), 21.65 (CH_3) ppm.

Tri-O-(2-acetoxyethyl)-O-tosyl-pentaerythrit (98)

2.20 g (5 mmol) **97** wurden in 20 mL abs. Pyridin gelöst und mit 2.8 mL (0.03 mol; 2.2 eq. pro OH-Gruppe) Essigsäureanhydrid versetzt und bei RT für 4 h gerührt. Die Lösung wurde eingeeengt, mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 2) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.



Ausbeute: 2.40 g (4 mmol; 548.60 g mol⁻¹), 84%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.35;

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.78 (d, 2H, H_{a,a'}), 7.35 (d, 2H, H_{x,x'}), 4.14 - 4.08 (m, 6H, 3 CH₂OAc), 4.03 (s, 2H, CH₂OTs), 3.56 - 3.50 (m, 6H, 3 CH₂CH₂OAc), 3.40 (s, 6H, C(CH₂O)₃), 2.46 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 9H, 3 C(O)CH₃) ppm;

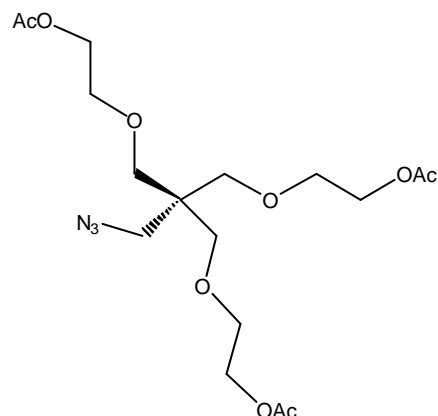
³J_{a,x} = ³J_{a',x'} = 8.3 Hz;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 170.96 (3 C=O), 144.79 (H₃CC_{Ar}), 132.86 (O₃SC_{Ar}), 129.79 (H₃CC_{Ar}(C_{x,x'})), 127.94 (O₃SC_{Ar}(C_{a,a'})), 69.22 (3 OCH₂CH₂OAc), 69.16 (TsOCH₂), 68.72 (C(CH₂O)₃), 61.37 (3 OCH₂CH₂OAc), 44.95 (C_q), 21.65 (H₃CC_{Ar}), 20.90 (3 C(O)CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS: m/z = 571.5 [M+Na]⁺ (ber. m/z = 571.18), 587.5 [M+K]⁺ (ber. m/z = 587.15) für C₂₄H₃₆O₁₂S.

1-Azido-3-(2'-acetoxyethoxy)-2,2-bis-(2'-acetoxyethoxymethyl)-propan (99)

2.20 g (4 mmol) **98** wurden in 15 mL abs. DMF gelöst und mit 1.30 g (0.02 mol; 5 eq.) fein gemörsertem Natriumazid und 1.29 g (4 mmol) TBABr versetzt und die Mischung für 6 d bei 85 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde weitgehend eingeeengt und in Wasser/EE aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die



säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 1.57 g (3.7 mmol; $M = 419.43 \text{ g mol}^{-1}$), 93%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.58;

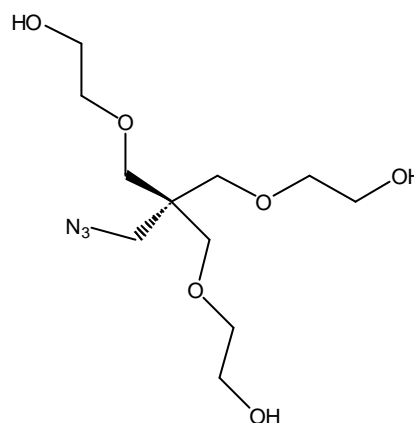
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.20$ (dt, 6H, 3 CH_2OAc), 3.61 (dt, 6H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OAc}$), 3.40 (s, 6H, 3 $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 3.35 (s, 2H, CH_2N_3), 2.07 (s, 9H, 3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.00$ (3 $\text{C}=\text{O}$), 69.53 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 69.27 (3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OAc}$), 63.34 (3 CH_2OAc), 51.50 (CH_2N_3), 45.49 (C_q), 20.93 (3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

MS (CI): $m/z = 392.2$ [$\text{M}+\text{H}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 392.19$) für $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{NO}_9$.

1-Azido-3-(2'-hydroxyethoxy)-2,2-bis-(2'-hydroxyethoxymethyl)-propan (100)

1.50 g (3.6 mmol) **99** wurden in 5 mL abs. MeOH gelöst und mit 1 mL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und für 30 min bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde dann durch Zugabe von Amberlite IR 120-Ionenaustauscher neutralisiert. Nach Filtration des Ionenaustauschers und Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 2 : 1 \rightarrow MeOH/EE = 2 : 1) zu einem gelblichen Sirup.



Ausbeute: 952 mg (3.3 mmol; $M = 293.32 \text{ g mol}^{-1}$), 91%;

R_f (MeOH/EE = 2 : 1) = 0.76;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.76 - 3.69$ (m, 6H, 3 CH_2OH), 3.61 - 3.54 (m, 6H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.46 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 3.39 (s, 2H, CH_2N_3), 2.98 (bs, 3H, 3 OH) ppm;

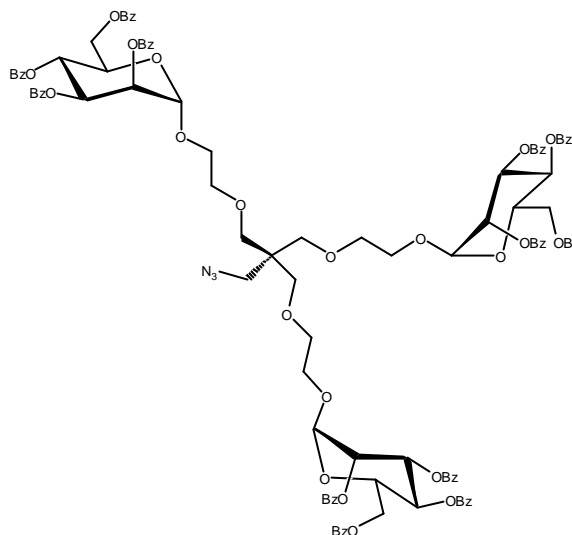
^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 72.63$ (3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 70.02 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 61.41 (3 CH_2OH), 51.91 (CH_2N_3), 45.34 (C_q) ppm.

1-Azido-3-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxymethyl]-propan (102)

100 mg (0.34 mmol) **100** und 833 mg (1.12 mmol, 3.3 eq.) 2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyltrichloracetimidat **101** wurden unter Argon-Atmosphäre

in 4 mL abs. DCM gelöst und auf 0 °C gekühlt. Durch Zugabe eines Tropfens TMS-OTf wurde die Reaktion gestartet. Die Kühlung verblieb 1 h, dann wurde für 1 d bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch

Zugabe von etwas ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung abgebrochen und die Mischung in DCM/Wasser aufgenommen. Die abgetrennte organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die anschließende säulenchromatographische Reinigung (CH/EE 5 : 2) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.



Ausbeute: 466 mg (0.23 mmol; $M = 2029.01 \text{ g mol}^{-1}$), 67%;

R_f (CH/EE = 3 : 2) = 0.43;

$[\alpha]_D^{20} = -20.7^\circ$ ($c = 1.98$, CHCl_3);

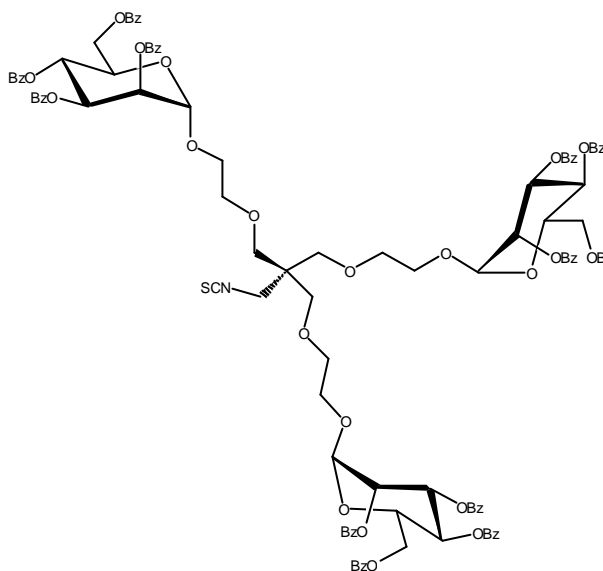
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.10$, 8.03, 7.93, 7.82 (je dd, je 4H, 16 H_{Bz}), 7.58 - 7.53 (m, 4 H, 4 H_{Bz}), 7.47 - 7.29 (m, 24H, H_{Bz}), 7.25 - 7.21 (m, 6H, 6 H_{Bz}), 6.13 (t, 3H, 3 H-4), 5.96 (dd, 3H, 3 H-3), 5.73 (dd, 3H, 3 H-2), 5.17 (d, 3H, 3 H-1), 4.72 (dd, 3H, 3 H-6'), 4.54 - 4.47 (m, 6H, 3 H-5, 3 H-6), 3.94 (ddd, 3H, 3 $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 3.79 (ddd, 3H, 3 $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 3.73 (q, 6H, 3 $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 3.57 (d, 6H, 3 $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 3.47 (d, 2H, CH_2N_3) ppm;

$^3J_{\text{a,x}} = ^3J_{\text{a',x'}} = 8.4$, $^3J_{1,2} = 1.8$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6} = 4.2$, $^3J_{5,6'} = 2.2$, $^2J_{6,6'} = 11.5$, $^2J_{\text{CHHCHHOZu}} = 11.2$, $^3J_{\text{CHHCHHOZu}} = 5.6$, $^3J_{\text{CHHCHHOZu}} = 8.8 \text{ Hz}$;

^{13}C -NMR (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.14, 165.49, 165.38, 165.30$ (12 C=O), 133.40, 133.37, 133.07, 133.03 ($\text{OC(O)C}_{\text{Bz}}$), 129.94, 129.84, 129.75, 129.73, 129.40, 129.17, 129.04, 128.55, 128.45, 128.43, 128.27 (C_{Bz}), 97.66 (3 C-1), 70.50 (3 $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 70.48 (3 C-2), 70.11 (3 C-3), 69.91 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 68.79 (3 C-5), 67.17 (3 $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 67.00 (3 C-4), 62.87 (3 C-6), 51.90 (CH_2N_3), 45.73 (C_q) ppm;
 MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 2052.3$ $[\text{M-Na}]^+$ (ber. $m/z = 2052.0$) für $\text{C}_{117}\text{H}_{108}\text{N}_2\text{NaO}_{33}\text{S}$, $m/z = 2068.2$ $[\text{M+K}]^+$ (ber. 2068.0) für $\text{C}_{117}\text{H}_{108}\text{KN}_2\text{O}_{33}\text{S}$.

1-Isothiocyanato-3-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxymethyl]-propan (103)

400 mg (0.20 mmol) **102** wurden in 5 mL abs. Toluol gelöst und mit 480 μL (600 mg, 8 mmol) Kohlenstoffdisulfid und 136 μL (131 mg, 0.80 mmol) Triethylphosphit versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 8 h bei 80 °C unter Rückfluss gerührt. Nach dem Abkühlen wurden 2 mL Wasser hinzugefügt und der Ansatz über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Die organische Phase wurde in DCM



aufgenommen und die wässrige Phase einmal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 2), die das Produkt als farblosen Feststoff lieferte.

Ausbeute: 333 mg (0.16 mmol; $M = 2045.07 \text{ g mol}^{-1}$), 83%;

R_f (CH/EE = 3 : 2) = 0.47;

$[\alpha]_D^{20} = -41.4^\circ$ ($c = 0.64, \text{CHCl}_3$);

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.09, 8.03, 7.93, 7.82$ (je dd, je 4H, H_{Bz}), 7.58 - 7.52 (m, 4H, 4 H_{Bz}), 7.47 - 7.29 (m, 24H, H_{Bz}), 7.25 - 7.20 (t, 6H, 6 H_{Bz}), 6.13 (t, 3H,

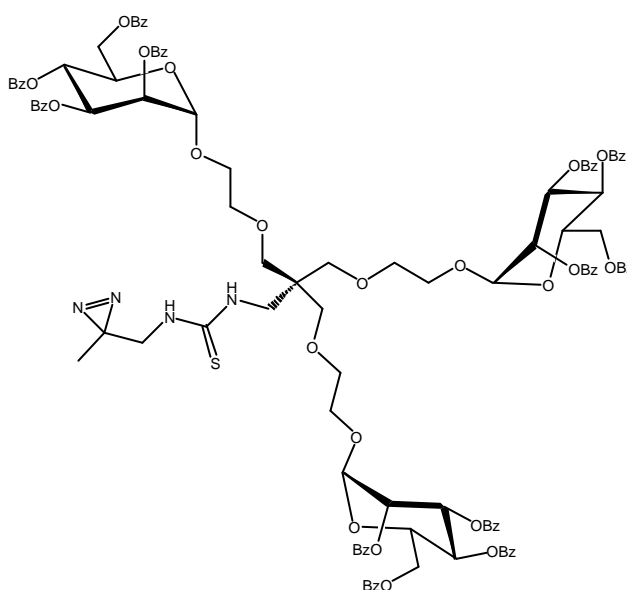
3 H-4), 5.95 (dd, 3H, 3 H-3), 5.73 (dd, 3H, 3 H-2), 5.17 (d, 3H, 3 H-1), 4.72 (dd, 3H, 3 H-6), 4.53 - 4.46 (m, 6H, 3 H-5, 3 H-6'), 3.97 - 3.91 (m, 3H, 3 ZuO-CHH), 3.83 - 3.68 (m, 11H, 3 ZuOCHH, 3 ZuOCH₂CH₂, CH₂NCS), 3.60 (d, 6H, C(CH₂O)₃) ppm;
³J_{1,2} = 1.9, ³J_{2,3} = 3.3, ³J_{3,4} = 10.0, ³J_{4,5} = 10.0, ³J_{5,6} = 3.5, ²J_{6,6'} = 13.0 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): δ = 166.12, 165.48, 165.38, 165.29 (12 C=O), 133.39, 133.36, 133.06, 133.02 (OC(O)C_{Bz}), 129.90, 129.83, 129.74, 129.73, 129.36, 129.14, 129.00, 128.53, 128.44, 128.42, 128.25 (C_{Bz}), 97.66 (3 C-1), 70.60 (3 ZuO-CH₂CH₂), 70.47 (3 C-2), 70.08 (3 C-3), 69.70 (C(CH₂O)₃), 68.81 (3 C-5), 67.12 (3 ZuO-CH₂), 66.98 (3 C-4), 62.87 (3 C-6), C_q (46.03), 45.78 (CH₂NCS) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): *m/z* = 2068.0 [M-Na]⁺ (ber. *m/z* = 2068.06) für C₁₁₇H₁₀₈N₂NaO₃₃S.

***N*-{3-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(2'',3'',4'',6''-tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxy-methyl]-propyl}-*N'*-(2'''-azipropyl)-thioharnstoff (104)}**

318 mg (0.16 mmol) **103** wurden mit 50 μ L DIPEA in 3 mL abs. DCM gelöst und mit 13 mg (0.16 mmol) **48** gelöst in 0.5 mL DCM versetzt. Die Lösung wurde bei 30 °C für 8 h gerührt und anschließend eingengt. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Feststoff.



Ausbeute: 265 mg (0.12 mmol; M = 2130.18 g mol⁻¹), 80%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.54;

[α]_D²⁰ = -35.0° (c = 0.16, CHCl₃);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 8.09, 8.02, 7.93, 7.82 (je dd, je 6H, H_{Bz}), 7.58 - 7.53 (m, 6H, H_{Bz}), 7.47 - 7.28 (m, 24H, H_{Bz}), 7.25 - 7.21 (t, 6H, H_{Bz}), 6.14 (t, 3H, H-4), 5.94 (dd, 3H, H-3), 5.73 (dd, 3H, H-2), 5.20 (d, 3H, H-1), 4.73 (dd, 3H, H-6'), 4.54 - 4.47 (m, 6H, H-5, H-6), 3.99 - 3.92 (m, 3H, $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 3.85 - 3.61 (m, 19H, $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$, $\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{NHC(S)}$, $\text{C}(\text{CH}_2\text{N})$), 3.61 (s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 0.99 (s, 3H, $\text{C}(\text{NN})\text{CH}_3$) ppm;

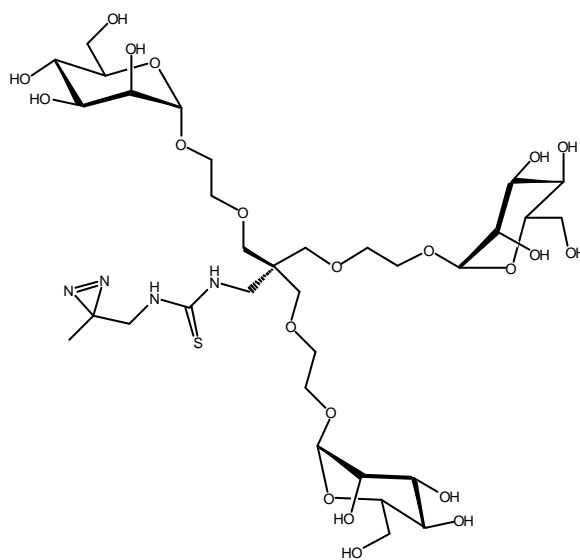
$^3\text{J}_{1,2} = 1.6$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.2$, $^3\text{J}_{3,4} = 10.1$, $^3\text{J}_{4,5} = 10.1$, $^3\text{J}_{5,6} = 4.1$, $^3\text{J}_{5,6'} = 2.5$, $^2\text{J}_{6,6'} = 12.1$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): δ = 166.17, 165.53, 165.49, 165.42 (C=O), 133.42, 133.40, 133.15, 133.06 ($\text{OC}(\text{O})\text{C}_{\text{Bz}}$), 129.89, 129.85, 129.78, 129.74, 129.29, 129.08, 128.99, 128.56, 128.47, 128.30 (C_{Bz}), 97.67 (C-1), 70.62 ($\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 70.60 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 70.52 (C-2), 70.16 (C-3), 68.90 (C-5), 67.28 ($\text{ZuOCH}_2\text{CH}_2$), 66.89 (C-4), 62.87 (C-6), 43.47 (C_q) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 2102.1$ [M-N_2] $^+$ (ber. $m/z = 2102.17$) für $\text{C}_{117}\text{H}_{108}\text{N}_2\text{O}_{33}\text{S}$.

***N*-{3-[2'-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxy]-2,2-bis-[2'-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethoxymethyl]-propyl}-*N'*-(2"-azipropyl)-thioharnstoff (105)**

225 mg (0.11 mmol) **104** wurden in 2 mL abs. MeOH/THF = 1 : 1 gelöst und mit 126 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt und die Lösung für 1 h gerührt. Eine MALDI-Analyse zeigte dann keine benzylierten Anteile mehr in der Reaktionslösung. Die Lösung wurde mit Amberlite IR 120-Ionenaustauscher neutralisiert und auf einer RP-18-Säule (Wasser/MeOH = 5 : 1) chromatographisch gereinigt.



Ausbeute: 51 mg (0.06 mmol; $M = 880.91 \text{ g mol}^{-1}$), 55%;

R_f (MeOH/EE = 2 : 1) = 0.26;

$[\alpha]_D^{20} = +21.3^\circ$ ($c = 0.7$, H_2O);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): $\delta = 4.90$ (d, 3H, 3 H-1), 3.98 - 3.94 (m, 3H, 3 H-2), 3.90 - 3.61 (m, 31H, 3 H-3, 3 H-4, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 3 $\text{ZuO-CH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{NHC(S)}$), 3.56 - 3.46 (m, 6H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 3.34 (s, 2H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{N})$), 1.08 (s, 3H, $\text{C}(\text{NN})\text{CH}_3$) ppm;

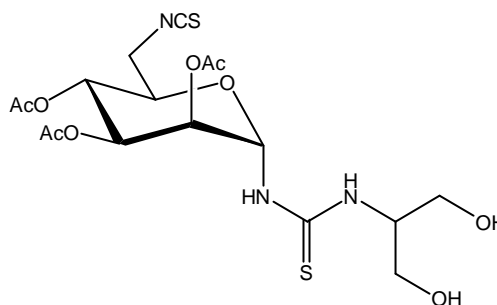
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, D_2O): $\delta = 102.23$ (3 C-1), 75.14 (3 C-4), 73.02 (3 C-3), 72.74 (3 $\text{ZuO-CH}_2\text{CH}_2$), 72.44 (3 C-2), 69.12 (3 C-5), 68.63 ($\text{C}(\text{CH}_2\text{O})_3$), 64.87 (3 ZuO-CH_2), 51.26 ($\text{CH}_2\text{NHC(S)}$), 46.79 (C_q), 26.25 ($\text{C}(\text{NN})$), 19.37 ($\text{C}(\text{NN})\text{CH}_3$) ppm;

MALDI-TOF-MS (DHB): $m/z = 875.5$ [$\text{M}+\text{Na}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 875.33$) für $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{NaO}_{21}\text{S}$;

ESI-MS: $m/z = 903.3358$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 903.3363$) für $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{NaO}_{21}\text{S}$.

***N*-(1-Hydroxymethyl-2-hydroxyethyl)-*N'*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-isothiocyanato)- α -D-mannopyranosyl)thioharnstoff (107)**

0.53 g (1.4 mmol) **82** wurden in 2 mL abs. DCM gelöst und portionsweise mit 0.13 g (1.4 mmol) Serinol **106** versetzt. Die Lösung wurde bei RT für 2 h gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (EE) zu einem farblosen kristallinen Feststoff.



Ausbeute: 534 mg (1.1 mmol; $M = 479.53 \text{ g mol}^{-1}$), 81%;

R_f (EE) = 0.21;

$[\alpha]_D^{20} = +54.0^\circ$ ($c = 0.71$, CHCl_3);

Smp. = 165°C ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 8.22$, 7.28 (je bs, je 1H, 2 NH), 6.19 (bd, 1H, H-1), 5.38 (dd, 1H, H3), 5.35 - 5.30 (m, 2H, H-2, H3), 4.03 - 3.93 (m, 2H, H-5, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 3.90 (dd, 1H, H6'), 3.87 - 3.82 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 3.79 (dd, 1H, H-6), 3.75 - 3.64 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 2.17, 2.05, 1.98 (je s, je 3H, 3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

$^3\text{J}_{2,3} = 3.1$, $^3\text{J}_{3,4} = 9.7$, $^3\text{J}_{4,5} = 9.7$, $^3\text{J}_{5,6} = 3.6$, $^3\text{J}_{5,6'} = 3.3$, $^2\text{J}_{6,6'} = 15.5$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 184.11$ (C=S), 170.25, 170.24, 170.10

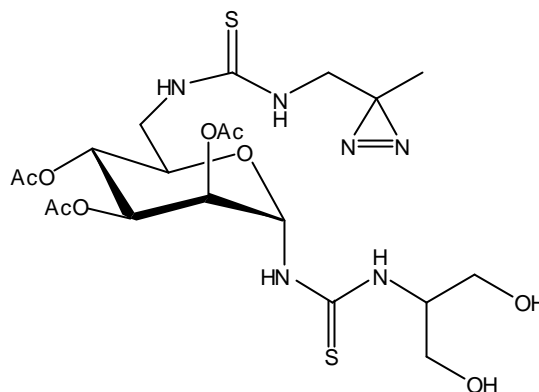
(3 C=O), 132.69 (NCS), 81.06 (C-1), 70.57, 70.07, 69.49, 67.34 (C-2, C-3, C-4, C-5), 61.33, 61.27 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 57.79 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 46.38 (C-6), 20.76, 20.60, 20.51 (3 C(O)CH₃) ppm;

ESI-MS: $m/z = 502.0902$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 502.0924$) für C₁₇H₂₅N₃NaO₉S₂.

***N*-(1-Hydroxymethyl-2-hydroxyethyl)-*N'*-[2,3,4-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-(2"-azipropylthioureido)- α -D-mannopyranosyl]thioharnstoff (108)**

500 mg (1.0 mmol) **107** wurden in 2 mL abs.

DCM gelöst und langsam mit einer Lösung von 98 mg (1.2 mmol) **48** in 1 mL abs. DCM und 50 μL DIPEA versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei RT gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 1 : 7) das Produkt als amorphen Feststoff.



Ausbeute: 260 mg (0.5 mmol; $M = 564.64 \text{ g mol}^{-1}$), 44%;

R_f (CH/EE = 1 : 7) = 0.33;

$[\alpha]_D^{20} = +37.1^\circ$ ($c = 0.74$, CHCl₃);

¹H-NMR (500 MHz, Aceton-D₆): $\delta = 8.19, 7.43$ (je bs, je 1H, 2 NH), 7.19 - 7.04 (m, 2H, 2 NH), 6.01 (bs, 1H, H-1), 5.36 (dd, 1H, H-3), 5.32 (dd, 1H, H-2), 5.07 (t, 1H, H-4), 3.97 - 3.59 (m, 8H, H-5, H-6, $\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$, $\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$, $\underline{\text{C}}\text{H}\underline{\text{C}}(\text{NN})$), 3.55 (dd, 1H, H-6'), 3.48 - 3.39 (m, 1H, $\underline{\text{C}}\text{H}\underline{\text{C}}(\text{NN})$), 2.12, 2.06, 1.98 (je s, je 3H, 3 C(O)CH₃) ppm;

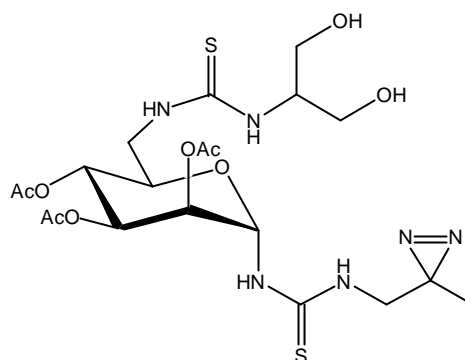
³J_{2,3} = 3.5, ³J_{3,4} = 9.0, ³J_{4,5} = 9.0, ³J_{5,6} = 6.2, ³J_{5,6'} = 5.9, ²J_{6,6'} = 15.0 Hz;

¹³C-NMR (125.75 MHz, Aceton-D₆): $\delta = 185.32, 184.52$ (2 C=S), 170.21, 170.20, 127.07 (3 C=O), 80.52 (C-1), 72.22, 69.92, 69.40, 68.45 (C-2, C-3, C-4, C-5), 61.46, 61.42 ($\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 57.76 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 47.71 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\underline{\text{C}}(\text{NN})$), 45.69 (C-6), 26.56 (C(NN)), 20.71, 20.65, 20.53 (3 C(O)CH₃) ppm.

ESI-MS: $m/z = 565.1768$ [M+H]⁺ (ber. $m/z = 565.1745$) für C₂₀H₃₃N₆O₉S₂,
 $m/z = 587.1648$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 587.1564$) für C₂₀H₃₂N₆NaO₉S₂.

***N*-(2-Azipropyl)-*N'*-[2',3',4'-tetra-*O*-acetyl-6-desoxy-6-(1''-hydroxymethyl-2''-hydroxyethylthioureido)- α -D-mannopyranosyl]thioharnstoff (109)**

200 mg (0.42 mmol) **83** wurden in 4 mL abs. DCM gelöst und mit einer Suspension von 38 mg (0.42 mmol) Serinol in 500 μ L abs DCM langsam versetzt und für 3 h bei RT gerührt. Die säulenchromatographische Aufarbeitung (EE/CH = 5 : 1 \rightarrow EE) lieferte das Produkt als farblosen kristallinen Feststoff.



Ausbeute: 183 mg (0.32 mmol; $M = 564.64 \text{ g mol}^{-1}$), 77%;

R_f (EE/CH = 5 : 1) = 0.23;

$[\alpha]_D^{20} = +44.5^\circ$ ($c = 0.69$, Aceton);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 8.19$ (bs, 1H, Zu-NH), 7.42 - 7.19 (bm, 2H, NH, NH-C-6), 7.02 (bs, 1H, NH), 6.00 (bs, 1H, H-1), 5.33 (dd, 1H, H-3), 5.29 (dd \approx t, 1H, H-2), 5.08 (t, 1H, H-4), 4.47 - 4.19 (bm, 2H, CH_2OH), 3.97 - 3.89 (m, 3H, H-5, CH_2OH), 3.81 - 3.74 (m, 1H, H-6'), 3.72 - 3.62 (m, 5H, 2 CH_2NH , H-6), 3.57 - 3.49 (CH), 2.92 (bs, 2H, 2 OH), 2.11, 2.06, 1.99 (je s, je 3H, 3 C(O)CH_3), 1.07 (s, 3H, CH_3) ppm;

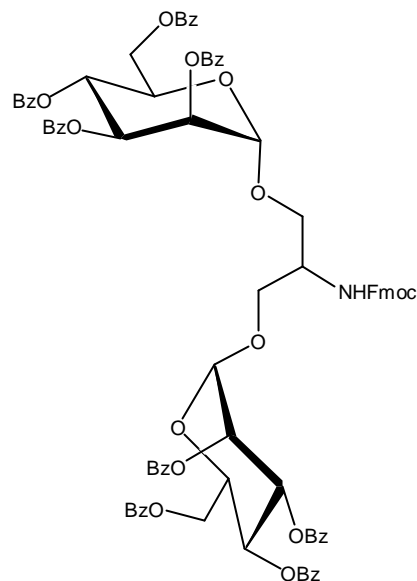
$^3J_{1,2} \approx 0$, $^3J_{2,3} = 3.1$, $^3J_{3,4} = 8.7$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, Aceton- D_6): $\delta = 185.49$, 184.44 (2 C=S), 170.23, 170.19, 170.18 (3 C=O), 80.36 (C-1), 72.34 (C-5), 69.84 (C-2), 69.36 (C-3), 68.36 (C-4), 61.88 (C-6), 57.82 (2 CH_2OH), 47.79 ($\text{CH}_2\text{C(NN)}$), 45.56 (CH), 26.40 (C(NN)), 20.74, 20.65, 20.54 (3 C(O)CH_3), 18.22 (CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 565.1900$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 565.1745$) für $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}_2$, $m/z = 587.1823$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 587.1564$) für $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{NaO}_9\text{S}_2$.

**{2-[1,3-Di-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propyl}-
carbaminsäurefluorenylmethylester (111)**

126 mg (0.40 mmol) **110** wurden zusammen mit 626 mg (0.84 mmol) **101** unter Argon-Atmosphäre in 2 mL abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit einem Tröpfchen TMS-OTf versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 1 h weiter gekühlt und dann für 24 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser abgebrochen. Die wässrige Phase wurde einmal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) das Produkt als farblosen Feststoff.



Ausbeute: 428 mg (0.29 mmol; $M = 1470.48 \text{ g mol}^{-1}$), 72%;

R_f (CH/EE = 3 : 2) = 0.54;

$[\alpha]_D^{20} = -32.5^\circ$ ($c = 1.48$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.13 - 7.18$ (m, 48H, H_{Bz} , fluorenyl-H), 6.17 (t, 2H, H-4), 5.98 - 5.89 (m, 2H, H-3), 5.80, 5.77 (je bs, je 1H, H-2), 5.25, 5.22 (je bs, je 1H, H-1), 4.81 - 4.71 (m, 2H, H-6), 4.62 - 4.41 (m, H-5, H-6', fluorenyl- CH_2), 4.36 - 4.27 (m, 2H, fluorenyl-CH, $\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 4.14 - 4.07 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CHH})(\text{CHH})$), 4.01 - 3.95 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CHH})(\text{CH}_2)$), 3.81 - 3.75 ($\text{CH}(\text{CH}_2)(\text{CHH})$) ppm;

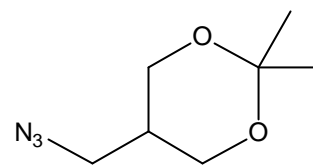
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 166.16, 166.13, 165.49, 165.48, 165.46, 165.30$ (C=O), 133.45, 133.38, 133.31, 133.15, 133.07, 133.03, 129.88, 129.82, 129.78, 129.74, 129.72, 129.21, 129.18, 129.00, 128.91, 128.83, 128.54, 128.46, 128.44, 128.37, 128.33, 128.27, 128.25, 127.69, 127.17, 127.12, 125.23, 125.20, 119.94 (C_{Ar}), 98.32, 98.11 (C-1), 70.27, 70.18 (C-2), 70.13, 69.97 (C-3), 69.42, 69.31 (C-5), 67.64 (ZuO- CH_2), 67.31 (fluorenyl- CH_2), 60.05 (ZuO CH_2), 66.62, 66.57 (C-4), 62.73 (C-6), 50.07 ($\text{CH}(\text{CH}_2)_2$), 47.18 (fluorenyl-CH) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 1492.8$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 1492.44$) für $\text{C}_{86}\text{H}_{71}\text{NaNO}_{22}$, $m/z = 1508.8$ $[\text{M}+\text{K}]^+$ (ber. $m/z = 1508.39$) für $\text{C}_{86}\text{H}_{71}\text{KNO}_{22}$.

5-Azidomethyl-2,2-dimethyl-[1,3]dioxan (121)

254 mg (2.4 mmol) 2-Hydroxymethyl-1,3-propandiol **117**

wurden in 5 mL abs. THF gelöst und mit 440 μ L (374 mg, 3.6 mmol) DMP und 264 μ L (209 mg, 3.6 mmol) Aceton



versetzt. Zum Start der Reaktion wurde eine Spatelspitze

p-Toluolsulfonsäure hinzugefügt und die Lösung für 1.5 h bei RT gerührt. Zu der Lösung wurde ein Löffel festes Natriumcarbonat gegeben und anschließend eingeeengt. Der Rückstand wurde in DCM/Wasser aufgenommen, die wässrige Phase einmal mit DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen einmal gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert.

Ohne weitere Aufarbeitung wurde nun der eingeeengte Rückstand in abs. Pyridin aufgenommen und mit 503 mg (2.6 mmol) Tosylchlorid versetzt und über Nacht gerührt. Nach Zugabe von Methanol wurde die Reaktionslösung weitgehend eingeeengt und der Rückstand in DCM/Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde einmal mit DCM gewaschen, die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen, anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert.

Der eingeeengte Rückstand wurde in abs. Toluol aufgenommen und mit 780 mg (0.012 mol, 5 eq.) Natriumazid und 773 mg (2.4 mmol, 1 eq.) TBABr versetzt und über Nacht bei 65 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde weitgehend eingeeengt und in DCM/Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde einmal mit DCM gewaschen, die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen, anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) lieferte das Produkt als farblosen Sirup.

Ausbeute: 170 mg (0.99 mmol; $M = 171.20 \text{ g mol}^{-1}$), 41% über drei Stufen;

R_f Isoprop. (EE/CH = 2 : 1) = 0.24;

R_f Tosyl (CH/EE = 1 : 1) = 0.49;

R_f Azid (CH/EE = 5 : 2) = 0.45;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.02$ (dd, 2H, H_{eq} , $H_{\text{eq}'}$), 3.71 (dd, 2H, H_{ax} , $H_{\text{ax}'}$), 3.50 (d, 2H, CH_2N_3), 1.82 (dsept, 1H, CH), 1.44 (s, 3H, CH_3), 1.40 (s, 3H, CH_3) ppm;

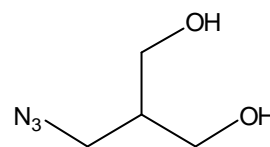
$^3J_{\text{CHCHaxHeq}} = 5.2$, $^3J_{\text{CHCHaxHeq}} = 3.7$, $^3J_{\text{CHCHHN}} = 7.3$, $^2J_{\text{CHaxHeq}} = ^2J_{\text{CHax'Heq'}} = 12.1$ Hz;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 98.23$ (C_q), 61.55 (2 CH_2O), 50.81 (CH_2N_3), 34.18 (CH), 25.15, 22.42 (2 CH_3) ppm;

MS (CI): $m/z = 172.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 172.2$) für $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3$, $m/z = 144.1$ $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 144.2$) für $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_2$.

2-Azidomethyl-1,3-propandiol (**122**)

204 mg (1.2 mmol) **121** wurden in 1 mL MeOH gelöst und mit 200 μL konz. Salzsäure versetzt und für 1 h bei RT gerührt. Nach beendeter Entschützung wurde mit Merck Ionenaustauscher III (OH^- -Form) neutralisiert, filtriert und eingengt. Es verblieb ein farbloser Sirup.



Ausbeute: 156 mg (1.2 mmol; $M = 131.13 \text{ g mol}^{-1}$), quant.;

R_f (EE/CH = 2 : 1) = 0.21;

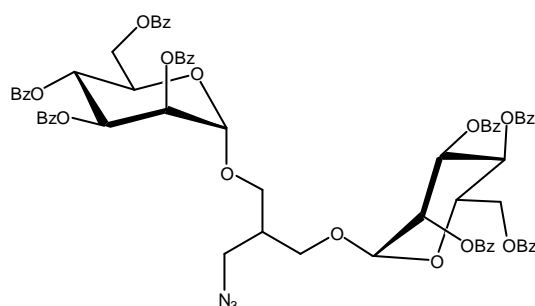
^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD): $\delta = 3.63$ (t, 4H, 2 CH_2OH), 3.48 (d, 2H, CH_2N_3), 1.90 (sept, 1H, CH) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CD_3OD): $\delta = 61.26$ (2 CH_2OH), 50.91 (CH_2N_3), 45.03 (CH) ppm;

MS (CI): $m/z = 132.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 132.1$) für $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$, 104.0 $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 104.1$) für $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NO}_2$.

[1,3-Di-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-2-azidomethyl]-propan (**123**)

87 mg (0.66 mmol) **122** und 1.09 g (1.46 mmol) **101** wurden unter Argon-Atmosphäre in abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit einem Tröpfchen TMS-OTf versetzt. Nach 1 h wurde die Kühlung entfernt und für 24 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 1 mL ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung beendet. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit Wasser gewaschen. Nachdem über Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert wurde, lieferte die



säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 637 mg (0.49 mmol; $M = 1288.26 \text{ g mol}^{-1}$), 75%;

R_f (CH/EE = 3 : 2) = 0.63;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.11, 8.03, 7.96, 7.81$ (je dd, je 4H, 16 H_{Bz}), 7.61 - 7.21 (m, 24H, H_{Bz}), 6.14 (t, 2H, $\text{H-4}^{\text{Zu1}}, \text{H-4}^{\text{Zu2}}$), 5.93 - 5.88 (m, 2H, $\text{H-3}^{\text{Zu1}}, \text{H-3}^{\text{Zu2}}$), 5.77 - 5.74 (m, 2H, $\text{H-2}^{\text{Zu1}}, \text{H-2}^{\text{Zu2}}$), 5.17 (s, 2H, $\text{H-1}^{\text{Zu1}}, \text{H-1}^{\text{Zu2}}$), 4.77, 4.75 (je dd, je 1H, $\text{H-6}^{\text{Zu1}}, \text{H-6}^{\text{Zu2}}$), 4.57, 4.55 (je dd, je 1H, $\text{H-6}^{\text{Zu1}}, \text{H-6}^{\text{Zu2}}$), 4.50 - 4.44 (m, 2H, $\text{H-5}^{\text{Zu1}}, \text{H-5}^{\text{Zu2}}$), 4.02 (dd, 1H, CHHOZu1^*), 3.97 (CHHOZu2^*), 3.74 - 3.64 (m, 4H, CH_2N_3 , CHHOZu1 , CHHOZu2), 2.44 (sept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_3$) ppm;

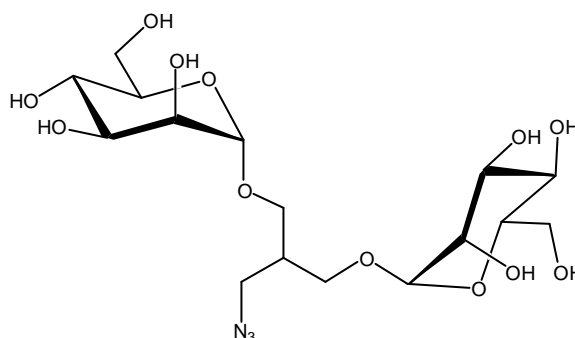
$^3\text{J}_{1,2} = 1.8$, $^3\text{J}_{2,3} = 3.3$, $^3\text{J}_{3,4} = 10.1$, $^3\text{J}_{4,5} = 10.1$, $^3\text{J}_{5,6} = 4.4$, $^3\text{J}_{5,6'} = 3.9$, $^2\text{J}_{6,6'} = 12.2$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 166.15, 165.53, 165.38, 165.35$ (8 C=O), 133.48, 133.42, 133.19, 133.11 (8 C(O) C_{Bz}), 129.89, 129.84, 129.74, 129.73, 129.40, 129.24, 129.02, 128.58, 128.48, 128.42, 128.30 (C_{Bz}), 98.07 (C-1 $^{\text{Zu}}$, C-1 $^{\text{Zu2}}$), 70.29 (C-2 $^{\text{Zu1}}$, C-2 $^{\text{Zu2}}$), 70.13, 70.10 (C-3 $^{\text{Zu1}}$, C-3 $^{\text{Zu2}}$), 69.30 (C-5 $^{\text{Zu1}}$, C-5 $^{\text{Zu2}}$), 66.74 (C-4 $^{\text{Zu1}}$, C-4 $^{\text{Zu2}}$), 66.38, 66.30 ($\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{Zu2}$), 62.83 (C-6 $^{\text{Zu1}}$, C-6 $^{\text{Zu2}}$), 49.88 (CH_2N_3), 39.17 ($\text{CH}(\text{CH}_2)_3$) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 1283.1$ [$\text{M}+\text{Na}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 1283.24$) für $\text{C}_{72}\text{H}_{61}\text{NNaO}_{20}$, $m/z = 1299.0$ [$\text{M}+\text{K}-\text{N}_2$] $^+$ (ber. $m/z = 1299.19$) für $\text{C}_{72}\text{H}_{61}\text{KN}_2\text{O}_{20}$.

2-Azidomethyl-1,3-di-(α -D-mannopyranosyl)propan (124)

326 mg (0.25 mmol) **123** wurden in 2 mL einer 1 : 1 Lösung von THF und MeOH gelöst und mit 203 μL einer 1 M Natriummethanolat-Lösung (0.1 eq. pro OH-Gruppe) versetzt und bei RT für 1 h gerührt. Nachdem durch MALDI-TOF-MS-Messung der Reaktionslösung die



Vollständigkeit der Entschützung bestätigt war, wurde mit Amberlite IR 120-Ionenaustauscher neutralisiert. Anschließend erfolgte die säulenchromatographische Reinigung (EE/CH = 9 : 1 \rightarrow MeOH/EE = 2 : 1), die einen farblosen Feststoff lieferte.

Ausbeute: 84 mg (0.18 mmol; $M = 455.41 \text{ g mol}^{-1}$), 73%;

R_f (MeOH/EE = 2 : 1) = 0.59;

$[\alpha]_D^{20} = + 54.2^\circ$ ($c = 0.23$, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 4.74$ (bs, 2H, H-1^{Zu1}, H-1^{Zu2}), 3.87 - 3.79 (m, 6H, H-2^{Zu1}, H-2^{Zu2}, H-6^{Zu1}, H-6^{Zu2}, CHHOZu1 , CHHOZu2), 3.73 - 3.66 (m, 4H, 2 H-3, 2 H-6), 3.59 (je t, 2H, H-4^{Zu1}, H-4^{Zu2}), 3.56 - 3.39 (m, 6H, 2 H-5, CH_2N_3 , CHHOZu1 , CHHOZu2), 2.16 (sept, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_2)_3$) ppm;

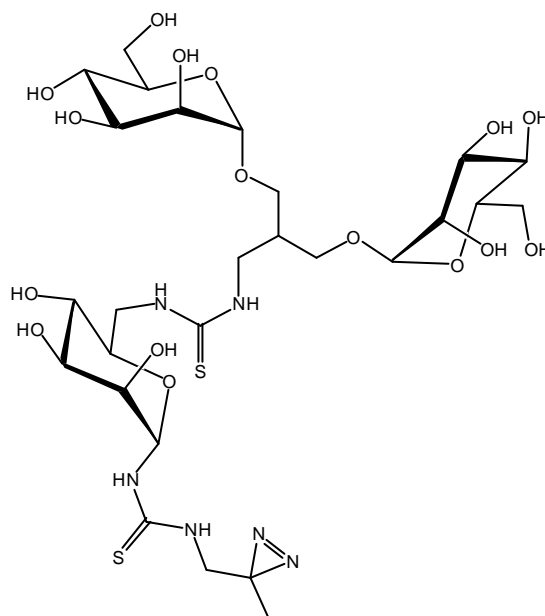
$^3J_{2,3} = 3.1$, $^3J_{3,4} = 9.2$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CD_3OD): $\delta = 100.54$, 100.53 (C-1^{Zu1}, C-1^{Zu2}), 73.47 (C-5^{Zu1}, C-5^{Zu2}), 71.27 (C-3^{Zu1}, C-3^{Zu2}), 70.69 (C-2^{Zu1}, C-2^{Zu2}), 67.29 (C-4^{Zu1}, C-4^{Zu2}), 65.54, 65.38 ($\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{OZu2}$), 61.52 (C-6^{Zu1}, C-6^{Zu2}), 50.09 (CH_2N_3), 39.43 ($\text{CH}(\text{CH}_2)_3$) ppm;

ESI-MS: $m/z = 478.1622$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 478.1643$) für $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{NaO}_{12}$.

1,3-Di-(α -D-mannopyranosyloxy)-2-(2'-azipropylthioureido-6''-desoxy-6''-thioureidomethyl- α -D-mannopyranos-6''-yl)propan (126)

180 mg (0.10 mmol) **130** wurden in 2 mL abs. MeOH gelöst und mit 114 μL (0.1 eq. pro OH-Gruppe) einer 1 M Natrium-methanolat-Lösung versetzt und für 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit saurem Amberlite IR 120 Ionenaustauscher neutralisiert. Nach Filtration und Aufreinigung an der HPLC (Merck R-8-Säule (7 μm), MeCN 15% isokratisch) verblieb nach Lyophilisation ein farbloser Feststoff.



Ausbeute: 51 mg (0.07 mmol; $M = 776.83 \text{ g mol}^{-1}$), 63%;

R_f (EE/MeOH = 1 : 1) = 0.16;

$[\alpha]_D^{20} = + 39.8^\circ$ ($c = 0.88$, H_2O);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): $\delta = 5.50$ (bs, 1H, NH), 4.86 - 4.81 (m, 2H, H-1_O , H-1_O^*), 4.02 - 3.93 (m, 3H, $\text{H-2}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-2}_\text{O}^{\text{Zu2}}$, H-2_N), 3.87 (d \approx dd, 2H, $\text{H-6}'_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-6}'_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 3.84 - 3.47 (m, 21H, $\text{H-3}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-3}_\text{O}^{\text{Zu2}}$, H-3_N , $\text{H-4}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-4}_\text{O}^{\text{Zu2}}$, H-4_N , $\text{H-5}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-5}_\text{O}^{\text{Zu2}}$, H-5_N , $\text{H-6}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-6}_\text{O}^{\text{Zu2}}$, H-6_N , $\text{H-6}'_\text{N}$, $\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{OZu2}$, CHCH_2NH , $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 2.33 (bs, 1H, CH), 1.07 (bs, 3H, CH_3) ppm;

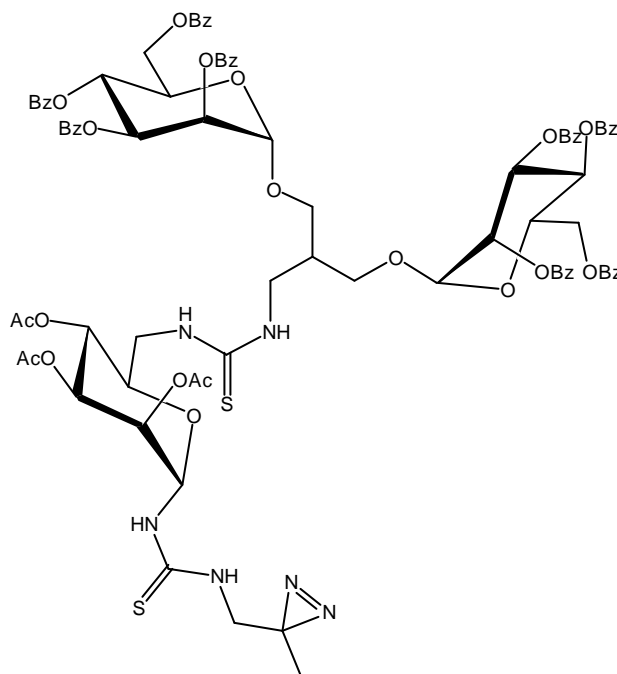
O: $^3J_{1,2} = 1.6$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 9.7$, $^3J_{4,5} = 9.7$, $^3J_{5,6} = 5.7$, $^2J_{6,6'} = 11.9$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, D_2O): $\delta = 102.46$, 102.44 ($\text{C-1}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-1}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 84.44 (C-1_N), 75.33 (C-5_N), 75.25 ($\text{C-5}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-5}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 73.04 ($\text{C-3}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-3}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 72.67 (C-3_N), 73.43 ($\text{C-2}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-2}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 70.05 (C-4_N), 69.17 ($\text{C-4}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-4}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 68.78, 68.68 ($\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{OZu2}$), 63.29 ($\text{C-6}_\text{O}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-6}_\text{O}^{\text{Zu2}}$), 48.57 ($\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 46.40 (C-6_N), 40.98 (CH), 28.86 (C(NN)), 19.46 (CH_3) ppm;

ESI-MS: $m/z = 799.2506$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (ber. $m/z = 799.2460$) für $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{NaO}_{16}\text{S}_2$.

1,3-Di-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-2-(2''-azipropylthioureido-2''',3''',4'''-tri-O-acetyl-6'''-desoxy-6'''-thioureidomethyl- α -D-mannopyranos-6'''-yl)propan (130)

600 mg (0.47 mmol) **123** wurden unter Argon-Atmosphäre in 5 mL abs. THF gelöst und unter Eiskühlung mit 244 mg (0.93 mmol) Triphenylphosphin gelöst in 2 mL abs. THF versetzt und für 0.5 h unter Eiskühlung und für 0.5 h bei RT gerührt. Nun wurden 232 mg (0.49 mmol) **83** gelöst in 2 mL abs. THF und 50 μL DIPEA zur Reaktionslösung gegeben und anschließend mit 2 mL Wasser hydrolysiert und für 5 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde vollständig eingengt und säulenchromatographisch gereinigt (1. Reinigung in CH/EE = 2 : 1 \rightarrow 3 : 2, 2. Reinigung in CH/EE = 1 : 1), wobei aufgrund der vielfältigen Nebenprodukte zwei chromatographische Trennungen nötig waren.



Ausbeute: 188 mg (0.11 mmol; $M = 1735.79 \text{ g mol}^{-1}$), 23%;

R_f (CH/EE = 1 : 1) = 0.41;

$[\alpha]_D^{20} = -4.1^\circ$ ($c = 1.25$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.18 - 7.27$ (m, 40H, H_{Bz}), 8.11 (bs, 1H, NH), 7.20 (bs, 1H, NH), 6.29 - 6.22 (m, 2H, $\text{H-4}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-4}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 6.11 (bs, 1H, H-1_{Ac}), 6.03 - 5.97 (m, 2H, $\text{H-3}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-3}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 5.91 - 5.87 (m, 2H, $\text{H-2}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-2}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 5.38 - 5.30 (m, 3H, $\text{H-1}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-1}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$, H-3_{Ac}), 5.27 (t \approx dd, 1H, H-2_{Ac}), 5.07 (t, 1H, H-4_{Ac}), 4.87 - 5.75 (m, 4H, $\text{H-6}'_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-6}'_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$, $\text{H-5}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-5}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 4.70 - 4.62 (m, 2H, $\text{H-6}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{H-6}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 4.27 - 4.19 (m, 2H, CHHOZu1 , CHHOZu2), 4.06 - 3.90 (m, 6H, H-5_{Ac} , H-6_{Ac} , $\text{H-6}'_{\text{Ac}}$, CH-CHHNH , CHHOZu1 , CHHOZu2), 3.77 - 3.63 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$, CH-CHHNH), 2.73 (sept, 1H, CH), 2.04, 1.98, 1.95 (je bs, je 3H, 3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.04 (s, 3H, CH_3) ppm;

Bz: $^3J_{1,2} = 1.6$, $^3J_{2,3} = 3.3$, $^3J_{3,4} = 9.9$, $^3J_{4,5} = 9.9$;

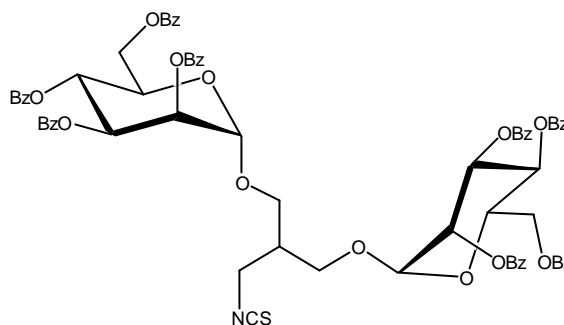
Ac: $^3J_{2,3} = 3.4$, $^3J_{3,4} = 7.9$, $^3J_{4,5} = 7.9$;

Core: $^3J_{\text{CHCHH}} = 5.7 \text{ Hz}$;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.22$, 170.13, 170.09 (3 $\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 166.43, 166.39, 166.01, 165.86, 165.85, 165.72, 165.71 (8 $\text{C}=\text{O}_{\text{Bz}}$), 134.40, 134.19, 134.15, 134.09, 134.04, 134.02, 131.05, 130.43, 130.42, 130.40, 130.37, 130.36, 130.34, 130.19, 130.18, 130.15, 129.57, 129.51, 129.30, 129.29, 129.21, 129.19 (C_{Bz}), 99.09, 98.97 ($\text{C-1}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-1}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 79.97 (C-1_{Ac}), 71.66 ($\text{C-3}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-3}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 71.23, 71.15 ($\text{C-2}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-2}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 69.97, 69.92 ($\text{C-5}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-5}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 69.74 (C-2_{Ac}), 69.40 (C-3_{Ac}), 68.54 (C-4_{Ac}), 67.95, 67.88 ($\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{OZu2}$), 67.29 ($\text{C-4}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-4}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 63.35 ($\text{C-6}_{\text{Bz}}^{\text{Zu1}}$, $\text{C-6}_{\text{Bz}}^{\text{Zu2}}$), 47.76 ($\text{CH}_2\text{C}(\text{NN})$), 45.29 (C-6_{Ac}), 43.44 (CHCH_2NH), 40.10 (CH), 26.45 ($\text{C}(\text{NN})$), 20.72, 20.64, 20.53 (3 $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 18.30 (CH_3) ppm.

[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-2-isothiocyanato-methyl]propan (131)

300 mg (0.23 mmol) **123** wurden in 8 mL abs. Toluol gelöst und mit 560 μ L (707 mg, 9.3 mmol) Kohlenstoffdisulfid und 160 μ L (154 mg, 0.93 mmol) Triethylphosphit versetzt und die Reaktionslösung unter Rückfluss für 8 h bei 80 °C gerührt. Die



Reaktion wurde durch Zugabe von 5 mL Wasser beendet und das Gemisch über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase wurde zweimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen einmal mit Wasser gewaschen. Nach der Trocknung über Magnesiumsulfat und Filtration lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 3 : 1) das Produkt als gelblichen Sirup.

Ausbeute: 170 mg (0.13 mmol; $M = 1304.33 \text{ g mol}^{-1}$), 56%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.51;

$[\alpha]_D^{20} = -16.1^\circ$ ($c = 0.88$, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.07 - 7.14$ (m, 40H, H_{Bz}), 6.15 - 6.06 (m, 2H, H-4^{Zu1} , H-4^{Zu2}), 5.81 (dd, 2H, H-3^{Zu1} , H-3^{Zu2}), 5.68 (dd, 2H, H-2^{Zu1} , H-2^{Zu2}), 5.11 (d, 1H, $\text{H-1}^{\text{Zu1*}}$), 5.09 (d, 1H, $\text{H-1}^{\text{Zu2*}}$), 4.74 - 4.63 (m, 2H, H-6^{Zu1} , H-6^{Zu2}), 4.52 - 4.45 (m, 2H, H-6^{Zu1} , H-6^{Zu2}), 4.42 - 4.37 (m, 2H, H-5^{Zu1} , H-5^{Zu2}), 4.02 - 3.88 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{OZu1}^*$, CHH-NCS), 3.83 - 3.77 (m, 1H, CHH-NCS), 3.63 (dd, 1H, $\text{CH}_2\text{OZu2}^*$), 2.50 (bquint, 1H, CH) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.5$, $^3J_{2,3} = 3.2$, $^3J_{3,4} = 10.1$, $^3J_{4,5} = 10.1$, $^3J_{5,6'} = 2.5$, $^2J_{6,6'} = 12.3$ Hz;

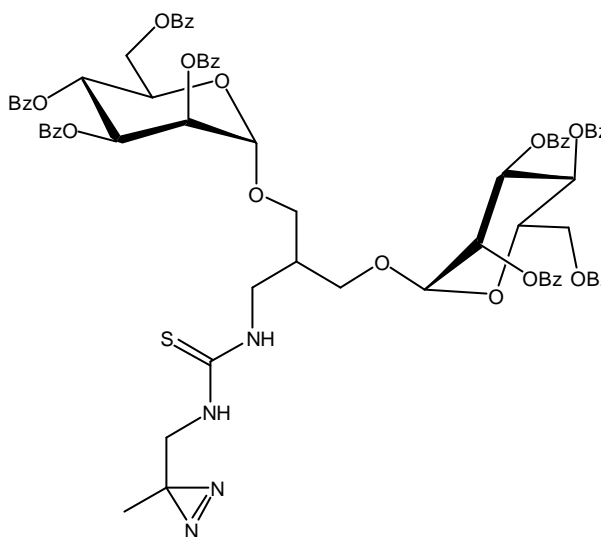
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 165.54$, 165.52, 165.51, 165.48, 165.34, 165.33 (8 C=O), 133.49, 133.44, 133.40, 133.21, 133.12, 133.09, 130.02, 129.94, 129.87, 129.85, 129.75, 129.71, 129.18, 129.17, 128.98, 128.95, 128.89, 128.62, 128.57, 128.49, 128.42, 128.41, 128.31, 128.29 (C_{Bz}), 98.18, 98.09 (C-1^{Zu1} , C-1^{Zu2}), 70.18, 70.15 (C-3^{Zu1} , C-3^{Zu2}), 70.11, 70.05 (C-2^{Zu1} , C-2^{Zu2}), 69.41, 69.39 (C-5^{Zu1} , C-5^{Zu2}), 66.59, 66.52 (C-4^{Zu1} , C-4^{Zu2}), 65.90, 65.85 ($\text{CH}_2\text{OZu1}$, $\text{CH}_2\text{OZu2}$), 62.70, 62.66 (C-6^{Zu1} , C-6^{Zu2}), 43.76 (CH_2NCS), 39.72 (CH) ppm;

MALDI-TOF-MS: $m/z = 1327.0$ $[M+Na]^+$ (ber. $m/z = 1326.34$) für $C_{73}H_{61}NNaO_{20}S$,
 $m/z = 1342.9$ $[M+K]^+$ (ber. $m/z = 1342.29$ für $C_{73}H_{61}KNO_{20}S$);

IR (KBr): $\nu_{NCS} = 2104.4$ cm^{-1} .

**[2-(2'-Azipropylthioureido)-1,3-Di-(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoyl- α -D-manno-
 pyranosyloxy)]propan (132)**

149 mg (0.11 mmol) verunreinigtes **131** wurden mit 14 mg (0.11 mmol) **48** und 50 μ L DIPEA versetzt und die Lösung für 4h bei RT gerührt. Nach Einengung der Reaktionslösung lieferte die säulenchromatographische Reinigung (CH/EE = 2 : 1) das Produkt als farblosen Feststoff.



Ausbeute: 76 mg (0.06 mmol; $M = 1389.43$ $g\ mol^{-1}$), 48%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.30;

$[\alpha]_D^{20} = -14.6^\circ$ ($c = 0.52$, $CHCl_3$);

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8.13 - 7.15$ (m, 40H, H_{Bz}), 6.81 (NH_{Diazirinspacer}), 6.62 (NH-CH_{2,Core}), 6.22 (t, 2H, $H-4^{Zu1}$, $H-4^{Zu2}$), 5.88 (dd, 1H, $H-3^{Zu1*}$), 5.82 - 5.75 (m, 3H, $H-2^{Zu1}$, $H-2^{Zu2}$, $H-3^{Zu2*}$), 5.20 (d, 1H, $H-1^{Zu1*}$), 5.18 (d, 1H, $H-1^{Zu2*}$), 4.83 - 4.73 (m, 2H, $H-6^{Zu1}$, $H-6^{Zu2}$), 4.63 - 4.54 (m, 4H, $H-5^{Zu1}$, $H-5^{Zu2}$, $H-6^{Zu1}$, $H-6^{Zu2}$), 4.36 - 4.26 (m, 1H, NHCHHC(NN)), 4.21 (dd, 1H, CHHOZu1*), 4.12 (dd, 1H, CHHOZu2*), 3.97 - 3.89 (m, 1H, NHCHHC(NN)), 3.83 - 3.74 (m, 3H, CHHOZu1, CHHOZu2, CHHNNH), 3.59 (dd, 1H, CHHNNH), 2.56 (sept, 1H, CH), 1.06 (s, 3H, CH₃) ppm;

$^3J_{1,2} = 1.5$, $^3J_{2,3} = 3.1$, $^3J_{3,4} = 10.2$, $^3J_{4,5} = 10.2$, $^3J_{5,6} = 3.9$, $^3J_{5,6'} = 2.4$, $^2J_{6,6'} = 12.1$ Hz;

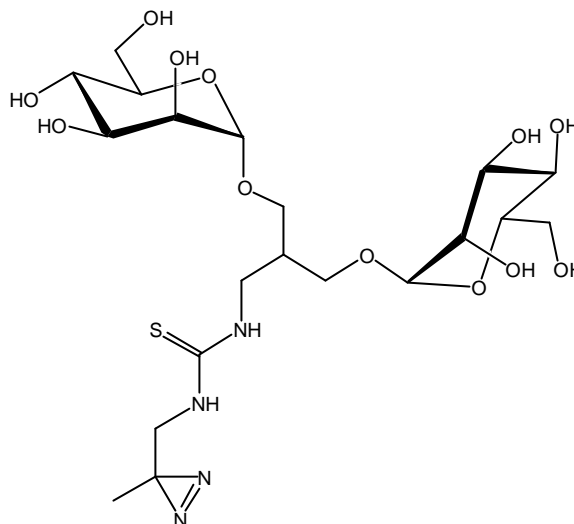
^{13}C -NMR (125.75 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 184.10$ (C=S), 166.27, 166.20, 166.16, 165.54, 165.51, 165.46 (8 C=O), 133.55, 133.49, 133.38, 133.36, 133.26, 133.13, 133.07, 129.90, 129.88, 129.77, 129.76, 129.71, 129.14, 129.04, 128.95, 128.87, 128.58, 128.57, 128.51, 128.48, 128.46, 128.37, 128.30, 128.29 (C_{Bz}), 98.09, 98.01 ($C-1^{Zu1}$, $C-1^{Zu2}$), 70.74, 70.68 ($C-3^{Zu1}$, $C-3^{Zu2}$), 70.34, 70.22 ($C-2^{Zu1}$, $C-2^{Zu2}$), 69.87

(CH₂OZu1*), 69.61, 69.46 (C-5^{Zu1}, C-5^{Zu2}), 69.28 (CH₂OZu2*), 66.30, 66.26 (C-4^{Zu1}, C-4^{Zu2}), 62.76, 62.73 (C-6^{Zu1}, C-6^{Zu2}), 47.72 (CH₂NH_{Core}), 46.43 (NHCH₂C(NN)), 38.81 (CH), 25.85 (C(NN)), 18.19 (CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS (Nor): $m/z = 1384.7$ [M+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 1384.41$) für C₇₆H₆₈N₂NaO₂₀S, $m/z = 1361.7$ [M-N₂]⁺ (ber. $m/z = 1361.47$) für C₇₆H₆₈N₂O₂₀S.

[2-(2'-Azipropylthioureido)-1,3-Di-(α-D-mannopyranosyloxy)]propan (133)

65 mg (47 μmol) **132** wurden in 1 mL einer 1 : 1 Lösung von abs. THF und abs. MeOH gelöst und mit 37 μL (0.1 eq pro OH-Gruppe) einer 1 M Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT bestätigte eine MALDI-TOF-MS-Messung der Reaktionslösung die Vollständigkeit der Entschützung. Die Reaktionslösung wurde nun mit Amberlite IR 120-Ionen-austauscher neutralisiert, filtriert und der nach der Entfernung des Lösungsmittels erhaltenen Rückstand mittels HPLC (Merck RP-8 (7 μm), MeCN 10%, isokratisch) gereinigt. Das Lyophilisat war ein farbloser amorpher Feststoff.



Ausbeute: 17 mg (30 μmol; $M = 556.59 \text{ g mol}^{-1}$), 65%;

R_f (EE/MeOH = 2 : 1) = 0.18;

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 4.83$ (bs, 2H, 2 H-1), 4.02 - 3.43 (m, 20H, 2 H-2, 2 H-3, 2 H-4, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6', ZuO-CH₂, CH₂NH), 2.32 (bs, 1H, CH), 1.06 (s, 3H, CH₃) ppm;

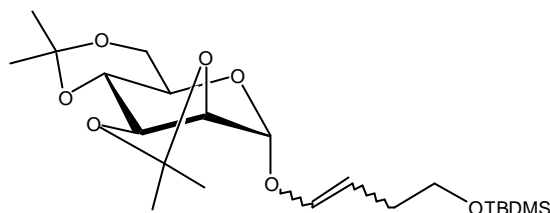
¹³C-NMR (125.75, D₂O): $\delta = 102.42$ (C-1), 75.25 (C-5), 73.03 (C-3), 72.41 (C-2), 69.18 (C-4), 68.77, 68.62 (ZuO-CH₂), 63.30 (C-6), 40.90 (CH), 19.32 (CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS (DHB): $m/z = 551.4$ [M+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 551.57$) für C₂₀H₃₆N₂NaO₁₂S, $m/z = 529.3$ [M-N₂]⁺ (ber. $m/z = 528.58$) für C₂₀H₃₆N₂O₁₂S;

ESI-MS = $m/z = 579.1985$ [M+Na]⁺ (ber. $m/z = 579.1943$) für C₂₀H₃₆N₄NaO₁₂S.

***cis/trans*-But-1-en-4-O-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)-yl-2,3:4,6-diisopropyliden- α -D-mannopyranosid (134)**

80 mg (0.17 mmol) **16** wurden unter Argonatmosphäre in 2 mL abs. Toluol gelöst und für 1.5 mit UV-Licht bei 350 nm bestrahlt. Nach der Entfernung des Lösungsmittels lieferte die säulen-chromatographische Reinigung (CH/EE = 5 : 2) das Produkt als farblosen Sirup.



Ausbeute: 68 mg (0.15 mmol; $M = 444.63 \text{ g mol}^{-1}$), 90%;

R_f (CH/EE = 2 : 1) = 0.39;

Verhältnis *cis/trans* = 71 : 29;

cis:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.16$ (dt, 1H, ZuO-CH=CH), 5.23 (bs, 1H, H-1), 4.60 (dd, 1H, ZuO-CH=CH), 4.27 (dd \approx d, 1H, H-2), 4.20 - 4.15 (m, 1H, H-3), 3.86 (dd, 1H, H-6), 3.77 - 3.70 (m, 2H, H-4, H-6'), 3.61 (t, 2H, CH_2OTBDMS), 3.60 - 3.52 (m, 1H, H-5), 2.38 - 2.26 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 1.56, 1.52, 1.43, 1.37 (je s, je 3H, 4 ipr- CH_3), 0.90 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.07 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

$^3J_{5,6} = 5.7$, $^2J_{6,6'} = 11.0$, $^3J_{\text{CH=CH}} = 6.5$ Hz;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75, CDCl_3): $\delta = 141.58$ (ZuO-CH=CH), 109.72 (2,3-*ipr*- C_q), 106.20 (ZuO-CH=CH), 99.75 (4,6-*ipr*- C_q), 97.81 (C-1), 75.35 (C-2), 74.80 (C-3), 72.46 (C-4), 62.80 (CH_2OTBDMS), 61.92 (C-6), 61.85 (C-5), 29.01, 28.16, 26.16, 18.79 (4 *ipr*- CH_3), 27.93 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 25.98 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.40 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -5.22 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

trans:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.21$ (dt, 1H, ZuO-CH=CH), 5.24 (bs, 1H, H-1), 5.11 (dd, 1H, ZuO-CH=CH), 4.22 (dd, 1H, H-2), 4.20 - 4.15 (m, 1H, H-3), 3.86 (dd, 1H, H-6), 3.77 - 3.70 (m, 2H, H-4, H-6'), 3.58 (t, 2H, CH_2OTBDMS), 3.60 - 3.52 (m, 1H, H-5), 2.15 - 2.10 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 1.55, 1.51, 1.42, 1.35 (je s, je 3H, 4 *ipr*- CH_3), 0.89 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 0.05 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

$^3J_{5,6} = 5.7$, $^2J_{6,6'} = 10.9$, $^3J_{\text{CH=CH}} = 12.3$ Hz;

^{13}C -NMR (125.75, CDCl_3): $\delta = 143.12$ (ZuO- $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}$), 109.69 (2,3-*ipr*- C_q), 106.67 (ZuO- $\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}$), 99.72 (4,6-*ipr*- C_q), 97.27 (C-1), 75.43 (C-2), 74.81 (C-3), 72.49 (C-4), 63.47 (CH_2OTBDMS), 61.95(C-6), 31.18 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{OTBDMS}$), 29.03, 28.20, 26.15, 18.79 (4 *ipr*- CH_3), 25.95 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$), 18.34 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), -5.24 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_2$) ppm;

MS (CI): $m/z = 445.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (ber. $m/z = 445.3$) für $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{O}_7\text{Si}$.

Bestrahlung von 58

Versuch A)

30 mg (0.10 mmol) **58** wurden in 1.5 mL Wasser gelöst und für 1.5 h mit UV-Licht bei 350 nm bestrahlt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, als Standard etwas **58** hinzugefügt und eine Probe des Rückstands mittels analytischer HPLC (15 min 100% Wasser, 35 min Gradient auf 20% MeCN) getrennt, um die Retentionszeiten zu bestimmen. Die Fraktionen wurden dann mittels ES-IMS auf die Bildung von Addukten untersucht.

Fraktion 1 RZ = 2.89 min;
 $m/z = 261.0475$;

Fraktion 2 RZ = 4.97 min;
 $m/z = 301.0795$ $[\mathbf{58}+\text{Na}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 301.0835$) für
 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$;

Fraktion 3 RZ = 8.90 min;
 $m/z = 319.0874$ $[\mathbf{58}+\text{H}_2\text{O}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 319.0941$) für
 $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$;

Fraktion 4 RZ = 17.05 min;
 $m/z = 329.1009$ $[\mathbf{58}+\text{Na}]^+$ (ber. $m/z = 329.0890$) für $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{NaO}_5\text{S}$;

Fraktion 5 RZ = 17.41 min;
 $m/z = 301.0768$ $[\mathbf{58}+\text{Na}-\text{N}_2]^+$ (ber. $m/z = 301.0835$) für
 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$.

Versuch B)

30 mg (mmol) **58** wurden zusammen mit 48 mg (3eq., 0.29 mmol) L-Phenylalanin **137** in 1.5 mL 0.1 M Natriumhydroxid-Lösung gelöst und für 1.5 h mit UV-Licht bei 350 nm bestrahlt. Das Lösungsmittel wurde entfernt, als Standard etwas **58** hinzugefügt und eine Probe des Rückstands mittels analytischer HPLC (15 min 100% Wasser, 35 min Gradient auf 20% MeCN) getrennt, um die Retentionszeiten zu bestimmen. Der restliche Rückstand wurde mittels präparativer HPLC getrennt (20 min 100% Wasser, 50 min Gradient auf 25% MeCN). Die Fraktionen wurden dann mittels ESI-MS auf die Bildung von Addukten untersucht.

Fraktion 1: RZ = 2.91 min;
 $m/z = 497.1410$;

Fraktion 2: RZ = 9.20 min;
 $m/z = 166.0880$ [**137**+H]⁺ (ber. $m/z = 166.0863$) für C₉H₁₂NO₂,
 $m/z = 188.0724$ [**137**+Na]⁺ (ber. $m/z = 188.0682$) für C₉H₁₁NNaO₂;

Fraktion 3: RZ = 15.41 min;
 $m/z = 585.5715$;

Fraktion 4: RZ = 21.57 min;
 $m/z = 329.1011$ [**58**+Na]⁺ (ber. $m/z = 329.0890$) für C₁₀H₁₈N₄NaO₅S;

Fraktion 5: RZ = 22.27 min;
 $m/z = 301.0960$ [**58**+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 301.0835$) für
C₁₀H₁₈N₂NaO₅S;

Fraktion 6: RZ = 22.51 min;
 $m/z = 301.0947$ [**58**+Na-N₂]⁺ (ber. $m/z = 301.0835$) für
C₁₀H₁₈N₂NaO₅S;

6.3 Biologische Tests

6.3.1 ELISA-Protokoll

Es wurden folgende Materialien verwendet:

Puffer	Substanzen pro Liter	
PBS-Puffer	8.00 g	Natriumchlorid
	0.20 g	Kaliumchlorid
	0.20 g	Kalium-di-hydrogenphosphat
	1.44 g	di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat
		mit Kalium-di-hydrogenphosphat auf pH 7.2 eingestellt
PBSE-Puffer wie PBS	100 mg	Thimerosal
PBSET-Puffer	wie PBSE	
	500 µl	Tween 20
Carbonat-Puffer	1.59 g	Natriumcarbonat
	2.52 g	Natriumhydrogencarbonat
	100 mg	Thimerosal
		mit Natriumcarbonat auf pH 9.5 eingestellt
Citrat-Puffer 29.41 g		tri-Natriumcitrat-Dihydrat
	480.33 g	Citronensäure
		mit 2.5 M Citronensäure auf pH 4.5 eingestellt

Weitere benötigte Materialien:

Inhibitorlösungen Die jeweiligen Substanzmengen Inhibitor wurden eingewogen und in 1 ml bidest. Wasser gelöst.

Bakterien Bakterien des Stammes *E. coli* (HB101, pPKI4) wurden auf mit Ampicillin versetzten Agarplatten über Nacht vermehrt. Am nächsten Tag wurden 50 bis 100 mg Bakterienkultur abgestrichen und in ca. 10 ml PBS-Puffer suspendiert. Diese Suspension wurde zentrifugiert, der Puffer abdekantiert und der Rückstand wieder in PBS-Puffer aufgenommen, sodass 10 mg Feuchtgewicht der Bakterienkultur in 1 ml PBS-Puffer suspendiert war. Für den Test wurde diese Suspension noch einmal 1:20 mit PBS-Puffer verdünnt.

Antikörper Während des Tests wurden zwei AK verwendet. Bei dem zuerst eingesetzten Antikörper handelt es sich um einen polyklonalen, aus Kaninchen gewonnenen Antikörper, der die von den Bakterien exprimierten Fimbrien erkennt und bindet. Dieser Antikörper wird zur Verwendung im Test 1:1000 in mit 2% Magermilchpulver (w/v) versetzten PBSE-Puffer verdünnt. Der zweite für den Test benötigte Antikörper kann den ersten Antikörper binden und ist peroxidasekonjugiert. Dieser Antikörper ist ebenfalls polyklonal und wird zunächst aus Ziegen gewonnen und später peroxidasekonjugiert. Im ELISA wurde dieser Antikörper in einer Verdünnung von 1:4000 ebenfalls in 2% Magermilchpulver (w/v) in PBSE-Puffer eingesetzt.

Folgende Arbeitsschritte wurden im ELISA durchgeführt:

- 1) Die Mikrotiterplatten lagen bereits mit Hefemannan beschichteten Oberflächen vor.
- 2) 1x mit 150 μL PBSE waschen.
- 3) Blocken mit 150 μL Magermilch (der Firma Uelzena) in PBSE.
- 4) 30 min inkubieren.
- 5) 1x mit 150 μL PBSE waschen.
- 6) Je 50 μL PBSE in die Wells pipettieren.
- 7) 50 μL Inhibitorlösung zupipettieren, serienweise 1:2 verdünnen.
- 8) 50 μL Bakterienlösung (10 mg Feuchtgewicht/ml, 1x in PBSE gewaschen, 1:20 verdünnt) zupipettieren.
- 9) 1h bei 37°C inkubieren.
- 10) 4x mit PBSE waschen.
- 11) 50 μL Lösung 1. Antikörper (Verdünnung 1:1000 in 2% MM/PBSE) zugeben.
- 12) 30 min bei 37 °C inkubieren.
- 13) 2x mit PBSET waschen.
- 14) 50 μL Lösung 2. Antikörper (Verdünnung 1:4000 in 2% MM/PBSE) zupipettieren.
- 15) 30 min bei 37 °C inkubieren.
- 16) 3x mit PBSET waschen.
- 17) 1x mit PBSE waschen.
- 18) 1x mit Substratpuffer (= Citratpuffer) waschen.
- 19) 50 μL einer frisch angesetzten Lösung aus ABTS (1 mg/mL) und H_2O_2 (25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 0.01% in Citratpuffer).
- 20) 30 - 60 min bei 37°C inkubieren.
- 21) Stoppen der Farbreaktion mit 50 μL 2% Oxalsäure (in bidest. H_2O).
- 22) Messen im ELISA-Reader bei 405 nm (Referenzfilter 490 nm).

6.3.2 Bestrahlungsprotokoll

Angesetzt wurden:

FimH-Lectin-Domäne (FimH_{tr}, AS 1-158+6 His-tag) 0.2 mg mL⁻¹ in 50 mM NH₄HCO₃;
M_{FimHtr} ≈ 17800 Da;

Substrat-Lösung I (SL1) 1 mg mL⁻¹ in Wasser
bei **54** 10% DMSO;

Substrat-Lösung II (SL2) 0.1 mg mL⁻¹ in Wasser
bei **54** 10% DMSO.

Durchführung:

- 1) Vorlage 50 µL FimH-Lösung.
- 2) Zugabe Substrat-Lösung entsprechend Tabelle.
- 3) 10 min schüttelnd inkubieren.
- 4) 12 min schüttelnd mit UV-Licht bei 350 nm bestrahlen.
- 5) Lyophilisieren der Lösung.
- 6) Aufnahme in 10 µL TA für die MALDI-Analyse (HCCA oder SA-Matrix).

	2x (SL2)	20x (SL1)	200x (SL1)
14			
[mol]	1.1 · 10 ⁻⁹	1.1 · 10 ⁻⁸	1.1 · 10 ⁻⁷
[g]	3.1 · 10 ⁻⁷	3.1 · 10 ⁻⁶	3.1 · 10 ⁻⁶
[µL]	3.1	3.1	31
52			
[mol]	1.1 · 10 ⁻⁹	1.1 · 10 ⁻⁸	1.1 · 10 ⁻⁷
[g]	3.9 · 10 ⁻⁷	3.9 · 10 ⁻⁶	3.9 · 10 ⁻⁵
[µL]	3.9	3.9	39
54			
[mol]	1.1 · 10 ⁻⁹	1.1 · 10 ⁻⁸	1.1 · 10 ⁻⁷
[g]	4.9 · 10 ⁻⁷	4.9 · 10 ⁻⁶	4.9 · 10 ⁻⁵
[µL]	4.9	4.9	49

58			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$3.4 \cdot 10^{-7}$	$3.4 \cdot 10^{-6}$	$3.4 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	3.4	3.4	34
62			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$4.5 \cdot 10^{-7}$	$4.5 \cdot 10^{-6}$	$4.5 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	4.5	4.5	45
94			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$5.8 \cdot 10^{-7}$	$5.8 \cdot 10^{-6}$	$5.8 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	5.8	5.8	58
105			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$9.9 \cdot 10^{-7}$	$9.9 \cdot 10^{-6}$	$9.9 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	9.9	9.9	99
126			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$8.7 \cdot 10^{-7}$	$8.7 \cdot 10^{-6}$	$8.7 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	8.7	8.7	87
133			
[mol]	$1.1 \cdot 10^{-9}$	$1.1 \cdot 10^{-8}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$
[g]	$6.2 \cdot 10^{-7}$	$6.2 \cdot 10^{-6}$	$6.2 \cdot 10^{-5}$
[μ L]	6.2	6.2	62

7 Sicherheitsdaten

Aceton	F	R 11-26-66-67 S 9-16-26
Acetonitril	F, T	R 11-23/24/25 S 16-27-45
Allylamin	F, T, N	R 11-23/24/25-51/53 S 9-16-24/25-45-61
Ameisensäure	C	R 35 S 23-26-45
(±)-1-Amino-2-propanol	C	R 34 S 23-26-36-45
Ammoniak	C, N	R 10-23-34-50 S 9-16-26-36/37/39-45-61
Ammoniumchlorid	Xn	R 22-36 S 22
3-Brom-1-propen (Allylbromid)	F, T	R 11-25-36/37/38 S 16-23.2-45
Bromwasserstoff (33%ige Lsg. in HOAc)	C	R 34-37 S 7/9-23.2-26-36/37/39-45
<i>tert</i> -Butyl-dimethylsilylchlorid	F, C	R 11-35-37 S 16-26-36/37/39-45
Calciumchlorid	Xi	R 36 S 22-24
Chloroform	Xn	R 22-38-40/20/22 S 36/37
Cyclohexan	F, Xn, N	R 11-38-50/53-65-67 S 9-16-33-60-61-62
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)	C	R 22-34 S 26-36/37/39-45
Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat (Boc ₂ O)	F, Xi	R 11-36/37/38-43 S 16-26-36/37
Dichlormethan (DCM)	Xn	R 40 S 23.2-24/25-36/37

Diethylether	F ⁺	R 12-19 S 9-16-29-33
N,N-Diisopropylethylamin	F, C	R 11-20/21/22-34 S 16-26-36/37/39-45
2,2-Dimethoxypropan	F, Xn	R 11-22-36/37/38 S 16-26-36
Dimethylamin-Lsg. in EtOH 33%	F ⁺ , C	R 12-20/22-34 S 3-16-26-29-36/37/39-45
N,N-Dimethylformamid (DMF)	T	R 61-E20/21-36 S 53-45
Dimethylsulfid	F, Xn	R 11-20/21/22 S 9-16-36/37
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Xi	R 36/37/38 S 26-36
Eisen(III)-chlorid, wasserfrei	C	R 22-34-52/53 S 7/8-26-36/37/39-45-61
Essigsäureanhydrid	C	R 10-34 S 26-45
Ethanol	F	R 11 S 7-16
Ethylacetat	F	R 11-36-66-67 S 16-23.2-29-33
Hydroxylamin- O-sulfonsäure	C	R 34 S 26-36/37/39-45
2-Hydroxymethyl-1,3-propandiol		S 22-24/25
Iod	Xn, N	R 20/21-50 S 23-25-61
Kaliumthiocyanat	Xn	R 20-21-22-32 S 13
Kieselgel 60		S 22
Kohlenstoffdisulfid	F, T	R 11-36/38-48/23-62-63 S 16-33-36/37-45

Methanol	F, T	R 11-23/25 S 7-16-24-45
Natrium	F, C	R 14/15-34 S 5.3-8-43.7-45
Natriumazid	T ⁺	R 28-32 S 28.1-45
Natriumborhydrid	F, C	R 15-34 S 26-36/37/39-43.12-45
Natriumbromat	Xn, O	R 8-22-36/37/38 S 17-26-36
Natriumbromid	Xi	R 36/37/38 S 26-36
Natriumcarbonat	Xi	R 36 S 22-26
Natriumdithionit	Xn	R 7-22-31 S 7/8-26-28-43.11
Natriumhydroxid	C	R 35 S 26-37/39-45
Natriummethanolat	F, C	R 11-14-34 S 8-16-26-43.6-45
Natriumthiosulfat		S 22-24/25
Oxalychlorid	T, C	R 14-23/24/25-34 S 26-36/37/39-45
Palladium 10% auf Aktivkohle	F ⁺ , Xi	R 7-36/37/38 S 17-26-36
2-Propanol	F	R 11 S 7-16
Pyridin	F, Xn	R 11-20/21/22 S 26-28.1
Salzsäure	C	R 34-37 S 26-36/37/39-45
Sauerstoff	O	R 8 S 17

Schwefelsäure	C	R 35 S 26-30-45
Serinol	C	R 34 S 36-28-27-36/37/39
Tetrabutylammoniumbromid	Xn	R 22-36/37/38 S 26-36
Tetrahydrofuran (THF)	F, Xi	R 11-19-36/37 S 16-29-33
Thiophosgen	T	R 22-23-36/38 S 7-9-36/37-45
Toluol	F, Xn	R 11-20 S 16-19-25-33
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	Xi	R 36/37/38 S 26-37
Tosylchlorid	C	R 34-37 S 26-36/37/39-45
Trichloracetonitril	T	R 23/24/25 S 45
Triethylamin	F, C	R 11-20/21/22-35 S 3-16-26-29-36/37/39-45
Triethylphosphit	Xi	R 10-36/37/38 S 26-36
Trifluoressigsäure	C	R 20-35-52/53 S 9-26-27-28-45-61
Trimethylsilyltrifluormethansulfonat	C	R 10-34 S 26-28-36/37/39-45
Triphenylphosphin	Xn, N	R 34-48/20/22-50-53 S 22-24-37
Triphenylphosphinoxid	Xn	R 21/22 S 36/37
Tris-(2-aminoethyl)amin	C	R 34 S 26-36/37/39-45
Tritylchlorid	C	R 34 S 26-36/37/39-45

Wasserstoff

F⁺

R 12

S 9-16-33

Lebenslauf

Mark Walter,

*18.12.1973 in Hamburg, deutsche Staatsangehörigkeit

> Schule

1980-1984	Grundschule Sethweg, Hamburg
1984-1990	Gymnasium Hartsprung, Hamburg
1990-1993	Gymnasium Ohmoor, Hamburg

> Universität

WS 1993 – WS 1999/2000	Studium der Chemie, Universität Hamburg
SS 1996	Vordiplom
SS 1999-WS 1999/2000	Diplom-Arbeit in organischer Chemie: "Synthese und Reaktivität von Iso(thio)cyanato-funktionalisierten Sacchariden" Betreuung: Prof. Dr. T. K. Lindhorst, Universität Hamburg Diplom-Chemiker
SS 2000 – WS 2003/2004	Promotionsstudium, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel Dissertation in organischer Chemie: "Darstellung photolabiler Mannose-Derivate zur Markierung des Typ-1-fimbrialen Lectins aus <i>E.coli</i>" Betreuung: Prof. Dr. T. K. Lindhorst, Universität Kiel Abschluss: 17.12.2003

> Tätigkeiten

SS 2000 – WS 2003/2004	Wissenschaftlicher Assistent, Universität Kiel Assistent im Organisch-Chemischen Grundpraktikum; Betreuung und Anleitung der Praktikanten, Mitorganisation des Praktikums Spektroskopischer Kompaktkurs (UV-Vis/IR), Übungen
------------------------	---

> Publikationen

M. Walter, T. K. Lindhorst, *Chemical Monthly*, **2002**, 133, 473-483 (Cover).

Danksagung

Ich danke im Besonderen

- ♥ **Kathrin Janusch** für ihre Liebe und für ihre Geduld mit mir während der Anfertigung dieser Arbeit,
- 🏆 **Horst und Ingrid Walter** für die beste elterliche Unterstützung, auch aus der Entfernung.

Aus dem Arbeitskreis danke ich

- ✈️ **Florian Thieme** für die Einführung in die analytische HPLC und für einen rettenden Gedanken bei der Formatierung dieser Arbeit,
- ☂️ **Oliver Sperling** für die Erläuterung der ELISA-Analytik und das Grummeln,
- 🚲 **Niels Röckendorf** für die Erinnerung an die Handhabung der präparativen HPLC und das Lösen zahlreicher Computerprobleme,
- § **Marco Kühne** für seine freundliche und hilfreiche Art,
- 🌸 **Elwira Klima-Bartczak** für ihr fröhliches Wesen,
- 🌐 **Mike Kleinert** für einen erstklassigen Segeltörn auf der Förde,
- 📄 **Christoph Heidecke**, dass er erst angefangen hat die HPLC zu benutzen, als ich sie nicht mehr brauchte,
- ☎️ **Christine Haug** für die problemlose Abwicklung von diverssem Papierkram,
- 💻 **Andreas Fuchs** für den exotischen Flair und den gesundheitlichen Kanarienvogel-Effekt,
- 👤 **Katharina Elsner** für die Lebhaftigkeit, die sie ins Labor gebracht hat, aber nicht für ihren Gesang,
- 🏠 **Mike Boysen** für seine chemische Allwissenheit und für das problemlose WG-Leben in Kiel.

Des Weiteren danke ich für das Gelingen dieser Arbeit

- der NMR-Abteilung für das geschwinde Messen zahlloser Spektren,
- der MS-Abteilung für das Messen der CI- und EI-Spektren, und insbesondere **Dirk Meyer** für das schnelle Messen zahlreicher ESI-Spektren in kurzer Zeit,
- **Dr. Buko Lindner** vom Forschungszentrum Borstel für die Hilfe bei der MALDI-Analytik des FimH-Proteins,
- **Dr. Stefan Knight** für die Bereitstellung des FimH-Proteins.

Zudem danke ich

- dem OC-Grundpraktikumsassistententeam **Ahmet Dogan, Jan Eggert, Frank Fahrenkrug, Marco Kühne, Cornelia Renner, Arne Stademann** und **Florian Thieme** für das Durchstehen und erfolgreiche Bewältigen unseres Brötchenverdienstes ,



Andreas Mauck, einem Titan auf dem Gebiet des Versicherungswesens, der mich regelmäßig aus dem chemischen Wahnsinn in den alltäglichen zurückgeholt hat.

Warp core collapse in ten seconds...

8 Literatur

- ¹ R.A.Dwek, *Chem.Rev.*, **1996**, 96, 683-720.
- ² R.A.Laine in *Glycosciences* (Hrsg. H.-J.Gabius, S.Gabius), Chapman&Hall, Weinheim, **1997**, 1-14.
- ³ J.Schlepper-Schäfer, V.Kolb-Bachofen, *Blood Cells*, **1988**, 14, 259-269.
- ⁴ T.K.Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, 182-183.
- ⁵ B.Ernst, G.W.Hart, P.Sinay (Hrsg.), *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Part II, Vol. 4, 1. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, 2000, 533-648.
- ⁶ M.B.Lawrence, T.A.Springer, *Cell*, **1991**, 65, 859-873.
- ⁷ Y.C.Lee, *Carbohydr.Res.*, **1978**, 67, 509-514.
- ⁸ M.Mammen, S.-K.Choi, G.M.Whitesides, *Angew.Chem.*, **1998**, 110, 2908-2953;
Angew.Chem.Int.Ed., **1998**, 37, 2754-2794.
- ⁹ Y.C.Lee, R.T.Lee, *Acc.Chem.Res.*, **1995**, 28, 321-327.
- ¹⁰ N.Sharon, *Science*, **1989**, 246, 227-234.
- ¹¹ T.K.Lindhorst, *Nachr.Chem.Tech.Lab.*, **1996**, 44, 1073-1079.
- ¹² P.R.Ashton, E.F.Hounsell, N.Jayaraman, T.M.Nielsen, N.Spencer, J.F.Stoddart, M.Your, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 3429-3437.
- ¹³ R.Roy, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1996**, 6, 692-702.
- ¹⁴ N.Jayaraman, S.A.Nepogodiev, J.F.Stoddart, *Chem. Eur. J.*, **1997**, 3, 1193-1199.
- ¹⁵ P.Klemm, *Fimbrial Adhesins of Escherichia coli*, Fadl' Forlag, Kopenhagen, **1984**.
- ¹⁶ M.A.Mulvey, Y.S.Lopez-Boado, C.L.Wilson, R.Roth, W.C.Parks, J.Heuser, S.J.Hultgren, *Science*, **1998**, 282, 1494-1497.
- ¹⁷ D.Choudhury, A.Thompson, V.Stojanoff, S.Langermann, J.Pinkner, S.J.Hultgren, S.D.Knight, *Science*, **1999**, 285, 1061-1066.
- ¹⁸ C.S.Hung, J.Bouckaert, D.Hung, J.Pinkner, C.Widberg, A.DeFusco, C.G. Auguste, R.Strouse, S.Langermann, G.Waksman, S.J.Hultgren, *Molecular Microbiology*, **2002**, 44, 903-915.
- ¹⁹ T.K.Lindhorst, S.Kötter, J.Kubisch, U.Krallmann-Wenzel, S.Ehlers, V.Kren, *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 1669-1674.
- ²⁰ O.Sperling, A.Fuchs, T.K.Lindhorst, zur Publikation vorgesehen.
- ²¹ T.K.Lindhorst, C.Kieburg, U.Krallmann-Wenzel, *Glycoconjugate Journal*, **1998**, 15, 605-613.

- ²² S.Kötter, U.Krallmann-Wenzel, S.Ehlers, T.K.Lindhorst, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 2193-2200.
- ²³ F.Lottspeich, H.Zorbas (Hrsg.), *Bioanalytik*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **1998**, 121-131.
- ²⁴ E.Schmitz, M.T.H.Liu (Hrsg.), *Chemistry of Diazirines*, Bd. 1, CRC-Press Inc., Boca Raton (Florida), **1987**, 57-98.
- ²⁵ J.Lehmann, U.P.Weitzel, *Carbohydr. Res.*, **1996**, 294, 65-94.
- ²⁶ T.Rühl, L.Hennig, Y.Hatanaka, K.Burger, P.Welzel, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 4555-4558.
- ²⁷ M.Hashimoto, Y.Kanaoka, Y.Hatanaka, *Heterocycles*, **1997**, 46, 119-122.
- ²⁸ J.Lehmann, L.Ziser, *Carbohydr. Res.*, **1992**, 225, 83-97.
- ²⁹ T.K.Lindhorst, C.Kieburg, *Angew. Chem.*, **1996**, 108, 2083-2086, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1996**, 35, 1953-1956.
- ³⁰ K.Aoi, K.Itoh, M.Okada, *Macromolecules*, **1995**, 28, 5391-5393.
- ³¹ F.M.Winnik, J.P.Carver, J.J.Krepinsky, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2701-2707.
- ³² K.Dziewiszek, A.Zamojski, *Carbohydr. Res.*, **1986**, 150, 163-171.
- ³³ J.J.Pappas, W.P.Keaveney, M.Berger, R.V.Rush, *J. Org. Chem.*, **1968**, 33, 787-792.
- ³⁴ M.S.Kharasch, C.F.Fuchs, *J. Org. Chem.*, **1944**, 9, 359-372.
- ³⁵ H.Ogura, T.Kobayashi, K.Shimizu, K.Kawabe, K.Takeda, *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 4569-4572.
- ³⁶ B.Helferich, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1948**, 3, 79-111.
- ³⁷ G.Piancatelli, A.Scettri, M.D'Auria, *Synthesis*, **1982**, 245-258.
- ³⁸ A.J.Mancuso, S.L.Huang, D.Swern, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2480-2482.
- ³⁹ Y.M.Choy, A.M.Unrau, *Carbohydr. Res.*, **1971**, 17, 439-443.
- ⁴⁰ R.F.R.Church, M.J.Weiss, *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 2465-2471.
- ⁴¹ C.H.Heathcock, R.Ratcliffe, *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 1746-1750.
- ⁴² M.Adinolfi, L.Guariniello, A.Iadonisi, L.Mangoni, *Synlett*, **2000**, 9, 1277-1278.
- ⁴³ J.I.Padron, J.T.Vazquez, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, 6, 857-861.
- ⁴⁴ A.Y.Chernyak, A.B.Levinsky, B.A.Dmitriev, N.K.Kochetkov, *Carbohydr. Res.*, **1984**, 128, 269-282.
- ⁴⁵ J.J.Pappas, W.P.Keaveney, E.Gancher, M.Berger, *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 4273-4278.
- ⁴⁶ P.Collins, R.Ferrier, *Monosaccharides*, Wiley, Toronto, **1995**.

- ⁴⁷ E.J.Corey, A.Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*, 6190-6200.
- ⁴⁸ T.P.Kogan, B.Dupré, K.M.Keller, I.L. Scott, H.Bui, R.V.Market, P.J.Beck, J.A.Voytus, B.M.Revelle, D.Scott, *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 4976-4984.
- ⁴⁹ D.K.Baeschlin, A.R.Chaperon, L.G.Green, M.G.Hahn, S.J.Ince, S.V.Ley, *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 172-186.
- ⁵⁰ W.R.Kobertz, C.R.Bertozzi, M.D.Bednarski, *J. Org. Chem*, **1996**, *61*, 1894-1897.
- ⁵¹ S.J.Sondheimer, R.Eby, C.Schuerch, *Carbohydr. Res.*, **1978**, *60*, 187-192.
- ⁵² J.S.Brimacombe, *Methods Carbohydr. Chem.*, **1972**, *6*, 376-378.
- ⁵³ M.Bessodes, D.Komiotis, K.Antonakis, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 579-583.
- ⁵⁴ G.Zemplén, E.Pascu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1929**, *62*, 1613-1614.
- ⁵⁵ Analog C.G.Tomecko, R.Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1923**, *45*, 2698.
- ⁵⁶ P.Uhlmann, E.Harth, A.B.Naughton, A.Vasella, *Helv. Chim. Ac.*, **1994**, *77*, 2335-2340.
- ⁵⁷ E.Mark, E.Brandstetter, *Monatshefte für Chemie*, **1980**, *111*, 289-307.
- ⁵⁸ A.Nandi, P.Chattopadhyay, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 5977-5980.
- ⁵⁹ T.K.Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, 51.
- ⁶⁰ M.J.Camarasa, P.Fernández-Resa, M.T.García-López, F.G.de las Heras, P.P.Méndez-Castrillón, A.San Felix, *Synthesis*, **1984**, *6*, 509-510.
- ⁶¹ E.Ponnusamy, U.Fotadar, A.Spisni, D.Fiat, *Synthesis*, **1986**, 48-
- ⁶² A.M.Kawamoto, M.Wills, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 1916-1928.
- ⁶³ R.Roy, A.W.Rey, *Can. J. Chem.*, **1991**, *69*, 62-69.
- ⁶⁴ T.K.Lindhorst, S.Kötter, U.Krallmann-Wenzel, S.Ehlers, *J. Chem. Soc, Perkin Trans 1*, **2001**, 823-831.
- ⁶⁵ L.F.Tietze, M.Arlt, M.Beller, K.-H.Glüssenkamp, E.Jähde, M.F.Rajewsky, *Chem. Ber.*, **1991**, *124*, 1215-1221.
- ⁶⁶ O.Sperling, zur Publikation vorgesehen.
- ⁶⁷ T.K.Lindhorst, C.Kieburg, *Synthesis*, **1995**, *10*, 1228-1230.
- ⁶⁸ J.M.Benito, C.O.Mellet, K.Sadalapure, T.K.Lindhorst, J.Defaye, J.M.G.Fernández, *Carbohydr. Res.*, **1999**, *320*, 37-48.
- ⁶⁹ Mark Walter, *Diplomarbeit*, Hamburg, **2000**.
- ⁷⁰ Y.Kondo, *Carbohydr. Res.*, **1986**, *154*, 305-309.
- ⁷¹ P.Wang, G.-J.Shen, Y.-F.Wang, Y.Ichikawa, C.-H.Wong, *J. Org. Chem.*, **1993**, *58*, 3985-3990.

-
- ⁷² B.Schönecker, K.Ponsold, *J. Prakt. Chem*, **1976**, 318, 483-488.
- ⁷³ M.Walter, T.K.Lindhorst, *Chemical Monthly*, **2002**, 133, 473-483.
- ⁷⁴ D.Lafont, P.Boullanger, O.Cadas, G.Descotes, *Synthesis*, **1989**, 191-194.
- ⁷⁵ E.D.Soli, A.S.Manoso, M.C.Patterson, P.DeShong, *J. Org. Chem*, **1999**, 64, 3171-3177.
- ⁷⁶ E.Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges*, **1929**, 62, 1613-1614.
- ⁷⁷ M.M.K.Boysen, K.Elsner, O.Sperling, T.K.Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.*, in press.
- ⁷⁸ N.Roekendorf, O.Sperling, T.K.Lindhorst, *Aust. J. Chem.*, **2002**, 55, 87-93.
- ⁷⁹ R.R.Schmidt, J.Michel, M.Roos, *Liebigs Ann. Chem.*, **1984**, 1343-1357.
- ⁸⁰ R.Tomlinson, M.Klee, S.Garret, J.Heller, R.Duncan, S.Brocchini, *Macromolecules*, **2002**, 35, 473-480.
- ⁸¹ V.Prelog, G.Helmchen, *Helv. Chim. Acta*, **1972**, 55, 2581-2598.
- ⁸² Y.G.Gololobov, L.F.Kasukhin, *Tetrahedron*, **1992**, 48, 1353-1406.
- ⁸³ J.M.G.Fernández, C.O.Mellet, J.L.J.Blanco, J.Fuentes. M.J.Diánez, M.D.Estrada, A.López-Castro, S.Pérez-Garrido, *Carbohydr. Res.*, **1996**, 286, 55-65.
- ⁸⁴ J.L.J.Blanco, J.M.Benito, C.O.Mellte, J.M.G.Fernández, *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1217-1220.
- ⁸⁵ P.Klemm, B.J.Joergensen, I.van Die, H.de Ree, H.Bergmans, *Mol. Gen. Genet.*, **1985**, 199, 410-414.